Journal of Aquaculture Sciences 12(22): 137-150 (2024)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۲، شماره ۲۲: ۱۳۷–۱۵۰ (۱۴۰۳)

بررسی اثر درمانی مکمل خوراکی و ضماد جلبک *Spirulina platensis* بر شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) پس از ایجاد جراحت جلدی

محمد سعید فریدونی[۱]، رسول قربانی[۱]*، نادر تنیده[۲]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[۱]، سید عباس حسینی[۱]، مهدی بنایی[۳]، حدیثه کشیری[۱]

[۱]گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
[۲]مرکز تحقیقات سلول های بنیادی و بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران.
[۳]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیا (ص) بهبهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۱ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۳**

چکیده

پوست به‌عنوان اولین سد محافظ در برابر صدمات فیزیکی و عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند. ریزجلبک‌های اسپیرولینا به‌دلیل داشتن ریزمغذی-هایی مانند اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه ضروری و غیره می‌تواند در بهبود آسیب‌های پوستی ماهیان، مورد استفاده قرار گیرد. در این تحقیق، از ۳۶۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن ۵۰ گرم (با اخذ کد اخلاق به شماره ۹۸۲۱۳۱۶۰۰۱) در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده شد. قبل از انجام آزمایش نهایی، تأثیر غلظت‌های ۱ تا ۱۵ درصد عصاره اسپیرولینا بر ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس سه دوز ۳، ۷ و ۱۰ درصد عصاره اسپیرولینا جهت آزمایش به‌صورت خوراکی و ضماد انتخاب گردید. پس از ایجاد جراحت جلدی ماهیان به‌مدت ۲۸ روز تحت درمان به شیوه خوراکی و استفاده از ضماد قرار گرفتند. در روز ۲۸، از ماهیان خون‌گیری شد و پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی اندازه‌گیری گردید. افزایش سطح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین تام، گلوبولین و ایمونوگلوبولین پلاسما و افزایش فعالیت لیزوزیم پس از آسیب پوستی بیانگر پاسخ‌های فیزیولوژیکی برای بهبودی و بازگرداندن یکپارچگی بافت است. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز مکمل‌های اسپیرولینا به‌خصوص گروه خوراکی با غلظت ۷ درصد که از پماد با همین غلظت استفاده کرده بودند اثرات مفیدی بر پارامترهای فیزیولوژیکی مختلف در ماهی‌های آسیب دیده دارند.

کلید واژگان: زخم، پماد، جلبک، قزل‌آلای رنگین‌کمان، ایمنی

*نویسنده مسئول rasulghorbani@gmail.com

مقدمه

پوست به‌عنوان یک اندام همه‌کاره و ضروری در ماهیان است که می‌تواند به‌عنوان یک سد محافظ در برابر صدمات فیزیکی، عوامل بیماری‌زا و هجوم مواد شیمیایی مضر موجود در محیط آبی عمل کند. علاوه براین در برخی از ماهیان، پوست در تنفس نیز نقش ایفا می‌کند (Sehnal *et al*., 2021). نقش پوست در تنظیم فشار اسمزی، تنظیم دما و همچنین درک نوسانات فیزیکی و تغییرات شیمیایی محیط از طریق اندام‌های حسی مانند نورماست‌ها و گیرنده‌های چشایی، به‌ترتیب بسیار حائز اهمیت است. ویژگی‌های منحصر به‌فرد پوست می‌تواند در فرآیند انتقال، به‌دست آوردن غذا و فرار از شکارچیان نیز دخیل باشد (Takei *et al*., 2016). وجود الگوهای رنگی و رنگدانه در پوست ماهیان می‌تواند در ایجاد ارتباط بین هم‌نوعان، انتقال پیام های مربوط به جفت‌گیری، تعیین قلمرو، استتار و ارسال پیام خطر نقش ایفا کند. از این‌رو، حفظ سلامت پوست برای بقای ماهیان بسیار ضروری است (Evans *et al*., 2008).

تنش‌ها و استرس‌های محیطی، نزاع و درگیری درون گروه، حمله شکارچیان، برخورد با موانع فیزیکی و ادوات صید و صیادی، ابتلا به بیماری‌های عفونی اعم از ویروسی و باکتریایی، ابتلا به انگل‌های خارجی، دستکاری و تراکم بالا در محیط‌های پرورشی و غیره می‌تواند منجر به بروز جراحات سطحی و جلدی در ماهیان شود (Knight, 2013). به محض بروز زخم‌ها یا جراحات پوستی، سیستم فیزیولوژیکی و ایمنی ماهیان تلاش می‌کند تا با مجموعه‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی و ایمنولوژیک، فرآیند بهبود و ترمیم آسیب را آغاز کند. آزاد شدن هیستامین‌ها و پروستاگلاندین‌ها، باعث افزایش جریان خون در ناحیه آسیب دیده و تسهیل انتقال سلول‌های دخیل در سیستم ایمنی و مواد مغذی ضروری برای ترمیم بافت می‌شود (Ángeles Esteban, 2012). به‌طور همزمان، مکانیسم‌های لخته شدن خون فعال می‌شوند و یک پلاگ موقت در محل زخم تشکیل می‌دهند تا خونریزی را متوقف کند و در نهایت با تشکیل دلمه یا لخته، خون‌ریزی را به‌طور کامل متوقف نمایند. ماکروفاژها و سلول‌های فاگوسیتوز کننده مانند نوتروفیل‌ها نیز تلاش می‌کنند با بلع اجرام سلولی و میکروارگانیسم‌های فرصت‌طلب و مهاجم از بروز عفونت پیشگیری نمایند (Kapasi, 2024). در این میان، سلول‌های پوست از طریق تقسیم میتوز و مهاجرت سلولی، سطح زخم را می‌پوشانند. سلول‌های تخصص یافته مانند فیبروبلاست‌ها نیز با افزایش سطح سنتز کلاژن روند ترمیم بافت را تسریع می‌کنند. در برخی موارد نیز تشکیل بافت اسکار (scar tissue) می‌تواند با ایجاد یک ساختار حمایتی به بهبود زخم‌ها کمک کند. در طی مدت ترمیم و بهبود جراحات جلدی، ماهیان نیز تلاش می‌کنند با ایجاد تغییرات تطبیقی مانند کاهش فعالیت یا تغییر الگوی تغذیه از ناحیه آسیب دیده محافظت کنند و انرژی مورد نیاز را مدیریت نمایند (Castanheira *et al*., 2017).

در سیستم‌های پرورشی، دامپزشکان و پرورش‌دهندگان ممکن است از روش‌های مختلفی ازجمله استفاده از محلول‌های ضدعفونی‌کننده رقیق‌شده مانند پوویدون ید یا کلرهگزیدین، حمام نمک، استفاده از پمادهای آنتی‌بیوتیکی موضعی برای تمیز کردن زخم و جلوگیری از عفونت، تسریع روند بهبود زخم‌های سطحی و جلدی ماهیان می‌تواند بسیار مؤثر باشد. علاوه براین، جداسازی ماهیان آسیب‌دیده و نگهداری در مخازن قرنطینه، افزایش و بهبود کیفیت فیزیکی و شیمیایی آب، بهره‌گیری از تکنیک‌های کاهش استرس، استفاده از مکمل‌های غذایی و ریزمغذی‌ها در رژیم غذایی که تقویت‌کننده سیستم ایمنی هستند می‌تواند روند بهبود و ترمیم زخم‌های پوستی را تسریع نماید (DiGangi, 2018).

ریزجلبک‌های اسپیرولینا به‌دلیل داشتن ریزمغذی‌هایی مانند اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها، می‌تواند در بهبود آسیب‌های پوستی ماهیان، مورد استفاده قرار گیرد. از این‌رو، تجویز اسپیرولینا می‌تواند روند ترمیم و رشد بافت‌ها حیاتی، سنتز سلول‌های جدید پوست را تسهیل کند و به حفظ یکپارچگی و انعطاف‌پذیری پوست کمک نماید. اسپیرولینا حاوی ترکیباتی مانند فیکوسیانین و کلروفیل است که دارای خواص ضد التهابی هستند. بنابراین تجویز خوراکی و یا موضعی اسپیرولینا می‌تواند از طریق کاهش التهاب در محل آسیب دیده‌گی، به روند بهبود زخم کمک کند. بتاکاروتن و ویتامین E موجود در اسپیرولینا می‌تواند با کاهش استرس اکسیداتیو، از آسیب بیشتر بافت جلوگیری کند و سرعت ترمیم را افزایش دهد (Wu *et al*., 2016). اسپیرولینا به عنوان یک ایمنواستیمیولنت (محرک سیستم ایمنی) می‌تواند سطح سنتز سلول‌های ایمنی و سیتوکین‌های دخیل در پاسخ

درمانی را افزایش دهد و از بروز عفونت در محل آسیب‌دیده پیشگیری نماید. وجود ترکیبات ضدباکتریایی و ضدقارچی در اسپیرولینا نیز می‌تواند از بروز عفونت‌های زیستی جلوگیری کند (Wu *et al*., 2016). گنجاندن اسپیرولینا در رژیم غذایی ماهی‌های آسیب‌دیده یا استفاده موضعی از آن به عنوان ضماد یا در حمام می‌تواند برای بهبود زخم و بهبود وضعیت پوست مؤثر باشد. با این وجود، تأثیر خوراکی اسپیرولینا یا استفاده از آن در حمام درمانی ممکن است بسیار زمان‌بر باشد. بنابراین استفاده از میکروجلبک اسپیرولینا به عنوان یک پماد موضعی نشان‌دهنده یک رویکرد امیدوارکننده برای بهبود زخم‌های پوست ماهیان در کوتاه مدت باشد. استفاده از پماد موضعی اسپیرولینا در درمان برای زخم‌های پوستی ماهیان، می‌تواند یک درمان هدفمند باشد که مستقیماً ناحیه آسیب‌دیده را تحت تأثیر قرار می‌دهد و اثرات سیستمیک آن حداقل است (Elbialy *et al*., 2021). این روش درمان یک روش غیر تهاجمی است و به سهولت قابل استفاده است. ترکیبات موجود در پماد می‌تواند باعث تسکین فوری درد و بهبود سریع‌تر در مقایسه با دیگر روش‌های درمانی شود. علاوه براین، پماد موضعی اسپیرولینا ممکن است با ایجاد یک سد محافظ، از زخم‌ها در برابر آسیب‌های بیشتر و تهدیدهای خارجی محافظت کند (Ragusa *et al*., 2021). فرمولاسیون این پماد می‌تواند بسته به گونه ماهی، نوع زخم تغییر و روش درمانی آن بسته به شرایط محیطی بهینه گردد. با این وجود، استفاده از پماد موضعی اسپیرولینا برای درمان زخم‌های پوستی در ماهی، ممکن است دارای چالش‌ها و محدودیت‌هایی باشد که بایستی برطرف گردد. استفاده از این پماد بر روی پوست ماهیان می‌تواند در محیط‌های آبی دشوار باشد و به‌سهولت از روی زخم‌ها شسته شود. ترکیبات مورد استفاده در تهیه پماد ممکن است برای ماهی یا اکوسیستم‌های آبی مضر باشند. تعیین دوز مؤثر اسپیرولینا در پماد برای هر گونه ماهی و شدت زخم یکی از چالش‌هایی است که باید مد نظر قرار گیرد. جذب محدود مواد مؤثر اسپیرولینا در لایه‌های عمیق‌تر بافت ممکن است اثربخشی آن را به‌ویژه برای زخم‌های گسترده و عمیق‌تر تحت تأثیر قرار دهد. همچنین میزان حساسیت گونه‌های مختلف ماهیان به مواد تشکیل‌دهنده پماد پیش از تعیین فرمولاسیون نهایی بایستی مورد بررسی قرار گیرد.

بنابراین به‌منظور دستیابی به این مهم و بررسی امکان استفاده از پماد اسپیرولینا در بهبود و ترمیم زخم‌های سطحی پوست ماهیان، این مطالعه طراحی و انجام شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی تأثیر استفاده از پماد موضعی اسپیرولینا در تسریع روند بهبود و ترمیم زخم‌های سطحی ایجاد شده در پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) است.

مواد و روش‌ها

نمونه ماهی: تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) با میانگین وزنی ۲/۷±۵۰/۵ گرم از مزرعه خصوصی دلخان (روستای شش پیر، سپیدان، استان فارس) خریداری و به آزمایشگاه پرورش آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز منتقل گردید. ماهیان در ۱۲ مخزن ۳۵۰ لیتری با نرخ تعویض آب ۵۰ درصدی در شرایط بهینه آزمایشگاهی (دمای: ۲±۱۵/۵ درجه سانتی-گراد، pH ۷/۴±۰/۲، اکسیژن محلول: ۰/۵±۶/۵ میلی‌گرم در لیتر و سختی کل: ۲۰±۲۰۰ میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر) به‌مدت ۳ هفته سازگار شدند.

طرح آزمایش‌ها: این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی در ۸ تیمار و در ۳ تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل گروه کنترل منفی (پماد پایه)،گروه کنترل مثبت (پماد آلفا)، و در گروه خوراکی و پماد اسپیرولینا از پماد حاوی غلظت‌های ۳، ۷ و ۱۰ درصد بودند. لازم به ذکر است که در گروه خوراکی قبل از ایجاد زخم به‌مدت ۲۰ روز در سه دوز ۳، ۵ و ۷ درصد به‌صورت خوراکی اسپیرولینا داده شد. سپس در همه گروه‌ها به این روش زخم ایجاد شد. ابتدا ماهی‌های صید شده داخل تشت حاوی محلول پودر گل میخک و آب (به میزان۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفته و بیهوش خواهند شد عمق بیهوشی با فشار دادن پوست توسط نیدل بررسی خواهد شد. قبل از انجام جراحی موضع توسط اسکالپل پولک زدایی می‌گردد سپس با اتانول ۷۰ درصد تمیز خواهد شد زخم دایره‌ای شکل به قطر ۰/۶ سانتی‌متر توسط دستگاه پانچ بیوپسی روی پوست سمت چپ بالای خط جانبی زیر باله پشتی ایجاد می‌گردد (Panigrahi *et al*., 20011)، سپس در انتهای دوره آزمایش ۲۸ روزه، از ساقه دمی ماهیان خون گیری گردید.

عصاره‌گیری از اسپیرولینا: در عصاره‌گیری از اسپیرولینا و استخراج ترکیبات فعال زیستی آن از سوکسله به‌عنوان یک

تکنیک کلاسیک استفاده شد. در این فرآیند، زیست‌توده جلبک خشک به‌صورت پودر ریز آسیاب شده و در یک انگشتانه متخلخل بسته‌بندی شد. سپس این انگشتانه در یک دستگاه سوکسله متشکل از یک فلاسک ته‌گرد حاوی حلال استخراج (اتانول ۷۰ درصد)، یک کندانسور و یک مجموعه استخراج‌کننده سوکسله قرار داده شد. با گرم شدن حلال و تقطیر مجدد آن و عبور از انگشتانه حاوی جلبک اسپیرولینا، ترکیبات آن استخراج گردید. فرآیند استخراج چرخه‌ای تا رسیدن به بازدهی مطلوب ادامه یافت. سپس عصاره غنی شده با حلال از طریق تبخیر بازیابی و با کاغذ صافی تصفیه گردید. از عصاره تغلیظ‌شده برای تهیه پماد و جیره غذایی استفاده شد (Jaeschke *et al*., 2021).

پماد اسپیرولینا: نخست غلظت‌های مد نظر عصاره اسپیرولینا به‌طور مجزا در ۰/۵ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید (DMSO)، که یک حلال آلی پرکاربرد در ساخت محصولات دارویی و مراقبت از پوست است، حل شد تا یک محلول غلیظ به‌دست آید. سپس این محلول با وازلین ذوب شده ترکیب شد تا پایه پماد ایجاد شود. پس از همگن شدن و ادغام کامل عصاره حل شده در DMSO و وازلین، پماد در سه سطح ۳، ۷ و ۱۰ درصد عصاره اسپیرولینا تهیه گردید و پس از بسته‌بندی در یخچال نگهداری شد تا کاملاً آماده شود (Wang *et al*., 2023).

جیره غذایی غنی شده با عصاره اسپیرولینا: میزان مناسب عصاره اسپیرولینا جهت افزودن به جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان براساس مطالعه انجام شده تعیین گردید. بر این اساس، سطوح ۳، ۷ و ۱۰ درصد عصاره اسپیرولینا به جیره پایه و فرموله شده مختص ماهیان قزل‌آلای پرورشی تهیه شده از شرکت خوراک آبزیان بیضا افزوده شد (Jalali *et al*., 2009). ابتدا عصاره اسپیرولینا به طور کامل با پودر خوراک مخلوط گردید تا از توزیع یکنواخت اطمینان حاصل شود. سپس مقدار کمی آب مقطر به مخلوط اضافه شد تا غذا به‌صورت خمیری شکل درآید. در مرحله بعد خمیر حاصل با تجهیزات مناسب غذا سازی به‌صورت اکسترود شده درآمد و با هوای گرم خشک گردید. خوراک آماده شده در ظروف مناسب بسته‌بندی و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

نحوه ایجاد جراحت جلدی: ماهی‌های صید شده داخل تشت حاوی محلول پودر گل میخک و آب (به میزان۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفته (با اخذ کد اخلاق به شماره ۹۸۲۱۳۱۶۰۰۱) در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و بیهوش شدند. عمق بیهوشی با فشار دادن پوست توسط نیدل بررسی شد. قبل از انجام جراحی موضع توسط اسکالپل پولک‌زدایی و سپس با اتانول ۷۰ درصد تمیز شد. زخم دایره‌ای شکل به قطر ۰/۶ سانتی‌متر توسط دستگاه پانچ بیوپسی روی پوست سمت چپ بالای خط جانبی زیر باله پشتی ایجاد گردید (Panigrahi *et al*., 20011).

خون‌گیری از ماهیان: ابتدا ماهیان با عصاره گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به روش غوطه‌وری بیهوش شدند تا استرس ناشی از صید، دستکاری و خون‌گیری به حداقل برسد (Lewbart, 2008). پس از اطمینان از بیهوش شدن کامل ماهیان، با یک پارچه نرم و مرطوب یا پد فوم، ماهیان مهار شدند تا از حرکت بیش از حد در طول نمونه‌برداری جلوگیری شود و بدون ایجاد آسیب یا استرس به ماهی، خون‌گیری انجام شود. خون‌گیری از ورید دمی با استفاده از یک سرنگ ۲/۵ سی‌سی آغشته به هپارین انجام شد. بلافاصله خون استحصال شده به داخل میکروتیوپ ریخته شد و ماهیان به آب تازه منتقل گردیدند. پس از خون‌گیری، نمونه‌ها با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسما از بخش سلولی جدا در تا انجام تجزیه و تحلیل شاخص‌های بیوشیمیایی در فریز ۷۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون: برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و ایمنی از کیت‌های تجاری شرکت بیورکس فارس و پارس آزمون استفاده شد (Kazemipour *et al*., 2018). در سنجش گلوکز، گلوکز توسط گلوکز اکسیداز اکسید می‌شود و منجر تولید اسید گلوکونیک و پراکسید هیدروژن می‌گردد. پروتئین کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی Biuret، با سولفات مس قلیایی که واجد Cu (II) سنجیده شد. غلظت گلوبولین با کم کردن مقدار عددی آلبومین از پروتئین کل محاسبه شد. در سنجش تری گلیسیریدها، این ترکیبات توسط لیپاز هیدرولیز می‌شوند تا گلیسرول و اسیدهای چرب تولید شود. سپس گلیسرول توسط گلیسرول کیناز به گلیسرول-۳-فسفات تبدیل شد. سپس، گلیسرول-۳-فسفات توسط آنزیم گلیسرول فسفات اکسیداز به دی هیدروکسی استون فسفات و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) هیدرولیز می‌گردد در سنجش کلسترول،

از کلسترول استراز استفاده می‌شود. در ارزیابی سطح ایمونوگلوبولین تام (Ig) در نمونه‌های پلاسمای ماهیان از روش رسوب پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) استفاده شد (Shelby *et al*., 2002). ایمنوگلبولین IgM نیز به‌وسیله کیت اختصاصی و به روش برهمکنش آنتی‌بادی و آنتی‌ژن سنجش شد. فعالیت لیزوزیم در پلاسما از طریق یک سنجش آنزیمی تعیین می‌شود که در آن بستری حاوی دیواره‌های سلولی باکتری، مانند میکروکوکوس لیزودیکتیکوس، با نمونه پلاسما انکوبه می‌شود.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها براساس آزمون نرمالیته شاپیرو–ویلک، تجزیه و تحلیل داده‌های نرمال به روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با آزمون توکی صورت گرفت. نتایج به‌صورت میانگین و انحراف معیار نشان داده شد. تمامی آنالیزها در محیط نرم‌افزارهای IMB SPSS 24 و Excel 2016 انجام شد.

نتایج

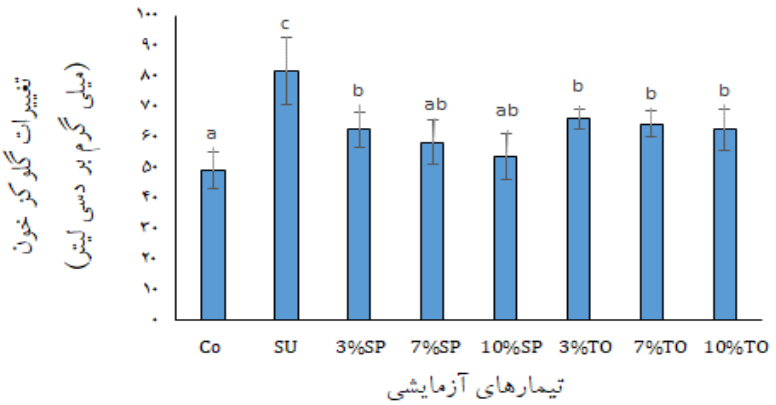
ایجاد جراحت جلدی موجب افزایش معنی‌دار گلوکز در پلاسمای ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید. در حالی‌که تجویز خوراکی عصاره اسپیرولینا به‌صورت خوراکی یا استفاده از پماد اسپیرولینا منجر به کاهش سطح گلوکز در ماهیان شد. با این حال، تنها تجویز دوز ۷٪ و ۱۰٪ مکمل خوراکی اسپیرولینا منجر به بازگشت سطح گلوکز به سطح نرمال گردید. نتایج نشان داد ایجاد جراحت جلدی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید و کلسترول در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<۰/۰۵$). در حالی که استفاده از عصاره اسپیرولینا به صورت مکمل غذایی و همچنین ضماد اسپیرولینا سطح تری‌گلیسرید و کلسترول را کاهش داد، اگرچه اختلاف سطح آنها با گروه ماهیان تحت آزمایش جراحت تجربی معنی‌دار نبود (شکل ۱).

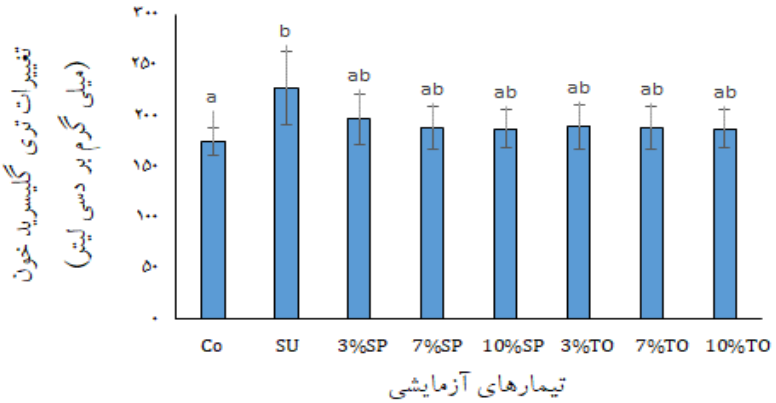
ایجاد جراحت جلدی منجر به افزایش معنی‌دار سطح پروتئین کل و گلبولین پلاسما در ماهیان شد. اگرچه تجویز مکمل ۳٪ عصاره اسپیرولینا تغییر معنی‌داری در تنظیم سطح پروتئین کل و گلبولین پلاسمای ماهیان مجروح ایجاد نکرد، اما با افزایش دوز عصاره اسپیرولینا در جیره غذایی سطح پروتئین کل به سطح پروتئین کل در پلاسمای ماهیان گروه کنترل نزدیک گردید. استفاده از ضماد اسپیرولینا نقش مهمی در تنظیم سطح پروتئین کل پلاسما و گلبولین داشت، هرچند که اختلاف معنی‌داری بین پروتئین کل در ماهیان مجروح بدون درمان و ماهیان تحت درمان مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در حالی‌که سطح گلبولین در ماهیان تحت درمان به‌طور معنی‌داری در مقایسه با ماهیان مجروح کاهش داشت ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که ایجاد جراحت و استفاده از تیمارهای مختلف درمانی تأثیر معنی‌داری بر سطح آلبومین پلاسمای ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشت (شکل ۲؛ $P>۰/۰۵$).

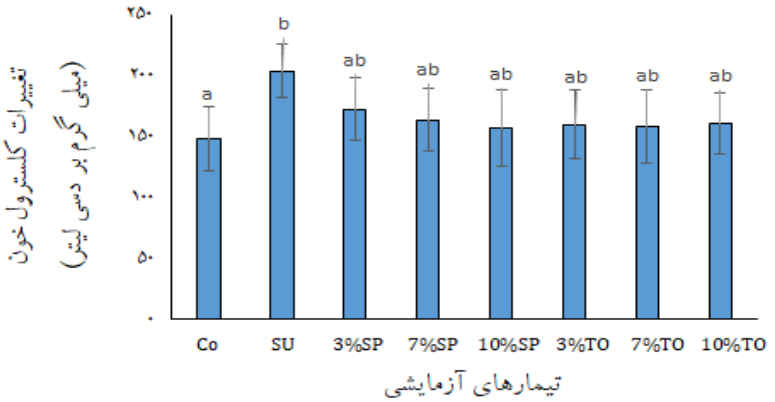
تغییرات در سطح ایمنوگلبولین کل در پلاسمای ماهیان مجروح بدون درمان و تحت درمان، نشان داد که سطح این پارامتر در ماهیان مجروح بدون درمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در حالی‌که تجویز مکمل غذایی اسپیرولینا و ضماد اسپیرولینا می‌تواند سطح ایمنوگلبولین کل را در ماهیان مجروح به سطح آن در ماهیان گروه کنترل نزدیک نماید. ایجاد جراحت جلدی سبب افزایش معنی‌داری در ایمنوگلبولین IgM گردید. اگرچه استفاده از مکمل غذایی اسپیرولینا و ضماد اسپیرولینا می‌تواند در تنظیم سطح IgM مؤثر باشد، اما با افزایش نسبت اسپیرولینا در جیره غذایی و ضماد (۷ و ۱۰٪) تأثیر معنی‌داری در کاهش سطح IgM داشت ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که ایجاد جراحت جلدی سبب افزایش لیزوزیم در پلاسمای ماهیان قزل‌آلای‌رنگین کمان گردید. اگرچه تجویز مکمل غذایی اسپیرولینا تأثیر قابل توجهی در تنظیم سطح فعالیت لیزوزیم در ماهیان مجروح داشت، اما استفاده از ضماد اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری سطح فعالیت لیزوزیم را کاهش داد (شکل ۳؛ $P<۰/۰۵$).

بحث

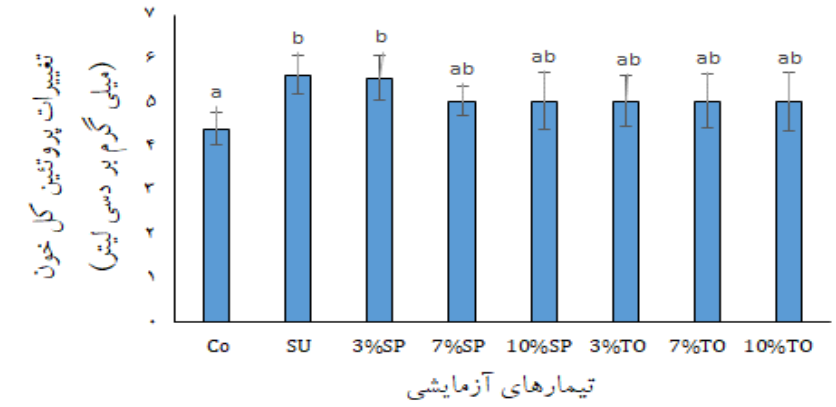
در ماهی‌ها، پوست به‌عنوان یک سد حیاتی در برابر عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند و زمانی که این مانع به‌دلیل آسیب به خطر بیافتد، ارگانیسم برای محافظت از خود پاسخ ایمنی سریعی را نشان می‌دهد (Varga *et al*., 2019)، پاسخ های فیزیولوژیکی آنها به سرعت فعال می‌شود تا استرس را مدیریت کرده و بهبودی حاصل گردد (Schreck and Tort, 2016).

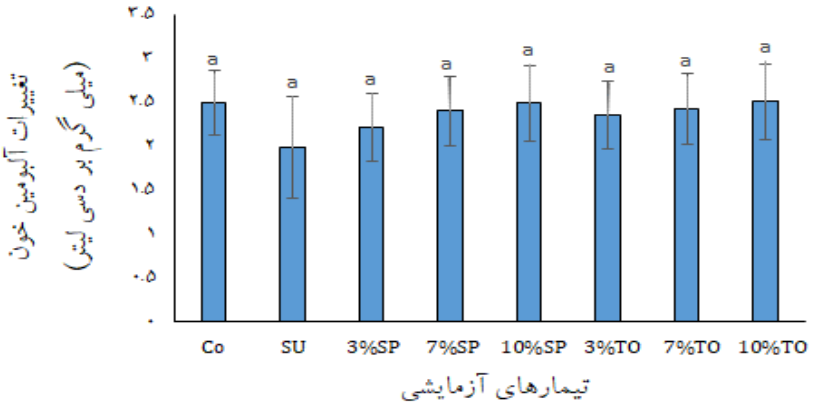


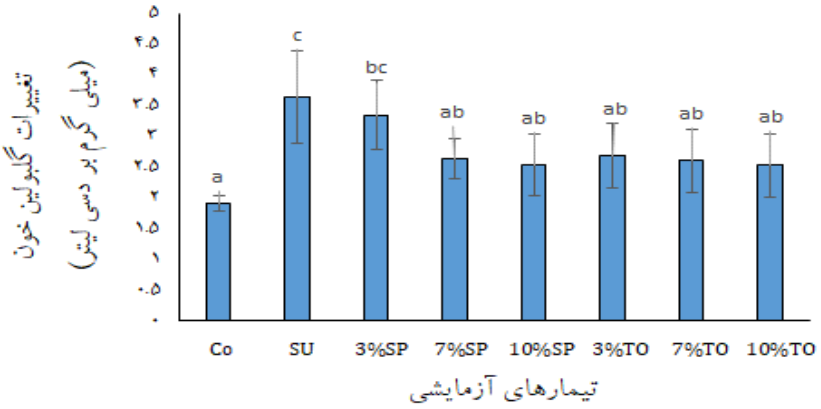




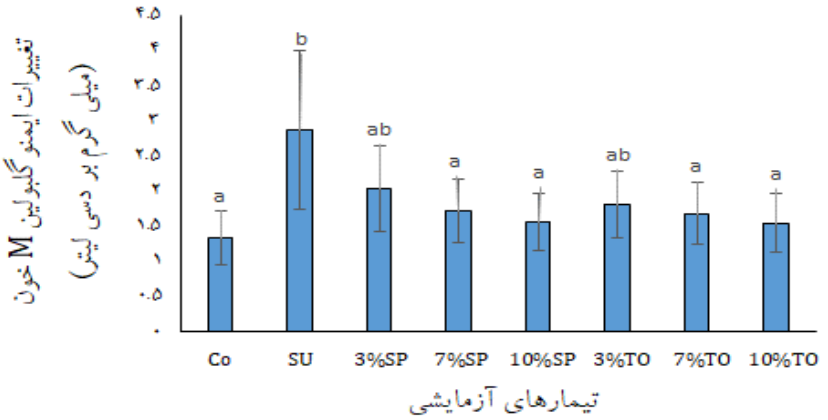
شکل ۱- تغییرات در پارامترهای بیوشیمیایی از جمله گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در پلاسمای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ایجاد جراحت جلدی و درمان با عصاره اسپیرولینا به صورت مکمل غذایی و ضماد (کنترل (Co)، گروهی که به‌طور تجربی آسیب دیده (SU)، گروه تیمار شده با جیره حاوی ۳ ، ۷ و ۱۰ درصد اسپیرولینا (3% SP, 7%SP, 10%SP) و گروه‌های تحت تیمار ضماد اسپیرولینا (3%TO, 7%TO, 10%TO)

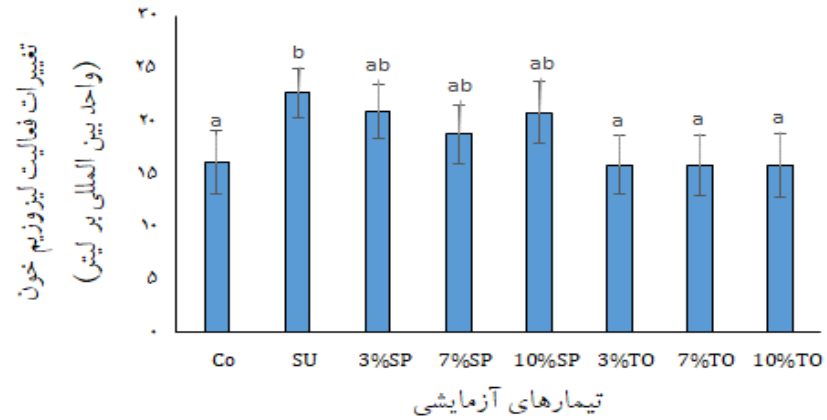






شکل ۲- تغییرات در پارامترهای بیوشیمیایی از جمله پروتئین کل، آلبومین و گلبولین در پلاسمای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ایجاد جراحت جلدی و درمان با عصاره اسپیرولینا به صورت مکمل غذایی و ضماد (کنترل (Co)، گروهی که بطور تجربی آسیب دیده (SU)، گروه تیمار شده با جیره حاوی ۳ ، ۷ و ۱۰ درصد اسپیرولینا (3% SP, 7%SP, 10%SP) و گروه‌های تحت تیمار ضماد اسپیرولینا (3%TO, 7%TO, 10%TO)





شکل ۳- تغییرات در پارامترهای ایمنی از جمله ایمنوگلبولین کل، IgM و فعالیت لیزوزیم در پلاسمای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ایجاد جراحت جلدی و درمان با عصاره اسپیرولینا به صورت مکمل غذایی و ضماد (کنترل (Co)، گروهی که بطور تجربی آسیب دیده (SU)، گروه تیمار شده با جیره حاوی ۳ ، ۷ و ۱۰ درصد اسپیرولینا (3% SP, 7%SP, 10%SP) و گروه‌های تحت تیمار ضماد اسپیرولینا (3%TO, 7%TO, 10%TO)

یکی از پاسخ‌های قابل توجه افزایش سطح گلوکز در پلاسما است (Sneddon *et al*., 2016). افزایش سطح گلوکز پلاسما ممکن است نیازهای متابولیکی مرتبط با فرآیندهای بهبود زخم، از جمله تکثیر سلولی، ترمیم بافت و فعال شدن پاسخ ایمنی در محل آسیب پشتیبانی کند. همچنین، افزایش سطح گلوکز نشان‌دهنده واکنش تطبیقی جاندار به استرس و آسیب است و باعث بهبودی کارآمد و انعطاف‌پذیری در برابر چالش‌های بیشتر است. به‌طور کلی، افزایش سطح گلوکز پلاسما پس از آسیب پوستی در ماهی، بر یک استراتژی فیزیولوژیکی پیچیده با هدف حفظ سلامت و ارتقای مکانیسم‌های درمانی مؤثر تأکید می‌کند. اگرچه استفاده از ضماد اسپیرولینا در کاهش سطح گلوکز در خون ماهیان مجروح شده مؤثر بود، اما اثر بخشی مکمل خوراکی اسپیرولینا ملموس‌تر بود. مکمل خوراکی اسپیرولینا به‌دلیل محتوای کربوهیدرات خود می‌توانند سطح گلوکز پلاسما را تنظیم کند و انرژی لازم برای مقابله با استرس و حمایت از بهبود زخم و پاسخ‌های ایمنی در ماهی‌های آسیب دیده را فراهم نمایند (AbdAllah *et al*., 2023).

پس از تحمل صدمات پوستی، ماهی‌ها تحت تغییرات فیزیولوژیکی پیچیده‌ای قرار می‌گیرند که هدف آنها تسهیل بهبود زخم و حفظ سلامت کلی است. یکی از پاسخ‌های قابل توجه، افزایش سطح کلسترول در پلاسما است (Lemaire *et al*.,1991). افزایش کلسترول ممکن است پاسخ التهابی ناشی از آسیب پوست شامل فعال شدن سلول‌های ایمنی است که برای تشکیل و عملکرد غشای سلولی به کلسترول نیاز دارند. همچنین، استرس ناشی از آسیب باعث افزایش سطح سنتز و ترشح هورمون‌هایی مانند کورتیزول می‌شود که می‌تواند بر متابولیسم لیپیدها از جمله سنتز و آزادسازی کلسترول در جریان خون تأثیر بگذارد. علاوه براین، کلسترول نقش مهمی در سنتز و نگهداری غشای سلولی ایفا می‌کند که برای تکثیر سلولی، مهاجرت و ارسال سیگنال در طول بهبود زخم ضروری است. همچنین، کلسترول به تنظیم سیالیت غشاء کمک می‌کند، که برای حفظ یکپارچگی و عملکرد سلولی در میان چالش‌های آسیب و التهاب بسیار مهم است. بنابراین افزایش سطح کلسترول برای بهبود زخم امری طبیعی است (Ciji and Akhtar, 2021). اسپیرولینا حاوی اسیدهای چرب ضروری است که ممکن است با افزایش بالقوهHDL (کلسترول خوب) و کاهش سطح LDL(کلسترول بد) به تنظیم سطح کلسترول کمک کند و سلامت ماهی‌های آسیب‌دیده را افزایش دهد (Wan *et al*., 2021).

به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی، اغلب یک افزایش معنی‌دار در سطح تری‌گلیسیرید در پلاسما مشاهده شد که ممکن است ناشی از وقوع یک سری پاسخ‌های فیزیولوژیکی جهت حمایت از بهبود زخم و حفظ تعادل متابولیک انجام شده باشد. تری‌گلیسیریدها، لیپیدهای ضروری ذخیره شده در بافت چربی و کبد، به‌عنوان یک منبع انرژی حیاتی عمل می‌کنند (Luo and Liu, 2016). هنگامی که ماهی آسیب-های پوستی را تحمل می‌کند، مکانیسم‌های مختلفی برای افزایش تری‌گلیسیرید پلاسما وارد عمل می‌شود. اولاً، آسیب باعث واکنش استرس در ماهی و ترشح هورمون‌هایی مانند کورتیزول می‌شود. کورتیزول باعث تجزیه تری گلیسیریدهای ذخیره شده به اسیدهای چرب به‌منظور تأمین نیازهای انرژی مرتبط با ترمیم بافت و فعال شدن پاسخ ایمنی می‌شود. ثانیاً، واکنش التهابی ناشی از آسیب، سنتز واسطه‌های التهابی مانند پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها، که نقش اساسی در سیگنال‌دهی ایمنی و رفع التهاب دارند را افزایش می‌دهد (Abdulkhaleq *et al*., 2018). یافته‌های علمی نشان می‌دهد که تری‌گلیسیریدها در تولید این واسطه‌ها نقش دارند. علاوه بر این، تری‌گلیسیرید به‌عنوان حامل ویتامین‌های محلول در چربی عمل می‌کند و به انتقال آنها در سراسر بدن کمک می‌کند (Reboul, 2023). در واقع، افزایش سطح تری‌گلیسیرید پلاسما به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی، منعکس‌کننده یک پاسخ انطباقی هماهنگ با هدف برآوردن نیازهای انرژی و متابولیک لازم برای بهبود مؤثر زخم و بهبودی در محیط‌های آبی است (Meshkat Roohani *et al*., 2020).

به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی، معمولاً افزایش قابل توجهی در سطح پروتئین کل در پلاسما مشاهده شد. پروتئین‌های پلاسما نقش‌های چندوجهی را ایفا می‌کنند که برای پاسخ ماهی به آسیب بسیار مهم است (Bayne and Gerwick, 2001). این پروتئین‌ها در تعدیل پاسخ‌های ایمنی، رفع التهاب و ارتقای فرآیندهای ترمیم بافت و در مکانیسم‌های بهبود زخم ضروری هستند. آنها به تشکیل فاکتورهای لخته شدن و فیبرینوژن کمک می‌کنند که برای هموستاز و مراحل اولیه بسته شدن زخم ضروری است

(Cruvinel *et al*., 2010). افزایش سطح پروتئین کل در پلاسما به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی نشان‌دهنده یک پاسخ فیزیولوژیکی سازگار برای هماهنگی منابع و ایجاد مکانیسم-هایی با هدف مبارزه با عفونت، افزایش روند بهبودی و بازگرداندن عملکرد طبیعی بافت در محیط‌های آبی است. از آنجا که اسپیرولینا سرشار از پروتئین و ترکیبات زیست‌فعال است که می‌تواند سنتز پروتئین را افزایش دهد و به‌طور بالقوه سطح پروتئین کل در پلاسما را که برای ترمیم بافت و بهبودی کلی در ماهیان آسیب‌دیده ضروری است، تنظیم نماید (Toughan *et al*., 2018).

به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی، افزایش معنی‌داری در سطح گلوبولین در پلاسما مشاهده شد که نشان‌دهنده یک پاسخ ایمنی قوی و تغییرات فیزیولوژیکی تطبیقی با هدف مدیریت آسیب و ارتقاء بهبود است. گلوبولین‌ها گروه متنوعی از پروتئین‌ها را در بر می‌گیرند که برای دفاع ایمنی، حمل‌ونقل و عملکردهای تنظیمی در بدن ضروری هستند (Schroeder and Cavacini, 2010). گلوبولین‌ها به عنوان حامل‌های زیستی برای مواد مختلف از جمله هورمون‌ها، فلزات و لیپیدها عمل می‌کنند که برای انتقال و توزیع ریز مغذی‌ها و عوامل تنظیم‌کننده برای حمایت از بهبود در محل آسیب بسیار مهم هستند. (Balfoussia *et al*., 2014). نتایج نشان داد که استفاده از مکمل خوراکی اسپیرولینا ممکن است پاسخ‌های ایمنی را تحریک کنند و به طور بالقوه سطح گلوبولین را در پلاسما تنظیم کند تا مکانیسم‌های دفاعی ایمنی را در ماهی‌های آسیب دیده افزایش دهند. پماد اسپیرولینا که به‌صورت موضعی استفاده می‌شود ممکن است پاسخ‌های ایمنی را تحریک کند، به‌طور بالقوه از طریق تنظیم سطح گلوبولین در پلاسما موجب تقویت مکانیسم‌های دفاعی ایمنی در محل آسیب ماهیان آسیب دیده شود. آسیب پوستی در ماهی‌ها می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر سطح آلبومین در پلاسمای آنها تأثیر بگذارد و منعکس‌کننده یک تعامل پیچیده از پاسخ‌های فیزیولوژیکی با هدف مدیریت آسیب و عواقب آن است. آلبومین، یک پروتئین حیاتی، با چندین عملکرد ضروری از جمله حفظ تعادل اسمزی، انتقال موادی مانند هورمون‌ها و یون‌ها و بافر کردن pH سطوح نسوج است. بنابراین ممکن است بلافاصله پس از آسیب پوستی، ماهی‌ها نوسانات سطح آلبومین را به‌عنوان بخشی از پاسخ استرس حاد خود تجربه کنند؛ اما پس از گذشت زمان سطح آلبومین به سطح نرمال باز خواهد گشت (Belinskaia *et al*., 2021). نتایج نشان داد که استفاده موضعی از پماد اسپیرولینا و مکمل‌های خوراکی اسپیرولینا ممکن است بر سطح آلبومین به‌صورت موضعی در محل زخم و سطح آن در پلاسما تأثیر بگذارد و به‌طور بالقوه در ترمیم بافت و حفظ تعادل مایع در ماهیان آسیب دیده کمک کند.

به‌دنبال آسیب پوستی در ماهی، افزایش قابل توجهی در سطح کل ایمونوگلوبولین در پلاسما گزارش شد که منعکس‌کننده یک پاسخ ایمنی قوی برای مدیریت آسیب و دفاع در برابر پاتوژن‌های بالقوه است. ایمونوگلوبولین‌ها یا آنتی‌بادی‌ها اجزای حیاتی سیستم ایمنی تطبیقی هستند که مسئول شناسایی و خنثی‌سازی آنتی‌ژن‌های خاص هستند (Kellie and Al-Mansour, 2017). ایمونوگلوبولین‌ها با افزایش جذب سلول‌های ایمنی و فعال شدن در محل آسیب به این فرآیند کمک می‌کنند. علاوه بر این، افزایش سطح ایمونوگلوبولین پلاسما بر ماهیت تطبیقی پاسخ ایمنی در ماهی و یک مکانیسم دفاعی هدفمند متناسب با تهدیدات خاصی را که پس از آسیب پوستی با آن مواجه می‌شوند، است (Kum and Sekkin, 2011). تجویز مکمل‌های اسپیرولینا ممکن است از طریق بهبود عملکرد سیستم ایمنی را سطح ایمونوگلوبولین کل در پلاسما را تنظیم کند که برای پاسخ‌های ایمنی تطبیقی و دفاع پاتوژن در ماهیان آسیب دیده بسیار مهم است. همچنین استفاده از پماد اسپیرولینا ممکن است عملکرد سیستم ایمنی را به‌صورت موضعی تحریک کند، که منجر به تنظیم سطح ایمونوگلوبولین کل در پلاسما شود، که برای پاسخ‌های ایمنی تطبیقی و دفاع پاتوژن در محل آسیب ماهیان آسیب‌دیده اثر گذارد. پس از آسیب پوستی در ماهیان، معمولاً سطوح IgM در پلاسما به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که جنبه محوری پاسخ ایمنی آنها را برجسته می‌کند. IgM یک ایمونوگلوبولین بنیادی است و نقش مهمی در مراحل اولیه دفاع ایمنی و پاسخ به آنتی‌ژن‌های مواجهه شده ایفا می‌کند (Grönwall *et al*., 2012). نتایج نشان داد که تجویز مکمل‌های اسپیرولینا، ممکن است با تنظیم سطح IgM را در پلاسما به پاسخ ایمنی سریع و مؤثر به پاتوژن‌ها در ماهی‌های آسیب‌دیده کمک کند. علاوه براین، استفاده از پماد اسپیرولینا، به‌طور موضعی می‌تواند سطح IgM را در پلاسما به گونه‌ای تنظیم کند که

به پاسخ ایمنی سریع و مؤثر به پاتوژن‌ها در محل آسیب ماهیان آسیب‌دیده منجر شود.

هنگامی که پوست ماهی آسیب می‌بیند، چه در اثر ضربه فیزیکی یا حمله پاتوژن، سیستم ایمنی ذاتی بدن با افزایش تولید و فعالیت لیزوزیم واکنش نشان می‌دهد. افزایش فعالیت لیزوزیم می‌تواند از طریق شکستن دیواره‌های سلولی محافظ آنها به مبارزه با هر گونه باکتری مهاجم کمک کند. علاوه بر این، لیزوزیم‌ها به نوبه خود، می‌توانند روند بهبود زخم را از طریق پاک‌سازی بقایای پاتوژن‌ها و سلول‌های مرده از محل زخم، بازسازی بافت سالم را تسهیل کنند و به بازیابی یکپارچگی سد پوستی کمک کنند. فراتر از نقش مستقیم ضد میکروبی و بهبود زخم، افزایش فعالیت لیزوزیم نقش سیگنال‌دهی را نیز در سیستم ایمنی ایفا می‌کند. نتایج نشان داد که ترکیبات زیست‌فعال اسپیرولینا، هنگامی که به‌صورت خوراکی تجویز می‌شوند، ممکن است از طریق تنظیم فعالیت لیزوزیم را در پلاسما به دفاع ضد میکروبی و بازسازی بافت پس از آسیب در ماهیان آسیب‌دیده کمک کنند. در حالی‌که ترکیبات زیست‌فعال اسپیرولینا به شکل پماد ممکن است فعالیت موضعی لیزوزیم را تنظیم کرده و به دفاع ضد میکروبی و بازسازی بافت به‌ویژه در محل آسیب ماهیان آسیب‌دیده کمک نمایند.

نتیجه‌گیری

افزایش سطح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین تام، گلوبولین و ایمونوگلوبولین پلاسما پس از آسیب پوستی در ماهی در غلظت ۷ درصد خوراکی که از غلظت ۷ درصد پماد هم استفاده شده بود نشان‌دهنده پاسخ‌های فیزیولوژیکی هماهنگ با هدف تأمین انرژی، حمایت از التهاب و عملکرد سیستم ایمنی، برآوردن نیازهای متابولیک برای بهبودی، بازگرداندن یکپارچگی بافت است. در حالی‌که افزایش فعالیت لیزوزیم بر پاسخ ایمنی ذاتی ماهی برای دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا و کمک به ترمیم بافت پس از آسیب تأکید می‌کند. این مکانیسم‌های تطبیقی برای ماهی‌ها برای مدیریت و غلبه بر چالش‌های ناشی از آسیب‌های پوستی در زیستگاه طبیعی‌شان ضروری است. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز مکمل‌های خوراکی اسپیرولینا و یا استفاده از پماد اسپیرولینا هر دو اثرات مفیدی بر پارامترهای فیزیولوژیکی مختلف در ماهی‌های آسیب‌دیده دارند؛ هر چند روش‌های مصرف آنها (مکمل‌های خوراکی در مقابل پماد موضعی) اثرات مشخصی بر برخی از پامترهای بیوشیمیایی و ایمنی داشت. با این وجود، این اثرات در مجموع از عملکرد سیستم ایمنی، فرآیندهای متابولیک و ترمیم بافت در طول بهبودی آسیب‌های پوستی در محیط‌های آبی پشتیبانی می‌کنند.

منابع

AbdAllah H.M., Hamed A.A.S., Bakry M.A., Eldin I.M., AbdElal M.N., Mohamed D.T., Mohamady S.N. 2023. Impact of Spirulina Supplementation on Some Immune and Biochemical Parameters of Nile Tilapia under Cold Stress. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* 79(1).

Abdulkhaleq L.A., Assi M.A., Abdullah R., Zamri-Saad M., Taufiq-Yap Y.H., Hezmee M.N.M. 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World* 11(5), 627.

AlFadhly N.K., Alhelfi N., Altemimi A.B., Verma D.K., Cacciola F., Narayanankutty A. 2022. Trends and technological advancements in the possible food applications of Spirulina and their health benefits: A Review. *Molecules* 27(17), 5584.

Ángeles Esteban M. 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. *International ScholarlyResearch Notices* 2012(1), 853470.

Balfoussia E., Skenderi K., Tsironi M., Anagnostopoulos A.K., Parthimos N., Vougas K., Papassotiriou I., Tsangaris G.T., Chrousos G.P. 2014. A proteomic study of plasma protein changes under extreme physical stress. *Journal of Proteomics* 98, 1-14.

Bayne C.J., Gerwick L. 2001. The acute phase response and innate immunity of fish. *Developmental & Comparative Immunology* 25(8-9), 725-743.

Belinskaia D.A., Voronina, P.A., Goncharov N.V. 2021. Integrative role of albumin: evolutionary, biochemical and pathophysiological aspects. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 57, 1419-1448.

Castanheira M.F., Conceição L.E., Millot S., Rey S., Bégout M.L., Damsgard B., Tore Kristiansen

T., Höglund E., Øverli Q., Martins C.I.M. 2017. Coping styles in farmed fish: consequences for aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 9(1), 23-41.

Ciji A., Akhtar M.S. 2021. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. *Reviews in Aquaculture* 13(4), 2190-2247.

Cruvinel W.D.M., Mesquita Júnior D., Araújo J.A.P., Catelan T.T.T., Souza A.W.S.D., Silva N.P.D., Andrade, L.E.C. 2010. Immune system: Part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. *Revista Brasileira de reumatologia* 50, 434-447.

DiGangi B.A., Kommedal, A.T. 2018. Sanitation and surgical asepsis. *Field Manual for Small Animal Medicine* 263-288.

Elbialy Z.I., Assar D.H., Abdelnaby A., Asa S.A., Abdelhiee E.Y., Ibrahim S.S., Atiba A. 2021. Healing potential of Spirulina platensis for skin wounds by modulating bFGF, VEGF, TGF-ß1 and α-SMA genes expression targeting angiogenesis and scar tissue formation in the rat model. *Biomed Pharmacother* 137(111349), 10-1016.

Elmogy M., Bassal T.T., Yousef H.A., Dorrah M.A., Mohamed A.A., Duvic B. 2015. Isolation, characterization, kinetics, and enzymatic and nonenzymatic microbicidal activities of a novel c-type lysozyme from plasma of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Insect Science* 15(1), 57.

Evans D.H., Claiborne J.B. 2008. Osmotic and ionic regulation in fishes. In *Osmotic and ionic regulation* (pp. 295-366). CRC Press.

Grönwall C., Vas J., Silverman G.J. 2012. Protective roles of natural IgM antibodies. *Frontiers in Immunology* 3, 66.

Jaeschke D.P., Teixeira I.R., Marczak L.D.F., Mercali, G.D. 2021. Phycocyanin from Spirulina: A review of extraction methods and stability. *Food Research International* 143, 110314.

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.

Kapasi Z.F. 2024. The immune system and infectious diseases and disorders. In *Acute Care Physical Therapy* (pp. 149-176). Routledge.

Kazemipour N., Moradi S., Sepehrimanesh M., Nazifi S. 2018. Evaluation of the effects of alcoholic extract of ginger on renal cytotoxicity of silver nanoparticles: A Mus musculus model. *Comparative Clinical Pathology* 27, 1587-1593.

Kellie S., Al-Mansour Z. 2017. Overview of the immune system. In *Micro and nanotechnology in vaccine development* (pp. 63-81). William Andrew Publishing.

Knight J. 2013. *Natural enemies: people-wildlife conflicts in anthropological perspective*. Routledge.

Kum C., Sekkin S. 2011. The immune system drugs in fish: immune function, immunoassay, drugs. Recent advances in fish farms, pp. 169-216.

Lemaire P., Drai P., Mathieu A., Lemaire S., Carriere S., Giudicelli J., Lafaurie M. 1991. Changes with different diets in plasma enzymes (GOT, GPT, LDH, ALP) and plasma lipids (cholesterol, triglycerides) of sea-bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 93(1), 63-75.

Lewbart G.A. 2008. Ornamental Fish. *Rapid Review of Exotic Animal Medicine and Husbandry: Pet Mammals, Birds, Reptiles, Amphibians and Fish* 237.

Luo L., Liu M. 2016. Adipose tissue in control of metabolism. *Journal of Endocrinology* 231(3), R77-R99.

Meshkat Roohani A., Fallahi Kapoorchali M., Abedian Kenari A., Sayyad Borani M., Zorriezahra M.J. 2020. Hematite-biochemical and immune response of Caspian brown trout (*Salmo troutta caspius*, Kessler, 1877) juveniles fed different levels of spirulina (Spirulina platensis). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19(3), 1153-1174.

Panigrahi B.B., Panda P.K., Patro V.J. 2011. Wound healing activity of spirulina extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 6(2), 132-135.

Ragusa I., Nardone G.N., Zanatta S., Bertin W., Amadio E. 2021. Spirulina for skin care: A bright blue future. *Cosmetics* 8(1), 7.

Reboul E. 2023. Proteins involved in fat-soluble vitamin and carotenoid transport across the intestinal cells: New insights from the past decade. *Progress in Lipid Research* 89, 101208.

Schreck C.B., Tort L. 2016. The concept of stress in fish. In *Fish Physiology* (Vol. 35, pp. 1-34).

Academic Press.

Schroeder Jr H.W., Cavacini L. 2010. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125(2), S41-S52.

Sehnal L., Brammer-Robbins E., Wormington A.M., Blaha L., Bisesi J., Larkin I., Martyniuk **C.J. Simonin M., Adamovsky O. 2021.** Microbiome composition and function in aquatic vertebrates: small organisms making big impacts on aquatic animal health. *Frontiers in Microbiology* 12, 567408.

Shelby R.A., Evans J.J., Klesius P.H. 2002. Isolation, purification, and molecular weight determination of serum immunoglobulin from gulf menhaden: development of an enzyme-linked immunosorbent assay to assess serum immunoglobulin concentrations from Atlantic menhaden. *Journal of Aquatic Animal Health* 14(4), 254-262.

Sneddon L.U., Wolfenden D.C., Thomson J.S. 2016. Stress management and welfare. In *Fish Physiology* (Vol. 35, pp. 463-539). Academic Press.

Takei Y., Hwang P.P. 2016. Homeostatic responses to osmotic stress. In *Fish Physiology* (Vol. 35, pp. 207-249). Academic Press.

Toughan H., Khalil S.R., El-Ghoneimy A.A., Awad A., Seddek A.S. 2018. Effect of dietary supplementation with Spirulina platensis on Atrazine-induced oxidative stress-mediated hepatic damage and inflammation in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149, 135-142.

Varga J.F., Bui-Marinos, M.P., Katzenback B.A. 2019. Frog skin innate immune defences: sensing and surviving pathogens. *Frontiers in Immunology* 9, 3128.

Wan D., Wu Q., Kuča K. 2021. Spirulina. In *Nutraceuticals* (pp. 959-974). Academic Press.

Wang M., Morón-Ortiz Á., Zhou J., Benítez-González A., Mapelli-Brahm P., Meléndez-Martínez A.J., Barba F.J. 2023. Effects of pressurized liquid extraction with dimethyl sulfoxide on the recovery of carotenoids and other dietary valuable compounds from the microalgae *Spirulina*, *Chlorella* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Food Chemistry* 405, 134885.

Wu Q., Liu L., Miron A., Klímová B., Wan D., Kuča K. 2016. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. *Archives of Toxicology* 90, 1817-1840.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 12, No 22, 137-150
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

Investigating the therapeutic effect of *Spirulina platensis* algae supplement and poultice on biochemical parameters and immune parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) after skin injury

Mohammad Saeed Faridouni[1], Rasuol Ghorbani*[1], Nader Tanideh[2], Abdul Majid Haji-Moradlou[1], Seyed Abbas Hosseini[1], Mahdi Banaee[3], Hadithseh Kashiri[1]

[1]Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
[2]Stem cell research center and pharmacology department, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Iran.
[3]Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Khatam Alanbia University of Technology, Behbehan, Iran.

*Corresponding author: rasulghorbani@gmail.com
Received: 11.July.2024 **Accepted: 3.Sep.2024**

Abstract
The skin is the first protective barrier against physical injuries and pathogens. *Spirulina* microalgae can be used to improve skin damage in fish due to its content of micronutrients, such as essential fatty acids, essential amino acids, and more. In this study, 360 rainbow trout weighing 50 grams each (with ethical code number 9821316001) were used at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Before the final test, the effects of *spirulina* extract at concentrations ranging from 1% to 15% were evaluated on the fish. Subsequently, three doses—3%, 7%, and 10%—were selected for oral and poultice testing. After inducing skin injuries, the fish were treated both orally and with poultices for 28 days. On the 28th day, blood samples were collected, and biochemical and immune parameters were measured. The observed increases in glucose, cholesterol, triglycerides, total protein, globulin, and immunoglobulin plasma levels, along with elevated lysozyme activity after skin damage, indicate physiological responses aimed at recovery and the restoration of tissue integrity. The results of this study showed that administering *spirulina* supplements, particularly in the group that received a 7% concentration orally and used an ointment of the same concentration, had beneficial effects on various physiological parameters in injured fish.

Keywords: Wound, *Spirulina*, rainbow trout, Biochemical, Immunity