Archive of SID

www.SID.ir

عنوان طرح: بررسی اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر عملکرد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

کد طرح: ۶۰۰۴

واحد سازمانی مجری: جهاد دانشگاهی مازندران

زمینه فعالیت: بهره‌برداری از جلبک‌های دریای خزر در تولید مکمل‌های غذایی دام و طیور

مسئول اجرای طرح: محمدصابر انصاری

ماه و سال اختتام طرح:

مرداد ماه ۱۳۹۷

Archive of SID

www.SID.ir

مشخصات مسئول و همکاران طرح مطابق پرسشنامه مصوب:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	رتبه	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
۱	محمد صابر انصاری	مجری طرح	زیست‌شناسی گیاهی- فیزیولوژی	-	۷۵
۲	فاطمه قلی زاده	همکار	زیست‌شناسی گیاهی- فیزیولوژی	-	۶۰
۳	حسنا حاجاتی	مشاور	علوم دامی- تغذیه طیور	-	۲۵
۴	سید محمد علوی	همکار	زیست‌شناسی- میکروبیولوژی	-	۶۰

Archive of SID

www.SID.ir

تقدیر و تشکر:

با سپاس فراوان از جناب آقای دکتر یزدانی، مدیر کل محترم کشاورزی و منابع طبیعی جهاد دانشگاهی، و استاد بزرگوار، سرکار خانم دکتر سلطانی، که انجام این طرح بدون راهنمایی و همراهی‌های دلسوزانه این دو بزرگوار ممکن نبود.

Archive of SID

www.SID.ir

چکیده:

هدف:

این پژوهش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد، فلور میکروبی روده و برخی از متابولیت‌های خون ماهی قزل‌آلا رنگین کمان انجام شد.

روش:

این آزمایش با استفاده از ۴۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلا رنگین کمان (وزن اولیه ۱۰ گرم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار و ۲۰ قطعه ماهی در هر تکرار انجام شد. جیره‌های آزمایش شامل جیره غذایی کنترل (بدون افزودنی)، ۳ سطح جلبک (۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ گرم در تن) و یک سطح پری‌بیوتیک (۱۰۰۰ گرم در تن) به عنوان کنترل مثبت بود. ماهی‌ها به مدت ۵۶ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند.

نتایج:

نتایج این پروژه نشان داد که استفاده از جلبک (۲۰۰۰ گرم در تن) و پری‌بیوتیک، موجب افزایش وزن نهایی و همچنین کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهی در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<0.05$). اضافه کردن پری‌بیوتیک و جلبک در سطح۲۰۰۰ گرم در تن باعث کاهش تعداد کلنی‌های کلیفرم‌های روده و از سوی دیگر افزایش تعداد کلنی‌های باسیلوس سوبتیلیس در روده گردید ($P<0.05$). فعالیت آنزیم پروتئاز در ماهی تغذیه شده با ۲۰۰۰ گرم جلبک در تن بالاتر بود. بنابراین به نظر می‌رسد که جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* اثر مثبتی بر عملکرد رشد و سلامت روده در ماهی قزل‌آلا رنگین کمان دارد.

کلیدواژگان: *اسپیرولینا پلاتنسیس*، عملکرد رشد، فلور میکروبی روده، قزل‌آلا رنگین کمان

Archive of SID

www.SID.ir

فهرست:

فصل اول: کلیات ..... أ

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- بیان مسأله ۲

۱-۲-۱- آنتی‌بیوتیک‌ها ۳

۱-۲-۲- پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها ۴

۱-۲-۳- اهمیت جلبک‌ها در صنعت آبزی‌پروری ۵

۱-۲-۴- معرفی جلبک *اسپیرولینا* و اهمیت آن ۵

۱-۲-۵- ماهی قزل‌آلا رنگین کمان ۸

۱-۳- اهمیت و ضرورت پژوهش ۹

۱-۴- اهداف پژوهش ۱۱

۱-۵- سوالات پژوهش ۱۱

فصل دوم: منابع مطالعاتی موضوع و مبانی نظری پژوهش ۱۳

۲-۱- پیشینه پژوهش ۱۴

۲-۱-۱- پیشینه داخلی ۱۴

۲-۱-۲- پیشینه خارجی ۱۵

۲-۱-۳- تحلیل پیشینه پژوهش ۱۶

۲-۲- مبانی نظری ۱۷

۲-۳- چارچوب نظری ۱۸

۲-۴- فرضیه‌های پژوهش ۲۰

فصل سوم: مواد و تجهیزات و روش‌های پژوهش ۲۰

۳-۲- تهیه جلبک *اسپیرولینا* ۲۱

۳-۲-۱- انتخاب محیط کشت مناسب ۲۱

۳-۲-۲- بررسی رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* ۲۱

۳-۲-۳- بهینه‌سازی شرایط کشت جلبک با هدف دستیابی به شرایط رشد مناسب ۲۲

۳-۲-۴- مراحل کشت جلبک با هدف Scale up ۲۳

۳-۲-۵- آنالیز ترکیب شیمیایی جلبک *اسپیرولینا* ۲۵

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۳- پری بیوتیک ۲۶
۳-۴- مراحل پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ۲۶
۳-۴-۱- آماده سازی سالن ۲۶
۳-۴-۲- مدیریت پرورش و تغذیه ۲۶
۳-۴-۳- تهیه خوراک و تیمارهای آزمایشی ۲۷
۳-۵- پارامترهای مورد ارزیابی ۲۸
۳-۵-۱- پارامترهای زیست سنجی ۲۸
۳-۵-۲- پارامترهای خونی ۲۹
۳-۵-۳- فعالیت آنزیم‌های گوارشی ۳۱
۳-۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها و مدل آماری ۳۳
فصل چهارم: نتایج حاصل از پژوهش ۳۴
۴-۱- آنالیز جلبک *اسپیرولینا* ۳۵
۴-۲- بررسی رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* ۳۵
۴-۲-۱- تعیین دانسیته نوری ۳۵
۴-۲-۲- اندازه‌گیری وزن خشک ۳۶
۴-۳- عملکرد رشد و بازماندگی ۳۶
۴-۳-۱- ترکیب شیمیایی لاشه ۳۷
۴-۴- فلور میکروبی روده ۳۸
۴-۵- فعالیت آنزیم‌های گوارشی ۳۹
۴-۶- پارامترهای خونی ۳۹
فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری ۴۱
۵-۱- بحث و نتیجه گیری ۴۲
۵-۲-پیشنهادها ۴۵
۵-۳- توجیه فنی و اقتصادی برای توسعه پژوهش ۴۵
- منابع ۴۷
- پیوست ۵۳
- چکیده انگلیسی ۵۴

Archive of SID
www.SID.ir

فهرست جداول

صفحه

جدول۲-۱- نتایج مطالعات اثر *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر آبزیان ۱۹

جدول ۳-۱- اقلام خوراکی و تجزیه تقریبی جیره‌های غذایی ۲۷

جدول ۴-۱- ترکیبات شیمیایی جلبک *اسپیرولینا*..... ۳۵

جدول ۴-۲- اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر پارامترهای رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان..... ۳۷

جدول ۴-۳- اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر ماده خشک، خاکستر، پروتئین و چربی لاشه ماهی..... ۳۸

جدول ۴-۴- اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر جمعیت باکتریایی روده ماهی ۳۸

جدول ۴-۵- اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز محتویات دستگاه گوارش ماهی ۳۹

جدول ۴-۶- اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر غلظت گلبول قرمز، هماتوکریت و گلبول سفید سرم ماهی ۴۰

فهرست اشکال و نمودارها

شکل ۱-۱- ماهی قزل‌آلا رنگین کمان..... ۹

شکل ۳-۱- کشت جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در محیط مایع و جامد زاروک ۲۱

شکل ۳-۲- اندازه‌گیری میزان بیومس در طی دوره رشد با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرون ۲۲

شکل ۳-۳- بهینه‌سازی محیط کشت به منظور دستیابی به محیط کشت بهینه ۲۳

شکل ۳-۴- کشت در ظروف ۱۵ لیتری ۲۳

شکل ۳-۵- کشت در ظروف ۴۰ لیتری ۲۴

شکل ۳-۶- کشت در ظروف ۸۰ لیتری ۲۴

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۳-۷- تولید جلبک در وان‌های پلی اتیلنی ۱۰۰۰ لیتری در کارگاه کشت جلبک ۲۵

شکل ۳-۸- پرورش جلبک در استخر ۴۰۰۰ لیتری در کارگاه کشت جلبک ۲۵

شکل ۳-۹- مزرعه قزل‌آلا رنگین کمان ۲۶

شکل ۳-۱۰- آماده‌سازی خوراک و تیمارهای آزمایشی ۲۸

شکل ۳-۱۱- شمارش بار میکروبی ۳۲

نمودار ۴-۱- نمودار رشد ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با استفاده از دانسیته نوری ۳۶

نمودار ۴-۲- منحنی رشد ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با استفاده از اندازه‌گیری وزن خشک ۳۶

Archive of SID

www.SID.ir

فصل اول:

کلیات

Archive of SID

www.SID.ir

۱-۱- مقدمه

رشد روزافزون صنعت پرورش ماهی، موجب افزایش برخی از بیماری‌های باکتریایی و در نتیجه افـزایش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (Defoirdt et al., 2011). استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمـان عفونت‌های انسانی، بیماری‌های دامی، کشاورزی و شیلات سبب افـزایش ایـن مـواد در محـیط زیسـت و در نتیجه مقاوم شدن برخی از باکتری‌ها به خصوص باکتری‌های گـرم منفـی بـه آن‌هـا شـده‌اسـت. همچنـین گسترش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث ایجاد باکتری‌هایی با چندین برابر مقاومـت شـده اسـت کـه سـبب آلودگی مواد غذایی و در نتیجه ایجاد عفونت‌های مختلف در مصرف‌کننده می‌شود (Matyar et al., 2004). مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، به‌دلیل مقاومت متقابل پـاتوژن‌هـا و مانـدگاری در بافـت‌هـا، در سـال ۲۰۰۶ توسـط اتحادیه اروپا ممنوع شده است. بنابراین دانشمندان به دنبال جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌هـا هسـتند (Hajati et al., 2011).

در همین راستا، گیاهان دارویی و اسانس‌های استخراج شده از گیاهان به دلیل ویژگی‌های ضدمیکروبی و اثر تحریک‌کننده بر سیستم گوارش جـانوران اهمیـت بیشـتری دارد (Ciftci et al., 2005). اثـرات مفیـد افزودنی‌های گیاهی بر جانوران ممکن است به دلیل اثرات مثبت آن‌ها بر مصـرف خـوراک، تحریـک ایمنـی، خواص ضدمیکروبی، ضد ویروسی و یا اثرات ضدالتهابی آن‌ها باشد (Fotea et al., 2010).

جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*[1] (جلبک سبز- آبی)، جلبکی تک سلولی و میکروسکوپی اسـت کـه در آب شیرین رشد می‌کند. این ریزجلبک منبع غنی از مواد غذایی شامل مواد مغذی مختلف و آنتـی‌اکسـیدان‌هـا می‌باشد. همچنین، منبع مهمی از رنگیزه فیکوسیانین است که دارای خواص آنتی‌اکسـیدانی و ضـد التهـابی بسیار قوی می‌باشد (Hemalatha et al., 2012a). بـه عـلاوه زیسـت تـوده خشـک *اسـپیرولینا* دارای ارزش غذایی بسیار بالایی است، زیرا حاوی حدود ۶۰-۷۰ درصد پروتئین می‌باشد. همچنین منبـع بسـیار غنـی از اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری و مواد معدنی مـی‌باشـد (Khan et al., 2005). مشـاهدات نشـان داده اسـت کـه عصـاره اتـانولی *اسـپیرولینا پلاتنسـیس* شـامل آلکالوئیـدها، فلاونوئیـدها،

[1] *Spirulina platensis*

Archive of SID
www.SID.ir

گلیکوزیدها، تانن ها و ترکیبات فنولیک، استروئیدها و ساپونین‌ها می‌باشد (Anbarasan et al., 2011a). امروزه استفاده از مواد طبیعی به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها، رنگ‌های مصنوعی و سایر مواد شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. ریزجلبک اسپیرولینا به منظور استفاده در صنایع غذایی در سراسر جهان کشت می‌شود (Shanmugapriya et al., 2015). بر اساس پژوهش‌های اخیر *اسپیرولینا پلاتنسیس*، یکی از مواد افزودنی خوراکی با کیفیت بالا می‌باشد که می‌تواند در تغذیه انواع آبزیان مورد استفاده قرار گیرد (Akbary and Sondakzehi, 2016 ؛Adel et al., 2016 ؛Ghaeni et al., 2011).

با توجه به اثرات مفید ریزجلبک *اسپیرولینا* در آبزی‌پروری، این مطالعه با هدف بررسی اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا* تولید شده در جهاد دانشگاهی مازندران بر کاهش درصد تلفات، بهبود فلور میکروبی روده و افزایش عملکرد رشد و تقویت سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام شد. این ارزیابی به منظور دستیابی به سطح بهینه جلبک با هدف تولید نیمه صنعتی مکمل غذایی آبزیان از جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و استفاده در مزارع پرورش آبزیان به خصوص ماهی قزل‌آلا رنگین کمان[۲] می‌باشد.

۱-۲- بیان مسأله

امروزه کمبود مواد غذایی در جهان مسئله بسیار مهمی می‌باشد. اکثر جوامع در پی یافتن راه‌حل مناسبی برای حل این مشکل هستند. با افزایش جمعیت جهان، روز به روز نیاز به مواد غذایی به ویژه مواد پروتئینی افزایش می‌یابد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که تقاضا برای محصولات آبزی به‌طور گسترده‌ای رو به افزایش است. تخمین زده شده که در سال ۲۰۲۰، ۱۲۰-۱۳۰ میلیون تن ماهی به منظور تأمین تقاضا در سراسر جهان مورد نیاز خواهد بود (Rana et al., 2009).

ماهی قزل‌آلا رنگین کمان، به دلیل وجود پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع ضروری، مواد معدنی و ویتامین‌ها نقش به‌سزایی در تغذیه مناسب دارد (Guler *et al*., 2008).

[2] *Oncorhynchus mykiss*

Archive of SID
www.SID.ir

پرورش ماهی در دهه گذشته توسعه بسیاری یافته است و بهبود عملکرد ماهی و مقاومت آبزیان در برابر بیماری‌ها، چالش مهمی در پرورش ماهی می‌باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای جلوگیری و کنترل بیماری‌های باکتریایی در آبزیان موجب افزایش مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها شده است (Teuber, 2001). بر همین اساس چند راهبرد جایگزین پیشنهاد شده است که یکی از روش‌ها استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان عوامل کنترل زیستی می‌باشد (Irianto and Austin, 2002). *اسپیرولینا*، جلبکی رشته‌ای و سبزآبی است که حاوی (۶۰-۷۰ درصد) پروتئین، ویتامین، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری مانند اسید پالمیتیک، لینولئیک اسید و لینولنیک اسید می‌باشد. بنابراین، به عنوان مواد مغذی برای پرورش لارو ماهی‌ها (Lu and Takeuchi., 2004 ؛Lu et al., 2002) و در جیره غذایی ماهی‌های بالغ (Palmegiano et al., 2005 ؛Takeuchi et al., 2002) مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۱-۲-۱- آنتی‌بیوتیک‌ها

عوامل ضد میکروبی به عنوان موادی شناخته شده‌اند که توانایی کشتن یا مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را دارند. بعد از کشف آن‌ها توسط فلمینگ در ۱۹۲۸، آنتی بیوتیک‌ها داروهای ضروری برای سلامتی و رفاه انسان و حیوانات شدند. آنتی‌بیوتیک‌ها باید برای میزبان بی‌خطر باشند که به میزبان اجازه دهند تا از ترکیبات شیمیایی برای درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی استفاده کنند. علاوه بر استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در طب انسانی، از آن‌ها به عنوان ضدمیکروب‌ها در درمان و پیشگیری بیماری‌ها در حیوانات و آبزیان نیز استفاده می‌شوند. در ایالات متحده آمریکا آنتی‌بیوتیک‌های اکسی تتراسایکلین، فلورفنیکول و سولفادیمتوکسین/ ورمت متوریم مجاز می‌باشد. شایع‌ترین مسیر برای استفاده آنتی‌بیوتیک‌ها از طریق ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها با جیره غذایی می‌باشد. با این حال، ماهی به طور مؤثری آنتی‌بیوتیک‌ها را متابولیزه نمی‌کند و آن‌ها را از طریق مدفوع دفع می‌کند. ارزیابی‌ها نشان می‌دهد که ۷۵ درصد آنتی‌بیوتیک‌هایی که به ماهی می‌دهند به آب منتقل می‌شود (Burridge et al., 2010). در اکثر کشورها، سازمان‌های دولتی اقدامات کنترل‌کننده‌ای را اعمال می‌کنند. به عنوان مثال در نروژ، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز به نسخه تجویزی دامپزشک دارد و تنها برای درمان از آن‌ها استفاده می‌شود (Defoirdt et al., 2011).

Archive of SID

www.SID.ir

چندین آنتی‌بیوتیک از جمله آموکسی‌سیلین، آنتروفلوکساسین، اریترومایسین، فورازولیدون و اکسی‌تتراسایکلین از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در کنترل بیماری‌های آبزیان می‌باشند (Harikrishnan et al., 2010).

۱-۲-۲- پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که منجر به بهبود بقاء، ایمنی بدن، بهبود عملکرد سیستم دستگاه گوارش و رشد ماهی می‌شوند (Ringø et al., 2010). در طول دهه گذشته، مطالعات متعددی در زمینه استفاده از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در سلامت ماهیان پرورشی، میگو و دیگر موجودات آبزی صورت گرفته است (Torrecillas et al., 2007؛ Dimitroglou et al., 2010؛ Ringø et al., 2010؛ Wang et al., 2008؛ Kim and Austin, 2006).

پروبیوتیک در لغت یونانی به معنای "برای زندگی" می‌باشد (Gibson and Fuller, 2000). این واژه برای اولین بار توسط لیلی و استیل ویل (۱۹۶۵) برای مواد مترشحه از میکروارگانیسم‌هایی که موجب تحریک رشد سایر میکروارگانیسم‌ها می‌شدند، به کار رفت. از آن زمان توجه بسیاری از دانشمندان به پروبیوتیک معطوف شد و تعاریف بسیاری برای آن ارائه شد که می‌توان آغاز آن‌ها را به فولر (۱۹۸۹) نسبت داد (Afrc, 1989). وی پروبیوتیک را به عنوان یک خوراک میکروبی زنده که با بهبود بخشیدن تعادل میکروبی روده‌ای میزبان، موجب اثرات مثبت در میزبان می‌شود، معرفی نمود. پروبیوتیک‌های رایج عبارتند از: فراورده‌های فروکتواولیگوساکارید نظیر اولیگوفروکتوز و اینولین. اگرچه ترانس گالاکتواولیگوساکاریدها، گلیکواولیگوساکاریدها، رافینوز و برخی دیگر از قندها نیز مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (Monsan and Paul, 1995؛ Piva, 1998).

پری‌بیوتیک‌ها به طور انتخابی باعث تحریک رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده می‌شوند. این ترکیبات به طور بالقوه برای سلامتی و بهبود عملکرد انواع حیوانات مفید می‌باشند (Ringø et al., 2010). پری‌بیوتیک‌ها مانند اسیدهای آلی و غیره به طور عمده برای دفع مواد غذایی حاوی عوامل

Archive of SID
www.SID.ir

مختلف عفونی و بیماری‌زا استفاده می‌شوند (Junior and Barrow, 1996). به طور کلی پری‌بیوتیک‌ها قطعات کوچکی از کربوهیدرات‌ها هستند و به‌صورت تجاری به عنوان اولیگوساکاریدهای گالاکتوز، فروکتوز و مانوز موجود می‌باشند. اولیگوساکارید مانان، مکانیسم انتخابی نداشته و عمدتاً باعث دفع باکتری‌های پاتوژن و تحریک سیستم ایمنی می‌شود (Spring et al., 2000).

۱-۲-۳- اهمیت جلبک‌ها در صنعت آبزی‌پروری

جلبک‌ها به عنوان مکمل غذایی در آبزی‌پروری، باعث افزیش رشد، کارایی غذا و کیفیت بیوشیمیایی لاشه در آبزیان مختلف می‌شوند (Jaime-Ceballos et al., 2005). ریزجلبک‌ها، موجودات تک سلولی هستند که عمل فتوسنتز را انجام می‌دهند و در آب‌های شور و شیرین رشد می‌کنند. این جلبک‌های میکروسکوپی به عنوان یک منبع غنی از مواد مغذی، مواد زیستی فعال از جمله پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب اشباع نشده، مواد معدنی، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و کاروتنوئیدها در تغذیه انسان و حیوانات کاربرد دارند (Świątkiewicz et al., 2015). بر همین اساس تحقیقات گسترده‌ای بر روی اثر جلبک‌ها بر آبزیان صورت گرفته است (Torrecillas et al., 2007). نتایج نشان می‌دهد که جلبک‌ها موجب بهبود رشد لاروی و بقاء (Ghaeni et al., 2011)، پارامترهای لاشه (Sirakov et al., 2012)، بهبود پارامترهای خون و فعالیت فسفاتاز (James et al., 2009) در آبزیان می‌شوند.

۱-۲-۴- معرفی جلبک *اسپیرولینا* و اهمیت آن

اسپیرولینا (جلبک سبز – آبی)، یک جلبک تک‌سلولی میکروسکوپی است که در آب شیرین رشد می‌کند و ساختاری ساده اما ترکیب پیچیده‌ای دارد (Hemalatha et al., 2012). این جلبک دارای ساختار مارپیچ است که دارای قطر مارپیچ ۱۰ میکرومتر و طول حدود ۲۰۰ تا ۴۰۰ میکرومتر است (Tomaselli, 1997). این جلبک منبع انواع مواد مغذی می‌باشد. علاوه بر این، منبع مهمی از رنگیزه‌های فتوسنتزی به نام فیکوسیانین است که دارای خواص بسیار قوی آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشد (Hemalatha et al., 2012). غربالگری فیتوشیمیایی عصاره اتانولی جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، وجود آلکالوئیدها، فلاونوئیدها،

Archive of SID
www.SID.ir

گلیکوزیدها، تانن‌ها، ترکیبات فنولی، استروئیدها و ساپونین‌ها را نشان می‌دهد (Anbarasan et al., 2011). همچنین این جلبک به دلیل محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع قابل توجه است. زیرا بخش بزرگی از آن، از گاما-لینولنیک اسید تشکیل شده است (Cohen et al., 1987). این جلبک دارای سطوح پایین‌تری از گلیسریدهای سرم و لیپوپروتئین‌هایی با چگالی کم (Leaf and Weber, 1988) می‌باشد که به عنوان یک محرک رشد، پروبیوتیک و تقویت‌کننده سیستم ایمنی در ماهی مطرح است (James et al., 2009).

اسپیرولینا میکروجلبکی با ارزش اقتصادی بالاست و یکی از معدود جلبک‌هایی است که به دلیل عملکرد بالای فتوسنتزی، سرعت رشد سریع و سازگاری با محیط زیست، برای کشت در مقیاس بالا مناسب است (Tomaselli, 1997).

۱-۲-۴-۱- شرایط رشد

دمای مطلوب برای رشد *اسپیرولینا* حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد و محدوده pH بهینه از ۹/۵ تا ۱۰ می‌باشد. سرعت رشد آن در معرض نور قرمز به میزان قابل توجهی بالاتر از نور مرئی است و نور قرمز منبع نور مناسبی برای رشد آن محسوب می‌شود (Tomaselli, 1997).

۱-۲-۴-۲- ترکیبات شیمیایی محیط کشت و مواد مغذی *اسپیرولینا*

بر اساس مطالعات و بررسی‌های انجام شده محیط کشت ایده‌آل برای رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، محیط کشت زاروک می‌باشد (Abd El Baky and El Baroty, 2016 ؛Usharani et al., 2015).

آرتروسپیرا به‌طور گسترده‌ای با نام "*اسپیرولینا*" به عنوان مکمل غذایی برای انسان و حیوانات به فروش می‌رسد (Belay, 2002). جلبک‌ها قادرند در زیستگاه‌های متفاوتی زندگی کنند. این زیستگاه‌ها آن‌ها را در معرض تنش‌های زیستی مانند سطح pH بالا، فلزات سنگین و شوری قرار دهد. این شرایط منجر به تولید اکسیژن بسیار واکنش‌پذیر خطرناک[3] می‌گردد. در صورتی‌که این ترکیبات مهار نشوند موجب عواقب شدیدی مانند تخریب متابولیسم سلولی و آسیب به اجزای سلولی شود. جلبک‌ها دارای چندین مکانیسم برای کاهش

[3] Reactive Oxygen Species = ROS

Archive of SID
www.SID.ir

اثرات مضر ROS از جمله آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند کلروفیل، کاروتنوئیدها، فیکوبیلی‌پروتئین‌ها، فنول‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی هستند. درک بهتر مکانیسم‌هایی که جلبک‌ها از آن استفاده می‌کنند در نهایت ممکن است منجر به تولید این آنتی‌اکسیدان‌ها برای صنعت داروسازی شود (Ismaiel et al., 2016). *اسپیرولینا*، منبع ارزشمندی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند رنگدانه‌های فایکوسیانین محلول در آب، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی است. همچنین دارای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد (El-Baky et al., 2007).

۱-۲-۴-۳- کشت صنعتی جلبک *اسپیرولینا*

در طی ۱۵ سال گذشته، چین به عنوان بزرگترین تولیدکننده زیست توده ریزجلبک‌ها در جهان می‌باشد. *اسپیرولینا*، بزرگترین محصول ریزجلبکی با ارزش و حجم بالا می‌باشد و پس از آن چهار ریزجلبک دونالیلا[4]، کلرلا[5] و هماتوکوکوس[6] به صورت تجاری پرورش داده می‌شوند. بر اساس ارزیابی انجام شده، کشور چین حدود دو سوم بیومس ریزجلبکی جهان را تولید می‌کند که تقریباً ۹۰ درصد آن برای مصرف انسان و بقیه به عنوان خوراک حیوانات و عمدتاً در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد. تحقیقات در چین مانند سایر کشورهای جهان، به منظور تولید محصولات با ارزش بالا و همچنین تولید فراورده‌های حاصل از ریزجلبک‌ها، از داروها گرفته تا سوخت‌های زیستی در حال پیشرفت است. استفاده از ریزجلبک‌ها به عنوان منبعی برای تولید خوراک انسان و آبزیان در حال افزایش است (Chen et al., 2016).

۱-۲-۴-۴- کاربرد *اسپیرولینا* در آبزیان

جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* میکروجلبکی است که به دلیل سطح بالایی از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها، کاروتنوئیدها، بتا کاروتن، زانتوفیل و لینولئیک اسید به عنوان یک مکمل غذایی عالی شناخته شده است (Belay et al., 1996) (Belay et al., 1996). مطالعات متعددی اثرات سودمند جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بر روی عملکرد رشد، تقویت سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری در گونه‌های

[4] Dunaliella
[5] Chlorella
[6] Haematococcus

Archive of SID
www.SID.ir

مختلف ماهیان مانند تاسماهی سیبریایی[7]، Acipenser baeri (Palmegiano et al., 2005)، ماهی کپور معمولی[8] (Watanuki et al., 2006)، تیلاپیای نیل[9] (Ragap et al., 2012) نشان داده‌اند. با این حال تاکنون، مطالعات کمی بر روی اثرات این جلبک بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی و سایر فاکتورهای خونی در ماهی قزل‌آلا رنگین کمان انجام شده است.

۱-۲-۵- ماهی قزل‌آلا رنگین کمان

ماهی قزل‌آلا از خانواده آزاد ماهیان[10] است. این ماهی از راسته آزاد ماهی سانان[11]، از جنس قزل‌آلاها[12] است (شکل ۱).

از لحاظ ظاهری دارای بدنی کشیده و باله‌های توسعه یافته است که تعداد آن‌ها ۸ عدد است و شامل دو باله سینه‌ای، دو باله شکمی، یک باله مخرجی و دو باله پشتی است. یکی از باله‌های پشتی بالای بدن و در وسط قرار دارد و دارای شعاع است. باله پشتی دیگر کوچک و بدون شعاع و بر روی ساقه دمی قرار داشته که به نام بالچه چربی معروف است که مشخصه اصلی کلیه آزاد ماهیان است. قزل‌آلا رنگین کمان دهان بزرگی دارد که هنگام صید طعمه به علت آزاد بودن استخوان فکی تا حد زیادی باز شده و طعمه‌های بزرگ را شکار می‌کند. رنگ اصلی سر و حاشیه بدن ماهی به رنگ زرد روشن است که در بالای خط جانبی لکه های تیره فراوانی دیده می‌شود. طول این ماهی به ۴۰ سانتی‌متر و وزن آن به ۱/۳ کیلوگرم می‌رسد. این ماهی دارای ۶۳-۶۱ مهره، ۱۹ خار آبششی، ۴۸ عدد زوائد باب المعده‌ای است. همچنین مانند بیشتر قزل‌آلاها دندان‌های تیزی دارد که بر روی استخوان در سقف دهان قرار گرفته‌اند.

زیستگاه اصلی آن از رودخانه کاسکوکوئیم در آلاسکا شروع شده و به سمت جنوب ادامه یافته و به منطقه کالیفرنیا می‌رسد. پراکنش این ماهی در ایران در حوزه دریای خزر، رودخانه‌های دجله، کارون، تجن و

[7] *Siberian sturgeon*
[8] *Cyprinus carpio*
[9] *Oreochromis niloticush*
[10] *Salmonidae*
[11] *Salmoniformes*
[12] *Oncorhynchus*

Archive of SID
www.SID.ir

دریاچه نمک هست. به‌طور کلی قزل‌آلا رنگین‌کمان متعلق به آب‌های سرد و شفاف و بستر سنگی، سنگلاخی و شنی است. این ماهی در شرایط طبیعی در رودخانه‌ها و دریاچه‌های سرد و خنک زیست می‌کند.

دو واریته اصلی از آن وجود دارد. یکی از واریته‌ها که مهاجر دریا است، قزل‌آلا پولاد سر نامیده می‌شود. این ماهی در اغلب رودخانه‌هایی که به اقیانوس آرام می‌ریزند وجود دارد. واریته دیگر ساکن آب شیرین است.

شکل ۱. ماهی قزل‌آلا رنگین کمان

۱–۳– اهمیت و ضرورت پژوهش

هدف نهایی در آبزی‌پروری، افزایش بازده تولید جهت به حداکثر رساندن سوددهی می‌باشد. افزایش تراکم توده زنده یکی از روش‌های افزایش بازده تولید می‌باشد اما این مسئله ممکن است ابتلاء به بیماری را در آبزیان به سبب پایین آمدن کیفیت آب و به وجود آمدن شرایط استرس‌زا، افزایش دهد. اغلب آبزیان پرورشی که سیستم ایمنی‌شان توسط شرایط استرس‌زا به خطر افتاده است تحت تأثیر عفونت‌های باکتریایی قرار می‌گیرند. یکی از معمول‌ترین روش‌های پیشگیری و درمان این عفونت‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. اما استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در جیره غذایی آبزیان پرورشی به عنوان محرک رشد به طور گسترده مورد انتقاد قرار گرفته است که دلایل آن شامل افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، از بین بردن فلور میکروبی مفید دستگاه گوارش، هزینه بالای این داروها و عوارض جانبی آن‌ها بر آبزیان می‌باشد. ثابت گردیده است که برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها سیستم ایمنی را سرکوب می‌کنند و آبزیان را بیشتر مستعد

Archive of SID
www.SID.ir

پذیرش بیماری‌های باکتریایی، ویروسی و قارچی می‌نمایند. افزایش نگرانی‌های ناشی از استفاده آنتی‌بیوتیک‌ها منجر به ممنوعیت استفاده از آن‌ها به عنوان محرک رشد در صنعت آبزی‌پروری آمریکا و اروپا به ترتیب از سال‌های ۱۹۹۶ و ۲۰۰۶ شده است (کریم زاده و همکاران، ۱۳۹۳). این تغییر سیاست در عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک به عنوان محرک رشد، پیشگیری و کنترل بیماری برای آبزی‌پروری مفید بوده و بدین ترتیب در توسعه راهکارهای جدید جهت پیشگیری و کنترل بیماری‌های آبزیان مؤثر می‌باشد. افزودنی‌های غذایی از جمله راهکارهایی می‌باشند که علاوه بر تأمین مواد مغذی لازم در جهت حمایت از رشد آبزیان، می‌توانند در افزایش سلامت، مقاومت نسبت به استرس و عوامل بیماری‌زا مفید واقع شوند. بدین ترتیب در سال‌های اخیر تحقیقات فراوانی در توسعه استفاده از افزودنی‌های غذایی که در بالا بردن سلامت آبزیان نقش دارند، انجام شده است. از جمله این افزودنی‌های غذایی جلبک *اسپیرولینا* می‌باشد. *اسپیرولینا*، جلبک سبز- آبی میکروسکوپی است و مقوی‌ترین غذای سبز شناخته شده در جهان می‌باشد. این گیاه به صورت معلق در آب رشد می‌کند به همین دلیل نیاز به ساختن دیواره سلولی که این دیواره به مقدار زیادی دسترسی به مواد مغذی داخل سلول را محدود می‌کند، ندارد. این گیاه با بیش از ۶۰ درصد پروتئین حاوی بیشترین و قابل جذب‌ترین پروتئین گیاهی است. اسیدهای آمینه موجود در *اسپیرولینا* مشابه تخم مرغ می باشد. لینولئیک اسید، ویتامین و سولفولیپیدها از جمله موادی هستند که در این گیاه وجود دارند. علاوه بر این *اسپیرولینا* منبع خوبی از بتاکارتن، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و عناصر کمیاب است. مقدار چربی و کربوهیدرات این گیاه کم و کلسترول ندارد (Jamil et al., 2015).

ریزجلبک‌ها نقش حیاتی در تغذیه آبزیان دارند. بیش از ۴۰ سال است که کشت تجاری ریزجلبک‌ها به منظور استفاده از متابولیت آن‌ها انجام می‌شود و گونه‌های اصلی جلبک‌ها شامل کلرلا و *اسپیرولینا* برای تولید غذای سالم، *دونالیلا سالینا* برای تولید کاروتن و هماتوکوکوس برای تولید استاگزانتین و چندین گونه با هدف تغذیه آبزیان تولید می‌شوند (Borowitzka, 1999).

اسپیرولینا جلبک سبز- آبی میکروسکوپی، مقوی‌ترین غذای سبز شناخته شده در جهان است. این جلبک با بیش از ۶۰ درصد پروتئین حاوی بیشترین و قابل جذب‌ترین پروتئین گیاهی است. لینولئیک

Archive of SID
www.SID.ir

اسید، ویتامین و سولفولیپیدها از جمله موادی هستند که در این ریزجلبک وجود دارند. علاوه بر این *اسپیرولینا* منبع خوبی از بتاکارتن، کاروتنوئیدها، ویتامین‌ها و عناصر کمیاب است. مقدار چربی و کربوهیدرات این جلبک کم و کلسترول ندارد (Jamil et al., 2015).

با توجه به اینکه تحقیقات اندکی در خصوص استفاده از جلبک‌ها در جیره ماهی قزل‌آلا رنگین کمان صورت گرفته است، لذا در این پروژه اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (محصول جهاد دانشگاهی مازندران) بر کاهش درصد تلفات، بهبود فلور میکروبی روده و افزایش عملکرد رشد و تقویت سیستم ایمنی ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از این پروژه دستیابی به سطح بهینه جلبک در جیره غذایی به منظور تولید نیمه صنعتی مکمل غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان می‌باشد.

۱-۴- اهداف پژوهش

۱- تعیین بهترین سطح عملکرد جلبک *اسپیرولینا* در جیره غذایی ماهی قزل آلا رنگین کمان

۲- تعیین اثر جلبک *اسپیرولینا* بر شاخص‌های رشد مانند ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن، وزن نهایی و میانگین وزن

۳- تعیین اثر جلبک *اسپیرولینا* بر شاخص بازماندگی

۴- تعیین اثر جلبک *اسپیرولینا* بر برخی متابولیت‌های خونی مانند غلظت گلوکز و گلبول‌های سفید

۵- تعیین اثر جلبک *اسپیرولینا* بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی روده

۱-۵- سوالات پژوهش

۱. آیا جلبک *اسپیرولینا* بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلا مؤثر است؟

۲. چه میزانی از جلبک در جیره غذایی ماهی موجب کاهش تلفات در آن‌ها می‌گردد؟

۳. آیا جلبک *اسپیرولینا* بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلا مؤثر است؟

Archive of SID
www.SID.ir

فصل دوم:

منابع مطالعاتی موضوع و مبانی نظری پژوهش

Archive of SID

www.SID.ir

۲-۱- پیشینه پژوهش

۲-۱-۱- پیشینه داخلی

امروزه تحقیق بر روی استفاده از جلبک‌ها در جیره غذایی آبزیان افزایش یافته است. یگانه و همکارانش اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) را بر روی پارامترهای بیوشیمیایی سرم و پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها ۱۸۰ ماهی را به طور تصادفی در ۱۵ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری تقسیم کردند. تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، پروتئین کل و آلبومین در گروه‌های تغذیه شده با جلبک به طور معنی‌داری افزایش یافت. تغذیه با *اسپیرولینا پلاتنسیس* اثر معنی‌داری بر میزان هماتوکریت، کلسترول، تری‌گلیسرید و لاکتات خون نداشت. کورتیزول و گلوکز به طور قابل توجهی با افزایش میزان جلبک کاهش یافت. نتایج این آزمون نشان داد که افزودن ۱۰ درصد *اسپیرولینا پلاتنسیس* به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان به عنوان یک محرک سیستم ایمنی معرفی می‌گردد (Yeganeh et al., 2015).

در مطالعه‌ای دیگر توسط تیموری و همکاران، اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد) بر رنگیزه‌های پوست و فیله و عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و هر تیمار با سه تکرار انجام شد. ۱۱۶ ماهی با میانگین وزن اولیه ۸± ۱۰۱ گرم درون ۱۸ تانک توزیع شد. این آزمایش به مدت ده هفته انجام شد. میزان کاروتنوئید پوست و فیله با افزایش سطح جلبک به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). نتایج این آزمایش نشان داد که *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند به عنوان یک منبع جایگزین طبیعی کاروتنوئیدی در جیره‌های غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان معرفی شود (Teimouri et al., 2013).

در پژوهشی دیگر اثر سطوح مختلف مکمل غذایی *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، پاسخ ایمنی خونی و مقاومت در برابر بیماری‌ها در فیل ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از ۸ هفته آزمایش، پارامترهای رشد، تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید روده و فعالیت

Archive of SID
www.SID.ir

آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز بـه طـور معنـی‌داری (P<۰/۰۵) در گـروه تغذیـه شـده بـا ۱۰ درصـد *اسـپیرولینا پلاتنسیس* افزایش یافت. همچنین در این گروه میزان پروتئین کل سرم به طور معنی‌داری بالا بود. به‌عـلاوه میزان IgM سرم و فعالیت لیزوزیم در گروه‌های حاوی ۵ یا ۱۰ درصد نسبت به سـایر گـروه‌هـای آزمایشـی معنی‌دار بود. از سوی دیگر، میزان تری‌گلیسریدهای سرم و تعداد لنفوسیت‌های خون در گروه‌های آزمـایش کمتر از گروه کنترل بود. نتایج حاضر نشان داد که مکمل غذایی *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند برای حفـظ سلامت کلی فیل ماهی مفید باشد (Adel et al., 2016).

۲-۱-۲- پیشینه خارجی

تحقیقات متعددی بر روی بررسی اثر جلبک‌های فراسودمند بر عملکرد رشد و ایمنی آبزیان انجـام گرفتـه است. Sirakov و همکاران، اثر جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بر عملکرد رشـد و پارامترهـای لاشـه مـاهی قزل‌آلا رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش، تیمارها شامل جیره حاوی ۱۰ درصد جلبـک و جیره فاقد جلبک بود. وزن اولیه ماهی در گروه شـاهد ۱۴/۹۵ گـرم و در گـروه آزمـایش ۱۴/۶۶ گـرم بـود. افزایش رشد و میانگین رشد روزانه در ماهی تغذیه شده با ۱۰ درصد جلبک بـالاتر از گـروه تغذیـه شـده بـا جیره فاقد جلبک بود. اما تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. ماهی تغذیه شده بـا جلبـک، تفـاوت معنـی‌داری (*P*<۰/۰۵) در عملکرد مصرفی نسبت به گروه کنترل نشان داد (Sirakov et al., 2012).

Tan و همکاران، اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) را بـر عملکـرد رشد و پارامترهای خونی ماهی سی باس آسیایی[۱۳] مورد بررسی قرار دادند. میزان بقا در مـاهی‌هـای تغذیـه شده با *اسپیرولینا* به‌طـور معنـی‌داری افـزایش یافـت. در بررسـی پارامترهـای خـونی، میـزان هماتوکریـت، هموگلوبین، فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز با افزودن جلبک به جیره غذایی ماهی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Tan et al., 2017).

[13] Lates calcarifer

Archive of SID
www.SID.ir

Kim و همکاران، اثر جایگزینی پودر ماهی با *اسپیرولینا* را بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و پاسخ ایمنی در ماهی آرواره چاقویی راه راه[14] بررسی کردند. افزایش *اسپیرولینا* در رژیم غذایی با دوز مناسب موجب افزایش فاکتورهای موردنظر شد (Kim et al., 2013). (Kim et al., 2013).

در تحقیق دیگری اثر *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر بازده خوراک و میزان بقا ماهی تیلاپیا ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد که میزان پروتئین، محتوای لیپید قطبی در ماهی‌های تغذیه شده با *اسپیرولینا* بیشتر از گروه شاهد بود. فراوانی اسید لینولئیک و گاما لینولنیک اسید موجود در *اسپیرولینا* بر پروفایل اسیدچرب ماهی منعکس شده است و موجب افزایش این اسیدهای چرب غیراشباع در ماهی شده است (Takeuchi et al., 2002).

Lu و همکاران اثر جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* را بر عملکرد رشد لارو ماهی تیلاپیا بررسی کردند. نتایج نشان داد که این جلبک موجب بهبود عملکرد در لارو ماهی تیلاپیا می‌گردد (Lu et al., 2002).

۲-۱-۳- تحلیل پیشینه پژوهش

بررسی نتایج پژوهش‌های داخلی و خارجی نشان داد که جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* اثر مؤثری بر رشد و پارامترهای لاشه (Sirakov et al., 2012)، بهبود پارامترهای خونی مانند تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، تعداد هموگلوبین ماهی (Yeganeh et al., 2015)، ایمنی ماهی *Oplegnathus* (Kim et al., 2013)، افزایش اسیدهای چرب غیراشباع مانند لینولئیک اسید و لینولنیک اسید در ماهی (Takeuchi et al., 2002) و بهبود میانگین رشد و بقاء ماهی تیلاپیا (Lu et al., 2002) داشت. همچنین تحقیقات نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با جلبک *اسپیرولینا* موجب افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند ویتامین‌های C و E، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی همچون سوپراکسید دیسموتاز شد (Radhakrishnan et al., 2014). از سوی دیگر، افزودن جلبک *اسپیرولینا* به جیره غذایی ماهی در مرحله رشد لاروی موجب بهبود رشد و بقا ماهی گردید (Takeuchi et al., 2002Lu et al., 2002,).

[14] *Oplegnathus fasciatus*

Archive of SID
www.SID.ir

بررسی مطالعات محققان در خصوص اثر جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر گونه‌های مختلف آبزیان نشان می‌دهد که این ریزجلبک موجب بهبود رشد و کیفیت محصول می‌گردد. در پژوهش حاضر، اثر ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر پارامترهای رشد و فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت. نکته قابل توجه در این پژوهش، استفاده از سطوح بسیار پایین این ریزجلبک در جیره غذایی می‌باشد. در اکثر تحقیقات، سطوح بالای ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفته است. از سوی دیگر، می‌توان به این نکته توجه کرد که ریزجلبک‌ها بر اساس شرایط کشت و بهینه‌سازی شرایط دارای میزان متفاوتی از ترکیبات مؤثره مانند میزان پروتئین، انواع رنگیزه‌ها (کلروفیل، فیکوسیانین و ...) و سایر ترکیبات می‌باشند. این پروژه در راستای تولید نیمه انبوه ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و استفاده از آن در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت و با توجه به تفاوت بسیار قابل توجه در ماده مؤثره در ریزجلبک‌ها، استفاده از ریزجلبک تولید شده در واحد مازندران در جیره برای تعیین سطح بهینه ضروری به نظر می‌رسید تا اطلاعات دقیقی در دسترس تولیدکنندگان غذای آبزیان قرار گیرد.

۲-۲- مبانی نظری

این پژوهش به بررسی اثر سطوح مختلف جلبک *اسپیرولینا* بر عملکرد و برخی از فاکتورهای خونی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌پردازد. به منظور استفاده از جلبک در جیره غذایی می‌بایست سطح بهینه جلبک به‌دست آید. جلبک *اسپیرولینا*، ریزجلبک ارزشمندی است که به دلیل ارزش غذایی بالا و ترکیبات مفید قادر به افزایش عملکرد رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و افزایش تقویت سیستم ایمنی در بسیاری از موجودات می‌گردد.

امروزه به منظور افزایش رشد و حذف باکتری‌ها در آبزیان، از آنتی‌بیوتیک‌ها به وفور استفاده می‌گردد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به دلیل اثرات سوء آن، در بسیاری از کشورها ممنوع گردیده است. یکی از دغدغه‌های محققان کاهش و حذف مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها از جیره غذایی حیوانات می‌باشد. به دلیل وجود عفونت‌ها و بیماری‌های فراوان در مزارع تولید آبزیان و از سوی دیگر استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، انجام

Archive of SID
www.SID.ir

تحقیقاتی با هدف تولید ترکیبات زیستی که از طرفی در رفع بیماری‌ها مفید باشد و از سوی دیگر جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشد ضروری به نظر می‌رسد. تولید جلبک *اسپیرولینا* با کیفیت بالا و فاقد آلودگی و استفاده از این جلبک ارزشمند در جیره آبزیان کمک شایانی به تولید غذای سالم در جامعه می‌نماید. بسیاری از پرورش‌دهندگان آبزیان، کارخانه‌های تولید خوراک آبزیان که تمایل به تولید مواد غذایی سالم، عاری از باکتری و فاقد آنتی‌بیوتیک دارند، می‌توانند از این نتایج استفاده نمایند.

پروژه‌های بین‌رشته‌ای که قادر به تولید ترکیبات مفید زیستی به منظور استفاده در جیره غذایی دام، طیور و آبزیان می‌باشند، کمک شایانی به بهبود تغذیه مصرف‌کنندگان می‌نمایند. تولید ریزجلبک *اسپیرولینا* با ارزش غذایی بالا و استفاده از آن در جیره غذایی آبزیان به منظور تولید محصولی سبز، از مهمترین اهداف این طرح است.

۲-۳- چارچوب نظری

نتایج آزمایشات در مورد استفاده از *اسپیرولینا پلاتنسیس* در جیره‌های غذایی آبزیان در جدول ۱ خلاصه شده است. اثرات جلبک *اسپیرولینا* به عنوان افزودنی خوراکی بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در سال‌های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است (Teimouri et al., 2013, Sirakov et Yeganeh et al., 2015 , al., 2012). پژوهش‌ها نشان داد که این جلبک، بر پارامترهای خونی مانند افزایش سطوح گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و هموگلوبین مؤثر است (Yeganeh et al., 2015). همچنین در ماهی‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی *اسپیرولینا*، میزان کلسترول- HDL افزایش و میزان کلسترول- LDL کاهش می‌یابد (Yeganeh et al., 2015). در سایر پژوهش‌ها بیان شد که *اسپیرولینا* موجب بهبود عملکرد رشد و افزایش میزان کاروتنوئید و در نتیجه بهبود رنگ ماهی گردید (Teimouri et al., 2013).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. نتایج مطالعات اثر *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر آبزیان

سطوح مختلف *اسپیرولینا*(درصد)	حیوانات، مدت زمان و ویژگی‌های مورد مطالعه	نتایج	رفرنس
۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰	قزل‌آلا رنگین‌کمان، ده هفته، پارامترهای بیوشیمیایی سرم و خون شاخص‌های عملکرد، اندازه‌گیری بافتی	افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، هموگلوبین، پروتئین کل و سطوح آلبومین به طور معنی‌داری در گروه‌های تغذیه شده با اسپیرولینا پلاتنسیس تفاوت معنی‌داری در میزان هماتوکریت، کلسترول، تری‌گلیسرید و لاکتات خون گروه شاهد و نمونه مشاهده نشد. افزایش معنی‌داری در کورتیزول و گلوکز با افزایش میزان اسپیرولینا افزایش کلسترول HDL در ماهی تغذیه شده با ۱۰ درصد اسپیرولینا در مقایسه با سایر جیره‌ها. کاهش LDL با افزایش میزان اسپیرولینا	Yeganeh et al., (2015)
۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰	قزل‌آلا رنگین کمان، ده هفته، عملکرد رشد و رنگیزه‌ها	ماهی‌های تغذیه شده با ۵ درصد اسپیرولینا عملکرد رشد کمتری را نسبت به ماهی‌های تغذیه شده با ۷/۵ و ۱۰ درصد جلبک نشان دادند. افزودن ۱۰ درصد *اسپیرولینا*، موجب افزایش میزان کاروتنوئید گردید.	Teimouri et al., (2013)
۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰	فیل ماهی، ۸ هفته، عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، پاسخ ایمنی خونی و مقاومت در برابر بیماری‌ها	افزایش رشد، تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید روده، افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز، افزایش فعالیت لیزوزیم در ماهی‌های تغذیه شده با ۱۰ درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس	(Adel et al., 2016)
۰ و ۱۰	قزل‌آلا رنگین‌کمان، عملکرد رشد، پارامترهای لاشه ماهی	عملکرد مصرفی در ماهی تغذیه شده با جلبک بیشتر بود. تأثیر معنی‌داری بر میانگین رشد و افزایش رشد نداشت.	(Sirakov et al., 2012)
۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰	سی باس آسیایی، عملکرد رشد و پارامترهای خونی	افزایش بقا در ماهی تغذیه شده با اسپیرولینا، بهبود پارامترهای خونی، میزان هماتوکریت، هموگلوبین، فعالیت آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز	(Tan et al., 2017)
۰ و ۱۰	تیلاپیا، ۹هفته، بازده خوراک و میزان بقا	افزایش میزان پروتئین، لینولئیک و گاما لینولنیک	Takeuchi et al., (2002)

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج تحقیقات نشان داد که *اسپیرولینا پلاتنسیس* تأثیر به سزایی بر عواملی مانند پروتئین کل، سطح آلبومین، کورتیزول، گلوکز، میزان کاروتنوئید، رشد و بقاء، تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید روده، فعالیت آنزیم‌هایی مانند لیپاز، پروتئاز، آسپارتات آمینو ترانسفراز، فعالیت لیزوزیم، بهبود پارامترهای خونی (هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول‌های سفید و قرمز خون)، میزان لینولئیک و گاما لینولنیک در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان دارد.

۲-۴- فرضیه‌های پژوهش

فرض صفر(H_0): افزودن سطوح مختلف جلبک (*اسپیرولینا*) در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان بر شاخص‌های رشد، برخی از فراسنجه‌های خونی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و تلفات ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان تأثیر ندارد.

فرض یک (H_1): افزودن سطوح مختلف جلبک (*اسپیرولینا*) بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های خونی، فلور میکروبی دستگاه گوارش و تلفات ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان تأثیر دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

فصل سوم:

مواد و تجهیزات و روش‌های پژوهش

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۲- تهیه جلبک *اسپیرولینا*

نمونه‌های جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در تابستان ۱۳۹۵ در جهاد دانشگاهی مازندران کشت داده شد.

۳-۲-۱- انتخاب محیط کشت مناسب

بر اساس مطالعات و بررسی‌های انجام شده محیط کشت ایده‌آل برای رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، محیط کشت زاروک می‌باشد (Usharani et al., 2015؛ Abd El Baky and El Baroty, 2016). به منظور کشت این ریز جلبک از محیط کشت زاروک اصلاح شده استفاده شد (شکل ۱).

شکل۱. کشت جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در محیط مایع و جامد زاروک

۳-۲-۲- بررسی رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*

به منظور تعیین میزان نرخ رشد، دانسیته نوری و تعیین وزن خشک مورد ارزیابی قرار گرفت (Moheimani et al., 2013).

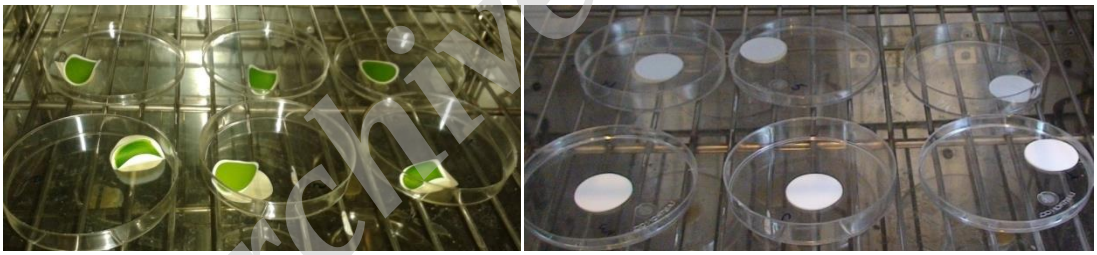
Archive of SID
www.SID.ir

۳-۲-۲-۱- تعیین دانسیته نوری

به منظور تعیین دانسیته نوری[1] یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی در شرایط استریل نمونه‌برداری شد. میزان جذب نوری توسط اسپکتروفتومتر UV/Vis در بازه ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر اسکن گردید. سپس با توجه به پیک جذب کلروفیل، طول موج مناسب جهت سنجش دانسیته نوری انتخاب شد. نمونه‌هایی با دانسیته نوری بیش از یک، رقیق شد تا جذب در محدوده ۱ – ۰/۱ به‌دست آید (Moheimani et al., 2013).

۳-۲-۲-۲- اندازه‌گیری وزن خشک

به منظور تعیین وزن خشک، ابتدا فیلترها (۰/۴۵ میکرون) خشک و توزین شد. سپس نمونه‌های جلبکی از فیلتر عبور داده شده و فیلترهای حاوی نمونه در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید (Leganés et al., 1987؛ Soltani et al., 2006). فیلترهای حاوی بیومس خشک مجدداً توزین شده و سپس بر اساس تفاوت وزن اولیه و ثانویه، میزان ماده خشک جلبک بر حسب گرم در لیتر محاسبه گردید (شکل ۲).



شکل ۲. اندازه‌گیری میزان بیومس در طی دوره رشد با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرون

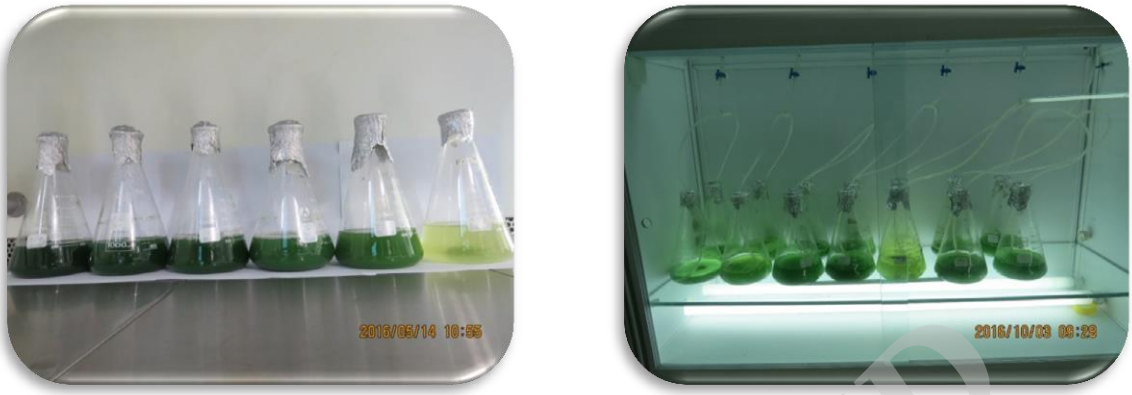
۳-۲-۳- بهینه‌سازی شرایط کشت جلبک با هدف دستیابی به شرایط رشد مناسب

از عوامل مهم در کشت تجاری و اقتصادی جلبک‌ها، کاهش هزینه شرایط کشت می‌باشد. به همین منظور آزمایش‌های متعددی به منظور استفاده از محیط‌های کشت ارزان و همچنین جایگزینی نمک‌های آزمایشگاهی با نمک‌های صنعتی انجام شد و در نهایت محیط کشت اصلاح شده به منظور استفاده در مراحل

[1] Optical density = OD

Archive of SID
www.SID.ir

بعدی رشد حاصل شد (شکل ۳). همچنین استفاده از انرژی نور خورشید به جای استفاده از نور مصـنوعی از عوامل مهمی است که در کاهش هزینه‌ها مؤثر است که در مرحله پایلوت مدنظر قرار گرفت.



شکل ۳. بهینه‌سازی محیط کشت به منظور دستیابی به محیط کشت بهینه

۳-۲-۴- مراحل کشت جلبک با هدف Scale up

۳-۲-۴-۱- استفاده از ظروف ۱۵ لیتری

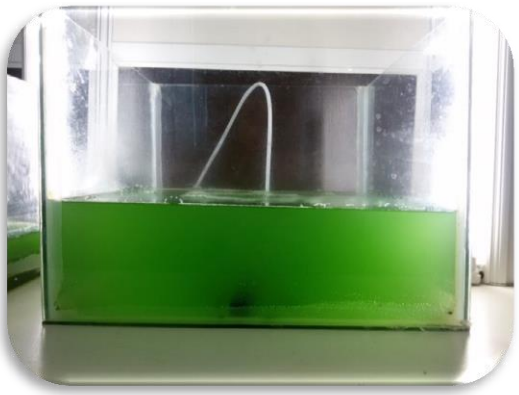
به منظور افزایش حجم نمونه ابتدا از ظروف ۱۵ لیتری استفاده شد. در این مرحله جلبک‌ها از ارلن‌های ۲ لیتری به ظروف ۱۵ لیتری منتقل شد (شکل ۴).

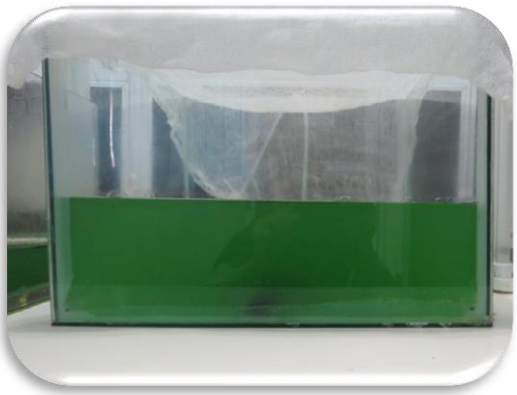
شکل ۴. کشت در ظروف ۱۵ لیتری

۳-۲-۴-۲- استفاده از ظروف ۴۰ لیتری

جلبک‌ها از ظروف ۱۵ لیتری به ظروف ۴۰ لیتری منتقل شد (شکل ۵).

Archive of SID
www.SID.ir

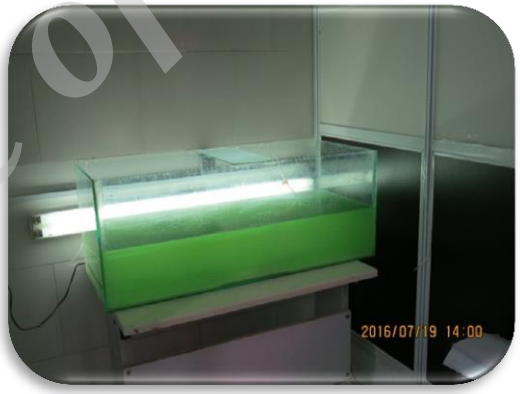


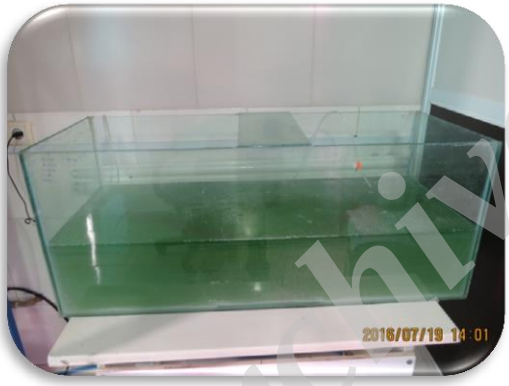


شکل ۵. کشت در ظروف ۴۰ لیتری

۳-۲-۴-۳- استفاده از ظروف ۸۰ لیتری

به منظور کاهش هزینه‌ها، در ظروف ۸۰ لیتری از محیط کشت اصلاح شده استفاده شد (شکل ۶).





شکل ۶. کشت در ظروف ۸۰ لیتری

۳-۲-۴-۴- کشت پایلوت جلبک *اسپیرولینا* در وان های پلی اتیلنی ۱۰۰۰ لیتری

به منظورکشت جلبک در وان‌های پلی‌اتیلنی، عمق آب حدود ۲۵ تا ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد تا نمونه ها نور کافی برای رشد دریافت نمایند. برای ساخت محیط کشت به منظور تولید اقتصادی جلبک از نمک‌های صنعتی استفاده شد. تراکم سلولی به صورت روزانه ثبت شد و هر ۱۴ روز برداشت نمونه‌ها انجام شد (شکل ۷).

Archive of SID
www.SID.ir

شکل ۷. تولید جلبک در وان‌های پلی اتیلنی ۱۰۰۰ لیتری در کارگاه کشت جلبک

۳-۲-۴-۵- کشت پایلوت جلبک *اسپیرولینا* در استخر ۴۰۰۰ لیتری

به منظور تولید نیمه انبوه جلبک و بررسی شرایط کشت، کشت جلبک‌ها در استخر ۴۰۰۰ لیتری انجام شد (شکل ۸)

شکل ۸. پرورش جلبک در استخر ۴۰۰۰ لیتری در کارگاه کشت جلبک

۳-۲-۵-آنالیز ترکیب شیمیایی جلبک *اسپیرولینا*

آنالیز ترکیب شیمیایی نمونه خشک شده جلبک مورد استفاده شامل اندازه گیری پروتئین خام، چربی خام، رطوبت و خاکستر بر اساس روش AOAC (۲۰۰۵) انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۳- پری بیوتیک

پری‌بیوتیک اگری موس حاوی ۲۷ درصد بتاگلوکان و ۲۶ درصد مانـان اولیگوسـاکارید محصـول شـرکت لالمند فرانسه بود.

۳-۴- مراحل پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

۳-۴-۱- آماده سازی سالن

این پروژه از مورخ ۲۷ اردیبهشت ۱۳۹۶ در مزرعه پرورش ماهی واقع در روستای پچت از توابع شهرستان نکاء شروع و تا ۲۱ تیر ماه به مدت ۸ هفته انجام شد (شکل ۹).

شکل ۹. مزرعه قزل‌آلا رنگین کمان

۳-۴-۲- مدیریت پرورش و تغذیه

در این پروژه تعداد ۴۰۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن اولیه ۱۰ گرم انتخـاب و بـه ۲۰ عدد استخر اختصاص داده شد. این آزمایش شامل ۵ تیمار و برای هر تیمار ۴ تکـرار بـود. پـودر جلبـک *اسپیرولینا پلاتنسیس* در جهاد دانشگاهی مازندران تولید شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم جلبک در کیلوگرم خوراک و نیز ۱ گرم پری بیوتیک در کیلـوگرم خـوراک (کنتـرل مثبـت) بـود. خوراک‌دهی به صورت روزانه و ۲ درصد وزن توده زنده در ۲ نوبت صبح (۸:۳۰) و عصر (۱۸:۳۰) انجام شد.

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۴-۳- تهیه خوراک و تیمارهای آزمایشی

جیره پایه بر اساس نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA مطابق با احتیاجات ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان تنظیم شد (جدول ۱)

جدول ۱. اجزاء ترکیب و تجزیه تقریبی جیره‌های غذایی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

نوع ماده اولیه مصرفی(درصد)	
پودر ماهی	۳۵
کنجاله سویا	۱۵
پودر گوشت	۲۲/۵
آرد گندم	۲
آرد ذرت	۱۵/۸۲
روغن ماهی	۵
ملاس چغندر	۲
دی ال- متیونین	۰/۸۴
لیزین	۰/۷۷
مکمل مواد معدنی و ویتامین	۱
نمک	۰/۰۷
پربیوتیک	۰/۲
تجزیه تقریبی جیره ها	
ماده خشک (درصد از وزن خشک)	۹۳/۸
پروتئین خام (درصد از وزن خشک)	۴۳
چربی خام(درصد از وزن خشک)	۱۱
خاکستر (درصد از وزن خشک)	۱۳
انرژی خام (کیلوکالری بر کیلو گرم جیره)	۳۶۱۴

به منظور آماده‌سازی تیمارهای آزمایشی، مقدار ۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ گرم جلبک را به همراه روغن سویا با یک تن غذای آماده کارخانه خوراک آبزیان کابلی به خوبی مخلوط و سپس

Archive of SID
www.SID.ir

خوراک‌ها را در سینی‌هایی که با ورق‌های آلومینیومی پوشانده شده بود به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قـرار داده تا خوب خشک شود و پری‌بیوتیک و جلبک به خوراک بچسبد (شکل ۱۰).

شکل۱۰. آماده سازی خوراک و تیمارهای آزمایشی

۳–۵– پارامترهای مورد ارزیابی

۳–۵–۱– پارامترهای زیست سنجی

پارامترهای زیست‌سنجی در این آزمایش شامل افزایش وزن، مصرف خوراک، ضریب تبـدیل غـذایی، وزن نهایی و درصد بازماندگی بود. افزایش وزن و مقدار خوراک مصرفی هر چهار هفته محاسبه شد و تعداد تلفات به‌طور روزانه جمع‌آوری و یادداشت شد.

۳–۵–۱–۱– میانگین رشد روزانه (ADG)[۲]

$$\mathrm{ADG(g\ /fish\ /\ day)(\%)} = [\frac{\mathrm{Wt} - \mathrm{Wi}}{\mathrm{Wi} \times \mathrm{T}}] \times 100$$

۳–۵–۱–۲– افزایش وزن بدن (BWI)[۳]

$$\mathrm{BWI\ (\%)} = \mathrm{Wt} - \mathrm{Wi}$$

[2] Average Daily Growth
[3] Body Weight Increase

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۵-۱-۳- ضریب تبدیل غذایی [4] (FCR)

$$FCR = \frac{C \times T}{Wt - Wi}$$

در معادلات مذکور Wi: وزن اولیه ماهی، Wt: وزن نهایی ماهی، T: طول مدت پرورش، C: مقدار غذای خورده شده روزانه و L: طول ماهی است (Bekcan et al., 2006).

۳-۵-۲- پارامترهای خونی

۳-۵-۲-۱- خون‌گیری و تهیه سرم

بعد از مدت ۸ هفته پرورش و گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، ماهیان صید شدند و عملیات خون‌گیری از سیاهرگ دمی واقع در پشت باله مخرجی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صورت گرفت. جهت انجام مطالعات خون‌شناسی از سرنگ‌های ۲ سی‌سی استفاده شد. بعد از گرفتن ۲ سی‌سی خون توسط سرنگ از ساقه دمی این ماهیان، ۰/۵ سی‌سی خون به داخل ویال آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره‌گذاری شده برای بررسی پارامترهای خونی ریخته و ۱/۵ سی‌سی باقیمانده به داخل ویال غیرهپارینه شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات بیوشیمیایی خون و پارامترهای ایمنی به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال شد. نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به دور از تکان‌های شدید به آزمایشگاه ارسال شد. در هنگام خون‌گیری، مواد بی‌هوش‌کننده به علت احتمال تأثیر بر سطوح شاخص‌های خونی استفاده نشد.

۳-۵-۲-۲- اندازه‌گیری پارامترهای خونی

در پایان دوره آزمایش عمل نمونه‌برداری از خون ماهیان به‌طور تصادفی انجام شد.

شمارش گلبول‌های قرمز و سفید (WBC و RBC)

برای شمارش گلبول‌های سفید و قرمز به ترتیب از یک ملانژور یا پیپت رقیق کننده سفید و یک ملانژور و پیپت رقیق کننده قرمز استفاده شد. پیپت را تا درجه ۰/۵ از خون پر نموده و بقیه محفظه را تا

[4] Feed Conversion Ratio

Archive of SID
www.SID.ir

درجه فوقانی (برای گلبول سفید ۱۱ و برای گلبول قرمز ۱۰۱) با محلول رقیق‌کننده تکان داده و سپس ۴ قطره اولیه موجود در پیپت را دور می ریزیم. زیرا این قطرات رقت واقعی خون را نشان نمی‌دهند و قطره پنجم را بین لام هموسیتومتر پیشرفته و لامل قرار داده و با بزرگنمایی ۴۰ تعداد گلبول‌ها شمارش شد. در شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، اسمیرهای خون بر روی اسلاید تهیه شد و با روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با میکروسکوپ انجام شد (Jain, 1993).

محاسبه تعداد گلبول‌های قرمز:

$$RBC\ (N/m^3)= (R_1+ R_2+ R_3+ R_4+ R_5)\times(1\times200\times10000)= R$$

محاسبه تعداد گلبول‌های سفید[5]:

$$WBG(N/mm^3) = \frac{(W1+ W2+ W3+ W4)\times20\times10}{4} = (W1 + W2 + W3 + W4) \times 5$$

حجم متوسط گلبولی[6]:

$$MCV = \frac{\text{Hematocrit}}{\text{RBC(million/mm}^3} \times 10$$

غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز[7]

$$MCHC = \frac{\text{Hemoglobin(g/dcl)}}{\text{H(atocrit)}} \times 100$$

غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز [8]

$$MCH = \frac{\text{Hemoglobin (g/dcl)}}{\text{R (million/mm}^3)} \times 10$$

[5] White Blood Cell
[6] Mean Corpuscular volume
[7] Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
[8] Mean Corpuscular Hemoglobin

Archive of SID
www.SID.ir

اندازه‌گیری غلظت گلوکز

پس از نمونه‌گیری، برای جلوگیری از انعقاد، نمونه‌ها در لوله‌های حاوی EDTA مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در g × ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. غلظت گلوکز پلاسما با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (زیست شیمی و پارس آزمون) و با روش god-pap در طول موج ۵۴۶ نانومتر تعیین شد.

اندازه‌گیری هماتوکریت (PCV)

برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. در این روش لوله‌های میکروهماتوکریت را با خون حاوی هپارین پر نموده و انتهای لوله را با استفاده از خمیر هماتوکریت مسدود نموده، سپس لوله را داخل میکروسانتریفوژ گذاشته و به مدت ۵ دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از اتمام، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها به علت برخورداری از وزن مخصوص کمتر، نسبت به گلبول قرمز به صورت لایه‌ی نازکی روی آن‌ها قرار گرفته و با استفاده از خط‌کش مربوطه میزان هماتوکریت برحسب درصد اندازه‌گیری شد (Khoshbavar-Rostami et al., 2006).

۳-۵-۳- فعالیت آنزیم‌های گوارشی

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تعیین جمعیت میکروبی روده ماهی‌های مورد آزمایش، در سن ۵۶ روزگی از هر استخر ۴ قطعه ماهی با وزن نزدیک به میانگین گروه، انتخاب و کشتار شد. پس از باز کردن شکم، روده‌ها با قیچی استریل جدا شد و دو طرف آن با نخ استریل محکم بسته شد. سپس نمونه‌ها در داخل قوطی‌های استریل با دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گوارشی و تعیین جمعیت باکتریایی به آزمایشگاه منتقل شدند. یک واحد فعالیت آمیلاز به عنوان مقدار آنزیم آمیلازی است که سبب مصرف یک میلی‌گرم گلوکز می‌شود و نشاسته ذرت به عنوان سوبسترا استفاده شد (Somogyi, 1960). یک واحد فعالیت لیپاز به عنوان یک میلی‌لیتر از هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار مورد نیاز برای خنثی‌سازی اسید چرب آزاد شده در مدت شش ساعت انکوباسیون با سه میلی‌لیتر از سوبسترای در ۳۸ درجه سانتی‌گراد بود و روغن زیتون به عنوان سوبسترا استفاده شد (Tietz & Fiereck,

Archive of SID
www.SID.ir

1966). یک واحد پروتئاز به عنوان مقدار آنزیم پروتئازی است که سبب مصرف یک میلی‌گرم از آزوکازئین می‌باشد و آزوکازئین به عنوان سوبسترا استفاده شد (Lynn & Clevette- Radford, 1984).

۳-۵-۳-۲- فلور میکروبی روده

برای شمارش باکتری‌های گروه باسیلوس‌ها (شکل ۱۱) از محیط کشت نوترین آگار استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه شده از محتویات روده بر روی محیط کشت به صورت سطحی پخش شد. نمونه‌ها در مکان هوازی و در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Sallam, 2007). برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت کروم آگار استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه شده از محتویات روده بر روی محیط کشت به صورت سطحی پخش شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه قرار گرفت. ظاهر شدن کلنی‌های متمایل به سبز نشان‌دهنده وجود کلی‌فرم‌ها می‌باشد (Sallam, 2007). در همه موارد پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌ها بعد از شمارش، در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و سپس لگاریتم آن‌ها محاسبه تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log CFU/g) به‌دست آید.

شکل ۱۱. شمارش بار میکروبی

Archive of SID
www.SID.ir

۳-۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها و مدل آماری

داده‌های به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن (دانکن، ۱۹۹۵) در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد. مدل آماری به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین جامعه، T_i اثر تیمار و e_{ij} خطای آزمایش است (Duncan, 1955).

Archive of SID

www.SID.ir

فصل چهارم:

نتایج حاصل از پژوهش

Archive of SID

www.SID.ir

۴-۱- آنالیز جلبک *اسپیرولینا*

آنالیز ترکیبات شیمیایی نمونه خشک شده پودر جلبک *اسپیرولینا* (چربی خام، پروتئین خام، کربوهیدرات کل، فیبر، فسفر کل و خاکستر) در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی جلبک *اسپیرولینا*

خاکستر (٪)	فسفر (٪)	کلسیم (٪)	چربی خام (٪)	پروتئین خام (٪)
۱۲/۵۱	۱/۴۱	۱/۰۲	۱/۷۳	۷۴

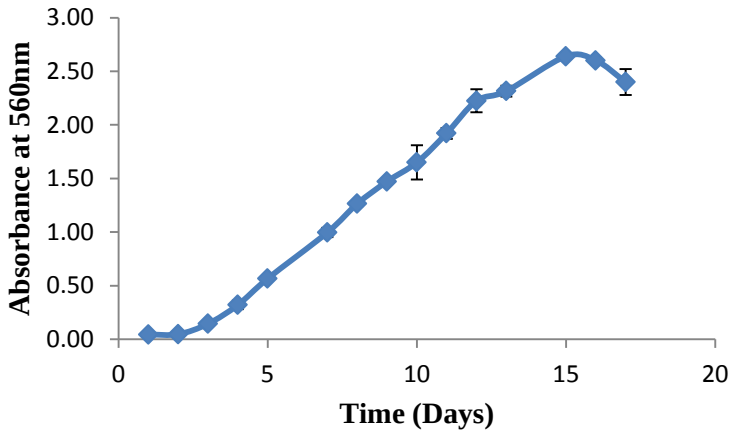
۴-۲- بررسی رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*

۴-۲-۱- تعیین دانسیته نوری

به منظور ترسیم منحنی رشد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس*، پس از کشت جلبک (در pH=۸/۵، شدت نور ۳۵۰۰ لوکس و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد)، با اندازه‌گیری دانسیته نوری، منحنی رشد جلبک رسم گردید. بررسی منحنی رشد جلبک نشان داد که این ریزجلبک، بعد از طی دو روز فاز تأخیر[1] با محیط کشت سازگار شده است. این جلبک در شرایط فوق، در روز پانزدهم به حداکثر رشد خود رسید و سپس وارد فاز سکون و سپس وارد فاز مرگ گردید (نمودار ۱). بر همین اساس بهترین زمان جمع‌آوری نمونه، در ابتدای فاز سکون بود.

[1] Lag phase

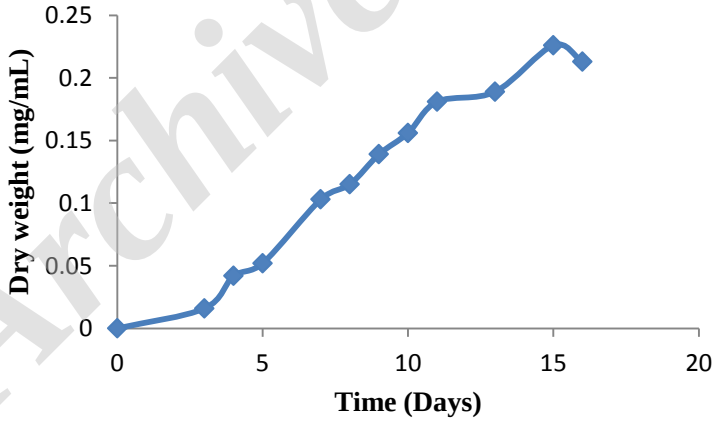
Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱- نمودار رشد ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با استفاده از دانسیته نوری. هر عدد میانگین سه تکرار است.

۴-۲-۲- اندازه‌گیری وزن خشک

بر اساس اندازه‌گیری‌های انجام شده، نمودار وزن خشک جلبک رسم گردید (نمودار ۲). این نمودار نشان داد که بعد از طی فاز تأخیر، جلبک وارد فاز رشد گردید و حداکثر مقدار وزن خشک در روز ۱۵ به دست آمد.



نمودار ۲- منحنی رشد ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* با استفاده از اندازه‌گیری وزن خشک. هر عدد میانگین سه تکرار است.

۴-۳- عملکرد رشد و بازماندگی

با توجه به نتایج جدول ۲، وزن چهار هفتگی و هشت هفتگی بدن و ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P<۰/۰۵$). به طوری که بیشترین وزن، متعلق به

Archive of SID
www.SID.ir

تیمار پری‌بیوتیک و ۲۰۰۰ گرم جلبک بود. همچنین ماهی‌های تغذیه شده با تیمارهای پری‌بیوتیک و جلبک دارای بالاترین بازماندگی بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲. اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر پارامترهای رشد و بازماندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

پارامتر	تیمارهای آزمایشی					میانگین استاندارد خطا	سطح احتمال
	شاهد	۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک	۱۰۰۰ گرم جلبک	۱۵۰۰ گرم جلبک	۲۰۰۰ گرم جلبک		
وزن ۴ هفتگی (گرم)	۱۷/۹۰^{c}	۲۰/۰۲^{a}	۱۹/۲۴^{b}	۱۹/۸۰^{b}	۲۰/۱۸^{a}	۲/۱۱	<۰/۰۰۳
ضریب تبدیل غذایی ۴ هفتگی	۰/۶۳^{a}	۰/۵۴^{c}	۰/۵۸^{b}	۰/۵۷^{b}	۰/۵۳^{c}	۰/۰۵	<۰/۰۰۰۱
وزن ۸ هفتگی (گرم)	۳۲/۷۲^{c}	۵۵/۸۲^{a}	۴۳/۲۵^{b}	۴۷/۶۸^{b}	۵۶/۰۲^{a}	۱۰/۰۱	<۰/۰۰۲
ضریب تبدیل غذایی ۸ هفتگی	۱/۶۱^{a}	۱/۳۶^{c}	۱/۴۶^{ab}	۱/۴۱^{b}	۱/۳۵^{c}	۰/۲۵	<۰/۰۰۲
درصد بازماندگی	۹۰/۵۷^{c}	۹۹/۱۲^{a}	۹۵/۰۰^{ab}	۹۷/۰۲^{b}	۹۹/۰۰^{a}	۲/۰۰	<۰/۰۱۵

*میانگین های با حروف غیرمشابه در هر سطر دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

Archive of SID

۴-۳-۱- ترکیب شیمیایی لاشه

با توجه به نتایج جدول ۳ ، تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر ماده خشک، خاکستر، پروتئین و چربی لاشه ماهی نداشت.

www.SID.ir

جدول ۳. اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر ماده خشک، خاکستر، پروتئین و چربی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ۵۶ روزگی آزمایش

پارامتر (درصد)	تیمارهای آزمایشی						
	شاهد	۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک	۱۰۰۰ گرم جلبک	۱۵۰۰ گرم جلبک	۲۰۰۰ گرم جلبک	میانگین استاندارد خطا	سطح احتمال
ماده خشک	۲۵/۲۲	۲۵/۲۰	۲۵/۲۵	۲۵/۲۴	۲۵/۲۰	۰/۳۷	۰/۵۱۲
خاکستر	۲/۸۷	۲/۹۰	۲/۸۹	۲/۸۸	۲/۸۷	۰/۴۹	۰/۴۳۲
پروتئین	۱۵/۹۵	۱۶/۰۰	۱۶/۹۷	۱۵/۹۸	۱۶/۰۱	۱/۱۵	<۰/۱۶۰
چربی	۵/۹۷	۵/۹۸	۵/۹۷	۶/۰۹	۶/۰۰	۰/۱۶	<۰/۳۳۴

* میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده است دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

۴-۴- فلور میکروبی روده

با توجه به نتایج جدول۴، افزودن پری‌بیوتیک و ۲۰۰۰ گرم جلبک در جیره ماهی سبب افزایش تعداد باسیلوس سوبتیلیس و کاهش تعداد کلی‌فرم های محتویات روده ماهی شد (P<۰/۰۵).

جدول ۴. اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر جمعیت باکتریایی روده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ۵۶ روزگی آزمایش (Log cfu/g)

پارامتر	تیمارهای آزمایشی						
	شاهد	۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک	۱۰۰۰ گرم جلبک	۱۵۰۰ گرم جلبک	۲۰۰۰ گرم جلبک	میانگین استاندارد خطا	سطح احتمال
باسیلوس سوبتیلیس	۴/۲۳^{c}	۵/۹۸^{a}	۴/۲۶^{c}	۴/۷۷^{b}	۵/۱۰^{a}	۰/۴۴	۰/۰۰۳
کلی‌فرم‌ها	۳/۹۱^{a}	۱/۳۱^{a}	۳/۸۵^{b}	۳/۵۰^{b}	۲/۵۵^{a}	۰/۲۰	۰/۰۰۱

*میانگین های با حروف غیرمشابه در هر سطر دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

Archive of SID
www.SID.ir

۴-۵- فعالیت آنزیم‌های گوارشی

با توجه به نتایج جدول ۵، فعالیت آنزیم پروتئاز محتویات دستگاه گوارش ماهی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۵). به‌طوری که ماهی‌های تغذیه شده با تیمارهای جلبک بالاترین فعالیت پروتئاز را داشت (P<۰/۰۵). اما فعالیت آمیلاز و لیپاز محتویات دستگاه گوارش ماهی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۵. اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز محتویات دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ۵۶ روزگی آزمایش

پارامتر	تیمارهای آزمایشی					میانگین	سطح
	شاهد	۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک	۱۰۰۰ گرم جلبک	۱۵۰۰ گرم جلبک	۲۰۰۰ گرم جلبک	استاندارد خطا	احتمال
پروتئاز	۰/۳۰۰^{c}	۰/۳۴۹^{b}	۰/۳۳۴^{bc}	۰/۳۵۸^{ab}	۰/۴۱۲^{a}	۰/۰۴	۰/۰۰۲
آمیلاز	۱۵/۳۱	۱۵/۳۴	۱۵/۳۶	۱۵/۳۳	۱۵/۳۳	۱/۴۴	۰/۲۴۲
لیپاز	۰/۰۲۴	۰/۰۲۲	۰/۰۲۳	۰/۰۲۳	۰/۰۲۰	۰/۰۰۵	۰/۱۱۳

*میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر سطر دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

۴-۶- پارامترهای خونی

با توجه به نتایج جدول ۶، غلظت مالون دی آلدهید سرم در ماهی‌های تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس پایین‌تر از سایر تیمارهای آزمایشی بود (P<۰/۰۵). گلوکز، گلبول قرمز، گلبول سفید و هماتوکریت سرم ماهی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P<۰/۰۵).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۶. اثر سطوح مختلف جلبک و پری‌بیوتیک بر غلظت مالون دی آلدهید، گلوکز، گلبول قرمز، هماتوکریت و گلبول سفید سرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ۵۶ روزگی آزمایش

پارامتر	تیمارهای آزمایشی						
	شاهد	۱۰۰۰ گرم پری‌بیوتیک	۱۰۰۰ گرم جلبک	۱۵۰۰ گرم جلبک	۲۰۰۰ گرم جلبک	میانگین استاندارد خطا	سطح احتمال
مالون دی آلدهید (میکرومول بر دسی لیتر)	۶۰/۵۳^{a}	۵۳/۹۸^{ab}	۵۴/۱۱^{ab}	۴۲/۸۶^{b}	۲۳/۷۱^{c}	۲/۴۹	۰/۰۱۱
گلوکز (گرم در دسی لیتر)	۱۰۰/۳۲	۱۰۰/۰۸	۹۹/۹۹	۱۰۰/۱۱	۱۰۰/۴۴	۵/۰۵	۰/۳۲۰
گلبول قرمز $\times 10^{6}$ (تعداد در میکرولیتر)	۳/۵۵	۳/۵۷	۳/۵۶	۳/۴۹	۳/۵۰	۱۰/۱۳	۰/۳۵۷
هماتوکریت (درصد)	۳۷/۴	۳۷/۷۰	۳۷/۷۲	۳۶/۹۹	۳۷/۷۰	۸/۵۶	۰/۶۶۶
گلبول سفید $\times 10^{3}$ (تعداد در میکرولیتر)	۱۶/۷۷	۱۶/۷۵	۱۶/۶۹	۱۶/۷۴	۱۶/۸۰	۰/۹۱	۰/۲۸۵

*میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر سطر دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0/05$).

Archive of SID

www.SID.ir

فصل پنجم:

بحث و نتیجه‌گیری

Archive of SID

www.SID.ir

۵-۱- بحث و نتیجه گیری

ریزجلبک‌ها در آبزی‌پروری در تولید نرم‌تنان دارای صدف، صدف دریایی، سخت پوستان و برخی از گونه‌های ماهی در زنجیره غذایی آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Priyadarshani and Rath, 2012). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* به عنوان یک افزودنی خوراکی موجب بهبود فاکتورهای رشد و تقویت میکروب‌های مفید روده ماهی قزل‌آلا رنگین کمان می‌گردد که می‌تواند بر کیفیت و پذیرش محصول در بازار تاثیر بگذارد.

در مطالعه حاضر، مکمل غذایی جلبک، مصرف خوراک و وزن بدن را بهبود بخشید و از سوی دیگر موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی گردید. Sirakov و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که استفاده از جلبک *اسپیرولینا* در جیره ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان سبب افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی نسبت به سایر تیمارها شد ($P<۰/۰۵$) (Sirakov et al., 2012) که نتایج آن با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت. Pókniak (۲۰۱۰) نشان داد که در ماهی قزل آلا تغذیه شده با جلبک *اسپیرولینا*، وزن بدن و افزایش وزن به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در مقایسه با تیمارشاهد افزایش یافت (Pókniak, 2007). El-Sheekh و همکاران (۲۰۱۴) آزمایشی را به منظور بررسی استفاده از مقادیر ۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* به عنوان منبع پروتئین در جیره ماهی تیلاپیا انجام دادند. افزودن اسپیرولینا به جیره اثر معنی‌داری بر عملکرد رشد نسبت به جیره کنترل داشت. افزودن *اسپرولینا* تا سطح ۷۵ درصد تاثیر معنی‌داری بر افزایش مصرف خوراک داشت و همچنین *اسپیرولینا* سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید. تغذیه با جلبک *اسپیرولینا* باعث فعال شدن ساخت پروتئین‌ها و همچنین افزایش رشد می‌شود. جلبک‌ها به عنوان یک ماده مؤثر، دارای این ویژگی هستند که باعث تأخیر در روند جذب مواد مغذی موجود در جیره غذایی شده و استفاده از کربوهیدرات و پروتئین را افزایش می‌دهند، بنابراین استفاده از این جلبک در جیره‌های غذایی منجر به افزایش رشد می‌گردد (Mustafa et al., 1994). اسپیرولینا به عنوان یک منبع پروتئینی بالقوه با توجه به محتوای پروتئین بالا، وجود اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی

Archive of SID
www.SID.ir

شناخته شده است. به علاوه، در این گونه عدم وجود دیواره سلولی شناخته شده است که منجر به بهبود هضم و جذب می‌شود (Nandeesha et al., 2001).

آنزیم‌ها کاتالیزورهای زیستی هستند که واکنش‌های بیوشیمیایی را تسریع می‌کنند و یا محصولات جدید تولید می‌کنند. آنزیم‌ها هم کاتابولیک و هم آنابولیک هستند. به عنوان مثال، آنزیم های گوارشی مواد مغذی را به قطعات کوچکتر تجزیه می‌کنند. آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز واکنش‌های تجزیه پروتئین‌ها، کربوهیدات ها و چربی‌ها را کاتالیز می‌کنند. نتایج تحقیقات محققان نشان می‌دهد که مکمل‌های غذایی گیاهی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در آبزیان می‌شود (Bai, 2016). با توجه به نتایج این پژوهش حاضر، استفاده از ۲۰۰۰ گرم جلبک *اسپیرولینا* در تن خوراک، سبب افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز گوارشی در ماهی قزل آلای رنگین کمان گردید. Bai (۲۰۱۶) گزارش کرد که *اسپیرولینا* یک مکمل غذایی مناسب برای ماهی *Cyprinus carpio* می‌باشد و موجب افزایش قابل توجهی در فعالیت پروتئاز می‌گردد این محقق گزارش کرد که افزایش فعالیت پروتئاز روده‌ای موجب تجزیه بهتر و تجمع پروتئین‌ها گردید. بدین ترتیب افزایش اسپیرولینا به جیره غذایی موجب افزایش فعالیت پروتئاز روده و پروتئین کل بدن می‌گردد که در نهایت منجر به رشد سریع‌تر ماهی *Cyprinus carpio* در دوره کوتاه‌تر می‌شود (Bai, 2016). نکته قابل توجه این است که برخلاف حیوانات زمینی که کربوهیدرات منبع اصلی انرژی می‌باشد، پروتئین منبع اصلی انرژی در ماهی می‌باشد و بنابراین افزایش فعالیت پروتئاز به دلیل افزایش انباشت پروتئین برای ماهی مفید است. همچنین به نظر می‌رسد که جلبک‌ها می توانند فعالیت آنزیم را در روده ماهی تقویت کنند که ممکن است به دلیل وجود ویتامین‌ها و مواد معدنی در این جلبک باشد. این مواد مغذی ممکن است به عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم‌ها عمل کند.

افزایش کلنی‌های *باسیلوس سوبتیلیس* در اپیتلیوم روده، خطر عفونت به باکتری‌های بیماری‌زا را کاهش می‌دهد و از این رو ماهی می‌تواند ظرفیت خود را در برابر بیماری‌های مختلف گسترش دهد (Kumar et al., 2006). در تحقیق حاضر، افزایش کلنی‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و کاهش تعداد کلی‌فرم‌های روده ماهی قزل‌آلا رنگین کمان در جیره غذایی حاوی ۲۰۰۰ گرم جلبک اسپیرولینا در تن خوراک مشاهده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

پارامترهای خونی در ماهیان ممکن است تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیکی (Nespolo and Tosenmann, 2002) و یا عوامل خارجی مختلف نظیر جیره غذایی دچار تغییر گردند (Rios et al., 2002). گزارش‌های حاصل از سایر تحقیقات نشان داد که افزایش *اسپیرولینا پلاتنسیس*، تعداد گلبول‌های قرمز خون را افزایش می‌دهد که این شرایط ممکن است نشان دهد که اسپیرولینای موجود در جیره غذایی، ظرفیت حمل اکسیژن را بهبود می‌بخشد و در نتیجه موجب بهبود سلامت ماهی‌ها می‌گردد (Talpur and Ikhwanuddin, 2012). همچنین افزایش سطح گلبول‌های قرمز با افزایش سطوح *اسپیرولینا* در جیره غذایی ممکن است به دلیل حضور عنصر آهن در این جلبک باشد. گزارش شده است که *اسپیرولینا* دارای مقدار قابل توجهی آهن است و با افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین اثرات قابل ملاحظه‌ای بر سنتز گلبول قرمز در موش‌های دارای کم‌خونی دارد (Kapoor and Mehta, 1992). با این وجود، تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های قرمز در این مطالعه مشاهده نشد. بنابراین به نظر می‌رسد افزودن اسپیرولینا پلاتنسیس تا ۲۰۰۰ گرم در تن در جیره نمی تواند اثر قابل توجهی در تعداد گلبول‌های قرمز ماهی قزل‌آلای رنگین کمان داشته باشد.

علاوه بر تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید نیز شاخص مناسبی برای بررسی خواص فیزیولوژیکی می‌باشد. تعداد گلبول‌های سفید به عنوان اولین خطوط دفاعی بدن در برابر عوامل عفونی ناشی از عوامل میکروبی و شیمیایی شناخته شده است (Talpur and Ikhwanuddin, 2012). افزایش تعداد گلبول‌های سفید به دلیل مصرف *اسپیرولینا پلاتنسیس* می‌تواند نشان‌دهنده اثرات ایمنی و خواص ضد عفونتی این جلبک باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* تا سطح ۲۰۰۰ گرم در تن اثر معنی‌داری بر افزایش تعداد گلبول‌های سفید ندارد.

هماتوکریت به عنوان یک شاخص کلی در سلامت ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقادیر هماتوکریت در این پروژه در تیمارهای مختلف متفاوت نیست. بنابراین به‌نظر می‌رسد افزودن *اسپیرولینا پلاتنسیس* تا ۰/۲درصد به جیره غذایی نمی‌تواند اثر معنی‌داری بر هماتوکریت ماهی قزل‌آلا رنگین کمان داشته باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر و تاثیر معنی‌دار جلبک *اسپیرولینا* بر صفات رشد و سلامت دستگاه گوارش، استفاده از این محصول بومی ارزشمند به عنوان افزودنی خوراکی در تغذیه قزل‌آلا رنگین‌کمان در مقیاس بزرگ در مزارع صنعتی پیشنهاد می‌شود.

۵-۲-پیشنهادها

۱. با توجه به اثرات مثبت جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، می‌توان پاسخ ایمنی ماهی تغذیه شده با این جلبک را در برابر بیماری‌های خاص مورد ارزیابی قرار داد.

۲. علاوه بر استفاده از پودر خشک جلبک، می‌توان از عصاره جلبک نیز در مکمل‌های غذایی آبزیان استفاده نمود. می‌توان تحقیقاتی در این خصوص انجام داد و از عصاره به منظور افزایش سیستم ایمنی آبزیان استفاده نمود.

۵-۳- توجیه فنی و اقتصادی برای توسعه پژوهش

تولید تجاری ریزجلبک‌ها، از بیش از پنج دهه آغاز شده است و به طور پیوسته گسترش یافته است. ادامه رشد نمایی تولید جلبک و محصولات حاصل از آن، منجر به صنعت بزرگی به نام کشت جلبک و تولید میلیون‌ها تن از بیومس جلبک برای غذا، سوخت، مواد شیمیایی و سایر فراورده‌ها گردیده است (Slocombe and Benemann, 2016). امروزه جلبک *اسپیرولینا* در بیش از ۲۲ کشور جهان مانند فرانسه، اسپانیا، آمریکا، اسرائیل، مکزیک، هند، پرو و غیره کشت می‌شود (Belay, 2013). به نظر می رسد که *اسپیرولینا*، پتانسیل زیادی برای توسعه به خصوص به عنوان یک محصول برای بهبود تغذیه و کاهش آلودگی محیط زیست دارد. آمار شیلات فائو (FAO) به اهمیت رشد این محصول اشاره دارد. تولید در کشور چین در سال ۲۰۰۳ در حدود ۱۹۰۸۰ تن ثبت شد و در سال ۲۰۰۴ به ۴۱۵۷۰ تن رسید که ارزش آن به ترتیب ۷/۶ میلیون دلار و ۱۶/۶ میلیون دلار بود (Ahsan et al., 2008). این میزان در سال ۲۰۰۷ به ۶۶۹۲۰ تن رسید که ارزش آن در حدود ۳۰/۷۸ میلیون دلار بود (Dernekbasi et al., 2010). در طول ۱۰ سال گذشته،

Archive of SID

www.SID.ir

تولید بیومس *اسپیرولینا* از ۵۰۰۰ تن به حدود ۱۵۰۰۰ تن افزایش یافته است که نشان می‌دهد نرخ رشد سالانه ۱۵٪ می‌باشد. در صورت ادامه روند رشد تولید تجاری ریزجلبک‌ها تا سال ۲۰۳۰، خروجی بیومس جلبکی به یک چهارم میلیون تن خواهد رسید و در سال ۲۰۵۰ این صنعت تأثیر عمده‌ای در بازار خوراک حیوانات و سوخت خواهد داشت (Slocombe and Benemann 2016).

بر اساس آمار اعلام شده توسط سازمان شیلات ایران، میزان صید و آبزی پروری در سال ۱۳۹۳، ۹۴۷۳۵۲ تن می‌باشد. این میزان در آب‌های شمال ۳۹۶۴۷ تن و تنها در استان مازندران ۲۳۳۸۲ تن است. غیر از ماهیان گرمابی و سردابی، میگو و ماهیان زینتی از دیگر بازارهای هدف در این پروژه محسوب می‌شوند. میزان ماهیان زینتی ۲۰۴ میلیون قطعه می‌باشد. امروزه استفاده از جلبک *اسپیرولینا* در تغذیه ماهیان زینتی به دلیل جلب رضایت مشتری و بازار، در ایران رواج یافته است ولیکن به دلیل تولید این ریزجلبک در مقیاس کم در داخل کشور، محصول مورد نیاز به صورت واردات می‌باشد. این ترکیب به صورت مکمل غذایی با درصدهای بسیار پایین در خوراک آبزیان (میگو، ماهی قزل‌آلا، ماهیان زینتی و غیره) مورد استفاده قرار می‌گیرد که علاوه بر افزایش کیفیت محصول، به دلیل رنگیزه‌های منحصر به فرد، موجب بهبود رنگ ماهیان زینتی و ماهی قزل‌آلا رنگین کمان می‌گردد. اما به دلیل قیمت بالای محصول، قیمت تمام شده محصول مناسب نیست و فقط در محصولات سبز یا ارگانیک، می‌توان از این محصول استفاده نمود. اما قابل توجه است که با تولید انبوه این ریزجلبک این مسئله حل شده و هزینه تولید بسیار کاهش می‌یابد و می‌توان این محصول را وارد جیره غذایی آبزیان نمود. امید است با تولید این جلبک ارزشمند در کشور و استفاده از آن در پرورش آبزیان گامی مؤثر در تولید محصولات سبز برداشته شود.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

Abd El Baky, H.H. and El Baroty, G.S., 2016. Optimization of growth conditions for purification and production of L-asparaginase by Spirulina maxima. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-7.

Adel, M., Yeganeh, S., Dadar, M., Sakai, M. & Dawood, M. A. 2016. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, humoral and mucosal immune responses and disease resistance in juvenile great sturgeon (Huso huso Linnaeus, 1754). *Fish & Shellfish Immunology,* 56**,** 436-444.

Akbary, P. & Sondakzehi, A. 2016. Effect of *Spirulina pletensis* Powder on Growth, Feed, Body Chemical Composition and Fatty Acids in Mugil cephalus Linnaeus, 1758. *Journal of Fisheries,* 69**,** 2.

Anbarasan, V., Kumar, V. K., Kumar, P. S. & Venkatachalam, T. 2011. In vitro evaluation of antioxidant activity of blue green algae spirulina platensis. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research,* 2**,** 2616-2618.

Bekcan, S., Dogankaya, L. & Cakirogullari, G. C. 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis* L.) fed diets containing different percentages of protein, 58(2), 137-142.

Belay, A. 2013. Biology and industrial production of *Arthrospira* (*Spirulina*). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition***,** 339-358.

Belay, A., Kato, T. & Ota, Y. 1996. *Spirulina* (Arthrospira): potential application as an animal feed supplement. *Journal of Applied Phycology,* 8**,** 303-311.

Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of biotechnology,* 70**,** 313-321.

Burridge, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J. & Bostick, K. 2010. Chemical use in salmon aquaculture: a review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture,* 306**,** 7-23.

Ciftci, M., Guler, T., Dalkilic, B. & Ertas, O. N. 2005. The effect of anise oil (Pimpinella an¡ sum L.) on broiler performance. *International Journal of Poultry Science,* 4**,** 851-855.

Defoirdt, T., Sorgeloos, P. & Bossier, P. 2011. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. *Current opinion in microbiology,* 14**,** 251-258.

Dernekbasi, S., Unal, H., Karayucel, I. & Aral, O. 2010. Effect of dietary supplementation of different rates of spirulina (Spirulina platensis) on growth and feed conversion in Guppy

Archive of SID

www.SID.ir

(Poecilia reticulata Peters, 1860). *Journal of Animal and Veterinary Advances,* 9**,** 1395-1399.

Dimitroglou, A., Merrifield, D. L., Spring, P., Sweetman, J., Moate, R. & Davies, S. J. 2010. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (Sparus aurata). *Aquaculture,* 300**,** 182-188.

Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics,* 11**,** 1-42.

El-Sheekh, M., El-Shourbagy, I., Shalaby, S. and Hosny, S. 2014. Effect of Feeding Arthrospira platensis (Spirulina) on Growth and Carcass Composition of Hybrid Red Tilapia (Oreochromis niloticus x Oreochromis mossambicus). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 14, 471-478.

Fotea, L., Costăchescu, E., Hoha, G. & Leonte, D. 2010. The effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L) on broiler performance. *Lucrari stiintifice,* 53**,** 491-4.

Ghaeni, M., Matinfar, A., Soltani, M. & Rabbani, M. 2011. Comparative effects of pure spirulina powder and other diets on larval growth and survival of green tiger shrimp, Peneaus semisulcatus. *Iranian Journal of Fisheries Sciences,* 10**,** 208-217.

Guler, G., Kiztanir, B., Aktumsek, A., Citil, O. & Ozparlak, H. 2008. Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω3/ω6 ratios of carp (Cyprinus carpio L.) muscle lipids in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry,* 108**,** 689-694.

Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C. & Hasan, M. R. 2008. *A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*, Food and agriculture organization of the united nations.

Harikrishnan, R., Heo, J., Balasundaram, C., Kim, M.-C., Kim, J.-S., Han, Y.-J. & Heo, M.-S. 2010. Effect of Punica granatum solvent extracts on immune system and disease resistance in Paralichthys olivaceus against lymphocystis disease virus (LDV). *Fish & shellfish immunology,* 29**,** 668-673.

Hemalatha, K., Pugazhendy, K., Jayachandran, K., Jayanthi, C. & Meenambal, M. 2012. Studies on the protective efficacy of Spirulina against lead acetate induced hepatotoxicity in Rattus norvegicus. *group,* 2**,** 0-15.

Irianto, A. & Austin, B. 2002. *Use of probiotics to control Furunculosis in rainbow trout, Oncorrhynchus mykiss Walbaum.*

Jaime-Ceballos, B., Villarreal, H., Garcia, T., Perez–Jar, L. & Alfonso, E. 2005. Effect of Spirulina platensis meal as feed additive on growth, survival and development in Litopenaeus schmitti shrimp larvae. *Rev. Invest. Mar,* 26**,** 235-241.

Archive of SID

www.SID.ir

James, R., Sampath, K., Nagarajan, R., Vellaisamy, P. & Manikandan, M. M. 2009. Effect of dietary Spirulina on reduction of copper toxicity and improvement of growth, blood parameters and phosphatases activities in carp, Cirrhinus mrigala (Hamilton, 1822).

Jamil, A. R., Akanda, M. R., Rahman, M. M., Hossain, M. A. & Islam, M. S. 2015. Prebiotic competence of spirulina on the production performance of broiler chickens. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research,* 2**,** 304-309.

Jain, NC. 1993. Essential of veterinary hematology. Lea and Febiger, Philadelphia, 266-277.

Junior, A. & Barrow, P. 1996. Reduction in Incidence of Experimental Fowl Typhoid by Incorporation of a Commercial Formic Acid Preparation (Bio-AddTM) Into Poultry Feed. *Poult. Sci,* 72**,** 339-341.

Kapoor, R. & Mehta, U. 1992. Iron bioavailability from Spirulina platensis, whole egg and whole wheat. *Indian journal of experimental biology,* 30**,** 904-907.

Khan, Z., Bhadouria, P. & Bisen, P. 2005. Nutritional and therapeutic potential of Spirulina. *Current pharmaceutical biotechnology,* 6**,** 373-379.

Khoshbavar-Rostami, H., Soltani, M. & Hassan, H. 2007. Immune responses of great sturgeon Huso huso to Aeromonas hydrophila bacterin. *Journal of Fish Biology,* 70**,** 1931-1938.

Kim, D.-H. & Austin, B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) induced by probiotics. *Fish & shellfish immunology,* 21**,** 513-524.

Kim, S.-S., Rahimnejad, S., Kim, K.-W. & Lee, K.-J. 2013. Partial replacement of fish meal with Spirulina pacifica in diets for parrot fish (Oplegnathus fasciatus). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13.

Kumar, R., Mukherjee, S.C., Prasad, K.P. and Pal, A.K., 2006. Evaluation of Bacillus subtilis as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). *Aquaculture Research*, 37(12), 1215-1221.

Leganes, F., Sánchez-Maeso, E. & Fernández-Valiente, E., 1987. Effect of indoleacetic acid on growth and dinitrogen fixation in cyanobacteria. *Plant and cell physiology*, 28, 529-533.

Lu, J. & Takeuchi, T. 2004. Spawning and egg quality of the tilapia Oreochromis niloticus fed solely on raw Spirulina throughout three generations. *Aquaculture,* 234**,** 625-640.

Lu, J., Yoshizaki, G., Sakai, K. & Takeuchi, T. 2002. Acceptability of raw Spirulina platensis by larval tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries science,* 68**,** 51-58.

Matyar, F., Dincer, S., Kaya, A. & Colak, O. 2004. Prevalence and resistance to antibiotics in Gram negative bacteria isolated from retail fish in Turkey. *Annals Of Microbiology.,* 54, 151-160.

Archive of SID

www.SID.ir

Moheimani, N. R., Borowitzka, M. A., Isdepsky, A. & Sing, S. F., 2013. Standard methods for measuring growth of algae and their composition. *Algae for Biofuels and Energy*. 5, 265-284.

Mustafa, M.G., Takeda, T., Umino, T., Wakamatsu, S. & Nakagawa, H., 1994. Effects of Ascophyllum and Spirulina meal as feed additives on growth performance and feed utilization of red sea bream, Pagrus major. *Journal of the Faculty of Applied Biological Science-Hiroshima University*.

Nandeesha, M.C., Gangadhara, B., Manissery, J.K. and Venkataraman, L.V., 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis. Bioresource Technology*, 80(2), 117-120.

Nespolo, R.F. and Rosenmann, M., 2002. Intraspecific allometry of haematological parameters in Basilichthys australis. *Journal of Fish Biology*, 60(5), 1358-1362.

Palmegiano, G. B., Agradi, E., Forneris, G., Gai, F., Gasco, L., Rigamonti, E., Sicuro, B. & Zoccarato, I. 2005. Spirulina as a nutrient source in diets for growing sturgeon (Acipenser baeri). *Aquaculture Research,* 36**,** 188-195.

Pókniak, J. 2007. Incorporación de Espirulina (*Spirulina Maxima*) en dietas para alevines de truchas arco iris (Oncorhynchus Mykiss). *Avances en Ciencias Veterinarias,* 22.

Priyadarshani, I. & Rath, B. 2012. Commercial and industrial applications of micro algae–A review. *Journal algal biomass utln,* 3, 89-100.

Radhakrishnan, S., Saravana Bhavan, P., Seenivasan, C., Shanthi, R. & Muralisankar, T. 2014. Replacement of fishmeal with Spirulina platensis, Chlorella vulgaris and Azolla pinnata on non-enzymatic and enzymatic antioxidant activities of Macrobrachium rosenbergii. *The Journal of Basic & Applied Zoology,* 67**,** 25-33.

Ragap, H. M., Khalil, R. H. & Mutawie, H. H. 2012. Immunostimulant effects of dietary Spirulina platensis on tilapia Oreochromis niloticus.

Rana, K. J., Siriwardena, S. & Hasan, M. R. 2009. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production, *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO).

Rios, F.S., Kalinin, A.L. and Rantin, F.T., 2002. The effects of long term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish Hoplias malabaricus. *Journal of Fish Biology*, 61(1), 85-95.

Ringø, E., Olsen, R., Gifstad, T., Dalmo, R., Amlund, H., Hemre, G. I. & Bakke, A. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition,* 16**,** 117-136.

Archive of SID

www.SID.ir

Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control,* 18**,** 566-575.

Shanmugapriya, B., Babu, S. S., Hariharan, T., Sivaneswaran, S. & Anusha, M. 2015. Dietary administration of Spirulina platensis as probiotics on growth performance and histopathology in broiler chicks. *International. Journal of Recent Scientific. Research,* 6 (2)**,** 2650-2653.

Sirakov, I., Velichkova, K. & Nikolov, G. 2012. The effect of algae meal (Spirulina) on the growth performance and carcass parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *J. BioSci. Biotech***,** 151-156.

Slocombe, S. P. & Benemann, J. R. 2016. *Microalgal Production for Biomass and High-Value Products*, CRC Press.

Soltani, N., Khavari-Nejad, R. A., Yazdi, M. T., Shokravi, S. & Fernández-Valiente, E., 2006. Variation of nitrogenase activity, photosynthesis and pigmentation of the cyanobacterium Fischerella ambigua strain FS18 under different irradiance and pH values. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 571-576.

Somogyi, M. 1960. Modifkations of Two Methods for the Assay of Amylase.

Świątkiewicz, S., Arczewska-Włosek, A. & Józefiak, D. 2015. Application of microalgae biomass in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal,* 71**,** 663-672.

Takeuchi, T., Lu, J., Yoshizaki, G. & Satoh, S. 2002. Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia Oreochromis niloticus fed raw Spirulina. *Fisheries science,* 68**,** 34-40.

Talpur, A. D. & Ikhwanuddin, M. 2012. Dietary effects of garlic (Allium sativum) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against Vibrio harveyi infection in Asian sea bass, Lates calcarifer (Bloch). *Aquaculture,* 364**,** 6-12.

Tan, C. Y., Galaz, G. B. & Shapawi, R. 2017. Effects of dietary inclusion of Spirulina meal on growth and hematological parameters of cultured Asian sea bass, Lates calcarifer. *Borneo Journal of Marine Science and Aquaculture (BJoMSA),* 1.

Teimouri, M., Amirkolaie, A. K. & Yeganeh, S. 2013. The effects of Spirulina platensis meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Aquaculture,* 396**,** 14-19.

Teuber, M. 2001. Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology,* 4**,** 493-499.

Tietz, N. & Fiereck, E. A. 1966. A specific method for serum lipase∗ determination. *Clinica Chimica Acta,* 13**,** 352-358.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L. & Izquierdo, M. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in

Archive of SID

www.SID.ir

European sea bass (Dicentrarchus labrax) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology,* 23**,** 969-981.

Usharani, G., Srinivasan, G., Sivasakthi, S. & Saranraj, P., 2015. Antimicrobial Activity of Spirulina platensis Solvent Extracts Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Advances in Biological Research,* 9, 292-298.

Wang, Y.-B., Li, J.-R. & Lin, J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture,* 281**,** 1-4.

Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A. C. M. A., Kato, T. & Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, Cyprinus carpio. *Aquaculture,* 258**,** 157-163.

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

Yeganeh, S., Teimouri, M. & Amirkolaie, A. K. 2015. Dietary effects of Spirulina platensis on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Research in veterinary science,* 101**,** 84-88.

Archive of SID

www.SID.ir

پیوست

Archive of SID

www.SID.ir

Abstract

Target:

This study was carried out to study the effect of different levels of algae (*Spirulina platensis*) and prebiotic on growth performance, intestinal microbial flora and some blood metabolites of rainbow trout *(oncorhynchus mykiss)*.

Methodology:

A total of 400 rainbow trout with initial weight of 10g were used in a completely randomized design with 5 treatments and 4 replicates. Experimental diets included control diet (with no addition), 3 levels of algae (1000, 1500 and 2000 g/Ton diet), and one level of prebioic (1000g/Ton) as a positive control were fed to fish for 56 d.

Results:

Results showed that using prebiotic and algae (2000 g/Ton) increased final weight and also decreased feed conversion ratio of fish compared with control group. Adding prebiotic and algae (2000g/Ton) decreased intestinal coliforms, however, they increased intestinal bacillus count. The protease activity was higher in the intestine content of fish fed with 2000 g algae/Ton diet. In conclusion, it seem that *Spirulina* have positive effect on growth performance and intestinal health of rainbow trout.

Keywords: *Spirulina*, growth performance, intestinal micro flora, rainbow trout

Archive of SID

www.SID.ir

Final report (Title):

The effect of different levels of alga (*spirulina*) on performance of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*)

Code: 6004

Name of Research Institute: Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR) Of Mazandaran

Research Department:

Principal Investigator: Mohammad Saber Ansari

Date: July 2018

Archive of SID

www.SID.ir