

اثر آستاگزانتین، فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی روی رشد، رنگ پذیری، فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta*)

محمد کاسعلی پور^۱، حسین خارا^{۲*}، علی صادق پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۶/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۱۸

چکیده

رنگ قرمز گوشت بعضی از آزاد ماهیان به دلیل وجود رنگدانه محلول در چربی از گروه کاروتنوئیدها می باشد. به همین منظور اثر رنگدانه‌های آستاگزانتین، فلفل دلمه ای قرمز و فلفل دلمه ای نارنجی بر روند رشد، رنگ پذیری و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی آزاد دریای خزر مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی روی ۳۰۰ عدد ماهی و در ۱۰ تیمار با سه تکرار انجام شد. جیره های غذایی به ترتیب شامل ۳۵، ۴۰، ۴۵ (آستاگزانتین)، ۳۳، ۴۴، ۵۵ (فلفل دلمه ای قرمز) و، ۳۳، ۴۴، ۵۵ (فلفل دلمه ای نارنجی) بودند. در طول دوره ماهیان زیست سنجی شدند و در سه مرحله از ماهیان خونگیری بعمل آمد و گوشت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. ماهیان تیمار ۴۵ ppt آستاگزانتین دارای بیشترین تغییر رنگ در گوشت بودند. براساس نتایج به دست آمده بیشترین وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب چاقی، سرعت رشد روزانه بدن، ضریب رشد ویژه و درصد بازماندگی مربوط به تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه‌ای قرمز بود ($P < 0.05$). کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه‌ای قرمز و بیشترین مقدار مربوط به گروه شاهد بود که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). بیشترین مقادیر گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، نوتروفیل و لنفوسیت نیز مربوط به تیمار ۴۵ ppt آستاگزانتین بوده که اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$). همچنین نتایج بررسی فاکتورهای ایمنی نشان داد که بیشترین مقدار لیروزیم و ایمنوگلوبولین کل در تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه‌ای نارنجی و بیشترین Igm در تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه‌ای قرمز مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). لذا می‌توان نتیجه گرفت که منابع گیاهی باعث افزایش رشد و مقاومت سیستم ایمنی ماهیان شدند و با توجه به صرفه اقتصادی و اثرات مفید ذکر شده، می‌توانند جایگزین رنگدانه‌های مصنوعی شوند.

واژه های کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، آستاگزانتین، فلفل دلمه ای قرمز، فلفل دلمه ای نارنجی، فاکتورهای خونی و ایمنی، رشد، رنگ پذیری.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

*نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

۳- مربی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta*) از جمله ماهیان با ارزش دریای خزر است و به طور عمده در سواحل غربی و جنوبی دریای خزر پراکنده است. با توجه به آلودگی آب دریاها و منابع آبی، از بین رفتن زیستگاه‌ها و مناطق تخم‌ریزیدر، موانع موجود بر سر راه مهاجرت ماهیان به هنگام تخم‌ریزی، ورود فاضلاب‌های شهری به آب رودخانه‌ها و همچنین حضور صیادان غیر مجاز، بقای نسل این گونه به خطر افتاده است (Bahrekazemi *et al.*, 2011) و طی سال‌های اخیر با کاهش شدید ذخایر و صید مواجه شده است (Parry, 1958; Krayushkina *et al.*, 1999; Hajirezaee *et al.*, 2010; Habibi *et al.*, 2013). از این رو تکثیر مصنوعی آن به منظور رهاسازی و بازسازی ذخایر طبیعی در مراکز نظیر مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت در دستور کار قرار گرفت. از آنجا که این ماهی قیمت بالاتری نسبت به گونه‌های نزدیک به خود مانند قزل‌آلای رنگین کمان دارد، رویکرد قابل توجهی به امر پرورش آن از سوی پرورش دهندگان مشاهده می‌شود (قبادی و خدابخش، ۱۳۹۲). این گونه اگرچه رشد کندتری نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان دارد لیکن به لحاظ بازارپسندی، شکل ظاهری و همچنین طعم، گوشت نسبت به قزل‌آلای رنگین کمان ارجح است و با وجود گرانی قیمت، در بازار مشتریان خاص خود را دارا می‌باشد (صیاد بورانی و همکاران، ۱۳۹۱).

رنگ گوشت آزاد ماهیان یکی از مهم‌ترین پارامترهای کیفی است (Sigurgisladottir *et al.*, 1997). واضح است که رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در ماهی آزاد یک نشانه طبیعی مهم از نظر زیست‌شناسی می‌باشد. رنگ صورتی روشن در گوشت ماهی آزاد و قرمز روشن در تخم آن‌ها نشانه سلامتی در ماهیان پرورشی است (Gupta *et al.*, 2007). رنگ عضلات ماهی‌هایی که در محیط طبیعی و با غذای طبیعی تغذیه شده باشند به علت به دست آوردن کاروتنوئیدهای طبیعی و تجمع آن در ماهیچه‌ها نارنجی است و این ویژگی عامل مهمی در بازاریابی و فروش مناسب آن محسوب می‌شود (زمان پور و همکاران، ۱۳۸۴). کاروتنوئیدها دارای فواید زیادی هستند که می‌توان به محافظت از سلول‌ها و غشای میتوکندری در مقابل آسیب‌های اکسیدیه شدن، بالا بردن قدرت سیستم ایمنی از طریق افزایش تولید آنتی‌بادی‌ها توسط سلول‌ها، جلوگیری از اکسیدیه شدن چربی‌هایی که باعث تشکیل لخته می‌گردند، کاهش استرس، محافظت کردن چشم و پوست از آسیب‌های اشعه ماوراء بنفش بوسیله مهار کردن اکسیژن آزاد، افزایش رشد، بازماندگی و باروری و سلامت اشاره کرد (Martin *et al.*, 2008).

رنگدانه آستاگزانتین یک کاروتنوئید مهم در ایجاد طیف رنگی صورتی-قرمز، در ماهی و میگو (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۹) و مؤثرترین کاروتنوئید برای رنگ‌پذیری آزاد ماهیان می‌باشد (Ando *et al.*, 1992). فلفل دلمه‌ای قرمز و نارنجی ارزان، فراوان و غنی از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی هستند. فلفل دلمه‌ای غنی از ویتامین‌های A و C است که سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی مانند کاروتن هستند. ماده شیمیایی کپسایسین موجود در فلفل، به خصوص در فلفل معمولی، ترکیب شیمیایی

دارد که موجب تحریک سیستم ایمنی می‌شود و به این سیستم در حمله به عوامل عفونی کمک می‌کند (مبلی و پیراسته، ۱۳۷۳). رنگ پذیری گوشت ماهی قزل آلا به عواملی چون جیره غذایی، سرعت رشد، شرایط مدیریتی، میزان و مدت مصرف رنگدانه و غیره بستگی دارد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۹).

به طور کلی اجزای سلولی و سرمی خون نشان دهنده تابلوی عمومی سلامت بدن می باشند و این فاکتورها وابستگی زیادی به شرایط محیطی، تغذیه ای، سن و غیره دارند (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶).

تاکنون مطالعات گسترده ای روی اثر رنگدانه ها بر روی ویژگی های رشد، رنگ پذیری، فاکتورهای خونی و ایمنی آبزیان مختلف انجام شده است. ملایی و زرین فر (۱۳۸۴) اثرات آستاگزانتین را روی رشد و کیفیت ظاهری قزل آلائی رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند و اعلام کردند که افزودن آستاگزانتین در اواخر دوره پرورش قزل آلائی رنگین کمان باعث بهبود رنگ گوشت ماهی می شود. غیاثوند و شاپوری (۱۳۸۸) با بررسی تاثیر رنگدانه های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus* sp.) دریافتند که رنگدانه شیمیایی آستاگزانتین درصد بیشتر تجمع رنگدانه در بافت را از خود نشان داد ولی تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی رنگدانه طبیعی نیز تجمع رنگدانه در پوستشان دیده شده که دارای مقادیر کمتری بود. بازاریار لاکه و همکاران (۱۳۸۴) به بررسی تاثیر آستاگزانتین جیره غذایی بر ذخیره آستاگزانتین تخمک و قابلیت لقاح در مولدین قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند. برای این کار مولدین ماده با سطوح مختلف آستاگزانتین در جیره غذایی، شامل تیمار کنترل، ۱۲/۴۶، ۳۳/۳۳، ۱/۶۵ و ۹۱/۹۲ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم غذا تحت سیستم دوره نوری مصنوعی تا حصول رسیدگی جنسی نهایی مورد تغذیه قرار گرفتند. مولدین ماده تخم هایی با محتوای آستاگزانتینی ۲/۰۳ و ۲۹/۷۹ میلی گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم تخمک تولید کردند که تفاوت معنی داری در خصوص محتوای آستاگزانتینی تخمک در بین تیمارها مشاهده گردید ($P < 0.05$) که بیانگر اثر مثبت آستاگزانتین موجود در تخم بر قابلیت لقاحی تخمک می باشد. رهولکا (۲۰۰۰) (*Rehulka*) با مطالعه تاثیر آستاگزانتین بر روی ضریب رشد و برخی اندیس های خونی در قزل آلائی رنگین کمان به این نتیجه رسید که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴۹/۸ میلی گرم آستاگزانتین، تری اسیل گلیسرول کمتری داشتند. گوکر و همکاران (۲۰۰۶) (*Gocer*) در تحقیقی اثرات فلفل قرمز، گل همیشه بهار و آستاگزانتین مصنوعی را روی رنگ پذیری و رشد میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) بررسی و گزارش کردند که افزودن کاروتنوئیدهای طبیعی و مصنوعی روی رشد اثری نداشت، اما تاثیر مثبتی بر میزان بقا نشان داد. بایوک کاپار و همکاران (۲۰۰۷) (*Buyukcapar*) تحقیقاتی بر روی رنگ پذیری قزل آلائی رنگین کمان توسط گل همیشه بهار و فلفل قرمز انجام دادند که در آن رژیم غذایی مکمل شده با میزان ۶/۶ درصد یا بالاتر برای فلفل قرمز و ۲/۴ درصد برای گل همیشه بهار اثر منفی روی رشد ماهی داشت. در این مطالعه، آستاگزانتین مصنوعی رنگ بهتری نسبت به فلفل قرمز و گل همیشه بهار ایجاد کرد. اردم و همکاران (۲۰۰۹) (*Erdem*) با بررسی اثرات کاروتنوئیدهای مصنوعی و حیوانی روی کیفیت حسی و ترکیب شیمیایی قزل آلائی رنگین کمان گزارش کردند که مواد

رنگی که به غذای قزل آلای رنگین کمان اضافه شد تاثیر قابل توجهی روی تاثیر کیفیت حسی در نمونه های ماهی گذاشت. این تغییر رنگ فرآورده ها اثرات مثبتی روی طعم آن ها خصوصا هنگام استفاده از افزودنی های عصاره فلفل قرمز گذاشت و مشخصات رنگ و ظاهر در قیمت محصولات بسیار مهم است. طالبی و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر رنگدانه گیاهی لوتئین را بر رشد و فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که استفاده از این رنگدانه در جیره غذایی، تاثیر مثبتی بر فاکتورهای ذکر شده خواهد داشت. طالبی و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر فلفل دلمه ای قرمز را بر رشد، رنگ پذیری بافت و فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد استفاده از ترکیبات گیاهی در رژیم های غذایی برای قزل آلای رنگین کمان یک رژیم موثر و مقرون به صرفه است و رژیم غذایی فلفل قرمز ۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم نیز در دسترس است. با توجه به مطالعات انجام شده و خلأهای اطلاعاتی موجود، هدف از این مطالعه استفاده از منابع گیاهی (حاوی کاروتنوئیدهای موجود در کشور)، به دلیل گران بودن رنگدانه های کاروتنوئیدی سنتزی، دستیابی به یک جیره غذایی طبیعی مناسب از لحاظ سلامت و هزینه تولید در شرایط مختلف پرورشی، استفاده از سطوح مناسب کاروتنوئیدها در جیره مولدهای نر و ماده آبیان به منظور فراهم آوردن نسلی با کیفیت بهتر و بررسی اثر آستاگزانتین و فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی بر روند رشد، رنگ پذیری و فاکتورهای خونی در جیره غذایی است.

مواد و روش ها

این تحقیق در تیر ماه سال ۱۳۹۲ به مدت دو ماه، در شرکت پرورش ماهی سل تی تی استان گیلان انجام شد و از سه استخر به ابعاد ۲۵×۳ متر (طول×عرض) با ارتفاع ۴۰ سانتی متر که هر کدام با استفاده از توری به حوضچه هایی به ابعاد ۳×۱ متر و حجم ۱۲ متر مکعب تقسیم گردیده بود استفاده شد. منبع تأمین آب این کارگاه رودخانه بود که سختی آن ۱۹۰ میلی گرم در لیتر و دبی آب ۲۵۰۰ لیتر بر ثانیه بود. همچنین در طول دوره میانگین دمای آب 16.64 ± 0.8 ، اکسیژن محلول $3.7 \pm 0.12/9$ و pH 7.1 ± 0.29 بود. برای انجام این تحقیق ۳۰۰ عدد ماهی پس از یک هفته آدپتاسیون و تغذیه با غذاهای رایج تجاری (GFT2) در ۱۰ تیمار با سه تکرار (هر تیمار ۳۰ عدد ماهی) تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. جیره های غذایی به ترتیب شامل ppt ۳۵، ۴۰، ۴۵ (آستاگزانتین)، ppt ۳۳، ۴۴، ۵۵ (فلفل دلمه ای قرمز) و ppt ۳۳، ۴۴، ۵۵ (فلفل دلمه ای نارنجی) بودند که براساس منابع و تحقیقات مشابه انتخاب گردید. غذاهای به طور روزانه در سه نوبت در ساعت های مشخص و غذاسازی دستی هر سه روز یکبار انجام شد. غذای مورد نیاز با توجه به وزن توده زنده در مقاطع زمانی مختلف (معمولاً پس از هر بار زیست سنجی) و با توجه به تلفات محاسبه و با ترازوی دیجیتالی با دقت (g) 0.1 و (g) 0.01 توزین و بسته بندی شد. رنگدانه آستاگزانتین از شرکت بهپرور و فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی از میدان میوه و تره بار خریداری شدند. در طول این دوره، هر ۲۰ روز یکبار، طول ماهیان پس از بیهوشی توسط عصاره پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ ppm (مهرابی، ۱۳۷۸) با خط کش

میلیمتری و وزن شان با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت (g) ۰/۰۱ اندازه گیری شد. به منظور کاهش استرس ماهیان هنگام زیست سنجی، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست سنجی غذادهی قطع گردید. پس از هر بار زیست سنجی، تعیین درجه رنگی شدن گوشت با برش در ناحیه شکمی ماهی با استفاده از SalmoFanTM ارزیابی شد (Talebi *et al.*, 2013). این وسیله دارای ۱۵ نمونه رنگ می باشد که به ترتیب از اعداد ۲۰ تا ۳۴ شماره گذاری شده اند (شکل ۱). پایین ترین شماره این طیف دارای رنگ صورتی و بالاترین شماره این طیف دارای رنگ قرمز می باشد.



شکل ۱: SalmoFanTM

پس از آخرین زیست سنجی ماهیان (روز شصتم)، برای بررسی شاخص های خونی هموگلوبین، هماتوکریت، WBC، RBC، لنفوسیت، نوتروفیل و مونوسیت، فاکتورهای ایمنی لیزوزیم، IgM و ایمونوگلوبین کل از ماهیان خونگیری شد که این عمل با استفاده از سرنگ استریل از سیاهرگ دمی به میزان ۲ CC خون انجام شد. مقدار ۰/۵ CC خون به داخل تیوب های اپندروف هپارینه (جهت مطالعات فاکتورهای خونی) و ۱/۵ CC به داخل تیوب های اپندروف غیر هپارینه (جهت انجام مطالعات فاکتورهای ایمنی) ریخته شد. نمونه ها در یک کلمن حاوی یخ خشک به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال گردید. لازم به ذکر است در هنگام خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر روی سطوح شاخص های خونی استفاده نگردید (Torrecillas *et al.*, 2011). جهت تهیه سرم، نمونه ها توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردیدند.

شاخص های خونی WBC و RBC به وسیله یک پیپت ملانژور سفید برای گلبول سفید و یک پیپت ملانژور مخصوص شمارش گلبول های قرمز برای گلبول قرمز انجام شد و شمارش با استفاده از محلول رقیق کننده Rees و لام نفوبار پیشرفته صورت گرفت (عامری، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994).

$$۱۰۰۰۰ \times (\text{تعداد گلبول قرمز در } ۵ \text{ خانه مرکزی لام}) = X = \text{تعداد گلبول قرمز در میلی متر مکعب}$$

$$۵۰ \times (\text{تعداد گلبول سفید در } ۴ \text{ خانه مخصوص گلبول های سفید}) = X = \text{تعداد گلبول سفید در میلی متر مکعب}$$

اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفوتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) با طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994). برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. لوله ها در داخل میکروسانتریفوژ (مدل D-78532 Tuttingen ساخت شرکت Hettrich آلمان) قرار داده شد و به مدت زمان پنج دقیقه با دور ۷۰۰۰ سانتیفریوژ گردید (Klontz, 1994). تشخیص افتراقی گلبول های سفید به وسیله متانول ۹۶ درصد و محلول ۱۰ درصد گیمسا (ساخت شرکت Merck آلمان) جهت رنگ آمیزی و شمارش انواع گلبول های سفید نظیر لنفوسیت ها، نوتروفیل ها و مونوسیت ها با استفاده از دستگاه شمارنده دستی انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۸۷؛ Klontz, 1994). برای اندازه گیری ایمونوگلوبولین M (IgM) از روش ایمونوتوربیدی متری (Immuno turbidimetric) استفاده شد. در این روش IgM با آنتی بادی های پلی کلونال موجود در محلول های تامپون تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می شوند. شدت کدورت ایجاد شده با مقدار IgM رابطه مستقیم داشته و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل 2100-VIS ساخت شرکت Unico آمریکا) در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد. برای اندازه گیری سطوح لیزوزیم در سرم خون، ۱/۷۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (سیگما) (معادل مقدار ۰/۳۷۵ میلی گرم در میلی لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH برابر ۶/۲) با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه های سرم مخلوط و جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش طیف سنجی اندازه گیری شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد. بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک استفاده شد (Ellis, 1977). غلظت ایمونوگلوبولین کل مطابق با روش شرح داده شده توسط سوویکی و اندرسون (۱۹۹۳) (Siwicki & Anderson) و آمار و همکاران (۲۰۰۰) (Amar) اندازه گیری شد. به اختصار، نمونه سرم مطابق با روش Biuret اندازه گیری شد: ۰/۱ میلی لیتر از هر نمونه سرم با ۰/۱ میلی لیتر از محلول پلی اتیلن گلیکول ۳۲ درصد مخلوط شد (PEG, 10 000 MW, Sigma chemical, St Louis, Mo, USA) و مخلوط برای مدت دو ساعت برای پایین آوردن مولکول ایمونوگلوبولین انکوباسیون شد. رسوب ایمونوگلوبولین توسط سانتریفیوژ (Eppendorf Centrifuge 5415R, EppendorfAG, Hamburg, Germany) در ۵۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی گراد برداشته شد. پروتئین کل در مایع شناور اندازه گیری شد. مقدار ایمونوگلوبولین بصورت میلی گرم در هر میلی لیتر بیان و مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

پروتئین کل تیمار شده با پلی اتیلن گلیکول - پروتئین کل در نمونه سرم = (میلی گرم در هر میلی لیتر) ایمونوگلوبولین کل

با توجه به مقادیر طول و وزن ماهیان در زیست سنجی های انجام شده برای بررسی روند رشد ماهیان در تیمارهای

مختلف از شاخص های رشد استفاده گردید که روش محاسبه آن ها در زیر آورده شده است:

• ضریب تبدیل غذایی^۱

$$FCR = F / (wt - wo) \text{ (Ronyai et al., 1990)}$$

F = مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی

Wo = میانگین بیوماس اولیه (گرم)

Wt = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

• ضریب رشد ویژه^۲ (درصد در روز)

$$S.G.R = (Lnwt - Lnwo) / t \times 100 \text{ (Ronyai et al., 1990)}$$

Wo = میانگین بیوماس اولیه (گرم)

Wt = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

T = تعداد روزهای پرورش

• درصد افزایش وزن بدن^۳

$$\%WG = (Bwf - Bwi) / Bwi \times 100 \text{ (Hung et al., 1989)}$$

Bwi = متوسط وزن اولیه در هر تانک

Bwf = متوسط وزن نهایی در هر تانک

• رشد روزانه^۴ (گرم / روز)

$$G.R = (Bwf - Bwi) / n \text{ (Hung et al., 1989)}$$

Bwi = متوسط وزن اولیه در هر تانک

Bwf = متوسط وزن نهایی در هر تانک

n = تعداد روزهای پرورش

• درصد بقاء^۵

¹ Feed Conversion Rate

² Specific Growth Rate

³ Weight gain percentage

⁴ Growth Rate

⁵ Survival Rate

تعداد ماهی های موجود در پایان آزمایش

$$\times 100 = \frac{\text{تعداد ماهی های موجود در شروع آزمایش}}{\text{تعداد ماهی های موجود در پایان آزمایش}} \text{ درصد بقا}$$

تعداد ماهی های موجود در شروع آزمایش

جهت انجام آنالیزهای آماری و رسم نمودارها، نرم افزارهای SPSS 18 و Excel 2013 مورد استفاده قرار گرفتند. جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده ها از آزمون Shapiro-Wilk's استفاده گردید. در صورت نرمال بودن توزیع داده ها، مقایسه هر یک از فاکتورهای اندازه گیری شده بین تیمارهای مختلف از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (Oneway Anova) و در صورت غیر نرمال بودن، از آزمون ناپارامتریک کروسکال - والیس (Kruskal-Wallis) در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. جهت مقایسه میانگین ها در حالت نرمال از آزمون دانکن (Duncan) و در حالت غیر نرمال از آزمون من - ویتنی استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از اندازه گیری طول و وزن آزاد ماهیان هر تیمار در طی سه مرحله زیست سنجی در طول مدت پرورش در جداول ۱ و ۲ گزارش شده است. بر طبق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و تست جداساز دانکن اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها مشخص گردید ($P < 0.05$). به این ترتیب در تمام مراحل زیست سنجی از لحاظ فاکتور وزن و طول بیشترین مقدار مرتبط با تیمار فلفل دلمه ای قرمز ppt ۵۵ و کمترین مقدار آن در گروه شاهد مشاهده گردید.

جدول ۱: طول بچه ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش

تیمار	شاهد	آستاگزائین ۳۵ ppt	آستاگزائین ۴۰ ppt	آستاگزائین ۴۵ ppt	فلفل دلمه ای قرمز ppt ۳۳	فلفل دلمه ای قرمز ppt ۴۴	فلفل دلمه ای قرمز ppt ۵۵	فلفل دلمه ای نارنجی ppt ۳۳	فلفل دلمه ای نارنجی ppt ۴۴	فلفل دلمه ای نارنجی ppt ۵۵
۱) روز بیستم)	۳۳/۴	۳۵/۶	۳۴/۶ ± ۰/۷ ^a	۳۶ ± ۱/۳۳ ^{bc}	۳۴/۵ ± ۱/۰۵ ^a	۳۵/۸	۳۶/۵	۳۴/۲	۳۵/۷	۳۵/۸
۲) روز چهارم)	۳۶/۳	۳۷/۴۵	۳۷/۷ ± ۰/۹۵ ^b	۳۸/۸ ± ۰/۹۲ ^c	۳۷/۰۵	۳۷/۹	۳۹/۸	۳۷/۳	۳۷/۸	۳۹
۳) روز شصتم)	۳۸	۳۹/۱	۳۸/۷	۳۹/۳۵	۳۹/۱ ± ۰/۷ ^b	۳۹	۴۰/۳	۳۸/۷	۳۸/۷	۳۹/۳

جدول ۲: وزن بچه ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش

شمار دفعات بیومتری	شاهد	آستاگزانتین ۳۵ ppt			آستاگزانتین ۴۰ ppt			آستاگزانتین ۴۵ ppt		
		فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt
۱ (روز بیستم)	۲۲۹/۷ ± ۵/۱۲ ^a	۲۴۸ ± ۶/۰۷ ^c	۲۴۸/۹ ± ۵/۲۸ ^c	۲۳۶/۷ ± ۳/۸۳ ^b	۲۴۹/۹ ± ۳/۶۴ ^c	۲۶۱/۵ ± ۷/۴۷ ^e	۲۳۶/۷ ± ۳/۸۳ ^b	۲۴۹/۹ ± ۳/۶۴ ^c	۲۶۱/۵ ± ۷/۴۷ ^e	
۲ (روز چهارم)	۲۵۸/۸ ± ۴/۴۴ ^a	۲۷۰/۵ ± ۶/۱۵ ^{bc}	۲۷۴/۵ ± ۶/۵۷ ^c	۲۷۲/۵ ± ۶/۵ ^{bc}	۲۸۵/۷ ± ۴/۹۹ ^{de}	۳۰۱/۵ ± ۱۰/۵۵ ^f	۲۷۲/۵ ± ۶/۵ ^{bc}	۲۸۵/۷ ± ۴/۹۹ ^{de}	۳۰۱/۵ ± ۱۰/۵۵ ^f	
۳ (روز شصتم)	۲۸۶/۸ ± ۴/۰۵ ^a	۲۹۳/۳ ± ۴/۹۶ ^b	۲۹۴/۵ ± ۴/۳۸ ^b	۳۰۰/۷ ± ۶/۱۸ ^{bc}	۳۱۹ ± ۸/۴۳ ^e	۳۶۵/۶ ± ۶/۵۷ ^g	۳۰۰/۷ ± ۶/۱۸ ^{bc}	۳۱۹ ± ۸/۴۳ ^e	۳۶۵/۶ ± ۶/۵۷ ^g	

با توجه به مقادیر میانگین طول و وزن اولیه و نهایی اندازه گیری شده، نتایج حاصل از اثرات تغذیه آزاد ماهیان پرورشی

با جیره های غذایی مختلف بر شاخص های رشد و مصرف غذایی ارزیابی و در جدول ۳ ذکر گردیده است.

جدول ۳: عملکرد رشد و مصرف غذایی در آزاد ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش

پارامترها	شاهد	آستاگزانتین ۳۵ ppt			آستاگزانتین ۴۰ ppt			آستاگزانتین ۴۵ ppt		
		فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه-ای قرمز ۵۵ ppt
وزن نهایی بدن (گرم)	۲۸۶/۸ ± ۴/۰۵ ^a	۲۹۳/۲ ± ۴/۹۶ ^b	۲۹۴/۵ ± ۴/۳۸ ^b	۳۰۰/۷ ± ۶/۱۸ ^{bc}	۳۱۹ ± ۸/۴۳ ^e	۳۶۵/۶ ± ۶/۵۷ ^g	۳۰۰/۷ ± ۶/۱۸ ^{bc}	۳۱۹ ± ۸/۴۳ ^e	۳۶۵/۶ ± ۶/۵۷ ^g	
درصد افزایش وزن بدن (%)	۴۳/۵۳ ± ۱/۱۱ ^a	۴۶/۴۷ ± ۱/۳۹ ^b	۴۷/۳۶ ± ۱/۵۸ ^{bc}	۵۰/۲۵ ± ۲/۲۶ ^{ef}	۵۹/۹۳ ± ۳/۷۵ ^{gh}	۸۳/۰۷ ± ۲/۴۵ ⁱ	۵۰/۲۵ ± ۲/۲۶ ^{ef}	۵۹/۹۳ ± ۳/۷۵ ^{gh}	۸۳/۰۷ ± ۲/۴۵ ⁱ	
ضریب چاقی (%)	۰/۴۹ ± ۰/۰۳ ^a	۰/۵۲ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۵۱ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۵۰ ± ۰/۰۰۳ ^{ab}	۰/۵۴ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۵۶ ± ۰/۰۴ ^d	۰/۵۰ ± ۰/۰۰۳ ^{ab}	۰/۵۴ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۵۶ ± ۰/۰۴ ^d	
سرعت رشد روزانه (گرم در روز)	۱/۴۵ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۵۵ ± ۰/۰۵ ^b	۱/۵۸ ± ۰/۰۵ ^{bc}	۱/۷۲ ± ۰/۰۳ ^{de}	۲/۷۷ ± ۰/۱۳ ^{gh}	۲/۷۷ ± ۰/۱۳ ^{gh}	۱/۷۲ ± ۰/۰۳ ^{de}	۲/۷۷ ± ۰/۱۳ ^{gh}	۲/۷۷ ± ۰/۱۳ ^{gh}	
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۰۶ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ^b	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ^{ef}	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ ^{de}	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ ^{de}	۰/۰۶ ± ۰/۰۲ ^{ef}	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ ^{de}	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ ^{de}	
ضریب تبدیل غذایی	۴/۷۵ ± ۰/۰۹ ^e	۴/۶۴ ± ۰/۱۴ ^e	۴/۵۹ ± ۰/۱۴ ^e	۴/۲۴ ± ۰/۱۱ ^{cd}	۳/۶۹ ± ۰/۲۲ ^b	۲/۷۶ ± ۰/۰۹ ^a	۴/۲۴ ± ۰/۱۱ ^{cd}	۳/۶۹ ± ۰/۲۲ ^b	۲/۷۶ ± ۰/۰۹ ^a	
درصد بازماندگی (%)	۹۱/۱۱ ± ۰/۹۶ ^a	۹۴/۴۴ ± ۰/۹۶ ^{ab}	۹۵ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۶/۶۷ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۸/۳۳ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۹/۸۹ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۶/۶۷ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۸/۳۳ ± ۰/۹۶ ^{cd}	۹۹/۸۹ ± ۰/۹۶ ^{cd}	

با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه و تست جداسازی دانکن وجود اختلاف معنی دار آماری در بین پارامترهای رشد و

مصرف غذایی شامل میانگین وزن نهایی بدن (FBW)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش

وزن (WG%)، سرعت رشد روزانه (GR)، ضریب چاقی (CF) و درصد بازماندگی بین ماهیان تیمارهای مختلف تایید شد (P<0.05).

براساس داده های فوق میزان حداقل و حداکثر میانگین وزن نهایی بدن به ترتیب در تیمار گروه شاهد (۲۸۶/۸ ± ۴/۰۵) و فلفل

دلمه ای قرمز ۵۵ ppt (۳۶۵/۶ ± ۶/۵۷)، حداقل و حداکثر درصد افزایش وزن بدن به ترتیب در تیمار گروه شاهد (۱/۱۱ ±

۴۳/۵۳) و فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt (۸۳/۰۷ ± ۲/۴۵)، حداقل و حداکثر ضریب چاقی به ترتیب در تیمار گروه شاهد (۰/۰۳ ±

۰/۴۹) و فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt (۰/۵۶ ± ۰/۰۴)، حداقل و حداکثر سرعت رشد روزانه بدن به ترتیب در تیمار گروه شاهد

(۱/۴۵ ± ۰/۰۴) و فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt (۲/۷۷ ± ۰/۰۸)، حداقل و حداکثر ضریب رشد ویژه به ترتیب در تیمار گروه شاهد

(۰/۰۶ ± ۰/۰۱) و فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt (۱/۰۱ ± ۰/۰۲)، حداقل و حداکثر ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در تیمار فلفل

دلمه‌ای قرمز ppt ۵۵ ($0/09 \pm 2/76$) و گروه شاهد ($0/09 \pm 4/75$) و حداقل و حداکثر درصد بازماندگی به ترتیب در تیمار گروه شاهد ($0/96 \pm 91/11$) و فلفل دلمه‌ای قرمز ppt ۵۵ ($1/92 \pm 99/89$) بود.

قبل از شروع آزمایش رنگ گوشت مورد ارزیابی قرار گرفت و تمامی تیمارها فاقد رنگ بودند. از لحاظ رنگ پذیری، نتایج نشان داد ماهیانی که از رنگدانه تغذیه کردند نسبت به تیمار شاهد، دارای تغییر رنگ بیشتری در گوشت شان بودند. با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین تغییر رنگ در پایان دوره مربوط به تیمار آستاگزائین ppt ۴۵ که درجه رنگین بودن آن با توجه به SalmoFan™ برابر با ۳۲ بود و تیمار آستاگزائین ppt ۴۰ با درجه رنگی شدن ۳۰ در رتبه دوم و تیمار آستاگزائین ppt ۳۵ و فلفل دلمه‌ای قرمز ppt ۵۵ با درجه رنگی شدن ۲۸ در رتبه سوم بودند. این درحالی است که تیمار شاهد تا پایان دوره آزمایش بدون تغییر رنگ بود. نتایج حاصل از اثرات تغذیه با جیره های غذایی مختلف بر رنگ پذیری گوشت آزاد ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش در جدول ۴ ذکر گردیده است.

جدول ۴: درجه رنگی شدن گوشت آزاد ماهیان پرورشی در طول دوره پرورش با توجه به SalmoFan™

تیمار	شاهد	آستاگزائین ۳۵ ppt	آستاگزائین ۴۰ ppt	آستاگزائین ۴۵ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۲۳ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۳۳ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۴۴ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۵۵ ppt
مراحل تشریح										
۱) روز بیستم)	۲۰	۲۶	۲۷	۲۹	۲۴	۲۵	۲۶	۲۲	۲۲	۲۳
۲) روز چهارم)	۲۰	۲۷	۲۹	۳۰	۲۵	۲۶	۲۷	۲۳	۲۳	۲۴
۳) روز ششم)	۲۰	۲۸	۳۰	۳۲	۲۷	۲۷	۲۸	۲۴	۲۳	۲۵

نتایج حاصل از اثرات تغذیه آزاد ماهیان پرورشی با جیره‌های غذایی مختلف بر شاخص‌های خونی در سه مرحله خونگیری در طی دوره پرورش در جدول ۵ ذکر گردیده است.

جدول ۵: شاخص های خونی در مراحل مختلف خونگیری آزاد ماهیان پرورشی

تیمار پارامترها	مراحل خونگیری	شاهد	آستاگزانتین ۳۵ ppt	آستاگزانتین ۴۰ ppt	آستاگزانتین ۴۵ ppt	فلفل دلمه ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه ای نارنجی ۲۳ ppt	فلفل دلمه ای نارنجی ۴۴ ppt	فلفل دلمه ای نارنجی ۵۵ ppt
تعداد گلبول قرمز (میلیون در مترمکعب)	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰	± ۱۵۲۷/۵ b	± ۱۰۰۰۰ d	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ d	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ d	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ c
تعداد گلبول سفید (میلیون در مترمکعب)	± ۴۱۶/۳ cd	± ۱۵۳/۳ a	± ۵۹/۲ c	± ۱۰۰ de	± ۱۰۰ b	± ۳۲۱/۵ g	± ۵۷/۷ e	± ۳۷/۹ de	± ۴۵/۹ f	± ۴۱۶/۳ cd
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	± ۰/۵۵ de	± ۰/۵۱ a	± ۰/۷۹ b	± ۰/۵۵ de	± ۰/۴۷ c	± ۰/۳۲ e	± ۰/۸۵ d	± ۰/۳۶ de	± ۰/۶۱ de	± ۰/۵۵ de
هماتوکریٹ (%)	± ۰/۵۵ e	± ۵/۷۴ a	± ۰/۵ c	± ۰/۳۵ d	± ۰/۵۱ c	± ۰/۳۸ d	± ۰/۶۸ e	± ۰/۸۵ f	± ۰/۴۷ b	± ۰/۵۵ e
نوتروفیل (%)	± ۰/۷۶ d	± ۱/۵۳ a	± ۰/۷۶ e	± ۰/۵ f	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۱/۵۳ b	± ۰/۷۶ d
لنفوسیت (%)	± ۰/۷۶ d	± ۱/۵۳ a	± ۰/۷۶ e	± ۰/۵ f	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۱/۵۳ b	± ۰/۷۶ d
مونوسیت (%)	± ۰/۷۶ d	± ۱/۵۳ a	± ۰/۷۶ e	± ۰/۵ f	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۰/۸۱ e	± ۱/۵۳ b	± ۰/۷۶ d
تعداد گلبول قرمز (میلیون در مترمکعب)	± ۵۰۰۰ d	± ۱۰۰۰۰	± ۱۱۵۴۷ d	± ۱۰۰۰ e	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۰۰۰۰ c	± ۱۵۲۷/۵ c	± ۵۰۰۰ d
تعداد گلبول سفید (میلیون در مترمکعب)	± ۴۵۰/۹ e	± ۳۶/۲ a	± ۱۵۲۷/۵ c	± ۱۰۰ c	± ۲۶۴/۶ cd	± ۵۷/۷ b	± ۲۶۴/۶ cd	± ۵۱/۳ e	± ۵۰ c	± ۴۵۰/۹ e
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	± ۰/۴۷ de	± ۰/۳۲ a	± ۰/۶۴ c	± ۰/۴۷ d	± ۰/۲۱ bc	± ۰/۲۱ bc	± ۰/۳۸ ef	± ۰/۳۸ ef	± ۰/۴۷ de	± ۰/۴۷ de
هماتوکریٹ (%)	± ۰/۵ f	± ۰/۷۶ a	± ۱/۰۴ d	± ۱/۲۶ f	± ۱/۰۱ c	± ۰/۷۶ g	± ۰/۷۶ g	± ۰/۷۶ f	± ۰/۵ e	± ۰/۵ f
نوتروفیل (%)	± ۱۶/۹۵ d	± ۲۸ ± ۱ a	± ۰/۳۵ abc	± ۱/۵۳ cd	± ۰/۳۵ abc	± ۰/۳۵ abc	± ۰/۳۵ abc	± ۰/۳۵ abc	± ۰/۳۵ abc	± ۱۶/۹۵ d
لنفوسیت (%)	± ۱/۰۶ h	± ۹۵ ± ۱ a	± ۰/۸۱ e	± ۱۳۲ ± ۱ f	± ۱/۰۶ c	± ۱/۰۶ c	± ۱/۰۶ c	± ۱/۰۶ c	± ۱/۵۵ b	± ۱/۰۶ h
مونوسیت (%)	± ۰/۱۵ cd	± ۰/۵ b	± ۰/۲۹ f	± ۰/۲۹ f	± ۰/۲۹ f	± ۰/۲۹ f	± ۰/۲۹ f	± ۰/۲۹ f	± ۰/۳۵ e	± ۰/۱۵ cd
تعداد گلبول قرمز (میلیون در مترمکعب)	± ۲۵۱۶۶/۱ d	± ۱۰۰۰۰ a	± ۲۰۰۰ f	± ۱۰۰۰۰ g	± ۵۷۷۳/۵ c	± ۷۶۳۷/۶ g	± ۵۷۷۳/۵ c	± ۵۷۷۳/۵ c	± ۱۵۲۷/۵ c	± ۲۵۱۶۶/۱ d
تعداد گلبول سفید (میلیون در مترمکعب)	± ۵۰۰ h	± ۳۲/۱ a	± ۱۰۰ d	± ۲۰۸/۲ e	± ۵۰۰ g	± ۵۰۰ g	± ۵۰۰ g	± ۵۰۰ g	± ۴۰۴/۱ f	± ۵۰۰ h
هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)	± ۰/۵۳ e	± ۰/۵۳ a	± ۰/۶۴ c	± ۰/۵۱ d	± ۰/۳۵ c	± ۰/۴۵ f	± ۰/۳۵ c	± ۰/۳۵ f	± ۰/۷۶ d	± ۰/۵۳ e
هماتوکریٹ (%)	± ۱/۱۵ e	± ۰/۶ a	± ۰/۶۸ b	± ۰/۵۳ d	± ۰/۵ c	± ۰/۴۵ g	± ۰/۵ c	± ۰/۷۶ f	± ۱/۶۳ e	± ۱/۱۵ e
نوتروفیل (%)	± ۱/۱ d	± ۰/۷۶ b	± ۱/۱۵ f	± ۲/۰۸ g	± ۰/۵۸ a	± ۰/۵ h	± ۰/۵۸ a	± ۰/۵ e	± ۰/۵ c	± ۱/۱ d
لنفوسیت (%)	± ۰/۷۴ h	± ۱۲/۱۹	± ۰/۲۹ b	± ۰/۵ f	± ۱/۰۴ d	± ۱/۰۴ d	± ۱/۰۴ d	± ۱/۰۴ d	± ۱/۰۴ e	± ۰/۷۴ h
مونوسیت (%)	± ۰/۱۵ a	± ۰/۵۵ f	± ۰/۸۲ de	± ۰/۵ cd	± ۰/۵۱ a	± ۰/۵۱ a	± ۰/۵۱ a	± ۰/۵۱ b	± ۰/۳۵ b	± ۰/۱۵ a

با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه و تست جداسازی دانکن وجود اختلاف معنی دار آماری در خونگیری مرحله اول در بین تمام فاکتورهای خونی به جز مونوسیت و نوتروفیل اثبات گردید ($P < 0.05$). با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه و تست جداسازی دانکن وجود اختلاف معنی دار آماری در دومین و سومین مرحله خونگیری در بین تمامی فاکتورهای خونی مشاهده گردید ($P < 0.05$). همچنین بیشترین تعداد گلبول قرمز ($1988333/3 \pm 7637/6$)، تعداد گلبول سفید (17500 ± 500)، هموگلوبین ($25/83 \pm 0/45$)، هماتوکریت ($85/47 \pm 0/45$)، نوتروفیل ($75/5 \pm 0/5$) و لنفوسیت ($20/17 \pm 1/22$) نیز مربوط به تیمار ۴۵ ppt آستاگزانتین بود که اختلاف معنی داری با گروه شاهد داشت ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از اثرات تغذیه آزاد ماهیان پرورشی با جیره‌های غذایی مختلف بر فاکتورهای ایمنی خون در سه مرحله خونگیری در طی دوره پرورش در جدول ۶ ذکر گردیده است.

جدول ۶: فاکتورهای ایمنی خون در مراحل مختلف خونگیری آزاد ماهیان پرورشی

تیمار پارامترها	مراحل خونگیری	شاهد	آستاگزانتین ۳۵ ppt	آستاگزانتین ۴۰ ppt	آستاگزانتین ۴۵ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۳۳ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۴۴ ppt	فلفل دلمه‌ای قرمز ۵۵ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۳۳ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۴۴ ppt	فلفل دلمه‌ای نارنجی ۵۵ ppt
لیزوزیم (u/mg/min)		24 ± 1^a	41 ± 1^b	$52/67^c$	$70/33^f$	55^d	$75/33^g$	90^h	55^d	60^e	95 ± 1^i
IgM (mg/dl)		$7/73^a$	$11/97^b$	$15/40^c$	$17/97^d$	$18/10^e$	$18/60^{de}$	$23/23^g$	$18/03^d$	$0/64^e$	$21/17^f$
ایمنوگلوبولین (mg/ml)		$13/67^a$	$24/67^b$	30 ± 1^c	40 ± 1^d	$44/67^e$	80^g	95^h	$44/67^e$	75 ± 1^f	84 ± 1^h
لیزوزیم (u/mg/min)		$24/67^a$	$44/67^b$	$61/67^c$	$86/67^e$	$80/33^d$	$105/67^g$	115^h	95 ± 1^f	105^g	120 ± 1^i
IgM (mg/dl)		$10/67^a$	$29/93^b$	$35/1^c$	$30/47^d$	$30/57^b$	$35/17^c$	35^d	$37/67^d$	$30/53^b$	30 ± 2^b
ایمنوگلوبولین (mg/ml)		$13/67^a$	32 ± 1^b	35 ± 1^c	53 ± 1^d	64^e	110^g	$130/67^h$	52^d	101^f	131 ± 1^h
لیزوزیم (u/mg/min)		$25/67^a$	$57/33^b$	$75/33^c$	92 ± 1^d	$94/67^e$	120^g	160^h	113^f	125^h	170 ± 1^j
IgM (mg/dl)		$12/33^a$	$49/47^b$	$60/1^c$	$65/5^d$	$42/7^e$	$55/03^g$	$76/87^h$	$47/1^c$	$59/77^f$	$70/1^h$
ایمنوگلوبولین (mg/ml)		$19/67^a$	37 ± 1^b	42 ± 1^c	60 ± 1^d	85 ± 1^f	123^g	154^h	80^e	124^g	$154/67^h$

با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه و تست جداسازی دانکن وجود اختلاف معنی دار آماری در هر سه مرحله خونگیری در بین تمامی فاکتورهای ایمنی خون مشاهده گردید ($P < 0.05$). همچنین نتایج بررسی فاکتورهای ایمنی نشان داد که بیشترین مقدار لیزوزیم (170 ± 1) و ایمنوگلوبولین کل ($154/67 \pm 0/58$) در تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه‌ای نارنجی ثبت گردید که با

تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت و بیشترین مقدار فاکتور IgM ($0/81 \pm 76/87$) در تیمار ۵۵ ppt فلفل دلمه ای قرمز مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0.05$).

امروزه نقش مثبت کاروتنوئیدها به عنوان عامل واسطه‌ای در متابولیسم ماهیان شناخته شده است (Segner *et al.*, 1989). نوع رنگ ماهیان بوسیله سیستم‌های عصبی آندوکرینی کنترل شده است اما منابع غذایی رنگدانه‌ها نیز نقش مهمی در تعیین رنگ ایفا می‌کنند. تاثیر منابع کاروتنوئیدی از دیدگاه رنگدانه و افزایش رشد مختص هر گونه می باشد. به علاوه تمام گونه های ماهیان راه های مشابه سوخت و ساز رنگدانه ای را نداشته و بنابراین نمی توان یک روش انتقالی کلی و سراسری کاروتنوئیدها را در بافت ماهیان در نظر گرفت (Chatzifoits *et al.*, 2004). ماهی مانند حیوانات دیگر قادر به تولید کاروتنوئیدها نیست و در شرایط طبیعی این دسته از مواد را به وسیله غذای مصرفی شامل جلبک، سخت پوستان و نرم‌تنان غنی از کاروتنوئیدها تأمین می‌کند. بنابراین کاروتنوئیدها در شرایط پرورشی باید به صورت مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Wozanik, 1996).

با توجه به نتایج به دست آمده، آزاد ماهیان نسبت به جیره های غذایی واکنش مناسبی از خود نشان دادند. رشد مناسب آزاد ماهیان و وجود اختلاف معنی دار آماری در بین پارامترها نشان می دهد که منابع گیاهی پیشنهادی تست شده با دوزهای مختلف اثرات مثبتی بر سلامتی و رشد ماهیان دارد. به طور کلی میزان رشد در تمامی تیمارها وضعیت مطلوبی داشت و اختلاف معنی داری در تمامی تیمارها نشان داده شد که بیشترین رشد مربوط به تیمار فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt بود که عکس الگوی فوق در تیمار شاهد می باشد. با افزایش میزان غلظت رنگدانه ها، وزن نیز سیر صعودی داشت و به علاوه ضریب رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن، سرعت رشد روزانه و بازماندگی افزایش یافت. این وضعیت احتمالاً به دلیل وجود موادی غیر از کاروتنوئیدها در فلفل دلمه ای قرمز است. از جمله علل احتمالی افزایش وزن می‌توان به اثر مثبت کاروتنوئیدها بر متابولیسم، تسریع هضم و جذب و افزایش بهره وری از مواد مغذی (Amar *et al.*, 2001, Tacon, 1991) و کافی بودن مدت زمان استفاده از رنگدانه (Supamattaya *et al.*, 2005) اشاره کرد. کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی ۵۵ ppt و بیشترین آن مربوط به گروه شاهد بود. در مطالعه اثر مخمر قرمز و آستاگزانتین سنتزی بر رشد قزل آلی رنگین کمان (Nakano *et al.*, 1995)، استفاده از رنگدانه های بتاکاروتن و آستاگزانتین در جیره میگوی ببری سیاه (Boonyaratpalin *et al.*, 2001) و تاثیر عصاره *Dunaliella* بر رشد میگوی ببری سیاه، تفاوت معنی داری در ضریب تبدیل غذایی در بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (Supamattaya *et al.*, 2005). وجود این تناقض ها به این معنی نیست که کاروتنوئیدها بر ضریب تبدیل غذایی اثری ندارند. درصد بازماندگی ماهیان در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش تفاوت معنی داری با یکدیگر داشت. میزان بقای بسیار بالا (مربوط به تیمار فلفل دلمه ای قرمز ۵۵ ppt) نشان داد که منابع گیاهی تست شده هیچ اثر منفی روی بقای ماهیان ندارند. تلفات بسیار کم ماهیان در جیره های آزمایشی نسبت به گروه شاهد را می‌توان به تاثیر جیره‌های غذایی و عوامل محیطی نسبت داد. نتایج

حاصل از این آزمایش با مطالعات انجام شده بر روی ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Christiansen et al., 1995) و میگوی ببری سیاه تغذیه شده با رنگدانه های آستاگزانتین، بتاکاروتن و پودر جلبک (*Dunaliella salina*) (Boonyaratpalin et al., 2001) مطابقت دارد اما با مطالعه انجام شده بر روی خرچنگ آب شیرین *Cherax quadricarinatus* تغذیه شده با سه منبع کاروتنوئیدی (Harpez et al., 1998) مغایرت دارد. مهربایی و همکاران (۲۰۰۸) (Mehrabi et al.) بیان کردند که رنگدانه های گیاهی تاثیر مثبتی روی رشد، FCR، SGR و بقای قزل آلاهی رنگین کمان دارد که مشابه نتایج ما می باشد. در مطالعه حاضر رنگدانه های گیاهی بیشترین تاثیر را روی رشد و فاکتورهای رشد داشتند که بیشترین ضریب تبدیل غذایی و رشد ویژه مربوط به فلفل دلمه ای بود. براساس نتایج به دست آمده به ترتیب آستاگزانتین، فلفل دلمه ای قرمز و فلفل دلمه ای نارنجی باعث تغییر رنگ شدند که بیشترین تغییر رنگ مربوط به تیمار آستاگزانتین با غلظت ۴۵ ppt بود. در سایر تیمارها نیز رنگ گوشت ماهیان چشمگیر بود اما نسبت به تیمار آستاگزانتین ۴۵ ppt تغییر رنگ کمتری مشاهده شد. کمترین تغییر رنگ نیز مربوط به گروه شاهد بود. همچنین با افزایش غلظت آستاگزانتین، فلفل دلمه ای قرمز و فلفل نارنجی، میزان رنگ گوشت افزایش یافت. همان طور که مشهود است آستاگزانتین رنگ بهتری را در گوشت ماهیان نسبت به منابع گیاهی ایجاد کرد که با مطالعات انجام شده روی قزل آلاهی رنگین کمان و میگوی مونودون (Buyukcapar et al., 2007، Gocer et al., 2006) مطابقت دارد و دلایل این اختلاف ممکن است در منابع کاروتنوئیدی باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که آستاگزانتین با دو منبع گیاهی قابل قیاس می باشد. قیمت پایین فلفل دلمه ای قرمز نسبت به آستاگزانتین باعث برتری آن می شود که جنبه اقتصادی نیز دارد و با نتایج اردم و همکاران (۲۰۰۹) (Erdem et al.) مطابق است. بازیار لاکه و همکاران (۱۳۸۴) با بررسی ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به این نتیجه رسیدند که رنگدانه آستاگزانتین در افزایش قابلیت لقاح تخم قزل آلا موثر است و استفاده از این رنگدانه در جیره غذایی مولدین ماده قزل آلا پیشنهاد می شود. در مطالعه حاضر استفاده از آستاگزانتین باعث تغییر رنگ در گوشت ماهی می شود که البته بسته به سن ماهی فرق می کند. کاروتنوئیدها در ماهیان بالغ بیشتر به پوست و تخم ها و در ماهیان نابالغ بیشتر در گوشت منتقل می شود و باعث افزایش کیفیت ظاهری و طعم گوشت ماهی می شود و این امر احتمالاً به علت استفاده از رژیم گیاهی در تغذیه ماهیان می باشد (Erdem et al., 2009). ملایی و زرین فر (۱۳۸۴) بیان کردند که آستاگزانتین تاثیری روی رشد ندارد و رنگ ایجاد شده در گوشت ماهی قزل آلاهی رنگین کمان با توجه به SalmoFan درجه ۳۲ بود. این اختلاف ممکن است به شرایط پرورشی و همچنین نحوه تهیه جیره برگردد.

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی خون برای مدیریت گونه های در معرض خطر مهم است (Asadi et al., 2006). پارامترهای بیوشیمیایی خون طیف گسترده ای از اهداف مانند تشخیص آسیب سلولی ناشی از قرار گرفتن در معرض ماده سمی، آلودگی توسط عوامل بیماری زا، دستکاری، بررسی اثر رژیم غذایی بر عملکرد کبد، عملکرد تنظیم اسمزی و تنظیم یونی، اثرات جنس و چرخه بلوغ و پاسخ به عوامل تنش زا را نشان می دهند (Tavares-Dias & Moraes, 2010). مقادیر بیوشیمیایی ایجاد

شده ممکن است اجازه تصمیم گیری‌های بالینی مهم در مورد گونه‌های ماهیان را دهد (Tavares-Dias & Moraes, 2007). نتایج حاصل از بررسی پارامترهای هماتولوژیک نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر تعداد گلبول قرمز و سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، نوتروفیل، لنفوسیت، Igm، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین کل با گروه شاهد اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ($P < 0.05$). با توجه به نتایج، تیمارهای فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی مشابه تیمار آستاگزانتین وضعیت مطلوب‌تری نسبت به گروه شاهد داشتند و می توان از منابع گیاهی که به تیمار آستاگزانتین نزدیک بودند به عنوان منابع رنگدانه ای استفاده کرد. در این مطالعه فاکتورهای خونی در تیمارهایی که از رنگدانه تغذیه کرده بودند نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند و مشاهده شد که قدرت سیستم ایمنی در آن ها افزایش یافت. با توجه به نتایج بدست آمده از فاکتورهای ایمنی می توان گفت که تیمارهای فلفل دلمه ای قرمز و نارنجی سیستم ایمنی را مقاوم می کنند و استفاده از آن ها در جیره غذایی ماهیان مفید است. افزایش گلبول سفید به معنی افزایش قدرت سیستم ایمنی ماهیان است و به نظر می رسد که عمل اصلی لنفوسیت های ماهی این است که به عنوان سلول های عمل کننده برای مکانیسم های ایمنی خاص از طریق تولید پادتن عمل می کنند (ستاری، ۱۳۸۱). از آنجا که گلبول های سفید خونی، به ویژه لنفوسیت های B و T نقش عمده ای در سیستم دفاعی ماهی دارند، تغییر تعداد این سلول ها تحت تأثیر محرک های ایمنی منطقی به نظر می رسد. از طرفی بسیاری از مواد هومورال غیراختصاصی سیستم ایمنی ماهی توسط گلبول های سفید خونی ترشح می شوند، که افزایش این فاکتورهای هومورال تحت تأثیر افزایش تعداد لکوسیت های خونی بوده است. افزایش تعداد گلبول های سفید خونی در عفونت های طبیعی و تجربی و در مواقع استفاده از واکسن ها و محرک های ایمنی گوناگون گزارش شده است (Marian, 2004). طبق نتایج مطالعه حاضر کاروتنوئیدها باعث افزایش بازماندگی و بقا و همچنین قدرت سیستم ایمنی می شود. به نظر می رسد که کاروتنوئیدهای گیاهی تولید پادتن را افزایش می دهند و همچنین با بالا رفتن قدرت سیستم ایمنی مقاومت ماهیان در مقابل عوامل بیماری زا زیاد شده و در نتیجه بازماندگی افزایش می یابد که با نتایج توریسن و همکاران (۱۹۹۶) (Torrissen *et al.*) مشابهت دارد. در مطالعه ما رنگدانه ها بخصوص رنگدانه گیاهی باعث افزایش رشد و رنگ پذیری و همچنین افزایش مقاومت سیستم ایمنی ماهیان در مقایسه با گروه شاهد شد که احتمالاً به دلیل وجود ویتامین ها در آن ها می باشد. همانطور که می دانیم ویتامین ها نقش بسزایی در رشد و سیستم ایمنی دارند (Bjerkeng *et al.*, 2000). امانی نژاد و همکاران (۱۳۸۸) اثر جلبک *Dunaliella* را بر روی فاکتورهای خونی این گونه گزارش کردند که جلبک سیستم ایمنی را تحریک می کند و اثر مثبتی بر افزایش مقاومت دارد که آن به دلیل وجود بتاکاروتن است و یافته های آن با نتایج این مطالعه مشابهت دارد.

نتیجه گیری کلی

اگرچه بکارگیری آستاگزانتین در بسیاری از کشورها مجاز می باشد ولی تحقیقات زیادی در خصوص استفاده از رنگدانه های جایگزین با منبع طبیعی صورت می پذیرد که علت آن در قیمت بسیار بالای این مواد و همچنین اثرات بهداشتی شناخته شده آن می باشد. آستاگزانتین سنتتیک در شرکت های بزرگ شیمیایی به طور محدود، در محیط آزمایشگاهی از مواد پتروشیمی ساخته می شود. هر چند این ترکیب کاملاً منطبق با فرمول شیمیایی آستاگزانتین طبیعی ساخته می شود اما واقعا ساختار مولکولی متفاوتی با آستاگزانتین طبیعی دارد و انتهای آستاگزانتین طبیعی همیشه با اسیدهای چرب جفت شده است و این امر باعث استری شدن مولکول آستاگزانتین طبیعی می شود (علیزاده، ۱۳۹۰). بنابراین توصیه می شود که تا حد امکان از رنگدانه های گیاهی در جیره غذایی ماهیان استفاده شود (غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۸). این مطالعه نشان داد که منابع گیاهی هر کدام مقدار قابل توجهی از کاروتنوئیدها را به گوشت، پوست و فاکتورهای خونی ماهیان انتقال داد و باعث افزایش رشد، بازماندگی، رنگ پذیری و سیستم ایمنی بدن در تمام طول پرورش شدند. لذا کاروتنوئیدهای گیاهی به علت داشتن اثرات مفید ذکر شده و سهولت تهیه آن ها می تواند جایگزین کاروتنوئیدهای مصنوعی گردند و کاروتنوئیدهای مورد نیاز انسان را تامین نمایند.

سپاسگزاری

بدینوسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین محترم آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی رشت ابراز می دارند.

منابع

- امانی نژاد، پ.، عمادی، ح.، امتیاز جو، م. و حسین زاده صحافی، ه. (۱۳۸۸) بررسی اثر جلبک دونالی یلا (*Dunaliella salina*) بر تغییرات شاخص های ایمنی (کمپلمان و پراکسیداز) در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی و پژوهشی بیولوژی دریا: ۲۱-۳.
- بازیار لاکه، ا.م.، احمدی، م.ر. و مجازی امیری، ب. (۱۳۸۴) بررسی تاثیر آستاگزانتین جیره غذایی بر ذخیره آستاگزانتین تخمک و قابلیت لقاح در مولدین قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله منابع طبیعی ایران ۱: ۱۲۳-۱۱۳.
- زمان پور، م.، دارمی پوران، م.ر. و ایزدی، غ.ج. (۱۳۸۴) بررسی مناسب ترین روش برای تکثیر و پرورش گاماروس به عنوان غذای زنده در تغذیه ماهی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس: ۷-۱.
- ستاری، م. (۱۳۸۱) ماهی شناسی (۱)، تشریح و فیزیولوژی، انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، صفحه ۶۵۹.
- شاهسونی، د.، مهری، م. و تقوایی مقدم، ا. (۱۳۸۶) تعیین مقادیر برخی از سرم خون فیل ماهی خاویاری. مجله تحقیقات دامپزشکی ۳: ۱۲۹-۱۲۱.

- صیاد بورانی، م.، مقصودیه کهن، ح.، صیاد بورانی، م.، زحمتکش کومله، ع.، ولی پور، ع.، دقیق روحی، ج. و عموزاده عمرانی، م. (۱۳۹۱) بررسی امکان پرورش ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) در تراکم های مختلف با استفاده از آب دریای خزر. مجله توسعه آبی پروری ۲: ۴۷-۵۵.
- عامری مهابادی، م. (۱۳۷۸) روش های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۲۶ صفحه.
- علیزاده، م. (۱۳۹۰) تاثیر کاربرد آستاگزانتین سنتتیک و طبیعی بر سلامت و بهداشت مولدین قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مؤسسه تحقیقات شیلات ایران - ایستگاه تحقیقات ماهیان آب های شور داخلی بافق، ۷۶ صفحه.
- غیاثوند، ز. و شاپوری، م. (۱۳۸۸) تاثیر رنگدانه های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus* sp.). مجله بیولوژی دریا: ۷۸-۸۵.
- قبادی، ش. و خدابخش، ا. (۱۳۹۲) اثر رنگدانه گیاهی لوتئین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگ پذیری گوشت ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی-پژوهشی زیست شناسی دریا ۱۸: ۶۱-۷۰.
- مبلی، م. و پیراسته، ب. (۱۳۷۳) تولید سبزی. دانشگاه صنعتی اصفهان، ۸۷۷ صفحه.
- ملایی، ز. و زرین فر، م. (۱۳۸۴) بررسی اثرات آستاگزانتین بر روی رشد و کیفیت ظاهری قزل آلالی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه کارشناسی. دانشگاه آزاد اسلامی. لاهیجان.
- مهرابی، ی. (۱۳۷۸) مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی گل درخت میخک روی ماهی قزل آلالی رنگین کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی: ۱۶۰-۱۶۲.
- وئوقی، غ. و مستجیر، ب. (۱۳۷۹) ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۱۳۸-۱۳۷.
- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N. and Watanabe, T. (2000) Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fisheries Sciences* 66: 1068-1075.
- 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*). *Aquaculture Research* 32: 162-173.
- Ando, S., Osada, K., Hatano, M., and Saneyoshi, M. (1992) Metabolism of astaxanthin in muscle and ovary from brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Comparative Biochemistry and physiology* 96: 355-359.
- Asadi, F., Halajian, A., Pourkabir, M., Asadian, P. and Jadidizadeh, F. (2006) Serum biochemical parameters of *Huso huso*. *Comparative Clinical Pathology* 15: 245-248.
- Bahre kazemi, M., Soltani, M., Matinfar, A. and Abtahi, B. (2011) Biochemical and histological studies of over-ripened oocyte in the Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*), *Iranian journal of fisheries sciences*: 33-48.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen-Jensen, S. (2000) Response to carotenoids by rainbow trout in the sea: resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin. *Aquaculture* 91: 153-162.
- Boonyaratpalin, M., Thongrod, S., Supamattaya, K., Britton, G. and Schlipalius, L.E. (2001) Effects of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research* 32: 182-190.

- 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 annum*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 31(1): 7-12.
- Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Donate Jimeno, C., Vardanis, P. and Divanach, P. (2004) The effect of carotenoid sources on skin coloration of red Porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Europe Conference, Biotechnology for Quality, Barcelona, Spain*.
- Christiansen, R., Glette, J., Lie, O., Torrissen, O.J. and Waagbo, R. (1995) Antioxidant status and immunity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed semipurified diets with and without astaxanthin supplementation. *Journal of Fish Diseases* 18: 317-328.
- Ellis, A.E. (1977) *The Leucocytes of fish: A review fish biology magazine*.
- 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*). *Journal of animal and veterinary advances* 8(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.
- Gupta, S.K., Jha, A.K., Pal, A.K. and Venkateshwarlu, G. (2007) Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. *Natural product Radiance* 6(1): 46-49.
- Habibi, E., Kalbassi, M.R., Hosseini, S.J. and Qasemi, S.A. (2013) Feasibility of Identification of Fall and Spring Migrating Caspian trout (*Salmo trutta caspius*) by Using AFLP Molecular Marker. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 13: 241-248.
- Hajirezaee, S., Mojazi Amiri, B. and Mirvaghefi, A.R. (2010) Relationships Between the Chemical Properties of Seminal Fluid and the Sperm Motility Characteristics of Caspian Brown Trout, *Salmo Trutta Caspius* (A Critically Endangered Salmonid Fish). *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology* 5(1): 27-31.
- Harpaz, S., Rise, M., Arad, S. and Gur, N. (1998) The effect of three carotenoid sources on growth and pigmentation of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition* 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* 80: 147-153.
- Klontz, G.W. (1994) *Fish Hematology*. Pages 121-132 in Stolen JS, Fletcher TC, Rowley AF, Kelikoff TC, Kaattari SL and Smith SA, ed. *Techniques in Fish Immunology: SOS Publications*.
- Krayushkikina, L.S., Panov, A.A., Gerasimov, A.A. and Potts, W.T.W. (1999) Changes in Sodium, Calcium and Magnesium Ion Concentrations in Sturgeon (*Huso huso*) Urine and in Kidney Morphology. *Journal of Comparative Physiology* 165: 527-533.
- Marian, M.P. (2004) Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture* 237: 9-20.
- Martine, J.F., Gudina, E. and Barredo, J.L. (2008) Conversion of β -carotene into astaxanthin: Two separate enzymes or abifunctional by droxylase-ketolase protein. *BioMed Central*: 1-10.
- 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 Alabalik Sempozyumu*: 24-30.
- Nakano, T., Tosa, M. and 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.
- Parry, G. (1958) Size and osmoregulation in salmonid fishes. *Nature* 181: 1218-1219.

- Patriche, T., Patriche, N., Bocioc, E. and Coadă, M.T. (2011) Serum biochemical parameters of farmed carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation – International Journal of the Bioflux Society* 4: 137-140.
- Radu, D., Oprea, L., Bucur, C., Costache, M. and Oprea, D. (2009) Characteristics of haematological parameters for carp culture and Koi (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758) reared in an intensive system. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 66: 1-2.
- Rehulka, J. (2000) Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 190: 27-47.
- Ronyai, A., Peteri, A. and Radics, F. (1990) Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. *Aquaculture* 6: 13-18.
- Segner, H., Arend, P., Von Poepplinghausen, K. and Schmidt, H. (1989) The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture* 79: 381-390.
- Sigurgisladottir, S., Torrissen, O., Lie, Q., Thomassen, M. and Hafsteinsson, H. (1997) Salmon quality: methods to determine the quality parameters. *Reviews in Fisheries Science* 5: 233-52.
- Siwicki, A.K. and Anderson, D.P. (1993) Nonspecific defence mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (T-Ig) levels in serum. *Fish Diseases Diagnosis and Prevention's Methods*. FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn: 105-112.
- Supamattaya, K., Kiriratnikom, S., Boonyaratpalin, M. and Borowitzka, L. (2005) Effect of Dunaliella extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 248: 207-216.
- Tacon, A.G.J. (1991) Speculative review of possible carotenoid function in fish. *Progressive Fish-Culturist* 43: 205-208.
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehazhra, 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*, 17-18 December, Pattaya, Thailand.
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehazhra, 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.
- Tavares-Dias, M. and Moraes, F.R. (2007). Hematological and biochemical reference intervals for farmed Channel catfish. *Journal of Fish Biology* 71: 383-388.
- Tavares-Dias, M. and Moraes, F.R. (2010) Biochemical parameters for *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* (Characidae) and hybrid Tambacu (*P. mesopotamicus* × *C. macropomum*). *Ciência Animal Brasileira Goiânia* 11(2): 363-368.
- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Gines, R., Sweetman, J. and Izquierdo, M.S. (2011) Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Aquaculture Nutrition* 17(2): 223-233.
- Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. and Stone, F.E. (1996) Effect of Dietary Lipid on Apparent Digestibility Coefficients for Canthaxanthin in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 88: 351-362.
- Wozniak, M. (1996) The Role of Carotenoids in Fish. *Protectio Aquarum ET Piscatoria* 22: 65-75.

Effects of astaxanthin, red and orange pepper on growth, coloration, hematological and immunology factors in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*)M .KasAlipour¹, H. Khara^{2*}, A.Sadeghpour³

Received:2017.9.21

Accepted:2019.11.9

Abstract

Some salmonids have red meat because of the fat-soluble pigments placed in carotenoid groups. Therefore, the effect of astaxanthin pigment, red pepper and orange pepper on growth, coloration, hematological and immunology factors in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*) were studied. This study carried on 300 fish 10 treatments and 3 replications. Diets consisted of 35, 40, 45 ppt (Astaxanthin), 33, 44, 55 ppt (red pepper) and), 33, 44, 55 ppt (orange pepper), respectively. During the period, biometried, bled and their meat was evaluated. 45 ppt astaxanthin treatment had the most change in the color of the meat. Based on the results, the most final weight of body, %BWI, obesity rates, GR, SGR and survival rate belonged to 55 ppt red pepper treatment ($P<0.05$). The lowest and the most amount of FCR belonged to 55 ppt red pepper treatment and control group and the differences were significant ($P<0.05$). The most number of red blood cells, number of white blood cells, hemoglobin, hematocrit, neutrophil and lymphocyte belonged to 45 ppt astaxanthin treatment and had significantly difference with control group ($P<0.05$). The results of immunology factors showed that the most amount of lysozyme and total immunoglobulin belonged to 55 ppt orange pepper treatment and the most amount of IgM to 55 ppt red pepper treatment and they were significantly different with control group ($P<0.05$). Therefore, it can be concluded that plant sources increased growth and immune system resistance in fish and due to the economical efficiency and beneficial effects of that, synthetic pigments can be replaced by plant sources..

Keywords: Caspian Sea salmon, astaxanthin, red pepper, orange pepper, hematological and immunology factors, growth, coloration.

1-M.Sc. Graduate, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

* (Corresponding author: h.khara1974@yahoo.com)

2-Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3-Coach, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.