[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

اثرات مکمل غذایی پودر ریزجلبک نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis oculata*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد

مروارید نراقی[۱]، مهدی شمسایی مهرجان[*۱]، هومن رجبی اسلامی[۱]، سید پژمان حسینی شکرابی[۱]

[*]m.shamsaie@srbiau.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: تیر۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: مهر۱۳۹۷

چکیده

به منظور بررسی تأثیر ریزجلبک نانوکلروپسیس تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان در یک طرح آزمایشی تصادفی تکرار دار، بین ۱۲ آکواریوم ۴۰ لیتری تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی با مقادیر صفر (شاهد)، ۷/۵ (تیمار ۱)، ۱۵ (تیمار ۲) و ۲۲/۵ (تیمار ۳) گرم ریزجلبک در کیلوگرم خوراک برای مدت ۳ ماه تغذیه شدند. پس از پایان دوره، برخی فراسنجه‌های خونی (شامل تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، حجم متوسط گلبولی، هموگلوبین و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز)، چربی سرم خون و آنزیم‌های کبدی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف تغییرات معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$)، درحالی‌که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در تیمار ۲ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین، بیشترین و کمترین مقدار کلسترول سرم خون به ترتیب در تیمار شاهد (۱/۴۷±۲۷۹/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و تیمار ۲ (۱/۴۷±۱۷۳/۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) ثبت شد ($p<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که با افزایش سطوح ریزجلبک تا ۱۵ گرم در کیلوگرم غذا آنزیم‌های کبدی شامل الانین آمینو ترانسفراز، آسپارتات آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کنند ($p<۰/۰۵$). بیشترین مقدار لیپوپروتئین با چگالی کم در تیمار شاهد (۰/۷۵±۶۸ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) و کمترین آن در سرم خون ماهیان تیمار ۲ (۰/۷۲±۲۵/۲۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بنابراین افزایش ریزجلبک نانوکلروپسیس تا ۱۵ گرم در کیلوگرم در خوراک احتمالاً سبب بهبود شاخص‌های خونی و عملکرد کبد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

لغات کلیدی: *Nannochloropsis oculata*، قزل‌آلای رنگین‌کمان، شاخص‌های بیوشیمیایی خون، آنزیم‌های کبدی

[*]**نویسنده مسئول**

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

مقدمه

سالهاست که سودمندی میکروجلبک‌هایی مثل کلرلا، تتراسلمیس، ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس به عنوان مکمل‌های غذایی برای آبزی‌پروری بیان شده است (Priyadarshani and Rath, 2012). با توجه به اجزاء مغذی موجود در ریزجلبک‌ها مانند رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها، اسیدهای چربی با زنجیره بلند، پروتئین‌ها و مواد آنتی اکسیدان افزودن این مواد در جیره غذایی می‌تواند سبب بهبود کیفیت غذای ماهی شود. ریزجلبک نانوکلروپسیس (*Nannochloropsis oculata*) یک فیتوپلانکتون تک سلولی دریائی است که دارای کلروفیل *a* و مقدار نسبتاً زیادی اسیدهای چرب ایکوزا پنتانوئیک اسید می‌باشد (Lubian and Montero, 2000; Patil *et al.*, 2005;Babuskin *et al.*, 2014). یکی دیگر از ویژگی بارز ریزجلبک نانوکلروپسیس غنی بودن آن از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی است که اهمیت بسزایی در مهار کردن و از بین بردن رادیکال‌های آزاد و پایان دادن به زنجیره تولید این رادیکال‌ها در سلول دارد (Lobo *et al.*, 2010). از سویی، اثرات درمانی اسیدهای چرب غیراشباع در درمان برخی از بیماری‌ها به اثبات رسیده است و مکمل‌های غذائی و یا مواد غذائی واجد این اسیدهای چرب در پیشگیری، درمان و کنترل برخی از بیماری‌ها تجویز می‌شود (Kagan and Matulka, 2015). در این راستا، محققین جهت بالا بردن کیفیت محصولات شیلاتی در فرمولاسیون غذای ماهیان از ریزجلبک‌هایی مثل نانوکروپسیس و اسپیرولینا استفاده کرده‌اند (Priyadarshani and Rath, 2012). به طور کلی، اسیدهای چرب غیراشباع در مواد غذائی اثر تنظیم کننده بر کلسترول و چربی‌های خون دارد و از طریق مسیرهای فیزیولوژیک بخصوص سبب افزایش لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و کاهش لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) خون می‌شوند (Barona and Fernandez, 2012).

در خانواده آزاد ماهیان گونه قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به علت تکثیر و پرورش آسان و سرعت رشد بالا در شرایط پرورش از اهمیت و ارزش زیادی بر خوردار می‌باشد (Hardy, 2002). در ایران در سال ۱۳۹۵ میزان تولید این آبزی به حدود ۱۶۶ هزار تن رسیده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۶). البته میزان تولیدات جهانی این ماهی در سال ۲۰۱۶ بالغ بر ۸۱۴ هزار تن بوده است که رتبه پانزدهم تولید را در بین سایر آبزیان پرورشی بخود اختصاص داده است (FAO, 2018).

تحقیقات متعددی فواید استفاده از ریزجلبک‌ها را در جیره غذایی ماهیان بیان کرده است. برای مثال، Sirakov و همکاران (۲۰۱۲) اثر افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا را در جیره غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی و بیان کردند وزن ماهیان تغذیه شده با جلبک در سطح ۱۰ درصد افزایش می‌یابد. در تحقیق دیگری Yeganeh و همکاران (۲۰۱۵) افزایش برخی شاخص‌های خونی شامل گلبول قرمز، هموگلوبین و HDL و کاهش LDL را در ماهیان قزل‌آلا رنگین‌کمان تغذیه شده را با جیره‌های غذایی مکمل شده با ریزجلبک اسپیرولینا گزارش کردند. همچنین بهبود شاخص‌های خونی شامل جمعیت گلبول قرمز، جمعیت گلبول سفید و غلظت هموگلوبین در گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) تغذیه شده با ۵ درصد ریزجلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) گزارش شده است (Sayed and Fawzy, 2014).

با توجه به نقش تغذیه در صنعت آبزی‌پروری (حدود ۵۰ درصد هزینه‌های در حال گردش)، یکی از راههای بالقوه جهت کاهش هزینه و افزایش کیفیت خوراک مصرفی، استفاده از انواع ریزجلبک‌های تک سلولی به عنوان مکمل‌های غذایی است. بنابراین، این مطالعه با هدف اندازه‌گیری برخی فراسنجه‌های خونی، چربی‌های خون و آنزیم‌های کبدی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان انگشت قد تغذیه شده با رژیم‌های غذایی حاوی سطوح مختلف پودر ریزجلبک نانوکلروپسیس به مدت سه ماه انجام شد.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

مواد و روش کار

تهیه ماهی و شرایط پرورش

این تحقیق در فروردین سال ۱۳۹۵ در قالب یک طرح تصادفی در مجتمع آزمایشگاه رازی واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات (تهران، ایران) به اجرا در آمد. برای انجام این آزمایش تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی انگشت قد (وزن اولیه ۰/۳±۲ گرم) سالم از یکی از کارگاه‌های تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان واقع در جاده هراز (شرکت دشت سبز) تهیه شد. بچه ماهیان انگشت قد خریداری شده توسط کیسه‌های پلاستیکی اکسیژن دهی شده در کنار یخ، به محل آزمایش منتقل گردیدند. بطوریکه یک سوم هر یک از کیسه‌ها از آب و بقیه آنها از اکسیژن فشرده شده پر شده بودند. بچه ماهیان ۲۴ ساعت پیش از انتقال به کیسه‌ها، قطع غذادهی شدند تا در اثر استرس ناشی از دستکاری، دچار مرگ و میر نشوند. پس از معرفی بچه ماهیان انگشت قد به واحدهای آزمایشی نیز ۲۴ ساعت غذادهی صورت نگرفت تا استرس ناشی از حمل و نقل رفع گردد. برای سازگاری بچه ماهیان با محیط آزمایش، هر کیسه حاوی بچه ماهی ابتدا در یک ظرف حاوی آب محل آزمایش غوطه‌ور شده تا هم دمایی صورت گیرد و سپس بچه ماهیان، به آرامی به مخزن پرورش منتقل گردیدند. گروه‌های آزمایش را ظروف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۸۰ ×۵۰×۳۰ سانتی‌متر تشکیل می‌دادند که توسط آب چاه تا حجم ۴۰ لیتر آبگیری شدند. هوادهی به مخازن آزمایش، توسط سه پمپ مرکزی انجام می‌شد. آب آکواریم‌ها روزانه یک بار به میزان ۲۰ درصد تعویض می‌گردید (Sayed and Fawzy, 2014). خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب در طول آزمایش شامل ۱/۶±۱۶/۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۷±۸/۵ میلی‌گرم درلیتر، و pH ۰/۳±۷/۵ بود.

تهیه جیره‌های آزمایشی

تیمارهای آزمایش را مقادیر ۷/۵، ۱۵ و ۲۲/۵ گرم ریزجلبک نانوکلروپسیس در کیلوگرم خوراک تشکیل می‌داد. همچنین یک تیمار شاهد واجد خوراک پایه و فاقد هرگونه افزودنی در این تحقیق لحاظ گردید. پودر ریزجلبک نانوکلروپسیس به صورت خشک شده به روش فریزدرایر از آزمایشگاه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهیه شد. کشت ریزجلبک نانوکلروپسیس در آزمایشگاه با تراکم اولیه $۰/۵\times۱۰^{۷}$ سلول در میلی‌لیتر در محیط کشت F2 (Guillard and Ryther, 1962) در شرایط استاندارد در داخل ژرمیناتور برای مدت ۱۴ روز انجام شد. فلاسک‌های استریل با حجم ۸ لیتر با هوادهی مداوم جهت کشت این ریزجلبک استفاده شده بود. پودر ریزجلبک به کمک محلول رقیق ژلاتین (۲ گرم ژلاتین در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای هر ۱۰۰ گرم خوراک) به سطح خوراک منتقل شد و پس از خشک شدن در دمای معمولی محیط و در سایه بسته بندی شد و تا زمان مصرف در فریزر تاریک نگهداری شدند تا به مصرف ماهیان آزمایش برسند. تیمارها دارای سه تکرار بودند. غذادهی روزی ۳ نوبت برای مدت سه ماه صورت گرفت و مقدار غذادهی با توجه به دمای آب ۳-۵ درصد وزن بدن انجام شد. خوراک پایه (شاهد) این مطالعه را خوراک اکسترود تجاری بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان (Skretting, Turkey) با اجزاء ۵۵٪ پروتئین، ۱۶٪ چربی، ۹٪ خاکستر و ۸٪ رطوبت تشکیل داد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

در انتهای آزمایش، به منظور جلوگیری از استرس ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد، سپس از هر گروه آزمایشی شش ماهی (میانگین وزن انفرادی ۰/۱۱±۱۲/۰۸ گرم) به طور تصادفی صید و در مخلوط ۲ گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش شدند. پس از این مرحله خونگیری از آنها با روش قطع ساقه دمی بعمل آمد. از نمونه‌های خون بدست آمده مقدار ۱ میلی‌لیتر در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد (۱/۵ میلی‌گرم EDTA به ازای هر میلی‌لیتر خون) برای مطالعه فاکتورهای خونی و ۱ میلی‌لیتر در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد برای اندازه‌گیری برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون منتقل گردید. لوله‌های خون به آزمایشگاه بهار جهت انجام آزمایش‌های خونی منتقل گردید. بطوریکه فاکتورهای

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

خونی مورد مطالعه شامل تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و هماتوکریت (HCT)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین (HB)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود (Feldman *et al.*, 2000). برای رنگ آمیزی گلبول‌های قرمز و سفید توسط کیت گیمسا (پارس مدیکال، ایران) و از محلول ریس برای رقیق کردن خون استفاده شد. برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین و همچنین برای اندازه‌گیری هماتوکریت از خط‌کش هماتوکریت به روش دستی انجام شد. شمارش سلولی گلبول‌های سفید و قرمز نیز از طریق لام نئوبار انجام شد (Feldman *et al.*, 2000).

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون

در آزمایشگاه بلافاصله با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۵۰۰ واحد g به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرم از نمونه‌های خونی جدا و با سمپلر در لوله‌های میکروتیوب جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی خون تخلیه شد.

پارامترهای بیوشیمی با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر ساخت کشور ژاپن (Random access, COBAS 6000) طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (Roche Diagnostics, Meylan, France) فاکتورهای چربی خون شامل کلسترول، تری گلیسرید، فسفر، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL) و همچنین آنزیم‌های کبدی شامل آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اندازه‌گیری شدند (Feldman *et al.*, 2000).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

بررسی وجود یا فقدان اختلافات معنی‌دار داده‌های تیمارهای مختلف از طریق تجزیه‌ی واریانس یک طرفه داده‌ها (ANOVA) و مقایسه بین میانگین داده‌های تیمارها با استفاده از آزمون دانکن (Duncans multiple-range test) انجام پذیرفت. آنالیزهای فوق در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) در محیط ویندوز انجام گرفت.

نتایج

تغییرات برخی فراسنجه‌ها و چربی خون

با توجه به جدول ۱، میانگین گلبول‌های قرمز در تیمارهای دارای ریزجلبک نسبت به شاهد، افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همین روند در شاخص هماتوکریت در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). همچنین کاهش معنی‌دار در مقدار میانگین متوسط هموگلوبین گلبولی سرم خون در دو گروه تیمار T_1 وT_2 و افزایش معنی‌دار در سرم خون تیمار ۳ در مقایسه با شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). افزایش معنی‌دار نیز در مقدار میانگین غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز سرم خون گروه T_2 در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

حداقل و حداکثر مقدار کلسترول سرم خون بترتیب در تیمار T_2 و گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۱، $p<۰/۰۵$). کاهش معنی‌دار در مقدار تری‌گلسیرید سرم خون در تیمارهای تغذیه شده با ریزجلبک در مقایسه با گروه شاهد ثبت شد ($p<۰/۰۵$). کمترین مقدار LDL سرم خون در تیمار T_2 مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). درحالی که بیشترین و کمترین مقدار HDL سرم خون بترتیب در تیمار T_2 و گروه شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

تغییرات آنزیم‌های کبدی

با توجه به جدول ۲، کاهش معنی‌دار در مقدار میانگین آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم خون در هر سه گروه از ماهیان تغذیه شده با ریزجلبک در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). کاهش معنی‌دار در مقدار میانگین آنزیم ALT در سرم خون ماهیان گروه T_2 و افزایش معنی‌دار آن در تیمار T_3 در مقایسه با سایرهای تیمارها ثبت شد ($p<۰/۰۵$). حداقل مقدار میانگین آنزیم ALP و AST در سرم خون تیمار گروه T_2 مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

جدول ۱: میانگین برخی شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شده در سرم خون بچه ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف ریزجلبک نانوکلروپسیس. جیره‌های آزمایشی شامل ۷/۵ :T_1، ۱۵ :T_2 و ۲۲/۵ :T_3 گرم ریزجلبک نانوکلروپسیس در کیلوگرم خوراک.

Table 1: Average of some measured blood indices in the blood serum of rainbow trout fry fed with different levels of *Nannochloropsis oculata* microalgae. Experimental diets including: T1: 7.5, T2: 15 and T3: 22.5 g microalgae per kg of feed.

شاخص‌های خونی	شاهد	T_1	T_2	T_3
(pg/cell) MCH	۷۱/۰۰±۰/۱۰^{c}	۷۳/۶۷±۰/۵۷^{b}	۱۰۳/۷±۰/۵۲^{a}	۱۰۴/۳۳±۰/۵۷^{a}
(%) HCT	۴۶/۰۰±۰/۵۷^{c}	۵۳/۳۳±۰/۵۱^{b}	۵۵/۳۳±۰/۵۰^{a}	۵۴/۰۰±۰/۱۰^{a}
($\times10^{6}mm^{3}$) RBC	۰/۵۸±۰/۰۵^{d}	۰/۷۱±۰/۰۱^{c}	۰/۹۰±۰/۰۱^{a}	۰/۸±۰/۰۱^{b}
($10^{3}/mm^{3}$) WBC	۱۹/۳۳±۰/۴۲^{b}	۲۰/۰۰±۰/۲۹^{a}	۲۰/۰۴±۰/۵۰^{a}	۱۹/۳۳±۰/۷۲^{a}
(%) MCHC	۱۴/۴۳±۰/۱۵^{b}	۱۴/۵۰±۰/۱۰^{b}	۱۶/۰±۰/۱۰^{a}	۱۵/۶±۰/۲۶^{a}
(fl) MCV	۵۰۴/۷۶±۱۷/۴۹^{c}	۵۴۰/۶۰±۱۱/۲۰^{b}	۵۶۰/۰۰±۱/۰۰^{a}	۵۴۸/۳۰±۱۲/۷۵^{b}
(mg/dl) Cho	۲۷۹/۳±۱/۴۷^{a}	۲۶۴±۱/۲۰^{b}	۱۷۳±۱/۰۸^{c}	۲۵۵/۳±۱/۲۳^{b}
(mg/dl) LDL	۶۸±۰/۷۵^{a}	۵۸/۶۷±۰/۲۰^{b}	۴۲/۲۰±۰/۷۲^{d}	۵۲/۰۰±۰/۶۰^{c}
(mg/dl) HDL	۱۲۴/۰۳±۰/۶۳^{c}	۱۲۴/۶۰±۰/۶۰^{c}	۱۶۴/۳۰±۰/۵۲^{a}	۱۲۷/۷۰±۰/۲۹^{b}
(mg/dl) TG	۳۶۵/۰۰±۱/۸۰^{a}	۳۳۳/۷۰±۱/۴۹^{b}	۲۶۳/۰۰±۱/۱۳^{d}	۳۰۱/۰۰±۱/۷۶^{c}

حروف معنی دار در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می‌باشد (p<۰/۰۵، n=۳).

جدول ۲: میانگین آنزیم‌های کبدی اندازه‌گیری شده در سرم خون بچه ماهیان انگشت قد قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف ریزجلبک نانوکلروپسیس. جیره‌های آزمایشی شامل ۷/۵ :T_1، ۱۵ :T_2 و ۲۲/۵ :T_3 گرم ریزجلبک نانوکلروپسیس در کیلوگرم خوراک.

Table 2: Average of measured liver enzymes in blood serum of rainbow trout fingerlings fed with different levels of *Nannochloropsis oculata* microalgae. Experimental diets including: T1: 7.5, T2: 15 and T3: 22.5 g microalgae per kg of feed.

آنزیم‌های کبدی	شاهد	T1	T2	T3
(U/L) ALP	۱۲۵/۷۰±۰/۵۰^{a}	۸۵/۰۰±۰/۵۲^{b}	۸۱/۰۰±۰/۵۳^{c}	۸۴/۶۷±۰/۴۴^{b}
(U/L) AST	۶۸۷/۷۰±۰/۷۱^{a}	۵۹۳/۵۰±۰/۶۵^{c}	۳۹۰/۴۰±۰/۵۵^{d}	۶۰۵/۵۰±۰/۹۰^{b}
(U/L) ALT	۲۸/۶۳±۰/۳۵^{b}	۲۱/۴۳±۰/۴۹^{c}	۱۲/۹۳±۰/۱۵^{d}	۳۵/۴۳±۰/۱۸^{a}

حروف معنی‌دار در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (n=3, p<0.05).

بحث

نتایج حاصل از آزمایش‌های سرمی خون بچه ماهیان تغذیه شده با مکمل جلبک نانوکلروپسیس افزایش معنی‌داری را در شاخص‌های گلبول قرمز، هماتوکریت و غلظت گلبول قرمز نشان داد. در این تحقیق افزایش گلبول قرمز همراه با افزایش هماتوکریت یکدیگر را تأیید می‌کنند (Salehi-Farsani *et al.*, 2014). علت افزایش هماتوکریت و گلبول قرمز در ماهیان احتمالاً به تحریک ارگان‌های خون ساز در بدن توسط اسیدهای چربی غیر اشباع از نوع امگا ۳ موجود در جلبک نانوکلرپسیس ارتباط دارد (Mohammed *et al.*, 2014). به عبارت دیگر، اسیدهای چرب بلند زنجیره نقش بسزایی در غشاء دو لایه فسفولیپیدی گلبول‌های قرمز (Tichelaar *et al.*, 1997) و افزایش انعطاف پذیری و سیالیت غشای اریتروسیت‌ها دارند (Berlin *et al.*, 1992).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

نتایج این بررسی منطبق با نتایج Khani و همکاران (۲۰۱۷) می باشد و بطوریکه نشان داده شد با افزایش افزودن جلبک کلرلا در جیره غذایی ماهی کوی گلبول قرمز، سفید، هماتوکریت و هموگلوبین افزایش یافت. Yeganeh و همکاران (۲۰۱۵) اثر افزایش جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس را در مقادیر مختلف شامل ۲/۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر تغییرات هماتولوژی و سرم خون بررسی نمودند و بیان کردند افزایش ۱۰ درصدی جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی سبب افزایش گلبول قرمز و هموگلوبین می‌شود. نتایج این مطالعه با منطبق با نتایج گزارش شده می‌باشد. در تحقیق مشابه دیگری Sayed و Fawzy (۲۰۱۴) افزایش گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و کاهش MCH و MCHC را در اثر افزایش ۵ درصد جلبک اسپیرولینا پلازنتا در جیره غذای گربه‌ماهی آفریقایی گزارش کردند که منطبق با تحقیق حاضر است.

نتایج این پژوهش، نشان داد افزایش جلبک نانوکلروپسیس به میزان ۱۵ گرم در کیلوگرم جیره روزانه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند سبب کاهش چربی‌های LDL و افزایش HDL گردد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر مطلوب و مفید جلبک مذکور در جیره بر عملکرد فعالیت کبد در متابولیسم چربی‌ها باشد. LDL کلسترول را از کبد به سلول‌ها حمل می‌کند و در خون منجر به ساخت یا رسوب چربی (پلاک کلسترول) در شریان‌ها می‌گردد. در حالیکه HDL کلسترول را از سلول‌ها به کبد حمل می‌کند و در آنجا شکسته می‌شود و از بدن دفع می‌گردد (Colpo, 2005). دو عامل ژنتیکی و رژیم غذایی تأثیر چشمگیری بر محتویات LDL و HDL جانوران دارد. وجود اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ در جیره غذایی از طریق چندین مکانیسم شامل کاهش سنتز تری‌گلسیریدها و کاهش ترشح کیلومیکرون‌ها از سلول‌های روده‌ای و سرکوب کردن سنتز اسیدهای چرب کبدی سبب خاصیت هیپولیپیدمیک (کاهش چربی بد) در جانوران می‌شوند (Sissener *et al.*, 2018). کاهش کلسترول سرم خون توسط اسیدهای چرب بلند زنجیره از گروه امگا-۳ ممکن است با کاهش عملکرد کلسترین استر حمل کننده پروتئین (پروتئینی که استرهای کلسترین را از کلسترول به لیپوپروتئین‌های سرشار از تری گلیسرید حمل می‌کند) و آنزیم لستین کلسترول اسیل ترانسفراز (آنزیم مهم درگیر در سوخت و ساز کلسترول) مرتبط باشد که به طور فعال با سنتز کلسترول مرتبط هستند (Abbey *et al.*, 1990).

در این بررسی کاهش کلسترول، تری‌گلسیرید، LDL و افزایش HDL در ماهی تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس احتمالاً به علت وجود اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ در جلبک مذکور می‌باشد که این نتایج منطبق با نتایج حاصل از بررسی El-Sheekh و همکاران (۲۰۱۴) می‌باشد که نشان دادند تغذیه موش‌های مبتلا به هیپرلیپیدمیا به مدت ۲۱ روز با مقادیر ۱۰ درصد جلبک اسپیرولینا منجر به افزایش HDL، کاهش LDL و کلسترول می‌شود. Kagan و همکاران (۲۰۱۵) به طور مشابه نشان دادند که تغذیه موش‌های سالم به مدت ۱۵ روز با ۱۰ گرم بر ۱۰۰ گرم غذا جلبک نانوکلروپسیس اوکلاتا سبب بهبود فاکتورهای خونی، کاهش کلسترول و کاهش مرگ و میر در اثر کاهش بیماری می‌شود. همچنین Yeganeh و همکاران (۲۰۱۵) اثر افزودن جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس را در مقادیر مختلف ۲/۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر تغییرات چربی خون بررسی نمودند و بیان کردند افزایش ۱۰ درصدی جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی منجر به افزایش HDL و کاهش LDL می‌شود. نتایج حاصل از افزایش جلبک نانوکلروپسیس در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منطبق با نتایج این تحقیق می‌باشد.

نتایج آنزیم‌های کبدی نشان داد جلبک نانوکلوروپسیس در سطوح مختلف سبب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی نسبت به تیمار شاهد شد که این کاهش در تیمار ۱۵ گرم ریزجلبک نانوکلروپسیس در کیلوگرم خوراک حداقل بود. سنجش آنزیم‌های مذکور نقش کلیدی در بررسی وضعیت سلامت ماهیان دارد (Rehulka *et al.*, 2016). به‌طوری‌که ALP آنزیمی است که در اپیتلیوم مجاری صفراوی سلول‌های کبدی و در مخاط روده و کلیه یافت

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

می‌شود و آنزیم ALT و آنزیم AST در داخل میتوکندری سلول‌ها بویژه سلول‌های کبدی و همچنین در آبشش ماهیان قرار دارند. لذا، هر گونه آسیب خفیف و التهاب یا نکروز موجب آزاد شدن این آنزیم‌ها و بالا رفتن و افزایش سطح آنزیم در سرم می‌گردد (Sheikhzadeh *et al*., 2012). نتایج نشان داد که در ماهیان تغذیه شده کاهش آنزیم‌های ALP، AST و ALT می‌تواند حاکی از سلامت بافت کبدی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان باشد. به طور مشابه Sherif و همکاران (۲۰۱۲) اثر جلبک اسپیرولینا را در مقادیر مختلف بر پارامترهای خونی و رشد ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی نمودند و بهبود رشد و کاهش مرگ و میر و همچنین بهبود کارکرد آنزیم‌های کبدی ALT و AST را در تیمار ۱۰ گرم بر کیلوگرم جیره گزارش نمودند.

بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که اکثر فاکتورهای خونی ماهیان تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس نسبت به جیره پایه بهبود یافته است، بطوریکه کاهش معنی‌دار کلسترول، تری‌گلسیرید، LDL و افزایش HDL در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۵ گرم ریزجلبک نانوکلروپسیس در کیلوگرم خوراک مشاهده شد. همچنین، نتایج آنزیم‌های کبدی نیز در تیمار حاوی ۱۵ گرم ریزجلبک در کیلوگرم خوراک در مقدار حداقل خود بود که نشان از سلامت عملکرد کبد می‌باشد. البته پیشنهاد می‌شود تحقیقات تکمیلی در خصوص اندازه‌گیری فاکتورهای رشد و ایمنی نیز جهت تکمیل و تأیید پارامترهای سرم خون انجام شود.

منابع

سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۶. دفتر برنامه ریزی گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی، سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۷۳ ص.

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. DOI: 10.1161/01.ATV.10.1.85

Babuskin, S., Krishnan, K.R., Babu, S., Azhagu, P., Sivarajan, M. and Sukumar, M., 2014. Functional foods enriched with marine microalga *Nannochloropsis oculata* as a source of ω-3 fatty acids. *Food Technology and Biotechnology*, 52(3): 292-299. DOI: 10.1294/01-10.32014

Barona, J. and Fernandez, M.L., 2012. Dietary cholesterol affects plasma lipid levels, the intravascular processing of lipoproteins and reverse cholesterol transport without increasing the risk for heart disease. *Journal of American Sciences*, 4: 1015-1025. DOI: 10.3390/nu4081015

Berlin, E., Bhathena, S. J., Judd, J.T., Nair, P.P., Peters, R.C., Bhagavan, H.N. and Taylor, P.R., 1992. Effects of omega-3 fatty acid and vitamin E supplementation on erythrocyte membrane fluidity, tocopherols, insulin binding, and lipid composition in adult men. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 3(8): 392-400. DOI: 10.1016/0955-2863(92)90013-9

Colpo, A., 2005. LDL Cholesterol: "Bad" cholesterol, or bad science. *Journal of American Physicians and Surgeons*, 10(3):83-89.

El-Sheekh, M.M., Hamad, S.M. and Gomaa, M., 2014. Protective Effects of *Spirulina* on the liver function and hyperlipidemia of rats and human. *Journal of Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(1):77-88. DOI: 10.1590/S1516-89132014000100012.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

FAO, 2018. Fisheries and aquaculture statistics. Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 80P.

Feldman, B.f., zink, J.G. and Jian, N.C., 2000. Schalms veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins Publication, Canada, 1232P.

Guillard, R.R. and Ryther, J.H., 1962. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana Hustedt*, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 8(2): 229-239.

Hardy, R.W., 2002. Rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. In: Webster, C.D. and Lim, C. (eds). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International Publishing, New York, USA, pp. 184–202.

Kagan, M.L. and Matulka, R.A., 2015. Safety assessment of the microalgae *Nanno- chloropsis oculata. Toxicology* Reports, 2:617-623. DOI: 10.1016/j.toxrep.2015.03.008

Kagan, M.L., Levy, A. and Leikin-Frenkel, A., 2015. Comparative study of tissue deposition of omega-3 fatty acids from polar-lipid rich oil of the microalgae *Nannochloropsis oculata* with krill oil in rats Food Funct. *Food and Function*, 6:185-191. DOI: 10.1039/C4FO00591K

Khani, M., Soltani, M., Shamsaie Mehrjan, M., Foroudi, F. and Ghaeni, M., 2017. The effects of *Chlorella vulgaris* supplementation on growth performance, blood characteristics, and digestive enzymes in Koi (*Cyprinus carpio*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(2):832-843.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandera, N., 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8):118–126. DOI: 10.4103/0973-7847.70902

Lubian, L.M. and Montero, O., 2000. *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae) as source of commercially valuable pigments. *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5): 249-255. DOI: 10.1023/A:1008170915932

Mohammed, B., Elzubeir, A.M. and Elmahdi, T., 2014. Assessment the Effect of Omega-3 Fatty Acid Supplementation in Sudanese patients with Sickle Cell Anemia; Khartoum, Sudan. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, 7:133-138.

Patil, V., Reitan, K. and Knutsen, G., 2005. Microalgae as source of polyunsaturated fatty acids for aquaculture. Current Topics in Plant Biology, 6: 57-64.

Priyadarshani, I. and Rath, B., 2012. Commercial and industrial applications of micro algae. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4):89-100.

Rehulka, J., Minarík, B. and Machala, M., 2016. Effects of exposure to three environmental chemicals on the selected biochemical parameters of the blood plasma of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Acta Musei Silesiae, Scientiae*

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

Naturales, 65(1): 15-32. DOI: 10.1515/cszma-2016-0002

Salehi-Farsani A., Soltani M., Kamali A. and Shamsaie, M., 2014. Effect of immune motivator Macrogard and *Spirulina platensison* some growth, carcass and biochemical indices of stellate sturgeon *Acipenser stellatus*. *International Journal of the Bioflux Society*, 7(3): 137-147.

Sayed, A.H. and Fawzy, M.A., 2014. Effect of dietary supplementation of *Spirulina platensis* on the growth and haematology of the Catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Advances Biology*, 5(2):625-635.

Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Oushani, A.K. and Enferadi, M.H.N., 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(2): 413-419. DOI: 10.1007/s10695-011-9519-7

Sherif, A.H., EL-Sheekh, M.M. and Soad, S., 2012. Effect of *Spirulina* algae on the health status and growth performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured at Kafr El-Sheikh governorate. *Journal of the Egypt Basic and Applied Physiology*, 11(1):57-68.

Sirakov, I., Velichkova, K. and Nikolov, G., 2012. The effect of algae meal (*Spirulina*) on the growth performance and carcass parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Biological Sciences Biotechnology*, 151-156.

Sissener, N.H., Rosenlund, G., Stubhaug, I. and Liland, N.S., 2018. Tissue sterol composition in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) depends on the dietary cholesterol content and on the dietary phytosterol: cholesterol ratio, but not on the dietary phytosterol content. *British Journal of Nutrition*, 119(6): 599-609. DOI: 10.1017/S0007114517003853

Tichelaar, H.Y., Smuts, C.M., Gross, R., Jooste, P.L., Faber, M. and Benadé, A.J.S., 1997. The effect of dietary iron deficiency on the fatty acid composition of plasma and erythrocyte membrane phospholipids in the rat. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 56(3): 229-233.

Yeganeh, S., Teimouri, M. and Amirkolaie, A.K., 2015. Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science*, 101:84-88. DOI: 10.1016/j.rvsc.2015.06.002.

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-21]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1397.27.6.11.5]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.118400]

Effect of dietary supplementation of *Nannochloropsis oculata* powder on some hematological indices of rainbow trout fingerling

Naraghi M.[1]; Shamsaie Mehrgan M.[1*]; Rajabi Islami H.[1]; Hosseini Shekarabi S.P.[1]

[*]m.shamsaie@srbiau.ac.ir

1-Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

This study was designed to evaluate the effect of *Nannochloropsis oculata* microalgae supplementation on 120 rainbow trout fingerling (initial weight of 2±0.3 g). Fish were randomly distributed into four groups and stocked into 12 aquaria (20 liter) in triplicates. Four experimental diets contained 0 (control), 7.5 (T_1), 15 (T_2), and 22.5 (T_3) g of the algae powder per kg of feed for 3 months. Lipid, liver enzymes, and some hematological properties of blood (i.e. WBC, RBC, HCT, MCV, HB, and MCHC) were measured at the end of the trial. Results showed that leucocyte population was not significantly different in all treatments ($p>0.05$). However, the highest erythrocyte counts and hematocrit index were obtained in T_2 ($p<0.05$). Also, the highest and lowest cholesterol content were recorded in control (279.3±1.47 mg/dl) and T_2 (173.3±1.47 mg/dl), respectively ($p<0.05$). Results indicated that supplemented diet with 15 g algae per kg of feed can significantly reduce the liver enzymes i.e. aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and alanine aminotransferase ($p<0.05$). The highest low-density lipoprotein was obtained in control group (68.00±0.75 mg/dl) and the lowest value was observed in T_2 (25.200±0.72 mg/dl) ($p<0.05$). Therefore, dietary supplementation of the fish diet with *N. oculata* at 15 g/kg of feed probably improved the blood indices and liver function.

Keywords: Rainbow trout, *Nannochloropsis,* Blood biochemistry indices, Liver enzymes

[*]Corresponding author