مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

اثر عصاره جلبک قرمز گراسیلاریا (*Gracillaria arcuata*) بر عملکرد آنزیم‌های شاخص کبد و گوارش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*)

پریا اکبری*، زبیده سهراب زایی

گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۱/۱۵
اصلاح: ۹۸/۰۳/۰۴
پذیرش: ۹۸/۰۴/۰۵

کلمات کلیدی:
آنتی اکسیدان
آنزیم‌های کبدی
جلبک قرمز
کفال خاکستری

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تجویز خوراکی عصاره جلبک قرمز گراسیلاریا (*Gracilaria arcuata*) بر عملکرد آنزیم‌های شاخص کبد (آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و گوارش (آمیلاز، پروتئاز و لیپاز) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، آنتی‌اکسیدان کل، مالون دی الدئید، کاتالاز و گلوتاتیون احیاء) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) است. در این آزمایش ماهی‌ها با میانگین وزنی ۲/۰۱± ۱۴/۹۵ (میانگین± خطای معیار) گرم، به مدت ۶۰ روز با جیره تجاری (تیمار شاهد)، جیره حاوی ۰/۵ گرم عصاره جلبک بر کیلوگرم غذا (تیمار۲)، جیره حاوی ۱ گرم عصاره جلبک بر کیلوگرم غذا (تیمار۳) و جیره حاوی ۱/۵ گرم عصاره جلبک بر کیلوگرم غذا (تیمار۴) تغذیه شدند. بین تیمارهای آزمایشی و گروه کنترل از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). کمترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و مالون دی آلدئید و بیشترین میزان آمیلاز، پروتئاز و گلوتاتیون احیاء در تیمار حاوی ۱/۵ گرم عصاره جلبک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد ($P<0/05$). تیمارهای حاوی سطوح مختلف عصاره جلبک افزایش معنی‌داری را از نظر فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، سوپر اکسیداز دیسموتاز، آنتی‌اکسیدان کل و گلوتاتیون احیاء شده در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند ($P<0/05$). از این رو، تجویز خوراکی ۱/۵ گرم عصاره گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا ممکن است عملکرد آنزیم‌های شاخص کبد و گوارش و کارایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی کفال خاکستری را بهبود بخشد.

مقدمــه

در حال حاضر آبزی‌پروری نیمی از تولیدات آبزیان جهان را به خود اختصاص می‌دهد و انتظار می‌رود که تا سال ۲۰۳۰ بیش از ۶۰ درصد از ماهی‌های مورد استفاده برای مصرف مستقیم انسان را تولید نماید (FAO, 2014). با افزایش روزافزون جمعیت، تولید آبزی‌پروری باید کل افزایش تقاضای محصولات شیلاتی را در آینده تأمین نماید چرا که صید ماهیان از دریا با روند کاهشی رو به‌رو می‌باشد (Davis, 2015). به دلیل محدودیت منابع آب و زمین تمایل شدید برای سیستم‌های پرورش متراکم

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Paria.akbary@gmail.com

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

در حال گسترش است و در تولید به روش متراکم، حدود ۵۰ درصد از هزینه‌های پرورش صرف تأمین غذای آبزیان می‌شود (Morshedi *et al*., 2017; Southgate and Lucas, 2012).

علاوه بر این، مشخص شده است که تغذیه نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها ایفاء می‌کند. در نتیجه، کیفیت غذا و مدیریت تغذیه بسیار حساس و حائز اهمیت است (Akbary and Aminikhoei, 2018).

استفاده از جلبک‌های دریایی در آبزی‌پروری به علت داشتن مواد مغذی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای چرب ضروری (امگا۳ و۶)، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها و بتاکاروتن روبه گسترش است (Rajapakse and Kim, 2011). استفاده از آن‌ها در رژیم غذایی آبزیان نه تنها هزینه تغذیه را کاهش می‌دهد بلکه منجر به بهبود کارایی تغذیه آبزیان، هضم و تقویت سیستم ایمنی ماهیان می‌گردد (Tabarsa *et al*., 2012) و با بهبود کارایی هضم، کیفیت آب را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Banerjee *et al*., 2010).

مطالعات متعددی در زمینه اهمیت جلبک‌های ماکروسکوپی به‌عنوان منابع پروتئینی در جیره غذایی آبزیان و اثر آن بر آنزیم‌های گوارشی (Debashi, 2017; Mollazaei, 2017; Morshedi *et al*., 2017; Peixoto *et al*., 2016)، فعالیت آنزیم‌های کبدی (Choi *et al*., 2015; Khalafalla and El- Hais, 2015; Madibana *et al*., 2017; Zeinab *et al*., 2015) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Akbary and Aminikhoei, 2018; Peixoto *et al*., 2016) در گونه‌های مختلف آبزیان صورت گرفته است. به عنوان مثال، Morshedi و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند که استفاده از ۹ درصد جلبک گراسیلاریا (*G. puluvinata*) در جیره غذایی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود. Choi و همکاران (۲۰۱۵) بیان نمودند که استفاده از ۲۰ گرم عصاره جلبک قرمز *Pypropia yezeansis* بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی کفشک ماهی زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد. Khalafalla و El- Hais (۲۰۱۵) گزارش کردند که استفاده از سطوح مختلف (۲/۵ و ۵ درصد) جلبک سبز الوا (*Ulvae lactuca*) و جلبک قرمز *Pterocladia capillacea* تفاوت معنی‌داری در میزان آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز کبدی در مقایسه با تیمار شاهد در ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) ایجاد نمی‌کند. Akbary و Aminikhoei (۲۰۱۸) گزارش کردند که بیشترین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، فعالیت آنتی‌اکسیدان و گلوتاتیون احیاء شده در تیمار حاوی ۱۰ میلی‌گرم عصاره جلبک الوا (*U. rigida*) در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری بر کیلوگرم غذا مشاهده شد.

جلبک قرمز گراسیلاریا با نام علمی *Gracilaria arcuata* از خانواده Gracilariacea و از رده Radophyta، همه ساله در ناحیه پایین جزر و مدی سواحل دریای چابهار دیده می‌شود (Mahdi Abkenar, 2006) علی‌رغم ارزش غذایی بالای این جلبک مطالعات کمی در زمینه استفاده از آن در رژیم غذایی ماهیان وجود دارد. با توجه به اهمیت کفال ماهیان خاکستری (*Mugil cephalus*) به‌عنوان یکی از ذخایر مهم شیلاتی و قدرت سازگاری به محدوده وسیعی از دما، شوری و شرایط تغذیه‌ای (Porfaraj *et al*., 2013)، این تحقیق به‌منظور بررسی اثر عصاره جلبک گراسیلاریا به عنوان مکمل غذایی بر عملکرد آنزیم‌های شاخص کبد و گوارش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ماهی کفال خاکستری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

۱۲۰ قطعه ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی ۲/۰۱±۱۴/۹۵ گرم و میانگین طولی ۰/۰۶±۲۱/۱۰ سانتی‌متر، در بهمن ماه ۱۳۹۵، از سواحل چابهار به کمک صیاد به روش پره ساحلی، صید و به کارگاه مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار انتقال داده شد. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی (دمای آب ۰/۵±۲۸/۲ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۰/۸۷± ۷/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر، اسیدیته آب ۰/۴±۷/۸ و طول دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی۱۲ ساعت تاریکی) سازگار شدند. در طی دوره سازگاری ماهی‌ها با جیره تجاری (ساخت شرکت ۲۱ بیضاء شیراز، حاوی ۵۱/۶ درصد

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

پروتئین، ۱۱/۹ درصد چربی، ۱۲/۱ درصد خاکستر و ۶/۳ درصد رطوبت) به‌صورت دو بار در روز (۸ صبح و ۱۶ عصر) و معادل ۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند. هر ۱۵ روز یک‌بار با محاسبه زیست‌توده کل هر مخزن مقدار غذای مورد نیاز هر تیمار محاسبه شد و به صورت روزانه ۳۰ درصد آب هر مخزن تعویض گردید (Biswas *et al*., 2006).

تهیه جلبک قرمز گراسیلاریا و آماده‌سازی عصاره

در هنگام جذر، جلبک گراسیلاریا از سواحل تیس واقع در ۵ کیلومتری بندر چابهار جمع‌آوری شد و پس از تائید با کلید شناسایی مرکز تحقیقات شیلات و شست وشو با آب شیرین، در مجاورت سایه خشک و سپس پودر گردید. سپس ۵۰ گرم از پودر حاصل در فیلتر استوانه‌ای دستگاه سوکسله با ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول ریخته شد. ۱۲ ساعت پس از خروج کامل مواد مؤثره از درون سلول‌های جلبک، محتویات فلاسک در دستگاه دسیکاتور در شرایط خلأ کاملاً خشک و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Harikrishnman *et al*., 2003).

طرح آزمایش

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تیمار آزمایشی صورت گرفت. گروه‌ها شامل تیمار شاهد (که طی آن تغذیه تنها با غذای کنسانتره صورت گرفت) و تیمارهای ۲، ۳و ۴ (که به ترتیب حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا بودند) تعریف شد. ماهیان به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند (Choi *et al*., 2015). پس از توزین غذای کنسانتره مورد نظر هر تیمار در کل دوره آزمایش، ابتدا غذای تجاری به کمک میکسر به شکل پودر درآمد. سپس عصاره جلبک به همراه ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و مخلوط شد تا کاملاً به حالت خمیری درآمد. خمیر به دست آمده از چرخ گوشت با اندازه چشمه ۱/۴ میلی‌متری عبور داده شد و به شکل پلت در مجاورت هوا خشک و تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Choi *et al*., 2015).

نمونه‌برداری

به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در پایان روز ۶۰، ۶ ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی (پس از ۲۴ ساعت قطع غذا) صید و با استفاده از پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر) بی‌هوش شدند (Alishahi *et al*., 2013). ماهیان پس از آسان کشی، در مجاورت یخ کالبد شکافی و روده و کبد آن‌ها با دقت خارج شد. سپس با سرم فیزیولوژی شسته شده و با هموژنایزر به مدت ۲ دقیقه در محلول بافر فسفات سرد با اسیدیته ۷ (۱:۱۰ حجم / وزن) هموژن گردیدند. بافت هموژن حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول رویی حاصل از هر نمونه جهت اندازه‌گیری شاخص‌های گوارشی (روده) و کبد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کبد) جمع‌آوری و تا زمان انجام آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Atli and Canli, 2010).

سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CA-400، شرکت Furuno ژاپن) برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش Natalia و همکاران (۲۰۰۴) در طول موج ۵۱۰ نانومتر، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز به روش King (۱۹۷۲) طول موج ۴۲۰ نانومتر و میزان فعالیت آنزیم لیپاز به‌روش Furne و همکاران (۲۰۰۵) در طول موج ۴۶۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین بافت با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های کبدی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

فعالیت آنزیم‌های شاخص کبدی از قبیل آسپارتات آمینوترانسفراز (ASP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP)، (Thomas, 1998)، با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CA-400، شرکت Furuno ژاپن) انجام شد. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین بافت با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

سنجش فعالیت آنزیم‌های مالانون دی آلدئید (MDA) بر اساس روش Bradford (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۳ نانومتر، گلوتاتیون احیا شده (GSH) بر اساس روش Ellman (۱۹۵۹) در طول موج ۴۱۲ نانومتر، کاتالاز (CAT) بر اساس روش Koroluk و همکاران (۱۹۸۸) در طول موج ۴۰۵ نانومتر، ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل (TAC) بر اساس روش Benzie وStrain (۱۹۹۶) در طول موج ۴۹۰ نانومترو سوپر اکسیداز دیسموتاز (SOD) با استفاده از روش Winterbourn (۱۹۷۵) در طول موج ۳۴۰ نانومتر، با استفاده از کیت شرکت ZellBio GmbH Ulm کشور آلمان و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰ ساخت یونیکو امریکا) صورت گرفت. اندازه‌گیری پروتئین تام عصاره بافتی بر اساس روش بیوره در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از کیت پارس آزمون تهران محاسبه و استاندارد پروتئین تام نیز به‌صورت جداگانه تهیه شد. (Johnson *et al*., 1999). فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر میکرومول بر گرم پروتئین بافت با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شدند.

آنالیز آماری

نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون کالموگراف اسمیرنف مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) و با استفاده از نرم افزار SPSS19 انجام شد برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. داده‌های آماری به صورت میانگین± خطای استاندارد گزارش شد.

نتایـج

فعالیت آنزیم‌های کبدی

تغییرات میانگین (± خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز کبد ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. کمترین میزان آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با تیمار ۱ و ۲ نشان داد ($P<۰/۰۵$). در حالی‌که کمترین میزان آلکالین فسفاتاز در تیمار ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱. تغییرات میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)

میزان فعالیت آنزیم‌ها	تیمار			
(واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۱	۲	۳	۴
آسپارتات آمینوترانسفراز (ASP)	۱۰۳/۳۳±۲/۸۸^{a}	۹۸/۲۵±۲/۰۸^{a}	۸۵±۴/۳۵^{b}	۷۷±۱^{b}
آلانین آمینو ترانسفراز (ALT)	۸۰/۲۳±۰/۵۸^{a}	۷۷/۱۳±۲/۰۸^{b}	۷۰/۵۶±۲/۱۵^{c}	۶۷±۲^{d}
آلکالین فسفاتاز (ALP)	۵۷/۱۳±۱/۱۵^{a}	۵۵±۱^{b}	۴۹/۲۶±۱/۵۷^{c}	۴۴±۱/۲۴^{d}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$). تیمار ۱ تا ۴ به ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا است.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز روده ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با رژیم‌های غذایی مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰) در جدول ۲ ارائه شده است. اضافه نمودن عصاره جلبک گراسیلاریا به جیره غذایی با سطوح مختلف منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پروتئاز و آمیلاز و لیپاز در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز و لیپاز در ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ۲. تغییرات میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)

فعالیت آنزیم‌ها	تیمار			
(واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۱	۲	۳	۴
لیپاز	۴۷/۵۶±۲/۵۱^{c}	۵۰/۶۶±۰/۵۷^{c}	۶۳/۳۴±۵/۰۳^{b}	۷۲±۳^{a}
پروتئاز	۷۷/۳۶±۱/۵۲^{c}	۸۰±۲^{c}	۸۴/۲۳±۱/۵۱^{b}	۸۹±۱^{a}
آمیلاز	۸۵±۱/۰۲^{d}	۸۷/۵۶±۰/۵۷^{c}	۹۲/۳۳±۲/۰۳^{b}	۹۵±۷/۰۵^{a}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). تیمار۱ تا ۴ به ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا است.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تغییرات میانگین (± خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، مالون دی آلدئید و کاتالاز ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های مالون دی‌الدئید و گلوتاتیون احیاء در تیمار ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) و بین تیمارها از نظر این دو آنزیم مذکور اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار ۱ و۲ نشان دادند (P>۰/۰۵).

جدول ۱. مقایسه میانگین (میانگین± خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی	تیمار			
(میکرومول بر گرم پروتئین)	۱	۲	۳	۴
آنتی‌اکسیدان کل (TAC)	۵/۶۵±۰/۳۹^{c}	۷/۵۴±۰/۱۸^{b}	۸/۵۷±۰/۱۱^{a}	۸/۸۳±۰/۱۲^{a}
سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)	۲/۴۹±۰/۲۷^{c}	۳/۹۶±۰/۱۸^{b}	۴/۹۱±۰/۴^{a}	۵/۰۱±۰/۳۳^{a}
گلوتاتیون احیاء (GSH)	۱/۵۲±۰/۰۳^{d}	۲/۳۰±۰/۰۵^{c}	۲/۶۱±۰/۰۸^{b}	۳/۵۳±۰/۰۶^{a}
مالون دی آلدئید (MDA)	۵۳/۸۴±۲/۴۴^{a}	۴۵/۴۸±۳/۹۹^{b}	۳۶/۳۹±۰/۷۶^{c}	۲۴/۳۲±۰/۹۶^{d}
کاتالاز (CAT)	۵۷/۲۳±۲/۴۲^{a}	۵۸/۱۵±۴/۳۳^{a}	۵۴±۱/۵۲^{a}	۵۵±۱/۵۲^{a}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵) تیمار ۱ تا ۴ به ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره جلبک گرسیلاریا بر کیلوگرم غذا است.

بحث

اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های خاص را نشان می‌دهد. تحت شـرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبدی آسـیب مـی‌بینـد ایـن آنـزیم‌هـا وارد جریـان خـون

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

می‌شوند. حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های کبدی آمینوترانسفرازها هستند (Zeinab *et al*., 2015). سنجش آنزیم‌های کبدی از جمله آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (ASP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) برای بررسی وضعیت تغذیه‌ای، سیستم عروق و عملکرد کبد در ماهی‌ها از ارزش تشخیصی قابل توجهی برخوردار است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در تیمارهای حاوی ۱ و ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ALP، ASP وALT در مقایسه با تیمار شاهد شدند که تحقیقات مشابه بر روی جلبک‌های دیگر نیز نشان داد که وجود ترکیبات آنتی‌کسیدانی نظیر بتاکاروتن، مواد معدنی، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها در جلبک می‌توانند احتمالاً منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کبد و حفاظت از عملکرد کبد گردند (Mansuya *et al*., 2010; Upasani and Balaraman, 2003). Zeinab و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف (۲، ۴و ۶ گرم بر کیلوگرم غذا) جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) منجر به کاهش معنی‌دار آنزیم‌های آمینوترانسفراز شد. هم‌چنین Madibana و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از جلبک الوا در جیره غذایی ماهی *Agrosomus japonicas* منجر به افزایش معنی‌دار سطوح آنزیم‌های آمینوترانسفراز و کاهش معنی‌دار میزان آلکالین فسفاتاز شد که تنها از نظر آلکالین فسفاتاز با تحقیق حاضر همخوانی داشت. می‌توان گفت حضور ترکیبات زیست فعالی مانند فنول‌ها و استرول‌ها در جلبک قرمز احتمالاً نقش حفاظتی کبد و تعدیل آنزیم‌های کبدی را داشته و منجر به سرکوب استرس اکسیداتیو می‌شوند (Ragaza *et al*., 2015). Khalafalla و El- Hais (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف (۲/۵ و ۵ درصد) جلبک سبز الوا (*U. lactuca*) و جلبک قرمز *Pterocladia capillacea* تفاوت معنی‌داری در میزان آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز کبدی در مقایسه با تیمار شاهد در ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) ایجاد نکرد که با تحقیق حاضر همخوانی نداشت می‌توان دلیل این تفاوت را به اختلاف در گونه ماهی مرتبط دانست.

در این تحقیق، افزایش معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنزیم آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در تیمارهای حاوی ۱و ۱/۵ گرم عصاره گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد که به‌طور مشابه افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی توسط جلبک‌های مختلف در چندین تحقیق گزارش شده است (Shi *et al*., 2016; Xu *et al*., 2014). Debashi (۲۰۱۷) نشان داد که استفاده از ۱۰ و ۱۵ گرم عصاره جانیا (*Jania adhaerens*) بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری منجر به افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین Mollazaei (۲۰۱۷) نشان داد که استفاده از ۱۰ گرم عصاره جلبک الوا (*Ulvae rigida*) منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی کفال خاکستری شد که با تحقیق حاضر همخوانی داشت. Peixoto و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از مکمل غذایی حاوی الوا، گراسیلاریا و فوکوس تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی سی باس اروپایی ایجاد نکرد. همچنین Morshedi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند استفاده از ۹ درصد جلبک گراسیلاریا (*G. puluvinata*) در جیره غذایی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج این تحقیق همخوانی نداشت . می‌توان دلیل این تفاوت را ناشی از گونه ماهی و شرایط پرورشیدانست (Peixoto *et al*., 2016). استفاده از غلظت بهینه جلبک دریایی در جیره غذایی هر گونه ماهی حائز اهمیت است؛ زیرا با افزایش فیبر ناشی از غلظت بالای جلبک در جیره غذایی، سرعت عبور مواد غذایی از لوله گوارش تسریع می شود، در نتیجه کاهش زمان دسترسی مواد غذایی برای هضم، تأثیر منفی در فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌گذارد (Oliveira *et al*., 2009). همچنین وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در جلبک‌های دریایی نظیر پکتین و مهارکننده‌های پروتئاز در هضم و کارایی مصرف غذا نیز می‌توانند تأثیر منفی داشته باشند (Francis *et al*., 2001). لذا تحقیق در ارتباط با رسیدن به غلظت بهینه برای انواع گونه‌های جلبک دریایی در رژیم غذایی هر گونه ماهی ضروری است و توصیه می‌گردد.

فرآیند پراکسیداسیون لیپید می‌تواند پروتئین یا کلسترول‌های متصل به غشاء سلولی را تحت تأثیر قرار دهد (Carney Almroth *et al*., 2010)؛ به خصوص در ماهیان که در مقایسه با سایر مهره‌داران دارای مقادیر بالاتری از اسیدهای چرب چند زنجیره‌ی غیراشباع (PUFA) در غشای سلولی هستند (Wilhelm Filho, 2007). غلظت مالون دی آلدئید شاخص

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

مناسبی جهت سنجش استرس اکسیداتیو (عدم تعادل بین دفاع آنتی‌اکسیدانی و تولید رادیکال‌های آزاد) به شمار می‌رود؛ چراکه بیانگر سطوح پراکسیداسیون لیپید می‌باشد (Mourente *et al*., 1999) و از سمیت بالایی برای سلول‌ها، به دلیل واکنش با عامل تیول و آمین موجود در ساختار پپتیدها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک برخوردار است (Oropesa *et al*., 2009). نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که با اضافه نمودن سطوح مختلف عصاره جلبک گراسیلاریا به جیره غذایی کاهش معنی‌داری از نظر میزان فعالیت مالون دی آلدئید در مقایسه با تیمار شاهد اتفاق می‌افتد. می‌توان گفت که حضور ترکیبات زیست فعال موجود در عصاره جلبک گراسیلاریا مانند ویتامین C و E (Abdalla and Shebly, 2004) و فوکوسترول‌ها (Lee *et al*., 2003) ممکن است خاصیت از بین برندگی رادیکال‌های آزاد را داشته و از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نمایند. این در حالی است که Mehrpak و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تجویز ویتامین C موجب کاهش سطح مالون دی آلدئید در هپاتوسیت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در معرض کلراید کادمیوم شد. همچنین Lee و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که فوکوسترول موجود در جلبک ماکروسکوپی *Pelvetia siliquosa* منجر به کاهش معنی‌دار مالون دی آلدئید در موش گردید. کاتالاز نقش مهمی در تبدیل پراکسیدهیدروژن به آب و مولکول اکسیژن دارد. در این تحقیق، استفاده از سطوح مختلف جلبک گراسیلاریا در جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان کاتالاز در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد نکرد که با تحقیق صورت گرفته توسط Peixoto و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی داشت. آن‌ها نشان دادند که استفاده از مکمل غذایی حاوی الوا (*Ulvae* spp.)، گراسیلاریا (*Gracilaria* spp.) و فوکوس (*Fucus* spp.) تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت کاتالاز در ماهی سی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) ایجاد نکرد. ولی میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در تیمار حاوی ۵ درصد گراسیلاریا افزایش معنی‌داری را نشان داد. می توان گفت که گلوتاتیون نقش مهمی در کاهش پراکسید هیدروژن و احیای لیپید پراکسیدها دارد لذا در تحقیقات متعدد فعالیت بالای گلوتاتیون لیپید در ماهی‌ها گزارش شده است (Regoli *et al*., 2005; Rodriguez Ariza *et al*., 1993). لذا می‌توان گفت که پراکسیدهای هیدروژن تولید شده از فعالیت بالای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در این تحقیق در تیمارهای حاوی عصاره جلبک گراسیلاریا، می‌توانند توسط فعالیت بالای گلوتاتیون احیاء کاهش یابند. زیرا آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نقش مهمی در تبدیل آنیون سوپراکسید به آب و هیدروژن پراکسید داشته و در نتیجه افزایش فعالیت این آنزیم تولید پراکسید هیدروژن را افزایش می‌دهد که می‌تواند دلیلی بر افزایش فعالیت گلوتاتیون احیا در این تحقیق باشد (Bayir *et al*., 2011). با توجه به این موضوع که افزایش سطح آنتی‌اکسیدان کل سلول نمایانگر نقش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده در بدن می‌باشد (Ramasamy *et al*., 2014)؛ لذا افزایش سطح آنتی‌اکسیدان کل در این تحقیق در تیمارهای حاوی سطوح مختلف عصاره جلبک گراسیلاریا گویای این موضوع است که ترکیبات زیست فعال آنتی‌اکسیدانی این عصاره می‌توانند احتمالاً منجر به افزایش آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی سلول‌های کبد ماهی شده و از پراکسیداسیون لیپیدی اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در ساختار غشای سلولی و اختلال در فرآیند فیزیولوژیکی سلول‌ها جلوگیری نمایند. مشابه این تحقیق توسط Akbary و Aminikhoei (۲۰۱۸) گزارش شده است. این در حالی است که تجویز خوراکی عصاره جلبک الوا (*U. rigida*) در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون احیاء شد. بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدان کل در تیمار حاوی ۱۰ میلی‌گرم عصاره جلبک بر کیلوگرم غذا ثبت و کمترین میزان فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید در تیمار حاوی ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم عصاره بر کیلوگرم غذا مشاهده شد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، می‌توان گفت که تجویز خوراکی عصاره جلبک قرمز گراسیلاریا در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری ممکن است با بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارشی، کبدی و کارایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش قابلیت هضم مواد مغذی انرژی‌زا و حفاظت کبد با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آمینوترانسفرازها گردد. لذا استفاده از غلظت بهینه ۱/۵ گرم عصاره جلبک گراسیلاریا بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهیان پرورشی کفال خاکستری پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار، کارشناس محترم آزمایشگاه تخصصی آسیب شناسی و پاتوبیولوژی صدف و شرکت میزان سنجش پاسارگاد تهران تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابـع

Abdalla, A., El – Shebly, A. 2004. The Role of Antioxidant (Vitamin E) in the Control of Lead (Pb) Pollution and Enhancement of Growth Within NileTilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine. 7(3): 20-26.

Akbary, P., Aminikhoei, Z. 2018. Effect of water-soluble polysaccharide extract from the green alga *Ulva rigida* on growth performance, antioxidant enzyme activity, and immune stimulation of grey mullet *Mugil cephalus*.Journal of Applied Phycology. 30: 1345-1353.

Alishahi, M., Cheshmeh, B., M., Peyghan, R., Ghorbanpour, M., Mohammadian, T. 2013. The effect anesthesia with MS222, clove oil and phenoxy ethanol on some immune indexes in common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Wetland Ecobiology. 5(18): 23-32.

Atli, G., Canli, M. 2010. Response of antioxidante systemof freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. Ecotoxicology and Environmental Safety. 73: 1884-1889.

Banerjee, K., Mitra, A., Mondal, K. 2010. Cost-effective and eco-friendly shrimp feed from red seaweed *Catenella repens* (Gigartinales Rhodophyta). Current Biotechnology. 4: 23-43.

Bayir, A., Sirkecioglu, A.N., Bayir, M., Aras, N.M., Haliloglu, H.I., Kocaman, E.M., Aras, M.N. 2011. Metabolic responses toprolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta* :Oxidative stress and antioxidant defenses . Comparative Biochemistry and Physiology. 159: 191-196.

Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239: 70-76.

Biswas, G., Jena, J.K., Singh, S.K., Patmajhi, P., Muduli, H.K. 2006. Effect of feeding Philasterides dicentrarchi infection. Journal of Aquatic Animal Health. 22: 235-243.

Bradford, M.M.1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

Carney Almroth, B., Johansson, A., Förlin, L., Sturve, J. 2010. Early-age changes in oxidative stress in brown trout, *Salmo trutta*. Comparative Biochemistry and Physiology. 155: 442-448.

Choi, Y.H.; Lee, B.J. and Nam, T.J. 2015. Effect of dietary inclusion of *Pyropia yezoensis* extract on biochemical and immune responses of olive flounder *Paralichthys olivaceus.* Aquaculture. 435: 347-353.

Davis, D.A. 2015. Feed and feeding practices in aquaculture. Wood head Publishing, Cambridge. 420 p.

Debashi, F. 2017. Effect of red seaweed, *Jania adhaerens* extract on the growth performance, feed utilization, body composition and digestive enzymatic activities of grey mullet *Mugil cephalus*. M.Sc thesis. Marine Sciences Department, Chabahar Maritime University. 60 p. (in Persion)

Ellman, G.L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Archive of Biochemistry and Biophysics. 82: 70-77.

Khalafalla, M.M., El-Hais, A.M.A. 2015. Evaluation of Seaweeds *Ulva rigida* and Pterocladia capillaceaas Dietary Supplements in Nile Tilapia Fingerlings. Journal of Aquaculture Research & Development. 6(3): 1-5.

FAO. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014 (SOFIA). Rome.123 p.

Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture. 199: 197-227.

Furne, M., Hidalgo, M.C., López, A., García-Gallego, M., Morales, A.E., Domenzain, A., Domezain, J., Sanz, A. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. Aquaculture. 250(1-2): 391-398.

Harikrishnan, R., Nisha, M.R., Balasundaram, C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture. 221: 41-50.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. 1999. Proteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., editors. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 540 p.

King, J. 1972. Practical clinical enzymology. 2nd edition. London: the University of Michigan Press. 286 p.

Koroluk, M.A., Ivanova, L.I., Maiorova, I.G., Tokarev, V.E. 1988. A method for measuring catalase activity. Laboratornoe delo-Laboratory Practice. 1: 16-19.

Lee, S., Lee, Y.S., Jung, S.H., Kang, S.S., Shin, K.H. 2003. Anti-oxidant activities of fucosterol from the marine algae *Pelvetia siliquosa*. Archive Pharmacy Research. 26: 719-722.

Madibana, M.J., Mlambo, V., Lewis, B., Fouché, C. 2017. Effect of graded levels of dietary seaweed (*Ulva* sp.) on grow hematological and serum biochemical parameters in dusky *Argyrosomus japonicus*, sciaenidae. Egyptian Journal of Aquatic Research. 107: 1-5.

Mahdi Abkenari, A. 2006. Culture of red seaweed (*Gracillaria corticata*) in earthen ponds. Chabahar South east Iran. Iranian Scientific Fisheries Journal. 15(4): 135-140.

Mehrpak, M., Banaee, M., Nematdoost Haghi, B., Noori, A. 2015. Protective effects of vitamin C and chitosan against cadmium-induced oxidative stress in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Toxicology. 9(30): 1360-1367.

Mansuya, P., Aruna, P., Sridhar, S., Kumar, J.S., Babu, S. 2010. Antibacterial activity and qualitative phytochemical analysis of selected seaweeds from Gulf of Mannar Region. Journal of Experimental Science. 1(8): 23-26.

Mollazaei, E. 2017. Effect of different levels of dietary supplementation of *Ulva rigida* extract on growth performance, body chemical compositions and digestive enzymes in grey mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus 1758. M.Sc thesis. Marine Sciences Department, Chabahar Maritime University. 60 p. (in Persion)

Morshedi, V., Nafisi Bahabadi, M., Sotoudeh, E., Azodi, M., Hafezieh, M. 2017. Nutritional evaluation of *Gracilaria pulvinata* as partial substitute with fish meal in practical diets of barramundi (*Lates calcarifer*). Journal of Applied Phycology. 2: 1-11.

Mourente, G., Tocher, D.R., Diaz, E., Grau, A., Pastor, E. 1999. Relationships bet antioxidants, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation products duearly development in *Dentex* dentex eggs and larvae. Aquaculture. 179: 309-324.

Natalia, Y., Hashim, R., Ali, A., Chong, A. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). Aquaculture. 233(1-4): 305-320.

Oliveira, M.N., Ponte-Freitas, A.L., Urano-Carvalho, A.F., Taveres-Sampaio, T.M., Farias, D.F., Alves-Teixera, D.I., Gouveia, S.T., Gomes-Pereira, J., Castro-Catanho de Sena, M.M. 2009. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceara. Brazilian.Food Chemistry. 11: 254-259.

Oropesa, A.L., García-Cambero, J.P., Soler, F. 2009. Glutathione and alondialdehyde levels in common carp after exposure to simazine. Environmental Toxicology and Pharmacology. 27: 30-38.

Peixoto, M.J., Svendsen, J.C., Malte, H., Pereira, L.F., Carvalho, P., Pereira, R., Gonçalves, J.F., Ozório, R.O. 2016. Diets supplemented with seaweed affect metabolic rate, innate immune, and antioxidant responses, but not individual growth rate in European seabass (*Dicentrarchus labrax*).Journal of Applied Phycology. 28:2061–2071.

Porfaraj, V.; Karami, M.; Nezami, S.A.; Rafiee, G.R.; Khara, H. and Hamidoghli, A., 2013. Study of some biological features of Mullets in Iranian coasts of the Caspian sea. Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics. l2: 97-110.

Ragaza, J.A., Koshio, S., Mamauag, R.E., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Villamor, S.S. 2015. Dietary supplemental effects of red seaweed *Eucheuma denticulatumon* growth performance, carcass composition and blood chemistry of juvenile Japanese flounder,*Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Research. 46: 647-657.

Rajapakse, N., Kim, S.K. 2011. Nutritional and digestive health benefits of seaweed. Advance Food Nutrition Research. 64: 17-28.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]

Ramasamy, P., Subhapradha, N., Shanmugam, V., Shanmugam, A. 2014. Protective effect of chitosan from *Sepia kobiensis* (Hoyle, 1885) cuttlebone against CCl4 induced hepatic injury. International Journal of Biological Macromolecules. 65: 559-563.

Regoli, F., Nigro, M., Benedetti, M., Fattorini, D., Gorbi, S. 2005. Antioxidant efficiency in early life stages of the Antarctic silverfish, *Pleuragramma antarcticum*: Responsiveness to pro-oxidant conditions of platelet ice and chemical exposure. Aquatic Toxicology. 75: 43-72.

Rodriguez-Ariza, A., Peinado, J., Pueyo, C., Lopez-Barea, J. 1993. Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 50: 2568-2572.

Shi, X., Luo, Z., Chen, F., Wei, C.C., Wu, K., Zhu, X.M., Liu, X. 2016. Effect of fish meal replacement by Chlorella meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes, expression for crucian carp *Carassius auratus*. Aquaculture Research. 2016: 1-13.

Southgate, P., Lucas, J. 2012. Reproduction, life cycles and growth. In: Lucas, J.S., Southgate, P.C. (eds.). Aquaculture: farming aquatic animals and plants. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, Oxford. 137 p.

Tabarsa, M., Rezaei, M., Ramezanpour, Z., Waaland, J.R. 2012. Chemical compositions of the marine algae *Gracilaria salicornia (*Rhodophyta) and *Ulva lactuca*(Chlorophyta) as a potential food source. Journal of Science Food Agriculture. 92:2500–2506

Thomas, L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st edition. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft. 652 p.

Upasani, C.D., Balaraman, R. 2003. Protective effect of *Spirulina* on leadinduced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. Phototherapy Research. 17: 330-334.

Wilhelm Filho, D. 2007. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. Frontiers in Bioscience. 12: 1229-1237.

Winterbourn, C., Hawkins, R., Brian, M., Carrell, R.W. 1975. Estimation red cell superoxidase dismutase activity. Journal of Laboratory Chinease in the Medicine. 85(2): 337-340.

Xu, W., Gao, Z., Qi, Z., Qiu, M., Peng, J.Q., Shao, R. 2014. Effect of Dietary Chlorella on the Growth Performance and Physiological Parameters of Gibel carp, *Carassius auratus* gibelio. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 14: 53-57.

Zeinab, A.K., Aly, M.S., Faiza, A.K., Fatma, E.M. 2015. Effect of *Spirulina platensisand Lactobacillus rhamnosuson* growth and biochemical performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. International Journal of Current Microbiology Applied Science. 4(4): 747-763.

[Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23222751.1398.9.3.11.4]