اثر مکمل غذایی آستاگزانتین بر عملکرد رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی ذاتی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **محسن علی**: گروه بهداشت و بیماری آبزیان، دانشکده دامپزشکی شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **پریا اکبری***: گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
- **امین غلام‌حسینی**: گروه بهداشت و بیماری آبزیان، دانشکده دامپزشکی شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- **محمد سعید فریدونی**: گروه بهداشت و بیماری آبزیان، دانشکده دامپزشکی شیراز، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

آبزی‌پروری متراکم منجر به افزایش استرس، شیوع بیماری باکتری و درنهایت تلفات می‌گردد. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر مکمل غذایی آستاگزانتین بر عملکرد رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی لارو قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به‌مدت ۶۰ روز صورت گرفت. به این منظور، تعداد ۳۶۰ قطعه لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۰۱±۰/۱۳ گرم، در یک طرح کاملاً تصادفی به ٤ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (۱۰ قطعه در هر تکرار) تقسیم شدند و به‌ترتیب با رژیم‌های غذایی حاوی ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که رژیم‌های حاوی آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا، تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های رشد، بقاء و ایمنی ذاتی در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). بالاترین وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه، نسبت کارایی پروتئین، بقاء، پروتئین تام و گلوبولین در تیمار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شدکه با بقیه تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین فعالیت لیزوزیم و آلیومین در تیمارهای حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). در مجموع براساس نتایج این تحقیق، افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم مکمل غذایی آستاگزانتین بر کیلوگرم جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منظور بهبود شاخص‌های رشد، بقاء و پاسخ‌های ایمنی ذاتی در این ماهی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، آستاگزانتین، شاخص‌های رشد، ایمنی ذاتی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: paria.akbary@gmail.com

مقدمه

پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی سالیان اخیر با شتاب زیادی توسعه یافته است، همراه چنین توسعه‌ای که افزایش تراکم ماهی را در واحد سطح طلب می‌نماید، انواع بیماری‌های عفونی با سرعت هرچه تمام‌تر در جمعیت ماهیان پرورشی گسترش می‌یابند، به‌طوری‌که خسارتی بیش از ده درصد تولیدات سالانه را به این صنعت وارد می‌کند (Ravelo و همکاران، ۲۰۰۶). وضعیت تغذیه‌ای یکی از عوامل موثر بر توانایی موجود در مقابله با عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود. از آن‌جایی‌که ماهیان همانند دیگر حیوانات قادر به سنتز کارتنوئیدها در بدنشان نیستند لذا نیاز آن‌ها از طریق رژیم غذایی‌شان تأمین می‌شوند. کارتنوئیدها به‌عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی، ازطریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولیدی ناشی از فعالیت طبیعی سلول‌ها و استرس‌های محیطی واردبرموجودات، نقش‌مهمی در سلامت آن‌ها ایفاء می‌کنند(Chew و همکاران، ۱۹۹۹). آستاگزانتین (۳/۳dihydroxy-diketo-B,B-carotene) مهم‌ترین رنگدانه کارتنوئیدی موجود در حیوانات آبزی است (Guerin و همکاران، ۲۰۰۳). این رنگدانه یک ریزمغذی اصلی و مهم در جیره غذایی آبزیان محسوب می‌شود که عملکردهای زیستی مهمی از جمله جلوگیری از اکسیدشدن اسیدهای چرب غیراشباع را به‌عهده دارد (Hussein و همکاران، ۲۰۰۶). به‌تازگی از رنگدانه‌ها به‌منظور بهبود سطح ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی و رشد در آبزی‌پروری استفاده شده‌است(Liuو همکاران، ۲۰۱۶). تحقیقات متعدد نقش آستاگزانتین بر رشد میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Ahmadi و همکاران، ۲۰۰۸)، فیل ماهی (*Huso huso*) (Farhangi و همکاران، ۲۰۱۳)، ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) (Christiansen و همکاران، ۱۹۹۴)،گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Rehulka، ۲۰۰۰) و پارامترهای بیوشیمیایی خون در مواجهه با استرس میگوی پاسفید غربی (Merchie و همکاران، ۱۹۹۸؛ Farhangi و همکاران، ۲۰۱۳)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Nakano و همکاران، ۱۹۹۹) و گربه ماهی زرد (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) را تایید می‌نماید. به‌عنوان مثال، Liu و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی اثر آستاگزانتین روی رشد و مقاومت در برابر استرس در گربه‌ماهی زرد گزارش کردند که استفاده از ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم جیره غذایی ماهی گربه‌ماهی زرد تاثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رشد ایجاد نکرد. درحالی‌که منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین سرم و کاهش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم، گلوکز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینو ترانسفراز بعد از مواجهه با تنش تراکم در مقایسه با گروه شاهد شد. هم‌چنین تحقیق انجام شده توسط Nakano و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که استفاده از مخمر قرمز (*Phaffia rhodozyma*) (سرشار از آستاگزانتین) در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به کاهش معنی‌داری میزان فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز، اسپارتات آمینو ترانسفراز در طول استرس در مقایسه با گروه شاهد گردید. سطح بهینه اضافه نمودن آستاگزانتین به جیره غذایی به‌منظور عملکرد بهتر رشد، در گونه‌های مختلف ماهی متفاوت است (Ahmadi و همکاران، ۲۰۰۸) هم‌چنین تاثیر آن‌ها بر عملکرد رشد بسته به نوع آستاگزانتین (طبیعی یا سنتزی) و غلظت‌های آن‌ها متفاوت‌می‌باشد(Faghaniوهمکاران،۲۰۱۳).لذابه تحقیقات بیش‌تری درزمینه اضافه نمودن غلظت مناسب آستاگزانتین که منجر به عملکرد مثبت رشد ماهی گردد، نیاز است. اکثر ضررهای قابل توجه در صنعت آبزی‌پروری به‌دلیل مرگ و میرهای لاروی در ماهیان مختلف در سرتاسر جهان گزارش شده است (Sugita و همکاران، ۲۰۰۲). جهت جلوگیری از مرگ و میر بالای لاروهای گونه‌های مختلف ماهیان، افزایش‌وضعیت ایمنی این‌لاروها ازطریق استفاده از محرک‌های ایمنی برای مبارزه با عوامل عفونی در مراحل اولیه زندگی لازم می‌باشد. لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثر آستاگزانتین به‌عنوان مکمل غذایی بر روی رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی ذاتی سرم خون در لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش: این پژوهش در اواخر آذرماه ۱۳۹۵ در آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام شد. ۵۰۰ قطعه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از مزرعه تکثیر و پرورش قزل‌آلا واقع در سپیدان شیراز خریداری و با استفاده از کیسه‌های دوجداره (یک سوم آب به‌همراه دوسوم اکسیژن) به محل آزمایش، انتقال داده شد. پس از طی دوره سازگاری به‌مدت دو هفته و اطمینان از سلامتی آن‌ها، ۳۶۰ قطعه لارو با میانگین وزنی ۰/۱۳±۰/۰۱ گرم و میانگین طولی ۲/۳۰±۰/۱ سانتی‌متر شمارش شده و با تراکم ۳۰ قطعه به ۱۲ آکواریوم ۷۰ لیتری منتقل شدند. در طول دوره، فاکتورهای فیزیکی و شیمیائی آب اندازه‌گیری شد. به‌طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب ۱۴/۵±۱ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۸/۰۱±۰/۸۷ میلی‌گرم بر لیتر و pH آب ۷/۱±۰/۵ بود. در طی دوره آزمایش دوره نوری به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ساعت تاریکی‌بود(Liu و همکاران، ۲۰۱۶). تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر شامل: تیمار شاهد با غذای تجاری (شرکت تعاونی تولیدی ۲۱بیضاء، شیراز)و ۳ تیمار با سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا بودند که برای هر تیمار سه تکرار درنظر

گرفته شد و در طی یک دوره ۶۰ روزه مورد استفاده قرار گرفتند (Faghani و همکاران، ۲۰۱۳).

آماده‌سازی جیره و غذادهی به ماهیان: به‌منظور اضافه نمودن سطوح مختلف مکمل آستاگزانتین به غذای کنسانتره ابتدا مقدار غذا برای کل دوره آزمایش برای هر تیمار محاسبه شد سپس سطوح مشخص آستاگزانتین (تهیه شده از شرکت نانوشیمی یاخته تهران با درجه خلوص ۱/۵ درصد که از جلبک (*Haematococcus pluvialis*) با کد TUM) به‌همراه ۷۵ میلی‌لیتر امولسی‌فایر (Tween 80) و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به سطح غذا اسپری شدند. پس از ۴۸ ساعت جیره‌های خشک‌جمع‌آوری و درنایلون‌های مجزا دردمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. تیمار شاهد تنها با ۷۵ میلی‌لیتر امولسی فایر و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اسپری گردید (Merchie و همکاران، ۱۹۹۸). مقدار غذای روزانه با توجه به درصد وزن بدن (توده زنده) محاسبه شد و در نوبت صبح و عصر به‌میزان ۳ درصد وزن بدن در اختیار ماهیان قرار گرفت. عمل تمیز نمودن به‌صورت یک روز در میان انجام و باقی‌مانده غذایی و مدفوع ماهی‌ها از مخازن خارج گردید.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه: به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، در انتهای آزمایش تمام ماهی‌های هر مخزن خارج شده و وزن (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی‌متر) آن‌ها ثبت گردید. با استفاده از داده‌های حاصل از زیست‌سنجی‌ها، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازدهی پروتئین و درصد بقاء) تعیین شد (Wahli و همکاران، ۲۰۰۳).

ضریب رشد ویژه (SGR= Specific growth ratio):

(SGR) (% day-1) = (LnWf- Ln Wi)/t × 100

W i=وزن اولیه (گرم)، Wf=وزن نهایی (گرم)، t=طول دوره پرورش (روز)

ضریب تبدیل غذایی (FCR):

FCR= feed consumed/ WG

WG= افزایش وزن به‌دست آمده (گرم)، Feed consumed=غذای مصرف شده (گرم)

نسبت کارایی پروتئین (PER= Protein efficiency ratio):

(PER) = WG/ crude protein intake

Crude protein intake=میزان پروتئین مصرفی، WG= افزایش وزن به‌دست آمده (گرم)

میزان غذای دریافتی (برحسب درصد وزن بدن (BW) به‌ازای هر روز) (VFI):

VFI (%BW day-1) = (100× crude feed intake/ (Wf + Wi/2)/t)

درصد افزایش وزن بدن (BWI)

Total dry feed intake= میزان کل غذای خشک مصرفی (گرم)

شاخص وضعیت (CF):

Condition factor (CF) (%) = 100× (wet weight / (length)۳)

wet weight = وزن مرطوب (گرم)، length = طول (سانتی‌متر)

افزایش وزن به‌دست آمده (WG):

Weight gain (WG) (%)= (Wf- Wi)/ Wi×100

W i = وزن اولیه (گرم)، Wf= وزن نهایی (گرم)

میزان بقاء (Survival rate):

Survival rate (SR) (%) = N0/ N1×100

N0=تعداد اولیه ماهی، N1= تعداد نهایی ماهی

خونگیری از ماهی: برای سنجش پارامترهای ایمنی (پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم)، به‌صورت تصادفی از ۹ قطعه ماهی هر تیمار پس از بی‌هوشی با عصاره گل میخک (۲گرم‌برلیتر) خونگیری (به‌میزان ۲ میلی‌لیتر) از قلب با استفاده از سوزن و سرنگ صورت گرفت. سپس با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Hettich مدل DV200، ساخت کشور ژاپن) و سرم آن جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در داخل میکروتیوب نگه‌داری شد (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۲).

شاخص‌های ایمنی ماهی: مقدار پروتئین تام سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون و از روش بیوره مورد سنجش قرار گرفت و جذب نوری لوله‌های نمونه و استاندارد را در مقابل بلانک در طول موج ۵۵۰نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر(WPAS2000-UV/VIS, Cambridge, UK) خوانده‌شد و میزان پروتئین تام بر حسب گرم بر دسی‌لیتر محاسبه گردید (Burtis و همکاران، ۱۹۹۴). مقدار آلبومین تام‌سرم به‌روش برموکرزول سبز و با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت. جذب نوری این محلول رادر طول موج ۶۳۰نانومتر به‌وسیله دستگاه‌اسپکتروفتومتر(WPAS2000-UV/VIS, Cambridge, UK) در مقابل بلانک قرائت گردید و میزان آلبومین برحسب گرم بر دسی‌لیتر محاسبه گردید (Burtis و همکاران، ۱۹۹۴). از کسر پروتئین تام از آلبومین میزان گلوبولین محاسبه شد (Kumur و همکاران، ۲۰۰۵). میزان نسبت آلبومین به گلوبولین از تقسیم کردن مقادیر آلبومین تام گلوبولین محاسبه شد (Kumur و همکاران، ۲۰۰۵).سنجش‌فعالیت لیزوزیم سرم نمونه‌ها، براساس روش توصیه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) توسط سوسپانسیون میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) (محصول سیگما) صورت گرفت.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های‌رشد، بقاء و برخی شاخص‌های ایمنی سرم خون با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ۱۶ در محیط ویندوز XP استفاده گردید.

نتایج

شاخص‌های رشدو تغذیه: نتایج مربوط به‌شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. ماهی‌ها از میانگین وزن اولیه ۰/۱۳ گرم به دامنه میانگین وزن نهایی ۰/۵۰ گرم الی ۰/۸۵ گرم در طول دوره ۶۰ روزه آزمایش رسیدند.نتایج‌نشان داد که افزودن مقادیر مختلف آستاگزانتین تفاوت معنی‌داری را در میانگین وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست‌آمده، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، میزان بازده پروتئین و بقاء در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد کرد (P<۰/۰۵). درکل دوره آزمایش، بیش‌ترین وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین و شاخص وضعیت در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ۱: مقایسه میانگین (میانگین±خطای معیار) شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش

	تیمار (میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا)			
	۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
وزن اولیه (گرم)	۰/۱۳ ±۰/۰۳ a	۰/۱۶ ±۰/۰۲ a	۰/۱۴ ±۰/۰۲ a	۰/۱۳ ±۰/۰۲ a
وزن نهایی (گرم)	۰/۵۰ ±۰/۰۲ d	۰/۵۶ ±۰/۰۱ c	۰/۸۵ ±۰/۰۶ a	۰/۶۸ ±۰/۰۴ b
افزایش وزن به‌دست آمده (درصد)	۲۷۷/۷۱ ±۹/۱۵ d	۳۲۰/۰۱ ±۱۰/۸۹ c	۵۳۰/۹۹ ±۱۰/۲۷ a	۴۰۵/۳۴ ±۱۰/۹۸ b
ضریب رشد ویژه	۲/۲۰ ±۰/۰۴ d	۲/۳۸ ±۰/۰۳ c	۳/۰۶ ±۰/۰۱ a	۲/۶۹ ±۰/۰۳ b
ضریب تبدیل غذا	۱/۸۰ ±۰/۲۳ a	۱/۵۵ ±۰/۱۰ b	۰/۹۳ ±۰/۰۳ d	۱/۲۲ ±۰/۱۳ c
نسبت بازدهی پروتئین	۵/۵۹ ±۰/۱۸ d	۶/۴۵ ±۰/۲۱ c	۱۰/۷۰ ±۰/۲۰ a	۸/۱۷ ±۰/۲۲ b
شاخص وضعیت	۰/۸۶ ±۰/۰۲ b	۰/۹۷ ±۰/۰۵ ab	۰/۹۸ ±۰/۰۴ a	۰/۸۵ ±۰/۰۳ b
بقاء (درصد)	۶۰/۰ ±۰/۴۵ d	۸۰/۰ ±۰/۸۱ c	۹۸ ±۰/۷۱ a	۸۵/۰ ±۰/۵۳ b

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ بین تیمارهای مختلف است.

پارامترهای ایمنی سرم خون: تغییرات میانگین پارامترهای ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰) در جدول ۲ نشان داده شده است. طبق جدول ۲، اضافه کردن سطوح مختلف آستاگزانتین به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان تفاوت معنی‌داری را در میزان پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم سرم خون در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد نمود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان پروتئین تام و گلوبولین در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری را در مقابسه با سایر تیمارها و تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). درحالی‌که بیش‌ترین میزان لیزوزیم آلبومین در تیمار تغذیه شده با ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد. بین تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا از نظر میزان لیزوزیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲: میانگین و خطای معیار پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین و لیزوزیم سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰، با سه تکرار)

	تیمار (میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم غذا)			
	۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر)	۲/۰۶ ±۰/۱۸ d	۳/۹۲ ±۰/۴۲ c	۴/۶۸ ±۰/۰۹ a	۴/۴۸ ±۰/۲۷ b
آلبومین (گرم بر دسی‌لیتر)	۱/۱۶ ±۰/۰۷d	۱/۵۲ ±۰/۰۵ c	۱/۵۸ ±۰/۱۰ b	۲/۰۸ ±۰/۲۳a
گلوبولین (گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۹۰ ±۰/۰۵ c	۲/۳۹ ±۰/۲۸ b	۳/۱۲ ±۰/۰۶ a	۲/۳۹ ±۰/۱۵b
لیزوزیم (واحد بر میلی‌لیتر)	۲/۴۵ ±۰/۱۳ c	۳/۰۱ ±۰/۱۸ b	۲/۹۶ ±۰/۴۳ b	۴/۷۴ ±۰/۲۳ a

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

بحث

تغییرات شاخص‌های رشد در بین تیمارهای مختلف در این تحقیق، نشان داد که اضافه نمودن مقادیر مختلف مکمل آستاگزانتین به جیره غذایی، منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیش‌ترین نسبت بازدهی پروتئین، وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، بقاء و افزایش وزن به‌دست آمده در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد درحالی‌که از نظر شاخص وضعیت بین تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و۱۰۰ میلی‌گرم

آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات صورت‌گرفته بر روی ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) تغذیه‌شده با ۴۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Christiansen و همکاران، ۱۹۹۴)، تاس‌ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین طبیعی بر کیلوگرم غذا (Illyasov و Golovin، ۲۰۰۳)، میگوی پاسفید غربی تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Ahmadi و همکاران، ۲۰۰۸) و میگوی مونودون (*Penaus monodon*) تغذیه شده با ۱ درصد آستاگزانتین (Niu و همکاران، ۲۰۰۹) هم‌خوانی داشت. می‌توان گفت که آستاگزانتین نقش موثری را به‌عنوان واسطه در سوخت و ساز بدن، تسریع در هضم و جذب بدن، افزایش بهره‌وری مواد غذایی، و در نتیجه عملکرد رشد موجودات آبزی ایفاء می‌نماید (Niu و همکاران، ۲۰۰۹). هرچند نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات صورت گرفته بر روی فیل‌ماهی تغذیه شده با آستاگزانتین طبیعی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا) (Faghani و همکاران، ۲۰۱۳) و گربه ماهی زرد تغذیه شده با ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) و میگو کروما (*Marsupenaeus japonicas*) تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Chein و Jeng، ۱۹۹۲) هم‌خوانی نداشت که دلیل مغایرت نتایج را می‌توان عادات غذایی مختلف، اختلاف فرمولاسیون غذایی ماهیان و اختلاف طعم و مزه مطلوب در گونه‌های مختلف ماهیان دانست (Liu و همکاران، ۲۰۱۶). هم‌چنین با تغییر سطح مکمل آستاگزانتین از ۱۰۰ به ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا در این آزمایش، افزایش وزن به‌دست آمده، وزن نهایی، بقاء، ضریب رشد ویژه و نسبت بازدهی پروتئین روند کاهشی معنی‌داری را نشان دادند که با نتایج حاصل از تحقیق Ahmadi و همکاران (۲۰۰۸) هم‌خوانی داشت. Ahmadi و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر سطوح مختلف آستاگزانتین (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا) بر عملکرد رشد ماهی میگوی پاسفید غربی نشان دادند که بیش‌ترین میزان وزن نهایی و ضریب رشد ویژه، در تیمار تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. کاهش وزن بدن در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا در مقایسه با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا را می‌توان به اثر بازدارندگی رنگدانه آستاگزانتین نسبت داد برخلاف خاصیت آنتی‌اکسیدانی استاگزانتین، استفاده بیش از حد آن در جیره غذایی می‌تواند اثرات سمی و طعم تلخ را ایجاد کرده و منجر به کاهش رشد گردد (Beutner و همکاران، ۲۰۰۱؛ Liu و همکاران، ۲۰۱۶) مصرف بیش از حد استاگزانتین باعث تولید انواع اکسیژن فعال شده که در نهایت منجر به شکستن زنجیره DNA و تخریب سلول‌ها می‌شود (Beutner و همکاران، ۲۰۰۱). پروتئین سرم منجر به ثبات pH، فشار اسمری و انتقال بیلی‌روبین، اسیدهای چرب، کلسترول و فسفاتید می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از آستاگزانتین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین سرم شد و بیش‌ترین میزان پروتئین تام در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق صورت گرفته بر روی گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) تغذیه شده با ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا هم‌خوانی داشت (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) که این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از مکمل آستاگزانتین در جیره غذایی (علی‌الخصوص غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا) منجربه صرفه‌جویی در مصرف پروتئین به‌منظور تامین انرژی باشد. گلوبولین نقش مهمی در حفظ سلامت و ایمنی داشته و گاماگلوبولین به‌عنوان منبع همه پروتئین‌های لازم برای عملکرد ایمنی در خون شناخته شده است (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۲). در حالی‌که آلبومین نقش مهمی در ثبات فشار اسمزی به‌منظور توزیع مناسب مایعات بدن داشته و به‌عنوان حامل پلاسما و لیگاندهای غیر اختصاصی (به‌همراه تعدادی جایگاه‌های اتصال) عمل می‌نماید (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۲). از طرفی‌دیگر افزایش آلبومین سرم خون در این تحقیق را می‌توان نتیجه پاسخ به افزایش انتقال اسیدهای چرب از بافت‌ها جهت فرآیند اکسیداسیون دانست که سبب ساخت بیش‌تر پروتئین و صرفه‌جویی در مصرف پروتئین توسط بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب شده است (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۲؛ Aathi و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن از سطوح مختلف آستاگزانتین منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرم خون در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی گربه ماهی زرد (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) و ماهی شبه شوریده (*Pseudosciaena crocea*) (Li و همکاران، ۲۰۱۴) هم‌خوانی داشت. لیزوزیم یکی از پارامترهای دفاع غیراختصاصی ذاتی مهم می‌باشد هم‌چنین از دسته آنزیم‌های باکتریسیدال مهم از ایمنی ذاتی است که در زمان عفونت با باکتری گرم مثبت هم‌چنین در شرایط استرس‌زا به‌عنوان یک پروتئین فاز حاد عمل می‌کند و نقش عملکردی آن در مبارزه با عفونت‌های مختلف ماهیان گزارش شده است (Harikrishnan و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعه حاضر نشان داد که افزودن از سطوح مختلف آستاگزانتین به جیره غذایی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم در مقایسه با تیمار شاهد شد و بیش‌ترین میزان فعالیت لیزوزیم در تیمار تغذیه شده با ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که با نتایج

به‌دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی گربه ماهی زرد (Liu و همکاران، ۲۰۱۶) و ماهی شبه شوریده (Li و همکاران، ۲۰۱۴) هم‌خوانی داشت. افزایش فعالیت لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین حاکی از آن است که آستاگزانتین علاوه بر خواص ضد باکتری، ضدالتهابی، و آنتی‌اکسیدانی قادر به تنظیم فعالیت لیزوزیم نیز می‌باشد (Li و همکاران، ۲۰۱۴). هرچند عواملی نظیر وضعیت فیزیولوژیکی ماهی و احتیاجات غذایی مختلف می‌تواند بر فعالیت لیزوزیم تاثیرگذار باشد که تحقیقات وسیع‌تری در این زمینه لازم به‌نظر می‌رسد. درکل نتایج به‌دست آمده از عملکرد رشد و برخی پارامترهای ایمنی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که استفاده از سطوح ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به افزایش وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه، بقاء، وزن نهایی نسبت بازدهی پروتئین و پروتئین تام،گلوبولین‌واستفاده از سطح ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا منجر به افزایش بهینه فعالیت لیزوزیم و آلبومین می‌گردد لذا استفاده از ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا به‌عنوان بهینه‌ترین سطوح به‌منظور عملکرد رشد، بقاء و ایمنی در رژیم غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری مسئول محترم آزمایشگاه بخش بهداشت و بیماری آبزیان دانشگاه شیراز و کارشناس محترم آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی شیراز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **Aathi, K.; Ramasubramanian, V.; Uthayakumar, V. and Munirasu, S., 2013.** Effect of supplemented diet on survival, growth, hematological, biochemical and immunological responses of Indian major carp *labeo rohita*. International Research Journal of Pharmacy. Vol. 4. No. 5, pp: 141-147.

۲. **Ahmadi, S.; Farhangi, M.; Rafii, G.R. and Ghaednia, B., 2008.** Effect of different levels of astaxsnthin on growth parameters and survival in *Litopenaeus vannamei*. Journal of Marine Sciences and Technology. Vol. 1-2, pp: 1-12.

۳. **Beutner, S.; Bloedorn, B.; Frixel, S.; Blanco, I.H.; Hoffman, T. and Martin, H., 2001.** Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β-carotene in antioxidant functions. J of the Science of Food Agriculture. Vol. 81, pp: 559-568.

۴. **Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. and Brund, D.E., 1994.** Tietz Textbook of Clinical Chemistry (5thed.).W.B.Sunders Company. Philadelphia. USA. 560 p.

۵. **Chein, Y.H. and Jeng, S.C., 1992.** Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture. Vol. 102, pp: 333-346.

۶. **Chew, B.P.; Wong, M.W.; Park, J.S. and Wong, T.S., 1999.** Dietary b-carotene and astaxanthin but not canthaxanthin stimulate splenocyte function in mice, Anticancer Research. Vol. 19, pp: 5223-5227

۷. **Christiansen, R.; Lie, Q. and Torrissen, O.J., 1994.** Effect of astaxanthin and vitamin A on growth and survival during first feeding of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture and Fisheries Management. Vol. 25, pp: 903-914.

۸. **Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme Assays:In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS,Van Muiswinkel WB, editors.Techniques in :Fish Immunology. Fair Haven, NJ: SOS Publications. 650 p.

۹. **Faghani, T.; Soltani, M.; Shamsae, M. and Matinfar, A., 2013.** The effect of dietary natural Astaxanthin (*Haematococcus pluvialis*) on the growth parameters, carcases and liver chemical composition injuvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1758). Journal of Marine Biology, Islamic Azad University, Ahvaz Branch. Vol. 5, pp: 69-78.

۱۰. **Farhangi, M.; Ahmadi, S.; Rafii, G.R.; ghaednia, B. and Taghavi, R., 2013.** Effect of different levels of dietary astaxantin on biochemical parameters and non- specific immune in *Litopenaeus vannamei* against low oxygen stress J of Marine Sciences and Technology. Vol. 2, pp: 103-114.

۱۱. **Guerin, M.; Huntley, M.E. and Olaizola, M., 2003.** Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. Trends Biotechnology. Vol. 21, pp: 210-216.

۱۲. **Harikrishnan, R.; Kim, J.; Balasundaram, C. and Heo, M., 2012.** Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. Aquaculture. Vol. 326, pp: 46-52.

۱۳. **Hussein, G.; Sankawa, U.; Goto, H.; Matsumoto, K. and Watanabe, H., 2006.** Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. Journal of Natural Products. Vol. 69, pp: 443-449.

۱۴. **Ilyasov, Y. and Golovin, P., 2003.** The effect of NatuRose® on growth, survival and physiological state of twoyear-old marketable sturgeons. On file at Cyanotech Corporation.

۱۵. **Kumar, S.; Sahu, N.P.; Pal, A.K.; Choudhury, D.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2005.** Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 19, pp: 331-344.

۱۶. **Li, M.; Wu, W.; Zhou, P.; Xie, F.; Zhou, Q. and Mai, K., 2014.** Comparison effect of dietary astaxanthin and *Haematococcus pluvialison* growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture. Vol. 434, pp: 227-232.

۱۷. **Liu, F.; Shi, H.; Guo, Q.; Yu, Y.; Wang, A.; Lv, F. and Shen, W., 2016.** Effects of astaxanthin and *emodin* on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus* fulvidraco). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 51, pp: 125-135.

۱۸. **Merchie, G.; Kontara, E.; Lavens, P.; Robles, R.; Kurmaly, K. and Sorgeloos, P., 1998.** Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). Aquacultue Research. Vol. 29, pp: 579-589.

۱۹. **Nakano, T.; Kanmuri, T.; Sato, M. and Takeuchi, M., 1999.** Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout Biochimica et Biophysca Acta. Vol. 426, pp: 119-125.

۲۰. **Niu, J.; Tian, L.X.; Liu, Y.J.; Yang, H.J.; Ye, C.X.; Gao, W. and Mai, K.S., 2009.** Effect of dietary astaxanthin on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp,*Litopenaeus vannamei*. Journal of World Aquacultue Society. Vol. 40, pp: 795-802.

۲۱. **Ravelo, C.; Magariños, B.; Herrero, M.C.; Costa, L.; Toranzo, A.E. and Romald, J.L., 2006.** Use of adjuvanted vaccines to lengthen the protection against Lactococcusis in rainbow trout. Aquaculture. Vol. 251, pp: 153-158.

۲۲. **Rehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss* Aquaculture. Vol. 190, pp: 27-47.

۲۳. **Sugita, H.; Okano, R.; Suzuki, Y.; Iwai, D.; Mizukami, M.; Akiyama, N. and Matsuura, S., 2002.** Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larvae and juvenile Japanese flounder against fish pathogens. Fisheries Science. Vol. 2, No. 68, pp: 1004-1011.

۲۴. **Wahli, T.; Verlhac, V.; Griling, P.; Gabaudan, J. and Aebischer, C., 2003.** Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*) Aquaculture. Vol. 225, pp: 371-386.