University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 7, No. 1, 2021, pages: 1-14

Effects of different amounts of dietary carrot meal beta-carotene on some blood parameters in Caspian brown trout (*Salmo caspius* Kessler, 1877) fingerlings

Reza Farahani[1], Seyed Abdlomajid Mousavi[2*], Houman Rajabi Islami[1], Mehdi Shamsaei Mehrgan[1]

1- Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Animal Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad university, Varamin, Tehran, Iran

Received 17 January 2021 Accepted 17 March 2021

KEYWORDS

Caspian brown trout

Blood characteristics

Carotenoid

Safety

ABSTRACT

Caspian brown trout is one of the valuable, commercial, anadromous, and endemic species of the Caspian Sea, which has noteworthy the attention of many scientists. This study was carried out using Caspian brown trout fingerlings (n = 300) with an initial average weight of 42 g for two months. In this study, different amounts of carrot powder (total carotenoids) were added to fish diets including a control group and five treatments i.e. 0 (control), 50 (T_1), 100 (T_2), 150 (T_3), 200 (T_4) and 250 mg/kg (T_5). The effects of different amounts of carotenoids were investigated on some blood parameters of fingerlings, including lysozyme, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aminotransferase, glucose, total protein, and cortisol. According to the results, significant differences ($p<0.05$) were observed in the amounts of serum lysozyme between different treatments. Treatment 2 by an average of 51 ± 3.61 U/mL and control group by 40.67 ± 2.52 U/mL exhibited the highest and lowest levels of the enzyme, respectively. Based on the results, a significant difference ($p<0.05$) was observed between different levels of cortisol in the treatments, so that the highest and lowest cortisol levels in the control group and treatment 2 with 50 ± 7 and 26.67 ± 4.04 (ng/mL) was observed. In general, based on the results of this study, it was found that different levels of carotenoids in the diet of salmon brown trout can display a significant effect ($p<0.05$) on blood indices.

*Corresponding author: sa_mousavi@iauvaramin.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال هفتم، شماره یکم، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۱۴-۱

"مقاله پژوهشی"

اثر مقادیر مختلف بتاکاروتن کنجاله هویج در جیره غذایی، بر برخی شاخص‌های خونی بچه ماهی آزاد دریای خزر *Salmo caspius* (Kessler, 1877)

رضا فراهانی[۱]، سید عبدالمجید موسوی*[۲]، هومن رجبی اسلامی[۱]، مهدی شمسایی مهرجان[۱]

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، تهران

۲- گروه علوم دامی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۷

کلمات کلیدی

آزاد ماهی

ایمنی

کارتنوئید

فاکتورهای خونی

چکیده

ماهی آزاد دریای خزر یکی از گونه‌های ارزشمند، تجاری، رودرو و بومی دریای خزر است که توجه بسیاری از دانشمندان را به خود جلب کرده است. این مطالعه با استفاده از تعداد ۳۰۰ عدد بچه ماهی آزاد دریای خزر با وزن متوسط اولیه ۰/۱ ± ۴۲ گرم به مدت دو ماه انجام شد. در این تحقیق پودر هویج (کاروتنوئید کل) در جیره ماهیان با مقادیر صفر (شاهد)، ۵۰ (تیمار ۱)، ۱۰۰ (تیمار ۲)، ۱۵۰ (تیمار ۳)، ۲۰۰ (تیمار ۴) و ۲۵۰ (تیمار ۵) میلی گرم بر کیلوگرم غذای ماهی اضافه و تأثیر آن بر رشد و برخی از شاخص‌های خونی بچه ماهی ها شامل لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آمینوترانسفراز، گلوکز، پروتئین تام و کورتیزول بررسی شد. نتایج این تحقیق اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) را در مقدار لیزوزیم سرم بین تیمارهای مختلف نشان داد، به‌طوری که تیمار ۲ با میانگین ۳/۶۱ ± ۵۱ و گروه شاهد ۲/۵۲ ± ۴۰/۶۷ واحد در میلی‌لیتر به ترتیب بیشترین و کمترین سطح آنزیم را از خود نشان دادند. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین سطوح مختلف کورتیزول در تیمارها وجود دارد، به طوری که بیشترین و کمترین مقدار کورتیزول خون به ترتیب در گروه شاهد و تیمار ۲ با ۷ ± ۵۰ و ۴/۰۴ ± ۲۶/۶۷ نانوگرم در میلی‌لیتر مشاهده شد. به طور کلی بر اساس نتایج این تحقیق سطوح مختلف کاروتنوئید جیره غذایی بچه ماهیان آزاد دریای خزر اثر قابل معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر شاخص‌های خونی مورد مطالعه دارد.

نویسنده مسئول: sa_mousavi@iauvaramin.ac.ir

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر *Salmo caspius* یکی از انواع ماهیانی است که از ارزش اقتصادی ویژه‌ای برخوردار است. اگرچه رشد این گونه ماهی نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان کندتر است، ولی از لحاظ بازارپسندی، شکل ظاهری و طعم گوشت نسبت به قزل‌آلای رنگین‌کمان ارجحیت بیشتری دارد. امروزه پرورش این گونه برای فعالیت‌های اقتصادی و بازسازی ذخایر از اهمیت ویژه‌ای برخودار است.

در سال‌های دور استفاده از رنگدانه‌های مختلف اعم از طبیعی و مصنوعی در صنعت آبزی‌پروری شروع، و اثرات آن بر عوامل مختلف زیستی بررسی شده است. اخیراً تلاش‌هایی انجام شده است که رنگدانه‌ها به‌طور اختصاصی، به شکل طبیعی و مصنوعی در تغذیه آبزیان پرورشی به‌خصوص آزادماهیان در سطح گسترده استفاده شوند (Pham et al. 2014). کاروتنوئیدها از جمله رنگدانه‌های محلول در چربی هستند که رنگ آنها بین زرد تا قرمز است. گستردگی این ترکیبات در تمام رده‌های گیاهی و جانوری مشاهده می‌شود، به‌طوری که از دهه ۱۹۵۰ توجه بسیاری از دانشمندان را جلب کرده است (Pham et al. 2014).

ماهی‌ها بر خلاف سخت‌پوستان قادر به ساختن رنگدانه‌های کاروتنوئیدی با ترکیبی پیچیده‌تر از کاروتنوئیدهای ساده‌تر نیستند. بتاکاروتن رنگدانه‌ای طبیعی با خاصیت ضد اکسایشی قوی است (Paiva and Russell, 1999) که در تهیه مکمل‌های غذایی و مواد دارویی استفاده می‌شود (Cui et al. 2012). کاروتنوئیدها در بدن ماهیان ساخته نمی‌شود و ماهیان باید آن را از طریق جیره غذایی دریافت کنند. جذب کاروتنوئیدها در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است و معمولاً در روده میانی و انتهایی انجام می‌شود. همچنین، قابل ذکر است که کاروتنوئیدها مانند بتاکاروتن در بافت‌هایی مانند پوست، ماهیچه و کبد ذخیره می‌شوند (Foss et al. 1987). بتاکاروتن علاوه بر این که پیش‌ساز ویتامین A است، دارای خواص ضد اکسایشی است که به همین دلیل افزودن آن می‌تواند سبب بهبود وضعیت ضد اکسایشی شود (Paiva et al. 1999). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر تأثیر بتاکاروتن در جلوگیری از واکنش‌های پراکسیده شدن در عضله گزارش شده است که در نهایت، بهبود کیفیت گوشت را در پی دارد (Foss et al. 1987).

استفاده از بتاکاروتن در جیره غذایی به‌طور چشم‌گیری میزان رشد و وزن‌گیری را در گونه‌های مختلف ماهیان از جمله ماهی تیلاپیا افزایش می‌دهد (Hu et al. 2006). همچنین، در تحقیقی دیگر گزارش شده است که مصرف بتا کاروتن و پلی-فنول‌های چای سبز با کاهش میزان مالون دی آلدهید در زمان‌های مختلف پس از صید در حفظ کیفیت و جلوگیری از اکسایش چربی‌های بافتی در ماهی کیلکا (*Clupeonella cultriventris*) نقش مفیدی داشته است (اجاق، ۱۳۸۹).

از آنجا که قیمت تمام شده استفاده از رنگدانه‌های مصنوعی در جیره ماهیان بسیار بالاست و در برخی موارد مقرون به صرفه نیست و همچنین، به دلیل وجود برخی ملاحظات پیرامون استفاده از افزودنی‌های شیمایی در جیره آبزیان، استفاده از رنگدانه‌های گیاهی به جای رنگدانه‌های مصنوعی از نظر اقتصادی مناسب‌تر به‌نظر می‌رسد. هویج به دلیل ارزان بودن، فراوانی زیاد و وجود مقدار قابل ملاحظه‌ای از کاروتنوئیدها در آن، گزینه مناسبی برای جایگزینی آستازانتین‌های وارداتی و جلوگیری از خروج ارز از کشور است. اگرچه تأثیر استفاده از هویج در ایجاد رنگ در ماهی به اثبات رسیده است اما تحقیق جامعی در خصوص تأثیر آن بر شاخص‌های خونی در دست نیست. نتایج تحقیق حاضر، ضمن گسترش استفاده مؤثرتر از رنگدانه‌های طبیعی به‌دست آمده از منابع کشاورزی به جای منابع مصنوعی در صنعت آبزی‌پروری، با بهبود کیفیت شاخص‌های خونی ماهی، بهبود عملکرد تکثیر و پرورش را در پی خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

استخراج کاروتنوئید کل از هویج

استخراج و اندازه‌گیری مقدار کاروتنوئید کل از هویج از روش اسپکتروفتومتری مدل XD 7500 کمپانی Aqualytic مطابق با روش Carvalho و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد. به این منظور پس از آماده‌سازی نمونه، در یک هاون چینی ۰/۲ گرم از پودر هویج به همراه ۱۵ میلی‌لیتر استون (با خلوص ۸۰٪) ساییده شده و سپس از کاغذ صافی عبور داده می‌شوند تا میزان جذب آن در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت شده و

سپس با استفاده از رابطه زیر مقدار کاروتنوئید کل محاسبه شد:

$$\text{کل کاروتنوئید}\left(\frac{\mu g}{g}\right) = \frac{A \times V \times 10^4}{A_{1\,cm}^{1\%} \times P}$$

که در آن A میزان جذب نمونه، V حجم کل عصاره (بر حسب میلی‌لیتر)، P وزن نمونه (بر حسب گرم) و نیز ضریب ثابت $A_{1\,cm}^{1\%}$ معادل عدد ۲۵۹۲ است. سپس، مقدار مورد نیاز عصاره بر اساس تیمارها، محاسبه، و عصاره‌گیری توسط دستگاه سوکسله (مدل SOX 406) و حلال اتانول انجام می‌شود.

روش تهیه جیره غذایی

در این تحقیق از ۶ جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف کاروتنوئید هویج برای تیمارهای مختلف استفاده شد (جدول ۱). غذای پایه به عنوان شاهد بر اساس جیره پیشنهادی صابر و همکاران (۱۳۸۴) تهیه شد. سپس، جیره‌های مختلف با افزودن مقادیر متفاوت کاروتنوئید هویج به میزان ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای پایه به جای ماسه بادی (به عنوان پرکننده) به‌دست آمد (جدول ۱). به همین دلیل، بجز مقدار کـاروتنوئید، تفاوتی بین جیره‌های مختف وجود نداشت. مقدار پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر جیره‌های غذایی بر اساس روش AOAC (AOAC, 1990) مشخص شد.

جدول ۱ ترکیب جیره غذایی استفاده شده ماهی آزاد دریای خزر *Salmo caspius*.

ترکیبات	گروه شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
پودر ماهی	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴
کنجاله سویا	۸	۸	۸	۸	۸	۸
آرد گندم	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴
روغن ماهی	۷	۷	۷	۷	۷	۷
آب پنیر خشک شده	۳	۳	۳	۳	۳	۳
پودر گاماروس	۲	۲	۲	۲	۲	۲
* افزودنی	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵
**پرکننده	۴/۱	~ ۴/۱	~ ۴/۱	~ ۴/۱	~ ۴/۱	~ ۴/۱
کاروتنوئید (میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا)	۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰
نتایج تجزیه تقریبی جیره خشک						
پروتئین	۵۰/۳ ± ۲/۳	۵۰/۴ ± ۲/۴	۵۰/۳ ± ۲/۵	۵۰/۵ ± ۲/۲	۵۰/۴ ± ۲/۱	۵۰/۴ ± ۱/۲
چربی	۱۴/۹ ± ۱/۵	۱۴/۸ ± ۱/۴	۱۵/۱ ± ۱/۷	۱۴/۷ ± ۱/۱	۱۴/۸ ± ۱/۶	۱۴/۸ ± ۱/۵
رطوبت	۵/۵۹ ± ۰/۱	۵/۶ ± ۰/۴	۵/۶۲ ± ۰/۳	۵/۶۳ ± ۰/۶	۵/۶۵ ± ۰/۵	۵/۶۵ ± ۰/۳
خاکستر	۱۷/۴۱ ± ۱/۳	۱۷/۴۳ ± ۱/۴	۱۷/۴۲ ± ۱/۱	۱۷/۴۴ ± ۱/۲	۱۷/۴۳ ± ۱/۶	۱۷/۴۳ ± ۱/۲
کاروتنوئید (میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا)	۰	۴۱/۳۴ ± ۲/۳	۸۲/۸۶ ± ۴/۴	۱۲۳/۶ ± ۷/۲	۱۸۴/۵ ± ۷/۶	۲۰۵/۷ ± ۸/۳

*مواد افزودنی شامل ۲٪ مخلوط ویتامین‌ها (K، B12، B6، B2، B1، K3، E، D3، A، نیاسین، اسید فولیک و بیوتین)، ۲٪ مخلوط مواد معدنی (کبالت، ید، سانیم، روی، آهن، مس و منگنز)، ۱٪ کلسیم، ۰/۳٪ کولین کلراید، ۰/۱۸٪ ویتامین ث و ۰/۰۲٪ آنتی‌اکسیدان بود.

**از ماسه بادی به عنوان پرکننده استفاده شد.

مواد اولیه برای تولید جیره غذایی تهیه، و ترکیبات مختلف بر اساس جدول ۱ توسط ترازوی الکترونیک توزین و سپس کاروتنوئیدهای استحصالی از هویج در ۱۰ میلی‌لیتر از روغن سویا حل، و سپس بر روی غذا افشانه شد. خمیر ایجاد شده

توسط دستگاه پلت‌ساز به پلت تبدیل و تا زمان استفاده در فریزر در دمای ۱۸- سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه بچه ماهی

در این تحقیق ۳۰۰ قطعه بچه ماهی آزاد دریای خزر *Salmo caspius* تهیه و به مدت ۲ ماه از آذر ماه ۹۹ لغایت بهمن ماه ۹۹ بررسی و آزمایش شد. برای این منظور پس از طی مرحله سازگاری و اطمینان از سلامت آنها، بچه ماهی‌ها با میانگین وزنی ۰/۱ ± ۴۲ گرم و میانگین طول کل ۰/۵۵ ± ۱۸ سانتی متر و میانگین طول چنگالی ۰/۵ ± ۱۶/۵ سانتی متر شمارش، و با تراکم ۵۰ قطعه در هر مخزن، ماهیان به ۶ مخزن ۱۰۰۰ لیتری منتقل شدند.

غذادهی

برای یک دوره دو ماهه (۶۰ روزه) مقدار غذای هر تیمار محاسبه، و برای تعیین میزان غذای روزانه، وزن زی‌توده هر مخزن تعیین شد. مقدار زی‌توده از حاصل ضرب تعداد ماهیان در متوسط وزن آنها در هر مخزن به دست آمد و با تقسیم ۲٪ زی‌توده بر سه که تعداد وعده‌های غذایی (۱۰ صبح، ۱۴ و ۱۸ بعداز ظهر) است، مقدار غذای مصرفی در هر وعده برای ماهیان هر مخزن محاسبه، و ماهیان تغذیه شدند. در طی دوره، فراسنجه‌های فیزیکوشیمایی آب اندازه‌گیری شد. برای هوادهی و تأمین نیاز اکسیژنی ماهی‌ها، به هر یک از مخازن دو سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب شد. دمای مخازن با استفاده از دماسنج جیوه‌ای ساعت ۱۰ صبح هر روز اندازه‌گیری شد. pH، اکسیژن و میزان شوری نیز به طور روزانه سنجش شد.

سنجش فراسنجه‌های خونی

برای سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی مانند گلوکز، کورتیزول، آلکالین فسفاتاز، پروتئین تام، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و لیزوزیم، غذادهی ماهیان یک روز قبل از مرحله خون‌گیری پایان یافت و سپس در هر مرحله تکرار، سه ماهی به صورت تصادفی انتخاب، و پس از آن که به کمک محلول گل میخک با دوز ppm ۱۵۰ (قبادی و همکاران، ۱۳۸۸) بیهوش شدند. از محل سیاهرگ ساقه دمی آنها خون‌گیری به عمل آمد. پس از آن نمونه‌های خون جمع‌آوری شده برای جداسازی سرم به ویال‌های دارای ماده ضدانعقاد خون (هپارین) انتقال داده شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مرحله جداسازی سرم از خون، از دستگاه سانتریفیوژ (مدل CENTRIC CF 48/-R) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. پس از جداسازی گلبول‌های قرمز خون، پلاسما به ویال‌ها منتقل، و نمونه‌ها در دمای (۱۸- ^{o}C) فریز شدند (Harikrishnan et al. 2012) و بعد از این مرحله به منظور انتقال به آزمایشگاه در ظرف حاوی یخ خشک قرار گرفتند.

مقدار پروتئین سرم بر اساس روش پیشنهادی Burtis و همکاران (۱۹۹۴)، گلوکز بر اساس روش پیشنهادی Trinder (۱۹۶۹)، کورتیزول بر اساس روش توصیه شده Pickering و همکاران (۱۹۸۳)، آلکالین فسفاتاز توسط پارانیتروفنیل فسفات بر اساس روش پیشنهادی Fettman و همکاران (۱۹۹۷)، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز بر اساس روش Liu و همکاران (۲۰۱۶) و ارزیابی فعالیت لیزوزیم نمونه‌ها بر اساس روش گزارش شده توسط Ellis (۱۹۹۰) سنجش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. کلیه داده‌های مربوط به بخش شاخص‌های زیستی درصدی به صورت $\arcsin\sqrt{x}$ تبدیل شدند. پس از برقراری دو شرط اصلی آزمون‌های تجزیه واریانس (نرمال بودن داده ها و همگن بودن واریانس)، برای مقایسه واریانس بین تیمارها و مشاهده وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها (در سطح اعتماد ۹۵٪) به ترتیب از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و آزمون دانکن به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۵ استفاده شد. همچنین، نمودارها به کمک نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ رسم شدند. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شدند.

نتایج

در مطالعه حاضر، استفاده از سطوح مختلف پودر هویج و تأثیر آن روی فراسنجه‌های خـونی مرتبط با سلامتی ماهی آزاد دریای خزر شامل لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپارتات آمینوترانسفراز، گلوکز، پروتئین تام و کورتیزول سرم انجام شد که نتایج، اختلافات معنی‌داری را در تیمارهای مختلف نشان داد (p<۰/۰۵).

نتایج نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین میزان لیزوزیم سرم خون ماهیان در پایان دوره پرورش در تیمار دو و گروه شاهد به‌ترتیب ۳/۶۱ ± ۵۱ و ۲/۵۲ ± ۴۰/۶۷ واحد در میلی‌لیتر مشاهده شد. همچنین، جدول آنالیز واریانس لیزوزیم ماهیان نشان داد که پودر هویج در میزان لیزوزیم سرم خونی ماهیان مؤثر بود (جدول ۲).

نتایج حاصله میزان آلکالین فسفاتاز ماهیان در ابتدا و انتهای دوره پرورش در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). همچنین بیشترین و کمترین این شاخص در پایان دوره پرورش به ترتیب در تیمار یک (۱۹/۴ ± ۲۴۹/۶۷) و تیمار دو (۱۶/۸ ± ۱۷۲/۶۷ واحد در لیتر) مشاهده شد. جدول آنالیز واریانس آلکالین فسفاتاز ماهیان نشان می‌دهد که پودر هویج و آستازانتین در میزان آلکالین فسفاتاز سرم خونی ماهیان مؤثر بوده است.

نتایج حاصل از میزان آلانین آمینوترانسفراز ماهیان نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها موجود است (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین این شاخص در پایان دوره پرورش به ترتیب در تیمار دو (۲/۵۲ ± ۲۷/۳۳ واحد در لیتر) و تیمار سه (۲/۰۸ ± ۱۴/۳۳ واحد در لیتر) مشاهده شد (جدول ۲). جدول آنالیز واریانس آلانین آمینوترانسفراز ماهیان نشان می‌دهد که پودر هویج و آستازانتین در میزان آلانین آمینوترانسفراز سرم خونی ماهیان مؤثر بود. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از پودر هویج میزان آلانین آمینوترانسفراز خون ماهی آزاد را کاهش می‌دهد (شکل ۳). تیمارهای مختلف، کمترین میزان آلانین آمینوترانسفراز خون را پس از گروه شاهد به خود اختصاص داده‌اند (p<۰/۰۵) که نشان می‌دهد استفاده از پودر هویج به تنهایی باعث کاهش آلانین آمینوترانسفراز خون شده است (جدول ۲).

جدول ۲ نتایج فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهیان در انتهای دوره پرورش.

فراسنجه‌ها / تیمارها	لیزوزیم (U/L)	آلکالین فسفاتاز (U/L)	آلانین آمینوترانسفراز (U/L)	آمینوتزانسفراز (U/L)	گلوکز (mg/dL)	پروتیئن تام (g/dL)	کورتیزول (ng/mL)
شاهد	۴۰/۶۷ ± ۲/۵۲^{a}	۲۴۴ ± ۵/۵۷^{a}	۲۷/۳۳ ± ۲/۵۲^{a}	۴۵۵ ± ۳۶/۰۶^{a}	۲۱۱ ± ۱۱/۵۳^{a}	۳/۴۱± ۰/۱۸^{a}	۵۰ ± ۷^{a}
تیمار ۱	۴۸/۶۷ ± ۳/۷۹^{b}	۲۴۹/۶۷ ± ۱۹/۴۰^{a}	۱۸/۶۷ ± ۲/۰۸^{b}	۳۳۳ ± ۳۰/۷۹^{b}	۲۰۲/۶۷ ± ۶/۵۱^{a}	۳/۷۵ ± ۰/۱۸^{a}	۴۱/۶۷ ± ۲/۵۲^{a}
تیمار ۲	۵۱ ± ۳/۶۱^{b}	۱۷۲/۶۷ ± ۱۶/۸۰^{b}	۱۶/۳۳ ± ۱/۵۳^{b}	۲۹۴ ± ۲۸/۴۸^{b}	۱۹۱/۳۳ ± ۵۸/۷۷^{b}	۳/۹۹ ± ۰/۰۹^{a}	۲۶/۶۷ ± ۴/۰۴^{b}
تیمار ۳	۴۸/۳۳ ± ۲/۵۲^{b}	۱۷۲/۶۷ ± ۱۷/۵۰^{b}	۱۴/۳۳ ± ۲/۰۸^{b}	۳۳۸ ± ۳۱/۱^{b}	۱۸۱ ± ۱۹/۳۱^{b}	۲/۳۹ ± ۰/۳۱^{b}	۳۳/۳۳ ± ۳/۰۶^{b}
تیمار ۴	۴۸/۳۳ ± ۲/۵۲^{b}	۲۴۶/۶۷ ± ۱۷/۵۰^{a}	۱۴/۳۳ ± ۲/۰۸^{b}	۳۸۵/۶۷ ± ۳۱/۱^{ab}	۲۰۸/۶۷ ± ۱۹/۳۱^{a}	۲/۲۲ ± ۰/۳۱^{b}	۴۶/۰۰ ± ۳/۰۶^{a}
تیمار ۵	۴۴/۶۷ ± ۱/۵۳^{ab}	۲۳۴ ± ۱۳/۴۵^{a}	۱۵/۳۳ ± ۲/۰۸^{b}	۴۰۶/۶۷ ± ۲۰/۲۱^{ab}	۱۸۷ ± ۱۹/۵۲^{b}	۳/۱۹ ± ۰/۰۴^{a}	۲۹ ± ۱^{b}

حروف هم نام نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است (p>۰/۰۵).

نتایج حاصل از میزان آمینوترانسفراز ماهیان نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین این شاخص در پایان دوره پرورش به ترتیب در گروه شاهد (۳۶/۰۶ ± ۴۵۵) و تیمار دو (۲۸/۴۸ ± ۲۹۴ واحد در میلی‌لیتر) مشاهده شد. جدول آنالیز واریانس آمینوترانسفراز ماهیان نشان می‌دهد که پودر هویج در میزان آمینوترانسفراز سرم خونی ماهیان مؤثر بوده است. با توجه به نتایج مشخص شد که استفاده از پودر هویج میزان آمینوترانسفراز خون ماهی آزاد دریای خزر را کاهش می‌دهد (جدول ۲). گروه شاهد بیشترین میزان آمینوترانسفراز خون را به خود اختصاص داد (p<۰/۰۵) که نشان می‌دهد استفاده از مقادیر مختلف پودر هویج در جیره غذایی ماهی آزاد به تنهایی باعث کاهش میزان آمینوترانسفراز خون شده‌اند.

نتایج مربوط به میزان گلوکز ماهیان در انتهای دوره پرورش در جدول ۲ مشاهده می‌شود. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). همچنین، بیشترین و کمترین این شاخص در پایان دوره پرورش به‌ترتیب در گروه شاهد (۱۱/۵۳± ۲۱۱/۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر) و تیمار چهار (۱۹/۳۱± ۱۸۱/۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر) مشاهده شد. جدول آنالیز واریانس گلوکز ماهیان نشان می‌دهد که پودر هویج در میزان گلوکز سرم خونی ماهیان مؤثر بوده است. در این مطالعه نتایج مشخص کرد که استفاده از پودر هویج میزان گلوکز خون در ماهی آزاد را نسبت به گروه شاهد کاهش داده است. همان طور که در شکل ۵ مشخص است، تیمار سه کمترین میزان گلوکز خون را به خود اختصاص داد (p<۰/۰۵).

نتایج مربوط به میزان پروتئین تام ماهیان نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین سطوح تیمارها وجود دارد (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین این شاخص در پایان دوره پرورش به ترتیب در تیمار دو (۰/۰۹ ± ۳/۹۹ گرم در دسی لیتر) و تیمار چهار (۰/۳۱ ± ۲/۲۲ گرم در دسی لیتر) مشاهده شد. جدول آنالیز واریانس پروتئین تام ماهیان نشان می‌دهد که پودر هویج در میزان پروتئین تام سرم خونی ماهیان مؤثر بوده است. در این مطالعه، نتایج مشخص کرد که استفاده از پودر هویج به تنهایی در جیره غذایی ماهی آزاد بر میزان پروتئین تام خون در ماهی آزاد اثر داشته است. همان طور که در شکل ۶ مشخص است، تیمار دو بیشترین میزان پروتئین تام خون را به خود اختصاص داده است (p<۰/۰۵).

تعیین میزان فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهیان در انتهای دوره پرورش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین سطوح تیمارها موجود است (p<۰/۰۵). بیشترین و کمترین کورتیزول در پایان دوره پرورش به ترتیب در گروه شاهد (۷ ± ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) و تیمار دو (۴/۰۴ ± ۲۶/۶۷ نانوگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد.

بحث

بررسی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و خونی اطلاعات مفیدی در خصوص وضعیت سلامتی بسیاری از جانوران از جمله ماهیان در اختیار می‌گذارد (Bani and Haghi Vayghn, 2011). مشخص کردن فراسنجه‌های بیوشیمیایی و یاخته‌ای خون یکی از روش‌های ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیک ماهی‌هاست، به این ترتیب که گونه‌های مختلف ماهی دارای الگوی خونی ویژه‌ای هستند و بررسی جداگانه فراسنجه‌های خونی و سرمی آن‌ها می‌تواند اطلاعات مهمی از خصوصیات فیزیولوژیک گونه‌های مختلف ماهی را نشان دهد (Hued and Bistoni, 2002). فراسنجه‌های خونی و سرمی ماهی، با پاسخ ماهی به محیط و تأثیری که محیط می‌تواند بر روی خصوصیات هماتولوژیک ماهی بگذارد، ارتباط نزدیک دارد. شاخص‌های بیوشیمیایی خون در پاسخ ماهی‌ها در شرایط نامساعد مؤثر بوده و می توانند اطلاعات مهمی را برای تشخیص در شرایط غیر استاندارد فراهم کنند (Gabriel et al. 2004). آستازانتین یکی از مهم‌ترین منابع کاروتنوئیدی در آبزی‌پروری است و مصرف آن در حال گسترش است. لیزوزیم یکی از فراسنجه‌های دفاع ذاتی با اهمیت بوده و همچنین یکی از آنزیم‌های باکتری‌کش مهم ایمنی ذاتی است که در زمان عفونت با باکتری گرم مثبت و در شرایط استرس‌زا به عنوان یک پروتئین فاز حاد عمل می‌کند و نقش آن در مبارزه با عفونت‌های مختلف ماهیان در مطالعات مختلف گزارش شده است (Swain and Nayak, 2009). مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پودر هویج در جیره غذایی باعث افزایش معنی‌دار و قابل ملاحظه

فعالیت لیزوزیم در مقایسه با دیگر تیمارها و شاهد می‌شود. فعالیت لیزوزیم در تمام تیمارها افزایش معنی‌داری را نشان داد که با نتایج به دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی گربه ماهی زرد (Liu et al. 2016) و ماهی شبه شوریده (*Pseudosciaena crocea*) (Niu et al. 2013) هم‌خوانی داشت. کاهش فعالیت لیزوزیم در تیمارهای تغذیه شده با آستازانتین نسبت به تیمارهای دارای پودر هویج حاکی از آن است که آستازانتین دارای خواص ضد باکتری، ضد التهابی و ضداکسایشی قوی‌تری در مقایسه با فعالیت لیزوزیم است (Li et al. 2014)، هر چند که عواملی مانند وضعیت فیزیولوژیک ماهی و احتیاجات غذایی مختلف بر فعالیت لیزوزیم تأثیرگذار است و تحقیقات وسیع‌تری در این زمینه لازم به‌نظر می‌رسد.

آلکالین فسفاتاز یک آنزیم هیدرولاز است که وظیفه حذف گروه‌های فسفات از انواع مولکول‌ها مانند نوکلئوتیدها و پروتئین‌ها را دارد. با توجه به همین نکته، پس با تغییر سطح هورمون‌های گنادوتروپینی و تخمدانی پس از تحریک تخمک‌سازی، تغییر میزان آلکالین فسفاتاز در فعالیت آنزیم‌ها محتمل است. معمولاً محل اصلی فعالیت تخمدان سلول‌های تکای فولیکول‌هاست. همچنین، آنزیم آلکالین فسفاتاز نقش مهمی در تنظیم برخی از عملکردهای اساسی موجودات زنده بازی می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از تیمارها در جیره غذایی ماهی آزاد منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتار شد و میزان فعالیت این آنزیم در بین تمام تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان دادند که با نتایج حاصل از گزارش‌های مربوط به گربه ماهی تغذیه شده با ۸۰ میلی‌گرم آستازانتین به ازای کیلوگرم غذای مصرفی هم‌خوانی داشت (Liu et al. 2016). همچنین، مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از آستازانتین در جیره غذایی به‌خصوص غلظت‌های مختلف آستازانتین با پودر هویج در جیره‌های غذایی منجر به بهبود میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌شود. همچنین، نتایج این تحقیق با تحقیقات محمد نژاد شموشکی و همکارن (۱۳۹۱) با بررسی اثر دیازینون بر میزان آلکالین فسفاتاز در مولدین ماهی سفید نر مطابقت نداشت. همچنین، Banaee و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی سطوح مختلف سم دیازینون روی ماهی کپور مشاهده کردند که تغییر معنی‌داری در میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز ایجاد نشده است.

آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در میتوکندری حیوانات آبزی حضور داشته و سطح فعالیت آنها برای تشخیص عملکرد هضم و آسیب‌های کبد ماهی شاخص مهمی محسوب می‌شود (Liu et al. 2016). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در تیمارهای غذایی کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد که با نتایج به دست آمده توسط Liu و همکاران (۲۰۱۶) هم‌خوانی داشت. آنها نشان دادند که استفاده از ۸۰ میلی‌گرم آستازانتین در کیلوگرم غذا در جیره غذایی گربه ماهی کانالی منجر به کاهش معنی‌دار این آنزیم شد. Nakano و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که استفاده از آستازانتین در جیره غذایی منجر به کاهش قابل ملاحظه فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز خون ماهی آزاد در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

فعالیت آنزیم آمینوترانسفراز خون ماهی آزاد در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را بعد از شروع پرورش در تیمارهای تغذیه شده با ترکیبات متفاوت پودر هویج، در مقایسه با گروه شاهد نشان داد که با نتایج به دست آمده از تحقیقات Nakano و همکاران (۱۹۹۹) و Liu و همکاران (۲۰۱۶) هم‌خوانی نداشت. کاهش فعالیت آنزیم‌های آلانین‌آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز در تیمار تغذیه شده، حاکی از آن است که استفاده از سطوح مختلف پودر هویج باعث سلامت ماهی می‌شود.

در مورد میزان قند خون، نتایج تطابق خوبی با گزارش‌های انجام شده توسط Tso و همکاران (۱۹۹۶) داشت به گونه‌ای که با استفاده از آستازانتین که منجر به کاهش قند خون می‌شود، از بروز بیماری دیابت جلوگیری شد و در این بررسی، استفاده از پودر هویج کاهش گلوگز خون را نیز در پی داشت. خواجه و پیغان (۱۳۸۶) میزان قند خون قزل‌آلای رنگین کمان پرورش یافته را بین ۶۳۳ تا ۱۲۹۳ میلی‌گرم در لیتر گزارش کردند. در مطالعه Benfey و Biron (۲۰۰۰) میزان گلوکز پلاسمای خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دیپلوئید و تریپلوئید ۲۴ ماهه را به ترتیب ۱۵۲/۲ و ۹۷/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و میزان گلوکز پلاسمای قزل‌آلای

رنگین‌کمان جویباری دیپلوئید و تریپلوئید ۱۸ ماهه را به ترتیب ۱۰۴/۲ و ۹۶/۵ میلی‌گرم در دسی لیتر گزارش کرده‌اند که دارای تشابهات و تفاوت‌هایی با نتایج مطالعه حاضر است. میزان گلوکز خون به نوع تغذیه، سن، استرس، گونه و فعالیت ماهی بستگی دارد (Rehulka, 1998). برخی از محققان معتقدند که بررسی سطح گلوکز خون برای ارزیابی ماهیان در شرایط استرس، شاخص مهمی محسوب می‌شود (Hsieh et al. 2003). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که تغییرات میزان گلوکز خون در بین تیمارها معنی‌دار است و میزان گلوکز خون در تمام تیمارها کاهش می‌یابد که با تحقیق Xie و همکاران (۲۰۰۸) هم‌خوانی نداشت. همچنین، کمترین میزان گلوکز خون در تیمار تغذیه شده با ۱۵۰ میلی‌گرم پودر هویج (تیمار ۴) در غذا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت و با نتایج به‌دست آمده از تحقیق Liu و همکاران (۲۰۱۶) هم‌خوان بود.

پروتئین موجود در سرم باعث ثبات فشار اسمزی، pH، انتقال بیلی‌روبین، اسیدهای چرب، فسفاتید و کلسترول می‌شود (Liu et al. 2016). پروتئین پلاسما فراسنجه وابسته‌ای است که برای ارزیابی فیزیولوژیک ماهی به‌کار می‌رود و ابزار کمکی تشخیصی به حساب می‌آید. همچنین، میزان پروتئین پلاسما، سلامتی ماهیان و وضعیت تغذیه‌ای را تعیین می‌کند. افزایش نسبتاً زیاد ایمنی ذاتی، به دلیل افزایش میزان پروتئین است. به عبارت دیگر، افزایش غلظت پروتئین تام ممکن است به علت واکنش‌های غیراختصاصی قوی‌تر در ماهی باشد (Svetina et al. 2002).

نتایج مطالعه‌ای که روی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان وحشی دریاچه پاروین انجام شد، نشان داد میزان پروتئین تام سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی بالاتر از گونه پرورشی آن است و علت آن را مصرف غذای طبیعی بیشتر توسط قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی و فعالیت بیشتر آن عنوان کرده‌اند (Barnhart, 1969). میزان پروتئین تام در ماهیان کوچک‌تر (انگشت قد) کمتر از ماهیان بزرگ‌تر است، به این معنی که هم‌زمان با رشد، میزان پروتئین تام سرم خون نیز افزایش می‌یابد. همچنین، میزان پروتئین کل سرم خون با افزایش سن زیاد می‌شود و این میزان به علت مصرف شدن در زمان تولیدمثل کاهش می‌یابد (Sano, 1960). یافته‌های تحقیق حاضر نیز نشان داد که میزان پروتئین کل سرم در تیمار شش (۱۰۰ ٪ پودر هویج) افزایش داشته است که نشان می‌دهد ماهیانی که در این تیمار پرورش یافته‌اند، می‌توانند در مواجهه با بیماری‌ها قوی‌تر عمل کنند. در مطالعه حاضر، تغییر مقدار پروتئین تام سرم در تیمارهای حاوی پودر هویج روند منظمی نداشت، یعنی با افزایش میزان پودر هویج، میزان پروتئین تام سرم خون ماهی آزاد کاهش یافت، به گونه‌ای که با افزایش میزان آن، مقدار پروتئین تام سرم کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر تأثیر آستازانتین تولید شده بر دستگاه ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه شد که با به دست آوردن نتایج مثبت، استفاده از آن در جیره غذایی عملی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأکید شده است (Thompson et al. 1995) در مطالعه‌ای دیگر Waagbo و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که وجود آستازانتین طبیعی، ضعف بینایی را در ماهیان آزاد کاهش خواهد داد.

افزایش سطح هورمون کورتیزول خون منجر به تولید قند و مصرف گلیکوژن کبد می‌شود. لذا به منظور تأمین انرژی در طی استرس، گلوکز خون به طور ناگهانی افزایش می‌یابد (Liu et al. 2016). افزایش غلظت کورتیزول خون تحت تأثیر شرایط استرس منجر به سرکوب ایمنی حیوانات آبزی می‌شود (Liu et al. 2016) که به نوبه خود فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون از قبیل فعالیت لیزوزیم و محتوای پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ماهی‌های پرورشی به‌طور مداوم تحت تأثیر استرس‌های مختلف مانند دمای محیط، تراکم، فراسنجه‌های فیزیکی و شیمیایی، حمل و نقل و ذخیره‌سازی قرار می‌گیرند (Oliveira et al. 2012; Liu et al. 2016). همانند دیگر مهره‌داران، استرس‌های محیطی تأثیر مهمی بر تعادل دینامیکی ماهی داشته و هنگامی که ماهی در طی دوره پرورش تحت تأثیر استرس‌های مختلف ذکر شده مداوم قرار گیرد، با تحریک محور بخش قشری کلیه-هیپوفیز-هیپوتالاموس سطح کورتیزول خون افزایش می‌یابد (Xie et al. 2008). لذا افزایش سطح کورتیزول خون را به عنوان سیگنال هوشمند در ماهی پرورشی می‌توان در نظر گرفت (Xie et al. 2008). نتایج حاصل از تحقیق حاضر، حاکی از آن بود که سطح کورتیزول خون ماهی آزاد در تمام تیمارها بیش از سطح کورتیزول خون ماهی گروه شاهد بود که با نتایج

حاصل از تحقیقات بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Xie et al. 2008) و گربه ماهی زرد (Liu et al. 2016) هم‌خوانی داشت. همچنین، سطح کورتیزول خون در تیمارهای تغذیه شده در تیمار پنج کاهش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد. Liu و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از ۸۰ میلی‌گرم آستازانتین بر کیلوگرم غذا منجر به کاهش معنی‌دار کورتیزول خون گربه ماهی زرد شد که با یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر تطابق داشت. این موضوع نشان می‌دهد که استفاده از پودر هویج در جیره غذایی ماهی آزاد به جای آستازانتین صناعی، سطح کورتیزول خون ماهی تحت استرس را بهبود می بخشد (Liu et al. 2016).

عوامل بیماری‌زا از جمله موانع تولید در صنعت آبزی‌پروری هستند که امروزه به منظور رفع این مشکل از محرک‌های دستگاه ایمنی استفاده می‌کنند و از آنجا که این محرک‌ها و تقویت کننده ها را می‌توان در برخی گیاهان دارویی یافت، به همین علت استفاده از آنها در صنعت آبزی‌پروری سبب بهبود تولید می‌شود (جایمند و همکاران، ۱۳۸۰). استفاده از انواع افزودنی‌های گیاهی برای بهبود فراسنجه‌های خونی، ارتقای شاخص‌های رشد و ایمنی ماهیان نیازمند انجام مطالعات بیشتر روی سنین مختلف گونه‌های ماهیان است تا بتوان تجزیه و تحلیل درستی نسبت به پژوهش‌های انجام شده داشت.

به طور کلی، ریشه تفاوت در نتایج مطالعات به عوامل مختلفی وابسته است، زیرا فراسنجه‌های سرمی تحت تأثیر تعداد زیادی از عوامل درونی و بیرونی مانند خصوصیات فیزیولوژیک، گونه و نژاد، اندازه، چرخه تولیدمثل، دمای آب، میزان سوخت و ساز، سن، استرس، شرایط محیطی و دوره‌های نوری، نوع مواد اولیه برای تهیه جیره‌های غذایی، کمیت و کیفیت آنها، وضعیت و رفتارهای تغذیه‌ای و روش استفاده در تعیین آن ها، نوع افزودنی گیاهی و ترکیب انواع اسانس‌های آن و میزان سطح مورد استفاده هستند (طاعتی و همکاران، ۱۳۹۴). به طور کلی در مطالعه حاضر مشخص شد که اگرچه آستازانتین باعث بهبود برخی شاخص‌های سلامتی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود، ولی کاروتنوئید کل هویج به دلیل آن که حاوی دیگر مکمل‌های غذایی است، نسبت به آستازانتین صناعی در بهبود این شاخص‌ها موثرتر است. در نهایت می‌توان اذعان داشت که با استفاده از نتایج این تحقیق می‌توان استفاده مؤثرتر از منابع رنگدانه‌های طبیعی به جای منابع متناظر ساخته شده را در صنعت آبزی‌پروری کشور گسترش داد تا ضمن بهبود سلامت ماهیان، آنها را از عوارض جانبی و احتمالی ترکیبات شیمیایی مصون داشت.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

اجاق، س.م. ۱۳۸۹. تاثیر استفاده از پوشش نگهدارنده کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین بر کیفیت و ماندگاری فیله سرد شده ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). رساله دکتری دانشگاه تربیت مدرس.

جایمند، ک.، میرزا، م.، جمزاد، ز.، وفاکر باهر، ز. ۱۳۸۰. بررسی اسانس پونه (*Mentha longifolia*). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ۱۱: ۹-۱.

خواجه، غ.، پیغان، ر. ۱۳۸۶. بررسی برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان پرورش یافته در استخرهای خاکی. تحقیقات دامپزشکی ۶۲: ۱۹۷-۲۰۳.

صابر، ع.، عابدیان کناری، ع.، سیف آبادی، س.ج. ۱۳۸۴. تاثیر سطوح متفاوت پروتئین و انرژی جیره غذایی بر رشد و ترکیب بدن ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). علوم و فنون دریایی ایران ۴: ۵۴-۴۵.

طاعتی، ر.، نوعی‌تعالی، ح. ۱۳۹۴. تعیین عملکرد رشد و برخی از فراسنجه‌های خونی و ایمنی بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با سطوح مختلف کارواکرول، آنتون و لیمونن. زیست‌شناسی دریا ۶: ۴۲-۳۵.

قبادی، ش.، متین فر، ع.، نظامی بلوچی، ش.، سلطانی، م. ۱۳۸۸. عملکرد مکمل آنزیمی آویزایم بر جایگزینی آرد ماهی با آرد سویا و تاثیر آن بر رشد و بازماندگی ماهی

قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبزی پروری (شیلات) ۳: ۱۱-۲۲.

محمدنژاد شموشکی، م.، سلطانی، م.، شریفپور، ع.، ایمان‌پور، م.ر.، بهارلویی، ا. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر غلظت‌های تحت حاد سم ارگانوفسفره دیازینون بر برخی از بافت‌های مولدین نر ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*. بهره برداری و پرورش آبزیان ۱: ۹۵-۸۳.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International. Washington DC, 1263 p.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei, G.R. 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry 37: 885-896.

Bani, A., Haghi-Vayghn, A. 2011. Temporal variations and haematological and biochemical idoicess of the Caspian Kutum. *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research 58: 126-133.

Barnhart, R.A. 1969. Effects of certain variables on hematological characteristics of rainbow trout. Transactions of the American Fisheries Society 98: 411-418.

Benfey, T.J., Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture 184: 167-176.

Cui, B., Liu, S., Wang, Q., Lin, X. 2012. Effect of β-carotene on immunity function and tumour growth in hepatocellular carcinoma rats. Molecules 17: 8595-8603.

De Carvalho, L.M.J., Gomes, P.B., de Oliveira Godoy, R.L., Pacheco, S., do Monte, P.H.F., de Carvalho, J.L.V., Nutti, M.R., Neves, A.C.L., Vieira, A.C.R.A., Ramos, S.R.R. 2012. Total carotenoid content, α-carotene and β-carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata Duch*): A preliminary study. Food Research International 47: 337-340.

de Oliveira, E.G., Pinheiro, A.B., de Oliveira, V.Q., da Silva Júnior, A.R.M., de Moraes, M.G., Rocha, Í.R.C.B., de Sousa, R.R., Costa, F.H.F., 2012. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. Aquaculture 370: 96-101.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme Assays: In Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., Van Muiswinkel, W.B. (Eds.). Techniques in Fish Immunology 1: 101-103.

Fettman, M.J., Stanton, C.A., Banks, L.L., Hamar, D.W., Johnson, D.E., Hegstad, R.L. and Johnston, S. 1997. Effects of neutering on body weight, metabolic rate and glucose tolerance of domestic cats. Research in Veterinary Science 62: 131-136.

Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. and Streiff, K. 1984. Carotenoids in diets for salmonids: I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. Aquaculture 41: 213-226.

Gabriel, U.U., Ezeri, G.N.O. and Opabunmi, O.O. 2004. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). African Journal of Biotechnology 3: 463-467.

Harikrishnan, R., Kim, J.S., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2012. Protection of Vibrio harveyi infection through dietary administration of *Pueraria thunbergiana* in kelp grouper, *Epinephelus bruneus*. Aquaculture 324: 27-32.

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.

Hu, Y.H., Liu, Y.J., Tian, L.X., Yang, H.J., Liang, G.Y., Gao, W. 2007. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus*). Aquaculture Nutrition 13: 291-297.

Hued, A.C., de los Ángeles Bistoni, M. 2002. Effects of water quality variations on fish communities in the Central Part of Argentina, South America. Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen, 28: 1476-1481.

Li, W., Li, X., Wang, Q., Pan, Y., Wang, T., Wang, H., Song, R., Deng, H. 2014. Antibacterial activity of nanofibrous mats coated with lysozyme-layered silicate composites via electrospraying. Carbohydrate Polymers 99: 218-225.

Liu, X., Yang, Q., Li, H., Jin, Z., Wu, W., Kizer, S., Zhou, D.K., Yang, P. 2016. Development of a fast and accurate PCRTM radiative transfer model in the solar spectral region. Applied Optics 55: 8236-8247.

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 1426: 119-125.

Niu, J., Wen, H., Li, C.H., Liu, Y.J., Tian, L.X., Chen, X., Huang, Z., Lin, H.Z. 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and β-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: 8-17.

Niu, S.F., Jin, Y., Xu, X., Qiao, Y., Wu, Y., Mao, Y., Su, Y.Q., Wang, J. 2013. Characterization of a novel piscidin-like antimicrobial peptide from *Pseudosciaena crocea* and its immune response to *Cryptocaryon irritans*. Fish & Shellfish Immunology 35: 513-524.

Paiva, S.A., Russell, R.M. 1999. β-carotene and other carotenoids as antioxidants. Journal of the American College of Nutrition 18: 426-433.

Pham, M.A., Byun, H.G., 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.

Pickering, A.A., Pottinger, T. 1983. Seasonal and diel changes in plasma cortisol levels of the brown trout, *Salmo trutta* L. General and Comparative Endocrinology 49: 232-239.

Řehulka, J. 1998. The blood indices of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aeromonas-induced ulcerous dermatitis. Acta Veterinaria Brno 67: 317-322.

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.

Svetina, A., Matašin, Ž., 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.

Swain, P., Nayak, S.K. 2009. Role of maternally derived immunity in fish. Fish & Shellfish Immunology 27: 89-99.

Thompson, I., Choubert, G., Houlihan, D.F., Secombes, C.J. 1995. The effect of dietary vitamin A and astaxanthin on the immunocompetence of rainbow trout. Aquaculture 133: 91-102.

Trinder, P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an

alternative oxygen acceptor. Annals of Clinical Biochemistry 6: 24-27.

Tso, M.O., Lam, T.T. 1996. Method of retarding and ameliorating central nervous system and eye damage. U.S. Patent 5: 527-533.

Waagbø, R., Hamre, K., Bjerkås, E., Berge, R., Wathne, E., Lie, Ø., 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: 213-229.

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.