



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره دوم، تابستان ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

مقایسه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی کپور معمولی *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758

تغذیه‌شده با سطوح مجزا و توام مولتی آنزیم‌های تجاری

رضا طاعتی^{۱*}، مریم صالحی^۲

^۱استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تالش، تالش، ایران

^۲دانش‌آموخته کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۳/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۱۰

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، مقایسه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی کپور معمولی (*C. carpio*) تغذیه شده با سطوح مجزا و توام مولتی آنزیم‌های تجاری است. تعداد ۹۶ قطعه ماهی کپور معمولی با وزن $2/56 \pm 13/06$ گرم و طول متوسط $9/25 \pm 1/34$ سانتی‌متر در شش تیمار شامل شاهد (بدون مکمل آنزیمی)، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم مکمل آنزیمی کومبو، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم مکمل آنزیمی ناتوزایم و تیمار ترکیبی ۱۰۰۰ میلی‌گرم کومبو + ۱۰۰۰ میلی‌گرم ناتوزایم به ۱۲ وان با تراکم ۸ عدد توزیع شدند. در پایان ۸ هفته دوره تغذیه، نمونه‌برداری از خون جهت سنجش پارامترهای خونی انجام شد. نتایج نشان داد که در فاکتورهای وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی اختلافات معنی‌دار آماری بین تیمارها مشاهده گردید. اکثر تیمارهای آزمایشی افزایش را در تعداد گلبول‌های قرمز، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید (به استثنای ناتوزایم ۱۵۰۰ میلی‌گرم) و تعداد لنفوسیت نسبت به شاهد داشتند. بیشترین تعداد لنفوسیت در ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم رویت گردید که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان تری-گلیسیرید در تیمار ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم ثبت شد که با تیمارهای شاهد و ترکیبی اختلاف معنی‌دار آماری داشت. تفاوت‌هایی بین سطوح آنزیم‌های کبدی در تیمارها وجود داشت. بیشترین مقادیر آنزیم آمیلاز در کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم و آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز در کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد. برطبق نتایج، مولتی آنزیم‌های ناتوزایم و کومبو می‌توانند در بهبود شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی بچه‌ماهیان کپور (*C. carpio*) مؤثر باشند.

واژه‌های کلیدی: *C. carpio*، مولتی آنزیم، کومبو، ناتوزایم، خون

*نویسنده مسئول: r.taati@gmail.com

مقدمه

وظیفه دستگاه گوارش تبدیل غذای خورده شده از طریق تجزیه فیزیکی و بیوشیمیایی به مولکول‌های تشکیل دهنده و جذب آن‌ها به صورت محلول از دیواره لوله گوارش به خون است. هضم بیشتر دارای ماهیت شیمیایی بوده و به کمک آنزیم‌های تنظیم‌کننده یا اسیدها و یا هر دو صورت می‌گیرد. آنزیم‌ها پروتئینی بوده و با اتصال به سوبسترا سبب تسریع یا تسهیل واکنش‌ها و با تشکیل محصول سبب پایدار شدن واکنش می‌شوند. استفاده از آنزیم‌ها به عنوان مکمل‌های غذایی به‌طور گسترده‌ای در سال‌های اخیر توسط سازندگان غذا برای بهبود عملکرد موجودات استفاده شده است (Guillaume *et al.*, 2001). به جهت محدود بودن منابع پروتئین حیوانی استفاده از منابع پروتئین گیاهی در غذای ماهیان اجتناب‌ناپذیر است (Krogdahl *et al.*, 1994). عوامل ضد مغذی موجود در اجزای گیاهی جیره‌های غذایی می‌توانند در هضم طبیعی اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش هضم در ماهیان گردند. حتی برخی از این مواد بوسیله آنزیم‌های خود موجود هم قابل هضم نیستند (Castillo and Gatlin, 2015). به‌منظور تجزیه مواد ضد مغذی موجود در خوراک، افزایش قابلیت دسترسی به نشاسته، پروتئین‌ها و مواد معدنی، شکستن پیوندهای شیمیایی در غذا که قابل تجزیه بوسیله آنزیم‌های خود جانور نیست و کمک به آنزیم‌های داخلی در لاروها و بچه‌ماهیان استفاده از مولتی آنزیم‌های خارجی در جیره غذایی ماهیان پرورشی ضروری به‌نظر می‌رسد (Castillo and Gatlin, 2015; Guillaume *et al.*, 2001). مولتی آنزیم‌های تجاری ترکیبی از چندین نوع آنزیم می‌باشند که بر انواع مختلفی از اجزای تشکیل دهنده مواد غذایی مؤثر می‌باشند. در تحقیق حاضر، مولتی آنزیم‌های کومبو شامل (سلولاز، آمیلاز، پروتئاز قارچی، پروتئاز خنثی، پروتئاز قلیایی، زایلاناز، بتاگلوکاناز، همی سلولاز و لیپاز) و ناتوزایم حاوی (سلولاز، آلفا-آمیلاز، زایلاناز، بتاگلوکاناز، پکتیناز، فیتاز، پروتئاز اسیدی، پروتئاز قلیایی و لیپاز) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. میزان آنزیم‌های مشترک در هر دو مولتی آنزیم متفاوت است.

تغییرات شاخص‌های خونی در زمان‌های مختلف در ماهیان به اثبات رسیده است. این شاخص‌ها می‌توانند تحت تأثیر نوسانات دمایی، فصل، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، تفاوت‌های ژنتیکی، سن، رسیدگی جنسی، جنسیت و غیره باشند (Knowles *et al.*, 2006). مطالعات در خصوص تأثیر انواع مکمل‌های آنزیمی بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی آبزیان محدود می‌باشد. تأثیر مولتی آنزیم‌های مختلف شامل آویزایم در فزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Hosseinifard *et al.*, 2013)، آندو ۱-۳(۴) بتا-گلوکوناز در کپور معمولی، (Mohammadbeygi *et al.*, 2013)، همی سل و ناتوزایم در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) (Zamini *et al.*, 2014)، کمین در فیل‌ماهی (*Huso huso*) (Ghomi *et al.*, 2012) و کپور معمولی (Adelian *et al.*, 2016) بر شاخص‌های خونی و

بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفته است. ماهی کپور معمولی فاقد معده بوده و یک ماهی همه چیزخوار به حساب می‌آید و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز آن کمتر از فعالیت آنزیم آمیلاز می‌باشد (Hidalgo *et al.*, 1999). لذا هدف از پژوهش حاضر مقایسه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مجزا و توام مولتی آنزیم‌های تجاری کومبو و ناتوزایم می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در روستای درازلو شهرستان تالش در بهار و تابستان ۱۳۹۴ انجام گردید. تعداد ۹۶ عدد بچه‌ماهی کپور با میانگین وزنی $2/56 \pm 13/06$ گرم و میانگین طولی $9/25 \pm 1/34$ سانتی‌متر در ۱۲ عدد وان ۷۰ لیتری با تراکم ۸ عدد ماهی در هر وان توزیع شدند. پس از یک هفته سازگاری، ۶ تیمار هر یک دارای دو تکرار شامل شاهد (بدون مکمل آنزیمی)، مولتی آنزیم کومبو (شرکت American biosystems - ویرجینیا، آمریکا) در سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، مولتی آنزیم ناتوزایم پلاس (شرکت Bioproton - بریزبن، استرالیا) در سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره و ترکیب ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کومبو + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ناتوزایم در جیره طراحی شدند (Lin *et al.*, 2007). جیره اکستروود مخصوص کپور معمولی (FFC1) حاوی پروتئین خام ۳۶٪، عصاره عاری از ازت ۲۸/۹٪، چربی خام ۹٪، فیبر خام ۵٪، خاکستر ۱۰٪، رطوبت ۱۰٪ و فسفر ۱/۱٪ از شرکت فرادانه (ایران) تهیه گردید. ابتدا جیره پایه با میکسر به‌صورت پودر درآمد. سپس مکمل‌های آنزیمی به‌صورت پودر براساس مقادیر ذکر شده فوق به جیره اضافه شدند. تغذیه بچه‌ماهیان براساس ۵-۴٪ وزن توده زنده (Akrami *et al.*, 2012) در ۳ نوبت (۹ صبح، ۱۴ عصر و ۱۹ غروب) به‌مدت ۸ هفته انجام گرفت. در طول دوره پرورش، میانگین دما، اکسیژن محلول و pH به‌ترتیب $25/63 \pm 1/14$ سانتی‌گراد، $7/08 \pm 0/17$ میلی‌گرم در لیتر و $7/43 \pm 0/26$ بود. به‌منظور تخمین میزان رشد و تعیین زی‌توده هر وان، زیست‌سنجی در اول، وسط و آخر دوره انجام گرفت. شاخص‌های رشد از قبیل وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی اندازه‌گیری شدند.

در پایان آزمایش نمونه‌برداری از خون ماهیان انجام گرفت. از هر تکرار ۵ عدد ماهی (مجموعاً ۶۰ نمونه) به‌صورت تصادفی انتخاب و تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری قطع شد. با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری هیپارینه و از طریق رگ ساقه دمی در پشت باله مخرجی خون‌گیری انجام گرفت (Kazemi *et al.*, 2010). برای اندازه‌گیری شاخص‌های خونی، نمونه‌های خون تهیه‌شده درون ویال‌های حاوی ماده ضد انعقاد هیپارین ریخته شد. تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) با استفاده از لام نئوبار شمرده شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید براساس درصد لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت صورت گرفت. مقادیر هماتوکریت (Hct) و هموگلوبین (Hb) به‌ترتیب با روش

میکروهماتوکریت و سیان مت هموگلوبین اندازه‌گیری شد. متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) براساس فرمول‌های ذیل محاسبه شدند (Klontz, 1994):

$$MCV = [Hct/RBC] \times 10$$

$$MCH = [Hb/RBC] \times 10$$

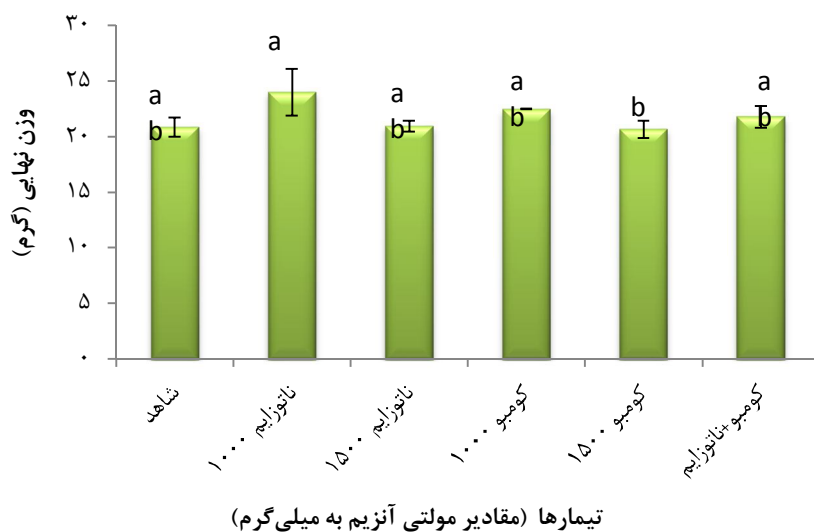
$$MCHC = [Hb/Hct] \times 100$$

برای سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی، نمونه‌های خون در ویال‌های فاقد ماده ضد انعقاد هپارین توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم جدا گردید. گلوکز به روش آنزیماتیک (گلوکز اکسیداز؛ Barham and Trinder, 1972)، کلسترول به روش آنزیماتیک (کلسترول اکسیداز؛ Allain *et al.*, 1974) و تری‌گلیسیرید به روش آنزیماتیک (Fossati and Prencipe, 1982) انجام شد. آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ‌سنجی کینتیک، آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک و آنزیم‌های آلفا آمیلاز، پروتئاز و لیپاز به روش رنگ‌سنجی کینتیک با بکارگیری کیت زیست شیمی (ساخت ایران) مخصوص هر آنزیم اندازه‌گیری شد (Shahsavani *et al.*, 2010).

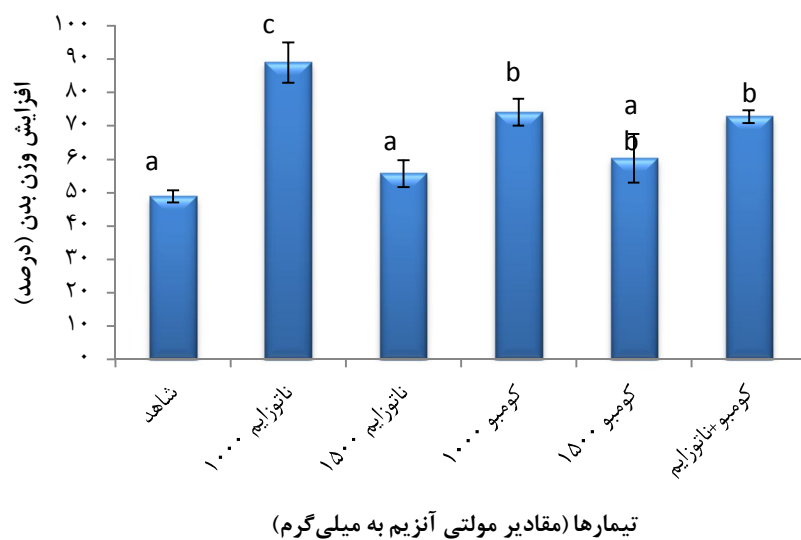
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-19 پردازش شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای تعیین نرمالیتی داده‌ها و آزمون Levene برای تعیین همگنی گروه‌ها استفاده شد. برای داده‌های همگن، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌های تیمارها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. آزمون غیرپارامتریک کروسکال-والیس برای داده‌های غیرهمگن بکار رفت و معنی‌دار بودن گروه‌ها با استفاده از آزمون من-ویتنی در سطح اطمینان ۹۵٪ مشخص شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد.

نتایج

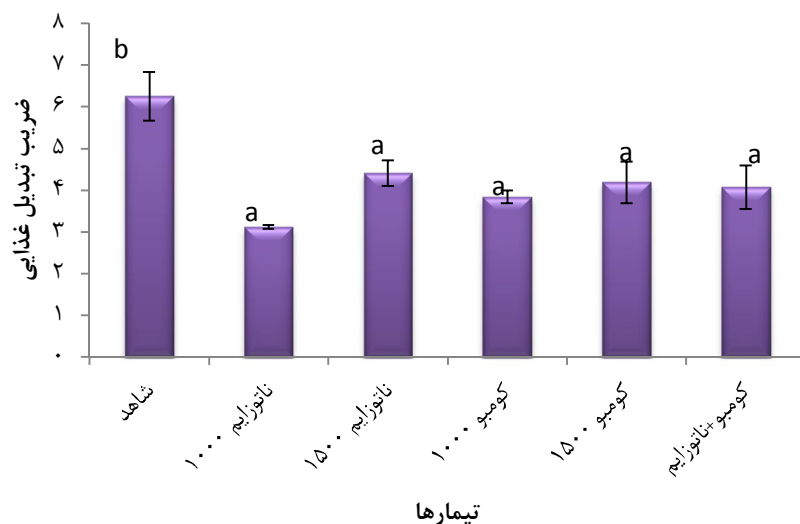
بیش‌ترین وزن نهایی در تیمار ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با تیمار کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌دار آماری نشان داد. همچنین بالاترین ($p < 0.05$) درصد افزایش وزن بدن در تیمار ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با همه تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار داشت. همه تیمارهای تغذیه‌ای ضریب تبدیل غذایی پایین‌تر و بهتری نسبت به شاهد داشتند ($p < 0.05$) (شکل‌های ۱ تا ۳).



شکل ۱- مقایسه وزن نهایی تیمارهای آزمایشی بچه کپورماهی (*C. carpio*)



شکل ۲- مقایسه درصد افزایش وزن بدن تیمارهای آزمایشی بچه کپورماهی (*C. carpio*)



شکل ۳- مقایسه ضریب تبدیل غذایی تیمارهای آزمایشی بچه کپورماهی (*C. carpio*)

نتایج به‌دست آمده از بررسی شاخص‌های خونی بچه کپورماهیان در جدول ۱ نشان داده شده است. اکثر تیمارهای آزمایشی افزایشی ($p < 0.05$) را در شاخص‌های خونی نظیر تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هماتوکریت، میزان هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید (به استثنای ناتوزایم ۱۵۰۰ میلی‌گرم) و تعداد لنفوسیت نسبت به شاهد داشتند. در شاخص‌های MCV ، MCH ، $MCHC$ و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید ($p > 0.05$). بیش‌ترین تعداد لنفوسیت در تیمارهای ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم رویت گردید که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری نشان داد ($p < 0.05$). تیمارهای ترکیبی و شاهد افزایشی ($p < 0.05$) را در تعداد نوتروفیل‌ها داشتند.

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های خونی بچه کپورماهی (*C. carpio*) در تیمارهای آزمایشی (تعداد نمونه: ۱۰ ماهی از هر تیمار)

تیمارها (مقادیر آنزیم به mg)	شاهد (فاقد آنزیم)	ناتوزایم ۱۰۰۰	ناتوزایم ۱۵۰۰	کومبو ۱۰۰۰	کومبو ۱۵۰۰	ناتوزایم+کومبو ۱۰۰۰+۱۰۰۰
هماتوکریت (/)	۳۷±۱ ^a	۳۸/۶۶±۱/۵۲ ^{ab}	۴۱/۳۳±۰/۵۷ ^c	۴۰±۱ ^{bc}	۳۷±۲ ^a	۳۷±۰ ^a
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۷±۰/۲ ^{ab}	۷/۲۵±۰/۲۵ ^b	۷/۷۵±۰/۱۰۵ ^d	۷/۵۳±۰/۱۵ ^{cd}	۷/۲۶±۰/۱۰۵ ^{bc}	۶/۹۳±۰/۱۰۵ ^a
گلبول قرمز (تعداد × ۱۰ ^۶ در میلی‌متر مکعب)	۱/۵±۰/۰۳ ^a	۱/۵۴±۰/۰۵ ^a	۱/۶۶±۰/۰۱ ^b	۱/۶۱±۰/۰۴ ^b	۱/۵۳±۰/۰۱ ^a	۱/۴۸±۰/۰۰۵ ^a
گلبول سفید (تعداد × ۱۰ ^۲ در میلی‌متر مکعب)	۴/۰۸±۰/۱۶ ^b	۴/۴۳±۰/۴۵ ^b	۳/۶±۰/۲ ^a	۵/۱۳±۰/۱۵ ^c	۵/۲۶±۰/۱۵ ^d	۵/۵±۰/۲ ^{cd}
MCV (فمتولیترا)	۲۴۶/۶۶±۱/۵۲	۲۴۹/۶۶±۱/۵۲	۲۴۹±۵	۲۴۷/۳۳±۰/۵۷	۲۵۰/۳۳±۵/۵۰	۲۴۹±۱
MCH (پیکوگرم)	۴۶/۳۳±۰/۵۷	۴۶/۶۶±۰/۵۷	۴۶±۱	۴۶/۳۳±۰/۵۷	۴۷±۰	۴۶/۳۳±۰/۵۷
MCHC (گرم در دسی‌لیتر)	۱۹±۰	۱۸/۳۳±۰/۵۷	۱۸/۳۳±۰/۵۷	۱۹±۰	۱۸/۶۶±۰/۵۷	۱۸/۳۳±۰/۵۷
لنفوسیت (/)	۶۳±۰ ^a	۶۹±۱ ^c	۶۶/۳۳±۱/۵۲ ^b	۶۵/۶۶±۰/۵۷ ^b	۶۸±۱ ^c	۶۳/۳۳±۰/۵۷ ^a
نوتروفیل (/)	۳۲±۱ ^c	۲۸/۳۳±۰/۵۷ ^a	۲۹/۳۳±۱/۵۲ ^{ab}	۳۰/۶۶±۰/۵۷ ^{bc}	۲۹±۱ ^{ab}	۳۲±۰ ^c
ائوزینوفیل (/)	۰/۶۶±۰/۵۷	۰/۶۶±۰/۵۷	۰/۶۶±۰/۵۷	۰±۰	۰±۰	۱±۰
مونوسیت (/)	۴/۳۳±۰/۵۷ ^c	۲±۰ ^a	۳/۶۶±۰/۵۷ ^{bc}	۳/۶۶±۰/۵۷ ^{bc}	۳±۰ ^b	۳/۶۶±۰/۵۷ ^{bc}

در هر ردیف، حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p < 0.05$).

بالاترین میزان گلوکز در تیمار کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با سایر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). تیمار شاهد کمترین ($p < 0.05$) میزان کلسترول را به‌خود اختصاص داد. بیش‌ترین میزان تری‌گلیسیرید در تیمار ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با تیمارهای شاهد و ترکیبی اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($p < 0.05$). تفاوت‌هایی بین سطوح آنزیم‌های کبدی ALT و ALP در تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان آنزیم‌های آلفا-آمیلاز در تیمار کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم و آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز در تیمار کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری نشان داد ($p < 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون بچه کپورماهی (*C. carpio*) در تیمارهای آزمایشی (تعداد نمونه: ۱۰ ماهی از هر تیمار)

تیمارها (مقادیر آنزیم به mg)	شاهد (فاقد آنزیم)	ناتوزایم ۱۰۰۰	ناتوزایم ۱۵۰۰	کومبو ۱۰۰۰	کومبو ۱۵۰۰	ناتوزایم+کومبو ۱۰۰۰+۱۰۰۰
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۵۷±۱ ^a	۵۶±۱۳ ^a	۵۱±۸ ^a	۵۳/۶۶±۵/۵ ^a	۷۸±۹ ^b	۵۶±۱۳ ^a
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۱۲۳±۳ ^a	۱۴۹/۶۶±۰/۵۷ ^b	۱۴۵/۶۶±۲/۵۱ ^b	۱۴۹±۹ ^b	۱۵۰±۲ ^b	۱۳۱±۱۱ ^a
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۱۰/۶۶±۷/۵ ^b	۲۷۱±۲۷ ^c	۲۴۱/۶۶±۲/۵۱ ^{bc}	۲۴۰±۴ ^{bc}	۲۳۹/۶۶±۴/۵ ^{bc}	۱۶۷±۲۹ ^a
آنزیم AST (U/L)	۱۵۶/۶۶±۳۲/۵	۱۳۷/۶۶±۲۷/۵	۱۴۹±۴۴	۱۲۳/۶۶±۲۱/۵	۱۴۸/۳۳±۹/۵	۱۱۴±۶
آنزیم ALT (U/L)	۷/۶۶±۱/۵۲ ^{bc}	۵±۰ ^a	۹±۱ ^c	۶/۳۳±۰/۵۷ ^{ab}	۷±۰ ^b	۵±۱ ^a
آنزیم ALP (U/L)	۱۸۱/۳۳±۱۰/۴ ^b	۱۶۱±۲۰ ^{ab}	۱۱۸/۳۳±۲۶/۵ ^{ab}	۱۹۲±۱ ^b	۱۲۶±۲۱ ^{ab}	۸۶±۶ ^a
آنزیم آلفا آمیلاز (U/L)	۴۸/۶۶±۷/۰۲ ^a	۶۷±۲ ^c	۵۵±۱ ^{abc}	۶۵±۱۰ ^{bc}	۸۳±۶ ^d	۵۲±۱۳ ^{ab}
آنزیم پروتئاز (U/L)	۷±۲ ^a	۱۳±۲ ^{bc}	۹±۳ ^{ab}	۱۶±۱ ^c	۱۰/۶۶±۳/۵۱ ^{ab}	۷±۱ ^a
آنزیم لیپاز (U/L)	۵۷/۳۳±۰/۵۷ ^a	۶۵±۲ ^b	۶۴/۳۳±۰/۵۷ ^b	۷۲/۳۳±۱/۵۲ ^c	۶۷±۱ ^b	۵۶±۶ ^a

در هر ردیف، حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

پارامترهای خونی به‌عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی در پاسخ به تغییرات خارجی یا داخلی در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. شاخص‌های خونی در ارزیابی سلامت ماهیان، استرس محیط، تغذیه، جنسیت، اندازه ماهی، تغییرات فصلی و تخم‌ریزی نقش مهمی دارند (Keiffer, 2000). مطالعات در خصوص تأثیر انواع مکمل‌های آنزیمی بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی انواع آبزیان محدود می‌باشد.

نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری نشان داد. تعداد گلبول‌های سفید نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود عفونت بوده و می‌تواند واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی و ایمنی سلولی را در ماهیان تحریک کند (Kazemi et al., 2010). چون ماهیان در

شرایط پرورشی به دلیل تراکم زیاد در برابر بسیاری از عوامل باکتریایی فرصت طلب آسیب پذیرند، لذا تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی بسیار حائز اهمیت است (Dixon and Stet, 2001). در مطالعه‌ای حسینی‌فرد و همکاران (Hosseinifard *et al.*, 2013) جایگزینی ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد پروتئین سویا با سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم مکمل آنزیمی آویزایم را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ارزیابی کردند. بیش‌ترین تعداد گلبول سفید در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰ درصد آرد سویا به همراه ۱۰۰۰ میلی‌گرم مکمل آنزیمی آویزایم بود.

محمدبیگی و همکاران (Mohammadbeygi *et al.*, 2013) به بررسی تأثیر سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد مکمل آنزیمی آندو ۱-۳(۴) بتا-گلوکوناز بر رشد و برخی از فاکتورهای خونی کپور معمولی پرداختند. تعداد گلبول‌های سفید در سطح ۰/۵ درصد بالاتر از سایر تیمارها بوده است. زمینی و همکاران (Zamini *et al.*, 2014) با ارزیابی سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم مکمل‌های آنزیمی ناتوزایم و همی سل و ترکیب سطوح ۰/۵ گرم ناتوزایم و ۰/۵ گرم همی سل در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) اذعان داشتند که تیمار ترکیبی دو آنزیم بالاترین تعداد گلبول‌های سفید را به خود اختصاص داد و اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها داشت که تا حدی موافق با بررسی حاضر می‌باشد. چون اختلاف معنی‌داری بین تیمار ترکیبی و کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم وجود ندارد.

بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ناتوزایم ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که به استثنای تیمار کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری داشت. به دلیل اینکه نیازهای اکسیژنی ماهیان براساس سن و شرایط محیطی تغییر می‌کند تعداد گلبول‌های قرمز در هر میلی‌لیتر خون باتوجه به روش ایجاد توازن بین مصرف انرژی برای تولید گلبول قرمز و انرژی لازم برای انتقال خون به بافت‌ها متغیر است. در صورتی که نیاز به اکسیژن زیاد باشد خونی که از نظر تعداد گلبول‌های قرمز پایین است نسبت به خونی که گلبول‌های قرمز بیشتری دارد باید به میزان زیادتری در سراسر بدن پمپ شود (Sattari, 2002). استفاده از سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد مکمل آنزیمی آندو ۱-۳(۴) بتا-گلوکوناز در کپور معمولی نشان داد که بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز در سطح ۰/۵ درصد مکمل آنزیمی بوده است (Mohammadbeygi *et al.*, 2013). در تحقیقی دیگر، بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز ماهیان آزاد تغذیه شده با سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم مکمل‌های آنزیمی ناتوزایم و همی سل و ترکیب سطح ۰/۵ گرم این مولتی آنزیم‌ها در تیمار ناتوزایم ۰/۵ گرم ثبت شد لیکن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که با تحقیق حاضر در تضاد می‌باشد (Zamini *et al.*, 2014).

تیمار ناتوزایم ۱۵۰۰ میلی‌گرم بیش‌ترین میزان هموگلوبین را به خود اختصاص داد که با همه تیمارهای بجز کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌دار نشان داد. فصل، نوع گونه، تغییرات دما و غلظت اکسیژن از عوامل تأثیرگذار بر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین هستند. کاهش کمیت و

کیفیت گلبول‌های قرمز منجر به اختلال در اکسیژن‌رسانی شده و تأثیر نامطلوب بر سوخت و ساز بدن دارد (Klontz, 1994). نتایج استفاده از سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد مکمل آنزیمی آندو ۱-۳(۴) بتا-گلوکوناز در کپور معمولی نشان داد که بیش‌ترین میزان هموگلوبین در سطح ۰/۵ درصد بوده است (Mohammadbeygi *et al.*, 2013). در اظهارنظری متفاوت با مطالعه حاضر، زمینی و همکاران (Zamini *et al.*, 2014) اعلام نمودند که مکمل‌های آنزیمی ناتوزایم و همی سل در سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم و تیمار ترکیبی آن‌ها در میزان هموگلوبین ماهی آزاد دریای خزر تأثیری نداشته‌اند.

بیش‌ترین مقادیر هماتوکریت در تیمار ناتوزایم ۱۵۰۰ میلی‌گرم رویت شد که بجز کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. طبق نظر بنفی و بایرون (Benfey and Biron, 2000) کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن تعداد بیشتر گلبول‌های قرمز از بافت‌های خون‌ساز می‌توانند سبب ازدیاد هماتوکریت شوند. هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز بهم وابسته بوده و رابطه مستقیمی دارند که این رابطه در بررسی حاضر نمایان است. همسو با تحقیق حاضر، کاربرد سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد آندو ۱-۳(۴) بتا-گلوکوناز در ماهی کپور ثابت نمود که میزان هماتوکریت در سطح ۰/۵ درصد بیشترین بود (Mohammadbeygi *et al.*, 2013). برعکس، در ماهی آزاد دریای خزر سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم ناتوزایم و همی سل و تیمار ترکیبی این دو در میزان هماتوکریت بی‌تأثیر بوده‌اند (Zamini *et al.*, 2014).

تعداد لنفوسیت در ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم بالاترین مقدار بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد. افزایش تعداد لنفوسیت نشان‌دهنده تقویت سیستم ایمنی سلولی بوده و تعداد لنفوسیت‌ها در اثر استرس و طولانی شدن کمبود اکسیژن در آب کاهش نشان می‌دهند (Kazemi *et al.*, 2010). این مساله نشان می‌دهد که آب محیط پرورش کپورماهیان از کیفیت مطلوبی برخوردار بود. همسو با مطالعه حاضر، ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطح ۰/۲۵ گرم همی سل بالاترین تعداد لنفوسیت را به‌خود اختصاص دادند (Zamini *et al.*, 2014).

بیشترین میزان گلوکز خون در کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم ثبت گردید که با همه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشت. قندخون تحت تأثیر هورمون‌ها (به‌ویژه کورتیزول)، استرس، تولید مثل، گونه، سن، فصل، کیفیت و زمان تغذیه و ترکیبات جیره قرار دارد (Kocaman *et al.*, 2005). سطوح بالای قند خون می‌تواند انرژی بیشتری را در زمان سوخت و ساز بالا فراهم آورد (Goss and Wood, 1988). افزودن آنزیم آلفا-آمیلاز در جیره کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) سبب افزایش گلوکز خون و فعالیت گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز در کبد می‌شود (Kumar *et al.*, 2009). با جایگزین شدن سطوح ۰/۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد سویا با مقادیر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آویزایم در قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص گردید که با افزایش سطح سویا در جیره میزان گلوکز کاهش معنی‌داری را نسبت

به شاهد نشان داد (Hosseinfard *et al.*, 2013). استفاده از سطوح ۰/۱ و ۰/۵ درصد آندو ۱-۳ (۴) بتا-گلوکوناز در کپور معمولی حاکی از بالا بودن میزان گلوکز در سطح ۰/۱ درصد بوده است (Mohammadbeygi *et al.*, 2013). افزودن سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم مولتی آنزیم کمین در فیل‌ماهی (*Huso huso*) تأثیری بر گلوکز نداشت لیکن مقادیر گلوکز در سطوح ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم کمین کاهش معنی‌داری را نشان داد (Ghomi *et al.*, 2012). در عوض، عادلین و همکاران (Adelian *et al.*, 2016) بیان داشتند که با وجود این‌که کپور ماهیان گروه شاهد بیش‌ترین میزان گلوکز را نشان دادند اما ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم کمین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

کم‌ترین میزان کلسترول در شاهد مشاهده گردید که با بقیه تیمارها بجز تیمار ترکیبی اختلاف معنی‌دار داشت. حسینی‌فرد و همکاران (Hosseinfard *et al.*, 2013) با جایگزینی نسبت‌های مختلف پروتئین سویا با سطوح متفاوت آویزایم در قزل‌آلای رنگین‌کمان اعلام کردند که با افزایش سطوح سویا و آنزیم در جیره میزان کلسترول نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت. در بررسی دیگر، بیشترین میزان کلسترول ماهیان کپور در سطح ۰/۱ درصد آندو ۱-۳ (۴) بتا-گلوکوناز بوده است (Mohammadbeygi *et al.*, 2013). در فیل‌ماهی، قمی و همکاران (Ghomi *et al.*, 2012) اذعان نمود که سطوح کلسترول در همه تیمارها بجز تیمار ۷۵۰ میلی‌گرم کمین سیر نزولی داشته است.

تفاوت‌های معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید بین گروه‌های آزمایشی در مطالعه حاضر رویت شد. جایگزینی سطوح مختلف سویا به‌همراه سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آویزایم در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که با افزایش سطوح سویا میزان تری‌گلیسرید کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت (Hosseinfard *et al.*, 2013). از طرف دیگر، سطح ۰/۱ درصد آندو ۱-۳ (۴) بتا-گلوکوناز در کپور معمولی بالاترین میزان تری‌گلیسرید را نشان داد (Mohammadbeygi *et al.*, 2013).

تفاوت‌هایی بین سطوح آنزیم‌های کبدی در تحقیق حاضر در تیمارهای آزمایشی گزارش شد. لیکن سطوح این آنزیم‌ها در ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های آنزیمی بجز در دو مورد پایین‌تر از ماهیان گروه شاهد بود. تغییرات فیزیولوژیک در کبد به‌دلیل اثر فرآیندهای متابولیک در موجود زنده است. ضایعات کبدی بیشتر با قابلیت نفوذپذیری غشای سلول‌های کبدی همراه بوده و باعث اختلال در ساختن آنزیم‌ها شده و در نهایت به رهاسازی برخی آنزیم‌ها به داخل پلاسما و افزایش فعالیت آن‌ها می‌گردد. افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم نشانه‌ای از تخریب کبد به‌حساب می‌آید (Shi *et al.*, 2006). در موافقت با مطالعه حاضر، کاربرد سطوح مختلف سویا به‌همراه مقادیر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم آویزایم در قزل‌آلای رنگین‌کمان ثابت کرد که با افزایش سطح سویا در جیره میزان آنزیم‌های کبدی (ALT) و (ALP) کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد داشتند (Hosseinfard *et al.*, 2013). در کپور هندی

روهو، کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2009) اظهار داشتند که افزودن آنزیم آلفا-آمیلاز به جیره سبب کاهش آنزیم‌های (ALT) و (AST) شده است.

بیشترین میزان آنزیم آلفا-آمیلاز در کومبو ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف نشان داد. از طرف دیگر، ماهیان گروه شاهد دارای کم‌ترین میزان آنزیم آمیلاز بودند که با ماهیان تغذیه شده با ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم، کومبو ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم اختلاف آماری داشتند. آلفا-آمیلاز آنزیمی است که باعث شکسته شدن کربوهیدرات‌های پیچیده مانند گرانول‌های نشاسته شده و آن‌ها را به مولکول‌های کوچک‌تر تبدیل کرده و به هضم و جذب مواد غذایی کمک شایانی می‌کند (Tian *et al.*, 2012). همه گروه‌های آزمایشی دارای آنزیم آمیلاز بالاتری نسبت به شاهد بودند که این مساله نشان می‌دهد میزان آنزیم‌های تجزیه کننده کربوهیدرات نظیر سلولاز، آمیلاز، زایلاناز، بتاگلوکاناز، همی سلولاز و بتاگلوکاناز در مکمل‌های آنزیمی قادر به تجزیه انواع کربوهیدرات‌ها بوده‌اند. بیشترین میزان آنزیم پروتئاز در کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده گردید که با بقیه تیمارهای آزمایشی بجز ناتوزایم ۱۰۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌دار نشان داد. همه تیمارهای آزمایشی دارای پروتئاز بالاتری نسبت به شاهد بودند. پروتئازهای موجود در مولتی آنزیم‌ها سطح آنزیم پروتئاز دستگاه گوارش ماهی را افزایش می‌دهند. همچنین بازدارنده‌های تریپسین، کموتریپسین، ساپونین و لکتین که جزء مواد ضد تغذیه‌ای هستند را غیرفعال کرده و قابلیت هضم پروتئین جیره را ارتقا می‌دهند (Webster and Lim, 2002). بالاترین میزان آنزیم لیپاز در ماهیان تغذیه شده با کومبو ۱۰۰۰ میلی‌گرم ثبت شد که با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشت. لیپاز مهم‌ترین آنزیمی است که چربی‌ها را به مولکول‌های کوچک‌تر و قابل هضم تبدیل کرده و از تجمع چربی در بافت‌های بدن جلوگیری می‌کند (Webster and Lim, 2002).

استفاده از مولتی آنزیم‌ها به منظور بهبود شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان نیاز به مطالعات بیشتری دارد. گونه پرورشی، سن گونه، طول دوره پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک گونه، ترکیب جیره‌های غذایی، میزان منابع پروتئینی گیاهی بکار رفته در جیره، نوع مکمل‌های آنزیمی و میزان سطح مورد استفاده می‌تواند بر نتایج مطالعات تأثیرگذار باشد. به نظر می‌رسد باتوجه به متفاوت بودن نتایج در برخی از شاخص‌های خونی و پارامترهای بیوشیمیایی سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم ناتوزایم و سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم کومبو سطوح مناسبی برای بچه‌ماهیان کپور معمولی بوده‌اند. همچنین باتوجه به بالا بودن وزن نهایی در اکثر تیمارهای آزمایشی و داشتن قیمت بسیار پایین مکمل‌های آنزیمی، افزودن آن‌ها به جیره کپور معمولی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

از آقایان دکتر سید جواد ابوالقاسمی و مهدی ملکی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Adelian M., Imanpoor M.R., Taghizadeh V., Mazandarani M. 2016. Utilizing Kemin multi-enzymes in the diet and their effects on growth and some blood factors of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Animal Environment, 8(1): 201-206. (In Persian).
- Akrami R., Zarei E., Ghelichi A. 2012. Effect of dietary supplementation of prebiotics inulin on growth, survival, lactic acid bacteria loading and body composition of carp (*Cyprinus carpio*) juvenile. Journal of Fisheries, 5(4): 87-94.
- Allain C.C., Poon L.S., Chan S.G.C., Richmond W., Fu P.C. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clinical Chemistry, 20(4): 470-475.
- Barham D., Trinder P. 1972. An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst, 97(151): 142-145.
- Benfey T.G., Biron M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture, 184: 167-176.
- Castillo S., Gatlin D.M. 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. Aquaculture, 435: 286-292.
- Dixon B., Stet R.J.M. 2001. The relationship between major histocompatibility receptors and innate immunity in teleost fish. Developmental and Comparative Immunology, 25: 683-700.
- Fossati P., Prencipe L. 1982. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clinical Chemistry, 28(10): 2077-2080.
- Ghomi M.R., Shahriari R., Faghani Langroudi H., Nikoo M. 2012. The Effects of Dietary Enzyme on Some Blood Biochemical Parameters of the Cultured Great Sturgeon *Huso Huso* juveniles. Comparative Clinical Pathology, 21: 201-204.
- Goss G.G., Wood C.M. 1988. The effects of acid and acid/aluminum exposure on circulating plasma cortisol levels and other blood parameters in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. Journal of Fish Biology, 32: 63-76.
- Guillaume J., Kaushik S., Bergot P., Metailler R. 2001. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer-Verlag, London, UK. 408 P.
- Hidalgo M.C., Urea E., Sanz A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170(3): 267-283.

- Hosseinifard 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.
- 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. (In Persian).
- Keiffer J.D. 2000. Limits to exhaustive exercise in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126: 161-179.
- Klontz G.W. 1994. Fish hematology. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Rowley A.F., Kelikoff T.C., Kaatari S.L., Smith S.A. (Eds.). *Techniques in fish immunology*. Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA, pp: 121-132.
- 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.
- Kocaman E.M., Yanik T., Erdogan O., Ciltas A.K. 2005. Alternation in cholesterol, glucose and triglyceride levels in reproduction of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(9): 801-804.
- Krogdahl A., Lea T.B., Olli J.L. 1994. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology*, 107(1): 215-219.
- Kumar S., Sahu N., Pal A., Sagar V., Sinha A.K., Baruah K. 2009. Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous α -amylase in the diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 301-315.
- Lin S., Mai K., Tan B. 2007. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture Research*, 38:1645-1653.
- 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.
- Sattari M. 2002. *Ichthyology (1): Anatomy and Physiology*. Naghshe Mehr Press, Tehran, Iran. 862 P. (In Persian).
- Shahsavani D., Mohri M., Gholipour Kanani H. 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 39-43.
- Shi X., Li D., Zhuang P., Nie F., Long, L. 2006. Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) and Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32: 63-66.

- Tian L.X., Liu Y.J., Yang H.J., Liang G.Y. 2012. Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture International*, 20: 283-293.
- Webster C.D., Lim C. 2002. Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing. New York, USA. 416 P.
- Zamini A.A., Gholipour Kanani H., Esmaili A.A., Ramezani S., Zoriezahra S.J. 2014. 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.

