Archive of SID

ISSN: 2476-6887; Journal of Fisheries Science and Technology. 2019;8(4):199-208

Effect of Pellets Contain *Spirulina platensis* Algae on Growth, Body Composition, Hematology Indices and Immunology of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*)

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Bidi M.[1] *MSc,*
Meshkini S.*[2] *PhD,*
Nazari K.[3] *PhD*

How to cite this article
Bidi M, Meshkini S, Nazari K. Effect of Pellets Contain *Spirulina platensis* Algae on Growth, Body Composition, Hematology Indices and Immunology of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). Journal of Fisheries Science and Technology. 2019-;8(4):199-208.

[1]Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Food Hygiene & Quality Control Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Research Coordinator of Agricultural Research Center of Tehran Province, Tehran, Iran

Correspondence
Address: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, 11th Km of Sero Road, Nazlo, Urmia, West Azarbayjan, Iran, Postal code: 5756151818
Phone: +98 (44) 32752741
Fax: +98 (44) 32771926
s.meshkiniy@urmia.ac.ir

Article History
Received: October 19, 2019
Accepted: May 11, 2020
ePublished: June 10, 2020

ABSTRACT

Aims The aim of the current study was to investigate effect of pellets contain *Spirulina platensis* on physiological indices of *Ctenopharyngodon idella*.
Materials & Methods The number of 450 grass carps (10±0.5g) were divided into six treatments (three replicates) and fed with pellets contain 0, 0.5, 1, 2, and 4% spirulina for eight weeks, compared to forage (control). At initial and the end of experiment, growth and nutrition indices, meat composition, hematological and immunological indices, and carotenoid of fish were mesured. Means were compared by one-way ANOVA and Tukey test (p≤0.05).
Findings The best total length, weight, FCR, SGR, body weight gain percentage, nutritional efficiency, daily growth, and dietary intakes were observed in 4% spirulina treatment, which showed a significant difference with control (p<0.05). Fat percentage of meat in 4% spirulina treatment had difference with control significantly (p<0.05). The number of RBCs in 1% spirulina treatment had a significant difference with control (p<0.05). The highest Hct and Hb were observed in 1% Spirulina treatment, and the highest WBCs and eosinophils were observed in 4% spirulina treatment, which had significant difference with control (p<0.05). Also, the percentage of lymphocytes in algae-treated treatments was significantly higher than control and non-algae-treated treatment (p<0.05). The highest level of lysozyme, bactericidal and anti-trypsin activity of serum were in 4% spirulina which had significant difference with control (p<0.05). Carotenoid of fish meat didn't show significant difference among treatments.
Conclusion Food pellets containing 4% spirulina is recommended for improving growth and nutrition, hematological and immunological indices in grass carp.

Keywords Spirulina; Grass Carp; Hematological Indices; Immunological Indices; Carotenoids

CITATION LINKS

[1] Effects of diets with increasing levels of Spirulina platensis on the performance ... [2] Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater ... [3] The effect of ultrasonificated extracts of Spirulina maxima on ... [4] Effect of feeding Spirulina platensis on growth and carcass composition of hybrid red tilapia ... [5] Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine ... [6] Dietary available phosphorus requirement of juvenile grass carp ... [7] Effects of dietary fishmeal replacement with Spirulina ... [8] Dietary effects of Spirulina platensis on hematological and serum ... [9] Effect of spirulina as a feed supplement on survival and growth ... [10] Dietary Spirulina (Arthrospira platensis) replacement enhances performance of juvenile ... [11] Immunological and antistreptococcal effects of salvia officinalis and aloe vera extracts ... [12] The effects of Spirulina platensis and Cladophora algae on the growth ... [13] Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response ... [14] Effects of pretreating a plant-based diet with phytase on ... [15] Official methods of ... [16] The effects of dietary supplement of Spirulina platensis on blood carotenoid concentration and fillet color ... [17] Routine haematological methods for use with fish ... [18] Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and ... [19] Effects of dietary Spirulina platensis on growth performance, humoral and mucosal immune ... [20] Serum antiprotease ... [21] The effects of Spirulina platensis meal as a feed supplement ... [22] Live Spirulina (Arthrospira platensis) as a growth and immunity promoter ... [23] Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation ... [24] Spirulina (Arthrospira platensis) supplementation improves growth performance ... [25] Effect of dietary Spirulina on reduction of copper toxicity and improvement of growth ... [26] The effect of feeding with spirulina (Spirulina platensis) on hematological ... [27] Impact of fed containing different levels of diets supplementation spirulina platensis on ...

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر دان‌های غذایی دارای *Spirulina platensis* بر رشد، ترکیب بدن، شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی شناسی ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*)

محسن بیدی MSc
گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
سعید مشکینی* PhD
گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
کاووس نظری PhD
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، تهران، ایران

چکیده
اهداف: هدف مطالعه حاضر، بررسی تاثیر دان‌های غذایی دارای *Spirulina platensis* بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک کپور علف‌خوار بود.
مواد و روش‌ها: تعداد ۴۵۰ کپور علف‌خوار (۰/۵±۱۰گرم) در شش تیمار (سه تکرار) تقسیم شدند و هشت هفته با دان‌های دارای صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴% پودر اسپیرولینا در مقایسه با غذای علوفه‌ای (شاهد) تغذیه شدند. در آغاز و پایان آزمایش، شاخص‌های رشد و تغذیه، ترکیب گوشت، شاخص‌های خون‌شناسی، ایمنی‌شناسی و میزان کاروتنوئید ماهیان اندازه‌گیری شد. میانگین‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی مقایسه شدند ($p\leq$۰/۰۵).
یافته‌ها: بهترین شاخص‌های طول کل، وزن، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، کارآیی تغذیه‌ای، ضریب رشد روزانه و مصرف غذای روزانه در تیمار ۴% اسپیرولینا مشاهده شد که با شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($p<$۰/۰۵). درصد چربی گوشت ماهیان تیمار ۴% اسپیرولینا با شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد ($p<$۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز تیمار ۱% اسپیرولینا با شاهد تفاوت معنی‌دار داشت. بیشترین درصد هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار ۱% اسپیرولینا و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و ائوزینوفیل‌ها در تیمار ۴% اسپیرولینا بود که با شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند ($p<$۰/۰۵). درصد لنفوسیت‌ها در تیمارهای دارای جلبک به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمارهای فاقد جلبک بیشتر بود ($p<$۰/۰۵). بیشترین فعالیت لیزوزیم، باکتری‌کشی و فعالیت آنتی‌تریپسین سرم در تیمار ۴% اسپیرولینا با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ($p<$۰/۰۵). کاروتنوئید گوشت ماهیان تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد.
نتیجه‌گیری: دان‌های غذایی ۴% اسپیرولینا برای بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه، خون‌شناسی و ایمنی‌شناسی کپور علف‌خوار پیشنهاد می‌شود.
کلیدواژه‌ها: اسپیرولینا، کپور علف‌خوار، شاخص‌های خون‌شناسی، شاخص‌های ایمنی‌شناسی، کاروتنوئیدها

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۲
*نویسنده مسئول: s.meshkiniy@urmia.ac.ir

مقدمه

جلبک‌های سبز- آبی منابع مناسبی از پروتئین، فیبر، کاروتنوئیدها، جاذب‌های شیمیایی غذا، ویتامین‌ها، مواد معدنی، آنتی‌اکسیدان و انرژی هستند[1]. اسپیرولینا یکی از جلبک‌های سبز- آبی، پرسلولی، تاژک‌دار و مارپیچی‌شکل است که از بین حدود ۱۵ گونه از این جلبک دو گونه *Spirulina platensis* و *Spirulina maxima* از اهمیت بیشتری برخوردارند[2]. اسپیرولینا به‌دلیل دیواره سلولی نازک موکوپروتئینی که به‌راحتی شکسته شده و قابلیت هضم بالایی در مقایسه با دیواره سلولزی نسبتاً غیرقابل هضم سایر جلبک‌ها دارد، از اهمیت بالایی در جیره غذایی حیوانات برخوردار است[3]. اسپیرولینا قادر به ساخت تمامی اسیدآمینه‌های ضروری برای انسان و جانوران است و امروزه به‌صورت گسترده‌ای در صنعت آبزی‌پروری به‌عنوان مکمل غذایی برای تسریع رشد، افزایش کیفیت بیوشیمیایی لاشه و پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به استرس و بیماری‌ها، تحریک رشد گنادها و بلوغ، افزایش رنگ ماهیان و بهبود عملکرد سیستم ایمنی استفاده می‌شود[4].

ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) از جمله ماهیان گیاه‌خوار بدون معده است که در محیط طبیعی از گیاهان عالی مانند نی و از گیاهان علوفه‌ای مانند شبدر، یونجه و گیاهان آبزی استفاده می‌کند و همچنین می‌تواند با مصرف غذای دان (Pellet) رشد سریع‌تری داشته باشد[5]. نیازهای جیره‌ای ماهی کپور علف‌خوار به پروتئین، اسیدآمینه‌ها، لیپیدها، اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی توسط پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است و براساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، این ماهی در دوره انگشت قدی (Fingerling) خود به بیش از ۳۰% پروتئین، حدود ۷-۴% چربی، کمتر از ۸% فیبر و کمتر از ۱۳% خاکستر یا مواد معدنی نیاز دارد[6] که تلاش برای تامین این نیازها از منابع ارزان‌تر و باکیفیت‌تر می‌تواند به تولیدی مقرون به صرفه و با کیفیت منجر شود. تلاش پژوهشگران برای استفاده از مکمل‌های طبیعی و مناسب برای تامین نیازهای ماهیان با هزینه‌های کمتر در حال انجام است و استفاده از جلبک‌های غنی از مواد مغذی از جمله اسپیرولینا در دستور کار قرار دارد. در مطالعه‌ای تاثیر مثبت اسپیرولینا در رشد بیشتر یک گونه هیبریدی از ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) گزارش شده است[4]. *کائو* و همکاران[7] نقش موثر و مناسب اسپیرولینا را برای جایگزینی با آرد ماهی در جیره غذایی ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus gibelio*) گزارش کرده‌اند. همچنین پژوهشگران در مورد تاثیر اسپیرولینا در ارتقای شاخص‌های ایمنی ماهیان نیز مطالعاتی انجام داده‌اند. در این زمینه *یگانه* و همکاران[8] تاثیر مثبت اسپیرولینا بر تحریک و ارتقای شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را گزارش کرده‌اند.

بنابراین تاکنون مطالعات متعددی در زمینه تاثیر استفاده از جلبک اسپیرولینا روی شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی گروه‌های مختلف ماهیان انجام شده است[9, 10]. با این حال مطالعات چندانی در زمینه استفاده از این جلبک در تغذیه ماهی کپور علف‌خوار انجام نشده است و به نظر می‌رسد مطالعه حاضر از معدود مطالعات در این زمینه باشد. بنابراین در این مطالعه نقش افزودن مقادیر مختلف پودر جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی تهیه‌شده برای ماهی کپور

www.SID.ir

Archive of SID

علف‌خوار و نیز امکان استفاده از غذای دان و مقایسه آن با جیره طبیعی علوفه‌ای و همچنین تاثیر اسپیرولینا بر شاخص‌های رشد، ایمنی و رنگدانه‌های گوشت این ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهیان و تیمارهای غذایی

تعداد ۴۵۰ بچه ماهی کپور علف‌خوار با میانگین وزنی ۰/۵±۱۰گرم از یکی از مزارع تکثیر و پرورش کپور ماهیان واقع در شهرستان ساری خریداری شد و به مدت یک هفته در داخل تانک‌های ونیرو قرنطینه شدند. پس از دوره قرنطینه ماهیان با محلول آب نمک ۵% ضدعفونی و به‌طور تصادفی در شش تیمار با سه تکرار (۱۸ آکواریوم ۱۲۰لیتری و هر آکواریوم حاوی ۲۵ ماهی) توزیع شدند. طول دوره آزمایش هشت هفته بود و در این مدت دمای آب توسط بخاری در هر آکواریوم در دمای ۲۸°C تنظیم شد.

پودر جلبک اسپیرولینا با آنالیز شیمیایی مشخص از شرکت بهپرور و سایر اجزای جیره غذایی مورد استفاده تیمارها از شرکت چینه خریداری شدند (جدول ۱). هر دو شرکت تولیدکننده خوراک دام، طیور و آبزیان بودند. با توجه به نیاز غذایی کپور علف‌خوار و با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA 1.0، جیره غذایی به‌صورت دان تهیه و ترکیب شیمیایی آن نیز در تیمارهای مختلف آنالیز شد (جدول‌های ۲ و ۳). برای گروه شاهد جیره غذایی علوفه‌ای (یونجه) در نظر گرفته و در دان‌های جیره غذایی دیگر تیمارها به ترتیب مقادیر صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴% پودر جلبک اسپیرولینا اضافه شد. غذای شاهد (یونجه) به‌صورت تازه هر دو روز یک‌بار از مزرعه پرورش این گیاه تهیه شد و مورد مصرف قرار گرفت. غذادهی تیمارهای دیگر به‌صورت سه وعده در روز (در ساعت ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعد از ظهر) و بر حسب سیری ظاهری ماهیان انجام شد. در هر روز مقدار ۳۰% از آب آکواریوم به‌منظور جلوگیری از تجمع مواد آلی، تعویض شد و فیلترهای اسفنجی موجود در هر آکواریوم نیز هر دو روز یک‌بار از آکواریوم خارج و پس از شست‌وشو دوباره در آکواریوم قرار داده شدند.

نمونه‌برداری از ماهیان برای اندازه‌گیری شاخص‌های مورد مطالعه

در ابتدا و انتهای دوره آزمایش، از هر تکرار ۱۰ عدد ماهی به‌صورت تصادفی برای اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه، ترکیب گوشت، شاخص‌های خونی، ایمنی و رنگدانه کاروتنوئید گوشت، برداشته و پس از بیهوشی با محلول پودر گل میخک (۱۵۰میلی‌گرم در لیتر)، به روش قطع ساقه دمی (در ابتدای دوره آزمایش به‌دلیل کوچکی ماهیان) و استفاده از سرنگ (در انتهای دوره) خونگیری انجام شد. سپس خون گرفته‌شده سریعاً به لوله‌های حاوی هپارین منتقل شد و در نهایت نمونه‌ها به‌منظور تعیین شاخص‌های خونی به آزمایشگاه انتقال داده شدند[11]. نمونه‌های گوشت ماهیان نیز برای آنالیز شیمیایی و اندازه‌گیری رنگدانه کاروتنوئید در دمای ۲۰°C- در فریزر تا زمان آزمایش نگهداری شدند.

جدول ۱) ترکیب بیوشیمیایی جلبک اسپیرولینای تهیه‌شده از شرکت بهپرور

ترکیبات		میزان
مواد مغذی (درصد)	پروتئین	۶۰-۷۰
	کربوهیدرات	۱۰-۲۰
	چربی	۵
	خاکستر	۷
	سلولز	۲
	رطوبت	٦
رنگدانه (درصد)	کاروتنوئید	۰/۲۲-۰/۳٤
	کلروفیل	۰/۸-۱
	فیکوسیانین	۱۵-۲۰
ویتامین (میلی‌گرم در کیلوگرم)	بتاکاروتن	۱/۷
	B_{12}	۱/٦
	B_5	۱۱
	B_3	۰/۵
	اینوزیتول	۳۵۰
	نایسین	۱۱۸
	پیریدوکسین (B_6)	۳
	تیامین (B_1)	۵۵
	توکوفرول (E)	۱۹۰
مواد معدنی (میلی‌گرم در کیلوگرم)	کلسیم	۱/۱۸
	فسفر	۸/۲۸
	آهن	۵۲۸
	سدیم	۳٤
	کلر	٤/۲
	منیزیم	۱/٦٦۳
	روی	۳
	پتاسیم	۱٤/۳۵۳
	مس	۵
	ید	۳
	سلنیم	۲
اسیدآمینه (درصد)	ایزولوسین	۵/۷
	لوسین	۸/۷
	لیزین	۵/۱
	متیونین	۲/٦
	فنیل‌آلانین	۵
	ترئونین	۵/٤
	تریپتوفان	۱/۵
	والین	۷/۵
	آلانین	۷/۹
	آسپارتیک‌اسید	۹/۱
	سیستئین	۰/۹
	گلوتامیک‌اسید	۱۲/۷
	گلایسین	٤/۸
	هیستیدین	۱/۵
	پرولین	٤/۱
	سرین	۵/۳
	تیروزین	٤/٦
	آرژنین	٦/۵
اسید چرب (میلی‌گرم در کیلوگرم)	لورینیک C12	۲۰۰
	میریستیک C14	٦۰۰
	پالمیتیک C16	۱٦/۵-۲۱/۱٤۱
	پالمیتولئیک C16	۱/٤۹-۲/۰۳۵
	هپتانودکانیک C17	۹۰-۱٤۲
	استئاریک C18	۰-۳۵۳
	اولئیک C18	۱/۹۷-۳/۰۰۹
	لینولیک C18	۱۰/۹۲-۱۳/۷۸٤
	گاما- لینولیک C18	۸/۷۵-۱۱/۹۷
	بتا- لینولیک C18	۱٦۰-٤۲۷
	سایر	۷-٦۹۹

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲) ترکیب اجزای تشکیل‌دهنده جیره‌های آزمایشی

مواد اولیه	تیمارها					
	۱ (اسپیرولینا = صفر)	۲ (اسپیرولینا = صفر)	۳ (۰/۵% اسپیرولینا)	۴ (۱% اسپیرولینا)	۵ (۲% اسپیرولینا)	۶ (۴% اسپیرولینا)
پودر جلبک اسپیرولینا	صفر	صفر	۰/۵	۱	۲	۴
پودر ماهی هرینگ	صفر	۱۵	۱۴/۵	۱۴	۱۳	۱۱
علوفه	۱۰۰	صفر	صفر	صفر	صفر	صفر
آرد سویا	صفر	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
آرد گندم	صفر	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
آرد ذرت	صفر	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵
روغن کلزا	صفر	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵	۹/۵
آرد جوانه گندم	صفر	۷	۷	۷	۷	۷
همبند	صفر	۲	۲	۲	۲	۲
مواد معدنی و ویتامینی	صفر	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
نمک کلریدسدیم	صفر	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵

جدول ۳) ترکیب شیمیایی غذا در تیمارهای مختلف

تیمارها	ترکیبات شیمیایی				
	پروتئین (درصد)	**چربی** (درصد)	**خاکستر** (درصد)	**رطوبت** (درصد)	**انرژی** (کیلوکالری بر کیلوگرم)
۱ (علوفه)	۱۴/۸۳	۲/۱۵	۶/۲۷	۷۶/۹	۵۳۴
۲ (فاقد جلبک)	۳۴/۶۴	۹/۱۲	۱۰/۱	۴/۵	۳۸۲۰
۳ (۰/۵% جلبک)	۳۳/۲۵	۸/۳	۹/۵	۴/۴۵	۳۷۸۴
۴ (۱% جلبک)	۳۲/۲۵	۷/۹	۸/۹	۴/۷۵	۳۷۶۲
۵ (۲% جلبک)	۳۳/۷۸	۸/۴۵	۹/۸	۴/۵	۳۸۳۶
۶ (۴% جلبک)	۳۳/۶	۸/۷	۹/۵	۴/۷	۳۸۱۵

زیست‌سنجی و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه

برای زیست‌سنجی و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه، پس از بیهوشی نمونه‌های ماهیان با پودر گل میخک (۱۵۰میلی‌گرم در لیتر)، وزن و طول آنها به وسیله ترازوی دیجیتالی و تخته مدرج زیست‌سنجی اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج زیست‌سنجی شاخص‌های رشد و تغذیه طبق رابطه‌های زیر محاسبه شدند[12-14]:

$$\text{افزایش وزن بدن (درصد)} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{نرخ رشد ویژه (SGR)} = \frac{LnW2 - LnW1}{\text{طول دوره پرورش}} \times ۱۰۰$$

W_1: وزن اولیه (گرم)؛ W_2: وزن نهایی (گرم)

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{مقدار غذای خورده‌شده}}{\text{افزایش وزن}}$$

$$\text{میزان بقا} = \frac{\text{تعداد نهایی ماهیان}}{\text{تعداد اولیه ماهیان}} \times ۱۰۰$$

$$\text{کارآیی تغذیه} = \frac{\text{مقدار غذای خورده‌شده}}{\text{وزن حاصل}} \times ۱۰۰$$

$$\text{غذای روزانه} = \text{تعداد ماهی} \times \frac{\text{غذای خورده‌شده}}{\frac{(\text{وزن اولیه} + \text{وزن نهایی})}{\text{دوره آزمایش(روز)} \times 2}}$$

$$\text{ضریب رشد روزانه} = \frac{\text{میانگین وزن اولیه} - \text{میانگین وزن نهایی}}{\text{طول مدت پرورش}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی غذا و گوشت ماهیان

برای بررسی و تعیین ترکیب شیمیایی غذا و گوشت ماهیان از روش استاندارد استفاده شد[15]. رطوبت از طریق قراردادن نمونه تر گوشت ماهی در دستگاه آون در حرارت ۱۰۵°C به مدت ۲۴ ساعت، پروتئین به روش کجلدال، چربی از طریق حل‌کردن چربی در دی‌اتیل‌اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله و خاکستر نیز از طریق قراردادن نمونه در کوره الکتریکی در دمای ۶۰۰°C به مدت ۲ ساعت اندازه‌گیری شد[16]. میزان پروتئین، چربی و خاکستر به‌صورت درصد از وزن خشک گوشت محاسبه شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی

برای شمارش تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، خون هپارینه به وسیله پی‌پت ملانژور سفید به نسبت ۱/۲۰ در محلول شولز رقیق‌شده و گلبول‌های سفید با لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری شمارش شدند[8]. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، خون هپارینه به وسیله پی‌پت ملانژور قرمز به نسبت ۱/۲۰۰ در محلول نات‌هریک رقیق شد و گلبول‌های قرمز با استفاده از لام هموسیتومتر و میکروسکوپ نوری شمارش شدند[8].

برای تعیین درصد هماتوکریت (Hct) خون، دو سوم ارتفاع لوله‌های مویین میکروهماتوکریت از خون هپارینه پر و انتهای لوله‌ها به وسیله خمیر مخصوص بسته شد و داخل دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت قرار گرفتند. پس از ۵ دقیقه سانتریفیوژ لوله‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰دور بر دقیقه، درصد هماتوکریت خون در هر لوله با

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از صفحه مدرج مخصوص قرائت شد[8].

مقدار هموگلوبین (Hb) خون به روش سیانومت هموگلوبین[17] و کیت تشخیصی شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۲۰میکرولیتر خون هپارینه با ۵میلی‌لیتر محلول درابکین مخلوط و ۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. سپس به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶نانومتر قرائت شد و با استفاده از این رابطه غلظت هموگلوبین به دست آمد:

غلظت هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر) =عدد قرائت‌شده در دستگاه اسپکتروفتومتر×۳۶/۸

برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید، بلافاصله پس از خونگیری از ماهیان گسترش خونی بر روی لام تهیه شد و پس از خشک‌شدن لام در دمای اتاق، به مدت ۵ دقیقه در متانول قرار گرفت. سپس لام‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. پس از رنگ‌آمیزی، لام‌ها با آب مقطر شست‌وشو و در دمای اتاق خشک شدند و با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ (با استفاده از روغن ایمرسیون) بررسی شدند و گلبول‌های سفید خون با توجه به شکل آنها مورد شناسایی و شمارش قرار گرفتند[11]. برای اندازه‌گیری حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط مقدار هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) از طریق فرمول‌های زیر استفاده شد[8]:

$$MCV = \frac{Hct\ (\%)\times 10}{RBC}$$ (فمتولیتر)

$$MCH = \frac{Hb\ (\text{گرم بر دسی‌لیتر})\times 10}{RBC}$$ (پیکوگرم)

$$MCHC = \frac{Hb\ (\text{گرم بر دسی‌لیتر})\times 100}{Hct\ (\%)}$$ (درصد)

اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی

برای اندازه‌گیری فعالیت لیزوزیم سرم از روش *چا* و همکاران[18] استفاده شد. اساس این روش بر پایه لیز باکتری گرم مثبت *میکروکوکوس لیزودیکتیکوس* M 3770 (Sigma؛ ایالات متحده) توسط لیزوزیم استوار است. به‌طور خلاصه، مقدار ۱۵۰میکرولیتر سوسپانسیون باکتری *میکروکوکوس لیزودیکتیکوس* با غلظت ۰/۲میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بافر سیترات‌سدیم ۰/۰۲مولار (۵/۵ =pH)، به ۱۵میکرولیتر نمونه سرم در چاهک‌های یک میکروپلیت ۹۶خانه‌ای افزوده شد. بلافاصله جذب نوری نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با فواصل ۳۰ ثانیه در طول موج ۴۵۰نانومتر با الایزاریدر (اوارنس؛ ایالات متحده) قرائت شد. طبق تعریف یک واحد فعالیت لیزوزیم برابر با میزان سرمی است که باعث کاهش جذب نوری به میزان ۰/۰۰۱ در دقیقه شود[18].

برای اندازه‌گیری قدرت باکتری‌کشی سرم ابتدا باکتری *آئروموناس هیدروفیلا* (BCG/LMG 3740) در محیط کشت TSB کشت داده و میزان 10^5 باکتری در میلی‌لیتر در ژلاتین ورونال بافر استریل (۷/۵ =pH به همراه یون‌های کلسیم و منیزیم) تنظیم شد. نمونه‌های سرمی با سوسپانسیون باکتریایی حاصل به نسبت ۱:۱ مخلوط شدند و بعد از ۹۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵°C، ۵میکرولیتر مخلوط سرم و باکتری در محیط کشت TSA کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C به کمک دستگاه کلنی‌کانتر تعداد پرگنه‌های باکتریایی رشدیافته روی محیط کشت شمارش شد[19].

برای اندازه‌گیری آنتی‌تریپسین سرم، ابتدا ۲۰میکرولیتر سرم با ۲۰میکرولیتر محلول استاندارد تریپسین به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۲°C انکوبه شد، سپس ۲۰۰میکرولیتر بافر فسفات (۰/۱مولار، ۷ =pH) و ۲۵۰میکرولیتر آزوکازئین ۲% اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۲°C انکوبه شدند. سپس ۵۰۰میکرولیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۱۰% اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۲°C گرمخانه‌گذاری شدند. مخلوط حاصل با سرعت ۶۰۰۰دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و ۱۰۰میکرولیتر محلول رویی به پلیت‌های ۹۶خانه‌ای حاوی ۱۰۰میکرولیتر سود ۱ نرمال انتقال داده شد. میزان شدت نوری محلول رویی در طول موج ۴۵۰نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر قرائت شد. نمونه کنترل مثبت با جایگزینی بافر به جای سرم و کنترل منفی با جایگزینی بافر به جای سرم و تریپسین در نظر گرفته شد. میزان بازدارندگی از فعالیت آنزیم تریپسین به‌عنوان قابلیت بازدارندگی آنتی‌پروتئاز سرم در نظر گرفته و از طریق رابطه زیر محاسبه شد[20]:

قابلیت بازدارندگی آنتی‌پروتئاز (درصد) =$\frac{A1-A2}{A1}\times 100$

A_2: جذب نوری نمونه سرم؛ A_1: جذب نوری بلانک تریپسین (کنترل مثبت)

اندازه‌گیری رنگدانه کاروتنوئید گوشت ماهیان

اندازه‌گیری کاروتنوئید گوشت ماهیان با استفاده از روش *تیموری* و همکاران[21] انجام شد. کل گوشت ماهی به‌دقت جدا، له و همگن و مقدار ۱گرم از آن برداشته شد و ۵میلی‌لیتر استون ۹۸% به همراه ۲گرم سدیم‌سولفات به آن اضافه شد. نمونه آماده‌شده درون لوله آزمایش به مدت ۴۸ ساعت در محیط کاملاً تاریک در دمای ۴°C نگهداری شد. پس از آن محلول به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب فاز مایع در طول موج ۴۷۶نانومتر اندازه‌گیری و از ضریب خاموشی ۲۵۰۰ برای محاسبه میزان کاروتنوئید کل استفاده شد. در انتها میزان کاروتنوئید کل از طریق رابطه زیر محاسبه شد[21]:

غلظت کاروتنوئید (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن نمونه) =$\frac{10000\times 10\times 2500}{\frac{Ws}{As}}$

As: میزان جذب نمونه در مقابل شاهد استون؛ Ws: وزن نمونه

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 22 انجام شد. نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف، مقایسه بین میانگین‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه و اختلاف بین میانگین‌ها با کمک آزمون چنددامنه‌ای توکی در سطح

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری p≤۰/۰۵ انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از برنامه Excel استفاده شد.

یافته‌ها

ترکیب بیوشیمیایی جلبک اسپیرولینای مورد استفاده در مطالعه حاضر در جدول ۱ آورده شده و همچنین درصد اجزای جیره‌های آزمایشی تهیه‌شده برای تیمارهای آزمایشی و ترکیب شیمیایی آنها به ترتیب در جدول‌های ۲و ۳ ارایه شده است.

در هیچ‌کدام از شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در ابتدای دوره آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد و ماهیان مورد مطالعه از نظر شاخص‌های مورد بررسی در ابتدای دوره یکسان بودند.

شاخص‌های رشد

نتایج حاصل از ارزیابی میانگین طول کل و وزن اولیه در ابتدای دوره پرورش، نشان داد که هیچ‌کدام از تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار نبودند (p>۰/۰۵). میانگین طول کل و وزن نهایی تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌دار بودند (p<۰/۰۵)، به‌طوری که کمترین و بیشترین طول کل و وزن به ترتیب در تیمارهای یک و شش مشاهده شدند (جدول ۴).

بین شاخص‌های تغذیه‌ای ماهیان، به جز شاخص میزان بقای ماهیان، در بقیه شاخص‌ها تفاوت‌های معنی‌داری (p<۰/۰۵) بین تیمارهای مختلف مشاهده شد (جدول ۵). بهترین شاخص ضریب تبدیل غذایی، بیشترین میانگین رشد ویژه، درصد افزایش وزن، کارآیی تغذیه و ضریب رشد روزانه مربوط به تیمار شش بود. مقدار شاخص مصرف غذای روزانه در تیمارهای دارای جلبک و همچنین تیمار فاقد جلبک، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (p>۰/۰۵)، اما همه آنها در این شاخص به‌طور معنی‌داری مقدار بیشتری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند (p<۰/۰۵). شاخص درصد بقا در هیچ تیماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵).

نتایج بررسی ترکیبات لاشه ماهیان نشان داد که میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر لاشه در انتهای دوره در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشتند (p>۰/۰۵). میزان چربی لاشه در تیمار شش به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار اول (غذای علوفه‌ای) بیشتر بود (p<۰/۰۵؛ جدول ۶).

شاخص‌های خونی

مقایسه شاخص‌های خونی در جدول ۷ نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شش (۴% جلبک) مشاهده شده است که با همه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار چهار (۱% جلبک) مشاهده شد که با تیمارهای اول (شاهد) اختلاف معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین درصد هماتوکریت و بیشترین مقدار هموگلوبین نیز در تیمار چهارم مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری با تیمارهای اول و دوم تفاوت نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار شاخص خونی MCV در تیمار ششم بود و با تیمارهای اول تا چهارم تفاوت معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). شاخص MCH در تیمار ششم بیشترین مقدار را داشت و با تیمارهای اول تا سوم و نیز با تیمار پنجم تفاوت معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار درصد MCHC در تیمار اول (شاهد) مشاهده شد که با همه تیمارها به جز تیمار سوم تفاوت معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵).

براساس جدول ۸، در شمارش تفریقی گلبول‌های سفید خون، درصد لنفوسیت‌ها در تیمارهای دارای جلبک تفاوت معنی‌داری نشان نداد (p>۰/۰۵)، اما این در حالی است که همه تیمارهای دارای جلبک از نظر این شاخص با تیمارهای اول و دوم (تیمارهای فاقد جلبک) تفاوت معنی‌دار نشان دادند (p<۰/۰۵). بیشترین درصد ائوزینوفیل در تیمار شش مشاهده شد که با همه تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). بیشترین درصد نوتروفیل‌ها مربوط به تیمار یک بود که با همه تیمارهای دارای جلبک تفاوت معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۵)، اما با تیمار فاقد جلبک تفاوت معنی‌داری نداشت (p>۰/۰۵).

شاخص‌های ایمنی

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی در جدول ۹ آورده شده است. بیشترین مقدار فعالیت لیزوزیم، فعالیت آنتی‌تریپسین سرم و بیشترین میزان قدرت باکتری‌کشی سرم (کمترین تعداد کلنی باکتری رشدکرده) در تیمار شش مشاهده شد که تقریباً با همه تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌دار نشان دادند (p<۰/۰۵).

شاخص رنگدانه کل گوشت ماهی

مقایسه شاخص رنگدانه کاروتنوئید کل گوشت ماهیان نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود ندارد (p>۰/۰۵؛ جدول ۱۰).

جدول ٤) مقایسه میانگین آماری شاخص‌های طول کل و وزن ماهیان ماهیان کپور علف‌خوار در ابتدا و انتهای دوره آزمایش

تیمارها	شاخص‌ها			
	طول کل اولیه (سانتی‌متر)	**طول کل نهایی** (سانتی‌متر)	**وزن اولیه** (گرم)	**وزن نهایی** (گرم)
۱ (علوفه)	۱۰/۱۱±۰/۰۳^{a}	۱۲/۵۹±۰/۱۰^{a}	۱۰/۵۴±۰/۱۰^{a}	۲۱/۷۴±۰/۴۳^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۱۰/۱۴±۰/۰۸^{a}	۱۳/۲۷±۰/۱۰^{b}	۱۰/۵۳±۰/۰۶^{a}	۲۴/۳۷±۰/۳۷^{b}
۳ (۰/۵% جلبک)	۱۰/۱۹±۰/۰۷^{a}	۱۳/۵۲±۰/۰۸^{c}	۱۰/۶۶±۰/۱۶^{a}	۲۵/۴۲±۰/۶۱^{c}
۴ (۱% جلبک)	۱۰/۲۴±۰/۰۳^{a}	۱۳/۶۴±۰/۱۱^{c}	۱۰/۷۸±۰/۰۶^{a}	۲۶/۰۶±۰/۴۹^{c}
۵ (۲%جلبک)	۱۰/۱۹±۰/۱۱^{a}	۱۳/۹۹±۰/۱۲^{d}	۱۰/۶۳±۰/۳۰^{a}	۲۹/۰۲±۰/۴۴^{d}
۶ (۴% جلبک)	۱۰/۱۲±۰/۰۶^{a}	۱۴/۳۰±۰/۰۹^{e}	۱۰/۴۶±۰/۲۰^{a}	۳۰/۸۸±۰/۷۳^{e}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵) مقایسه میانگین آماری شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره آزمایش

تیمارها	شاخص‌ها						
	ضریب تبدیل غذایی (درصد)	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	افزایش وزن بدن (درصد)	میزان بقا (درصد)	کارآیی تغذیه (درصد)	ضریب رشد روزانه (درصد)	مصرف غذای روزانه (گرم)
۱ (علوفه)	۲/۸۸±۰/۴۵^{c}	۱/۲۹±۰/۰۵^{a}	۱۰۶/۲۵±۶/۰۳^{a}	۹۸/۳۳±۱/۶۷^{a}	۸/۴۳±۰/۳۱^{a}	۱/۰۷±۰/۰۵^{a}	۱۷۵/۸۰±۶/۳۲^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۲/۳۶±۰/۱۵^{b}	۱/۵۰±۰/۰۳^{b}	۱۳۱/۴۳±۳/۸۱^{b}	۹۹/۴۴±۰/۹۶^{a}	۴۲/۵۵±۲/۵۷^{b}	۱/۲۶±۰/۰۳^{b}	۳۹/۹۷±۲/۱۳^{b}
۳ (۰/۵% جلبک)	۲/۱۶±۰/۱۰^{ab}	۱/۵۵±۰/۰۷^{b}	۱۳۸/۴۱±۹/۰۷^{b}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۶/۳۷±۲/۱۴^{c}	۱/۳۲±۰/۰۶^{bc}	۳۷/۷۸±۱/۲۷^{b}
۴ (۱% جلبک)	۲/۱۱±۰/۰۱^{ab}	۱/۵۸±۰/۰۴^{b}	۱۴۱/۸۰±۵/۸۱^{b}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴۷/۳۲±۰/۱۴^{c}	۱/۳۵±۰/۰۴^{c}	۳۷/۵۶±۰/۸۴^{b}
۵ (۲%جلبک)	۱/۹۲±۰/۰۷^{a}	۱/۷۹±۰/۰۴^{c}	۱۷۳/۱۲±۵/۵۵^{c}	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۵۲/۲۳±۱/۸۸^{d}	۱/۵۶±۰/۰۳^{d}	۳۸/۰۸±۰/۷۳^{b}
۶ (۴% جلبک)	۱/۸۵±۰/۰۶^{a}	۱/۹۳±۰/۰۳^{d}	۱۹۵/۲۱±۵/۴۹^{d}	۹۸/۸۹±۰/۹۶^{a}	۵۴/۲۰±۱/۷۲^{d}	۱/۷۰±۰/۰۳^{e}	۳۸/۸۶±۱/۸۰^{b}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ٦) میانگین آماری ترکیبات گوشت ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره پرورش در تیمارهای مختلف

تیمارها	شاخص‌ها			
	پروتئین (درصد وزن خشک)	چربی (درصد وزن خشک)	رطوبت (درصد وزن تر)	خاکستر (درصد وزن خشک)
۱ (علوفه)	۵۹/۰۷±۰/۶۴^{a}	۱۳/۹۰±۰/۶۰^{a}	۷۶/۳۱±۰/۸۳^{a}	۲/۷۶±۰/۰۶^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۵۹/۹۳±۱/۳۵^{a}	۱۴/۶۵±۰/۹۴^{ab}	۷۷/۰۸±۱/۶۵^{a}	۲/۷۹±۰/۰۷^{a}
۳ (۰/۵% جلبک)	۶۰/۱۸±۰/۳۳^{a}	۱۴/۵۲±۰/۹۳^{ab}	۷۶/۹۶±۱/۷۲^{a}	۲/۷۸±۰/۰۷^{a}
۴ (۱% جلبک)	۵۹/۹۹±۰/۹۴^{a}	۱۴/۴۱±۰/۶۲^{ab}	۷۶/۸۳±۰/۶۸^{a}	۲/۸۰±۰/۰۵^{a}
۵ (۲%جلبک)	۶۰/۴۷±۰/۶۱^{a}	۱۴/۳۹±۰/۴۶^{ab}	۷۶/۴۸±۱/۱۲^{a}	۲/۷۳±۰/۰۷^{a}
۶ (۴% جلبک)	۶۰/۴۸±۰/۸۰^{a}	۱۵/۴۲±۰/۵۱^{b}	۷۶/۲۶±۰/۸۲^{a}	۲/۸۰±۰/۰۷^{a}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۷) مقایسه شاخص‌های خونی ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره پرورش در تیمارهای مختلف

تیمارها	شاخص‌ها						
	WBC (۱۰^{۴} بر میلی‌متر مکعب)	RBC (۱۰^{۶} بر میلی‌متر مکعب)	Hct (درصد)	Hb (گرم بر دسی‌لیتر)	MCV (فمتولیتر)	MCH (پیکوگرم)	MCHC (درصد)
۱ (علوفه)	۲/۹۳±۰/۱۵^{a}	۲/۰۱±۰/۱۰^{a}	۲۹/۳۳±۰/۵۸^{a}	۶/۳۵±۰/۲۶^{a}	۱/۴۶×۱۰$^{-۴}$±۷/۰۰×۱۰$^{-۶}$^{a}	۳/۱۷×۱۰$^{-۵}$±۲/۹۸×۱۰$^{-۶}$^{ab}	۲۱/۶۷±۱/۰۲^{d}
۲ (فاقد جلبک)	۳/۰۳±۰/۱۵^{ab}	۲/۲۳±۰/۳۶^{ab}	۳۸/۳۳±۰/۵۸^{b}	۶/۰۰±۰/۳۹^{a}	۱/۷۵×۱۰$^{-۴}$±۳/۰۰×۱۰$^{-۵}$^{ab}	۲/۷۲×۱۰$^{-۵}$±۲/۶۲×۱۰$^{-۶}$^{a}	۱۵/۶۶±۱/۲۱^{a}
۳ (۰/۵% جلبک)	۳/۲۲±۰/۱۰^{b}	۲/۲۵±۰/۰۷^{ab}	۳۸/۶۷±۳/۲۱^{bd}	۷/۸۴±۰/۴۹^{b}	۱/۷۲×۱۰$^{-۴}$±۱/۷۰×۱۰$^{-۵}$^{ab}	۳/۵۰×۱۰$^{-۵}$±۹/۸۵×۱۰$^{-۷}$^{c}	۲۰/۵۲±۲/۴۴^{cd}
۴ (۱% جلبک)	۳/۲۵±۰/۱۰^{b}	۲/۳۹±۰/۲۰^{b}	۴۲/۳۳±۰/۵۸^{c}	۷/۸۹±۰/۲۷^{b}	۱/۷۸×۱۰$^{-۴}$±۱/۳۷×۱۰$^{-۵}$^{b}	۳/۶۳×۱۰$^{-۵}$±۲/۷۵×۱۰$^{-۶}$^{cd}	۱۸/۵۲±۰/۸۷^{c}
۵ (۲%جلبک)	۲/۸۸±۰/۰۸^{a}	۲/۲۴±۰/۱۲^{ab}	۴۱/۶۷±۲/۰۸^{cd}	۷/۴۲±۰/۱۳^{bc}	۱/۸۶×۱۰$^{-۴}$±۴/۵۸×۱۰$^{-۶}$^{bc}	۳/۵۱×۱۰$^{-۵}$±۱/۲۵×۱۰$^{-۶}$^{c}	۱۷/۸۳±۰/۵۹^{b}
۶ (۴% جلبک)	۳/۸۸±۰/۱۳^{c}	۲/۲۴±۰/۰۷^{ab}	۴۱/۶۷±۰/۵۸^{cd}	۷/۲۳±۰/۳۱^{c}	۲/۱۳×۱۰$^{-۴}$±۱/۰۴×۱۰$^{-۵}$^{c}	۳/۶۹×۱۰$^{-۵}$±۶/۱۱×۱۰$^{-۷}$^{d}	۱۷/۳۵±۰/۹۸^{b}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۸) مقایسه درصد تفریقی گلبول‌های سفید ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره پرورش در تیمارهای مختلف

تیمارها	شاخص‌ها			
	لنفوسیت (درصد)	نوتروفیل (درصد)	ائوزینوفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)
۱ (علوفه)	۶۵/۴۷±۴/۲۱^{a}	۳۳/۸۰±۵/۳۷^{a}	۰/۷۳±۰/۲۷^{a}	۰/۰±۰/۰^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۶۵/۵۶±۱/۵۲^{a}	۳۲/۷۷±۰/۳۲^{a}	۱/۲۰±۰/۴۴^{a}	۰/۴۷±۰/۱۲^{b}
۳ (۰/۵% جلبک)	۷۲/۹۷±۳/۱۷^{b}	۲۶/۰۳±۳/۸۴^{b}	۰/۸۷±۰/۵۰^{a}	۰/۱۳±۰/۰۳^{ab}
۴ (۱% جلبک)	۷۳/۵۳±۱/۹۴^{b}	۲۴/۸۰±۱/۷۸^{b}	۱/۴۰±۰/۲۰^{a}	۰/۲۷±۰/۱۱^{ab}
۵ (۲%جلبک)	۷۱/۴۰±۳/۱۴^{b}	۲۶/۸۷±۴/۱۰^{b}	۱/۷۳±۱/۴۶^{a}	۰/۰±۰/۰^{a}
۶ (۴% جلبک)	۷۴/۳۰±۰/۵۲^{b}	۲۲/۳۰±۰/۹۶^{b}	۳/۴۰±۰/۴۶^{b}	۰/۰±۰/۰^{a}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

جدول ۹) میانگین آماری شاخص‌های ایمنی ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره پرورش در تیمارهای مختلف

تیمارها	شاخص‌ها		
	فعالیت لیزوزیم سرم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	قدرت باکتری‌کشی سرم (تعداد کلنی باکتری رشدکرده)	فعالیت آنتی‌تریپسین سرم (درصد)
۱ (علوفه)	۲۵/۶۷±۲/۰۸^{a}	۱۲۸/۳۳±۳/۲۱^{a}	۱۷/۰۰±۱/۰۰^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۲۸/۰۰±۱/۰۰^{ab}	۱۲۴/۳۳±۷/۰۲^{a}	۱۸/۳۳±۰/۵۸^{a}
۳ (۰/۵% جلبک)	۲۹/۰۰±۱/۰۰^{b}	۱۱۰/۶۷±۸/۰۸^{b}	۱۸/۰۰±۱/۰۰^{a}
۴ (۱% جلبک)	۳۰/۰۰±۱/۰۰^{b}	۹۴/۶۷±۱۱/۰۶^{c}	۱۹/۶۷±۱/۱۵^{a}
۵ (۲%جلبک)	۳۰/۶۷±۱/۱۵^{bc}	۸۰/۳۳±۶/۶۶^{d}	۱۹/۰۰±۱/۰۰^{a}
۶ (۴% جلبک)	۳۳/۰۰±۲/۰۰^{c}	۶۷/۰۰±۴/۵۸^{e}	۲۸/۶۷±۳/۰۶^{b}

اعداد در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱۰) مقایسه مقدار رنگدانه کاروتنوئید گوشت ماهیان کپور علف‌خوار در انتهای دوره پرورش در تیمارهای مختلف

تیمارها	رنگدانه کاروتنوئید بافت (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
۱ (علوفه)	۰/۵۸±۰/۳۲^{a}
۲ (فاقد جلبک)	۰/۵۹±۰/۰۱^{a}
۳ (۰/۵% جلبک)	۰/۵۵±۰/۰۱^{a}
۴ (۱% جلبک)	۰/۶۱±۰/۰۶^{a}
۵ (۲%جلبک)	۰/۵۹±۰/۰۳^{a}
۶ (۴% جلبک)	۰/۶۵±۰/۱۰^{a}

اعداد در ستون با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار هستند (p>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که به‌طور کلی با افزایش مقدار جلبک اسپیرولینا (تا سطح ۴%) در جیره غذایی بچه ماهیان کپور علف‌خوار در تیمارهای مختلف، تاثیر بهتری در بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان مشاهده می‌شود (جدول‌های ۴ و ۵). چنین تاثیری را می‌توان به وجود مقادیر بالای پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری در این جلبک نسبت داد[2]. اثرات مثبت استفاده از جلبک‌ها به‌ویژه جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و تغذیه گونه‌های دیگر ماهیان از جمله ماهی سیم نقره‌ای، تیلاپیا و ماهیان خاویاری گزارش شده است[10, 19, 22] که در راستای نتایج مطالعه حاضر است. برخی مطالعات هم عدم وجود تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد ماهی سیچلاید دم زرد (*Pseudotropheus acei*) را گزارش کرده‌اند[23] و از این گزارشات می‌توان چنین دریافت که استفاده از جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهیان می‌تواند نتایج متفاوتی را در پی داشته باشد که باید به‌صورت موردی مطالعه و بررسی شوند. با توجه به اینکه در حال حاضر در صنعت پرورش ماهی کپور علف‌خوار از غذای علوفه‌ای با ضریب تبدیل غذایی بالا استفاده می‌شود، نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از غذای دان نسبت به غذای علوفه‌ای می‌تواند در پایان دوره آزمایش به‌طور معنی‌داری باعث افزایش شاخص‌های طول کل، وزن، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، کارآیی تغذیه‌ای، ضریب رشد روزانه و کاهش شاخص‌های ضریب تبدیل غذایی و مصرف غذای روزانه شود (جدول‌های ۴ و ۵). این نتایج با نتایج *گوروی* و همکاران[23] و *مرتضوی‌زاده* و همکاران[24] مطابقت دارد. ایشان گزارش کردند که غذای کنسانتره می‌تواند به‌راحتی مواد مغذی لازم را در اختیار ماهی قرار دهد و باعث بهبود برخی شاخص‌های رشد و تغذیه شود. بنا بر نظر پژوهشگران تاثیر جلبک اسپیرولینا در بهبود شاخص‌های رشد و تغذیه را می‌توان به توانایی این جلبک در افزایش سه برابری فلور باکتریایی لاکتوباسیلوس در روده، تحریک ترشح برخی آنزیم‌های گوارشی و شکسته‌شدن مواد غیرقابل هضم غذا و خروج و جذب مواد مغذی بیشتری از غذا نسبت داد[25].

استفاده از جلبک اسپیرولینا تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر لاشه ماهیان ایجاد نکرد و تنها مقدار ۴% جلبک (تیمار ششم) در شاخص درصد چربی با تیمار شاهد (غذای علوفه‌ای) تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۶). دلیل این موضوع را شاید بتوان به بهبود کارآیی جذب غذا توسط ماهیان استفاده‌کننده از اسپیرولینا نسبت داد که خود حاصل قابلیت ویژه این جلبک در ذخیره‌سازی چربی و گلیکوژن است[4].

در مطالعه حاضر درصد لنفوسیت‌ها در همه تیمارهای دارای جلبک به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای فاقد جلبک و تیمار شاهد بود و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و ائوزینوفیل‌ها در تیمار شش (۴% جلبک) و بیشترین درصد نوتروفیل‌ها در تیمار شاهد (غذای علوفه‌ای) مشاهده شد (جدول ۸). از آنجایی که گلبول‌های سفید از اعضای مهم و تعیین‌کننده در فعالیت سیستم ایمنی هستند، تقویت آنها باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شود که حاکی از تاثیر مثبت جلبک اسپیرولینا بر سیستم ایمنی خونی ماهی کپور علف‌خوار است (جدول‌های ۷ و ۸). همچنین در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های قرمز و همچنین شاخص‌های هماتوکریت و هموگلوبین خون وابسته به درصد جلبک استفاده‌شده در جیره غذایی تیمارها نبودند، به‌طوری که بیشترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار چهارم (۱% جلبک) مشاهده شد که با تیمار شاهد (غذای علوفه‌ای) تفاوت معنی‌دار نشان دادند (p<۰/۰۵؛ جدول ۷)، ولی با افزایش درصد جلبک در جیره، مقدار این شاخص‌های خونی کاهش یافت و یا بدون تغییر باقی ماند. *جیمز* و همکاران[25] و *چله‌مال دزفول‌نژاد* و همکاران[26] نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند که براساس آن شاخص‌های خونی ماهی پنگوسی (*Pangasius hypophthalamus*) و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بعد از استفاده از جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی آنها، از روند مشخص و منظمی پیروی نمی‌کند. به‌طور کلی در مطالعه حاضر شاید بتوان دلیل افزایش مقدار هموگلوبین در تیمارهای دارای جلبک نسبت به تیمارهای فاقد جلبک (تیمار اول و دوم) را قابلیت هضم و جذب بالای آهن موجود در جلبک اسپیرولینا، وجود کلروفیل زیاد با قابلیت تبدیل آن به هموگلوبین در جلبک اسپیرولینا و نیز افزایش جذب آهن به‌دلیل وجود فیکوسیانین در این جلبک دانست که می‌توانند به‌عنوان عوامل مهمی در خون‌سازی عمل کنند[26]. *پرومیا* و *چیتمانات*[12] به نتایجی مشابه با مطالعه حاضر اشاره و بیان کردند که استفاده از مقادیر کمتر از ۲% جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) باعث افزایش شاخص‌های خونی می‌شود. شاخص‌های خونی MCV و MCH بیشترین مقدار خود را تحت تاثیر جلبک اسپیرولینا در مقدار ۴% (تیمار شش) نشان دادند، اما به‌طور کلی در همه تیمارهای دارای جلبک با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند (p<۰/۰۵). بنابراین افزودن جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی کپور علف‌خوار در افزایش مقدار هموگلوبین و شاخص‌های گلبولی وابسته به هموگلوبین موثر است.

اسپیرولینا یکی از جلبک‌های سبز- آبی است که حاوی مقدار زیادی پروتئین، اسیدهای چرب ضروری (گاما- لینولئیک‌اسید)، پلی‌ساکاریدها، بتاکاروتنوئید، ویتامین‌ها و مواد معدنی است که

www.SID.ir

Archive of SID

یک محرک رشد، پروبیوتیک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی در ماهی به شمار می‌آید[7]. در مطالعه حاضر با افزایش درصد جلبک اسپیرولینا در جیره، شاخص‌های ایمنی فعالیت لیزوزیم و قدرت باکتری‌کشی سرم بهبود یافت و در همه شاخص‌های ایمنی مورد مطالعه، میزان ۴% جلبک اسپیرولینا (تیمار ششم) به‌طور معنی‌داری تقریباً نسبت به همه تیمارهای دیگر بهترین شرایط ایمنی را نشان داده است ($p<0/05$؛ جدول ۹). نتایج *پرومیا* و *چیتمانات*[12] در زمینه تاثیر جلبک اسپیرولینا بر سیستم ایمنی گربه ماهیان (*Clarias gariepinus*)، نشان داد که ماهیان تیمار تغذیه‌شده با جیره حاوی ۵% جلبک اسپیرولینا بیشترین سطح ایمنی را نسبت به سایر تیمارها داشتند. نتایج آنها تاییدکننده نتیجه مطالعه حاضر است. همچنین در مطالعه‌ای دیگر در زمینه تاثیر جلبک اسپیرولینا بر سیستم ایمنی ماهی گورامی (*Osphronemus gouramy*) نیز از میان مقادیر ۲، ۴ و ۶گرم اسپیرولینا در کیلوگرم جیره غذایی این ماهی، مقدار ۶گرم در کیلوگرم باعث ارتقای معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه شاهد شد[27]. این مطالعه نیز به نوبه خود تاییدکننده نتایج مطالعه حاضر و بیانگر نقش موثر اسپیرولینا در ارتقای سلامت و پاسخ‌های ایمنی ماهیان است.

در این مطالعه اختلاف معنی‌داری در مقدار رنگدانه کاروتنوئید کل گوشت ماهیان تیمارهای دارای جلبک و تیمارهای فاقد جلبک مشاهده نشد (جدول ۱۰). هرچند اسپیرولینا با محتوای چربی بالای خود می‌تواند باعث حل‌شدن کاروتنوئیدها و جذب رنگدانه در فیله ماهیان شود و همچنین با وجود ۸۰% پکتین و ۲۰% سلولز در دیواره سلولی نازک اسپیرولینا محتوای کاروتنوئید آن به‌راحتی می‌تواند توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش ماهی هضم و جذب شود، اما به نظر می‌رسد این موضوع در شرایطی می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار محتوای کارتنوئیدی گوشت ماهی شود که مقدار قابل ملاحظه‌ای جلبک در غذا استفاده شده باشد[21, 27]. بنابراین عدم افزایش معنی‌دار رنگدانه کاروتنوئید کل گوشت ماهیان در این مطالعه را می‌توان با درصد کم این رنگدانه مهم در جلبک اسپیرولینا و مقادیر پایین جلبک استفاده‌شده در جیره‌های آزمایشی مرتبط دانست (جدول ۱). *تیموری* و همکاران[21] در مطالعه خود عنوان کردند، رنگ فیله ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان که از ۷/۵ و ۱۰% جلبک اسپیرولینا تغذیه کردند، بیشتر از سایر تیمارهایی بوده است که مقادیر کمتر این جلبک را مصرف کرده بودند.

براساس نتایج این مطالعه، جایگزینی غذای دان به جای غذای معمول ماهی کپور علف‌خوار که علوفه است، می‌تواند اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد و کاهش میزان مصرف غذا داشته باشد. همچنین وجود جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی کپور علف‌خوار اثرات مثبت بیشتری بر فاکتورهای رشد، خونی و ایمنی داشت که این مساله می‌تواند موجب بهبود در امر پرورش این ماهی شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای بهبود شرایط رشد، تغذیه و ارتقای شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور علف‌خوار از مقدار ۴% جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی این ماهی استفاده شود.

تشکر و قدردانی: نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مسئولین و کارکنان ایستگاه تحقیقاتی خجیر وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران برای همکاری در اجرای این مطالعه، تشکر و قدردانی کنند.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

سهم نویسندگان: محسن بیدی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۳۰%)؛ سعید مشکینی (نویسنده دوم)، پژوهشگر کمکی/روش‌شناس/نگارنده بحث (۵۰%)؛ کاووس نظری (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۲۰%)

منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1- Peiretti PG, Meineri G. Effects of diets with increasing levels of Spirulina platensis on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. Lives Sci. 2008;118(1-2):173-7.

2- Abdelkhalek NK, Ghazy EW, Abdel-Daim MM. Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, Oreochromis niloticus: Impact on lipid peroxidation and oxidative stress. Environ Sci Pollut Res. 2015;22(4):3023-31.

3- Oh SH, Ahn J, Kang DH, Lee HY. The effect of ultrasonificated extracts of Spirulina maxima on the anticancer activity. Mar Biotechnol. 2011;13(2):205-14.

4- Ungsethaphand T, Peerapornpisal Y, Whangchai N, Sardsud U. Effect of feeding Spirulina platensis on growth and carcass composition of hybrid red tilapia (Oreochromis mossambicus× O. niloticus). Maejo Int J Sci Technol. 2010;4(2):331-6.

5- Gao YJ, Yang HJ, Liu YJ, Chen SJ, Guo DQ, Yu YY, et al. Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp Ctenopharyngodon idella. Aquaculture. 2014;424-425:113-9.

6- Liang JJ, Liu YJ, Tian LX, Yang HJ, Liang GY. Dietary available phosphorus requirement of juvenile grass carp (Ctenopharyngodon idella). Aquac Nutr. 2012;18(2):181-8.

7- Cao SP, Zou T, Zhang PY, Han D, Jin JY, Liu HK, et al. Effects of dietary fishmeal replacement with Spirulina platensis on the growth, feed utilization, digestion and physiological parameters in juvenile gibel carp (Carassis auratus gibelio var. CAS III). Aquac Res. 2018;49(3):1320-8.

8- Yeganeh S, Teimouri M, Amirkolaie AK. Dietary effects of Spirulina platensis on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Res Vet Sci. 2015;101:84-8.

9- Jana A, Saroch JD, Borana K. Effect of spirulina as a feed supplement on survival and growth of pangasius sutchi. Int J Fish Aquat Stud. 2014;1(5):77-9.

10- Velasquez SF, Chan MA, Abisado RG, Traifalgar RF, Tayamen MM, Maliwat GC, et al. Dietary Spirulina (Arthrospira platensis) replacement enhances performance of juvenile Nile tilapia (Oreochromis niloticus). J Appl Phycol. 2016;28(2):1023-30.

11- Tafi AA, Meshkini S, Tukmechi A, Alishahi M, Noori F.

www.SID.ir

Archive of SID

Immunological and antistreptococcal effects of salvia officinalis and aloe vera extracts supplemented feed in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2018;24(3):365-70.
12- Promya J, Chitmanat C. The effects of Spirulina platensis and Cladophora algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African sharptooth catfish (Clarias gariepinus). Int J Agric Biol. 2011;13(1):77-82.
13- Kuang SY, Xiao WW, Feng L, Liu Y, Jiang J, Jiang WD, et al. Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian). Fish Shellfish Immunol. 2012;32(5):629-36.
14- Fortes-Silva R, Sánchez-Vázquez FJ, Martínez FJ. Effects of pretreating a plant-based diet with phytase on diet selection and nutrient utilization in European sea bass. Aquaculture. 2011;319(3-4):417-22.
15- AOAC. Official methods of analyses. Horwitz W, editor. 15th Edition. Arlington: Association of Official Analytical Chemists Inc; 1990.
16- Teimouri M, Amirkolaie AK, Yeganeh S. The effects of dietary supplement of Spirulina platensis on blood carotenoid concentration and fillet color stability in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. 2013;414-415:224-8.
17- Blaxhall PC, Daisley KW. Routine haematological methods for use with fish blood. J Fish Biol. 1973;5(6):771-81.
18- Cha SH, Lee JS, Song CB, Lee KJ, Jeon YJ. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, Paralichthys olivaceus. Aquaculture. 2008;278(1-4):110-8.
19- Adel M, Yeganeh S, Dadar M, Sakai M, Dawood MA. 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 Immunol. 2016;56:436-44.
20- Ellis AE. Serum antiprotease in fish. In: Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, editors. Techniques in fish immunology. Ikeja: SOS Publications; 1990. pp: 95-9.
21- Teimouri M, Amirkolaie AK, Yeganeh S. The effects of Spirulina platensis meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture. 2013;396-399:14-9.
22- Abdel-Tawwab M, Ahmad MH. Live Spirulina (Arthrospira platensis) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, Oreochromis niloticus (L.), challenged with pathogenic Aeromonas hydrophila. Aquac Res. 2009;40(9):1037-46.
23- Güroy B, Şahin İ, Mantoğlu S, Kayalı S. Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid Pseudotropheus acei. Aquac Int. 2012;20(5):869-78.
24- Mahmoud MM, El-Lamie MM, Kilany OE, Dessouki AA. Spirulina (Arthrospira platensis) supplementation improves growth performance, feed utilization, immune response, and relieves oxidative stress in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) challenged with Pseudomonas fluorescens. Fish Shellfish Immunol. 2018;72:291-300.
25- James R, Sampath K, Nagarajan R, Vellaisamy P, Manikandan MM. Effect of dietary Spirulina on reduction of copper toxicity and improvement of growth, blood parameters and phosphatases activities in carp, Cirrhinus mrigala (Hamilton, 1822). Indian J Exp Biol. 2009;47(9):754-9.
26- Chellehmal Dezfulnejad M, Jahangirizadeh M, Mesbah M, Javaheri Baboli M. The effect of feeding with spirulina (Spirulina platensis) on hematological parameters and immunity system in Pangasius hypophtalamus. J Anim Environ. 2012;4(2):25-34. [Persian]
27- Simanjuntak SB, Indarmawan I, Wibowo ES. Impact of fed containing different levels of diets supplementation spirulina platensis on growth, haematological, body composition and biochemical parameters, of Gurami (Osphronemus gouramy). Turk J Fish Aquat Sci. 2018;18(5):681-90.

www.SID.ir