

(OPEN ACCESS)

The effects of different levels of sodium alginate extracted from macroalgae (*Sargassum angustifolium*) on growth performance and some indicators of the non-specific immune system of blood serum in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Wallbaum, 1792)

**Vian Ebrahimi^{*1}, Abdolmajid Hajimoradloo², Seyed Hossein Hoseinifar³,
Roghieh Safari⁴**

1. Corresponding Author, Ph.D. Student of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: viyanebrahimi@gmail.com
2. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: ahajimoradloo@yahoo.com
3. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hosseini.hoseinifar@gmail.com
4. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: The aim of this study was to investigate the effect of sodium alginate as a natural prebiotic on growth performance and some hematological parameters in rainbow trout.
Article history: Received: 09.05.2023 Revised: 09.13.2023 Accepted: 09.14.2023	Materials and Methods: For this purpose, 432 rainbow trout with an average initial weight of 2.47 ± 0.31 were fed with diets containing four levels of sodium alginate (0 (control), 0.5, 1, and 2) gr per kg of diet for 8 weeks. At the end of the experiment, growth and hematological indices were evaluated based on standard formulas and means were analyzed using Duncan test.
Keywords: Alginate, Aquaculture, Growth performance and immunity, Prebiotic, Rainbow trout	Results: The results showed that the final weight (FW), weight gain (WG), food conversion ratio (FCR) and condition factor (CF) improved in the treatments fed with sodium alginate and significantly different from those of control treatment ($P < 0.05$). Specific growth rate (SGR) in the treatments fed with sodium alginate was the highest but there were no significantly differences between treatments ($P > 0.05$). Based on the results obtained from the hematological indicators, the treatments fed with sodium alginate had the highest level of hemoglobin concentration, hematocrit (%), the number of red blood cells and white blood cells counts and MCHC. however, significant difference in Hematocrit (%), and the number of white blood cells was observed between treatments fed with 2% sodium alginate and other treatments ($P < 0.05$). No significant difference was observed in the MCH index among the experimental treatments and the control group ($P > 0.05$). There were no significantly differences in MCH, between the experimental treatments and control group ($P > 0.05$). MCV values in the treatments fed with sodium alginate was the lowest and the difference was significant compared to the control ($P < 0.05$).

Conclusion: Therefore, it can be concluded that the use of sodium alginate in the diet of rainbow trout leads to the improvement of growth performance and some hematological indices.

Cite this article: Ebrahimi, Vian, Hajimoradloo, Abdolmajid, Hoseinifar, Seyed Hossein, Safari, Roghieh. 2025. The effects of different levels of sodium alginate extracted from macroalgae (*Sargassum angustifolium*) on growth performance and some indicators of the non-specific immune system of blood serum in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Wallbaum, 1792). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (2), 261-275.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2023.21711.1814

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثرات سطوح مختلف آلژینات سدیم استخراج شده از ماکرو جلبک (*Sargassum angustifolium*) بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های سیستم ایمنی غیر اختصاصی سرم خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Wallbaum, 1792)

ویان ابراهیمی^{۱*}، عبدالمجید حاجی‌مرادلو^۲، سید حسین حسینی‌فر^۳، رقیه صفری^۴

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: viyanebrahimi@gmail.com
۲. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: ahajimoradloo@yahoo.com
۳. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: hossein.hoseinifar@gmail.com
۴. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر آلژینات سدیم به‌عنوان پریبیوتیک طبیعی بر عملکرد رشد و برخی پارامترهای ایمنی خون بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۳	مواد و روش‌ها: به‌همین منظور تعداد ۴۳۲ قطعه بچه‌ماهی نارس با میانگین وزن اولیه $2/47 \pm 0/31$ گرم با چهار سطح آلژینات سدیم (۰ (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲) گرم بر کیلوگرم جیره پایه به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند.
واژه‌های کلیدی: آبزی‌پروری، آلژینات، پریبیوتیک، عملکرد رشد و ایمنی، قزل‌آلای رنگین‌کمان	یافته‌ها: در پایان دوره پرورش شاخص‌های رشد و خون‌شناسی بر اساس فرمول‌های استاندارد محاسبه و با استفاده از آزمون دانکن آنالیز انجام گرفت. نتایج نشان داد که میزان وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و فاکتور وضعیت (CF) در تیمارهای تغذیه شده با آلژینات سدیم بهبود یافته و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند ($P < 0/05$). میزان نرخ رشد ویژه (SGR) در تیمارهای آلژینات سدیم نسبت به تیمار شاهد افزایش داشته اما تأثیر معنی‌دار نبوده ($P > 0/05$). براساس نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های خون‌شناسی، تیمارهای تغذیه‌شده با آلژینات سدیم دارای بیش‌ترین میزان هموگلوبین،

هماتوکریت، گلبول سفید، گلبول قرمز و MCHC بودند. اما میزان هماتوکریت و گلبول سفید در تیمار ۲ درصد آلزینات سدیم با شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). در شاخص MCH اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان MCV در تیمارهای حاوی آلزینات سدیم کمترین مقدار بوده و تفاوت نسبت به شاهد معنی دار بود ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: بنابراین از این پژوهش می توان چنین استنباط کرد که استفاده از آلزینات سدیم در جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان می تواند منجر به بهبود عملکرد رشد و برخی پارامترهای خون شناسی شود.

استناد: ابراهیمی، ویان، حاجی مرادلو، عبدالمجید، حسینی فر، سید حسین، صفری، رقیه (۱۴۰۴). اثرات سطوح مختلف آلزینات سدیم استخراج شده از ماکرو جلبک (*Sargassum angustifolium*) بر عملکرد رشد و برخی شاخص های سیستم ایمنی غیر اختصاصی سرم خون در ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*, Wallbaum, 1792). نشریه بهره برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۲)، ۲۶۱-۲۷۵.

Doi: 10.22069/japu.2023.21711.1814



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

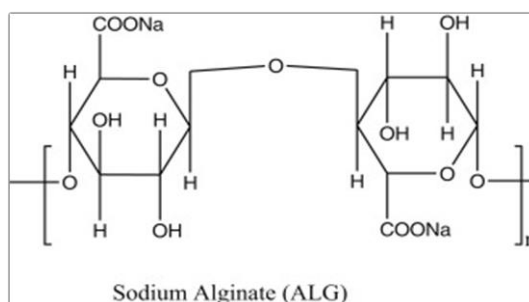
مقدمه

با توجه به جمعیت رو به رشد جهان، تأمین مواد غذایی به‌خصوص منابع پروتئینی، تبدیل به دغدغه جهانی شده است، از این‌رو در دهه‌های اخیر منابع خوارکی با منشأ آبزیان مورد توجه خاصی قرار گرفته است. یکی از گونه‌های با ارزش تجاری بالا، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است. با این وجود همواره مشکلاتی مانند تراکم بالا و استرس ناشی از تراکم، بیماری‌ها و دیگر تنش‌های محیطی در محیط پرورشی این گونه وجود دارد. تنش‌های محیطی می‌تواند باعث ضعیف شدن سیستم ایمنی و در نهایت منجر به مستعد شدن ماهیان برای ابتلا به انواع بیماری‌ها شود، که این امر تولید اقتصادی سیستم‌های آبی‌پروری را محدود می‌کند (۱). با توجه به حساسیت بچه‌ماهیان در مراحل اولیه رشد، کیفیت و شرایط پرورش در این مرحله، موفقیت در رونق تولید یا شکست برنامه‌های پرورش را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. به‌طور کلی، افزایش تولید باکیفیت مستلزم تولید بچه‌ماهیان سالم و مقاوم است. به‌عبارت دیگر تقویت سیستم ایمنی از ابتدای مراحل زندگی ماهی منجر به مقاومت در برابر تنش‌های محیطی، افزایش زنده‌مانی، تولید ماهیان مقاوم‌تر و در نهایت افزایش تولید می‌شود. به‌همین منظور استفاده از انواع مکمل‌ها و افزودنی‌های خوراکی محرک‌ایمنی می‌تواند راهکاری برای تقویت سیستم ایمنی ماهی باشد. از طرف دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی که طی سال‌های گذشته به منظور مبارزه با بیماری‌های آبزیان استفاده می‌شدند، علاوه بر هزینه زیاد و اقتصادی نبودن در صورت استفاده بیش از حد از آن‌ها مقاومت باکتریایی، تجمع زیستی آنتی‌بیوتیک‌ها در گوشت ماهی و خطرات متعاقب آن در تغذیه انسانی، تضعیف سیستم ایمنی و نیز آلودگی‌های زیست‌محیطی را موجب می‌شود (۲). به‌همین دلیل استفاده از محرک‌های ایمنی به‌عنوان راه‌حلی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در جهت

تحریک ایمنی و کاهش خطر بروز بیماری گسترش یافته است (۳). مکمل‌های پلی‌ساکاریدی مشتق شده از منابع دریایی (MDPs)، یکی از جایگزین‌های بالقوه آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره آبزیان است. امروزه تلاش بر این است که پریبیوتیک‌هایی با منشأ طبیعی پیدا کنند. اخیراً استفاده از MDPها در جیره غذایی آبی‌پروری مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. در آبی‌پروری از MDPها به‌عنوان ماده پریبیوتیک استفاده می‌شود که بیش‌تر به‌عنوان یک ماده غذایی برای بهبود عملکرد رشد و شرایط بهداشتی پذیرفته می‌شود (۴). از این‌رو پژوهش‌های اخیر بر روی جلبک‌ها و گیاهان دارویی بیش‌تر به‌سمت استخراج هدفمند عصاره‌های طبیعی و ترکیبات زیست‌فعال سوق پیدا کرده است که یکی از این ترکیبات استخراج‌شده از ماکرو جلبک‌های دریایی، پلی‌ساکاریدها است (۵). در واقع پلی‌ساکاریدها، پلیمرهایی هستند که با حذف یک مولکول آب بین هر جفت واحدهای مونوساکارید به وجود آمده و باعث ایجاد یک ارتباط گلیکوزیدی می‌شوند. ویژگی‌های ساختاری یک پلی‌ساکارید مانند: گروه هیدروکسیلی، نوع و ماهیت پیوند گلیکوزیدها (آلفا یا بتا)، موقعیت گروه‌های سولفات، طول زنجیره، موقعیت شاخه‌ها و در نهایت وزن مولکولی متفاوت است که باعث تفاوت در عملکرد بیولوژیکی آن‌ها شده است (۶). پلی‌ساکاریدها اغلب فعالیت دارویی مانند ضدانعقادی، ضداکسیداسیون و ضدتومور دارند (۷، ۸، ۹). هم‌چنین به‌عنوان پریبیوتیک عمل می‌نماید و موجب رشد باکتری‌های مفید در لوله گوارش، اثرات مثبت بر رشد و ارتقاء سلامتی می‌شود. پریبیوتیک‌ها ترکیبات غیرقابل هضم و قابل تخمیر هستند که باعث رشد یا تغییر فعالیت باکتریایی روده به سمت باکتری‌های مفید روده (پروبیوتیک‌ها) و در نهایت تحریک پاسخ ایمنی، افزایش مقاومت به عوامل بیماری‌زا و بهبود عملکرد رشد در انسان و حیوانات به‌خصوص گونه‌های پرورشی می‌شوند. بسیاری از پریبیوتیک‌ها (برای مثال:

(۱۵، ۱۶)، مهندسی بافت (۱۷، ۱۸، ۱۹) ایفا می‌کند (۲۰). هم‌چنین طی سال‌های اخیر پژوهش‌های متعددی در زمینه آبزیان صورت گرفته و اثرات محرک ایمنی و رشد آلژینات سدیم را اثبات کرده است. برای مثال جیره غنی شده با آلژینات سدیم موجب بهبود عملکرد رشد، ایمنی غیراختصاصی و افزایش مقاومت به بیماری در تیلاپای نیل شد (۲۱، ۲۲، ۲۳). هم‌چنین نتایج پژوهشی تحت عنوان تأثیر آلژینات سدیم بر تحریک شاخص‌های ایمنی غیراختصاصی و مقاومت به سمیت ناشی از ازن در بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد، تجویز خوراکی آلژینات سدیم باعث بهبود عملکرد و تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت ماهی به سمیت ناشی از ازن و درنهایت باعث افزایش درصد زنده‌مانی گردید (۲۴). مواد غذایی خوراکی با خاصیت پریبیوتیکی برای انجام این پژوهش با تأکید بر مرور منابع و بررسی سابقه پیشین سایر مطالعات، آلژینات سدیم استخراج‌شده از ماکرو جلبک (*Sargassum angustifolium*) می‌باشد.

اسید آلژینیک از دسته فیبرهای محلول در رژیم غذایی هستند که نقش مثبتی بر لوله گوارش حیوانات ایفاء می‌نمایند و باعث ارتقاء سیستم ایمنی می‌گردند. آلژینات سدیم (sodium alginate)، یک پلیمر آنیونی است که به‌طور معمول از جلبک‌های دریایی قهوه‌ای استخراج می‌شود (۱۰)، این ماده که با فرمول شیمیایی $(C_6H_7NaO_6)_n$ شناخته شده است (شکل ۱)، یک پلی‌ساکارید خطی محلول در آب و از مشتقات آلژینیک اسید استخراج شده از جلبک‌های قهوه‌ای است. آلژینات دارای ویژگی‌های متعددی مانند ویژگی‌های ضداکسایشی، ضدالتهابی، ضدسرطانی و توموری، پریبیوتیکی، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، سازگاری زیستی، فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است (۱۱، ۱۲). آلژینات به‌دلیل خواص زیست‌تخریب‌پذیری، سازگاری با محیط زیست، پایداری، ژل‌سازی در حضور کاتیون‌های چندظرفیتی و خاصیت کشسانی در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته است (۱۳). اخیراً آلژینات نقش بزرگی را در چندین زمینه پزشکی مانند: داروسازی (۱۴)، دندانپزشکی



شکل ۱- فرمول شیمیایی آلژینات سدیم (۲۵).

Figure 1. Sodium Alginate chemical formula.

(۲) بهبود سیستم ایمنی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با مکمل‌سازی جیره با آلژینات سدیم استخراج‌شده از ماکرو جلبک (*Sargassum angustifolium*)
(۳) به‌دست آوردن سطح مناسب آلژینات سدیم بر عملکرد رشد و ایمنی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

اهداف و دامنه تحقیق

(۱) افزایش عملکرد رشد بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) با مکمل‌سازی جیره با آلژینات سدیم استخراج‌شده از ماکرو جلبک (*Sargassum angustifolium*)

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی: تعداد ۴۳۲ قطعه بچه ماهی نارس قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزنی 0.47 ± 2 از کارگاه زرین گل واقع در استان گلستان خریداری شد و در کیسه‌های پلاستیکی دوجداره (یک سوم حجم آب کارگاه و حجم باقی‌مانده اکسیژن تحت فشار) ذخیره‌سازی و به آزمایشگاه شهید ناصر فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. بچه‌ماهیان پس از انتقال به مکان آزمایش به مدت ۲ هفته جهت سازگاری با شرایط آزمایش نگهداری و با جیره پایه محصول شرکت ۲۱ بیضاء (جدول ۱) تغذیه شدند. سپس ماهیان به صورت تصادفی در ۱۲ مخزن ۲۰۰ لیتری به تعداد ۳۶ عدد در هر تانک تقسیم شدند. آزمایش با ۴ تیمار تغذیه‌ای و هر تیمار با ۳ تکرار انجام شد.

آماده‌سازی جیره غذایی

استخراج آلزینات سدیم: میزان ۱۰۰ گرم نمونه ماکروجلبک با ۳۰۰ میلی‌لیتر فرمالین (۴۰ درصد) به مدت ۲ ساعت به منظور حذف چربی‌ها و رنگدانه‌ها شیک شد. سپس نمونه سه بار با آب مقطر شستشو

داده و پس از آن ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول آبی HCL (۰/۱ نرمال)، جهت شکستن دیواره سلولی به نمونه اضافه گردید و به مدت ۲۱ ساعت همزده شد تا آلزینات موجود در ماکروجلبک به صورت اسید آلزینیک نامحلول درآید و بعد از آن نمونه را با آب مقطر شستشو داده و به داخل بشر با ۴۰۰ میلی‌لیتر محلول آبی Na_2CO_3 (۲ درصد، $\text{pH}=11$) به مدت ۵ ساعت با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیک‌دار همزده شد تا اسید آلزینیک به فرم آلزینات سدیم درآید، سپس نمونه به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید، سپس محلول چسبناک رویی جهت خلص سازی آلزینات سدیم جمع‌آوری شده و در ادامه با اضافه کردن اتانول ۹۶ درصد، آلزینات رسوب داده و رسوب حاصل از اتانول جدا گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک شد. بعد از خشک شدن آلزینات را پودر کرده و ترکیب موردنظر با توجه به مقادیر تعیین شده از مواد انتخابی در ۱۰ میلی‌لیتر آب سوسپانسیون شده و به صورت اسپری به غذا افزوده می‌گردد (۲۶). در انتها برای به حداقل رساندن میزان آبشویی ترکیبات غذایی در محیط آبی، از ژلاتین به عنوان پوشش استفاده شد.

جدول ۱- آنالیز شیمیایی جیره تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان براساس ماده خشک (شرکت ۲۱ بیضاء).

Table 1. Chemical analysis of rainbow trout commercial feed based on dry matter (21-Beisa).

ترکیبات Composition	میزان (درصد) Percent
پروتئین خام (Protein)	50-55
چربی خام (Lipid)	9-13
فیبر خام (Fiber)	1.5-2
رطوبت (Moisture)	12
خاکستر (Ash)	15-11
فسفر (Phosphor)	1
انرژی قابل هضم (kcal/kg) Digestive energy	4300

جیره غذایی به ۸۰ میلی‌لیتر از محلول ژلاتین ۳-۵ درصد اسپری شد. میزان آلژینات سدیم هر تیمار محاسبه گردیده و به جیره هر تیمار اسپری شد. غذای اسپری شده و مرطوب در هوای آزاد محیط و با رعایت نکات بهداشتی خشک شدند و تا زمان مصرف در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذادهی به صورت دستی براساس ۵ درصد وزن توده زنده محاسبه و روزانه در ۳ نوبت انجام گردید.

تیماربندی و تهیه جیره غذایی: پودر آلژینات سدیم استخراج شده از مرحله قبل، برای انجام آزمون میزان اثرات احتمالی در بدن ماهی مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام این آزمایش، یک جیره پایه و سه جیره آزمایشی برای بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در نظر گرفته شد. سطوح آلژینات سدیم براساس مقالات قبلی انتخاب شد (۲۷). تیمارهای در نظر گرفته شده مطابق با جدول ۱ بوده که در سه تکرار انجام شد. جهت آماده‌سازی غذا، به ازای هر یک کیلوگرم از

جدول ۲- تیمارهای غذایی مورد استفاده برای بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در این آزمایش.

Table 2. Rainbow trout diet treatment used in this study.

تیمارهای آزمایشی Treatment	مکمل‌سازی جیره Supplementation	کدبندی Code	آلژینات سدیم (به‌ازای درصد جیره) Sodium alginate
تیمار یک (T1)	-	جیره ۱	0
تیمار دو (T2)	آلژینات سدیم ۱	جیره ۲	0.5
تیمار سه (T3)	آلژینات سدیم ۲	جیره ۳	1
تیمار چهار (T4)	آلژینات سدیم ۳	جیره ۴	2

فاکتور وضعیت = وزن برحسب گرم / (طول برحسب سانتی‌متر) $\times 100$
سنجش شاخص‌های خونی: جهت بررسی شاخص‌های خونی، در پایان دوره پرورش ۱۰ قطعه ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی در محلول ۱۰۰ ppm یوجینول، سپس نمونه خون با استفاده از سرنگ از ساقه دومی گرفته شد و در ظرف‌های پلاستیکی هپارینه که حاوی ماده ضدانعقاد بود، ریخته شدند. نمونه‌های خون هپارینه جهت مطالعات خون‌شناسی استفاده شد (۲۸).

سنجش میزان هموگلوبین: غلظت هموگلوبین به روش استاندارد سیانومتاهموگلوبین (cyanometahemoglobin) و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر و میزان هموگلوبین برحسب (g/dl) تعیین گردید (۲۹).

فاکتورهای رشد: پس از ۵۶ روز تغذیه با جیره حاوی مکمل آلژینات سدیم، به منظور ارزیابی فاکتورهای رشد، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت غذادهی نشدند و پس از زیست‌سنجی نهایی فاکتورهای رشد از جمله وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، فاکتور وضعیت (CF)، طبق رابطه‌های زیر محاسبه شد:

افزایش وزن (درصد) = ((وزن نهایی - وزن اولیه) / وزن اولیه) $\times 100$
نرخ رشد ویژه (درصد) = ((لگاریتم وزن نهایی - لگاریتم وزن اولیه) / مدت زمان پرورش) $\times 100$
ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خورده شده / مقدار وزن اضافه شده

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: این پژوهش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار در سه تکرار (در هر تکرار ۳۶ نمونه) انجام شد. ابتدا نرمالیتی داده‌ها با استفاده از آزمون‌های کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov - Smirnov) مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح خطا ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار (SPSS22) انجام گرفت.

نتایج و بحث

فاکتورهای رشد: نتایج به دست آمده از ارزیابی فاکتورهای رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر استفاده از جیره مکمل شده با سطوح مختلف آلزینات سدیم در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که با افزایش سطح مصرف آلزینات سدیم در جیره میزان وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG) و فاکتور وضعیت (CF) افزایش یافت. به طوری که بالاترین مقدار این فاکتورها در ماهیان تغذیه شده با ۱ گرم آلزینات سدیم (تیمار سوم) بوده و تیمارهای ۰/۵ و ۲ گرم آلزینات سدیم هم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($P < 0/05$). کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) نیز در تیمار سوم (۱ گرم آلزینات سدیم) و بیش‌ترین ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد مشاهده شد و بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$). نرخ رشد ویژه (SGR) در ماهیان تغذیه شده با آلزینات سدیم بیش‌تر از گروه شاهد بوده اما اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0/05$).

تعیین میزان درصد هماتوکریت: اندازه‌گیری هماتوکریت با استفاده از روش لوله‌های میکروهماتوکریت انجام شد (۳۰). بدین‌منظور ابتدا نمونه‌های خونی به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شده و با استفاده از خط‌کش مخصوص میکروهماتوکریت بر حسب درصد میزان هماتوکریت تعیین گردید (۳۱).

شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون: شمارش کلی گلبول‌های قرمز خون (RBC) به روش دستی و با استفاده از لام هموسیتمتر نئوبار صورت گرفت. بدین‌منظور خون به نسبت ۲۰۰ برابر با سرم فیزیولوژی در پیپت ملانژور قرمز رقیق شده و به وسیله لام هموسیتمتر در ۵ خانه شمارش گردید و در عدد ثابت ۱۰۰۰۰ ضرب و تعداد گلبول‌ها در واحد حجم گزارش شد. شمارش گلبول‌های سفید (WBC) هم به روش هموسیتمتر (hemocytometer) با رقیق کردن خون به نسبت ۴۰ برابر با محلول داسیس در پیپت ملانژور سفید رقیق شده و به وسیله لام هموسیتمتر در ۴ خانه مربوط به گلبول‌های سفید شمارش گردید و تعداد در واحد حجم تعیین شد (۳۲).

اندیس‌های گلبولی MCV، MCH و MCHC: اندیس‌های خونی گلبول قرمز شامل میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) براساس روابط استاندارد موجود محاسبه شدند (۳۳).

$$MCHC = Hb \times 10 / Hct$$

$$MCV = Hct \times 10 / RBC \text{ (million)}$$

$$MCH = Hb \times 10 / RBC \text{ (million)}$$

جدول ۳- عملکرد رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف آلژینات سدیم به مدت ۸ هفته.

Table 3. Growth performance of rainbow trout feed on different levels of sodium alginate for 8 weeks.

سطوح مختلف مکمل آلژینات سدیم (g/kg) Different levels of sodium alginate (g/kg)				فاکتورهای رشد Growth parameters
۰	۰/۵ گرم	۱ گرم	۲ گرم	
2.5 ± 0.5	2.47 ± 0.06	2.33 ± 0.21	2.57 ± 0.4	وزن اولیه (گرم) Initial weight (g)
20.33 ± 0.58 ^b	22.67 ± 1.04 ^a	23.5 ± 0.5 ^a	23.0 ± 0.5 ^a	وزن نهایی (گرم) Final weight (g)
17.5 ± 0.5 ^b	20.2 ± 0.98 ^a	21.17 ± 0.31 ^a	20.37 ± 0.11 ^a	افزایش وزن (گرم) Weight gain (g)
3.76 ± 0.32	3.96 ± 0.05	4.12 ± 0.13	3.92 ± 0.24	نرخ رشد ویژه (درصد / روز) Specific Growth Rate (SGR) (%/ Day)
1.83 ± 0.15 ^a	1.73 ± 0.04 ^b	1.68 ± 0.01 ^{bc}	1.71 ± 0.006 ^c	ضریب تبدیل غذایی Food Conservation Ratio (FCR)
1.13 ± 0.047	1.79 ± 0.21	1.94 ± 0.26	1.74 ± 0.36	فاکتور وضعیت Condition Factor (CF)

پارامترهای خون شناسی: جدول ۴ نشان‌دهنده نتایج حاصل از آزمایش‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آلژینات سدیم است. تأثیر غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم بر (MCH) تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($P > 0.05$). نتایج حاصل از میزان گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، (MCHC) در ماهیان شاهد و تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۲ گرم آلژینات سدیم نیز

براساس آزمون آنالیز واریانس بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). میزان گلبول سفید از ($10^3/\mu\text{l}$) 19.39 در تیمار شاهد به ($10^3/\mu\text{l}$) 20.21 در تیمار ۲ گرم آلژینات سدیم و همچنین میزان هماتوکریت از ۴۰ درصد در تیمار شاهد به ۴۳ درصد در تیمار ۲ گرم آلژینات سدیم افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0.05$).

جدول ۴- پارامترهای خون‌شناسی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف آلژینات سدیم به مدت ۸ هفته.

Table 4. Blood parameters of rainbow trout feed on different levels of sodium alginate for 8 weeks.

سطوح مختلف مکمل آلژینات سدیم (g/kg) Different levels of sodium alginate (g/kg)				فاکتورهای خون‌شناسی Blood parameters
۰	۰/۵ گرم	۱ گرم	۲ گرم	
4.99 ± 0.24 ^c	6.25 ± 0.33 ^b	6.30 ± 0.26 ^b	7.02 ± 0.54 ^a	هموگلوبین (g/dl) (Hemoglobin)
40 ± 1.01 ^b	40.33 ± 0.58 ^b	41.33 ± 1.15 ^b	43.67 ± 1.53 ^a	هماتوکریت (%) (Hematocrit)
1.06 ± 0.05 ^c	1.34 ± 0.08 ^b	1.45 ± 0.03 ^a	1.51 ± 0.02 ^a	گلبول قرمز (%) (10^6 /میکرولیتر) (Red cell)
19.39 ± 0.15 ^b	20.17 ± 0.71 ^{ab}	20.21 ± 0.29 ^{ab}	20.96 ± 0.62 ^a	گلبول سفید (%) (10^3 /میکرولیتر) (White cell)
376.84 ± 22.89 ^a	300.78 ± 14.54 ^b	284.42 ± 6.37 ^b	290.42 ± 7.16 ^b	حجم متوسط گلبول قرمز (fl) (MCV)
47.1 ± 3.6	46.68 ± 4.7	43.34 ± 1.2	46.69 ± 3.10	مقدار هموگلوبین متوسط (pg) (MCH)
12.49 ± 0.29 ^b	15.49 ± 0.84 ^a	15.25 ± 0.75 ^a	16.07 ± 0.67 ^a	غلظت متوسط هموگلوبین (g/dl) (MCHC)

بحث و نتیجه گیری کلی

مطالعات بسیاری اثرات مثبت استفاده از مکمل های غذایی به ویژه پریبیوتیک ها را در جیره آبزیان بر روی عملکرد رشد و سیستم ایمنی ماهی گزارش کرده اند. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که تغذیه بچه ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان با جیره حاوی مکمل آلزینات سدیم که در واقع یک نوع پریبیوتیک طبیعی محسوب می شود، در سطح 0.5 g.kg^{-1} ، ۱ و ۲ تأثیرات مثبتی را بر عملکرد رشد این گونه در مقایسه با گروه شاهد اعمال کردند. به طوری که میزان وزن نهایی، افزایش وزن و فاکتور وضعیت در این تیمارها در سطح معنی داری بالاتر از گروه شاهد بود. هم راستا با نتایج به دست آمده از این مطالعه سالاروند و همکاران (۲۴)، افزایش وزن نهایی (WG)، درصد افزایش وزن بدن (BWG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، و فاکتور وضعیت (CF) و بهبود ضریب تبدیل غذایی (FCR) را در ماهیان قزل آلا ی رنگین کمان تغذیه شده با آلزینات سدیم به مدت ۴۵ روز گزارش کردند. همچنین نتایج مطالعه عاشوری و همکاران (۲۰۱۸) بر روی ماهیان سی باس دریایی (*Lates calcalifer*)، نشان دادند که استفاده از 2 g Kg^{-1} آلزینات سدیم با وزن مولکولی پایین و پریبیوتیک (*Pediococcus acidilactici*) در جیره غذایی باعث افزایش قابل ملاحظه ای در شاخص افزایش وزن بدن (BWG) و میانگین وزن نهایی (WG) می شود (۳۴). نتایج بسیاری از مطالعات انجام شده نشان می دهد که استفاده از جیره غنی شده با آلزینات سدیم در گونه های تیلاپیای نیل (۲۱، ۲۲، ۲۳)، ماهی هامور معمولی (۲۷)، قزل آلا ی رنگین کمان (۲۴، ۳۵، ۳۶ و ۳۷)، فیل ماهی (۳۸، ۳۹)، کپور (۴۰) و میگو (۴۱)، می تواند عملکرد رشد را به شکل مثبتی تحت تأثیر قرار دهد. باتوجه به نتایج این پژوهش می توان گفت که این فرضیه وجود دارد که دلیل

افزایش و بهبود عملکرد رشد در اثر تغذیه با آلزینات سدیم می تواند مربوط به خاصیت پریبیوتیکی آن باشد، پریبیوتیک ها می توانند با افزایش قابلیت هضم مواد مغذی بر عملکرد رشد اثر بگذارند که این افزایش در نتیجه فعالیت جمعیت باکتری های روده میزبان همراه است که می تواند منجر به افزایش آنزیم های گوارشی و فعالیت آن ها، افزایش هضم مواد غذایی و متعاقباً بهبود عملکرد رشد و کارایی تغذیه شوند (۴۲). در مطالعه حاضر عملکرد رشد تحت تأثیر استفاده از 0.5 g kg^{-1} ، ۱ و ۲ آلزینات سدیم بهبود یافت که این امر می تواند دلیل روشنی بر تخمیر و تجزیه آلزینات سدیم توسط فلور باکتریایی روده ماهی قزل آلا ی رنگین کمان باشد. از طرفی دیگر در مطالعه یاراحمدی و همکاران (۲۰۲۳)، اثرات آلزینات سدیم با وزن مولکولی پایین در دو سطح ۵ و ۱۰ گرم آلزینات سدیم بر عملکرد رشد شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) به مدت ۸ هفته بررسی شد، نتایج نشان داد که آلزینات سدیم با وزن مولکولی پایین اثر معنی داری بر وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی نسبت به گروه شاهد نداشته (۴۳). همچنین سهلی و همکاران (۲۰۲۰)، طی پژوهشی عدم تأثیر آلزینات سدیم (0.5 g.kg^{-1})، ۱ و ۲ درصد) با وزن مولکولی پایین بر فاکتورهای رشد ماهی کپور معمولی گزارش کردند (۴۴)، که این موضوع می تواند به علت عدم تجزیه و تخمیر آلزینات سدیم در روده ماهی کپور معمولی و شانک زرد باله توسط فلور باکتریایی باشد. به طور کلی سن، اندازه، نوع گونه پرورشی، مدت تجویز پریبیوتیک، نوع پریبیوتیک انتخابی، نحوه اضافه کردن مکمل به جیره، نوع استراتژی تغذیه، شرایط محیطی بهداشتی نگهداری موجود و فرمولاسیون جیره غذایی همگی می توانند در تأثیر متفاوت پریبیوتیک روی رشد و بازماندگی نقش داشته باشند (۴۵).

گلبول قرمز و گلبول سفید در قزل‌آلای رنگین‌کمان (۳۵، ۳۶)، سی‌باس دریایی (۳۴) و فیل ماهی (۳۸، ۳۹) تغذیه شده با آلزینات مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی باتوجه به نتایج این مطالعه می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از سطوح مختلف آلزینات سدیم تأثیر مثبت بر عملکرد رشد و شاخص‌های خون‌شناسی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته. به بیان دقیق‌تر سطح ۲ گرم آلزینات سدیم بهترین نتیجه را در شاخص‌های خون‌شناسی و تمام سطوح آلزینات سدیم (۰/۵، ۱ و ۲)، بهبود عملکرد رشد را به همراه داشت. باتوجه به مطالعات انجام شده و خواص ویژه آلزینات سدیم استخراج شده از ماکرو جلبک‌های دریایی، و همچنین وفور این ماکرو جلبک‌ها در ایران و کشورهای دارای مرز دریایی و با نظر به این‌که تولید این محصول فرآیند پیچیده‌ای نیاز ندارد، تولید و استفاده از آلزینات سدیم در صنعت آبزی‌پروری مقرون به‌صرفه می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که از آلزینات سدیم در مطالعات بیش‌تری به‌ویژه روی ماهیان اقتصادی و تعیین دوز بهینه آن صورت گیرد.

بررسی شاخص‌های خون‌شناسی می‌تواند اطلاعات مفیدی را در رابطه با وضعیت سلامت ماهی نشان دهند (۳۶). به‌عنوان مثال کاهش در میزان هماتوکریت نشان می‌دهد که غذا توسط ماهی مصرف نشده یا امکان بیماری عفونی وجود دارد. همچنین افزایش معنی‌دار میزان (MCV) همراه با افزایش هماتوکریت و کاهش میزان (MCHC) در پاسخ به مواجهه با ترکیبات ارگانوفسفره مشاهده شده است (۴۶). نتایج بررسی شاخص‌های خون‌شناسی این مطالعه نشان داد که جیره حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ گرم آلزینات سدیم موجب افزایش میزان هموگلوبین، گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و (MCHC) می‌شود. میزان گلبول سفید و هماتوکریت در تیمار چهارم (۲ گرم آلزینات سدیم) بیش‌ترین مقدار بوده و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/5$). همچنین میزان (MCV) در تیمارهای حاوی آلزینات سدیم کاهش داشته و با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/5$) که این نتیجه در تیمار تغذیه شده با ۱۰ گرم بر کیلوگرم آلزینات سدیم با وزن مولکولی پایین در مطالعه عاشوری و همکاران، (۳۴) مطابقت دارد. اما تفاوتی در میزان (MCH) در هیچ‌کدام از تیمارها مشاهده نشد که مشابه با مطالعه عاشوری و همکاران، (۳۴) می‌باشد. افزایش تعداد

منابع

1. Sado, R. Y., Bicudo, Á. J. D. A., & Cyrino, J. E. P. (2008). Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the world Aquaculture Society*, 39(6), 821-826.
2. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.
3. Kapetanović, D., Kurtović, B., & Teskeredžić, E. (2005). Differences in bacterial population in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) fry after transfer from incubator to pools. *Food technology and biotechnology*, 43(2), 189-193.
4. Mohan, K., Ravichandran, S., Muralisankar, T., Uthayakumar, V., Chandrasekar, R., Seedeve, P., Abirami,

- R. G., & Rajan, D. K. (2019). Application of marine-derived polysaccharides as immunostimulants in aquaculture: A review of current knowledge and further perspectives. *Fish & shellfish immunology*, 86, 1177-1193.
5. Deepika, R. C. (2017). Fucose-containing sulfated polysaccharides from *Sargassum wight* II: Extraction technology and anticancer activity assessment. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical & Biological Sciences*, 7(3).
6. El-Sayed, M., Fleita, D., Rifaat, D., & Essa, H. (2018). Assessment of the state-of-the-art developments in the extraction of antioxidants from marine algal species. *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*, 367-397.
7. Hamed, I., Özogul, F., Özogul, Y., & Regenstein, J. M. (2015). Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 14(4), 446-465.
8. De Jesus Raposo, M. F., De Morais, A. M. B., & De Morais, R. M. S. C. (2015). Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine drugs*, 13(5), 2967-3028.
9. Rahman, M. A. (2016). An overview of the medical applications of marine skeletal matrix proteins. *Marine Drugs*, 14(9), 167.
10. Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, 37(1), 106-126.
11. Alboofetileh, M., & Jeddi, S. (2022). A review on sources, extraction methods, properties and applications of alginate extracted from brown seaweeds. *Advanced Aquaculture Sciences Journal*, 6(7), 25-35.
12. Kelishomi, Z. H., Goliaei, B., Mahdavi, H., Nikoofar, A., Rahimi, M., Moosavi-Movahedi, A. A., Mamashli, F., & Bigdeli, B. (2016). Antioxidant activity of low molecular weight alginate produced by thermal treatment. *Food chemistry*, 196, 897-902.
13. Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2006). Antimicrobial effects of alginate-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Food Protection*, 69(10), 2364-2369.
14. Agarwal, T., Narayana, S. G. H., Pal, K., Pramanik, K., Giri, S., & Banerjee, I. (2015). Calcium alginate-carboxymethyl cellulose beads for colon-targeted drug delivery. *International journal of biological macromolecules*, 75, 409-417.
15. Al-Enazi, T. A., & Naik, A. V. (2016). Disinfection of alginate and addition silicon rubber-based impression materials: comparative analysis of 1% sodium hypochlorite and 2% glutaraldehyde. *international journal of stomatology & occlusion medicine*, 8(Suppl 1), 44-48.
16. Demajo, J. K., Cassar, V., Farrugia, C., Millan-Sango, D., Sammut, C., Valdramidis, V., & Camilleri, J. (2016). Effectiveness of disinfectants on antimicrobial and physical properties of dental impression materials. *The International journal of prosthodontics*, 29(1), 63-67.
17. Venkatesan, J., Nithya, R., Sudha, P. N., & Kim, S. K. (2014). Role of alginate in bone tissue engineering. *Advances in food and nutrition research*, 73, 45-57.
18. Venkatesan, J., Bhatnagar, I., Manivasagan, P., Kang, K. H., & Kim, S. K. (2015). Alginate composites for bone tissue engineering: A review. *International journal of biological macromolecules*, 72, 269-281.
19. Venkatesan, J., Jayakumar, R., Anil, S., Chalisserry, E. P., Pallela, R., & Kim, S. K. (2015). Development of alginate-chitosan-collagen based hydrogels for tissue engineering. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 5(6), 458-464.
20. Venkatesan, J., Anil, S., & Kim, S. K. (2017). Introduction to seaweed polysaccharides. In *Seaweed polysaccharides* (pp. 1-9). Elsevier.

21. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Tapingkae, W., & Khamtavee, P. (2017). The effects of dietary kefir and low molecular weight sodium alginate on serum immune parameters, resistance against *Streptococcus agalactiae* and growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 62, 139-146.
22. Van Doan, H., Tapingkae, W., Moonmanee, T., & Seepai, A. (2016). Effects of low molecular weight sodium alginate on growth performance, immunity, and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*, 55, 186-194.
23. Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Tapingkae, W., Tongsiri, S., & Khamtavee, P. (2016). Combined administration of low molecular weight sodium alginate boosted immunomodulatory, disease resistance and growth enhancing effects of *Lactobacillus plantarum* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 58, 678-685.
24. Salarvand, S., Jalali, S. A. H., Mahboobi Soofiani, N., & Allafchian, A. (2020). 'Effect of Sodium Alginate on Non-Specific Immune Parameters and Resistance to Ozone Toxicity in Rainbow Trout Fingerlings (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Animal Environment*, 12(4), 343-352.
25. Berdimurodov, E., Eliboiev, I., Kholikov, A., Akbarov, K., El Ibrahim, B., Verma, D. K., Berdimuradov, K., Dagdag, O., & Haldhar, R. (2023). Pharmaceutical drugs as prominent corrosion inhibitors: fundamental and computational aspects of density functional theory. In *Computational Modelling and Simulations for Designing of Corrosion Inhibitors* (pp. 461-479). Elsevier.
26. Aanyu, M. (2016). Effects of phytogenic compounds on growth and nutritional physiology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
27. Yeh, S. P., Chang, C. A., Chang, C. Y., Liu, C. H., & Cheng, W. (2008). Dietary sodium alginate administration affects fingerling growth and resistance to *Streptococcus* sp. and iridovirus, and juvenile non-specific immune responses of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & shellfish immunology*, 25(1-2), 19-27.
28. Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., & Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of aquatic organisms*, 41(1), 43-51.
29. Larsen, H. N. (1964). Comparison of various methods of hemoglobin detection of channel catfish blood. *J. Progressive Fish-Culturist*. 26, 11-15.
30. Blaxhall, P. C. (1972). The haematological assessment of the health of freshwater fish: a review of selected literature. *Journal of fish biology*, 4(4), 593-604.
31. Goldenfarb, P., Bowyer, F. P., Hall, E., & Brosious, E. (1971). Reproductibility in the hematology laboratory: the microhematocrite determination. *J. Clinic. Pathol.* 56, 3. 35-39.
32. Leonard, J. B. K., & Cormick, S. D. (2005). Changes in haematology during up stream migration to American shad. *Journal of fish biology*. 54, 1218-1230.
33. Lee, R. G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., & Greer, J. P. (1998). Rodgers GM. Wintrobe s-Clinical Hematology, New York, USA.
34. Ashouri, G., Soofiani, N. M., Hoseinifar, S. H., Jalali, S. A. H., Morshedi, V., Van Doan, H., & Mozanzadeh, M. T. (2018). Combined effects of dietary low molecular weight sodium alginate and *Pediococcus acidilactici* MA18/5M on growth performance, haematological and innate immune responses of Asian sea bass (*Lates calcalifer*) juveniles. *Fish & shellfish immunology*, 79, 34-41.
35. 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 physiology and biochemistry*, 38, 1169-1174.
36. Akbari, M., Heidarieh, M., Mirvafeghi, A., Farahmand, H., Sheikhzadeh, H., & Najafi Hajivar, E. (2015). Effect of dietary Ergosan and Hilyses on growth performance, hematological variables and immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sustainable Aquaculture and Health Management Journal*, 1(1), 1-6.
 37. Sheikhzadeh, N., Pashaki, A. K., Nofouzi, K., Heidarieh, M., & Tayefi-Nasrabadi, H. (2012). Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 32(3), 407-410.
 38. Heidarieh, M., Soltani, M., Tamimi, A. H., & Toluei, M.H. (2011). Comparative effect of raw fiber (Vitacel) and alginic acid (Ergosan) on growth performance, immunocompetent cell population and plasma lysozyme content of giant sturgeon (*Huso huso*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3).
 39. Jalali, M. A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., & Takami, G. A. (2009). Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquaculture Research*, 40(7), 804-809.
 40. Kumar, S., Prakash, C., Chadha, N. K., Gupta, S. K., Jain, K. K., & Pandey, P. K. (2018). Effects of dietary alginic acid on growth and haemato-immunological responses of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) fingerlings. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19(5), 373-382.
 41. Montero-Rocha, A., McIntosh, D., Sanchez-Merino, R., and Flores, I. (2006). Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91(3), 188-194.
 42. Shan, X., Xiao, Z., Huang, W., & Dou, S. (2008). Effects of photoperiod on growth, mortality and digestive enzymes in miiuy croaker larvae and juveniles. *Aquaculture*, 281(1-4), 70-76.
 43. Yarahmadi, M. H. A., Nafisi, M., Elabd, H., Sotoudeh, E., Morshedi, V., & Mahboub, H. (2023). Dietary sodium alginate effect on growth, digestion, body composition, antioxidant capacity, and mucous immune response in yellowfin sea bream. *Annals of Animal Science*.
 44. Sahli, M., Paknezhad, H., Hoseinifar, S. H., Sudagar, M., Mazandarani, M., & Sanchooli, H. (2020). 'The effects of different levels of low molecular weight sodium alginate on growth performance and mucus immune parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal Environment*, 12(2), 195-202.
 45. Akrami, R., Karimabadi, A., Mohammadzadeh, H., Ahmadifar, E. (2010). Effect of dietary mannanoligosaccharide on growth performance, survival, body composition and salinity stress resistance in Kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry stage. *Journal of marine sciences and technology*, 8(3-4), 47-57.
 46. Banaei, M., MIR, V. A., Rafei, G. R., & Majazi, A. B. (2008). Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry. *International Journal of Environmental Research*, 2(2), 189-198.

