

Effect of dietary *Spirulina platensis* and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio*)

Mohammad Taghi Farhadi¹, Mohammadreza Imanpour^{*2}, Roghieh Safari³

1. Ph.D. Student in Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: mtfarhadi1361@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: imanpoor@gau.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: fisheriessafari@yahoo.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.21.2022
Revised: 07.10.2022
Accepted: 08.01.2022

Keywords:
Common carp,
Growth,
Hematological parameters,
Natosyme Multi-Enzyme,
Spirulina algae

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of using spirulina algae and Natuzyme Multi-Enzyme in the diet of common carp on growth performance, survival and hematological parameter for 60 days. For this, 540 pieces of common carp fry with an average weight of 102 ± 0.2 g were prepared and under 8 treatments including: 1% spirulina algae powder, 2% spirulina algae powder, 0.05% Natuzyme Multi-Enzyme, 0.1% Natuzyme Multi-Enzyme, combination of spirulina powder (1 and 2%) and Natuzyme Multi-Enzyme (0.05%), combination of spirulina powder (1 and 2%) and Natuzyme Multi-Enzyme (0.1%) and control group (each with 3 replicates) were fed daily 3% of body weight. At the end of the experiment, bioassays were performed on all fish to examine growth indices. In order to perform hematological examinations, blood sampling of all treatments were completely randomly performed. The results of this study showed that the treatments fed a diet containing a combination of 2% algae powder and 0.1% Natuzyme Multi-Enzyme had a higher rate of weight gain, specific growth rate and feed conversion ratio compared to other experimental treatments ($P < 0.05$). However, the survival percentage was not significantly different between the treatments and the control group ($P < 0.05$). Also, the results showed that there was no significant difference in hematological parameters between treatments fed with spirulina powder and Natuzyme Multi-Enzyme single and in combination from the control group ($P > 0.05$). In addition, the number of white blood cells, red blood cells, hemoglobin and hematocrit in all treatments were not statistically different from each other ($P > 0.05$). In general, due to the positive effects of combining spirulina algae powder at 2% of the diet and Natuzyme Multi-Enzyme at 0.1% of the diet, adding them is recommended to the diet of common carp.

Cite this article: Farhadi, Mohammad Taghi, Imanpour, Mohammadreza, Safari, Roghieh. 2023. Effect of dietary *Spirulina platensis* and Natuzyme multi-enzyme on growth performance, survival and hematological parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (2), 171-186.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/japu.2023.20352.1680

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

محمدتقی فرهادی^۱، محمدرضا ایمانپور^{۲*}، رقیه صفری^۳

۱. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: mtfarhadi1361@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: imanpoor@gau.ac.ir
۳. دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: fisheriessafari@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	این پژوهش با هدف بررسی تأثیر استفاده جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی کپور معمولی روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی به مدت ۶۰ روز انجام شد. بدین منظور تعداد ۵۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 100 ± 0.2 گرم تهیه و تحت ۸ تیمار شامل: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، ۰/۵ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، ۰/۱ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تلفیق جلبک اسپیرولینا (۱ و ۲ درصد) و مولتی آنزیم ناتوزیم (۰/۵ درصد)، تلفیق جلبک اسپیرولینا (۱ و ۲ درصد) و مولتی آنزیم ناتوزیم (۰/۱ درصد) و گروه شاهد (هر کدام با ۳ تکرار) روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای آزمایش، جهت بررسی شاخص‌های رشد، زیست‌سنجی از تمام ماهیان صورت گرفت. به منظور بررسی‌های خون‌شناسی عملیات خون‌گیری از ساقه دمی تیمارها به صورت کاملاً تصادفی انجام گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی تلفیق ۲ درصد جلبک و ۰/۱ درصد مولتی آنزیم دارای میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بهتری در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0.05$). با این حال، درصد بازماندگی بین تیمارها و گروه شاهد تفاوت معناداری نداشت ($P > 0.05$). هم‌چنین، نتایج نشان داد که بین شاخص‌های خونی تیمارهای تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم به صورت جداگانه و تلفیقی تفاوت معناداری با گروه شاهد وجود نداشت ($P > 0.05$)، به علاوه، تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در تمامی تیمارها با یکدیگر تفاوتی از
واژه‌های کلیدی: جلبک اسپیرولینا، رشد، شاخص‌های خونی، کپور معمولی، مولتی آنزیم ناتوزیم	

لحاظ آماری نداشتند ($P > 0/05$). به‌طورکلی، با توجه به اثرات مثبت استفاده توأم جلبک اسپیرولینا به میزان ۲ درصد جیره و مولتی‌آنزیم ناتوزیم به میزان ۰/۱ درصد جیره، افزودن این دو ماده به صورت تلفیقی به جیره غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی توصیه می‌گردد.

استناد: فرهادی، محمدتقی، ایمانیپور، محمدرضا، صفری، رقیه (۱۴۰۲). اثر افزودن جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و مولتی‌آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۲ (۲)، ۱۸۶-۱۷۱.

DOI: 10.22069/japu.2023.20352.1680



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

موفقیت در آبی‌پروری پایدار با به حداقل رساندن هزینه خوراک ارتباط نزدیکی دارد؛ زیرا میزان ۶۰-۵۰ درصد از کل هزینه در آبی‌پروری مربوط به تهیه غذا می‌باشد (۱). بنا بر برآوردهای انجام شده توسط سازمان خواربار کشاورزی (FAO) تا سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان به حدود ۱۰ میلیارد نفر خواهد رسید و در پی افزایش جمعیت کره زمین، تقاضا برای گوشت و دیگر مواد غذایی افزایش خواهد یافت که در صورت نبود و عدم مدیریت صحیح، تشدید گرسنگی و فقر در جهان را در بر می‌گیرد. در حالی که تولید گوشت قرمز و دیگر محصولات کشاورزی به علت تغییرات اقلیمی با محدودیت رو به رو خواهد بود (۲)، با اعمال مدیریت صحیح در عرصه آبی‌پروری این فقدان جبران می‌گردد. آبی‌پروری شامل سه هدف اصلی توسعه و تولید محصولات غذایی با کم‌ترین و بهینه‌ترین میزان استفاده از منابع طبیعی آب و زمین (۳)، توسعه سیستم‌های پایدار با حداقل اثرات زیان‌آور روی محیط زیست (۴) و ایجاد سیستم‌هایی در جهت حمایت اقتصادی جامعه و پایداری تولید می‌باشد (۲).

یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی در جیره غذایی آبزیان، وجود کربوهیدرات‌های هضم‌ناپذیر است (۵). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که استفاده از آنزیم‌ها در جیره‌های غذایی حیوانات می‌تواند اثرات منفی ناشی از الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم را به میزان قابل‌ملاحظه‌ای کاهش دهد (۶، ۷). بررسی آنزیم‌ها و مولتی‌آنزیم‌های مؤثر در هیدرولیز الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم بر عملکرد آبزیانی که با جیره‌های حاوی مقادیری از غلات تغذیه می‌شوند تأثیر مثبتی را در رشد و بهبود قابلیت هضم‌پذیری مواد غذایی نشان داده است (۸). مولتی‌آنزیم‌ها ترکیبی متشکل از چندین نوع آنزیم

می‌باشند که بر انواع مختلفی از ترکیبات غذایی مؤثر هستند و باعث افزایش جذب آن‌ها می‌گردند (۹، ۱۰، ۱۱). مولتی‌آنزیم ناتوزیم یکی از مکمل‌های آنزیمی است که حاوی فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفاآمیلاز، سلولاز، همیسلولاز، پکتیناز، آمیوگلیکوزیداز، لیپاز، زایلاناز، پروتئاز، اسیدفیتاز، اسیدفسفاتاز و پنتوزاناز می‌باشد. نقش مولتی‌آنزیم‌ها در جیره غذایی اثرگذاری و تأثیر روی اجزای غذایی غیرقابل هضم از جمله الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم موجود در جیره غذایی می‌باشد که باعث شکسته شدن این اجزا می‌گردند. همچنین، پژوهش‌ها نشان داد که این دسته از الیگوساکاریدهای غیرقابل هضم ویسکوزیته یا چسبناکی محتویات دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند و مانع از اختلاط فیزیکی کامل و آسان مواد وارد شده به دستگاه گوارش و انتشار مناسب آنزیم‌ها و اختلاط آن‌ها با مواد غذایی موجود در دستگاه گوارش می‌گردند. در نتیجه، جمعیت میکروبی در روده کوچک و هضم و جذب مواد مغذی نیز کاهش می‌یابد (۵، ۱۲). از این‌رو، با افزودن مولتی‌آنزیم‌ها میزان هضم و جذب مواد غذایی و در نهایت کارایی تغذیه افزایش می‌یابد (۱۳، ۱۴).

میکروجلبک‌ها، تولیدکنندگان مهم مواد آلی پیچیده از انرژی خورشیدی و دی‌اکسید کربن بوده و به عنوان ارگانسیم‌های غذایی برای زئوپلانکتون و گیاه‌خواران بزرگ‌تر، تولید پایه آبزیان را پشتیبانی می‌کنند. اثر مکمل‌های غذایی میکروجلبکی بر مقاومت به بیماری، کیفیت لاشه، رشد و زنده‌مانی در گونه‌های مختلف آبزیان گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه اثرات جلبک اسپرولینا بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون کپور هندی (*Catla catla*) (۱۵) و شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی گورامی کوتوله (*Trichogaster lalius*) (۱۶) اشاره کرد. در واقع، جلبک اسپرولینا یک سیانوباکتر و

تصادفی در ۸ تیمار و یک گروه شاهد با ۳ تکرار در ۲۷ مخزن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۶۰ لیتر با تراکم ۲۰ قطعه بچه ماهی در هر مخزن) به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. در این آزمایش روزانه ۷۵ درصد آب مخازن با استفاده از شیلینگ و به روش سیفون، تعویض می‌شد. داخل هر مخزن یک عدد سنگ هوای متصل به یک هواده مرکزی کار گذاشته شده بود تا اکسیژن مورد نیاز تأمین گردد.

تیمارهای آزمایشی شامل گروه‌های تغذیه شده با جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی) و ۸ جیره آزمایشی شامل تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد بود (۲۲). غذادهی روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن و سه نوبت در روز انجام می‌شد.

در این آزمایش، پودر جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم از شرکت لیوپروتن استرالیا تهیه و به ترتیب به صورت پودر شده و محلول به جیره‌های آزمایشی افزوده شد (۲۲). پودر جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم مربوط به هر تیمار به جیره‌های غذایی اسپری شد. پلت‌های مرطوب در دمای محیط به مدت ۴۸ ساعت در معرض هوای آزاد قرار داده شد (۲۳). در پایان پلت‌ها بسته‌بندی و برچسب‌گذاری شده و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذا دهی به میزان ۳ درصد وزن بدن و در ۳ مرحله در طول شبانه‌روز طی دو ماه به ماهی‌ها انجام شد.

از جلبک‌های سبز- آبی ماریچی با قطر ۱۲ میکرون می‌باشد که به دلیل غنی بودن از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، آمینو اسیدهای ضروری، مواد معدنی، اسید چرب ضروری و کاراتنوئیدها مانند زاگزانتین، بتاکاروتن، کریپتوگزانتین و گزانتوفیل در اغلب موارد به‌عنوان اولین ریز جلبک پیشنهادی جهت استفاده به‌صورت مکمل غذایی پیشنهاد می‌گردد (۱۷). امروزه اسپیرولینا بیش‌تر به‌عنوان مکمل غذایی در صنعت داروسازی به شکل قرص یا پودر و همچنین در صنایع آبزی‌پروری، آکواریوم و ماکیان نیز از آن استفاده می‌شود (۱۸).

ماهی کپور معمولی یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های پرورشی در جهان است که از گذشته دور به علت سازگاری بالا و رشد خوب در مزارع پرورش آبیان نگهداری و تولید می‌گردد (۱۹). بر اساس پژوهش‌ها مشخص گردید که آبزی‌پروری پایدار به معیارهای مختلفی بستگی دارد که از جمله این معیارها تغذیه آبیان و جیره غذایی مناسب می‌باشد (۲۰، ۲۱). طبق بررسی‌های انجام شده، تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر استفاده از جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم به‌صورت انفرادی و تلفیقی بر عملکرد رشد، بازماندگی و شاخص‌های خون‌شناسی در ماهی کپور معمولی صورت نگرفته است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی شاخص‌های مذکور صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمار بندی و تهیه ماهی: در این پژوهش، تعداد ۵۴۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزن تقریبی 0.2 ± 1.0 گرم از یکی از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی واقع در استان گلستان تهیه و به سالن آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی انتقال یافت. پس از گذشت مدت زمان دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی، بچه‌ماهیان در قالب یک طرح کاملاً

شد (۲۴) به همین منظور کل بچه‌ماهیان مورد پرورش به‌صورت جداگانه از هر تکرار صید و پس از خشک کردن آب همراه آن‌ها، طول کل و وزن کل اندازه‌گیری گردید و شاخص‌های مربوط به رشد نیز با کمک فرمول‌های ذیل محاسبه گردید (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸):

بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی: به‌منظور بررسی عملکرد جیره‌های غذایی و چگونگی رشد ماهیان، در پایان دوره و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آخرین غذادهی و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، شاخص‌های رشد و تغذیه اندازه‌گیری (وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)) = افزایش وزن (گرم)

$100 \times [\text{طول دوره آزمایش} \div (\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی})] = (\text{درصد در روز})$ نرخ رشد ویژه

[میزان افزایش وزن (گرم) ÷ میزان غذای مصرف شده (گرم)] = ضریب تبدیل غذا

$100 \times (\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش} - \text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش}) = \text{میزان بقاء}$

سی‌سی انتقال یافتند (۲۹، ۳۰). تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، سطح هموگلوبین و درصد هماتوکریت با استفاده از روش ذکر شده در پژوهش‌های فرهنگ و همکاران (۲۰۱۷) مورد سنجش قرار گرفت (۳۱).
به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های سفید خون، نمونه خونی با غلظت ۱:۵۰ توسط محلول دایس رقیق شد و در مرحله بعد توسط لام نئوبار و میکروسکوپ شمارش شدند. تعداد گلبول‌های سفید در واحد میلی‌مترمکعب بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

بررسی شاخص‌های خون‌شناسی: به‌منظور بررسی چگونگی تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های خونی، ۲۴ ساعت پس از آخرین غذادهی تعداد ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی صید گردید سپس نمونه‌های صید شده با استفاده از پودر گل میخک (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بی‌هوش شدند. پس از بی‌هوشی کامل ماهیان، از هر ماهی نمونه خون از سیاهرگ دمی با استفاده از سرنگ دو سی‌سی خون‌گیری شدند. سپس، نمونه‌های خون به دست آمده به لوله‌های حاوی EDTA با حجم تقریبی یک

تعداد گلبول‌های سفید موجود در هر میلی‌مترمکعب = تعداد سلول‌های شمارش شده در ۰/۱ میلی‌مترمکعب × ۱۰ (منطقه مورد شمارش) × ۵۰ (رقت محلول)

قرار گرفت و تعداد گلبول‌های قرمز خون شمارش شد. تعداد گلبول‌های قرمز در واحد میلی‌مترمکعب طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

به‌منظور شمارش تعداد گلبول‌های قرمز خون، نمونه خون پس از رقیق‌سازی با غلظت ۱:۵۰ در شوری ۰/۹ درصد (w/v) و با استفاده از محلول Hayem توسط لام نئوبار در زیر میکروسکوپ مورد بررسی

تعداد گلبول‌های قرمز موجود در هر میلی‌مترمکعب = تعداد گلبول قرمز شمارش شده در ۰/۰۲ میلی‌مترمکعب × ۵۰ (منطقه مورد شمارش) × ۵۰ (رقت محلول)

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد سنجش قرار گرفتند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ثبت گردید.

سطح هموگلوبین نیز پس از مخلوط شدن نمونه‌های خونی با محلول Drabkin مورد سنجش قرار گرفت. از این رو، نمونه‌های مخلوط شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. سپس میزان جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش هماتوکریت نمونه‌های خونی به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۱۰۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. حجم هماتوکریت توسط میکروهماتوکریت خوانده شد.

جدول ۱- فرمولاسیون و ترکیب شیمیایی جیره پایه (درصد در ماده خشک).

درصد	ترکیب شیمیایی	درصد	ترکیبات
۹/۲۵	رطوبت	۲۵	پودر ماهی کیلکا ^۱
۳۷/۰۴	پروتئین خام	۳۰	آرد گندم
۱۱/۲۱	چربی خام	۳۲/۳	کنجاله سویا ^۲
۶/۱۸	فیبر خام	۳	روغن ماهی کیلکا
۱۲/۳۰	خاکستر	۳	روغن سویا
۲۴/۰۲	عصاره عاری از ازت ^۷	۱/۵	دی کلسیم فسفات
۱۷/۳	انرژی خام ^۸	۰/۵	مکمل ویتامینی ^۳
		۰/۵	مکمل معدنی ^۳
		۰/۲	ویتامین سی ^۵
		۰/۱	کولین کلراید
		۰/۲۳	دی ال متیونین
		۰/۱	ضد قارچ ^۶
		۰/۲	ملاس
		۳	صمغ سلولزی (پرکننده)
		۱۰۰	جمع

^۱ شرکت نگین پودر (پروتئین خام: ۶۹±۱ درصد، چربی: ۱۰±۰/۵ درصد، خاکستر: ۱۴±۲ درصد، نیتروژن کل فرار >۱۲ میلی‌گرم N در ۱۰۰ گرم)

^۲ شرکت سویابین (پروتئین خام: ۴۵ درصد، چربی: ۱/۵ درصد، خاکستر: ۵ درصد)

^۳ یک کیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۲۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۴ میلی‌گرم ویتامین B12، ۱۵ میلی‌گرم B2، ۹۰ میلی‌گرم ویتامین B3، ۲۷ میلی‌گرم ویتامین B5، ۳ میلی‌گرم K3، ۴/۸ میلی‌گرم ویتامین B9، ۹ میلی‌گرم ویتامین B6، ۹ میلی‌گرم ویتامین B1، ۰/۴۸ میلی‌گرم بیوتین، ۳۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۱۵۶ میلی‌گرم ویتامین C، ۷۲ میلی‌گرم اینوزیتول، ۱۵ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان

نتایج و بحث

شاخص‌های رشد و بازماندگی: بررسی تأثیر تغذیه با جیره‌های حاوی جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی در جدول ۲ ارائه شده است. براساس این نتایج، افزایش معناداری در عملکرد رشد بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد در بیش‌تر شاخص‌ها مشاهده شد ($P < 0/05$). به طوری که بیش‌ترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۸ (تغذیه شده با تلفیق

جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد) مشاهده گردید که به‌طور معناداری با گروه شاهد تفاوت معناداری داشت ($P < 0/05$), همچنین، بیش‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد ($0/50 \pm 3/16$) به ثبت رسید که با تمام تیمارها دارای اختلاف معنادار بود ($P < 0/05$). با این‌حال، در میزان بازماندگی تمامی تیمارها و گروه شاهد تفاوت معناداری مشاهده نشد ($P > 0/05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم.

تیمارهای آزمایشی									شاخص‌های رشد
تیمار ۸	تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	گروه شاهد	
$\pm 18/21^a$	$\pm 10/76^a$	$\pm 20/81^a$	$\pm 5/02^a$	$\pm 9/52^a$	$\pm 8/08^a$	$\pm 11/09^a$	$\pm 5/77^a$	$\pm 20/27^a$	وزن اولیه (گرم)
۱۰۰/۷۳	۱۰۰/۹۳	۱۰۲/۱۰	۹۸/۴۳	۱۰۲/۵۷	۱۰۱/۳۷	۱۰۴/۸۰	۹۹/۲۸	۱۰۲/۶۳	
$\pm 1/536^a$	$\pm 1/77^{ab}$	$\pm 4/04^{ab}$	$\pm 5/17^{ab}$	$\pm 2/89^{bc}$	$\pm 6/561^{de}$	$\pm 3/00^{cd}$	$\pm 4/16^e$	$\pm 9/29^f$	وزن نهایی (گرم)
۲۴۸/۰۰	۲۳۹/۳۳	۲۴۲/۰۰	۲۳۵/۶۷	۲۳۱/۰۰	۲۱۳/۳۳	۲۱۷/۰۰	۲۰۱/۰۰	۱۸۰/۰۰	
$\pm 1/55^a$	$\pm 2/34^{ab}$	$\pm 4/24^{ab}$	$\pm 5/18^{ab}$	$\pm 1/93^b$	$\pm 5/78^c$	$\pm 3/00^c$	$\pm 3/78^c$	$\pm 9/45^d$	افزایش وزن بدن (گرم)
۱۴۷/۲۷	۱۳۸/۴۰	۱۳۹/۹۰	۱۳۷/۲۳	۱۲۸/۳۷	۱۱۱/۹۷	۱۱۲/۲۰	۱۰۲/۰۰	۷۷/۳۷	
$\pm 0/02^b$	$\pm 0/02^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/06^b$	$\pm 0/00^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/05^b$	$\pm 0/08^b$	$\pm 0/50^a$	ضریب تبدیل غذایی
۱/۶۲	۱/۷۰	۱/۷۴	۱/۷۴	۱/۹۱	۲/۱۳	۲/۱۷	۲/۱۶	۳/۱۶	
$\pm 0/01^a$	$\pm 0/03^{ab}$	$\pm 0/03^{ab}$	$0/04^{ab}$	$\pm 0/00^{bc}$	$\pm 0/04^{cd}$	$\pm 0/02^d$	$\pm 0/03^d$	$\pm 0/09^e$	نرخ رشد ویژه
۱/۵۰	۱/۴۴	۱/۴۴	۱/۴۵	۱/۳۵	۱/۲۴	۱/۲۱	۱/۱۸	۰/۹۳	
$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	$\pm 0/00$	بقا (درصد)
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

- حروف لاتین غیرهمنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P < 0/05$)
- گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی‌آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد

متفاوت مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به‌صورت جداگانه و تلفیقی تفاوت معناداری با گروه شاهد وجود نداشت ($P > 0/05$) (جدول ۳).

شاخص‌های خونی: نتایج به‌دست آمده از آنالیز شاخص‌های خونی (گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) نشان داد که بین شاخص‌های خونی کپورماهیان تغذیه شده با سطوح

جدول ۳- مقایسه میانگین (± انحراف معیار) شاخص‌های خونی ماهیان کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم.

شاخص‌های خونی	تیمارهای آزمایشی								
	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵	تیمار ۶	تیمار ۷	تیمار ۸
گلبول سفید (میلی متر مکعب)	± ۲۶۸/۲۳	± ۸۳/۳۳	± ۱۷۶/۳۸	± ۱۷۶/۳۸	± ۴۶۱/۸۸	± ۲۸۰/۳۸	± ۲۰۲/۰۷	± ۳۰۳/۲۲	± ۲۹۲/۹۷
گلبول قرمز (میلی متر مکعب)	± ۲۴۹۸۰/۰	± ۲۹۰۵/۹	± ۱۷۶۳/۸	± ۷۵۱۲/۹	± ۱۳۳۸۳/۰	± ۸۷۱۷/۸	± ۸۱۹۲/۱	± ۲۵۹۸۲/۰	± ۲۱۶۱۲/۰
هماتوکریت (درصد)	± ۰/۸۸	± ۰/۴۴	± ۰/۳۳	± ۰/۱۰	± ۰/۳۳	± ۰/۵۰	± ۰/۲۹	± ۰/۷۶	± ۰/۴۴
هموگلوبین (میلی گرم در دسی لیتر)	± ۰/۷۴	± ۰/۹۶	± ۱/۶۶	± ۱/۱۳	± ۱/۲۶	± ۰/۸۵	± ۰/۴۳	± ۰/۳۵	± ۰/۶۹

- حروف لاتین غیرهمنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($P < 0.05$)
- گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۱ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۲: ۲ درصد جلبک اسپیرولینا، تیمار ۳: ۰/۰۵ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تیمار ۴: ۰/۱ درصد مولتی آنزیم ناتوزیم، تیمار ۵: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۶: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۰۵ درصد، تیمار ۷: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۱ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد و تیمار ۸: تلفیق جلبک اسپیرولینا ۲ درصد و مولتی آنزیم ناتوزیم ۰/۱ درصد

بیش‌ترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۸ یعنی تیمار تغذیه شده با جیره حاوی تلفیق جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم به ترتیب به میزان ۲ و ۰/۱ درصد و کم‌ترین میزان رشد نیز در گروه شاهد مشاهده گردید. اسپیرولینا به علت داشتن مقادیر بالای پروتئین، ویتامین زیاد و سایر مواد مغذی سودمند به‌عنوان یک مکمل غذایی ارزشمند در تغذیه ماهیان پرورشی برشمرده می‌شود (۳۵). در آزمایش‌های متعددی ثابت شد که استفاده از اسپیرولینا تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد طیور، خوک‌ها و خرگوش‌ها داشته است (۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹). هم‌چنین مطالعات زیادی در رابطه با تأثیر مثبت تغذیه با جلبک اسپیرولینا روی رشد و ایمنی آبزیان انجام شده است (۴۰، ۴۱). در همین راستا Gogoi و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از جلبک اسپیرولینا به عنوان جایگزین پروتئین در جیره غذایی

در چند دهه اخیر، جمعیت بشر افزایش یافته و رویکرد عمومی مصرف غذاهای سالم، مصرف آبزیان را در سطح جهانی در حال افزایش است (۳۲). از این‌رو، بهره‌برداری و صید از ذخائر آبزیان از دریاها و آب‌های داخلی بدر سال‌های اخیر به صورت چشمگیری افزایش یافته است که نتیجه آن نابودی بسیاری از گونه‌ها را به دنبال داشت. بر این اساس، آبی‌پروری نقش به‌سزایی را در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء خواهد کرد (۳۳). از آنجایی‌که بخش عمده‌ای از هزینه‌های یک واحد تولیدی مربوط به تأمین خوراک می‌گردد، بنابراین، برای دستیابی به تولید بیش‌تر در یک واحد پرورشی لازم است توجه بیش‌تری به این موضوع گردد (۳۴). در پژوهش حاضر، بررسی تأثیر تغذیه با جیره‌های حاوی جلبک اسپیرولینا و مولتی آنزیم ناتوزیم بر عملکرد رشد بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان داد که

(۴۹). از طرفی در مطالعه حاضر استفاده از تلفیق جلبک اسپیرولینا و مولتی‌آنزیم ناتوزیم در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین میزان رشد و افزایش وزن را نشان دادند این امر را می‌توان این گونه توجیه نمود که آنزیم‌ها می‌توانند اثرات عوامل ضدتغذیه‌ای را از بین ببرند و سبب بهبود عملکرد در رشد ماهی شوند (۵۰). یکی از عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در جیره غذایی، ترکیبات فیتاتی می‌باشد که در آرد سویا وجود دارد و با یون‌های معدنی مثبت (مانند پتاسیم و کلسیم)، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه ترکیب شده و مانع از جذب آن‌ها می‌گردند (۵۱). از طرفی فیتاز موجود در این مولتی‌آنزیم یک آنزیم ویژه برای هیدرولیز کردن فیتات است (۵۲). که البته در مقادیر بسیار کم در دستگاه گوارش حیوانات (به استثنای برخی حیوانات تک معده‌ای) نیز وجود دارد (۵۳). که این امر می‌تواند از عوامل توجیه‌کننده بهبود عملکرد رشد ماهیان کپور تغذیه شده با تلفیق این دو ماده باشد. علاوه بر این، ممکن است وجود مقادیر بالای پروتئین در اسپیرولینا از یک سو و آنزیم فیتاز موجود در مولتی‌آنزیم ناتوزیم از سویی دیگر در جیره‌های ترکیبی سبب افزایش معنادار رشد در این تیمارهای تغذیه شده با این جیره‌ها در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایشی هم‌چنین گروه شاهد باشد. خراسانی‌نژاد و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی به‌منظور مقایسه سطوح مجزا و توأم مولتی‌آنزیم‌های تجاری بر کارایی تغذیه و ترکیب شیمیایی لاشه ماهی کپور معمولی نشان داده بودند که شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ناتوزیم پلاس نسبت افزایش معناداری داشته است (۵۴). در مطالعه دیگری Monier (۲۰۲۰) با بررسی تأثیر اثر مکمل آنزیمی هاستانزم ایکس بر عملکرد رشد بچه‌ماهی کپور معمولی نشان داد که استفاده از این آنزیم سبب افزایش شاخص‌های رشد در این ماهی شده است

ماهی لوچ (*Botia dario*) سبب افزایش معناداری رشد این ماهی در مقایسه با گروه شاهد شده است (۴۲). گزارش شده است که الگوی اسیدهای آمینه ریزجلبک‌های اسپیرولینا از سایر خوراک‌های گیاهی (مانند کنجاله سویا) بهتر بوده و اسید آمینه موجود در آن قابلیت هضم بالاتری نسبت به سایر خوراک‌های گیاهی دارد (۳۵، ۴۳، ۴۴). Alofa و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از ضایعات جلبک اسپیرولینا در رژیم غذایی ماهی تیلاپیا سبب افزایش معنادار رشد در این ماهی شده است (۴۵). در مطالعه حاضر استفاده جداگانه و تلفیقی از جلبک اسپیرولینا با مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره ماهی کپور معمولی سبب افزایش وزن این ماهی شد که نتیجه حاصل با مطالعات بیان شده هم‌راستا می‌باشد. علاوه بر این، آنزیم ناتوزیم یکی از مکمل‌های آنزیمی است که حاوی فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفاآمیلاز، سلولاز، همیسلولاز، پکتیناز، آمیوگلیکوزیداز، لیپاز، زایلاناز، پروتئاز، اسیدفیتاز، اسیدفسفاتاز و پنتوزاناز می‌باشد (۴۶). از آنجایی که بهبود کارایی جیره‌های غذایی با افزودن مکمل‌های خاصی و تحریک رشد و جذب بهتر غذا باعث مقاومت میزبان در برابر استرس‌های محیطی می‌شود (۴۷)، استفاده از آنزیم‌ها در جیره غذایی آبزیان کارایی تغذیه و قابلیت هضم و جذب را نیز افزایش می‌دهد. در همین راستا عادلین و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای نشان دادند استفاده از مولتی‌آنزیم ناتوزیم در جیره غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus gibelio*) سبب افزایش معنادار شاخص‌های رشد در این ماهی شده است (۴۸). موسوی و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی اثر مولتی‌آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیکی در جیره غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) نشان دادند که استفاده از این مولتی‌آنزیم سبب افزایش معناداری شاخص‌های رشد در فیل‌ماهی شده است

در صورت عدم افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، نیاز زیادی به جزء اصلی و مؤثر آن‌ها، یعنی هموگلوبین احساس نشد. هم‌چنین، با توجه به این که میزان هماتوکریت وابسته به تعداد و اندازه گلبول‌های قرمز خونی است، تغییر در اندازه و تعداد آن‌ها موجب تغییر در میزان هماتوکریت می‌شود؛ به عبارت دیگر، هرچه تعداد و اندازه گلبول‌های قرمز بیش‌تر شود، میزان هماتوکریت بیش‌تر می‌شود (۵۹). بنابراین، ممکن است بتوان چنین استنباط کرد که با وجود شرایط مناسب پرورشی و کیفیت آب، استرس محیطی موجود به حداقل ممکن رسید و نیاز اکسیژنی تمامی تیمارها در حد طبیعی و مشابه با گروه شاهد مشاهده شد. در تطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر در ارتباط با عدم تأثیر مکمل‌های مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به‌صورت جداگانه و تلفیقی در جیره غذایی روی شاخص‌های خونی، همایونی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که استفاده از مولتی‌آنزیم آپسوزایم و بتائین به صورت توأم و جداگانه تأثیری بر شاخص‌های خونی (تعداد گلبول سفید و قرمز، درصد هموگلوبین و درصد هماتوکریت، حجم میانگین سلولی، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی، هموگلوبین میانگین سلولی) بچه‌فیل ماهیان نداشت (۶۰). در همین راستا، موسوی و همکاران (۲۰۱۹) ثابت کردند که استفاده از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدلاکتیکی علی‌رغم ایجاد اثرات مثبت روی عملکرد رشد بچه فیل ماهیان، اثری روی شاخص‌های خونی (تعداد گلبول سفید و قرمز، درصد هموگلوبین و درصد هماتوکریت) نداشت (۴۹). هم‌چنین، Zamini و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که استفاده از مکمل‌های آنزیمی ناتوزایم و همیسل به صورت مجزا و توأم در میزان هموگلوبین ماهی آزاد دریای خزر تأثیری نداشت (۶۱). با این‌حال، در مطالعات متفاوت به اثرات مثبت

(۵۵) که نتایج تمامی پژوهش‌ها بیان شده با نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر همسو می‌باشد.

تغییرات شاخص‌های خونی در زمان‌های مختلف در ماهیان تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله: نوسانات دمایی، تغییرات فصلی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، تفاوت‌های ژنتیکی، سن، رسیدگی جنسی، جنسیت و غیره می‌باشد که بررسی هر کدام از این عوامل ضروری به نظر می‌رسد (۵۶). نتایج آزمایش حاضر نشان داد که شاخص‌های خونی در بین ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا به صورت تلفیقی و جداگانه و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. حضور فعال گلبول‌های سفید در خون نشان‌دهنده وجود عفونت در بدن ماهیان است که می‌تواند باعث تحریک ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی شود (۵۷). احتمال می‌رود در مطالعه حاضر، به دلیل عدم وجود عفونت در تمامی گروه‌ها تفاوت معناداری در میزان گلبول‌های سفید مشاهده نشد.

نیازهای اکسیژنی ماهیان با توجه به سن و شرایط محیطی تغییر می‌کند. پژوهش‌ها ثابت کرد که تعداد گلبول‌های قرمز در هر میلی‌لیتر از خون با توجه به الزام ایجاد توازن بین مصرف انرژی برای تولید گلبول قرمز و انرژی لازم برای انتقال خون به بافت‌ها متغیر است. به طوری که، زمانی که به حجم زیادی از اکسیژن نیاز باشد، خونی که تعداد گلبول‌های قرمز پایین‌تری دارد در مقایسه با خونی که میزان گلبول‌های قرمز آن بیش‌تر است، باید به میزان زیادتری در سراسر بدن پمپ شود تا بتواند تامین‌کننده نیاز اکسیژنی موجود باشد (۵۸). در پژوهش حاضر، عدم افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را شاید بتوان به عدم وجود شرایطی نسبت داد که سبب افزایش نیاز اکسیژنی ماهی نشده بود. از سویی دیگر،

در جیره غذایی بچه‌ماهیان کپور معمولی علی‌رغم اثر مثبت روی رشد، بر شاخص‌های خونی این ماهی اثر معنی‌داری نداشت. با این‌حال، شاید بتوان بیان نمود که ممکن است با افزودن مقادیر بالاتر از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا در یک کیلوگرم غذا بتوان باعث بهبود شاخص‌های خونی بچه کپورماهیان در محیط‌های پرورشی شد. اگرچه اظهار نظر دقیق در ارتباط با این موضوع به مطالعات پیش‌تر و پیشرفته‌تر و در سطح مولکولی نیاز می‌باشد. با این وجود، براساس نتایج افزودن میزان ۲ درصد جلبک اسپیرولینا و ۰/۱ درصد مولتی‌آنزیم ناتوزیم به ازای درصد جیره برای بهبود عملکرد رشد در مراکز پرورشی کپورماهیان برای افزایش راندمان تولید پیشنهاد می‌گردد.

مولتی‌آنزیم‌ها و جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی روی شاخص‌های خونی در گونه‌های متفاوت به اثبات رسیده است؛ به عنوان مثال، می‌توان به اثر پروتئین سویا و مکمل آنزیمی اویزیم در ماهی قرل‌آلای رنگین‌کمان (۶۲)، اثر سطوح مجزا و توأم مولتی‌آنزیم‌های تجاری در ماهی کپور معمولی (۶۳)، اثرات بتاگلوکاناز خالص در ماهی کپور معمولی (۶۴)، مکمل آنزیمی آندو ۱-۳ (۴) بتاگلوکاناز در ماهی کپور معمولی (۶۵)، تأثیر محرک ایمنی ماکروگارد و جلبک اسپیرولینا در ماهی ازون‌برون (۶۶) و اثرات پودر جلبک اسپیرولینا در فیل‌ماهی (۶۷) اشاره کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که استفاده توأم و مجزا از مولتی‌آنزیم ناتوزیم و جلبک اسپیرولینا

منابع

- Gabriel, U. U., Akinrotimi, O. A., Bekibele, D. O., Onunkwo, D. N., & Anyanwu, P. E. (2007). Locally produced fish feed: potentials for aquaculture development in subsaharan Africa. *African Journal of Agricultural Research*, 2 (7), 287-295.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2017). How to feed the world in 2050 (FAO, Rome). http://www.fao.org/fileadmin/templates/wfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf. Accessed 17 April 2017.
- Luo, G. Z., Avnimelech, Y., Pan, Y. F., & Tan, H. X. (2013). Inorganic nitrogen dynamics in sequencing batch reactors using biofloc technology to treat aquaculture sludge. *Aquacultural engineering*, 52, 73-79.
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405 (6790), 1017-1024.
- Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., & Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127 (4), 1409-1426.
- Gracia, M. I., Aranibar, M., Lazaro, R., Medel, P., & Mateos, G. G. (2003). Alpha-amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry science*, 82 (3), 436-442.
- Maas, R. M., Verdegem, M. C., & Schrama, J. W. (2019). Effect of non-starch polysaccharide composition and enzyme supplementation on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 25 (3), 622-632.
- Hlophe-Ginindza, S. N., Moyo, N. A., Ngambi, J. W., & Ncube, I. (2016). The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. *Aquaculture Research*, 47 (12), 3777-3787.

9. Rosadi, E., Yuli, E. H., Setyohadi, D., & Bintoro, G. (2014). Distribution, composition, and abiotic environment of Silver Rasbora (*Rasbora argyrotaenia Blkr*) fish in upstream areas of Barito watershed, South Kalimantan. *Journal of Environment and Ecology*, 5 (1), 117.
10. Zutshi, B., & Prasad, S. R. (2008). Impact of pollution on fresh-and marine water resources-A review. *Pollution Research*, 27 (3), 461-466.
11. Bogut, I., Opacak, A., & Stevic, I. (1995). The influence of polyzymes added to the food on the growth of carp fingerlings (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 129 (1-4), 252-252.
12. Prabu, E., Rajagopalsamy, C. B. T., Ahilan, B., Santhakumar, R., Jeevagan, I. J. M. A., & Renuhadevi, M. (2017). An overview of anti-nutritional factors in fish feed ingredients and their effects in fish. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 32 (1/2), 149.
13. Brufau, J., Francesch, M., & Pérez-Vendrell, A. M. (2006). The use of enzymes to improve cereal diets for animal feeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (11), 1705-1713.
14. Walk, C. L., & Bedford, M. R. (2020). Application of exogenous enzymes: is digestibility an appropriate response variable?. *Animal Production Science*, 60 (8), 993-998.
15. Subramanian, A., & Balasubramanian, U. (2014). Effect of spirulina on growth and biochemical performance in common carp *Catla catla* and *Labeo rohita*. *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*. 1, 1-10.
16. Biabani, M., Soudager, M., Mazandarani, M., & Yusefi, S. (2016). The effect of spirulina powder on the growth, survival, total carotenoid of pre-moldo fish in the larval stage of dwarf gourami fish (*Trichogaster lalius*). *Fisheries Science and Technology*, 6 (1), 21-35. [In Persian]
17. Ovando, C. A., Carvalho, J. C. D., Vinícius de Melo Pereira, G., Jacques, P., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. (2018). Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from Spirulina: A review. *Food reviews international*, 34 (1), 34-51.
18. Nege, A. S., Masithah, E. D., & Khotib, J. (2020). Trends in the Uses of Spirulina Microalga: A mini-review. *Journal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 12 (1), 149-166.
19. Balon, E. K. (1995). Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers. *Aquaculture*, 129 (1-4), 3-48.
20. Zakariaee, H., Sodagar, M., Hosseini, S., Paknejad, H., & Baroah, K. (2019). The effect of using a synbiotic produced from button mushroom extract in combination with two species of lactic acid bacteria on the activity of digestive enzymes, carcass composition, growth and intestinal microbial flora in zebra fish (*Danio rerio*). *Marine science and technology*. [In press]. **10.22113/jmst.2020.233183.237**. [In Persian]
21. Sodagar, M., Khalsa, M., Mazandarani, M., Hosseini, A., & Zakariaee, H. (2016). The effect of Spirulina sp on the growth, survival and pigmentation of *Pseudotropheus demasoni*. *Journal of Fisheries, Journal of Natural Resources of Iran*, 69 (1), 21-27. [In Persian]
22. Adelian, M., Imanpour, M., Taghizadeh, V., & Mazandarani, M. (2015). The use of natozyme multi-enzyme in the diet of common carp (*Cyprinus carpio*) and its effects on growth indices and some blood biochemical factors. *Animal Environment*, 8 (2), 207-214. [In Persian]
23. Moustafa, E. S., Alsanie, W. F., Gaber, A., Kamel, N. N., Alaqil, A. A., & Abbas, A. O. (2021). Blue-green algae (*Spirulina platensis*) alleviates the negative impact of heat stress on broiler production performance and redox status. *Animals*, 11 (5), 1243.
24. De Almeida Bicudo, A. J., Sado, R. Y., & Cyrino, J. E. P. (2009). Growth and haematology of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture Research*. 40, 486-495.
25. Tacon, A. G. J. (2001). Effect of brood-stock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197, 25-42.

26. Bekcan, S., Dogankaya, L., & Cakirogullari, G. C. (2006). Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis* L.) fed diets containing different percentages of protein. *Israeli journal of aquaculture = Bamidgeh*. 58 (2), 137-142.
27. Hevrøy, E., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., & Hemre, G. I. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolyte during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*. 11, 301-313.
28. Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., & Zhang, L. (2006). Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*. 260, 255-263.
29. Adegoke, A. M., Gbadegesin, M. A., Otitoju, A. P., & Odunola, O. A. (2015). Hepatotoxicity and Genotoxicity of Sodium Arsenite and Cyclophosphamide in Rats: Protective Effects of Aqueous Extract of *Adansonia digitata* L. Fruit Palp. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 8 (11), 963-974.
30. Ross, N. W., Firth, K. J., Wang, A., Burka, J. F., & Johnson, S. C. (2000). Changes in hydrolytic enzyme activities of naive Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation. *Diseases of aquatic organisms*, 41 (1), 43-51.
31. Farhang, P., Mirvaqfi, A. R., & Majaji Amiri, B. (2017). The effect of oxytetracycline antibiotic on the blood parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) suffering from aeromoniasis and the effect of using butyl hydroxytoluene in improving the side effects of antibiotic treatment. *Fisheries, Journal of Natural Resources of Iran*, 71 (3), 216-224. (In Persian)
32. Mohammad Rezaei, D. (2019). Investigating the effect of spirulina algae powder and cloves on the growth performance and carcass composition of common carp fingerlings. *Animal Environment*, 12 (2), 189-194. [In Persian]
33. Sabrian Joybari, M., Ghobadi, Sh., & Watan-doost, P. (2016). The effect of different levels of prebiotic A-MAX on growth indices, survival and carcass composition in common carp fry. *Aquaculture Development*, 11 (1), 63-75. [In Persian]
34. Tokur, S., Ozkütük, E., Atici, G., Ozyurt, C. E., & Ozyur, E. (2006). The effects of frozen storage at -18 °C on the chemical and sensory qualities of fish fingers produced from unwashed and washed mirror carp (*Cyprinus carpio*) mince were investigated. The amounts of moisture, crude protein, lipid, crude ash, ω3 polyunsaturated. *Food Chemistry*. 151, 55-70.
35. Park, J. H., Lee, S. I., & Kim, I. H. (2018). Effect of dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*) on the growth performance, antioxidant enzyme activity, nutrient digestibility, cecal microflora, excreta noxious gas emission, and breast meat quality of broiler chickens. *Poultry science*, 97 (7), 2451-2459.
36. Al-Batshan, H. A., Al-Mufarrej, S. I., Al-Homaidan, A. A., & Qureshi, M. A. (2001). Enhancement of chicken macrophage phagocytic function and nitrite production by dietary *Spirulina platensis*. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 23 (2), 281-289.
37. Meineri, G., Ingravalle, F., Radice, E., & Aragno, M. (2009). Effects of high fat diets and Spirulina Platensis supplementation in New Zealand White rabbit.
38. Sujatha, T., & Narahari, D. (2011). Effect of designer diets on egg yolk composition of 'White Leghorn' hens. *Journal of food science and technology*, 48 (4), 494-497.
39. Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of applied poultry research*, 24 (2), 206-214.
40. Jaime-Ceballos, B. J., Hernández-Llamas, A., Garcia-Galano, T., & Villarreal, H. (2006). Substitution of *Chaetoceros muelleri* by *Spirulina platensis* meal in diets for *Litopenaeus schmitti* larvae. *Aquaculture*, 260 (1-4), 215-220.

41. Lu, J., Yoshizaki, G., Sakai, K., & Takeuchi, T. (2002). Acceptability of raw *Spirulina platensis* by larval tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science*, 68 (1), 51-58.
42. Gogoi, S., Mandal, S. C., & Patel, A. B. (2018). Effect of dietary *Wolffia arrhiza* and *Spirulina platensis* on growth performance and pigmentation of Queen loach *Botia dario* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Nutrition*, 24 (1), 285-291.
43. Alvarenga, R. R., Rodrigues, P. B., Cantarelli, V. D. S., Zangeronimo, M. G., Silva Júnior, J. W. D., Silva, L. R. D., Santos, L. M. D., & Pereira, L. J. (2011). Energy values and chemical composition of spirulina (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40 (5), 992-996.
44. Evans, A. M., Smith, D. L., & Moritz, J. S. (2015). Effects of algae incorporation into broiler starter diet formulations on nutrient digestibility and 3 to 21 d bird performance. *Journal of applied poultry research*, 24 (2), 206-214.
45. Alofa, C. S., Adite, A., & Abou, Y. (2020). Evaluation of *Spirulina platensis* wastes and live housefly (*Musca domestica*) larvae as dietary protein sources in diets of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) fingerlings. *Aquatic Research*, 3 (1), 24-35.
46. Homayoni, M., Imanpour, M. R., & Safari, R. (2019). The effects of betaine and nattozyme multienzyme in the diet on growth performance and expression of the growth hormone (GH) gene in common carp. *Animal Physiology Research*, 14 (3), 85-96. [In Persian]
47. Razeghi, M., Akrami, R., Ghobadi, S. H., Amani Denji, K., Ezatrahimi, N., & Gharaei, A. (2012). Effects of dietary manna oligosaccharide (MOS) on growth performance, survival, body composition, and some hematological parameters in giant sturgeon juvenile (*Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 38 (3), 829-835.
48. Adelian, M., Imanpour, M. R., & Jafari, V. (2018). The effects of nattozyme multi-enzyme in the diet on the growth, survival and reproductive performance of goldfish. *Animal Environment*, 11 (2), 215-224. [In Persian]
49. Mousavi, M., Imanpour, M. R., & Safari, R. (2019). Effect of nattozyme multi-enzyme and lactic acid pediococcus probiotic in diet on growth and hematological parameters in beluga (*Huso huso*). *Animal Environment*, 12 (1), 223-228. [In Persian]
50. Farhangi, M., & Carter, C. G. (2007). Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 38 (12), 1274-1282.
51. Sardar, P., Randhawa, H. S., Abid, M., & Prabhakar, S. K. (2007). Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haemato-biochemical profiles of *Cyprinus carpio* (L.) fingerlings fed soyprotein based diet. *Aquaculture Nutrition*, 13 (6), 444-456.
52. Li, X. Q., Zhang, X. Q., Kabir Chowdhury, M. A., Zhang, Y., & Leng, X. J. (2019). Dietary phytase and protease improved growth and nutrient utilization in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) fed low phosphorus and fishmeal-free diets. *Aquaculture nutrition*, 25 (1), 46-55.
53. Vielma, J., Ruohonen, K., Gabaudan, J., & Vogel, K. (2004). Top spraying soybean meal based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 35 (10), 955-964.
54. Khorasani-Nejad, M., Taati, R., & Abdulahpour Biria, H. (2018). Comparison of individual and combined levels of commercial enzymes on feeding efficiency and chemical composition of common carp (*Cyprinus carpio*) carcass. *Journal of Veterinary Research*, 74 (1), 35-43.
55. Monier, M. N. (2020). Efficacy of dietary exogenous enzyme supplementation on growth performance, antioxidant

- activity, and digestive enzymes of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46 (2), 713-723.
56. Knowles, S., Hrubec, T. C., Smith, S. A., & Bakal, R.S. (2006). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose (*Acipenser brevirostrum*). *Veterinary Clinical Pathology*. 35 (4), 434-440.
57. Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., & Nasri Tajan, M. (2010). Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology Bazargan Press, Rasht. 194p.
58. Sattari, M. (2002). Ichthyology (1): Anatomy and Physiology. Naghshe Mehr Press, Tehran, Iran. 862p. [In Persian]
59. Siwicki, A. K., Anderson, D. P., & Rumsey, G. L. (1994). Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 41 (1-2), 125-139.
60. Homayoni, M., Safari, R., Imanpour, M. R., Kiapour, F., Sancholi, H., & Shokohian, B. (2019). Effects of using multi-enzyme apozyme and betaine in diet on some blood parameters and carcass composition in beluga (*Huso huso*). *Animal Environment*, 12 (2), 117-122.
61. Zamini, A., Kanani, H., Esmaeili, A., Ramezani, S., & Zorie Zahara, S. J. (2012). Effects of Two Dietary Exogenous Multi-Enzyme Supplementation, Natuzyme® and Beta-mannanase (Hemicell®), on Growth and Blood Parameters of Caspian Salmon (*Salmo trutta Caspius*). *Comparative Clinical Pathology*. 23, 187-192.
62. Hosseini Fard, S. M., Ghobadi, S. H., Khodabakhsh, E., & Razeghi Mansour, M. (2013). The effect of different levels of soybean meals and avizyme enzyme supplement on hematological and biochemical parameters of serum in rainbow trout. *Iranian Veterinary Journal*. 9 (3), 43-53.
63. Taati, R., & Salehi, M. (2017). Comparison of blood and biochemical indices of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with single and combined levels of commercial multi-enzymes. *Journal of Applied Fisheries Research*, 6 (2), 119-134.
64. Oguz, M. N., & Goncuolu, F. K. O. E. (2011). Kavuzu Al nm þ Arpan n B ld rc nlarda Performants ve Baz Kan Parametreleri Uzerine Etkisi.
65. Mohammadbeygi, M., Imanpour, M. R., Taghizadeh, V., & Shabani, A. (2013). Endo 1- 3(4) Beta-glucanase supplementation of Barley Based Diet and Its Effect on Some Hematological Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Global Veterinaria*. 10 (1), 39-45.
66. Salehi Farsani, A., Soltani, M., Kamali, A., & Shamsaei Mahdana, M. (2018). The effect of macroguard immune stimulant and spirulina algae (*Arthrospira platensis*) on some blood parameters of ozone fish (*Acipenser stellatus*). *Animal Environment*, 11 (4), 171-176.
67. Adel, M., Yeganeh, S., Dadar, M., Sakai, M., & Dawood, M. A. (2016). Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Fish & Shellfish Immunology*, 56, 436-444.