



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره پنجم، شماره دوم، تابستان ۹۶

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

تأثیر سطوح مختلف آستاگزانتین سنتتیک و جلبکی (*Haematococcus pluvialis*) بر سلامت مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

مرتضی‌علیزاده^{۱*}، محمدحسین خانبانی^۲، امید کریمی^۳، راضیه انصاری^۴، احمد رفیعی‌پور^۵

^۱دانشیار مرکز تحقیقات ملی آبزیان آب‌های شور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات

آموزش و ترویج کشاورزی، بافق، ایران

^۲دانش‌آموخته دکتری شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان

^۳آستادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران

^۴دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، اهواز، ایران

^۵آستادیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۳/۳۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۶

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور ارزیابی برخی از شاخص‌های بهداشت و سلامت مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) از طریق افزایش کیفیت خوراک مولدین با افزودن مقدار موثر و مطلوب آستاگزانتین (با منبع سنتتیک و جلبکی) انجام گرفت. برای این منظور هفت تیمار شامل شش تیمار سطوح و منابع مختلف آستاگزانتین (سه تیمار آستاگزانتین جلبکی در سه سطح ۲/۶۷، ۵/۳۳ و ۸ گرم بر کیلوگرم غذا و سه تیمار آستاگزانتین سنتتیک در سه سطح ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) و یک تیمار شاهد (بدون آستاگزانتین) به مدت ۱۲۰ روز قبل از شروع تخم‌ریزی فصلی روی مولدین ۳-۴ ساله قزل‌آلای رنگین‌کمان از طریق افزودن آنها به جیره غذایی، در نظر گرفته شد. در بررسی فاکتورهای خونی مرتبط با سلامتی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مورد مطالعه، بین آنها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. مولدینی که با آستاگزانتین جلبکی تغذیه شده بودند مقادیر کمتری از قند خون را به خود اختصاص دادند. تغییرات آلبومین نشان داد که در هر دو منبع با افزایش غلظت آستاگزانتین ابتدا میزان آلبومین افزایش و سپس مقدار آن کاهش یافته است. تغییر مقدار گلوبولین سرم در تیمارهای حاوی آستاگزانتین سنتتیک روند منظمی نداشت درحالی‌که این تغییر در تیمارهای حاوی آستاگزانتین جلبکی منظم بود. به‌طورکلی نتایج نشان داد که کاربرد

*نویسنده مسئول: m_alizadeh47@yahoo.com

آستاگزانتین باعث بهبود شاخص‌های سلامتی مولدین مورد مطالعه در قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. همچنین آستاگزانتین جلبکی به دلیل دارا بودن سایر مکمل‌های غذایی نسبت به آستاگزانتین سنتتیک از برتری فوق‌العاده‌ای در حفظ سلامتی مولدین برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، آستاگزانتین، جلبک هماتوکوکوس، شاخص‌های بیوشیمیایی

مقدمه

استفاده از رنگدانه‌ها به صورت طبیعی و مصنوعی در صنعت آبزی‌پروری از سال‌ها پیش در جهان شروع شده و اثرات آن بر فاکتورهای مختلف زیستی کم و بیش مورد مطالعه قرار گرفته است. امروزه سعی شده که رنگدانه‌ها به صورت اختصاصی، با منشاء طبیعی و سنتتیک جهت مصرف در تغذیه آبزیان پرورشی از جمله آزاد ماهیان در سطح گسترده تولید و عرضه شوند (Pham *et al.*, 2014). کاروتنوئیدها رنگدانه‌های محلول در چربی هستند که رنگ آن‌ها بین زرد تا قرمز است. این ترکیبات در تمام رده‌های گیاهی و جانوری گسترش یافته و از دهه ۱۹۵۰ توجه دانشمندان را به خود جلب نموده‌اند. ماهی‌ها بر خلاف سخت‌پوستان قادر به ساخت این رنگدانه‌ها از کاروتنوئیدهای ساده‌تر نیستند. در طبیعت کاروتنوئیدها توسط طعمه‌های طبیعی تامین می‌شوند اما در آبزی‌پروری متراکم تامین این مواد از طریق غذا صورت می‌گیرد (Amar *et al.*, 2004). با توجه به نقش و اهمیت کاروتنوئیدها به‌ویژه آستاگزانتین، امروزه این ماده به صورت سنتتیک مصرف قابل توجهی در آبزی‌پروری سردآبی پیدا کرده است. سنتز شیمیایی کانتاگزانتین و آستاگزانتین این امکان را به وجود آورده که دیگر برای غنی‌سازی جیره‌ها از مواد خام غنی از کاروتنوئیدها استفاده نشود. با این وجود مکمل سازی جیره غذایی با استفاده از این ملکول‌های سنتز شده هزینه غذایی را حدود ۱۵ تا ۳۰ درصد افزایش می‌دهند (Pham *et al.*, 2014). آبزیانی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان و سخت‌پوستان برای فعالیت‌های گوناگون بدنی از جمله فعالیت پروویتامین A، اثرات آنتی‌اکسیدانی، به‌عنوان هورمون‌هایی برای پاسخ‌های ایمنی، رشد، بلوغ و تولید مثل احتیاج به رنگدانه‌های کاروتنوئیدی به خصوص آستاگزانتین دارند (Capelli, 2007). آستاگزانتین در ساخت غذای ماهیان پرورشی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان و ماهیان زینتی، جهت خوش‌رنگی پوست و افزایش رشد و بقای این دسته از آبزیان استفاده می‌شود. کاروتنوئید موجود در غذا پس از جذب در روده وارد خون شده و در عضله، کبد و پوست تجمع می‌یابد و در طی تشکیل تخم از عضله و کبد به سمت تخمدان‌های در حال رشد گنادی انتقال و در تخم‌ها تجمع می‌یابند (Bromage *et al.*, 1992). تا به امروز ترکیبات طبیعی گوناگونی به عنوان منبع احتمالی رنگدانه برای پرورش آزاد ماهیان مورد پژوهش قرار گرفته‌اند. خرچنگ آب شیرین (Gouveia, 1997)، ضایعات و پودر میگو (Choubert and Luquet, 1983)، خرچنگ

قرمز (Choubert and Luquet, 1983)، کریل (Gouveia, 1997)، جلبک اسپیرولینا (Choubert, 1979)، مخمر فافیا روزیدیم (Nakano et al., 1995) و همچنین جلبک سبز *Haematococcus pluvialis* به عنوان منبع خوب از رنگدانه شناخته شده است (Sommer et al., 1992). از نقطه نظر طبیعی هرچند انواع مختلفی از گیاهان، باکتری‌ها و مخمرها به عنوان سازندگان آستاگزانتین شناخته شده‌اند (Johnson and Schoeder, 1996) اما گونه *H. pluvialis* قادر به ساخت مقدار قابل توجهی از این رنگدانه نسبت به سایر منابع آن بوده (Boussiba et al., 1999) و بالاترین مقدار آستاگزانتین در طبیعت در این گونه تجمع می‌یابد (Gong and Chen, 1998).

آستاگزانتینی که همیشه توسط موجودات دریازی در طبیعت مورد استفاده قرار می‌گیرد از نوع استری شده می‌باشد که کاملاً شبیه به ملکول آستاگزانتینی می‌باشد که در جلبک *H. pluvialis* یافت می‌شود. بنابراین از جلبک *H. pluvialis* به عنوان غنی‌ترین منبع آستاگزانتین برای تولید تجاری این رنگدانه به صورت طبیعی استفاده می‌شود (Guerin et al., 2003). علاوه بر آستاگزانتین، کاروتنوئیدهای دیگری نظیر بتاکاروتن، کانتاگزانتین و لوتئین نیز در این جلبک وجود دارند. حضور این کاروتنوئیدها باعث شده است، جلبک *H. pluvialis* به عنوان یک منبع طبیعی آستاگزانتین به مراتب اثرات آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به آستاگزانتین سنتتیک داشته باشد. استفاده از آستاگزانتین در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با چربی‌های اکسید شده باعث کاهش تری‌گلیسریدها و کلسترول کل خون شده و قدرت دفاعی بدن را در مقابل استرس اکسیدشوندگی افزایش می‌دهد (Nakano et al., 1995). تأثیر آستاگزانتین سنتتیک بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفت و با دستیابی به نتایج مثبت، استفاده از آن در رژیم غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه شد (Thompson et al., 1995).

مطالعات نشان داده که حضور آستاگزانتین در جیره غذایی باعث افزایش مقاومت میگوهای پرورشی در برابر استرس کمبود اکسیژن (Darachai et al., 1999)، استرس شوری و حرارت (Chien et al., 2003)، استرس آمونیاک و پاتولوژیکی (Pan et al., 2003) می‌شود. بنابراین آستاگزانتین علاوه بر خاصیت رنگدهی به بافت و سلول‌های جنسی، عملکرد بیولوژیکی موثری در آبزیان دارد که این عملکرد افزایش بازماندگی و مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی را به همراه دارد.

در تحقیقات گزارش شده که آستاگزانتین طبیعی به مراتب کارایی بالاتری نسبت به آستاگزانتین سنتتیک دارد که به علت شکل استری آستاگزانتین طبیعی نسبت به آستاگزانتین سنتتیک می‌باشد و راحت‌تر توسط اعضای مختلف ارگانیزم مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Darachai et al., 1998). تجمع رنگدانه در بافت قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)، بعد از ۴ هفته غذادهی با جلبک هماتوکوکوس، آستاگزانتین و کانتاگزانتین سنتتیک مورد بررسی قرار گرفت و بالاترین تراکم رنگدانه

در تیماری که از مخلوط ۴۸٪ آستاگزانتین و ۵۲٪ کانتاگزانتین تغذیه شده بودند، مشاهده شد (George *et al.*, 2003). غلظت آستاگزانتین خون قزل‌آلای رنگین کمان زمانی که دو منبع طبیعی و سنتتیک رنگدانه در جیره‌اش استفاده شد، مورد مطالعه قرار گرفت و بیان شد وقتی سطح چربی جیره پایین باشد، غلظت آستاگزانتین خون ماهیانی که از آستاگزانتین طبیعی (هماتوکوکوس) تغذیه کرده‌اند بالاتر است (Darachai *et al.*, 1999). سنجش و ارزیابی پارامترهای بیوشیمیایی سرم خون در آبزیان و مطالعه بر آن‌ها اغلب به گونه‌های مهم تجاری محدود گردیده است. مطالعات صورت گرفته بر پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون گونه‌های مختلف نشان داده که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت، تراکم)، عوامل فیزیولوژیکی (گونه آبزی، سیکل تولید مثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس و شرایط تغذیه‌ای) زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری، همچنین فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع مواد محرک سیستم ایمنی مورد استفاده اعم از اثر فردی و ترکیبی آن‌ها، میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن مواد محرک به جیره، مدت تجویز و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از محرک‌های ایمنی به عنوان سوبسترا هستند، می‌توانند بر فعالیت‌های پارامترهای بیوشیمیایی خون تاثیر بگذارند (Hrubec *et al.*, 2001). در مطالعه حاضر تاثیر سطوح مختلف آستاگزانتین سنتتیک و جلبکی (*H. pluvialis*) بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون مرتبط با بهداشت و سلامت مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مکان و نگهداری مولدین: این تحقیق در کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان کوخدان سی‌سخت در استان کهکلوپه و بویراحمد انجام شد. به منظور اجرای این تحقیق، تعداد ۲۱ حوضچه بتنی به ابعاد ۱×۱×۴ متر (هفت تیمار با سه تکرار) با شرایط نسبتاً یکسان برای استقرار گروه‌های آزمایشی آماده‌سازی گردید. تعداد ۱۴۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مولد با وزن ۲۵۰۰ تا ۳۵۰۰ گرم به صورت تصادفی از گله مولدین سه تا چهار ساله کارگاه محل اجرای طرح تهیه و به ازای هر تیمار ۲۰ عدد به صورت تصادفی در حوضچه‌ها توزیع شدند. جلبک هماتوکوکوس مورد نیاز از شرکت Naturose در هاوایی و آستاگزانتین سنتتیک مورد نیاز نیز از شرکت داخلی رزدانه خریداری شد. برای آزمایش ۶ تیمار جیره غذایی حاوی آستاگزانتین با دو منبع طبیعی (جلبک سبز هماتوکوکوس *H. pluvialis*) و سنتتیک آماده‌سازی شد. سه غلظت ۲/۶۷، ۵/۳۳ و ۸ گرم بر کیلوگرم غذای ماهی (T_1 ، T_2 ، T_3) برای منبع طبیعی جلبک و غلظت‌های ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم غذای ماهی (T_4 ، T_5 ، T_6) برای تیمارهای سنتتیک آستاگزانتین و یک گروه کنترل (بدون

آستاگزانتین (C) در نظر گرفته شد، بطوریکه با توجه به عیار ۱/۵ درصدی آستاگزانتین جلبک، هر شش تیمار به نسبت مساوی آستاگزانتین دریافت کردند (جدول ۱). برای تغذیه مولدین از خوراک BFT شرکت فرادانه استفاده شد. غذادهی به مولدین ۲ مرتبه در روز (صبح و بعد از ظهر) انجام شد. میزان غذا از ابتدای دوره تا قبل از شروع فصل تکثیر، ۰/۶-۰/۷ درصد وزن بدن و در طول فصل تکثیر حدود ۰/۳-۰/۴ وزن بدن در نظر گرفته شد (Ghobadi *et al.*, 2009). به دلیل انحلال بهتر کاروتنوئیدها در روغن، از روغن سویا به عنوان حلال جلبک هماتوکوکوس و آستاگزانتین سنتتیک استفاده شد. برای این منظور به ازای هر کیلوگرم خوراک، ۲۰ میلی لیتر روغن سویا در نظر گرفته شد و پس از افزودن مقدار در نظر گرفته شده جلبک و آستاگزانتین، به آرامی روی غذا اسپری گردید. در زمان اسپری کردن روغن، خوراک مرتب به هم زده شده تا امکان آغشته شدن تمام پلت ها فراهم باشد. در طی اجرای آزمایش اکسیژن آب ۸/۱-۸/۸ میلی گرم در لیتر، دمای آب ۱۰/۱-۱۱/۳ درجه سانتی گراد و میزان pH آب ۷/۹-۸/۱ ثبت شد.

جدول ۱- مشخصات تیمارهای استفاده شده در آزمایش تأثیر سطوح مختلف آستاگزانتین سنتتیک و جلبکی (*H. pluvialis*) بر سلامت مولدین قزل آلا ی رنگین کمان (*O. mykiss*).

تیمارها	منبع آستاگزانتین	غلظت
	طبیعی (<i>H. pluvialis</i>)	گرم بر کیلوگرم غذا
T _۱	"	۲/۶۷
T _۲	"	۵/۳۳
T _۳	"	۸
	آستاگزانتین سنتتیک	میلی گرم بر کیلوگرم غذا
T _۴	"	۴۰
T _۵	"	۸۰
T _۶	"	۱۲۰
کنترل (C)	بدون آستاگزانتین	-
ترکیبات جیره	درصد	
پروتئین خام	۳۸	
چربی خام	۱۲	
خاکستر	۱۰	
فیبر	۳/۵	
فسفر	۱	
رطوبت	۱۱	

اندازه‌گیری فاکتورهای خونی: برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون مرتبط با سلامتی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان شامل قند خون، تری‌گلیسیرید، کلسترول، پروتئین کل سرم، آلومین و گلوبولین سرم اندازه‌گیری و بررسی شد. نمونه‌گیری از ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورش یافته با سطوح مختلف آستاگزانتین، در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خونگیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۵ مولد به ازای هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شد و پس از بیهوشی در محلول گل میخک با دوز ۱۵۰ قسمت در میلیون (Ghobadi *et al.*, 2009) از ورید ساقه دمی آن‌ها خونگیری به عمل آمد. از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده مقدار ۴ سی سی برای جداسازی سرم در لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضد انعقاد خون انتقال داده شد. به منظور دستیابی به بیشترین مقدار سرم، نمونه‌های تهیه شده تا قبل از عمل سانتریفوژ و جداسازی سرم، به مدت ۲ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای جداسازی سرم از خون از دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. پس از ترسیب گلبول‌های قرمز خون، سرم (پلاسما) با استفاده از پیپت پاستور به ویال‌های اپندورف منتقل گردید. نمونه‌ها بلافاصله با استفاده از ظرف محتوی یخ خشک به آزمایشگاه منتقل و در شرایط فریزر دمای (۲۰-) درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش نگهداری شد. در نهایت پروتئین سرم به روش بیوره (Biuret)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Cholestrol oxidase)، تری‌گلیسیرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP)، آلومین و گلوبولین به روش بروموکرزول گرین (Bromocresol Green) و گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase) اندازه‌گیری شد (Borges *et al.*, 2004). آنالیز نمونه‌ها برای تعیین مقادیر فاکتورهای مورد اشاره در آزمایشگاه مرکزی تشخیص طبی خصوصی در یاسوج انجام گرفت.

آنالیز آماری

کلیه داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در ابتدا برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسیرنوف استفاده شد. مقایسه میانگین بین تیمارها بوسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تاثیر آستاگزانتین بر برخی فاکتورهای خونی مرتبط با سلامتی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین مقدار قند خون مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین مربوط به تیمار ۲ بود (شکل ۱، الف). بین تیمار شاهد و تیمار ۴ و همچنین بین تیمار ۵ و ۶ با وجود

افزایش سطح آستاگزانتین سنتتیک، اختلاف معنی‌داری بین میانگین‌های قند خون مشاهده نگردید در حالی‌که تیمار ۴ با تیمارهای ۵ و ۶ در مورد این فاکتور اختلاف معنی‌داری داشت. به‌طور کلی، تیمارهای حاوی منبع آستاگزانتین جلبکی مقادیر کمتری از قند خون را نسبت به تیمارهای حاوی آستاگزانتین سنتتیک به خود اختصاص دادند. تفاوت میزان تری‌گلیسیرید بین تیمارها معنی‌دار بود ($p < 0.05$) تیمار یک با ۲/۶۷ گرم در کیلوگرم آستاگزانتین جلبکی کم‌ترین مقدار تری‌گلیسیرید و تیمار ۴ با همین مقدار آستاگزانتین با منبع سنتتیک بیشترین مقدار تری‌گلیسیرید را به همراه داشتند (شکل ۱، ب). تفاوت مقدار میانگین بین تیمارها به جز بین تیمارهای ۵ و تیمار شاهد، معنی‌دار بود ($p < 0.05$) بین مقدار تری‌گلیسیرید خون و سطوح آستاگزانتین جیره رابطه مستقیمی مشاهده نشد.

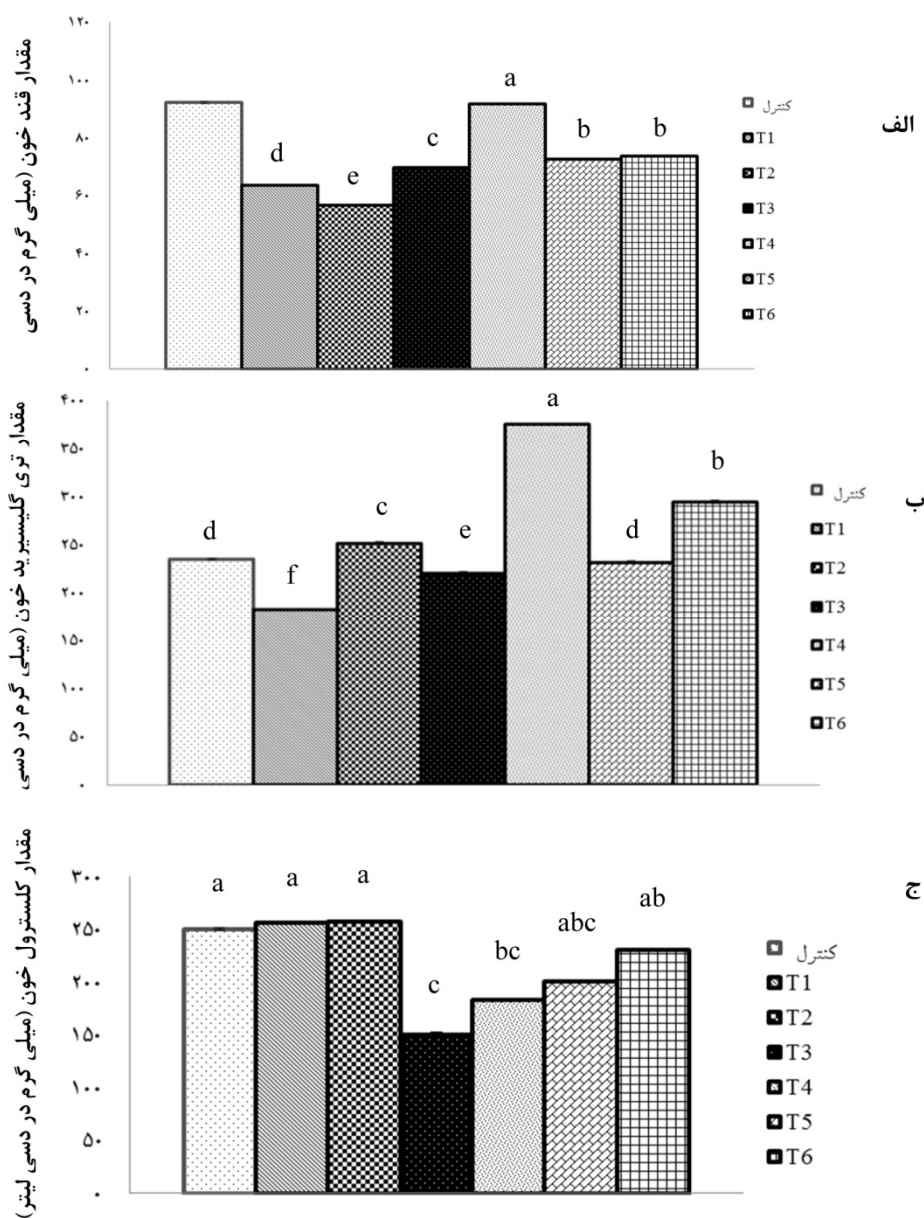
روند تغییر کلسترول تحت تأثیر تیمارها نظم خاصی داشت به‌طوری‌که میزان کلسترول در تیمارها با افزایش غلظت آستاگزانتین از هر دو منبع این رنگدانه کاهش یافت. اما مقادیر پایین‌تر کلسترول مربوط به آستاگزانتین جلبکی بود. کم‌ترین مقدار کلسترول در تیمار ۳ با بالاترین سطح آستاگزانتین جلبکی و بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ با پایین‌ترین سطح آستاگزانتین سنتتیک مشاهده گردید (شکل ۱، ج). بین تیمارهای ۴ و تیمار یک (با سطح آستاگزانتین مشابه از دو منبع متفاوت) و همچنین بین تیمارهای ۵ و ۶ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$). افزایش سطح آستاگزانتین سنتتیک از ۸۰ به ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اختلاف معنی‌داری در میزان کلسترول خون به همراه نداشت، درحالی‌که همین تغییر سطح در آستاگزانتین جلبکی باعث اختلاف در میزان کلسترول بین تیمارها شده به طوری‌که تیمار ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری با هم داشتند ($p < 0.05$). نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین کل سرم نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$). کم‌ترین مقدار در تیمار ۱ با کم‌ترین سطح آستاگزانتین جلبکی و بیشترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. در تیمارهای حاوی آستاگزانتین جلبکی مقدار پروتئین کل سرم با افزایش سطح جلبک از ۲/۶۷ به ۸ گرم در کیلوگرم، افزایش نشان داد. کم‌ترین مقدار آلبومین سرم در تیمار یک و بیشترین آن در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۲، الف). بیشترین مقدار آلبومین بعد از تیمار شاهد، مربوط به تیمار ۵ بود که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. با بررسی تغییرات آلبومین تحت تأثیر دو منبع متفاوت آستاگزانتین جلبکی و سنتتیک، مشخص شد که در هر دو منبع با افزایش غلظت آستاگزانتین از ۴۰ به ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ابتدا آلبومین افزایش و از سطح ۸۰ به ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، مقدار آن کاهش می‌یابد.

تغییر مقدار گلوبولین سرم در تیمارهای حاوی آستاگزانتین سنتتیک روند منظمی نداشت در حالی‌که این تغییر در تیمارهای حاوی آستاگزانتین جلبکی منظم بود به طوری‌که با افزایش سطح آن، مقدار گلوبولین سرم افزایش یافت. بیشترین مقدار گلوبولین مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۴ بود (شکل ۲، ب). در مورد نسبت آلبومین به گلوبولین، کم‌ترین مقدار در تیمار یک و بیشترین آن در تیمار ۵ بدست آمد (شکل ۲، ج) که اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف آستانگرانتین یا دو منبع سنتتیک و جلبکی بر برخی فاکتورهای خونی مرتبط با سلامتی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان ($O. mykiss$) ($\bar{X} \pm SE$)

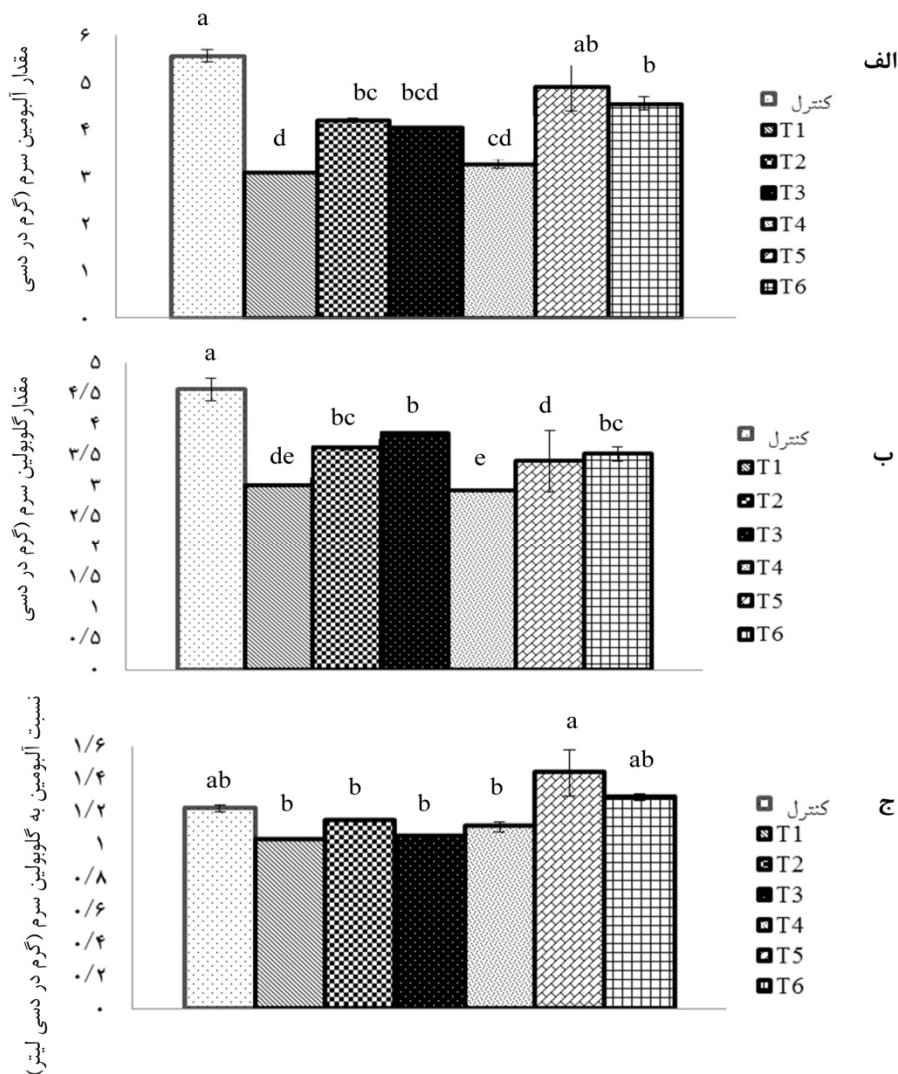
۶	شماره تیمار					فاکتورهای مورد	
	۵	۴	۳	۲	۱	کنترل	اندازه گیری
73.5 ± 0.28^b	72.5 ± 0.28^b	91.5 ± 0.28^a	69.5 ± 0.28^c	56.5 ± 0.28^c	63.5 ± 0.28^d	92.5 ± 0.27^a	قند خون (mg/dl)
29.5 ± 1.73^b	33.2 ± 1.15^d	37.5 ± 0.28^a	22.0 ± 1.44^e	25.2 ± 1.15^c	18.2 ± 0.57^f	23.5 ± 0.86^d	تری گلیسرید (mg/dl)
23.07 ± 0.57^{ab}	20.15 ± 0.28^{abc}	18.4 ± 0.57^{bc}	15.07 ± 0.25^c	25.75 ± 1.44^a	25.62 ± 0.86^a	25.05 ± 1.25^a	کلسترول (mg/dl)
8.47 ± 0.14^{bc}	8.93 ± 0.18^b	6.49 ± 0.11^d	8.39 ± 0.2^c	8.30 ± 0.28^c	6.37 ± 0.11^{de}	10.70 ± 0.47^a	پروتئین سرم (g/dl)
4.55 ± 0.14^b	4.92 ± 0.52^{ab}	3.27 ± 0.10^{cd}	4.05 ± 0.2^{bcd}	4.20 ± 0.05^{bc}	3.09 ± 0.10^d	5.57 ± 0.13^a	آلبومین سرم (g/dl)
3.52 ± 0.11^{bc}	3.4 ± 0.05^d	2.92 ± 0.2^c	3.85 ± 0.2^b	3.62 ± 0.04^{bc}	3 ± 0.00^{de}	4.57 ± 0.18^a	گلوبولین سرم (g/dl)
1.29 ± 0.2^{ab}	1.44 ± 0.14^a	1.11 ± 0.3^b	1.05 ± 0.1^b	1.15 ± 0.1^b	1.03 ± 0.10^b	1.22 ± 0.4^{ab}	نسبت آلبومین به گلوبولین سرم

اعدادی که در هر ردیف حروف یکسان بر روی آن‌ها درج شده اختلاف معنی‌دار ندارند ($p > 0.05$).



شکل ۱- الف) تغییرات قند خون، ب) تغییرات تری گلیسیرید و ج) تغییرات کلسترول خون در تیمارهای مختلف آزمایش مولدین قزل آلائی رنگین کمان (*O. mykiss*)

تیمارهای ۱ و ۳ حاوی آستاگزانتین جلبکی تاثیر بیشتری در حفظ نسبت مقدار آلبومین به گلوبولین در شرایط بهینه داشتند. در مورد هر دو منبع آستاگزانتین با افزایش سطح آستاگزانتین از ۴۰ به ۸۰ میلی گرم در کیلوگرم، این نسبت افزایش اما با افزایش سطح از ۸۰ به ۱۲۰ میلی گرم در کیلوگرم این مقدار کاهش یافت. اما مقادیر تیمارهای آستاگزانتین جلبکی وضعیت مطلوب‌تری نسبت به تیمارهای آستاگزانتین سنتتیک داشتند.



شکل ۲- الف) تغییرات آلبومین، ب) تغییرات گلوبولین سرم و ج) تغییرات نسبت آلبومین به گلوبولین در تیمارهای مختلف آزمایش مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

بحث و نتیجه گیری

آستاگزانتین یکی از مهم ترین منابع کاروتنوئیدی است که در آبی پروری اهمیت ویژه ای پیدا کرده و مصرف آن رو به گسترش است. در مطالعه حاضر، سطوح مختلف آستاگزانتین روی فاکتورهای خونی مرتبط با سلامتی مولدین قزل آلا ی رنگین کمان شامل قند خون، نسبت آلبومین به گلوبولین سرم، کلسترول، تری گلیسیرید، پروتئین کل پلاسما، گلوبولین و آلبومین سرم اختلافات معنی دار ایجاد نمود. نتایج حاصل از این بررسی در مورد میزان قند خون با نتایج بررسی انجام شده توسط تسو و همکاران (Tso and Lam, 1996) مطابقت داشت به طوری که حضور آستاگزانتین باعث پایین آمدن قند خون شده و جلوگیری از بروز بیماری دیابت می شود. خواجه و پیغان (Khadjeh and Peyghan, 2007) میزان قند خون قزل آلا ی رنگین کمان پرورش یافته در استخرهای خاکی را بین ۶۳/۳ تا ۱۲۹/۳ میلی گرم در دسی لیتر گزارش نموده اند. در مطالعه به نفی و بایرون (Benfey and Biron, 2000) میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی قزل آلا ی رنگین کمان دیپلوئید و تریپلوئید ۲۴ ماهه را به ترتیب ۱۵۲/۲ و ۹۷/۸ میلی گرم در دسی لیتر و میزان گلوکز پلاسمای قزل آلا ی رنگین کمان بروک دیپلوئید و تریپلوئید ۱۸ ماهه را به ترتیب ۱۰۴/۲ و ۹۶/۵ میلی گرم در دسی لیتر گزارش نموده اند که با نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر (بین ۹۲/۲۵ - ۵۶/۵ میلی گرم در دسی لیتر) صرف نظر از شرایط سنی، تغذیه ای و وزنی تفاوت ها و شباهت هایی نشان می دهد. میزان گلوکز خون به فعالیت ماهی، نوع تغذیه، استرس، سن و گونه ماهی بستگی دارد (Rehulka, 1998). مطالعات نشان می دهد که افزایش کورتیزول همواره با افزایش گلوکز همراه است. در پژوهش حاضر کاهش قابل توجهی در مقادیر گلوکز در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف آستاگزانتین مشاهده شد. به نظر می رسد که افزودن آستاگزانتین به جیره غذایی سبب کاهش استرس مولدین قزل آلا ی رنگین کمان می شود ضمن اینکه آستاگزانتین طبیعی نسبت به آستاگزانتین سنتتیک در کاهش میزان قند خون بهتر عمل می کند. کم ترین و بیشترین میزان قند خون به ترتیب ۵۶/۵ و ۹۲/۲۵ میلی گرم بر دسی لیتر در تیمار دوم و کنترل مشاهده گردید. کاهش سطح گلوکز خون ماهی قزل آلا رنگین کمان تحت تیمار عصاره سیلی مارین (*Silybum marianum*) (Banaee et al., 2011) و گربه ماهی *Clarias lazera* تحت تیمار عصاره پیاز (*Allium cepa*) و سیر (*Allium sativum*) (Al-Salahy, 2002) گزارش شده است. استفاده از آستاگزانتین در قزل آلا ی رنگین کمان تغذیه شده با چربی های اکسید شده باعث کاهش تری گلیسریدها و کلسترول کل خون شده و قدرت دفاعی بدن را در مقابل استرس اکسیدشوندگی افزایش می دهد (Nakano et al., 1995). در بررسی حاضر بین مقدار تری گلیسیرید خون و سطوح آستاگزانتین جیره رابطه مستقیمی مشاهده نشد اما در تیمار یک (T_1) و تیمار ۴ (T_4)، به ترتیب کم ترین و بیشترین مقدار تری گلیسیرید مشاهده گردید (شکل ۱، ب). وقتی سطح چربی

جیره پایین باشد، غلظت آستاگزانتین خون ماهیانی که از آستاگزانتین طبیعی (هماتوکوکوس) تغذیه کرده‌اند بالاتر است (Darachai *et al.*, 1999). انتهای آستاگزانتین طبیعی همیشه با اسیدهای چرب جفت شده است و این امر باعث استری شدن ملکول آستاگزانتین طبیعی می‌شود (Capelli, 2007). بنابراین مطابق با نتایج به دست آمده از این بررسی به دلیل حلالیت بهتر کاروتنوئیدها در روغن، چنانچه از آستاگزانتین طبیعی برای ساخت جیره‌ها در محیط‌های پرورشی استفاده شود به میزان چربی کمتری برای جذب بهتر آستاگزانتین مورد نیاز است و حضور آستاگزانتین طبیعی باعث تجمع کمتر تری‌گلیسرید در بافت‌ها می‌گردد و از چاقی ماهیان پرورشی جلوگیری می‌شود. آستاگزانتین طبیعی از طریق کاهش میزان کلسترول و تری‌گلیسرید باعث بهبود ترکیب چربی خون می‌گردد و فشار خون را کاهش می‌دهد (Capelli, 2007). روند تغییر کلسترول تحت تاثیر تیمارها نظم خاصی داشت به‌طوری‌که میزان کلسترول در تیمارها با افزایش غلظت آستاگزانتین از منبع جلبکی این رنگدانه کاهش یافت. کم‌ترین مقدار کلسترول در تیمار ۳ با بالاترین سطح آستاگزانتین جلبکی مشاهده گردید (شکل ۱، ج). تغییر در سطح آستاگزانتین سنتتیک از ۸۰ به ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول به همراه نداشت در صورتی‌که همین تغییر در آستاگزانتین جلبکی میزان کلسترول خون را به صورت معنی‌داری کاهش داد. همچنین در یک بررسی در مورد تاثیر آستاگزانتین بر برخی فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تانک‌های فایبرگلاس مشخص شد که حضور این رنگدانه باعث کاهش میزان کلسترول خون این گونه می‌شود (Aquis *et al.*, 2001). کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید در خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و گربه ماهی، به ترتیب تحت تیمار عصاره سیلی‌مارین (*Silybum marianum*) (Banaee *et al.*, 2011) و عصاره پیاز و سیر نیز گزارش شده است (Al-Salahy, 2002). عصاره برخی از گیاهان، از طریق افزایش سطح فعالیت آنزیم ۷ آلفا کلسترول هیدروکسیلاز در سلول‌های کبدی موجب افزایش دفع میزان کلسترول و کاهش سنتز کلسترول سلولی می‌شوند که همین امر موجب کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید خون می‌گردد. کلسترول بخشی از ساختار دیواره سلول‌ها را تشکیل می‌دهد و یک پیش‌ساز برای صفرا و هورمون‌های استروئیدی محسوب می‌شود. همچنین میزان کلسترول سرم خون تحت تاثیر درجه حرارت، شاخص گنادوسوماتیک، نرخ متابولیک و فعالیت تغذیه‌ای می‌باشد که در بین گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Rehulka, 1998). پروتئین پلاسما یک پارامتر وابسته برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است و یک ابزار کمی تشخیصی محسوب می‌شود. میزان پروتئین پلاسما و آلبومین وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهیان را مشخص می‌کند. افزایش در میزان پروتئین و آلبومین افزایش نسبتاً زیادی در ایمنی ذاتی را منعکس می‌نماید، به عبارت دیگر افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به علت واکنش‌های غیراختصاصی قوی‌تر در ماهی باشد (Svetina *et al.*, 2002). در

مطالعات گذشته مشخص شده که نوع گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان بر میزان پروتئین تام سرم خون موثر است. در مطالعه‌ای روی قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی دریاچه پاروین میزان پروتئین تام سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی بالاتر از قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی مشاهده شد و دلیل آن را استفاده بیشتر قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی از غذاهای طبیعی و فعالیت بیشتر آن ذکر نموده‌اند (Barnhart, 1969). میزان پروتئین تام در ماهیان انگشت‌قندی، کمتر از ماهیان بزرگ‌تر گزارش شده است و همزمان با رشد میزان پروتئین تام سرم خون افزایش می‌یابد همچنین میزان پروتئین کل سرم خون با افزایش سن زیاد می‌شود و این میزان در زمان تولید مثل به دلیل مصرف شدن، کاهش می‌یابد (Sano, 1960). نتایج تحقیق فوق نیز نشان داد که میزان پروتئین کل سرم در ابتدا افزایش و پس از رسیدن به اوج تکامل غدد جنسی و افزایش فعالیت‌های تولید مثلی میزان آن کاهش می‌یابد.

در تیمارهای حاوی آستاگزانتین جلبکی مقدار پروتئین کل سرم با افزایش سطح آستاگزانتین جلبکی از ۲/۶۷ به ۸ گرم جلبک در کیلوگرم افزایش داشت، در حالی‌که در مورد تیمار حاوی آستاگزانتین سنتتیک، ابتدا افزایش و سپس کاهش مشاهده شد.

پروتئین خون از اساسی‌ترین اجزاء متابولیسم در آبزیان است و غلظت کل پروتئین موجود در پلاسماي خون به عنوان یک شاخص بالینی در سنجش میزان سلامتی، استرس و وضعیت بدنی ارگانسیم‌های آبزی به کار برده می‌شود و سنجش مقدار پروتئین خون می‌تواند آسیب‌های سلولی را پیش‌بینی کند (Riche, 2007). نوع تغذیه ماهی (دستی، طبیعی)، میزان تحرک ماهی، شرایط محیطی، مراحل تکامل گنادی بر میزان پروتئین تام سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیرگذار می‌باشد (Rehulka, 1998). پروتئین‌های پلاسما در برقراری فشار اسمزی خون و pH آن سهم مهمی دارند. پروتئین‌های موجود در پلاسما شامل آلبومین‌ها، گلوبولین‌ها، آلوگوتین، فیبرینوژن و پروترومبین می‌باشند. استفاده از آستاگزانتین حاصل از مخمر قرمز در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به علت کارکرد بهتر کبد، سلامت این گونه را بهبود می‌بخشد (Nakano et al., 1995; Aquis et al., 2001). آلبومین‌ها در کبد ساخته می‌شوند، ناقل هورمون‌ها در خون بوده و وجود آن‌ها در خون موجب جذب آب به داخل خون می‌شود. در مطالعه داراچای و همکاران (Darachai et al., 1998) روی میگوهای جوان ببری (*Penaeus monodon*) مشخص شد آستاگزانتین به علت افزایش مقاومت در برابر استرس‌های محیطی باعث طولانی شدن عمر پست لارو می‌گردد. چاین و همکاران (et al., 2003) Chien نیز نشان دادند که مقاومت میگوی ببری نسبت به تغییرات شوری محیط از ۳۷ به صفر (ppt) و ایجاد شوک اسمزی در ۵ دقیقه از طریق استفاده از آستاگزانتین در جیره غذایی این گونه (۸۰ mg/kg) امکان‌پذیر است. همچنین مشخص شده است که آستاگزانتین طبیعی به دلیل اینکه یک آنتی‌اکسیدانت بسیار قوی محسوب می‌شود، بنابراین در برابر بروز تورم بسیار کارآمد عمل می‌کند.

گلوبولین‌ها مبنای تنوع گروه‌های خونی هستند و به‌صورت آنتی‌کور عمل می‌کنند. در بسیاری از بیماری‌های کبدی، بیماری‌های عفونی مقدار گلوبولین پلاسما خون زیاد می‌شود. تغییر مقدار گلوبولین سرم در تیمارهای حاوی آستاگزانتین سنتتیک روند منظمی نداشت در حالی‌که این تغییر در تیمارهای حاوی آستاگزانتین جلبکی منظم بود به‌طوری‌که با افزایش سطح آن، مقدار گلوبولین سرم افزایش یافت. تاثیر آستاگزانتین سنتتیک بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه قرار گرفته و با دستیابی به نتایج مثبت، استفاده از آن در رژیم غذایی عملی قزل‌آلای رنگین‌کمان توصیه شده است (Thompson *et al.*, 1995). در مطالعه دیگری توسط واگبو و همکاران (2003, *et al.*, Waagbo) مشخص شد که وجود آستاگزانتین طبیعی باعث می‌شود که میزان بروز کم بینایی در ماهیان آزاد کاهش یابد. در حالت طبیعی مقدار آلبومین نسبت به گلوبولین کمی بیشتر است. تیمارهای ۱ و ۳ حاوی آستاگزانتین جلبکی در بررسی حاضر تاثیر بیشتری در حفظ نسبت مقدار آلبومین به گلوبولین در شرایط بهینه (کمی بیشتر از یک) داشتند. در مورد هر دو منبع آستاگزانتین با افزایش سطح آستاگزانتین از ۴۰ به ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا، این نسبت افزایش اما با افزایش سطح از ۸۰ به ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا این مقدار کاهش یافت. اما مقادیر تیمارهای آستاگزانتین جلبکی وضعیت مطلوب‌تری نسبت به تیمارهای آستاگزانتین سنتتیک داشتند. در برخی از مطالعات مشاهده شده که استفاده از جلبک *H. phuvialis* در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از کارایی کمتری نسبت به آستاگزانتین سنتتیک برخوردار است (Ahmadi *et al.*, 2006) که مطابق با یافته‌های تحقیقاتی بود که از قبل در این زمینه ارائه شده بود (Sommer *et al.*, 1991; Choubert, 1995; and Henrich, 1993).

تغییر معنی‌داری در سطح آلبومین و پروتئین کل پلاسما گربه‌ماهی و قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار عصاره سیلی‌مارین (*Silybum marianum*) (Banaee *et al.*, 2011) و گربه‌ماهی *Clarias lazera* تحت تیمار عصاره پیاز (*Allium cepa*) و سیر (*Allium sativum*) (Al-Salahy, 2002) گزارش نشده است. در مطالعه دومینگوئیز (Dominguez *et al.*, 2005) مشخص گردید که شرایط تغذیه‌ای و محیطی بر قابلیت جذب آستاگزانتین حاصل از جلبک *H. phuvialis* تاثیر می‌گذارد. مشخص شده در صورت اضافه شدن جلبک هماتوکوکوس فرآوری شده به جیره ماهیان، تیمار تغذیه شده با جلبک فرآوری شده نسبت به جلبک دست نخورده (سالم)، واجد تراکم بالایی از آستاگزانتین در پوست و عضله می‌باشد (Watanabe and Vassallo-Auis, 2003). در این بررسی نیز عصاره جلبک به صورت فرآوری شده روی جیره‌ها اسپری گردید که به نظر می‌رسد این موضوع منجر به کارایی بهتر آستاگزانتین طبیعی نسبت به سنتتیک شده است. برخی از کاروتنوئیدها از طریق فعالیت حفاظتی در برابر رادیکال‌های آزاد، در تنظیم پاسخ‌های ایمنی دخالت دارند. بسیاری از آنتی‌اکسیدانت‌ها و حتی

کاروتنوئیدها نمی‌توانند از دیواره بافت عروقی مغز عبور کنند و وارد مغز، چشم‌ها و سیستم اعصاب مرکزی گردند. اما مطالعات نشان داده که تنها آستاگزانتین می‌تواند از این دیواره عبور کند و از بسیاری از بیماری‌ها نظیر دیابت، تورم، آسیب‌های روانی، کوری تدریجی، انسداد سرخرگ و سیاهرگ شبکه‌ی جلویی نماید (Tso *et al.*, 1996). از دیگر ویژگی‌های منحصربه‌فرد آستاگزانتین این است که هیچ‌گاه به‌عنوان پرواکسیدانت در بدن عمل نمی‌کند، این درحالی است که کاروتنوئیدهایی نظیر بتاکاروتن، لیکوپن و زاگزانتین تحت شرایط خاصی به پرواکسیدانت تبدیل می‌شوند و در حقیقت از طریق ایجاد اکسیداسیون در بدن یک نقش منفی بر عهده می‌گیرند (Martin *et al.*, 1999). این دلیل دیگری است که مشخص می‌کند آستاگزانتین یک آنتی‌اکسیدانت موثرتری نسبت به سایر کاروتنوئیدها می‌باشد که البته آستاگزانتین طبیعی بیشترین توانایی را در این زمینه دارا می‌باشد (Capelli, 2007). با توجه به تفاوت‌های مشاهده شده در پارامترهای بیوشیمیایی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که تفاوت شرایط تغذیه‌ای (مقدار و نوع آستاگزانتین) می‌تواند عامل تفاوت نتایج به دست آمده باشد. به‌طور کلی تفاوت در نتایج مطالعات پژوهشگران به عوامل مختلفی بستگی دارد، چرا که پارامترهای سرمی تحت تأثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند گونه و نژاد، دمای آب، چرخه تولید مثلی، نرخ متابولیک، سن، استرس، دوره‌های نوری، وضعیت تغذیه و روش استفاده در تعیین آن‌ها، قرار دارند. در مجموع مطالعه حاضر نشان داد آستاگزانتین باعث بهبود عملکرد برخی شاخص‌های سلامتی مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود و آستاگزانتین جلبکی به دلیل دارا بودن سایر مکمل‌های غذایی نسبت به آستاگزانتین سنتتیک از برتری فوق‌العاده‌ای در بهبود این شاخص‌ها برخوردار است. این تحقیق می‌تواند زمینه استفاده موثرتر از منابع رنگدانه‌های طبیعی به جای سنتتیک را در صنعت آبزی‌پروری کشور گسترش داده و ضمن بهبود عملکرد سلامت مولدین، از عوارض جانبی احتمالی ترکیبات شیمیایی بکاهد.

تشکر و قدردانی

از مدیر کل و معاونت محترم تکثیر شیلات یاسوج و از مدیریت و کارکنان مرکز تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان کوخدان سی‌سخت که در فراهم کردن امکانات این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند، قدردانی و سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

Ahmadi M.R., Bazzyar A.A., Safi S., Ytrestøyl T., Bjerkeng B. 2006. Effects of dietary astaxanthin supplementation on reproductive characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyology, 22: 388-394.

- Al-Salahy M.B. 2002. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. Fish Physiology and Biochemistry, 27: 129-142.
- Amar E.C., Kiron V., Satoh S., Watanabe T. 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology, 16: 527-537.
- Aquis R., Watanabe T., Satoh S., Kiron V., Imaizumi H., Yamazaki T., Kawano K. 2001. Supplementation of paprika as a carotenoid source in soft-dry pellets for broodstock yellow-tail *Seriola quinqueradiata* (Temminck and Schlegel). Aquaculture Research, 32(1): 263-272.
- Banaee M., Sureda A., Mirvaghefi A.R., Rafei G.R. 2011. Effects of longterm silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37: 887-896.
- Barnhart R.A. 1969. Effect of certain variable on hematological characteristics of rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society, 3: 412-418.
- Benfey T.J., Biron M. 2000. Acute stress responses in triploid rainbow trout *oncorhynchus mykiss* and brook trout *Salvelinus fontinalis*. Aquaculture, 184: 167-176.
- Borges A., Scotti L. V., Siqueira D.R., Jurinitz D.F., Wassermann G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry, 30: 21-25.
- Boussiba S., Bing W., Yuan J.P., Zarka A., Chen F. 1999. Changes in pigments profile in the green algae *Haematococcus pluvialis* exposed to environmental stresses. Biotechnology Letters, 21: 601-604.
- Bromage N., Randall C., Thrush M., Davis B., Springate J., Duston J., Barker G. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and timing of egg production in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 100: 141-166.
- Capelli B. 2007. Natural Astaxanthin: King of the Carotenoids. Cyanotech Corporation Publication. Holualoa, Hawaii. 148 P.
- Chien Y.H., Pan C.H., Hunter B. 2003. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. Aquaculture, 216: 177-191.
- Choubert G., Gomez R., Milicua J.C.G. 1995. Response of serum carotenoids levelsto dietary asthaxanthin and canthaxanthin in immature rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Comparative Biochemistry Physiology- Part A, 109: 1001-1006.
- Choubert G., Heinrich O. 1993. Carotenoid pigments of the green alga *Haematococcus pluvialis*: assay on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, pigmentation in comparison with synthetic astaxanthin and canthaxanthin. Aquaculture, 112: 217-226.
- Choubert G.Jr. 1979. Tentative utilization of *spirulina alga*s as a source of carotenoid pigments for rainbow trout. Aquaculture, 18: 135-143.

- Choubert G.Jr. Luquet P. 1983. Utilization of shirimp meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich) pigmentation influence of fat content of the diet. *Aquaculture*, 32: 19-24.
- Darachai J., Piyatiratitivorakul S., Kittakoop P., Nitithamyong C., Menasveta P. 1998. Effects of astaxanthin on larval Growth and survival of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. In: Flegel TW (Eds.). *Advances in Shrimp Biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, pp: 117–121.
- Darachai J., Piyatiratitivorakul S., Menasveta P. 1999. Effect of Astaxanthin on Stress Resistance of *Penaeus monodon* Larvae. *Proceedings of the 37th Kasetsart University Annual Conference*, Bangkok, Thailand. Text & Journal Publication Co., pp: 240-245.
- Dominguez A., Ferreira M., Coutinho P., Fabregas J., Otero A. 2005. Delivery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* to the aquaculture food chain. *Aquaculture*, 250: 424– 430.
- George S.B., Lawrence J.M., Lawrence A.L., Smiley J., Plank L. 2003. Carotenoids in the adult diet enhance egg and juvenile production in the sea urchin *Lytechinus variegates*. *Aquaculture*, 199: 353-369.
- Ghobadi Sh., Matinfar A., Nezami Sh. A. Soltani M. 2009. Influence of supplementary enzymes Avizyme on fish meal replacement by soybean meal and its effects on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries*, 3(2): 11-22. (In Persian).
- Gong X.D., Chen F. 1998. Influence of medium components on Astaxanthin content and production of *Haematococcus pluvialis*. *Process Biochemistry*, 33: 385–391.
- Gouveia L. 1997. Use of *Chlorella vulgaris* in Rainbow trout. *Journal of Applied Aquaculture*, 7: 61-69.
- Guerin M., Huntley M.E., Olaizola M. 2003. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 21: 210-216.
- Hrubec T.C., Smith S.A., Robertson J.L. 2001. Age-related changes in hematology and plasma chemistry values of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *morone saxatilis*). *Veterinary Clinical Pathology*, 30 (1): 8-15.
- Johnson E.A., Schoeder W.A. 1996. Biotechnology of astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*. In: Takeda GR, Teranishi R, Williams PJ (Eds.). *Biotechnology for improved foods and flavors*. Washington DC: American Chemical Society, pp: 39–50.
- Khadjeh G.H., Peyghan R. 2007. Evaluation of some blood serum biochemical parameters of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) cultured in earthen ponds. *Journal of Veterinary Research*, 62(3): 197-203. (In Persian).
- Martin H., Jager C., Ruck C., Schimdt M. 1999. Anti- and Prooxidant Properties of Carotenoids. *Journal Fur Praktische Chemie*, 341(3): 302-308.

- Nakano T., Tosa M., Takeuchi M. 1995. Improvement of biochemical features in fish health by red yeast and synthetic astaxanthin. *Journal of Agriculture and food chemistry*, 43: 1570-1573.
- Pan C.H., Chien Y.H., Hunter B. 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 297: 107-118.
- Pham M.A., Byun H.K., Kim K.D., Lee S.M. 2014. Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 431: 65-72.
- Rehulka J. 1998. Blood indices of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in *Aeromonas* induced ulcerous dermatitis. *Acta Veterinaria Brno*, 67: 317-322.
- Riche M. 2007. Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264: 279-284.
- Sano T. 1960. Haematological studies of the culture fishes in Japan 3. Changes in blood constituents with growth of Rainbow trout. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 46: 78-87.
- Sommer T.R., Potts W.T., Morrissy N.M. 1991. Utilization of microalgal astaxanthin by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 94: 79-88.
- Sommer Tr., D-Souza F. M. L., Morrisy N. M. 1992. Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Aquaculture*, 106: 63-74.
- Svetina A., Matasin Z., Tofant A., Vucemilo M., Fijan N. 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50: 459-467.
- Thompson I., Choubert G., Houlihan D.F., Scombes C.J. 1995. The effect of dietary vitamin and astaxanthin on the immuno competence of rainbow trout. *Aquaculture*, 133: 91-102.
- Tso M., Lam T. 1996. Method of Retarding and Ameliorating Central Nervous System and Eye Damage. U.S. Patent: 5527533.
- Waagbo R., Hamre K., Bjerkas E., Berge R., Wathne E., Lie O., Torstensen B. 2003. Cataract formation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolt relative to dietary pro- and antioxidants and lipid level. *Journal of Fish Diseases*, 26(4): 213-29.
- Watanabe T., Vassallo-Auis R. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 227(1-4): 35-61.