

## تأثیر مصرف خوراکی عصاره‌ی الکلی جلبک *Laurencia snyderia* و *Sargassum angustifolium* بر میزان رشد، بازماندگی و رنگدانه‌های پوست ماهی ماکرو (*Labidochromis caeruleus*)

زهرا طولابی‌دزفولی<sup>۱</sup>، مهرزاد مصباح<sup>۲</sup>، رحیم پیغان<sup>۳\*</sup>، علی فضل‌آرا<sup>۴</sup> و مهدی زارعی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۹

### چکیده

جلبک قهوه‌ای (*Sargassum angustifolium*) و جلبک قرمز (*Laurencia snyderia*) از جمله جلبک‌های دریایی مهم خلیج فارس محسوب می‌شوند که منابع مهمی از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و رنگدانه‌ها می‌باشند و مهم‌ترین رنگدانه‌های موجود در جلبک‌های دریایی کاروتنوئیدها هستند. به منظور مطالعه‌ی اثربخشی جلبک‌های دریایی بر رشد و رنگ پذیری ماهی زینتی ماکرو، ۲۱۰ قطعه ماهی با میانگین وزن اولیه ۶/۵±۰/۶۵ گرم به طور تصادفی به هفت گروه تقسیم شده (هر گروه حاوی ۳۰ قطعه ماهی) و به مدت ۶۰ روز برای انجام آزمایش، نگهداری و غذادهی گردیدند. گروه شاهد فقط غذای تجاری (بیومار) آغشته به روغن زیتون را دریافت می‌نمودند و سایر گروه‌ها با عصاره‌ی اتانولی جلبک سارگاسوم و لارنسیا حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم ماده‌ی خشک به ازاء هر کیلوگرم غذا به مدت دو ماه تغذیه شدند. شاخص‌های رشد (ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، فاکتور وضعیت و میزان بازدهی پروتئین) تیمارهای آزمایشی در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که در تیمارهای تغذیه شده با جلبک، تغییرات معنی‌داری در فاکتورهای رشد ایجاد نگردید ( $p>0/05$ ). به منظور ارزیابی رنگ ماهی‌ها در گروه‌های مختلف به روش تصویربرداری، فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$ ، Hue و Chroma در سه ناحیه‌ی سینه‌ای، پشتی و شکمی بررسی گردیدند. نتایج نشان داد که میزان رنگ زرد و وضوح و شدت رنگ در تمام تیمارهای تغذیه شده با جلبک به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p<0/05$ ). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئیدها در پوست ماهیان نشان داد که میزان تجمع رنگدانه‌ها در تیمارهای تغذیه شده با جلبک لارنسیا نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود، در صورتی که در تیمارهای تغذیه شده با جلبک سارگاسوم، فقط میزان ۱۵ گرم در کیلوگرم جیره‌ی غذایی باعث افزایش معنی‌دار در میزان رنگدانه‌های پوست شد.

کلمات کلیدی: سارگاسوم، لارنسیا، رنگدانه، پوست، ماهی ماکرو

### مقدمه

فارس محسوب می‌شوند. جلبک‌های قهوه‌ای به دلیل داشتن مقدار زیادی رنگدانه‌های گزانتوفیل و فوکوزانتین، دارای رنگ قهوه‌ای می‌باشند و جلبک‌های قرمز به دلیل داشتن مقدار زیادی رنگدانه‌های فیکواریترین و فیکوسیانین، دارای رنگ قرمز می‌باشند (Dawczynski et al. 2007).

جلبک قهوه‌ای سارگاسوم آنگوستیفولیوم (*Sargassum angustifolium*) متعلق به خانواده‌ی سارگاسه‌آ (*Sargassaceae*) و جلبک قرمز لارنسیا اسنایدریا (*Laurencia snyderia*) متعلق به خانواده‌ی رودوملاسه‌آ (*Rhodomelaceae*) از جمله جلبک‌های دریایی مهم خلیج

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۳\*</sup> استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۴</sup> استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>۵</sup> دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

E-mail: peyghan2014@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)

کاروتنوئیدها را متابولیزه نمی‌کنند. در سواحل استان بوشهر، مناطقی با بستر قله سنگی و صخره‌ای که برای رویش جلبک‌ها مناسب است وجود دارد، که دلیل آن را باید در لزوم وجود تکیه گاه ثابت برای رشد جست و جو کرد. به همین دلیل این جلبک‌ها در سواحل شنی رشد نمی‌کنند اما، می‌توان قسمت‌هایی از آن‌ها را که توسط آب، به ویژه بعد از طوفان به این نواحی آورده می‌شوند مشاهده کرد (Lavaestu 1981). با توجه به این که پرورش ماهیان زیتتی در چند سال اخیر گسترش یافته و با توجه به اهمیت وجود مقادیر زیادی از منابع جلبک‌های دریایی در کشور ایران به ویژه در خلیج فارس و این مهم که تاکنون روی توان رنگ‌پذیری ماهیان زیتتی به هنگام استفاده از این جلبک‌ها و تأثیر آن‌ها بر فاکتورهای رشد، تحقیقی صورت نگرفته است، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات تجویز خوراکی عصاره‌ی الکلی این جلبک‌ها بر فاکتورهای رشد و میزان کاروتنوئیدهای ذخیره شده در پوست و انتخاب منبعی جدید و طبیعی به عنوان مکمل غذایی افزایش دهنده‌ی رنگ و رشد در ماهیان زیتتی انجام گردید.

#### مواد و روش کار

برای انجام این تحقیق تعداد ۲۱۰ قطعه ماهی ماکرو (سفید رنگ و بدون در نظر گرفتن جنسیت) با میانگین وزن  $6/5 \pm 0/65$  گرم از یکی از مراکز پرورش ماهیان زیتتی اهواز خریداری شد. برای این کار ۲۱۰ قطعه ماهی به طور تصادفی به هفت گروه تقسیم شده (هر آکواریوم حاوی ۳۰ قطعه ماهی) و به مدت ۶۰ روز برای انجام آزمایش، نگهداری و غذادهی گردیدند. جیره‌ی غذایی روزانه بر اساس ۲ درصد وزن بدن ماهی‌ها در نظر گرفته شد و سه بار در روز غذادهی انجام می‌شد. برای این آزمایش ماهیان به ۷ تیمار تقسیم شدند. تیمار هفتم شاهد بوده که فقط غذای تجاری (بیومار) آغشته به روغن زیتون را دریافت می‌نمود. تیمارهای اول، دوم و سوم به ترتیب با افزودن مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم

استفاده از عصاره‌ی جلبک به عنوان افزودنی غذایی فواید زیادی دارد از جمله: افزایش کیفیت، سلامت و خوش طعم شدن غذا، افزایش رشد و ایمنی در آبزیان، بهبود فلور طبیعی معده و روده، افزایش تولید شیر در دام‌های اهلی و غیره (Chojnacka et al. 2012). از طرفی در ماهیان زیتتی از جمله ماهی ماکرو (*Labidochromis caeruleus*)، رنگ پوست از اهمیت به سزایی برخوردار است. رنگ، یکی از فاکتورهای عمده‌ی تعیین کننده‌ی قیمت ماهیان آکواریومی در بازار جهانی است. ماهی‌های رنگی در طبیعت اغلب در شرایط پرورش متراکم رنگشان محو می‌شود. ماهیان همانند سایر حیوانات قادر به ساخت کاروتنوئیدها نمی‌باشند و رنگ‌پذیری‌شان بستگی به میزان کاروتنوئیدهای موجود در جیره‌ی غذایی دارد. پرورش دهندگان ماهیان زیتتی همواره در پی یافتن روش‌هایی برای افزایش رنگ پوست ماهی‌ها می‌باشند و نیز درصدد یافتن رنگدانه‌های طبیعی هستند تا آن‌ها را جایگزین کاروتنوئیدهای صناعی نمایند زیرا رنگدانه‌های مصنوعی قیمت بالایی دارند. (Ramamoorthy et al. 2010). کاروتنوئیدها رنگدانه‌های محلول در چربی هستند که توسط گیاهان، جلبک‌ها، فیتوپلانکتون‌ها و برخی قارچ‌ها و باکتری‌ها تولید می‌گردند (Jaswir and Monsur 2011). استفاده از ارگانسیم‌های دریایی به عنوان منابع جدید در حال گسترش است. در بین این‌ها، جلبک‌ها به دلیل دارا بودن مواد بیولوژیکی فعال و گسترده جزء غنی‌ترین منابع شناخته شده‌اند (Marimuthu et al. 2012). رنگدانه‌های جلبک‌ها به سه گروه عمده تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل: کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها و فیکوبیلی پروتئین‌ها می‌باشند. از این میان، کاروتنوئیدها بیش‌ترین پراکندگی را در طبیعت دارند و آنتی‌اکسیدان‌های قوی محسوب می‌گردند و مهم‌ترین آن‌ها بتاکاروتن، فوکوزانتین و توکوفرول می‌باشند (Chojnacka et al. 2012). باید به این نکته توجه داشت که تمام رنگدانه‌ها منجر به تغییرات رنگی در پوست و بافت ماهی‌ها نمی‌گردند چرا که گونه‌های مختلف ماهی‌ها به طور یکسان

شاخص‌های رشد تیمارهای آزمایشی در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ بر اساس رابطه‌های متداول اندازه‌گیری شدند (Salas-Leiton et al. 2010).

میزان رشد ویژه یا Specific Growth Rate (SGR)

$$\%SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_i}{t_2 - t_1} \times 100$$

$W_f$ : وزن نهایی (گرم)

$W_i$ : وزن اولیه (گرم)

( $t_2 - t_1$ ): تعداد روزهای آزمایش

ضریب تبدیل غذایی یا Feed Conversion Ratio (FCR)

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$

F: غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)

$W_f$ : وزن نهایی ماهی (گرم)

$W_i$ : وزن اولیه ماهی (گرم)

میزان کارایی پروتئین یا Protein Efficiency Ratio

$$PER = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

$BW_f$ : وزن نهایی (گرم)

$BW_i$ : وزن اولیه (گرم)

AP: پروتئین مصرفی

درصد میزان بقا یا Survival Rate % (SR)

$$\text{Survival rate} = (N_t / N_0) \times 100$$

$N_t$  = تعداد ماهی‌ها در انتهای دوره آزمایش

$N_0$  = تعداد ماهی‌ها در ابتدای دوره آزمایش

فاکتور وضعیت یا Condition Factor (CF)

$$CF = (W/L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (وزن به گرم)

L: طول ماهی (سانتی متر)

به منظور بررسی رنگ ماهی‌ها، پس از اتمام دوره‌ی دو ماهه‌ی آزمایش، از هر تیمار ۱۵ قطعه ماهی را به صورت انفرادی با استفاده از ماده‌ی بی‌هوشی MS222 با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش نموده و در جعبه‌ی تصویربرداری با دیواره‌های تیره با ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰

عصاره‌ی اتانولی جلبک سارگاسوم (S5، S10 و S15) به ازاء هر کیلوگرم غذا و تیمارهای چهارم، پنجم و ششم نیز به ترتیب با مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم عصاره‌ی اتانولی جلبک لارنسیا (L5، L10 و L15) به مدت دو ماه تغذیه شدند (Costa et al. 2013).

به منظور عصاره‌گیری به روش خیساندن (Maceration)، مقداری از پودر جلبک (هر کدام جداگانه) را وزن کرده و به میزان ۵ برابر پودر وزن شده، اتانول ۸۰ درصد به آن اضافه گردید و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال قرار داده شد. سپس به مدت ۴ ساعت توسط دستگاه شیکر به خوبی مخلوط گردیدند. در مرحله‌ی بعد با استفاده از پمپ خلاء، تغلیظ صورت گرفت. برای تهیه‌ی غذای حاوی عصاره، ابتدا میزان لازم غذا وزن شد. سپس عصاره‌ی اتانولی جلبک حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم ماده‌ی خشک به ازای هر کیلوگرم غذا به آن‌ها اضافه گردید به منظور حفظ و قابلیت هضم بهتر، مواد مؤثره عصاره‌ی جلبک‌ها و نیز عدم انحلال عصاره در آب، روغن زیتون، روی غذاهای حاوی عصاره و نیز شاهد اسپری گردید. غذای حاوی عصاره هر هفته تهیه می‌گردید و بعد از هر بار غذادهی به منظور جلوگیری از اکسیداسیون کاروتنوئیدها، غذا در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده می‌شد.

جدول ۱: آنالیز غذای داده شده به ماهیان در طول آزمایش (بر اساس مقادیر ذکر شده در غذای تجاری خریداری شده)

مقدار	مواد تشکیل دهنده
۵۰ درصد	پروتئین خام
۱۸ درصد	چربی خام
۱/۹ درصد	فیبر خام (حداکثر)
۳/۵ درصد	خاکستر
۱/۱۹ درصد	فسفر
۰/۵۷ درصد	سدیم
۱/۵ mg/kg	مس
۱۲ mg/kg	منگنز
۷۵ mg/kg	روی
۱/۸ mg/kg	ید
۱۵۰۰۰ IU/kg	ویتامین D3

گرددید ( Torrissen and Naevdal 1984, Ramamoorthy et al. 2010).

برای محاسبه‌ی میزان کل کاروتنوئیدها از فرمول زیر استفاده گردید (Sun et al. 2012):

میزان کل کاروتنوئیدها (mg/kg) = میزان محلول × میزان رقت × میزان جذب نوری / وزن نمونه (گرم) × ۲۵۰۰

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS-16 صورت گرفت و با این نرم‌افزار میانگین پارامترها مورد مقایسه‌ی آماری قرار گرفتند و اختلاف‌ها در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  سنجیده شد. برای مقایسه‌ی پارامترها بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> و پس آزمون توکی<sup>۲</sup> استفاده گردید و برای بررسی میانگین هر تیمار از آزمون T دانش‌آموز<sup>۳</sup> استفاده شد.

## نتایج

### تأثیر مصرف جلبک بر فاکتورهای رشد

در طول دوره‌ی آزمایش میزان بقا در تمام گروه‌ها ۱۰۰ درصد بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ضریب رشد ویژه تحت تأثیر تیمارهای تغذیه شده با جلبک نمی‌باشد. در گروه تغذیه شده با عصاره‌ی الکلی سارگاسوم در روز ۳۰، بیش‌ترین ضریب رشد ویژه مربوط به ۱۵ گرم در کیلوگرم (S15) و در گروه تغذیه شده با لارنسیا، بیش‌ترین ضریب رشد ویژه مربوط به ۱۰ گرم در کیلوگرم (L10) بود. در روز ۶۰ نیز بیش‌ترین ضریب رشد ویژه مربوط به S15 بود ولی تیمارهای مختلف با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند (جداول ۱ و ۲).

نتایج مربوط به ضریب تبدیل غذایی نشان داد که میانگین ضریب تبدیل غذایی روز ۳۰ در تیمار ۱۰ گرم در کیلوگرم لارنسیا (L10) برابر با ۱/۵۸ می‌باشد که در بین تیمارهای آزمایشی دارای کم‌ترین میزان می‌باشد و به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. به طور کلی ضریب

سانتی‌متر (طول، عرض و ارتفاع)، در یک مکان تاریک به منظور عدم تأثیر نور محیطی، قرار داده و سپس با دوربین دیجیتال (Sony Dsc W530) عکس گرفته می‌شد. در حین عکس‌برداری درب محفظه بسته بود. به منظور آنالیز عکس‌ها از نرم‌افزار فتوشاپ (Adobe Photoshop CC v14.2.1) استفاده گردید. برای اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در پوست ماهی از روش Yam و Papadakis در سال ۲۰۰۴ استفاده گردید.

برای ارزیابی سه ناحیه‌ی سینه‌ای، پشتی و دمی، در هر بخش، ۵ نقطه را انتخاب و میزان  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  را یادداشت کرده و سپس میانگین ۵ نقطه محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در پوست ماهی از روش Yam و Papadakis در سال ۲۰۰۴ استفاده گردید (تصاویر ۳-۵).

با استفاده از مقادیر  $a^*$  و  $b^*$  می‌توان هیو (Hab)، معرف رنگ دیده شده و کروما (Cab)، معرف شدت و وضوح رنگ را طبق فرمول‌های زیر به دست آورد (Hunt: 1977):

$$(H_{ab}) = \arctan (b^* / a^*)$$

$$(C_{ab}) = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$$

به منظور اندازه‌گیری کاروتنوئیدهای پوست ماهی، ابتدا ۵ سی‌سی استون در لوله‌های شیشه‌ای ریخته و سپس ۱/۵ گرم پودر سولفات سدیم دهیدراته به آن‌ها اضافه گردید. در مرحله‌ی بعد میزان ۳۰۰ میلی‌گرم از پوست هر ماهی وزن شد و کاملاً توسط قیچی کوچک جراحی خرد شد و به لوله‌ی حاوی استون و سولفات سدیم اضافه گردید. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها (از هر تیمار ۱۰ نمونه) همگن‌سازی هر نمونه به مدت ۱ دقیقه انجام شد و پس از اتمام همگن‌سازی، حجم استون را به ۱۰ سی‌سی رسانده و به مدت ۳ روز در یخچال (۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شدند. پس از ۳ روز لوله‌ها با ۲۸۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. سپس مایع رویی برداشته شد و جذب نوری آن در طول موج ۴۷۶ نانومتر قرائت

1- One Way ANOVA  
2- Tukey  
3- Student T test

میانگین  $1/33 \pm 0/43$  و  $1/22 \pm 0/28$  به عنوان بهترین تیمارها شناخته شدند که با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری نبودند (جدول ۲).

**بررسی رنگ ماهی با استفاده از روش تصویربرداری**  
به منظور ارزیابی رنگ ماهی‌ها در گروه‌های مختلف به روش تصویربرداری فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$ ، Hue و Chroma در سه ناحیه‌ی سینه‌ای، پشتی و شکمی به طور کلی بررسی گردیدند. نتایج نشان داد که میزان رنگ زرد و وضوح و شدت رنگ در تمام تیمارهای تغذیه شده با جلبک به طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (جدول ۳).

تبدیل غذایی در روز ۳۰ و ۶۰ در تیمارهای تغذیه شده با جلبک با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱ و ۲). نتایج مربوط به فاکتور وضعیت در ماهی ماکرو تغذیه شده با تیمارهای مختلف جلبک نشان داد که در تیمار سارگاسوم و لارنسیا، افزایش معنی‌داری در فاکتور وضعیت در روز ۳۰ و ۶۰ مشاهده نگردید. در بین تیمارهای مختلف تغذیه شده با جلبک پس از ۲ ماه، فاکتور وضعیت در گروه‌های  $L5$ ،  $S10$  و  $S15$  نسبت به سایر تیمارها بیش‌تر بود (جدول ۱ و ۲). نتایج مربوط به محاسبات نسبت بازدهی پروتئین طی ۲ ماه، نشان می‌دهد که میانگین نسبت بازدهی پروتئین در تیمار شاهد در روز ۶۰ برابر با  $1/16 \pm 0/28$  و در مقایسه‌ی بین تیمارهای آزمایشی تغذیه شده با جلبک، تیمار  $S15$  و  $L15$  با

جدول ۲: مقایسه‌ی شاخص‌های رشد بین تیمارهای مورد بررسی در روز ۳۰ نمونه‌گیری (نتایج بر اساس  $Means \pm SD$  گزارش شده‌اند)

گروه	فاکتور	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	فاکتور وضعیت	بازدهی پروتئین
سارگاسوم (۵ گرم در کیلوگرم)	$0/50 \pm 0/14^a$	$2/04 \pm 0/71^a$	$1/89 \pm 0/08^a$	$0/90 \pm 0/32^a$	
سارگاسوم (۱۰ گرم در کیلوگرم)	$0/57 \pm 0/09^{ab}$	$1/82 \pm 0/33^a$	$1/94 \pm 0/09^{ab}$	$1/12 \pm 0/14^a$	
سارگاسوم (۱۵ گرم در کیلوگرم)	$0/74 \pm 0/31^b$	$1/85 \pm 1/15^a$	$2/00 \pm 0/10^{bc}$	$1/51 \pm 0/93^b$	
لارنسیا (۵ گرم در کیلوگرم)	$0/49 \pm 0/18^a$	$2/77 \pm 2/41^b$	$1/86 \pm 0/13^a$	$0/99 \pm 0/42^a$	
لارنسیا (۱۰ گرم در کیلوگرم)	$0/69 \pm 0/18^b$	$1/58 \pm 0/49^a$	$1/88 \pm 0/07^a$	$1/38 \pm 0/41^b$	
لارنسیا (۱۵ گرم در کیلوگرم)	$0/61 \pm 0/14^{ab}$	$1/86 \pm 1/18^a$	$1/86 \pm 0/23^a$	$1/31 \pm 0/48^b$	
شاهد (بدون افزودن جلبک)	$0/69 \pm 0/15^b$	$1/97 \pm 0/60^{ab}$	$2/05 \pm 0/14^c$	$1/14 \pm 0/44^a$	

حروف کوچک لاتین غیر مشابه روی انحراف معیار نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح  $0/05$  در هر ستون می‌باشد.

جدول ۳: مقایسه‌ی شاخص‌های رشد بین تیمارهای مورد بررسی در روز ۶۰ (نتایج بر اساس  $Means \pm SD$  گزارش شده‌اند)

گروه	فاکتور	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	فاکتور وضعیت	بازدهی پروتئین
سارگاسوم (۵ گرم در کیلوگرم)	$0/53 \pm 0/08^a$	$1/80 \pm 0/53^a$	$1/88 \pm 0/09^a$	$1/20 \pm 0/33^a$	
سارگاسوم (۱۰ گرم در کیلوگرم)	$0/51 \pm 0/18^a$	$1/96 \pm 0/80^a$	$2/06 \pm 0/18^b$	$1/27 \pm 0/73^a$	
سارگاسوم (۱۵ گرم در کیلوگرم)	$0/58 \pm 0/12^a$	$1/68 \pm 0/68^a$	$2/09 \pm 0/09^b$	$1/33 \pm 0/43^a$	
لارنسیا (۵ گرم در کیلوگرم)	$0/48 \pm 0/10^a$	$1/94 \pm 0/73^a$	$2/05 \pm 0/15^b$	$1/15 \pm 0/36^a$	
لارنسیا (۱۰ گرم در کیلوگرم)	$0/50 \pm 0/06^a$	$1/85 \pm 0/53^a$	$1/94 \pm 0/11^a$	$1/17 \pm 0/35^a$	
لارنسیا (۱۵ گرم در کیلوگرم)	$0/50 \pm 0/06^a$	$1/73 \pm 0/44^a$	$1/84 \pm 0/13^a$	$1/22 \pm 0/28^a$	
شاهد (بدون افزودن جلبک)	$0/52 \pm 0/12^a$	$1/80 \pm 0/39^a$	$2/09 \pm 0/25^b$	$1/16 \pm 0/28^a$	

حروف کوچک لاتین غیر مشابه روی انحراف معیار نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح  $0/05$  در هر ستون می‌باشد.

جدول ۴: مقادیر میانگین ± انحراف معیار فاکتورهای تصویربرداری ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  و Hue و Chroma) از سه ناحیه‌ی سینه‌ای، پشتی و شکمی پس از پایان دوره‌ی ماهیان مورد مطالعه

Chroma (وضوح و شدت رنگ)	Hue (رنگ قابل مشاهده)	$b^*$ (طیف رنگ زرد تا آبی)	$a^*$ (طیف رنگ قرمز تا سبز)	$L^*$ (روشنایی تصویر)	فاکتور گروه
$35/96 \pm 8/31^a$	$-19/96 \pm 44/82^a$	$36/07 \pm 8/30^a$	$-2/56 \pm 5/43^{ab}$	$73/59 \pm 5/69^{ab}$	سارگاسوم (۵ گرم در کیلوگرم)
$40/01 \pm 7/07^a$	$17/82 \pm 32/29^b$	$38/10 \pm 5/97^a$	$3/94 \pm 4/81^a$	$67/83 \pm 4/41^a$	سارگاسوم (۱۰ گرم در کیلوگرم)
$39/87 \pm 5/47^a$	$9/40 \pm 25/19^a$	$39/00 \pm 6/43^a$	$1/54 \pm 4/60^{ab}$	$72/10 \pm 4/49^{ab}$	سارگاسوم (۱۵ گرم در کیلوگرم)
$38/16 \pm 8/80^a$	$9/40 \pm 31/25^a$	$37/68 \pm 9/51^a$	$1/94 \pm 3/87^{ab}$	$74/08 \pm 7/53^b$	لارنسیا (۵ گرم در کیلوگرم)
$45/59 \pm 6/15^a$	$25/48 \pm 23/74^b$	$44/53 \pm 6/65^a$	$4/83 \pm 3/83^a$	$73/10 \pm 4/98^{ab}$	لارنسیا (۱۰ گرم در کیلوگرم)
$43/32 \pm 9/36^a$	$22/53 \pm 4/93^b$	$42/42 \pm 9/45^a$	$4/92 \pm 2/92^a$	$74/00 \pm 3/29^b$	لارنسیا (۱۵ گرم در کیلوگرم)
$24/96 \pm 7/27^b$	$6/07 \pm 31/51^a$	$24/34 \pm 7/85^b$	$0/85 \pm 3/09^{ab}$	$69/39 \pm 6/49^{ab}$	شاهد (بدون افزودن جلبک)

حروف کوچک لاتین غیر همنام روی انحراف معیار نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ در هر ستون می‌باشد.



کنترل



تغذیه شده با سارگاسوم (۵g/kg)



تغذیه شده با لارنسیا (۵g/kg)



تغذیه شده با سارگاسوم (۱۰g/kg)



تغذیه شده با لارنسیا (۱۰g/kg)



تغذیه شده با سارگاسوم (۱۵g/kg)



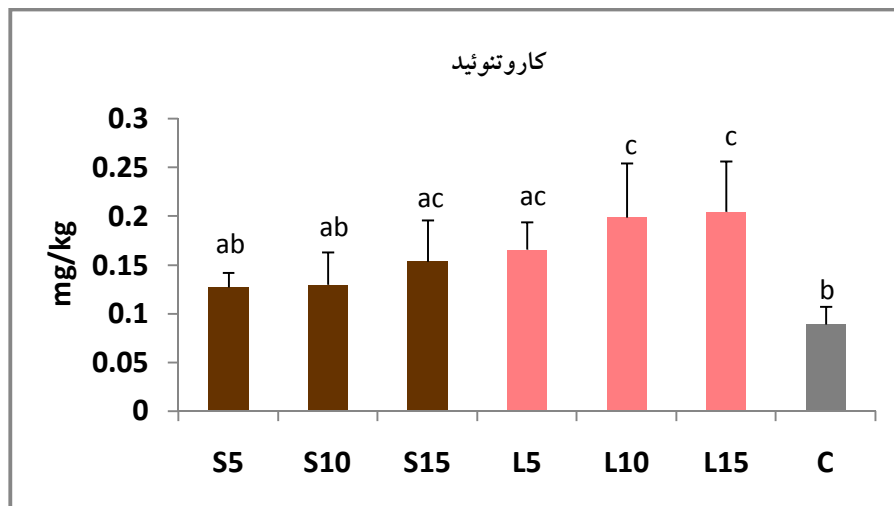
تغذیه شده با لارنسیا (۱۵g/kg)

تصویر ۱: نتایج حاصل از تغییر رنگ ایجاد شده به روش تصویربرداری، به رنگ زرد ایجاد شده در ماهی‌های گروه‌های مختلف تغذیه شده با عصاره‌ی الکلی جلبک‌ها توجه شود

### نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئیدها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئیدها در پوست ماهیان نشان داد که میزان تجمع رنگدانه‌ها در تیمارهای تغذیه شده با جلبک لارنسیا نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود در صورتی که در تیمارهای تغذیه

شده با جلبک سارگاسوم، فقط میزان ۱۵ گرم در کیلوگرم جیره‌ی غذایی باعث افزایش معنی‌دار در میزان رنگدانه‌های پوست شد و مقادیر ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم از این جلبک منجر به تغییر معنی‌دار در میزان رنگدانه‌های پوست نگردید (نمودار ۱).



نمودار ۱: نتایج بررسی میزان کاروتنوئید پوست اندازه‌گیری شده با روش اسپکتروفوتومتری. ستون‌هایی که دارای حروف لاتین مشابه در بالای ستون‌ها هستند، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ( $p < 0.05$ ) ندارند.

### بحث

بیش‌تر از گروه کنترل بود (Wang et al. 2006). اختلافات در نتایج متناقض احتمالاً به علت استفاده از غلظت‌ها یا خلوص بالاتر رنگدانه‌های مورد استفاده در غذای ماهیان، مدت تجویز و گونه‌ی ماهی مورد استفاده شده می‌باشد.

دیویس و همکاران در سال ۱۹۹۷ نتیجه گرفتند که مقادیر زیاد جلبک قرمز پورفیرا (۳۳ درصد) در غذا، باعث کاهش رشد و نیز کاهش دریافت مواد مغذی توسط شاه ماهی (مولت) می‌گردد. بنابراین مقداری از جلبک که باعث عدم تأثیر منفی روی رشد می‌گردد، می‌باید استفاده گردد (Davies et al. 1997). در تحقیق حاضر بیش‌ترین مقدار جلبک‌های استفاده شده در غذا، ۱۵ گرم در کیلوگرم بود که تأثیر منفی روی رشد ماهی نداشتند. آواستی و همکاران در سال ۲۰۱۳ تأثیر پودر گل همیشه

جلبک‌های دریایی به دلیل غنی بودن از مواد مغذی، معدنی و برخی از ویژگی‌های عملکردی پلی ساکاریدهای موجود در آن‌ها، برای مدت طولانی است که در برخی کشورها به عنوان بخشی از غذای انسان و حیوانات، کشت می‌شود و مورد استفاده قرار می‌گیرند (Fleurence 1999).

Gouveia و همکاران در سال ۲۰۰۳ در پژوهش خود دریافتند که استفاده از رنگدانه‌ی طبیعی و مصنوعی آستاگزانتین در جیره‌ی غذایی ماهی کپور زینتی تأثیر معنی‌داری بر افزایش رشد این ماهی ندارد (Gouveia et al. 2003). در تحقیق دیگری، نتایج به دست آمده متفاوت بود به طوری که وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۶ دریافتند که ماهی زینتی *Rhodeus uyekii* تغذیه شده با غذای حاوی آستاگزانتین میزان رشدش به طور معنی‌داری

آستاگزانتین در بین سه بخش جانبی قدامی (سینه‌ای)، پشتی و دمی نشان داد که میزان Hue، Chroma و L\* در بخش سینه‌ای بیش‌تر از سایر بخش‌ها بود (Kalinowski et al. 2005). در تحقیق حاضر، روش تصویربرداری از ماهیان نشان داد که استفاده از عصاره‌های اتانولی جلبک قهوه‌ای سارگاسوم و جلبک قرمز لارنسیا به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵g/kg باعث ایجاد رنگ زرد واضحی در ماهیان گردید که به طور قابل توجهی بیش‌تر از گروه کنترل بود ( $p < 0.05$ ).

کاستا و همکاران در مطالعه‌ای دریافتند که استفاده از جلبک قهوه‌ای آسکوفیلوم (*Ascophyllum*) به میزان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در کیلوگرم به مدت ۴۲ روز در جیره‌ی غذایی ماهیان انگشت قد تیلایا تأثیری بر طول کل و افزایش وزن ندارد ولی به میزان ۲۰ گرم در کیلوگرم، FCR را به طور معنی‌داری بهبود می‌بخشد (Costa et al. 2013). یلدریم و همکاران نشان دادند که استفاده از دو جلبک دریایی اولوا (*Ulva*) و انترمورفا (*Enteromorpha*) به میزان ۱۰ درصد به مدت ۶۰ روز در جیره‌ی غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، تأثیری بر فاکتورهای ضریب رشد ویژه (SGR) و درصد رشد نسبی (RGR) ندارد و نتایج آن‌ها مشابه با گروه کنترل است. در این مطالعه دریافتند که میزان نسبت بازده پروتئین (PER) و بقا بیش‌تر از گروه کنترل می‌باشد ولی در این مدت این دو جلبک نه تنها باعث افزایش رشد نگردیدند بلکه میزان رشد در گروه‌های تیمار کم‌تر از گروه کنترل بود (Yildirim et al. 2009). راوی و همکاران گزارش کردند که جلبک قرمز دریایی گراسیلاریا (*Gracilaria*) به دلیل غنی بودن از آمینواسیدها و مواد معدنی و نیز رنگدانه‌ی فیکواریترین می‌تواند میزان رشد و رنگدانه‌ها را در ماهیان افزایش دهد و به عنوان یک منبع غنی از رنگدانه‌های طبیعی در جیره‌ی غذایی استفاده گردد (Baghel et al. 2014). Soler-Vila و همکاران در تحقیقات خود نشان دادند که استفاده از جلبک قرمز *Porphyra* به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد جیره‌ی قزل‌آلای رنگین کمان، به مدت ۱۲/۵ هفته تأثیر معنی‌داری

بهار را بر میزان کاروتنوئیدهای پوست ماهی گورامی به مدت ۴۰ روز بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که میزان ۱۰ گرم از این گیاه در ۱۰۰ گرم از جیره‌ی غذایی ماهی گورامی می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدهای (۰/۱۲۱ mg/kg) پوست ماهی نسبت به گروه کنترل گردد (Awasthi et al. 2013).

در تحقیق حاضر، نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئیدها در پوست ماهیان نشان داد که میزان تجمع رنگدانه‌ها در تیمارهای تغذیه شده با جلبک لارنسیا نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیش‌تر بود در صورتی که در تیمارهای تغذیه شده با عصاره‌ی اتانولی جلبک سارگاسوم، فقط میزان ۱۵ گرم در کیلوگرم جیره‌ی غذایی باعث افزایش معنی‌دار در میزان رنگدانه‌های پوست شد و مقادیر ۵ و ۱۰ گرم در کیلوگرم از عصاره‌ی این جلبک منجر به تغییر معنی‌دار در میزان رنگدانه‌های پوست نگردید ( $p > 0.05$ ).

کالینوسکی و همکاران در سال ۲۰۰۵ میزان رشد و رنگ ماهی پورگی را در روزهای ۷۵ و ۱۰۵ با استفاده از جیره‌های غذایی حاوی ۴۰ و ۱۰۰ mg/kg کانتاگزانتین مصنوعی و ۲۰ و ۴۰ mg/kg آستاگزانتین استخراج شده از پوسته‌ی میگو بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که هیچ کدام از این جیره‌های حاوی کاروتنوئید تأثیر معنی‌داری روی برخی فاکتورهای رشد (SGR, FCR) ماهی پورگی نداشتند. آستاگزانتین به میزان ۴۰ mg/kg باعث ایجاد رنگ قرمز واضحی در این ماهی گردید و میزان Hue (رنگ قابل مشاهده) و Chroma (وضوح و شدت رنگ) افزایش یافت ولی بین روزهای ۷۵ و ۱۰۵ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و حتی در روز ۱۰۵ کم‌تر نیز شده بود که این یافته نشان می‌دهد که جیره‌ی حاوی کاروتنوئید پس از مدتی باعث اشباع رنگدانه‌های پوست می‌گردد که این مدت زمان بستگی به فاکتورهای ژنتیکی، تغذیه‌ای و بیولوژیکی از قبیل اندازه و گونه‌ی ماهی دارد. همچنین کاروتنوئید بر میزان L\* (روشنایی) پوست ماهی تأثیری نداشت و میزان رنگ در جیره‌ی حاوی ۴۰ mg/kg



منفی داشته باشند. بنابراین تعیین میزان مناسب جلبک‌های دریایی در غذای ماهیان به ویژه ماهیان پرورشی خوراکی مهم می‌باشد (Ingram 1985).

والنت و همکاران در سال ۲۰۰۶ دریافتند که جیره‌ی غذایی حاوی گراسیلاریا، اولوا و آسکوفیلوم تغییری در میزان PER در ماهی باس دریایی ایجاد نمی‌کند (Valente et al. 2006). با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که دو جلبک سارگاسوم و لارنسیا می‌توانند بدون داشتن اثرات منفی بر رشد ماهی پس از ۶۰ روز تغذیه با عصاره‌ی الکلی جلبک به عنوان منابع جدیدی به منظور افزایش و تقویت رنگ ماهیان در صنعت آبی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند.

بر افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و نسبت بازده پروتئین ندارد اما نتایج تغذیه با این جلبک، تغییر رنگ عضلات ماهیان گروه تیمار به رنگ نارنجی تیره بود (Soler-Vila et al. 2009)، در مطالعه‌ی حاضر نیز میزان افزایش وزن، رشد ویژه، میزان ضریب تبدیل غذایی و میزان کارایی پروتئین در تیمارهای تغذیه شده با عصاره‌ی اتانولی جلبک در طی ۶۰ روز افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نداشت که با تحقیق سولرویلا و همکاران در سال ۲۰۰۹ مشابهت دارد. مطالعات نشان داده است که مواد ضد مغذی موجود در جلبک‌های دریایی به ویژه جلبک‌های قهوه‌ای از قبیل لکتین‌ها و تانن‌ها ممکن است روی هضم پروتئین اثر

## تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان‌نامه‌ی دکتری دامپزشکی انجام گردیده است و از اعطای گرنت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

- Awasthi, M.; Kashyap, A. and Serajuddin, M. (2013). Effect of Plant Meal as a Carotenoid Source on the Development of Pigmentation in Dwarf Gourami, *Colisa lalia* (Hamilton, 1822). The National Academy of Sciences, India, Pp: 274-277.
- Baghel, R.S.; Kumari, P.; Reddy, C.R.K.; Jha, B. (2014). Growth, pigments and biochemical composition of marine red alga *Gracilaria crassa*, Journal of Applied Phycology, 26: 2143-2150.
- Chojnacka, K.; Saeid, A.; Witkowska, Z. and Tuhy, L. (2012). Biologically active compounds in seaweed extracts—the prospects for the application. The Open Conference Proceedings Journal, 3: 20-28.
- Costa, M.M.; Oliveira, S.T.L.; Balen, R.E.; Bueno Junior, G.; Baldan L.T.; Silva, L.C.R. and Santos, L.D. (2013). Brown seaweed meal to Nile Tilapia fingerlings. Archivosde Zootecnia, 62 (237): 101-109.
- Davies, S.J.; Brown, M.T. and Camilleri, M. (1997). Preliminary assessment of the seaweed *Porphyra purpurea* in artificial diets for thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). Aquaculture, 152: 249-258.
- Dawczynski, C., Schubert, R. and Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. Food Chemistry, 103: 891-899.
- Fleurence, J. (1999). Seaweed proteins: biochemical nutritional aspects and potential uses. Trends Food Science Technology, 10: 25-28.
- Gouveia, L.; Rema, P.; Pereira, O. and Empis, J. (2003). Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. Aquaculture Nutrition, 9: 123-129.
- Hunt, R.W.G. (1977). The specification of colour appearance: I. Concepts and terms. Colour Research Applied. 2: 55-68.
- Ingram, G.A. (1985). Lectins and lectin-like molecules in lower plants—I. Marine algae. Developmental and Comparative Immunology, 9: 1-10.
- Jaswir, I. and Monsur, H. (2011). Anti-inflammatory compounds of macro algae origin: a review. Journal of Medicinal Plants Research, 5(33):7146-7154.

- Kalinowski, C.T.; Robaina, L.E.; Fernandez-Palacios, H.; Schuchardt, D. and Izquierdo, M.S. (2005). Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*, 244: 223-231.
- Lavaestu, T. (1981). Summary of international production and demand for seaweed colloids in technical papers, Regional workshop on the Culture and Utilization of Seaweeds. Vol. II. Regional Seafarming Development and Demonstration Project. RAS/90/2002. FAO/UNDP seafarming project August 1981 Cebu City. pp.143-14.
- Marimuthu, J.; Essakimuthu, P.; Narayanan, J.; Anantham, B.; Tharmaraj, R. and Arumugam, S. (2012). Phytochemical characterization of brown seaweed *Sargassum wightii*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, S109-S113.
- Ramamoorthy, K.; Bhuvanewari, S.; Sankar, G. and Sakkaravarthi, K. (2010). Proximate composition and carotenoid content of natural carotenoid sources and its colour enhancement on marine ornamental fish *Amphiprion ocellaris*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 2(6): 545-550.
- Salas-Leiton, E.; Anguis, V.; Martin-Antonio, B.; Crespo, D.V.; Planas, J.; Infante, C. et al. (2010). Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Potential effects on the immune response. *Fish and Shellfish Immunology*, 28: 296-302.
- Sun, X.; Chang, Y.; Ye, Y.; Ma, Z.; Liang, Y.; Li, T. et al. (2012). The effect of dietary pigments on the coloration of Japanese ornamental carp (koi, *Cyprinus carpio* L.) *Aquaculture*, 12: 62-68.
- Soler-Vila, A.; Coughlan, S.; Guiry, M.D. and Kraan, S. (2009). The red alga *Porphyra dioica* as a fish-feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, feed efficiency, and carcass composition. *Journal of Applied Phycology*, 21: 617-624.
- Torrissen, O. and Naevdal, G. (1984). Pigmentation of salmonids: genetical variation in carotenoid deposition in rainbow trout. *Aquaculture*, 38: 59-66.
- Valente, L.M.P.; Gouveia, A.; Rema, P.; Matos, J.; Gomes, E.F. and Pinto, I.S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 252: 85-91.
- Wang, Y.J.; Chien, Y.H. and Pan, C.H. (2006). Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture*, 261: 641-648.
- Yam, K.L. and Papadakis, S.E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61: 137-142.
- Yildirim, O.; Ergun, S.; Yaman, S. and Turker, A. (2009). Effects of two seaweeds (*Ulva lactuca* and *Enteromorpha linza*) as a feed additive in diets on growth performance, feed utilization, and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 15 (3): 455-460.