

اثر رنگدانه گیاهی لوتین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگپذیری گوشت‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

چکیده

شايان قبادی*

الله خدابخش^۲

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، استادیار گروه شیلات، بابل، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشجوی دکتری بیولوژی دریا، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:

shgh_science@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۲۹
این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

در این تحقیق، اثر رنگدانه گیاهی لوتین بر فاکتورهای رشد، بقا و رنگپذیری گوشت‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با میانگین وزنی 87 ± 26 گرم، به مدت ۸ هفته مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل جیره‌های غذایی حاوی دوزهای ۱۶، ۱۴ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لوتین و جیره فاقد افزودنی به عنوان شاهد انجام شد. نتایج نشان داد بر اساس زیست‌ستجی‌های انجام شده در طی دوره پرورش، از نظر طول، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتین مشاهده نشد ($P > 0.05$). تیمارهای تغذیه شده با لوتین به طور معنی‌داری نسبت به شاهد دارای وزن و طول بیشتری بودند ($P < 0.05$). از نظر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقاء به جز فاکتور وضعیت (CF)، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتین دیده نشد ($P > 0.05$ ، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارها در تمام موارد ذکر شده به جز ضریب تبدیل غذایی (FCR)، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$). به طور کلی کمترین میزان FCR و CF و همین طور بیشترین میزان GR، BWI و بقاء مربوط به تیمار ۴ (حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتین در جیره غذایی) بوده است. از لحاظ رنگ‌پذیری بین تیمارهای آزمایشی، تیمار تغذیه شده با ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتین بیشترین تغییر رنگ را نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد ایجاد نمود. این نتایج نشان داد که استفاده از رنگدانه گیاهی لوتین در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر موثر و مناسب است.

وازگان کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*), لوتین، رشد، بقا، رنگ‌پذیری.

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان بومی کشور است (وثوقی و مستجبر، ۱۳۷۹). این گونه طی سال‌های اخیر در معرض انقراض قرار گرفته بود، به همین جهت تکثیر مصنوعی آن به منظور رهاسازی و بازسازی ذخایر طبیعی در مراکزی نظیر مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت در دستور کار قرار گرفت. در حال حاضر بهبود شرایط تکثیر این گونه امکان پرورش مصنوعی آن را فراهم نموده و از آن جا که این ماهی قیمت بالاتری نسبت به گونه‌های نزدیک به خود مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد، رویکرد قابل توجهی به امر پرورش آن از سوی پرورش‌دهندگان مشاهده می‌شود.

رنگ گوشت آزادماهیان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی آن است (Sigurgisladottir *et al.*, 1997). رنگ عضلات ماهی‌هایی که در محیط طبیعی تغذیه شده باشند، به علت بدست آوردن کاروتونوئیدهای طبیعی و تجمع آن در ماهیچه‌ها نارنجی است و این ویژگی عامل مهمی در بازاریابی و فروش مناسب آن‌ها محسوب می‌شود. امروزه استفاده از ترکیبات غذایی گیاهی به عنوان تولید رنگدانه کاربرد دارد و تحقیقاتی بر روی پتانسیل بکارگیری این مواد در حال انجام است (Gouveia *et al.*, 1997; Raymundo *et al.*, 2005). ماهی‌ها

توانایی سنتز کاروتونوئیدها را ندارند، بنابراین این ترکیبات می‌باشد به جیره غذایی آن‌ها اضافه شود (Goodwin, 1984). کاروتونوئیدها علاوه بر ایجاد رنگ در گوشت ماهیان، باعث بهبود شرایط رشد، افزایش توان سیستم ایمنی از طریق بالا رفتن تولید آنتی‌بادی، کاهش استرس، افزایش بقاء، افزایش کارابی تکثیر و ... می‌گردد.

لوئین رنگدانه گیاهی است که در عصاره گل همیشه بهار، علف و یونجه یافت می‌شود و به عنوان یک آنتی اکسیدان فعال در بافت‌های مختلف محسوب می‌گردد (Yeum and Russel, 2002). منابع غذایی حاوی لوئین شامل گیاهان سبز تیره، سبزیجات نشاسته دار، پوست تخم مرغ، میوه‌جات می‌باشد. این رنگدانه قابلیت جذب و تشبیث در عضله آزادماهیان را دارد (Welker *et al.*, 2001). لذا، در این تحقیق جایگزینی رنگدانه گیاهی با رنگدانه مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت. در حال حاضر از آستاگرانتین مصنوعی برای رنگپذیری آزاد ماهیان استفاده می‌شود، ولی اکنون می‌توان از کاروتونوئیدهای گیاهی برای این منظور استفاده کرد (Vernon Carer *et al.*, 1994; Yanar *et al.*, 1997).

تاکنون تحقیقات زیادی بر روی جوانب مختلف تاثیر رنگدانه‌ها بر ویژگی‌های رشد، بقاء، رنگپذیری، ایمنی و ... در آبزیان مختلف انجام شده است. به عنوان مثال زرین فر و ملایی در سال ۱۳۸۴ اثرات آستاگرانتین را بر روی رشد و کیفیت ظاهری قزل‌آلای رنگین‌کمان را بررسی و اعلام کردند که افزودن آستاگرانتین در اوخر دوره پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود رنگ گوشت‌ماهی می‌شود، هر چند در بحث افزایش وزن و طول هیچ گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. Bjerkeng و همکاران (۱۹۹۲)، طی تحقیقی بر روی تاثیر کاروتونوئیدها بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) اعلام کردند که رنگدانه‌ها در رشد و مقاومت در برابر بیماری‌ها و هورمون‌های جنسی موثرند و اثرات مثبت آستاگرانتین وابسته به فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشد. از سوی دیگر از آن‌جا که ممکن است انباشت رنگدانه‌های مصنوعی در بافت ماهیان موجب بروز خطراتی برای مصرف کنندگان گردد و همین‌طور با توجه به قیمت بالای این رنگدانه‌ها، رویکرد تحقیقات جدید به سوی یافتن رنگدانه‌های جایگزین و خصوصاً رنگدانه‌های گیاهی ارزان قیمت معطوف شده است. به عنوان مثال Gocer و همکاران (۲۰۰۶)، در تحقیقی اثرات فلفل قرمز، گل همیشه بهار و آستاگرانتین مصنوعی را بر روی رنگپذیری و رشد میگویی ببری سیاه و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر رنگدانه گیاهی لوئین بر رشد و فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان بقاء نشان داد. Talebi و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر رنگدانه گیاهی لوئین بر تاثیر مثبت این رنگدانه در جیره غذایی، تاثیر مثبتی بر فاکتورهای ذکر شده خواهد داشت. همچنین Talebi و همکاران (۲۰۱۳)، تاثیر فلفل دلمه‌ای قرمز را بر رشد، رنگپذیری بافت و فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که استفاده از این رنگدانه در جیره غذایی، تاثیر مثبتی بر فاکتورهای ذکر شده خواهد داشت. با این حال تاکنون تحقیقاتی بر روی تاثیر رنگدانه لوئین در جیره غذایی ماهی آزاد دریایی خزر انجام نشده است. لذا تحقیق حاضر با هدف دستیابی به یک جیره غذایی طبیعی مناسب از لحاظ سلامت و هزینه تولید و همین‌طور بررسی اثر رنگدانه لوئین بر روند رشد، تغذیه، بقاء و رنگپذیری ماهی آزاد دریایی خزر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۸ هفته و در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس $2 \times 2 \times 0.5$ متر به مدت ۵۶ روز، در مجتمع تحقیقاتی شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انجام شد. منبع تامین آب، آب چاه بود که پس از هوادهی به مدت ۲۴ ساعت در یک مخزن ذخیره، مورد استفاده قرار می‌گرفت. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب $16/37 \pm 0.5/2$ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول در آب معادل 0.41 ± 0.07 میلی‌گرم در لیتر و pH معادل 7.5 ± 0.33 بود. برای انجام تحقیق ۳۶۰ عدد ماهی آزاد دریایی خزر پرورشی پس از انتقال و سازگاری با محیط پرورش و غذای کنسانتره با میانگین وزنی 87 ± 0.36 گرم در ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار در غالب طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل با تراکم یکسان در تمامی تیمارها (۳۰ عدد به ازای هر استخراج) تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. جهت اطمینان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در

طول و وزن ماهیان توزیع شده در حوضچه‌های مختلف از برنامه آماری شاپیرو-ویلک(Shapiro-wilk) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی این تحقیق به صورت زیر بودند:

تیمار ۱: تیمار شاهد که از غذای تجاری معمولی تغذیه کردند.

تیمار ۲: مکمل شده با ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم لوئین

تیمار ۳: مکمل شده با ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم لوئین

تیمار ۴: مکمل شده با ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوئین (Talebi *et al.*, 2011)

ماهیان سه بار در روز و در ساعت‌های ۱۲ و ۱۶ غذاهی شدند. غذای مورد نیاز با توجه به وزن توده زنده اندازه‌گیری شده، پس از هر بار زیست‌سنجدی (هر دو هفته یکبار) محاسبه و در اختیار ماهیان قرار گرفت. رنگدانه لوئین مورد استفاده از شرکت آریا دالمن نماینده رسمی شرکت Biochem تهیه شد.

جیره مورد نظر بر اساس ۴۷ درصد پروتئین، ۱۳ درصد چربی و ۱۶/۲ کیلوژول بر گرم (Vernon Carter *et al.*, 1994) بوسیله نرم افزار UFFDA فرموله شد. برای تهیه جیره، ابتدا اقلام غذایی مطابق با جدول شماره ۱ توزین و رنگدانه لوئین به میزان مورد نظر در هر تیمار به اقلام خشک افزوده شد، سپس با افزودن روغن و آب و تهیه خمیر مناسب با کمک چرخ گوشت پلت مناسب تهیه و در خشک کن به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. آنالیز تقریبی جیره پایه در جدول ۲ قید شده است.

جدول ۱: درصد ترکیبات موجود در جیره پایه مورد استفاده در تحقیق.

درصد جیره	ترکیبات
۵۸	آرد ماهی ^۱
۵	آرد گندم ^۲
۹	کازائین ^۳
۷/۵	دکسترن ^۴
۸	روغن ماهی ^۱
۴	روغن سویا ^۲
۰/۵	کولین کلراید ^۲
۳	مکمل معدنی ^۳
۳	مکمل ویتامینی ^۴
۰/۴	آنٹی اکسیدان ^۵
۱/۶	بایندر ^۶

۱- از شرکت پارس کیلکا واقع در شهرک صنعتی شیلاتی میروド شهرستان بابلسر تهیه شد.

۲- از کارخانه خواراک دام و طیور و آبزیان زرین بالان شمال واقع در شهرک صنعتی رجه شهرستان بابل تهیه شد.

3- Unit kg-1 of diet: Fe, 4500 mg; Cu, 500 mg; Co, 50 mg; Se, 50 mg; Zn, 6000 mg; Mn, 5000 mg; I, 150 mg; choline. Mazandaran Livestock and Poultry Company.

4- Unit kg-1 of diet: Vitamin A, 1200000 IU; D3, 400000; E, 30 IU; K3, 1200mg; C 5400mg; H2, 200mg; 1,200mg; B2, 3600mg; B3, 7200mg; B5, 9000mg; B6, 2400mg; B9, 600mg; B12,4mg; antioxidant 500mg Career up to 1 kg. Mazandaran Livestock and Poultry Company.

5- Anti-oxidant: Butylated hydroxytoluene (BHT). Mazandaran Livestock and Poultry Company.

6- Binder: Amet Binder (Component: Crude Protein: 71.98%, Crude Fiber: 0.9%, Ash: 17.8%, Moisture: 9.55%).

اثر رنگدانه گیاهی لوتین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگپذیری گوشت‌ماهی / قبادی و خدابخش

جدول ۲: ترکیب تقریبی جیره پایه (درصد وزن خشک).

پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت	انرژی ناخالص * (g ⁻¹ . لکا)
۱۶/۳	۹/۳ ± ۰/۲	۸/۸ ± ۰/۲۱	۱۳/۱ ± ۰/۳۲	۴۷/۳ ± ۰/۸۱

*: انرژی ناخالص جیره بر اساس انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول)، هر گرم چربی (۳۹/۵ کیلوژول)، هر گرم کربوهیدرات (۱۷/۲ کیلوژول) محاسبه شد (NRC, 1993).

در طول دوره، هر ۱۴ روز یکبار کل ماهیان موجود در هر حوضچه مورد زیست‌سنگی قرار گرفته و پس از بیهوشی با استفاده از عصاره پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ قیمت در میلیون (مهرابی، ۱۳۷۸)، طول آن‌ها با خطکش میلی‌متری و وزنشان به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. همچنین همزمان با هر مرحله زیست‌سنگی، رنگ گوشت ماهی‌ها نیز با استفاده از SalmoFan™ مورد ارزیابی قرار گرفت. این وسیله دارای ۱۵ نمونه رنگ می‌باشد که به ترتیب از اعداد ۲۰ تا ۳۴ شماره‌گذاری شده‌اند (شکل ۱). برای انجام این کار پس از جدا کردن پوست از بدن ۳ عدد ماهی در هر تکرار، از گوشت کنار دنده برای تطابق رنگ استفاده شد (Talebi *et al.*, 2013). لازم به ذکر است ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنگی غذاده‌ی قطع می‌گردید.



شکل ۱: SalmoFan™

با استفاده از اطلاعات زیست‌سنگی ماهیان در طول دوره و در هر استخر، فاکتورهای رشد و تغذیه با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

- ضریب تبدیل غذایی (FCR) (Ronyai *et al.*, 1990)

$$FCR = F/(W_t - W_0)$$

F = مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی.

W₀ = میانگین بیوماس اولیه (گرم).

W_t = میانگین بیوماس نهایی (گرم).

- ضریب رشد ویژه (درصد در روز) (SGR) (Ronyai *et al.*, 1990)

$$SGR = (L_n W_t - L_n W_0) / t \times 100$$

W_0 = میانگین بیوماس اولیه (گرم)

W_t = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

T = تعداد روزهای پرورش.

- درصد افزایش وزن بدن (%BWI) (Hung *et al.*, 1989)

$$\%BWI = (Bwf - Bwi) / Bwi \times 100$$

Bwi = متوسط وزن اولیه در هر تانک.

Bwf = متوسط وزن نهایی در هر تانک.

GR(Hung *et al.*, 1989) - رشد روزانه (گرم در روز)

$$GR = (Bwf - Bwi) / n$$

Bwi = متوسط وزن اولیه در هر تانک.

Bwf = متوسط وزن نهایی در هر تانک.

n = تعداد روزهای پرورش.

- ضریب چاقی (CF یا K) (Hung and Lutes 1987,)

$$CF = (Bw / TL^3) \times 100$$

Bw = میانگین وزن نهایی بدن بر حسب گرم.

TL = میانگین طول کل نهایی بر حسب سانتی‌متر.

- درصد بازماندگی (Ai *et al.*, 2006)

$$\frac{\text{تعداد لاروهای موجود در پایان آزمایش}}{\text{تعداد لاروهای موجود در شروع آزمایش}} \times 100 = \text{درصد بازماندگی}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزارهای کامپیوتربی SPSS ۱۳ و Excel ۲۰۰۳ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری پس از کنترل همگن بودن داده‌ها، میانگین‌های بدست آمده از اندازه‌گیری وزن و طول و اعداد بدست آمده از طریق فرمول‌های تغذیه بهوسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه آنوا (One-way Anovar) و تست جداساز دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

نتایج مربوط به رشد نشان داد که پاسخ ماهیان در برابر غلظت‌های مختلف لوئین جیره متفاوت است. براساس زیست‌سنجهای انجام شده در طی دوره پرورش از نظر طول اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوئین مشاهده نشد ($P > 0.05$), اما میانگین وزن نهایی تیمارهای تغذیه شده با مقادیر بیشتر لوئین با تیمار حاوی کمترین دوز لوئین در جیره اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$), ضمناً تیمارهای تغذیه شده با لوئین به طور معنی‌داری نسبت به شاهد دارای وزن و طول بیشتری بودند ($P < 0.05$). (جدول ۳). تیمار شاهد، کمترین افزایش وزن (0.48 ± 0.48) و طول (0.27 ± 0.27) و تیمار ۳ (لوئین 16 میلی‌گرم در کیلوگرم)، بیشترین افزایش وزن (0.35 ± 0.35) و طول (0.38 ± 0.38) را بدست آوردند.

اثر رنگدانه گیاهی لوئین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگپذیری گوشت‌ماهی / قبادی و خدابخش

جدول ۳ : مقایسه میانگین وزن و طول کل در ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه لوئین در انتهای دوره پرورش (میانگین ± انحراف معیار).

تیمار	میانگین وزن کل (گرم)	میانگین طول کل (سانتی‌متر)
جیره شاهد	۱۵۴/۴۷ ± ۰/۴۸ ^a	۲۲/۴۲ ± ۰/۲۷ ^a
جیره حاوی لوئین دوز ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۶۹/۹۶ ± ۱/۵۱ ^b	۲۳/۶۳ ± ۰/۵۱ ^b
جیره حاوی لوئین دوز ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۷۶/۳۴ ± ۱/۳۵ ^c	۲۴/۳۷ ± ۰/۳۸ ^{bc}
جیره حاوی لوئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۷۵/۹۱ ± ۲/۴۲ ^c	۲۴/۳۷ ± ۰/۶۰ ^{bc}

حروف غیر همسان در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

اما از نظر شاخص‌های رشد و تغذیه و بقا بجز فاکتور وضعیت (CF) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوئین دیده نشد ($P > 0.05$)، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارها در تمام موارد ذکر شده بجز ضریب تبدیل غذایی (FCR) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد $\pm ۲/۲۸$ (BWI) ($P < 0.05$). بطور کل کمترین میزان FCR ($۰/۵۶ \pm ۰/۰۴$) و CF ($۲/۷۴ \pm ۰/۰۴$) و همینطور بیشترین میزان ($۰/۰۶ \pm ۰/۰۴$) (GR) و بقا ($۱/۵۲ \pm ۰/۳۶$) (حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوئین در جیره غذایی) بوده است.

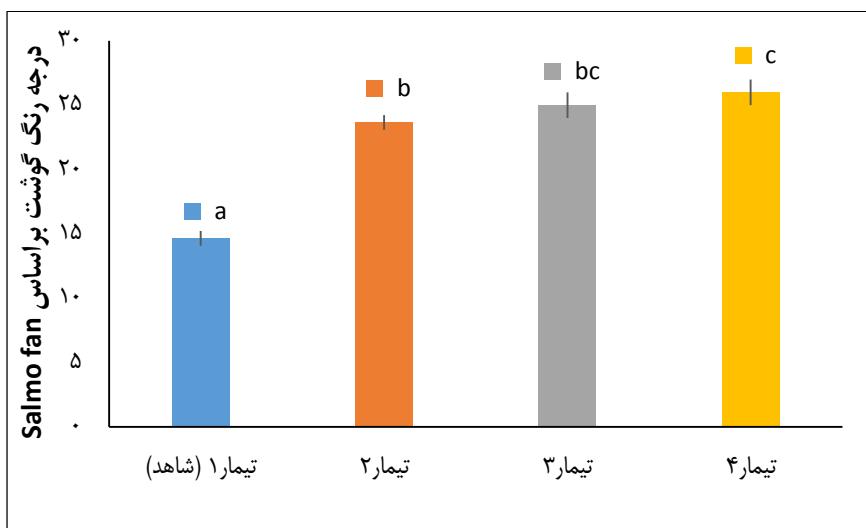
جدول ۴ : مقایسه میانگین عملکرد رشد، تغذیه و بقا در ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه لوئین در انتهای دوره پرورش (میانگین ± انحراف معیار).

تیمار	پارامترها	BWI (درصد)	FCR	SGR	GR	CF	بقاء (درصد)
جیره شاهد		± ۱/۶۲ ^a	± ۰/۲۱ ^b	± ۰/۳۸ ^a	± ۰/۱۱ ^a	± ۰/۵۷ ^a	± ۰/۱۰ ^c
جیره حاوی لوئین دوز ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۱۶/۰۲	۳/۱۵	۳۳/۱۲	۰/۹۱	۱/۱۶	۸۸/۳۳
جیره حاوی لوئین دوز ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۱/۲۹	۲/۸۶	۳۴/۸۱	۱/۳۵	۱/۱۲	۹۵/۳۳
جیره حاوی لوئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۳/۹۶	۲/۷۵ ± ۰/۰۵	۳۴/۳۰ ± ۰/۲۳	۱/۳۶	۱/۱۲	۹۶/۰۰
جیره حاوی لوئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۴/۱۳	۲/۷۴	۳۴/۲۱	۱/۳۶	۱/۰۶	۹۶/۳۳

حروف غیر همسان در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

از لحاظ رنگپذیری، نتایج نشان داد ماهیانی که از رنگدانه تغذیه کردند نسبت به تیمار شاهد، دارای تغییر رنگ بیشتری در گوشت‌شان بودند. با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین تغییر رنگ در پایان دوره مربوط به تیمار ۴ (حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوئین در جیره غذایی) بود که درجه رنگین بودن آن با توجه به SalmoFanTM ۱ ± ۲۶ بود و به ترتیب تیمار ۲ و ۳ با درجه رنگی شدن $۰/۵۷ \pm ۲۳/۶۶$ بودند.

و 1 ± 25 در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. این درحالی است که تیمار شاهد تا پایان دوره آزمایش بدون تغییر رنگ بود و حتی به پایین‌ترین درجه رنگ $0/57 \pm 14/66$ نیز نرسید (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میزان رنگین شدن گوشت ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspious*) تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه لوئین در انتهای دوره پرورش (میانگین \pm انحراف معیار).

بحث و نتیجه‌گیری

واضح است که رنگدانه‌های کاروتونوئیدی در ماهی آزاد یک نشانه طبیعی مهم از نظر زیست‌شناسی می‌باشد و بر بازارپسندی محصول نقش به سزاگی دارد. ماهی مانند حیوانات دیگر قادر به تولید کاروتونوئیدها نیست و در شرایط طبیعی این دسته از مواد را به وسیله غذای مصرفی شامل جلبک، سخت‌پوستان و نرم‌تنان غنی از کاروتونوئیدها تأمین می‌کند. بنابراین کاروتونوئیدها در شرایط پرورشی باید به صورت مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Wozniak, 1996).

میزان بقای بسیار بالا، رشد مناسب ماهیان و عدم تأثیرپذیری شاخص‌های عملکرد رشد و مصرف غذایی از جیره‌های غذایی در تحقیق حاضر، نشان داد که رنگدانه گیاهی لوئین اثرات منفی بر روی سلامتی ماهی آزاد دریای خزر نداشته و بر عکس تأثیر مثبت بروز می‌دهد. در این مطالعه بیشترین و کمترین میزان رشد به ترتیب در تیمار ۴ و تیمار شاهد مشاهده شد. از جمله علل احتمالی افزایش وزن می‌توان به اثر مثبت کاروتونوئیدها بر متabolism، تسریع هضم و جذب و افزایش بهره‌وری از مواد مغذی اشاره نمود (Tacon, 1981; Amar et al., 2001) و می‌توان نتیجه گرفت که کاروتونوئیدهای گیاهی باعث افزایش رشد در ماهیان می‌شوند که با یافته‌های Bjerkenge (۲۰۰۰)، Buyukcapar و همکاران (۲۰۰۷) و Harpaz و همکاران (۱۹۹۸) مشابه است. هرچند با یافته‌های Mehrabi و همکاران (۲۰۰۸) و Gocer و همکاران در سال ۲۰۰۶ که عدم تأثیر کاروتونوئیدهای گیاهی بر روی رشد را گزارش نمودند، مغایرت دارد. احتمالاً یکی از مهم‌ترین عوامل بهبود شرایط رشد در تحقیق حاضر، نقش مثبت این رنگدانه در بهبود شرایط ایمنی ماهیان می‌باشد. به طور کل رنگدانه‌ها بخاطر خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسب، سیستم ایمنی را تقویت کرده و باعث افزایش مقاومت می‌شوند که در نهایت موجب کاهش استرس و بقای بیشتر ماهیان و همین طور بهبود شرایط رشد می‌گردد. در تحقیق حاضر هم افزودن رنگدانه لوئین که حاوی مقداری بالایی از ویتامین A به عنوان آنتی‌اکسیدان می‌باشد، به جیره غذایی باعث افزایش بقا شد که با یافته‌های امانی تراو، Bjerkeng (۱۳۸۸) و همکاران (۱۹۹۶) مشابه است. Torrisen (۲۰۰۰) و همکاران (۱۹۹۶) مشابه است.

همچنین بیشترین رنگپذیری در تیمار ۴ دیده شد و می‌توان اظهار داشت که لوئین به عنوان کاروتونوئیدی گیاهی به دلیل وجود ویتامین و کاروتون در خود باعث افزایش رنگدانه ذخیره شده در بافت ماهی آزاد دریای خزر می‌گردد. نتایج تحقیقات Welker و همکاران در سال ۲۰۰۱ هم به طور مشابه نشان داد که در بافت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با جیره حاوی رنگدانه Schiedt لوئین و فاقد رنگدانه آستاگرانتین، لوئین در بافت ماهی ذخیره شد و موجب بهبود رنگ لاشه گردید. نتایج مشابهی هم در تحقیق و همکاران (۱۹۸۶) که بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی دریاچه آلباین استرالیا انجام شده بود، گزارش گردید. در همین راستا Mehrabi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در تحقیقی که روی رنگدانه‌های گیاهی در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قدر انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مقدار کاروتونوئیدهای مختلف در گوشت ماهیان دارای رنگ‌های متنوعی هستند و کاروتونوئیدهای گیاهی دارای تاثیر مثبتی روی نگهداری رنگدانه‌ها در گوشت ماهیان می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های FOSS و همکاران (۱۹۸۴)، و همکاران (۱۹۸۶) Torrisen و همکاران (۱۹۹۶)، Erdem و همکاران (۲۰۰۹)، مشابهت دارد ولی با نتایج تحقیقات زرین فر و ملایی (۱۳۸۴)، غیاثوند و شاپوری (۱۳۸۸) و مغایرت دارد که علت این اختلاف را می‌توان به منابع رنگدانه و دوزهای مختلف آن در جیره غذایی و شرایط محیطی و آزمایشی نسبت داد. البته باید توجه داشت که رنگدانه لوئین حتی در تیمار ۴ که بیشترین تغییر رنگ را نشان داد نیز تاثیر متوسطی بروز داده و میزان رنگ آن بر اساس معیار *Salmo fan* معادل 26 ± 1 بوده است. با توجه به تحقیق Buyukcapar و همکاران در سال ۲۰۰۷، آستاگرانتین رنگدانه اصلی و موثر در رنگپذیری بافت آزادماهیان محسوب می‌شود. در حال حاضر نیز رنگدانه مورد استفاده در تغذیه آزادماهیان در کشور، آستاگرانتین است. اما به دلیل این که این رنگدانه شیمیابی است، توصیه می‌شود که استفاده از آن محدود گردد (غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۸). با توجه به تحقیق حاضر می‌توان گفت که کاروتونوئید گیاهی لوئین باعث افزایش رشد، رنگپذیری و بقای ماهی آزاد دریای خزر می‌شود و می‌تواند به عنوان جایگزینی سالم و کم هزینه بجای آستاگرانتین معرفی گردد. این تحقیق دوز موثر برای لوئین جیره را ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام می‌کند که البته با توجه شرایط مختلف پرورشی ممکن است دوزها نیز دچار تغییر گردد. لازم به ذکر است که نمی‌توان برای رنگدانه‌های گیاهی از دوزهای بالا استفاده کرد، چون این منابع دارای سلولز و ویتامین A بالایی هستند و مصرف بیش از اندازه آن‌ها باعث اختلال در تغذیه و کند یا متوقف شدن رشد می‌شوند.

منابع

- امانی نژاد، پ.، عمادی، ح. و امتیاز جو، م. و حسین زاده صحافی، ۵.، ۱۳۸۸. بررسی اثر جلبک دونالی یلا *Dunaliella salina* بر تغییرات شاخص‌های اینمی (کمپلمان و پراکسیداز) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بیولوژی دریا، سال اول، شماره چهارم، صفحات ۳-۲۱.
- غیاثوند، ز. و شاپوری، م.، ۱۳۸۸. تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن‌ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus sp.*). مجله بیولوژی دریا، سال اول، شماره اول، صفحات ۷۸-۸۵.
- زرین فر، م. و ملایی، ز.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات آستاگرانتین بر روی رشد و کیفیت ظاهری قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه کارشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان.
- مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهودشی گل درخت میخک بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰.
- وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۳۷-۱۳۸.

- Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H. and Zhang, L., 2006.** Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 260: 255-263.
- Amar, E. C., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T., 2001.** Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanism in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Aquaculture Research, 32: 162-173.

- Ando, S., Tekeyama, T. and Hatano, M., 1986.** Isolation and characterization of a carotenoid carrying lipoprotein in the serum of chum salmon (*Oncorhynchus Keta*) during spawning migration. Agricultural and Biological chemistry, 50:907-914.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen-Jensen, S., 2000.** Response to carotenoids by rainbow trout in the sca: resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin. Aquaculture, 91: 153-162.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen, S., 1992.** Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. Aquaculture, 108: 333-346.
- Buyukcapar, H. M., Yanar, M. and Yanar, Y., 2007.** Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*) with carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annuum*). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 31(1): 7-12.
- Carter, C. G., Houlihan, D. F., Buchanan, B. I. and Mitchell, A., 1994.** Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon (*Salmo salar*) L., fed a diet containing supplementary enzymes. Aquaculture and Fisheries Management, 25: 37- 46.
- Foss, P., Storebakken, T., Austreng, E. and Liaaen-Jensen, S., 1987.** Carotenoids in diets for salmonids V. Pigmentation of rainbow trout and see trout with Astaxanthin source in salmonids diets. Aquaculture, 20: 23-134.
- Erdem, M. E., Yesilayer, N. and Kaba, N., 2009.** Effects of Organic and Synthetic Carotenoids on the Sensory Quality and Chemical Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792). Journal of Animal and Veterinary Advances, (1): 33-38.
- Gocer, M., Yanar, M., Kumlu, M. and Yanar, Y., 2006.** The effects of red pepper, Marigold flower, and Synthetic Astaxanehin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 30: 359-365.
- Goodwin, T. W., 1984.** The biochemistry of carotenoids. 2nd edition, Chapman and Hall, London, PP.64-96.
- Gouveia, L., Gomes, E. and Empis, J., 1997.** Use of *Chlorella vulgaris* in diets for rainbow trout to enhance pigmentation of muscle. Journal of Applied Aquaculture, 7: 61-70.
- Harpaz, S., Rise, M., Arad (Malis), S. and Gur, N., 1998.** The effect of three carotenoid sources on growth and pigmentation of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture Nutrition, 1998; 4: 201-208.
- Hung, S. S. O., Lutes, P. B. and Storebakken, T., 1989.** Growth and feed efficiency of whitesturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub yearling at different feeding rates. Aquaculture, volume 80, pp. 147-153.
- Hung, S. S. O. and Lutes, P. B., 1987.** Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20. Aquaculture, volume, .65, pp. 307-317.
- Mehrabi, Y., Saad, C. R. B. and Alimon, A., 2008.** The effects of plant pigments on the growth and survival on rainbow trout fry until fingerling stage. Ulusal Alabalık Sempozyumu, 14-16 Ekim – ISPARTA, pp. 24-30.
- NRC (National Research Council), 1993.** Nutrient Requirements fish. National Academies Press, Dey 11, 1371 AP - Technology and Engineering - 114 p.
- Raymundo, A., Gouveida, L., Batista, A. P., Empis, J. and Sousa, I., 2005.** Fat mimetic capacity of *chlorella vulgaris* biomass in oil-in-water food emulsions stabilized by pea protein. Food Research International, 38: 961-965.
- Ronyai, A., peteri, A. and Radics, F., 1990.** Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. Aquaculture, Hungrica szarwas, volume .6, PP. 13-18.
- Sigurgisladottir, S., Torrisen, O., Lie, Q., Thomassen, M. and Hafsteinsson, H., 1997.** Salmon quality: methods to determine the quality parameters. Review in Fisheries Science, 5: 233-252.
- Schiedt, K., Vecchi, M. and Glinz, E., 1986.** Astaxanthin and its metabolites in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Comperative Biochemistry and Physiology, Part B: 83B: 9-12.
- Tacon, A. G. J., 1991.** Speculative review of possible carotenoid function in fish. Progressive Fish-Culturist, 43: 205-208.
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, Sh., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2011.** The Effects of Lutein on Growth and Blood Factors of Rainbow Trout. International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICCEES'2011), Dec. 17-18, 2011 in Pattaya, Thailand.

- Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, Sh., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2013.** Study on Effect of Red Bell Pepper on Growth, Pigmentation and Blood Factors of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Journal of Zoology, 8 (1): 17-23.
- Torrissen, O. J., Hardy, R. W., Shearer, K. D., Scott, T. M. and Stone, F. E., 1996.** Effect of Dietray Lipid on Apparent Digestibility Coefficients for Canthaxanthin in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 88: 351-362.
- Vernon Carter, J., Ponce Palafox, J. T. and Pedroza Islas, R., 1994.** Bioensayo de pigmentación de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) con extractos de chile ancho (*Capsicum annum*). Archivos Latinoamericanos de Nutricion, 44: 252-255.
- Yanar, M., Kumlu, M., Celik, M., Yanar, Y. and Tekelioglu, N., 1997.** Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from red pepper. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 49: 193-198.
- Yanar, Y., Büyükcüpár, H., Yanar, M. and Göcer, M., 2007.** Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower and pigmentation, sensory properties and fatty acid composition on rainbow trout. Food Chemistry, Volume 100: 326-330.
- Yeum, Yeum, K. J. and Russell, R. M., 2002.** Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annual Review of Nutrition, 22: 433-504.
- Welker, C., De Negro, P. and Sarti, M., 2001.** Green algal carotenoids and yellow pigmentation of rainbow trout fish. Aquaculture International, 9: 87-93.
- Wozniake, M., 1996.** The Role of Carotenoids in Fish. Protectio Aquarum Et Piscatoria, 22: 65-75.