تأثیر دوره محرومیت غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت (*Cichlasoma synspilum* ♀ × *Cichlasoma citrinellum* ♂) تغذیه‌شده با جیره حاوی آستاگزانتین و نمک صفراوی

- **امین مخلص‌آبادی‌فراهانی:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، صندوق‌پستی: ٨٤١٥٦-٨٣١١١
- **سالار درافشان*:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، صندوق‌پستی: ٨٣١١١-٨٤١٥٦
- **فاطمه پیکان‌حیرتی:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، صندوق‌پستی: ٨٣١١١-٨٤١٥٦

تاریخ دریافت: آبان ١٣٩٦ تاریخ پذیرش: بهمن ١٣٩٦

چکیده

هدف از این مطالعه بهبود شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت در مواجه با دوره محرومیت غذایی بود. برای انجام این مطالعه، ٢٠٠ قطعه ماهی پرت (میانگین وزنی٦/٢±٢٥/٥ گرم و میانگین طولی٠/٤٣±٦/٣٤ سانتی‌متر) در سه تیمار با دو تکرار و هر تکرار شامل ٣٣ قطعه ماهی که شامل تیمار شاهد (جیره پایه)، تیمار آستاگزانتین (جیره حاوی ٤ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین) و تیمار آستاگزانتین- نمک صفراوی (جیره حاوی ٤ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و ١٢٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم نمک صفراوی) به‌مدت ٩٠ روز تغذیه شدند و سپس دوره محرومیت غذایی به‌مدت یک هفته اعمال شد. در پایان دوره تغذیه، نتایج نشان داد به‌جز تعداد گلبول‌های سفید که در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق با نمک صفراوی، به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته بود (P<٠/٠٥)، سایر شاخص‌های خون‌شناسی تحت تأثیر تیمارهای تغذیه‌ای قرار نگرفت (P>٠/٠٥). افت تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان تغذیه‌شده با آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق با نمک صفراوی پس از محرومیت غذایی مشاهده شد (P<٠/٠٥). کاهش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شاهد، پس از اعمال دوره محرومیت غذایی مشاهده شد (P<٠/٠٥) ولی این کاهش در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد (P>٠/٠٥). به‌طورکلی می‌توان بیان داشت که استفاده از آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق با نمک صفراوی تأثیر چندانی بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت به‌جز ممانعت در کاهش تعداد گلبول‌های سفید در مواجه با تنش محرومیت غذایی نداشت.

کلمات کلیدی: ماهی پرت، آستاگزانتین، نمک صفراوی، محرومیت غذایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sdorafshan@cc.iut.ac.ir

مقدمه

درآبزی‌پروری،ماهیان ممکن‌است گرسنگی را در طول دوره قبل از صید، دوره‌های حمل نقل، سهل‌انگاری پرورش‌دهندگان و هم‌چنین دراثر بعضی آزمایش‌های تغذیه‌ای که‌دوره‌های گرسنگی در آن گنجانده شده، تجربه کنند. تحت شرایط طبیعی نیز بسیاری از گونه‌های ماهی دوره گرسنگی طولانی‌مدت را پشت سر می‌گذارند که این دوره با تغییرات فصل، دسترسی غذا، مهاجرت و تولیدمثل مرتبط می‌باشد (Friedrich و Stepanowska، ۲۰۰۰). در بسیاری از ماهیان یک دوره بی‌غذایی‌بخشی از طبیعت‌زندگی می‌باشد(Kulkari و Barad، ۲۰۱۵). با توجه به توانایی ماهیان در مواجه با گرسنگی، اجرای برنامه‌های محدودیت غذایی کوتاه‌مدت در مزارع پرورشی می‌تواند مزایای زیادی شامل مدیریت آسان تغذیه، مصرف بالای غذای در دسترس، آلودگی کم‌تر آب و بهبود کیفیت محصول نهایی (یا کاهش چربی ماهیچه) را ایجاد کند، بدون این‌که تأثیری روی رشد ماهی ایجاد کند. هزینه‌های تأمین غذا یکی از مهم‌ترین عوامل در پرورش آبزیان به‌شمار می‌آید و حدود ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش ماهی و سخت‌پوستان را تشکیل می‌دهد(Jobling، ۲۰۱۰).محرومیت غذایی به‌طورکلی در ارتباط با استفاده مناسب از منابع انرژی (گلیکوژن، چربی یا پروتئین) به‌منظور حفظ هموستازی ماهی است (Caruso و همکاران، ۲۰۱۱). از این‌رواستفاده‌ازآستاگزانتین‌قبل‌ازدوره محرومیت غذایی، به‌عنوان یک ریزمغذی مهم با پایه چربی در جیره غذایی، می‌تواند به عملکردهای زیستی مهمی ازجمله جلوگیری از اکسید شدن چربی‌ها، بهبود سطح ایمنی اختصاصی و رشد در آبزی‌پروری کمک مفیدی کند (Liu و همکاران، ۲۰۱۲). آستاگزانتین یک ماده مغذی با پایه چربی و وزن مولکولی ۵۹۶/۸ دالتون و فرمول مولکولی C40H52O، در آب غیر محلول و چربی‌دوست است (Jyonouchi و همکاران، ۱۹۹۵). حیوانات توانایی تولید آستاگزانتین را ندارند و این نیاز خود را از طریق جیره تأمین می‌کنند. میزان جذب کارتنوئید در میان آبزیان متفاوت است و بستگی به نوع گونه، طول دوره تغذیه، غلظت کارتنوئید، وزن و سن ماهی موردمطالعه، دارد. به‌عنوان‌مثال قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط ۴۰۰ گرم تنها ۴٪ از کارتنوئید موجود در جیره را جذب کرده است (Hardy و همکاران، ۱۹۹۰). با توجه به قیمت بالای آستاگزانتین اگر بتوان میزان جذب آن را افزایش داد، علاوه بر میزان افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بدن ماهی، هزینه‌های تأمین جیره نیز کاهش می‌یابد. نمک صفراوی می‌تواند فرآیند امولسیون شدگی چربی‌ها را تسهیل نماید و میزان جذب ترکیبات با پایه چربی را در روده کوچک افزایش دهد(Erdman، ۱۹۸۸). چربی‌ها ابتدا در روده کوچک به شکل آزاد به کمک انتقال‌دهنده‌های لیپوپروتئینی جذب خون می‌شوند. در این مرحله آستاگزانتین موجود در جیره غذایی، آزاد و وارد سیستم گوارش می‌شود (Barbosa و همکاران، ۱۹۹۹). نمک صفراوی می‌تواند این فرآیند را افزایش و تسریع نماید (Lakshman و همکاران، ۱۹۹۵) یکی از این‌نمک‌های‌صفراوی،ترکیب Sodium Taurocholate با فرمول شیمیایی C26H44NNaO7S است که به هضم و جذب چربی‌ها کمک می‌کند که‌طی‌آن فرآیند جذب آستاگزانتین،بیش‌ترو سریع‌تر می‌شود. خون با دارا بودن ترکیبات مختلف، در ایجاد پاسخ ایمنی معین، ایجاد حالت بافری در مقابل تغییرات pH و حفظ فشار اسمزی (نقل‌وانتقال از میان دیواره مویرگ‌ها) و با داشتن سلول‌های خونی نظیر گلبول‌های سفید برای تولید پادتن، بیگانه‌خواری باکتری‌ها و غیره، گلبول‌های قرمز برای نقل‌وانتقال مواد غذایی و گازهای همواره نقش مهمی را ایفا می‌کند(Houston، ۱۹۹۰). اثرات‌هماتولوژی‌گرسنگی‌درماهیان خیلی کم مطالعه شده است و گزارش این مشاهدات از کاهش تا افزایش و حتی‌بی‌تأثیربودن متغیر می‌باشد (Kiron و همکاران، ۱۹۹۵) درنتیجه مطالعه بیش‌تر در این رابطه ضروری به‌نظر می‌رسد. این مطالعه بر روی ماهی پَرِت خونی (Blood parrot) که یکی از ماهیان محبوب زینتی است و از دگر آمیزی دو گونه ♀ *Cichlasoma synspilum* و ♂ *Cichlasoma citrinellum* تولید می‌شود. این ماهی در سال ۱۹۸۰، برای اولین‌بار درکشور تایلند تولیدشد و سپس در سال‌های بعد، تولید آن به کشورهای ژاپن و چین راه یافت. هدف از این مطالعه بررسی اثرات جیره حاوی آستاگزانتین به‌تنهایی یا توأم با نمک صفراوی و هم‌چنین بررسی اثر این مکمل‌های غذایی در طی دوره غذایی بر خون‌شناسی ازجمله تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، هماتوکریت، هموگلوبین‌و شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی در ماهی پرت خونی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، ۲۰۰ قطعه ماهی پرت با میانگین وزنی۶/۲±۲۵/۵ گرم و میانگین طولی۰/۴۳±۶/۳۴ سانتی‌متر به‌مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. برای این آزمایش، سه تیمار با دو تکرار و هر تکرار شامل ۳۳ قطعه ماهی شامل تیمار شاهد، تیمار تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و تیمار

تغذیه‌شده با ۴ گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نمک صفراوی (Yang و همکاران، ۲۰۱۲) تنظیم شد. ماهیان تحت آزمایش به‌مدت ۹۰ روز با جیره‌های تعیین‌شده روزانه ۳ بار (۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر) به‌میزان ۲ درصد وزنی تغذیه شدند (جدول ۱). میزان پروتئین خام جیره ۳۷/۷ درصد، چربی خام ۳۷/۰۳ درصد ، رطوبت ۳/۸۳ درصد و فیبر خام ۳/۳۶ درصد و میزان انرژی جیره ۲۰/۳ کیلوژول بر هر گرم جیره بود. ترکیبات جیره براساس استاندارد NRC توسط نرم‌افزار محاسبه‌شده و در جدول ۱ گزارش شده است (NRC، ۲۰۱۱).

جدول ۱: ترکیبات مورداستفاده در تهیه جیره مورد آزمایش (٪ از جیره)

تیمارهای آزمایش / اجزای جیره	شاهد	آستاگزانتین	آستاگزانتین- نمک صفراوی
پودر ماهی	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶
سویا	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶	۲۱/۱۶
کلزا	۱۵/۸۷	۱۵/۸۷	۱۵/۸۷
ذرت	۲۴/۹۳	۲۴/۹۳	۲۴/۹۳
جو	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲	۱۱/۱۲
روغن آفتاب‌گردان	۰/۵	۰/۵	۰/۵
آستاگزانتین[۱]	۰	۰/۴	۰/۴
نمک صفراوی[۲]	۰	۰	۰/۱۲
نمک خوراکی	۰/۵۲	۰/۱۲	۰
مکمل‌های معدنی[۳]	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸
مکمل‌های ویتامینی[۴]	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

۱- ساخت شرکت BUSF آلمان

۲- ساخت شرکت Fulka آمریکا

۳- مکمل معدنی ساخت شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران ، ایران (آهن ۲۱/۶۲ درصد، روی ۳۶/۰۵ درصد، سلنیوم ۰/۰۷ درصد، کبالت ۰/۳۶درصد، مس ۲۱/۶۳ درصد، منگنز ۱۸/۰۲ درصد، ید ۲/۱۶ درصد، کولین کلراید ۰/۰۴ درصد)

۴- مکمل ویتامینی ساخت شرکت ارس بازار، ایران محتوای ویتامین‌های A ۱۵/۲۴درصد، D_3 ۳/۰۴ درصد، K_3 ۰/۶۰درصد، E ۳/۰۴ درصد، B_1 ۶/۰۹ درصد، B_2 ۰/۹۱ درصد، B_6 ۰/۹۱ درصد، C ۳۰/۴۸ درصد، کلسیم پنتوتنات ۹/۱۴ درصد، متیونین ۱۸/۲۹ درصد، سیستئین ۹/۱۴ درصد)

مکان انجام آزمایش و شرایط آزمایشگاهی: این مطالعه در سالن آکواریوم دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. در این آزمایش از آکواریوم‌هایی به ابعاد ۳۵×۴۰×۱۰۰ سانتی‌متری برای نگه‌داری ماهی استفاده شد. آب سیستم پرورشی مورد استفاده از لوله‌کشی شهری تأمین و پس از کلرزدایی (به‌واسطه نگه‌داری آب به‌مدت دو روز) در آکواریوم‌ها، توزیع شد. آکواریوم‌ها دارای هوادهی مداوم بودند. در طول دوره آزمایش، میانگین دمای آب ۱/۵±۲۶ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۵±۵/۸ میلی‌گرم بر لیتر، میزان pH ۰/۷±۸/۱، هدایت الکتریکی ۴۲±۴۸۲/۲ میکروزیمنس، آمونیاک ۰/۴±۱/۳۷ میلی‌گرم بر لیتر و فسفات کل ۰/۰۰۲±۰/۰۹ قسمت در میلیون بود.

نمونه‌گیری: در این مطالعه در پایان دوره ۹۰ روزه تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش و پس از محرومیت غذایی به‌مدت ۷ روز، ۵ قطعه ماهی از هر تکرار به‌صورت تصادفی صیدشده و پس از بی‌هوشی با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گل میخک از ورید ساقه دمی با استفاده از سرنگ هپارینه شده ۲/۵ میلی‌لیتری خون‌گیری شد و فاکتورهای خون‌شناسی به‌شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت:

شاخص‌های خون شناسی: شمارش تعداد گلبول‌های سفید (هزار در میلی‌لیتر مکعب) و قرمز (میلیون در میلی‌متر معکب) پس از رقیق‌سازی نمونه خون با استفاده از محلول دیس (Dace) (برای تهیه محلول دایس ابتدا ۰/۱ گرم برلیانت کریزل آبی را با ۳/۸ گرم سدیم سیترات و ۰/۲۰ میلی‌لیتر فرمالین ۳۸٪ مخلوط شد و سپس ترکیب حاصل با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید) از پیپت ملانژور سفید یا قرمز و لام هماتوسیتومتر به‌صورت دستی اجرا شد. برای تعیین میزان هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد.

ابتدا بیش از دو سوم لوله هماتوکریت از خون منعقد نشده پرشده، سپس لوله‌های هماتوکریت درون دستگاه سانتریفیوژ میکروهماتوکریت قرار گرفت و پس از سپری شدن ۳ دقیقه با دور گردش (دور بر دقیقه) ۱۳۰۰۰ مقدار هماتوکریت به‌وسیله صفحه مدرج مخصوص خوانده شد. برای تعیین مقدار هموگلوبین از روش استاندارد سیانومت (Syanvmyt) هموگلوبین استفاده شد (Houston، ۱۹۹۰). برای اندازه‌گیری شاخص‌های MCV (Mean Cell Volume)، MCH (Mean Cell Hemoglobin) و MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) از روش توصیف شده توسط Dorafshan و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد.

تحلیل آماری: برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kalmogorv-Smiranov و آنالیز داده‌ها با استفاده نرم‌افزارهای SPSS ۱۹ و Excell ۲۰۱۳ انجام شد. این آزمایش در طرح کاملاً تصادفی انجام و با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one way Anova) وجود اختلاف معنی‌دار بودن بین تیمارها در سطح P<۰/۰۵ تحلیل شد. برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف پیش یا پس از تنش با استفاده از آزمون Duncan در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه میانگین هر شاخص در هر تیمار پیش از تنش و پس از تنش از آزمون آماری t- student مستقل استفاده شد در سطح اطمینان (P<۰/۰۵) استفاده شد.

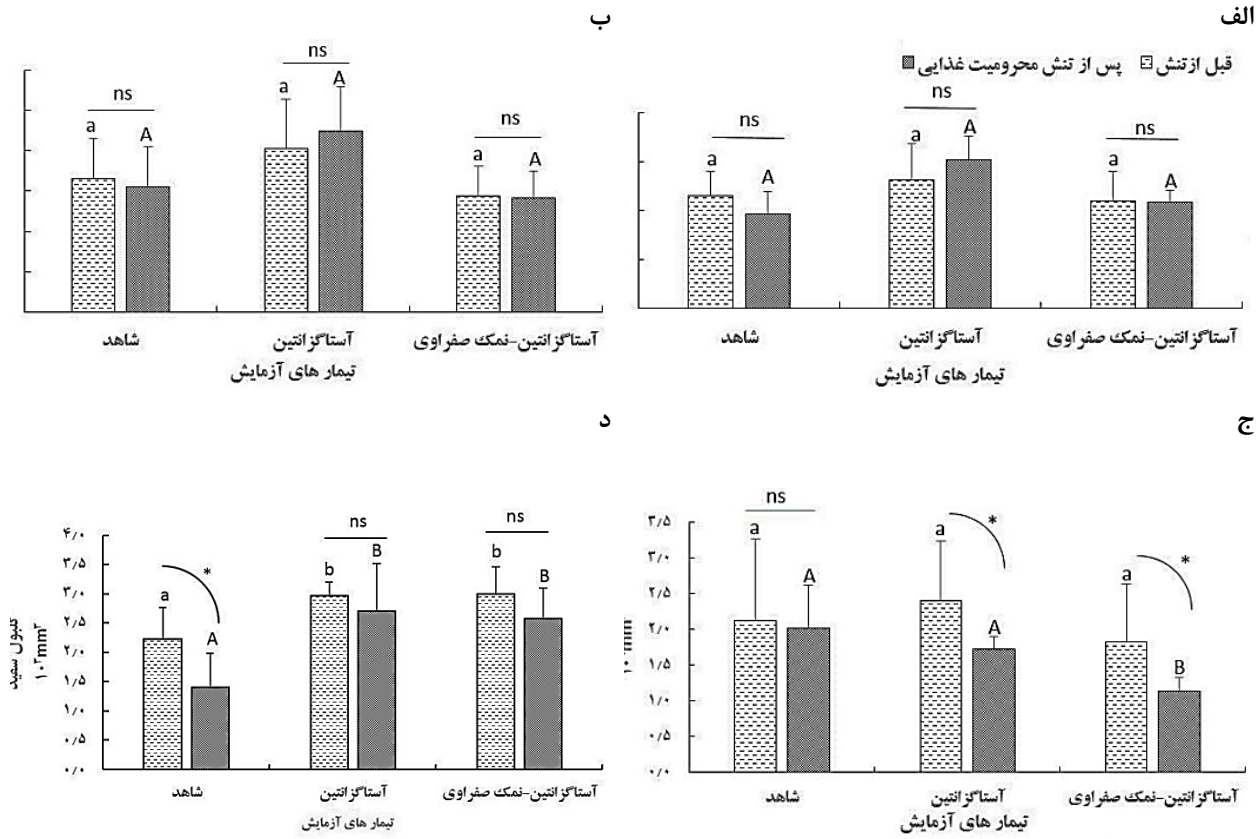
نتایج

نتایج ارزیابی فراسنجه‌های خون نشان‌داد در پایان دوره تغذیه ۹۰ روزه از استفاده از مکمل آستاگزانتین و نمک صفراوی تأثیر معنی‌داری بر هیچ‌یک شاخص‌های خون‌شناسی جزء تعداد گلبول سفید نداشته است (شکل۱، P>۰/۰۵) افزایش معنی‌دار تعداد گلبول سفید در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد (شکل۱- ج، P<۰/۰۵). از مقایسه تیمارها در زمان قبل و بعد از محرومیت غذایی می‌توان نتیجه گرفت که محرومیت غذایی تأثیر معنی‌داری بر شاخص هموگلوبین و هماتوکریت در هیچ‌یک از تیمارهای مورد آزمایش نداشت (شکل۱- الف،ب، P>۰/۰۵) ولی باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی شده است (شکل۱-ج، P<۰/۰۵) و هم‌چنین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش پیداکرده است (شکل۱- د، P<۰/۰۵) ولی این کاهش در تیمار آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد (شکل۱- د، P>۰/۰۵). با توجه به نتایج حاصل از شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی می‌توان دریافت هیچ تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های MCV، MCH و MCHC بین تیمارها پس از تغذیه با جیره‌های مورد آزمایش مشاهده نشد (جدول ۲، P>۰/۰۵). ولی میزان MCV پس از محرومیت غذایی در همه تیمارها با افزایش معنی‌داری روبه‌رو بود (جدول ۲، P<۰/۰۵) و هم‌چنین میزان شاخص MCH در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی پس از محرومیت غذایی افزایش معنی‌داری یافت (جدول ۲، P<۰/۰۵) ولی این افزایش در تیمار شاهد مشاهده نشد (جدول ۲، P>۰/۰۵). میزان شاخص MCHC پس از محرومیت غذایی در مقایسه با پیش از محرومیت غذایی بدون تغییر معنی‌داری باقی ماند (جدول ۱، P>۰/۰۵).

جدول ۱: شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از قرار گرفتن در معرض محرومیت غذایی به مدت ۷ روز. میانگین± خطای استاندارد.

تیمارهای مورد آزمایش		MCHC(٪)	MCH(پیکوگرم)	MCV(فمتولیتر)
شاهد	پیش از تنش	۳۵/۳±۲۸/۰۷	۸۵/۸±۹۰/۲۲	۲۵۴/۱۶±۴۵/۹۴
	پس از تنش محرومیت غذایی	۳۲/۱۳±۷۱/۳۰	۸۳/۸±۷۶/۵۶	*۴۲۰/۱۶±۸۹/۸۱
آستاگزانتین	پیش از تنش	۳۳/۷±۶۰/۴۶	۷۵/۷±۳۰/۵۹	۲۳۳/۲۲±۱۴/۴۴
	پس از تنش محرومیت غذایی	۳۴/۳±۲۹/۰۶	*۸۹/۲±۷۶/۶۲	*۲۶۶/۱۰±۲۳/۳۳
آستاگزانتین -نمک صفراوی	پیش از تنش	۳۹/۱۰±۲۱/۸۲	۸۲/۶±۷۶/۴۲	۱۹۹/۸±۱۷/۸۷
	پس از تنش محرومیت غذایی	۳۹/۵±۲۹/۶۸	*۹۷/۱±۶۶/۵	*۲۵۰/۱۵±۷۴/۶۴

علامت * دهنده معنی‌داری در یک تیمار در زمان قبل و پس از تنش محرومیت غذایی است (*t*. test).



شکل ۱: شاخص‌های خون‌شناسی ماهی پرت تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف آزمایشی پیش و پس از قرار گرفتن در معرض محرومیت غذایی به‌مدت ۷ روز. الف) هموگلوبین ب: هماتوکریت ج: گلبول قرمز د: گلبول سفید. حروف کوچک نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها پیش از تنش و حروف بزرگ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف آزمایشی پس از تنش محرومیت غذایی می‌باشد (Duncan) و علامت (*) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین زمان پیش تنش و پس از تنش محرومیت غذایی در یک تیمار مشخص است (*t*. test).

بحث

در مطالعه حاضر تعداد گلبول سفید (پس از تنش) در تیمارهای تغذیه‌شده با آستاگزانتین و نمک صفراوی به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت ولی این مکمل‌ها، تأثیر معنی‌داری بر دیگر شاخص‌های خون‌شناسی هم‌چون هماتوکریت و هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز نداشته‌اند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان گفت که آستاگزانتین باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی می‌شوند و استفاده از آن‌ها در جیره‌های غذایی می‌تواند مفید باشد. نتایج حاصل با نتایج Torrissen و همکاران (۱۹۹۶) که از مکمل آستاگزانتین در جیره استفاده کرده‌اند، مطابقت دارد و با نتایج Bjerkeng و Liaaen-Jensen (۲۰۰۰) که اثرات کاروتنوئید بر رشد و سیستم ایمنی را بررسی کردند، نیز هم‌سو است. به‌نظر می‌رسد آستاگزانتین شاخص‌های ایمنی ماهی پرت را (با افزایش تعداد گلبول‌های سفید) تقویت می‌کند. هم‌چنین با توجه به نتایج حاصل از شاخص‌های ثانویه می‌توان دریافت استفاده از مکمل غذایی آستاگزانتین و نمک صفراوی تأثیر معنی‌داری بر این شاخص‌ها (MCHC، MCH و MCV) نداشته است. تاکنون مطالعات کمی در رابطه با اثرات آستاگزانتین به‌تنهایی یا در تلفیق با نمک صفراوی بر شاخص‌های ثانویه خون‌شناسی ماهی صورت گرفته است از این میان می‌توان به مطالعه ادهمی و همکاران (۱۳۹۵) اشاره کرد. نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از مکمل آستاگزانتین و هویج و لبو تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های ثانویه خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نداشته است.

در مطالعه حاضر محرومیت‌غذایی تأثیر معنی‌داری‌بر شاخص‌های هموگلوبین و هماتوکریت روی تیمارهای مورد آزمایش نداشته است. Park و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که در مراحل اولیه آزمایش محرومیت غذایی، میزان هماتوکریت در ماهی کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) تحت تنش محرومیت غذایی، به‌صورت معنی‌داری کاهش‌یافته است و با طولانی شدن دوره آزمایش، افزایش معنی‌داری در میزان هموگلوبین در کفشک تغذیه نشده، مشاهده شد. درحالی‌که Buijse و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند که در ماهی سوف (*Stizostedion lucioperca*) با افزایش طول دوره محرومیت غذایی، میزان هماتوکریت و هموگلوبین در گروه تغذیه شده و گروه تغذیه نشده اختلاف معنی‌داری نداشتند که با نتایج حاصل هم‌خوانی دارد. لازم به ذکر است که پاسخ هماتولوژی به تنش گرسنگی با توجه به نوع گونه ماهی، شرایط محیطی و طول دوره گرسنگی متفاوت است. در این مطالعه تنش محرومیت غذایی باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی شد ولی این کاهش در تیمار شاهد مشاهده نشد و به‌نظر می‌رسد دلیل این امر این باشد که چون ماهی فعالیت کم‌تری دارد، شمار زیادی از گلبول‌های قرمز مورداستفاده قرار نمی‌گیرند و تعداد آن‌ها رو به کاهش می‌گذارد (Sattari، ۲۰۰۲). با این‌وجود در مطالعه مرشدی و همکاران (۱۳۹۰) مشخص شد که دوره محرومیت غذایی تأثیر معنی‌داری روی تعداد گلبول‌های قرمز فیل‌ماهی (*Huso huso*) ندارد و هم‌چنین در مطالعه اکبری و ربانی‌نژاد (۱۳۹۵) مشخص شد که دوره گرسنگی تأثیر معنی‌داری بر تعداد گلبول قرمز ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*) ندارد که با نتایج حاصل از تیمار شاهد هم‌خوانی دارد. در این مطالعه تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد پس از دوره محرومیت غذایی به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت ولی این کاهش در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد. در مطالعه Berg و همکاران (۲۰۰۶) با تحقیق بر روی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) و ماهی (*Lota lota*) به این نتیجه رسیدند که در طول دوره گرسنگی و تعداد گلبول‌های سفید باهم رابطه عکس‌دارند، به‌عبارت‌دیگر هرچه دوره گرسنگی افزایش یابد، تعداد گلبول‌های سفید کاهش پیدا می‌کند. کاهش مشاهده شده در تعداد گلبول‌های سفید ممکن است ناشی آسیب سیستم دفاعی بدن در طول دوره گرسنگی باشد (Smirnov و همکاران، ۲۰۰۵). Carvalho (۱۹۹۴) عنوان کرد در کم‌خونی ماهی، به‌ویژه زمانی‌که در شرایط کمبود غذایی شکل می‌گیرد، شاخص‌های ثانویه (MCV, MCH, MCHC) نیز باید موردمطالعه قرار بگیرند. در مطالعه حاضر میزان شاخص‌های MCV افزایش معنی‌دار پس از دوره محرومیت غذایی در تیمارهای موردمطالعه داشت ولی میزان شاخص MCHC پس از دوره محرومیت غذایی تفاوت معنی‌داری نداشت و میزان MCH در تیمار شاهد بدون تغییر ولی در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانیتن نمک صفراوی به‌صورت معنی‌داری افزایش داشته است. این نتیجه بامطالعه‌ای که توسط مرشدی و همکاران (۱۳۹۰) بر روی فیل‌ماهی (*Huso huso*) صورت گرفت، هم‌خوانی دارد ولی با مطالعات اکبری و ربانی‌نژاد (۱۳۹۵) بر روی ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*) مغایرت داشت. وقتی ترکیبات موجود در خون مثل گلوکز، چربی در اثر گرسنگی کاهش می‌یابند، فشار اسمزی خون کاهش‌یافته و درنتیجه خون رقیق‌تر می‌شود. کاهش فشار اسمزی خون هم‌چنین باعث جذب مقداری از آب توسط گلبول قرمز می‌شود، این امر باعث افزایش حجم متوسط گلبولی (MCV) می‌گردد. بنابراین به‌نظر می‌رسد دلیل کاهش تعداد گلبول قرمز و افزایش MVC و عدم‌تغییر میزان هماتوکریت پس از تنش محرومیت غذایی در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین نمک صفراوی این باشد که ماهی برای جبران کاهش تعداد گلبول‌های قرمز حجم آن‌ها را افزایش داده و درنتیجه این امر باعث عدم کاهش هماتوکریت شده است. با توجه به مطالعه حاضر به‌نظر می‌رسد که جیره‌حاوی‌آستاگزانتین‌ونمک‌صفراوی تأثیرمعنی‌داری‌بر شاخص‌های خون‌شناسی به‌غیراز تعداد گلبول سفید ندارد و این مکمل می‌تواند باعث افزایش گلبول سفید شود و پس از محرومیت غذایی نیز جیره‌های مورد آزمایش تأثیری بر شاخص‌های موردمطالعه به‌جز تعداد گلبول قرمز نداشته است به این صورت که پس از محرومیت غذایی تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شاهد کاهش پیدا کرد ولی این کاهش در تیمارهای آستاگزانتین و آستاگزانتین- نمک صفراوی مشاهده نشد. پیشنهاد می‌شود در صنعت آبزی‌پروری برای بهبود شاخص‌های ایمنی ازجمله تعداد گلبول‌های سفید از جیره حاوی آستاگزانتین استفاده شود و برای درک بهتر عملکرد نمک صفراوی، در مطالعات آتی یک تیمار مجزا با جیره حاوی نمک صفراوی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

۱. **اکبری، پ. و ربانی‌نژاد، ف.، ۱۳۹۵.** اثر مکمل غذایی آستاگزانتین بر پاسخ استرس تراکم و عملکرد ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*). نشریه شیلات. دوره ۶۹، شماره ۳، صفحات ۳۰۹ تا ۳۲۲.

۲. **مرشدی، و.؛ عشوری، ق.؛ کوچین، ی.؛ یاوری، و.؛ بهمنی، م. و پوردهانی، م.، ۱۳۹۰.** تأثیر دوره‌های کوتاه‌مدت بر روی فاکتور های خونی فیل‌ماهی پرورشی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶، شماره ۴، صفحات ۳۶۳ تا ۳۶۸.

۳. **ادهمی، الف.؛ جعفری‌کناری، س. و خلیلی، خ.، ۱۳۹۵.** تأثیر رنگدانه‌های طبیعی (هویج و لبو) و رنگدانه مصنوعی (آستاگزانتین) جیره بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و تغییرات رنگ پوست، بافت و خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علمی پژوهشی علوم و فنون شیلات. دوره ۵، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۱۱.

۴. **Barbosa, M.; Morais, R. and Choubert, G., 1999**. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 176, No. 3, pp: 331-341.

۵. **Berg, S.; Trollfors, B.; Persson, E.; Backhaus, E.; Larsson, P.; Claesson, B.E.; Jonsson, L.; Radberg, G. and Johansson, S., 2006.** Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolated from blood and cerebrospinal fluid related to vaccine serotypes and to clinical characteristics. Scandinavian Journal of Infectious Diseases. Vol. 38, No. 6, pp: 427-432.

۶. **Bjerkeng, M. and Liaaen-Jensen, S., 2000**. Plasma appearance and distribution of astaxanthin E/Z and R/S isomers in plasma lipoproteins of men after single dose administration of astaxanthin. The Journal of Nutritional Biochemistry. Vol. 11, No. 10, pp: 482-490.

۷. **Buijse, A.D. and Houthuijzen, R.P., 1992.** Piscivory, growth, and size-selective mortality of age 0 pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. Vol. 49, No. 5, pp: 894-902.

۸. **Caruso, G.; Denaro, M.G.; Mancari, F.; Genovese, L. and Maricchiolo, G., 2011**. Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrachus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). Environmental Research. Vol. 72, pp: 46-52.

۹. **Carvalho, W.F., 1994.** Tecnicas medicas de hematologia e imuno-hematologia. coopmed editora, brazil. denaro,

response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in european sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). Environmental Research. Vol. 72, pp: 46-52.

۱۰. **Dorafshan, S.; Kalbassi, M.; Pourkazemi, B.M.; Amiri, S. and Karimi, S., 2008.** Effects of triploidy on the Caspian salmon *Salmo trutta caspius* haematology. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 34, No. 3, pp: 195-200.

۱۱. **Erdman, J., 1988.** The physiologic chemistry of carotenes in man. Clinical Nutrition. Vol. 7, No. 3, pp: 101-105.

۱۲. **Friedrich, M. and Stepanowska, K., 2000.** Effects of intensive culture and feeding isoprotein diets with different fat and carbohydrate contents on cortisol, total protein and protein fractions contents, AspAT and A1AT activities, and body composition and weight increments in carp (*Cyprinus carpio* L.) flngerlings. Ichthyological Research. Vol. 30, No. 1, pp: 90-100.

۱۳. **Hardy, K.; Torrissen, O.R.; Shearer, T. and Stone, F., 1990**. Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 88, No. 3, pp: 351-362.

۱۴. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation. Methods for Fish Biology. Vol. 19, pp: 273-334.

۱۵. **Jobling, M., 2010.** Are compensatory growth and catch-up growth two sides of the same coin? .Aquaculture International. Vol. 18, pp: 501- 510.

۱۶. **Hussain, M.M.; Li, X. and Dincer, I., 2006.** Mathematical modeling of planar solid oxide fuel cells. Journal of Power Sources. Vol. 161, No. 2, pp: 1012-1022.

۱۷. **Jyonouchi, H.; Sun, Y.; Tomita, S. and Gross, M.D., 1995**. Astaxanthin, a carotenoid without vitamin a activity, augments antibody response in cultures including t-helper cell clones and suboptimal doses of antigen. The Journal of Nutrition. Vol. 125, No. 10, pp: 24-83.

۱۸. **Kamara, S.K., 1966.** Effect of starvation and refeeding on some liver and blood constituents of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Fish. Reserch. Vol. 27, pp: 975- 982.

۱۹. **Kiron, V.; Watanabe, T.; Fukuda, H.; Okamoto, N. and Takeuchi, T., 1995.** Protein nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Biochemistry and Physiology. Vol. 111, pp: 351-359.

۲۰. **Kulkari, R.S. and Barad, V.S., 2015.** Effect of starvation on haematological and serum biochemical changes in the fresh water fish, notopterus notopterus. International Journal of Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries. Vol. 1, pp: 24-29.

۲۱. **Lakshman, M.; Ghosh, P. and Liu, Q.H., 1995.** Long-term ethanol exposure impairs glycosylation of both n-and o-glycosylated proteins in rat liver. Metabolism. Vol. 44, No. 7, pp: 890-898.

۲۲. **Liu, Y.H.; Liu, W.S. and Su, Y.F., 2012.** Aggregation of stabilized TiO2 nanoparticle suspensions in the presence of inorganic ions. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 31, No. 8, pp: 1693-1698.

۲۳. **NRC. 2011.** Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies. Washington, DC.

۲۴. **Park, I.S.; Hur, J.W. and Choi. J.W., 2012.** Hematological responses, survival and respiratory exchange in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, during starvation. Asian Australas Journal of Animal Sciences. Vol. 25, pp: 1276-١٢٨٤.

۲۵. **Sattari, M., 2002.** Ichthyology (1): Anatomy and Physiology. Haghshenass publication. Tehran, Iran.

۲۶. **Shahsavani, D.; Vossoghi, Gh. and Khazraenia, P., 2001.** Determination of some blood parameters fingerling sturgeon (*Acipenser stellatus* and *A. persicus*) in Gilan province. Pajouhesh and Sazandegi. Vol. 50, pp: 14-18.

۲۷. **Smirnov, L.P.; Sukhovskaya, I.V. and Nemova, N.N., 2005**. Effects of environmental factors on low-molecular-weight peptides of fishes. Russian Journal of Ecology. Vol. 36, No. 1, pp: 41-47.

۲۸. **Torrissen, O.J.; Hardy, R.W.; Shearer, K.D.; Scott, T.M. and Stone, F.E., 1996.** Effect of dietray lipid on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 88, No. 3, pp: 351-362.

۲۹. **Yang, H.; Mu, X.; Luo, D.; Hu, Y.; Song, H.; Liu, C. and Luo, J., 2012.** Sodium taurocholate, a novel effective feed additive for promoting absorption and pigmentation of astaxanthin in blood parrot (*Cichlasoma synspilum*♀× *Cichlasoma citrinellum*♂). Aquaculture. Vol. 350, pp: 42-45.