اثر آنتی اکسیدانی ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با *Spirulina platensis* توسط آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

مژگان امتیاز جو[1]، زهرا دهقانی مطلق[2*] و مجید زینلی[3]

۱ و ۲- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
۳- گروه شیمی، پژوهشکده صنعت نفت

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۱۰

چکیده

اسپیرولینا از سیانو باکتری‌های رشته‌ای است که در صنعت آبزی پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی ماهی قزل آلای تغذیه شده با اسپیرولینا پرداخته شده است و سنجش تغییرات آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) برای این ارزیابی بکار گرفته شد. مراحل اجرایی این تحقیق در مزرعه پرورشی ماهیان قزل آلای استان تهران صورت پذیرفت. تعداد ۱۲۰ عدد ماهی قزل آلای رنگین کمان با میانگین وزن ۲±۱۷ گرم و میانگین طول ۰/۳۷±۱۱/۳۹ سانتی‌متر انتخاب و به سه گروه آزمایشی حاوی ۷/۵، ۵ و ۲/۵ درصد پودر خشک اسپیرولینا و دو گروه به عنوان شاهد (بدون تغذیه اسپیرولینا و گروه دیگر بایندر) تقسیم بندی شدند. اسپیرولینا با استفاده از روغن کُلزا به عنوان بایندر پس از وزن کردن میزان غذای مورد نیاز هر استخر با غذا مخلوط شد. در این مدت ماهی‌ها روزانه سه بار در روز و به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. پس از نمونه برداری از بافت کبد، طحال و عضله، فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به روش وندال سنجش شد. نتایج نشان داد که افزایش درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی به میزان ۷/۵ و ۵ درصد، میزان فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در طحال را به میزان (۶۱.۵۲ درصد) افزایش داده است. همچنین در بافت کبد با افزایش درصد تغذیه از اسپیرولینا میزان فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز ۲۱/۹۵ درصد و در عضله به میزان ۹/۴ درصد کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که تغذیه ماهی با اسپیرولینا سبب افزایش فعالیت ضد اکسایشی آنزیم (GPX) در بافت‌های طحال و سبب کاهش فعالیت ضد اکسایشی آنزیم (GPX) در عضله و کبد ماهی قزل آلا گردید.

واژگان کلیدی: اسپیرولینا، گلوتاتیون پراکسیداز، آنتی اکسیدان، ماهی قزل آلا

* نگارنده پاسخگو: ladandehghani24@yahoo.com

مقدمه

مانند همه ارگانیسم‌های هوازی، ماهی‌ها هم در معرض تهاجم اکسیژن باز فعال (Reactive Oxygen Species (ROS قرار می‌گیرند، در نتیجه باید دارای سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی نیز باشند. شرایط مختلفی باعث تقویت عکس‌العمل دفاعی آنتی اکسیدان در ماهی می‌شوند. پارامترهایی مانند عوامل ذاتی ماهی مانند سن، وضعیت فیلوژنتیک (تکامل نژادی) و شیوه تغذیه و همینطور عوامل محیطی مانند رژیم غذایی، تغییرات روزانه یا فصلی درجه حرارت، اکسیژن محلول، سموم موجود در آب، پاتوژن‌ها (عوامل بیماری‌زا) و انگل‌ها می‌توانند باعث تضعیف یا تقویت عکس‌العمل دفاعی آنتی اکسیدان شوند (Felton, 1995; Martinez-Alvarez *et al*., 2005) آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نقش مهمی در غیر فعال سازیِ ROSها دارند. سطح پایین آنتی اکسیدان‌ها یا مهار آنزیم‌های آنتی اکسیدانی باعث استرس اکسیداتیو شده که می‌تواند به آسیب یا مرگ سلولی بیانجامد. امروزه استرس‌های اکسیداتیو می‌تواند به عنوان بخش مهمی از بسیاری از بیماری‌های انسان تلقی می‌شود (Hu *et al*., 2007; Rudneva *et al*., 2010). بنابراین مطالعات اولیه حاکی از بهبود سلامتی با مصرف مکمل‌های آنتی اکسیدانی است. از این رو مطالعه بر روی شدت اکسیداسیون، خطوط تحقیقاتی زیادی را بر روی تغذیه و متابولیسم ماهی‌ها در سال‌های اخیر راه گشایی کرده است (Trenzado *et al*.,2006; Morales *et al*., 2004).

مطالعات بیشتر اطلاعات دقیق‌تری را در رابطه با عکس العمل دفاعی آنتی اکسیدان تحت شرایط مختلف همچنین مکانیسم‌های منظم این عکس العمل مهیا می‌سازد که بی‌شک جنبه‌های سودمند آن مربوط به پرورش و تولید ماهی خواهد بود. آنتی اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که قابلیت آهسته کردن یا جلوگیری از اکسید شدن سایر مولکول‌ها را دارند. آنتی اکسیدان‌ها با برداشتن رادیکال‌های آزاد واسطه‌ای برای پایان دادن به این زنجیره وارد واکنش‌ها می‌شوند و از سوی دیگر با اکسید کردن خودشان، سایر واکنش‌های اکسیداتیو را مهار می‌کنند. این عوامل به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند، آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل ویتامین E و C می‌باشد و آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مثل سوپر اکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) به عنوان آنزیم‌هایی که نقش اصلی را در فعالیت آنتی اکسیدان دارند. شناخته می‌شوند (Speers-Roesch & Ballantyne, 2005; Trenzado *et al*., 2006). بهره‌مندی از عواملی که سبب فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شود قطعاً نقش مهمی در سلامت جامعه خواهد داشت. یکی از عمده‌ترین عوامل، تغذیه مناسب می‌باشد. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به دلیل وجود پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع ضروری، مواد معدنی و ویتامین‌ها نقش به سزایی در تغذیه مناسب دارد (Guler *et al*., 2008). علاوه بر آن، چگونگی تغذیه ماهی در دوره پرورشی نیز بر این پتانسیل می‌افزاید به گونه‌ای که در حال حاضر پرورش دهندگان به دنبال بهینه کردن غذای آبزیان، تغذیه آبزیان از پروبیوتیک‌ها و مکمل‌های غذایی هستند تا بتواند بر ارزش‌های غذایی و آنتی اکسیدانی ماهی تولیدی بیافزایند. اغلب مطالعات انجام گرفته بر تغییر دفاع‌های آنتی اکسیدانی در موجودات آبزی استوار است که از تنش ناشی از تغییرات شوری، نوسانات آب و هوایی، کمبود اکسیژن، پیری، آلودگی ناشی از حشره‌کش‌ها و فلزات سنگین و غیره جلوگیری نماید.

در این میان مطالعات اندکی درباره تأثیر متغیر وضعیت تغذیه‌ای بر روی آنزیم‌های آنتی اکسیدان‌ها در ماهی صورت گرفته است(Go¨tz *et al*., 2005). در خصوص تأثیر اسپیرولینا بر روی ماهی قزل آلا تاکنون پژوهشی در کشور صورت نپذیرفته است اما در سایر کشورها تأثیر دوزهای مختلف اسپیرولینا یا

کاروتنوئیدهای استخراج شده از آن بر گروه‌های وزنی در گونه‌های آزاد ماهیان، کپور ماهیان و به ویژه کپور معمولی (Ramakrishna *et al.*,2008)، انواع گونه‌های تیلاپیا (Abdel-tawwad *et al.*,2008)، گربه ماهیان (Tongsiri *et al.*, 2010) و ... مورد بررسی قرار گرفته است. در تمامی موارد پارامترهای عمومی نظیر میزان رشد، میزان تولید آنتی بادی در خون ماهی، ترکیبات بافت، ترکیب رنگدانه‌ها، پارامترهای خونی مورد سنجش قرار گرفته است و در بین تحقیقات گسترده انجام شده بررسی فعالیت‌های آنتی اکسیدانی پس از مصرف اسپیرولینا به چشم نمی‌خورد. اسپیرولینا نوعی سیانوباکتر مارپیچی شکل غنی از اسیدفولیک، فیکوسیانین، توکروفول، کاروتنوئید به ویژه بتاکاروتن، پروتئین، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب ضروری است و از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارد. در کشورهای استرالیا، امریکا و مکزیک اسپیرولینا به عنوان مکمل غذایی، غذای دام و طیور و در کشور چاد به عنوان غذای انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Belay, 2002). اسپیرولینا هم اکنون هم در بسیاری از داروخانه‌ها به عنوان مکمل غذای انسان معرفی می‌گردد. تحقیقات اخیر نیز گویای آن است که مصرف اسپیرولینا قادر است تا حدی استرس‌های ناشی از اکسیداسیون را تحمل نموده و به مقابله و حذف رادیکال‌های آزاد بپردازد (Orbea *et al.*, 2007). هدف از این تحقیق بررسی تغییرات سطح آنزیم آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز در عضله، کبد و طحال ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با *Spirulina platensis* است.

مواد و روش‌ها

مراحل پژوهش در مزرعه پرورش ماهی قزل‌آلای اویسی در سولقان (استان تهران) انجام شده است. ابتدا فاکتورهای درجه حرارت و میزان اکسیژن آب که از فاکتورهای مؤثر بر کیفیت آب جهت آبزی پروری هستند، سنجیده و ثبت شد. تعداد ۱۲۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن ۲±۱۷ گرم و میانگین طول ۰/۳۷±۱۱/۳۹ سانتی‌متر انتخاب گردید. ماهی‌ها به سه گروه آزمایشی در استخرهای مجاور و مجزا وارد شدند که به ترتیب ۷/۵، ۵ و ۲/۵ درصد پودر خشک *Spirulina platensis* دریافت کردند و دو گروه هم به عنوان شاهد، بدون تغذیه با اسپیرولینا (شاهد ۱) و بدون تغذیه با اسپیرولینا با بایندر (شاهد ۲) در نظر گرفته شد. از روغن کُلزا به عنوان هم بند استفاده شد. پس از وزن کردن میزان غذای مورد نیاز هر استخر بر اساس دوزهای اشاره شده، پودر اسپیرولینا مورد آزمون به غذای ماهی اضافه گردید. تغذیه به مدت ۹۰ روز و روزانه ۳ بار با جیره آماده شده، انجام شد. سپس ماهی‌ها به صورت تصادفی با استفاده از ساچوک گرفته شده و با استفاده از پودر میخک بیهوش شدند.

نمونه‌های کبد، طحال و عضله جدا گردید و هرعضو به صورت جداگانه در فالکون قرار داده شد و سریعاً به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Trenzado *et al.*, 2005).

سنجش آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

در محیط آزمایشگاه، نمونه‌ها از فریزر خارج و به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد رسانده شدند. نمونه‌های بافت کبد، طحال و عضله ماهی قزل‌آلا به وسیله ترازوی حساس وزن شد و در بافر لیز سلولی [۵۰mM بافر سدیم فسفات با ۰/۴ mM اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EADTA)، pH =۷/۴] قرار گرفته و به کمک هموژنایزر دستی و به مدت ۲ دقیقه هموژن شدند. نمونه‌های هموژن شده به لوله‌های سانتریفوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. محلول رویی نمونه‌ها با دقت به لوله جدیدی منتقل شد و رسوب باقی‌مانده دور ریخته شد. محلول رویی جمع‌آوری و جهت سنجش آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز مطابق روش‌های آنزیمی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

در روش وندال گلوتاتیون احیاء توسط گلوتاتیون پراکسیداز به فرم گلوتاتیون اکسید شده تبدیل می‌شود و فرم اکسید شده در حضور گلوتاتیون ردوکتاز و NADPH به فرم گلوتاتیون احیاء و NADPH به $NADP^+$ تبدیل می‌شود. تغییرات جذب نوری در طول موج ۳۴۰nm اندازه‌گیری شد (Wendel,1980).

سنجش پروتئین

مقدار ۵۰۰ میلی لیتر نمونه با ۶/۵ میلی‌لیتر محلول بافر مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شد (محلول بافر: ۱۲۱/۴ گرم تریس HCL را در یک لیتر آب مقطر مخلوط شد تا pH=۶/۸ برسد). سپس پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد. برای تهیه معرف برادفورد ابتدا ۱۰ میلی‌گرم کوماسی بلو G-250 در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ حل شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد به آن اضافه شد. در نهایت حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و از صافی عبور داده شد (Bradfor ,1976).

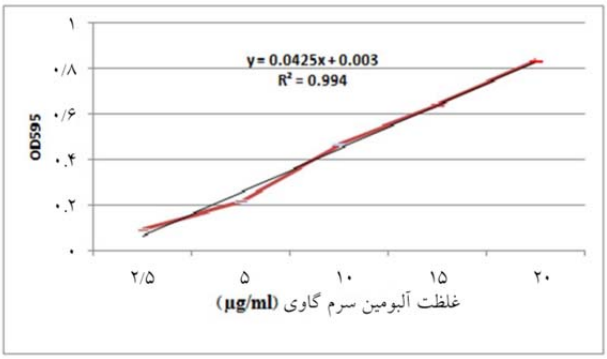
برای رسم منحنی استاندارد پروتئین، ابتدا غلظت‌های مختلفی از سرم آلبومین گاوی در آب مقطر تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از ماده آلبومین گاوی در یک میلی لیتر بافر حل و به حجم رسانده شد. پس از آن رقت‌هایی از سرم آلبومین گاوی ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه و جذب نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Lowry *et al.*, 1951) . برای به دست آوردن فعالیت ویژه آنزیمی از فرمول زیر استفاده گردید (Bradford, 1976). غلظت پروتئین/ (که براساس روش بیان شده در کیت محاسبه شده) فعالیت آنزیم = فعالیت ویژه آنزیم

تحلیل آماری

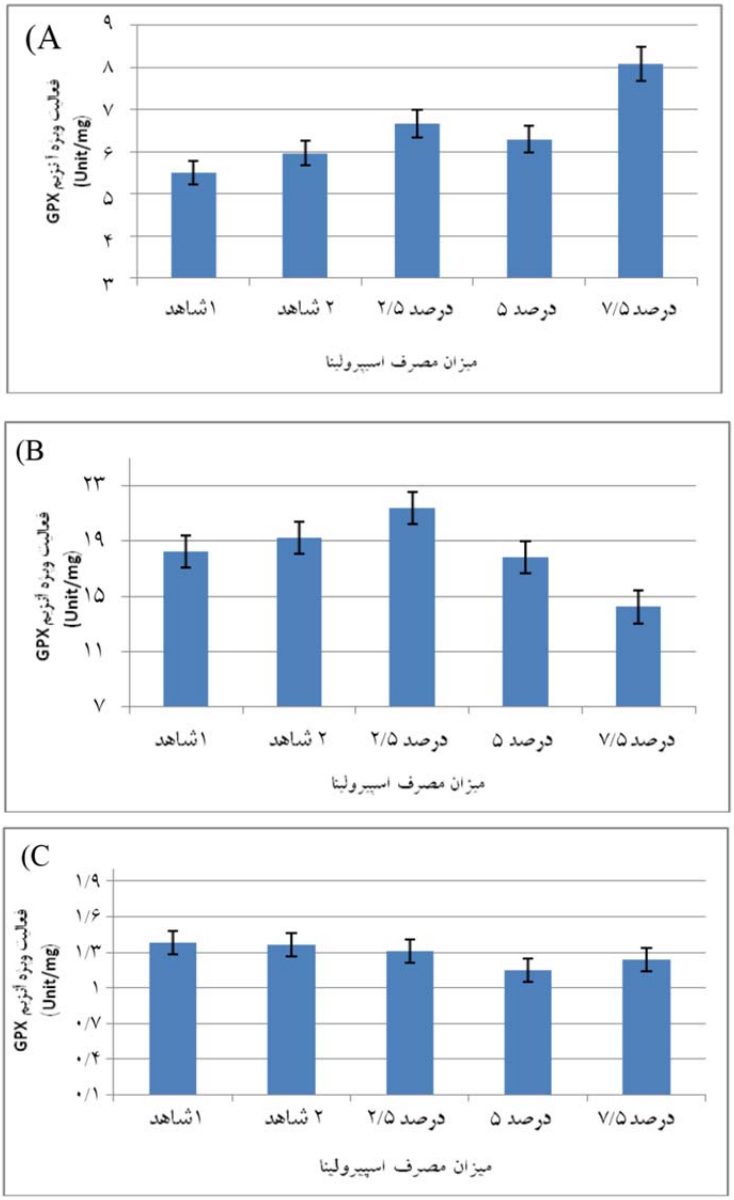
برای تحلیل آماری از بسته نرم‌افزاری SPSS و Excel استفاده شد. بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین گروهای تغذیه شده با اسپیرولینا و شاهد با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفت. از آزمون درون گروهی Tukey نیز برای مقایسه نتایج مورد استفاده قرار گرفت. برای آزمون نرمال بودن داده‌ها از آزمون Komogrov Smeirnow استفاده شد و از آزمون پیرسون جهت بررسی همبستگی بین داده‌ها استفاده گردید (Box *et al.*,2007).

نتایج

پس از ۹۰ روز تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با سه دوز اسپیرولینا به همراه دو گروه شاهد، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت طحال، کبد و عضله و مقایسه با میزان پروتئین (شکل ۱) مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل در شکل (۲) ارائه شده است.



شکل۱- استاندارد سنجش پروتئین با استفاده از آلبومین گاوی



شکل۲- فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های طحال:A، کبد: B و عضله:C در قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با *Spirulina platensis*

براساس نمودار A در شکل (۲) بیشترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت طحال ماهی قزل‌آلای رنگین کمان معادل ۸/۰۹ Unit/mg هنگام تغذیه با ۷/۵ درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی به دست آمد. کمترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت طحال ماهی قزل‌آلای رنگین کمان معادل ۵/۵۱ Unit/mg هنگام تغذیه با صفر درصد اسپیرولینا (شاهد صفر درصد) در رژیم غذایی به دست آمد. با انجام تست ANOVA همراه با تست درون گروه Tukey اختلاف معنی‌داری بین غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت طحال در ماهیان تغذیه شده با اسپیرولینا تغذیه‌ها مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$).

طبق نمودار B در شکل (۲) بیشترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان معادل ۲۱/۴ Unit/mg هنگام تغذیه با ۲/۵ درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی به دست آمد.

کمترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان معادل ۱۴/۲۲ Unit/mg هنگام تغذیه با ۷/۵ درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی مشاهده شد. با انجام تست ANOVA همراه با تست درون گروه Tukey اختلاف معنی‌داری بین غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد ماهی مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$).

طبق نمودار C در شکل (۲) بیشترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان معادل ۱/۳۸ Unit/mg هنگام تغذیه با شاهد صفر درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی به دست آمد. کمترین فعالیت ویژه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان معادل ۱/۱۵ Unit/mg هنگام تغذیه با ۵ درصد اسپیرولینا در رژیم غذایی به دست آمد. با انجام تست ANOVA همراه با تست درون گروه Tukey اختلاف معنی‌داری بین غلظت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت عضله برای تغذیه‌ها مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده در شکل (۲) مشخص شد که روند افزایشی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت طحال و از طرفی روند کاهشی فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های کبد و عضله با افزایش رژیم غذایی اسپیرولینا در دوزهای ۵ و ۷/۵ درصد بود. علت کاهش فعالیت آنزیم GPX در کبد و عضله در دوزهای ۷/۵ و ۵ درصد می‌تواند به این دلیل باشد که گلوتاتیون پراکسیداز آخرین آنزیمی است که وارد واکنش ضد اکسایشی می‌شود (Schneider *et al.*, 2005). با افزایش اسپیرولینا به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا بیشترین میزان فعالیت ویژه آنزیم GPX با رژیم غذایی ۲/۵ درصد در کبد و کمترین میزان آن با رژیم غذایی ۵ درصد در عضله بوده است. بیشترین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های کبد و کمترین میزان فعالیت آنزیم در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مشاهده شد. در حال حاضر مشخص شده است که کبد مهره‌داران متابولیسم و مصرف اکسیژن بالایی دارد و احتمالاً بهترین وضعیت دفاعی آنتی اکسیدان را در ارگانیسم‌ها نشان می‌دهد (Trenzado *et al.*, 2006). کبد در مطالعه حاضر بهترین دفاع آنتی اکسیدانی را نشان داد. با افزایش اسپیرولینا در رژیم غذایی میزان GPX در کبد افزایش یافت در حالی که ماهیچه کمترین فعالیت آنزیمی را داشت. تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بافت‌های مختلف از الگوی متفاوتی پیروی می‌کند. میزان فعالیت مناسب آنزیم GPX در بافت کبد، توانایی لازم برای خنثی کردن واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را داشته و بدین سبب میزان این آنزیم در این تغذیه، تغییر معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد پیدا نکرده است. افزایش گلوتایتون پراکسیداز در طحال نشان دهنده افزایش دفاع بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

کاهش میزان گلوتاتیون پراکسیداز و تغییر فعالیت آنزیم‌ها احتمالاً نشان دهنده نارسایی سیستم دفاعی آنتی اکسیدان برای مقابله با رادیکال آزاد و آسیب اکسیداتیو می‌باشد (Habig *et al.*, 1974). طبق تحقیقاتی که توسط Halliwell و همکاران در سال ۲۰۰۰ در شرایط محیط بر روی ماهی دهان‌گرد دریایی انجام شد، میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در ماهی دهان گرد دریایی در بافت کبد و عضله ماهی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد بالا و در عضله پایین است (Halliwell *et al.*, 2000). در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در کبد بالا و در عضله پایین‌تر بود و تفاوت معنی‌داری در هیچ یک از بافت‌ها مشاهده نشد که با مطالعات انجام شده توسط Halliwell و همکاران در سال ۲۰۰۰ سازگاری دارد. در همین راستا تحقیقی که توسط Trenzado و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ماهی قزل‌آلا و ماهی خاویاری انجام شد و طی آن مشخص گردید، فعالیت

آنتی اکسیدانی GPX در بین بافت‌های مختلف کبد، عضله و پوست در ماهی قزل‌آلا و ماهی خاویاری بیشترین میزان GPX در هر دو گونه مربوط به بافت کبد است. تحقیق حاضر با یافته‌های نتایج حاصل از تحقیقات Trenzado و همکاران در سال ۲۰۰۶ همخوانی ندارد، زیرا این تحقیق در شرایط محیطی انجام گرفته و عوامل محیطی بر روی میزان فعالیت آنزیم‌ها تأثیر می‌گذارد، مثلاً درجه حرارت پایین‌تر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را کاهش می‌دهد (Trenzado *et al*., 2006).

در تحقیق حاضر اثرات تغذیه‌ای اسپیرولینا در ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار گرفته است، چرا که اسپیرولینا دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و دارای رنگدانه زیادی از جمله بتا کاروتن که خود آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی، محلول در چربی می‌باشد، پیش ساز ویتامین A و قادر به ذخیره سازی ویتامین A در بدن ماهی می‌شود. از طرف دیگر کبد از طریق ذخیره سازی موقت بتاکاروتن به عنوان یک اندام متابولیک عمل می‌کند (Yamashita *et al*., 1996) و در نهایت سبب القای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌گردد. مطالعات محققان دیگری که ارتباط فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز را در کبد و کلیه‌ی قزل‌آلای رنگین کمان مطالعه کرده‌اند، نشان می‌هد که GPX به عنوان آنتی‌اکسیدان باعث افزایش حلالیت سموم و دفع سموم از طریق کلیه می‌شود. بنابر این نقش مهمی در محافظت بافت‌ها علیه آسیب و استرس اکسیداتیو دارد (Otto *et al*., 1996). در مطالعه انجام شده توسط Hui و همکاران در سال ۲۰۰۹ به بررسی رژیم غذایی حاوی آرتمیا بر روی لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند. آن‌ها مشاهده نمودند که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در بین بافت‌های آبشش، مغز، ماهیچه و کبد مربوط به کبد می‌باشد. در واقع GPX سطح بالاتری را در لاروی که با آرتمیا تغذیه شده بود را نشان داد و تفاوت معنی‌داری در سایر بافت‌ها مشاهده نشده بود که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. افزایش فعالیت GPX احتمالاً سازگاری را به شرایط اکسایشی نشان می‌دهد که ماهی در معرض آن قرار گرفته است. اگرچه فعالیت GPX در آبشش‌ها و مغز بعد از مدت زمان تماس طولانی افزایش یافت که افزایش ROS را در این اندام اثبات می‌نماید که ممکن است به این دلیل باشد که آبشش‌ها و مغز کمتر از احشاء و ماهیچه در خنثی‌سازی اثر آسیب‌رسان پیروکسیدی مؤثر باشند (Hui *et al*., 2009). فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در بین بافت‌های طحال، کبد و عضله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P\geq ۰/۰۵$). که احتمالاً می‌تواند مربوط به تفاوت‌های متابولیک و نوع عملکرد بافت‌های طحال، کبد و عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ماهی باشد. به طوری که در این خصوص به نظر می‌رسد که میزان چربی بافت‌ها نیز می‌تواند عامل مهمی در فعالیت آنزیم‌ها در اندام‌های مختلف مانند عضله و کبد باشد (Farkas *et al*., 2002).

با بررسی همبستگی میان آنزیم‌ها و رژیم غذایی ارتباط خطی معنی‌داری میان رژیم غذایی و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به دست آمد ($P\geq ۰/۰۵$). بررسی حاضر نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در کبد بیشتر از طحال و عضله می‌باشد. در واقع کبد بافتی است که تنظیم ترکیبات بدن را عهده‌دار است که فعالیت زیستی آن نسبت به طحال و عضله بیشتر می‌باشد و همچنین آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز فعالیت بیشتری را در کبد دارد. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی که جزئی از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی هستند به مقابله و حذف رادیکال آزاد می‌پردازد. بدین ترتیب استفاده از اسپیرولینا در رژیم غذایی ماهی می‌تواند تا حدی باعث تحمل استرس‌های اکسیداتیو گردد.

سپاسگزاری

مراحل اجرایی این تحقیق در آزمایشگاه پژوهشگاه شرکت نفت انجام شد. بدین وسیله از پرسنل محترم بخش پژوهشکده محیط زیست بیوتکنولوژی تشکر

می‌گردد.

منابع

Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M. H., Abdelhadi, Y. M. & Sesden, M. E. A. 2008. Use of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fry challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1015-1032.

Belay, A. 2002. The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *Journal of the American Nutraceutical Association*, 5(2): 26-50.

Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A. & Deuderi, S. 2007. Assessment of environmental pollution at Blearic Islands applying oxidative stress biomarkers in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology,* 146: 531-539.

Bradford, M. 1976.A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry,* 72:248-254.

Farkas, A., Salanki, J. & Specziar, A. 2002. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* L. populating Lake Balaton. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* 43(2):236-243.

Felton, G. W. 1995. Oxidative stress of vertebrates and invertebrates. In Ahmad, S. (Ed.), Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. Chapman and Hall, New York.

Go¨tz, M. E., Malz, C. R., Dirr, A., Blum, D., Gsell, W., Schmidt, S., Burger, R., Pohli, S. S, & Riederer, P. 2005. Brain aging phenomena in migrating sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka nerka*. *Journal of Neural Transmission,* 112:1177–1199.

Guler, G. O., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O.B. & Ozparlak, H. 2008. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and w3/w6 ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry,* 108, 689–694.

Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. 1974. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry,* 249(22):7130-9.

Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. 2000. Free radicals in biology and medicine, 3th ed. Oxford University Press, Oxford.

Hu, D., Klann, E. & Thiels, E. 2007. Superoxide dismutase and hippocampus function: age and isozyme matter. *Antioxidants and Redox Biology,* 9:201–210.

Hui, Z., Mu, Z., Xu, L. M., Xu, G., Liu, M. & Shan,S.2009. Dietary lipid level induced antioxidant response in Manchurian Trout, *Brachymystax lenok* (Pallas) Larvae. *Lipids*, 44: 643–654.

Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R.J 1951. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry,* 193:256-275.

Martínez-Álvarez, R. M., Morales, A.E. & Sanz, A. 2005. Antioxidant defenses in fish Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries,* 15:75–88.

Morales, A. E., Pérez-Jiménez, A., Hidalgo, M.C., Abellán, E. & Cardenete, G. 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology,* 139C: 153–161.

Orbea, A., Marigómez, I., Fernández, C., Tarazona, J.V., Cancio, I. & Cajaraville, M. P. 1999. Structure of peroxisomes and activity of the marker enzyme catalase in digestive epithelial cells in relation to PAH content of mussels from two Basque estuaries (Bay of Biscay): seasonal and site specific variations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* 36: 158–166.

Otto, D. M. E. & Moon, T.W. 1996. Endogenous antioxidant systems of two teleost fish, the Rainbow trout and the black bullhead, and the effect of age. *Fish Physiology and Biochemistry,* 15: 349–358.

Ramakrishna, C. M., Hnnifa, M. A., Manohar, M., Dhanaraj, M., Arockiarai, A. J., Seetharaman, S. & Arunsingh, S.V. 2008. Effects of probiotics and *Spirulina* on survival and growth of Common crap

Tongsiri, S., Mang-Amphan, K. & Peerapornpisal, Y. 2010. Characterization of amylase, cellulose and proteinase enzyme in stomach and Intestine of the mekong Giant catfish fed with various diets consisting of *Spirulina*. *Journal of Biological Sciences,* 2 (4): 267-274.

Trenzado, C., Hidalgo, M. C., García-Gallego, M., Morales, A., E., Furné, M., Domezain, A., Domezain, J. & Sanz, A. 2006. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*, 254:758–767.

Wendel, A. 1980. Enzymatic basis of detoxication. Volume 1. Academic Press. New York.

(*Cyprinus carpia*). *Israeli Journal of Aquaculture,* 60(2):128-133.

Rudneva,I. I., Skuratovskaya, E. N., Kuzminova, N. S.& Kovyrshina, T. B.2010. Age composition and antioxidant enzyme activities in blood of Black Sea. *Teleosts*, 151: 229–239.

Schneider, C. D., Barp, J., Ribeiro, J. L., Bello, K. A. & Oliveira, A. R.2005. Oxidative stress after three different intensities of running. *The Canadian Journal of Applied Physiology,* 30:723-34.

Speers-Roesch, B. & Ballantyne, J. S. 2005. Activities of antioxidant enzymes and cytochrome c oxidase in liver of arctic and temperate teleosts. *Comparative Biochemistry and Physiology,* 140A: 487-494.