



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره پنجم، شماره اول، بهار ۹۶

<http://jair.gonbad.ac.ir>

## اثر سطوح مختلف عصاره آب داغ جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* بر فراسنجه‌های خونی و میزان مقاومت در مواجهه با باکتری *Yersinia ruckeri* در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

فرشته زراعت پیشه<sup>۱</sup>، فرید فیروز بخش<sup>۲\*</sup>، خسرو جانی خلیلی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

<sup>۲</sup>دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

<sup>۳</sup>دانشجوی دکتری شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۵/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۶

چکیده

هدف از این تحقیق، بررسی اثر مصرف خوراکی عصاره آب داغ جلبک دریایی سارگاسوم انگستیفلیوم بر فراسنجه‌های خونی و میزان بقای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) در برابر باکتری یرسینیا راکری بود. برای این منظور تعداد ۳۰۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) (میانگین وزنی  $0.22 \pm 0.05$  گرم) از یک مزرعه پرورش ماهی خریداری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از مدت ۱۴ روز سازگاری ماهیان با شرایط آزمایشگاهی، در ۵ تیمار با سه تکرار تقسیم شدند. ماهیان مورد نظر با جیره‌های غذایی حاوی ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم جلبک سارگاسوم انگستیفلیوم در هر کیلو غذا به مدت ۵۶ روز تغذیه شدند. از ماهیان پس از تماس با باکتری یرسینیا راکری در پایان دوره آزمایش (روز ۵۶) خونگیری شد، سپس تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی عصاره جلبکی در فراسنجه‌های خونی و میزان بقاء نسبت به گروه شاهد در شرایط بهتری بودند. به طوری که با افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره آب داغ جلبک سارگاسوم انگستیفلیوم به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به مدت ۵۶ روز می‌تواند به‌طور معنی‌داری در تعداد گلبول قرمز و سفید، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین و همچنین میزان مقاومت ماهی را در برابر باکتری یرسینیا راکری افزایش دهد. همچنین ماهیان تغذیه شده با دوزهای مختلف عصاره آبی جلبک دریایی نسبت به ماهیان گروه شاهد دارای

\*نویسنده مسئول: [f.firouzbakhsh@yahoo.com](mailto:f.firouzbakhsh@yahoo.com)

میزان بقاء بالاتر و پارامترهای خونی بهتری ۵۶ روز پس از تغذیه و قرار گرفتن در معرض باکتری یرسینیا بودند. به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین ماهیان تغذیه شده با ۴۰۰ mg/kg جلبک دریایی به طور معنی‌داری در انتهای دوره آزمایش افزایش یافت. به علاوه، میزان مقاومت به بیماری یرسینیوز در این ماهیان افزایش یافت. در نتیجه، مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که ۴۰۰ mg/kg از عصاره جلبک دریایی می‌تواند پارامترهای خونی و مقاومت به بیماری یرسینیوز را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، عصاره جلبکی، فاکتورهای خونی، میزان بقاء، یرسینیا راگری

#### مقدمه

تلفات به دلیل بروز بیماری در ماهیان یکی از عمده‌ترین مسایلی است که پرورش دهندگان ماهی به خصوص در بچه‌ماهیان با آن مواجه هستند. بنابراین تقویت سیستم ایمنی بدن ماهیان به خصوص گونه‌هایی که ارزش اقتصادی بالایی دارند از اهمیت بالایی برخوردار است (Shalaby *et al.*, 2006). استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان محرک سیستم ایمنی در چند دهه اخیر افزایش یافته است (Vaseeharan and Thaya, 2013; Galina *et al.*, 2009). استفاده از عصاره جلبکی به عنوان محرک غذایی در افزایش کیفیت و سلامت طعم غذا، همچنین افزایش رشد و ایمنی در آبزیان اثر زیادی دارد (Chojnacka *et al.*, 2012). امروزه از جلبک‌های دریایی با داشتن خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی (Ghaednia *et al.*, 2011) با داشتن ترکیبات بیولوژیک فعال (Kadam and Prabhasankar, 2010) به عنوان پتانسیلی در برابر پاسخ به بیماری‌ها و میزان بقاء آبزیان نامبرده می‌شود (Raa, 1996). گونه‌های متنوعی از جنس جلبک سارگاسوم حاوی پلی ساکاریدهایی با ترکیبات زیستی فعال هستند که تاکنون خواص مهمی از قبیل خواص ضد باکتریایی و ضد ویروسی نشان داده‌اند (Yeh *et al.*, 2006). یکی از انواع ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای، جلبک سارگاسوم انگوستیفلیوم (*Sargassum angustifolium*) متعلق به خانواده سارگاسه آ (Sargassaceae) از جمله جلبک‌های دریایی مهم خلیج فارس محسوب می‌شود (Dawczynski *et al.*, 2007). برخی مطالعات نشان داده است که استفاده از جلبک‌های خشک شده، به عنوان محرک ایمنی در صنعت آبزی‌پروری، باعث بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به استرس و بیماری می‌شود (Jaime-Ceballos *et al.*, 2005). در پژوهشی دیگر اثر عصاره متانولی جلبک (*Sargassum wightii*) در میگوی پنئوس مونودون (*Penaeus monodon*) در رژیم غذایی به میزان ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌گرم که به جیره غذایی افزوده شد دریافتند که در طی دوره ۹۰ روزه حداکثر بقاء ۹۶/۶۶ درصد را در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم داراست (Huxley and Lipton, 2009). در مطالعه دیگر مشخص شد که

*S. angustifolium*) جداسازی شده از سواحل خلیج فارس باعث مهار باکتری‌های بیماری‌زای انسانی و آبریزان می‌شود (Dashtiannasab *et al.*, 2012). با توجه به مطالعات انجام شده درباره خصوصیات این جلبک، این امکان را به وجود می‌آورد تا تحقیق جدیدی در جهت بررسی اثر جلبک دریایی سارگاسوم انگوستیفلیوم در پاسخ‌های ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان علیه باکتری پرسیپینیا راکری انجام شود.

### مواد و روش‌ها

جلبک مورد نظر از منطقه جزر و مدی و ساحل بندر بوشهر تهیه شد. ابتدا جلبک با دقت شسته و از شن و ماسه و جانداران اپیفیت کاملاً عاری شد. سپس جلبک را درون آب مقطر غوطه‌ور کرده (برای خارج شدن املاح) و هر ساعت یکبار آب آن‌ها تعویض شد. سپس جلبک را روی پارچه تمیزی در سایه گسترانیده و طی چند روز سایه خشک شد. در مرحله بعد نمونه‌ها توسط آسیاب برقی کاملاً به صورت پودر درآمده و تا زمان استفاده در فریزر نگهداری شد (Fujiki *et al.*, 1993). ۱۰۰ گرم از پودر جلبک خشک شده با ۵ لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شده و در ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت مایع رویی جدا شده و در آن خشک گردید (Yangthong *et al.*, 2016).

۳۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن میانگین  $5/82 \pm 0/22$  گرم از یک مرکز پرورش ماهی در شهرستان ساری خریداری و به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گشت. ابتدا سازش‌یابی بچه‌ماهی‌ها در تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری به مدت دو هفته انجام گرفت. فاکتورهای محیطی هر هفته اندازه‌گیری شد. محدوده دمای آب در طول پرورش  $12 \pm 0/30$  درجه سانتی‌گراد، pH آن  $8/5 \pm 0/25$  و اکسیژن محلول آب در محدوده  $7/32 \pm 0/45$  میلی‌گرم در لیتر متغیر بود.

به‌منظور آماده‌سازی غذا، عصاره آبی در سطوح (۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۰) میلی‌گرم در هر کیلو غذای تجاری ماهیان که از شرکت غذاسازی بیضاء (شهرستان ساری) خریداری شده بود به روش اسپری کردن اضافه شد (Mehrabi *et al.*, 2012). سپس ماهی‌ها به صورت تصادفی در ۵ تیمار با سه تکرار (هر تکرار ۲۰ قطعه ماهی) تقسیم شدند. ماهیان بصورت دو بار در روز به مدت ۸ هفته غذادهی شدند.

در پایان دوره آزمایش به‌منظور ارزیابی فاکتورهای خونی ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری غذادهی ماهیان متوقف شده و ۱۸ ماهی از هر تیمار (از هر تکرار ۶ ماهی) به‌طور تصادفی انتخاب شدند و پس از بیهوشی کامل ماهیان در محلول عصاره گل میخک - ماهی را خارج کرده و سپس قسمت دمی آن را با حوله کاملاً خشک کرده و خونگیری به وسیله سرنگ دو سی‌سی از ساقه دمی انجام شد. خون به دو بخش تقسیم می‌شود. بخشی از خون در لوله‌های CBC که دارای مواد هیپارینه است و بخشی دیگر

در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند و پس از تشکیل لخته، سرم خون با استفاده از سانتریفوژ (به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۶۰۰۰ rpm) توسط سمپلر از لخته جداسازی شد و در میکروتیوپ‌های جداگانه قرار گرفت. نمونه‌های سرم جداسازی شده تا زمان انجام آزمایش‌های سرمی (آلبومین، پروتئین تام، گلوکز، لیزوزیم و کمپلمان) در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شمارش گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز (RBC) خون به روش هموسیتومتری انجام گرفت. به منظور کاهش خطای آزمایش، شمارش گلبول‌های سفید و قرمز در ۳ مرحله انجام شد (Schalm *et al.*, 1975). هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شد، به این صورت که لوله‌های میکروهماتوکریت به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند (Weiss and Wardrop, 2010). سپس میزان هماتوکریت برحسب درصد با خط‌کش مخصوص میکروهماتوکریت تعیین شد.

برای اندازه‌گیری هموگلوبین، دستگاه اسپکتروفتومتر با محلول درآبکین شاهد صفر شده و سپس برای سنجش جذب نوری محتویات لوله‌ها، دستگاه با طول موج ۵۴۶ نانومتر تنظیم شد. مقدار قرائت شده از روی دستگاه برای محاسبه میزان هموگلوبین با منحنی استاندارد مقایسه شد و بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به دست آمد (Drobkin, 1945).

$MCHC = Hct \times 10 / RBC$  (میانگین حجم گویچه‌ها بر حسب فمتولیترا) که Hct درصد هماتوکریت و RBC تعداد کل گلبول‌های قرمز است.

$MCH = Hb \times 10 / RBC$  (میانگین هموگلوبین گویچه‌ها بر حسب پیکوگرم) که HB غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر است.

$MCHC = HB \times 100 / HCT$  (میانگین غلظت هموگلوبین گویچه‌ها بر حسب گرم در دسی‌لیتر)

باکتری زنده یرسینیا راگری با غلظت  $10^8$  Cfu/ml در بافر فسفات تهیه گردید. ۱۰ ماهی از هر آکواریوم به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی به ازای هر ماهی به روش داخل صفاقی، تزریق گردید. تعداد تلفات روزانه به مدت ۱۰ روز ثبت گردید. در انتهای دوره، تلفات تجمعی هر گروه تعیین و نمودار تلفات تجمعی هر ۵ گروه ترسیم گردید.

به‌منظور بررسی تاثیر باکتری یرسینیا راگری بر گروه‌های تیماری تغذیه شده با عصاره آبی جلبک دریایی سارگاسوم انگستیفیلیوم و همچنین بررسی میزان مقاومت گروه‌های تیماری به باکتری یرسینیا راگری، خونگیری در روز ۱۰ پس از آلوده سازی از ماهیان باقیمانده در تیمارها انجام شد. بررسی فاکتورهای خونی همانند مرحله اول آزمایش صورت گرفت.

داده‌های این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به روش تجزیه واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

### نتایج

بررسی آماری (جدول ۱) نشان‌دهنده آن است بیشترین تعداد گلبول قرمز در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که در مقایسه با گروه شاهد و سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است با افزایش درصد عصاره آبی جلبک در جیره ماهیان، تعداد گلبول سفید افزایش یافته است. به‌طوری‌که گروه‌های ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم افزایش معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) در مقایسه با گروه شاهد داشتند. بیشترین و کم‌ترین تعداد گلبول سفید به‌ترتیب در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم ( $28380 \pm 740$ ) و گروه شاهد ( $11747 \pm 867$ ) مشاهده شد. لازم به ذکر است که در مقایسه تعداد گلبول‌های سفید بین گروه‌های ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

نتایج به‌دست آمده از میزان هماتوکریت و هموگلوبین نشان می‌دهد که بیشترین درصد هماتوکریت و هموگلوبین در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با گروه شاهد و سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داده است در حالی که در بین سایر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).

جدول ۱- فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه‌شده با سطوح مختلف عصاره آبی جلبک دریایی سارگاسوم انگستیفولیوم پس از ۸ هفته

تیمار / پارامترها	شاهد	۵۰ میلی‌گرم	۱۰۰ میلی‌گرم	۲۰۰ میلی‌گرم	۴۰۰ میلی‌گرم
هماتوگلوبین (g/L)	$8/56 \pm 0/12^a$	$8/74 \pm 0/46^a$	$8/91 \pm 0/58^a$	$9/14 \pm 0/54^a$	$13/18 \pm 2/28^b$
هماتوکریت (%)	$34/33 \pm 0/57^a$	$35/33 \pm 3/57^a$	$35 \pm 1^a$	$35/33 \pm 3/115^a$	$38/33 \pm 1/5^b$
گلبول سفید ( $\text{mm}^3$ )	$11747 \pm 867^a$	$13103 \pm 675^{ab}$	$13885 \pm 1106^b$	$16491 \pm 1036^c$	$28380 \pm 16/8^d$
گلبول قرمز $\times 10^6$ ( $\text{mm}^3$ )	$1/11 \pm 12^a$	$1/14 \pm 0/02^a$	$1/12 \pm 0/03^a$	$1/18 \pm 0/02^a$	$1/32 \pm 0/02^b$
MCV (pg)	$310/66 \pm 37/07^a$	$309/9 \pm 9/96^a$	$310/33 \pm 6/65^a$	$297/33 \pm 6/42^a$	$288/66 \pm 16/80^a$
MCH (%)	$77/64 \pm 9/73^a$	$78/22 \pm 2/63^a$	$77/76 \pm 6/54^a$	$76/62 \pm 4/21^a$	$97/37 \pm 17/11^b$
MCHC (fl)	$24/56 \pm 0/96^a$	$26/54 \pm 0/46^a$	$24/53 \pm 1/66^a$	$25/88 \pm 1/23^a$	$34/44 \pm 6/29^b$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

نتایج فراسنج‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره آبی جلبک دریایی سارگاسوم انگستیفیلیوم پس از رویارویی با باکتری یرسینیا راکری، به صورت خلاصه در جدول ۲ آمده است. بررسی آماری نشان دهنده آن است که بیشترین تعداد گلبول قرمز در گروه ۲۰۰ میلی‌گرم ( $9/6 \pm 1/23$ ) در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد، اما بین گروه ۲۰۰ میلی‌گرم و گروه ۴۰۰ میلی‌گرم از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). بیشترین و کم‌ترین تعداد گلبول سفید به ترتیب در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم ( $13700 \pm 1300$ ) و گروه شاهد ( $8400 \pm 600$ ) مشاهده شد. لازم به ذکر است که در مقایسه تعداد گلبول‌های سفید بین گروه‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

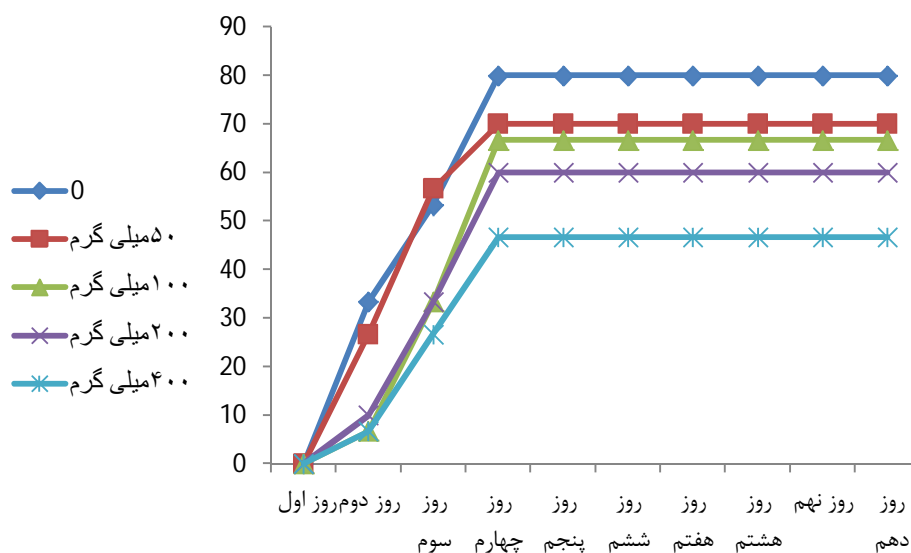
نتایج به دست آمده از میزان هماتوکریت نشان داد که بیشترین درصد هماتوکریت در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد که با گروه شاهد و سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داده است در حالی‌که بین سایر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). نتایج حاصل از چالش نشان داد که حداقل و حداکثر به ترتیب در گروه شاهد ( $6/69 \pm 0/38$ ) و گروه ۴۰۰ میلی‌گرم ( $8/44 \pm 0/43$ ) است. میزان هموگلوبین در گروه ۲۰۰ و ۴۰۰ و همچنین بین گروه‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است ( $p > 0/05$ ).

جدول ۲- میانگین شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) ۸ هفته تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره جلبک سارگاسوم پس از رویارویی با باکتری یرسینیا راکری

تیمار / پارامترها	شاهد	۵۰ میلی‌گرم	۱۰۰ میلی‌گرم	۲۰۰ میلی‌گرم	۴۰۰ میلی‌گرم
هموگلوبین (g/L)	$6/69 \pm 0/38^a$	$7/2 \pm 0/24^b$	$7/32 \pm 0/1^b$	$8/32 \pm 0/32^c$	$8/44 \pm 0/43^c$
هماتوکریت (%)	$30/66 \pm 1/15^a$	$31/44 \pm 0/5^a$	$31/44 \pm 0/76^a$	$31/66 \pm 0/57^a$	$33/66 \pm 0/57^b$
گلبول سفید ( $\text{mm}^3$ )	$8400 \pm 600^a$	$8800 \pm 1600^a$	$11500 \pm 1178^b$	$11366 \pm 814^b$	$13700 \pm 1300^c$
گلبول قرمز $\times 10^6$ ( $\text{mm}^3$ )	$0/68 \pm 0/26^a$	$0/76 \pm 0/36^{ab}$	$0/86 \pm 0/51^{bc}$	$0/88 \pm 0/28^c$	$0/96 \pm 0/23^c$
MCV (pg)	$45/133 \pm 35/34^c$	$414/1 \pm 14/51^{bc}$	$364/33 \pm 13/5^{ab}$	$358 \pm 5/1^a$	$351 \pm 50/86^a$
MCH (%)	$9/85 \pm 0/79^b$	$9/6 \pm 0/75^{ab}$	$8/49 \pm 0/38^a$	$9/42 \pm 0/32^{ab}$	$8/79 \pm 0/73^{ab}$
MCHC (fl)	$21/81 \pm 1/1^a$	$23/18 \pm 1/14^a$	$23/28 \pm 0/33^a$	$26/27 \pm 1/37^b$	$25/08 \pm 1/37^b$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

تلفات بعد از چالش با باکتری یرسینیا راکری تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌ها نشان داد ( $p < 0/05$ ). بطوری‌که در گروه ۴۰۰ میلی‌گرم کاهش معنی‌دار تلفات بعد از چالش با باکتری زنده یرسینیا راکری مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱- درصد تلفات تجمعی ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف جلبک دریایی سارگاسوم انگستیفلیوم در برابر باکتری یرسینیا راکری

### بحث و نتیجه گیری

از اهداف پرورش ماهی قزل آلابی رنگین کمان بهبود شاخص‌های رشد یا سیستم ایمنی به منظور پایین آوردن میزان تلفات در جهت اقتصادی کردن تولید این گونه ارزشمند می‌باشد (Alishahi et al., 2010). با توجه به تکامل بیشتر ایمنی غیر اختصاصی ماهی نسبت به ایمنی اختصاصی و جایگاه ویژه محرک‌های ایمنی در تحریک ایمنی غیر اختصاصی، استفاده از محرک‌های ایمنی در آبزیان مورد توجه قرار گرفته است (Iwama, 1996). گیاهان دارویی از جمله محرک‌های ایمنی هستند که با تاثیرگذاری بر سیستم ایمنی ماهیان موجب فعال شدن سلول‌های موثر در ایمنی می‌شوند. استفاده از این مواد، ابزار مفیدی برای افزایش شاخص‌های رشد، سیستم ایمنی و مقاومت ماهی در برابر بیماری شایع خواهد بود و مطالعه در مورد استفاده از مکمل‌ها روند رو به رشدی دارد (Hoseinifar et al., 2010).

فراسنجه‌های خونی در ماهیان تحت تاثیر عوامل فیزیولوژیکی و عوامل خارجی مختلف مانند جیره غذایی دچار تغییرات می‌شوند (Rios et al., 2002). سنجش فاکتورهای خونی و آنالیز سرم خون به‌عنوان فاکتور مناسب به منظور تشخیص اختلالات متابولیکی، ارزیابی سلامت ماهیان و ارزیابی تغذیه

و تاثیر مواد افزودنی است (Adel *et al.*, 2015). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف عصاره آبی جلبک سارگاسوم به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات معنی‌داری بر تعداد گلبول قرمز و سفید، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین در مقایسه با تیمار شاهد داشته است. چنین حالتی نیز متعاقب تجویز عصاره نعنای فلفلی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Zorizehza, 2015) و همچنین عصاره سرخارگل (Poorgholam *et al.*, 2013) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و عصاره گون در ماهی تیلپیا (Ardo *et al.*, 2008) گزارش شده است.

در مطالعه‌ای تاثیر جلبک اسپیرولینا در طوطی ماهی (*Oplegnathus fasciatus*) مورد بررسی قرار گرفت (Kim *et al.*, 2013). در این تحقیق مشاهده شد که افزودن ۵٪ جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی این ماهی باعث افزایش میزان هماتوکریت شده است. همچنین مشاهده شد که ۴۰۰ میلی‌گرم از عصاره آبی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش و بهبود فاکتورهای خونی قبل و بعد از آلوده‌سازی با باکتری یرسینیا راکری شده است که با نتایج مطالعه قبل مشابه می‌باشد. دلیل چنین یافته‌ای هنوز شناخته نشده است. تصور بر این است که افزایش این پارامترها ناشی از اثرات جلبک و ترکیبات موثر موجود در آن بر مراکز خون ساز بدن و بافت هماتوپوتیک بوده و باعث افزایش هموگلوبین و گلبول‌قرمز خون و به عبارتی افزایش هماتوکریت گردد.

تعداد گلبول سفید و ترکیبات آن از شاخص‌های مهم ارزیابی سلامت ماهی و از بخش‌های مهم و اصلی سیستم ایمنی غیر اختصاصی سلولی هستند (Ahmadifar *et al.*, 2009). همچنین گلبول سفید خون به عنوان اولین خط دفاع بدن در برابر عوامل عفونی ناشی از عوامل میکروبی و شیمیایی شناخته شده است (Talpar, 2012). در این تحقیق افزایش در تعداد گلبول‌های سفید پس از مصرف عصاره آبی جلبک مشاهده شد، که نشان‌دهنده فعال شدن سیستم ایمنی بدن است. احتمالاً دلیل آن نوعی از سیگنال برون‌زا است که روند پاسخ‌های ایمنی در این ماهی را باعث می‌شود (Yangthong *et al.*, 2016).

اثر محرک‌های ایمنی گیاهی در کاهش تلفات ماهی بعد از چالش با عوامل بیماری‌زا به کرات در تحقیقات مختلف گزارش شده است (Dugenci *et al.*, 2003; Divyagnaneswari *et al.*, 2007). در این تحقیق نیز تجویز مقادیر مختلف عصاره آبی جلبک سارگاسوم انگستیفیلیوم باعث بهبود برخی فاکتورهای خونی و افزایش مقاومت در برابر عفونت با باکتری یرسینیا راکری گردید. کیم و همکاران (Kim *et al.*, 1999) نیز میزان ۵ گرم در کیلو گرم آلوده‌ور را باعث افزایش مقاومت صخره‌ماهی schlegeli در برابر باکتری *Vibrio alginolyticus* را دانستند. علیشاهی و همکاران (Alishahi *et al.*, 2013) گزارش کردند که عصاره دارویش نه تنها به‌عنوان محرک رشد بلکه به‌عنوان محرک ایمنی در ماهی طلائی نقش داشته است. آنها بررسی کردند که تلفات بعد از چالش با باکتری زنده آئروموناس



هیدروفیلا در گروه آرگوسان، سرخارگل لوامیزال کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. از دلایل بهبود درصد بقاء و افزایش مقاومت میگوهای تغذیه شده با جلبک قهوه‌ای به خصوص جنس سارگاسوم در برابر بیماری‌ها بیان شده که جلبک‌های قهوه‌ای عموماً دارای ویتامین C بیشتری نسبت به سایر ماکروجلبک هستند (Cruz-Suarez *et al.*, 2008). نتایج نشان داد که مکمل عصاره جلبک سارگاسوم قادر به افزایش مقاومت در برابر باکتری یرسینیا راگری نشان می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که این جلبک دارای قند پلی‌ساکارید از نوع فوکوز است (Wijesinghe and Jeon, 2012). این پلی‌ساکاریدها به شدت تحریک‌کننده سیستم ایمنی بوده و با فعال کردن ماکروفاژ خاصیت ضد باکتریایی دارند (Lee *et al.*, 1995). به طوری که این ترکیبات پلی‌ساکاریدی به عنوان لیگاند در سطح سلول‌هایی که دارای ترکیبات پروتئین-کربوهیدرات است عمل می‌کند که منجر به تحریک سلول‌های ضد باکتری می‌شود و افزایش مقاومت را به دنبال دارد (Yangthong *et al.*, 2016). با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که جلبک سارگاسوم می‌تواند با داشتن اثرات مثبت بر فراسنجه‌های خونی و مقاومت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر باکتری یرسینیا راگری در طول مدت ۸ هفته غذایی، به عنوان منبع جدیدی به منظور افزایش سلامت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در صنعت آبزی پروری مورد استفاده قرار گیرد.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارشناسان محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی بوشهر که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری به عمل می‌آید.

#### منابع

- Adel M., Pourgholam R., Zorriehzahra S.J., Ghiasi M. 2015. The effect of different level of *Mentha piperita* on some of the hematological, biochemical and immune parameters of *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Scientific Fisheries Journal, 24(1): 37-46.
- Ahmadifar E., Jalali M., Sodagar M., Azari T., Mohammadi Z. 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth, survival and blood indicators related to Beluga (*Huso huso*). Journal of Agricultural Sciences, 16(1): 72-80. (In Persian).
- Alishahi M., Poor Mehdi B, Abdi A. 2013. Compare the effect of some immune stimulant and herbal extracts on growth factors and resistance to environmental stressors in *Barbus barbus*. Scientific-Research Iranian Veterinary Journal, 8(4): 59-67. (In Persian).
- Alishahi M., Ranjbar M., Ghorbanpour M., Peyghan R., Mesbah M., Razijalali M. 2010. Effects of dietary Aloe vera on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Veterinary Research, 4(3): 85-91.

- Ardo L., Yin G., Xu P., Varadi L., Szigeti G., Jeney Z., Jeney G. 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275: 26-33.
- Chojnacka K., Saeid A., Witkowska Z., Tuhy L. 2012. Biologically active compounds in seaweed extracts-the prospects for the application. *The Open Conference Proceedings Journal*, 3: 20-28.
- Cruz-Suarez L.E., Tapia Salazar M., Nieto Lopez M., Rique D. 2008. A review of effects of macroalgae in shrimp feeds and co-culture. *Program of Mariculture*, University of Mexico, pp: 304-333.
- Dashtiannasab A., Kakoolaki S., Sharif Rohani M., Yeganeh V. 2012. In vitro effects of *Sargassum latifolium* (Agardeh, 1948) against selected bacterial pathogens of shrimp. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(4): 765-775.
- Dawczynski C., Schubert R., Jahreis G. 2007. Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chemistry*, 103: 891-899.
- Divyagnaneswari M.D., Christyapita A., Dinakaran R. 2007. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. *Fish and Shellfish Immunology*, 23: 249-259.
- Drobkin D.R. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal for 177 standardization of hemoglobin. *The American Journal of the Medical Sciences*, 209: 268-270.
- Dugenci S.K., Arda N., Candan A. 2003. Some medicinal plants immunostimulants for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 99-106.
- Weiss D.J., Wardrop K.J. 2010. *Schalm Veterinary Hematology*. 6<sup>th</sup> Edition, Wiley-Blackwell. 1232 P.
- 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. *Scientific Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 47: 137-41.
- Galina J., Yin G., Ardó L., Jeney Z. 2009. The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 669-676.
- Ghaednia B., Mehrabi M.R., Mirbakhsh M., Yeganeh V., Hoseinkhezri P., Garibi G., Ghaffar Jabbari A. 2011. Effect of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum glaucescens* via immersion 183 route on immune responses of *Fenneropenaeus indicus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(4): 616-630.
- Hoseinifar S.H., Zare P., Merrifield D.L. 2010. The effects of inulin on growth factors and survival of the Indian white shrimp larvae and post-larvae (*Fenneropenaeus indicus*). *Aquaculture Research*, 41(9): 348-352.
- Huxley V.A.J., Iqbal A.P. 2010. Immunomodulatory effect of *Sargassum wightii* on *Penaeus monodon* (Fab.). *The Asian Journal of Animal Science*, 4(2): 192-196.

- Iwama G. 1996. Innate Immunity in fish. In: Iwama G., Nakanishi T. (Eds.). The fish immune system. The fish immune system. Academic Press, London, pp: 73-114.
- Jaime-Ceballos B., Villarreal H., Garcia T., Perez-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.
- Kadam S.U., Prabhasankar P. 2010. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Research International*, 43(8): 1975-1980.
- Kim K.H., Hwang Y.J., Bai S.C. 1999. Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing different doses of Aloe vera. *Aquaculture*, 1-2(180): 13-21.
- Kim S.S., Rahimnejad S., Kim K.W., Lee K.J. 2013. Partial replacement of fish meal with *Spirulina pacifica* in diets for parrot fish (*Oplegnathus faciatius*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13: 197-204.
- Lee H.S., Jin S.H., Kim H.S., Ryu B.H. 1995. Characteristic properties of fucoidan sulphate purified from Gompi, *Ecklonia stolonifera*. *Korean Journal of Food Science Technology*, 27(5): 716-723.
- Mehrabi Z., Firouz bakhsh F., Jafarpour A. 2012. Effects of dietary supplementation of 211 synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow 212 trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96: 474-481.
- Poorgholam R., Shariifrohani M., Safari R., Saiedi A., Binai M., Najafiyani R., Bankesaz Z., Taghavi M., Sepahdari A. 2013. Effects of *Echinacea purpurea* extract on some immune parameters and survival of rainbow trout against the *Streptococcus iniae*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(3): 12-1.
- Raa J. 1996. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science*, 4(3): 229-288.
- Rios F.S., Kalinin A.L., Rantin F.T. 2002. The effects of long-term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of Fish Biology*, 61: 85-95.
- Schalm O.W., Jain N.C., Carrol E.J. 1975. *Veterinary Haematology*, (3<sup>rd</sup> Edition). Lea and Fibiger, Philadelphia, PA, USA. 807 P.
- Shalaby A.M., Khattab Y.A., Abdel Rahman A.M. 2006. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 12(2): 172-201.
- Vaseeharan B., Thaya R. 2013. Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. *Aquaculture International*, 22(3): 1079-1091.

- Wijesinghe W.A., Jeon Y.J. 2012. Enzyme-assistant extraction (EAE) of bioactive components: a useful approach for recovery of industrially important metabolites from seaweeds: a review. *Fitoterapia*, 83(1): 6-12.
- Yangthong M., Hutadilok-Towatana N., Thawonsuwan J., Phromkunthong W. 2016. An aqueous extract from *Sargassum sp.* enhances the immune response and resistance against *Streptococcus iniae* in the Asian sea bass (*Lateolabrax calcarifer* Bloch). *Journal of Applied Phycology*, 28(6): 3587–3598.
- Yeh S.T., Lee C.S., Chen J.C. 2006. Administration of hot water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 20: 332-345.