بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هشتم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۸
۳۹-۵۰
http://japu.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/japu.2019.16110.1479

# تأثیر پودر جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر آنزیم‌های شاخص کبد و گوارشی و شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758)

***پریا اکبری[۱] و اسما سندک‌زهی[۲]**

[۱]استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران،
[۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۵

## چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر پودر جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) و کبدی (آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و شاخص‌های بیوشیمیایی (گلوکز، پروتئین تام، گلوبولین، آلبومین، کلسترول و تری‌گلیسرید) ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به‌مدت ٦٠ روز صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ٤٥٠ قطعه لارو کفال ماهی با میانگین وزنی g ۰/۷۲±۰/۰۲ در یک طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (با تعداد ۳۰ قطعه در هر تکرار) که شامل تیمار آزمایشی شاهد (بدون استفاده از پودر جلبک) و در تیمارهای آزمایشی ۲، ۳، ٤ و ۵ میزان استفاده از پودر جلبک به‌ترتیب ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم بر کیلوگرم غذا بود مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که در پایان آزمایش، اگرچه بالاترین فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز، پایین‌ترین فعالیت آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تیمار حاوی ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) اما از نظر فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، آمیلاز و لیپاز بین تیمار ٤ و ۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). کم‌ترین میزان کلسترول، گلوکز و تری‌گلیسرید و بیش‌ترین میزان گلوبولین، آلبومین و پروتئین در تیمار ٤ گزارش شد. در مجموع بر اساس نتایج این پژوهش، افزودن ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی ماهی کفال خاکستری اثر مثبتی بر فعالیت آنزیم‌هایی گوارشی و کبد و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کفال خاکستری دارد.

***واژه‌های کلیدی:*** آمینوترانسفرازها، آنزیم گوارشی، جلبک اسپیرولینا، شاخص‌های بیوشیمیایی، کفال ماهی

* مسئول مکاتبه: paria.akbary@gmail.com

## مقدمه

به گفته سانوهو (۲۰۰۵)، ماهی جایگزین عالی برای تامین پروتئین به‌جای گوشت قرمز است. گوشت ماهی حاوی تمام اسید آمینه‌های ضروری، مواد معدنی مانند ید، فسفر، پتاسیم، آهن، مس، ویتامین و D و A می‌باشد (سانوهو، ۲۰۰۵). بنابراین صنعت آبزی‌پروری برای عرضه پروتئین در سراسر جهان در حال توسعه است. در حال حاضر آبزی‌پروری در بخش تفریخگاه‌ها و بخش پرورش در معرض شیوع بیماری‌های مختلف قرار گرفته است (زینب و همکاران، ۲۰۱۵).

اسپیرولینا از دسته جلبک سبز- آبی رشته‌ای و از خانواده اوسیلاتوریاسه (Oscillatoriaceae) در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری یافت می‌شود و به‌عنوان یک منبع غذایی غنی از پروتئین، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب (گاما اسید لینولنیک)، رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کارتنوئیدها و ویتامین E و مواد معدنی مورد توجه قرار گرفته است (حسینی و همکاران، ۲۰۱۳)، همچنین می‌تواند به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود بر سیستم ایمنی تأثیرگذار باشد (زینب و همکاران، ۲۰۱۵). چندین مطالعه استفاده از اسپیرولینا به‌عنوان مکمل غذایی را بررسی نمودند (احمدزاده‌نیا و همکاران، ۲۰۱۱؛ موخرجی و همکاران، ۲۰۱۱). اسپیرولینا به‌دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال خود به‌خصوص فیکوسیانین دارای مزایای عمده در بهبود هیپرلیپیدی (آبدل دیم و همکاران، ۲۰۱۳)، دیابت (ما و همکاران، ۲۰۱٦)، التهاب (علی و همکاران، ۲۰۱۵)، سرطان (کرد و سماواتی، ۲۰۱۵)، بیماری‌های عروقی (ال- تانتاوی و ال- تانتاوی، ۲۰۱٦) و دفاع بدن در مقابل سموم (زینب و همکاران، ۲۰۱۵) است.

پژوهش‌های متعددی در ارتباط با اثر جلبک اسپیرولینا بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (ناندیشکا و همکاران، ۱۹۹۸؛ اشاری‌فرد و همکاران، ۲۰۱۸؛ خانی و همکاران، ۲۰۱۷، بر فعالیت آنزیم‌های کبدی و فراسنجه‌های بیوشیسمیایی در ماهی تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) (نوین و همکاران، ۲۰۱۷؛ شریف و همکاران، ۲۰۱۷؛ زینب و همکاران، ۲۰۱۷)، ماهی کاراس (*Carassius auratus*) (ایکسو و همکاران، ۲۰۱٤) و ماهی سی‌باس آسیایی (*Lates calcarifer*) (یونگ و همکاران، ۲۰۱۷) صورت گرفته است. به‌عنوان مثال نوین و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که استفاده از از سطوح ۰/۵ و ۱ درصد پور جلبک اسپرولینا در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل بعد از سمیت با دلتامترین منجر به کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با تیمار شاهد شد. خانی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از از سطوح مختلف جلبک کلرلا در جیره غذایی ماهی کوی (*Cyprinus carpio*) منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مقایسه با تیمار شاهد شد. یونگ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینا (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی هر چند باعث کاهش میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز خون شد.

مطالعات متعدد نشان داده است که شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی می‌تواند گویای وضعیت تغذیه، شرایط محیطی پرورش و استرس‌های وارده بر ماهیان باشد (لرمن و همکاران، ۲۰۰٤). سنجش پروتئین تام پلاسما به‌عنوان شاخص بالینی جهت بررسی سلامت و استرس در ماهیان شناخته شده است (ریچی، ۲۰۰۷) و آلبومین موجود در پلاسما نقش مهمی در حفاظت از فشار اسمزی، سیستم ایمنی بدن ماهی داشته و به‌عنوان خامل در انتقال ترکیبات

زیست‌فعال در خون شناخته شده است (نیا و آستین، ۲۰۰۹). همچنین گلوبولین نیز به سه صورت آلفا، بتا و گاما در پلاسما وجود دارد و گلوبولین آلفا و بتا به‌عنوان حامل و گاما نقش مهمی در سیستم ایمنی ماهی ایفا می‌کند (بنایی و همکاران، ۲۰۱۱).

اولین گام در تشخیص آسیب کبدی انجام آزمایش ساده خون است که حضور آنزیم‌های خاص را نشان می‌دهد. تحت شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبدی آسیب می‌بیند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند. حساس‌ترین و پرمصرف‌ترین آنزیم‌های کبدی آمینوترانسفرازها هستند. سنجش آنزیم‌های کبدی از جمله آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (ASP) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) برای بررسی وضعیت تغذیه‌ای، سیستم عروق و عملکرد کبد در ماهی‌ها از ارزش تشخیصی قابل‌توجهی برخوردار است (مدیبانا و همکاران، ۲۰۱۷).

با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با کاربرد پودر جلبک اسپیرولینا به‌صورت توام به‌عنوان مکمل غذایی در ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) صورت نگرفته است. از این‌رو با توجه به این‌که ماهی کفال خاکستری دارای ارزش اقتصادی قابل‌توجهی است، بنابراین در این مطالعه به بررسی اثر جلبک اسپیرولینا بر روی فعالیت آنزیم‌های کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی لارو کفال ماهی خاکستری پرداخته شده است.

## مواد و روش‌ها

**ماهی و شرایط پرورش:** در بهمن‌ماه ۱۳۹۳، ٤٥٠ قطعه لارو ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی ۰/۷۲±۰/۰۱ گرم و میانگین طولی ٤/٤۰±۰/۸۱ سانتی‌متر پس از صید از اسکله رمین واقع در ۱۵ کیلومتری چابهار، به مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار انتقال داده شدند. به‌منظور سازگاری، لاروها به‌مدت ۲ هفته در سه مخزن ۳۰۰ لیتری با تراکم ۱۵۰ قطعه توزیع شدند. و با غذای تجاری (تهیه شده از شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء با قطر ۱/۸-۱/٦ میلی‌متر با ۵۰ درصد پروتئین خام، ۱۳/۵ درصد چربی خام، ۱/۷ درصد فیبر خام و ۱۰ درصد رطوبت) تغذیه شدند. پس از سازگاری، لاروها به‌صورت تصادفی در ۱۵ مخزن پلاستیکی ٦۰ لیتری، با تراکم ۳۰ قطعه لارو توزیع شدند. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی در طول دوره آزمایش به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شدند به‌طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب ۲۸/۲±۰/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۰۱±۰/۸۷ میلی‌گرم بر لیتر و pH آب ۷/۸±۰/٤ بود. در طی دوره روشنایی به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایش عبارت بود از تیمار شاهد که تنها با غذای کنسانتره، تیمار ۲، ۳، ٤ و ۵ به‌ترتیب حاوی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم پودر جلبک اسپیرولینا در هر کیلوگرم غذا بودند که هر تیمار دارای سه تکرار و در طی یک دوره ٦۰ روزه مورد آزمایش قرار گرفت.

**تهیه و آماده‌سازی جیره و غذادهی به ماهیان:** پس از توزین غذای کنسانتره برای طول دوره آزمایش، ابتدا آن را به کمک میکسر پودر کرده سپس پودر جلبک اسپیرولینا تهیه شده از شرکت نانوشیمی یاخته تهران را به آن با اضافه و با درصد مشخصی آب مقطر (۵۰۰ سی‌سی به‌ازای هر کیلوگرم) به حالت خمیر نرم و شکل‌پذیر درآمد. سپس به‌وسیله چرخ گوشت با قطر چشمه ۰/۵ میلی‌متر به رشته‌هایی تبدیل شد و در نهایت در سایه قرار گرفت تا با جریان هوا خشک شود و جیره تهیه شده تا زمان استفاده در فریزر در دمای $^{o}C$ ۲۰- نگهداری گردید (شریف و همکاران، ۲۰۱۲) غذای آماده شده به‌میزان ۷ درصد وزن توده

زنده در دو نوبت صبح و عصر به ماهیان به‌مدت ٦٠ روز در اختیار ماهیان قرار گرفت

**سنجش آنزیم‌های کبد و گوارش:** جهت سنجش آنزیم‌های کبد و گوارشی، از ماهیان در پایان دوره آزمایش (روز ٦٠) نمونه‌گیری صورت گرفت. از هر تکرار ۳ قطعه ماهی را به‌صورت تصادفی انتخاب نموده و با استفاده از پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بیهوش کرده سپس در مجاورت یخ به‌منظور جلوگیری از تغییر فعالیت آنزیمی، کلبدشکافی با دقت صورت گرفت و روده و کبد آن‌ها جدا شد و روده در محور طولی با دقت بریده شد و محتویات داخل آن تخلیه و سپس با آب مقطر به‌خوبی شسته شد (چیت‌ساز و همکاران، ۲۰۱۸). نمونه‌های کبد و روده بلافاصله در شرایط انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سپس کبد هر ماهی با محلول بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، KCL ۱۰۰ میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار با PH: ۷/٤ به نسبت وزنی به حجمی ۱۰ برابر (۱/۱۰) و روده هر ماهی با ۱۰۰ میلی‌مولار بافر تریس- اسید کلریدریک، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۱ درصد تریتون X-۱۰۰ به نسبت ۹:۱ در pH ۷/۸ (چیت‌ساز و همکاران، ۲۰۱۸) توسط یک دستگاه یکنواخت‌کننده (هموژنایزر) (مدل UP200S، شرکت هیلشر لمان) به خوبی مخلوط و یکنواخت شدند. روده با سرعت ۲۵۰۰۰ دور در هر دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه و کبد با سرعت ۱۰۰۰۰ ذور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (گاولیکا و همکاران، ۲۰۰۰). در پایان، محلول رویی در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری (با سه تکرار برای هر تیمار) به‌منظور سنجش آنزیمی جمع‌آوری شد. از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR600، ساخت هاچ آمریکا) برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش ناتالیلا و همکاران (۲۰۰٤) در طول موج ٥٤٠ نانومتر، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز به روش کینگ (۱۹۷۲) طول موج ۲۸۰ نانومتر و میزان فعالیت آنزیم لیپاز به روش فورنی و همکاران (۲۰۰۵) در طول موج ٤٨٠ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شدند. فعالیت آنزیم‌های اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز توسط دستگاه اتوآتالایزر (مدل CA-400، شرکت فورنو ژاپن) در آزمایشگاه تشخیص طبی با شیوه‌های خاص هر آنزیم انجام گرفت (آلامین، ۲۰۰٦).

**سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی:** در پایان دوره آزمایش، برای سنجش شاخص‌های بیوشیمایی، ۲ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی برداشته شد و به‌طور مجزا با سرم فیزیولوژی سه مرتبه شستشو داده شدند و با نسبت ۱:۱ (وزنی به حجمی) با سرم فیزیولوژی در میکسر مخلوط و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سوپرناتنت هر نمونه در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری و تا زمان آنالیز نمونه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (هنیف و همکاران، ۲۰۰٤). سنجش تری‌گلیسیرید توسط آنزیم لیپاز، گلیسرول کیناز و پراکسیداز (برتیس و اشوود، ۱۹۹٤) در طول موج ٥۱۰ نانومتر، پروتئین تام به روش بیوره (وتون، ۱۹٦٤) در طول موج ٥٤٠ نانومتر، آلبومین به روش بروموکرزول سبز (وتون، ۱۹٦٤) در طول موج ٦۳۰ نانومتر و از کسر پروتئین تام و آلبومین گلوبولین محاسبه شد (کومار و همکاران، ۲۰۰۵). نسبت

آلبومین به گلوبولین از تقسیم آلبومین بر گلوبولین (ساهو و همکاران، ۱۹۹۹)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (برتیس و اشوود، ۱۹۹٤) در طول موج ۵۱۰ نانومتر وگلوکز به روش واکنش پراکسیداز- اکسیداز گلوگز (ترینذر، ۱۹٦۹) و در طول موج ۵۰۰ نانومتر محاسبه شد

**آنالیز آماری:** تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی ماهی با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کالموگراف اسمیرنوف و با تست لون برابری واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 استفاده گردید.

## نتایج

**فعالیت آنزیم‌های کبدی:** تغییرات میانگین (± خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز کبد ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ داده شده است. میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای حاوی پودر جلبک اسپیرولینا و تیمار شاهد نشان نداد (P>۰/۰۵). کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز بین تیمار حاوی ۱۵ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). در حالی‌که از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز بین تیمارهای ۲، ۳ و ۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

**جدول ۱- تغییرات میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ٦۰).**

| فعالیت آنزیم<br>واحد بر میلی‌لیتر | تیمار | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ۵ |
| آسپارتات آمینو ترانسفراز (ASP) | ۱۱٦/۳۳±۱۵/۲۷$^{a}$ | ۱۱٦±۱۰$^{a}$ | ۱۱۵/٦۵±۲۰/۰۸$^{a}$ | ۱۱٦±۹/٦۵$^{a}$ | ۱۱۷±۱۰/۰۵$^{a}$ |
| آلانین آمینوترانسفراز (ALT) | ۵۱/۳۲±۱$^{a}$ | ۵۰±۸/۷۵$^{ab}$ | ۵۰±۱/۳۵$^{ab}$ | ٤۸/۳۳±٦/۵۲$^{b}$ | ٤۸/۵٦±٤/۱۵$^{ab}$ |
| آلکالین فسفاتاز (ALP) | ۸۸/۳۳±۷/۳۲$^{a}$ | ۸٦/۲۳±۱/۵۷$^{ab}$ | ۸٦/٦٤±۳/۵۵$^{bc}$ | ۸۲/۳۳±۲/۰۸$^{c}$ | ۸۵/٦٦±۲/٤۷$^{b}$ |

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

میانگین داده‌ها بر اساس واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. تیمار ۱ تا ۵ به‌ترتیب حاوی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا است.

**فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی:** نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز، آمیلاز و پروتئاز روده ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با رژیم‌های غذایی مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ٦۰) در جدول ۲ آورده شده است. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز و آمیلاز در تیمار ٤ و ۵ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). و بیش‌ترین فعالیت آنزیم پروتئاز در تیمار ٤ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵).

**جدول ۲- تغییرات میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ٦٠).**

| فعالیت آنزیم | تیمار | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| واحد بر میلی‌گرم پروتئین | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ٥ |
| آمیلاز | ۹۸/۲۳/٦۷±۲/۰۸$^{d}$ | ۳۳٤/٦۷±۱/۵۲$^{c}$ | ۳٤۹±۱۲/۰۸$^{b}$ | ۳۸٤/۵۷±۱۰/۸۸$^{ab}$ | ٤۰٤/٦۷±۱۱/۲۳$^{a}$ |
| لیپاز | ۳۲±۲$^{d}$ | ۳٦±۱$^{c}$ | ٤۱/۲۳±۱/۵۲$^{b}$ | ٤۵/۳۳±۱/۱۵$^{a}$ | ٤۲/۵٦±۱/۵۲$^{ab}$ |
| پروتئاز | ۱۲۲/۲۳±۱/۱۵$^{e}$ | ۲۸۷/٦۷±۱۱/۸۸$^{d}$ | ۱۲٦±۱$^{b}$ | ۱۳۷±۱/۵۲$^{a}$ | ۱۲۸/٦٦±۲/۰۸$^{c}$ |

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

میانگین داده‌ها بر اساس واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. تیمار ۱ تا ۵ به‌ترتیب حاوی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا است.

**شاخص‌های بیوشیمیایی:** میزان شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۳ آورده شده است. اضافه نمودن سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینا منجر به کاهش معنی‌دار میزان گلوکز و کلسترول در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسیرید در تیمار حاوی ۱۵ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین، آلبومین و گلوبولین نیز در تیمار ٤ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵).

**جدول ۳- تغییرات میانگین (میانگین ± خطای معیار) شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش.**

| | تیمار | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | ٤ | ٥ |
| پروتئین تام (گرم بر دسی لیتر) | ۳/۷۹±۰/۱۸$^{c}$ | ۳/۸٤±۰/۲٤$^{c}$ | ۳/۸۸±۰/۳٦$^{c}$ | ٤/٤۳±۰/۲۷$^{a}$ | ٤/۱۱±۰/۱٦$^{b}$ |
| گلوکز (میلی‌گرم بر دسی لیتر) | ۵/۷۵±۰/۳۷$^{a}$ | ۵/۲٦±۰/۵۵$^{b}$ | ٤/۵۳±۰/٤۳$^{c}$ | ۳/۷۱±۰/۳$^{e}$ | ٤/۱±۰/۲۸$^{d}$ |
| کلسترول(میلی‌گرم بر دسی لیتر) | ۲۸۳/۳۳±۱۸/۹$^{e}$ | ۲۵۷/۳۳±۱۱/٦٦$^{c}$ | ۲۵۰/٤۵±۱۲/۵۷$^{d}$ | ۲۸۸/۳۳±۱۰/٤۳$^{e}$ | ۲٦٦/۱۳±۱۰/۲$^{b}$ |
| تری گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی لیتر) | ۱۲٦/۸۳±۱/۷٦$^{a}$ | ۱۲۵/۱۳±۲/۰۸$^{a}$ | ۱۱۷±۸/۰۲$^{b}$ | ۱۰۵±۵/۱۳$^{c}$ | ۱۱٤±۵/۲۱$^{b}$ |
| آلبومین (گرم بر دسی لیتر) | ۲/۲۰±۰/۱$^{d}$ | ۲/۵٦±۰/۱۵$^{c}$ | ۲/۸۰±۱$^{b}$ | ۳/۱٦±۰/۱۱$^{a}$ | ۲/٦۳±۰/۵۰$^{bc}$ |
| گلوبولین (گرم بر دسی لیتر) | ۱/٦٦±۰/۱۸$^{d}$ | ۱/۸٦±۰/۱۱$^{bc}$ | ۱/۹۳±۰/٤۳$^{b}$ | ۲/۱۳±۰/۲۲$^{a}$ | ۱/۸۰±۰/۳۵$^{c}$ |

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵).

میانگین داده‌ها بر اساس واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. تیمار ۱ تا ۵ به‌ترتیب حاوی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا است.

## بحث و نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین امینوترانسفراز شاخص‌های مهمی به‌منظور تشخیص وضعیت عمومی تغذیه و عملکرد کبد می‌باشند (اسچاپرکلوس و همکاران، ۱۹۹۲). تغییرات فعالیت آنزیم‌های شاخص عملکرد کبد در بین تیمارهای مختلف در این پژوهش، نشان داد که در پایان دوره

آزمایش، اضافه نمودن مقادیر مختلف پودر جلبک اسپیرولینا تفاوت معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد ننمود. کم‌ترین میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوفسفاتاز از نظر عددی مربوط به تیمار حاوی ۱۵ گرم پودر جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد. می‌توان گفت اگرچه جلبک‌های غذایی به‌عنوان مکمل غذایی می‌توانند منجر به بهبود رشد و عملکرد گوارشی خوراک گردند هم‌چنین مقدار کمی از جلبک در رژیم غذایی نیز می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی منجر به بهبود وضعیت فیزیولوژیکی، مقاومت ماهی در برابر بیماری و کیفیت لاشه گردد (مصطفی و ناکاگاوا، ۱۹۹۵؛ شریف و همکاران، ۲۰۱۲). شریف و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف جلبک اسپیرولینا (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم بر کیلوگرم غذا) در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل تفاوت معنی‌داری از نظر فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در مقایسه با شاهد ایجاد نکرد که از نظر فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز با پژوهش حاضر همخوانی داشت. زینب و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که استفاده از غلظت ٤ و ٦ گرم بر کیلوگرم جلبک اسپرولینا در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز در مقایسه با تیمار شاهد شد که از نظر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز با پژوهش حاضر همخوانی داشت. نوین و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که استفاده از از سطوح ۰/۵ و ۱ درصد پور جلبک اسپرولینا در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل بعد از سمیت با دلتامترین منجر به کاهش معنی‌دار میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با تیمار شاهد شد. این موضوع نشان می‌دهد که وجود ترکیبات زیست‌فعال موجود در جلبک اسپیرولینا مانند فیکوسیانین، بتاکاروتن، مواد معدنی، ویتامین‌ها، کربوهیدارات‌ها، لیپیدها و پروتئین می‌توانند نقش مهمی در حفاظت کبد در برابر داروها و مواد شیمیایی بازی کنند (یوپاسانی و بلارامن، ۲۰۰۳). یونگ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند جایگزینی ۳۰ درصد پودر ماهی با جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی سی‌باس آسیایی منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز که شاخص آسیب کبدی است، شد این موضوع نشان می‌دهد که تعیین سطح استفاده بهینه از جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهیان به‌منظور بهبود سلامت و ایمنی ماهیان دارای اهمیت است در این پژوهش، بهترین سطح بهینه به‌منظور بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی و سلامت این بافت، ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا در نظر گرفته شد.

بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخص قابل اعتمادی است که برای بررسی فرآیند گوارشی و وضعیت تغذیه ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (خانی و همکاران، ۲۰۱۷). خانی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از از سطوح مختلف جلبک کلرلا در جیره غذایی ماهی کوی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت می‌توان گفت وجود ترکیبات فعال موجود در جلبک‌های میکروسکوپی مانند پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیبرها، مواد جاذب و دیگر عوامل رشد ناشناخته می‌توانند منجر به بهبود عملکرد تغذیه و هضم در ماهی شوند (خانی و همکاران، ۲۰۱۷).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینا در جیره

غذایی منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در تیمار حاوی ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و تیمار حاوی ۱۵ و ۲۰ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و لیپاز را نشان داده ولی تفاوت معنی‌داری را با یکدیگر نداشتند. موکش (۲۰۱۵) نشان دادند که جایگزینی ۵۰ درصد پور ماهی با جلبک کلرلا (*Chlorella vulgaris*) در جیره غذایی میگوی دراز آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در مقایسه با تیمار شاهد شد همچنین ناندشکا و همکاران (۱۹۹۸) و افشاری‌فرد و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که استفاده از پودر جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی کپور معمولی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش هم‌خوانی داشتند. اکبری و ملک رییسی (۲۰۱۸) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف جلبک کلرلا منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز در مقایسه با تیمار شاهد شددر حالی‌که بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در سطح ۵ گرم بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری مشاهده شد همچنین بی (۲۰۱۶) و افشاری‌فرد و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که استفاده از جلبک اسپیرولینا منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مقایسه با تیمار شاهد در ماهی کپور معمولی شد که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی داشتند. می‌توان گفت احتمالاً جلبک اسپیرولینا به‌عنوان مکمل غذایی می‌تواند منجر به تحریک سنتز آنزیم‌ها یا شرایطی برای کارایی سریع‌تر آنزیم‌ها شود (بی، ۲۰۱۶). در نهایت می‌توان گفت که مصرف میکروجلبک‌ها در جیره غذایی ماهی می‌تواند موجب تحریک رشد میکروب‌های مفید در لوله گوارش و تولید آنزیم‌های درون ریز شود و منجر به بهبود قابلیت هضم پروتئین، چربی و پروتئین و فیزیولوژیکی ماهی گردد (رادهاکریشنن و همکاران، ۲۰۱۶).

نتایج حاضر از این پژوهش نشان داد که میزان پروتئین تام در تیمارهای حاوی ۱۵ و ۲۰ گرم جلبک اسپیرولینا افزایش معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد همچنین افزودن جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی منجر به تفاوت معنی‌دار میزان آلبومین و گلوبولین در مقایسه با تیمار شاهد شد و بیش‌ترین میزان آلبومین و گلوبولین در تیمار حاوی ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. خانی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از ۵ درصد جلبک اسپیرولینا منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین تام و آلبومین در مقایسه با تیمار شاهد در ماهی کوی شد که با پژوهش حاضر همخوانی داشت می‌توان گفت که استفاده از جلبک در جیره غذایی با افزایش سطوح پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین می‌تواند منجر به بهبود سیستم ایمنی ماهی گردد (یو و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین از آن‌جایی‌که آلبومین سنتز شده در کبد به‌منظور انتقال پروتئین به‌کار می‌رود بنابراین افزایش سطح پروتئین تام سرم نشان‌دهنده بهبود عملکرد کبد نیز می‌تواند باشد (خانی و همکاران، ۲۰۱۷). نوین و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که استفاده از ۱ درصد جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین تام در مقایسه با تیمار شاهد شد همچنین استفاده از ۰/۵ و ۱ درصد جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل در

معرض سمیت دلتامترین منجر به تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی گردید. می‌توان گفت وجود ترکیبات زیست‌فعال موجود در جلبک به‌ویژه فیکوسیانین‌ها و پلی‌ساکاریدها که خاصیت آنتی‌اکسیدان داشته منجر به بهبود سیستم ایمنی ماهی می‌گردد (نوین و همکاران، ۲۰۱٤).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کم‌ترین میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز در تیمار حاوی ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. خانی و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از ۵ درصد جلبک کلرلا در جیره غذایی ماهی کوی منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول در مقایسه با تیمار شاهد شد ولی بر روی میزان گلوکز خون تأثیر معنی‌داری نداشت که با نتایج این پژوهش از نظر کلسترول همخوانی داشت می‌توان گفت که استفاده از جلبک اسپیرولینا در این پژوهش، منجر به بهبود متابولیسم قند و چربی در ماهی شده است. می‌توان گفت که خاصیت هیپوگلیسمی و هیپولیپیدی اسپیرولینا می‌تواند احتمالاً به‌دلیل وجود ترکیبات زیست‌فعال از جمله فیکوسیانین و بتاکاروتن باشد که منجر به کاهش جذب روده‌ای کلسترول و کاهش گلوکز خون می‌شود و مصرف گلوکز در بافت‌ها و عضله را افزایش می‌دهد (الباز و همکاران، ۲۰۱۳). اثرات آنتی‌اکسیدانی جلبک اسپیرولینا نیز ممکن است به‌دلیل حضور پروتئین بالا، آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب، مواد معدنی، ویتامین‌ها، کاروتن‌ها و دیگر ترکیبات آنتی‌اکسیدان دیگر در این جلبک باشد که منجر به بهبود عملکرد رشد و سلامت می‌گردد (آبدال دیم، ۲۰۱٤). ایکسو و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که استفاده از پور جلبک کلرلا در جیره غذایی ماهی کاراس منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول خون در مقایسه با تیمار شاهد شد که با پژوهش حاضر همخوانی داشت. این موضوع نشان می‌دهد وجود ترکیبات زیست‌فعال موجود در جلبک اسپیرولینا می‌تواند نقش مهمی در حمایت سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد از پراکسیداسیون چربی جلوگیری نماید (قاضی و همکاران، ۲۰۱۲). یونگ و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف پودر جلبک اسپیرولینا (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی هر چند باعث کاهش میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز خون شد اما این کاهش در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار نبود که با پژوهش حاضر همخوانی نداشت که دلیل عدم همخوانی را می‌توان مربوط به شرایط محیطی، گونه ماهی، میزان استفاده از پودر جلبک اسپیرولینا دانست.

در کل، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از غلظت بهینه جلبک دریایی در جیره غذایی هر گونه ماهی دارای اهمیت است زیرا افزایش فیبر ناشی از غلظت بالای جلبک در جیره غذایی، سرعت عبور مواد غذایی از لوله گوارش سریع شده و کاهش زمان دسترسی مواد غذایی برای هضم، تأثیر منفی در فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌گذارد (البورا و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین وجود ترکیبات ضدتغذیه‌ای موجود در جلبک‌ها مانند لکتین و مهارکننده‌های پروتئناز در هضم و کارایی مصرف غذا نیز می‌توانند تأثیر منفی داشته باشند (فرانسی و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین پژوهش در ارتباط به رسیدن به غلظت بهینه برای انواع گونه‌های جلبک دریایی در رژیم غذایی هر گونه ماهی ضروری و توصیه می‌گردد. همچنین با توجه به نیاز روزافزون کشور به استفاده از پروتئین با کیفیت مطلوب و همچنین کمبود منابع آب و مساحت مورد نیاز برای پرورش آبزیان و استفاده بهینه از امکانات

موجود می‌توان این چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از ۱۵ گرم جلبک اسپیرولینا بر کیلوگرم غذا منجر به بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارشی و کبد، هیپولیپیدمی، هیپوگلیسمی و تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی (پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین) در ماهی کفال خاکستری شد. بنابراین استفاده از پودر جلبک اسپیرولینا به‌عنوان مکمل غذایی در سیستم پرورش ماهی کفال خاکستری به‌منظور بهبود عملکرد فعالیت آنزیم‌های شاخص کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی توصیه می‌گردد.

## سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات چابهار و کارشناس محترم آزمایشگاه پاتوبیولوژی صدف چابهار سپاسگزاری می‌نمائیم.

## منابع


1. Abdel-Daim, M.M., Abuzead, S.M., and Halawa, S.M. 2013. Protective role of *Spirulina platensis* against acute deltamethrin-induced toxicity in rats. PLoS One, 8: 9. 7288-72991.
2. Abdel-Daim, M., El-Baily, B.E., Rahman, H.G., Radi, A.M., Hefny, H.A., and Hassan, A.M. 2016. Antagonistic effects of *Spirulina platensis* against sub- acute deltamethrin toxicity in mice; biochemical and histopathological studies. Biomedical Pharmacotherapy. 77: 79-85.
3. Ahmadzade-Nia, Y., Adl, K., Hezave, S., Hejazi, M., Hassanpour, S., Chaichisemsari, M., and Riyazi, S. 2011. Effect of replacing different levels of Soybean meal with Spirulina on performance in Rainbow Trout. Annual Biological Research, 2: 3. 374-379.
4. Akbary, P., and Malek Raeisi, E. 2018. Optimum dietary level of *Chlorella vulgaris* powder as a feed additive for some blood parameters and digestive enzymatic activities of grey mullet, *Mugil cephalus*. Oceanograph. Fish Open Access J. 7: 5. 1-5.
5. Ali, E.A., Barakat, B.M., and Hassan, R. 2015. Antioxidant and angiostatic effect of *Spirulina platensis* suspension in complete Freund's adjuvant- induced arthritis in rats. PLoS One, 10: 4. 0121448-0121523.
6. Ansarifard, F., Rajabi Islami, H., Shamsaie Mehrjan, M., and Soltani, M. 2018. Effects of Arthrospira platensis on growth, skin color and digestive enzymes of Koi, *Cyprinus carpio*. Iran. J. Fish. Sci. 17: 2. 381-393.
7. Bai, S.D. 2016. Effect of dietary supplementary feed of spirulina on digestive enzymes in fingerlings of common carp (*Cyprinus carpio*, L. 1758). Europ. J. Pharmaceut. Med. Res. 3: 8. 421-426.
8. Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R. and Rafei, G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37: 887-896.
9. El-Baz, F., Aly, H.F., El-Sayed, A.B., and Mohamad, A.A. 2013. Role of *Spirulina platensis* in the control of glycemia in DM2 rats. Int. J. Sci. Engin. Res. 4: 1731-1740.
10. El-Tantawy, W.H., and El-Tantawy, W.H. 2016. Antioxidant effects of Spirulina supplement against lead acetate-induced hepatic injury in rats. J. Traditional and Complementary Medicine, 6: 4. 327-331.
11. Francis, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture. 199: 197-227.
12. Ghazi, S., Habibiyan, M., Moeini, M.M., and Abdolmohammadi, A.R. 2012. Effects of dietary selenium, vitamins E, and their combonition on growth, serum metabolites and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress. Biological Elementary Research, 148: 322-330.

13.Hoseini, S.M., Khosravi-Darani, K., and Mozafari, M.R. 2013. Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 13: 8. 1231-1237.
14.Khani, M., Soltani, M., Shamsaie Mehrjan, M., Foroudi, F., and Ghaeni, M. 2017. The effects of *Chlorella vulgaris* supplementation on growth performance, blood characteristics and digestive enzymes in Koi (*Cyprinus carpio*). Iran. J. Fish. Sci. 16: 2. 832-843.
15.Kurd, F., and Samavati, V. 2015. Water soluble polysaccharides from pirulinaplatensis: extraction and in vitro anti-cancer activity. Inter. J. Biol. Macromol. 74: 498-506.
16.Lermen, C.L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V.P., Gioda, C.R., Schetinger, M.R.C., Baldisserotto, B., Moraes, G., and Morsch, V.M. 2004. Effect of different temperatureregimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. Aquaculture. 239: 497-507.
17.Ma, Q.Y., Fang, M., Zheng, J.H., Ren, D.F., and Lu, J. 2016. Optimised extraction of beta-carotene from *Spirulina platensis* and hypoglycaemic effect in streptozotocin-induced diabetic mice. J. Sci. Food Agric. 96: 5. 1783-1789.
18.Madibana, M.J., Mlambo, V., Lewis, B., and Fouché, C. 2017. Effect of graded levels of dietary seaweed (Ulvasp.) on grow hematological and serum biochemical parameters in dusky *Argyrosomus japonicus*, sciaenidae. Egypt. J. Aqua. Res. 107: 1-5.
19.Mukherjee, S., Parial, D., Khatoon, N., Chaudhuri, A., Senroy, S., Homechaudhuri, S., and Pal, R. 2011. Effect of Formulated Algal Diet on growth performance of *Labeo rohita* Hamilton. J. Algal. Biom. Utilization. 2: 4. 1-9.
20.Mukesh, M.A. 2015. Effects of diet substitution on growth performance, energy consumption and digestive enzymes in *Macrobrachium rosenbergii* postlarvae. Advances in Aquaculture and Fisheries Management, 3: 5. 241-248.
21.Mustafa, M.D.G., and Nakagawa, H. 1995. A review: dietary benefits of algae as an additive in fish feed. Israeli J. Aquacul. - Bamidgeh, 47: 155-162.
22.Nandeesha, M.C., Gangadhar, B., Varghese, T.J., and Keshavanath, P. 1998. Effect of feeding *Spirulina platensis* on the growth, proximate composition and organoleptic quality of common carp, *Cyprinus carpio* L. Aquaculture Research, 29: 305-312.
23.Nya, E.J., and Austin, B. 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Dis. 32: 971-977.
24.Oliveira, M.N., Ponte-Freitas, A.L., Urano-Carvalho, A.F., Taveres-Sampaio, T.M., Farias, D.F., Alves-Teixera, D.I., Gouveia, S.T., Gomes-Pereira, J., and Castro-Catanho de Sena, M.M. 2009. Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceara. Brazilian. Food Chemistry, 11: 254-259.
25.Radhakrishnan, S., Ibrahim, E.H., Belal, C., Seenivasan, T., Muralisankarb, P., and Bhavan, B. 2016. Impact of fishmeal replacement with *Arthrospira platensis* on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture Reports, 3: 35-44.
26.Riche, M. 2007. Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. Aquaculture. 264: 279-284.
27.Sandhu, G.S. 2005. A Textbook of Fish and Fisheries, Dominant Publishers and Distributors, New Delhi, India. Pp: 39-45.
28.Schaperclaus, W., Kulow, H., and schreckenbach, K. 1992. Fish diseases. A.A. Balkema, Rotterdam, the Netherlands.
29.Sherif, A.H., EL-Sheekh, M.M., and Abdel-Halim, S.S. 2012. Effect of Spirulina algae on the health status and growth performance of Nile Tilapia

(*Oreochromis niloticus*) cultured at Kafr El-Sheikh governorate. Egypt J. Basic Appl. Physiol. 11: 1. 57-68.

30. Upasani, C.D., and Balaraman, R. 2003. Protective effect of Spirulina on leadinduced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. Phototherapy Research, 17: 330-334.
31. Xu, W., Gao, Z., Qi, Z., Qiu, M., Peng, J., and Shao, R. 2014. Effect of dietary chlorella on the growth performance and physiological parameters of Gibel carp *Carassius auratus* gibelio. Turk. J. Fish. Aqua. Sci. 14: 53-57.
32. Yong, T.C., Galaz, G.B., and Shapawi, R. 2017. Effects of dietary inclusion of Spirulina meal on growth and hematological parameters of cultured Asian sea bass, *Lates calcarifer*. Borneo J. Mar. Sci. Aquacul. 1: 1-6.
33. Yu, J., Starr, D.A., Wu, X., Parkhurst, S.M., Zhuang, Y., Xu, R., and Han, M. 2006. The KASH domain protein MSP-300 plays an essential role in nuclear anchoring during Drosophila oogenesis. Developmental Biology, 289: 2. 336-345.
34. Zeinab, A.K., Aly, M.S., Faiza, A.K., and Fatma, E. M.2015. Effect of *Spirulina platensisand Lactobacillus rhamnosuson* growth and biochemical performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Inter. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 4: 4. 747-763.