بررسی اثر تغذیه ای جلبک *Sargassum illicifolium* بر تغییرات سطوح ایمونوگلوبولین (IgM) و لیزوزیم در ماهی قزل آلارنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*)

نوشین زمان نژاد[1]*، حسین عمادی[2] و اویس حسین زاده صحافی[3]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- گروه گیاه شناسی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۱۱

چکیده

در این تحقیق به بررسی اثر جلبک *Sargassum illicifolium* بر تغییرات سطوح ایمونوگلوبولین (IgM) و فعالیت لیزوزیم در ماهی قزل آلارنگین کمان پرداخته شده است. برای این منظور، شاخص های فاکتورهای خون، ایمونوگلوبولین IgM و لیزوزیم و تغییرات در شاخص های ایمنی مورد بررسی قرار گرفته است. تعداد ۳۶۰ ماهی های قزل آلا۱۰±۷۵ گرمی در ۴ تیمار به میزان صفر (شاهد)، ۵، ۷/۵، ۱۰ گرم در کیلوگرم جلبک در رژیم غذایی به مدت ۲ ماه تغذیه شدند. پس از اتمام ماه دوم پرورش، از هر تیمار ۳ نمونه (به تعداد ۱۲عدد) انتخاب شد و فاکتورهای خونی ماهیان مورد سنجش قرار گرفت. نتایج بدست آمده در این بررسی نشان داد که فاکتورهای ایمنی خون ماهی هایی که با جلبک سارگاسوم تغذیه شده بودند در مقایسه با گروه شاهد، اختلاف معنی داری(P<۰/۰۵) داشتند. سطوح ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیم با افزایش مقدار جلبک سارگاسوم و افزایش وزن، افزایش یافتند. نتایج حاصل از درصد تلفات نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جلبک، تلفات کمتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند که این موضوع حاکی از اثر ایمنی زایی جلبک سارگاسوم می باشد. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که روند تغییرات ایمونولوژیک در ماهی قزل آلارنگین کمان در نتیجه ی تغذیه با جلبک سارگاسوم افزایش می یابد. افزایش شاخص ها بیانگر اینست که بتاکاروتن موجود در جلبک به شکل قابل توجهی، سیستم ایمنی ماهی قزل آلارنگین کمان را تحریک نموده و باعث افزایش مقاومت آن می گردد.

واژگان کلیدی

قزل آلارنگین کمان، ایمونوگلوبولین ، لیزوزیم، جلبک سارگاسوم (*Sargassum illicifolium*)

***نگارنده پاسخگو:nooshin.zamannejad@yahoo.com**

مقدمه

سارگاسوم، جلبک قهوه ای پرسلولی دریایی است وگونه ی *Sargassum illicifolium* در سواحل جنوبی ایران رشد می نماید. این ماکروجلبک دارای رنگدانه های بتاکاروتن و فوکوگزانتین، اسیدهای حلال مواد محرک ایمنی مانند فیکوسیانین، پلی ساکارید، آهن، روی و اسیدهای آمینه ی ضروری می باشد که سبب ارتقاء ایمنی می گردد. ایمنی، ساز و کار مهم فیزیولوژیکی حیوانات برای محافظت در برابر عفونت ها و تامین هموستاز داخلی است. ایمنی یا به صورت غیر اختصاصی (سازو کار دفاع ذاتی در برابر عفونت) و یا اکتسابی (فرآیند اختصاصی در پاسخ به عوامل خارجی خاص) است. ایمنی اکتسابی شامل پاسخ ایمنی هومورال(تولید ایمنوگلوبولین) و سلولی (پس زدن پیوند و ازدیاد حساسیت تاخیری) است. ماهی به علت قرار گیری در رده های پایین تکامل جانوری، بیشتر وابسته به ایمنی غیر اختصاصی (ذاتی یا طبیعی) است که وظیفه ی محافظت اولیه در برابر اجرام بیماری زا را بر عهده دارد. ایمونوگلوبولین ماهی ها با نقش پادتنی باکتریایی و ویروسی مشابه حیوانات عالی است (مخیر، ۱۳۸۱). سرم، مخاط و تخم ماهی حاوی موادی هستند که به صورت غیر اختصاصی مانع رشد میکرو ارگانیسم های بیماری زا (آنتی ژن) می شوند و اغلب پروتئین و یا گلیکو پروتئین هستند. سرم طبیعی حیوانات شامل انواعی از مولکول ها است که در برابر آنتی ژن های مختلف واکنش می دهند. این اجزای هومورال ایمنی طبیعی شامل لیزوزیم، کمپلمان، سایتوکین، اینترفرون هستند. در مورد پادتن های ماهی، پادتن چند واحدی با وزن مولکولی بالا تولید می کنند که شبیه IgM پستانداران است و دارای فعالیت های زیستی مانند خنثی کردن و فعال کردن کمپلمان هستند(علیشاهی، ۱۳۸۸).

بتاکاروتن یکی از رنگدانه ها با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی است (Suresh *et al*., 2013) و به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی که این رنگدانه دارد، از آن در تهیه ی مکمل های غذایی و مواد دارویی استفاده می شود(Tim *et al*., 2007). تغذیه با این جلبک، به دلیل مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان (عامل مکمل) و به عبارت دیگر باعث افزایش فعالیت لیزوزیم شده و در نتیجه باعث افزایش سطح ایمونوگلوبولین های خون می شود Amar *et al*., (2004). بتاکاروتن، باعث افزایش رنگدانه در پوست و گوشت ماهی، افزایش وزن، کاهش درصد تلفات و در نهایت باعث افزایش فعالیت انتی اکسیدانی (سوپر اکسیداز و پراکسیداز) می شود. هم چنین آرد خشک شده ی این جلبک، بر روی رشد، عملکرد سیستم ایمنی و کاهش بیماری در میگو و سبب افزایش وزن وکاهش استرس می شود (حافظیه و همکاران، ۱۳۹۳).

هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثر جلبک *(Sargassum illicifolium)* بر سیستم ایمنی و فیزیولوژی ماهی قزل آلارنگین کمان و بررسی امکان کاربرد این جلبک در پرورش ماهی قزل آلا در راستای بهره گیری از خواص مثبت ایمنی و فیزیولوژیک و دیگر بررسی خاصیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی آن در جهت افزایش توان سیستم ایمنی و تغییر در شاخص های ایمنی ماهی ها می باشد.

مواد و روش ها

در تحقیق حاضر، از آرد جلبک خشک شده *Sargassum illicifolium* در هر کیلوگرم غذای ماهی به میزان ۵، ۷/۵ و۱۰ گرم استفاده شده است. جلبک قهوه ای از سواحل تیس در چابهار جمع آوری شد و پس از شستشو در آب دریا در مقابل سایه خشک گردید. پس از انتقال به تهران ابتدا جداسازی ضایعات صورت پذیرفت و سپس توسط خرد کن و آسیاب برقی کاملا ریز شده و در نهایت پس از عبور از صافی ۵۰۰ میکرومتری به صورت پودر در آمد. مراحل پرورش ماهی قزل آلارنگین کمان در پژوهش حاضر، در حوضچه های بتونی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خجیر

واقع در شرق تهران، پارک ملی حفاظت شده ی خجیر در مهرماه سال ۱۳۹۲ به مدت ۲ ماه انجام پذیرفته است. ۳۶۰ عدد ماهی قزل آلارنگین کمان با وزن ۱۰± ۷۵ گرم، در چهار گروه در ۱۲ حوضچه ی بتونی با ابعاد ۱۲۰×۱۰۰×۲۰۰ متر نگهداری ذخیره سازی شدند. طی دوره ی سازگاری و پیش از آغاز تغذیه با جیره های آزمایشی دست ساز، ماهی ها به مدت ۷ روز با غذای GFT2 اکسترود غذادهی شدند. از روز چهارم تا هفتم، جایگزینی غذای دست ساز به جای غذای کارخانه به ترتیب با ۲۵ درصد، ۵۰ درصد ، ۷۵ درصد و ۱۰۰ درصد غذای دست ساز، صورت پذیرفت. سپس ماهی ها با ۳ جیره ی دست ساز آزمایشی حاوی جلبک و ۱ جیره ی دست ساز (گروه شاهد) بدون جلبک، هرکدام با ۳ تکرار در یک دوره ی ۶۰ روزه تغذیه شدند. ماهی ها ۳ بار در روز در ساعت های ۸، ۱۲ و ۱۶ به طور دستی غذا دهی شدند. میزان غذا برای هر تیمار روزانه محاسبه و توزین شده و بر اساس جداول درصد غذادهی، مورد تغذیه قرار گرفت. ترکیب غذای مورد استفاده در این تحقیق در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱- ترکیب غذای پایه مورد استفاده بر حسب درصد وزن خشک

ترکیبات	مقدار بر حسب درصد
پروتئین خام	۴۳/۵
چربی خام	۲۱/۵
کربوهیدرات	۲۶/۸
خاکستر	۹/۷
رطوبت	۳/۹
کالری کل	۳۶۷/۳ Kcal/100g

آب مورد نیاز از چشمه ای که در مجاورت حوضچه های بتونی قرار داشت، تامین شد که طی دوره ی آزمایش دمای آن ۱±۱۷ درجه ی سانتی گراد و میزان pH و اکسیژن محلول به ترتیب ۶/۸ و ۸/۱ میلی گرم در لیتر بود.

نمونه برداری

نمونه برداری از ماهیان در انتهای دوره ی دو ماهه صورت گرفت و از هر حوضچه ی آزمایشی، ۳ ماهی انتخاب شد. ماهی ها با استفاده از پودر گل میخک به میزانppm ۲۰۰ بیهوش شدند. بیومتری بچه ماهی ها شامل طول کل، با استفاده از کولیس با دقت ۰/۱ و وزن با از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد.

خون گیری با سرنگ انسولین از ناحیه ی ساقه ی دمی انجام شد. خون هر نمونه به صورت جداگانه در دو لوله آزمایش حاوی هپارین برای ممانعت از انعقاد خون برای آزمایش های گلبول های خون و دیگری لوله ی بدون ماده ی ضد انعقاد برای جداسازی سرم و انجام آزمایشات ایمونوگلوبولین و لیزوزیم ریخته شد. اندازه گیری شاخص های سیتولوژیک خون مانند شمارش گلبول های سفید با استفاده از لام نئوبار انجام شد. از نمونه های خونی گسترش تهیه گردید و با رنگ گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری شمارش افتراقی لکوسیت ها صورت گرفت. سرم نمونه های خون با سرعت ۴۶۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و از خون کامل جدا شد و تا زمان آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی

گراد نگهداری شدند. شاخص های IgM و فعالیت لیزوزیمی بر اساس و مبنای کدورت حاصل (Turbidometric) از اتصال آنتی ژن و آنتی بادی ضد آن ارزیابی شد و برای کالیبره کردن دستگاه از کالیبراتورهای تجاری Thomas Clinical Laboratory(1998) استفاده گردید Thomas, (1998).

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده های کمی از آنالیز واریانس یک طرفه One-Way-ANOVA و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح احتمال ($P <$۰/۰۵). استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن انجام شد (Zar, 1999).

نتایج

نتایج حاصل از زیست سنجی (میانگین وزن و طول کل) در دوره ی ۶۰ روزه ی آزمایش در جدول (۲) ارائه گردیده است. نتایج نشان داد، میانگین وزن در نمونه های شاهد با مقدار ۲۴/۵۷±۱۵۶/۱۵ گرم کمتر از میانگین وزن در تیمارها می باشد. بیشترین میانگین وزن در تیمار ۲ با مقدار ۳۰/۴۵ ±۲۰۸/۴۹ گرم و کمترین میزان در تیمار ۳ با وزن ۳۸/۱۱±۱۷۷/۰۴ گرم مشاهده شد. میانگین طول در نمونه های شاهد با مقدار ۱/۳۲±۲۴/۲۳ کمتر از میانگین طول در تیمارها با غذای حاوی جلبک بود. بیشترین طول در تیمار۲ با مقدار ۱/۲۳±۲۵/۳۶ و کمترین میزان آن در تیمار ۳ با مقدار ۱/۸۷±۲۴/۳۶ دیده شد.

جدول ۲- میانگین وزن و طول کل در ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک *Sargassum illicifolium* در پایان دوره ی پرورش (۶۰ روز)

	میانگین		انحراف معیار		شاخص وضعیت	
نمونه ها	وزن گرم	طول کل سانتی متر	وزن گرم	طول کل سانتی متر	میانگین	انحراف معیار
شاهد	۱۵۶/۱۵	۲۴/۲۳	۲۴/۵۷	۱/۳۲	۱/۱۰	۰/۱۴
تیمار۱	۱۹۷/۱۶	۲۵/۰۸	۳۷/۶۶	۱/۶۳	۱/۲۳	۰/۰۸
تیمار۲	۲۰۸/۴۹	۲۵/۷۵	۳۰/۴۵	۱/۲۳	۱/۲۰	۰/۰۵
تیمار۳	۱۷۷/۰۴	۲۴/۳۶	۳۸/۱۱	۱/۸۷	۱/۲۰	۰/۰۸

نتایج حاصل از فاکتور طول و آزمون دانکن نشان دهنده ی این است که طول ماهی های تغذیه شده با جلبک سارگاسوم در مقایسه با گروه شاهد تا جیره ی غذایی ۷/۵ درصد جلبک به طور معنی داری افزایش یافته است ($P <$۰/۰۵).

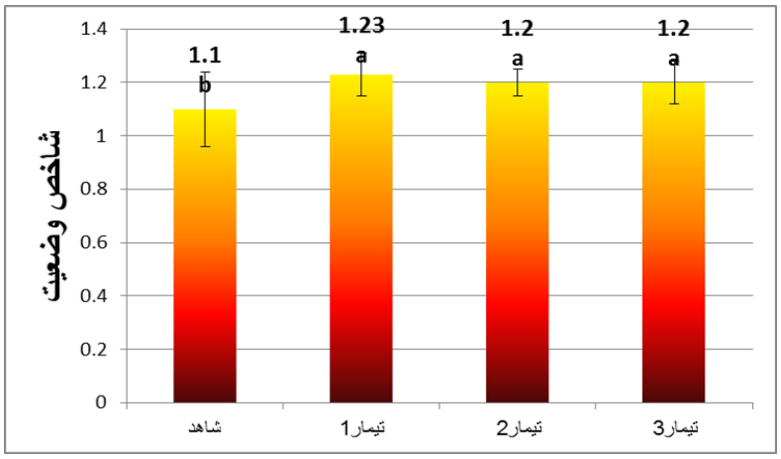
نتایج حاصل از سنجش ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیم به صورت میانگین در جدول (۳) آورده شده است. نتایج نشان دادند که میانگین IgM در نمونه های شاهد با مقدار ۳۷/۲۵ میلی گرم در دسی لیتر ، بالاتر از تیمار ۵ درصد جلبک با مقدار ۳۵/۷۵ میلی گرم در دسی لیتر IgM بوده و به طرز معنی داری ($P <$۰/۰۵).کمتر از تیمارهای ۷/۵ (۴۲/۷۵ میلی گرم در دسی لیتر)و ۱۰ (۱۰۷/۵ میلی گرم در دسی لیتر) درصد جلبک بوده است.

جدول ۳- میانگین تغییرات میزان ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیمی درسرم ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک سارگاسوم ایلیسیفولیوم پس از ۶۰ روز تغذیه

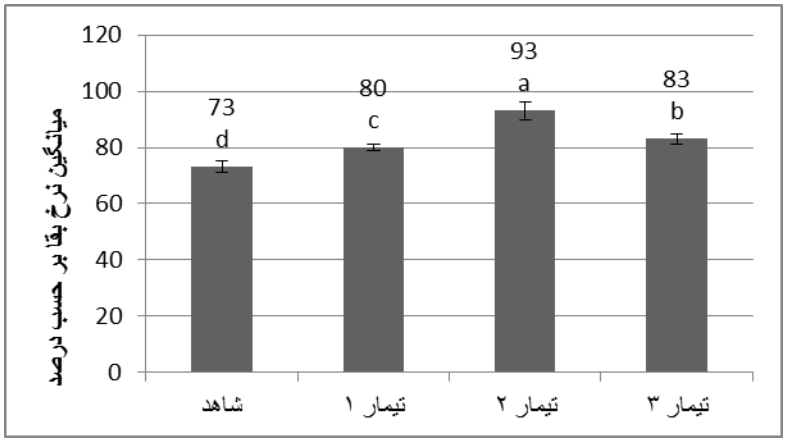
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
گروه های آزمایشی	IgM میلی گرم/دسی لیتر	IgM میلی گرم/دسی لیتر	Lyzozyme Activity u/ml/min	Lyzozyme Activity u/ml/min
شاهد(بدون جلبک در جیره غذایی)	۳۷/۲۵	۱/۵۲	۱۹/۰۰	۰/۸۱
تیمار۱(۵ گرم جلبک در کیلوگرم)	۳۵/۷۵	۰/۹۵	۳۶/۲۵	۱/۲۵
تیمار۲(۷/۵ گرم جلبک در کیلوگرم)	۴۲/۷۵	۰/۹۵	۹۱/۷۵	۰/۹۵
تیمار۳(۱۰ گرم جلبک در کیلوگرم)	۱۰۷/۵	۱/۲۹	۹۸/۰۰	۰/۸۱

میزان فعالیت لیزوزیمی در نمونه های تیمار با افزایش وزن و افزایش مقدار جلبک، سیر صعودی نشان داد. فعالیت لیزوزیمی به طرز معنی داری ($P < ۰/۰۵$).در همه ی تیمارهای حاوی جلبک، در مقایسه با گروه شاهد، دارای روند افزایشی بودند. بیشترین مقدار فعالیت لیزوزیمی به ترتیب در تیمارهای ۳، ۲ و ۱ مشاهده گردید و اختلاف معنی داری بین ماهیان گروه شاهد و همه گروه های تیماری وجود داشت.

نتایج حاصل از بررسی شاخص وضعیت نشان می دهد که رشد ماهی در تمامی تیمارها افزایش یافته و اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه شاهد دیده می شود(شکل ۱) ، همچنین میانگین نرخ بقا در هر سه تیمار در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری افزایش یافته بود(شکل ۲).

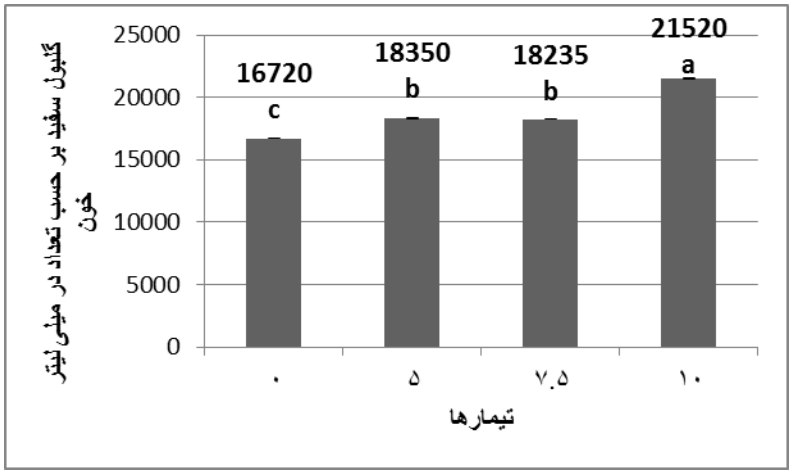


شکل ۱- نمودار میانگین ضریب وضعیت و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک *S. illicifolium* . حروف متناوب نشانگر وجود اختلاف معنی دار از نظر آزمون دانکن می باشد (آنتنک ها نشانه ی انحراف معیار است)



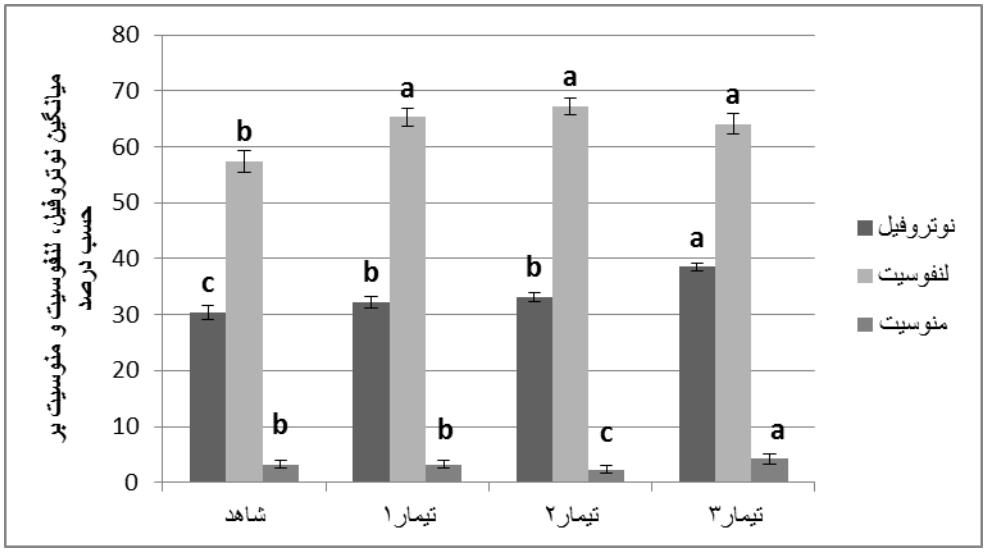
شکل ۲- میانگین نرخ بقا بر حسب درصد در ماهیان ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک *S. illicifolium*

همانگونه که در شکل (۲) قابل مشاهده است، بیشترین نرخ بقا در تیمار ۳ با ۹۳ درصد بقا بدست آمد و با سایر تیمارها و گروه شاهد به طور معنی داری بالاتر بود. در بررسی گسترش های خونی بیشترین میانگین گلبول های سفید در تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم جلبک در کیلوگرم (تیمار۳)بدست آمد. تعداد گلبول های سفید کلیه تیمارها دارای اختلاف معنادار در مقایسه با گروه شاهد بودند ولی تیمار سوم از سایر تیمارها نیز به طور معناداری بالاتر بود(شکل ۳).



شکل ۳- نمودار میانگین تعداد گلبول های سفید و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک *Sargassum illicifolium* . حروف متناوب نشانگر وجود اختلاف معنی دار از نظر آزمون دانکن می باشد. (آنتنک ها نشانه ی انحراف معیار است)

شکل شماره (۴) نتایج بررسی افتراقی گلبول های سفید
در پژوهش حاضر را نمایش می دهد.



شکل ۴- نمودار میانگین نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت انحراف معیارهای مربوطه در نمونه های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل آلاتغذیه شده با جلبک *Sargassum illicifolium* . حروف متناوب نشانگر وجود اختلاف معنی دار از نظر آزمون دانکن می باشد. (آنتنک ها نشانه ی انحراف معیار است)

بالاترین مقدار درصد نوتروفیل در تیمار۳ ، ۰/۶۷± ۳۸/۵ و کمترین مقدار در نمونه ی شاهد، ۱/۲۹± ۳۰/۴ از اختلاف معنی داری برخوردار بود (P <۰/۰۵). بالاترین درصد لنفوسیت در نمونه ی شاهد ، ۱/۸۹± ۶۷/۲ و کمترین در تیمار۳ ، ۱/۸۲± ۵۷/۴ از اختلاف معنی داری برخوردار بودند (P <۰/۰۵). بالاترین درصد مونوسیت در تیمار۳ ، ۰/۸۹± ۴/۱۸ و کمترین مقدار در تیمار ۲، ۰/۶۷ ±۲/۲۵ مشاهده شد که از اختلاف معنی داری برخوردار بودند (P <۰/۰۵).

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از زیست سنجی (میانگین وزن و طول کل) در دوره ی ۶۰ روزه ی آزمایش (جدول شماره ۲) نشان داد که میانگین وزن در گروه شاهد با مقدار ۲۴/۵۷±۱۵۶/۱۵ گرم کمتر از میانگین وزن در تیمارها می باشد. بیشترین میانگین وزن در تیمار ۲ با مقدار ۳۰/۴۵ ±۲۰۸/۴۹ گرم و کمترین میزان در تیمار ۳ با وزن ۳۸/۱۱±۱۷۷/۰۴ گرم مشاهده شد. میانگین طول در نمونه های شاهد با مقدار ۱/۳۲±۲۴/۲۳ کمتر از میانگین طول در تیمارها با غذای حاوی جلبک بود. بیشترین طول در تیمار۲ با مقدار ۱/۲۳±۲۵/۳۶ و کمترین میزان آن در تیمار ۳ با مقدار ۱/۸۷±۲۴/۳۶ دیده شد در حالی که وزن و طول تیمار۳ با گروه شاهد اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) را نشان نمی دهد. . با توجه به داده های حاصل از فاکتور وزن و نتایج حاصل از آزمون های آماری مشخص است که با افزایش میزان جلبک تا حد ۷/۵ درصد در جیره ی غذایی، رشد ماهی ها افزایش معنی داری در مقایسه با گروه شاهد می یابد (P <۰/۰۵) به طوری که بیشترین میزان افزایش در تیمار۲ و ۱ مشاهده گردید. از نکات قابل توجه این که، غذای مصرفی همه ی گروه های شاهد و تیمار ایزوکالریک و ایزونیتروژنوس بوده و از نظر مقدار غذای مصرفی نیز اختلاف معنی داری وجود نداشت، ولی با افزایش مقدار جلبک در جیره ی غذایی وزن و طول ماهی ها افزایش پیدا کرد.

سطوح ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیمی با افزایش مقدار جلبک و زیاد شدن وزن ماهی ها، افزایش یافت. نتایج بدست آمده در این بررسی نشان دادند، که سطوح ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهی هایی که با جلبک *Sargassum illicifolium* تغذیه شده اند، دارای اختلاف آماری معنی داری در مقایسه با گروه شاهد می باشد

(P<۰/۰۵). سطوح ایمونوگلوبولین IgM و فعالیت لیزوزیمی با افزایش مقدار جلبک و زیاد شدن وزن ماهی ها، افزایش یافت. نتایج بدست آمده در این بررسی نشان دادند، که سطح IgM در پلاسمای تیمارهای آزمایشی طی دوره ی آزمایش، دارای روندی صعودی بود و میزان سطح ایمونوگلوبولین IgM، درسرم ماهی های تغذیه شده با جلبک، در مقایسه با ماهی های گروه شاهد افزایش معنی داری (P<۰/۰۵) داشته است. بیشترین میزان IgM در تیمار۳ و پس از آن تیمار ۲ بود و اختلاف معنی دار بین ماهی های گروه شاهد و تیمار ۳ وجود داشت(جدول ۳). جلبک قهوه ای سارگاسوم دارای کاروتنوئید است، این رنگیزه ها به عنوان آنتی اکسیدان از سلول ها محافظت می نمایند و مانع به خطر افتادن سلامت سلول ها می شوند(Hanna *et al.*, 2008; ریاحی، ۱۳۸۷). رادیکال های آزاد مانند اکسیژن باعث اکسیده شدن لیپیدها و آسیب به ساختارهای لیپیدی مانند غشاهای زیستی می شوند، کاروتنوئیدها با رادیکال های آزاد وارد واکنش شده و آن ها را بلوکه و بی اثر می نمایند. علاوه بر آن به نظر می رسد که رادیکال ها در تشکیل تومورها نقش داشته باشند و این احتمال وجود دارد که رادیکال های آزاد علاوه بر پراکسیداسیون لیپیدها، سبب تغییر شکل و غیر فعال شدن ساختارهای آمینی شوند و یا با مواد وراثتی واکنش دهند، در این رابطه نیز کاروتنوئیدها نقش مثبتی را ایفا می کنند. با افزایش محافظت سلولی، سلامت ماهی ها حفظ شده و احتمال رشد بیشتر، در تیمارهایی که از غذای دارای جلبک استفاده کرده بودند، بیشتر می شود (آدمیت خانکندی، ۱۳۹۰). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان گلبول های سفید با افزایش میزان جلبک در جیره غذایی در مقایسه با گروه شاهد به طور معناداری افزایش یافته است(شکل۱). این افزایش می تواند در نتیجه افزایش بتا کاروتن در جیره غذایی و از طریق افزایش میتوژن القایی باشد که سبب افزایش فراوانی لنفوسیت ها و سلول T می شود (Suresh *et al.*, 2013). لنفوسیت ها از جمله مراکز مکانیزم دفاعی اختصاصی هستند و این سلول ها در بروز پاسخ های ایمنی اختصاصی اعم از سلولار و همولار نقش مهمی را ایفا می نمایند. پاسخ های ایمنی همورال با واسطه لنفوسیت T انجام می گیرد. افزایش میزان ایمونوگلوبولین ها با افزایش وزن، نشان دهنده ی تکامل یافتن سلول های خونی و اندام های خون ساز و در نتیجه افزایش کارایی سیستم ایمنی ماهی قزل آلارنگین کمان است و افزایش لنفوسیت های T، نشان دهنده ی پاسخ ایمنی سلولار می باشد (Zandi *et al.*, 2010; Bernstein *et al.*, 1998; Yue-Bin *et al.*, 2013). مطابق با نتایج تحقیق حاضر، Amar و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که رنگدانه های کاروتنوئیدی سبب افزایش فعالیت کمپلمان و لیزوزیم شده و در نتیجه باعث افزایش تعداد کل لکوسیت ها و سلول های بیگانه خوار در ماهی قزل آلارنگین کمان می شود. Thompson و همکاران (۱۹۹۳)، اثر مکمل غذایی حاوی ویتامین A در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) را بررسی نموده و نشان دادند که فعالیت کمپلمان و لیزوزیمی افزایش یافته است که با یافته های تحقیق حاضر مطابقت نشان می دهد.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که میزان IgM و فعالیت لیزوزیمی در پلاسمای ماهی های تغذیه شده با جلبک سارگاسوم پس از دو ماه افزایش یافت که می تواند نشان دهنده ی خنثی سازی اثر ویروس ها و قدرت بیماری زایی باکتری ها و سموم مترشحه از آن ها و فعال سازی سیستم کمپلمان از طریق مسیرهای فرعی (فعال سازی مسیر کلاسیک کمپلمان نیازمند حضور یون کلسیم) و تسهیل در بلع ذرات باشد که IgM در این اعمال نقش بسیار موثری را ایفا می کند Villarreal-Gómez *et al.*, 2010) لازم به ذکر است که میزان یون کلسیم در جلبک سارگاسوم ۶۶/۹۸ میلی گرم تخمین زده شده است (Peng, 2013). ایمونوگلوبولین ماهی ها با نقش پادتنی باکتریایی و ویروسی، مشابه حیوانات عالی است (مخیر، ۱۳۸۱). روند تولید ایمونوگلوبولین ها در ماهی، مجموعه ای از واکنش های بین سلول های ارائه دهنده

ی آنتی ژن , سلول های T کمک کننده ی فعال شده و اینترلوکین ها است که سبب تحریک لنفوسیت B می شود. این لنفوسیت ها در اثر تحریک، پلاسماسل ها را تولید می کنند که قادر به تحریک ایمونوگلوبولین می باشند (Stopskopf, 1993).

نتایج بدست آمده حاکی از افزایش معنی دار مقدار لیزوزیم در تیمارها نسبت به گروه شاهد بود که بالاترین مقدار آن در تیمار ۳ بدست آمده است(جدول ۲). لیزوزیم یک پروتئین کاتیونیک با وزن مولکولی کم است که بخشی از مکانیسم دفاع غیر اختصاصی ماهی ها را تشکیل می دهد (Sveinbjornsson, 1996). لذا با توجه به افزایش لکوسیت ها، ترشح آن نیز بیشتر خواهد شد. نقش لیزوزیم در عفونت به عنوان آنتی باکتریال، حمله به دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و تجزیه ی آنها، همچنین تحریک فاگوسیتوز می باشد. لیزوزیم قادر است پیوندهای گلیکوزیدی را در لایه ی پپتیدو گلیکان باکتری ها بشکند(طهماسبی و همکاران، ۱۳۹۰).

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که روند تغییرات ایمونولوژیک در ماهی قزل آلارنگین کمان در نتیجه ی تغذیه با جلبک سارگاسوم ایلیسیفولیوم ارتقاء یافته است.

معمولا عواملی مانند افزایش تعداد گلبول های سفید در خون، افزایش تعداد و فعالیت ائوزینوفیلیک گرانول سل ها در بافت های ماهی سبب افزایش لیزوزیم می گردد (Grinde, 1989).ماکروجلبک قهوه ای سارگاسوم دارای فعالیت ضد التهابی، ضد سرطان و بالا برنده ی سیستم ایمنی بدن می باشد. افزایش این شاخص ها نقش بتاکاروتن موجود در این جلبک را برای تحریک سیستم ایمنی ماهی قزل آلارنگین کمان نشان داده و باعث افزایش مقاومت می گردد (Khanavi *et al.*, 2010).

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و نظر به اینکه ماهی قزل آلارنگین کمان عمده ترین ماهی پرورشی کارگاه های تکثیر و پرورش ایران است، استفاده از گونه ی جلبک *Sargassum illicifolium* در راستای بهره گیری از خواص مثبت ایمنی و فیزیولوژیک آن و با توجه به این که سالانه امکان استحصال حدود ۵۰۰ تن از این جلبک در سواحل جنوبی کشور بر طبق سالنامه ی آماری شیلات ایران (۱۳۹۰) وجود دارد، برای افزایش کیفیت ماهی های قزل آلارنگین کمان به پرورش دهندگان ماهی های سرد آبی کشور پیشنهاد می شود.

منابع

آدمیت خانکندی، م. ۱۳۹۰. بررسی اثر افزودن سطوح مختلف باکتری در جیره بر رشد و میزان ذخیره سازی رنگدانه در گوشت ماهی قزل آلا، پایان نامه دانشگاه تهران.

حافظیه، م.، حسینی، س. ح. و اژدها کش، ا. ۱۳۹۳. بررسی مقایسه ای گیاه دریایی سارگاسوم و کنجاله کانولا به عنوان منبع پروتئینی و تعیین بهترین درصد جایگزینی آن ها در تغذیه پرواربندی میگوی سفید غربی *Litopneus vanamii*. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۲): ۱۹-۹.

ریاحی، ح. ۱۳۸۷. جلبک شناسی. انتشارات دانشگاه الزهرا. تهران.

طهماسبی، ک. ا.، کیوان، ش. س.، نعمت اللهی، ا.، سلاطی، ا.، پارسه، ع.، محمودی ،ن. و زانوسی، ح. ۱۳۹۰. تاثیر نوکلئوتید موجود جیره بر فعالیت کمپلمان های C3,C4 و بازماندگی ماهی قزل آلارنگین کمان (*Oncorhynchus mykis*) پس از رویارویی با باکتری *Streptococcus iniae*. اقیانوس شناسی، ۷(۲):۳۹-۴۵.

علیشاهی، م. ۱۳۸۸ . مقدمه ای بر ایمنی شناسی آبزیان. تالیف سوآین، پی، ساهو، پی .کی.، آیاپان، اس .انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران.

مخیر، ب. ۱۳۸۱. بیماری های ماهی های پرورشی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

Sveinbjornsson, B., Olsen, R., Paulsen, S. 1996. Immunocytochemical localization of lysozyme in eosinophilic granular cells of Atlantic salmon. *Journal of Fish Diseases*, 19: 349-355.

Thomas L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. TH Books Verlagsgesell schaft. Frankfort.

Thompson, L., Choubert, G. Houlihan, D.F. & Secombes, C.I. 1994. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture*, 133: 91-102.

Tim, J., Bowden, T.J., Thompson, K.D., Morgan, A.L. & Nikoskelainen, S. 2007. Seasonal variation and immune response: A fish perspective. University of Aberdeen. Scotland, UK.

Yu-Bin, J., Fang, D., Miao, Y., Long, Q., & Dan, L. 2013. Optimization of Synthesis of Seleno-Sargassum fusiforme (Harv.) Setch. Polysaccharide by Response Surface Methodology, Its Characterization, and Antioxidant Activity. *Journal of Chemistry*, Article ID 493524, 9 pages.

Villarreal-Gómez, L., Irma, E., Soria-Mercado, G. & AYals-Sanchez, N. 2010. Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacteria associated with their surface, Revista de Biología *Marina y Oceanografía*, 45: 267-275.

Zandi, K., Ahmadzadeh, S., Tajbakhsh, Z., Rastian, F., Yousefi, F., Farshadpour, F. & Sartavi, K. 2010. Anticancer activity of *Sargassum oligocystum* water extract against human cancer cell lines. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 14: 669-673.

Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S. & Watanabe, T. 2004. Enhancement of innate immunity in Rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Japan.

Bernstein, R.M., Schlutr, S.F. & Marchalonis, J.J. 1998. Immunity, In: the physiology of fishes. Evans, D.H.

Hanna, H., El-Baky, A., Hussein, M. M. & El-Baroty, G. 2008. Algal extracts improve antioxidant defense abilities and salt tolerance of wheat plant irrigated with water. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7: 2812-2832.

Khanavi, M., Sadati, N., Shams Ardekani, M., Sohrabipour, J. & Nabavi, S.M. 2010 .Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biological Research*, 43:31-37.

Peng, Y., Xi, E. & Zheng, K. 2013. Nutritional and chemical composition and Anti Activity of Cultivated Seaweed *Sargassum naozhouense* Tseng et Lu. *Marine Drugs*, 11(1): 20–32.

Stopskopf, M. 1993. Clinical pathology. In Fish medicine. Edited by M. Stopskopf WB. Saunders Company. Philadelphia. USA.

Suresh, V., Senthilkumar, N., Thangam, R., Rajkumarc, M., Anbazhagan, C., Rengasamy, R., Gunasekaran, P., Kannan, S. & Palani, P. 2013. Separation, purification and preliminary characterization of sulfated polysaccharides from *Sargassum plagiophyllum* and its in vitro anticancer and antioxidant activity. *Process Biochemistry*, 48: 364–373.

Zar, J.H. 1999. Blostatistical Analysis. Prentic Hall. (4th Edition) New Jersey. USA.