

اثر مکمل غذایی آستاگزانتین بر پاسخ استرس تراکم و عملکرد ماهی طلال (*Rastrelliger kanagurta*)

پریا اکبری*^۱ فاطمه ربانی نژاد^۲

۱. استادیار گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۸/۱۵

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر سطوح غذایی آستاگزانتین بر عملکرد تولید و مقاومت در برابر استرس تراکم ماهی تلال صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی تلال با میانگین وزنی $7/14 \pm 0/01$ گرم در یک طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (با تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار) که شامل تیمار آزمایشی شاهد (بدون استفاده از آستاگزانتین) و در تیمارهای آزمایشی ۲، ۳ و ۴ میزان استفاده از این مکمل به ترتیب ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذا بود مورد استفاده قرار گرفتند. بعد از ۶۰ روز تغذیه، هر تیمار در معرض استرس تراکم به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس تراکم، افزایش معنی داری در میزان پروتئین و فعالیت لیزوزیم و کاهش معنی داری در فعالیت آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز (به استثنای تیمار ۴) در تیمارهای حاوی آستاگزانتین در مقایسه با تیمار کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$). ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس تراکم، کمترین میزان کورتیزول و گلوکز در تیمار ۳ مشاهده شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی داری داشت ($P < 0/05$). بالاترین وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت و غذای دریافتی و کمترین ضریب تبدیل غذا در تیمار ۲ و ۳ مشاهده شد که با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی دار بود ($P < 0/05$). در مجموع بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل غذایی آستاگزانتین به جیره غذایی ماهی تلال به منظور بهبود شاخص های رشد و مقاومت در برابر استرس پیشنهاد می شود.

واژگان کلیدی: ماهی تلال، آستاگزانتین، استرس، آلانین آمینو ترانسفراز، کورتیزول.

۱. مقدمه

بهبود سطح ایمنی اختصاصی و غیر اختصاصی و رشد در آبی‌پروری استفاده شده است (Liu et al., 2016).

ماهی طلال با نام علمی *Rastrelliger Kanagurta* از جمله ماهیان استخوانی با ارزش جهان و متعلق به خانواده تن ماهیان، از گسترده‌ترین گونه‌ها در سراسر جهان می‌باشد. اغلب در آب‌های گرم با حداقل دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد زندگی و پراکنش این ماهی در سواحل غربی اقیانوس آرام، هند، مالزی، فیلیپین، آفریقای جنوبی، شرق مدیترانه، خلیج فارس و دریای عمان و غیره می‌باشد (Nazan et al., 2008). هر گونه فعالیت علمی در جهت کاهش مشکلات موجود در روند حفظ ذخایر این گونه ارزشمند از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که نتیجه آن به‌طور مستقیم در افزایش تولید پروتئین حیوانی و رونق بیشتر آبی‌پروری در دنیا متجلی خواهد شد (Hasan, 2002).

تحقیقات متعدد نقش آستاگزانتین بر رشد میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Ahmadi et al., 2008)، فیل ماهی (*Huso huso*) (Farhangi et al., 2013)، ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) (Christiansen et al., 1994)، گربه ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Liu et al., 2016) و قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Rehulka, 2000) و پارامترهای بیوشیمیایی خون در مواجهه با استرس میگوی پاسبید غربی (Merchie et al., 1998)؛ (Farhangi et al., 2013)، قزل‌آلای رنگین کمان (Nakano et al., 1999) و گربه‌ماهی زرد (Liu et al., 2016) 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. در حالی که منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین سرم و کاهش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم، گلوکز، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینو ترانسفراز بعد از مواجهه با تنش تراکم در مقایسه با گروه شاهد شد. هم‌چنین تحقیق انجام شده توسط

صنعت آبی‌پروری جهانی از دو دهه گذشته تاکنون رشد قابل توجهی داشته و در تامین پروتئین مورد نیاز جامعه نقش مهمی را ایفاء می‌کند. آبی‌پروری متراکم که مبتنی بر تغذیه دستی است، به‌صورت روز افزون در حال گسترش است. ایران نیز از جمله کشورهایی است که طی دهه گذشته بیشترین میزان رشد آبی‌پروری را در جهان داشته است (Tafi et al., 2013). لذا بهبود شناخت ما از احتیاجات غذایی گونه ماهی و میگو و تقویت سیستم ایمنی آن‌ها در برابر استرس ناشی از تراکم بالا در افزایش تولیدات آبی‌پروری نقش مهمی داشته است (Liu et al., 2016).

استرس حاصل از تغییرات ناگهانی تراکم، درجه حرارت، اکسیژن، دستکاری، حمل و انتقال، عفونت‌های ویروسی و باکتریایی و کیفیت نامطلوب مواد غذایی منجر به هم زدن تعادل فیزیولوژیکی بدن موجودات زنده با محیط زندگی آن‌ها شده که در نهایت باعث تهدید سلامت و رشد ماهی می‌گردد (Wendelaar Bonga, 1997). استرس بیش از اندازه منجر به تضعیف سیستم ایمنی، اختلال عملکرد فیزیولوژیکی، افزایش احتمال ابتلا به بیماری و درنهایت مرگ موجود می‌شود (Jeney et al., 1997).

وضعیت تغذیه‌ای یکی از عوامل موثر بر توانایی موجود در مقابله با عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود. از آنجایی که ماهیان همانند دیگر حیوانات قادر به سنتز کارتنوئیدها در بدن خود نیستند لذا نیاز آن‌ها از طریق رژیم غذایی‌شان تأمین می‌شوند. کارتنوئید-هائش مهمی در سلامت موجودات، از طریق خنثی سازی رادیکال‌های آزاد تولیدی ناشی از فعالیت طبیعی سلول‌ها و استرس‌های محیطی وارد بر آن‌ها ایفاء می‌کنند (Chew et al., 1999). آستاگزانتین (3/3 dihydroxy-diketo-B, B-carotene) مهم‌ترین رنگدانه کارتنوئیدی موجود در حیوانات آبی است (Guerin et al., 2003). این رنگدانه یک ریز مغذی اصلی و مهم در جیره غذایی آبزیان محسوب می‌شود که عملکردهای زیستی مهمی از جمله جلوگیری از اکسید شدن اسیدهای چرب غیر اشباع را به عهده دارد (Hussein et al., 2006). اخیراً از رنگدانه‌ها به‌منظور

اکسیژن محلول $6/95 \pm 0/82$ میلی گرم بر لیتر و pH آب $7/5 \pm 0/3$ بود. در طی دوره آزمایش نوری به صورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت: بود. به منظور هوادهی و نیاز اکسیژن ماهی‌ها به هر یک از مخزن‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید. تیمار ۱ به عنوان گروه شاهد تنها از غذای کنسانتره (ساخت شرکت ۲۱ بیضاء شیراز) استفاده نمود بقیه تیمارها به ترتیب با ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. ابتدا مقدار غذا را برای کل دوره ۸ هفته برای هر تیمار محاسبه شد، سپس سطوح مشخص آستاگزانتین تهیه شده از شرکت نانوشیمی ساخته تهران که از جلبک (*Haematococcus pluvialis*) با درجه خلوص ۱/۵ درصد تهیه و جداسازی شده بود را به همراه ۷۵ میلی لیتر امولسی فایر Tween 80 (Sigma Aldrich, USA) و ۵۰۰ میلی-لیتر آب به سطح غذا اسپری شدند. پس از ۴۸ ساعت جیره های خشک جمع آوری و در نایلون های مجزا در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (شکل ۳-۴). تیمار شاهد تنها با ۷۵ میلی لیتر امولسی فایر و ۵۰۰ میلی لیتر آب اسپری گردید (Merchie et al., 1998). پس از تهیه جیره های غذایی میزان رطوبت، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام به روش استاندارد تعیین شد (Peterson et al., 1999) (جدول ۱).

برای تعیین میزان غذای روزانه، ابتدا وزن توده زنده (بیوماس) هر مخزن محاسبه گردید. بیوماس از حاصل ضرب متوسط وزن ماهی های موجود در هر مخزن در تعداد ماهی به دست آمد و با تقسیم ۳ درصد بیوماس بر عدد ۲ (تعداد وعده های غذایی) (۸ صبح و ۱۶ عصر) مقدار غذایی که در هر وعده در اختیار ماهی های هر مخزن قرار گرفت محاسبه شد. در زمان غذا-دهی، ارتفاع آب را به ۸ سانتی متر رسانده و به مدت ۲۰ دقیقه سطح آب را در همین ارتفاع نگه داشته (سهولت دسترسی ماهی ها به مواد غذایی) و پس از ۲۰ دقیقه سطح آب تا ارتفاع ۲۰ سانتی متر بالا برده شد. به منظور خروج بقایای مواد غذایی و دفعی هر روز یکبار قبل از غذاهای کف مخزن ها سیفون شد تلفات هر مخزن، روزانه شمارش و ثبت گردید.

Nakano و همکاران (۱۹۹۹) نشان داد که استفاده از مخمر قرمز (*Phaffia rhodozyma*) (سرشار از آستاگزانتین) در جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان منجر به کاهش معنی داری میزان فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز، اسپاراتات آمینو ترانسفراز در در طول استرس در مقایسه با گروه کنترل گردد.

ماهیان پرورشی در محیط اسارت از شرایط طبیعی بیولوژیکی و فیزیکی و شیمیایی مطلوب زندگی بهره مند نبوده و محکوم به ادامه زندگی در شرایط موجود می باشند که نامساعد بوده و باعث کاهش مقاومت بدن آن ها در برابر بیماری های گوناگون می-شود لذا به نظر می رسد که استفاده از آستاگزانتین می تواند نقش مهمی بر فعالیت آنتی اکسیدانی، تنظیم پاسخ ایمنی و مقاومت در برابر بیماری داشته باشد (Liu et al., 2016). از آن جایی که گزارشات کمی در زمینه اثر آستاگزانتین بر ایمنی غیر اختصاصی و فاکتورهای بیوشیمیایی خون آبزیان در مواجهه با استرس های محیطی صورت گرفته است. لذا این تحقیق، به بررسی اثر آستاگزانتین بر رشد و مقاومت در مواجهه با تنش تراکم در ماهی طلال می پردازد.

۲. مواد و روشها

۱.۲. ماهی

این پژوهش در اواخر آذرماه ۱۳۹۴ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی موسسه تحقیقات شیلات چابهار انجام شد. ۱۲۰ قطعه ماهی طلال از سواحل چابهار به-کمک صیاد توسط تور پره صید و به محل آزمایش، انتقال داده شد.

۲.۲. طراحی آزمایش و شرایط تغذیه

پس از طی مرحله سازگاری به مدت دو هفته و اطمینان از سلامتی آن ها، ماهی ها با میانگین وزنی $7/14 \pm 0/1$ گرم و میانگین طولی $4/78 \pm 0/78$ سانتی متر شمارش شده و با تراکم ۱۰ قطعه به ۱۲ مخزن ۶۰ لیتری منتقل شدند. در طول دوره، پارامترهای آب اندازه گیری شد. به طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب $28/8 \pm 1/34$ درجه سانتی گراد،

جدول ۱. ترکیب شیمیایی تیمارهای غذایی (میانگین \pm خطای معیار) مورد آزمایش

ترکیب تقریبی (%)	۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
پروتئین خام	۴۳/۳۸ \pm ۲/۲۴	۴۳/۲۰ \pm ۴/۳۶	۴۲/۹۲ \pm ۳/۵۲	۴۳/۲۳ \pm ۵/۴۳
چربی خام	۱۲/۱۴ \pm ۰/۷۰	۱۲/۵۱ \pm ۰/۸۷	۱۲/۱۱ \pm ۰/۳۹	۱۲/۴۷ \pm ۰/۷۹
خاکستر خام	۱۱/۲۱ \pm ۰/۱۷	۱۲/۰۱ \pm ۰/۵۰	۱۱/۹۳ \pm ۰/۳۶	۱۱/۹۸ \pm ۰/۱۶
رطوبت	۷/۲۱ \pm ۰/۷۳	۶/۷۸ \pm ۰/۶۱	۶/۶۰ \pm ۰/۶۵	۶/۷۸ \pm ۰/۴۸

غیر اختصاصی نمونه برداری صورت گرفت (Oliveira et al., 2012).

۵.۲. خون گیری از ماهی

برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی (گلوکز، پروتئین تام، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو فسفاتاز و اسپاراتات آمینو فسفاتاز) و ایمنی غیر اختصاصی (لیزوزیم) قبل و ۲۴ ساعت بعد از استرس تراکم، به صورت تصادفی از ۹ قطعه ماهی هر تیمار پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (۲ گرم بر لیتر) خون گیری از قلب با استفاده از سوزن و سرنگ صورت گرفت و سپس برای جلوگیری از همولیز شدن خون هنگام ریختن آن در میکروتیوب ۲ میلی لیتر، سوزن از سرنگ جدا شد. پس از آن سرنگ حاوی خون وارد میکروتیوب مورد نظر شد و از جداره میکروتیوب خون در داخل آن ریخته شد سپس با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Hettich مدل DV200، ساخت کشور ژاپن) و سرم آن جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Harikrishnan et al., 2012).

۶.۲. تعیین برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون

مقدار پروتئین سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت. در داخل یک لوله آزمایش، میزان ۱/۹ میلی لیتر از محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم و ۰/۱ میلی لیتر سرم خون و در داخل لوله آزمایش دیگر ۱/۹ میلی لیتر از محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم و ۰/۱ میلی لیتر استاندارد (۸ گرم بر دسی لیتر آلبومین سرم گاوی) در کلرید سدیم ۰/۸۵ درصد تهیه کرده) ریخته شد. همچنین به منظور تهیه

۳.۲. زیست سنجی و بررسی پارامترهای رشد و تغذیه

به منظور اندازه گیری شاخص های رشد، در انتهای آزمایش، وزن (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی متر) ماهی های هر مخزن ثبت گردید. با استفاده از داده های حاصل از زیست سنجی ها، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت (Bai, 2001)، ضریب تبدیل غذایی (Lim et al., 2000)، نسبت بازدهی پروتئین و درصد بقاء (Wahli et al., 2003) تعیین شد.

وزن نهایی (Ln) = ضریب رشد ویژه (درصد بر روز) \times طول دوره پرورش / (وزن اولیه (گرم) - Ln (گرم)) \times ۱۰۰

غذای مصرف شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی / افزایش وزن به دست آمده (گرم)
 افزایش وزن به دست آمده = نسبت بازدهی پروتئین \times میزان پروتئین مصرفی (گرم) / (گرم)
 طول (سانتی /وزن مرطوب (گرم) = شاخص وضعیت \times ۱۰۰ (متر))

(وزن اولیه = افزایش وزن به دست آمده (درصد)) \times ۱۰۰
 (وزن اولیه / (گرم) - وزن نهایی (گرم)) \times ۱۰۰
 تعداد /تعداد اولیه ماهی = نرخ بقاء (درصد)
 نهایی ماهی

۴.۲. مواجهه با تنش تراکم

در روز ۶۰ آزمایش، بعد از زیست سنجی تراکم ماهی در هر مخزن به ۳۰ قطعه در هر تکرار رسید (ماهی های موجود در یک تکرار هر تیمار به دو مخزن دیگر انتقال داده شد). سپس پس از ۲۴ ساعت به منظور تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی خون و ایمنی

محلول باقی مانده در لوله پلی پروپیلن اضافه شد و پس از مخلوط شدن به مدت ۲۰ دقیقه بر روی یخ انکوبه (خوابانده) شد. سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد در دور ۲۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. و ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی برای سنجش تشکیل باند کورتیزول با آنتی سرم برداشته شد. دامنه استاندارد ۷۰۰ - ۰ پیکوگرم/تیوب برای رسم منحنی استاندارد در نظر گرفته شد. و میزان کورتیزول بر اساس نانوگرم بر میلی لیتر بیان شد.

بر اساس تست آلکالین فسفاتاز توسط پارانیتروفنیل فسفات (Fettman et al., 1992) و در طول موج ۴۰۵ نانومتر تعیین گردید.

سنجش آلانین آمینو ترانسفراز بر اساس روش Liu و همکاران (۲۰۱۶) با کمی تغییرات صورت گرفت. ۱ میلی لیتر سوپسترا (۰/۵۸۴ گرم اسید آلفا گلووتاریک، ۵/۳۲ گرم اسید دی-ال اسپارتیک، ۴۰ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۱ نرمال، بافر فسفات، کلروفرم) به دو کووت اضافه و درجه حرارت کووتها به ۳۷ درجه سانتی گراد رسانده شد. ۰/۲ میلی لیتر سرم را به داخل کووت تست و ۲۰ میلی لیتر آب را به داخل کووت بلانک ریخته و محتویات کووت را به خوبی مخلوط کرده و یک ساعت در بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از ۵ دقیقه جذب نوری لوله بلانک در طول موج ۵۰۵ نانومتر روی ۰/۲۵ تنظیم شد و جذب نوری کووت تست قرائت گردید. و جهت سنجش از منحنی کالیبراسیون استفاده شد.

سنجش اسپاراتات آمینو ترانسفراز بر اساس روش Liu و همکاران (۲۰۱۶) صورت گرفت. به استثنای سوپسترا همانند سنجش آلانین آمینو ترانسفراز بود. سوپسترای آن شامل ۰/۰۲۹۲ گرم اسید آلفاگلووتاریک، ۱/۷۸ از دی-ال آلانین، ۲۰ میلی-لیتر آب مقطر و حجم محلول با بافر فسفات (۷/۴ pH) به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

سنجش فعالیت لیزوزیم سرم نمونه‌ها، بر اساس روش توصیه شده توسط Ellis (۱۹۹۰) توسط سوسپانسیون میکرو کوکوس لیزو دیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) (محصول سیگما) صورت گرفت.

بلانک، ۲ میلی لیتر از محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم را در یک لوله آزمایش دیگر ریخته و ۵ میلی لیتر معرف بیوره (۳ گرم سولفات مس، ۱۲ گرم تارتارات مضاعف سدیم-پتاسیم را در یک لیتر آب مقطر حل کرده) را به هر یک از لوله‌ها اضافه و مخلوط گردید و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت و جذب نوری لوله های نمونه و استاندارد را در مقابل بلانک در طول موج ۵۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (WPAS2000-UV/VIS, Cambridge, UK) قرائت شد. و میزان پروتئین بر حسب گرم بر دسی لیتر محاسبه گردید (Burtis et al., 1994).

برای سنجش گلوکز، لوله نمونه یا استاندارد محتوی ۱۰ میکرولیتر به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر آنزیمی، (توسط آنزیم گلوکز اکسیداز و پراکسیداز) و لوله بلانک محتوی ۱۰ میکرولیتر به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر آماده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷° درجه سانتی گراد قرار گرفته و در ادامه جذب نوری لوله‌های تست و استاندارد در طول موج ۵۲۰ نانومتر در مقابل بلانک قرائت گردید (Trinder, 1969).

میزان کورتیزول بر اساس روش توصیه شده توسط Pickering و Pottinger (۱۹۸۳) صورت گرفت. کیت سنجش کورتیزول از شرکت پادگین طب خریداری شد. در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از سرم با ۴۰۰ میکرولیتر اتانول به خوبی مخلوط گردید سپس با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۳۰۰ میکرولیتر مایع رویی مخلوط به همراه ۵۰ میکرولیتر کورتیزول حل شده در اتانول به لوله پلی پروپیلن (۳/۵ میلی لیتر) منتقل شد و تحت شرایط خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد الکل آن تبخیر گردید و ۱۰۰ میکرولیتر آلبومین سرم گاوی (۱ درصد آلبومین سرم گاوی و ۹ درصد نمک) و آنتی سرم (آنتی سرم خرگوش به همراه ۲۱ کورتیزول تری گلوبین با BSA-saline رقیق شده به منظور باند شدن ۵۰ درصد کورتیزول نشان دار) به آن اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ قرار گرفته تا سرد گردد و با محاسبه کسری ۵۰ میکرولیتر محلول، ۷۵ میکرولیتر سوسپانسیون سرد زغال چوب- دکستران (۵ درصد زغال چوب، ۵ درصد دکستران، ۹ درصد نمک) به

۷.۲. تجزیه و تحلیل آماری

(2013) انجام شد.

شیوه نمونه برداری از ماهی‌ها به صورت تصادفی و تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از پایان دوره آزمایش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی بود. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، پارامترهای بیوشیمیایی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک-طرفه (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها (میانگین \pm خطای معیار) از آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد ($p=0/05$). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS 16 در محیط ویندوز XP استفاده گردید. با استفاده از تست کالموگراف اسمیرنوف نرمال بودن داده‌ها بررسی شد. هم‌چنین به منظور بررسی برابری واریانس‌ها از تست لون استفاده شد و کلیه داده‌هایی که بر حسب درصد بودند در ابتدا از آنها لگاریتم طبیعی گرفته شد (Ln). جهت مقایسه میانگین پارامترهای بیوشیمیایی قبل و بعد از استرس تراکم از آزمون مقایسه میانگین دو جامعه آماری مستقل (Independent two sample t- test) استفاده شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی دار ۵٪ استفاده شد. بسته نرم افزاری مورد استفاده SPSS بود. رسم نمودار در محیط Excel

۳. نتایج

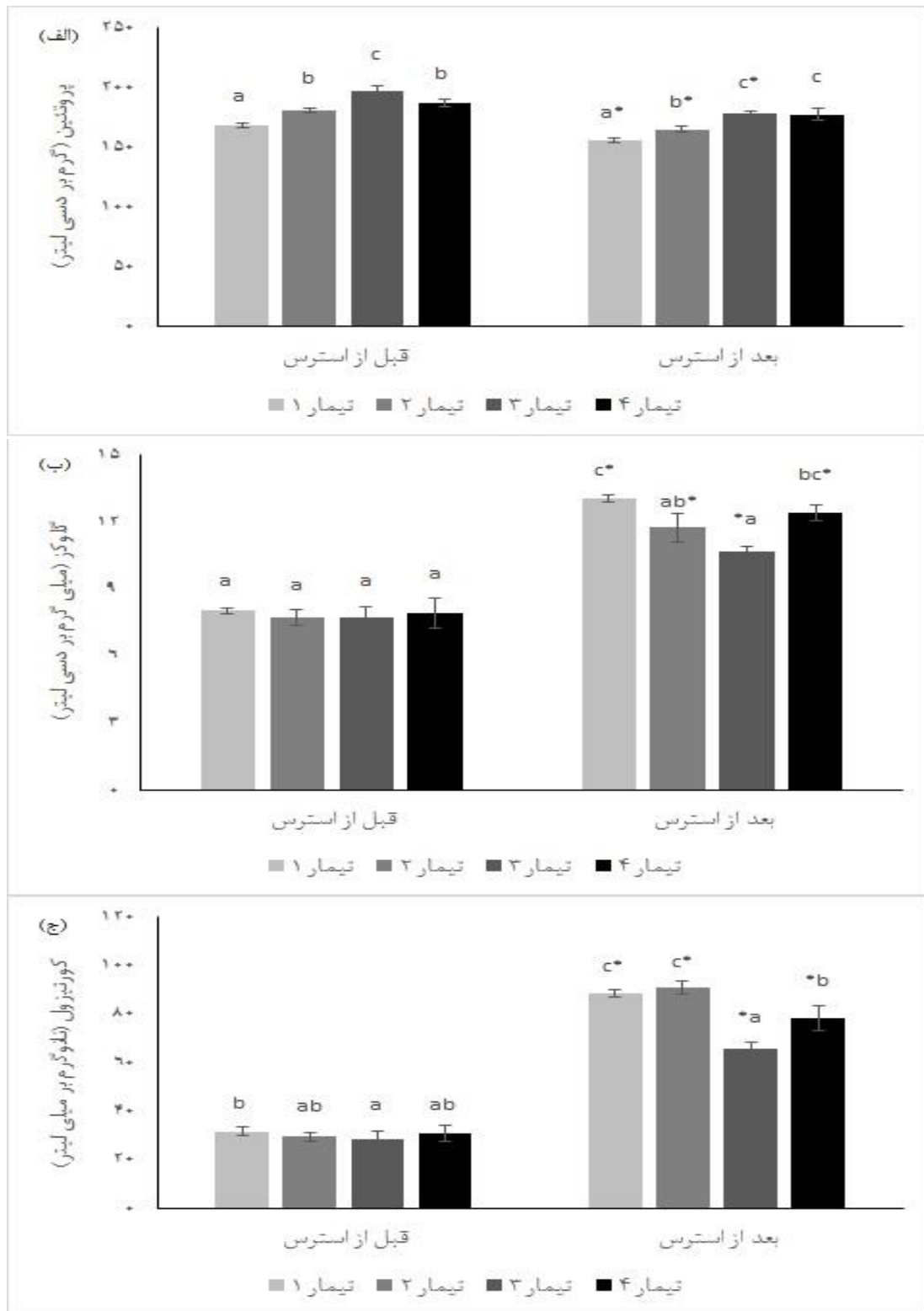
۱.۳. شاخص رشد

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد، تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۲ آورده شده است. ماهی‌ها از میانگین وزن اولیه ۷/۱۴ گرم به دامنه میانگین وزن نهایی ۲۰/۳۵ گرم الی ۲۶/۵۶ گرم در طول دوره ۶۰ روزه آزمایش رسیدند. نتایج نشان داد که تیمار ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری را در میانگین وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت و کاهش معنی‌داری را در ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۴ نشان دادند ($P<0/05$) در حالی-که بین تیمار ۲ و ۳ این تفاوت معنی‌داری نبود ($P>0/05$). بیشترین افزایش وزن به دست آمده و نسبت بازدهی پروتئین در تیمار ۳ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد ($P<0/05$). میزان بقاء نیز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). هم‌چنین در کلیه شاخص‌های رشد بین تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P<0/05$).

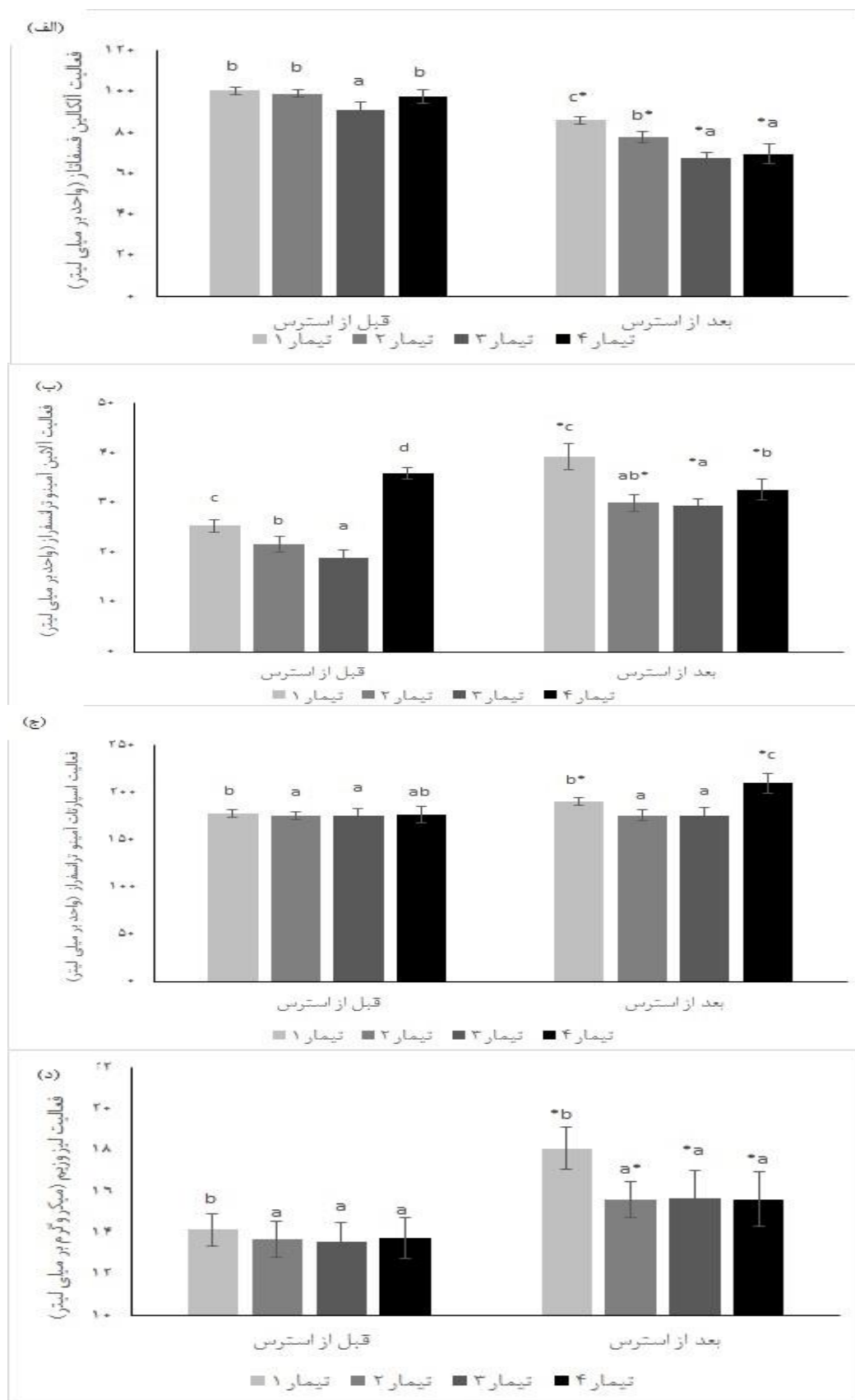
جدول ۲. مقایسه میانگین عملکرد رشد و مصرف غذایی بین تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی دوره پرورش

شاخص	تیمار			
	۴	۳	۲	۱
وزن اولیه (گرم)	۷/۱۰ \pm ۰/۰۲ ^a	۷/۱۴ \pm ۰/۰۲ ^a	۷/۱۶ \pm ۰/۰۲ ^a	۷/۱۵ \pm ۰/۰۳ ^a
وزن نهایی (گرم)	۲۳/۴۶ \pm ۰/۴۰ ^b	۲۶/۵۶ \pm ۰/۶۶ ^c	۲۵/۴۵ \pm ۰/۲۰ ^c	۲۰/۳۵ \pm ۰/۳۳ ^a
درصد افزایش وزن	۲۳۰/۱۶ \pm ۵/۶۳ ^b	۲۷۱/۱۹ \pm ۹/۳۱ ^d	۲۵۵/۳۷ \pm ۳/۳۳ ^c	۱۸۴/۷۶ \pm ۱/۳۳ ^a
ضریب رشد ویژه	۱/۹۸ \pm ۰/۰۲ ^b	۲/۱۷ \pm ۰/۰۵ ^c	۲/۱۱ \pm ۰/۰۱ ^c	۱/۷۴ \pm ۰/۰ ^a
ضریب تبدیل غذا	۲/۲۲ \pm ۰/۰۳ ^b	۱/۹۸ \pm ۰/۰۷ ^a	۲/۰۵ \pm ۰/۰۱ ^a	۲/۵۸ \pm ۰/۱۰ ^c
نسبت بازدهی پروتئین	۵/۳۰ \pm ۰/۱۲ ^b	۶/۲۶ \pm ۰/۲۱ ^d	۵/۸۸ \pm ۰/۰۶ ^c	۴/۲۵ \pm ۰/۰۳ ^a
شاخص وضعیت	۱/۰۶ \pm ۰/۰۱ ^b	۱/۲۰ \pm ۰/۰۳ ^c	۱/۱۵ \pm ۰/۰۲ ^c	۰/۹۲ \pm ۰ ^a
بقاء (درصد)	۹۶/۳۲ \pm ۰/۳۶ ^a	۱۰۰ \pm ۰/۰ ^a	۹۹/۴۵ \pm ۰/۲۳ ^a	۹۸/۰ \pm ۰ ^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P<0/05$ بین تیمارهای مختلف است. تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲-۴ به ترتیب حاوی ۱۰۰، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم جیره غذا است.



شکل ۱. میانگین و خطای معیار پروتئین (الف)، گلوکز (ب) و کورتیزول (ج) سرم خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف قبل و بعد از استرس تراکم (۲۴ ساعت، با سه تکرار). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است. و علامت ستاره نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار پارامترها قبل و بعد از استرس می‌باشد. تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲-۴ به ترتیب حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا است.



شکل ۲. میانگین و خطای معیار فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز (الف)، آلانین آمینوترانسفراز (ب)، اسپارتات آمینو ترانسفراز (ج) و لیپوزیم (د) سرم خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف قبل و بعد از استرس تراکم (۲۴ ساعت، با سه تکرار). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است. و علامت ستاره نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار پارامترها قبل و بعد از استرس می‌باشد. تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲-۴ به ترتیب حاوی ۱۰۰، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا است.

۱.۳. پارامترهای بیوشیمیایی خون

تغییرات میانگین (\pm خطای معیار) پروتئین، گلوکز و کورتیزول سرم خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف، قبل و بعد از استرس تراکم (۲۴ ساعت)، در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق شکل ۱، الف، میزان پروتئین قبل از استرس در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) و بیشترین میزان پروتئین در (تیمار ۳) مشاهده شد و بین تیمارهای ۲ و ۴ این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). بعد از استرس (۲۴ ساعت) نیز میزان پروتئین در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) و بیشترین میزان آن در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار ۲ نشان داد ($P < 0.05$). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین قبل و بعد از استرس در تیمارها (به استثنای تیمار ۴) مشاهده شد ($P < 0.05$). قبل از استرس، میزان گلوکز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$) در حالی که پس از استرس، کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز تیمار ۳ در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$). از نظر عددی بیشترین میزان گلوکز در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار ۴ نشان نداد ($P > 0.05$) (شکل ۱، ب). هم‌چنین بین میزان گلوکز قبل و بعد از استرس در کلیه تیمارها این اختلاف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). طبق شکل ۱، ج کمترین میزان کورتیزول قبل و بعد از استرس در تیمار ۳ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین میزان کورتیزول قبل و بعد از استرس، در کلیه تیمارها مشاهده شد ($P < 0.05$).

تغییرات میانگین (\pm خطای معیار) فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز، آسپاراتات آمینو ترانسفراز و لیزوزیم سرم خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف قبل و بعد از استرس تراکم (۲۴ ساعت)، در شکل ۲ نشان داده شده است. طبق شکل ۲، الف، فعالیت آلکالین فسفاتاز قبل از استرس در تیمار ۳ اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با بقیه

تیمارها نشان داد ($P < 0.05$) در حالی که تیمار ۲ و ۴ اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$). قبل از استرس، فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز در تیمار ۴ افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار نشان داد ($P < 0.05$). کمترین فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز قبل و بعد از استرس در تیمار ۳ مشاهده شد. بعد از استرس، فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین کمتر از تیمار شاهد بود و تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند ($P < 0.05$). هم‌چنین بعد از استرس فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری را در مقایسه با قبل استرس نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۲، ب). طبق شکل ۲، ج، فعالیت آسپاراتات آمینو ترانسفراز قبل از استرس در تیمار ۲ و ۳ کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار ۴ و تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) بعد از استرس، فعالیت آسپاراتات آمینو ترانسفراز در تیمار شاهد و تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری را با فعالیت آن قبل از استرس نشان داد ($P < 0.05$) و تیمار ۲ و ۳ کمترین فعالیت آسپاراتات آمینو ترانسفراز را بعد از استرس نشان دادند که تفاوت معنی‌داری را با تیمار ۴ و تیمار شاهد نشان دادند ($P < 0.05$). بعد از استرس، با افزایش غلظت آستاگزانتین در جیره غذایی، فعالیت آلکالین فسفاتاز کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) و بین تیمارهای ۳ و ۴ این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). هم‌چنین فعالیت آلکالین فسفاتاز در کلیه تیمارها بعد از استرس، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با قبل از استرس نشان داد ($P < 0.05$). فعالیت لیزوزیم قبل و بعد از استرس در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد ($P < 0.05$) در حالی که بین تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). هم‌چنین در کلیه تیمارها، اختلاف معنی‌داری بین فعالیت لیزوزیم قبل و بعد از استرس مشاهده شد ($P < 0.05$) (شکل ۲، د).

۴. بحث و نتیجه گیری

تغییرات شاخص‌های رشد در بین تیمارهای مختلف در این تحقیق، نشان داد که اضافه نمودن

نشان دادند که با نتایج حاصل از تحقیق احمدی و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی داشت. Ahmadi و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر سطوح مختلف آستاگزانتین (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا) بر عملکرد رشد ماهی میگوی پا سفید غربی نشان دادند که بیشترین میزان وزن نهایی و ضریب رشد ویژه، در تیمار تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. کاهش وزن بدن در غلظت ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا را می توان به اثر بازدارندگی رنگدانه آستاگزانتین نسبت داد برخلاف خاصیت آنتی اکسیدانی آستاگزانتین، استفاده بیش از حد آن در جیره غذایی می تواند اثرات سمی و طعم تلخ را ایجاد کرده و منجر به کاهش رشد گردد (Beutner et al., 2001; Liu et al., 2016). مصرف بیش از حد آستاگزانتین باعث تولید انواع اکسیژن فعال شده که در نهایت منجر به شکستن زنجیره DNA و تخریب سلول ها می شود (Beutner et al., 2001). هرچند استفاده از غلظت ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا بر بقاء تاثیر معنی داری نداشت.

ماهی های تحت اسارت به طور مداوم تحت تاثیر استرس های مختلف نظیر دمای محیط، تراکم، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی، حمل و نقل و ذخیره سازی قرار می گیرند (Oliveira et al., 2012; Liu et al., 2016). همانند سایر مهره داران، استرس های محیطی تاثیر مهمی بر تعادل دینامیکی ماهی داشته و هنگامی که ماهی در طول دوره پرورش تحت تاثیر استرس مداوم قرار گیرد با تحریک محور بخش قشری فوق کلیه-هیپوفیز-هیپوتالاموس سطح کورتیزول خون افزایش می یابد (Xie et al., 2008). لذا افزایش سطح کورتیزول خون به عنوان سیگنال هوشمند در ماهی تحت استرس می تواند در نظر گرفته شود (Xie et al., 2008). نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که سطح کورتیزول خون ماهی طلال قبل از استرس تراکم در کلیه تیمارها کمتر از سطح کورتیزول خون ماهی ۲۴ ساعت بعد از استرس بود که با نتایج به دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Xie et al., 2008) و گربه ماهی زرد (Liu et al., 2016) تحت تاثیر استرس تراکم همخوانی داشت. هم چنین سطح کورتیزول خون

مقادیر مختلف مکمل آستاگزانتین به جیره غذایی، منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه در مقایسه با تیمار شاهد شد. بیشترین نسبت بازدهی پروتئین و افزایش وزن به دست آمده در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان داد در حالی که از نظر وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و شاخص وضعیت بین تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا اختلاف معنی داری مشاهده نشد که با نتایج به دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) تغذیه شده با ۴۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Christiansen et al., 1994)، تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) تغذیه شده با ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین طبیعی بر کیلوگرم غذا (Ilyasov and Golovin, 2003)، میگوی پاسفید غربی تغذیه شده با ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Ahmadi et al., 2008) و میگوی مونودون (*Penaeus monodon*) تغذیه شده با ۱ درصد آستاگزانتین (Niu et al., 2009) همخوانی داشت. می توان گفت که آستاگزانتین نقش موثری را به عنوان واسطه در سوخت و ساز بدن، تسریع در هضم و جذب بدن، افزایش بهروری مواد غذایی، و در نتیجه عملکرد رشد موجودات آبی ایفاء می نماید (Niu et al., 2009). هر چند نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات صورت گرفته بر روی فیل ماهی تغذیه شده با آستاگزانتین طبیعی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا) (Faghani et al., 2013) و گربه ماهی زرد تغذیه شده با ۸۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Liu et al., 2016) و میگو کروما (*Marsupenaeus japonicas*) تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا (Chein and Jeng, 1992) همخوانی نداشت که دلیل مغایرت نتایج را می توان عادات غذایی مختلف، اختلاف فرمولاسیون غذایی ماهیان و اختلاف طعم و مزه مطلوب در گونه های مختلف ماهیان دانست (Liu et al., 2016). هم چنین با تغییر سطوح مکمل آستاگزانتین در این آزمایش، افزایش وزن به دست آمده و نسبت بازدهی پروتئین روند کاهشی معنی داری را

تفاوت معنی‌داری با میزان خود قبل از استرس نشان دادند که با نتایج به‌دست آمده از تحقیق صورت گرفته بر روی گربه‌ماهی تغذیه شده با ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا همخوانی داشت (Liu et al., 2016) که این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از مکمل آستاگزانتین در جیره غذایی (علی‌الخصوص غلظت ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا منجر به بهبود میزان پروتئین و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌گردد.

آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در میتوکندری حیوانات آبی حضور داشته و سطح فعالیت آن‌ها شاخص مهمی برای تشخیص عملکرد هضم و آسیب‌های کبد ماهی می‌باشد (Liu et al., 2016). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که قبل از استرس، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا نشان داد که با نتایج به‌دست آمده توسط Liu و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی داشت آن‌ها نشان دادند که استفاده از ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی گربه‌ماهی روگامی منجر به کاهش معنی‌دار این آنزیم شد. کمترین میزان فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس، در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا نشان نداد هم‌چنین بعد از ۲۴ ساعت از شروع استرس تراکم فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در کلیه تیمارها در مقایسه با فعالیت این آنزیم قبل از استرس افزایش یافت Nakano و همکاران (۱۹۹۹) نیز نشان دادند که استفاده از آستاگزانتین در جیره غذایی منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با تیمار شاهد بعد از مواجهه با استرس اکسیداتیو گردید که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق همخوانی داشت.

فعالیت آنزیم آسپارات آمینوترانسفراز خون ماهی طلال قبل از استرس در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد در حالی که ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس تراکم در تیمارهای تغذیه شده با

در تیمارهای تغذیه شده با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا بعد از استرس کاهش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد Liu و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از ۸۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا منجر به کاهش معنی‌دار کورتیزول خون گربه‌ماهی زرد ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس تراکم شد که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی داشت که این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از آستاگزانتین می‌تواند سطح کورتیزول خون ماهی تحت استرس را بهبود بخشد (Liu et al., 2016).

افزایش سطح هورمون کورتیزول خون منجر به تولید قند و مصرف گلیکوژن کبد می‌گردد لذا به‌منظور تامین انرژی در طول استرس، گلوکز خون به‌طور ناگهانی افزایش می‌یابد (Liu et al., 2016). تعدادی از محققین معتقد هستند که سنجش سطح گلوکز خون شاخص مهمی برای ارزیابی ماهیان در شرایط تحت استرس می‌باشد (Hsieh et al., 2003). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تغییرات میزان گلوکز خون قبل از استرس در بین تیمارها معنی‌دار نبود اما میزان گلوکز خون در کلیه تیمارها بعد از استرس افزایش یافت که با تحقیق صورت گرفته توسط Xie و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی داشت. هم‌چنین کمترین میزان گلوکز خون بعد از استرس در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمار حاوی ۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا نشان نداد که با نتایج به‌دست آمده از تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی داشت.

پروتئین سرم منجر به ثبات pH، فشار اسمزی و انتقال بیلی روبین، اسیدهای چرب، کلسترول و فسفاتید می‌شود (Liu et al., 2016). هم‌چنین آنزیم آلکالین فسفاتاز نقش مهمی در تنظیم برخی از عملکردهای اساسی ارگانیزم‌های زنده بازی می‌نماید. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از آستاگزانتین در جیره غذایی ماهی طلال منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین سرم و کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ۲۴ ساعت بعد از شروع استرس تراکم شد و میزان پروتئین و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بین کلیه تیمارها بعد از استرس

با آستاگزانتین کمتر از فعالیت لیزوزیم در تیمار شاهد بود که با نتایج بدست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی گربه ماهی زرد (Liu et al., 2016) و ماهی شبه شوریده (*Pseudosciaena crocea*) (Niu et al., 2014) همخوانی داشت. کاهش فعالیت لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با آستاگزانتین حاکی از آن است که آستاگزانتین دارای خواص ضد باکتری، ضد التهابی، و آنتی اکسیدانی قوی تری در مقایسه با تنظیم فعالیت لیزوزیم می باشد (Li et al., 2014). هر چند عواملی نظیر وضعیت فیزیولوژیکی ماهی و احتیاجات غذایی مختلف می تواند بر فعالیت لیزوزیم بعد از استرس تاثیر گذار باشد که تحقیقات وسیع تری در این زمینه لازم به نظر می رسد.

در کل نتایج به دست آمده از عملکرد رشد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون بعد از مواجهه با استرس تراکم نشان داد که استفاده از سطوح mg/kg ۱۰۰ آستاگزانتین در جیره غذایی ماهی طلال منجر به افزایش وزن به دست آمده، نسبت بازدهی پروتئین و پروتئین تام، کاهش گلوکز، کورتیزول، آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپارات آمینو ترانسفراز شد که بهینه ترین سطح به منظور مقاومت ماهی در برابر استرس و افزایش عملکرد تولید در رژیم غذایی ماهی طلال پیشنهاد می گردد.

۵. تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم انستیتو موسسه تحقیقات شیلات چابهار و کارشناس محترم آزمایشگاه شبکه دامپزشکی چابهار خانم ناصری تشکر و قدردانی می گردد.

آستاگزانتین کاهش معنی داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد که با نتایج به دست آمده از تحقیقات Nakano و همکاران (۱۹۹۹) و Liu و همکاران (۲۰۱۶) همخوانی داشت افزایش فعالیت آنزیم های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در تیمار تغذیه شده با ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا در مقایسه با تیمارهای تغذیه شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا بعد از استرس حاکی از آن است که استفاده از سطح ۱۵۰ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا می تواند سلامت ماهی را تهدید نماید.

افزایش غلظت کورتیزول خون تحت تاثیر شرایط استرس منجر به سرکوب سیستم ایمنی حیوانات آبی شود (Liu et al., 2016) که به نوبه خود پارامترهای بیوشیمیایی خون از قبیل فعالیت لیزوزیم، محتوی پروتئین و فعالیت آلکالین فسفاتاز را تحت تاثیر قرار می دهد. لیزوزیم یکی از پارامترهای دفاع غیر اختصاصی ذاتی مهم می باشد همچنین از دسته آنزیم های باکتریسیدال مهم از ایمنی ذاتی است که در زمان عفونت با باکتری گرم مثبت همچنین در شرایط استرس زا به عنوان یک پروتئین فاز حاد عمل می کند و نقش عملکردی آن در مبارزه با عفونتهای مختلف ماهیان گزارش شده است (Swain and Nayak 2009). مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از آستاگزانتین قبل از استرس منجر به کاهش معنی دار فعالیت لیزوزیم در مقایسه با تیمار شاهد شد هر چند فعالیت لیزوزیم بعد از استرس در کلیه تیمارها افزایش معنی داری را در مقایسه با فعالیت خود قبل از استرس نشان داد اما فعالیت لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده

References

- Ahmadi, S., Farhangi, M., Rafii, G.R., Ghaednia, B., 2008. Effect of different levels of astaxanthin on growth parameters and survival in *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Marine Sciences and Technology* 1-2, 1-12.
- Bai, S.C., 2001. Requirements of L-ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rockfish (*Sebastes Schlegeli*) In: Ascorbic acid in aquatic organism. Dabrowski, K., (Eds.) CRC press, 69-85.
- Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I.H., Hoffman, T., 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. *Journal of the Science of Food Agriculture* 81, 559-568.
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Brund, D.E., 1994. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (5th ed.). W. B. Saunders Company. Philadelphia. USA. 560P.
- Chein, Y.H., Jeng, S.C., 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture* 102, 333-346.
- Chew, B.P., Wong, M.W., Park, J.S., Wong, T.S., 1999. Dietary β -carotene and astaxanthin but not canthaxanthin stimulate splenocyte func-

- tion in mice. *Anticancer Research* 19 5223-5227. Christiansen, R., Lie, Torrisen, 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* 25, 903-914.
- 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; PP. 101-103.
- Faghani, T., Soltani, M., Shamsae, M., Matinfar, A., 2013. The effect of dietary natural Astaxanthin (*Haematococcus pluvialis*) on the growth parameters, carcasses and liver chemical composition in juvenile beluga (*Huso huso Linnaeus*, 1758). *Journal of Marine Biology*, Islamic Azad University, Ahvaz Branch 5 69-78.
- Farhangi, M., Ahmadi, S., Rafii, G.R., ghaednia, B., Taghavi, R., 2013. Effect of different levels of dietary astaxanthin on biochemical parameters and non-specific immune in *Litopenaeus vannamei* against low oxygen stress. *Journal of Marine Sciences and Technology* 2, 103-114.
- Fettman, M.J., Coble, J.M., Hamar, D.W., 1992. Effect of dietary phosphoric acid supplementation on acid-base balance and mineral and bone metabolism in adult cats. *American Journal of Veterinary Research* 53, 2125-2135.
- Guerin, M., Huntley, M.E., Olaizola, M., 2003. *Haematococcus astaxanthin*: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnology* 21, 210-216.
- Harikrishnan, R., Kim, J., Balasundaram, C., Heo, M., 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against *Vibrio alginolyticus* infection. *Aquaculture* 326, 46-52.
- Hasan, M.R., 2002. Nutrition and feeding for sustainable Aquaculture development in the third millennium. *FAO Reports*.
- Hsieh, S.L., Chen, Y.N., Kuo, C.M., 2003. Physiological responses, desaturase activity and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. *Aquaculture* 220, 903-918.
- Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K., Watanabe, H., 2006. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products* 69, 443-449.
- Ilyasov, Y., Golovin, P., 2003. The effect of NatuRose on growth, survival and physiological state of two-year-old marketable sturgeons. On file at Cyanotech Corporation.
- Jeney, G., Galeotti, M., Volpatti, D., Jeney, Z., Anderson, D.P., 1997. Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan. *Aquaculture* 154, 1-15.
- Li, M., Wu, W., Zhou, P., Xie, F., Zhou, Q., Mai, K., 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 434, 227-232.
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H., Robinson, E.H., 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, haematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture* 185 313-327.
- Liu, F., Shi, H., Guo, Q., Yu, Y., Wang, A., Lv, F., 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* 51, 125-135.
- Merchie, G., Kontara, E., Lavens, P., Robles, R., Kurmaly, K., Sorgeloos, P., 1998. Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture Research* 29, 579-589.
- Nakano, T., Kanmuri, T., Sato, M., Takeuchi, M., 1999. Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout. *Biochimica et Biophysica Acta* 426 119-125.
- Nazan, D., Yener, A., Rikap, Y., 2008. Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of the Zebrafish (*Danio rerio*). *Brazilian Archive Biology and Technology* 151, 1-10.
- Niu, J., Tian, L.X., Liu, Y.J., Yang, H.J., Ye, C.X., Gao, W., Mai, K.S., 2009. Effect of dietary astaxanthin on growth, survival and stress tolerance of post-larval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of World Aquaculture Society* 40 795-802.
- Niu, J., Wen, H., Li, C., Liu, Y., Tian, L., Chen, X., 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and b-carotene in the presence and absence of cholesterol supplementation on growth performance, antioxidant capacity and gene expression of *Penaeus monodon* under normoxia and hypoxia condition. *Aquaculture* 422-423, 8-17.
- Oliveira, E.G., Pinheiro, A.B., Oliveira, V.Q., Silva, A.R.M., Moraes, M.G., Rocha, I.R.C.B., 2012. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. *Aquaculture* 370-371 96-101.
- Peterson, D.S., Harris, D.J., Rayner, J.C., Blakeney, A.B., Choct, M., 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. *Australian Journal of Agriculture Researches* 50, 775- 787.
- Pickering, A.D., Pottinger, P., 1983. Seasonal and diet changes in plasma cortisol levels of the brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology* 49, 232-239.
- Rehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 190 27-47.
- Swain, P., Nayak, S.K., 2009. Role of maternally

- derived immunity in fish. *Fish and Shellfish Immunology* 27, 89-99.
- Tafi, A.A., Meshkini, S., Tukmechi, A., 2013. Effects of Chitosan on some immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and enhance resistance against a pathogenic *Aeromonas hydrophila* following experimental infection. *Zoology Researches Journal* 26, 468-477.
- Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry* 6, 24-27.
- Wahli, T., Verlhac, V., Griling, P., Gabaudan, J., Aebischer, C., 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Aquaculture* 225, 371-386.
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiology Review* 77, 591-625
- Xie, J., Liu, B., Zhou, Q., Su, Y., He, Y., Pan, L., Ge, X., Xu, P., 2008. Effects of anthraquinone extract from rhubarb *Rheum officinale* Bail on the crowding stress response and growth of common carp *Cyprinus carpio* var. Jian. *Aquaculture* 281, 5-11.