مطالعه تاثیر آستاگزانتین طبیعی (*Haematococcus pluvialis*) بر شاخص‌های رشد، ترکیب آنالیز لاشه و کبد فیل ماهی جوان (*Huso huso* Linnaeus, 1758)

طاهره فقانی[1*]
مهدی سلطانی[2]
مهدی شمسایی[3]
عباس متین فر[4]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشجوی شیلات، تهران، ایران.
۲. دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، تهران، ایران.
۳. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، استادیار گروه شیلات، تهران، ایران.
۴. موسسه تحقیقات شیلات ایران، استادیار گروه آبزی‌پروری، کرج، ایران.

***مسئول مکاتبات:**
tahereh_faghani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۸/۳۰
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی می‌باشد.

چکیده

این مطالعه جهت تعیین اثر آستاگزانتین طبیعی از جلبک *Haematococus pluvialis* برروی شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی لاشه و کبد فیل ماهی جوان انجام شد. ماهیان تحت آزمایش با جیره‌های غذایی حاوی ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر ماده موثره آستاگزانتین از جلبک *H. pluvialis* به مدت ۸۰ روز تغذیه شدند. ۱۸۰ بچه ماهی با میانگین وزنی ۳۵ گرم در ۱۲ ونیرو با حجم متوسط ۶۰۰ لیتر در ۴ گروه و هر گروه با ۳ تکرار تقسیم بندی شدند. در پایان دوره آزمایش شاخص‌های رشد مثل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، شاخص وضعیت، بازماندگی، ترکیب شیمیایی لاشه و کبد تعیین گردید. شاخص‌های رشد مثل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، شاخص وضعیت تفاوت‌های معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیماهای آزمایشی دیده نشد در حالیکه درصد بازماندگی تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون با دیگر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح $P<۰/۰۵$ نشان داد. در ترکیب شیمیایی لاشه، درصد رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین در سطح $P<۰/۰۵$ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در ترکیب شیمیایی کبد درصد رطوبت و پروتئین در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داده است. میزان چربی در تیمار شاهد نسبت به تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری را نشان داده است. نتایج نشان می دهد آستاگزانتین طبیعی حاصل از *H. pluvialis* یک ماده آنتی اکسیدانی قوی است که با اضافه نمودن این مکمل غذایی به جیره غذایی این ماهی سبب افزایش میزان بازماندگی و کاهش میزان چربی کبد شد.

واژگان کلیدی: آستاگزانتین، *Haematococus pluvialis*، *Huso Huso*، پارامترهای رشد، ترکیب شیمیایی لاشه و کبد.

مقدمه

همزمان با رشد صنعت آبزی‌پروری مشکل بیماری‌های خسارت‌زا به عنوان یکی از موانع رشد بروز کرده، به طوری که خساراتی بیش از ده درصد تولیدات سالانه را به این صنعت وارد می‌کند. بسیاری از این بیماری‌ها به دنبال استرس‌های ناشی از پرورش به صورت متراکم و فوق متراکم اتفاق می‌افتد، به این دلیل مدیریت بیماری‌ها در صنعت آبزی‌پروری از اهمیت قابل توجهی دارا می‌باشند. در این رابطه اتخاذ شیوه‌های صحیح کنترلی، درمانی و پیشگیری می تواند خسارت ناشی از بیمای ها را به حداقل برساند (سلطانی، ۱۳۸۷).

فیل‌ماهی یکی از مهم‌ترین گونه ماهیان خاویاری است که در دریای خزر، سیاه، آزوف و بسیاری از رودخانه‌های فرعی منتهی به این دریا زیست می‌کند. این گونه به خاطر رشد سریع، ظرفیت تولیدمثل بالا در محیط اسارت، دامنه تحمل وسیع در شرایط نامطلوب، سازگاری خوب درمحیط اسارت، بازار پر رونق گوشت و خاویار و پذیرفتن جیره‌های غذایی تجاری پرورش و جلوگیری از کاهش سریع ذخایر گزینه مناسبی

برای آبزی‌پروری است (Mohseni *et al*., 2008; Ebrahimi, 2006; Vlasenko, 1994). کتوکارتنوئیدها آنتی‌اکسیدان قوی بوده که به طور شیمیایی نیز سنتز شده و به عنوان مکمل غذایی و رنگدانه در آبزی‌پروری و صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jayaraj *et al*., 2008). کارتنوئید خوراکی بدون فعالیت پیش‌ساز ویتامین A (بتا کاروتن) شامل لیکوپن، لوتئین، کانتاگزانتین و آستاگزانتین می‌باشد که برخی اوقات آن‌ها فعال‌تر از بتا کاروتن در افزایش سلول میانجی و پاسخ ایمنی در جانوران و انسان‌ها عمل می‌کنند (Chew and Park, 2009; Park *et al*., 1998). کاروتنوئیدها ممکن است نرخ رشد، بلوغ و هماوری، افزایش کیفیت تخم، افزایش مقاومت به افزایش سطح آمونیاک، سطح پایین اکسیژن و محافظت در برابر اثرات نور UV را افزایش می‌دهند (Christiansen *et al*., 1995). اثرات کاروتنوئیدها در موجودات آبزی می‌توان به افزایش رشد و بازماندگی در لاروها (Torrissen, 1984)، بهبود عملکرد در مولدین (Watanabe *et al*., 1991; Verakunpiriya *et al*., 1997)، کیفیت ناپلی (Wyban *et al*., 1997) و همچنین افزایش مقاومت به بیماری (Tachibana *et al*., 1997) اشاره کرد. آستاگزانتین ماده مغذی محلول در چربی با وزن مولکولی ۵۹۶/۸ دالتون و فرمول مولکولی $C_{40}H_{52}O$ است.

این ماده مغذی در آب غیرمحلول بوده و چربی دوست هستند. به خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی، ۱۰ برابر بیشتر از بتا کاروتن و ۵۰۰ مرتبه موثرتر از آلفا توکوفرول است، به طوری که آستاگزانتین به عنوان سوپر ویتامین E مطرح شده است (Jyonouchi *et al*., 1994) که نه تنها به عنوان منبع رنگدانه‌ای در غذای ماهی‌ها و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد، بلکه به خاطر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر از بتا کاروتن و آلفا توکوفرول پتانسیل بالایی جهت کاربردهای کلینیکی دارد (Terao, 1989; Palozza and Krinsky, 1992) که ممکن است بیماری‌ها در انسان‌ها و حیوانات را به تاخیر بیاندازد. علاوه بر نقش رنگدانه‌ای، آستاگزانتین برای فرآیند رشد ضروری به نظر می‌رسد و آن به طور متداول به عنوان مکمل غذایی در مقیاس تجاری در پرورش ماهی و سخت‌پوستان برای سلامت رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد. *H. pluvialis* بالاترین ظرفیت انباشت آستاگزانتین را دارد (Boussiba, 2000; Boussiba *et al*., 1999) که هم اکنون این جلبک در مقیاس تجاری پرورش می‌یابند (Olaizola, 2000; Olaizola and Huntley, 2003). اطلاعات کمی در خصوص اثر این جلبک بر متابولیسم ماهی و سیستم آنتی‌اکسیدانی آن وجود دارد (Tejera *et al*., 2007). مطالعه‌ای از اثرات آستاگزانتین بر روی رشد و بقاء بچه ماهیان اطلس نشان داد که بدون حضور آستاگزانتین میزان بازماندگی ۱۷ درصد و با مصرف آستاگزانتین میزان بازماندگی ۸۷ درصد بوده است و همچنین در مطالعه‌ای دیگر میزان رشد ۶ بار بیشتر از ماهیانی بود که آستاگزانتین مصرف نکرده بودند (Capelli and Cysewski, 2011). در مطالعه‌ای بر روی تاس‌ماهی روسی نشان داد تغذیه این ماهی از جلبک *H. pluvialis* به میزان قسمت در میلیون ۱۰۰ که میزان رشد و ضریب تبدیل غذایی ۳۰ درصد افزایش داشته است (Ilyasov Golovin, 2003).

سطح طبیعی استازانتین در *H. pluvialis* محتوی ۴ درصد با ازای ۱ کیلوگرم از وزن خشک بوده که حاوی استازانتین به شکل استری و به مقدار کمتر به شکل استازانتین آزاد می‌باشد (Holtin *et al*., 2009) که مهم‌ترین ایزومرهای آن 3,3'S است. حتی برخی منابع میزان استازانتین از *H. pluvialis* را ۵-۴ درصد وزن خشک آن گزارش کردند (Boussiba *et al*., 1999; Yuan and Chen, 2000). جلبک *H. pluvialis* ممکن است حاوی مقدارکمی کانتاگزانتین باشد که این رنگدانه کاروتنوئیدی، نسبت نزدیکی با استازانتین دارد.

در این تحقیق، از آستاگزانتین به عنوان یک ماده موثره از جلبک *H. pluvialis* به‌عنوان مکمل غذایی در ماهیان خاویاری انگشت قد مورد استفاده قرار گرفت و تاثیر آن بر شاخص‌های رشد و بازماندگی، ترکیب شیمیایی لاشه و کبد بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

ترکیب غذایی و آنالیز تقریبی غذا در جدول ۱ آورده شده است. جیره پایه بدون مکمل آستاگزانتین برای گروه شاهد و جیره پایه محتوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آستاگزانتین طبیعی ماده موثره از جلبک *H. pluvialis* به ازای ۱ کیلوگرم جیره غذایی خشک برای تیمارها

استفاده گردید. آستاگزانتین طبیعی از شرکت Naturose, Hawaii با درجه خلوص ۱/۵ درصد خریداری شد (۵۰ میلی‌گرم در لیتر آستاگزانتین معادل ۳/۳ گرم پودر جلبک با درجه خلوص ۱/۵ درصد ، ۱۰۰ معادل ۶/۶ گرم و ۲۰۰ معادل ۱۳/۳ گرم جلبک بوده است). ترکیب غذایی به استثناء آستاگزانتین کاملاً یکسان بوده است. مواد اولیه جیره غذایی ابتدا به آرد تبدیل و پس از توزین با افزودن مقداری آب توسط همزن به خوبی مخلوط گردید. خمیر حاصله سپس با کمک چرخ گوشت به قطر ۲ میلی‌متر به رشته‌های درازی تبدیل و پس از خشک کردن در هوای خشک به پلت‌هایی با اندازه‌های مناسب تبدیل گردید. غذای آماده شده سپس تا شروع آزمایش در کیسه‌های پلاستیکی در یخچال با دمای ۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. مبنای انتخاب این غلظت‌ها با توجه به مطالعه انجام شده توسط Ilyasov و Golovin (۲۰۰۳) بود که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تاس ماهی روسی بهترین نتیجه را نشان داده، انتخاب گردید.

جدول ۱: ترکیبات مورد استفاده در تهیه غذای پایه (وزن خشک) مورد استفاده برای فیل‌ماهیان انگشت‌قد (*Huso huso*).

ترکیبات	گرم در یک کیلوگرم وزن خشک
پودر ماهی	۶۱۰
پودر گوشت	۶۰
آرد گندم	۱۰۰
کنجاله سویا	۵۰
روغن ماهی	۴۵
روغن سویا	۴۵
لسیتین	۳۰
ملاس چغندر	۱۵
مکمل ویتامینی*	۲۵
مکمل مواد معدنی**	۱۵
نمک	۴
پروتئین خام	۴۳/۶۶
چربی خام	۲۰/۶
رطوبت	۵/۳
خاکستر	۱۲/۹

* مکمل ویتامین بر طبق نیازمندی های ماهیان سردآبی از لابراتوارهای داروسازی ارس بازار (آمل-ایران) تهیه گردید که هر ۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامین شامل:

Vitamin A, 1200000 I.U; D_3, 400000 I.U; E, 50 g; Thiamin, 2.5 g; B_2, 4 g; Niacin, 3.5 g; B_6, 2.5 g; B_{12}, 8 mg; B_9, 1 g; Calcium depantotenat, 10 g; vitamin C, 30 g; vitamin K_3, 0.8 g; Biotin, 150 mg and Inositol, 50 g.

** مکمل معدنی بر طبق نیازمندی های ماهیان سردآبی و گرم آبی از لابراتوارهای داروسازی ارس بازار (آمل-ایران) تهیه گردید که که هر ۱۰۰۰ گرم مکمل معدنی شامل:

Ferrous, 4500 mg; Zinc, 6000 mg; Selenium, 50 mg; Cobalt, 40 mg; Copper, 500 mg; Magnesium, 5000 mg; Iodine, 150 mg ; Choline chloride 150000 mg.

فیل‌ماهی جوان از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی شهرستان ساری (استان مازندران) بدون هیچ گونه نشانه‌ای از بیماری تهیه گردید. پس از دو هفته سازگاری با شرایط محیط با غذای پایه بدون استازانتین تغذیه شدند. در شروع آزمایش ۱۸۰ قطعه فیل ماهی با

متوسط وزنی ۳۵ گرم به طور کاملاً تصادفی به ۱۲ و نیروی مستطیلی با ابعاد ۲×۲ متر با حجم متوسط آبی ۶۰۰ لیتر با تراکم ۱۵ عدد در هر ونیرو به شرح ذیل توزیع گردیدند:

گروه شاهد، تیمار آزمایشی آستاگزانتین ۵۰ قسمت درمیلیون، تیمار آزمایشی آستاگزانتین ۱۰۰ قسمت درمیلیون، تیمار آزمایشی آستاگزانتین ۲۰۰ قسمت در میلیون که هر گروه با سه تکرار انجام شد.

دوره آزمایش به مدت ۸۰ روز ادامه یافت. میزان غذا بر اساس درصد وزن توده زنده و درجه حرارت به میزان ۳ درصد وزن بدن در ۴ نوبت در طی شبانه روز به صورت دستی انجام شد. البته میزان مصرف جیره برحسب درجه سیری بچه‌ماهیان صورت پذیرفت. ماهیان در و نیروها در سالنی سرپوشیده طی دوره نوری طبیعی نگهداری شدند. شاخص‌های فیزیکی و شیمایی آب نظیر درجه حرارت به صورت روزانه و اکسیژن محلول و pH هر هفته اندازه‌گیری شدند. جهت اندازه‌گیری درجه حرارت از ترمومتر، اکسیژن محلول از اکسی‌متر WTW مدل (Oxi 330i) استفاده گردید که اکسیژن محلول را برحسب میلی‌گرم در لیتر و همچنین درصد اشباعیت را نشان داده است و میزان pH آب نیز با استفاده از دستگاه pH متر WTW مدل ۳۲۵ تعیین گردید. میزان متوسط دمای هوا و آب به ترتیب ۲۹ و ۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول ۷/۹ قسمت درمیلیون، درصد اشباعیت اکسیژن ۹۳ درصد، pH حدود ۹/۰۳ و متوسط دبی آب ورودی به ونیروها ۸/۴ لیتر در ثانیه بوده است.

در طول آزمایش هر ۲۰ روز یک بار زیست‌سنجی ماهیان صورت گرفت و از هر و نیرو به طور تصادفی ۳ ماهی برداشت شده و بعد از بیهوشی با عصاره گل میخک به میزان ۲۵۰ قسمت در میلیون با ترازوی دیجیتالی دقیق وزن و با تخته زیست‌سنجی طول کل، استاندارد و چنگالی اندازه‌گیری و ثبت شد. علاوه بر آن میزان تلفات نیز در صورت بروز ثبت گردید و در آخر دوره آزمایش از کل ماهیان شمارش و زیست‌سنجی صورت پذیرفت. شاخص‌های رشد و بازماندگی بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Huang, *et al.*, 2003; Ai *et al.*, 2004):

میزان رشد (Weight gain)

$$\%WG = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100$$

W_1=وزن نهایی W_0 = وزن اولیه

میزان رشد ویژه (Specific Growth Rate)

$$SGR(\%day^{-1}) = \frac{(LnW_1 - LnW_0)}{t} \times 100$$

W_1=وزن نهایی W_0= وزن اولیه t = طول دوره آزمایش

ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Ratio)

$$FCR = \frac{dry\ \ feed\ \ intake(gr)}{wet\ \ WG(gr)}$$

نسبت بازدهی پروتئین (Protein Efficiency Ratio)

$$\%PER = \frac{wet\ \ WG(gr)}{protein\ \ intake}$$

شاخص وضعیت (Condition Factor)

$$CF = \frac{wet\ \ weight\ (gr)}{TL(cm^3)} \times 100$$

میزان بازماندگی (Survival Rate)

$$SR\ (\%) = \frac{N_1}{N_0} \times 100$$

N_1 = تعداد نهایی ماهی N_0 = تعداد اولیه ماهی

جهت انجام ترکیب شیمیایی لاشه و کبد از هر تیمار ۳ نمونه ماهی به طور کاملا تصادفی انتخاب شدند و آن‌گاه برای حصول ترکیب شیمیایی لاشه و کبد مورد آنالیز قرار گرفتند. ابتدا نمونه‌ها را بریده و با استفاده از چرخ گوشت نمونه‌ها را یک محصول کاملاً یکنواخت تبدیل شده و ترکیب شیمیایی زیر مورد آنالیز قرار گرفته‌اند:

برای اندازه‌گیری رطوبت مقدار با حرارت دادن مشخصی از نمونه به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و میزان خاکستر با قرار دادن مقدار مشخصی از نمونه به مدت ۴ ساعت کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰-۵۰۰ درجه سانتی‌گراد و میزان چربی به روش سوکسله و پروتئین به روش کجلدال بدست آمد (AOAC, 1990).

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات توسط نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۱ که اطلاعات در سطح اعتماد ۹۵ درصد ارزیابی شدند، استفاده گردید. اختلاف بین میانگین‌ها از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه صورت گرفته و در نقاطی که اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید از آزمون دانکن (Duncan) برای تعیین محل اختلاف استفاده گردید. تفاوت بین تیمارها در سطح معنی‌دار سطح ۹۵ درصد لحاظ خواهد شد. آزمایش در سه تکرار انجام و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار برای هر گروه نشان داده شد.

نتایج

فاکتورهای رشد طی۸۰ روز، بر اساس محاسبات انجام گرفته در قسمت مواد و روش کار صورت گرفت و نتایج میانگین ۳ تکرار در جدول ۲ آورده شده است. نتایج این جدول نشان داد که داده‌های فاکتورهای رشد از قبیل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، شاخص وضعیت طی آنالیز وایانس یک طرفه ANOVA تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (سطح P<۰/۰۵). در حالی که داده‌های میزان بازماندگی (SR) طی آنالیز وایانس یک طرفه ANOVA در سطح P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری را نشان داده است و این تفاوت در آزمون دانکن در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ در مقایسه با تیمار شاهد و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود.

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و میزان بازماندگی فیل ماهی انگشت قد (*Huso huso*) در تیمارهای آزمایشی.

تیمارها	تکرار	درصد افزایش وزن	ضریب تبدیل غذایی	ضریب رشد ویژه	نسبت بازدهی پروتئین	شاخص وضعیت	درصد بازماندگی
شاهد	۳	a ۴۱۸/۳±۳۷	a ۱/۱۳±۰/۰۳	a ۲/۰۵±۰/۰۸	a ۲/۰۲±۰/۰۵	a ۰/۸۲±۰/۰۴	a ۸۴/۶۱±۷/۷
۵۰	۳	a ۴۱۸/۳±۹	a ۱/۱۴±۰/۰۱	a ۲/۰۶±۰/۰۲	a ۱/۹۹±۰/۰۲	a ۰/۸۳±۰/۰۱	a ۸۷/۱۷±۸/۸
۱۰۰	۳	a ۴۳۸/۵±۱۰	a ۱/۱۲±۰/۰۱	a۲/۱±۰/۰۲	a ۲/۰۵±۰/۰۲	a ۰/۸۴±۰/۰۳	b۱۰۰
۲۰۰	۳	a ۴۲۸/۲±۲	a۱/۱۳	a۲/۰۸	a ۲/۰۴±۰/۰۲	a ۰/۸۵±۰/۰۱	b۱۰۰

a ← با a نشانگر این است که تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

a ← با b نشانگر این است که تیمارها با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند.

در پایان دوره آزمایش، از ماهیان تیمار برای بدست آوردن ترکیب شیمیایی لاشه و کبد نمونه برداری و سپس مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج میانگین ۳ تکرار آنالیز لاشه در جدول ۳ آورده شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که درصد رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین طی آنالیز وایانس یک طرفه ANOVA در سطح P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری را نشان نداده است.

جدول ۳: مقایسه میانگین فاکتورهای آنالیز لاشه فیل ماهی انگشت قد (*Huso huso*) در تیمارهای آزمایشی.

تیمار	تکرار	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)
شاهد	۳	a۱۵/۵±۰/۲۷	a۱۰/۰۶±۱/۲۸	a ۰/۸۵±۰/۰۸	a ۷۸/۱۴±۱/۶۸
۵۰	۳	a۱۵/۷۵±۰/۳۴	a ۸±۱/۷۳	a۱/۰۵±۰/۰۹	a ۷۹/۶۷±۰/۱۴
۱۰۰	۳	a ۱۵/۳۵±۰/۳	a۹/۷۲±۰/۲۴	a۰/۸۶±۰/۲	a۷۹/۵±۰/۴۸
۲۰۰	۳	a ۱۵/۳۴±۰/۲۵	a۹/۳±۰/۵۷	a۱/۰۲±۰/۰۷	a۷۸/۳±۰/۳

ترکیب شیمیایی آنالیز کبد: نتایج میانگین ۳ تکرار ترکیب شیمیایی کبد در جدول ۴ آورده شده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که درصد خاکستر طی آنالیز وایانس یک طرفه ANOVA در سطح P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری را نشان نداده است. درحالی‌که داده‌های درصد رطوبت و پروتئین در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به کنترل تفاوت معنی داری را نشان داده است. میزان چربی در کنترل نسبت به تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری را نشان داده است.

جدول ٤: مقایسه میانگین فاکتورهای ترکیب شیمیایی کبد فیل ماهی انگشت قد (*Huso huso*) در تیمارهای آزمایشی.

تیمار	تکرار	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)
شاهد	۳	a۱۰/۹±۰/۳۷	b۳۹/۸±۳/۴	a۱/۱۱±۰/۳۸	a۵۲±۱/۹
۵۰	۳	b ۱۲/۵۶±۰/۱۹	a ۲۴/۱±۴/۴	a ۰/۷۲±۰/۲۱	b ۵۷/۹±۱
۱۰۰	۳	b۱۳/۵۶±۱/۴۳	a۱۹/۰۶±۲/۲	a ۱/۰۳±۰/۰۷	b۵۹/۹۶±۰/۹
۲۰۰	۳	b ۱۳±۰/۷۸	a ۲۵/۴±۴/۳	a ۰/۸۹±۰/۰۷	b۵۶/۶۲±۲/۵۶

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از صنعت آبزی‌پروری بهینه کردن رشد و تولید گوشت ماهی با کیفیت بالا می‌باشد. در همه مزارع پرورشی شیوع بیماری موضوع مهمی محسوب می‌گردد. حساسیت ماهی به استرس‌ها و پخش سریع بیماری موجب گردید تا پرورش‌دهندگان برای داشتن عملکردهای اقتصادی پایدار تمام تلاش‌های خود را جهت حفظ ماهی در برابر بیماری‌های عفونی متمرکز کنند (Safarpour Amlashi *et al.*, 2011). افزایش رشد و مقاومت به بیماری در موجودات پرورشی دو تا مهم‌ترین عوامل می‌باشند (Li *et al.*, 2005). عوامل فراوانی نظیر آلودگی‌های محیطی، شرایط بد تغذیه، معرفی ماهیان حامل پاتوژن و اعمال مدیریت نادرست سبب بروز استرس‌های شدیدی در طی دوران پرورش می‌گردد و این مسئله با کاهش مقاومت، ایمنی ماهی و فاکتورهای رشد توام بوده و به دنبال آن سبب شیوع بیماری‌های مختلف و نهایتاً تلفات سنگینی را در ماهیان پرورشی در پی خواهد داشت.

آستاگزانتین یک نوترینت ضروری برای اکثر گونه ماهیان و سخت‌پوستان می‌باشد و یک ویتامین پایه برای اکثر گونه‌ها به شمار می‌رود که بدون این ماده سلامتی این موجودات به خطر می‌افتد (Capelli and Cysewski, 2011). بنابراین استفاده از مکمل غذایی آستاگزانتین طبیعی از جلبک *H. pluvialis* که به صورت یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند از طریق واکنش با رادیکال‌های اکسیژن تا حدود زیادی استرس‌های اکسیداتیو را خنثی می‌کند. بنابراین آستاگزانتین نقش مهمی در حفظ عملکرد نرمال سلولی و نهایتاً سلامتی خواهد داشت.

در این بررسی فاکتورهای رشد از قبیل درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه ، نسبت بازده پروتئین، شاخص وضعیت اگرچه در تیمارها در مقایسه با شاهد وضعیت بهتری داشته است اما تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. در حالی که میزان بازماندگی در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت درمیلیون در مقایسه با شاهد و تیمار ۵۰ قسمت در میلیون تفاوت معنی‌داری را نشان داده است (P<۰/۰۵) که نتایج حاصل از فاکتورهای رشد مشابه مطالعات انجام شده توسط محققان زیر می‌باشد.

مطالعه‌ای از اثرات آستاگزانتین بر روی رشد و بقاء بچه ماهیان اطلس نشان داد که بدون حضور آستاگزانتین میزان بازماندگی ۱۷ درصد و با مصرف آستاگزانتین میزان بازماندگی ۸۷ درصد بوده است. در مطالعه‌ای دیگر میزان رشد ۶ بار بیشتر از ماهیانی بود که آستاگزانتین مصرف نکرده بودند (Capelli and Cysewski, 2011). در بررسی بر روی تاس ماهی روسی نشان داد تغذیه این ماهی از جلبک *H. pluvialis* به میزان ۱۰۰ قسمت درمیلیون میزان رشد و ضریب تبدیل غذایی ۳۰ درصد افزایش داشته است (Ilyasov and Golovin, 2003). آستاگزانتین به شدت در رشد و بازماندگی بچه‌ماهیان اطلس اثرات مطلوبی داشته است و رشد ضعیف و نرخ بازماندگی پایین در گروه‌هایی

که از جیره بدون آستاگزانتین تغذیه شده بودند، دیده شد (Christiansen *et al.*, 1994). تغذیه از *H. pluvialis* رشد و بازماندگی را در قزل‌آلا افزایش داده (Christiansen *et al.*, 1995; Aquasearch Inc., 1999) و در بررسی‌های دیگر رشد و بازماندگی و پاسخ ایمنی را در این ماهی بهبود بخشید (Christiansen *et al.*, 1994; Christiansen *et al.*, 1995; Verlhac *et al.*, 1995a; Verlhac *et al.*, 1995b; Aquasearch Inc., 1999). در بررسی بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده از آستاگزانتین فاکتورهای رشد را افزایش داده، اما در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار نبوده است (Rehulka, 2000; Foss *et al.*, 1987). هچنین Torrissen (۱۹۸۴) اعلام نمود که استفاده از کاروتنوئیدها بر روی رشد و بقاء بچه‌ماهی آزاد اطلس اثر مطلوبی داشت.

نتایج ترکیب شیمیایی لاشه نشان می‌دهد که درصد رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین در تفاوت معنی‌داری را نشان نداده است (P<۰/۰۵). ترکیب شیمیایی کبد نشان داد که درصد خاکستر طی آنالیز وایانس ANOVA در سطح P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری را نشان نداده است. درحالی‌که داده‌های درصد رطوبت و چربی در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت درمیلیون نسبت به کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان داده است. میزان پروتئین در کنترل نسبت به تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت درمیلیون تفاوت معنی‌داری را نشان داده است (P>۰/۰۵). در مطالعه‌ای که توسط Rehulka (۲۰۰۰) انجام شد نشان داد که آستاگزانتین علاوه بر اهمیت آن در تولید رنگ جذاب در عضله، اثرات فیزیولوژیکی بخصوص در متابولیسم چربی و کلسیم دارد. احتمالاً دلیل اینکه میزان چربی کبد در گروه‌های تیمار پایین‌تر از شاهد بوده است به دلیل متابولیسم بهتر چربی است که در بافت‌های کبدی صورت گرفته است. بنابراین آستاگزانتین نقش مهمی در حفظ عملکرد نرمال سلولی و نهایتاً سلامتی خواهد داشت. نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً با افزایش مقاومت ماهی نسبت به تحریک‌ها و استرس‌های محیطی نهایتاً سبب افزایش میزان بازماندگی و افزایش فعالیت سوخت و سازی در کبد و در نهایت از چرب شدن بافت کبد جلوگیری می‌گردد.

سپاسگزاری

از ریاست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری و تمامی پرسنل این مرکز به خاطر همکاری و مساعدتشان در طی انجام این پروژه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

سلطانی م.، ۱۳۸۷. ایمنی شناسی ماهیان و سخت پوستان. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۲۶۴ ص.

Ai, Q.H., Mai, K.S., Zhang, C.X., X.u., W., Duan, Q.Y., Tan, B.P., et al., 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture, 242:489-500

AOAC(Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official Methods of Analyses, In: Helrich, K. (Ed.), 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc, Arlington, VA.

Aquasearch Inc., 1999. Technical report TR2102.001: Aquaxan TM HD algae meal use in aquaculture diets: Enhancing nutritional performance and pigmentation.

Boussiba, S., Bing, W., Yuan, J.P., Zarka, A. and Chen, F., 1999. Changes in pigment profile in the green alga *Haematococcus pluvialis* exposed to environmental stresses. Biotechnology Letters, 21: 601–604.

Boussiba, S., 2000. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. Journal of Plant Physiology, 108: 111–117.

Capelli, B. and Cysewski, G., 2011. The World's Best Kept Health Secret NATURAL ASTAXANTHIN. Fourth Edition.198 pp.

Chew, B.P., Park, J.S., 2009. Carotenoids Against Disease: Part C: The Immune System and Disease. Carotenoids: Nutrition and Health, Birkhauser Press, 5: 363-382.

Christiansen, R., Lie, 0., Torrissen, 0.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.

Christiansen, R., Lie, O., Torissen, O. J., 1995. Growth and survival of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed different dietary levels of astaxanthin. First-feeding fry. Aquaculture, Nutrition, 1: 189- 198.

Ebrahimi, E., 2006. Determination of the best time to transfer beluga (*Huso huso*) juveniles from natural to commercial diets. Journal of Applied Ichthyology, 22(S1): 274–277.

Foss, P., Storebakken, T., Austreng, E. and Liaaen-Jensen, S., 1987. Carotenoids in diets for salmonids: V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin and astaxanthin dipalmitate in comparison with canthaxanthin. Aquaculture, 65: 93–305.

Holtin, K., Kuehnle M., Rehbein, J., Schuler, P., Nicholson, G. and Albert, K., 2009. Determination of astaxanthin and astaxanthin esters in the microalgae *Haematococcus pluvialis* by LC-(APCI)MS and characterization of predominant carotenoid isomers by NMR spectroscopy. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 395: 1613–1622.

Huang, C. H., Chang, R. J., Huang, S. L. and Chen, W., 2003. Dietary vitamin E supplementation affects tissue lipid peroxidation of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus _ O. aureus*. Comperative Biochemistry Physiology, Part B; 134: 265-70.

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

Jayaraj, J., Devlin, R., Punja, Z., 2008. Metabolic engineering of novel ketocarotenoid production in carrot plants. Transgenic Research, 17: 489–501.

Jyonouchi, H., Sun, S. and Gross, M., 1994. Effect of carotenoids on in vitro immunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, enhances in vitro immunoglobulin production in response to a T-dependent stimulant and antigen. Nutrition and Cancer. 23: 171–183

Li, P., Delbert, M. and Gatlin III, D.M., 2005. Evaluation of the prebiotic GroBioticTMAE and brewers yeast as dietary supplements for Sub-adult hybrid Striped bass *Morone chrysops times M.saxatilis* challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. Aquaculture, 248:197–205.

Mohseni, M., Ozorio, R. O. A., Pourkazemi, M. and Bai S. C., 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body composition in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology, 24: 646–649.

Olaizola, M., 2000. Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25000-liter outdoor photobioreactors. Journal of Applied Phycology. 12:499–506

Olaizola, M. and Huntley M. E., 2003. Recent advances in commercial production of astaxanthin from microalgae. In: Fingerman M, Nagabhushanam R (eds) Biomaterials and bioprocessing. Science Publishers.

Palozza P. and Krinsky, N. I., 1992. Astaxanthin and cantaxanthin are potent antioxidants in memberane model. Arch Biochem Biophys. 297: 291-295

Park, J. S., Chew, B. P. and Wong, T.S., 1998. Dietary lutein absorption from marigold extract is rapid in Balb/c mice. J. Nutr., 128: 1802-1806.

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

Safarpour Amlashi, A., Falahatkar, B., Sattari, M. and Tolouei Gilani, M. H., 2011. Effect of dietary vitamin E on growth, muscle composition, hematological and immunological parameters of sub-yearling beluga *Huso huso* L. Fish and Shellfish Immunology, 30: 807-814.

Tachibana, K., Yagi, M., Hara, K., Mishima, T. and Tsuchimoto, M., 1997. Effects of feeding β-carotene supplemented rotifers on survival and lymphocyte proliferation reaction of fish larvae of Japanese parrotfish (*Oplegnathus fasciatus*) and Spotted parrotfish (*Oplegnathus punctatus*): preliminary trials. Hydrobiologia, 358: 313-6.

Tejera, N., Cejas, J.R., Rodrı´guez, C., Bjerkeng, B., Jerez, S., Bolan˜os, A. and Lorenzo, A., 2007. Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. Aquaculture, 270: 218–230.

Terao, J., 1989. Antioxidant activity of carotene related carotenoids in solution. Lipids, 24: 659-661.

Torrissen, O. J., 1984. Pigmentation of salmonids: effects of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate. Aquaculture, 43:185-93.

Verlhac, V., Gabaudan, J. and Schierle, J., 1995a. In-vitro anti-oxidant properties of astaxanthin on rainbow trout immune cells. In: Developmental and comparative immunology. Clem, L.W. Warr G.W. (Eds.). The VIth ISDC congress. Abstracts. P889. Presented at the Nordic Symposium on Fish Immunology. May 1995, Reykiavik, Iceland.

Verlhac, V., Gabaudan, J. and Schierle, J., 1995b. Influence of astaxanthin on non-specific immune response of rainbow trout. Presented at the Nordic Symposium on Fish Immunology. May 1995, Reykiavik, Iceland. Clem, L.W. War-r G.W. (Eds.). The VIth ISDC congress. Abstracts. Presented at the Nordic Symposium on Fish Immunology. May 1995, Reykiavik, Iceland.

Vlasenko, A. D., 1994. Sturgeon status in the Caspian Sea. The International Conference on Sturgeon Biodiversity and Conservation. New York, July 28-30

Watanabe, T., Lee, M. J., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S. and Takeuchi, T., 1991. Effective component of cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream Pagrus major eggs. Nippon Suisan Gakkaishi, 57: 681-94.

Wyban, J., Martinez, G., Sweeney, J., 1997. Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplii quality. World Aquaculture, 28: 59-62.

Yuan, J. P. and Chen, F., 2000. Purification of *trans*-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the alga *Haematococcus pluvialis*. Food Chemistry, 68: 443–448.