

## "مقاله پژوهشی"

## تثبیت اثر رنگ پذیری بر سیچلاید آلانکارا (*Pseudotropheus estherae*) با جیره- غذایی دارای رنگدانه با استفاده از مواد آنابولیک استروئیدی

ایمان کامیار<sup>۱</sup>، مهرداد فتح الهی<sup>۱\*</sup>، محمد شادخواست<sup>۱</sup>

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲۹

## چکیده

در این مطالعه تأثیر سه دوز مختلف از مواد آنابولیک استروئیدی (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) نسبت به تیمار شاهد (بدون هورمون) در رنگ پذیری و تثبیت رنگ القاشده به ماهیان سیچلاید آلانکارا (*Pseudotropheus estherae*) که با افزودنی آستاگرانترین (۳۹/۴±۰/۰۲ میلی متر) به مدت ۸ هفته در ۱۲ آکواریوم ۶۰ لیتری مورد آزمایش قرار گرفتند. با توجه به سنجش فیزیکی رنگ ماهی در خلال و پایان آزمایش، بهترین رنگ ماهی در تیمار ۲۰۰ میلی گرم هورمون بر کیلوگرم خوراک به دست آمد. افزایش رنگ ماهیان با افزایش دوزهای هورمونی در خوراک افزایش یافت و افزایش آن در تیمار هورمونی ۲۰۰ میلی گرم نسبت به گروه‌های دیگر و گروه شاهد معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) و در پایان آزمایش تثبیت رنگ اهمیت ویژه‌ای داشت. نهایتاً، در همه گروه‌های آزمایشی، با به کارگیری محرکها تفاوت معنی دار در تغییرات رنگ حاصل شد و تیمار ۲۰۰ میلی گرم هورمون به طور معنی دار بیش از سایر تیمارها تجمع میزان کاروتنوئید را در ماهی القا نمود. پارامتر قرمزی رنگ (a) در دوز شاهد و ۵۰ میلی گرم کم تر از سایر تیمارها و بیش تر به سمت زرد متمایل بود. در دوز ۱۰۰ میلی گرم اختلاف معنی دار با دو گروه قبل معنی دار نبود، اما رنگ قرمز با بزرگی بیشتری مشاهده شد. در دوز ۲۰۰ میلی گرم میزان روشنائی بدن با افزایش قرمزی رنگ بدن ماهیان کاهش یافت.

**واژگان کلیدی:** مواد آنابولیک، سیچلاید آلانکارا (*Pseudotropheus estherae*)، رنگ پذیری، تثبیت

## مقدمه

رنگ در ماهیان زینتی از معیارهای مهم در انتخاب و نیز بازار پسندی آنها است و معمولاً رشد و اندازه آنها معیاری ویژه برای پسند در بازار فروش نیست. هنر هر پرورش دهنده که با استفاده از انتخاب مولدین صورت می‌گیرد تنها هنگامی نشان داده خواهد شد که پرورش دهنده موفق شود تا رنگ مورد نظر بازار را فراهم نماید و در غیر این صورت در آمد مورد نیاز و توجیه اقتصادی محصول زیاد نخواهد بود (جعفری و همکاران، ۱۳۹۶).

برای فراهم کردن رنگ در ماهی دو عامل ایجاد رنگ و تثبیت و دوام رنگ بر بدن ماهی شرط اصلی توفیق در کار است. رنگ آمیزی ماهیان با استفاده از رنگدانه های طبیعی و یا سنتتیک با تغذیه در اختیار ماهیان قرار می‌گیرد (شاهقلیان و فتح اللهی، ۱۳۹۵). معمول ترین رنگدانه‌های مصنوعی در ایران برای رنگ دادن به بافت‌های مورد نظر پرورش دهندگان آستاگزانتین و لوکانتین می‌باشند و برای رنگ‌دهی توسط خوراک به مرغ، تخم مرغ و حتی پرنده نیز انجام می‌گیرد (شاهقلیان و فتح اللهی، ۱۳۹۵؛ جعفری و همکاران، ۱۳۹۶). برای ماهیان زینتی هدف در رنگ‌دهی به اندام‌های ظاهری مانند پوست، باله‌ها و سرپوش آبشش‌ها است (غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۱). بدیهی است که در مدیریت تغذیه یا پرورش رنگ‌دهی به ماهیان حفظ و تثبیت رنگ به وجود آمده در موفقیت اهمیت زیادی دارد.

در این تحقیق با به کارگیری هورمون‌های جنسی نر به عنوان جنسیتی با رنگ بیشتر و واکنش دهنده به زادآوری با تغییر رنگ بدن، نسبت به جنسیت ماده در اغلب ماهیان، تثبیت رنگ در ماهیان سیچلاید آلانکارا (*Pseudotropheus estherae*) به آزمایش گذاشته شد.

استفاده از آندرول به عنوان یک آنالوگ هورمون جنسی نر و متیل تستوسترون یک هورمونی جنسی و مورد استفاده برای تغییر جنسیت در صنعت پرورش آزادماهیان، برای درک تثبیت، دوام، رشد و پارامترهای بافت‌شناسی، صورت پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

### محل انجام و طراحی سیستم آزمایشی

تحقیق در آزمایشگاه مجموعاً یازده ماه با پرورش یک گله ۲۰۰ عددی از ماهیان سیچلاید آلانکارا (*Pseudotropheus estherae*) شروع شد و ۱۲۰ قطعه از ماهیان تقریباً هم وزن و هم طول (گرم  $0.1 \pm 0.4/43$ ) به مدت ۸ هفته بدون در نظر گرفتن جنسیت (با توجه به عدم بلوغ و کم سن بودن ماهیان) با تیمارهای آزمایشی انتخاب و تغذیه شدند. این آزمایش در ۱۲ آکوارיום ۶۰ لیتری با سه تیمار و یک شاهد با سه تکرار انجام شد. اکسیژن، و دما به طور روزانه و pH به طور هفتگی کنترل و ثبت و حجم و ارتفاع آب در تمامی آکواریوم‌ها یکسان بود. در هر آکواریوم اکسیژن‌دهی توسط پمپ هوا و در شبانه روز صورت می‌گرفت، تصفیه آب نیز به صورت دستی (با سیفون کردن فضولات و مواد زائد ته نشین) و هم به صورت مکانیکی (توسط بیوفیلتر و فیلترهای برقی آکواریومی) انجام شد. رژیم نور با توجه به پنجره‌های تعبیه شده در سالن با رژیم نوری روز تنظیم گردید. از نور مهتابی در روز جهت بهبود نور سالن و انجام اعمال پرورش استفاده شد.

در این آزمایش تیمارهای سه گانه ترکیب دو هورمون متیل تستوسترون و آندرول ۵۰ و میزان برابر رنگ‌دانه آستاگزانتین (۲۰ گرم در کیلوگرم غذا) در همه تیمارها با یک گروه شاهد حاوی میزان برابر رنگدانه با گروه‌های

۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری و میزان کل کاروتنوئیدها از فرمول محاسبه شدند (Torrissen and Naevdal, 1984)؛ شاهقلیان و فتح‌اللهی (۱۳۹۵). در محاسبه:

(وزن نمونه × ۲۵۹۲) / (حجم استون (ml) × ۱۰<sup>۶</sup> × عدد

جذب) = کاراتنوئید کل (میلی گرم/میکروگرم)؛

و ظریب جذب استون ۲۵۹۲ محسوب گردید. رنگ‌سنجی ظاهر ماهیان توسط دستگاه Color Meter مدل ES135 از سه قسمت خلفی، میانی و قدامی از لاشه ماهی صیدشده و نیز همه ماهیان داخل اکواریوم‌ها بر اساس پارامترهای  $L^*a^*b$  صورت پذیرفت.

#### زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد

در پایان غذادهی آزمایشی تمام ماهیان تیمارها صید شد و شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن (WG)، درصد افزایش وزن بدن (BWG) نرخ رشد ویژه (SGR)  $(\%/day) = [(LnWt_2 - LnWt_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$  درصد بازماندگی  $(SVR = (N_t/N_0) \times 100)$  و نرخ رشد روزانه  $(DGR = (Wt_2 - Wt_1) / (t_2 - t_1))$  محاسبه شدند، که در آن گرم وزن اولیه ماهی =  $Wt_1$ ، گرم وزن نهایی ماهی =  $Wt_2$ ، طول دوره آزمایش (روز) =  $t_2 - t_1$ ، تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش =  $N_0$ ، تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش =  $N_1$  بوده است.

#### بافت‌شناسی کبد و بررسی آسیب‌های کبدی

به‌منظور بررسی آسیب‌های کبدی اقدام به نمونه‌برداری از کبد ۳ ماهی صیدشده به‌تصادف از هر مخزن در پایان آزمایش شد. برش از مقطع کبدها تهیه و با روش هماتوکسین اتوزین رنگ‌آمیزی گردید. لام‌ها با

تیماری در سه تکرار از چهار گروه تیماری در تانک‌های پرورش ماهی با تعداد ۱۰ عدد در هر تکرار از ماهیان موسوم به دو بند انگشت به کار گرفته شد. تیمارهای آزمایشی به شرح تیمار اول، میزان ۵۰ میلی‌گرم آندرول و ۱۰۰ میلی‌گرم تستوسترون؛ تیمار دوم، ۱۰۰ میلی‌گرم آندرول و ۱۰۰ میلی‌گرم تستوسترون؛ تیمار سوم، ۲۰۰ میلی‌گرم آندرول و ۱۰۰ میلی‌گرم تستوسترون در هر کیلوگرم غذا؛ تیمار شاهد، بدون استفاده از هیچ‌گونه مواد آنابولیک در نظر گرفته شدند و به منظور ثابت و برخوردار بودن نسبت یکسان تیمارها از مواد افزودنی تا پایان آزمایش غذادهی، با درصد وزنی ۲ درصد به ماهیان غذادهی آغاز با درصد افزایشی ثابت غذادهی شدند. میزان اشتها با توجه به رفتار ماهیان نتیجه‌گیری شد.

#### شاخص‌های رنگ‌سنجی

برای محاسبه میزان رنگ موجود در بافت از روش اسپکتوفتومتری یا سنجش غلظت کاروتنوئید کل و نیز روش تفنگ رنگ‌سنج استفاده شد (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۶). اندازه‌گیری کاروتنوئید عضله ماهی، پوست، باله‌های دمی و پشتی ماهی، طبق روش Torrissen و Naevdal (1984) انجام شد. به منظور سنجش کاراتنوئید بعد از یک ماه غذادهی در هفته چهارم، هشتم و چهار هفته بعد از غذادهی با تیمارها (هفته ۱۲ ام) سه ماهی از هر تانک پرورش (۹ ماهی از هر تیمار)، به‌طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه عضله از بخش پشتی بدن ماهی در هر دو طرف، نمونه پوست از هر دو طرف بدن ماهی بین ناحیه شکمی و پشتی، باله‌های پشتی و دمی نیز به‌طور کامل برداشته شدند. میزان غلظت ۵۰ میلی‌گرم نمونه پوست و گوشت، و باله‌های پشتی و دمی بعد از عملیات خالص‌سازی نمونه‌ها با استون و

میکروسکوپ Optika B380 مشاهده و نتایج آن ارزیابی شد.

### داده‌ها آماری تحلیل و تجزیه

برای تجزیه آماری از روش آنالیز واریانس دوطرفه (ANOVA) استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها با کمک آزمون چند دامنه دانکن و در سطح ۹۵ درصد انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نسخه ۲۲ نرم‌افزار آماری SPSS اجرا شد.

### نتایج شاخص‌های رشد

تمام جیره‌های آزمایشی به خوبی مورد تغذیه ماهیان قرار گرفتند و در هر وعده غذایی تقریباً تمامی جیره داده شده به مصرف ماهیان رسید شد و ضایعات غذایی اندک بود. رفتارهایی مبنی بر عدم پذیرش غذای دستی به ماهیان مشاهده نشد. تلفات کل دوره از ماهیان نیز صفر بوده است.

جدول ۱: میانگین مقادیر پارامترهای رشد برای تیمارهای مختلف  $\pm$  خطای استاندارد (وزن، گرم)

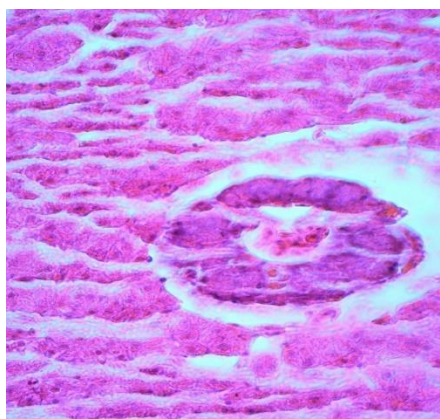
تیمار	وزن اولیه فردی	وزن نهایی فردی	وزن کل دسته	کل غذای مصرفی دوره	غذای روزانه	افزایش وزن فردی	FCR ضریب غذایی	SGR%	SVR
شاهد	۴/۴±۰/۱	۱۲/۰±۰/۳ <sup>ab</sup>	۱۲۰/۴±۳ <sup>ab</sup>	۲۵۰±۰	۴/۵±۰	۷/۷±۰/۳	۲/۱±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۸۰±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۱۰۰±۰
۱	۴/۴±۰	۱۱/۱±۰/۱ <sup>b</sup>	۱۱۰/۴±۱ <sup>b</sup>	۲۵۰±۰	۴/۵±۰	۶/۶±۰/۱	۲/۳±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۶۷±۰/۰۳ <sup>b</sup>	۱۰۰±۰
۲	۴/۴±۰	۱۲/۴±۰/۵ <sup>a</sup>	۱۲۴/۳±۴/۸ <sup>a</sup>	۲۵۰±۰	۴/۵±۰	۸±۰/۵	۲/۰±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱/۸۷±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱۰۰±۰
۳	۴/۵±۰	۱۲/۵±۰/۳ <sup>a</sup>	۱۲۴/۸±۳/۲ <sup>a</sup>	۲۵۰±۰	۴/۵±۰	۸±۰/۳	۲/۰±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۸۳±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۱۰۰±۰
	ns	*	*	ns	ns	*	*	*	ns

نتایج آزمایش بیانگر اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های رشد گروه تیماری ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مواد محرک جنسی مبتنی بر کاهش و تاثیر عکس تیمار پر رشد گروه بوده است.

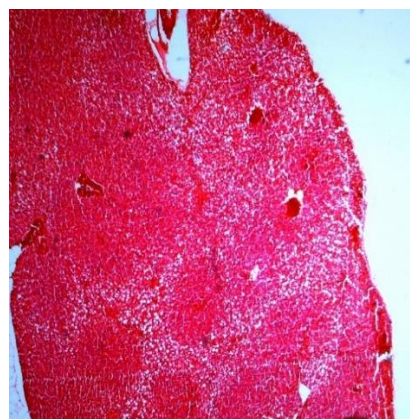
### بررسی ضایعات کبدی احتمالی

در نمونه مشاهده شده در شکل‌های ۱ تا ۳ حالت واکوئل دجنریشن در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم در

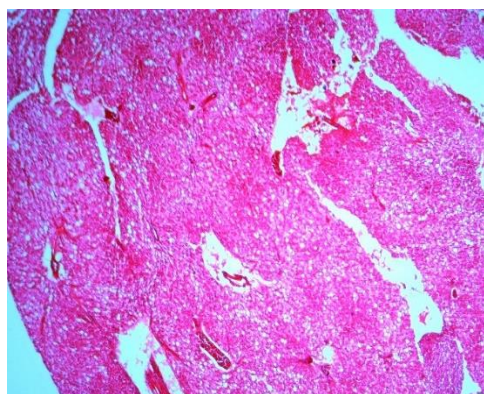
کیلوگرم خوراک ماهی در سلولهای کبدی به خوبی قابل تشخیص است، در این نوع تغییرات داخل سلولها موادی داخل سیتوپلاسم سلولهای کبدی تجمع حاصل می‌کنند و منظره متخلخل در بافت کبد ایجاد می‌گردد. در این نمونه سلولهای اپوپتوز که هسته خود را از دست داده‌اند به خوبی دیده می‌شوند. کانون بزرگ قرمز ماکرو ملانوستر است (شکل ۱).



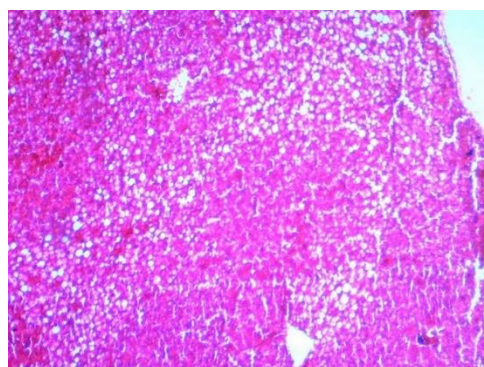
شکل ۳. کبد در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲۰۰ میلی گرم محرک جنسی در کیلوگرم جیره (نقاط سفید، نقاط سایتوزوئیدهای دیواره کبد است) (X=40)



شکل ۱. کبد در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲۰۰ میلی گرم محرک جنسی در کیلوگرم جیره (X=10)



شکل ۴. کبد در ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد بدون محرک جنسی در جیره (X=10)



شکل ۲. کبد در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲۰۰ میلی گرم محرک جنسی در کیلوگرم جیره (X=40)

جدول ۲: مشاهدات حاصل از آسیب بافتی در کبد نمونه شاهد و تیمارهای آزمایشی

عارضه کبدی		تیمار				
آپتوز سلولی	سلول‌های نکروتیک	هسته دوگانه	سلول‌های بزرگ	دژنره شدن وزیکولی		
+	-	-	-	+	شاهد	
+	+	+	+	+	محرک‌های جنسی	

تمایل معنی دار تیمار ۲۰۰ به زرد در نقطه سنجش از بدن دارد (جدول ۳).

### سنجش کاروتنوئیدها

در آنالیز واریانس تغییرات میانگین میزان رنگ تجمع یافته در هر عضو به طور جداگانه در ۴ هفته غذایی، نشان داد که اختلاف میان میانگین تیمارها از نظر غلظت کاروتنوئید اندازه گیری شده در بافت پوست، باله دم، باله پشتی ماهیان در ازای جیره معنی دار ( $P < 0.05$ ) و این نقاط منطقه مناسبی برای آنالیز رنگ ماهی سیچلاید در ازای غذایی در این آزمایش هستند و این اعضا می توانند عضوی قابل اعتنا برای توجه به تجمع رنگ در ازای تغییر میزان تیمارها باشند. اما از سوی دیگر آنالیز رنگ گوشت و فیله ماهیان هیچ گونه اختلاف معنی داری میان تیمارها نشان نداد ( $P > 0.05$ ) و فیله منطقه مناسبی برای سنجش رنگ در ازای غذایی و تغییرات تجمع رنگ در ازای تغییر میزان تیمار نیست.

با این محاسبه بدون استناد به نتایج رنگ گوشت که در این بافت تیمارها هیچ تغییر معنی داری را نشان ندادند ( $P > 0.05$ )، به منظور بررسی اثر تیمارها به نتایج غلظت تجمعی کاروتنوئید اندازه گیری شده در باله پشتی، باله دم و پوست هر ماهی به عنوان نشان دهنده رنگ هر ماهی استناد شد. در سنجش اول بعد از ۴ هفته اختلاف میان تیمارها بر رنگ ماهی و غلظت بعد از ۴ هفته غذا دهی آن معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ) ولی روند صعودی میانگینهای تجمع کاروتنوئید به ازای افزایش میزان محرکهای تیمار مشاهده می شود. با این شواهد روند افزایش رنگ گیری می تواند با ادامه غذایی به اختلاف میان تیمارها در زمان بیشتر از ۴ هفته منجر گردد. پس از ۸ هفته از شروع غذایی ماهیها، اختلاف میانگین

در تعداد کمی از لامهای نمونه های شاهد نسبت به تیمارهای با محرک های جنسی، میزان محدودی ضایعات سلولی کبدی مشاهده می شود (شکل ۴) که نشان از حالت واکوئل دجنریشن و حالت اپوپتوز در داخل بافت دارد؛ در این حالت سیتوپلاسم صورتی رنگ است و هسته را از دست داده اند. حفره های سفید، سیاهرگ های مرکزی یا سترال وین هستند. این ضایعه می تواند بر اثر هایپرفاژی دسته باشد و تراکم کم ضایعه مشکلی جدی برای ماهی نیست.

### شاخص های رنگی شدن

#### سنجش رنگ با استفاده از دستگاه کالر متر

در جدول ۳ میزان سه پارامتر  $L$ ،  $a$  و  $b$  به ترتیب نشان دهنده میزان درخشش بدن ماهی  $L$ ، تغییر رنگ ماهی از سبز به قرمز ( $a$ )، یعنی هر چه عدد بزرگ تر باشد قرمزتر و کوچک تر رنگ سبزتر؛ و میزان تغییر از آبی به رنگ زرد ( $b$ )، یعنی مقادیر منفی آبی و کیودتر و مقادیر مثبت، رنگ زردتر، خواهد بود. تاثیر معنی دار و محسوس تیمارهای آستاگزانتین در آنالیز واریانس مقادیر سنجش شده مشخص شده است که در آن مقادیر  $L$  به صورت غیر معنی دار و دو پارامتر  $a$  و  $b$  به صورت معنی دار در اثر به کارگیری تیمارها تغییر کرده اند. در بررسی اختلاف میانگینها با استفاده از آزمون توکی برای پارامتر نشان دهنده رنگ قرمز ( $a$ ) نتایج نشان می دهد که میزان تیمار ۲۰۰ میلی گرم از سایر مقادیر تیماری رنگ قرمز بیش تری را بروز داده است و همچنین ترتیب به ازای میزان فزاینده محرک رنگدانه، میزان بیشتر قرمزی در گروهها بروز کرده است. پارامتر نشان دهنده رنگ آبی به زرد ( $b$ ) نشان می دهد که اختلاف تیمارهای ۲۰۰ با تیمارهای ۱۰۰ و ۵۰ و شاهد معنی دار و نشان از

محرک افزوده شده بیشتر به غذا رنگ حفظ بهتر و رنگ بدن آنها بهتر تثبیت شده است.

البته میزان میانگین تجمع کارتنوئید در ماهیان نسبت به سنجش قبلی کم تر شده که به دلیل اضافه نشدن رنگ‌دانه به غذا بعد از ۸ هفته غذادهی با رنگدانه و محرکهای تیماری بوده است. میزان تثبیت رنگ در تیمارهای مختلف با افزایش میزان غلظت محرکها در تیمارها بعد از ۱۲ هفته غذادهی مشاهده می‌شود (جدول ۴). اختلاف تیمار ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا با سایر تیمارها معنی دار و میزان تجمع کارتنوئیدها در بافتهای رنگی ماهی با افزایش میزان محرکهای تیمارها فزاینده بوده است.

سنجش شده از غلظت کارتنوئیدها در تیمارهای آزمایشی از نظر رنگ‌پذیری در اندامها معنی دار شد ( $P < 0.05$ ) و بیشترین رنگ‌پذیری ماهیان در تیمار آزمایشی ۲۰۰ اتفاق افتاده و تیمارهای ۱۰۰ و ۵۰ و شاهد اختلاف معنی داری با هم نداشتند (جدول ۴) نتایج نشان می‌دهد که در اثر افزایش میزان محرک به جیره، به‌طور کلی افزایش میزان رنگ در ماهیهایی که بیشترین محرکها را دریافت داشته اند اتفاق افتاده است.

بعد از گذشت ۱۲ هفته از غذا دهی با جیره حاوی مواد محرک استروئیدی و جیره معمولی (۸ هفته غذادهی با تیمارها و ادامه با جیره معمولی) بدون رنگ‌دانه نتایج نشان داد که میزان رنگ بدن ماهیان در ازای میزان

جدول ۳: میانگین پارامترهای L، a و b اندازه‌گیری شده در تیمارهای آزمایشی  $\pm$  خطای استاندارد

پارامتر	L	a	b	تیمار
شاهد	۴۹/۲۴ $\pm$ ۴/۲۸	۳/۲۷ $\pm$ ۰/۹۱ <sup>b</sup>	-۱۴/۶۰ $\pm$ ۱/۵۴ <sup>b</sup>	
۱	۵۰/۱۰ $\pm$ ۳/۰۶	۶/۴۷ $\pm$ ۱/۹۸ <sup>b</sup>	-۵/۷۵ $\pm$ ۲/۷۹ <sup>b</sup>	
۲	۵۶/۵۸ $\pm$ ۲/۱۵	۷/۲۷ $\pm$ ۲/۶۴ <sup>b</sup>	-۷/۴۶ $\pm$ ۱/۹۸ <sup>b</sup>	
۳	۴۵/۲۷ $\pm$ ۶۸/۲	۲۰/۱۷ $\pm$ ۳/۲۱ <sup>a</sup>	۵/۹۰ $\pm$ ۵/۰۴ <sup>a</sup>	
sig.	ns ۰/۰۷۵	* ۰/۰۰۰	* ۰/۰۰۱	

جدول ۴: میزان غلظت کارتنوئیدهای بافتهای رنگی ماهی در طول دوره آزمایش

تیمار	غلظت کارتنوئید در ماهی (میلی گرم به کیلوگرم)		
	۴ هفته	۸ هفته	۱۲ هفته
شاهد	۷/۶ <sup>a</sup>	۲۲/۱ <sup>b</sup>	۱۶/۶ <sup>b</sup>
۱	۱۰/۹ <sup>a</sup>	۲۶/۳ <sup>b</sup>	۲۴/۰ <sup>b</sup>
۲	۱۷/۲ <sup>a</sup>	۴۵/۴ <sup>ab</sup>	۳۹/۱ <sup>b</sup>
۳	۱۶/۵ <sup>a</sup>	۶۵/۶ <sup>a</sup>	۶۳/۷ <sup>a</sup>

## بحث

رنگ پوست ماهی در گونه های مختلف به وجود کروماتوفورها (ملانوفورها، زانتوفورها، اریتروفورها، ایریدوفورها، لوکوفورها و سیانوفورها) وابسته است که حاوی رنگدانه هایی مانند ملانین، کاروتنوئیدها (به عنوان مثال آستاگزانتین، کانتاکسانتین، لوتین، زاکسانتین)، پتیریدین ها و پورین ها است (Seikai & Withers, 1992). بیشتر آن ها در لایه درمیس و به ندرت در لایه اپی درمیس یافت می شوند (Gupta et al., 2007). کاروتنوئیدها رنگدانه های محلول در چربی هستند. به دلیل این که بیشتر ماهیان قادر به سنتز کاروتنوئیدها نیستند، ضروری است که به جیره غذایی آبزیان اضافه شوند (حسین زاده و همکاران، ۱۳۹۷؛ Hata and Hata, 1973). تغییر رنگ پوست در طول زمان به سطح کاروتنوئید رژیم غذایی بستگی دارد و بین گونه ها متفاوت است (Duncan and Lovell, 1993; Ho, 2014). بررسی تاثیر رژیم تغذیه ای کاروتنوئیدی بر میزان رنگی شدن یک گونه دیگر از ماهی سیچلاید با نام طاووسی (*Aulonocara baenschi*) توسط بوژمهرانی و همکاران (۱۳۹۶) نشان داد که با افزایش غلظت رنگدانه ها در جیره غذایی میزان کاروتنوئید کل در پوست ماهی و رنگی شدن به مدت ۸ هفته روزانه دو نوبت به میزان ۲ درصد وزن بدن غذایی افزایش می یابد که نشان دهنده رویداد رنگ پذیری و محتمل مانند سایر گزارش های محققین برای ماهیان سیچلاید آلانکارا تغذیه شده با افزودنی آستاگزانتین در این آزمایش بود. فرض تثبیت رنگ القاشده به علت وجود مؤثرترین استروئیدهای آنابولیک (Turan et al., 2003) برای ماهی در این مطالعه صورت پذیرفت. رژیم غذایی حاوی  $\beta$ -استرادیول استرادیول رشد، تغییر

جنسیت و برخی فراسنجه های خون شناسی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) را تحت تاثیر قرار داده ولی بر شاخص های ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، رشد روزانه و اختلاف وزن اثر معنی داری نداشته است (ایمان پور و همکاران ۱۳۹۵). در تحقیق ذکر شده با افزایش میزان هورمون، ماده زایی روندی افزایشی داشت که در آزمایش جاری حتی نشانه های مربوط به رسیدگی جنسی بهتر و سریعتر ماهیان سیچلاید آلانکارا دیده نشد. Larsson و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که ۸ روز بعد از آزمایش با تیمار  $17\alpha$ -MT، باله دم گویی ها بیشتر به سمت قرمز متمایل شده و ۱۷ روز پس از شروع آزمایش، تفاوت های معنی داری را نسبت به گروه کنترل مشاهده کردند که در آزمایش جاری نیز نقش زمان و دوره بیشتر غذایی برای بروز تفاوت معنی دار در بین رنگ گروه های تیماری و نیز ترتیب شدت رنگ آنها مشخص شده است که البته برای در نظر داشتن سلامت دسته، از بافت های کبدی نیز لامهای لازم تهیه و سلامت آنها در ازای غذایی طولانی تر مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، Keskin (۲۰۰۵) نیز از آغاز تشکیل رنگ گویی ها از هفته سوم آزمایش با هورمون  $17\alpha$ -MT گزارش داد. بررسی تاثیر هورمون  $17\alpha$ -MT بر رنگ و میزان رنگ پذیری ماهی *Scatophagus argus* توسط Shahidian (۲۰۱۴) نشان داد یک ارتباط قوی بین شرایط فیزیولوژیک ماهی با رنگ پوست و خصوصیات ثانویه جنسی وجود دارد و در دوز ۱۰۰۰ میلی لیتر در کیلوگرم تفاوت معنی دار و حداکثر میزان رنگ در این ماهی بروز می کند. Karsli و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر استفاده از هورمون  $17\alpha$ -MT،  $\beta$ -استرادیول را برای

مناسب برای عرضه مناسب اقتصادی ماهیان و مشتری پسند بودن آنهاست. از سویی ادامه بیشتر غذادهی و نیز به کارگیری دوز بیشتر و هرچه بالاتر فارغ از هزینه اقتصادی رنگدانه و هورمون تراپی، با توجه به بروز نشانه های آسیب های کبدی در این آزمایش باید دارای ملاحظاتی برای کار با ماهیان زینتی مذکور باشد.

در این آزمایش روند سنجش جلوه های رنگ در گروههای با تفنگ رنگ خوان نشان دهنده بروز رنگ قرمز بیشتر در نقاط سنجش شده بود و فاکتورهای  $L^* a^* b$  تفاوت تیمارها را نشان دادند. این تغییرات ناشی از تغییر در رنگ‌دانه‌های ملانین، دروزوپترین و کاروتنوئیدی و جلوه‌های بازتابش آن در تفنگ رنگ سنج بوده و تعیین عوامل قطعی آن نیازمند اندازه‌گیری تغییرات رنگ‌دانه‌های پوستی است (Shahidian *et al.*, 2014). برای تکمیل درک فرآیند رنگ‌پذیری توجه به غلظت کارتنوئیدها در بدن ماهی مورد نظر قرار گرفت و مناطق دم (باله دمی)، باله پشتی، پوست (پشت سرپوش آبششی و بالای خط جانبی) و نیز بافت فیله به عنوان مناطق بروز دهنده رنگ ماهی پیش‌بینی شدند. آنالیز آماری تفاوت رنگ (غلظت کارتنوئید کل) در دو سنجش بعد از ۴ و ۸ هفته غذادهی در هر یک از بخش های مورد نظر در اثر تیمارهای اعمال شده نشان داد که فیله یا گوشت ماهی تغییرات معنی داری در ازای تیمارها ندارد و در نتیجه بافتهای اشاره شده دیگر بجز فیله به عنوان نمایندگان نشان دهنده رنگ ماهی مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. بعد از ۴ هفته غذادهی میانگین غلظت تجمعی کارتنوئیدها در هر سه بافت با هم تفاوت معنی داری نشان نداد ولی میزان غلظت در بافتها به ازای افزایش میزان غلظت محرک ها در خوراک ماهی افزایش یافت. این روند بازگوگر احتمالی و پیش‌بینی

رشد، بقا، تغییر جنسیت و پرنگ‌آمیزی سیچلاید الکتریکی زرد (*Labidochromis caeruleus*) گزارش کردند. در آزمایش، وزن بالاتر در گروه تیماری  $17\alpha$ -MT مشاهده شد در حالی که در آزمایش جاری نگارندگان با وجود تمایل بیشتر رفتاری ماهیان سیچلاید آلانکارا با دوز بیشتر محرکهای استروئیدی به غذاگیری (رفتار غذایی)، رشد گروه کمتر شد که می‌تواند به علت متابولیسم شدیدتر گروه با دوز بالاتر محرک باشد. در آزمایش فعلی نشانه های بلوغ و رشد گنادها با توجه به نمونه برداری در گروهها مشاهده نشد و نمی‌توان در خصوص تاثیر این تیمارها بر گنادهای سیچلاید آلانکارا قضاوت نمود. در گزارش Karsli و همکاران (۲۰۱۶) میزان تغییر جنسیت و ماده‌زایی در گروه هورمونی  $17\beta$ -ES مشاهده و در گروه هورمونی  $17\alpha$ -MT، تمام ماهیان نر شدند. در ارزیابی رنگ فیزیکی مشخص شد که بهترین رنگ در گروه های  $17\alpha$ -MT بدست آمده است که نشان می‌دهد هورمون جنس نر رنگ بهتری را در گروهها القا می‌کند.

برای نشان دادن میزان تغییرات رنگ در بدن ماهی در تحقیق جاری از روش سنجش تفنگ رنگ و نیز سنجش غلظت کارتنوئید کل استفاده شد (جعفری و همکاران، ۱۳۹۶؛ شاهقلیان و فتح‌اللهی، ۱۳۹۵). با توجه به سنجش فیزیکی رنگ و نیز غلظت رنگدانه در بافتهای نشان دهنده جلوه رنگی ماهی، در طول دوره و پایان آزمایش بهترین رنگ‌پذیری در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم هورمون بر کیلوگرم خوراک بروز نمود و نیز ترتیب فزاینده شدن غلظت رنگدانه در ازای افزایش دوز تیمارها تحقیق جاری نشان داد که افزایش رنگ و به ویژه تثبیت رنگ در بدن ماهی بعد از ۴ هفته (سنجش سوم) بعد از غذادهی آزمایشی تحت تاثیر هورمونهای آنابولیک یک راه حل

کننده بروز اختلاف معنی دار در آتی بر اثر تغذیه بیشتر می توانست باشد که در نتایج تحقیق Larsson و همکاران (۲۰۰۲) به آن اشاره شده است.

عدم وجود اختلاف بین تیمارها با شاهد در هفته های ابتدایی آزمایش می تواند مرتبط با نیاز ماهی در محورهای مختلف و عدم فرآیند هورمون القایی در محور رنگ زایی باشد. پس از گذشت ۸ هفته از شروع غدادهی، در سنجش دوم تغییرات رنگ در ماهی به صورت واضح تر ظاهر شد و اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) بین تیمارهای آزمایشی بروز نمود (جدول ۴). بعد از گذشت ۴ هفته از اتمام غدادهی با جیره حاوی محرک ها و تغذیه با غذای معمولی بدون رنگدانه (هفته ۱۲) بزرگی غلظت کارتنوئید کل در تیمار ۲۰۰ میلی گرم هورمون به طور معنی دار نسبت به سایر تیمارها بیشتر و تثبیت بهتر میزان کاروتنوئید در ماهیان گروه مشاهده شد (جدول ۴) که نتیجه مورد نظر تحقیق جاری را نشان می دهد.

تأثیر منابع کارتنوئید از دیدگاه ایجاد رنگ مختص هر گونه می باشد، به علاوه همه گونه های ماهیان روش مشابه سوخت و ساز رنگدانه ای نداشته و بنابراین نمی توان یک روش انتقال کلی و سراسری برای کاروتنوئیدها در بافت ماهیان در نظر گرفت. در مطالعاتی که توسط محققین روی اثرات رنگدانه ها بر روی رنگ پوست و شاخص های رشد ماهی صورت گرفته، ثابت شده که این مواد باعث افزایش رشد و رنگ در ماهیان می شوند. لذا این تغییرات ممکن است باعث بروز رفتارهای ثانویه نیز بشود. این رفتارها شامل پرخاشگری، افزایش یا کاهش اشتها در ماهیان و ... می شود. مشاهدات انجام شده در این آزمایش نشان داد که اشتهای ماهیان نسبت به غذا افزایش یافته و میل زیادی به خوردن جیره تولید شده هدف

دارند، همچنین پرخاشگری در ماهیان تا اواسط دوره دیده نشد، اما در اواخر دوره تعداد کمی از ماهیان پرخاشگر شدند، که این امر می تواند دال بر رسیدن ماهیان به بلوغ جنسی باشد که همراه با افزایش رشد و رشد گنادها بوده است. هرچند که پرخاشگری در این خانواده از ماهیان در طبیعت آنها برای قلمرو طلبی و تولید مثل می باشد، اما در مواردی با تغییر شرایط محیطی دست به تغییر رفتار با یکدیگر می زنند.

### سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

### منابع

۱. ابراهیمی، ع.، علی نژاد، ا.، متین خواه، س.ح.، ۱۳۹۶. ارزیابی سطوح مختلف رنگدانه آستاگزانتین بر رنگ پوست و بافت لاشه طوطی ماهی (*Cichlasoma*  $\times$  *Cichlasoma citrinellum* ♀ *synspilum*) را با استفاده از تکنیک های RGB و Lab. مجله علمی شیلات ایران، ۲۶، (۶)، ۲۵-۳۳.
۲. ایمان پور، م.ر.، عرب صباحی، ا.، بحر کاظمی، م.، مختاری، م.، ۱۳۹۵. اثرات رژیم غذایی حاوی ۱۷- بتا استرادیول روی رشد، تغییر جنسیت و برخی فراسنجه های خون شناسی در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*). محیط زیست جانوری، ۸(۳)، ۲۳۷-۲۴۴.
۳. بوژمهرانی، ف.، جعفری، و.، ایمان پور، م.ر.، ۱۳۹۶. تأثیر رژیم تغذیه ای کاروتنوئیدی بر میزان رنگی شدن ماهی

- fishes. *Tohoku. Journal of Agricultural Research*, 24(4), 192-196.
12. Ho, A.L.F.C., Zong, S., Lin, J., 2014. Skin color retention after dietary carotenoid deprivation and dominance mediated skin coloration in clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*. *AAAL Bioflux*, 7(2), 103- 115.
13. Karsli, Z., Aral, O., Yeşilayer, N., 2016: The effects of different proportions of the 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -methyltestosterone on growth, sex reversal and skin colouration of the electric blue hap (*Sciaenochromis ahli* Trewavas, 1935. *Aquaculture Research*, 47, 640-648.
14. Karsli, Z., Şahin, D., Öz, M., Aral, O., 2018. The effect of hormone usage on development, sex inversion and pigmentation of electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956). *Ecology and aenvironmental Reserch*, 16(6), 8093-8103.
15. Keskin, E.Y., 2005. The Effect of Hormone Usage on Coloration and Reproduction of Guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1860) fish. PhD thesis. – Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey (In Turkish).
16. Larsson, D.G.J., Kinnberg, K., Sturve, J., Stephensen, E., Skön, M., Förllin L., 2002. Studies of masculinization, detoxification and oxidative stres responses in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to effluent from a pulp mill. – *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 13-20.
- سیچلاید طاووسی (*Aulonocara baenschi*)  
 محیط زیست جانوری، ۹(۲)، ۳۳-۵۵.  
 ۴. جعفری، ز.، فتح‌اللهی، م.، رحیمی، ر.، ۱۳۹۶. اثر افزودن عصاره پوست پیاز قرمز، چغندر قرمز و کلم قرمز در جیره بر رنگ پوست ماهی زینتی پرت. ماهی‌شناسی کاربردی، ۵(۲)، ۱۱۷-۱۳۴.  
 ۵. حسین‌زاده صحافی، ه.، ضرغام، د.، باشتی، ط.، ۱۳۹۷. مروری بر القای هورمونی و تک‌جنس‌سازی ماهیان زینتی در ایران. آبریان زینتی، ۵(۴)، ۴۵-۵۲.  
 ۶. شاهقلیان، ط.، فتح‌اللهی، م.، ۱۳۹۴. کاربرد کرم‌های خاکی پرورش یافته با غذاهای گیاهی غنی از رنگ دانه طبیعی در جیره غذایی به منظور افزایش رنگ ماهی زینتی پرت (*Amphilophus citrinellus* x *Paraneetroplus melanurus*). مجله پژوهش‌های جانوری، ۳(۶)، ۳۳-۴۴.  
 ۷. غیاثوند، ز.، شاپوری، م.، ۱۳۸۱. تأثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن‌ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotu ocellatus sp*). مجله زیست‌شناسی دریا (بیولوژی دریا)، ۱(۱)، ۸۵-۷۸.  
 8. Duncan, P.L., Lovell, R.T., 1993. Natural and synthetic carotenoids enhance pigmentation of ornamental fish. *Highlights of agricultural research*, Alabama Agricultural Experiment Station, 40, 8.  
 9. Goodwin. T.W., 1951. Carotenoids in fish. In: *The biochemistry of fish*. Biochemical Society Symposia, USA.  
 10. Gupta S.K., Jha, A.K., Pal, A.K., Venkateshwarlu, G., 2007. Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. *Nat. Prod. Rad*, 6 (1), 46e49.  
 11. Hata, M., Hata, M., 1973. Studies on astaxanthin formation in some freshwater