



The effect of red algae on the stomach, liver histomorphology, and some growth factors of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* during replacing in diet

Kord S^a, Abdi R^{a*}, Zamani I^a, Peyghan R^b

^a Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran


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

Original Article

Use your device to scan and read the article online



Citation: Kord S, Abdi R, Zamani I, Peyghan R. The effect of red algae on the stomach, liver histomorphology, and some growth factors of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* during replacing in diet. *Journal of Cell and Tissue* . 2024; 15(1): 58-70

 <https://10.52547/JCT/15.1.58>

KEYWORDS

Histomorphology
Stomach
Red algae
Nile tilapia
Liver

ABSTRACT

Aim: The use of algae as a food additive has many positive effects such as increasing the quality, health, and greed of food and increasing the level of growth and immunity in aquatic animals. Among the algae with many uses are the members of the red algae branch, which are seen in red due to the large amounts of phycoerythrin and phycocyanin pigments. These algae belong to primary multicellular plants of the marine species, non-flowering without roots, stems, and leaves, and they reproduce sexually. The current research was conducted to replace red algae in the diet in stomach, liver histomorphology, and some growth factors of Nile tilapia, one of the most important commercial species in the world.

Material and Methods: For this purpose, after 8 weeks of preparation, fish were fed diets containing zero, 3%, 6%, and 9% of food weight with red algae with three repetitions in each treatment. After the end of the rearing period, the fishes were anesthetized and after opening the abdominal area while measuring some growth factors, a 0.5 cm tissue sample was taken from the middle part of the stomach and liver and placed in a 10% formalin buffer 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, and staining, finally, the study was done with a light microscope. SPSS software version 21 was used for statistical analysis of data.

Results: Microscopic and anatomical studies of the stomach and some growth factors of the digestive system showed an increase in the measured factors as percentage of weight gain, especially in the group receiving the diet containing 9% red algae. The results of microscopic studies on the stomach showed that the mucosal lining of the stomach is of a simple type with nuclei near the base.

* Corresponding author. Tel: 06153534402; Fax: 0615353322

E-mail address: abdir@kmsu.ac.ir

DOI: <https://10.52547/JCT/15.1.58>

Received: 25 Feb. 2024; Received in revised form: 31 Mar. 2024; Accepted: 6 Apr. 2024

Original Article

© Author



This tissue is stretched from the surface of the mucous membrane to the inner part, so that at the beginning of the stomach, short but deep folds were also observed at different intervals. In the lamina propria of gastric mucosa, simple tubular glands were observed, whose tissue consists of a row of short cubic to cylindrical cells, which have spherical to elongated nuclei and basophils attached to the base of the cells. These cells had strong acidophilic color and covered all the lamina propria. Also liver was completely lobulated and the pancreas was located in the form of an appendix gland inside.

Conclusion: The results of this research showed that in terms of the structural characteristics of the stomach and liver tissue such as mucous glands, epithelium thickness, thickness, mucus height, and anatomical growth of the digestive system, red seaweed powder can be a suitable substitute for fish meal in the diet. Tilapia, along with possible substitutes in other animal and vegetable proteins, can be used to feed this fish, which will eventually reduce the cost and reduce the dependence on fish powder to supply the protein needed by Nile tilapia.



تأثیر جلبک قرمز بر بافت شناسی معده، کبد و برخی فاکتورهای رشد تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) طی جایگزینی در جیره غذایی

ساناز کرد^۱، رحیم عبدی^{۱*}، اسحاق زمانی^۱، رحیم پیغان^۲

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

واژگان کلیدی	چکیده
بافت شناسی معده جلبک قرمز تیلایپای نیل کبد	<p>هدف: تحقیق حاضر با هدف تأثیر جایگزینی جلبک قرمز در جیره غذایی بر هیستومورفولوژی معده، کبد و برخی فاکتورهای رشد تیلایپای نیل انجام گرفته است. مواد و روش‌ها: ماهیان تیلایپای نیل پس از آماده سازی به مدت ۸ هفته با جیره های حاوی صفر، ۳، ۶ و ۹ درصد وزن غذا به وسیله جلبک قرمز با سه تکرار در هر تیمار تغذیه شدند. پس از پایان دوره ماهیان بی هوش شده و پس از باز کردن محوطه شکمی ضمن اندازه گیری برخی فاکتورهای رشد، نمونه بافتی به اندازه ۰/۵ سانتی متر از قسمت میانی معده و کبد برداشت و در محلول ثبوتی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شدند. مراحل معمول آماده سازی بافت شامل آگیری با الکل، شفاف سازی با گزلبول، بلوک گیری با پارافین، برش گیری به ضخامت ۴ تا ۶ میکرون و رنگ آمیزی در نهایت مطالعه با میکروسکوپ نوری انجام گرفت. همچنین جهت آنالیز آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. نتایج: نتایج مطالعات میکروسکوپی و آناتومیکی معده، کبد و برخی فاکتورهای رشد دستگاه گوارش نشان از بهبود و افزایش فاکتورهای اندازه گیری شده مانند درصد افزایش وزن به ویژه در گروه دریافت کننده جیره غذایی حاوی ۹ درصد جلبک قرمز بوده است. نتیجه گیری: امکان استفاده از جلبک قرمز در جیره غذایی تیلایپای نیل در سطح مذکور فاقد عوارض جانبی و نیز کاربرد آن باعث بهبود پارامترهای بافتی و رشد می شود. لذا استفاده از آن در جیره آبیان یک راه کار ارزشمند جهت مدیریت هزینه تغذیه و به یود عمل کرد مزارع آبی پروری به ویژه در گونه های تجاری باشد.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۶	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۱/۱۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۸	

۱- مقدمه

تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به دلیل همه چیز خوار بودن، تکثیر زیاد و مقاومت بالا نسبت به شرایط محیطی، توانایی بالایی برای زیستن در محیط های جدید را دارد. بیشتر تیلایپایها میکروفیت خوار بوده اما تعدادی از آنها گیاهان آلی تر را ترجیح داده و در محل هایی که دیگر گونه های پرورشی از پلانکتون ها تغذیه می کنند از گیاهان آلی نیز استفاده می کنند (۱). در جیره غذایی تیلایپای می توان از پروتئین گیاهی به مقدار بالا استفاده کرد به همین خاطر قیمت تمام شده آن می تواند ارزان تر از سایر گونه های پرورشی تمام شود. تیلایپای نیل یکی از گونه های است که در آبی پروری به صورت تجاری و صرفه اقتصادی بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد اما دارای تنوع گونه ای نیز می باشد که شامل تیلایپای آبی (*O. aureus*)، تیلایپای شکم

قرمز (*O. Zilii*)، تیلایپا موزامبیک (*O. mossambicus*) و تیلایپا گینه (*O. Guineensis*) می‌شوند (۳، ۴). اما تمامی گونه‌های تیلایپا از نظر ویژگی‌های تغذیه‌ای مطلوب بوده و در برابر فرایندهای حرارتی جهت نگه‌داری و پرورش سازگاری دارند. محققین بر این باورند که یکی از روش‌های مقابله با بروز انواع مختلف بیماری‌ها در آبزیان استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان محرک‌های سیستم ایمنی است که نسبت به مواد شیمیایی مطمئن‌تر، ایمن‌تر و سالم‌تر هستند (۵). با توجه به روش‌های استفاده غیر معمول از آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزیان، به‌علت کاهش عوارض جانبی و مشکلات زیست محیطی و آسیب به طبیعت، معرفی موادی از قبیل گیان دارویی و جلبک‌ها برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش آبزیان ضروری می‌باشد و نتایج بسیار مطلوبی در مورد اثر آن‌ها بر روی فاکتورهای رشد در ماهی‌ها به‌دست آمد (۶، ۷). همچنین با توجه به ارزش غذایی جلبک‌های دریایی به‌عنوان افزودنی‌های خوراک یا مکمل‌ها، در دسترس بودن و هزینه پایین آنها سبب شد تا در آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند. محرک‌های ایمنی با منشا گیاهی مانند جلبک‌ها می‌توانند نقش مهمی در افزایش سطح پاسخ ایمنی ایفا کرده و سبب جلوگیری از بروز بیماری در آبزیان شوند. محرک‌ها با بالا بردن سطح توانمندی سیستم ایمنی غیر اختصاصی مقاومت ماهی را در برابر بروز بیماری‌ها افزایش داده و آن‌ها را تقویت می‌کنند (۸). سطح پایین چربی اشباع، کالری کم، مقادیر فراوان کربوهیدرات و هم‌چنین خواص زیستی مانند ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانتی در جلبک‌های دریایی آن‌ها را به موادی پرکاربرد و طبیعی در صنایع غذایی و دارویی تبدیل کرده است (۹). از جلبک‌های با مصارف فراوان می‌توان به اعضای شاخه جلبک‌های قرمز (*Laurencia caspica*) اشاره که به‌دلیل مقادیر زیادی از رنگدانه‌های فیکواریترین و فیکوسیانین، به رنگ قرمز مشاهده می‌شوند. این جلبک‌ها متعلق به گیاهان اولیه پرسولوی از گونه دریازی، غیر گلدار بدون ریشه، ساقه و برگ می‌باشند و از طریق جنسی تولید مثل می‌کنند (۱۰). استفاده از موجودات زنده دریایی مانند جلبک‌ها به‌عنوان منابع در حال گسترش، به جهت دارا بودن مواد زیستی فعال و فراوان، جزء منابع غنی محسوب می‌شوند (۱۱). مطالعات قبلی مشخص کرده است که ساختار تشریحی و بافت‌شناسی دستگاه گوارش از جمله معده و کبد در بین گونه‌های مختلف ماهیان از لحاظ بنیادیدارای شباهت‌های زیادی است اما از نظر عمل‌کرد و مورفولوژی تنوع زیادی در دستگاه گوارشی آن‌ها دیده می‌شود (۱۲، ۱۳). به‌طور کلی ساختار دستگاه گوارش و غدد ضمیمه در گونه‌های مختلف ماهیان براساس نوع غذا، رفتارهای تغذیه‌ای، شکل و اندازه بدن متفاوت است. حتی در یک گونه‌ی خاص نیز بر حسب محل زندگی، فصل، سن و زمان تولیدمثل تغییراتی در دستگاه گوارش و کبد ماهی مشاهده می‌شود (۱۴، ۱۵). استان خوزستان دارای شرایط زیست محیطی مناسبی جهت پرورش ماهی تیلایپای نیل است. با توجه به ارزش اقتصادی بالای این ماهی در دنیا به‌دلیل تامین بخشی از پروتئین غذایی، صادرات، اشتغال و ارز آوری و با توجه به ارزان و سهل الوصول بودن آن، مطالعه اخیر به‌منظور بررسی مقدماتی امکان جایگزینی جلبک‌های دریایی قرمز به‌جای پودر ماهی در جیره غذایی و تاثیر آن بر بافت شناسی معده و برخی فاکتورهای رشد در تیلایپای نیل انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

تمام آزمایش‌ها بر روی موجود زنده در این تحقیق بر اساس رویه‌ای که توسط آژانس سلامت حیوانات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر پذیرفته شده است انجام گرفت. پس از انتقال ماهی‌های تیلایپا از یک مرکز پرورش از استان بوشهر در آکواریوم‌های ۱۰۰ لیتری از قبل ضد عفونی شده موجود در بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز قرار گرفتند. سپس در ادامه روند سازگاری با شرایط جدید جهت هوادهی و تامین اکسیژن در هر یک از آکواریوم‌ها توسط دو عدد سنگ هوا که به منبع هواده متصل بودند، نصب شد و تنها در هنگام غذا دهی، هوادهی به‌طور موقت قطع و سپس مجدداً بعد از تمیز کردن محیط برقرار شد (۱۶). آب مورد نیاز از آب لوله کشی شهری کلرزدایی شده استفاده و به‌مدت دو هفته سازگاری انجام پذیرفت (۱۷). پس از این مدت ۱۲۰ قطعه ماهی با وزن تقریبی ۳۰ گرم بطور تصادفی به ۴ گروه با سه تکرار شامل گروه شاهد دریافت کننده جیره تجاری بیومار ساخت فرانسه و فاقد پودر جلبک قرمز، گروه یک دریافت کننده جیره تجاری حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز، گروه دو دریافت کننده جیره تجاری حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز، گروه سه دریافت کننده جیره تجاری حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز به‌مدت ۸ هفته دسته بندی شدند (۱۸). در طول

مدت آزمایش جهت تنظیم شرایط زیست محیطی برای ماهیان سنجش خصوصیات فیزیکی شیمیایی آب از قبیل تنظیم شوری، حفظ دما، pH و ثابت نگه داشتن مقدار اکسیژن محلول به ترتیب با استفاده از رفرکتومتر نوری Horiba U-10 (، ژاپن)، ترمومتر دیجیتالی Horiba U-10 (، ژاپن)، دستگاه قابل حمل سنجش pH مدل Ebro.PHT-3140 انجام گرفت (۱۹). همچنین اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن مدل TECPEL DO-1609 بطور روزانه اندازه‌گیری می‌شد. جهت اندازه‌گیری فاکتورهای آمونیاک، نیتريت، نیترات و سختی کل آب از دستگاه کالریتر هک (مدل ۸۹، شرکت هک، آمریکا) استفاده شد (۲۰). به طوری که شوری (۵ ppt)، دما (۲۱ الی ۲۶ درجه سانتی‌گراد)، pH (۶ الی ۹) و مقدار اکسیژن (۸ الی ۱۲ میلی گرم بر لیتر) ثابت نگه داشته شد. جهت تعویض آب در طول مدت نگهداری و آزمایش به میزان ۲۰ درصد حجم آکواریوم به صورت روزانه و پس از اتمام تغذیه جهت جلوگیری از افزایش آمونیاک و متابولیت‌های دیگر از ناحیه کف سیفون تخلیه شد. همچنین غذا دهی ماهیان به میزان ۳ درصد وزن بدن در دو نوبت صبح و عصر با غذای تهیه شده انجام گرفت (۲۱). پس از پایان دوره آزمایش به تعداد پنج قطعه ماهی از هر تیمار پس از بی‌هوشی با پودر گل میخک به مقدار نیم گرم در لیتر، به منظور مطالعات بافتی نمونه‌هایی به ابعاد ۰/۵ سانتی متر از قسمت میانی معده و کبد جدا شده و درون سبدهای نمونه‌گیری قرار داده شد و بعد از نام‌گذاری در محلول ثبوتی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده و پس از ۴۸ ساعت اقدام به تعویض فرمالین نمونه‌ها و جایگزینی آن‌ها با الکل ۷۰ درصد انجام شد (۲۲). در ادامه جهت انجام پاساژ بافتی نمونه‌ها پس از ثبوت، طبق روش معمول بافتی آماده و پس از گذراندن مراحل پاساژ بافتی شامل آب‌گیری توسط الکل با درصدهای صعودی سپس شفاف سازی به وسیله محلول گزیلول و آغشتگی به پارافین در دمای ۵۸-۶۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه پاساژ بافت (مدل RX-11B, Tissue tekrotary, Japan) انجام و در نهایت نمونه‌ها برای انجام قالب‌گیری آماده سازی شدند (۲۳). در نهایت برش‌های با ضخامت ۴-۶ میکرون به وسیله میکروتوم مدل LEICA-RM2245 ساخت کشور آلمان تهیه شده و رنگ آمیزی عمومی هماتوکسیلین - ائوزین، پاس و تری کروم ماسون بر بافت کبد انجام گرفت و توسط میکروسکوپ نوری مجهز به لنز Dino-Lite و سیستم کامپیوتر مجهز به نرم افزار داینو کپچر بررسی و عکسبرداری بر روی آن‌ها انجام گرفت (۲۲). سایر فاکتورهای رشد همانند وزن اولیه، وزن نهایی، وزن اولیه دستگاه گوارش، وزن نهایی دستگاه گوارش، طول اولیه، طول نهایی، طول اولیه دستگاه گوارش، طول نهایی دستگاه گوارش و درصد افزایش وزن نیز اندازه‌گیری شد. داده‌های به دست آمده براساس میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm sem) از میانگین آماری گزارش شد (شکل ۱).



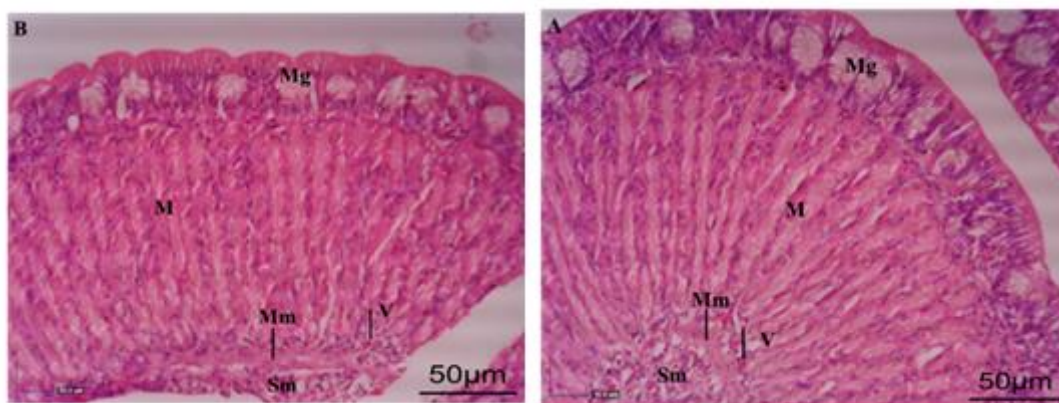
شکل ۱: ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد استفاده در تحقیق گروه کنترل.

۳- آنالیز آماری

همچنین برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. برای مقایسه از آزمون آنوای یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده و گروه‌ها بر اساس تغذیه های متفاوت مورد مقایسه قرار گرفتند. در مواردی که تداخل بین تیماری وجود داشت جزئیات مقایسه درون گروهی و بین گروهی ارائه و در مواردی که اختلاف آماری بین گروه‌ها معنی‌دار بود، از پس آزمون توکی برای مشخص نمودن اختلاف معنی‌دار بین تک تک گروه‌ها استفاده شد. در تمامی موارد ($p < 0.05$) به‌عنوان معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد (۲۳).

۳- نتایج

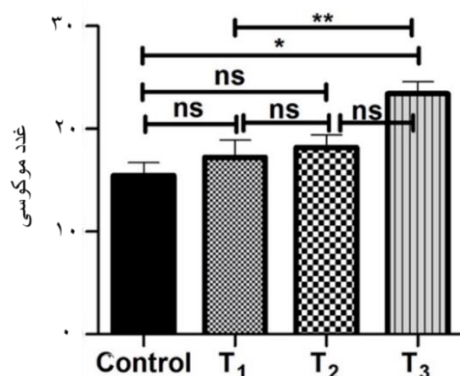
نتایج مطالعات میکروسکوپی بر روی معده و کبد تیلاپای نیل نشان داد که بافت پوششی مخاط معده از نوع استوانه‌ای ساده دارای هسته‌هایی نزدیک به قاعده می‌باشد. این بافت از سطح مخاط به قسمت داخلی تر معده نیز کشیده شده به طوری که در ابتدای معده کوتاه ولی به فواصل مختلف گاهی کفت‌های عمیق‌تری نیز مشاهده می‌شد. در قسمت پارین مخاط معده غدد لوله‌ای ساده‌ای مشاهده شد که بافت آن از یک ردیف سلول‌های مکعبی تا استوانه‌ای کوتاه تشکیل شده که دارای هسته‌هایی کروی تا کشیده و بازوفیلی چسبیده به قاعده سلول بوده‌اند. این سلول‌ها دارای رنگ اسیدوفیلی شدید بوده و تمام پارین را در بر گرفته بودند. در ادامه زیر مخاط از نوع بافت همبند سخت حاوی عروق خونی و لنفاوی فاقد هرگونه غده‌ای قرار داشت. به سمت قست پایینی طبقات عضلانی در سه لایه از نوع صاف که از خارج و در تماس با بافت فوقانی توسط بافت همبند سروزی احاطه شده بود (شکل ۲).



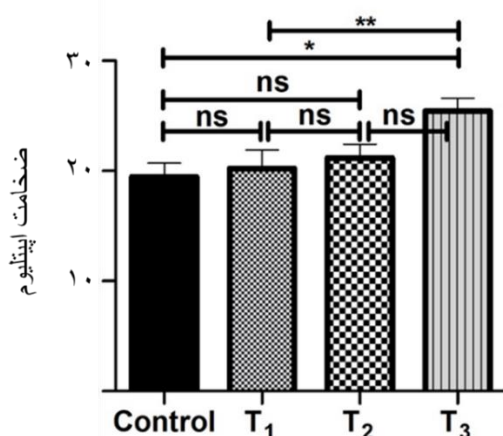
شکل ۲: میکروگراف نوری از معده Oreochromis niloticus در تیمارهای گروه کنترل (A) و گروه تیمار حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز (T3) (B). (H&E). لایه مخاطی (M)، لایه زیرمخاط (Sm)، عضله مخاطی (Mm)، رگ خونی (V)، غدد موکوسی (Mg).

در مطالعات هیستومتری معده، تعداد غدد موکوسی و ضخامت اپی‌تلیوم بین گروه‌های کنترل و تیمار ۳ درصد با گروه ۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین در اندازه‌گیری ارتفاع مخاط بین گروه‌های کنترل و تیمار ۳ درصد با گروه ۹ درصد و گروه‌های ۳ درصد و ۶ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در اندازه‌گیری ضخامت مخاط بین گروه‌های کنترل و تیمار ۳ درصد با گروه ۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$) (شکل‌های ۳-۶). پس از تهیه میکروگراف‌های بافتی، ساختار کبد در تیلاپای نیل بافتی کاملاً لوبوله بود و پانکراس به صورت یک غده ضمیمه در داخل بافت کبد و در بین لوبول‌های آن به صورت دستجات پراکنده جای گرفته بود. کپسولی نازک از بافت همبند، کبد را از خارج احاطه کرده و انشعاباتی از آن وارد بافت کبد شده و آن را به لوبول‌های دارای اندازه و اشکال مختلف تقسیم کرده بود. هر لوبول بافت کبد از

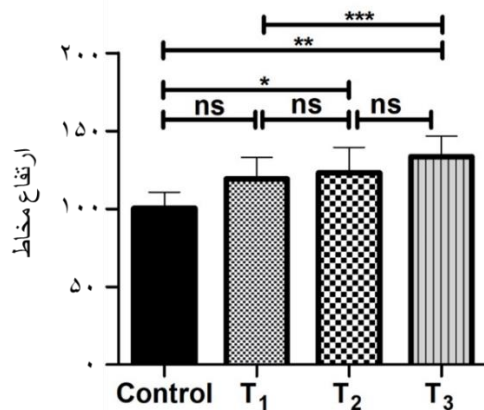
تعداد زیادی هپاتوسیت تشکیل شده که دارای یک هسته کروی یوکروماتین و واجد هسته‌های مشخص بودند. سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها رنگ اسیدوفیلی به خود گرفته و در برخی موارد رنگ آن به صورت غیر یکنواخت به نظر می‌رسید. در لابه‌لای دستجات هپاتوسیت‌ها سینوزوئیدهای کبدی فراوانی مشاهده شد که هر یک دارای دیواره‌های بسیار نازک و نامنظم با سلول‌های آندوتلیال ریز و کشیده در سطح داخلی خود بودند. در فضای بین لوبول‌ها فضاهایی از بافت همبندی با وسعت تقریباً زیاد مشاهده شد که از آن‌ها انشعاب‌هایی از ساختارهای سیاهرگی، سرخرگی و مجاری صفراوی عبور کرده و مشابه فضاهای باب پستانداران مشاهده شد. اندازه این فضاهای همبندی محصور در بین لوبول‌های کبدی متغیر بود. دیواره مجاری صفراوی از یک ردیف سلول مکعبی تا استوانه‌ای کوتاه تشکیل شده که بافت همبندی رشته‌ای آن‌ها را از خارج در بر گرفته بود. ساختار بافتی پانکراس به صورت جزایری متشکل از آسینی‌هایی متمایل به بازوفیلی در داخل و بین لوبول‌های کبدی مشاهده شد. آسینی‌ها به صورت ردیف‌های موازی هم و در حد فاصل آن‌ها عروق پرخون و متسع قرار گرفته بود. هر آسینی پانکراس به صورت ساختمانی کروی شکل مشاهده شد که از تعدادی سلول استوانه‌ای و برخی هرمی سازمان یافته بود. در روش رنگ‌آمیزی عمومی همتوکسیلین-آئوزین، سلول‌های دیواره آسینی دارای هسته‌هایی کروی نزدیک به قاعده بودند و سیتوپلاسم سلول‌ها حاوی گرانول‌های ترشحی فراوان گزارش شد.



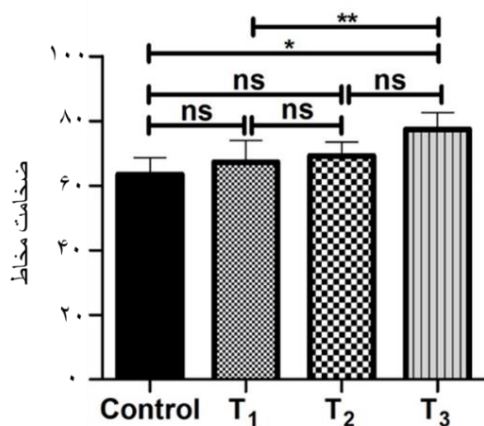
شکل ۳: میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) غدد موکوسی در ۱۰۰ میکرومتر مربع معده تیلاپیی نیل (*Oreochromis niloticus*) به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف (علائم متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌داری در سطح $p < 0.05$ می‌باشد و بی‌معنی = ns) (کنترل = Control؛ حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز = T₁؛ حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز = T₂؛ حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز = T₃).



شکل ۴: میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) ضخامت اپی تلیوم بر حسب میکرومتر در معده تیلاپیی نیل (*Oreochromis niloticus*) به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف (علائم متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌داری در سطح $p < 0.05$ دارد و بی‌معنی = ns) (کنترل = Control؛ حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز = T₁؛ حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز = T₂؛ حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز = T₃).

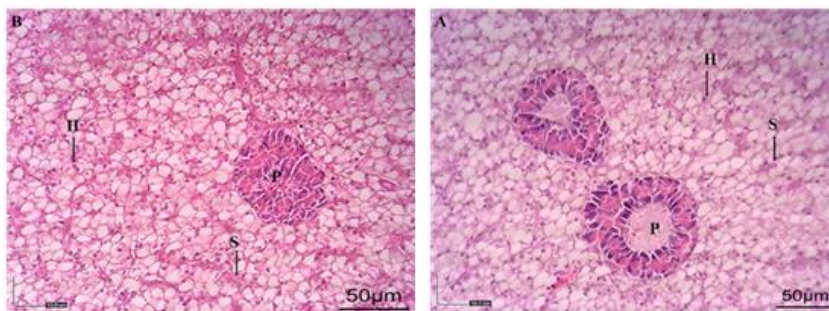


شکل ۵: میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) ارتفاع مخاط بر حسب میکرومتر در معده تیلاپییای نیل (*Oreochromis niloticus*) به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف (علائم متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی داری در سطح $p < 0.05$ می باشد و بی معنی=ns) (کنترل =Control; حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز= T₁; حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز= T₂; حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز= T₃).

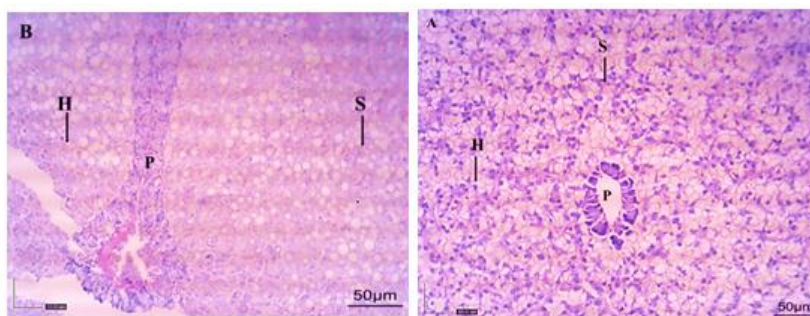


شکل ۶: میانگین و خطای استاندارد میانگین (Mean \pm SEM) ضخامت مخاط بر حسب میکرومتر در معده تیلاپییای نیل (*Oreochromis niloticus*) به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف (علائم متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی داری در سطح $p < 0.05$ می باشد و بی معنی=ns) (کنترل =Control; حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز= T₁; حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز= T₂; حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز= T₃).

در رنگ آمیزی اختصاصی پاس و تری کروم ماسون نیز توسعه بافت پیوندی و ذخیره گلیکوژن به ویژه در درصدهای بالا مشهود بود (شکل های ۷ و ۸).



شکل ۷: میکروگراف نوری از بافت کبد *Oreochromis niloticus* در تیمارهای گروه کنترل (A) و گروه تیمار حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز (T₃) (H&E). (H) هیپاتوسیت، (S) سینوزوئید، (P) پانکراس.



شکل ۸: میکروگراف نوری از بافت کبد تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) در گروه تیمار حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز (T3) (PAS (A), Tri (B)). هیپاتوسیت (H)، سینوزوئید (S)، پانکراس (P).

نتایج آماری حاصل از جایگزینی جیره‌های حاوی صفر، ۳ درصد، ۶ درصد و ۹ درصد وزن غذا به‌وسیله جلبک قرمز به‌مدت ۸ هفته بر شاخص‌های زیست‌سنجی نشان داد که افزایش جایگزینی جلبک قرمز در جیره غذایی باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در میزان برخی شاخص‌های زیست‌سنجی در گروه‌های مختلف شد ($p < 0.05$). مطابق جدول ۱ مشخص شد که بیش‌ترین وزن و طول نهایی مربوط به جیره حاوی ۹ درصد وزن غذا به‌وسیله جلبک قرمز است که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها گزارش شد. همچنین بالاترین وزن و طول نهایی دستگاه گوارش و درصد افزایش وزن مربوط به جیره حاوی ۹ درصد وزن غذا به‌وسیله جلبک قرمز بود که با اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین \pm خطای معیار (Mean \pm SEM) شاخص‌های رشد ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) به دنبال جایگزینی پودر جلبک قرمز در جیره غذایی در تیمارهای مختلف (حروف متفاوت در هر ردیف نشان از اختلاف معنی‌دار می‌باشد).

T3	T2	T1	Control	شاخص‌های رشد
۳۶ \pm ۱ ^a	۳۶ \pm ۱ ^a	۳۶ \pm ۱ ^a	۳۶ \pm ۱ ^a	وزن اولیه (g)
۱۹۵/۱۹ \pm ۱۹/۳۴ ^c	۱۷۵/۱۱ \pm ۱۸/۱۸ ^b	۱۶۶/۳۴ \pm ۱۵/۳۱ ^a	۱۳۶/۱۱ \pm ۱۳/۴۱ ^a	وزن نهایی (g)
۵/۰ \pm ۳۴/۲۱ ^a	۵/۰ \pm ۳۹/۵۵ ^a	۵/۰ \pm ۲۳/۱۱ ^a	۵/۰ \pm ۲۱/۱۷ ^a	وزن اولیه دستگاه گوارش (g)
۲۳/۱۵ \pm ۵۱/۴۹ ^b	۲۱/۱ \pm ۲۸/۹۳ ^a	۱۸/۱ \pm ۱۱/۸۸ ^a	۱۶/۱ \pm ۷۱/۵۳ ^a	وزن نهایی دستگاه گوارش (g)
۹/۰ \pm ۶۱/۱۸ ^a	۹/۰ \pm ۲۱/۳۹ ^a	۹/۰ \pm ۲۵/۳۷ ^a	۸/۰ \pm ۶۶/۲۳ ^a	طول اولیه (cm)
۲۹/۱ \pm ۱۱/۵۳ ^c	۲۳/۱ \pm ۱۱/۹۷ ^b	۲۰/۱ \pm ۵۴/۷۱ ^b	۱۱/۱ \pm ۲۱/۵۴ ^a	طول نهایی (cm)
۴۴/۴ \pm ۲۰/۱۷ ^a	۴۴/۴ \pm ۴۴/۲۹ ^a	۴۴/۳ \pm ۶۹/۹۱ ^a	۴۳/۲ \pm ۱۲/۹۹ ^a	طول اولیه دستگاه گوارش (cm)
۸۰/۸ \pm ۳۶/۳۳ ^b	۶۹/۵ \pm ۵۲/۷۲ ^a	۶۴/۵ \pm ۶۶/۳۲ ^a	۶۰/۵ \pm ۱۶/۹۳ ^a	طول نهایی دستگاه گوارش (cm)
۶۳/۷ \pm ۸۰/۵۱ ^b	۵۱/۳ \pm ۶۴/۱۱ ^a	۴۴/۳ \pm ۲۸/۵۱ ^a	۳۹/۲ \pm ۴۱/۵۴ ^a	درصد افزایش وزن (درصد)
۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	درصد بقا (%)

(Control= کنترل; حاوی ۳ درصد پودر جلبک قرمز=T₁; حاوی ۶ درصد پودر جلبک قرمز=T₂; حاوی ۹ درصد پودر جلبک قرمز=T₃)

۴- بحث

در دهه‌های اخیر، صنعت پرورش متراکم ماهی تیلاپیا در بسیاری از کشورها به‌منظور تامین بخشی از پروتئین حیوانی رشد قابل توجهی داشته است. با توجه به افزایش جمعیت و نیاز آن‌ها به منابع پروتئینی، صنعت آبی پروری بایستی بیش از گذشته رشد نموده تا تامین کننده نیاز تغذیه‌ای انسان‌ها باشد. از سوی دیگر آبی‌پروری باید سود آور و دارای حداقل اثرات زیست محیطی باشد (۲۳). از این رو محققین در سال‌های اخیر به استفاده از جایگزین و مکمل‌های گیاهی روی آورده تا از این راه علاوه بر تامین جیره غذایی و عناصر ضروری اساسی در جیره غذایی آبی‌پروری اثرات مضر بر محیط زیست را کاهش دهند

(۲۴). بر اساس مطالعه حاضر خصوصیات زیست‌سنجی ماهیان شامل طول کل، وزن، و برخی فاکتورهای رشد دستگاه گوارش به مدت ۸ هفته اندازه‌گیری شد. مطابق نتایج حاصل از این تحقیق، هر ۳ تیماری که با جیره حاوی جلبک قرمز تغذیه شدند دارای افزایش در فاکتورهای مورد نظر بودند. مشابه تحقیق حاضر در یک طرح آزمایشی اثر چهار جیره شامل جیره شاهد فاقد جلبک اسپیرولینا و سه جیره غذایی حاوی جلبک اسپیرولینا که تغذیه شده با غذای بیومار مخلوط شده با جلبک اسپیرولینا با نسبت ۳ درصد درصد وزن غذا، تیمار تغذیه شده با غذای بیومار مخلوط شده با جلبک اسپیرولینا با نسبت ۵ درصد درصد وزن غذا و تیمار تغذیه شده با غذای بیومار مخلوط شده با جلبک اسپیرولینا با نسبت ۷ درصد درصد وزن غذا که بر روی ماهی دماسونی (*Pseudotropheus demasoni*) انجام گرفت، گزارش شد (۲۵). طبق مطالعات صورت گرفته، هنگامی که آبیان با جیره غذایی حاوی مقدار کم تا متوسط (۲ الی ۱۱ درصد) از ریزجلبک‌ها تغذیه شدند، افزایش وزن آن‌ها مشابه و یا حتی بهتر از گونه‌های شاهد بود (۲۶). در یک مطالعه، محققان با افزودن ۲ درصد روغن ریز جلبک *Schizochytrium sp*. به جیره غذایی ماهی *Salmo salar* شاهد افزایش وزن ۱۱ درصدی آن‌ها نسبت به ماهیان شاهد بودند (۲۷). همچنین در مطالعه دیگری، افزودن تنها ۰/۷۵ درصد عصاره جلبک *Tetraselmis suecica* به خوراک میگوی *Litopenaeus vannamei* افزایش وزن ۱۱ درصدی نسبت به نمونه‌های شاهد گزارش شد (۲۸). جلبک‌ها رایج‌ترین غذای زنده‌ای می‌باشند که برای پرورش و تولید بسیاری از ماهیانی که در آبی پروری به صورت تجاری پرورش داده می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرند. جلبک‌های تک سلولی مانند جلبک قرمز به‌ویژه زمانی که دارای اندازه و هضم پذیری مناسب و ارزش غذایی بالا باشد مناسب‌ترین غذا برای آبی محسوب می‌شوند. ساختار بافتی در انتقال از مری به سمت معده با تغییر ناگهانی این بافت از اپی‌تلیوم سنگفرشی طبقه‌ای به اپی‌تلیوم ستونی ساده و کشیده مشخص می‌شود، که این پدیده‌ای است که قبلاً در برخی از ماهیان استخوانی گزارش شده است (۲۹). ساختار کلی و ماکروسکوپی معده و کبد ماهی تیلاپپای نیل تا حد زیادی با ساختار آن در سایر ماهی‌های استخوانی شباهت داشته و تفاوت‌هایی در حد موقعیت و قرارگیری قسمت‌های مختلف آن و طول بخش‌های مختلف وجود دارد. در دید میکروسکوپی نیز کماکان از نظر طرح کلی با سایر ماهیان شباهت دارد. با این حال، قطعاً تفاوت‌های بین گونه‌ای در مطالعات بافت‌شناسی مشاهده می‌شود که هر گونه از ماهیان را مستعد بررسی و مطالعه دقیق قرار می‌دهد. بر اساس گزارش محققین عمل کرد اصلی معده و کبد ماهی، در صورت وجود، ذخیره غذا و تولید اسید هیدروکلریک برای کمک به هضم است (۲۶). از نظر مورفولوژیکی معده و کبد در ماهی تیلاپپا از نظر انواع سلولی دارای سازماندهی اولیه یکسانی است که در اکثر ماهیان استخوانی، از جمله ماهیان سیکلید وجود دارد. در مطالعه حاضر، نتایج مطالعات میکروسکوپی بر روی معده تیلاپپای نیل نشان داد که بافت پوششی مخاط معده از نوع استوانه‌ای ساده می‌باشد. این بافت از سطح مخاط به داخل کف‌های معده نیز کشیده شده بطوری که در ابتدای معده کوتاه ولی به فواصل مختلف گاهی کف‌های عمیق‌تری بویژه در جیره با درصد‌های بالای جلبک نیز مشاهده می‌شد. این کف‌ها ممکن است سازگاری برای افزایش سطح، جهت هضم شیمیایی و همچنین افزایش قطر اندام‌ها برای ذخیره حجم زیادی از غذا باشد. از طرف دیگر، چین‌های مخاطی ممکن است در به تأخیر انداختن عبور غذا از معده به قسمت‌های کوچک‌تر نقش داشته باشند تا ترکیب غذا با آنزیم‌های گوارشی به حداکثر برسد که در گونه‌هایی مانند سایر ماهیان استخوانی از جمله ماهی هالیبوت اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و گربه ماهی کانال (*Ictalurus punctatus*) نیز گزارش شده است (۳۰). در قسمت پارین مخاط معده غدد لوله‌ای ساده‌ای مشاهده شد که بافت آن از یک ردیف سلول‌های مکعبی تا استوانه‌ای کوتاه تشکیل شده که دارای هسته‌هایی کروی تا کشیده و بازوفیلی چسبیده به قاعده سلول بوده‌اند. به‌طور مشابه، سیستم‌های لوله‌ای در سلول‌های پری‌تال پستانداران، که مسئول ترشح اسید هیدروکلریک در معده هستند، گزارش شده است. این سلول‌ها که دارای رنگ اسیدوفیلی شدید بوده و به‌صورت غدد تمام پارین را در بر گرفته بودند مشابه مواردی است که در مورد ماهی‌های تیلاپپای نیل گزارش شده است. ترشح اسید به‌طور خاص در این ماهی‌ها برای هضم جلبک‌ها و باکتری‌ها ضروری است. نتایج ذکر شده با گزارش‌های سایر محققین بر روی گونه‌هایی همچون کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، سس ماهی چسبنده (*Barbus plebejus*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، لوچ‌ماهی (*Chromobotia macracanthus*) و

گل آذین ماهی (*Atherina boyeri*) مطابقت دارد (۳۱،۳۲). خوراک های سنتی آبزین پرورشی شامل پودر ماهی و کنجاله سویا به عنوان مواد رایج، ناپایدار بوده و مقرون به صرفه نیستند، اما جیره غذایی آبزین تهیه شده از جلبکها پتانسیل زیادی برای جایگزینی به جای پودر ماهی و کنجاله سویا دارند. علاوه بر موارد ذکر شده تهیه این نوع خوراک دارای ویژگی های منحصر به فردی از جمله سرعت و توانایی رشد بالای جلبک بصورت متراکم و همچنین عدم وابستگی به زمین های زراعی و آب شیرین برای کشت می باشد (۳۳).

۵- نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از نظر ویژگی های ساختاری در بافت معده، کبد مانند غدد موکوسی، ضخامت اپی تلیوم، ضخامت، ارتفاع مخاط و رشد آناتومیکی دستگاه گوارش، پودر جلبک قرمز دریایی می تواند تا حدودی جایگزینی مناسب به جای پودر ماهی در جیره غذایی تیلاپیا در کنار جایگزین های احتمالی پروتئین های حیوانی و گیاهی دیگر جهت تغذیه این ماهی باشد که در نهایت موجب کاهش هزینه و کاهش وابستگی به پودر ماهی جهت تامین پروتئین مورد نیاز تیلاپای نیل خواهد شد.

۶- تشکر و قدردانی

از زحمات و حمایت همه جانبه معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به ویژه در تقبل هزینه صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

۷- منابع

1. Abdel-Latif HM, Dawood MA, Menanteau Ledouble S, El-Matbouli M. The nature and consequences of coinfections in Tilapia: A review. *Journal of Fish Diseases*. 2020; 43: 651-664.
2. Wardani WW, Alimuddin A, Zairin M, Setiawati M, et al. 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*. 2020; 528: 1-9.
3. Farhoudi A, Sourinejad I, Nafisi Bahabadi M, Sajadi M M, et al. Dietary supplemental effects of macro algae *Gracilaria pygmaea* on proximate analysis, apparent digestibility and digestive enzymes activity of Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Sciences*. 2020; 7: 195-206.
4. Andrad, PB, Barbosa M, Matos RP, Lopes G, et al. Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chemistry*. 2013; 138(2-3): 1819-1828.
5. Foyosal MJ, Alam M, Kawser A, Hasan F, et al. 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*. 2020; 520: 1-13.
6. Magara G, Prearo M, Vercelli C, Barbero R, et al. 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*. 2022; 11: 1-20.
7. Amiripour L, Abdi R, Movahedinia AA, Sahraian M. Study of liver and intestine tissue structure in orange spotted grouper (*Epinephelus coioides*) during larval development. *Journal of Oceanography*. 2015; 6 (23): 87-92.
8. Matrozdadeh M, Abdi R, Basir Z, Peyghan R. 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*. 2023; 14(53): 69-78.
9. Roshanfekr K, Abdi R, Salari- Aliabadi MA, Basir, Z. The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Changes of Intestinal Tissue of Cultured Warm Water Species. *Journal of Animal Physiological Development*. 2018; 4 (43): 11-25.
10. Moallem Z, Abdi R, Movahedinia A, Shirali S, et al. Gonad histology and gonadosomatic index variations during gonadal development of wild female *Tenualosa ilisha*. *Journal of the Persian Gulf*. 2015; 6(19): 53-58.

11. Shi Z, Li XQ, Chowdhury MK, Chen JN, et al. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*. 2016; 460: 37-44.
12. Moradkhani A, Abdi R, Salari-Aliabadi MA, Nabavi SMB, et al. Quantification and description of gut-associated lymphoid tissue in, shabbout, *Arabibarbus grypus* (actinopterygii: cypriniformes: cyprinidae), in warm and cold seasons. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 2020; 50(4): 423-432.
13. Nagappan S, Das P, AbdulQuadir M, Thaher M, et al. Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. *Journal of Biotechnology*. 2021; 341, 1-20.
14. Okuthe GE, Bhomela B. Morphology, histology and histochemistry of the digestive tract of the Banded tilapia, *Tilapia sparrmanii* (Perciformes: Cichlidae). *Zoologia (Curitiba)*. 2021; 37(3): 123-130.
15. Sheikhzadeh N, Mousavi S, Hamidian G, Firouzamandi M, et al. Role of dietary *Spirulina platensis* in improving mucosal immune responses and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 2019; 54(6): 1-8.
16. Prabha SP, Nagappan S, Rathna R, Viveka R, et al. Blue biotechnology: a vision for future marine biorefineries. In *Refining Biomass Residues for Sustainable Energy and Bioproducts*. 2020; 33(2): 463-480.
17. Dastan V, Abdi R, Movahedinia AA, Salari-Aliabadi MA. Study of gill and kidney tissue changes in *Tenualosa ilisha* during migration from sea to the Karun and Bahmanshir rivers. *Iranian Fisheries Science Journal*. 2017; 25(4): 53-62.
18. Ranjan A, Srivastava PP, Jain KK, Muralidhar PA. 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*. 2020; 19(2): 893-903.
19. Roshanfekar K, Abdi R, Salari- Aliabadi MA, Basir, Z. The Impact of Spent Mushroom Compost and Fertilizer on Esophagus Histological Indices of Some Cultured Warm Water Species. *Journal of Animal Biology*. 2017; 10 (1): 23-33.
20. Strasser JF, Irisarri I, Williams TA, Burki F. A molecular timescale for eukaryote evolution with implications for the origin of red algal-derived plastids. *Nature Communications*. 2021; 12:1879.
21. Wang C, Li Z, Wang T, Xu X, et al. Intelligent fish farm the future of aquaculture. *Aquaculture International*. 2021; 4: 1-31.
22. Zhou R, Zhang X, Fang Z, Wang X, et al. High-Performance Plasma Enabled Biorefining of Microalgae to Value Added Products. *ChemSusChem*. 2019; 12(22); 4976-4985.
23. Huang Z, Gao J, Peng C, Song J, et al. The Effect of the Microalgae *Chlorella vulgaris* on the Gut Microbiota of Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Is Feeding-Time Dependent. *Microorganisms*. 2023; 11, 1002.
24. Sudagar M, Khalese M, Mazandarani M, Hosseini SA, et al. Effects of *Spirulina* Algae on Growth, Survival and Coloration Demasoni Fish (*Pseudotropheus demasoni*). *Journal of Fisheries*. 2016; 69(1): 21-27.
25. Hasanzadeh S, Abdi R, Salari-Aliabadi MA, Movahedinia, A, et al. Comparative histomorphology of esophagus and intestine in two carnivorous and phytoplankton feeder fish of persian gulf. *Journal of Animal Environment*. 2018; 10 (4): 381-388.
26. Musa M, Yanuhar U, Susilo E. Stomach Histological Decay of Milkfish, *Chanos* (Forsskal, 1775): Ontogeny, Environmental Stress, Shifting Food Composition, And Disease Infection. *Journal of Natural Sciences Research*. 2013; 3(7):194-200.
27. Wei M, Parrish CC, Guerra NI, Armenta RE, et al. Extracted microbial oil from a novel *Schizochytrium* sp.(T18) as a sustainable high DHA source for Atlantic salmon feed: Impacts on growth and tissue lipids. *Aquaculture*. 2021; 534: 736249.
28. Sharawy ZZ, Ashour M, Abbas E, Ashry O, et al. Effects of dietary marine microalgae, *Tetraselmis suecica*, on production, gene expression, protein markers and bacterial count of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*. 2020; 51(6): 2216-2228.
29. Okuthe GE, Bongile B. Morphology, histology and histochemistry of the digestive tract of the Banded tilapia, *Tilapia sparrmanii* (Perciformes: Cichlidae). *Zoologia*. 2020; 37:1-14.
30. Leknes IL. Histochemical studies on mucin-rich cells in the digestive tract of a teleost, the Buenos Aires tetra (*Hyphessobrycon anisitsi*). *Acta Histochemica*. 2011; 113(3): 353-357.

31. Dina A, Moawad AS, Mohamed H, Mohamed S, et al. Protecting deleterious effects of high stocking density of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* using dietary microalgae *Golenkinia longispicula*: Growth, immunoxidative markers and associated gene expression. *Aquaculture*. 2023; 740430.
32. Nematollahi A, Nourani H, Malekian H. Histological and Electron Microscopy Study of the Intestinal Tissue of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): an In Vitro Model. *Journal of Cell & Tissue*. 2013; 4(3): 313-322.
33. Mohsen AT, Ahmed GA, Mohamed F, Mamdouh A, et al. The green microalga *Scenedesmus quadricauda* modulates the performance, immune indices, and disease resistance of Nile tilapia fingerlings. *Aquaculture*. 2020; 560: 738550.