

اثر مکمل غذایی جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر شاخص‌های ایمنیکمپلمان و لیزوزیم ماهی بنی انگشت قد (*Mesopotamichthys sharpeyi* (Gunther, 1874)

رضا سلیقه زاده\*، وحید یاورى، سید محمد موسوی، محمد ذاکری

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	در این تحقیق اثر سطوح مختلف مکمل تغذیه‌ای اسپیرولینا بر برخی از فاکتورهای ایمنی ماهی بنی انگشت قد <i>Mesopotamichthys sharpeyi</i> به مدت ۸ هفته مورد مطالعه قرار گرفت. پودر جلبک اسپیرولینا در سطوح ۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد به جیره غذایی پایه افزوده شد. غذاهای ماهیان آزمایشی طی دوره آزمایش در حد سیری و ۲ بار در روز انجام گردید. نتایج آزمایش نشان داد که میزان کمپلمان های C <sub>3</sub> و C <sub>4</sub> و لیزوزیم در ماهیان بنی که با جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد اسپیرولینا تغذیه شده بودند نسبت به گروه کنترل از میزان بالاتری برخوردار بودند. میزان C <sub>3</sub> و C <sub>4</sub> و فعالیت لیزوزیم در تیمار ۱۰٪ بیشتر از سایر تیمارها بود، و اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۵). براساس نتایج این تحقیق، مکمل تغذیه‌ای اسپیرولینا در سطح ۱۰ درصد باعث افزایش شاخص‌های ایمنی کمپلمان ها و لیزوزیم در ماهی بنی می‌شود.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۳/۰۶/۲۹	
اصلاح: ۹۳/۰۹/۲۰	
پذیرش: ۹۳/۱۰/۰۱	
کلمات کلیدی:	
کمپلمان	
لیزوزیم	
<i>Spirulina platensis</i>	

## مقدمه

معمولاً آبزیان به منظور افزایش تولید در واحد سطح، در محیط‌های محصور مانند استخر و قفس با تراکم بالا پرورش می‌یابند؛ این تراکم بیش از حد باعث بروز اثرات منفی بر سلامت آبی نظیر افزایش حساسیت نسبت به بیماری‌ها می‌گردد (Sakai, 1999). اخیراً استفاده از محرک‌های ایمنی در پرورش آبزیان جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی و ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها رایج شده است و به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها معرفی شده‌اند (علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱). برخی مطالعات نشان داده است که استفاده از جلبک‌های خشک شده به عنوان محرک ایمنی در صنعت آبی پروری باعث بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به استرس و بیماری می‌شود (Jaime-Ceballos et al., 2005).

جلبک‌های خشک شده به عنوان مکمل غذایی در آبی پروری باعث افزایش رشد، کارایی غذا و کیفیت بیوشیمیایی لاشه در آبزیان مختلف می‌شوند (Jaime-Ceballos et al., 2005). یکی از جلبک‌های سبز-آبی اسپیرولینا می‌باشد که حاوی مقدار زیادی پروتئین، اسیدهای چرب ضروری (گاما-لینولنیک اسید)، پلی‌ساکاریدها، فیکوبیلی پروتئین‌ها، بتاکاروتنئید، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد (Peiretti and Meineri, 2008). جلبک *Spirulina platensis* از جلبک‌های سبز-آبی بوده که در محیط‌های مختلف به ویژه آبهای شور و لب شور یافت می‌شود (Hu, 2004). این جلبک به دلیل دارا بودن مقادیر بالای پروتئین، ویتامین، مواد معدنی، آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب و رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر بتاکاروتن

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [Salighezadeh@yahoo.com](mailto:Salighezadeh@yahoo.com)

(Jaime-Ceballos *et al.*, 2005) و به دلیل عدم وجود سلولز در ترکیب ساختاری خود و مقدار پایین اسید نوکلئیک به راحتی مورد هضم و جذب در بدن قرار می‌گیرد. همچنین در این گونه به دلیل وجود فیکوسیائین، ویتامین B<sub>12</sub>، فنوتیک اسیدها و توکوفرول ها، افزایش هضم چربی ها و جلوگیری از اکسیداسیون چربی ها گزارش شده است (Oh *et al.*, 2011). از این رو جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس به عنوان یک پروبیوتیک و تقویت کننده سیستم ایمنی در ماهی مطرح است (James *et al.*, 2009).

امروزه اسپیرولینا به صورت گسترده در صنعت آبی پروری به عنوان محرک ایمنی استفاده می‌شود و در تحقیقات اخیر، اثرات جلبک *Spirulina platensis* به عنوان محرک ایمنی و تقویت کننده سیستم ایمنی در آبزیان مختلف گزارش شده است (Hu, 2004; Abdel-Tawwab *et al.*, 2008; Watanuki *et al.*, 2006; Promya and Chitmanat, 2011; Phromkunthong and Pipattanawattanukul, 2005).

ایمنی در ماهیان همانند سایر مهره داران به دو صورت اختصاصی و غیراختصاصی تظاهر می‌یابد. سیستم ایمنی غیراختصاصی از دو بخش ایمنی سلولی و هومورال تشکیل می‌شود، که لیزوزیم و کمپلمان ها جزو مولکول های دفاعی هومورال سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشند. لیزوزیم در بسیاری از مهره داران وجود دارد و یکی از فاکتورهای دفاعی در برابر عوامل بیماریزا است (Iwama and Nakanishi, 1996). لیزوزیم توسط گلبول های سفید منتشر می‌شود و در ترشحات موکوسی، آبشش ها، بافت های کلیه، طحال، دستگاه گوارش و سرم خون یافت می‌شود. لیزوزیم بر روی اجزای پپتیدو گلیکانی دیواره سلولی میکروارگانیزم ها اثر می‌گذارد. در حالی که برخی از باکتری ها مستقیماً توسط لیزوزیم لیز می‌شوند. در اکثر موارد غشای خارجی دیواره سلولی باکتری باید توسط کمپلمان پاره شده تا لیزوزیم به راه ورود دسترسی یابد (سلطانی، ۱۳۸۷). کمپلمان ها از مهمترین فاکتورهای دفاعی هستند که از حدود ۳۵ پروتئین محلول در پلاسما تشکیل شده اند و نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند (Boshra and Sunyer, 2006). سیستم کمپلمان به وسیله دو مسیر مختلف اما همگرا فعال می‌شود که شامل مسیر وابسته به ایمنوگلوبین یا مسیر کلاسیک، مستقل از ایمنوگلوبین یا مسیر فرعی است. روش کلاسیک زمانی که سلول های هدف با آنتی بادی پوشیده می‌شوند فعال شده و غشای سلول هدف را از بین می‌برد. روش آلترناتیو توسط عوامل خصوصی مثل سموم باکتریایی، پلی ساکارید، زیموژن و غیره فعال می‌شود. بسیاری از محرک های ایمنی باعث افزایش فعالیت کمپلمان در سرم ماهیان می‌شوند (Montero *et al.*, 1999).

ماهی بنی با نام علمی *Mesopotamichthys sharpeyi* (Günther, 1874) از خانواده کپورماهیان و از جنس *Barbinae* می‌باشد. ماهی بنی جزو ماهیان تجاری تالاب های خوزستان می‌باشد که به دلیل رشد نسبتاً مناسب، تحمل شرایط نامساعد محیطی با مقاومت بالا در آب های راکد و گرم با میزان اکسیژن کم و همچنین ارزش اقتصادی بالا برای پرورش در بین ماهیان بومی از اهمیت زیادی برخوردار است (بساک کاهکش و همکاران، ۱۳۸۹). ماهی بنی در بین ساکنین جنوب و جنوب غربی استان خوزستان از محبوبیت خاصی برخوردار است و به عنوان یکی از منابع مهم تأمین پروتئین مورد نیاز اهالی این مناطق محسوب می‌شود (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸). این گونه در مناطق محدودی از دنیا پراکنش دارد، زیستگاه اصلی آن در استان خوزستان تالاب هورالعظیم و تالاب شادگان می‌باشد (بساک کاهکش و همکاران، ۱۳۸۹). استقبال تولیدکنندگان جهت پرورش، افزایش تقاضای مصرف کنندگان، کاهش میزان صید از آبهای داخلی و نیاز به بازسازی ذخائر، ضرورت تولید این ماهی از طریق آبی پروری را نسبت به گذشته به طور چشم گیری افزایش داده است (محمدیان و همکاران، ۱۳۸۸).

این تحقیق نیز با هدف بررسی اثر سطوح مختلف مکمل تغذیه ای اسپیرولینا بر روی برخی از پارامترهای سیستم ایمنی غیراختصاصی شامل کمپلمان ها و میزان فعالیت لیزوزیم ماهی بنی انگشت قد انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در پاییز سال ۹۰ در آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام شد. ۵۰۰ قطعه ماهی مورد نیاز از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان شهید ملکی اهواز تهیه و به مدت ۲ هفته به منظور سازگاری با شرایط در تانک های ۳۰۰

لیتری نگهداری شدند. پس از رقم بندی، تعداد ۳۰۰ قطعه از ماهیان با میانگین وزنی  $9/35 \pm 0/55$  گرم در داخل ۱۵ تانک مدور ۳۰۰ لیتری (آبگیری ۲۵۰ لیتر) به تعداد ۲۰ قطعه در هر مخزن (۵ تیمار و ۳ تکرار) ذخیره سازی شدند. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۸ هفته انجام شد. اندازه گیری عوامل کیفی آب نظیر درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH به صورت روزانه انجام گرفت. قبل از شروع آزمایش به منظور سازگاری، ماهیان به مدت دو هفته با جیره پایه تغذیه شدند. بعد از مرحله سازگاری در ابتدای آزمایش زیست سنجی وزن و طول ماهیان انجام شد. پودر جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) استفاده شده در این آزمایش ساخت شرکت فار ایست میکروآلگ<sup>۱</sup> تایوان می بود که از طریق نمایندگی این شرکت در ایران (شرکت سینا ریز جلبک قشم) تهیه گردید. سپس با توجه به تیمارهای تعیین شده در ۴ سطح ۲/۵٪، ۵٪، ۷/۵٪ و ۱۰٪ به جیره پایه اضافه گردید. تیمار کنترل شامل جیره پایه بدون افزودن مکمل جلبکی بود. جیره غذایی پایه مورد استفاده در این آزمایش از جیره غذایی تجاری کپور ماهیان (ساخت شرکت ۲۱ بیضاء شیراز) و به صورت پودری استفاده گردید. برای ساخت جیره های غذایی، ابتدا جیره پودر شده و پودر اسپیرولینا مورد نیاز با استفاده از ترازو، با دقت ۰/۰۱ گرم وزن کشی شدند و پس از مخلوط کردن به صورت دستی، مقدار معینی آب به آنها اضافه شد تا حالت خمیر مانند پیدا کند. خمیر حاصله با استفاده از چرخ گوشت دارای صافی ۲/۵ میلیمتر به رشته های طویل تبدیل و در مرحله بعد درون خشک کن در دمای ۳۸ درجه به مدت ۵ ساعت قرار گرفت تا خشک شدند (Tewary and Patra, 2011). اجزای غذایی و آنالیز بیوشیمیایی تقریبی جیره غذایی پایه مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱. اجزا و ترکیب ساختاری جیره غذایی مورد استفاده در آزمایش (درصد ماده خشک)

اجزای غذایی %	جیره غذایی			
	کنترل	تیمار ۲/۵٪	تیمار ۵٪	تیمار ۷/۵٪
پودر اسپیرولینا	-	۲/۵	۵	۷/۵
پودر ماهی	۳۹	۳۹	۳۹	۳۹
آرد سویا	۲۳	۲۳	۲۳	۲۳
کازئین	۱۵	۱۳/۵	۱۲	۱۰/۵
روغن ماهی	۳	۳	۳	۳
روغن آفتاب گردان	۳	۳	۳	۳
آرد گندم	۷/۵	۷	۶/۵	۶
آرد برنج	۷/۵	۷	۶/۵	۶
مخلوط ویتامین	۱	۱	۱	۱
مخلوط مواد معدنی	۱	۱	۱	۱

<sup>۱</sup> Far east microalgae

جدول ۲. آنالیز تقریبی جیره های غذایی مورد استفاده در تحقیق حاضر

نوع جیره	پروتئین (%)	چربی (%)	کربوهیدرات (%)	خاکستر (%)	رطوبت (%)	انرژی کل (Mj/g)
کنترل	۴۹/۳۹	۸/۲۶	۲۲/۶۵	۹/۳۳	۱۰/۳۷	۱/۸۸
٪ ۲/۵	۴۹/۲۷	۸/۸۹	۲۲/۴۵	۹/۳۳	۱۰/۰۶	۱/۹
٪ ۵	۴۹/۳۳	۹/۳۶	۲۲/۵۸	۹	۹/۷۳	۱/۹۲
٪ ۷/۵	۴۹/۵۵	۱۰/۰۲	۲۱/۲۸	۹/۶۶	۹/۴۹	۱/۹۳
٪ ۱۰	۴۹/۹۹	۱۰/۲۶	۲۰/۸۴	۹/۶۶	۹/۲۵	۱/۹۵

انرژی کل از حاصل ضرب ۰/۰۱۷، ۰/۰۳۹۸ و ۰/۰۲۲۷ به ترتیب برای کربوهیدرات، چربی و پروتئین محاسبه گردید. کربوهیدرات = (رطوبت + خاکستر + پروتئین + چربی) - ۱۰۰

ماهیان به مدت ۵۶ روز با جیره های غذایی ساخته شده به روش سیری و روزانه ۲ مرتبه (ساعت ۹ و ۱۶) تغذیه شدند. بر اساس تغذیه به روش سیری تعداد پلت های باقی مانده پس از ۲۰ دقیقه شمارش و از تانک ها سیفون گردید. در پایان بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی تعداد ۱۲ ماهی از هر تانک به طور تصادفی نمونه برداری گردید. پس از بیهوشی ماهی با ماده اوژنول به منظور جلوگیری از اثرات استرس خونگیری، نمونه خون از سیاهرگ دمی گرفته شد. پس از جداسازی سرم میزان فعالیت لیزوزیم سرم در انتهای آزمایش با استفاده از روش کدورت سنجی و به روش توصیه شده توسط (Ellis, 1990) اندازه گیری گردید. برای اندازه گیری میزان کمپلمان های C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> از کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و روش کدورت سنجی ایمنی<sup>۲</sup> استفاده شد. داده ها در نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (Mean $\pm$ S.E) بیان شده است. نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Shapiro-Wilk مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) جهت مقایسه بین تیمارها استفاده شد و در صورت معنی دار بودن به کمک پس آزمون Tukey مقایسات چندگانه صورت گرفت. آزمون ها در محیط نرم افزار SPSS 18 و در سطح خطای ۰/۰۵ انجام شد (Ungsethaphand et al., 2010).

## نتایج

میانگین درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH آب در طی دوره آزمایش به ترتیب  $25/63 \pm 0/84$  درجه سانتیگراد،  $7/11 \pm 0/36$  میلی گرم بر لیتر و  $7/42 \pm 0/18$  بودند. نتایج مربوط به پارامترهای ایمنی در جدول ۳ ارائه شده است. در انتهای آزمایش غلظت پارامترهای ایمنی شامل میزان فعالیت لیزوزیم و کمپلمان های C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> در انتهای آزمایش اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) بین گروه کنترل و تیمارها داشتند.

جدول ۳. فاکتورهای ایمنی تیمارهای مختلف بچه ماهیان انگشت قد بنی در انتهای دوره آزمایش

شاخص	کنترل	تیمار ۲/۵٪	تیمار ۵٪	تیمار ۷/۵٪	تیمار ۱۰٪
C <sub>3</sub> (μg/ml)	$33/00 \pm 1/15^b$	$34/00 \pm 3/78^{ab}$	$34/66 \pm 3/28^{ab}$	$37/00 \pm 7/81^{ab}$	$46/00 \pm 2/30^a$
C <sub>4</sub> (μg/ml)	$9/66 \pm 1/45^b$	$13/33 \pm 2/33^{ab}$	$13/66 \pm 1/66^{ab}$	$14/00 \pm 0/57^{ab}$	$15/00 \pm 1/52^a$
لیزوزیم (μg/ml)	$14/27 \pm 2/13^b$	$15/21 \pm 0/91^b$	$17/68 \pm 3/75^{ab}$	$18/22 \pm 1/17^{ab}$	$21/68 \pm 2/56^a$

\* حروف متفاوت نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه های آزمایشی است. (Mean $\pm$ S.E) ( $P < 0/05$ ).

## بحث

لیزوزیم یک آنزیم تجزیه کننده قوی موجود در خون و بافت های لنفوئید ماهیان است. این آنزیم دارای نقش زیادی در ایمنی ماهی بوده و یکی از مهمترین فاکتورها در مقاومت طبیعی ماهیان محسوب می شود (Magnadottir, 2006). لیزوزیم توسط نوتروفیل ها و ماکروفاژها به داخل خون رها می گردد (Sakai, 1999). فعالیت لیزوزیم در انتهای آزمایش در تیمار ۱۰٪ از

<sup>2</sup>. Immuno Turbidometry

بالاترین میزان برخوردار بود و اختلاف معنی داری با گروه کنترل و تیمار ۲/۵٪ داشت. نتیجه‌ی مطالعه حاضر با نتیجه تحقیق Promya و Chitmanat (2011) مشابه است. افزایش فعالیت لیزوزیم در تحقیق حاضر می‌تواند ناشی از وجود C- فیکوسیائین و رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در جلبک اسپیرولینا باشد که باعث تحریک سیستم ایمنی می‌شوند (Thompson *et al.*, 1995).

سیستم کمپلمان مجموعه‌ای مشتمل بر بیش از ۳۵ نوع پروتئین سرمی است که ارتباط بسیار نزدیک و کنترل شده با یکدیگر و سایر مولکول‌های سیستم ایمنی دارند (Sunyer *et al.*, 1997). ۹ جزء اصلی آنها از C<sub>1</sub> تا C<sub>9</sub> نامگذاری شده‌اند و این ترکیبات نقش کلیدی در ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند (Boshra and Sunyer, 2006). سیستم کمپلمان در ماهیان استخوانی مشابه اغلب مهره‌داران می‌باشد. مهمترین وظایف زیستی سیستم کمپلمان شامل از بین بردن میکروارگانیسم‌ها از طریق شرکت و همراهی در فرآیندهای فاگوسیتوز، واکنش‌های التهابی، پاکسازی کمپلکس‌های ایمنی، القاء و بهبود پاسخ‌های آنتی‌بادی است (Mauri *et al.*, 2011). بالاترین میزان C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> در انتهای دوره در تیمار ۱۰٪ مشاهده گردید که با گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان دادند. مطالعاتی مبنی بر اثر جلبک اسپیرولینا بر فعالیت کمپلمان‌ها وجود ندارد. امانی نژاد و همکاران (۱۳۸۸) با افزودن جلبک *Dunaliella salina* در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده کردند که با افزایش سطح این جلبک میزان C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> نیز افزایش پیدا کرد و با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت. تغییرات کمپلمان سرم در حفاظت از سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهیان بسیار مهم می‌باشد و بالا بودن سطوح C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> بیانگر سلامتی ماهی است (Yano, 1992). زیاد بودن فعالیت کمپلمان سرم در ماهی‌های تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا می‌تواند به علت وجود رنگدانه‌های کاروتنوئیدی موجود در جلبک اسپیرولینا خصوصاً بتاکاروتن باشد که منجر به افزایش فعالیت کمپلمان‌های C<sub>3</sub> و C<sub>4</sub> گردید (امانی نژاد و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش فعالیت کمپلمان‌های سرم در ماهی بنی می‌تواند به این دلیل باشد که بتاکاروتن طبیعی این جلبک یک گیرنده جدید با پیوند لیگاندی را که متعلق به گیرنده × رتنوئید برای کاروتنوئیدها و رتنوئیدها می‌باشد را فعال کرده است (Zhang *et al.*, 1992). همچنین عناصر پاسخ‌گوی اسید رتنوئیک در ناحیه پش‌تیبانی ژن H (ژن مسئول سنتز کمپلمان) فاکتور کمپلمان باعث افزایش mRNA ژن H و سطوح پروتئین سلول‌ها می‌شوند (Munoz-Canoves *et al.*, 1990). بتا کاروتن سرم به ویتامین A و سایر مشتق‌های مؤثر آن مانند رتنوئیدها تبدیل می‌شود (Jyonouchi *et al.*, 1994). بتاکاروتن موجود در بررسی اثر مکمل غذای حاوی ویتامین A نشان داد که افزایش سطوح ویتامین A در ماهی آزاد اقیانوس اطلس موجب افزایش فعالیت لیزوزیم و کمپلمان‌ها گردید (Thompson *et al.*, 1995).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشخص گردید استفاده از جلبک *S. platensis* در جیره غذایی ماهی بنی می‌تواند باعث بهبود پارامترهای ایمنی ماهی بنی انگشت قد شود و در سطح ۱۰٪ در شرایط پرورشی قابل توصیه در جیره غذایی این ماهی می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

لازم است مراتب قدردانی و سپاس خود را از اساتید محترم دانشکده منابع طبیعی دریا دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر و پرسنل محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید ملکی اهواز به سبب همکاری در اجرای این تحقیق اعلام داریم. همچنین از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر جهت تأمین هزینه‌های مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

- امانی نژاد، پ.، عمادی، ح.، امتیازجو، م.، حسین زاده صحافی، ه. ۱۳۸۸. بررسی اثر جلبک *Dunaliella salina* بر تغییرات شاخص های ایمنی (کمپلمان و پراکسیداز) در ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی پژوهشی بیولوژی دریا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. دوره اول، شماره ۴، صفحات ۲۱-۳.
- بساک کاهکش، ف.، صالحی، ح.، امیری، ف.، نیک پی، م. ۱۳۸۹. پرورش توأم ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*, Günther, 1874) با کیپور ماهیان چینی و مقایسه اقتصادی آن با روش پرورش مرسوم. مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. دوره چهارم، شماره ۳، صفحات ۷۳-۸۵.
- سلطانی، م. ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. چاپ اول. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۵۶ ص.
- علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، زرگر، ا. ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کیپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره شصت و هفتم، شماره ۳، صفحات ۱۴۲-۱۳۵.
- محمدیان، ت.، کوچنین، پ.، نیکو، س.، شیخ الاسلامی، م.، بیتا، س.، اسکندری، غ.، ابهری سه گنبد، ح. ۱۳۸۸. مقایسه تاثیر آنالوگ هورمون GnRH همراه با آنتی دوپامین دامپریدون (Ova-fact) به روش لینه، با عصاره هیپوفیز ماهی کیپور معمولی (CPE) بر شاخص های تولید مثلی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی ایران. دوره پنجم، شماره ۲، صفحات ۸۰-۷۰.
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Abdelhadi, Y.M., Seden, M.E.A. 2008. Use of *Spirulina (arthrospir platensis)* as a growth and immunity promoter for Nile Tilapia, *oreochromis niloticus* (L.) fry challenged with pathogenic *aeromonas hydrophila*. 8<sup>th</sup> International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1015-1032.
- Boshra, H.L.J., Sunyer, J.O. 2006. Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish and Shellfish Immunology*. 20(2): 239-262.
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Robertson, B.S., Van Muiswinkel, W.B. (eds.). *Techniques in Fish Immunology*. Fair Haven, NJ, USA: SOS publication. pp. 101-103.
- Hu, Q. 2004. Microalgal cell-mass and Secondary Products –Major Industrial Species *Arthrospira Spirulina platensis*. In: Richmond, A. (ed.). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science. pp. 264- 272.
- Iwama, G., Nakanishi, T. 1996. *The Fish Immune System. Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. 395 p.
- Jaime-Ceballos, B., Villarreal, H., Garcia, T., Jar, L.P., Alfonso, E. 2005. Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *Litopenaeus schmitti* shrimp larvae. *Revista de Investigaciones Marinas*. 26(3): 235-241.
- James, R., Sampath, K., Nagarajan, R., Vellaisamy, P., Manikandan, M.M. 2009. Effect of dietary *Spirulina* on reduction of copper toxicity and improvement of growth, blood parameters and phosphatases in carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). *Indian Journal of Experimental Biology*. 47(9): 754-759.
- Jyonouchi, H., Zhang, L., Gross, M., Tomita, Y. 1994. Immunomodulating actions of carotenoids: enhancement of in vivo and in vitro antibody production to T-dependent antigens. *Nutrition and Cancer*. 21(1): 47-58.
- Mauri, I., Romero, A., Acerete, L., Mackenzie, S., Roher, N., Callol, A., Cano, I., Alvarez M.C., Tort, L. 2011. Changes in complement responses in Gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) under crowding stress, plus viral and bacterial challenges. *Fish and Shellfish Immunology*. 30(1): 182-188.
- Magnadottir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. 20(2): 137-151.
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.V., Tort, L. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*. 171(3): 269-278.

- Munoz-Canoves, P., Vik, D.P., Tack, B.F. 1990. Mapping of retinoic acid responsive element in the promoter region of the complement factor H gene. *The Journal of Biological Chemistry*. 265(33): 20065-20068.
- Oh, S.H., Ahn, J., Kang, D.H., Lee, H.Y. 2011. The Effect of Ultrasonicated Extracts of *Spirulina maxima* on the Anticancer Activity. *Marine Biotechnology*. 13(2): 205-214.
- Peiretti, P.G., Meineri, G. 2008. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. *Livestock Science*. 118(1): 173-177.
- Phromkunthong, W., Pipattanawattanakul, A. 2005. Effects of *Spirulina* sp. on growth performance and antibody levels in hybrid catfish, *Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus* (Burchell). *Songklanakarin Journal of Science and Technology Aquatic Science*. 27(1): 115-132.
- Promya, J., Chitmanat, C. 2011. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* Algae on the Growth Performance, Meat Quality and Immunity Stimulating Capacity of the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Agriculture & Biology*. 13(1): 77-82.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 172(1): 63-92.
- Sunyer, J.O., Ort, L.T., Lambris, J.D. 1997. Diversity of the third form of complement, C3, in fish: functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish (*Sparus aurata*). *Biochemical Journal*. 326(3): 320-326.
- Tewary, A., Patra, B.C. 2011. Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Aquaculture Research & Development*. 3(9): 1-7.
- Thompson, L., Choubert, G., Houlihan, D.F., Secombes, C.J. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture*. 133(2): 91-102.
- Ungsethaphand, T., Peerapornpisal, Y., Whangchai, N., Sardud, U. 2010. Effect of feeding *Spirulina platensis* on growth and carcass composition of hybrid red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*). *International Journal of Science and Technology*. 4(2): 331-336.
- Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A.C.M.A.R., Kato, T., Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 258(1): 157-163.
- Yano, T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. In: Stolen, S.J., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Kaattari, S.L., Rowley, A.F. (eds.). *Techniques in Fish Immunology*. Fair Haven, NJ, USA: SOS publication. pp. 131-141.
- Zhang, L.X., Cooney, R.V., Bertram, J.S. 1992. Carotenoids upregulate connexin 43 gene expression independent of their provitamin A or antioxidant properties. *Cancer Research*. 52(20): 5707-5712.