



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian  
Aquaculture Society

## Aquatic Animals Nutrition

Vol. 10, No. 1, 2024, pages: 1-14  
DOI: 10.22124/janb.2024.26403.1230



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

### The effect of replacing red algae on histomorphology and enzymes of digestive tract of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*

Sanaz Kord<sup>1</sup>, Rahim Abdi\*<sup>1</sup>, Isaac Zamani<sup>1</sup>, Rahim Peyghan<sup>2</sup>

1- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Khuzestan, Iran

2- Department of Clinical Sciences and Excellence Center of Warm Water Fish Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Khuzestan, Iran

Received 01 January 2024

Revised 10 March 2024

Accepted 18 March 2024

#### KEYWORDS

Nile tilapia

Red algae

Histomorphology

Enzymes

#### ABSTRACT

**Introduction:** Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* is one of the commercially important fish species in many parts of the world. Red algae constitute a widely-used composition of the diet. The purpose of the present study was to replace the red algae on the diet with enzymes and its impact on Nile tilapia gastrointestinal tract.

**Materials and methods:** A total of 120 pieces of tilapia with an average weight of  $30 \pm 1$  g after acclimation for 6 weeks in 100-L aquariums were divided in 4 groups and three replicates (10 fish in each tank) and then fed with basic diet (BioMar Company, France) containing zero, 3%, 6%, and 9% red algae (C, T<sub>3%</sub>, T<sub>6%</sub> and T<sub>9%</sub>). At the end of the rearing period, the fish was anesthetized by clove powder and after dissecting the abdomen, a 0.5-cm tissue samples were removed from the middle of the esophagus, as well as the anterior, middle, and posterior parts of the intestine, then placed in 10% neutral buffered formalin as a fixative solution. After going through the routine steps of tissue preparation, including dehydration with alcohol, clarification with xylol, blocking with paraffin, cutting with a thickness of 4-6 microns with a microtome, and hematoxylin-eosin staining, finally, the evaluation was done with a light microscope.

**Results:** Histological examination in the mid-esophagus, anterior, middle, and posterior parts of the intestine showed that the highest number of mucous cells, the highest thickness of the epithelium and muscle layer, as well as the highest height and thickness of the esophageal villi were observed in the

group receiving the diet containing 9% red algae. Also, protease, amylase and lipase enzymes in the treatments had a higher level than in the control group, with the exception that the amount of protease was higher than amylase and lipase.

**Conclusion:** According to the results of the present study, it can be concluded that using red algae in the diet of Nile tilapia exhibited no side effects at the aforementioned levels, even improved tissue metric parameters.

\*Corresponding author: [abdir@kmsu.ac.ir](mailto:abdir@kmsu.ac.ir)





"مقاله پژوهشی"

## تأثیر جایگزینی جلبک قرمز بر ساختار بافت شناسی و آنزیم‌های دستگاه گوارش تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*)

ساناز کرد<sup>۱</sup>، رحیم عبدی<sup>۱\*</sup>، اسحاق زمانی<sup>۱</sup>، رحیم پیغان<sup>۲</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، خوزستان  
۲- گروه علوم درمانگاهی و قطب علمی بهداشت ماهیان گرمابی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، خوزستان

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۱

### کلمات کلیدی

### چکیده

تیلاپای نیل یکی از ماهی‌های مهم تجاری در بسیاری از نقاط جهان است. از جلبک‌های با مصارف فراوان در ترکیب جیره غذایی می‌توان به اعضای شاخه جلبک‌های قرمز اشاره کرد. هدف تحقیق حاضر، تأثیر جایگزینی جلبک قرمز در جیره بر آنزیم‌ها و فراسنجه‌های بافتی دستگاه گوارش تیلاپای نیل بوده است. برای این منظور، ۱۲۰ قطعه ماهی تیلاپیا با میانگین وزنی  $1 \pm 30$  گرم پس از سازگاری به مدت ۸ هفته در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری با جیره بیومار حاوی صفر، ۳٪، ۶٪ و ۹٪ جلبک قرمز و با سه تکرار در هر تیمار تغذیه شدند. پس از پایان دوره پرورش، ماهیان بوسیله پودر گل میخک بیهوش شده و پس از باز کردن محوطه شکمی، نمونه بافتی به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر از قسمت میانی مری و قسمت ابتدایی، میانی و انتهایی روده برداشت و در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ برای تثبیت بافت قرار داده شدند. پس از طی مراحل آماده سازی بافت شامل آگیری با الکل، شفاف سازی با گزیلول، بلوک‌گیری با پارافین، برش‌گیری به ضخامت ۶-۴ میکرون با میکروتوم و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین در نهایت مطالعه با میکروسکوپ نوری انجام شد. مطالعات هیستومتریکی در نواحی میانی مری، و همچنین ابتدا، وسط و انتهای روده نشان داد که بیشترین مقدار یاخته‌های موکوسی، بیشترین ضخامت بافت پوششی و لایه عضلانی و همچنین بیشترین ارتفاع و ضخامت پرز مری در تیمار ۹٪ جلبک قرمز بوده است. همچنین آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در تیمارهای مختلف سطح بالاتری نسبت به گروه کنترل داشتند، با این تفاوت که مقدار پروتئاز نسبت به دو آنزیم آمیلاز و لیپاز بیشتر بود. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌توان گفت که امکان استفاده از جلبک قرمز در جیره غذایی تیلاپای نیل در سطح مذکور فاقد عوارض جانبی بوده و نیز کاربرد آن در این نوع ماهی باعث بهبود فراسنجه‌های بافتی مذکور می‌شود.

## مقدمه

از طریق افزایش قدرت دستگاه ایمنی ذاتی ماهی انکارناپذیر است. این نقش مهم سبب ایجاد شاخه‌ای از علم تغذیه به نام ایمنی‌شناسی تغذیه شده است که تمرکز آن بر روی کنترل بیماری‌ها با استفاده از دستگاه ایمنی ماهی و از طریق مواد مغذی مؤثر در این امر است (Khodabakhshian et al. 2022). میزان نیاز ماهی به این مواد مسلماً از میزان نیاز برای رشد بهینه بسیار بالاتر است و دوز درمانی و پیشگیری مواد مغذی ضروری باید بررسی شود.

امروزه از مهم‌ترین مسائل در پرورش آبزیان توجه به امر تغذیه است، به طوری که برآورد شده است که در آبزی‌پروری بیش از نیمی از هزینه‌های جاری یک مزرعه پرورشی به این امر اختصاص داده می‌شود (Kabir et al. 2023; Huang et al. 2019). کیفیت جیره غذایی دریافتی در روند رشد ماهیان بسیار با اهمیت است. بنابراین، با مطالعه دقیق می‌توان با دستیابی به ترکیبات بهینه مواد غذایی و مقادیر مناسب آنها در یک جیره متعادل به این روند بهبود بخشید.

ترکیبات استخراج شده از جلبک‌های دریایی فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد اکسایشی و درمانی دارند. این دسته قابلیت خوبی برای استفاده به عنوان مکمل در فرمول‌های غذایی نیز دارند (Li et al. 2020; Magara et al. 2022). جلبک قرمز یک گونه دریایی در دسته جلبک‌هایی با یاخته چند هسته‌ای قرار می‌گیرد. این جلبک منبع غنی ویتامین‌های A، B، C، E و K همچنین منبع مواد معدنی حیاتی مانند منیزیم، کلسیم، مس، پتاسیم، سلنیوم، روی، ید و آهن است. مطالعات اخیر نشان داده است که جلبک قرمز، علاوه بر چربی کم، حاوی تمام اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب امگا ۳ ضروری برای ماهی است. معمولاً این گروه از طریق جنسی تولیدمثل می‌کنند (Wang et al. 2021). آنها به دلیل مقادیر زیادی از رنگدانه‌های فیکواریترین و فیکوسیاینین، به رنگ قرمز هستند. همچنین، این جلبک‌ها جزء گیاهان اولیه از گونه دریازی، غیرگلداری بدون ریشه، بدون ساقه و برگ هستند. با توجه به ارزش غذایی جلبک‌های دریایی قرمز به عنوان افزودنی‌های خوراک یا مکمل‌ها، در دسترس بودن و ارزان‌تر

با توجه به افزایش جمعیت و نیاز انسان‌ها به منابع پروتئینی، صنعت آبزی‌پروری باید بیش از گذشته رشد کند تا تأمین کننده این امر ضروری باشد. از سوی دیگر، آبزی‌پروری باید سودآور و دارای کمینه اثرات زیست‌محیطی باشد. از این رو، محققان در سال‌های گذشته به استفاده از مکمل‌های گیاهی روی آورده‌اند تا از این راه علاوه بر تأمین عناصر ضروری و اساسی در جیره غذایی آبزیان، اثرات مضر بر محیط زیست را نیز کاهش دهند (Okuthe and Bhomela, 2021). تیلاپیا یک ماهی پرورشی بسیار مطلوب و عالی به لحاظ سوددهی است، زیرا مراقبت زیادی نیاز ندارد و دارای رشد سریع است. همچنین، در رژیم غذایی آن از منابع گیاهی ارزان قیمت استفاده می‌شود (El-Naby et al. 2019). همین ویژگی‌های تیلاپیا سبب شده است تا این یک محصول غذایی کاملاً مقرون به صرفه باشد، به طوری که می‌تواند به راحتی با محصولات پرورشی و دریایی رقابت کند. در حال حاضر بیش از ۱۴۰ کشور جهان در حال تولید و پرورش ماهی تیلاپیا هستند. برداشت جهانی ماهی تیلاپیا پرورشی از ۶ میلیون تن فراتر رفته است و تیلاپیا را پس از کپور، پرمصرف‌ترین ماهی آب شیرین در جهان در رتبه دوم قرار داده است (Ale et al. 2020; Abdel-Latif et al. 2018).

تحقیقات نشان داده است که برخی ترکیبات دستگاه ایمنی در زمان کمبود مواد مغذی با مشکل عدم کارایی مواجه‌اند و استفاده از مواد مغذی ضروری به میزان نیاز دستگاه ایمنی، سبب افزایش شدید کارایی این خط دفاعی در ماهی شده است. مسلماً نیاز دستگاه ایمنی به مواد مغذی، بالاتر از نیاز ماهی به این مواد برای رشد است. برخی از این مواد کلیدی شامل اسیدهای آمینه هستند که سبب تحریک دستگاه ایمنی ماهی می‌شوند. علاوه بر مواد مغذی، کاربرد برخی ترکیبات غیرمغذی و افزودنی مانند بتاگلوکان و ترکیب الیگوساکاریدها، و عصاره جلبک‌های دریایی و جلبک در تحریک و افزایش کارایی دستگاه ایمنی ماهی تأیید شده است. علم تغذیه برای سالیان متمادی بر روی میزان نیاز انواع آبزیان به مواد مغذی متمرکز بوده است، اما امروزه نقش تغذیه در مدیریت بیماری‌های ماهیان پرورشی

بودن آنها سبب شد تا پودر و عصاره آن در پرورش آبزیان استفاده شود ( El-Bakary et al. 2010; Kazemi et al. 2018).

بر اساس مطالعات مشخص شد که ساختار تشریحی و بافت‌شناسی مجرای گوارشی در بسیاری از گونه‌های ماهیان از لحاظ بنیادی شباهت‌های زیادی داشته، اما از نظر عملکرد و ریخت‌شناسی تنوع زیادی در مجرا و آنزیم‌های گوارشی دیده می‌شود ( Atabati et al. 2014; Amiripour et al. 2015). به طور کلی، ساختار دستگاه گوارش در گونه‌های مختلف ماهیان براساس نوع غذا، رفتارهای تغذیه‌ای، شکل و اندازه بدن متفاوت است. حتی در یک گونه خاص نیز بر حسب محل زندگی، فصل، سن و زمان تولیدمثل تغییراتی در دستگاه گوارش ماهی مشاهده می‌شود ( Gaygusuz et al. 2010; Hasanzadeh et al. 2018).

استان خوزستان دارای شرایط زیستی مناسبی برای پرورش تیلاپپا است که ارزش اقتصادی بالایی در دنیا برای تأمین پروتئین غذایی، صادرات، اشتغال و ارزآوری دارد. بنابراین، با توجه به ارزان و سهل‌الوصول بودن این محصول، مطالعه اخیر برای بررسی مقدماتی امکان جایگزینی جلبک‌های دریایی قرمز به جای پودر ماهی در جیره غذایی و تأثیر آن بر بافت شناسی دستگاه گوارش تیلاپپای نیل و آنزیم‌های آن به مرحله اجرا درآمده است.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این طرح، ماهی‌های تیلاپپا پس از انتقال از یک مرکز پرورش از استان بوشهر در آکواریوم های ۱۰۰ لیتری از قبل ضد عفونی شده موجود در بخش بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز قرار گرفتند. سپس، در ادامه روند سازگاری با شرایط جدید، برای هوادهی و تأمین اکسیژن در هر یک از آکواریوم‌ها، دو عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بودند، نصب شد و تنها در هنگام غذادهی، هوادهی موقتاً قطع و سپس مجدداً بعد از تمیز کردن محیط برقرار می‌شد (Roshanfekar et al. 2017). آب مورد نیاز از آب لوله‌کشی شهری کلر زدایی شده استفاده و به مدت دو هفته

سازگاری انجام شد. پس از این مدت ۱۲۰ قطعه ماهی با وزن تقریبی  $1 \pm 30$  گرم به طور تصادفی به ۴ گروه با سه تکرار در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری شامل گروه شاهد دریافت کننده جیره تجاری بیومار ساخت فرانسه و فاقد پودر جلبک قرمز، گروه یک دریافت‌کننده جیره تجاری حاوی ۳٪، گروه دو ۶٪ و گروه سه ۹٪ پودر جلبک قرمز به مدت ۸ هفته دسته‌بندی شدند (Li et al. 2020). در طی مدت آزمایش، جهت تنظیم شرایط زیست محیطی برای ماهیان سنجش خصوصیات فیزیوشیمیایی آب از قبیل تنظیم شوری (ppt)، حفظ دما (۲۱ الی ۲۶ درجه سانتی‌گراد)، pH الی ۶ الی ۹ و ثابت نگه داشتن مقدار اکسیژن (۸ الی ۱۲ میلی‌گرم در لیتر) محلول به‌ترتیب با استفاده از رفرآکتومتر نوری (Horiba U-10, Japan)، دماسنج دیجیتال (Horiba U-10, Japan)، دستگاه قابل حمل سنجش pH مدل Ebro.PHT-3140 انجام شد. همچنین، اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن مدل TECPEL DO-1609 به طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های آمونیاک، نیتریت، نیترات و سختی کل آب از دستگاه کالری‌متر هک (مدل ۸۹، شرکت هک، آمریکا) استفاده می‌شد (Roshanfekar et al. 2018). برای تعویض آب در طی مدت نگهداری و آزمایش به میزان ۲۰٪ حجم آکواریوم به صورت روزانه و پس از اتمام تغذیه برای جلوگیری از افزایش آمونیاک و متابولیت‌های دیگر از ناحیه کف سیفون تخلیه می‌شد. همچنین، غذا دهی ماهیان به میزان ۳٪ وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر با غذای تهیه شده انجام می‌شد (Hasanzadeh et al. 2018). پس از پایان دوره آزمایش به تعداد پنج قطعه ماهی از هر تیمار پس از بیهوشی با پودر گل میخک به مقدار ۰/۵ گرم در لیتر، به منظور مطالعات بافتی نمونه‌هایی به ابعاد ۰/۵ سانتی‌متر از قسمت میانی بافت مری و قسمت‌های ابتدایی، میانی و انتهایی روده جدا، و درون سبدهای نمونه‌گیری قرار داده شد و بعد از نامگذاری در محلول تثبیت کننده فرمالین بافر ۱۰٪ قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت اقدام به تعویض فرمالین نمونه‌ها و جایگزینی آن‌ها با الکل ۷۰٪ شد (Amiripour et al. 2015). در ادامه، برای انجام پاساژ بافتی نمونه‌ها پس از تثبیت، طبق

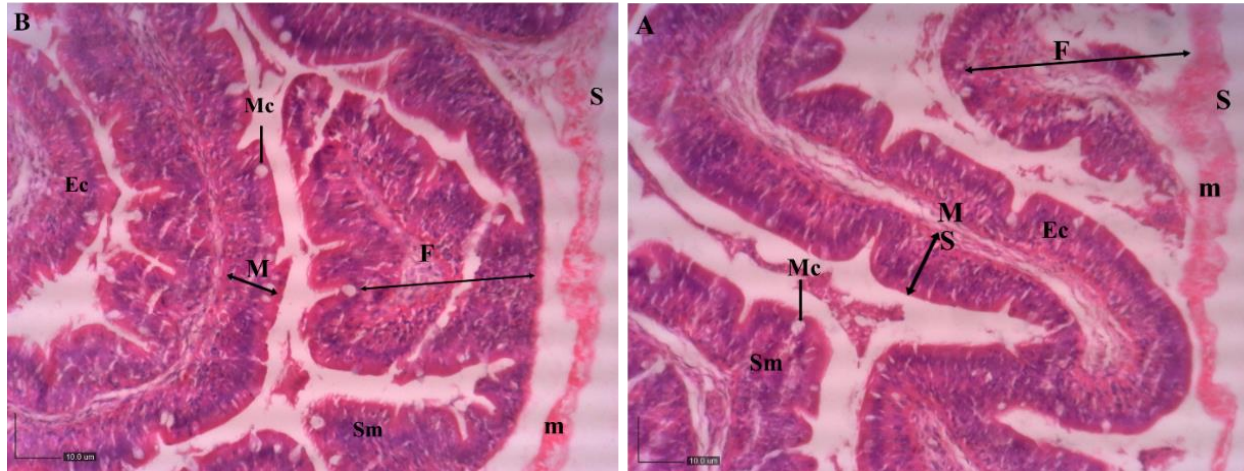
داده های به دست آمده براساس میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) از میانگین آماری گزارش شدند. همچنین برای آزمون آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. برای مقایسه از آزمون واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) استفاده و گروه ها بر اساس تغذیه های متفاوت مقایسه شدند. در مواردی که تداخل بین تیماری وجود داشت، جزئیات مقایسه درون گروهی و بین گروهی ارائه، و در مواردی که اختلاف آماری بین گروه ها معنی دار بود، از پس آزمون توکی برای مشخص کردن اختلاف معنی دار بین تک تک گروه ها استفاده شد. در تمامی موارد، مقدار  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد (Foyals et al. 2020; Nochalabadi et al. 2023).

### نتایج

مطالعات ریزبینی مری نشان داد که این بافت دارای چین خوردگی های مخاطی متعدد بوده و به سمت قسمت انتهایی مری این چین ها باریک تر و بلندتر می شدند. همچنین، بافت پوششی مری از نوع سنگفرشی مطبق همراه با یاخته های گرانولر (دانه دار) ترشحی مشاهده شد (شکل ۱). در مطالعات هیستومتری مری، شاخص هایی مانند ارتفاع و ضخامت پرز، ضخامت بافت پوششی و لایه عضلانی (برحسب میکرومتر) و تغییر تعداد یاخته های موکوسی سنجش شد. بر این اساس، بیشترین تعداد یاخته های موکوسی، بیشترین مقدار ضخامت بافت پوششی، بیشترین مقدار ضخامت لایه عضلانی و بیشترین مقدار ضخامت ارتفاع پرز در تیمار ۹٪ پودر جلبک قرمز و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده شد (جدول ۱).

روش معمول بافتی آماده و پس از گذراندن مراحل پاساژ بافتی شامل آبگیری توسط الکل با درصدهای صعودی، شفاف سازی توسط محلول گزیلول و آغشته سازی به پارافین در دمای ۶۰-۵۸ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه پاساژ بافت (RX-11B, Tissue Tekrotary, Japan) انجام، و در نهایت نمونه ها برای انجام قالب گیری آماده سازی شدند (Atabati et al. 2014). در نهایت، برش هایی با ضخامت ۴-۶ میکرون توسط میکروتوم مدل LEICA-RM2245 ساخت کشور آلمان تهیه، و رنگ آمیزی عمومی هماتوکسیلین-ئوزین و پرئودیک اسید شیف انجام شد. سپس، توسط میکروسکوپ نوری مجهز به لنز Dino-Lite و دستگاه کامپیوتر مجهز به نرم افزار داینو کیچر بررسی و عکس برداری بر روی آنها انجام شد (Moallem et al. 2015; Khodabakhshian et al. 2022).

برای مطالعات آنزیمی نمونه های گرفته شده از قسمت میانی روده توسط سرم فیزیولوژی شسته و برای جلوگیری از اتولیز (تجزیه) به فریزر با دمای ۸۰- سانتی گراد منتقل شدند. بعد از خارج کردن نمونه ها از فریزر آنها را به ظرف مخصوص هموژن (همگن) منتقل کرده و به نسبت ۱ به ۹ محلول بافر همگن (ترکیبی از ۱۰۰ میلی مولار Tris-HCl، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ۰/۱٪ Triton X100 روی آنها ریخته شد. به دنبال این امر، آنها به کمک هموژنایزر (همگن ساز) ترکیب شدند و همگی مراحل نزدیک یخ و در دمای پایین انجام شد. بعد از آن، نمونه همگن شده از ظروف خارج، و به ریزلوله های (میکروتیوب های) مخصوص منتقل شدند. سپس، ریزلوله ها به سانتریفیوژ یخچال دار با دمای ۴ درجه سانتی گراد و ۶۰۰۰ دور منتقل و عمل سانتریفیوژ انجام شد. در ادامه محلول رویی برداشت و برای سنجش آنزیمی به دستگاه اتوآنالیزر منتقل و نتایج به دست آمده برای میزان فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول بر میلی گرم پروتئین گزارش شد (Falahatkar et al. 2013).



شکل ۱ میکروگراف نوری از قسمت میانی مری در گروه شاهد (A) و تیمار حاوی ۹٪ پودر جلبک قرمز (B) (H&E, x40). لایه مخاطی (M)، لایه زیرمخاط (Sm)، چین مخاطی (F)، یاخته‌های پوششی (Ec)، یاخته مخاطی (Mc)، سروز (S) و لایه عضلانی (m).

**Figure 1.** Light micrograph of the middle part of the esophagus in the control (A) and the treatment containing 9% red algae powder (B; H&E, 40X). Mucous layer (M), Submucosal layer (Sm), Mucosal folds (F), Epithelial cells (Ec), Mucosal cells (Mc), Serosa (S), and Muscular layer (m).

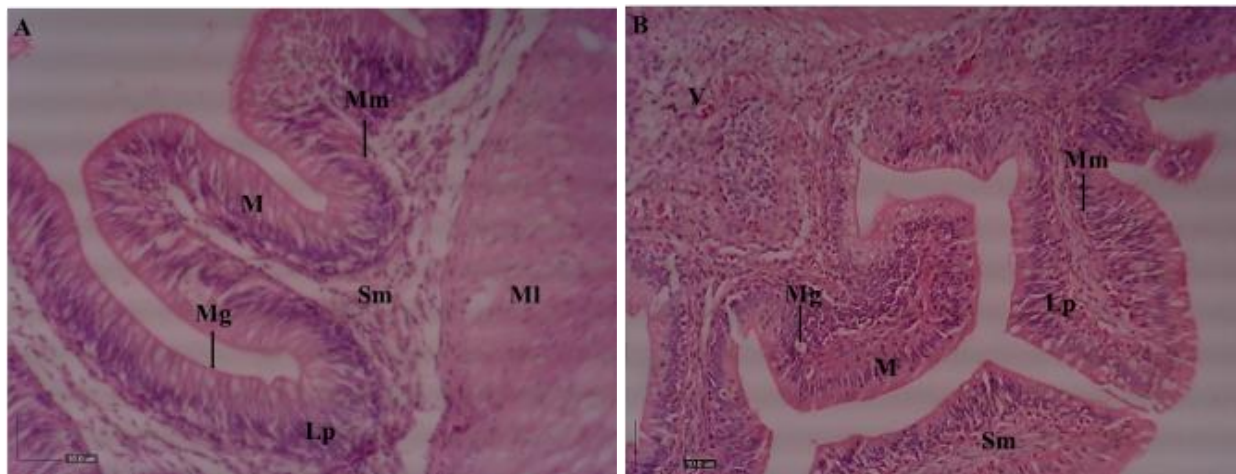
جدول ۱ شاخص‌های بافتی اندازه‌گیری شده (Mean ± SEM) در مری تیلاپای نیل به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف در مدت ۸ هفته. حروف متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی داری در سطح (p < 0.05) است.

**Table 1** Mean ± SEM of tissue indices measured in the esophagus of Nile tilapia following the replacement of red algae powder in the diet in different treatments for 8 weeks. Different letters in each row indicate a significant difference in the level (p < 0.05).

Indices	Control	T <sub>3%</sub>	T <sub>6%</sub>	T <sub>9%</sub>
Mucous cells (100 μm <sup>2</sup> )	25.2 ± 13.81 <sup>a</sup>	44.17 ± 28.2 <sup>a</sup>	36.2 ± 22.65 <sup>b</sup>	41.3 ± 11.61 <sup>c</sup>
Epithelium thickness (μm)	51.24 ± 22.1 <sup>a</sup>	25.2 ± 11.51 <sup>a</sup>	81.76 ± 27.1 <sup>a</sup>	33.2 ± 31.61 <sup>b</sup>
Muscle layer thickness (μm)	136.23 ± 22.77 <sup>a</sup>	140.22 ± 11.74 <sup>a</sup>	142.32 ± 44.52 <sup>a</sup>	158.45 ± 15.61 <sup>b</sup>
Villi height (μm)	135.30 ± 13.13 <sup>a</sup>	137.33 ± 13.56 <sup>a</sup>	140.44 ± 15.15 <sup>a</sup>	151.47 ± 12.38 <sup>b</sup>
Villi thickness (μm)	45.3 ± 35.66 <sup>a</sup>	49.3 ± 32.19 <sup>a</sup>	54.4 ± 25.25 <sup>a</sup>	66.4 ± 52.12 <sup>b</sup>

همبندی سست فاقد غدد و در زیر آن در حد فاصل پارین و زیر مخاط لایه نازکی از ماهیچه مخاطی به صورت رشته‌های عضلانی صاف پراکنده بود. زیرمخاط از نوع بافت همبند سخت و فاقد غدد بود. طبقات عضلانی از نوع صاف بود و از خارج توسط بافت همبند و یک لایه یاخته‌های سنگفرشی (سروز) مفروش شده بود. همچنین، از ابتدا به سمت انتهای روده بر تعداد یاخته‌های موکوسی بافت پوششی مخاط، به-خصوص در گروه دریافت کننده پودر جلبک با درصد بالا افزوده می‌شد (شکل ۲).

میکروگراف‌های بافتی تهیه شده از روده نشان داد که ساختار روده دارای چهار لایه به ترتیب از داخل به خارج لایه مخاطی، لایه نازک زیر مخاطی، لایه عضلانی از نوع صاف و لایه سروزی در قسمت خارج بوده است. چین‌های مخاطی یا پرزها در قسمت ابتدایی روده بلندتر از دیگر قسمت‌ها بوده و به سمت فضای داخلی روده کشیده شده که نشان دهنده میزان جذب بالای مواد غذایی در این قسمت از روده است. بافت پوششی ناحیه مخاطی روده از نوع استوانه‌ای ساده همراه با یاخته‌های موکوسی فراوان بود. پارین از نوع بافت



شکل ۲ میکروگراف نوری از گروه شاهد قسمت ابتدایی روده (A) و قسمت انتهایی روده تیمار ۹٪ پودر جلبک قرمز (B) (H&E, 40X). لایه مخاطی (M)، پارین (Lp)، لایه زیرمخاط (Sm)، عضله مخاطی (Mm)، لایه عضلانی (MI)، سروز (S)، غدد موکوسی (Mg).

**Figure 2. Light micrograph of control group, the anterior part of the intestine (A) as well as the posterior part of the intestine in treatment containing 9% red algae powder (T<sub>9%</sub>; B; H&E, 40X). Mucous layer (M), Lamina propria (Lp), Submucosa layer (Sm), Muscularis mucosae (Mm), Muscular layer (MI), Serosa (S), Mucous glands (Mg).**

ضخامت بافت پوششی ( $۸۶/۱۱ \pm ۳۵/۳$ )، ضخامت لایه عضلانی ( $۷۷/۸۸ \pm ۱۶۰/۱۵$ )، ارتفاع ( $۱۱۸/۱۲ \pm ۸۸/۴۳$ ) و ضخامت پرز ( $۷۳/۷ \pm ۲۲/۷۳$ ) در تیمار ۹٪ و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده شد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم‌های گوارشی شامل پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در ماهی تیلاپیا نیل طی جایگزینی جیره‌های حاوی صفر، ۳٪، ۶٪ و ۹٪ جلبک قرمز در جدول ۳ ارائه شده است. بر این اساس، آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در گروه‌های تیمار سطح بالایی نسبت به گروه شاهد داشته، با این تفاوت که سطح پروتئاز نسبت به آمیلاز و لیپاز بالاتر بوده است. کمترین مقدار آنزیم آمیلاز در گروه شاهد و بیشترین مقدار در تیمار ۹٪ مشاهده شد. همچنین، مقدار آنزیم آمیلاز در تیمار ۹٪ اختلاف معنی دار نسبت به دیگر گروه‌ها داشته است ( $p < ۰/۰۵$ ). کمترین مقدار آنزیم برای گروه شاهد و بیشترین مقدار برای تیمار ۹٪ ثبت شد. همچنین، مقدار لیپاز در تمام گروه‌ها اختلاف معنی دار نداشت ( $p > ۰/۰۵$ ). کمترین مقدار پروتئاز ( $۱/۰۸ \pm ۰/۴۵$ ) در گروه شاهد و بیشترین مقدار ( $۵/۱۱ \pm ۰/۹۱$ ) در تیمار

نتایج آزمایش‌های هیستومتریک در ناحیه روده مربوط به اندازه‌گیری شاخص‌هایی مانند ارتفاع، ضخامت پرز، ضخامت بافت پوششی، ضخامت لایه عضلانی (برحسب میکرومتر  $m\mu$ ) و تغییر تعداد یاخته‌های موکوسی طی جایگزینی جیره‌های حاوی درصد‌های مختلف پودر جلبک قرمز به مدت ۸ هفته در جدول ۲ گزارش شده است. در این آزمایش‌ها، در ناحیه ابتدایی روده بیشترین تعداد یاخته‌های موکوسی ( $۱۲/۶۶ \pm ۳۸/۳$ )، ضخامت بافت پوششی ( $۲۱/۱۱ \pm ۳۹/۳$ )، ضخامت لایه عضلانی ( $۱۶/۶۳ \pm ۱۵۵/۱۵$ )، ارتفاع ( $۱۳۰/۱۲ \pm ۸۸/۸۳$ ) و ضخامت پرز ( $۱۳/۹۹ \pm ۶۰/۵$ ) در تیمار ۹٪ پودر جلبک قرمز و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین در ناحیه میانی روده بیشترین تعداد یاخته‌های موکوسی ( $۱۶/۲۶ \pm ۴۰/۳$ )، ضخامت بافت پوششی ( $۳۴/۳ \pm ۷۶/۷۱$ )، ضخامت لایه عضلانی ( $۱۷/۳۳ \pm ۱۵۸/۱۵$ )، ارتفاع ( $۳۸/۹۳ \pm ۱۳۰/۱۲$ ) و ضخامت پرز ( $۹۹/۱۱ \pm ۶۵/۵$ ) در تیمار ۹٪ و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده شد. در نهایت در ناحیه انتهایی روده بیشترین تعداد یاخته‌های موکوسی ( $۴۴/۵۶ \pm ۴۲/۳$ )،



۹٪ مشاهده شد. مقدار پروتئاز در تیمار ۹٪ اختلاف معنی دار با دیگر گروهها داشت ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲ شاخص های بافتی اندازه گیری شده (Mean  $\pm$  SEM) در روده تیلاپای نیل به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف در مدت ۸ هفته. حروف متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی داری در سطح  $p < 0.05$  است.

**Table 2 Mean  $\pm$  SEM of the tissue indices measured in the intestine of Nile tilapia following the replacement of red algae powder in the diet in different treatments for 8 weeks. Different letters in each row indicate a significant difference at the level of  $p < 0.05$ .**

Indices	Control	T1	T2	T3
<b>Anterior of the intestine</b>				
Mucous cells (100 $\mu\text{m}^2$ )	21.36 $\pm$ 2.19 <sup>a</sup>	25.33 $\pm$ 2.13 <sup>a</sup>	29.29 $\pm$ 2.33 <sup>a</sup>	38.12 $\pm$ 3.66 <sup>b</sup>
Epithelium thickness ( $\mu\text{m}$ )	21.22 $\pm$ 2.13 <sup>a</sup>	25.21 $\pm$ 2.64 <sup>a</sup>	30.18 $\pm$ 3.81 <sup>a</sup>	39.21 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>
Muscle layer thickness ( $\mu\text{m}$ )	132.22 $\pm$ 12.33 <sup>a</sup>	137.25 $\pm$ 13.39 <sup>a</sup>	143.44 $\pm$ 14.39 <sup>a</sup>	155.16 $\pm$ 15.63 <sup>b</sup>
Villi height ( $\mu\text{m}$ )	98.55 $\pm$ 8.33 <sup>a</sup>	105.11 $\pm$ 11.22 <sup>a</sup>	117.12 $\pm$ 12.18 <sup>b</sup>	130.88 $\pm$ 12.83 <sup>c</sup>
Villi thickness ( $\mu\text{m}$ )	42.66 $\pm$ 2.18 <sup>a</sup>	46.11 $\pm$ 5.19 <sup>a</sup>	51.75 $\pm$ 4.68 <sup>a</sup>	60.13 $\pm$ 5.99 <sup>b</sup>
<b>Middle of the intestine</b>				
Mucous cells (100 $\mu\text{m}^2$ )	24.66 $\pm$ 2.44 <sup>a</sup>	29.16 $\pm$ 2.62 <sup>a</sup>	32.18 $\pm$ 3.11 <sup>a</sup>	40.16 $\pm$ 3.26 <sup>b</sup>
Epithelium thickness ( $\mu\text{m}$ )	23.12 $\pm$ 2.67 <sup>a</sup>	27.21 $\pm$ 2.88 <sup>a</sup>	34.76 $\pm$ 3.71 <sup>a</sup>	45.42 $\pm$ 14.99 <sup>b</sup>
Muscle layer thickness ( $\mu\text{m}$ )	121.17 $\pm$ 12.58 <sup>a</sup>	133.26 $\pm$ 12.76 <sup>a</sup>	138.65 $\pm$ 13.19 <sup>a</sup>	158.17 $\pm$ 15.33 <sup>b</sup>
Villi height ( $\mu\text{m}$ )	100.45 $\pm$ 9.13 <sup>a</sup>	111.11 $\pm$ 11.72 <sup>a</sup>	121.17 $\pm$ 12.58 <sup>b</sup>	130.38 $\pm$ 12.93 <sup>c</sup>
Villi thickness ( $\mu\text{m}$ )	43.19 $\pm$ 3.99 <sup>a</sup>	48.31 $\pm$ 4.11 <sup>a</sup>	53.55 $\pm$ 4.88 <sup>b</sup>	65.99 $\pm$ 5.11 <sup>c</sup>
<b>Posterior of the intestine</b>				
Mucous cells (100 $\mu\text{m}^2$ )	25.16 $\pm$ 2.31 <sup>a</sup>	31.33 $\pm$ 2.62 <sup>a</sup>	36.68 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>	42.44 $\pm$ 3.56 <sup>b</sup>
Epithelium thickness ( $\mu\text{m}$ )	23.22 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	28.11 $\pm$ 2.38 <sup>a</sup>	32.88 $\pm$ 3.61 <sup>b</sup>	35.86 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>
Muscle layer thickness ( $\mu\text{m}$ )	138.66 $\pm$ 12.44 <sup>a</sup>	141.55 $\pm$ 13.88 <sup>a</sup>	148.22 $\pm$ 14.59 <sup>b</sup>	160.77 $\pm$ 15.88 <sup>b</sup>
Villi height ( $\mu\text{m}$ )	91.55 $\pm$ 9.44 <sup>a</sup>	98.09 $\pm$ 8.33 <sup>a</sup>	110.11 $\pm$ 10.28 <sup>b</sup>	118.88 $\pm$ 12.43 <sup>b</sup>
Villi thickness ( $\mu\text{m}$ )	51.11 $\pm$ 4.33 <sup>a</sup>	57.23 $\pm$ 4.79 <sup>a</sup>	61.52 $\pm$ 5.80 <sup>b</sup>	73.22 $\pm$ 7.73 <sup>c</sup>

جدول ۳. آنزیم های گوارشی تیلاپای نیل بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین (Mean  $\pm$  SEM) به دنبال جایگزینی جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف در مدت ۸ هفته. حروف متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی داری در سطح  $p < 0.05$  است.

**Table 3 Mean  $\pm$  SEM of Nile tilapia digestive enzymes (units per mg of protein) following the replacement of red algae in the diet in different treatments for 8 weeks. Different letters in each row indicate a significant difference at the level of  $p < 0.05$ .**

Indices	Control	T1	T2	T3
Amylase	39.26 $\pm$ 11.1	48.18 $\pm$ 12.1	66.59 $\pm$ 12.11	55.89 $\pm$ 14.1
Lipase	5.45 $\pm$ 0.77	5.33 $\pm$ 0.38	6.55 $\pm$ 0.48	7.55 $\pm$ 0.11
Protease	1.08 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	2.21 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	3.33 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>	5.11 $\pm$ 0.91 <sup>b</sup>

موجودات به عنوان ماده مغذی پرورش داده و خورده می شوند. استفاده از جلبکها در جیره غذایی و به کارگیری داروها با منشاء گیاهی با اهداف مختلف مانند تحریک دستگاه ایمنی ماهیان موفقیت های زیادی را برای صنعت

#### بحث

جلبک قرمز دریایی به دلیل محتوای فراوان مواد مغذی پروتئینی، معدنی و همچنین برخی از خواص مفید، برای مدت طولانی در برخی مناطق توسط انسانها و دیگر

بود. مطرود زاده و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند که بافت پوششی مخاط مری از نوع استوانه‌ای ساده، اما در برخی استوانه‌ای مطبق همراه با تعداد بسیار زیاد یاخته‌های موكوسی است. یاخته‌های موكوسی ترکیبات گلیکوپروتئینی را ترشح می‌کنند که مخاط نامیده می‌شوند و روده را در برابر آسیب باکتری‌ها و سموم محیطی محافظت می‌کنند (Matrozdadeh et al. 2021). نتایج به دست آمده از شاخص‌های بافت‌شناختی مری و روده به‌خصوص در گروه شاهد با مطالعات انجام شده بر روی دیگر ماهی‌ها همچون کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، سس ماهی چسبنده (*Barbus plebejus*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، لوچ‌ماهی (*Chromobotia macracanthus*) و گل‌آذین‌ماهی (*Atherina boyeri*) نیز مطابقت دارد. میکروگراف‌های بافتی تهیه شده از روده نشان داد که ساختار روده تیلایپای نیل تغذیه شده به وسیله درصد‌های مختلف پودر جلبک قرمز در تمامی قسمت‌ها تقریباً مشابه بوده و شامل چهار لایه به ترتیب از داخل به خارج لایه مخاطی، لایه نازک زیر مخاطی، لایه عضلانی از نوع صاف و لایه سروزی در قسمت خارج بوده است. چین‌های مخاطی یا پرزها در قسمت ابتدایی روده و در گروه دریافت‌کننده پودر جلبک با درصد بالا، بلندتر از دیگر قسمت‌ها بوده و به سمت فضای داخلی روده کشیده می‌شود که نشان‌دهنده میزان جذب بالای مواد غذایی در این قسمت از روده است. معمولاً این ویژگی در ماهی‌هایی با رژیم گیاهخواری دیده می‌شود و اعتقاد بر این است که این نوع ساختار به فرایندهای جذب کمک می‌کند. چین‌های مخاطی برای استفاده و جذب کارآمد غذا بسیار مؤثر است (Wardani et al. 2020). درازای روده و تعداد پرزها باعث افزایش تعداد انتروسیست‌ها (یاخته‌های روده‌ای) که اغلب توسط اتصالات محکم به یکدیگر متصل می‌شوند. این یاخته‌ها با اتصالات محکم با هم یک سد پیوسته را تشکیل می‌دهند که هم انتشار بین‌یاخته‌ای و هم اطراف یاخته‌ای مولکول‌ها را تنظیم می‌کند؛ بنابراین، جزء اصلی سد اولیه روده است. پرزهای روده‌ای در تیلایپای نیل مانند دیگر ماهیان استخوانی از جمله ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*)، قزل‌آلای

آبزی‌پروری به ارمغان آورده است. بر اساس مطالعات ترکیبات زیستی متعددی با گستره‌ی کاربردی متنوع همانند اثرات ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و ضدسرطانی از جلبک‌های دریایی شناسایی و استخراج شده است و بسیاری از متابولیت‌های اولیه و یا ثانویه آنها می‌توانند به مواد زیست‌فعال مورد استفاده در صنایع دارویی تبدیل شوند (Younis et al. 2012).

خصوصیات ریخت‌شناختی دستگاه گوارش در ماهی برای درک زیست‌شناسی گونه‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و آسیب‌شناسی بسیار ضروری است. شباهت‌های بنیادی بین ساختار بافت پوششی مری و روده در ماهی و دیگر مهره‌داران وجود دارد و از نظر درشت‌بینی و ریزبینی، وجود تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در شکل و عملکرد مجرای گوارشی در میان گونه‌های مختلف ماهیان دیده می‌شود (Moradkhani et al. 2020). به طور کلی، ساختار دستگاه گوارش در گونه‌های مختلف ماهیان بر اساس نوع غذا، رفتارهای تغذیه‌ای و شکل بدن متفاوت است. در این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر تجویز خوراکی جلبک قرمز بر ساختار و آنزیم‌های گوارشی در ماهی تیلایپای نیل چهار جیره آزمایشی شامل گروه شاهد فاقد جلبک و سه جیره غذایی حاوی جلبک قرمز شامل تیمار ۱ به میزان ۳٪، تیمار دو ۶٪ و تیمار سه ۹٪ وزن غذا به مدت ۸ هفته انجام شد. مری در ماهیان مسئول انتقال غذا از بخش دهانی-حلقی به سمت معده و یا روده است. محققان معتقدند که تأمین سلامت دستگاه گوارش و به دنبال آن، بهبود وضعیت ساختار مری و پرزهای روده از مهم‌ترین موارد مؤثر بر بهره‌وری خوراک و به دنبال آن، رشد ماهی است (Strassert et al. 2021). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مخاط مری ماهی تیلایپای نیل دارای چین خوردگی‌های مخاطی متعدد و بافت پوششی آن از نوع سنگفرشی مطبق همراه با یاخته‌های گرانولر (دانه‌دار) ترشحی است. عضلات صاف ماهیچه مخاطی به صورت دستجات متعدد پارین را از زیر مخاط مجزا می‌کند، به طوری که زیرمخاط بسیار نازک بود و در این ناحیه نیز هیچ غده‌ای مشاهده نشد. سطح خارجی عضلات توسط لایه‌ای از بافت همبند و یک ردیف یاخته‌های سنگفرشی مفروش شده

افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم آمیلاز در مقایسه با تیمار شاهد شدند (Ranjan et al. 2020). در مطالعه Farhoudi و همکاران بر روی فعالیت آمیلاز و لیپاز تحت تأثیر سطوح مختلف جلبک گراسیلاریا، فعالیت آنزیم‌های مذکور در گروه تغذیه شده با جیره آزمایشی حاوی ۹٪ گراسیلاریا نسبت به گروه شاهد تفاوت آشکاری را نشان داد (Farhoudi et al. 2020). مرشدی و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که استفاده از ۹٪ جلبک گراسیلاریا در جیره غذایی سی‌باس آسیایی حاکی از اختلاف در میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و پروتئاز در مقایسه با گروه شاهد بود (Morshedi et al. 2018).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از نظر تغییر ساختاری در بافت مری و روده، بهبود شاخص‌ها و عدم تلفات پودر جلبک قرمز دریایی می‌تواند با عملکرد مثبت تا حدودی جایگزین مناسب به جای پودر ماهی در جیره غذایی تیلاپیی نیل در کنار جایگزین‌های احتمالی پروتئین‌های حیوانی و گیاهی دیگر جهت تغذیه این ماهیان باشد. این امر در نهایت، موجب کاهش هزینه و کاهش وابستگی به پودر ماهی برای تأمین پروتئین مورد نیاز ماهیان تیلاپیی نیل خواهد شد. همچنین مطالعات گسترده‌تر جهت آگاهی بیشتر از توانایی‌های جلبک قرمز به عنوان یک محرک گیاهی برای بهبود شاخص‌های بافت‌شناسی و تقویت دستگاه ایمنی با توجه به گونه‌های ماهی توصیه می‌شود.

#### منابع

- Abdel-Latif, H.M., Dawood, M.A., Menanteau-Ledouble, S. El-Matbouli, M. 2020. The nature and consequences of co-infections in Tilapia: A review. Journal of Fish Diseases 43: 651-664. DOI: [10.1111/jfd.13164](https://doi.org/10.1111/jfd.13164).
- Ale, A., Bacchetta, C., Rossi, A.S., Galdoporpora, J., Desimone, M.F., Fernando, R., Cazenave, J. 2018. Nanosilver toxicity in gills of a Neotropical fish: Metal accumulation,

رنگین کمان و گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) نقش جذبی دارند. همچنین، از ابتدا به سمت انتهای روده بر تعداد یاخته‌های موکوسی بافت پوششی مخاط، به‌خصوص در تیمار دریافت‌کننده پودر جلبک با درصد بالا افزوده می‌شد. این یافته‌ها با بررسی‌های انجام شده بر روی ساختار روده بیشتر ماهیان آب شیرین و آب شور از جمله کپور معمولی و قزل‌آلای رنگین‌کمان مطابقت دارد. محققان نشان دادند که استفاده از درشت‌جلبک گراسیلاریا در تغذیه سیم دریایی جوان در سطح ۵، ۱۵ و ۲۵٪ تغییری در لایه‌های زیرمخاطی روده ایجاد نکرده بود. این مسئله به عواملی از جمله طی دوره مطالعه، طیف استفاده از درشت‌جلبک و همچنین، تعداد تکرارها نسبت داده شد. همچنین در تحقیق انجام شده توسط Andrade و همکاران (۲۰۱۳) که ریخت‌شناسی روده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را با جایگزینی درشت‌جلبک گراسیلاریا بررسی کردند، از نظر ضخامت لایه عضلانی روده، ارتفاع یاخته روده‌ای و پهنای پرز تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده شد (Andrade et al. 2013).

در این مطالعه با اندازه‌گیری آنزیم‌های گوارشی در ماهی تیلاپیی نیل طی جایگزینی جیره با درصد‌های مختلف جلبک قرمز نشان داده شد که آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در گروه‌های تیمار سطح بالایی نسبت به گروه شاهد داشتند. با این تفاوت که سطح پروتئاز نسبت به دو آنزیم آمیلاز و لیپاز بیشتر بود. تغییر فعالیت آنزیم‌های گوارشی توسط جلبک‌های مختلف در چندین تحقیق گزارش شده است. به طور مشابه محققان نشان دادند که تیمارهای حاوی سطوح مختلف عصاره جلبک منجر به

- oxidative stress, histopathology and other physiological effects. Ecotoxicology and Environmental Safety 148: 976-984. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.11.072](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.072).
- Amiripour, L., Abdi, R., Movahedinia, A.A., Sahraian, M. 2015. Study of liver and intestine tissue structure in orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*) during larval development. Journal of Oceanography 6: 87-92. (In Persian).

- Andrade, P.B., Barbosa, M., Matos, R.P., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T., Valentão, P. 2013. Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry* 138: 1819-1828. DOI: [10.1016/j.foodchem.2012.11.081](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.081).
- Atabati, A., Savari, A., Movahedinia, A., Abdi, R. 2014. Histopathological studies on liver of *Euryglossa orientalis*, in coastal areas of the northern Persian Gulf. *Journal of Animal Environment* 6: 135-144. (In Persian).
- Farhoudi, A., Sourinejad, I., Nafisi Bahabadi, M., Sajadi, M.M., Salarzadeh, A. 2020. Dietary supplemental effects of macroalgae *Gracilaria pygmaea* on proximate analysis, apparent digestibility and digestive enzymes activity of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Aquaculture Sciences* 7: 195-206. (In Persian).
- El-Bakary, N.E.R., El-Gammal, H.L. 2010. Comparative histological, histochemical and ultrastructural studies on the proximal intestine of flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Global Veterinaria* 4: 548-553.
- El-Naby, F.S.A., Naiel, M.A.E., Al-Sagheer, A.A., Negm, S.S. 2019. Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 501: 82-89. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2018.11.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.014).
- Foysal, M.J., Alam, M., Kawser, A., Hasan, F., Rahman, M.M., Tay, C.Y. 2020. Metaomics technologies reveals beneficiary effects of *Lactobacillus plantarum* as dietary supplements on gut microbiota, immune response and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 520: 1-13. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2020.734974](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734974).
- Gaygusuz, C.G., Tarkan, A.S., Gaygusuz, O. 2010. The diel changes in feeding activity, microhabitat preferences and abundance of two freshwater fish species in small temperate streams (Omerli, Istanbul). *Ekoloji* 19: 15-24. DOI: [10.5053/ekoloji.2010.763](https://doi.org/10.5053/ekoloji.2010.763).
- Hasanzadeh, S., Abdi, R., Salari-Aliabadi, M.A., Movahedinia, A., Basir, Z. 2018. Comparative histomorphology of esophagus and intestine in two carnivorous and phytoplankton feeder fish of Persian Gulf. *Journal of Animal Environment* 10: 381-388. (In Persian).
- Huang, Z., Gao, J., Peng, C., Song, J., Xie, Z., Jia, J., Li, H., Zhao, S., Liang, Y., Gong, B. 2023. The effect of the microalgae *Chlorella vulgaris* on the gut microbiota of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is feeding-time dependent. *Microorganisms* 11, 1002. DOI: [org/10.3390/microorganisms11041002](https://doi.org/10.3390/microorganisms11041002).
- Kabir, K.A., Verdegem, M.C.J., Verreth, J.A.J., Phillips, M.J., Schrama, J.W. 2019. Effect of dietary protein to energy ratio, stocking density and feeding level on performance of Nile tilapia in pond aquaculture. *Aquaculture* 511: 1-9. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2019.06.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.06.014).
- Kazemi, M., Abediankenari, A., Rabiei, R. 2018. Effect of marine macroalgae on growth performance and immune response in rainbow trout fingerlings. *Fisheries Science and Technology* 7: 9-16. DOI: [20.1001.1.23225513.1396.7.1.1.6](https://doi.org/20.1001.1.23225513.1396.7.1.1.6). (In Persian).
- Khodabakhshian, M., Shirali, S., Abdi, R. 2022. Microscopic survey of Balbiani bodies in Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*), Abu Mullet (*Planiliza abu*), Common carp (*Cyprinus carpio*) and Benni (*Barbus sharpeyi*). *Journal of Animal Research* 34: 375-389. (In Persian). DOI: [20.1001.1.23832614.1400.34.4.6.9](https://doi.org/20.1001.1.23832614.1400.34.4.6.9).
- Li, Y., Kortner, T.M., Chikwati, E.M., Belghit, I., Lock, E.J., Kroghdahl, A. 2020. Total replacement of fish meal with black

- soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 520: 1-9. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2020.734967](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734967).
- Magara, G., Prearo, M., Vercelli, C., Barbero, R., Micera, M., Botto, A., Caimi, C., Caldaroni, B., Bertea, C.M., Mannino, G. 2022. Modulation of antioxidant defense in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with a diet supplemented by the waste derived from the supercritical fluid extraction of basil (*Ocimum basilicum*). *Antioxidants* 11: 1-20. DOI: [10.3390/antiox11020415](https://doi.org/10.3390/antiox11020415).
- Matrozdadeh, M., Abdi, R., Basir, Z., Peyghan, R. 2023. Histological and enzymatic study of the liver of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during the replacement of blood powder instead of fish meal in the diet. *Journal of Oceanography* 14: 69-78. (In Persian). DOI: [20.1001.1.15621057.1402.14.53.3.7](https://doi.org/20.1001.1.15621057.1402.14.53.3.7).
- Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. 2013. Effect of winter feeding and starvation on the growth performance of young-of-year (YOY) great sturgeon, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology* 29: 26-30. DOI: [org/10.1111/j.1439-0426.2012.02017.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.02017.x).
- Moallem, Z., Abdi, R., Movahedinia, A., Shirali, S., Salati, A.P. 2015. Gonad histology and gonadosomatic index variations during gonadal development of wild female *Tenuulosa ilisha*. *Journal of the Persian Gulf* 6: 53-58.
- Moradkhani, A., Abdi, R., Salari-Aliabadi, M.A., Nabavi, S.M.B., Basir, Z. 2020. Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in, shabbout, *Arabibarbus grypus* (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), in warm and cold seasons. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 50: 423-432. DOI: [10.3750/AIEP/02910](https://doi.org/10.3750/AIEP/02910).
- Morshedi, V., Nafisi Bahabadi, M., Sotoudeh, E., Azodi, M., Hafezieh, M. 2018. Nutritional evaluation of *Gracilaria pulvinata* as partial substitute with fish meal in practical diets of barramundi (*Lates calcarifer*). *Journal of Applied Phycology* 30: 619-628. DOI: [10.1007/s10811-017-1199-y](https://doi.org/10.1007/s10811-017-1199-y).
- Nochalabadi, A., Morovvati, H., Abdi, R. 2023. Histomorphometry of liver and some blood factors of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to different concentrations of ammonia. *Pollution* 9: 1225-1235. DOI: [10.22059/poll.2023.352271.1716](https://doi.org/10.22059/poll.2023.352271.1716).
- Okuthe, G.E., Bhomela, B. 2021. Morphology, histology and histochemistry of the digestive tract of the Banded tilapia, *Tilapia sparrmanii* (Perciformes: Cichlidae). *Zoologia (Curitiba)* 37: 123-130. DOI: [10.3897/zoologia.37.e51043](https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e51043).
- Ranjan, A., Srivastava, P.P., Jain, K.K., Muralidhar, P.A. 2020. Comparative evaluation of metabolic enzymes activities in different tissues of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) fingerlings reared at ambient and higher temperature. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19: 893-903. DOI: [20.1001.1.15622916.2020.19.2.30.4](https://doi.org/20.1001.1.15622916.2020.19.2.30.4).
- Roshanfekar, K., Abdi, R., Salari- Aliabadi, M.A., Basir, Z. 2017. The impact of spent mushroom compost and fertilizer on esophagus histological indices of some cultured warm water species. *Journal of Animal Biology* 10: 23-33. (In Persian).
- Roshanfekar, K., Abdi, R., Salari- Aliabadi, M.A., Basir, Z. 2018. The impact of spent mushroom compost and fertilizer on changes of intestinal tissue of cultured warm water species. *Journal of Animal Physiological Development* 4: 11-25. (In Persian).
- Strassert, J.F., Irisarri, I., Williams, T.A., Burki, F. 2021. A molecular timescale for

- eukaryote evolution with implications for the origin of red algal-derived plastids. *Nature Communications* 12: 1879. DOI: [10.1038/s41467-021-22044-z](https://doi.org/10.1038/s41467-021-22044-z).
- Wang, C., Li, Z., Wang, T., Xu, X., Zhang, X., Li, D. 2021. Intelligent fish farm the future of aquaculture. *Aquaculture International* 29: 2681-2711. DOI: [10.1007/s10499-021-00773-8](https://doi.org/10.1007/s10499-021-00773-8).
- Wardani, W.W., Alimuddin, A., Zairin, M., Setiawati, M., Nuryati, S., Suprayudi, M.A. 2020. Evaluation of cysteamine supplementation in red tilapia (*Oreochromis* sp.) diet: Serum insulin and somatostatin, IGF-1 and GLUT4 genes expression, growth performance, and robustness against stress. *Aquaculture* 528: 1-9. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2020.735514](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735514).
- Younis, E.M., Abdel-Warith, A.A., AL-Asgan, N.A. 2012. Hematological and enzymatic responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, during short- and long-term sub lethal exposure to zinc. *African Journal of Biotechnology* 11: 4442-4446. DOI: [10.5897/AJB11.3987](https://doi.org/10.5897/AJB11.3987).