

اثر پلی ساکاریدهای محلول در آب حاصل از میکرو جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و پاسخ ایمنی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

امیر حسین ولی پور^۱، عبدالمحمد عابدیان کناری^{۱*}، مهدی طبرسا^۲

^۱ گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

^۲ گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۶/۳۰

*نویسنده مسول:

aabedian@modares.ac.ir

تحقیق حاضر به منظور تأثیر پلی ساکاریدهای محلول در آب حاصل از میکرو جلبک‌های اسپیرولینا *Spirulina platensis* بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و پاسخ ایمنی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طراحی و اجرا گردید. در این راستا ۱۸۰ قطعه بچه ماهی (میانگین وزنی ۱۷/۲۲±۰/۵ گرم) در پنج تیمار آزمایشی (با سه تکرار) توزیع شدند. تیمارها شامل سطوح مختلف پلی ساکارید در مقادیر صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا بود که در ۱۵ مخزن فایبرگلاس (۱۰۰ لیتری) توزیع شدند. غذادهی سه بار در روز و به میزان اشباع به مدت ۸ هفته صورت گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده، در فاکتورهای رشد (وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی و فاکتور وضعیت) هیچ تفاوت معنی داری در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد، اما بهترین وضعیت در تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پلی ساکارید مشاهده شد. زنده مانی در تمام تیمارها بالا و بدون اختلاف معنادار بود. از نظر ترکیب شیمیایی بدن، بیشترین و کمترین میزان پروتئین لاشه به ترتیب در تیمار غذایی حاوی ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید و شاهد مشاهده شد که با هم اختلاف معناداری داشتند. در بین تیمارها در میزان خاکستر، رطوبت و چربی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($P>0/05$). میزان اسید چرب عضله بدن ماهیان تفاوت معنی داری را در بین تیمارها نشان نداد. میزان SFA در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود. میزان MUFA در تیمار ۵۰۰ میلی گرم، میزان PUFA در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم و مقادیر HUFA و n3/n6 در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا دارای بیشترین مقدار بودند. میزان فعالیت لیزوزیم و همولیتیک کمپلمان سرم در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری را نشان داد ($P<0/05$)، به طوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت لیزوزیم سرم به ترتیب در تیمارهای ۲۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید و شاهد، و بیشترین و کمترین میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان سرم به ترتیب در تیمارهای حاوی ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید و شاهد مشاهده گردید. در مجموع استفاده از پلی ساکارید استخراج شده از میکرو جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی به طور معناداری منجر به بهبود رشد ماهی قزل آلی رنگین کمان نگردید اما بهبود جزئی در رشد و ترکیب بدن (پروتئین) در تیمار ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا مشاهده شد. از نظر شاخص های ایمنی و جلوگیری از استرس تیمارهای ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا عملکرد مناسبی داشتند و می توان در مواقع لزوم استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: تغذیه، *Spirulina platensis* پلی ساکارید، رشد، ترکیب بدن، پاسخ ایمنی، قزل آلی رنگین کمان گرمابی.

مقدمه

صنعت آبزی پروری با رشد فزاینده‌ای در حال توسعه می‌باشد. گرایش مردم به استفاده از غذای سالم منجر به توسعه و رونق سریع پرورش ماهی و به تبع آن افزایش عوامل تنش‌زا برای ماهی و در نتیجه تشدید خطر ابتلا به بیماری در آبزیان شده است [۱]. بخش آبزی پروری در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی نیز روبرو بوده است که از آن جمله می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره

کرد. ماهیان در تماس نزدیک با محیط پیرامون خود هستند که می‌تواند حاوی مقادیر بسیار بالایی از باکتری‌ها و ویروس‌ها باشد. در هر حال ماهی تحت شرایط نرمال از طریق مکانیسم‌های سیستم دفاعی ذاتی خود در مقابل عوامل مهاجم از خود محافظت می‌کند [۲]. استفاده از جلبک‌های دریایی به عنوان افزودنی‌های خوراک یا مکمل با توجه به ارزش غذایی، در دسترس بودن و هزینه پایین آنها در ارزیابی‌های پروری امکان پذیر است [۳]. جلبک‌های دریایی دارای ترکیبات زیستی فعالی از قبیل پلی فنول‌ها، پپتیدها، پلی ساکاریدها می‌باشند. بسیاری از این ترکیبات فعال، دارای عناصری مفید با خواص درمانی متعدد می‌باشند [۴]. ریزجلبک‌هایی مانند دونالیلا، اسپیرولینا و کلرلا جزو پرکاربردترین ریزجلبک‌ها در تغذیه ماهی بوده که به صورت مجزا و یا ترکیبی با سایر منابع پروتئینی در جیره استفاده می‌شوند [۵].

اسپیرولینا یکی از ریزجلبک‌های گروه سبز-آبی و مارپیچی است که در آب‌های مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری با pH بالا رشد می‌کند [۶]. جلبک اسپیرولینا در محیط‌های آب شیرین و لب شور یافت می‌شود [۷]. این جلبک به دلیل دارا بودن مقادیر بالای پروتئین، اسیدآمینه‌های ضروری، ویتامین‌های گروه B (ریبوفلاوین، سیانوکوبالامین، تیامین و اسیدنیکوتینیک)، مواد معدنی، اسیدهای چرب ضروری (اسیدگامالینولئیک و اسیدلینولئیک)، رنگدانه‌ها (فیکوسیانین و کلروفیل a) و آنتی اکسیدان به عنوان تقویت کننده سیستم ایمنی در ماهی مطرح شده است [۸-۱۰]. اسپیرولینا به دلیل دارا بودن فیکوسیانین، ویتامین B12، فنوتیکاسیدها و توکوفرول‌ها موجب افزایش هضم چربی‌ها و جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها شده و می‌تواند به عنوان یک محرک ایمنی مدنظر قرار گیرد [۱۱].

پلی ساکاریدها بسته به گونه جلبک و نوع پلی ساکارید دارای خواص ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدانقادی، ضدتوموری، ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و تنظیم کننده سیستم ایمنی می‌باشند [۱۲-۱۵]. به عنوان مثال پلی ساکاریدهای سولفات‌ها از قبیل آرایینوگالاکتان و فوکوئیدان فعال کننده ماکروفاژها و لئوسیت‌ها می‌باشند [۵]. ارتباط تنگاتنگی بین ساختار شیمیایی و مولکولی پلی ساکاریدها از قبیل نوع مونوساکاریدها، چگونگی اتصال پیوندهای گلیکوزیدی، خطی یا منشعب بودن پلیمرها، میزان سولفات، وجود پروتئین، حضور گروه‌های کربوکسیلی و وزن مولکولی با میزان فعالیت بیولوژیکی آنها وجود دارد [۱۶].

یکی از ماهیان پر تولید در صنعت ارزی‌پروری، ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) است که با توجه به کیفیت گوشت و بازارپسندی به عنوان یک گونه ارزشمند در میان ماهیان پرورشی محسوب می‌شود [۱۷]. مطابق آمار سازمان فائو در سال ۲۰۱۹ میزان تولید جهانی قزل آلی رنگین کمان به ۹۱۶۵۴۰ تن رسیده است [۱۸]. همچنین طبق آخرین آمار شیلات ایران در سال ۱۳۹۹ میزان تولید قزل آلی رنگین کمان در ایران ۱۹۰۲۸۷ تن بوده است [۱۹]. با توجه به تولید بالای ماهی قزل آلی رنگین کمان در ایران و شیوع انواع بیماری‌ها در پرورش این ماهی استفاده از مواد تقویت کننده ایمنی جهت پیشگیری از بروز بیماری‌ها امری ضروری است. بنابراین در این تحقیق به بررسی اثرات پلی ساکاریدهای محلول در آب حاصل از میکرو جلبک اسپیرولینا بر رشد، ترکیب بدن و ایمنی ماهی قزل آلی رنگین کمان پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

تهیه میکرو جلبک اسپیرولینا

پودر خشک میکرو جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis* از شرکت پارسیان ریزجلبک واقع در شهر رشت، ایران تهیه شد.

استخراج پلی ساکارید

عمل استخراج در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در ابتدا ۵۰ گرم از نمونه به منظور حذف رنگدانه‌ها، متابولیت‌های ثانویه و چربی در ۴۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ به مدت ۴ ساعت قرار داده شد. سپس فاز جامد از فاز مایع جدا و تفاله بدست آمده جهت استخراج مجدد با اتانول ۸۰٪ رنگ بری گردید. در انتها تفاله رنگ بری شده با اتانول ۹۵٪ و استون آبیگری و خشک گردید. پس از این مرحله جهت استخراج پلی ساکاریدهای سولفات‌ها (فاز جامد) به نسبت (۲۰:۱) در آب مقطر قرار داده شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد استخراج صورت گرفت. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۸۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ درجه سانتی گراد، ۱۰ دقیقه) فاز مایع جمع‌آوری و با دستگاه روتاری (HB10-digital) تغلیظ گردید. پس از این مرحله با استفاده از اتانول ۷۰٪ پلی ساکاریدها رسوب دهی و با سانتریفیوژ (۸۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰

درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه) جداسازی شدند. در نهایت پلی‌ساکاریدها (فاز جامد) در چندین نوبت با اتانول ۹۵٪ و استون جهت آب زدایی، شستشو و در معرض هوا در دمای اتاق خشک گردید تا وزن آن ثابت گردد. [۲۰].

آنالیزهای شیمیایی

سنجش مقدار کربوهیدرات کل

برای اندازه‌گیری مقدار کربوهیدرات کل پلی‌ساکارید، ابتدا نمونه‌ها در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، در لوله آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر نمونه با ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۵۰۰ میکرولیتر فنول و ۲۵۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک مخلوط شدند. ترکیب تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای هر نمونه ۳ تکرار تهیه گردید و در آخر جذب آن در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در این آزمایش از گلوکز و گالاکتوز به عنوان استاندارد در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد [۲۱].

سنجش مقدار پروتئین کل

در این آزمایش از روش Lowry و همکاران [۲۲] به منظور اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه با ۵۰۰ میکرولیتر واکنش‌گر لوری (شامل تارتارات سدیم-پتاسیم ۲ درصد، مس سولفات ۱ درصد، کربنات سدیم ۲ درصد با نسبت‌های ۱۰۰:۱:۱۰۰) مخلوط شد. سپس مخلوط حاضر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این مدت ۵۰ میکرولیتر فولین-سیوکالتو در طی دو مرحله به نمونه اضافه شد و نمونه در محیط تاریک توسط ورتکس کاملاً مخلوط شدن و به مدت ۱۰ دقیقه در آن قرار گرفتند. در انتها نیز جذب نمونه‌ها در ۷۵۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر خوانده شد. از سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد در غلظت‌های ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد.

آنالیزهای طیف سنجی FT-IR

با استفاده از طیف سنجی FT-IR سنجش گروه عاملی پلی‌ساکاریدها انجام شد. به طور خلاصه، یک میلی‌گرم از پلی‌ساکاریدهای استخراج شده با ۳۰۰ میلی‌گرم پودر KBr، آسیاب شد و برای انتقال طیف سنجی مادون قرمز، با ضخامت ۱-۰/۵ میلی‌متر فشرده شد و به وسیله ATR-FTIR از طریق جذب، تجزیه و تحلیل گردید. نمونه‌ها در محدوده امواج بین 400 cm^{-1} تا 4000 cm^{-1} با وضوح 2 cm^{-1} (Tensor 27, Bruker Instruments, Billerica, USA) ثبت شد.

تعیین وزن مولکولی

پلی‌ساکارید در آب مقطر (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) حل شد و قبل از اندازه‌گیری مولکولی به میزان ۳۰ ثانیه در مایکروویو حرارت داده شد (Parr Instrument Co., Moline, IL, USA). نمونه‌ها بلافاصله از طریق یک غشا سلولزی فیلتر شد سیستم تفرق نور لیزر ایستا چند زاویه ای (Waters, HELEOS; Wyatt Technology Corp, Santa Barbara, CA, USA)، آشکارساز طیف سنج مرئی (UV) (Waters, 2487) و سیستم آشکار کننده ضریب شکست (HPSEC-UV-MALLS-RI) (Waters, 2487) برای تجزیه و تحلیل ویژگی‌های مولکولی استفاده شد. همچنین از فاز متحرکی، با سرعت جریان ۰/۴ میلی‌لیتر بر دقیقه و یک محلول آبی متشکل از ۰/۱۵ مولار NaNO_3 و ۰/۰۲ درصد NaN_3 استفاده شد.

از نرم افزار ASTRA ۵/۳ (Wyatt Technology Corp.) برای محاسبه میانگین وزنی و وزن مولکولی (M_w) استفاده شد.

ساخت غذا

جیره های آزمایشی در مقادیر متفاوت از پلی‌ساکارید (جدول ۱) ساخته شدند. پس از استخراج پلی‌ساکارید از اسپیرولینا *Spirulina platensis* عصاره‌های جلبکی پس از حل شدن در آب به نسبت مربوطه به جیره‌های آزمایشی افزوده شده و بطور یکنواخت در کل غذا مخلوط شد (جدول ۲).

سپس بوسیله چرخ گوشت به صورت پلت با سایز مناسب در آمدند. پلت‌ها در خشک کن در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شده و تا زمان مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۲۳].

جدول ۱. تیمارهای غذایی مورد استفاده در آزمایش

تیمارها	نوع تیمار	سطوح مورد استفاده
جیره ۱ (شاهد)	غذای فرموله شده بدون پلی ساکارید	۰
جیره ۲	غذای فرموله شده با پلی ساکارید استخراج شده از <i>Spirulina platensis</i>	۵۰۰ mg/kg جیره غذایی
جیره ۳		۱۰۰۰ mg/kg جیره غذایی
جیره ۴		۲۰۰۰ mg/kg جیره غذایی
جیره ۵		۳۰۰۰ mg/kg جیره غذایی

جدول ۲. ترکیب جیره های آزمایشی (بر حسب گرم در ۱۰۰۰ گرم)

نوع جیره	جیره ۱ (شاهد)	جیره ۲	جیره ۳	جیره ۴	جیره ۵
پودر ماهی	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰	۵۰۰
پودر سویا	۱۹۲/۳	۱۹۲/۳	۱۹۲/۳	۱۹۲/۳	۱۹۲/۳
آرد گندم	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰
روغن ماهی	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵
روغن سویا	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵	۵۵
لسیتین	۵	۵	۵	۵	۵
دی کلسیم فسفات	۵	۵	۵	۵	۵
مکمل معدنی*	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
مکمل ویتامینه*	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
ضد قارچ	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
آنتی اکسیدان	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
فیلر**	۵	۴/۵	۴	۳	۲
پلی ساکارید	۰	۰/۵	۱	۲	۳
جمع	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

آنالیز تقریبی جیره شاهد	
۳۴/۲۴	پروتئین خام (%)
۲۳/۱۴	چربی خام (%)
۱۵/۲۶	خاکستر (%)
۲۳/۶۱	*** کربوهیدرات (%)
۳/۷۵	رطوبت (%)
۲۱/۲۸	**** انرژی کل (Kj/g)

* هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی آهن (۶ گرم)، روی (۱۰ گرم)، سلنیم (۲۰ میلی‌گرم)، کبالت (۱۰۰ میلی‌گرم)، مس (۶۰۰ میلی‌گرم)، منگنز (۵ گرم)، ید (۴۰۰ میلی‌گرم)، کولین کلراید (۶۰ گرم)، هر ۵ کیلوگرم مکمل ویتامینه ۰/۵ درصد حاوی ویتامین‌های E=۱۵۰، D_۳=۲۰۰۰۰۰ IU، A= ۸۰۰۰۰۰ IU، B_۱=۵۰ gr، B_۲=۴۰ gr، B_۳=۱۵۰ gr، B_۴=۲۰۰ gr، B_۵=۸۰ gr، B_۶=۰/۰۵ gr، B_{۱۲}=۰/۰۵ gr، C=۵۰۰ gr، Enositol=۵۰۰ gr

** کربوکسی متیل سلولز

*** محاسبه کربوهیدرات بر اساس رابطه (پروتئین + چربی + خاکستر + رطوبت) - ۱۰۰ تعیین شد.

**** بر اساس ضریب ۳۹/۵، ۱۷/۲ و ۲۳/۶ (واحد کیلو ژول بر گرم) به ترتیب برای پروتئین، چربی و کربوهیدرات محاسبه شد [۲۴].

اقلام غذایی از کارخانه خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری - ایران) تهیه گردید.

تهیه ماهی

بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن $15/42 \pm 1/62$ گرم پس از تهیه، بسته بندی شدند و از شهرستان تنکابن (مازندران - ایران)، به کارگاه انتقال یافتند. ابتدا ماهیان به مدت ۷ روز در مخازن ۱۰۰۰ لیتری دوره‌ی سازگاری را سپری نمودند. در این مدت ماهیان با جیره تجاری شرکت فرانسوی بیومار مورد تغذیه قرار گرفتند. سپس به مدت ۸ هفته دوره اصلی پرورش آغاز و با غذای فرموله مورد تغذیه قرار گرفتند.

مکان و نحوه‌ی پرورش:

کار اصلی پرورش در سالن پرورش آبزیان (سوله) دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. پس از انجام مرحله سازگاری، ۱۸۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی $17/22 \pm 0/5$ گرم به‌طور تصادفی انتخاب و در ۱۵ تانک فایبرگلاس (۱۰۰ لیتری) با حجم آب ۸۰ لیتر به میزان ۱۲ عدد در هر تانک توزیع گردیدند. غذادهی ماهیان براساس سیری و مشاهده نحوه غذاگیری انجام شد. غذادهی ۳ وعده در روز (ساعت ۹، ۱۴ و ۱۸) انجام گرفت. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره‌ی نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی با استفاده از نور مصنوعی انجام پذیرفت. اندازه‌گیری عوامل کیفی آب، همچون دمای آب (با دماسنج جیوه‌ای) به‌صورت روزانه، اکسیژن محلول (توسط اکسیژن متر) و pH (از طریق دستگاه pH متر) به‌صورت هفتگی انجام گرفت. میزان دمای آب، اکسیژن محلول و pH به ترتیب ۱۵ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد، ۸ تا ۹ میلی‌گرم در لیتر و ۷/۴ تا ۸/۴ اندازه‌گیری گردید. آب مخازن به‌طور دائم هوادهی شدند و تعویض آب (به‌طور میانگین ۶۰ درصد آب روزانه جایگزین شد) و سیفون کردن روزانه صورت گرفت.

بررسی شاخص‌های رشد

در ابتدای دوره تمام بچه ماهیان با ترازوی دقیق توزین شده و پس از آن در انتهای دوره نیز ماهیان مورد سنجش وزنی و طولی قرار گرفتند. درصد زنده‌مانی و سایر شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (WG)، تولید، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، کارایی پروتئین (PER)، شاخص وضعیت (CF)، شاخص کبدی (HSI)، و شاخص امعاء و احشاء (VSI) توسط روش‌های معمول و روابط مربوطه تعیین شدند [۲۳].

(وزن ابتدای به گرم - وزن انتهایی به گرم) = (WG) افزایش وزن بدن (گرم)

افزایش وزن بدن × بازماندگی = تولید

۱۰۰ × (طول / وزن نهایی) = (CF) شاخص وضعیت

۱۰۰ × دوره پرورش / [ln (وزن ابتدایی) - ln (وزن انتهایی)] = (SGR) نرخ رشد ویژه

وزن تر به دست آمده به گرم / مقدار غذای خشک داده شده به گرم = (FCR) ضریب تبدیل غذایی

پروتئین مصرفی به گرم / وزن تر تولید شده به گرم = (PER) کارایی پروتئین

تجزیه تقریبی جیره و بافت بدن ماهی

برای تجزیه بافت بدن ماهی در انتهای آزمایش از هر تکرار ۳ قطعه ماهی جدا گردید. سر و دم قطع شد و امعاء و احشاء تخلیه گردید. سپس هر ۳ ماهی با هم چرخ شدند. تجزیه تقریبی جیره غذایی و بافت بدن شامل سنجش رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین خام از روش AOAC [۲۵] انجام شد. و هر سنجش با ۳ تکرار در هر تیمار انجام پذیرفت. تمام مراحل تجزیه تقریبی بافت بدن و جیره در آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

تعیین ترکیب اسید چرب عضله و جیره غذایی

استخراج چربی بافت و جیره غذایی

برای سنجش اسید چرب نیز در انتهای آزمایش از هر تکرار ۳ قطعه ماهی جدا گردید، جهت استخراج چربی از روش Folch و همکاران [۲۶] استفاده شد. در این روش مقدار ۱ گرم نمونه به بالون ژوژه ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده، سپس ۵ میلی‌لیتر متانول به نمونه اضافه کرده و به شدت تکان داده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم به نمونه‌ها اضافه و مجدداً بالون ژوژه به شدت تکان داده شد. نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد تا چربی بافت کاملاً خارج گردد. پس از این مدت نمونه‌ها به دکانتور منتقل و به آن ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. بعد از یک ساعت سه فاز مجزا در داخل دکانتور تشکیل شد. فاز چربی و حلال که در قسمت زیرین دکانتور قرار گرفته بود به وسیله قیف و کاغذ صافی به درون ظروف COD منتقل شده و به کمک نیتروژن حلال پرانی صورت گرفت و نهایتاً چربی باقی ماند.

استری کردن چربی استخراج شده

جهت استری کردن چربی از روش Metcalf و Schmitz [۲۷] استفاده شد. ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲ درصد (۲ گرم NaOH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) به چربی استخراج شده اضافه شد. سپس درب ظرف بسته و به شدت تکان داده شد. ظرف حاوی نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن، ۲/۲ میلی‌لیتر محلول BF₃ (تری فلوراید بور) به ترکیب فوق اضافه و به مدت ۳ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از خنک شدن به ترکیب فوق، ۱ میلی‌لیتر n هگزان نرمال اضافه و پس از تکان دادن، به آن ۱ میلی‌لیتر محلول نمک اشباع (۳۰۰ گرم NaCl در یک لیتر آب مقطر) اضافه گردید. ترکیب فوق تکان داده شد و تا زمان تشکیل دو فاز مختلف ظرف حاوی نمونه در

محلی خاص مستقر گردید. فاز بالایی با دقت جدا گردید. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (BPX 70 SGE; 60m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 μm) و آشکار ساز FID استفاده گردید. دمای آشکار ساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۲۶۰ و ۳۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. ۱ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه کروماتوگراف گازی تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده که ۴/۵ دقیقه در این دما مانده و با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۱۹۰ درجه سانتی‌گراد رسیده و ۹ دقیقه در این دما مانده و با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید. در این روش از گاز ازت با خلوص (۹۹٪/۹۹۹۹) به‌عنوان گاز حامل و هوای خشک استفاده شد. زمان اجرا عملیات دستگاه برای هر نمونه ۴۵ دقیقه بود. ترکیب اسید چرب نمونه‌ها با مقایسه با پیک استاندارد و جهت محاسبه‌ی سطح زیر پیک از نرم افزار (Chromatography Varian Star Software (version 6.41) استفاده شد و نتایج به‌صورت درصد گزارش گردید.

تعیین میزان لیزوزیم در نمونه سرم

برای تهیه سرم خون در انتهای آزمایش از هر تکرار ۳ قطعه ماهی جدا و خون ماهیان پس از بی‌هوشی با سرنگ ۳ سی‌سی غیرهپارینه استحصال شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ، فاز رویی (سرم) جمع‌آوری و در میکروتیوب ریخته و تا زمان ارسال نمونه به آزمایشگاه (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) و سنجش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت تعیین میزان لیزوزیم سرم از روش Bayne و Demers [۲۸] و بر مبنای لیز شدن باکتری گرم مثبت حساس به آنزیم لیزوزیم، یعنی (*Micrococcus lysodeikticus*) استفاده گردید. به‌طور خلاصه از آنزیم لیزوزیم سفیده‌ی تخم مرغ با رقت‌های مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) در بافر فسفات سترات (۰/۱ مولار و pH = ۵/۸) به‌عنوان استاندارد استفاده گردید. مقدار ۲۵ میکرولیتر از نمونه استاندارد و سرم تیمارهای مختلف، به‌طور جداگانه در هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ته صاف هر کدام با سه تکرار ریخته شد، سپس ۱۷۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (*M. lysodeikticus*) در همان بافر (۷۵ μg/ml) به هر چاهک اضافه و بلافاصله با نمونه‌های سرم مخلوط گردید و اجازه داده شد تا این واکنش در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت گیرد. جذب نوری نمونه‌ها هر سی‌ثانیه یک بار تا پنج دقیقه به کمک دستگاه الیزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید.

تعیین فعالیت کمپلمان

پس از تهیه سرم خون که قبلاً توضیح داده شد، جهت تعیین فعالیت همولیتیک کمپلمان از روش Amar و همکاران [۲۹] براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaABC) استفاده گردید. به‌طور خلاصه، گلبول‌های قرمز خرگوش سه مرتبه با بافر اتیلن‌گلیکول تترا استیک اسید - منیزیم - ژلاتین ورنال شسته شده و تعداد سلول‌های آن به صورت تقریبی به کمک لام نئوبار روی $10^8 \times 2$ در هر میلی‌لیتر بافر تنظیم شد. سپس نمونه‌های سرم ابتدا ۱۰۰ مرتبه با بافر فوق رقیق شد، سرانجام به همه لوله‌ها ۱۰۰ μl گلبول قرمز خرگوش اضافه، و پس از انکوباسیون مخلوط حاصل به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. به هر کدام از لوله‌ها ۳/۱۵ ml محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم اضافه گردید. نمونه‌ها با دور $1600 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید، سپس میزان جذب نوری محلول رویی در طول موج ۴۱۴ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید. حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود، عبارت است از فعالیت کمپلمان نمونه که از رابطه‌ی زیر برای محاسبه آن استفاده گردید.

$$ACH_{50}(u/ml) = K \times (\text{فاکتور رقت}) \times 0/5$$

در رابطه‌ی فوق K حجمی از سرم بر حسب ml است که موجب ۵۰ درصد همولیز می‌شود، ۰/۵ عدد ثابت بوده و فاکتور رقت در این تست ۰/۰۱ می‌باشد.

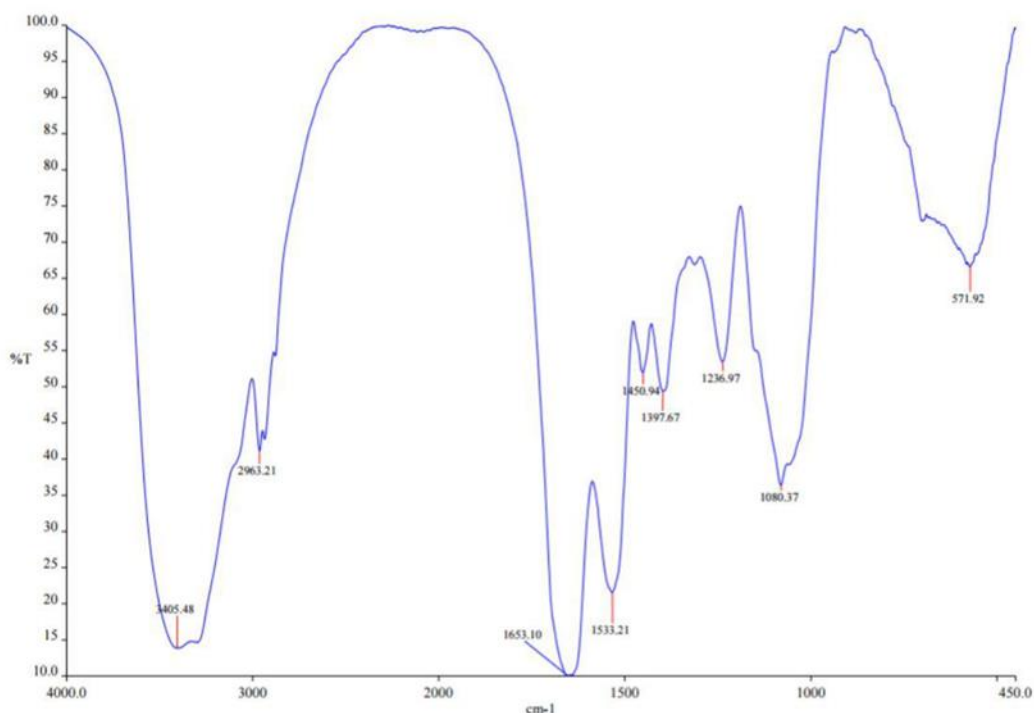
آنالیز آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به رشد و سایر پارامترها، با آزمون One-way ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح ۹۵ درصد اطمینان استفاده شد. از نرم افزار SPSS Version 20 برای آنالیز آماری و نرم افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

تجزیه و تحلیل FT-IR

برای بررسی خصوصیات ساختاری پلی ساکارید استخراج شده از میکرو جلبک اسپیرولینا از تست FT-IR استفاده شد. نتایج مربوط در شکل ۱ نمایش داده شد. این تست معمولاً در پلی ساکاریدها به منظور مشاهده نوع پیوندهای گلیکوزیدی، نوع مونو ساکاریدها و گروه‌های عاملی مورد استفاده قرار می‌گیرد. باندهای مشاهده شده در طول موج 3405.48 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی O-H بود، همچنین سیگنال 2963.21 cm^{-1} به دلیل ارتعاش کششی C-H و 1653.10 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی COO^- و وجود گروه یورینیک اسید در پلی ساکارید بوده و همچنین سیگنال 1533.21 cm^{-1} ، مربوط به ارتعاش متقارن کششی COO^- و ارتعاش کششی C-O در گروه عاملی COOH می‌باشد.



شکل ۱: نتایج مربوط به تست FT-IR

ترکیب شیمیایی و وزن مولکولی پلی ساکارید

مقادیر میزان کربوهیدرات و پروتئین عصاره پلی ساکارید استخراج شده از میکرو جلبک اسپیرولینا *Spirulina platensis* در جدول ۳ نمایش داده شد.

جدول ۳. ترکیب شیمیایی و وزن مولکولی پلی ساکارید استخراج شده از ریز جلبک اسپیرولینا

نمونه	درصد کربوهیدرات کل	درصد پروتئین	وزن مولکولی ($M_w \times 10^3$ (g/mol)
<i>Spirulina platensis</i>	70.26 ± 0.60	$1/38 \pm 0.06$	$631/10 \pm 0.78$

شاخص های رشد

نتایج شاخص های رشد و زنده مانی ماهی قزل آلابی رنگین کمان تحت تاثیر پلی ساکارید استخراج شده از میکرو جلبک اسپیرولینا در جدول (۴) آورده شد. بیشترین و کمترین وزن نهایی، افزایش وزن بدن، شاخص رشد روزانه و تولید ماهی به ترتیب در تیمارهای غذایی حاوی ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا و شاهد مشاهده گردید و بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری وجود نداشت. هیچ تفاوت معنی داری در فاکتور وضعیت و ضریب رشد ویژه بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ($P > 0.05$). تفاوت معنی داری در ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین در بین تیمارها مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید کمترین مقدار و در تیمار شاهد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. زنده مانی در همه تیمارها بالا و تلفاتی مشاهده نشد.

جدول ۴. نتایج شاخص های رشد و تغذیه ای ماهی قزل آلابی رنگین کمان تحت تأثیر مقادیر متفاوت عصاره پلی ساکاریدی ریز

جلبک اسپیرولینا

تیمار پارامترهای رشد	شاهد	۵۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۱۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۲۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۳۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید
وزن اولیه (گرم)	$17/17 \pm 0/61$	$17/24 \pm 0/97$	$17/21 \pm 0/68$	$17/27 \pm 0/10$	$17/19 \pm 0/5$
وزن نهایی (گرم)	$76/24 \pm 0/46$	$80/83 \pm 0/56$	$79/68 \pm 0/80$	$78/23 \pm 0/20$	$77/85 \pm 0/27$
افزایش وزن بدن (گرم)	$59/06 \pm 0/46$	$63/59 \pm 0/07$	$62/47 \pm 0/87$	$60/95 \pm 0/47$	$60/66 \pm 0/41$
تولید (گرم)	$70.8/72 \pm$	$76.3/0.8 \pm 7/0.4$	$73.0/3.2 \pm 6/4.4$	$73.1/4.5 \pm 1.4/7$	$72.7/9.2 \pm 1.4/1.2$
شاخص وضعیت	$1/14 \pm 0/05$	$0/92 \pm 0/07$	$0/95 \pm 0/07$	$0/95 \pm 0/02$	$1/08 \pm 0/08$
ضریب رشد ویژه	$2/48 \pm 0/01$	$2/57 \pm 0/02$	$2/55 \pm 0/04$	$2/52 \pm 0/03$	$2/52 \pm 0/03$
ضریب تبدیل غذایی	$1/27 \pm 0/05$	$1/18 \pm 0/02$	$1/20 \pm 0/03$	$1/23 \pm 0/03$	$1/24 \pm 0/02$
کارایی پروتئین	$1/72 \pm 0/01$	$1/86 \pm 0/02$	$1/82 \pm 0/05$	$1/78 \pm 0/04$	$1/77 \pm 0/04$
زنده مانی (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

نتایج به صورت میانگین \pm سه تکرار بیان شده اند. عدم وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار بین میانگین

ها است ($P < 0.05$)

تجزیه تقریبی لاشه ماهی قزل آلی رنگین کمان تغذیه شده با جیره های مختلف

میزان پروتئین، لاشه بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). به طوری که بیشترین و کمترین میزان پروتئین لاشه به ترتیب در تیمار غذایی ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا و شاهد مشاهده شد. میزان چربی، خاکستر و رطوبت در بین تیمارها اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۵).

جدول ۵. اثر افزودنی غذایی پلی ساکاریدها بر تجزیه تقریبی لاشه ماهی قزل آلی رنگین کمان (بر حسب درصد وزن خشک)

تیمار آنالیز تقریبی	شاهد	۵۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۱۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۲۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۳۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید
پروتئین (%)	۶۶/۱۰±۱/۲ b	۶۹/۶۴±۰/۹ a	۶۷/۵۶±۲/۱ ab	۶۷/۱۲±۰/۶۹b	۶۶/۳۰±۰/۸۸b
چربی (%)	۲۱/۱۸±۰/۹۶	۲۰/۶۴±۱/۲۶	۲۳/۲۰±۱/۲۲	۲۲/۶۹±۰/۹۸	۲۳/۱۷±۱/۳۸
خاکستر (%)	۶/۰۸±۰/۳۵	۷/۶۳±۰/۶۳	۷/۱۱±۰/۵۷	۷/۲۹±۰/۷۸	۶/۵۸±۰/۶۵
رطوبت (%)	۷۴/۲۵±۱/۱۲	۷۴/۳۵±۱/۳۹	۷۲/۸۵±۲/۱۸	۷۱/۴۶±۰/۸۳	۷۱/۸۸±۰/۹۲

نتایج به صورت میانگین \pm سه تکرار بیان شده اند. حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ی تفاوت معنی دار بین میانگین ها است

$$(P < 0.05)$$

ترکیب اسیدهای چرب بدن

همانطور که در جدول ۶ مشاهده می شود در این آزمایش تفاوت معنی داری در تیمارهای مختلف در هیچ یک از اسید های چرب وجود نداشت. بیشترین میزان EPA در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا و کمترین در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان DHA در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا و کمترین در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا مشاهده شد. بیشترین و کمترین MUFA به ترتیب مربوط به تیمار ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا مشاهده شد. بیشترین و کمترین PUFA به ترتیب در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا و شاهد مشاهده شد. . بیشترین و کمترین میزان HUFA به ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا و شاهد مشاهده شد. نسبت n3/n6 در تیمار شاهد کمترین و در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا بیشترین مقدار را دارد.

جدول ۶. نتایج ترکیب اسید چرب ماهی قزل آلابی رنگین کمان تحت تأثیر مقادیر متفاوت عصاره پلی ساکاریدی ریز جلبک اسپیرولینا (برحسب درصد از کل)

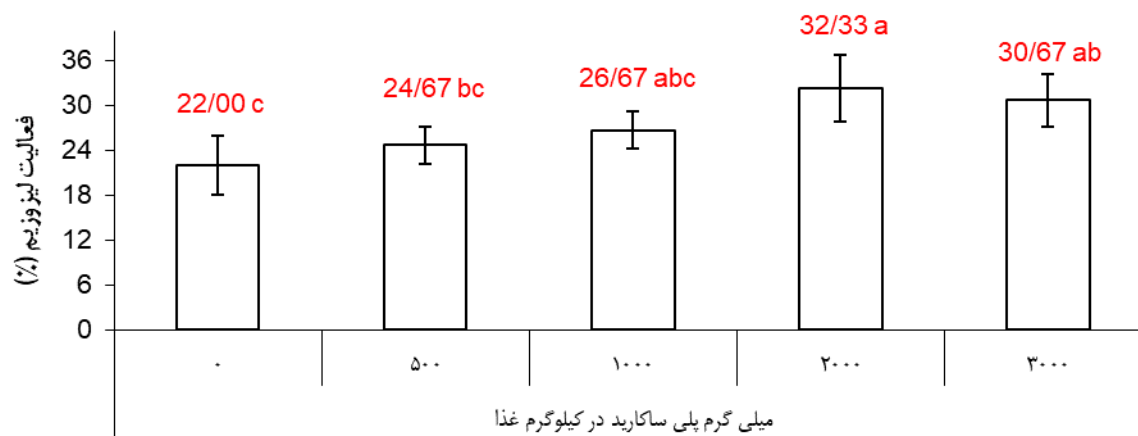
تیما ترکیب اسید چرب	شاهد	۵۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۱۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۲۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید	۳۰۰۰ Mg/kg پلی ساکارید
C14:0	۱/۳۸±۰/۱۷	۱/۳۸±۰/۱۲	۱/۵۳±۰/۲۵	۱/۶۹±۰/۱۷	۱/۲۲±۰/۱۴
C14:۱n۵	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۲	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۰۷±۰/۰۶
C16:0	۱۶/۱۹±۰/۳۹	۱۵/۹۰±۰/۹۳	۱۴/۹۰±۲/۴۹	۱۵/۵۴±۰/۴۵	۱۵/۸۲±۰/۳۴
C16:۱n۷	۲/۷۳±۰/۱۴	۳/۲۱±۰/۵۷	۲/۷۱±۰/۱۱	۲/۵۰±۰/۱۰	۲/۷۷±۰/۰۳
C18:0	۵/۴۱±۰/۰۷	۵/۰۴±۰/۲۰	۴/۷۲±۰/۸۸	۵/۳۰±۰/۴۵	۵/۱۵±۰/۲۳
C18:۱n۹	۲۶/۲۲±۲/۹۵	۲۷/۴۸±۰/۹۲	۲۳/۳۳±۴/۱۷	۲۵/۴۶±۱/۰۰	۲۴/۴۵±۴/۰۳
C18:۲n۶	۲۴/۴۳±۰/۷۹	۲۳/۸۴±۰/۹۲	۲۴/۰۵±۱/۷۴	۲۴/۰۸±۰/۷۱	۲۲/۲۴±۰/۴۸
C18:۳n۳	۱/۷۰±۰/۰۸	۲/۵۹±۰/۵۰	۱/۹۲±۱/۲۱	۲/۴۲±۰/۰۶	۲/۰۹±۰/۱۹
C20:۱n۹	۰/۹۴±۰/۶۸	۱/۵۸±۰/۲۷	۱/۳۳±۰/۳۷	۱/۳۰±۰/۰۶	۱/۰۹±۰/۲۰
C20:۲n۶	۱/۱۹±۰/۱۵	۱/۲۰±۰/۰۳	۱/۰۵±۰/۰۹	۱/۲۲±۰/۰۹	۱/۱۶±۰/۰۷
C20:۳n۳	۰/۶۲±۰/۰۱	۰/۵۷±۰/۰۲	۰/۶۰±۰/۰۱	۰/۵۹±۰/۰۴	۰/۶۴±۰/۰۴
C20:۴n۶	۰/۶۰±۰/۴۶	۰/۹۰±۰/۱۱	۰/۷۴±۰/۰۳	۰/۸۴±۰/۲۰	۰/۷۴±۰/۱۹
C20:۵n۳	۰/۹۵±۰/۱۴	۱/۰۷±۰/۰۳	۱/۱۳±۰/۱۰	۱/۰۵±۰/۱۳	۱/۰۵±۰/۰۷
C22:0	۰/۱۷±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/	۰/۱۸±۰/۰۴	۰/۱۷±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۲
C22:۱n۹	۰/۲۹±۰/۱۲	۰/۳۵±۰/۱۰	۰/۲۲±۰/۰۱	۰/۳۳±۰/۵۱	۰/۳۵±۰/۱۶
C22:۶n۳	۸/۷۱±۱/۲۴	۹/۲۶±۱/۶۳	۸/۵۳±۰/۲۱	۹/۹۷±۰/۰۸	۱۰/۴۰±۰/۲۸
ΣSFA	۲۳/۱۵	۲۲/۸۵	۲۱/۳۳	۲۲/۷۰	۲۲/۳۶
ΣMUFA	۳۰/۰۲	۳۲/۶۴	۲۸/۶۰	۲۹/۶۲	۲۸/۷۳
ΣPUFA	۳۷/۲۵	۳۹/۴۳	۳۸/۰۲	۴۰/۱۷	۳۸/۳۲
ΣHUFA	۱۰/۲۶	۱۱/۲۳	۱۰/۴۰	۱۱/۸۶	۱۲/۱۹
Σn۳	۱۱/۹۸	۱۳/۴۹	۱۲/۱۸	۱۴/۰۳	۱۴/۱۸
Σn۶	۲۶/۲۲	۲۵/۹۴	۲۵/۸۴	۲۶/۱۴	۲۴/۱۴
n۳/n۶	۰/۴۵	۰/۵۲	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۵۸

نتایج به صورت میانگین \pm سه تکرار بیان شده اند. عدم وجود حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده ی عدم تفاوت معنی دار بین میانگین ها است ($P < 0.05$)

پارامترهای ایمنی غیر اختصاصی

سنجش فعالیت لیزوزیم

نتایج فعالیت لیزوزیم پلاسمای خون در شکل ۲ نمایش داده شد. نتایج نشان داد ماهیان تغذیه شده با سطح ۲۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا بیشترین فعالیت لیزوزیم را داشته اند که تفاوت آماری معنی داری با شاهد داشتند و کمترین میزان فعالیت لیزوزیم پلاسمای خون مربوط به تیمار شاهد بود.



شکل ۲. میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم ماهی قزل آلی رنگین کمان تحت تأثیر افزودنی غذایی پلی ساکارید؛ داده ها به صورت میانگین \pm سه تکرار بیان شده اند. حروف متفاوت نشان دهنده ی تفاوت معنی دار بین میانگین ها است ($P < 0.05$).

سنجش فعالیت کمپلمان (ACH 50)

شکل ۳ نتایج مربوط به فعالیت کمپلمان را در تیمارهای مختلف نشان می دهد. یک افزایش خطی در فعالیت کمپلمان با افزایش مقادیر پلی ساکارید دیده می شود که بالاترین و پایین ترین مقدار بدست آمده به ترتیب مربوط به تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا و شاهد بوده و تفاوت معنی داری ایجاد کرده است.



شکل ۳. میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان ماهی قزل آلابی رنگین کمان تحت تأثیر افزودنی غذایی پلی ساکارید؛ داده‌ها به صورت میانگین \pm سه تکرار بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها است ($P < 0.05$).

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که رشد ماهی قزل آلابی رنگین کمان تغذیه شده با خوراک حاوی پلی ساکارید نسبت به خوراک فاقد پلی ساکارید دارای تفاوت اندکی بوده و تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. مطابق نتایج حاصله تیمار حاوی ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید دارای رشد بهتر از نظر وزن نهایی، افزایش وزن و تولید بوده و گروه شاهد کمترین میزان رشد و پارامترهای رشد را داشته است. سایر فاکتورها و شاخص‌های رشد نظیر فاکتور وضعیت، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها حاوی پلی ساکارید و شاهد مشاهده نشد. علت عدم حصول نتیجه مثبت با بکارگیری عصاره پلی ساکاریدی ریز جلبک اسپیرولینا روی رشد و تغذیه ماهی چندان مشخص نیست. هر چند نتایج خصوصیات زیستی عصاره جلبکی اسپیرولینا حاکی از وجود پلی ساکاریدهای محلول با وزن ملکولی پایین است ولی شاید به دلیل مقادیر اندک مورد استفاده در جیره، زمان، کوتاه پرورش یا فیزیولوژی گونه مورد نظر، نتوانسته عملکرد مثبتی را نشان دهد. در این خصوص نتایج متفاوتی از سایر محققین وجود دارند عمدتاً عملکرد مثبت استفاده از برخی پلی ساکاریدها را نشان دادن. نتایج تحقیق Aramali و همکاران [۳۰] اثرات مثبت استفاده از سطوح ۰،۳ و ۰،۲ و ۰،۱ درصد بتاگلوکان به مدت ۶ هفته تغذیه بچه تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بر تغییرات افزایشی در وزن نهایی، SGR، FCR در مقایسه با گروه کنترل را نشان داد. همچنین Sivagnanavelmuruga و همکاران [۳۱] گزارش کردند که فوکوئیدان منجر به افزایش عملکرد رشد در میگو میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) می‌گردد. در مطالعه دیگر که توسط Traifalgar و همکاران [۳۲] انجام شد، استفاده از ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم فوکوئیدان در جیره غذایی میگوی ببری ژاپنی (*Marsupenaeus japonicas*)، موجب افزایش عملکرد رشد در مقایسه با تیمار شاهد شد. Savavi و همکاران [۳۳] نیز اثرات مثبت معنادار استفاده از عصاره پلی ساکارید سولفات حاصل از برخی گیاهان دریایی را در رشد ماهی قزل آلابی رنگین کمان نشان دادند. در مطابقت با نتیجه این تحقیق kermani و همکاران [۳۴] نشان دادند که عصاره متانولی حاصل از اسپیرولینا پلاتنسیس هیچ اثر مثبت معناداری روی رشد ماهی قزل آلابی رنگین کمان نداشته است.

اختلاف در ترکیب شیمیایی بدن در گونه های آبی به عوامل داخلی از جمله سن، جنس، اندازه و عوامل خارجی نظیر کیفیت آب، فصل و منطقه جغرافیایی بستگی دارد. اما دلیل اصلی این اختلاف مربوط به تغذیه آبی می باشد [۳۵ و ۳۶]. در تحقیق حاضر، بالا بودن میزان پروتئین لاشه در جیره های حاوی پلی ساکارید می تواند نتیجه ای از افزایش کارایی غذا و هضم و جذب مواد مغذی باشد. اما سایر ترکیبات از جمله چربی، خاکستر و رطوبت تفاوت معنی دار ایجاد نکرد که با نتایج برخی محققین دیگر [۳۳ و ۳۴] مطابقت دارد.

ترکیب اسیدهای چرب علاوه بر تأمین انرژی می بایستی اسیدهای چرب غیر اشباع را برای ماهی تأمین کند [۳۷]. ترکیب اسید چرب در ماهی تحت تأثیر عوامل مختلفی چون شرایط اقلیمی، سن، نوع و جنسیت گونه، رسیدگی جنسی و تغذیه قرار می گیرد [۳۸ و ۳۹]. اسیدهای چرب ضروری به ویژه EPA و DHA نقش مهمی در رشد بدن، ایمنی و پیشگیری از برخی بیماری ها ایفا می نماید [۴۰]. در تحقیق حاضر میزان SFA در تیمار شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود. میزان MUFA در تیمار ۵۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد و مقدار اسید چرب PUFA در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود و اسید چرب HUFA و n3/n6 در تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا دارای بیشترین مقدار بود. اما اختلاف معنی داری در هیچ یک از اسید های چرب مشاهده نشد. اما برخی مطالعات عملکرد مثبت عصاره پلی ساکاریدی حاصل از برخی ماکرو جلبکها را روی ماهی قزل آلی رنگین کمان گزارش نمودند [۳۳]. عملکرد اندک عصاره پلی ساکاریدی اسپیرولینا در بهبود ترکیب اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع شاید به وابسته عملکرد آنتی اکسیدانی این عصاره ها باشد.

محرک های ایمنی، اساساً به عملکرد سلول های فاگوسیتوز کمک می کنند و باعث افزایش فعالیت های ضد باکتریایی آنها می شوند. برخی از محرک های سیستم ایمنی باعث تحریک فعالیت های سیستم کمپلمان، لیزوزیم، سلول های کشنده طبیعی و پاسخ آنتی بادی در ماهیان می شود. فعال سازی این عملکردهای ایمنولوژیک با افزایش حفاظت در برابر بیماری های عفونی ارتباط دارد [۴۱]. نتایج مطالعه ی حاضر بیانگر ایجاد اختلاف معنی دار در میزان فعالیت لیزوزیم خون بین تیمارها بود. بیشترین فعالیت لیزوزیم در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا مشاهده شد که با تیمار ۳۰۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا تفاوت معنی داری نداشت و با تیمار ۵۰۰ و شاهد تفاوت معنی دار ایجاد کرد. همچنین میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان سرم در تیمارهای حاوی پلی ساکارید افزایش یافت و نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری را نشان دادند. بیشترین میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان سرم به ترتیب در تیمارهای حاوی ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید و کمترین در شاهد مشاهده گردید، و تفاوت معنی داری بین تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید با تیمار ۵۰۰ و شاهد مشاهده شد. نتایج این تحقیق با تحقیق Gopalakannan و Arul روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) [۴۲]، Parede و همکاران روی ماهی سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*) [۴۳] همچنین صفوی و همکاران [۳۳] که به بررسی تأثیر پلی ساکاریدهای سولفات هاستراکس شده از ماکرو جلبک های دریایی (*Grasilariaopsis persica* و *Ulva intestinalis*)، بر عملکرد رشد، پاسخ ایمنی، ترکیب لاشه در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند، مطابقت داشت. علت این تفاوت معنی دار در مقدار لیزوزیم و کمپلمان مترشحه می تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند شکل و ساختار پلی ساکارید و مونومرهای تشکیل دهنده آن و وزن مولکولی پلی ساکارید استخراج شده باشد. ترکیبات زیست فعال می توانند با اتصال به گیرنده های سلولی سیستم ایمنی باعث افزایش فعالیت آنها و در نتیجه افزایش پاسخ ایمنی گردند [۴۴ و ۴۵].

نتیجه گیری نهایی

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، پلی ساکارید استخراج شده از ریز جلبک *Spirulina platensis* در جیره غذایی به عنوان افزودنی غذایی، تفاوت معنی داری در رشد ماهی قزل آلی رنگین کمان نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد. از نظر ترکیب بدن به خصوص پروتئین، تیمار حاوی پلی ساکارید دارای تفاوت معنی داری با تیمار شاهد (بدون پلی ساکارید) داشت. نتایج حاصل از سنجش لیزوزیم و کمپلمان حاکی از آن است که استفاده از میزان ۲۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلوگرم غذا بیشترین تأثیر را در افزایش عملکرد سیستم ایمنی در مقایسه با سایر

تیمارها و تیمار شاهد داشت. بنابراین می‌توان بیان کرد که در شرایط معمولی استفاده از مقادیر ذکر شده پلی ساکارید تغییر چندانی در رشد و فاکتورهای رشد ایجاد نکرده و چندان ضرورتی برای استفاده در جیره نیست و در شرایط وقوع استرس و زمان‌های خاص برای افزایش عملکرد سیستم ایمنی و کاهش استرس از دوزهای مناسب (۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم پلی ساکارید در کیلو گرم غذا) می‌توان استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از دانشگاه تربیت مدرس به واسطه کمک مالی و همکاران آزمایشگاهی آقایان دکتر مرتضی کمالی و مهندس حسین نورانی کمال سپاس را دارند.

منابع

- 1- Reverter M., Bontemps N., Lecchini D., Banaigs B., Sasal P., 2014: Use of Plant Extracts in Fish Aquaculture as an Alternative to Chemotherapy: Current Status and Future Perspectives, *Aquaculture*, 433: 50-61.
- 2- Sinyakov M. S., Dror M., Zhevelev H. M., Margel S., Avtalion R. R. 2002. Natural Antibodies and Their Significance in Active Immunization and Protection Against a Defined Pathogen in Fish, *Vaccine*, 20(31): 3668-3674.
- 3- Hashim R., Mat-Saat N. A. 1992. The Utilization of Seaweed Meals as Binding Agents in Pelleted Feeds for Snakehead (*Channa striatus*) Fry and Their Effects on Growth, *Aquaculture*, 108(3): 299-308.
- 4- Wijesinghe W. A. J. P., Jeon Y. J. 2012. Biological Activities and Potential Industrial Applications of Fuco- Rich Sulfated Polysaccharides and Fucoidans Isolated from Brown Seaweeds: A review, *Carbohydrate Polymers*, 88(1): 13-20.
- 5- 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 Nation.
- 6- Ajayan K. V., Selvaraju M. 2011. Reflector Based Chlorophyll Production by *Spirulina platensis* Through Energy Save Mode, *Bioresource Technology*, 102(16): 7591-7594.
- 7- Minkova K. M., Tchernov A. A., Tchorbadjieva M. I., Fournadjieva S. T., Antova R. E., Busheva M. C. 2003. Purification of C-Phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*, *Journal of Biotechnology*, 102(1): 55-59.
- 8- Jaime-Ceballos B. J., Hernández-Llamas A., Garcia-Galano T., Villarreal H. 2006. Substitution of *Chaetoceros muelleri* by *Spirulina platensis* Meal in Diets for *Litopenaeus schmitti* larvae, *Aquaculture*, 260(1): 215-220.
- 9- Goksan T., Zekeriyaoglu A., Ak İ. 2007. The Growth of *Spirulina platensis* in Different Culture Systems Under Greenhouse Condition, *Turkish Journal of Biology*, 31(1): 47-52.
- 10- Volkmann H., Imianovsky U., Oliveira J. L. B., Sant'Anna E. S. 2008. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in Desalinator Wastewater and Salinated Synthetic Medium: Protein Content and Amino-Acid Profile, *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(1): 98-101.
- 11- Kim E. K., Choi G. G., Kim H. S., Ahn C. Y., Oh H. M. 2012. Increasing γ -linolenic Acid Content in *Spirulina platensis* Using Fatty Acid Supplement and Light-Dark Illumination, *Journal of Applied Phycology*, 24(4): 743-750.

- 12- Rodrigues J. A. G., Vanderlei E. de S. O., Bessa É. F., Magalhães F. de A., Paula R. C. M. de, Lima V., Benevides N. M. B. 2011. Anticoagulant Activity of a Sulfated Polysaccharide Isolated from the Green Seaweed *Caulerpa cupressoides*, Brazilian Archives of Biology and Technology, 54(4): 691-700.
- 13- Cumashi A., Ushakova N. A., Preobrazhenskaya M. E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozovich G. E., Berman A. E., Bilan M. I., Usov A. I., Ustyuzhanina N. E., Grachev A. A., Sanderson C. J., Kelly M., Rabinovich G. A., Iacobelli S., Nifantiev N. E. 2007. A Comparative Study of the Anti-Inflammatory, Anticoagulant, Antiangiogenic, and Antiadhesive Activities of Nine Different Fucoidans from Brown Seaweeds, Glycobiology, 17(5): 541-552.
- 14- Zubia M., Fabre M.S., Kerjean V., Lann K. Le., Stiger-Pouvreau V., Fauchon M., Deslandes E. 2009. Antioxidant and Antitumoural Activities of Some Phaeophyta from Brittany Coasts, Food Chemistry, 116(3): 693-701.
- 15- Pezeshk, F., Babaei, S., Abedian Kenari, A., Hedayati, M., Naseri, M. 2018. The effect of supplementing diets with extracts derived from three different species of macroalgae on growth, thermal stress resistance, antioxidant enzyme activities and skin colour of electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus*). Aquacult Nutr. 2018; 00:1-8.
- 16- Li, H., Mao, W., Zhang, X., Qi, X., Chen, Y., Chen, Y., Li, N. 2011. Structural characterization of an anticoagulant-active sulfated polysaccharide isolated from green alga *Monostroma latissimum*. Carbohydrate Polymers, 85(2) 394-400.
- 17- Hebb C. D., Castell J. D., Anderson D. M., Batt J. 2003. Growth and Feed Conversion of Juvenile Winter Flounder (*Pleuronectes americanus*) in Relation to Different Protein-to-Lipid Levels in Isocaloric Diets, Aquaculture, 221(1): 439-449.
- 18- F.A.O. 2020. FishstatJ, FishStatJ-Software for fishery and aquaculture statistical time series, FAO Fish. Div. [Online], Rome. Updat. 22 (2020).
- 19- Statistical Yearbook of Iranian Fisheries. 2019. Publications of Iran Fisheries Organization. 64p.
- 20- Tabarsa, M., Lee, S. J., You, S. 2012. Structural analysis of immunostimulating sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa*. Carbohydrate research, Vol. 361, pp. 141-147.
- 21- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Roberts P. A., Smith F. 1956. Phenol Sulphuric Acid Method for Carbohydrate Determination, Analytical Chemistry, 28: 350-359.
- 22- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, Journal of Biological Chemistry, 193(1): 265-275.
- 23- Abedian Kenari A., Sotoudeh E., Rezaei M. H., 2011: Dietary Soybean Phosphatidylcholine Effects Growth Performance and Lipolytic Enzyme Activity in Caspian Brown Trout (*Salmo trutta Caspius*) Alevin, Aquaculture Research, 42(5): 655-663.
- 24- National Research Council (NRC) .2011. In: (ed) Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academies Press, Washington, DC.
- 25- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- 26- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. 1957. A Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissues, Journal of Biological Chemistry, 226(1): 497-509.
- 27- Metcalf L. D., Schmitz A. A. 1961. Boron-Trifluoride Method for the Derivatisation of Fatty Acids, Analytical Chemistry, 33(3): 363-370.
- 28- Demers, N.E., Bayne, C.J. 1997. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Dev Comp Immunol 21:363-373.

- 29- Amar E. C., Kiron V., Satoh S., Okamoto N., Watanabe T. 2000. Effects of Dietary β -Carotene on the Immune Response of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, Fisheries Science, 66(6): 1068-1075.
- 30- Aramli M. S., Kamangar B., Nazari R. M. 2015. Effects of Dietary β -Glucan on the Growth and Innate Immune Response of Juvenile Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*, Fish and Shellfish Immunology, 47(1): 606-610.
- 31- Sivagnanavelmurugan, M., Thaddaeus, B.J., Palavesam, A., Immanuel, G. 2014. Dietary effect of *Sargassum wightii* fucoidan to enhance growth, prophenoloxidase gene expression of *Penaeus monodon* and immune resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. Fish & Shellfish Immunology, 39 (2) 439-449.
- 32- Traifalgar, R. F., Serrano, A. E., CoRRE, V., Kira, H., Tung, H. T., Michael, F. R., Koshio, S. 2009. Evaluation of dietary fucoidan supplementation effects on growth performance and vibriosis resistance of *Penaeus monodon* postlarvae. Aquaculture Science, Vol. 57(2), pp. 167-174.
- 33- Safavi, S.V., Abedian Kenari, A., Tabarsa M., Esmaeili, M. 2019. Effect of sulfated polysaccharides extracted from marine macroalgae (*Ulva intestinalis* and *Gracilariopsis persica*) on growth performance, fatty acid profile, and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Phycology 31:4021–4035.
- 34- Kermani P., Babaei S., Abedian Kenari A., Hedayati M. 2020. Growth performance, plasma parameters and liver antioxidant enzymes activities of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenile fed on *Spirulina platensis* extract. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 19 (3) 1463-1478.
- 35- Kiessling, A., Johansson, L., Storebakken, T. 1989. Effects of reduced feed ration levels on fat content and fatty acid composition in white and red muscle from rainbow trout. Aquaculture, 79 (1-4) 169-175.
- 36- Hixson, S. M., Parrish, C. C., Anderson, D. M. 2014. Changes in tissue lipid and fatty acid composition of farmed rainbow trout in response to dietary camelina oil as a replacement of fish oil. Lipids, 49(1), pp.97-111.
- 37- Sargent, J. R., Tocher, D. R., Bell J. G., 2002. The lipids. Fish nutrition, Vol. 3, pp. 181-257.
- 38- Millamena, O. M., Bautista-Teruel, M. N., Kanazawa, A. 1996. Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture, 143(3-4) 403-410.
- 39- Kinsella, J. E., Shimp, J. L., Mai, J., Weihrauch, J. 1977. Fatty acid content and composition of freshwater finfish. Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol.54(10), pp.424-429.
- 40- Connor, W. E. 2000. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. The American journal of clinical nutrition, Vol. 71(1), pp. 171S-175S.
- 41- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172(1), 63-92.
- 42- Gopalakannan A., Arul V. 2010. Enhancement of the Innate Immune System and Disease-Resistant Activity in *Cyprinus carpio* by Oral Administration of β -Glucan and Whole Cell Yeast, Aquaculture Research, 41(6): 884-892.
- 43- Paredes M., Gonzalez K., Figueroa J., Montiel-Eulefi E. 2013. Immunomodulatory Effect of Prolactin on Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Macrophage Function. Fish Physiology and Biochemistry, 39(5): 1215-1221.
- 44- Teruya, T., Tatemoto, H., Konishi, T. Tako, M. 2009. Structural characteristics and in vitro macrophage activation of acetyl fucoidan from *Cladosiphon okamuranus*. Glycoconj J 26:10-19

45 Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H. 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar Drugs* 9: 196–223.

Effect of Water-Soluble Polysaccharides Extracted from Microalga (*Spirulina platensis*) on Growth Performance, Body Composition and Immune Response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Amirhossein Valipour¹, Abdolmohammad Abedian Kenari^{1*}, Mehdi Tabarsa²

¹ Aquaculture department, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Noor, Iran

² Sea food processing department, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Mazandaran, Noor, Iran

ABSTRACT

The present study was designed to evaluate the effect of soluble polysaccharides in *Spirulina platensis* microalgae on growth performance, body composition and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In this regard, 180 rainbow trout ($17.22 \pm 0.5g$) were selected and distributed in five experimental treatments (with three replications). Treatments included different levels of polysaccharide in dosage of 0 (control), 500, 1000, 2000 and 3000 mg / kg of feed distributed in 15 fiber glass tanks (100 liters). Fish fingerlings were fed three times a day by satiation for 8 weeks. According to the results, in growth indices (final weight, body weight gain, specific growth factor, protein efficiency, feed conversion ratio and condition factor), no significant difference was observed among the treatments. However, the slight improvement was observed at 500 mg polysaccharide / kg diet. The survival was high in all treatments without any significant difference. Regarding the chemical composition of the body, the highest and the lowest amount of carcass proteins were observed in the diet containing 500 mg polysaccharide and control, which showed a significant difference. No significant difference was observed in the amount of ash, moisture and fat in treatments ($P < 0.05$). The amount of fatty acids of the muscle of the fish body did not show any significant difference among the treatments. The amount of SFA in the control treatment was higher than other treatments. MUFA in 500 mg treatment, PUFA in the treatment of 2000 mg and HUFA and n3 / n6 levels in the treatment of 3000 mg polysaccharides per kg of diet were highest. The level of lysozyme and alternative complement activity of serum was significantly different in different treatments ($P < 0.05$), so that the highest and lowest levels of lysozyme activity were observed in treatments of 2,000 mg polysaccharide and control and the highest and lowest levels of complement activity were observed in treatments containing 3000 mg polysaccharide and control respectively ($P < 0.05$). In general, the use of polysaccharide extracted from micro-algae did not significantly improve rainbow trout growth, but a slight improvement in growth and body composition (protein) in 500 mg polysaccharide per kg of diet was observed. In terms of safety indicators, treatments of 2,000 and 3,000 mg of polysaccharides per kg of diet had a good performance and could be used whenever needed.

KEYWORDS: Feeding, *Spirulina platensis*, Polysaccharides, Growth, Body composition, Immune response, Rainbow trout

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 22 May 2022

Accepted: 6 September 2020

ePublished: 21 September 2022

* Corresponding Author: aabedian@modares.ac.ir

Tel: 01144998000

© Published by Tarbiat Modares University