فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال دهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

اثر عصاره الکلی جلبک سارگاسوم (*Sargassum ilicifolium*) بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

رضا نهاوندی[۱]، علی صادقی[۲]، میثم سبزه[۳]، سجاد پورمظفر[۴]*، سعید تمدنی جهرمی[۵]، محمدخلیل پذیر[۶]، کیوان اجلالی خانقاه[۷]

DOI: 10.22124/japb.2022.20883.1442

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۰

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات عصاره جلبک سارگاسوم *Sargassum ilicifolium* بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*) به مدت ۶۰ روز صورت گرفت. بچه ماهیان (با میانگین وزن اولیه ۰/۴۵±۵/۲۵ گرم) به چهار تیمار با سه تکرار به ازای هر تیمار تقسیم شدند (۳۰ قطعه در هر تکرار) که شامل یک تیمار شاهد (بدون استفاده از عصاره جلبک) و سه تیمار حاوی عصاره الکلی جلبک سارگاسوم با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در هر کیلوگرم جیره بود. نتایج آزمایش نشان داد که بالاترین وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در بچه ماهیان تغذیه شده با ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در هر کیلوگرم جیره مشاهده شد. شاخص‌های هموگلوبین و MCH در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره جلبک سارگاسوم با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. میزان تری‌گلیسرید و کلسترول در ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره‌های سارگاسوم بیشتر بود ($P<0/05$). بیشترین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در تیمار حاوی ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره، عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بهتری را در مقایسه با تیمارهای دیگر داشتند. بنابراین تجویز ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک سارگاسم برای استفاده در جیره غذایی ماهی قرمز پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: *جلبک سارگاسوم، ماهی قرمز، عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، آنزیم‌های گوارشی.*

۱- استادیار گروه بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۲- دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران.
۳- کارشناس ارشد شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.
۴- استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، ایستگاه تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران.
۵- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
۶- استادیار گروه بهداشت و بیماری‌های ابزیان، پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.
۷- استادیار گروه اکولوژی، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
* نویسنده مسئول: Sajjad5550@gmail.com

مقدمه

امروزه در آبزی‌پروری، غذای تجاری بالاترین و بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است. بنابراین دانش تغذیه، تغذیه عملی و روش‌های آن به منظور تهیه و تامین غذای مناسب و ارزان قیمت می‌تواند نقش مهمی را در کاهش هزینه‌ها و پرورش موفق آبزیان به همراه داشته باشد (Pereira et al., 2012). از آنجایی که پراکنش جلبک‌های ماکروسکوپی در سواحل خلیج فارس و دریای عمان زیاد است. این جلبک‌ها سرشار از پروتئین هستند، بنابراین می‌توانند جایگزین مناسبی به جای ترکیبات گران قیمت غذای آبزیان باشد (Zheng et al., 2012). جمعیت جلبک‌های ماکروسکوپی به عنوان اولین تولیدکننده، نقش محوری اصلی را در گردش مواد در زنجیره غذایی زیست‌بوم‌های دریا بازی می‌کند که منبع غذایی مهمی برای موجودات دریایی محسوب می‌شوند. در طول چند دهه گذشته، استفاده از جلبک‌های ماکروسکوپی به دلیل وجود مواد مختلف فیزیولوژیکی همچون ترکیبات آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدسرطان و ایمنی در مصارف انسانی و صنعتی مانند دارو و سوخت‌های زیستی مورد استفاده قرار گرفته است (Choi et al., 2015). مطالعات متعددی در ارتباط با اضافه کردن جلبک‌های دریایی به عنوان منبع پروتئینی در جیره غذایی بر روی عملکرد رشد و شاخص‌های خونی در گونه‌های مختلف آبزیان صورت گرفته است. به عنوان مثال افزودن جلبک‌های دریایی به جیره غذایی، منجر به افزایش رشد در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شد (Soler-Vila et al., 2009). مطالعه صورت گرفته در زمینه اثر اضافه کردن جلبک قرمز *Pyropia yezoensis* به جیره غذایی کفشک‌ماهی زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) نشان داد که افزودن عصاره جلبک به جیره غذایی منجر به افزایش رشد و بهبود شاخص‌های خونی شد (Choi et al., 2015). همچنین مطالعه صورت گرفته در زمینه اثر اضافه کردن جلبک‌های *Sargassum cristaefolium* و *Gracilaria pygmaea* به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که افزودن عصاره این دو جلبک به جیره غذایی منجر به افزایش رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد ولی تاثیری بر شاخص‌های خونی این ماهی نداشت (ستوده و همکاران، ۱۳۹۹). Karami و همکاران (۲۰۱۶) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی جلبک *Sargassum angustifolium* را بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی

(*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار دادند. یافته‌های به دست آمده از بررسی آنها در پایان آزمایش نشان داد که در شاخص هماتوکریت اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای مختلف وجود نداشت (Karami et al., 2016). به علاوه، استفاده از جلبک سارگاسم (*Sargassum* sp.) در جیره غذایی ماهیان دیگر همچون *Scophthalmus maximus* (Wang et al., 2019)، ماهی باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) (Nazarudin et al., 2020)، کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) (بیتا و همکاران، ۱۳۹۷) و کفشک ماهی زیتونی (Ragaza et al., 2013) گزارش شده است. در مطالعه دیگر سلیقه‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) اثر مکمل غذایی جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis* را بر برخی از شاخص‌های خونی، ایمنی و بیوشیمیایی سرم ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) بررسی کردند و نتیجه مطالعه آنها نشان داد که مکمل تغذیه‌ای حاوی جلبک اسپیرولینا به میزان ۱۰۰ گرم در هر کیلوگرم غذا، منجر به بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی در این ماهی شد. میزان مناسب اضافه کردن جلبک‌های دریایی به جیره غذایی که منجر به عملکرد بهتر رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی شود، در گونه‌های مختلف متغیر است (Choi et al., 2015). از این رو به مطالعات بیشتری در زمینه افزودن غلظت مناسب جلبک دریایی که منجر به عملکرد مثبت بر روی رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی شود نیاز است.

جلبک سارگاسم حاوی پلی‌ساکاریدهایی بر پایه قند فوکوز بوده که دارای خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضد قارچی است (دشتیان‌نسب و همکاران، ۱۳۹۳). اثر جلبک های دریایی بر عملکرد فیزیولوژیکی آبزیان بسته به گونه و غلظت‌های آنها متفاوت است (Soler-Vila et al., 2009). همچنین، استفاده از محلول‌های مختلف به منظور عصاره‌گیری از جلبک‌های دریایی اثر مستقیم بر میزان مواد فنولی، مولکول‌های زیست‌فعال و فعالیت آنتی-اکسیدانی آنها دارد (Wang et al.,2009). به عنوان مثال، فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی عصاره‌های جلبکی استخراج شده به وسیله مواد آلی (اتانول، متانول، استات و غیره) نسبت به حلال آبی بالاتر بود (Saleh and Al-Mariri, 2017). به طوری که، عصاره اتانولی به دست آمده از جلبک‌های دریایی اثر ضدباکتریایی قوی نسبت به عوامل بیماری‌زا همچون *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas*

aeruginosa و *Escherichia coli* داشت (Kolanjinathan et al., 2009). در مطالعه‌ای دیگر، استفاده خوراکی از عصاره اتانولی جلبک *S. angustifolium* موجب افزایش بقای میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) در مقابل باکتری *Vibrio harveyi* شد (دشتیان‌نسب و همکاران، ۱۳۹۳). پیمانی و همکاران (۱۳۹۲) بیان داشتند که عصاره اتانولی جلبک *Sargassum glaucescens* اثر ضدباکتری قوی علیه عوامل بیماری‌زا همچون *Listeria monocytogenes* و *Vibrio cholera* دارد که می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک‌های تجاری مطرح شود. تاکنون مطالعات اندکی به بررسی اثر عصاره اتانولی جلبک سارگاسم بر شاخص‌های فیزیولوژیکی ماهیان پرداخته‌اند.

ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپورماهیان Cyprinidae بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی است (Mimeault et al., 2005). ماهی‌های قرمز به عنوان عضو کوچک خانواده ماهی کپور، بومی شرق آسیا هستند که برای نخستین بار اواخر قرن هفدهم به اروپا وارد شدند. بخشی از شهرت ماهی قرمز به مقاومت این گونه برمی‌گردد. ماهی قرمز می‌تواند به عنوان یک گونه مناسب برای مدل‌سازی در مطالعات تغذیه‌ای، تولیدمثلی و فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد (Mimeault et al., 2005). تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر عصاره های ماکروجلبکی بر روی عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی قرمز صورت نگرفته است. از این رو، هدف این مطالعه، بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره ماکروجلبک سارگاسوم *S. ilicifolium* به عنوان مکمل غذایی بر روی عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه ماهی قرمز است.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قرمز (*Carassius auratus*) با وزن اولیه ۵/۲۵±۰/۴۵ گرم و با میانگین طولی ۳/۸۶±۰/۲۲ سانتی‌متر از مرکز تکثیر ماهی قرمز (شرکت برادران فخاری، رشت) تهیه و به محل اجرای پروژه (آزمایشگاه شرکت طعام سازان، گرگان) منتقل شد. ماهیان به مدت ۱۴ روز به منظور سازش با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از طی مراحل سازش به

صورت تصادفی در وان‌های ۳۰۰ لیتری تقسیم شدند. در آزمایش حاضر چهار تیمار با سه تکرار شامل جیره شاهد (فاقد عصاره ماکروجلبکی)، تیمار دوم جیره حاوی ۵ گرم در کیلوگرم عصاره ماکروجلبک سارگاسوم، تیمار سوم جیره حاوی ۱۰ گرم در کیلوگرم عصاره ماکروجلبک سارگاسوم و تیمار چهارم حاوی ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره ماکروجلبک سارگاسوم بود (Akbary and Shahraki, 2020). در هر تکرار ۳۰ قطعه بچه ماهی قرمز قرار داده شد. غذادهی ماهیان به صورت دستی و روزانه در سه نوبت (ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶) انجام شد. تعویض آب روزانه صورت گرفت. به منظور هوادهی و رفع نیاز اکسیژن ماهی‌ها، به هر یک از وان‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب شد. این آزمایش به مدت ۶۰ روز به طول انجامید.

تهیه جلبک سارگاسوم و آماده‌سازی عصاره

جمع‌آوری جلبک سارگاسوم *Sargassum ilicifolium* از سواحل تیس واقع در ۵ کیلومتری بندر چابهار هنگام جذر صورت گرفت. سپس جلبک‌ها در فضای آزاد و به دور از نور مستقیم خورشید خشک و توسط دستگاه همزن برقی (Velp، ایتالیا) کاملا به پودر تبدیل شدند. ۵۰ گرم از پودر به دست آمده درون فیلتر استوانه‌ای دستگاه سوسکله (FALC، ایتالیا) و ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول درون فلاسک دستگاه ریخته شد و پس از نصب کامل دستگاه سوسکله منبع حرارت دهنده دستگاه روشن شد. در این حال با تبخیر مرتب حلال از بالن تحتانی، به طور مداوم حلال خالص بر روی ماده گیاهی قرار گرفت و موجب خروج کامل مواد موثر از درون سلول‌های جلبک شد. پس از ۱۲ ساعت محتویات فلاسک در دستگاه دیسکاتور در شرایط خلا کاملا خشک شد و تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Harikrishnan et al., 2003).

آماده‌سازی جیره

به منظور اضافه کردن سطوح مختلف مکمل به جیره پایه، ابتدا مقدار جیره برای کل دوره آزمایش (۶۰ روز) برای هر تیمار محاسبه شد و سپس عصاره جلبک با درصد مشخصی آب مقطر (۴۰ میلی‌لیتر) روی جیره اسپری شد (Choi et al., 2015). به منظور غذادهی ماهیان آزمایش از غذای کنسانتره تجاری ماهی کپور (فرادانه، ایران) با ترکیب تقریبی ۴۲ درصد پروتئین خام، ۶ درصد چربی خام و ۵ درصد فیبر خام استفاده شد.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد

در پایان آزمایش پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، بچه ماهیان موجود در هر تکرار بی‌هوش شده و به منظور سنجش شاخص‌های رشد، طول و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای محاسبه افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، شاخص وضعیت (CF) و بازماندگی (SR) از رابطه‌های ۱ تا ۵ استفاده شد (Yang et al., 2006).

رابطه ۱:

$$WG\ (g) = W_f - W_i$$

W_i: وزن اولیه (گرم)؛ W_f: وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$SGR\ (\%/day) = [(\ln W_f - \ln W_i) / t] \times 100$$

W_i: وزن اولیه (گرم)؛ W_f: وزن نهایی (گرم)؛ t: کل روزهای پرورش (روز).

رابطه ۳:

$$FCR = F / (WG)$$

F: غذای خورده شده (گرم)؛ WG: افزایش وزن (گرم).

رابطه ۴:

$$CF = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن نهایی (گرم)؛ L: طول (سانتی‌متر).

رابطه ۵:

$$SR\ (\%) = [(N - M) / N] \times 100$$

N: تعداد کل ماهیان؛ M: تعداد تلفات.

بررسی شاخص‌های خونی

در پایان دوره آزمایش، بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شد. به منظور خون‌گیری ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شده، از ناحیه ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه خون‌گیری شدند. سپس شاخص‌های خونی شامل هماتوکریت (Hct)، هموگلوبین (Hb)، تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز (RBC)، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، وزن هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) اندازه‌گیری شد. شمارش گلبول‌های سفید و قرمز با استفاده از محلول دایسیس اصلاح شده از طریق لام هموسیتومتر انجام شد (Firouzbakhsh et al., 2011). هماتوکریت به روش میکروسانتریفیوژ و با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت هپارینه اندازه‌گیری شد (Firouzbakhsh et al., 2011). میزان هموگلوبین خون نیز بر اساس روش سیان‌مت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. همچنین شاخص

های گلبولی شامل MCV ، MCH و MCHC از رابطه‌های ۶ تا ۸ محاسبه شد (Campbell and Ellia, 2007).

رابطه ۶:

$$\mathbf{MCV\ (fL) = [Hct / RBC\ (per\ million)] \times 10}$$

رابطه ۷:

$$\mathbf{MCH\ (pg) = [Hb / RBC\ (per\ million)] \times 10}$$

رابطه ۸:

$$\mathbf{MCHC\ (g/dL) = (Hb / Hct) \times 100}$$

برای بررسی شاخص‌های سرمی، نمونه‌های خون به مدت ۵ دقیقه (با سرعت ۳۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) سانتریفیوژ (Eppendorf، آلمان) شد (Sotoudeh et al., 2016). سرم به دست آمده به منظور انجام آزمایش‌های بعدی در میکروتیوب جمع‌آوری شد. میزان پروتئین تام سرم بر اساس روش لوری (Lowry et al., 1951) با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان نمونه استاندارد و در طول موج ۷۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Hitachi، ژاپن) اندازه‌گیری شد. شاخص‌های دیگر بیوشیمیایی (گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید) با استفاده از کیت (پارس آزمون، ایران) و بر اساس دستور العمل شرکت سازنده انجام شد. گلوکز به روش گلوکز اکسیداز، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز و تری‌گلیسیرید به روش گلیسروفسفات دی‌هیدروژناز با استفاده از کیت تشخیصی (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

نمونه‌برداری از روده به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی

به منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز گوارشی، در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)، ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری غذادهی قطع شد (Dequara et al., 2003). بعد از قطع نخاع کردن ماهیان، سریعا در مجاورت یخ کالبد شکافی آنها صورت گرفت. سپس روده با دقت جدا و در محور طولی با دقت بریده شد و پس از تخلیه محتویات داخل آن، با آب مقطر به خوبی شسته شد (Chong et al., 2002) تا مواد غذایی باقی مانده در روده خارج شود. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در شرایط انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، ابتدا نمونه‌ها از شرایط انجماد خارج و وزن شدند و بعد با نسبت وزنی به حجمی (W/V) ۱ به ۵ با کلرید سدیم ۰/۲ مولار با همزن برقی مخلوط شدند (Gawlicka et al., 2000). سوسپانسیون به دست آمده با سرعت ۱۵۰۰۰

دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری (با سه تکرار برای هر تیمار) به منظور سنجش آنزیمی جمع‌آوری شد.

بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی

فعالیت آنزیم آمیلاز، لیپاز و پروتئاز به روش آنزیمی، کالری‌متری با استفاده از کیت‌های تشخیصی (پارس آزمون، ایران) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (6705 UV/VIS، Jenway، انگلستان) انجام شد. طبق دستور العمل شرکت سازنده، آمیلاز، لیپاز و پروتئاز بر اساس روش Lorentz (۱۹۹۸) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آمیلاز، لیپاز و پروتئاز جذب نوری به ترتیب در طول موج‌های ۴۰۵، ۵۸۰ و ۴۶۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم های گوارشی بر اساس واحد بر لیتر با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شد.

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 در محیط ویندوز و از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ شاخص‌های رشد بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سارگاسوم *S. ilicifolium* را در پایان دوره آزمایش نشان می‌دهد. نتایج آزمایش نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت بین تیمار شاهد (تیمار ۱) با تیمارهای حاوی عصاره ماکروجلبکی سارگاسوم اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت) در تیمار حاوی ۱۵ گرم عصاره جلبکی (تیمار ۴) نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود که این تفاوت معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشد بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سارگاسوم (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های رشد	تیمار ۱ شاهد	تیمار ۲ ۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۳ ۱۰ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۴ ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک
وزن اولیه (g)	۵/۳۰±۰/۴۱ ^{a}	۵/۳۲±۰/۴۰ ^{a}	۵/۳۸±۰/۵۲ ^{a}	۵/۲۰±۰/۶۰ ^{a}
وزن نهایی (g)	۱۴/۱۰±۱/۲۰ ^{c}	۱۸/۰۰±۱/۴۱ ^{b}	۲۰/۲۰±۱/۳۲ ^{ab}	۲۲/۹۱±۱/۶۳ ^{a}
افزایش وزن (g)	۱۱/۱۵±۱/۰۳ ^{c}	۱۴/۴۷±۱/۱۱ ^{b}	۱۵/۳۱±۱/۳۱ ^{ab}	۱۷/۴۸±۱/۲۱ ^{a}
نرخ رشد ویژه (٪/day)	۲/۰۰±۰/۰۷ ^{c}	۳/۳۱±۰/۱۰ ^{b}	۳/۴۰±۰/۱۱ ^{b}	۴/۳۵±۰/۱۰ ^{a}
شاخص وضعیت	۱/۰۰±۰/۰۶ ^{b}	۱/۲۰±۰/۱۰ ^{ab}	۱/۲۲±۰/۲۱ ^{ab}	۱/۳۶±۰/۱۷ ^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۰±۰/۱۰ ^{a}	۱/۱۶±۰/۱۴ ^{a}	۱/۱۸±۰/۱۶ ^{a}	۱/۱۲±۰/۱۱ ^{a}
بازماندگی (٪)	۹۵/۰۰±۴/۰۰ ^{a}	۹۳/۱۰±۳/۱۰ ^{a}	۹۵/۱۰±۴/۳۲ ^{a}	۹۵/۱۰±۲/۸۳ ^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بالاترین وزن نهایی (۲۲/۹۱±۱/۶۳ گرم)، افزایش وزن (۱۷/۴۸±۱/۲۱ گرم)، نرخ رشد ویژه (۴/۳۵±۰/۱۰ درصد در روز) و شاخص وضعیت (۱/۳۶±۰/۱۷) در بچه ماهیان تغذیه شده با ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در هر کیلوگرم جیره مشاهده شد. در میزان بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی عصاره ماکروجلبکی سارگاسوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۲ شاخص‌های خونی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت، MCV و MCHC اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵). میزان هموگلوبین در تیمار تغذیه شده با ۵ گرم عصاره جلبکی (تیمار ۲) نسبت به جیره شاهد افزایش داشت که این اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار هموگلوبین در بین تیمارها مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره (۶/۰۳±۰/۳۰ گرم در لیتر) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد (۴/۳۱±۰/۲۲ گرم در لیتر) بود.

جدول ۲: شاخص‌های خون‌شناسی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سارگاسوم (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های خونی	تیمار ۱ شاهد	تیمار ۲ ۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۳ ۱۰ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۴ ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک
WBC ($\times 10^4 mm^{-3}$)	۴/۱۲±۰/۳۲ ^{a}	۴/۱۱±۰/۱۰ ^{a}	۴/۲۰±۰/۳۴ ^{a}	۴/۳۶±۰/۱۸ ^{a}
RBC ($\times 10^6 mm^{-3}$)	۱/۳۶±۰/۰۳ ^{a}	۱/۳۲±۰/۰۵ ^{a}	۱/۳۷±۰/۰۸ ^{a}	۱/۳۵±۰/۰۴ ^{a}
Hb (g/dL)	۴/۳۱±۰/۲۲ ^{b}	۶/۰۳±۰/۳۰ ^{a}	۵/۶۸±۰/۲۶ ^{ab}	۵/۴۳±۰/۲۰ ^{ab}
Hct (٪)	۲۷/۲۰±۰/۷۱ ^{a}	۲۸/۰۲±۰/۴۳ ^{a}	۲۸/۶۰±۰/۲۷ ^{a}	۲۸/۳۰±۰/۶۰ ^{a}
MCV (fL)	۲۲۴/۳۳±۱۵/۱۵ ^{a}	۲۴۳/۲۹±۹/۴۷ ^{a}	۲۴۲/۱۱±۱۹/۳۰ ^{a}	۲۵۲/۵۱±۲۲/۱۰ ^{a}
MCH (pg)	۴۶/۵۷±۵/۲۵ ^{b}	۵۷/۲۸±۸/۳۱ ^{a}	۵۳/۴۲±۶/۲۰ ^{ab}	۵۶/۳۹±۴/۶۳ ^{ab}
MCHC (g/dL)	۲/۵۲±۰/۲۰ ^{a}	۲/۷۰±۰/۱۶ ^{a}	۲/۷۵±۰/۲۳ ^{a}	۲/۶۷±۰/۲۳ ^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P<0/05$).
WBC: گلبول سفید؛ RBC: گلبول قرمز؛ Hb: هموگلوبین؛ Hct: هماتوکریت؛ MCV: حجم متوسط گلبول قرمز؛ MCH: وزن متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز؛ MCHC: غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز.

شاخص MCH در تیمار تغذیه شده با ۵ گرم عصاره ماکروجلبکی سارگاسوم نسبت به تیمار تغذیه شده با جیره شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). با این حال میزان هموگلوبین در بین تیمارهای ۳ و ۴ معنی‌دار نبود ($P>0/05$). بالاترین مقدار MCH در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار تغذیه شده با ۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره (۵۷/۲۸±۸/۳۱ پیکوگرم) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد (۴۶/۵۷±۵/۲۵ پیکوگرم) بود.

جدول ۳ شاخص‌های بیوشیمیایی خون بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. شاخص‌های گلوکز و پروتئین کل اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای مختلف نشان ندادند ($P>0/05$). میزان تری‌گلیسیرید و کلسترول در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰ گرم عصاره ماکروجلبکی سارگاسوم (تیمار ۳) نسبت به تیمار تغذیه شده با جیره شاهد کاهش داشت که این اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). بیشترین میزان تری‌گلیسیرید و کلسترول در تیمار شاهد

مشاهده شد که به ترتیب ۱۱/۱۰±۲۹۵/۳۴ و ۸/۰۸±۳۶۷/۱۲ گرم در دسی‌لیتر بود. کمترین میزان تری‌گلیسیرید و کلسترول به ترتیب مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره (۱۳/۲۳±۲۵۷/۰۰ گرم در دسی‌لیتر) و ۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره (۸/۱۵±۳۴۸/۷۷ گرم در دسی‌لیتر) بود.

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز روده بچه ماهی‌های قرمز تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف در پایان آزمایش در جدول ۴ آورده شده است. اضافه کردن عصاره جلبک سارگاسوم به جیره غذایی با غلظت‌های مختلف منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). بیشترین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز (۲/۰۸±۲۹۸/۰۵ واحد در لیتر)، آمیلاز (۱۱/۱۵ ± ۶۵۵/۳۱ واحد در لیتر) و لیپاز (۱/۰۸ ± ۲۰/۶۹ واحد در لیتر) در تیمار حاوی ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در کیلوگرم جیره مشاهده شد. در حالی که کمترین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز (۴/۵۰±۲۵۴/۰۵ واحد در لیتر)، آمیلاز (۵/۲۲±۴۰۲/۵۵ واحد در لیتر) و لیپاز (۱/۱۱±۱۱/۱۵ واحد در لیتر) در تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۳: شاخص‌های بیوشیمیایی خون بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سارگاسوم (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های بیوشیمیایی خون	تیمار ۱ شاهد	تیمار ۲ ۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۳ ۱۰ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۴ ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک
گلوکز (g/dL)	۷۲/۲۳±۷/۲۳ a	۶۹/۴۱±۵/۶۹ a	۷۱/۰۹±۸/۳۵ a	۶۷/۱۰±۷/۲۵ a
تری گلیسیرید (g/dL)	۲۹۵/۳۴±۱۱/۱۰ a	۲۷۰/۲۸±۱۸/۰۲ ab	۲۶۴/۵۴±۱۰/۰۸ b	۲۵۷/۰۰±۱۳/۲۳ b
کلسترول (g/dL)	۳۶۷/۱۲±۸/۰۸ a	۳۴۸/۷۷±۸/۱۵ b	۳۵۰/۷۰±۷/۰۷ b	۳۵۸/۱۹±۹/۱۹ ab
پروتئین کل (g/dL)	۴/۶۹±۰/۲۱ a	۵/۰۰±۰/۴۶ a	۴/۷۵±۰/۳۶ a	۵/۰۰±۰/۳۰ a

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: تغییرات فعالیت آنزیم‌های گوارشی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سارگاسوم (میانگین ± انحراف معیار)

فعالیت آنزیم	تیمار ۱ شاهد	تیمار ۲ ۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۳ ۱۰ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک	تیمار ۴ ۱۵ گرم در کیلوگرم عصاره جلبک
لیپاز (U/L)	۱۱/۱۵±۱/۱۱ ^{c}	۱۴/۳۹±۱/۶۸ ^{b}	۱۶/۴۲±۱/۳۴ ^{b}	۲۰/۶۹±۱/۰۸ ^{a}
پروتئاز (U/L)	۲۵۴/۰۵±۴/۵۰ ^{c}	۲۶۷/۷۲±۷/۸۱ ^{b}	۲۷۰/۲۸±۹/۵۵ ^{b}	۲۹۸/۰۵±۲/۰۸ ^{a}
آلفا آمیلاز (U/L)	۴۰۲/۵۵±۵/۲۲ ^{d}	۵۹۳/۲۱±۷/۶۵ ^{c}	۶۲۲/۲۱±۴/۱۷ ^{b}	۶۵۵/۳۱±۱۱/۱۵ ^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بحث

بررسی‌ها نشان می‌دهد که عصاره گیاهان و جلبک‌های مختلف می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های رشد، کاهش زمان دوره پرورش برای عرضه به بازار و کاهش هزینه‌های پرورشی شود (Javed et al., 2009). نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که افزودن عصاره ماکروجلبکی سارگاسوم به جیره غذایی بچه ماهی قرمز باعث افزایش شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت) نسبت به تیمار شاهد شد. اکبری و شهرکی (۱۳۹۵) در مطالعاتی که بر روی اثرات افزودن ماکروجلبک *Padina astraulis* بر روی عملکرد رشد در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) انجام دادند گزارش کردند که افزودن این ماکروجلبک به جیره غذایی به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در هر کیلوگرم غذا به مدت ۶۲ روز موجب بهبود شاخص‌های رشد در ماهی کفال خاکستری شد که با نتایج آزمایش ما مطابقت داشت. در مطالعه دیگر، بیتا و همکاران (۱۳۹۷) گزارش دادند که استفاده از عصاره الکلی جلبک سارگاسوم به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در هر کیلوگرم غذا موجب بهبود عملکرد رشد در ماهی کفال خاکستری شد. Choi و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که اضافه کردن عصاره جلبک قرمز *P. yezoensis* به میزان ۱۵ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی کفشک‌ماهی زیتونی در مدت ۹۰ روز آزمایش، منجر به افزایش معنی‌دار میزان رشد در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی داشت. گلیکوپروتئین موجود در عصاره جلبکی با بهبود عملکرد

محور سوماتوتروپیک و افزایش فاکتور رشد شبه انسولین I در افزایش رشد کفشک‌ماهی زیتونی نقش داشت (Choi et al., 2015). جلبک سارگاسوم حاوی پلی‌ساکاریدهای همچون فوکوئیدان (Immanuel et al., 2012)، آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها (Peng et al., 2015) است که نقش مهمی در بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی در آبزیان دارند. وجود ترکیبات ضروری مثل ویتامین‌ها و مواد معدنی در تعدیل متابولیسم لیپیدها و بهبود جذب مواد غذایی نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Yone et al., 2017). در مطالعه دیگری Davies و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که با افزایش میزان جلبک قرمز *Porphyra purpurea* از ۹ به ۱۸ درصد در جیره غذایی، میزان رشد در ماهی کفال خاکستری پوزه ضخیم (Chelon labrosus) کاهش یافت. همچنین Stadtlander و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که جایگزینی ۳۰ درصد پودر ماهی با جلبک قرمز *P. purpurea* منجر به کاهش رشد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) شد که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی نداشت. همچنین، ستوده و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعاتی که بر روی اثرات اضافه کردن ماکروجلبک سارگاسوم *S. cristaefolium* و *G. pygmaea* بر روی عملکرد رشد در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام دادند، گزارش کردند که افزودن این دو ماکروجلبک تاثیری در شاخص‌های رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشت. علت این مسئله ممکن است به دلیل خاصیت ضدتغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای محلول (Soluble Non-Starch Polysaccaride) و وجود فیبر زیاد در ماکروجلبک‌ها باشد که منجر به کاهش قابلیت گوارش پروتئین و چربی شده است (Burtin, 2003; Brinker, 2009). ممکن است تناقض در نتایج به این علت باشد که ماهی قزل‌آلا به دلیل گوشت‌خوار بودن قابلیت کمی در گوارش فیبر داشته باشد، در حالی که ماهی قرمز به دلیل همه‌چیزخوار بودن قابلیت استفاده از مواد غذایی با منشا گیاهی را دارد.

یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامتی و ایمنی ماهیان، شاخص‌های خونی هستند که نسبت به روش‌های دیگر ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر است (حیدری و همکاران، ۱۳۹۹). شاخص‌های خونی در ماهیان تحت تاثیر عوامل فیزیولوژیکی یا عوامل خارجی مختلفی مانند جیره غذایی قرار

دارد (Rios et al., 2002). در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. هرچند میزان این شاخص در تیمارهای حاوی عصاره جلبک سارگاسوم بیشتر از گروه شاهد بود. در مطالعه مشابهی Karami و همکاران (۲۰۱۶) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی جلبک *S. angustifolium* را بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار دادند و یافته‌های به دست آمده از بررسی آنها نشان داد که در شاخص هماتوکریت اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای مختلف وجود نداشت. همچنین استفاده از اسپیرولینا *S. platensis* در جیره غذایی ماهی پنگوسی (*Pangasius hypophthalmus*) تاثیری بر تعداد گلبول‌های سفید این ماهی نداشت (چله مال دزفول‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۱). همچنین استفاده از جلبک *G. pygmaea* به جای پودر ماهی در جیره غذایی به میزان ۶۰ و ۹۰ گرم در هر کیلوگرم غذا، تاثیری در تعداد گلبول‌های سفید ماهی باس دریایی آسیایی نداشت (تنگستانی و همکاران، ۱۳۹۶). در مطالعه سلیقه‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) اثر مکمل غذایی جلبک اسپیرولینا *S. platensis* بر برخی از شاخص‌های خونی، ایمنی و بیوشیمیایی سرم ماهی بنی بررسی شد. در این بررسی که به مدت ۶۰ روز انجام شد، مشخص شد که میزان هموگلوبین در ماهیانی که تحت تغذیه با اسپیرولینا (۵، ۱۰ و ۲۰ گرم عصاره الکلی جلبک در هر کیلوگرم جیره) بودند نسبت به گروه شاهد افزایش یافت (سلیقه‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳) که مطابق با نتایج مطالعه حاضر بود. چنین روندی نیز در ماهی پنگوسی پس از تغذیه با اسپیرولینا *S. platensis* مشاهده شد (چله‌مال دزفول‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۱). به دلیل وجود کلروفیل در اسپیرولینا، دسترسی بدن به آهن بیشتر می‌شود و در نتیجه افزایش هموگلوبین را به دنبال خواهد داشت (تنگستانی و همکاران، ۱۳۹۶). Kim و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای نشان دادند که افزودن جلبک اسپیرولینا در جیره ماهی آرواره چاقویی راه‌راه (*Oplegnathus fasciatus*) باعث افزایش معنی‌دار میزان هماتوکریت شده است. آنها بیان کردند که افزایش مقادیر این شاخص می‌تواند ناشی از اثرات این جلبک و ترکیبات موجود در آن بر مراکز خون‌ساز بدن و بافت هماتوپویتیک باشد که باعث افزایش هماتوکریت می‌شود (Kim et al., 2013). ستوده و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعاتی که بر روی اثرات اضافه کردن ماکروجلبک سارگاسوم

S. cristaefolium و *G. pygmaea* بر روی شاخص‌های خونی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام دادند، گزارش کردند که در شاخص‌های خونی (تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت، MCV و MCHC) بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی داشت. برخلاف نتایج مطالعه کنونی، Zeraatpisheh و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که بالاترین میزان هماتوکریت و گلبول‌های سفید و قرمز در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از تغذیه با عصاره آبی جلبک سارگاسم *S. angustifolium* به میزان ۴۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد.

هرگونه تغییر در سطح آلبومین، گلوبولین و پروتئین کل پلاسما می‌تواند به عنوان یک شاخص بالینی در پایش سلامت سیستم ایمنی، کبد و کلیه مورد استفاده قرار گیرد (Banaee et al., 2011). عوامل متعددی بر میزان این شاخص‌ها تاثیرگذار هستند و آن‌ها را دستخوش تغییرات می‌کنند که از جمله این عوامل می‌توان تغذیه ماهی را نام برد. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری را در میزان گلوکز و پروتئین کل در بین تیمارهای مختلف نشان نداد. با این حال میزان گلوکز در تیمارهای حاوی عصاره جلبکی نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. همسو با این نتایج، حیدری و همکاران (۱۳۹۹) گزارش دادند که استفاده از جلبک *G. pygmea* به میزان ۱۵ و ۲۵ گرم در جیره غذایی ماهی باس دریایی تاثیری بر میزان گلوکز و پروتئین سرم نداشت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان تری‌گلیسیرید و کلسترول در ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره‌های سارگاسوم بالاتر بود. جیره‌های حاوی مکمل جلبک، می‌تواند متابولیسم چربی ماهی را تحت تاثیر قرار دهد (Nakagawa, 1997). کاهش میزان کلسترول خون در ماهی باس دریایی آسیایی پس از افزودن جلبک *G. pygmea* به میزان ۲۰ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده شد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۹). همچنین ستوده و همکاران (۱۳۹۹) علت کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را پس از تغذیه با عصاره جلبکی وجود فیتواسترول‌ها بیان کردند. به طوری که فوکواسترول موجود در جلبک‌ها بر متابولیسم کلسترول تاثیرگذار بوده است. در مطالعه دیگر Nematipour و همکاران (۱۹۸۸) گزارش دادند که جیره حاوی ۲ درصد جلبک کلرلا *Chlorella* sp. باعث کاهش میزان تری

گلیسیرید و کلسترول در تیمارهای تغذیه شده با این جلبک نسبت به گروه تغذیه شده با جیره شاهد شد که با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر همخوانی داشت. همچنین تجویز خوراکی جلبک *Nannochloropsis oculata* به میزان ۱۵ گرم در هر کیلوگرم غذا موجب کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد (نراقی و همکاران، ۱۳۹۷). این امر می‌تواند ناشی از تاثیر جلبک بر متابولیسم چربی‌ها در کبد و همچنین وجود اسیدهای چرب غیراشباع امگا-۳ باشد. کاهش کلسترول سرم خون توسط اسیدهای چرب زنجیره بلند ممکن است با کاهش عملکرد کلستریل استر حمل کننده پروتئین و آنزیم لستین کلسترول آسیل ترانسفراز مرتبط باشد (Abbey et al., 1990).

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف عصاره جلبک سارگاسوم منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز، آمیلاز و لیپاز) در مقایسه با شاهد شد که با مطالعه صورت گرفته توسط Akbary و Shahraki (۲۰۲۰) مطابقت داشت. آنها گزارش کردند تغذیه کفال خاکستری به مدت ۶۰ روز با عصاره جلبک *Padina astraulis* در سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم عصاره در کیلوگرم غذا سبب بهبود عملکرد فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز نسبت به تیمار شاهد شد (Akbary and Shahraki et al., 2020). همچنین بیتا و همکاران (۱۳۹۷) پس از ۶۰ روز آزمایش نشان دادند بیشترین سطح آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در ماهی کفال خاکستری مربوط به جیره حاوی ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم بود. افزودنی‌ها و چاشنی‌های مختلف گیاهی موجب بهبود ترشح آنزیم‌های گوارشی می‌شود که در نتیجه افزایش گوارش را به دنبال دارد (Citarasu, 2010). اما در مطالعه دیگر استفاده خوراکی از جلبک *G. pygmaea* (۳۰، ۶۰ و ۹۰ گرم در هر کیلوگرم جیره) در جیره غذایی ماهی باس دریایی آسیایی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی همچون پپسین، آمیلاز و لیپاز شد. مقادیر بالای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای از اتصال آنزیم‌های گوارشی به سوبسترا جلوگیری می‌کند در نتیجه کاهش قابلیت گوارش‌پذیری پروتئین و چربی را به دنبال خواهد داشت (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۸).

در مجموع، نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که استفاده از عصاره اتانولی جلبک سارگاسوم *S. ilicifolium* در هر کیلوگرم جیره منجر به افزایش معنی‌دار وزن

نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت و کاهش میزان تری‌گلیسیرید خون شد. همچنین افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در ماهی قرمز تغذیه شده با عصاره جلبک سارگاسوم مشاهده شد. از طرفی، بهترین عملکرد شاخص‌های رشد و آنزیم‌های گوارشی در ماهیان تغذیه شده با ۱۵ گرم عصاره جلبک سارگاسوم در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد.

منابع

اکبری پ. و شهرکی ن. ۱۳۹۵. اثر عصاره جلبک پادینا (*Padina astraulis*) روی رشد، تغذیه، ترکیب شیمیایی و اسیدهای چرب لاشه ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus* Linnaeus,1758). شیلات ایران، ۲۵(۲): ۱۶۱-۱۷۱.

بیتا س.، اکبری پ. و سلطان‌پور ف. ۱۳۹۷. اثر عصاره الکلی جلبک سارگاسوم (*Sargassum ilicifolium*) بر رشد، تغذیه، ترکیب بدن و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*). فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۶(۴): ۷۸-۶۱.

پیمانی ج.، قرایی ا.، غفاری م. و طاهری ع. ۱۳۹۲. بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره آبی و اتانولی جلبک قهوه‌ای (*Sargassum glaucescens*). شیلات ایران، ۲۲(۴): ۲۲-۱۳.

تنگستانی ن.، مرشدی و.، نفیسی بهابادی م.، عضدی م.، فرهودی آ. و ستوده ا. ۱۳۹۶. بررسی اثر مکمل غذایی جلبک گراسیلاریا (*Grasilaria pygmaea*) بر روی فاکتورهای خونی ماهی سی‌باس آسیایی *Lates calcarifer*. فیزیولوژی و تکوین جانوری، ۱۰(۲): ۵۱-۳۷.

چله‌مال دزفول‌نژاد م.، جهانگیری‌زاده م.، مصباح م. و جواهری‌بابلی م. ۱۳۹۱. تاثیر تغذیه با اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر فاکتورهای خونی و سیستم ایمنی در ماهی پنگوسی (*Pangusius hypophtalamus*). محیط زیست جانوری، ۴(۲): ۳۳-۲۵.

حیدری م.، زرگر ا.، سلطانی م.، ابراهیم‌زاده موسوی ح.ع. و مرشدی و. ۱۳۹۹. اثر سطوح مختلف ماکروجلبک جیره *Gracilaria pygmea* بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی خون ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*). محیط‌زیست جانوری، ۱۲(۳): ۱۸۹-۱۹۷.

دشتیان‌نسب ع.، مصباح م.، پیغان ر. و کاکولکی ش. ۱۳۹۳. اثر عصاره اتانولی جلبک قهوه‌ای *Sargassum angustifolium* بر عملکرد رشد، درصد بقا و مقاومت در برابر ویبریوزیس (*Vibrio harveyi*) در میگوی پاسفید غربی *Litopenaeus vannamei*. شیلات ایران، ۲۳(۳): ۴۰-۳۱.

ستوده ا.، اسحاق‌نژاد ز.، بهادری ر. و مرادیان س.ح. ۱۳۹۹. عملکرد رشد و شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) تغذیه شده با عصاره اتانولی ماکروجلبک‌های سارگاسوم (*Sargassum cristaefolium*) و گراسیلاریا (*Gracilaria pygmaea*). پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۸(۱): ۸۸-۸۰.

سلیقه‌زاده ر.، یاوری و.، موسوی س.م. و ذاکری م. ۱۳۹۳. اثر مکمل غذایی جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر برخی فاکتورهای

خونی، ایمنی و بیوشیمیایی سرم ماهی بنی *Mesopotamichthys sharpeyi* (Günther 1874). دامپزشکی ایران، ۱۰(۴۳): ۴۶-۴۰.

فرهودی آ.، سوری‌نژاد ا.، نفیسی بهابادی م.، سجادی م.م. و سالارزاده ع. ۱۳۹۸. اثرات مکمل غذایی ماکروجلبک قرمز دریایی *Gracilaria pygmaea* بر آنالیز تقریبی لاشه، قابلیت هضم ظاهری و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی باس دریایی آسیایی *Lates calcarifer*. علوم آبزی‌پروری، ۷(۱۳): ۲۰۶- ۱۹۵.

نراقی م.، شمسایی‌مهرجان م.، رجبی اسلامی ه. و حسینی شکرابی س.پ. ۱۳۹۷. تاثیر مکمل‌سازی رژیم غذایی با پودر جلبک نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis oculata*) بر برخی شاخص‌های خونی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. شیلات ایران، ۲۷(۶): ۱۲۷-۱۰۵.

Abbey M., Clifton P., Kestin M., Belling B. and Nestel P. 1990. Effects of fish-oil on lipoproteins, lecithin: Cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins activity in humans. Arteriosclerosis, 85: 85–94.

Akbary P. and Shahraki N. 2020. Effect of dietary supplementation of *Padina astraulis* extract on biochemical response and digestive enzyme activities of grey mullet, *Mugil cephalus*. Iranian Journal of Fisheries Science, 19: 2118–2127.

Banaee M., Mirvagefei A.R. and Sureda A. 2011. Effects of oral administration of silymarin on biochemical parameters of blood in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Natural Reserch, 63: 271–286.

Brinker A. 2009. Improving the mechanical characteristics of faecal waste in rainbow trout: The influence of fish size and treatment with a non-starch polysaccharide (guar gum). Aquaculture Nutrition, 15: 229–240.

Burtin P. 2003. Nutritional value of seaweeds. Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 2: 498–503.

Campbell T.W. and Ellia C.K. 2007. Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology. Blakwell Puplishing, USA. 286P.

Choi Y., Lee B. and Nam T. 2015. Effect of dietary inclusion of *Pyropia yezoensis* extract on biochemical and andimmune responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 34: 347–353.

Chong A., Hashim R. and Tang L. 2002. Partial characterization and activities of protease from the digestive tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aquaculture, 20: 321–331.

Citarasu T. 2010. Herbal biomedicines a new opportunity for

aquaculture industry. Aquaculture International, 18: 403–414.

Davies S., Brown M. and Camilleri M. 1997. Preliminary assessment of the seaweed *Porphyra purpureain* artificial diets for thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). Aquaculture, 15: 249–258.

Dequara S., Jauncey K. and Agius C. 2003. Enzyme activities and PH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. Journal of Fish Biology, 62: 1033–1043.

Firouzbakhsh F., Noori E. and Khalesi M. 2011. Effects of a probiotic, protexin on the growth performance and hematological parameters in the oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry, 37: 833–842.

Gawlicka A., Parrent B. and Opstad I. 2000. Activity of digestive enzyme in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) indication of readiness for first feeding. Aquaculture, 184: 304–314.

Harikrishnan R., Nisha M. and Balas C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture, 21: 41–50.

Immanuel G., Sivagnanavelmurugan M., Balasubramanian V. and Palavesam A. 2012. Sodium alginate from *Sargassum wightii* retards mortalities in *Penaeus monodon* postlarvae challenged with white spot syndrome virus. Diseases of Aquatic Organisms, 99: 187–196.

Javed M., Durrani F. and Aamad I. 2009. Effect of aqueous extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. Journal of Agriculture Biology Science, 4: 37–40.

Karami E., Mesbah M. and Nazari M. 2016. Effect of aqueous extract of *Sargassum angustifolium* on some of the hematological parameters in common carp. Journal of Aquatic Ecology, 6: 124–133.

Kim S., Rahimnejad S. and Kim W. 2013. Partial replacement of fish meal with *Spirulina pacifica* in diets for parrot fish (*Oplegnathus faciatus*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13: 197–204.

Kolanjinathan K., Ganesh P. and Govindarajan M. 2009. Antibacterial activity of ethanol extracts of seaweeds against fish bacterial pathogens. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 13: 173–177.

Lorentz K. 1998. Clinical laboratory diagnostics. P: 95–202. In: Thomas L. (Ed.). Use and Assessment of

Clinical Laboratory Results. TH-Books, Amer Assn for Clinical Chemistry, Germany. 1527P.

Lowry H., Farr A. and Randall R. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193: 265–275.

Mimeault C., Woodhouse A. and Rudeau V. 2005. The human lipid regulator, gemfibrozil bioconentrates and reduces testosterone in the common carp (*Cyprinus carpio*). Aquatic Toxicology, 73: 44–54.

Nakagawa H. 1997. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. Biomed Pharmocother, 51: 345–348.

Nazarudin M.F., Yusoff F., Idrus E.S. and Aliyu-Paiko M. 2020. Brown seaweed *Sargassum polycystum* as dietary supplement exhibits prebiotic potentials in Asian sea bass *Lates calcarifer* fingerlings. Aquaculture Reports, 18: 1–8 (100488).

Nematipour G., Nakagawa H. and Ohya S. 1988. Effects of dietary lipid level and *Chlorella* extract on ayu. Nippon Suisan Gakkaishi, 54: 13951400.

Peng Y., Hu J., Yang B., Lin X.P., Zhou X.F., Yang X.W. and Liu Y. 2015. Chemical composition of seaweeds. P: 79–124. In: Tiwari B.K. and Troy D.J. (Eds.). Seaweed Sustainability. Academic Press, USA.

Pereira R., Valente L. and Pinto I. 2012. Apparent nutrient digestibility of seaweeds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Algal Research, 1: 77–82.

Ragaza J.A., Mamauag R.E., Koshio S., Ishikawa M. and Yokoyama S. 2013. Comparative effects of dietary supplementation levels of *Eucheuma denticulatum* and *Sargassum fulvellum* in diet of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Science, 61: 27–37.

Rios F., Kalinin A. and Rantin F. 2002. The effects of long-term food deprivation on repiration and hematology of the Neotropical fish. Journal of Fish Biology, 6: 85–95.

Saleh B. and Al-Mariri A. 2017. Antimicrobial activity of the marine algal extracts against selected pathogens. Journal of Agricultural Science and Technology, 19: 1067–1077.

Soler-Vila A., Coughlan S. and Kraan S. 2009. The red algaporphyra dioicaas a fish-feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Phycolology, 21: 133–140.

Sotoudeh E., Abedian A. and Khajeh K. 2016. Interaction HUFA and vitamin E on growth and hematological parameters of

Caspian trout fry (*Salmo trutta caspius*). Fisheries Science and Technology, 3: 15–29.

Stadtlander T., Khalil W. and Focken U. 2013. Effects of low and medium levels of red alga nori (*Porphyra yezoensis*) in the diets on growth, feed utilization and metabolism in intensively fed Nile tilapia (*Orechromis niliticus*). Aquaculture Nutrition, 19: 64–73.

Wang C., Hu W., Wang L., Qiao H., Wu H. and Xu Z. 2019. Effects of dietary supplementation with *Sargassum horneri* meal on growth performance, body composition, and immune response of juvenile turbot. Journal of Applied Phycology, 31(1): 771–778.

Wang T., Jonsdottir R. and Olafsdottir G. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. Food Chemistry, 116: 240–248.

Yang S.D., Lin T.S., Liu F. and Liou H. 2006. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture, 230: 405–413.

Yone Y., Furuichi M. and Urano K. 2017. Effects of wakame *Undaria pinnatifida* on absorption of dietary nutrients and blood sugar and plasma. Nippon Suisan Gakkaishi, 52: 1817–1820.

Zeraatpisheh F., Firouzbakhsh F. and 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: 2029–2037.

Zheng K., Liang M. and Wang J. 2012. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-1 levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivacus*). Aquaculture Nutrition, 18: 297–303.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 10, No. 3, Autumn 2022

Research Paper

Effect of *Sargassum ilicifolium* alcoholic extract on growth performance, blood parameters and digestive enzymatic activities in fingerlimg gold fish (*Carassius auratus*)

Reza Nahavandi[1], Ali Sadeghi[2], Meysam Sabzeh[3], Sajjad Pourmozaffar[4]*, Saeid Tamadoni Jahromi[5], Mohammad Khalil Pazir[6], Keyvan Ejlali Khanghah[7]

Received: October 2021 Accepted: January 2022

Abstract

This experiment was conducted to evaluate the effect of different levels of supplementation of *Sargassum ilicifolium* on the growth performance, blood parameters and digestive enzymatic activities of goldfish (*Carassius auratus*) for 60 days. Goldfish (with an average initial weight of 5.25±0.45g) were divided into four experimental treatments with three replicates (30 fish/replicate) inluding control treatment (without algae extract) and three treatments supplemented with Sargassum extracts 5, 10 and 15g/kg diet. The results showed that the highest final weight, weight gain, specific growth rate and condition factor were observed in fish fed with 15g/kg *S. ilicifolium* extract. Hemoglobin and MCH in fish fed with diets containing *S. ilicifolium* extracts showed significant difference compared to control group. The levels of triglyceride and cholesterol in fish fed with control diet were significantly higher than that of fed diets containing *S. ilicifolium* extracts ($P<0.05$). The highest proteases, amylase and lipase activities were recorded in *Sargassum* extract at 15g/kg diet. The results of this study showed that goldfish fed the diet containing 15g/kg *S. ilicifolium* had better growth performance and activity of digestive enzymes compared to other groups. Therefor the administration of 15g/kg of *S. ilicifolium* extract is recommended to use in goldfish diet.

Key words: Sargassum ilicifolium, *Goldfish*, *Growth Performance*, *Blood Parameters*, *Digestive Enzymes*.

1- Assistant Professor in Biotechnology Department, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
2- Ph.D. in Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3- M.Sc. in Fisheries, Azad Shahr Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.
4- Assistant Professor in Aquaculture Department, Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Lengeh, Iran.
5- Associate Professor in Biotechnology Department, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.
6- Assistant Professor in Health and Diseases of Aquatic Animals Department, Iran Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Boushehr, Iran.
7- Assistant Professor in Ecology Department, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: Sajjad5550@gmail.com