



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره سوم، شماره سوم، پاییز ۹۴

<http://jair.gonbad.ac.ir>

تأثیر جیره غذایی حاوی کانتازانتین استخراج شده از باکتری

Dietzia natronolimnaea-HS1 در بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی گرین ترور
Andinoacara rivulatus (Günther, 1860)

علیرضا نیسی^۱، غلامرضا رفیعی^{۲*}، محمدعلی نعمت‌اللهی^۳، سیدهادی رضوی^۴

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۲ استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۳ دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۴ استاد گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ ارسال: ۹۴/۱۰/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۸

چکیده

اثر کانتازانتین بر شاخص‌های رشد و ایمنی غیر اختصاصی ماهی گرین ترور *A. rivulatus* طی یک دوره تغذیه‌ای ۸ هفته‌ای مورد بررسی قرار گرفت. سه جیره غذایی حاوی غذای مصرفی (۱)، غذای حاوی روغن ماهی (۲) و غذای حاوی روغن ماهی به همراه کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* (۳) مورد آزمایش قرار گرفت. تعداد ۶۰ قطعه بچه ماهی گرین ترور با میانگین وزنی 0.388 ± 0.021 گرم در هر مخزن ۱۲۰ لیتری در هر واحد آزمایشی وارد شده که این تعداد، روزانه دو بار تا حد سیری مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای دوره پرورشی از هر تیمار چهار قطعه بچه ماهی صید و فاکتورهای ایمنی سرم ماهی (لیزوزیم، فعالیت کمپلمان و ایمونوگلوبولین کل) مورد بررسی قرار گرفت. وزن نهایی (۲/۷۸)، ضریب رشد ویژه (۳/۳۳) و ضریب تبدیل غذایی (۱/۲۸) در گروه (۳) بطور معنی‌داری نسبت به گروه‌های دیگر بهبود یافت ($p < 0.05$). میزان شاخص‌های ایمنی سرم (لیزوزیم (۳/۳۵)، فعالیت کمپلمان (۱/۸) و ایمونوگلوبولین (۳/۸۷)) نشان داد که گروه (۳) نسبت به سایر گروه‌ها دارای سطح بالاتری بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد و سیستم ایمنی غیر اختصاصی در ماهی گرین ترور دارد و این کارتنوئید را می‌توان در پرورش این گونه ماهی زینتی، به‌عنوان مکمل غذایی به کار برد.

واژه‌های کلیدی: *D. natronolimnaea*، *A. rivulatus*، کانتازانتین، شاخص‌های رشد، شاخص‌های ایمنی‌شناسی

*مسئول مکاتبه: ghrafiee@ut.ac.ir

مقدمه

صنعت ماهی زینتی به علت ارزش اقتصادی زیاد، دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Ghosh *et al.*, 2008). ماهی گرین ترور *A. rivulatus*، یکی از ماهیان زینتی از خانواده Cichlidae نشأت گرفته از اکوادور و پرو است که نام علمی قدیمی آن *Aequidens rivulatus* بوده است (Neissi *et al.*, 2013; Schaafsma and Groothuis, 2012; Stawikowski and Werner, 1998). کاروتنوئیدها دارای رنگدانه‌های زرد تا قرمز هستند که به‌طور گسترده‌ای در طبیعت وجود دارند (Khodaiya *et al.*, 2008). بیش از ۷۰۰ کاروتنوئید مختلف توسط حیوانات، گیاهان و گونه‌های میکروبی سنتز می‌شود (Johnson and Schroeder, 1996). رنگدانه‌های کاروتنوئید دارای اثر مثبت بر رشد، ایمنی و پاسخ استرس در حیوانات از جمله ماهیان می‌باشند (Estermann, 1994; Latscha, 1991). در میان آنها، کانتازانتین (β -diketo-4,4'- $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_6$) یک کتوکاروتینوئید است که مسئول رنگ نارنجی-قرمز در زرده تخم مرغ، گوشت و بسیاری از حیوانات دریایی می‌باشد (Nelis and De Leenheer, 1989). کانتازانتین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، عوامل ضد سرطان، ضد تومور و ضد درماتوز و محرک پاسخ ایمنی شناخته شده است (Bendich and Shapiro, 1986; Chew *et al.*, 1999; Gordon *et al.*, 1982; Khodaiyan *et al.*, 2008). با توجه به گرانی کاروتنوئیدها همواره تلاش‌های متعددی برای پیدا کردن منابع طبیعی ارزان قیمت جایگزین کاروتنوئیدها شده است (Sanderson and Jolly, 1994). باکتری‌های جنس *Dietzia* از محیط‌های مختلفی مانند دریا، خاک، گیاهان جدا شده‌اند. باکتری HS-1 *D. natronolimnaea* متعلق به رده Actinobacteria، تیره Actinomycetales، خانواده Dietziaceae و جنس *Dietzia* می‌باشد. این باکتری یک کوکوس گرم مثبت کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی با رنگ نارنجی است (Nasrabadi and Razavi, 2010). این باکتری تولید کانتازانتین می‌کند (Nasrabadi and Razavi, 2010; Khodaiyan *et al.*, 2007). با توجه به اینکه کانتازانتین بیش از ۹۰ درصد کل کاروتنوئیدهای باکتری *D. natronolimnaea* را تشکیل می‌دهد و به‌عنوان منبع بی‌نظیری برای تولید این پیگمان با خلوص بالا به‌عنوان تولیدی این سوپه بوده معرفی شده است (Nasrabadi and Razavi, 2010; Khodaiyan *et al.*, 2007). در این تحقیق از این باکتری برای استخراج کانتازانتین استفاده شد.

برای بهبود شرایط تکثیر و پرورش ماهیان زینتی تحقیقات زیادی روی چگونگی تغذیه، جیره غذایی، کیفیت آب، بهبود شرایط بهداشتی و استرس انجام شده است (Ghosh *et al.*, 2008). یکی از اهداف مهم در آبی‌پروری ارائه محصول با کم‌ترین هزینه و بیشترین بازده است، بنابراین در جهت ارائه راهکارهای مناسب برای حصول این مهم توجه به سمت منابع مناسب جلب شده است (Neissi *et al.*, 2013). لذا هدف اصلی در این پژوهش، بررسی امکان کاربرد کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* در بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی بچه‌ماهی گرین ترور *A. rivulatus* بود.

مواد و روش‌ها

تولید رنگدانه کانتازانتینی از باکتری: در این تحقیق از باکتری *D. natronolimnaea* موجود در آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای زیستی دانشگاه تهران جهت تولید رنگدانه کانتازانتین استفاده شد. جهت تولید رنگدانه، کلونی‌های این باکتری به ارلن‌های حاوی محیط کشت مایع متشکل از ملاس چغندر قند و در عصاره مخمر منتقل و به مدت هفت روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، انکوباتور چرخشی (مدل S ۱۵۰ شرکت Staffordshire ، ساخت انگلستان) نگهداری شد. در راستای استخراج رنگدانه‌های تولید شده توده زیستی، از محلول رقیق نمکی و اتانول استفاده گردید و در نهایت به منظور حذف اتانول و تهیه کاروتنوئید خالص از تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء (مدل ۴۰۱۰ ساخت انگلستان شرکت Schwabach) استفاده شد (Nasrabadi and Razavi, 2010). از کارتنوئید به‌دست آمده به‌صورت پودری در جیره ماهیان گرین ترور استفاده شد.

تهیه جیره غذایی: ابتدا آنالیز اجزاء تشکیل دهنده جیره‌های غذایی انجام شد (AOAC, 1990)، سپس اجزاء تشکیل دهنده جیره‌های غذایی با سطح پروتئین ۴۱٪ توسط برنامه جیره نویسی لیندو فرموله و تنظیم شد. در ابتدا مواد اولیه تشکیل دهنده جیره‌های غذایی طبق فرمول مربوط به هر جیره وزن کشی و سپس در آسیاب به‌خوبی مخلوط شدند و مخلوط حاصل با آب به‌صورت خمیری در آمد. خمیر به‌دست آمده با چرخ گوشت به‌صورت رشته‌هایی به قطر ۲/۵-۲ میلی‌متر در آمد. برای به‌دست آوردن جیره‌های غذایی با اندازه مناسب جیره‌های غذایی پس از خشک شدن به ذرات کوچک‌تری خرد شدند (Rawling et al., 2009). جیره‌های غذایی با توجه به تیمارهای آزمایشی شماره‌گذاری و درون پاکت پلاستیکی به یخچال منتقل شدند. اجزاء جیره غذایی استفاده شده در این آزمایش و تجزیه تقریبی آن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: اجزای تشکیل دهنده جیره غذایی و ترکیب نهایی آن (۱- جیره غذایی شاهد ۲- جیره غذایی حاوی روغن ماهی ۳- جیره غذایی حاوی کارتنوئید)

۱	۲	۳	اجزاء ^۱
۴۰	۴۰	۴۰	پودر ماهی
۱۵	۱۵	۱۵	آرد گندم
۱۵/۲۵	۱۵/۲۵	۱۵/۲۵	سیوس گندم
۱۷	۱۷	۱۷	کنجاله سویا
۷/۹	۷/۹	۷/۹	روغن گیاهی
۰	۲	۲	روغن ماهی (به‌عنوان پوشش مناسب برای افزودن کانتازانتین به جیره)
۱	۱	۱	مواد معدنی ^۲

ادامه جدول ۱:

۱	۱	۱	ویتامین ^۳
۰/۵	۰/۵	۰/۵	ضد قارچ ^۴
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	آنتی‌اکسیدانت ^۵
۲/۱	۰/۱	۰	آلفا سلولز ^۶
۰	۰	۰/۱	کارتونئید بدست آمده از باکتری ^۷ کل
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	آنالیز بر اساس ماده خشک
۹۳/۲۰	۹۴/۱۷	۹۴/۲۱	ماده خشک
۴۱/۲۹	۴۱/۳۵	۴۱/۵۴	پروتئین خام
۱۰/۶۷	۱۱/۶۵	۱۱/۶۴	چربی خام
۱۰/۴۹	۱۰/۴۱	۱۰/۰۶	خاکستر

^۱ بر حسب درصد جیره

^۲ Contained (g kg⁻¹ mix): Contained (g kg⁻¹ mix): MgSO₄.2H₂O, 127.5; KCl, 50.0; NaCl, 60.0; CaHPO₄. 2H₂O, 727.8; FeSO₄. 7H₂O, 25.0; ZnSO₄.7H₂O, 5.5 CuSO₄. 5H₂O, 0.785; MnSO₄. 4H₂O, 2.54; CoSO₄.4H₂O, 0.478; Ca(IO₃)₂. 6H₂O, 0.295; CrCl₃. 6H₂O, 0.128.

^۳ Vitamin premix contained the following vitamins (each kg⁻¹ diet): vitamin A, 10 000 IU; vitamin D₃ 2000 IU; vitamin E, 100 mg; vitamin K, 20 mg; vitamin B₁, 400 mg; vitamin B₂, 40 mg. vitamin B₆ 20 mg; vitamin B₁₂, 0.04 mg; biotin, 0.2 mg; choline chloride, 1200 mg; folic acid, 10 mg; inositol, 200 mg; niacin, 200 mg; pantothenic calcium, 100mg.

^۴ ToxiBan antifungal (Vet-A-Mix, Shenan-doah, IA).

^۵ Butylated hydroxytoluene (BHT) (Merck, Germany).

^۶ Sigma, St. Louis, MO, USA.

^۷ *D.natronolimnaea*

طرح آزمایش

۵۴۰ قطعه بچه ماهی گرین ترور تهیه و به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال داده شد. ماهیان در قالب یک طرح کاملاً تصادفی به مدت ۸ هفته تحت ۳ تیمار غذایی شامل غذای مصرفی (۱)، غذای مصرفی حاوی روغن ماهی (۲) و غذای حاوی کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* (۳) مورد تغذیه قرار گرفتند. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. میزان غذادهی ۲ بار در روز و تا حد سیری بود. در شروع آزمایش ۶۰ قطعه بچه‌ماهی دارای میانگین وزن 0.21 ± 0.38 گرم که از نظر ظاهری فاقد هر گونه عامل بیماری بود به هر واحد آزمایشی اضافه شد. در این تحقیق به علت اینکه کانتازانتین با استفاده از روغن ماهی روی جیره اسپری می‌شد به عنوان احتمال اثر جانبی روغن ماهی یک گروه نیز روغن ماهی به صورت جداگانه استفاده گردید.

هر واحد آزمایشی از یک تانک فایبرگلاس ۱۲۰ لیتری با ۶۰ لیتر آب تشکیل شده بود که توسط یک هواده مرکزی به صورت شبانه‌روزی هوادهی می‌شد. دمای آب در هر واحد آزمایشی توسط یک

بخاری برقی ۱۰۰ واتی آبی ترموستات‌دار در کل دوره آزمایشی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته شده بود. ۲۵ درصد آب تانک‌ها به‌صورت ۱ روز در میان تعویض می‌شد. **اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی:** در پایان ۸ هفته دوره آزمایش و بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، تعداد ۴ عدد ماهی از هر یک از حوضچه‌ها به‌صورت تصادفی برداشته شد تا شاخص‌های ایمنی‌شناسی به‌صورت جداگانه مورد سنجش قرار گیرد. بدین منظور ابتدا ماهی‌ها با استفاده از پودر گل میخک (۲۰۰ ppm) بیهوش و کاملاً خشک شدند. خونگیری به روش قطع ساقه دمی و انتقال به ونوجکت انجام گرفت. پس از لخته شدن، به منظور جداسازی سرم نمونه‌های خون با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جداسازی شده با این روش تهیه و تا زمان سنجش پارامترهای مورد نظر، در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

با استفاده از روش تعیین پروتئین قبل و پس از رسوب دادن مولکول ایمونوگلوبولین با به‌کارگیری یک محلول ۱۲ درصد پلی اتیلن گلیکول (Siwicki and Anderson, 1993) و در نهایت، تفاوت بین مقدار پروتئین به عنوان میزان IG در نظر گرفته شد (Siwicki and Anderson, 1993). فعالیت لیزوزیم بر مبنای عملکرد باکتری گرم مثبت حساس به لیزوزیم *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma, USA) تعیین شد. به‌طور خلاصه، در حضور رقت‌های استاندارد لیزوزیم سفیده تخم مرغ (Sigma, USA) مبنای یک دوم به‌عنوان (Sigma, USA) اندازه‌گیری شد (Kim and Austin, 2006) و فعالیت کمپلمان با استفاده از سلول‌های گلوبول قرمز خون خرگوش مورد سنجش قرار گرفت (Yano, 1992).

وزن و بازماندگی: در پایان آزمایش زیست‌سنجی نهایی صورت گرفته و درصد افزایش وزن (WG%)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) (Misra et al., 2006) درصد بقاء (Li et al., 2005)، طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

$$\begin{aligned} 100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن نهایی}) - 100 &= \text{درصد افزایش وزن} \\ 100 \times (\text{مدت زمان آزمایش} / (\text{لگاریتم وزن اولیه} - \text{لگاریتم وزن نهایی})) &= \text{نرخ رشد ویژه} \\ (\text{افزایش وزن کسب شده (گرم)} / \text{کل غذای خورده شده (گرم)}) &= \text{ضریب تبدیل غذایی} \\ 100 \times (\text{تعداد ماهیان در شروع آزمایش} / \text{تعداد ماهیان زنده در آخر آزمایش}) &= \text{درصد بقاء} \end{aligned}$$

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد و مقایسه میانگین بین تیمارها به کمک آزمون دانکن انجام شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد انجام

گردید. تجزیه و تحلیل آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS 17 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

شاخص‌های رشد: همان‌گونه که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود بیشترین میزان معنی‌دار ($p < 0.05$) وزن نهایی (۲/۸۷ گرم) و افزایش وزن بدن (۷۳۸/۹۲ درصد) مربوط به تیمار تغذیه شده با جیره حاوی روغن ماهی و کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* می‌باشد. این در حالی بود که کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۱/۲۸) مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی روغن ماهی و مکمل غذایی حاوی کانتازانتین بود. این میزان تفاوت آماری معنی‌داری با جیره شاهد (۱/۷۴) و جیره حاوی فقط روغن ماهی (۱/۶۹) داشت ($p < 0.05$).

جدول ۲: مقایسه (میانگین $\pm$ انحراف معیار) شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذایی و میزان بقاء در ماهیان گرین ترور (*A. rivulatus*) تغذیه شده با جیره های آزمایشی در روزهای مختلف دوره پرورش

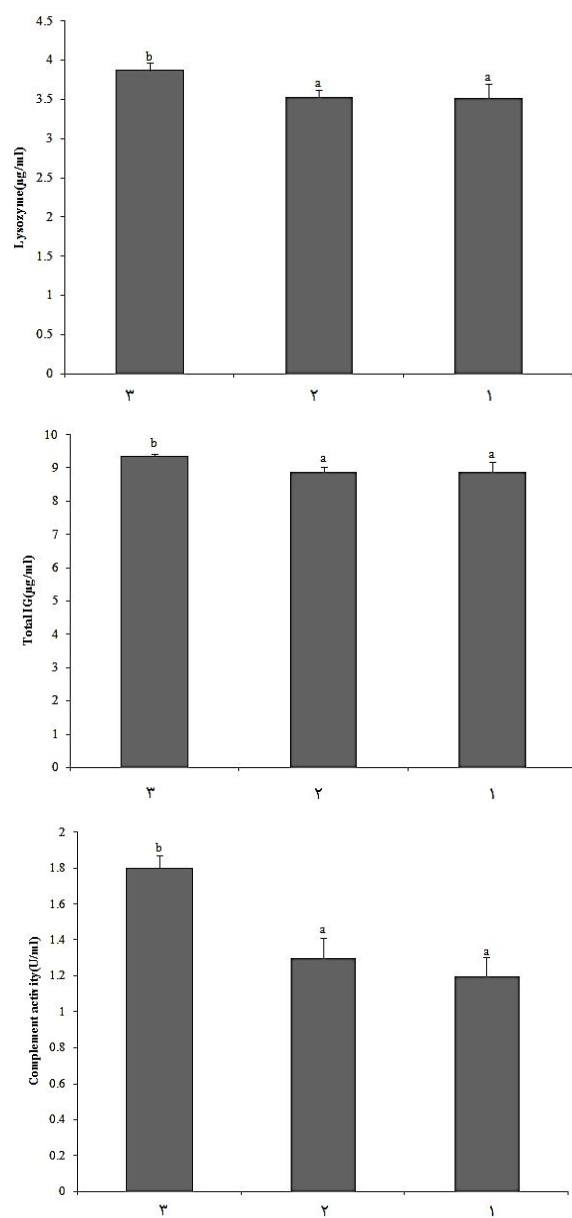
فاکتورها	۱	۲	۳
وزن ابتدایی (گرم)	0.38 ± 0.17^a	0.37 ± 0.43^a	0.38 ± 0.15^a
وزن انتهایی (گرم)	2.37 ± 0.2^a	2.38 ± 0.9^a	2.87 ± 0.3^b
افزایش وزن (درصد)	610.83 ± 5.7^a	614.48 ± 13.38^a	738.92 ± 4.76^b
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	3.01 ± 0.15^a	3.02 ± 0.6^a	3.33 ± 0.1^b
ضریب تبدیل غذایی	1.74 ± 0.35^b	1.71 ± 0.5^b	1.28 ± 0.3^a
بقاء (درصد)	99.33 ± 1.15^a	98.66 ± 2.30^a	100 ± 0.0^a

* ردیف‌های با حداقل یک حرف غیر مشترک در سطح آماری ۵ درصد تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر دارند.

شاخص‌های ایمنی

میزان شاخص‌های ایمنی سرم (لیزوزیم (۳/۳۵)، فعالیت کمپلمان (۱/۸) و ایمونوگلوبولین (۳/۸۷) نشان داد که گروه DN نسبت به سایر گروه‌ها دارای سطح بالاتری بود ($p < 0.05$) (شکل ۱). این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری در میزان لیزوزیم بین گروه های C و O وجود نداشت (شکل ۱).

تأثیر جیره غذایی حاوی کانتازانتین استخراج شده از باکتری...



شکل ۱: مقایسه میانگین لیزوزیم، ایمنوگلوبولین و فعالیت کمپلمان در ماهی گرین ترور (*A. rivulatus*) تیمار شده با جیره‌های غذایی شاهد (۱)، حاوی روغن (۲) و حاوی کانتازانتین (۳)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعاتی راجع به نقش کاروتنوئیدها بر شاخص‌های رشدی آبزیان نشان می‌دهد که این مکمل‌های غذایی نقش مثبتی در سوخت و ساز بدن اثرات مفید آن بر رشد حیوانات آبی دارد. در مطالعه حاضر رشد و بقای ماهی گرین ترور تحت تأثیر مثبت رژیم غذایی حاوی مکمل غذایی کانتازانتین استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* قرار گرفت (جدول ۲). کاروتنوئیدها نقش مثبتی در سوخت و ساز و اثرات سودمندی بر رشد بدن حیوانات آبی دارند (Segner et al., 1989). کاربرد کاروتنوئیدها به‌عنوان یک منبع رنگدانه در رژیم غذایی، می‌تواند بهره‌وری مواد مغذی را افزایش دهد که این در نهایت در بهبود رشد حیوانات آبی تأثیر مثبت دارد (Amar et al., 2001). با این حال، اثرات مختلف کاروتنوئیدها در رژیم غذایی بر رشد و بقای موجودات آبی بحث برانگیز بوده است (Niu et al., 2012). بقای بیشتر در جیره غذایی حاوی آستازانتین میگوی *P. japonicus* در مقایسه با جیره غذایی کنترل گزارش شده است (Chien and Jeng, 1992). در ماهی *Rhodeus uyekii* تغذیه شده با رژیم غذایی مکمل شده با کاروتنوئید رشد بالاتری را نسبت به جیره غذایی کنترل نشان داد (Kim and Jo, 1999). این اثر مثبت احتمالاً به دلیل افزایش سطح کاروتنوئیدها موجود در بافت می‌باشد (Niu et al., 2012). گزارش‌ها نشان می‌دهد که کاروتنوئیدهای رژیم غذایی در بدن آبزیان به شکل فرم ترکیبی با پروتئین تبدیل شد و به‌عنوان کاروتنوپروتئین وجود دارد. این ترکیبات عمدتاً مونو استرها و دی استرهای اسیدهای چرب با زنجیره بلند استری را تشکیل می‌دهند (Yamada et al., 1990). علاوه بر این، در تحقیقی استفاده از آستازانتین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سطح چربی سرم خون را افزایش داد (Barbosa et al., 1999). مکانیسم تأثیر مثبت رنگدانه‌ها بر شاخص‌های رشدی وجود ندارد. ولی با این حال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه‌های کاروتنوئید در بسیاری از خصوصیات فیزیولوژیکی آبزیان از جمله رشد تأثیر دارد (Amar et al., 2001).

پارامترهای خون‌شناسی به‌عنوان ابزار مناسب برای بررسی سلامت و پاسخ‌های فیزیولوژیکی ماهی به استرس‌های محیطی سلامت تشخیص داده می‌شوند (Jawad et al., 2004). در این تحقیق مشخص شد که استفاده از جیره غذایی حاوی کانتازانتین تأثیر مثبتی روی شاخص‌های ایمنی سرم ماهی گرین ترور داشت. در مطالعه‌ای روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان لیزوزیم و فعالیت کمپلمان در ماهی تغذیه شده با کاروتنوئیدها شامل آستازانتین و کانتازانتین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Amar et al., 2001). فعالیت فاگوسیتوز نیز در جیره غنی شده با آستاکسانتین و بتا کاروتن در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. با حضور کاروتنوئیدها سیستم دفاع غیر اختصاصی تأثیر بیشتری روی اثر بخشی لنفوسیت‌های خون به نمایش می‌گذارد. فعالیت کمپلمان قسمتی از پاسخ ایمنی غیر اختصاصی است که با مکانیسم‌های آبخاری روی میکروارگانیسم‌ها روی تجزیه آنها نقش مهمی دارد. اندازه‌گیری میزان

لیزوزیم و فعالیت کمپلمان از جمله شاخص‌های خونی است که برای نشان دادن عملکرد کارتنوئیدها در نظر گرفته می‌شود (Supamattaya *et al.*, 2005). با استفاده از H-کاروتن در جیره میگو منجر به افزایش مقاومت در برابر سندرم ویروسی لکه سفید (WSSV) شد (Amar *et al.*, 2001). گزارش شد که استفاده از کارتنوئید آستازانتین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان شاخص‌های ایمنی شناسی به‌طور مثبتی افزایش یافت (Thompson *et al.*, 1995)، که این مسأله با نتایج این تحقیق هم‌راستا می‌باشد.

با مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش و سایر پژوهش‌ها نتیجه‌گیری می‌شود که استفاده از مکمل غذایی استخراج شده از باکتری *D. natronolimnaea* می‌تواند منجر به بهبود رشد و تأثیر مثبت بر شاخص‌های ایمنی‌شناسی خونی در ماهی *A. rivulatus* (green terror) شود و استفاده از این باکتری در پرورش این گونه ماهی زینتی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

در پایان از کلیه کسانی که در به ثمر رسیدن این مقاله به ما یاری رساندند از جمله مسئولین آزمایشگاه شیلات، مسئول آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده صنایع غذایی دانشگاه تهران، اساتید محترم و دانشجویان گرامی تشکر می‌گردد. همچنین از همکاری دوستان گرامی آقای سید حسین حسینی فر، آقای مسعود جعفری، آقای غفار ابراهیمی که با ما در هر چه بهتر انجام شدن این پژوهش همکاری کردند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

- Amar E., Kiron V., Satoh S., Watanabe T. 2001. Influence of various dietary synthetic carotenoids on biodefence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture research*, 32(s1): 162-173.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analyses, 15th edition: Inc., Arlington, VA.
- Barbosa M., Morais R., Choubert G. 1999. Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 176(3): 331-341.
- Bendich A., Shapiro S.S. 1986. Effect of beta-carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat. *The Journal of Nutrition*, 116(11): 2254-2262.
- Chew B.P., Park J.S., Wong M.W., Wong T.S. 1999. A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo. *Anticancer Research*, 19: 1849-1853.
- Chien Y.H., Jeng S.C. 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. *Aquaculture*, 102(4): 333-346.

- Estermann R. 1994. Biological functions of carotenoids. *Aquaculture*, 124(1): 219.
- Ghosh S., Sinha A., Sahu C. 2008. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquaculture nutrition*, 14: 289-299.
- Gordon H.T., Bauernfeind J.C., Furia T.E. 1982. Carotenoids as food colorants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18(1): 59-97.
- Jawad L., Al-Mukhtar M., Ahmed H. 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenuulosa ilisha* (Family Clupeidae). *Animal Biodiversity and Conservation*, 27(2): 47-52.
- Johnson E.A., Schroeder W.A. 1996. Microbial carotenoids. in *Downstream processing biosurfactants carotenoids*, *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*, 53: 119-178.
- Khodaiyan F., Razavi S.H., Emam-Djomeh Z., Mousavi S., Hejazi M.A. 2007. Effect of culture conditions on canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(2): 195-201.
- Khodaiyan F., Razavi S.H., Mousavi S.M. 2008. Optimization of canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 from cheese whey using statistical experimental methods. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3): 415-422.
- Kim D.H., Austin B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish and Shellfish Immunology*, 21(5): 513-524.
- Kim Y., Jo J.Y. 1999. Effects of dietary carotenoids on the nuptial color of the bitterling (*Rhodeus uyekii*). *Journal-Korean Fisheries Society*, 32: 276-279.
- Latscha T. 1991. Carotenoids in aquatic animal nutrition. *Proceeding of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*, Bangkok, Thailand.
- Li P., Burr G.S., Goff J., Whiteman K.W., Davis K.B., Vega R.R., Gatlin D.M. 2005. A preliminary study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singularly or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture Research*, 36: 1120-1127.
- Misra C.K., Das B.K., Mukherjee S.C., Pattnaik P. 2006. Effect of long term administration of dietary [beta]-glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 255: 82-94.
- Nasrabadi M.R.N., Razavi S.H. 2010. Use of response surface methodology in a fed-batch process for optimization of tricarboxylic acid cycle intermediates to achieve high levels of canthaxanthin from *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(4): 361-368.
- Neissi A., Rafiee G., Nematollahi M., Safari, O. 2013. The effect of *Pediococcus acidilactici* bacteria used as probiotic supplement on the growth and non-specific immune responses of green terror, *Aequidens rivulatus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1976-1980.

- Nelis H., De Leenheer A. 1989. Reinvestigation of *Brevibacterium* sp. strain KY-4313 as a source of canthaxanthin. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(10): 2505-2510.
- Niu J., Li C.H., Liu Y.J., Tian L.X., Chen X., Huang Z., Lin H.Z. 2012. Dietary values of astaxanthin and canthaxanthin in *Penaeus monodon* in the presence and absence of cholesterol supplementation: effect on growth, nutrient digestibility and tissue carotenoid composition. *British Journal of Nutrition*, 108(01): 80-91.
- 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 postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6): 795-802.
- Rawling M., Merrifield D.L., Davies S.J. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture*, 294(1-2): 118-122.
- Sanderson G.W., Jolly S.O. 1994. The value of Phaffia yeast as a feed ingredient for salmonid fish. *Aquaculture*, 124(1): 193-200.
- Schaafsma S.M., Groothuis T.G.G. 2012. Sex-specific effects of maternal testosterone on lateralization in a cichlid fish. *Animal Behaviour*, 83: 437-443.
- Segner H., Arend P., Von Poeppinghausen K., Schmidt H. 1989. The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture*, 79(1): 381-390.
- Siwicki A., Anderson D. 1993. An easy spectrophotometric assay for determining total protein and immunoglobulin levels in fish sera: correlation to fish health. *Techniques in Fish Immunology*, 3: 23-30.
- Stawikowski R., Werner U. 1998. Die Buntbarsche Amerikas. Vol. 1. Stuttgart: E. Ulmer. 356 P.
- Supamattaya K., Kiriratnikom S., Boonyaratpalin M., Borowitzka L. 2005. Effect of a Dunaliella extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 248(1): 207-216.
- Thompson I., Choubert G., Houlihan D., Secombes C. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. *Aquaculture*, 133(2): 91-102.
- Yamada S., Tanaka Y., Sameshima M., Ito Y. 1990. Pigmentation of prawn (*Penaeus japonicus*) with carotenoids: I. Effect of dietary astaxanthin, β -carotene and canthaxanthin on pigmentation. *Aquaculture*, 87(3): 323-330.
- Yano T. 1992. Assays of hemolytic complement activity. *Techniques in Fish Immunology*, 2: 131-141.

