

# بررسی اثرات سطوح مختلف ماکرو جلبک جیره (*Gracilaria pygmaea*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی سی‌باص آسیایی (*Lates calcarifer*)

### • نرجس تنگستانی

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی،  
دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

### • وحید مرشدی (نویسنده مسئول)

استادیار پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

### • محمود نفیسی بهابادی

دانشیار پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

### • مریم عضدی

دانشجوی دکتری، دانشگاه شهیدچمران، کارشناس پژوهشی پژوهشکده خلیج فارس،  
دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

### • آناهیتا فرهودی

دانشجوی دکتری دانشکده شیلات، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۱۰-۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۱۰-۱۲

Email: v.morshedi@gmail.com



### چکیده

تقریباً ۳۰۰ گونه از جلبک‌های دریایی در جنوب ایران شناسایی شده است که در دسته‌های جلبک قرمز (*Rhodophytes*)، جلبک قهوه‌ای (*Phaeophytes*) و جلبک سبز (*Chlorophytes*) طبقه‌بندی شده‌اند در بین جلبک‌های دریایی، جنس *Gracilaria* بدلیل تولیدات بالا و عصاره‌های با ارزش اقتصادی از جمله آگار، یکی از مهمترین جلبک‌ها است. جلبک گراسیلاریا از خانواده گراسیلاریاسه (*Gracilariaceae*) رده جلبک‌های قرمز (*Rhodophyta*) است. هدف از این تحقیق بررسی اثر کاربرد پودر جلبک گراسیلاریا به صورت افزودنی در جیره غذایی ماهی سی‌باص آسیایی (*Lates calcarifer*) بر پارامترهای خونی بود. بدین منظور ۱۲۰ قطعه ماهی سی‌باص آسیایی با میانگین وزنی  $28 \pm 1/8$  گرم به چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (۱۰ عدد ماهی به ازای هر تانک) تقسیم شد. تیمارهای آزمایش بر اساس چهار جیره غذایی هریک به ترتیب حاوی ۰، ۱،۵، ۲ و ۲،۵ درصد پودر جلبک گراسیلاریا به ازای هر کیلوگرم غذا تهیه گردید. در پایان آزمایش از سیاهرگ ساقه‌ی دمی ماهیان خون‌گیری انجام و شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن ماکرو جلبک در جیره غذایی ماهی سی‌باص آسیایی بر روی فاکتورهای خونی ماهی شامل هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول‌های سفید و درصد افتراقی گلبول‌های سفید تاثیر معنی‌داری ندارد.

کلمات کلیدی: مکمل غذایی، ماکرو جلبک دریایی، شاخص‌های خونی، ماهی سی‌باص آسیایی (*Lates calcarifer*)

• Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 223-230

**Survey of effects of different levels of dietary macroalgae (*Gracilaria pygmaea*) on some hematological parameters Asian Sea bass (*Lates calcarifer*)**

By: Tangestani, N., Masters Graduated of Fisheries, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran. Morshedi, V., (Corresponding Author) Assistant Professor of Persian Gulf Research Center, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran. Nafisi Bahabadi, M., Associate Professor of Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Persian Gulf, Bushehr, Iran. Azodi, M., Research Expert Institute of the Persian Gulf, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. and Farhodi A., PhD student, the Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

Email: v.morshedi@gmail.com

Received: 2016-12-21 Accepted: 2017-01-01

Almost 300 species of marine algae has been identified in south of Iran that they were classified in groups of red algae (Rhodophytes), brown algae (Phaeophytes) and green algae (Chlorophytes). Among seaweed, *Gracilaria* made due to high production and extraction of economic value such as agar, one of the most important algae. *Gracilaria* algae are *Gracilariaceae* family and red algae (Rhodophyta) category. The aim of this study was to investigate the effect of algae powder as additives in the diet *Gracilaria* Asian Sea bass (*Lates calcarifer*) on hematological parameters were. For this purpose, 120 Asian sea bass fish with an average weight of  $28 \pm 8/1$ g in 4 treatments and 3 replications in twelve 300-liter fiberglass tanks (10 fish per tank) was divided. The treatments based on each of the four diets containing 0, 1.5, 2 and 2.5 percent algae powder *Gracilaria* per kg food was prepared. At the end of the experiment the fish tail vein stem collected blood samples and blood parameters were measured. The results of this study indicated that supplementation of the macroalgae didn't influence the blood parameters including hemoglobin, hematocrit, white blood cells count and differential WBC counts in Asian sea bass.

**Key words:** Supplementation, macroalgae, blood parameters, sea bass (*Lates calcarifer*)

غیره اشاره نمود (۳۰) مکمل‌های طبیعی با داشتن مزیت‌هایی از جمله عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به این مکمل‌ها، انحصاری بودن درمان برخی بیماری‌ها و وجود تجربیات مختلف بالینی، همواره به عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (۱۰). از محرک‌های ایمنی زیستی و طبیعی موثر در ماهیان می‌توان به ترکیبات با منشأ گیاهی مثل جلبک‌های دریایی اشاره کرد که دارای ترکیبات زیستی فعالی مانند فوکوئیدان‌ها، فلوتان‌ها و پلی‌فنل‌های جلبکی هستند که به عنوان ترکیبات آنتی‌ویروس، آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان‌ها مورد توجه می‌باشند. همچنین دارای ترکیباتی از قبیل کارتنوئید، فیبر، پروتئین، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین و مواد معدنی می‌باشند (۳۱). جلبک گراسیلاریا از خانواده *Gracilariaceae* و رده *Rhodophyta* می‌باشد. این جلبک در سرتاسر جهان پراکنش داشته اما اغلب در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مشاهده می‌شوند (۲۲). پارامترهای هماتولوژیک به طور طبیعی برای ارزیابی وضعیت

#### مقدمه

کنترل بیماری‌های ماهی با استفاده از مواد دارویی نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها مشکلاتی از قبیل توسعه باکتری‌های مقاوم در آینده، نگرانی‌های مصرف‌کنندگان به دلیل باقی مانده‌های دارویی و نیز تأثیرات محیطی، را در بر دارد (۱۹) از طرفی مواد دارویی با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی (۳)، مقاومت ماهیان را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. برای موفقیت در صنعت آبی‌پروری یکی از پیش‌نیازها، به حداقل رساندن تلفات ناشی از بیماری‌ها و کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است (۱۱). هورمون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و دیگر ترکیبات شیمیایی با وجود تأثیر مثبت، دارای عوارض جانبی، اثرات مخرب زیست محیطی، قیمت بالا و ایجاد باکتری‌های مقاوم می‌باشند، لذا گرایش به محرک‌های ایمنی بیشتر شده است. استفاده از مکمل‌های طبیعی به جای استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، سبب کاهش آلودگی آب، کاهش هزینه‌های درمان و افزایش کارایی سیستم‌های پرورش خواهد شد (۳۰). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه‌خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش تولید لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید و

مورد استفاده از جلبک گراسیلاریا بر روی پارامترهای خونی و ایمنی گزارش شده است که به عنوان مثال نتایج مطالعه Araujo و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد که استفاده از جلبک گراسیلاریا در سطح ۵ درصد باعث بهبود پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) می‌شود. در همین راستا نتایج Peixoto و همکاران در سال ۲۰۱۶ در استفاده از جلبک گراسیلاریا بر روی ماهی سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) نشان داد که افزودن جلبک گراسیلاریا به جیره اختلاف معنی‌داری در پاسخ ایمنی ایجاد نکرده است. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف ماکرو جلبک گراسیلاریا در جیره، بر شاخص‌های خونی ماهی سی باس آسیایی انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

۱۲۰ قطعه ماهی سی باس آسیایی با میانگین وزن  $15 \pm 1/5$  گرم از مرکز خصوصی تکثیر و پرورش ماهیان دریایی راموز واقع در استان بوشهر به بخش تکثیر و پرورش ماهیان دریایی پژوهشکده خلیج فارس واقع در دانشگاه خلیج فارس بوشهر منتقل شد. ماهیان پس از گذراندن یک دوره ۱۵ روزه در تانک‌های ذخیره با شرایط آزمایش و غذای کنستانت‌تره سازگاری پیدا کردند. با شروع دوره ۴۰ روزه آزمایش، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی با میانگین وزن اولیه  $28 \pm 1/8$  گرم در یک طرح کاملاً تصادفی بین ۱۲ تانک فایبرگلاسی مدور ۳۰۰ لیتری (۱۰ قطعه ماهی به ازاء هر تانک) که به صورت کاملاً تصادفی بین تیمارها توزیع شدند. غذاهای به ماهیان تیمار شاهد و سایر تیمارها دو بار در روز

زیستی ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند و شاخص مناسبی از وضعیت فیزیولوژیک ماهی محسوب می‌شوند (۱۵). با در نظر گرفتن این نکته که پارامترهای مختلفی نظیر جیره غذایی از عوامل تاثیر گذار بر پارامترهای خونی هستند (۲۶)، اندازه‌گیری این شاخص‌ها می‌تواند ما را در پیشبرد اهداف حفظ، تکثیر، نگهداری و پرورش این ماهیان یاری نماید (۱۳). بنابراین برای مقایسه‌ی تاثیر رژیم‌های غذایی متفاوت بر سلامت بدن ماهی، می‌توان شاخص‌های خونی را مورد بررسی قرار داد (۱۶). مطالعات زیادی در زمینه افزودن مکمل‌های طبیعی به جیره غذایی ماهی انجام شده است که در این زمینه می‌توان به تحقیق Pourgholam و همکاران در سال ۲۰۱۴ اشاره کرد که با افزایش ویتامین C به جیره غذایی ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول سفید مشاهده نشد. Jalali و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Ahmadifar و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند که با افزایش آرگوسان در جیره غذایی فیل ماهی (*Huso Huso*) هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول سفید با تیمار شاهد مشاهده نشد، ولی خلاف این را در تحقیق Heidarieh و همکاران در سال ۲۰۱۲ مشاهده شد که با افزایش آرگوسان در جیره غذایی قزل آلا افزایش در میزان گلبول سفید را مشاهده کردند. Salighe Zadeh در سال ۲۰۱۴ در ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) مشاهده کرد که با افزایش جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) به جیره غذایی این ماهی هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت و هموگلوبین با گروه شاهد مشاهده نشد. مطالعات بسیار محدودی در

جدول ۱- اجزا و ترکیب هر یک از جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تغذیه ماهی سی باس آسیایی

ترکیبات جیره‌های آزمایشی (درصد)	۱،۵ درصد پودر جلبک	۲ درصد پودر جلبک	۲،۵ درصد پودر جلبک	تیمار شاهد
آرد ماهی	۴۴	۴۴	۴۴	۴۴
آرد سویا	۱۲/۵۷	۱۲/۰۹	۱۱/۵۷	۱۴
گلوتن گندم	۱۱/۹۰	۱۱/۹۰	۱۱/۹۰	۱۱/۹۰
آرد گندم	۵/۶۰	۵/۶۰	۵/۶۰	۵/۶۷
روغن ماهی	۶/۷۵	۶/۷۵	۶/۷۵	۶/۷۵
روغن سویا	۶/۷۵	۶/۷۵	۶/۷۵	۶/۷۵
پودر ماکرو جلبک گراسیلاریا	۱/۵	۲	۲/۵	۰
مخلوط ویتامین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مخلوط مواد معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ژلاتین	۵	۵	۵	۵

دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک و بعد از ۲۴ ساعت، غذا خرد و برای استفاده ماهیان در یخچال نگهداری شدند.

خون‌گیری از ماهیان در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۴ عدد ماهی به ظاهر سالم به طور تصادفی از هر تانک انتخاب شد و از ورید ساقه دمی آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در لوله حاوی تیوسولفات سدیم تقسیم گردید و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شد. فاکتورهای خونی مورد مطالعه شامل تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb) بود همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت نیز انجام شد. درصد هماتوکریت با سانتیفریوژ میکروههماتوکریت با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه محاسبه شد (۲۵) و مقدار هموگلوبین هر نمونه خون به روش سیانومت هموگلوبین سنجش شد. شمارش گلبول سفید از پیست‌های حیابدار (ملانژور) سفید استفاده گردید و با استفاده از لام نتوبار شمارش انجام شد (۶). برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با استفاده از گسترش خونی بر روی لام شمارش انجام شد (۷). برای سنجش ترکیب غذا (آنالیز تقریبی غذا) شامل سنجش رطوبت، خاکستر،

با جیره‌های آزمایشی و در ساعت‌های ۱۰ و ۱۷ تا حد سیری ظاهری انجام شد. پارامترهای فیزیکی‌شیمیایی آب شامل دما با استفاده از دماسنج جیوه‌ای و اکسیژن محلول با استفاده از اکسی‌متر (WTW مدل oxir20 / pH set) متر (WTW مدل B3223 set) و شوری در طول مدت آزمایش به صورت روزانه اندازه‌گیری و به ترتیب  $2 \pm 34$  درجه سانتی‌گراد، ۸ درصد اشباع، ۸/۱ و ۴۸ گرم در لیتر ثبت شد. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (شرایط طبیعی) بود. جلبک استفاده شده در این آزمایش یک گونه از جلبک‌های دریایی اقتصادی شناسایی شده در کشور که دارای زیتوده غالب سواحل جنوب کشور از گروه جلبک گراسیلاریا (*Gracilaria pygmaea*) از منطقه جمع‌آوری و پس از شستشو درون سینی‌هایی پخش گردید (به این طریق سطح را گسترش داده تا سریع‌تر خشک شود) و به مدت ۲۴ ساعت در سایه خشک شد. سپس محصول را جمع و در درون Oven در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک و سپس با آسیاب کردن پودر گراسیلاریا به دست آمد (۲۹). پودر جلبک را در درصدهای مختلف به جیره ماهی افزوده شد، بدین صورت چهار جیره غذایی هر یک به ترتیب حاوی ۰، ۱، ۵، ۲ و ۲، ۵ درصد پودر جلبک تهیه شد. اقلام مختلف غذایی (جدول ۱) مخلوط و در

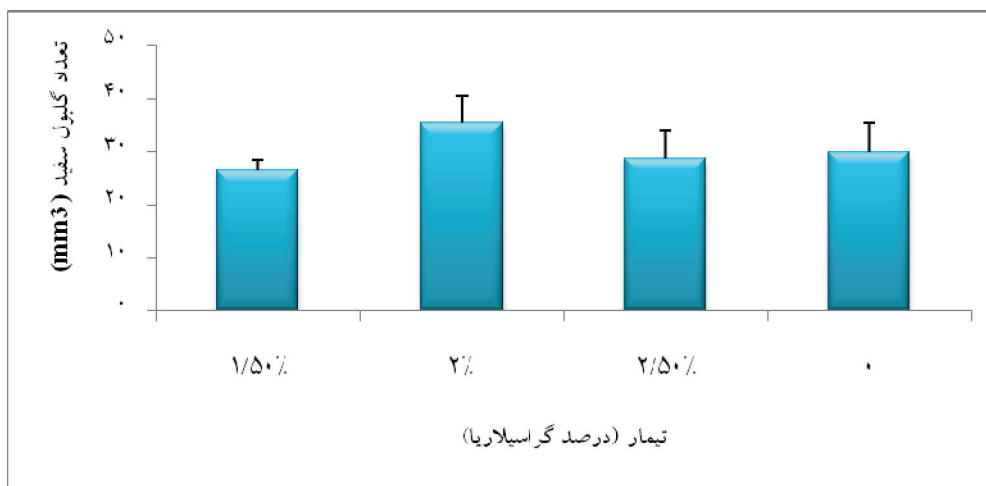
جدول ۲- مقادیر آنالیز تقریبی جیره‌های مورد آزمایش در ماهی سی باس آسیایی در تیمارهای مختلف آزمایشی

مقادیر آنالیز (درصد)	۱،۵ درصد پودر جلبک	۲ درصد پودر جلبک	۲،۵ درصد پودر جلبک	تیمار شاهد
پروتئین	۴۶/۴۱	۴۶/۲۷	۴۶/۱۲	۴۶/۸۳
چربی	۱۷/۸۰	۱۷/۸۰	۱۷/۸۰	۱۷/۸۱
خاکستر	۱۵/۴۲	۱۵/۱۸	۱۵/۱۹	۱۵/۳۲
رطوبت	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱

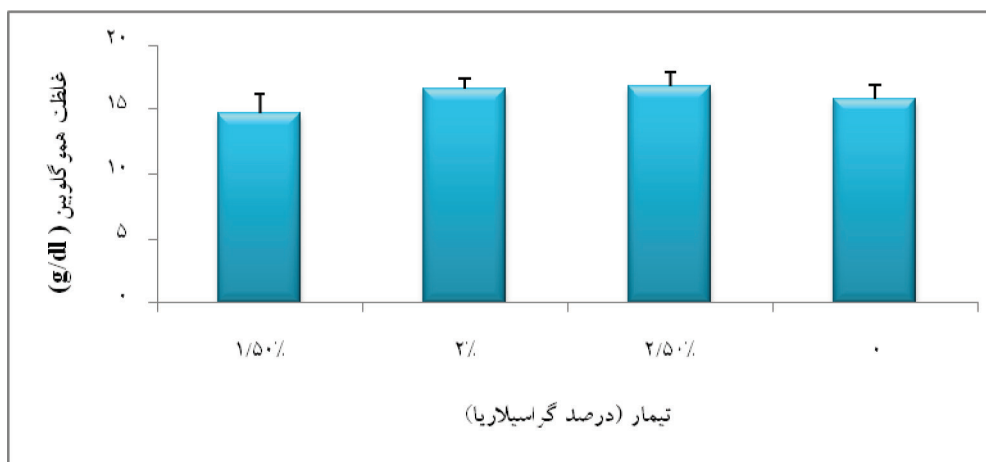
جدول ۳- فاکتورهای خونی بچه ماهیان سی باس آسیایی در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean  $\pm$  S.E.)

پارامتر	۱،۵ درصد پودر جلبک	۲ درصد پودر جلبک	۲،۵ درصد پودر جلبک	تیمار شاهد
لنفوسیت	۱/۵۰ $\pm$ ۷۷/۵۰	۲/۳۲ $\pm$ ۷۱/۷۵	۳/۹۸ $\pm$ ۷۲	۴/۸۹ $\pm$ ۶۷
ائوزینوفیل	۰/۴۷ $\pm$ ۳/۲۵	۰/۸۶ $\pm$ ۳/۵۰	۱/۰۷ $\pm$ ۴/۶۰	۱/۰۱ $\pm$ ۴/۸۰
مونوسیت	۱/۷۹ $\pm$ ۸/۲۵	۰/۸۵ $\pm$ ۱۲/۷۵	۲/۸۱ $\pm$ ۱۳	۱۴،۱ $\pm$ ۱۰
بازوفیل	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۷۵	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۵	۰/۳۷ $\pm$ ۰/۸	۰/۳۷ $\pm$ ۰/۸

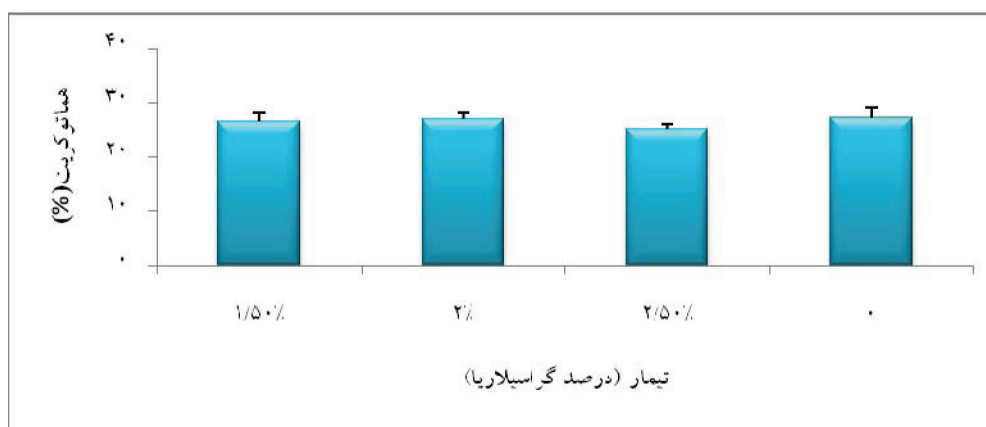
میانگین  $\pm$  خطا استاندارد و نبود حروف متفاوت در ردیف‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارهاست. (n=15)، (p > 0/05)



فودار ۱- تغییرات میانگین گلبول سفید (درصد) در ماهی سی باس آسیایی با تیمارهای مختلف گراسیلاریا در پایان ۴۰ روز.



فودار ۲- تغییرات میانگین هموگلوبین (درصد) در ماهی سی باس آسیایی با تیمارهای مختلف گراسیلاریا در پایان ۴۰ روز.



فودار ۳- تغییرات میانگین هماتوکریت (درصد) در ماهی سی باس آسیایی با تیمارهای مختلف گراسیلاریا در پایان ۴۰ روز.

نشد ( $p > 0/05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

خون به عنوان یک بافت سیال و سهل‌الوصول، یکی از مهم‌ترین مایعات بیولوژیک بدن بوده که ترکیبات آن تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک، دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد. یکی از روش‌های بررسی خصوصیات فیزیولوژیک ماهیان تعیین شاخص‌های خون شناسی که نسبت به روش‌های دیگر ساده‌تر و کم هزینه‌تر می‌باشد (۲۳) همچنین عوامل مختلفی نظیر جیره غذایی از عوامل تاثیرگذار بر پارامترهای خونی می‌باشد (۲۸، ۲۶) یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد افزودن جلبک گراسیلاریا به صورت افزودنی در جیره غذایی ماهی سی با آسیایی تاثیر بر روی پارامترهای خونی این گونه ندارد. تعدادی از محققین تاثیر مکمل‌های طبیعی بر روی ماهیان مختلف را مورد بررسی قرار داده‌اند که در این راستا می‌توان بعضی از این نتایج را مورد بررسی قرار داد. در مطالعه حاضر غلظت هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش مقدار گراسیلاریا در جیره غذایی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که خلاف آن را می‌توان در تحقیق Morshedi و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر روی ماهی صیبتی (*Sapridentex hasta*) مشاهده کردند که با افزایش لاکتوفیرین و پریپوتیک زایلواولیگوساکارید به جیره غذایی این ماهی باعث افزایش در میزان هموگلوبین و هماتوکریت گردیده است. افزودن پریپوتیک به جیره غذایی گربه ماهی روگامی و فیل ماهی هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین با گروه شاهد ایجاد نکرد (۲۴، ۳۲) که علت آن را می‌توان گونه ماهی، سطوح مصرفی پریپوتیک و عوامل محیطی نسبت داد. Jalili و همکاران در سال ۲۰۰۹ با افزایش آرگوسان در جیره غذایی فیل ماهی (*Huso Huso*) هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول سفید با تیمار شاهد مشاهده نکردند که مشابه با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. همچنین می‌توان به تحقیق Salighe Zadeh و همکاران (۲۰۱۴) اشاره کردند که با افزایش جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی ماهی بنی اختلاف معنی‌داری بین هماتوکریت و هموگلوبین با گروه شاهد مشاهده نشده است که با نتایج تحقیق حاضر شباهت دارد. در مطالعه حاضر میزان گلبول سفید با افزایش مقدار گراسیلاریا در جیره غذایی، نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. Chelemaal Dezfol Nezhad و همکاران در سال ۲۰۱۱ با افزودن جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی پنگوسی (*Pangasius hypophtalamus*) مشاهده کردند که تعداد گلبول‌های سفید اختلاف معنی‌داری با تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد ندارد که مشابه تحقیق حاضر می‌باشد. همچنین با افزایش جلبک سبز دونالی لا (*Dunaliella salina*) به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان هیچ اختلاف معنی‌داری بین گلبول سفید با گروه شاهد مشاهده نشد (۲) که مشابه با تحقیق حاضر بوده است که با افزایش مقدار جلبک گراسیلاریا در جیره اختلاف معنی‌داری در میزان گلبول سفید در بین تیمارها با گروه شاهد مشاهده نشده است. نتایج مطالعه Zaman Nezhad و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر خلاف نتایج تحقیق حاضر بود که با افزایش جلبک سارگاسوم (*Sargassum illifolium*) در جیره ماهی قزل‌آلا افزایش در میزان گلبول سفید، نوتروفیل و مونوسیت را مشاهده کردند. که علت آن را می‌توان به نوع گونه ماهی، نوع جلبک استفاده شده و سطوح

چربی خام و پروتئین خام از روش (AOAC) (۴) استفاده گردید. مقادیر رطوبت بر اساس اختلاف وزن حاصل از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (رابطه ۱-۱) و (رابطه ۱-۲). برای تعیین خاکستر، ۰/۵ گرم از نمونه که قبلاً در فریز درایر مدل Operon-Model: OPRFDU ۷۰۱۲ خشک شده، در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت سوزانده شد (رابطه ۲). برای اندازه‌گیری پروتئین خام از روش کلدال (Kjeldahl method) با ضریب تبدیل ۶/۲۵ محاسبه شد. مقدار چربی با روش soxtec و به کمک دستگاه soxtec system ۲۰۵۰ ساخت کشور سوئد اندازه‌گیری شد. از کلروفرم برای اندازه‌گیری چربی استفاده گردید (۴). تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS version 15.1 تحت سیستم عامل Windows انجام گرفت (رابطه ۳). توزیع نرمال داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov انجام پذیرفت. برای مقایسه میانگین مقادیر هر یک از متغیرها از آنالیز واریانس یک طرفه و سپس آزمون Tukey در سطح معنی داری ۰/۰۵ استفاده شد.

رابطه (۱-۲):

$$100 \times (W_1 / W_2 - W_1) = \text{درصد رطوبت}$$

$$W_1 = \text{وزن نمونه مرطوب} \quad W_2 = \text{وزن نمونه خشک}$$

رابطه (۱-۱)

$$100 - (\text{درصد در صد ماده خشک}) = \text{درصد رطوبت}$$

رابطه (۲):

$$100 \times (\text{وزن نمونه} / \text{وزن خاکستر}) = (\text{درصد خاکستر})$$

رابطه (۳):

$$100 \times (\text{وزن نمونه} / \text{خشک} / W_1 - W_2) = (\text{درصد درصد چربی})$$

### نتایج

اثرات افزودن ماکرو جلبک بر فاکتورهای خونی شامل تعداد گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت به ترتیب در جدول ۱، ۲ و ۳ و نتایج شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در جدول ۳ ارائه شده است. درصد هماتوکریت بین تیمارهای مختلف آزمایش و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ )، با این حال بیشترین درصد میزان هماتوکریت در تیمار کنترل ( $27/16 \pm 1/79$ ) و کمترین آن در تیمار ۲/۵ درصد ( $25/16 \pm 0/83$ ) مشاهده شد. هموگلوبین در بین تیمارهای مختلف ماکرو جلبک و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ )، با این حال بیشترین میزان هموگلوبین ( $16/86 \pm 1/02$ ) در تیمار ۲/۵ درصد و کمترین میزان آن ( $14/70 \pm 1/50$ ) در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد. تعداد گلبول‌های سفید تحت تاثیر ماکرو جلبک جیره قرار نگرفت به صورتی که تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۲ ( $5/23 \pm 35/20$ ) به صورت معنی‌داری بالاتر از تیمار ۱/۵ درصد ( $2/02 \pm 26/33$ ) بود ( $p > 0/05$ ). در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف آزمایش تفاوت معنی‌داری بین درصد لنفوسیت‌ها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ )، کمترین میزان لنفوسیت در تیمار (کنترل) ( $67 \pm 4/89$ ) و بیشترین میزان آن در تیمار ۱/۵ درصد ( $77/50 \pm 1/50$ ) مشاهده شد. در بین مونوسیت، بازوفیل و ائوزینوفیل نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده

Scheider, R.P. 2004. Early identification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. *Aquaculture* 232: 581-590.

10. Ghasemi Pirbalooti, A., Pirali, A., Pishkar, Gh., Jalali, S.M.A., Raeisi, M., Jaafarian, D., Hamed, B. 2011. The effect of some pharmaceutical plant essence on Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunological system. *Journal of Herbal Drugs* 2(2): 149-155 (In Persian).

11. Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Q. 1999. Recent development in fish vaccinology. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72 P: 203-212.

12. Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Akbari, M., Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A.A., Behgar, M. 2012. Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem* 38 P: 1169-1174.

13. Hedayati, S.A.A., Bagheri, T., Yavari, V., Bahmani, V., Alizadeh, M. 2008. Check some blood biochemical parameters Beluga in brackish water (*Huso Huso*). *Journal of Marine Biology* 21 (4) P: 658-666 (In Persian).

14. Jalali, M.A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., Azari Takami, Gh. 2009. Growth efficiency, body composition, survival and hematological changes in great sturgeon (*Huso Huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture Research* 40 P: 804-809.

15. Khadjeh, G.H., Peyghan, R. 2007. Evaluation of some blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in earthen ponds. *Journal of Veterinary Research* 62(3) P: 197-203 (In Persian).

16. Mahmoudi, N., Abdi, H., Falahatcar, B. 2010. The effect of dietary nucleotides on hematological and biochemical indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Marine Science and Technology* 9(3) P: 4-12 (In Persian).

17. Morshedi, V., AQ, N., Morammezi, J., Nori, F., Mohammadian, T. 2015. Zayloolygosakarid prebiotic effects of diet and nutrition on growth performance, blood and answers (*Sparidentex hasta*) fry non-specific Sobaity. *Journal of Marine Biology*. Islamic Free University of Ahvaz 7 (26) P: 69-82 (In Persian).

18. Morshedi, V., AQ, N., Morammezi, J., Nori, F., Mohammadian, T. 2015. Lactoferrin effects of diet and nutrition on growth performance, blood and answers (*Sparidentex hasta*) fry non-specific Sobaity. *Journal of Animal Environment* 8 (2) P: 181-190 (In Persian).

19. Otatake, M., Kiryu, I., Nakanishi, T. 2002. Development of vaccine delivery method for fish: Parcutaneous administration by im-

مصرفی آن و همچنین شرایط محیطی نسبت داد. به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن جلبک (*Gracilaria pygmaea*) در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی بر روی فاکتورهای خونی ماهی شامل هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول سفید تاثیر معنی‌داری ندارد. که علت آن را می‌توان به سطوح پایین افزودنی نسبت داد. امید است در تحقیقات آینده با افزایش در میزان افزودنی جیره به نتایج قابل قبولی دست یافت. به طور کلی با اندازه‌گیری این فاکتورها به تنهایی نمی‌توان ارزیابی جامعی داشت و پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده سایر عوامل تاثیرگذار نیز مورد بررسی قرار گیرد.

#### منابع مورد استفاده

- Ahmadifar, E., Jalali, M.A., sudagar, M., Azari Takami, Gh., Mahmmadi Zarj Abadi, A. 2009. Effects of Aqua Vac Ergosan on the growth performance, survival and haematological factors in Beluga (*Huso Huso*) juvenile. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* Vol. 16 (Special issue1-a) (In Persian).
- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Watanabe, T. 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. *Fish and Shellfish Immunology* 16(4) P: 57-37.
- Andrews, S.R., Sahu, N.P., Pal, A.K., Mukherjee, S.C. Kumar, S. 2011. Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for (Labeo rohita) fingerlings affect haemato-immunological responses and survival following (*Aeromonas hydrophila*) challenge. *Research in Veterinary Science* 91 P: 103-109.
- AOAC, 2005. Official Method of Analysis 17th (end), Washington. DC: Association of Official Analytical Chemists.
- 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.P. 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(1) P: 679-689.
- Barros, M.M., Lim, C., Klesius, P.H. 2002. Effect of iron supplementation to cottonseed meal diets on growth performance of channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture* 10 P: 65-86.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. 1983. Routine hematological methods for use fish with blood. *Journal of Fish Biology* 5 P: 771-781.
- Chelemaal Dezfol Nezhad, M., Jahangirizadeh, M., Mesbah, M., Javaheri Baboli, M. 2011. The effect of feeding with *Spirulina (Spirulina platensis)* on the blood and immune system in fish *Pangasius (Pangasius hypophtalamus)*. *New Journal of Veterinary Research* 2 (7) P: 1-9 (In Persian).
- Feist, G., Van Enennaam, J.P., Doroshov, S.I., Schreck, C.B.,

- mersion with application of multiple puncture instruments. *Journal of Vaccine* 1 P: 3764-3769.
20. Peixoto, M.J., Salas-Leitón, E., Pereira, L.F., Queiroz, A., Magalhães, F., Pereira, R., Abreu, H., Reis, P.A., Gonçalves, J.F.M., de Almeida Ozório, R.O. 2016. Role of dietary seaweed supplementation on growth performance, digestive capacity and immune and stress responsiveness in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture Reports* 3 P: 189–197.
21. Pourgholam, Y., Khara, H., Mohseni, M. 2014. The effects of different levels of vitamin C on blood safety and Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Journal of Physiology and Development of Animal* 35 P: 79-85 (In Persian).
22. Rabei, R., Asadi, M., Nejdassattari, T., Majd, A., Sohrabipour, J. 2007. The study of species diversity in association of (*Gracilaria salicornia*) in northeast of Qeshm Island. *Pajouhesh and Sazandegi* 66 P: 85-92 (In Persian).
23. Rahimi Bashar, M., Tehrani Fard, A., Ghaseminejad, A., Alipur., Fallahchai, D. 2008. Determine some blood parameters Whitefish Caspian Sea (*Rutilus frissii kutum*) at different stages of gonadal development. *Journal of Biology Science* P: 45-56 (In Persian).
24. Razeghi Mansur, M., Akrami, R., Ghobadi, Sh., Amani Dengi, K., Shoaii, R. 2012. Effect of dietary mannan oligosaccharide on some parameters Hematological and serum biochemical beluga Young farmed (*Huso Huso* Linnaeus, 1754). *Iran Veterinary Journal* 2 P: 12-21 (In Persian).
25. Rehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate. Condition and some blood indices of rainbow- trout. *Aquaculture* 190 P: 27-47.
26. Rios, F.S., Kalinin, A.L., Rantin, F.T. 2002. The effects of long term food deprivation on respiration and haemato long of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of fish Biology* 61 P: 85-95.
27. Salighe Zadeh, R., Yavari, V., Mousavi, S.M., Zakeri, M. 2014. Effects of dietary supplement (*Spirulina platensis*) on blood, immunological and serum biochemical parameters benny fish (*Mesopotamichthys sharpeyi*) (Günther, 1874) *Iranian Veterinary Journal* 2(10) P: 41-47 (In Persian).
28. Shahidi yasaghi, S.A., Mazandarani, M., ghorbani Hasan Saraei, A., ghorbani, R., Soleimani, N. 2008 Determination of normal values of some blood serum factors (Electrolyte and non electrolyte) of *Acipenser persicus*. *Fisheries Magazine* P: 32-25 (In Persian).
29. Shapawi, R., Zamry, A.A. 2016. Response of Asian sea bass, (*Lates calcarifer*) juvenile fed with different seaweed-based diets. *Journal of Applied Animal Research* 44 P: 121-125.
30. Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172 P: 63–92.
31. Trono, J.R., Gavino, C. 1997. Field guide and Atlas of the Seaweed Resources of The Philippines P. 306.
32. Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Klesius, P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and (*Edwardsiella ictaluri*), fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *Journal of World. Aquaculture Society* 38(1) P: 24-35.
33. Zaman Nezhad, N., Emadi, H., Hossain Zadeh Sahafi, O. 2015. The effect of nutritional algae (*Sargassum illicifolium*) on the change of immunoglobulin levels (IgM), and lysozyme in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Journal of Marine Science and Technology* 10 (4) (In Persian).

