DOI: 10.22092/VJ.2020.343081.1726
شماره ۱۳۲ پاییز ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

تاثیر مکمل غذایی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا بر شاخص‌های رشد و ایمنی جنس ماده ماهی گورخری (*Danio rerio*)

• **ساناز صادقی‌گوغری**
گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
• **فاطمه پیکان حیرتی**
گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
• **سالار درافشان (نویسنده مسئول)**
گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹-۰۳-۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹-۰۵-۱۱
Email: sdorafshan@iut.ac.ir

چکیده

در این پژوهش اثر لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا به تنهایی یا به صورت ترکیبی بر عملکرد رشد و ایمنی جنس ماده ماهی گورخری *(Danio rerio)* بررسی شد. در تحقیق حاضر ماهیان ماده گورخری با میانگین وزن ۰/۲۷ gr به مدت سه هفته با جیره غذایی دارای پودر جلبک اسپیرولینا و لاکتوفرین (جیره پایه، ۱۰۰ gr/kgr پودر جلبک اسپیرولینا، ۴۰۰ mgr/kgr لاکتوفرین و ترکیب ۱۰۰ gr/kgr پودر جلبک اسپیرولینا و ۴۰۰ mgr/kgr لاکتوفرین) تغذیه شدند. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد (ضریب وضعیت، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) در تیماری که لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا را توام دریافت کردند، تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای غذایی داشت (۰/۰۵ >P). در بررسی مقدار لیزوزیم لاشه، کمترین مقدار در گروه کنترل مشاهده شد (۰/۰۵ >P). کمترین میزان پروتئین لاشه در ماهیان تغذیه شده با تیمار تلفیقی لاکتوفرین و اسپیرولینا مشاهده شد در حالی که در دو شاخص آلبومین و گلوبولین لاشه، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف آزمایشی وجود نداشت (۰/۰۵ <P). نتایج حاصل نشان داد که جیره تلفیقی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا تأثیر مثبتی بر برخی از شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی ماده گورخری داشته است.

کلمات کلیدی: مکمل غذایی، ماهی گورخری، بهبود کیفیت غذا

Veterinary Researches & Biological Products No 132 pp: 121-128

Effect of Dietary Lactoferrin and Algae *Spirulina* Powder on some Growth and Immunity Parameters of Female Zebrafish (*Danio rerio*)

By: Sadeghi Goghari, S., Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. Paykan Heyrati, F., Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. and Dorafshan, S., (Corresponding Author) Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Received: 2020-05-23 **Accepted: 2020-08-01**

Email: sdorafshan@iut.ac.ir

In this study, we attempted to investigate the effect of spirulina powder and lactoferrin alone or in combination on growth and some immune parameters of female Zebrafish (*Daniorerio*) with an average initial weight of 0.27 gr. The fish were fed on the basal diet (control) or diet enriched with *Spirulina* powder (SP 10 gr/kgr) or lactoferrin (LF 400 mgr/kgr) or their combination (10 gr/kgr SP and LF 400 mgr/kgr) for 3 weeks. The results showed that dietary (SP + LF) could improve some growth indices (such as specific growth rate, condition factor and feed conversation ratio) significantly in comparison to the others (P<0/05). The lowest carcasses lysozyme was measured in the fish fed on control diet. The fish carcasses total protein was significantly lower in fish fed on (SP + LF) enriched diet; while carcasses albumin & globulin were not changed (P>0/05). In general, results showed that LF + SP had positive effects on some growth and immunity parameters of female Zebrafish.

Keyword: Food Supplement, Zebrafish, Improving Food Quality

مقدمه

رژیم غذایی مورد استفاده در پرورش ماهی باید موجب دستیابی به هر دو عامل رشد و حفظ سلامتی شود. در پرورش متراکم ماهیان حصول سلامتی از طریق روش‌های تغذیه‌ای از اهمیت بیشتری برخوردار است. کارایی غذایی نه تنها براساس رشد، بلکه باید به لحاظ تاثیر آن روی سلامتی ماهی نیز ارزیابی شود. از این رو باید شاخصه‌های مناسبی برای بررسی ارتباط رژیم غذایی و سلامتی ماهی به کار رود. حفظ سلامتی ماهی باعث کاهش خطر شیوع بیماری می‌شود در نتیجه سطوح و نسبت‌های مواد مغذی موجود در رژیم غذایی می‌تواند حساسیت ماهی به بیماری‌ها را تحت تاثیر قرار دهد (۱۳). شیر پستانداران حاوی انواع مختلفی از عوامل مهارکننده‌ی عفونت مانند لاکتوفرین است. لاکتوفرین یک گلیکوپروتئین حاوی آهن است. لاکتوفرین در ماهیان، از طریق افزایش ترشح موکوس برای جلوگیری از عفونت انگلی، تقویت سیستم ایمنی با فعال نمودن سلول‌های فاگوسیتوزی، سلول‌های کشنده طبیعی، لکتین‌ها و لیزوزیم‌ها، همچنین کاهش سطح کوزتیزول پلاسما موثر است. لاکتوفرین به عنوان اولین عامل سیستم دفاعی بدن در برابر عفونت‌ها عمل می‌کند و یکی از مولفه‌های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشد. نقش‌هاي فیزیولوژیک بسیاري به آن نسبت داده شده است که از آن جمله می‌توان به تنظیم عملکرد ایمنی و تحریک پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی اشاره کرد (۷). مطالعات متعددي به بررسی اثر لاکتوفرین بر سیستم ایمنی و رشد آبزیان پرداخته‌اند بهبود خوراک، وضعیت تغذیه‌ای یا فیزیولوژیکی و مقاومت به عفونت باکتریایی در پستاندارن مختلف با استفاده از مصرف لاکتوفرین حمایت شده است (۴). از طرفی میکروجلبک‌ها تولیدکنندگان مهم مواد آلی پیچیده از انرژی خورشیدی و دی اکسید کربن بوده و به عنوان ارگانیسم‌های غذایی برای زئوپلانکتون و گیاه‌خواران بزرگ‌تر، تولید پایه آبزیان را پشتیبانی می‌کنند. در سال ۱۹۷۸ تولید تجاری جلبک سبز- آبی اسپیرولینا (سیانوباکترها) آغاز شد. یکی از مشخصه‌های ویژه این جلبک، داشتن مقادیر بالای پروتئین است (۱۳). علاوه بر پروتئین، اسپیرولینا حاوی مواد معدنی، اسیدآمینه، لیپیدها (یک الی شش ٪) و ویتامین‌ها است (۶) و به دلیل عدم وجود سلولز در ترکیب ساختاری خود و مقدار پایین اسید نوکلئیک به راحتی مورد هضم و جذب در بدن قرار می‌گیرد. هم‌چنین در این گونه به دلیل وجود فیکوسیانین، ویتامین B۱۲، فنوئیک‌اسیدها، توکوفرول‌ها، افزایش هضم چربی‌ها و جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها گزارش شده است (۱۹). در این پژوهش تلاش خواهد شد تا اثر پودر جلبک اسپیرولینا و لاکتوفرین به تنهایی یا به صورت توام بر عملکرد رشدی و برخی از عوامل ایمنی و بیوشیمیایی ماهی گورخری بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی ۲۲۸ قطعه ماهی گورخری با میانگین وزن ۰/۲۷ gr در دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. جداسازی ماهی‌های نر و ماده در ابتدای کار بر اساس شکل ظاهری انجام شد (شکم ماهیان ماده نسبت

به ماهیان نر بزرگ‌تر، گردتر و حجیم‌تر است) که بعد از جداسازی فقط ماهیان ماده را در چهار آکواریوم قرار داده شدند. برای هر تیمار غذادهی سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۹ قطعه ماهی بود. به این منظور، از آکواریوم با ابعاد (۵۰ cm ×۳۰ ×۴۰) و با حجم آبگیری ۶۰ L استفاده شد. شاخص‌های کیفیت آب طی مدت آزمایش به صورت منظم ثبت شد. دمای آب ۲۸ درجه سانتی‌گراد، مقدار pH آب ۷/۳۸، سختی آب mgr/l ۱۰۴ کربنات کلسیم و مقدار اکسیژن ۶/۴۸ mgr/l بود. دوره آزمایش سه هفته بود و غذادهی در حد اشباع و به صورت دستی در سه نوبت در شبانه‌روز و به میزان پنج ٪ وزن بدن انجام گرفت. برای تهیه غذای مورد استفاده در طول دوره آزمایش، ۴۰۰ mgr/kgr لاکتوفرین (محصول شرکت صنایع شیر موریناگا، ساخت کشور ژاپن با خلوص ۹۹ ٪) و ۱۰۰ gr پودر جلبک اسپیرولینا (شرکت خوراک‌سازان رشد اصفهان) استفاده شد. از جیره غذایی ۵۲ ٪ پودر ماهی، ۲۲ ٪ آرد گندم، ۲۶ ٪ پودر سویا استفاده شد. اقلام غذایی بعد از مخلوط‌شدن مطابق به تیمار غذایی به آن‌ها لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا اضافه شد. آزمایش در چهار تیمار شاهد (تغذیه شده با جیره پایه)، تیمار لاکتوفرین (جیره پایه غنی شده با ۴۰۰ mgr/kgr لاکتوفرین)؛ تیمار اسپیرولینا (جیره پایه غنی شده با gr/ kgr ۱۰۰ پودر جلبک اسپیرولینا) و تیمار تلفیقی لاکتوفرین + اسپیرولینا (جیره پایه غنی شده با ۴۰۰ mgr/kgr لاکتوفرین و ۱۰۰ gr/kgr پودر جلبک اسپیرولینا) برنامه‌ریزی و اجرا شد.

شاخص‌های رشد

در انتهای دوره آزمایش همه ماهیان برای تعیین شاخص‌های رشد زیست‌سنجی شدند. برای این منظور، ابتدا ماهیان به مدت ۲۴ hr قبل از زیست‌سنجی قطع غذادهی شدند. پس از آن شاخص‌های افزایش وزن بدن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، شاخص وضعیت (CF) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) با استفاده از روابط زیر محاسبه شد.

وزن اولیه – وزن نهایی = افزایش وزن بدن (WG)

۱۰۰ × [دوره پرورش به روز / (وزن اولیه)Ln – (وزن نهایی)Ln] = نرخ رشد ویژه (SGR)

۱۰۰ × (۳(طول نهایی (cm)) / وزن نهایی بدن (gr)) = شاخص وضعیت (CF)

وزن اضافه شده (gr) / غذای مصرفی (gr) = ضریب تبدیل غذایی (FCR)

شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی لاشه

شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی مورد بررسی لاشه شامل لیزوزیم، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین بودند. برای ارزیابی کارایی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا در پاسخ ایمنی و بیوشیمیایی لاشه ماهیان مولد ماده گورخری، بعد از سه هفته شکم همه ماهی‌های ماده را به وسیله تیغ جراحی ضدعفونی شده با الکل ۷۵ ٪ باز شد و پس از خروج تخمک‌ها از محیط شکم ماده‌ها، نمونه ماهی‌ها را درون میکروتیوپ شماره‌گذاری شده، قرار داده شدند و با قرار دادن درون یخ خشک به آزمایشگاه ویرومیدگیلان منتقل شدند

لیزوزیم

اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم در سرم، ۵۷/۱ ml از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikicus* (سیگما) (معادل مقدار ۰/۳۷۵ mgr/ml از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ mol یا (pH= ۶/۲۲) با ۲۵۰ µl از نمونه‌ها مخلوط و جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ s به روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۷۰ nm قرائت شد. بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک استفاده شد (۳).

پروتئین کل

میزان پروتئین کل بافت هموژن‌شده با روش بیوره مشخص شد. جهت آماده‌سازی محلول بیوره gr سه سولفات مس gr ۱۲ سدیم پتاسیم تارتارات در یک L آب مقطر حل و سپس ml ۸۳ محلول ۱۹ نرمال سدیم

جدول ۱- شاخص‌های رشد ماهی گورخری *(Danio rerio)* (میانگین ± خطای استاندارد) در جیره‌های مختلف آزمایش.

تیمارها	وزن نهایی (gr)	WG (mgr	SGR (٪ در روز)	CF (gr/cm ۴)	FCR
شاهد	۰/۳۱ ±۰/۰۰۹ c	۰/۱۰ ± ۰/۰۰۹ c	۱/۹۶ ± ۰/۱۴ c	۱/۱۲± ۰/۰۲ b	۱/۶۷ ± ۰/۳۰ a
لاکتوفرین	۰/۳۴ ± ۰/۰۱ c	۰/۱۳ ± ۰/۰۱۳ b	۲/۳۶ ± ۰/۱۸ c	۱/۱۴± ۰/۰۴ b	۱/۱۴ ± ۰/۲۰ ab
اسپیرولینا	۰/۴۲ ± ۰/۰۱ b	۰/۱۵ ± ۰/۰۱۶ b	۳/۳۱ ± ۰/۱۸ b	۱/۲۲ ± ۰/۰۷ b	۱/۰۵ ± ۰/۲۱ ab
لاکتوفرین+اسپیرولینا	۰/۵۲ ± ۰/۰۳ a	۰/۲۱ ± ۰/۰۳ a	۴/۳۳ ± ۰/۳۲ a	۱/۴۶ ± ۰/۰۵ a	۰/۸۹ ± ۰/۲۵ b

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

WG: افزایش وزن ماهیان، SGR: نرخ ویژه رشد، CF: ضریب وضعیت، FCR: ضریب تبدیل غذایی.

هیدروکسید به آن اضافه و با آب مقطر به حجم دو میلی لیتر رسانده شد. در نهایت مقدار پروتئین کل در طول موج ۵۵۰ nm اندازه‌گیری شد (۱).

آلبومین

این روش شامل واکنش آلبومین با برموکرزول‌گرین در شرایط اسیدی و تشکیل کمپلکس سبز مایل به آبی است که به شدت رنگ آن متناسب با غلظت آلبومین موجود در نمونه است. آلبومین لاشه با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (TechniconRA-USA ۱۰۰۰) و طول موج ۶۲۰ nm اندازه‌گیری خواهد شد و مقدار آلبومین سرم بر حسب gr/dl محاسبه شد (۱۴).

گلبولین

میزان تقریبی گلبولین نیز از تفاضل مقادیر پروتئین کل و آلبومین محاسبه شد. مقدار پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین بر حسب gr/dl مورد سنجش قرار گرفت.

تحلیل آماری

تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۴ و رسم نمودارها با استفاده از برنامه اکسل انجام شد. قبل از تحلیل، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد ارزیابی قرار گرفت و از آزمون واریانس یک طرفه به منظور مشخص شدن تفاوت معنی‌داری استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون آماری دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

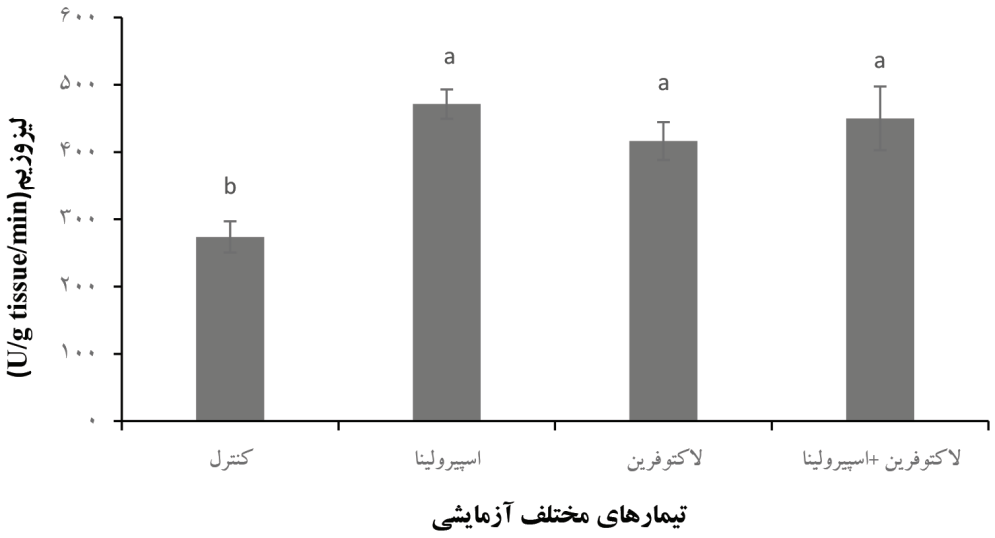
نتایج

در پایان دوره شاخص‌های رشدی (وزن نهایی، افزایش وزن ماهی، نرخ رشد ویژه و ضریب وضعیت) در تیمار ترکیبی بیشترین مقدار را نشان داد و کمترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار شاهد مشاهده شدند (P<۰/۰۵). شاخص ضریب وضعیت در بین تیمار کنترل و تیمار پودر جلبک اسپیرولینا و تیمار لاکتوفرین تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (P> ۰/۰۵). شاخص FCR تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد که کمترین مقدار مربوط به تیمارهای تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا و تیمار لاکتوفرین + پودر جلبک اسپیرولینا نشان داده شد و بیشترین مقدار در تیمار تغذیه شده با لاکتوفرین به دست آمد (P< ۰/۰۵).

شاخص‌های ایمنی و بیوشیمیایی لاشه

نتایج حاصل از اندازه‌گیری لیزوزیم لاشه در ماهی مولد ماده گورخری نشان داد که کمترین میزان لیزوزیم لاشه موجود در ماهی مولد ماده گورخری با اختلاف معنی‌داری مربوط به مولدین شاهد نسبت به سایر تیمارها است که در دامنه (U/gr tissue/min ۴۱۶/۲۵ – ۴۷۱/۲۵) متغیر است. در بین سایر تیمارهای تغذیه شده از نظر میزان لیزوزیم لاشه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P< ۰/۰۵ ، شکل ۱).

نتایج حاصل از میزان پروتئین کل لاشه در ماهیان مولد ماده گورخری نشان داده شد که اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار لاکتوفرین+ پودر جلبک اسپیرولینا وجود دارد که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد با دامنه (gr ۰/۳۶ ± ۱۰/۷۰) و کمترین میزان مربوط به تیمار لاکتوفرین+ پودر جلبک اسپیرولینا (gr ۰/۲۲ ± ۸/۹۶) است. ولی

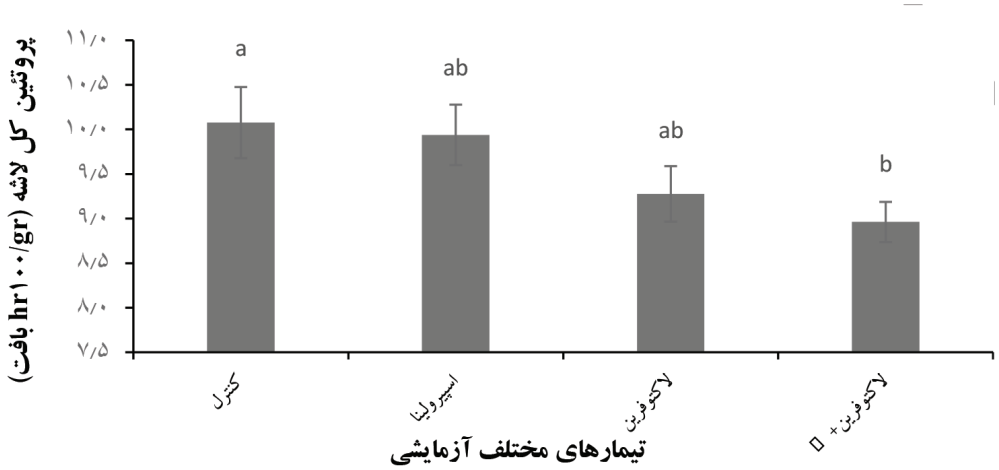


شکل ۱- سطوح لیزوزیم لاشه در ماهیان مولد گورخری *(Danio rerio)* (میانگین ± خطای استاندارد) در تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

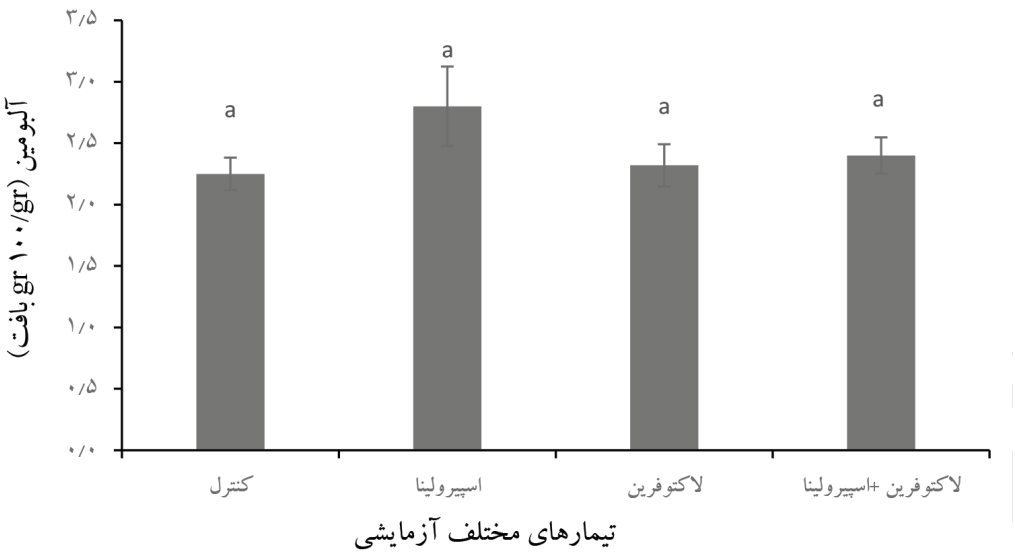
بین تیمار تغذیه شده با لاکتوفرین و تیمار تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P<۰/۰۵، شکل۲).
مقدار آلبومین لاشه در ماهیان مولد ماده گورخری بدون تغییر معنی‌دار بود. بیشترین مقدار آلبومین در گروه تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا و پس از آن در ماهیان تغذیه شده با لاکتوفرین + پودر جلبک اسپیرولینا مشاهده شد (P>۰/۰۵ ، شکل ۳). روند تغییرات گلوبولین لاشه ماهیان مولد ماده گورخری با توجه به نمودار زیر اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵، شکل ۴).

بحث

با جایگزینی پودر جلبک اسپیرولینا و لاکتوفرین به صورت ترکیبی در



شکل ۲-سطوح پروتئین کامل لاشه ماهیان مولد ماده گورخری *(Danio rerio)* (میانگین ± خطای استاندارد) در تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است (P> ۰/۰۵).

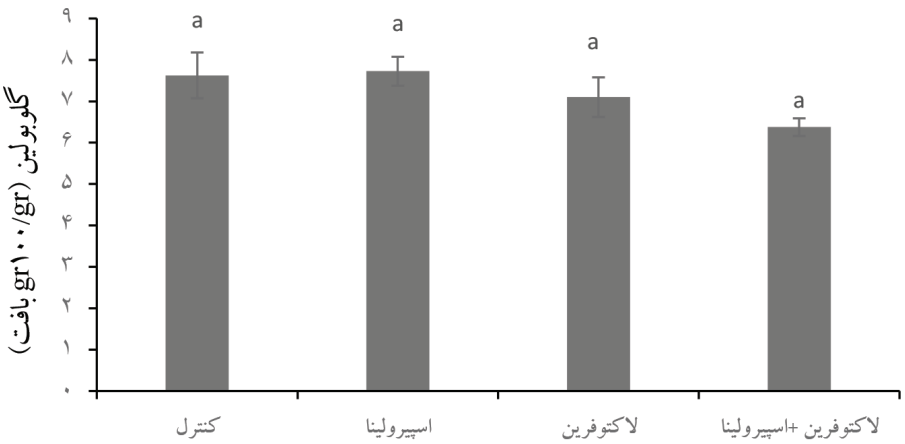


شکل ۳- سطوح آلبومین لاشه ماهیان مولد ماده گورخری *(Danio rerio)* (میانگین ± خطای استاندارد) در تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است (P> ۰/۰۵).

جیره غذایی ماهی ماده گورخری، وزن نهایی، شاخص افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه ماهیان افزایش یافت. مواد معدنی برای فرایندهای طبیعی حیات مورد نیازند و همه‌ی جانوران از جمله ماهیان به عناصر غیرآلی احتیاج دارند. اگرچه مواد معدنی مورد نیاز حیوانات بسیار اندک است اما برای رشد طبیعی کاملا ضروری می‌باشند. طبق مطالعه ساتو و همکاران (۲۰۰۱) در ماهی دم زرد و کفشک ژاپنی هنگامی که این ماهیان با جیره‌های دارای پودرماهی بدون مکمل مواد معدنی تغذیه شدند، عملکرد رشد ضعیفی نشان دادند.

برای مثال در دم زرد جوان تغذیه شده با جیره‌ی حاوی پودر ماهی بدون مکمل مواد معدنی مانند روی، منگنز یا فسفر رشد ضعیف‌تر و محتوای مواد معدنی کمتری را نسبت به گروهی که جیره‌ی حاوی مکمل مواد معدنی تغذیه شده بودند، نشان دادند. همچنین آهن جزء مواد معدنی است که تاثیر به سزایی در انجام فعالیت‌های طبیعی اندام‌های بدن ماهی دارد. یکی از نتایج موثری که در ماهیان تغذیه نموده از دوز مناسب آهن مشاهده می‌شود، افزایش کارایی عملکرد رشد در ماهیان است. یه و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که وزن کسب شده در ماهیان تغذیه شده با جیره مکمل شده با ۱۰۰ mgr/kgr آهن بالاترین مقدار بوده است (۱۸). از طرفی یکی از نقش‌های اساسی که لاکتوفرین ایفا می‌کند مربوط به هموستازی آهن در بدن است. به این منظور لاکتوفرین آهن آزاد را از سلول‌های روده‌ای جذب می‌کند و از طریق خون آهن را وارد کبد می‌کند. در بررسی هو و همکاران (۲۰۱۹) از ترکیب لاکتوفرین و آهن در جیره خوک‌ها استفاده کردند. آنها بیان کردند که لاکتوفرین یک تنظیم‌کننده مهم جذب آهن و استرس اکسیداتیو است. نتایج آنها نشان داد که ترکیب لاکتوفرین و آهن روشی موثرتری برای بهبود سطح آهن است (۸). همچنین نتایج آنها با مطالعه فرناندز- منندز همکاران (۲۰۱۶) که از ترکیب لاکتوفرینِ و نمک آهن استفاده کردند، مطابقت داشت. در پژوهش حاضر، احتمالاً تیمار تلفیقی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا باعث شده است که آهن بیشتر در مسیر افزایش رشد مورد استفاده قرار گرفته است (۵).

لیزوزیم یکی از آنزیم‌های مهم موجود در خون است که به صورت فعال باکتری‌ها را تجزیه می‌کند و افزایش میزان این آنزیم نشان دهنده‌ی سازوکار طبیعی حفاظت در ماهی است. لیزوزیم فعالیت ضدباکتریاییِ دارد که به پپتیدوگلیکان موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها (عمدتاً باکتری‌های گرم مثبت) حمله می‌کند و موجب تحریک بیگانه‌خواری سلول‌های فاگوسیتوزی علیه باکتری‌ها می‌شود. طبق تحقیق حاضر کمترین میزان لیزوریم در تیمار شاهد مشاهده شد و در بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. مکمل‌های غذایی میکروجلبکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی مانند سوخت و ساز چربی، مقاومت به بیماری، کیفیت لاشه و زنده‌مانی اثر می‌گذارد. در میان میکروجلبک‌ها، اسپیرولینا دارای چندین ماده فعال زیستی است که مشخص شده دارای قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند و به طور کلی به بیلی‌پروتئین‌های مانند فیکوسیانین نسبت داده شده می‌شود. در مطالعه عبدل تواب و احمد (۲۰۰۹) به جیره غذایی تیلاپیای نیل ۰/۵ تا یک ٪ اسپیرولینا اضافه شد. ماهیانی که با اسپیرولینا تغذیه شده بودند گلبول‌های قرمز و سفید، لنفوسیت‌ها و تولید آنیون سوپراکسید آنها نسبت به ماهیانی که جیره بدون اسپیرولینا داشتند، به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین میزان مرگ و میر کاهش یافت. این تئوری است که اسپیرولینا با افزایش فعالیت‌های فاگوسیتیک و سلول‌های کشنده طبیعی و تقویت فعالیت‌های لکوسیتی مانند فاگوسیتوز و تولید سوپراکسید و سیتوکین سیستم ایمنی بدن ماهی را تحریک می‌کند (۲).



شکل ۴- سطوح گلوبولین لاشه ماهیان ماده گورخری *(Danio rerio)* (میانگین ± خطای استاندارد) در تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است (P> ۰/۰۵).

در پستانداران موجب محافظت کبد در برابر استرس‌های فیزیولوژیک و عفونت‌ها می‌شود. این تاثیر می‌تواند در نتیجه تسریع تولید سوپراکسید و افزایش فعالیت شیمیایی لکوسیت‌های چندهسته‌ای باشد. همچنین مصرف منظم عصاره کلرلا موجب افزایش اثر محافظتی در برابر عفونت ناشی از اشرشیا کلی می‌شود. و میزان بازماندگی و تعداد لمفوسیت‌ها پس از چالش باکتریایی با مصرف جلبک کلرلا افزایش می‌یابد. در نتیجه به نظر می‌رسد اثر پیشگیرانه عصاره کلرلا به جای اثرگذاری سریع به عنوان یک ماده آنتی‌بیوتیک شامل ایجاد موانع داخلی در برابر بیماری‌های عفونی مانند پاسخ التهابی و افزایش در تعداد فاگوسیت‌هاست (۱۳). کیم و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که استفاده از جلبک اسپیرولینا سبب افزایش معنی‌دار لیزوزیم در کفشک زیتونی *Paralichthys olivaceus* می‌شود (۹). پرومیا و چیتمنت (۲۰۱۱) با افزودن جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی گربه ماهی نشان دادند که ماهیان تغذیه شده با پنج درصد جلبک اسپیرولینا تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون بالاتر و میزان ظرفیت تحریک‌پذیری بیشتری دارند که توسط آزمایش فعالیت لیزوزیم اندازه‌گیری شد که این افزایش گلبول‌های سفید و قرمز و افزایش فعالیت لیزوزیم می‌تواند به دلیل وجود فیکوسیانین در جلبک اسپیرولینا باشد که سبب تحریک سیستم ایمنی می‌شود (۱۵). از طرفی لاکتوفرین یک گلیکوپروتئین چندعملکردی متعلق به خانواده انتقال‌دهنده آهن نقش مهمی در سیستم ایمنی غیراختصاصی دارد. آهن پلاسما در ماهیانی که از لاکتوفرین تغذیه می‌کنند به شدت کاهش می‌یابد ولی میزان آهن در کبد به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین میزان ترشح موکوس و فعالیت ضدباکتریایی سرم ماهیان نیز افزایش می‌یابد. از آنجایی که از جمله نیازهای باکتری برای رشد، منبع انرژی، منبع کربن آلی (مثل قندها و اسیدهای چرب) و یون‌های فلزی (مثل آهن) می‌باشد. لاکتوفرین با جذب آهن این منبع مهم را از دسترس باکتری‌ها خارج می‌کنند. نتایج مطالعات نشان داده است که استفاده از لاکتوفرین به صورت خوراکی می‌تواند باعث تنظیم متابولیسم و محدود کردن آهن به عنوان یک ماده اساسی برای رشد باکتری‌ها و همچنین بهبود برخی از پارامترهای ایمونولوژیک و فیزیولوژیک در ماهی شود. کوماری و همکاران (۲۰۰۳) تأثیر لاکتوفرین را بر مشخصه‌های ایمنی غیراختصاصی گربه ماهی آسیایی (*Clarias batrachus*) در طول دو هفته مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمایش آن‌ها افزایش معنی‌دار میزان لیزوزیم سرم در تیمارmgr ۵۰ و ۱۰۰ لاکتوفرین را در مقایسه با تیمار شاهد در پایان هفته اول در گربه ماهی آسیایی نشان داده است. احتمالاً افزایش ایمنی در ماهی ماده گورخری در تیمار ترکیبی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا به دلیل اثر هم‌افزایی بین آنها باشد (۱۰).

با افزودن پودر جلبک اسپیرولینا و لاکتوفرین در جیره غذایی ماهی ماده گورخری میزان پروتئین کل لاشه روندی کاهشی را نشان داد به طوری که کمترین میزان در تیمار تلفیقی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا مشاهده شد و میزان آلبومین و گلبولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعات تغذیه‌ای ماهی میزان پروتئین کل پلاسما بارها به عنوان شاخص وضعیت فیزیولوژیکی استفاده شده است. پروتئین کل پلاسما یک ترکیب بسیار پایدار است و تعداد کمی از عوامل غذایی بر آن اثر گذارند. کاهش پروتئین کل پلاسما همراه با کم‌خونی در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی مقادیر اندک پودر ماهی و یا دارای گوسپیول گزارش شده است. در این موارد، رطوبت و پروتئین بدن ماهیان نیز کاهش یافته است. کاهش میزان پروتئین کل پلاسما ممکن است به دلیل رقیق شدن خون و اختلال در متابولیسم پروتئین باشد. همچنین در مطالعه ناکاگاوا و همکاران (۱۹۸۵) آلبومین سرم، پروتئین سرم و چربی سرمی در اثر مصرف عصاره کلرلا به طور قابل توجهی کاهش یافت. آلبومین سرم ماهیان یک لیپوپروتئین است و به عنوان یک پروتئین انتقال دهنده‌ی چربی عمل می‌کند. لیپوپراکسید سرمی ممکن است در نتیجه فرایندهای متابولیکی اکسیداسیون درونی ایجاد شود و موجب اختلالات فیزیولوژیکی متعددی گردد. کاهش میزان لیپوپراکسید با مصرف عصاره کلرلا به احتمال زیاد با بهبود متابولیسم چربی‌ها مرتبط است (۱۲). از طرفی رن و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی خود بر روی مار ماهی ژاپنی با افزودن لاکتوفرین و ویتامین C تفاوت معنی‌داری را بر میزان پروتئین کل مشاهده نکردند (۱۶). مرادیان و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیق خود روی سیچلاید آفریقایی با افزودن سطوح مختلف لاکتوفرین به جیره غذایی دریافتند که لاکتوفرین اثر معنی‌داری بر میزان پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین نداشته است (۱۱). ماهیان می‌توانند از طریق مصرف چربی ذخیره‌شده پیش از مصرف پروتئین عضلات در مقابل گرسنگی طولانی مدت ایجاد شده و کمبود مواد غذایی مقاومت کنند. ماهیان در دوره کمبود مواد غذایی، پروتئین عضله زودتر از چربی ذخیره‌ای برای تامین انرژی مورد نیاز استفاده می‌کند. ظاهراً تلفیق لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا باعث فعال‌کردن استفاده از چربی‌ها به عنوان منبع انرژی پیش از مصرف پروتئین عضله ماهی ماده گورخری شده است.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر بهترین شاخص‌های رشد در تیمار تغذیه شده با ترکیب لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا مشاهده شد. همچنین ترکیب لاکتوفرین گاوی و جلبک اسپیرولینا در بررسی مقدار لیزوزیم لاشه، کمترین مقدار در گروه کنترل مشاهده شد. و میزان پروتئین کامل لاشه روندی کاهشی را نشان داد به طوری که کمترین میزان در تیمار تلفیقی لاکتوفرین و پودر جلبک اسپیرولینا مشاهده شد.

منابع مورد استفاده

1. Annino, J.S and R.W. Giese. 1976. Determination of Total Proteins and Ahbumins in Serum. Clinicchem. Principles and Procedures, 4th edition, Little Brown & Company, Boston, torento, 188 p.

2. Abdel-Tawwab, M and A.H. Ahmad. 2009. Live Spirulina (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, challenged with pathogenic Aeromonsas. *Aquaculture Research* 40(9): 1037-1046.

3. Ellis, A. E. 1990. Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 9: 291-308.

4. Eslamloo, K., B. Falahatkar and S. Yokoyama. 2012. Effects of dietary bovine lactoferrin on growth, physiological performance, iron metabolism and non-specific immune responses of Siberian

sturgeon *Acipenser baeri. Fish & Shellfish Immunology* 32:976-985.
5. Fernández-Menéndez, S., M.L. Fernández-Sánchez, H. González-Iglesias, B. Fernández-Colomer, J. López-Sastre and A. Sanz-Medeh. 2016. Iron bioavailability from supplemented formnla milk: Effect of lactoferrin addition. *European Journal of Nutrition* 56: 2611-2620.
6. Geffroy, B and O. Simon. 2013. Effects of a Spirulina platensis-based diet on zebrafish female reproductive performance and larval survival rate. *Société Française D'ichtyologie* 37(1-2): 31-38.
7. González-Chávez, S.A., S. Arévalo-Gallegos and Q. Rascón-Cruz. 2009. Lactoferrin: structure, function and application. *International Journal of Antimicrobial Agents* 33(4): 301.
8. Hu, P., D. Zhao, F. Zhao, J. Wang and W. Zhu. 2019. The effects of the combination of oral lactoferrin and iron injection on iron homestasis, antioxidative abilities and cytokines activities of suckling piglets. *Animals* 9: 438.
9. Kim, C.J., Y.H. Jung and H.M. Oh. 2007. Factors indicating culture status during cultivation of *Spirulina (Arthrospira) platensis. The Journal of Microbiology* 45(2): 122-127.
10. Kumari, J., T.Swain and P.K. Sahoo. 2003. Dietary bovine lactoferrin induces changes in immunity level and disease resistance in Asian catfish *Clarias batrachus. Veterinary Immunology & Immunopathology* 94: 1-9.
11. Moradian, A. M., S. Dorafshan, F. Paykan Heyrati, and E. Ebrahimi. 2017. Effects of dietary bovine lactoferrin on 1 growth, haemato- biochemical parameters, immune functions and tolerance to air exposure stress in the African cichlid *Sciaenochromis fryeri. Aquaculture Nutrition* 24(1): 392-399.
12. Nakagawa, H., H. Kumai, M. Nakamura and S. Kasahara. 1985. Effect of algae supplemented diet on serum and body constituents of cultured yellow tail. *Bullletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 51: 279-286.
13. Nakgawa, H., M. Sato and D. Gatlin. 2007. Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish. CABI, Wallingford, UK, 244 pp.
14. Ortuno, J., M.A. Esteban, V. Mulero and J. Meseguer. 1998. Methods for studying the haemolytic, chemoattractant and opsonic activities of seabream (*Sparus aurata*) serum. *Methodology in Fish Diseases Research* 1:97-100.
15. Promya, J and C. Chitmanat. 2011. The effects of Spirulina platensis and Cladophora algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). *International Journal of Agriculture & Biology* 13: 77-82.
16. Ren, T., S. Koshio, M. Ishikawa, S. Yokoyama, F.R. Micheal, O. Uyan and H.T. Tung. 2007. Influence of dietary vitamin C and bovine lactoferrin on blood chemistry and non-specific immune responses of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture* 267: 31-37.
17. Satoh, S., R. Ishida, T. Takeuchi, T. Watanabe, N. Mitsuhashi, K. Imaizumi and T. Seikai. 2001. Necessity of mineral supplement to fish meal based feed for yellowtail and Japanese flounder. *Suisann-zoshoku* 49: 191-197.
18. Ye. C.X., Y.J. Liu, K.S. Mai, L.X. Tian, H.J Yang, J. Niu and J. Huang. 2007. Effect of dietary iron supplement on growth, haematology and microelement of juvenile grouper, *Epinephelus coioides. Aquaculture Nutrition* 13: 471-477.
19. Yeganeh, S., M. Teimouri and A. Keramat Amirkolaie. 2015. Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science* 101: 84–88.