شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱
صفحات ۲۷۹-۲۶۷

اثر پودر جلبک قرمز دریای خزر(*Laurencia caspica*) بر رشد، فراسنجه‌های خونی، سرمی و پاسخ‌های ایمنی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) آلوده‌شده با آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*)

فرید فیروزبخش[1]*، خسرو جانی خلیلی[2]، بتول ادهمی[2]

۱. دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۲. کتری، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۸

چکیده

هدف از تحقیق حاضر مطالعه اثر جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) به عنوان ترکیب طبیعی افزایش‌دهنده ایمنی در بچه‌ماهیان کپور معمولی بود. جلبک‌ها پس از جمع آوری از دریای خزر و تبدیل به پودر خشک، با سطوح صفر، ۱، ۲ ، ۳ و ۴ درصد به جیره غذایی ماهیان به مدت ۶۰ روز اضافه شدند. نتیجه فراسنجه‌های رشد نشان داد وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای حاوی ۲، ۳ و ۴درصد پودر جلبک در مقایسه با شاهد افزایش یافت (P<۰/۰۵) و بیشترین افزایش وزن بدن در گروه ۳درصد مشاهده شد. بیشترین تعداد گلبول سفید در گروه ۳ و۴ درصد و گلبول قرمز در تیمار ۳ درصد پودر جلبک مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۳ و ۴ درصد پودر جلبک بدست آمد (P<۰/۰۵). علاوه بر این، کمترین مقدار کلسترول و بیشترین مقدار پروتئین کل در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). با افزودن پودر جلبک آنزیم‌های کبدی آسپارتات ترانس آمیناز، آلانین ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز روند کاهشی نشان دادند (P<۰/۰۵). فعالیت کمپلمان ACH50 با افزایش سطح پودر جلبک جیره افزایش، یافت به‌طوریکه بیشترین مقدار آن در ۳ و ۴ درصد جلبک مشاهده گردید (P<۰/۰۵). همچنین، ۳ درصد پودر جلبک منجر به افزایش معنی‌دار لیزوزیم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی شد (P<۰/۰۵). رویارویی ماهیان با باکتری *A. hydrophila* افزایش بازماندگی (بیش از ۴۰ درصد بازماندگی) را در ماهیان تغذیه‌شده با ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک نشان داد (P<۰/۰۵). در مجموع، افزودن ۳ درصد پودر جلبک *L. caspica* به جیره بچه‌ماهیان کپور معمولی به منظور بهبود کارایی رشد، فاکتورهای خونی و ایمنی و افزایش مقاومت در برابر *A. hydrophila* توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: جلبک قرمز، محرک ایمنی، آئروموناس هیدروفیلا ، لیزوزیم، کپور معمولی.

* نویسنده مسئول: فرید فیروزبخش
Email: F.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 2, Summer 2022
pp. 267-279

Effect of Caspian Sea Red Macroalgae, *Laurencia caspica* powder on growth, hematological parameters, serum and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*) fry infected with *Aeromonas hydrophila*

Farid Firouzbakhsh[1*], Khosrow Janikhalili[2], Batoul Adhami[2]

1. Associated prof, Department of fisheries, Faculty of animal science and fisheries, Sari Agricultural and Natural Resources University, Sari, Iran.
2. Ph.D. Department of Fisheries, Faculty of animal science and fisheries, Sari Agricultural Sciences and natural Resources University, Sari, Iran.

Received: 12-Oct-2021 **Accepted: 08-Jun-2022**

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of Caspian red algae (*Laurencia caspica*) as natural originated immunostimulant in common carp fry. Algae were collected from Caspian sea and supplemented to diet in different levels of 0, 1, 2, 3 and 4 percent for 60 days. Results of growth parameters indicated an increase in final weight, and specific growth rate in fish fed 2, 3 and 4% algae powder (AP) comparing to control ($P<0.05$). The numbers of white blood cells and red blood cells were higher in diet containing 3 and 4% AP than those of control and 1% AP. The highest levels of hemoglobin and hematocrit were found in fish fed diet containing 3 and 4% AP. Moreover, fish fed 2, 3 and 4% AP demonstrated lower cholesterol and higher total protein among groups. Hepatic enzymes such as aspartate transaminase, alanine transaminase and alkaline phosphatase displayed a decreasing trend by addition of AP. Alternative complement pathway improved by increasing AP level as the highest value observed in 3 and 4% AP. Also, diet containing 3% AP led to significantly increase lysozyme when compared to other diets. Fish bacterial challenging with *A. hydrophila* showed increasing survival (more than 40%) in fish received 2, 3 and 4% AP. Overall, administration of 3% *L. caspica* powder to diet of common carp fry is advised in order to improve growth performance, hematological and immune indices and resistance against *A. hydrophila*.

Keywords: Red algae, Immunostimulant, *Aeromonas hydrophila*, Lysozyme, common carp.

Corresponding author: Farid Firouzbakhsh Email: F.firouzbakhsh@sanru.ac.ir

۱. مقدمه

همگام با توسعه و رشد آبزی پروری و نیاز روزافزون جامعه، رعایت اصول بهداشتی و پیشگیری از بیماری‌های آبزیان باید مورد توجه قرار گیرد. با توجه به تکامل بیشتر ایمنی غیراختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی و جایگاه ویژه محرک‌های ایمنی در تحریک ایمنی غیراختصاصی، استفاده از محرک‌های ایمنی در آبزیان ارجحیت بیشتری نسبت به حیوانات خونگرم دارد (Iwama,1996). به همین دلیل استفاده از محرک‌های ایمنی در ماهی به منظور افزایش قدرت ایمنی، ایجاد مقاومت در مقابل بیماری‌ها و بهبود فاکتورهای رشد کاربرد زیادی یافته است (Raa,1996). جلبک ها به عنوان یکی از منابع گیاهی منبع غنی از ترکیبات مفید و فعال زیستی هستند و تاکنون ترکیبات زیستی متعدد و با گستره‌ی کاربردی متنوعی همچون اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد سرطانی از جلبک‌های پرسلولی شناسایی و مشتق شده که می‌توانند به مواد فعال مورد علاقه‌ی صنایع دارویی تبدیل شوند (Barsanti and Gualtieri, 2006). علاوه بر این ماکروجلبک‌ها دارای ترکیباتی مانند پروتئین، چربی، کربوهیدرات، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری، املاح معدنی، ویتامین، رنگدانه‌ها و مواد آلی فراوان بوده و از نظر دارویی بسیار با ارزش‌اند (Gharanjik *et al.*, 2011).

از این میان خانواده لورنسیا از اهمیت بیولوژیکی فراوانی بهره‌مند است به عنوان مثال ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد سرطانی برای این خانواده عنوان شده است. جنس لورنسیا در مناطق گرمسیری اقیانوسی رایج بوده و پیچیده‌ترین ساختار شیمیایی را در میان جلبک‌ها به خود اختصاص می‌دهد (Zaleta-Pinet *et al.*, 2014). ماکروجلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) فراوانترین جلبک موجود در دریای خزر است. عصاره این جلبک نشان‌دهنده پروتئین و کربوهیدرات فراوان و ترکیب چربی کم است (Mehdipour *et al.*, 2014). از این رو، برای رشد ماهیان داری نیاز چربی کمتر مناسب است. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) گونه‌ای رایج برای پرورش در آبهای شیرین کشور تلقی می شود و علاوه بر سازگاری بالا، نیاز پروتئینی کم و استفاده از طیف وسیعی از مواد غذایی اعم از گیاهی و حیوانی، دارای بازارپسندی نسبتا خوبی است که این گونه را مناسب پرورش کرده است.

Aeromonas hydrophila از باکتری‌های گرم منفی بی‌هوازی و اکسیداز مثبت است که در محیط کشت آزمایشگاهی قابلیت رشد دارد و موجب تلفات سنگین در مزارع آبزی‌پروری می‌گردد. این باکتری فرصت‌طلب و همه‌جا حاضر، تحت شرایط استرس‌زا به عامل اصلی سپتی‌سمی هموراژیک در ماهیان آب شیرین از قبیل کپور ماهیان بدل می‌گردد (Lee *et al.*, 2000). از نشانه‌های ظاهری بیماری می‌توان به خونریزی‌های نقطه‌ای و لکه‌ای در قاعده‌ی باله‌ها و سطح پوست و زخم اشاره کرد. راهکارهای مختلفی به منظور افزایش مقاومت در برابر این پاتوژن‌ها در مزارع وجود دارد. از این دسته می‌توان به واکسیناسیون، دستکاری‌های ژنتیکی، آنتی‌بیوتیک‌ها و محرک‌های ایمنی اشاره کرد. دستکاری‌های ژنتیکی پیچیده و گران قیمت هستند درحالیکه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و واکسیناسیون دارای پیامدهایی از قبیل مقاومت دارویی هستند (Reverter *et al.*, 2014). از این رو استفاده از محرک‌ها به خصوص استفاده از جلبک‌ها در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است. به عنوان مثال، Moshfegh و همکاران (۲۰۱۷) به صورت برون‌تنی نشان دادند گونه جلبکی *L. caspica* روی باکتری‌های گرم منفی و مثبت دارای ویژگی آنتی‌باکتریایی است. علاوه بر این، عصاره جلبک *L. caspica* اثرات محرک بر ایمنی دفاع آنتی‌اکسیدانی، بیان ژن ایمنی بافت کلیه، بهبود فعالیت لیزوزیم، سیستم کمپلمان، ایمنوگلوبین و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد و مقاومت ماهی را در برابر باکتری *A. hydrophila* افزایش داد (Kiadaliri *et al.*, 2020a). از آنجاییکه جلبک *L. caspica* به وفور در دریای خزر یافت می‌گردد و

تاکنون تاثیر گنجاندن آن در جیره بر فاکتورهای رشد و پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار نگرفته است بدین ترتیب در تحقیق حاضر ضمن بررسی تاثیر جلبک *L. caspica* بر کارایی رشد، مصرف غذایی، فراسنجه‌های خونی و سرمی مطالعه روی پاسخ ایمنی ماهی کپور معمولی از طریق رویارویی با باکتری *A. hydrophila* انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه بچه ماهی و تیماربندی ماهی

۳۳۰ قطعه بچه ماهی با وزن متوسط ۰/۰۱±۱/۲۱ گرم از یک مرکز پرورش ماهی کپور معمولی شهرستان ساری خریداری و به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل شدند. ابتدا سازگاری بچه ماهیان با شرایط آزمایش به مدت دو هفته انجام گرفت. در طی این مدت ماهیان با جیره غذایی پایه تغذیه شدند. سپس ماهیان به صورت مساوی و تصادفی به ۵ تیمار در سه تکرار و در هر تکرار ۲۲ قطعه ماهی توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد (فاقد پودر جلبک قرمز) و جیره‌های حاوی ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک قرمز در هر کیلوگرم غذا بودند.

۲.۲. ساخت جیره‌های آزمایشی

جلبک مورد نظر پس از شناسایی و تطبیق با کلید شناسایی از منطقه ساحلی دریای خزر واقع در سی‌سنگان نوشهر جمع‌آوری شدند. در ابتدا شستشوی جلبک به منظور جداسازی شن، ماسه و جانداران انجام شد. سپس جلبک‌ها درون آب مقطر به مدت ۲ ساعت غوطه‌ور و هر یک ساعت یکبار آب آن‌ها تعویض شد. پس از آن روی پارچه تمیزی در سایه گسترانیده و طی چند روز خشک شدند. در مرحله بعد نمونه ها توسط آسیاب برقی کاملاً به صورت پودر در آمده و تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شدند (Fujiki *et al.*, 1992).

به منظور آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، غذای تجاری (شرکت به‌دانه، میرود، بابلسر) آسیاب و پودر جلبک در سطوح مختلف صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد همراه با آب به غذای تجاری اضافه و ماده خمیری شکل تهیه و در نهایت به چرخ گوشت منتقل شد. رشته‌های ایجاد شده جداسازی و در دمای محیط آزمایشگاه خشک شدند (Mehrabi *et al.*, 2012). غذادهی ماهیان با جیره تهیه شده بر اساس ۳ درصد وزن بدن و ۲ بار در روز در ساعات ۹ و ۱۷ به مدت ۶۰ روز انجام شد.

جدول ۱- تعیین ترکیب تقریبی جلبک استحصال‌شده و جیره (درصد وزن خشک) در تیمارهای مختلف کپور معمولی بر اساس سطوح مختلف جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*)

جیره	شاهد	جلبک ۱ درصد	جلبک ۲ درصد	جلبک ۳ درصد	جلبک ۴ درصد	جلبک لورنسیا
چربی	۱۶/۳۴	۱۶/۴۳	۱۶/۲۴	۱۶/۲۴	۱۶/۲۷	۰/۹۵
پروتئین	۲۶/۰۰	۲۶/۰۵	۲۶/۰۰	۲۶/۱۲	۲۶/۰۹	۲۲/۵۰
خاکستر	۴/۵۲	۴/۸۵	۴/۳۹	۴/۳۶	۴/۳۵	۲۶/۷۰
رطوبت	۱۰/۳۳	۹/۳۳	۹/۶۷	۱۰/۰۰	۹/۶۷	۱۵/۲۶

۳.۲. سنجش شاخص‌های رشد

به منظور بررسی میزان رشد ماهیان مورد آزمایش، وزن بچه ماهیان هر تکرار در روز صفر و در پایان دوره پرورش اندازه‌گیری شد. برای زیست سنجی ماهیان در هر مخزن پرورشی، پس از بیهوشی با پودر گل میخک (۱۰۰ میلی گرم در لیتر) با استفاده از ترازوی دیجیتالی بطور انفرادی هر ماهی توزین شد. شاخص‌های رشد شامل

درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذای در پایان آزمایش از طریق روابط زیر محاسبه شدند (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012).

$$\text{درصد افزایش وزن} = \frac{\text{(وزن اولیه− وزن نهایی)}}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{نرخ رشد ویژه (درصد/روز)} = \frac{\text{(لگاریتم وزن اولیه−لگاریتم وزن نهایی)}}{\text{زمان دوره آزمایش}} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{غذای خورده شده در طول دوره پرورش(گرم)}}{\text{افزایش وزن ماهی}}$$

۴.۲. فراسنجه‌های خونی و سرمی

در پایان دوره پرورش، از هر مخزن پرورشی تعداد ۵ قطعه ماهی (۱۵ قطعه در هر تیمار) بطور تصادفی جهت خونگیری و سنجش فراسنجه‌های خونی انتخاب شد. ابتدا ماهیان توسط پودرگل میخک (۱۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر) بیهوش شدند و خونگیری از ناحیه ساقه دمی ماهیان صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خونگیری تغذیه ماهیان قطع شد. شاخص های خونی مورد بررسی شامل شمارش گلبول‌های قرمز و سفید توسط لام هماسیتومتر بر اساس روش Hoston (۱۹۹۰)، میزان هماتوکریت پس از سانتریفیوژ لوله‌های میکروهماتوکریت و غلظت هموگلوبین به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس روش Drabkin (۱۹۴۵) انجام شدند.

بخش دیگر خون پس از لخته‌شدن در دمای اتاق در دور ۱۶۰۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و سرم به دقت جداسازی شد (Farsani *et al.*, 2019). سرم‌ها درون ویال در فریزر ۱۸- تا زمان استفاده نگهداری شدند. تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم با استفاده از کیت تجاری پارس‌آزمون اندازه‌گیری شدند. به منظور این کار، ۱۰ میکرولیتر نمونه سرمی که ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انجمادزدایی شد را در ۱ میلی‌لیتر معرف ریخته و پس از ۱۰ دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۷۶ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری میزان پروتئین تام بر اساس روش Lowry و همکاران (۱۹۵۲)، آلبومین بر اساس روش Wotton (۱۹۸۲) و گلوکز بر اساس Trinder (۱۹۶۹) محاسبه شدند. همچنین، آنزیم‌های کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) موجود در سرم با استفاده از کیت پارس آزمون و به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند.

۵.۲. اندازه‌گیری فراسنجه‌های ایمنی

تعیین میزان لایزوزیم سرم به روش کدورت‌سنجی و طبق روش ارائه‌شده توسط Ellis (۱۹۹۰) انجام شد. بدین منظور،۱۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم با ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزیدیکتیکوس (سیگما، آمریکا) تهیه شده و در بافر سیترات سدیم ۰/۰۵ مولار و اسیدیته ۶/۲ به میزان ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ادامه، جذب نوری ۱ ساعت بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مجددا مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت کمپلمان ACH50 طبق روش Kumari و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت. طبق این روش گلبول‌های قرمز خرگوش سه بار با محلول بافر (حاوی ۱۰ میلی‌مولار EGTA، ۱۰ میلی‌مولار منیزیم کلرید و ۰/۱درصد ژلاتین) شستشو شد و در غلظت ۲×۱۰^{۸} سلول/میلی‌لیتر از همان بافر دوباره غوطه‌ور شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول آماده‌شده به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه انکوبه شد. واکنش با افزودن ۱/۵۷۵ میلی‌لیتر بافر EDTA-GVB (۱۰ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱درصد ژلاتین) متوقف گردید و با دور ۱۶۰۰ g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت در طول موج ۴۱۴ نانومتر خوانده شد.

۶.۲. رویارویی با باکتری آئروموناس هیدروفیلا

باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* از موسسه تحقیقات رازی کرج تهیه شد. پس از ۶۰ روز دوره پرورشی به منظور بررسی پاسخ ایمنی ماهیان تغذیه‌شده با سطوح

مختلف پودر جلبک، مقاومت ماهیان در برابر باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* مورد آزمایش قرار گرفت. این باکتری طبق روش استاندارد و با غلظت 10^8 سلول بر میلی‌لیتر در بافر فسفات تهیه شد. ده قطعه ماهی از هر مخزن پرورشی انتخاب شد و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول سوسپانسیون باکتریایی باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* از طریق درون‌صفاقی به ماهیان تزریق گردید (Harikrishnan *et al.*, 2003). ماهیان از نظر علائم بروز بیماری بررسی و آزمایشات میکروبی از کبد و کلیه ماهیان تلف شده انجام و وجود باکتری مورد تایید قرار گرفت. در نهایت پس از ۱۰ روز میزان بازماندگی ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت.

۷.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. داده‌ها پس از اطمینان از نرمال‌بودن با آزمون شاپیرووویک با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین ها نیز آزمون چند دامنه ای دانکن و با درصد خطای ۵ درصد استفاده گردید. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 17 انجام شد.

۳. نتایج

نتایج بررسی شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی طی ۶۰ روز تغذیه با پودر جلبک طبق جدول ۲ نشان داد بیشترین وزن نهایی و درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۳درصد پودر جلبک یافت شد ($P<0/05$). همچنین، بهبود نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی با افزودن ۳ و ۴ درصد جلبک به جیره مشاهده گردید ($P<0/05$). از طرفی، کمترین درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه مربوط به ماهیان تغذیه‌شده با شاهد و ۱درصد پودر جلبک بود.

جدول ۲- شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) طی ۶۰ روز پرورش

شاخص	شاهد	۱٪ پودر جلبک	۲٪ پودر جلبک	۳٪ پودر جلبک	۴٪ پودر جلبک
وزن اولیه (گرم)	۱/۲۱ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۲۲ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۲۰ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۲۱ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۲۲ ± ۰/۰۲^{a}
وزن نهایی (گرم)	۳/۶۸ ± ۰/۰۳^{d}	۳/۸۸ ± ۰/۱۴^{c}	۴/۱۹ ± ۰/۰۷^{b}	۴/۵۷ ± ۰/۰۵^{a}	۴/۳۵ ± ۰/۰۶^{b}
درصد افزایش وزن بدن	۲۰۲/۷۷ ± ۳/۴۷^{c}	۲۱۶/۴۸ ± ۱۶/۹۶^{c}	۲۴۹/۷۷ ± ۹/۰۵^{b}	۲۷۶/۶۹ ± ۵/۱۶^{a}	۲۵۶/۶۶ ± ۱/۱۱^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد /روز)	۱/۸۴ ± ۰/۰۱^{c}	۱/۹۱ ± ۰/۰۸^{c}	۲/۰۸ ± ۰/۰۴^{b}	۲/۲۱ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۱۱ ± ۰/۰۴^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۵۱ ± ۰/۱۰^{a}	۳/۲۲ ± ۰/۰۶^{b}	۲/۷۹ ± ۰/۱۲^{c}	۲/۵۳ ± ۰/۰۹^{d}	۲/۵۹ ± ۰/۰۷^{d}
بازماندگی (درصد)	۸۷/۱۷ ± ۸/۷۴^{a}	۸۲/۸۶ ± ۵/۹۷^{a}	۸۸/۵۱ ± ۶/۵۰^{a}	۸۸/۶۴ ± ۲/۸۹^{a}	۸۵/۱۹ ± ۲/۹۴^{a}

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P<0/05$).

فراسنجه‌های خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار تعداد گلبول سفید در تیمارهای ۳ و ۴ درصد بود. همچنین بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار ۳ درصد پودر جلبک مشاهده شد (جدول ۲؛ $P<0/05$). بیشترین مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۳ و ۴ درصد پودر جلبک مشاهده شد ($P<0/05$)، درحالی‌که کمترین غلظت هموگلوبین در شاهد و ۱ درصد و کمترین مقدار هماتوکریت مربوط به شاهد بود ($P<0/05$). علاوه بر این، میانگین حجم گلبول قرمز و میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز در ماهیان تغذیه‌شده با ۳درصد جلبک به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای به ترتیب ۲ و ۱ درصد پودر جلبک بود ($P<0/05$). همچنین، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز در تیمار ۲درصد بالاتر از ۱درصد بود ($P<0/05$).

جدول ۳- فراسنجه‌های خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) طی ۶۰ روز

شاهد	٪۱ پودر جلبک	٪۲ پودر جلبک	٪۳ پودر جلبک	٪۴ پودر جلبک	شاخص
۵/۷۰ ±۰/۲۶^{b}	۵/۷۸ ±۰/۷۰^{b}	۶/۴۶ ±۰/۵۵^{ab}	۷/۴۸ ±۰/۵۵^{a}	۷/۳۰ ±۰/۷۲^{a}	گلبول سفید (میلی‌متر مکعب/^{۳}۱۰×)
۱/۲۵ ± ۰/۰۳^{d}	۱/۲۸ ±۰/۰۵^{d}	۱/۳۸ ±۰/۰۲^{c}	۱/۶۱ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۴۷ ± ۰/۰۲^{b}	گلبول قرمز (میلی‌متر مکعب/^{۶}۱۰×)
۷/۰۳ ±۰/۱۱^{c}	۷/۰۶ ±۰/۲۰^{c}	۸/۰۷ ± ۰/۲۵^{b}	۸/۵۰ ±۰/۱۴^{a}	۸/۲۳ ±۰/۲۵^{ab}	هموگلوبین (گرم/دسی‌لیتر)
۲۹/۳۶ ±۰/۵۶^{d}	۳۱/۶۰ ±۰/۴۰^{c}	۳۲/۹۳ ±۰/۹۴^{b}	۳۵/۳۰ ±۰/۶۰^{a}	۳۴/۵۰ ±۰/۹۵^{a}	هماتوکریت (درصد)
۲۳۴/۴۷ ±۷/۲۲^{ab}	۲۴۶/۰۱ ±۱/۱۴^{a}	۲۳۸/۷۹ ±۱/۵۳^{ab}	۲۱۸/۸۸ ±۶/۸۲^{b}	۲۳۳/۴۰ ±۱/۹۴^{ab}	MCV (فمتولیتر)
۵۶/۱۴ ±۸/۶۸^{ab}	۵۵/۰۳ ±۳/۷۸^{ab}	۵۸/۵۰ ±۱/۵۲^{a}	۵۲/۶۹ ±۱/۲۱^{b}	۵۵/۶۶ ±۰/۸۷^{ab}	MCH (پیکوگرم)
۲۳/۹۵ ±۰/۳۳^{ab}	۲۲/۳۶ ±۰/۴۹^{b}	۲۴/۵۳ ±۱/۲۹^{a}	۲۴/۰۸ ±۰/۷۹^{ab}	۲۳/۸۸ ±۱/۲۹^{ab}	MCHC (%)

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

نتایج مربوط به تأثیر استفاده از سطوح مختلف پودر جلبک بر فراسنجه‌های سرمی ارائه‌شده در جدول شماره ۴ نشان داد کمترین مقدار کلسترول و بیشترین مقدار پروتئین کل با افزودن ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک به جیره بدست آمدند (P<۰/۰۵)، درحالی‌که غلظت آلبومین در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۳ و ۴ درصد پودر جلبک بالاتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود (P<۰/۰۵).

آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP روند کاهشی با افزودن پودر جلبک نشان دادند و در ۳ و ۴ درصد پودر جلبک کمترین مقادیر مذکور مشاهده گردید (P<۰/۰۵). مقدار ACH50 با افزایش سطح پودر جلبک جیره افزایش یافت، به‌طوریکه بیشترین مقدار آن در ۳ و ۴ درصد جلبک مشاهده گردید (P<۰/۰۵). همچنین، بالاترین مقدار لیزوزیم در تیمار ۳ درصد پودر جلبک بدست آمد (P<۰/۰۵).

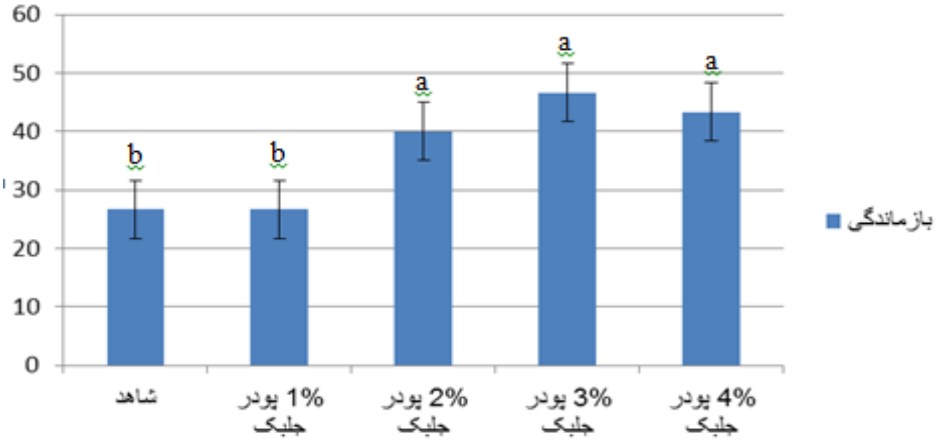
جدول ۴- فراسنجه‌های سرمی بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) طی ۶۰ روز

شاهد	٪۱ پودر جلبک	٪۲ پودر جلبک	٪۳ پودر جلبک	٪۴ پودر جلبک	شاخص
۱۹۵/۰۶ ± ۱۰/۶۲^{a}	۱۸۹/۴۶ ± ۳/۹۳^{a}	۱۸۶/۹۱ ± ۶/۴۵^{b}	۱۸۲/۶۲ ± ۴/۴۴^{b}	۱۸۱/۰۲ ± ۱/۹۵^{b}	کلسترول (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۲۳۱/۲۹ ± ۸/۲۹^{a}	۲۲۲/۷۹ ±۸/۷۹^{a}	۲۱۴/۶۸ ± ۱۴/۱۷^{a}	۲۲۲/۲۳ ±۴/۳۱^{a}	۲۲۴/۳۱ ± ۵/۳۱^{a}	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۲۲/۷۰ ± ۰/۲۷^{a}	۲۲/۴۰ ± ۱/۱۱^{a}	۲۳/۲۵ ± ۰/۹۲^{a}	۲۲/۹۶ ± ۰/۶۱^{a}	۲۲/۳۳ ± ۰/۶۱^{a}	گلوکز (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
۲/۰۹ ± ۰/۰۸^{c}	۲/۳۵ ± ۰/۰۹^{b}	۳/۶۸ ± ۰/۰۷^{a}	۳/۷۴ ± ۰/۱۱^{a}	۳/۶۵ ± ۰/۰۹^{a}	پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر)
۱/۵۱ ± ۰/۰۶^{b}	۱/۵۴ ± ۰/۰۴^{b}	۱/۶۰ ± ۰/۰۲^{b}	۱/۸۰ ± ۰/۱۲^{a}	۱/۸۰ ± ۰/۰۳^{a}	آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)
۳۶/۶۰±۲/۱۱^{a}	۳۶/۵۶±۰/۶۰^{a}	۳۲/۸۶±۰/۴۱^{b}	۲۹/۲۰± ۱/۰۵^{c}	۲۹/۸۶±۰/۹۸^{c}	AST (u/l)
۲۴/۸۰±۰/۷۰^{a}	۲۳/۳۶±۱/۱۱^{b}	۲۱/۱۳±۰/۵۰^{c}	۱۹/۴۰ ± ۰/۹۰^{d}	۱۹/۴۶±۰/۴۷^{d}	ALT (u/l)
۶۶۵/۳۳±۱۲/۵۰^{a}	۶۶۵/۶۶±۴/۹۳^{a}	۶۴۹/۶۶±۷/۳۷^{b}	۶۲۹/۰۰±۳/۶۰^{c}	۶۳۳/۶۶±۳/۷۸^{c}	ALP (u/l)
۱۰۲/۲۰±۱/۳۱^{c}	۱۰۳/۹۶±۱/۷۶^{c}	۱۱۲/۰۰±۲/۶۴^{b}	۱۲۲/۹۳ ± ۳/۹۰^{a}	۱۲۰/۲۶±۲/۳۷^{a}	ACH50 (U%)
۲۳/۰۳±۰/۱۵^{c}	۲۳/۸۵±۱/۸۷^{c}	۲۸/۲۳±۱/۲۰^{b}	۳۲/۵۰ ± ۰/۹۵^{a}	۲۹/۷۹±۰/۶۸^{b}	لیزوزیم(u/ml/min)

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

طبق نمودار ۱، ماهیان تغذیه‌شده با ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک به طور معنی‌داری بیشترین بازماندگی (بیش از ۴۰ درصد بازماندگی) را پس از ده روز رویایی با باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* نشان دادند (P<۰/۰۵).

کمترین بازماندگی (۲۶/۶۶ درصد) در ماهیان تغذیه‌شده با شاهد و ۱٪ پودر جلبک مشاهده گردید (P<۰/۰۵).



شکل ۱- نمودار بازماندگی بچه‌ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف پودر جلبک قرمز دریای خزر (*Laurencia caspica*) طی ۱۰ روز مقابله با باکتری آیروموناس هیدروفیلا

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

نتایج رشد حاصل از مطالعه حاضر نشان‌دهنده روند افزایشی در شاخص‌های رشد با افزایش سطح جلبک *L. caspica* تا سطح ۳ درصد است و با افزایش سطح به ۴ درصد افزایش معنی‌داری در رشد مشاهده نگردید. با توجه به اینکه کمترین سطحی که بهترین رشد و ضریب تبدیل غذایی را ایجاد نماید از نظر اقتصادی مهم است، بنابراین در مطالعه حاضر سطح بهینه جلبک *L. caspica* سطح ۳ درصد است. در مطالعه Kiadaliri و همکاران (2020b) سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره هیدروالکلی جلبک *L. caspica* روی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفت، اما تاثیر معنی‌داری بر رشد، ضریب تبدیل غذایی و بازماندگی مشاهده نشد. این اختلاف می‌تواند به دلیل تفاوت گونه‌ای و قابلیت استفاده از جلبک مورد نظر گونه ماهی بستگی داشته باشد. همچنین بنظر می‌رسد کاربرد پودر جلبک در مقادیر بیش از ۲درصد کارایی بهتری نسبت به عصاره هیدروالکلی داشته باشد. Mehdipour و همکاران (۲۰۱۴) درصد پروتئین و کربوهیدرات این جلبک را در سواحل جنوبی دریای خزر به ترتیب در محدوده ۱۳/۳۴ الی ۲۸/۰۸ و ۲۱/۷۰ الی ۲۶/۱ درصد بیان نمودند.

بنابراین، این گونه جلبکی به عنوان منبع ارزان‌قیمت پروتئینی و دارای قابلیت دسترسی در شمال ایران می‌تواند پتانسیل استفاده در صنعت آبزی‌پروری را داشته باشد. علاوه بر این، وجود الگوی اسید آمینه مناسب و اسید چرب غیر اشباع می‌تواند سبب تحریک رشد در ماهی شود. این گونه جلبکی، ترکیب تقریبی (پروتئین و کربوهیدرات بالا و چربی پایین) و الگوی اسیدچربی مناسبی (اسیدهای چرب امگا ۳) دارد (Mehdipour *et al.*, 2014) و از مواد معدنی موجود در این جلبک می‌توان به منیزیم، کلسیم، مس، پتاسیم، سلنیوم، روی، ید و آهن و ویتامین‌های آ، ب، ث، ای و کا اشاره نمود (Cian *et al.*, 2015). مطالعه حاضر به خوبی نشان داد که بچه ماهی کپور معمولی توانایی استفاده از جلبک *L. caspica* را در جهت افزایش رشد و تبدیل غذایی دارد. به طور مشابه، Yeganeh و Adel (۲۰۱۸) گزارش کردند جلبک *Sargassum ilicifolium* با مقادیر صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم گرم بر فراسنجه‌های رشد فیل ماهی تاثیر مثبت دارد و افزودن ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم جلبک به جیره سبب افزایش قابل توجه فراسنجه‌های رشد در مقایسه با سایر جیره‌های آزمایشی خواهد شد. Abdelghany و همکاران (۲۰۲۰)

به بررسی تاثیر سطوح صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد جلبک *Nannochloropsis oculata* روی تیلاپیا نیل پرداختند و مشاهده کردند ماهیان تغذیه‌شده با ۵ درصد جلبک پس از ۸ هفته بیشترین شاخص‌های رشد را نشان دادند و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی جلبک بهبود یافت. Zeraatpisheh و همکاران (2018) تحقیقی روی کپور معمولی با سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی جلبک *Sargassum angustifolium* انجام دادند و بیشترین رشد را در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره جلبکی مشاهده نمودند. این محققین افزایش هضم‌پذیری و جذب مواد مغذی، افزایش فلور باکتریایی و همچنین افزایش کارکرد آنزیم‌های گوارشی را از دلایل احتمالی افزایش عملکرد رشد دانستند. می‌توان اظهار داشت سطح بهینه با توجه به گونه جلبک، روش استفاده و گونه ماهی متغیر بوده و می‌بایستی به آن توجه داشت.

فعال کردن سیستم دفاعی در حفظ سلامت ماهیان و جلوگیری از شیوع بیماری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مواد زیست‌فعال موجود در جلبک قرمز دریای خزر مانند پلی‌ساکاریدها سبب فعال‌سازی سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌گردد. روند افزایشی فراسنجه‌های خونی بچه‌ماهیان کپور معمولی تحت تاثیر پودر جلبک به ویژه در سطح ۳ درصد مشهود بود. دلیل ارتقاء این فاکتورها به واسطه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئید و پلی‌فنولی موجود در جلبک عنوان گردید که از طریق افزایش دسترسی به آهن سبب افزایش خون‌سازی می‌گردد (Onofrejova *et al.*, 2010; Kiadaliri *et al.*, 2020b). همچنین، افزایش گلبول‌های سفید، پروتئین کل، لیزوزیم و کمپلمان در تیمارهای حاوی پودر جلبک می‌تواند نشان‌دهنده نقش موثر جلبک *L. caspica* بر تحریک ایمنی و سیستم دفاعی بچه‌ماهیان کپور باشد و آن نیز به وجود ترکیبات زیست‌فعال در جلبک مربوط است. احتمالا تیمار ۱ درصد به دلیل کم بودن مقدار ماده موثره نتوانست ایمنی غیراختصاصی ماهیان مورد آزمایش را تحریک کند. ماکرو جلبک‌های قرمز حاوی پلی‌ساکاریدهایی نظیر گالاکتان، گزیلان و پورفیرین هستند. این پلی‌ساکاریدها دارای خواص زیادی از جمله ضد باکتری، ضد التهاب، ضد انعقاد خون و محرک ایمنی اند (Kadam *et al.*, 2015). از طرفی، استرس در شرایط پرورشی امری اجتناب‌ناپذیر برای ماهیان است که از طریق تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن (ROS) سبب افزایش پراکسیداسیون چربی شده و ایمنی را سرکوب می‌نماید. ترکیبات زیست‌فعال موجود در جلبک *L. caspica* به واسطه داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به بهبود سیستم ایمنی کمک کنند (Naiel *et al.*, 2020). به طور مشابه Kiadaliri و همکاران (2020b) افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، فعالیت لیزوزیم و سیستم کمپلمان در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره هیدروالکلی جلبک *L. caspica* را پس از ۸ هفته نشان دادند. Zeraatpisheh و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه دیگری روی کپور معمولی بیشترین هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های سفید و قرمز، پروتئین کل و آلبومین را در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره آبی جلبک *S. angustifolium* مشاهده نمودند، درحالیکه فعالیت لیزوزیم و کمپلمان تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. در تحقیق Kim و همکاران (۲۰۱۳) جلبک اسپیرولینا سبب افزایش هماتوکریت در طوطی ماهی (*Oplegnathus fasciatus*) شد. افزایش سلول‌های خونی تحت تأثیر ترکیبات موجود در جلبک بر مراکز خونسازی و بافت‌های هماتوپیتیک عنوان گردید که منجر به افزایش هموگلوبین، گلبولهای قرمز خون و متعاقبا افزایش هماتوکریت شد. در مطالعه Rajendran و همکاران (۲۰۱۶) پلی‌ساکارید استخراج شده از جلبک *Padina gymnospora* با سطوح ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ درصد به جیره ماهی کپور معمولی اضافه شد و افزایش لیزوزیم و بیان ژن محرک‌های ایمنی در بدن ماهیان نسبت به شاهد پس از سه هفته تغذیه با پلی‌ساکارید جلبک گزارش شد. علاوه بر این، Yeganeh و Adel (۲۰۱۸) افزایش گلبول قرمز، هموگلوبین، و گلبول سفید را تحت

تاثیر سطوح صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم جلبک سارگاسوم در فیل‌ماهی جوان مشاهده کردند. درحالیکه، پودر جلبک بر میزان تری‌گلیسرید تاثیری نداشت. همچنین، کلسترول در جیره حاوی ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم جلبک در مقایسه با جیره‌های دیگر کاهش یافت. مطالعه حاضر همسو با نتایج این تحقیقات بود. به طور مشابه، کلسترول خون در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ درصد پودر جلبک قرمز دریای خزر کاهش یافت که می‌تواند حاکی از نقش این جلبک در متابولیسم چربی‌ها باشد. Panlasigui و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند یکی از ترکیبات معمول استخراج شده از جلبکهای قرمز کاراژینان بوده و به منظور کاهش سطح کلسترول خون در انسان نیز تجویز می‌شود.

در مقابل، Abdelghany و همکاران (۲۰۲۰) که به بررسی تاثیر جلبک *N. oculata* بر تیلاپیا نیل نوجوان پرداختند نشان دادند تغذیه ماهیان با سطح ۱۵ درصد جلبک سبب کاهش پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین خواهد شد اما فعالیت لیزوزیم بهبود یافت. در تحقیق Araújo و همکاران (۲۰۱۶) ۵۰ گرم بر کیلوگرم جلبک گراسیلاریا سبب افزایش فعالیت کمپلمان شد و مقدار ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم از این جلبک منجر به کاهش شاخص مذکور گردید. همچنین، مصرف ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم جلبک *Ulva lactuca* و *Ulva rigida* در تیلاپیای نیل سبب افزایش فعالیت سیستم کمپلمان شد درحالیکه مصرف ۵۰ گرم بر کیلوگرم از آن جلبک تغییری ایجاد نکرد (Güroy *et al.*, 2007; Azaza *et al.*, 2008). به نظر می‌رسد تفاوت جلبک، گونه، مقدار و روش مصرف جلبک‌ها اهمیت زیادی بر تحریک سیستم ایمنی دارد و به همین دلیل نمی‌توان به یک جنبه از مطالعات اکتفا نمود. از طرفی افزایش فعالیت کمپلمان در اثر افزایش واکنش‌های التهابی نیز گزارش گردیده است که منجر به افزایش بیان ژن‌های ایمنی شد (Kiadaliri *et al.*, 2020b).

از طرفی، آنزیم‌های کبدی به عنوان شاخص فعالیت کبدی ممکن است تحت تاثیر بیماری و وضعیت تغذیه‌ای تغییر کنند (Racicot *et al.*, 1975). در تحقیق حاضر افزایش سطح پودر جلبک سبب کاهش آنزیم‌های کبدی آلانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز گردید. از آنجاییکه افزایش مقادیر آنزیم کبدی سرم در اثر آسیب به غشای سلول کبدی اتفاق می‌افتد (Banaee *et al.*, 2011)، کاهش مقادیر مذکور احتمالا حاکی از عدم ایجاد تاثیرات مخرب این جلبک بر کبد بچه‌ماهیان کپور معمولی در مطالعه حاضر باشد هر چندکه بررسی بافت شناسی کبد برای تایید این موضوع کمک شایانی خواهد کرد. Kiadaliri و همکاران (۲۰۲۰b) نیز کاهش آنزیم‌های کبدی در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره هیدروالکلی جلبک *L. caspica* را پس از ۸ هفته نشان دادند. همچنین سطوح ۵۰ و ۱۵۰ گرم بر کیلوگرم جلبک *Palmaria palmata* در سالمون اطلس (*Salmo salar*) سبب کاهش آنزیم آلانین ترنس آمیناز شد اما در سطح ۱۰۰ گرم تفاوتی با شاهد مشاهده نشد (Wan *et al.*, 2016). درحالیکه Yeganeh و Adel (۲۰۱۸) گزارش کردند جلبک سارگاسوم در فیل‌ماهی بر سطح آسپارتات آمینوترنسفراز و آلانین آمینوترنسفراز تاثیری نداشت. در مطالعه Abdelghany و همکاران (۲۰۲۰) نیز آنزیم‌های کبدی آلانین ترانسفراز و آسپارتات ترانس‌آمیناز تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند. دلیل این تناقضات احتمالا می‌تواند به گونه جلبکی و تفاوت ترکیبات موجود در آن‌ها مربوط باشد.

مطالعه حاضر نشان داد بازماندگی ماهیان تغذیه‌شده پودر جلبک پس از ده روز رویایی با باکتری *A. hydrophila* به طور معنی‌داری بالاتر از (بیش از ۴۰ درصد بازماندگی) تیمارهای شاهد و ۱درصد پودر جلبک (۲۶/۶۶ درصد) بود. ماکرو جلبک‌های قرمز حاوی پلی‌ساکاریدهایی هستند که برخی از این پلی‌ساکاریدها به دلیل وزن مولکولی بالا در روده تخمیر شده و با عملکردی مشابه پربیوتیک مانع از اتصال باکتری‌های بیماری‌زا به ماتریکس پروتئین سلول‌ها شده و از کلنی‌زایی بر روی سطح موکوسی جلوگیری می‌نماید (Kadam *et al.*, 2015). همراستا با تحقیق حاضر

Van Doan و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند پلی‌ساکارید استخراج‌شده از جلبک قرمز با وزن مولکولی کم ماهیان را در برابر *A. hydrophila* مقاوم نمود. نتیجه مشابهی در کپور معمولی تغذیه‌شده با پلی‌ساکارید استخراج شده از جلبک *Padina gymnospora* گزارش شد (Rajendran *et al.*, 2016). همچنین، در کفشک ماهی (*Scophthalmus maximus*) افزایش فاگوسیتوز با مصرف پلی‌ساکارید استخراج‌شده از جلبک *U. rigida* مشاهده شد (Castro *et al.*, 2004). جلبک‌های دریایی منبع خوبی از ترکیبات با ویژگی تحریک ایمنی هستند که می‌تواند مقاومت ماهی را در برابر پاتوژن ارتقا بخشد (Cheng *et al.*, 2008).

در مجموع، افزودن ۳ درصد پودر جلبک *L. caspica* به جیره بچه‌ماهیان کپور معمولی با توجه به در دسترس بودن، مقرون‌بصرفه بودن و تاثیرات مثبت محرک رشد و ایمنی به منظور بهبود کارایی رشد، فاکتورهای خونی و ایمنی و همچنین افزایش مقاومت در برابر *A. hydrophila* توصیه می‌گردد.

۵. منابع

References

Abdelghany, M. F., El-Sawy, H. B., Abd El-Hameed, S. A., Khames, M. K., Abdel-Latif, H. M., Naiel, M. A., 2020. Effects of dietary *Nannochloropsis oculata* on growth performance, serum biochemical parameters, immune responses, and resistance against *Aeromonas veronii* challenge in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology* 107(-), 277-288

Araújo, M., Rema, P., Sousa-Pinto, I., Cunha, L. M., Peixoto, M. J., Pires, M. A., Seixas, F., Brotas, V., Beltrán, C., Valente, L. M., 2016. Dietary inclusion of IMTA-cultivated *Gracilaria vermiculophylla* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on growth, intestinal morphology, tissue pigmentation, and immunological response. *Journal of Applied Phycology* 28(-), 679-689.

Arredondo-Figueroa, J. L., Matsumoto-Soulé, J. J., Ponce-Palafox, J. T., 2012. Effects of Protein and Lipids on Growth Performance, Feed Efficiency and Survival Rate in Fingerlings of Bay Snook (*Petenia splendida*). *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 4(-), 204-213.

Azaza, M., Mensi, F., Ksouri, J., Dhraief, M., Brini, B., Abdelmouleh, A., Kraiem, M., 2008. Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing graded levels of green algae ulva meal (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters of southern Tunisia. *Journal of Applied Ichthyology* 24(-), 202-207.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei. G.R., 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 37, 887-896.

Barsanti, L., Gualtieri, P., 2006. Algae anatomy, biochemistry and biotechnology. NewYork: Taylor and Francis Group.

Castro, R., Zarra, I., Lamas, J., 2004. Water-soluble seaweed extracts modulate the respiratory burst activity of turbot phagocytes. *Aquaculture* 229(1-4),67-78.

Cheng, A. C., Chen, Y. Y., Chen, J. C., 2008. Dietary administration of sodium alginate and κ-carrageenan enhances the innate immune response of brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Veterinarian Immunology and Immunopathology* 121, 206-215.

Cian, R. E, Drago, S. R., de Medina, F. S., Martínez- Augustin, O., 2015. Proteins and Carbohydrates from Red Seaweeds: Evidence for Beneficial Effects on Gut Function and Microbiota. *Marine Drugs*13 (8), 5358-5383.

Drabkin, D. R. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal for standardization of hemoglobin. *The American Journal of the Medical Sciences* 209, 268-270.

Ellis, A. E., 1990. Lysozyme assay, Techniques in Fish Immunology. 3th ed. Fair Haven, USA, pp, 101-103.

Farsani, M. N., Hoseinifar, S. H., Rashidian, G., Farsani, H. G., Ashouri, G., Van Doan, H., 2019. Dietary effects of *Coriandrum sativum* extract on growth performance, physiological and innate immune responses and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Yersinia ruckeri*. *Fish & shellfish immunology* 91, 233-240.

Fujiki, K., Matsuyama, H., Yano, T., 1992. Effect of hot-water extracts from marine algae on resistance of carp and yellow tail against bacterial infections. *Science Bulletin, Faculty of Agriculture. Kyushu University* 47(1-2), 137-41.

Gharanjik, B., Wynne, M., Bangmei, X., Khajeh, S., Keyanmehr, H., Hosseini, M., 2011. The biomass of the medicinal red algae (Rhodophyta) in the intertidal zone of the Chabahar coasts. *Iranian Scientific Fisheries Journal* 20(3), 103-114.

Güroy, B. K., Cirik, Ş., Güroy, D., Sanver, F., Tekinay, A. A., 2007. Effects of *Ulva rigida* and *Cystoseira barbata* meals as a feed additive on growth performance, feed utilization, and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Turkish Journal of Vetererinary and Animal Science* 31, 91-97.

Harikrishnan, R., Nisha, R. M., Balasundaram, C., 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture* 222, 41-50.

Hoston, A. H., 1990. Blood and circulation. In: Shreck CB, Moyle PB. Methodsin fish biology. Bethesda, Meryland: *American Fisheries Society* 273-335.

Iwama, G., 1996. Innate Immunity in fish, .in Iwama G. and Nakanishi T. The fish immune system. Academic Press, London, PP: 73-114.

Kadam, S. U., Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., 2015. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae. *International Journal of Food Science & Technology* 50, 24-31.

Kiadaliri, M., Firouzbakhsh, F., Deldar, H., 2020a. Effects of feeding with red algae (*Laurencia caspica*) hydroalcoholic extract on antioxidant defense, immune responses, and immune gene expression of kidney in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 526, 1-8.

Kiadaliri, M., Firouzbakhsh, F., Deldar, H., 2020b. Effect of oral administration of red algae (*Laurencia caspica*) hydroalcoholic extract on growth performance, hematological indices and serum biochemistry in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research* 75(3), 328-340.

Kim, S., Rahimnejad, S., Kim, K. and Lee, K., 2013. Partial Replacement of Fish Meal with *Spirulina pacifica* in Diets for Parrot Fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13 (2), 197-204.

Kumari, J., 2006. Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish *Clarias batrachus*. *Aquaculture* 252, 121–127.

Lee, K. S., Oh, Y., Lee, Y., 2000. charectarization of *Aeromonas hydrophila* isolated from rainbow trout in Korea. *The Journal of Microbiology* 38(1), 1-7.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1952. Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193-256.

Mehdipour, N., Sheijooni Fumani, N., Rahnama, R., 2014. Proximate and Fatty acid Composition of the Southern Caspian Sea Macroalgae. *Journal of the Persian Gulf* 5, 63-72.

Mehrabi, Z., Firouzbakhsh, F., Jafarpour, A., 2012. Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96, 474-481.

Moshfegh, A., Salehzadeh, A., Sadat Shandiz, S. A., Shafaghi, M., Naeemi, A. S., Salehi, S., 2017. Phytochemical Analysis, Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Properties of the Caspian Sea Red Macroalgae, *Laurencia caspica*. Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A. *Science* 43, 49-56.

Naiel, M. A., Ismael, N. E., Abd El-hameed, S. A., Amer, M. S., 2020. The antioxidative and immunity roles of chitosan nanoparticle and vitamin C-supplemented diets against imidacloprid toxicity on *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 523, 735219.

Onofrejova, L., Vasickova, J., Klejdus, B., Stratil, P., Misurcova, L., Kracmar, S., Vacek, J., 2010. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51(2), 464-470.

Panlasigui, L. N., Baello, O. Q., Dimatangal, J. M., Dumelod, B. D., 2003. Blood cholesterol and lipid-lowering effects of carrageenan on human volunteers. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 12, 209-214.

Raa, J., 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish arming. *Review of Fish Sciences* 4, 229-288.

Racicot, J. G., Gaudet, M., Leray, C., 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salrno gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: study of CC1, toxlcity and a case of Aeromonas infection. *Journal of Fish Biology* 7, 825-835.

Rajendran, P., Subramani, P. A. and Michael, D., 2016. Polysaccharides from marine macroalga, *Padina gymnospora* improve the nonspecific and specific immune responses of *Cyprinus carpio* and protect it from different pathogens. *Fish & Shellfish Immunology* 58, 220-228.

Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P., 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture* 433, 50-61.

Trinder, P., 1969. Determination of glucose concentration in the blood. *Annals of Clinical Biochemistry* 6-24.

Van Doan, H., Doolgindachbaporn, S., Suksri, A., 2014. Effects of low molecular weight agar and *Lactobacillus plantarum* on growth performance, immunity, and disease resistance of basa fish (*Pangasius bocourti*, Sauvage 1880). *Fish and Shellfish Immunology* 41, 340-345.

Wan, A. H., Soler-Vila, A., O'Keeffe, D., Casburn, P., Fitzgerald, R., and Johnson, M. P. 2016. The inclusion of *Palmaria palmata* macroalgae in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets: effects on growth, haematology, immunity and liver function. *Journal of Applied phycology* 28, 3091-3100.

Wotton, I. D., Freeman, H., 1982. Microanalysis in medical biochemistry. Churchill, Newyork, USA.

Yeganeh, S., Adel, M., 2018. Effects of dietary algae (*Sargassum ilicifolium*) as immunomodulator and growth promoter of juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Phycology* 30(1), 2093-2102.

Zaleta-Pinet, D. A., Holland, I. P., Mun˜oz-Ochoa, M., Murillo-Alvarez, J. I., Sakoff, J. A., Altena, I. A., Mc Cluskey, A. 2014. Cytotoxic compounds from *Laurencia pacifica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 4, 8.

Zeraatpisheh, F., Firouzbakhsh, F., Khalili, K. J., 2018. Effects of the macroalga *Sargassum angustifolium* hot water extract on hematological parameters and immune responses in rainbow trout (*Oncohrynchus mykiss*) infected with *Yersinia rukeri*. *Journal of Applied Phycology* 30(3), 2029-2037.