

# اثر استفاده از سطوح مختلف دانه آناتو (*Bixa orellana*) در جیره غذایی ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) جوان بر برخی شاخص‌های خونی، رشد و رنگ فیله

فاطمه حیدری<sup>۱</sup>، سید پژمان حسینی شکرابی<sup>\*</sup>، مهدی شمسایی مهرجان<sup>۱</sup>

\*hosseini@srbiau.ac.ir

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

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۷

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

## چکیده

در این پژوهش، سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو (*Bixa orellana*) به جیره غذایی ماهیان قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) اضافه گردید و سپس برخی از شاخص‌های خونی (شامل تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت)، عملکرد رشد و رنگ فیله ماهیان بررسی شد. جیره‌های آزمایشی با سه تکرار شامل ۰ (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد پودر دانه گیاه آناتو بود. تعداد ۳۶۰ عدد ماهی قزل آلابی رنگین کمان جوان ( $100 \pm 5$  گرم) در ۱۲ عدد تانک به صورت کاملاً تصادفی ذخیره‌سازی و ۴۰ روز پرورش یافتند. حداکثر مقدار شاخص‌های خونی بجز تعداد گلبول‌های سفید در تیمار شامل ۰/۷۵ درصد پودر دانه گیاه آناتو مشاهده شد، در حالیکه کمترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). همچنین، بیشترین وزن نهایی بدن ( $235$  گرم) مربوط به تیمار ۰/۷۵ درصد پودر دانه آناتو و کمترین ( $108/2$  گرم) مربوط به تیمار شاهد بود ( $p < 0.05$ ). طیف رنگ‌های قرمز و زرد در فیله ماهیان با افزایش سطح پودر آناتو در جیره، به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میزان آنها در فیله ماهیان تغذیه شده با ۰/۷۵ درصد پودر آناتو در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بنابراین، افزودن پودر دانه گیاه آناتو به مقدار ۰/۷۵ درصد در جیره غذایی ماهی قزل آلابی رنگین کمان تأثیر مثبتی در شاخص‌های خونی داشت و از سویی، با افزایش نرخ رشد و رنگ‌پذیری فیله احتمالاً هزینه‌های پرورش را کاهش و مشتری پسندی گوشت ماهی را افزایش خواهد داد.

**کلمات کلیدی:** گیاه آناتو، رنگدانه، رنگ فیله، قزل آلابی رنگین کمان

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

در صنعت آبی پروری خواص ارگانولپتیک از جمله رنگ فیله به عنوان نقاط بحرانی در درجه بندی و ارزشیابی در نظر گرفته می‌شوند (Safari and Atash, 2015). رنگ‌ها از جمله مهم‌ترین افزودنی‌های غذایی هستند که نقش کلیدی در رفتار خرید مصرف‌کننده دارند (یلمه و همکاران، ۱۳۹۵). رنگ‌های با منشأ طبیعی علاوه بر اینکه اثرات سمی، آلرژی زایی و سرطانی ندارند، بلکه برای برخی از آنها خصوصیات مفیدی همچون ویژگی‌های آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی نیز گزارش شده است (Sinha et al., 2013; Li et al., 2013). ناتوانی آزاد ماهیان از جمله قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در سنتز کاروتنوئیدها منجر به وابستگی آنها به رنگدانه‌های موجود در جیره غذایی شده است (Storebakken and No, 1992). با توجه به این مطلب، رنگدانه‌های موجود در جیره غذایی آزاد ماهیان پرورشی مسئول ایجاد رنگ قرمز تا صورتی در فیله آنهاست و از سوی دیگر، سبب افزایش بازارپسندی می‌شود (Tejera et al., 2007; Choubert et al., 2009; Teimouri et al., 2013). چهار گروه عمده از رنگدانه‌ها شامل ملانین، پتیریدیوم، پورین و کاروتنوئیدها مسئول ایجاد رنگ در پوست و بافت حیوانات و گیاهان می‌باشند (Kop and Durmaz, 2008). در این میان تنها گیاهان و تک‌یاخته‌ها قادر به سنتز کاروتنوئیدها هستند و ماهیان قادر به بیوسنتز آنها نمی‌باشند (آوازه و همکاران، ۱۳۹۴). آناتو (*Bixa orellana*) یک نوع گیاه درختی می‌باشد که بومی نواحی گرمسیری آمریکای جنوبی است (Venugopalan et al., 2011) و به صورت گسترده‌ای در سایر نواحی گرمسیری پراکندگی دارد (Srivastava et al., 1999). امروزه این گیاه در بسیاری از کشورهای دنیا از جمله سریلانکا، اندونزی، هند و آفریقای شرقی به صورت انبوه تولید و به تمام نقاط دنیا صادر می‌شود (Bole-Feysot et al., 1998). این نوع درخت دارای خوشه‌های بزرگ میوه به صورت کپسول‌دار به رنگ قهوه‌ای تا قرمز است و دانه تولیدی آنها با یک لایه نازک کیتینی پوشیده شده است (Bole-Feysot et al., 2011).

در گذشته‌های دور از این گیاه به عنوان مواد رنگی در مواد غذایی، لوازم آرایشی، نقاشی و معماری استفاده می‌کردند و در منطقه آمازون مشهور به درخت رژلب است (Venugopalan et al., 2011). دانه این گیاه منبع سرشاری از رنگدانه‌های طبیعی شامل بتاکاروتن‌های نوربیکسین و بیکسین بوده که جزء رنگدانه‌های اصلی این گیاه بشمار می‌رود (Bora, 2010).

Bora (۲۰۱۰) میزان جذب رنگ دانه آناتو را از طریق پوست و پولک ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار داد و به این نتیجه رسید که ماهیان می‌توانند از رنگ دانه آناتو به عنوان یک جاذب رنگ استفاده کنند. سحری و همکاران (۱۳۹۱) ویژگی ضد باکتریایی عصاره آناتو را در برابر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که آناتو علاوه بر ایجاد رنگ مطلوب در مواد غذایی، دارای خواص ضد باکتریایی در مقابل بسیاری از باکتری‌ها می‌باشد. جهانبخشی و همکاران (۱۳۹۶) گزارش کردند که ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا پودر دانه آناتو به دلیل اثرات مطلوب در افزایش میزان رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و به دنبال آن افزایش میزان تولید می‌تواند پیشنهاد مناسبی برای استفاده در جیره غذایی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) باشد. آوازه و همکاران (۱۳۹۴) اثر پودر پوست انار را به عنوان یک ماده گیاهی حاوی مقادیر قابل توجه‌ای کاروتنوئید را بر تغییر رنگ پوست، گوشت و خون قزل‌آلائی رنگین کمان مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که وجود آرد خشک پوست انار در سطح یک درصد در جیره قزل‌آلائی رنگین کمان اثر مثبتی بر رنگ فیله ماهیان دارد. همچنین میرکریمی و همکاران (۱۳۹۳) از گلرنگ خشک شده جهت تغییر رنگ گوشت و پوست قزل‌آلائی رنگین کمان کار کردند و به این نتیجه رسیدند که سطح ۱۰ درصد گلرنگ بهترین قرمزی رنگ گوشت و پوست را در مدت زمان ۴۵ روز به همراه دارد. بر همین اساس، در این مطالعه از سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو به عنوان یک رنگدانه طبیعی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلائی رنگین کمان استفاده

### نمونه برداری

جهت اندازه گیری پارامترهای رشد هر دو هفته یکبار ۵۰ درصد از ماهیان هر تانک به صورت تصادفی صید و پس از بیهوش شدن با عصاره گل میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر) زیست سنجی شدند (Hushangi and Hosseini, 2018). در پایان دوره پرورش، از هر تانک به منظور بررسی برخی از شاخص‌های خونی و رنگ فیله به طور تصادفی ۲۰ درصد از جمعیت ماهیان نمونه‌گیری شدند. جهت تهیه سرم خون، ابتدا ماهیان با عصاره گل میخک بیهوش و سپس خونگیری با سرنگ ۲/۵ میلی‌لیتر و با سوزن شماره ۲۰ از سیاهرگ دمی با زاویه ۴۵ درجه صورت گرفت (Nikolov and Boyadzieva, 2010). نمونه‌های خون درون ظرف‌های مخصوص هیپارینه شده (EDTA پتاسیم‌دار) در کنار یخ تا انتقال به آزمایشگاه نگهداری شدند. جهت ارزیابی رنگ فیله ماهیان پس از بیهوشی تشریح شده و به روش دستی از آنها فیله تهیه، سپس قسمت پشتی فیله برای آزمایش رنگ سنجی انتخاب شد.

### شاخص‌های خونی

گلوبول‌های سفید و قرمز با محلول Lewis رقیق شده و توسط لام نئوبار شمارش شدند (Vázquez and Guerrero, 2007). اندازه گیری هموگلوبین بر حسب واحد گرم در دسی لیتر با استفاده از محلول درابکینین در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Hushangi and Hosseini Shekarabi, 2018). برای اندازه‌گیری هماتوکریت (درصد) از روش میکرو هماتوکریت به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه استفاده شد (Vázquez and Guerrero, 2007).

### اندازه‌گیری پارامترهای رشد و تغذیه

اندازه‌گیری طول و وزن ماهیان به ترتیب با خط کش با دقت ۱ میلی متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برخی پارامترهای رشد شامل افزایش

شد و تغییرات برخی فاکتورهای خونی، عملکرد رشد و رنگ فیله مطالعه شد.

### مواد و روش کار

#### شرایط پرورش و غذادهی

این بررسی در بهار سال ۱۳۹۶ در شرکت آبی اکسیر کوثر واقع در شهرستان اسلامشهر استان تهران انجام گرفت. تعداد ۳۶۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نژاد فرانسوی با میانگین وزن  $5 \pm 100$  گرم، در ۴ تیمار و سه تکرار در ۱۲ عدد تانک (۳۰ ماهی در هر تانک ۱۰۰۰ لیتری) به صورت کاملاً تصادفی ذخیره‌سازی شدند. طی دوره سازگاری و پیش از آغاز تغذیه با جیره‌های آزمایشی، ماهیان به مدت یک هفته با غذای اکستروود مخصوص قزل‌آلا (شرکت چین، ایران) غذادهی شدند. ماهیان سه بار در روز (ساعت‌های ۹، ۱۲ و ۱۷) و به میزان ۲-۳ درصد از وزن بدن مطابق با دمای آب به طور دستی در یک دوره ۴۰ روزه غذادهی شدند. جیره غذایی پایه به عنوان تیمار شاهد (c) با مشخصات ۴۰ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی، ۱۰ درصد خاکستر، ۱۱ درصد رطوبت و ۳/۵ درصد فیبر خریداری شد. سه تیمار آزمایشی دیگر با اسپری کردن  $0/25 (T_1)$ ،  $0/5 (T_2)$  و  $0/75 (T_3)$  درصد از پودر خشک خالص دانه آناتو (Biocon Co., Lima, Peru) حل شده در ژلاتین تغذیه شدند. بدین نحو که ابتدا دانه‌ها پودر شدند و از الک شماره مش ۳۵ (۵۰۰ میکرون) عبور داده شدند. سپس به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب در حال جوش ۲ گرم ژلاتین افزوده تا ژلاتین کامل حل شود. در ادامه پس از ۱۰ دقیقه دمای مخلوط به حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد رسید و در حین همزدن پودر الک شده آناتو به مخلوط اضافه شد. مخلوط توسط اسپری مکانیکی سم‌پاشی درشت چشمه (۲ میلی متر) به خوراک طبق تیمارهای موجود اضافه گشت. جیره‌های آزمایشی قبل از غذادهی به صورت روزانه تهیه می‌شد تا از تغییرات احتمالی آنها جلوگیری شود.

وزن بدن بر حسب گرم و ضریب تبدیل غذایی از طریق فرمول‌های ذیل محاسبه گردید (Liu et al., 2005):

$$\text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)} = \text{BWG (افزایش وزن بدن (گرم))}$$

$$\text{FCR (ضریب تبدیل غذایی)} = \frac{\text{مقدار غذای خورده شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن بدن (گرم)}} \times 100$$

گردید.

## نتایج

### تغییرات فاکتورهای خونی

باتوجه به جدول ۱، تفاوت معنی دار در تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای مختلف بوده که بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار ۰/۵ درصد پودر دانه آناتو و کمترین میزان آن در تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). همچنین نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار ۰/۷۵ درصد و کمترین آن در تیمارهای ۰/۲۵ درصد و شاهد بود. بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار ۰/۷۵ درصد مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها داشت و کمترین درصد آن مربوط به تیمار شاهد بود ( $p > 0.05$ ). بیشترین مقدار هموگلوبین آن در تیمار ۰/۷۵ درصد پودر دانه آناتو و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). در حالیکه تفاوت معنی‌داری در تیمار ۰/۲۵ درصد پودر دانه آناتو با تیمارهای ۰/۵ درصد و تیمار شاهد مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

### اندازه گیری رنگ فیله

طیف رنگی فیله ماهیان توسط دستگاه رنگ سنج (HunterLab, USA) شامل متغیرهای  $L^*$  برای بیان شاخص روشنایی گوشت، شاخص  $a^*$  برای بیان بعد قرمزی-سبزی و شاخص  $b^*$  برای بیان بعد زرد-آبی محاسبه شد (Park, 1994).

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و ویرایش ۲۱ صورت گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با خطای ۵ درصد استفاده گردید. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel و ویرایش ۲۰۱۳ استفاده

جدول ۱: تغییرات برخی از شاخص‌های خونی ماهیان قزل آلائی رنگین کمان جوان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو.

Table 1: Hematological changes of juvenile rainbow trout fed with different levels of Anato seed powder.

فاکتورهای خونی				
تیمارها	شمارش گلبول سفید ( $10^3$ ) بر میکرولیتر)	شمارش گلبول قرمز ( $10^6$ ) بر میکرولیتر)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	هماتوکریت (درصد)
شاهد	$13/09 \pm 0/10^d$	$3/85 \pm 0/35^c$	$7/85 \pm 0/50^d$	$34/50 \pm 0/50^d$
تیمار ۰/۲۵ درصد	$15/65 \pm 0/35^c$	$4/10 \pm 0/40^c$	$9/15 \pm 0/40^c$	$37/50 \pm 0/50^c$
تیمار ۰/۵ درصد	$18/15 \pm 0/15^a$	$4/80 \pm 0/20^b$	$10/20 \pm 0/20^b$	$39/00 \pm 0/10^b$
تیمار ۰/۷۵ درصد	$16/45 \pm 0/45^b$	$5/46 \pm 0/10^a$	$11/50 \pm 0/50^a$	$50/50 \pm 0/50^a$

حروف غیرهمسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می‌باشد ( $n=3$ ).

Values with different letters indicate the means are significantly different at  $p < 0.05$  ( $n=3$ )

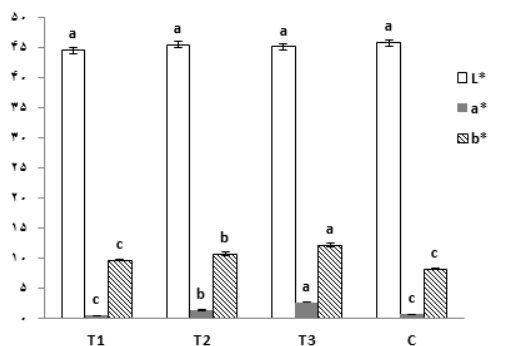
### تغییرات شاخص‌های رشد و تغذیه

تغییرات وزن نهایی قزل آلائی رنگین کمان ناشی از افزودن پودر دانه گیاه آناتو به جیره غذایی آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین نتایج نشان دادند که افزودن

پودر دانه گیاه آناتو در سطح ۰/۷۵ درصد به جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان تأثیر معنی‌داری بر وزن نهایی بدن نسبت به سایر تیمارها دارد ( $p < 0.05$ ).

### رنگ‌پذیری فیله

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد فیله ماهیانی که از پودر دانه گیاه آناتو تغذیه کرده بودند، در بازه‌ی رنگی زرد تا قرمز بود (شکل ۳). در حالیکه فیله ماهیان گروه شاهد بسیار کمرنگ‌تر و تقریباً سفید بود و همچنین با افزایش سطح عصاره پودر دانه گیاه آناتو در جیره در تیمار T3، پارامترهای قرمزی ( $2/66 \pm 0/20$ ) و زردی ( $12/20 \pm 0/275$ ) فیله به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).



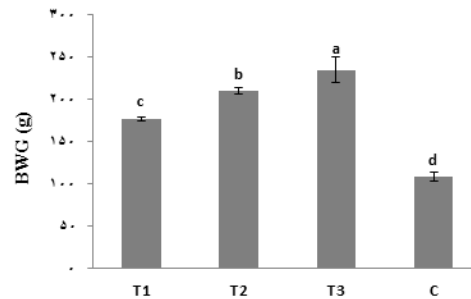
شکل ۳: تغییر شاخص‌های  $L^*$  (روشنایی)،  $a^*$  (قرمزی) و  $b^*$  (زردی) در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

**Figures 3:** Change of  $L^*$  (brightness),  $a^*$  (redness) and  $b^*$  (yellowish) indices in rainbow trout fillet fed with different levels of Anato powder. Non-similar letters indicate a significant difference between the means ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

### بحث

پودر دانه آناتو به عنوان ادویه جهت رنگ‌دهی به مواد غذایی استفاده می‌گردد (Safari and Atash, 2015). همچنین در بسیاری از کشورهای مختلف از گیاه آناتو به عنوان یک گیاه دارویی نیز استفاده می‌شود. برای مثال، در جنوب کشور هند از این گیاه به عنوان داروی ضد دیابتی استفاده می‌شود (Irobi et al., 1996).

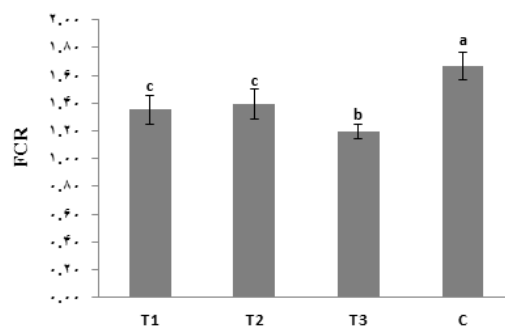
یکی از شاخص‌های مهم و قابل اطمینان در بررسی وضعیت سلامت و فیزیولوژی ماهیان، سنجش شاخص‌های



شکل ۱: مقایسه میانگین افزایش وزن (گرم) در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

**Figure 1:** Comparison of mean weight gain (g) in rainbow trout fed with different levels of Anato powder. Non-similar letters indicate a significant difference between the means ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

با توجه به شکل ۲، شاخص ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد پودر دانه آناتو تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد ( $p > 0/05$ ) و بیشترین و کمترین ضریب تبدیل غذایی بترتیب در تیمار شاهد ( $1/67 \pm 0/09$ ) و تیمار ۳ ( $1/20 \pm 0/05$ ) مشاهده شد ( $p < 0/05$ ).



شکل ۲: مقایسه میانگین ضریب تبدیل غذایی در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با سطوح مختلف پودر دانه گیاه آناتو. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

**Figure 2:** Comparison of mean food conversion ratio in rainbow trout fish fed with different levels of Anato powder. Non-similar letters indicate a significant difference between the means ( $n=3$ ,  $p < 0.05$ ).

ماهی از طریق اثرگذاری بر افزایش باکتری‌های مفید، تاثیرات مثبتی بر عملکرد رشد داشته باشند (Layiwola *et al.*, 1983). نتایج نشان دادند که بیشترین میزان رشد و کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار ۰/۷۵ درصد پودر آناتو بود. بنابراین، احتمالاً افزایش باکتری‌های مفید در دستگاه گوارش ماهیان تغذیه شده با آناتو سبب بهبود عملکرد هضم و جذب خوراک و در نتیجه افزایش رشد شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که تغذیه با پودر دانه آناتو نیز موجب افزایش رنگ فیله قزل‌آلای رنگین کمان می‌شود. رنگ زرد تا قرمز دانه‌های آناتو به علت وجود چندین آپوکارتنوئید در دانه آن است که به طور عمده شامل بیکسین (زرد و محلول در چربی) و نوربیکسین (قرمز و محلول در آب) می‌باشد (Levy *et al.*, 1997). در تحقیقی که Safari و Atash (۲۰۱۵) بر اثرات افزودن مکمل پودر گیاه آناتو بر کارتنوئید خون و پایداری رنگ فیله در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام گرفت، نتایج نشان دادند که افزودن پودر دانه گیاه آناتو سبب افزایش رنگ پذیری کارتنوئید خون و فیله ماهیان شد که نتایج حاصل با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. معمولاً مشکلی که در استفاده از رنگدانه‌های طبیعی وجود دارد، هضم پذیری کم و همچنین وجود فاکتورهای ضد تغذیه‌ای در آنهاست. برای مثال، در بررسی Yanar و همکاران (۲۰۰۷) بهترین سطح یونجه برای افزایش رنگ ماهی طلایی ۳۶ درصد جیره تعیین شد، اما افزودن بیش از ۲۵ درصد یونجه در جیره موجب کاهش رشد در پایان دوره آزمایش شد. در مطالعه حاضر، افزودن پودر دانه گیاه آناتو در جیره، علاوه بر ایجاد رنگ مطلوب در فیله، پارامترهای رشدی را نیز کاهش نداد.

در این مطالعه عملکرد رشد و تمام فاکتورهای خونی بجز تعداد گلبول‌های سفید ماهیانی که از تیمار ۰/۷۵ درصد پودر دانه آناتو تغذیه کردند، به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. این نتیجه احتمالاً به واسطه افزایش سطح کارتنوئید جیره بواسطه پودر آناتو در مقایسه با سایر تیمارهاست. بنابراین، افزودن پودر دانه گیاه آناتو به مقدار ۰/۷۵ درصد به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین

خونی آن است که تحت تأثیر تغذیه، عوامل محیطی، سن و سایر موارد فیزیولوژیک می‌باشد (Quillfeldt *et al.*, 2004). همچنین شناخت فاکتورهای خونی در شناسایی بیماری‌ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید است (عادل و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج این مطالعه نشان داده شد که افزودن پودر دانه گیاه آناتو تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی دارد. چنین نتایج مثبتی در تجویز خوراکی پودر نعنای فلفلی در جیره کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی بآس دریایی (*Dicentrarchus labrax*)، عصاره سرخار گل (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۲) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و عصاره گون در ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) (Ardo *et al.*, 2008) گزارش شده است.

دانه گیاه آناتو دارای ترکیبات زیست فعال متعددی از جمله رنگدانه‌هاست (Degnan *et al.*, 1991). بنابراین، این احتمال وجود دارد که این ترکیبات توانستند سبب افزایش فعالیت و تحریک سلول‌های بنیادی خونساز در اندام‌های ماهی شوند (Kannan and Vincent, 2012). به طور مشابه در این تحقیق مشاهده شد که ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای پودر آناتو دارای تعداد گلبول‌های قرمز بیشتری هستند. در واقع، کارتنوئیدها و ترکیبات فنلی موجود در دانه آناتو به عنوان ترکیبات زیست فعال در درمان بیماری‌های مختلف به لحاظ بهبود سیستم ایمنی مورد توجه قرار گرفته است (Boschetto, *et al.*, 2014; Lim, 2010; Giridhar *et al.*, 2014; Ezuruike, *et al.*, 2014). بنابراین، احتمالاً یکی از دلایل افزایش نرخ رشد بالاتر در ماهیان تغذیه شده با پودر آناتو، بهبود سیستم ماهیان تیمار شده بود، اما تحقیقات تکمیلی در این زمینه مورد نیاز است. به طور مشابه گزارش شد، کارتنوئیدها علاوه بر افزایش رنگ پذیری پوست ماهی سیچلاید سورم (*Cichlasoma* *severum*)، می‌توانند موجب بهبود عملکرد رشد شود (Kop and Durmuz, 2008).

کارتنوئیدها، فنول‌ها، تان‌ها و سایر ترکیبات زیست فعال موجود در گیاه آناتو به عنوان آنتی باکتریال قوی (Silva *et al.*, 2010) می‌توانند بر فلور میکروبی دستگاه گوارش

عادل، م.، پورغلام، ر.، ذریه زهرا، س. ج. و قیاسی، م.، ۱۳۹۴. تاثیر سطوح مختلف عصاره نعنای فلفلی بر برخی شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۱): ۳۷-۴۶.

میرکریمی، س. ع.، یوسفی، سیاه کلرودی، س. و فرودی، ف.، ۱۳۹۳. استفاده از گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) در تغییر رنگ گوشت و پوست قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*). مجله محیط زیست جانوری، ۶(۴): ۱۶۱-۱۶۶.

یلمه، م.، حبیبی نجفی، م. ب.، فرهوش، ر. و حسنی، ف.، ۱۳۹۵. کاربرد روش سطح در پاسخ بهینه سازی شرایط استخراج رنگ دانه از آناتو به کمک امواج فراصوت. مجله علوم و صنایع غذایی، ۵۰(۱۳): ۴۳-۵۰.

Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z. and Jeney, G., 2008. Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275(1-4): 26-33. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.12.022

Bole-Feysot, C., Goffin, V., Edery, M., Binart, N. and Kelly, P. A., 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathway and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, 19 (3): 225-268. DOI: 10.1210/edrv.19.3.0334

Bora, M. M., 2010. Adsorption of pigment from annatto seed utilizing fish scale as bio sorbent. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5): 75-83.

کمان علاوه بر بهبود عملکرد رشد، شاخص‌های تغذیه‌ای و پارامترهای خونی، با افزایش رنگ پذیری فیله ماهیان منجر به افزایش بازارپسندی محصول تولیدی نیز خواهد شد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مالی شرکت آبری اکسیر کوثر و همچنین همکاری‌های پرسنل آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

آوازه، ا.، عمادی، ح.، نگارستان، ح. و جانی جلیلی، خ.، ۱۳۹۴. بررسی اثر پوست انار بر تغییر رنگ پوست، گوشت و خون در ماهی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، ۱۰(۱): ۱-۱۰.

پورغلام ر.، شریف روحانی، م.، صفری، ر.، سعیدی، ع.ا.، بینایی، م.، نجفیان، ر.، بانکه ساز، ز.، تقوی، م.ج. و سپهداری، ا.، ۱۳۹۲. اثر عصاره سرخار گل (*Echinacea purpurea*) بر برخی شاخص‌های ایمنی و بازماندگی قزل آلی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در برابر باکتری استرپتوکوک. مجله شیلات ایران، ۲(۳): ۱-۱۲.

جهانبخشی، ع.، احمدنیا مطلق، ح.، عرفانی‌فر، ا. و صفری، ا.، ۱۳۹۶. اثر استفاده از سطوح مختلف دانه آناتو (*Bixa orellana*) در جیره غذایی، بر شاخص‌های رشد و بقاء میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*). فن آوری‌های نوین در توسعه آبری پروری، ۱۱(۱): ۶۱-۷۰.

سحری، م.ا.، زرین قلمی، س. و ستاری، م.، ۱۳۹۱. بررسی ویژگی ضد باکتریایی عصاره آناتو (نوربیکسین) در برابر برخی از باکتری‌های بیماریزا. مجله علوم و صنایع غذایی، ۹(۳۵): ۱۷-۲۳.

- Boschetto, D. L., Aranha, E. M., de Souza, A. A. U., Souza, S. M. G. U., Ferreira, S. R., Priamo, W. L. and Oliveira, J. V., 2014.** Encapsulation of bixin in PHBV using SEDS technique and in vitro release evaluation. *Industrial Crops and Products*, 60(2014): 22-29. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.05.050
- Choubert, G., Cravedi, J.P. and Laurentie, M., 2009.** Effect of alternative distribution of astaxantin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle pigmentation. *Aquaculture*, 286(1-2): 100-104. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.09.001
- Degnan, A. J., Von Elbe, J. H. and Hartel, R. W., 1991.** Extraction of annatto seed pigment by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Science*, 56(6): 1655-1659. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb08664.x
- Ezuruike, U.F., Prieto and J.M., 2014.** The use of plants in the traditional management of diabetes in Nigeria: pharmacological and toxicological considerations. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2): 857-924. DOI: 10.1016/j.jep.2014.05.055
- Giridhar, P., Venugopalan, A. and Parimalan, R., 2014.** A review on annatto dye extraction, analysis and processing: A food technology perspective. *Journal of Scientific Research and Reports*, 3(2): 1-22. DOI: 10.9734/JSRR/2014/5870
- Hushangi, R., and Hosseini Shekarabi, S.P., 2018.** Effect of a peracetic acid-based disinfectant on growth, hematology and histology of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fishes*, 3(1), 10. Doi: 10.3390/fishes3010010
- Irobi, O. N., Moo-Yong, M. and Anderson, W.A., 1996.** Antimicrobial activity of annatto (*Bixa orellana*) extract. *International Journal of Pharmacognosy*, 34 (2): 87-90. DOI: 10.1076/phbi.34.2.87.13201
- Kannan, R. R. and Vincent, S. G. P., 2012.** Screening of herbal extracts influencing hematopoiesis and their chemical genetic effects in embryonic zebrafish. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2): S1002-S1009. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60351-7
- Kop, A. and Durmuz, Y., 2008.** The effect of synthetic and natural pigments on the color of the cichlides (*Cichlasoma severum*; Heckel, 1840). *Aquaculture International*, 16(2): 117-122. DOI: 10.1007/s10499-007-9130-1
- Layiwola, P. J., Linnecar, D. F. C. and Knights, B., 1983.** Hydrolysis of the biliary glucuronic acid conjugate of phenol by the intestinal mucus/flora of goldfish (*Carassius auratus*). *Xenobiotica*, 13(1): 27-29.
- Levy, L. W., Regalado, E., Navarrete, S. and Watkins, R. H., 1997.** Bixin and norbixin in human plasma: determination and study of the absorption of a single dose of annatto food color. *Analyst*, 122(9): 977-980.
- Li, X., Jiang, H., Liu, F., Cai, J., Dai, T., Cao, W. and Jiang, D., 2013.** Induction of chilling tolerance in wheat during germination by pre-soaking seed with nitric



- oxide and gibberlin. *Journal of Plant Growth Regulation*, 71 (1): 31-40. DOI: 10.1007/s10725-013-9805-8
- Liu, K. K., Barrows, F. T., Hardy, R. W. and Dong, F. M., 2004.** Body composition, growth performance, and product quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing poultry fat, soybean/corn lecithin, or menhaden oil. *Aquaculture*, 238(4): 309-328. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.03.022
- Nikolov, B. and Boyadzieva-Doichinova, D., 2010.** Parameters of the red blood cell count in three species of carp fish. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16(3): 307-310.
- Park, J. W., 1994.** Functional protein additives in surimi gels. *Journal of Food Science*, 59(3): 525-527. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1994.tb05554.x
- Quillfeldt, P., Masello, J. F. and Möstl, E., 2004.** Blood chemistry in relation to nutrition and ectoparasite load in Wilson's storm-petrels *Oceanites oceanicus*. *Polar Biology*, 27(3): 168-176. DOI: 10.1007/s00300-003-0572-2
- Safari, O. and Atash, M.M.S., 2015.** The effects of dietary supplement of annatto (*Bixa orellana*) seed meal on blood carotenoid content and fillet color stability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 437(2015): 275-281. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.012
- Silva, R. B., Almeida, C. R., Chavasco, J. M. and Chavasco, J. K., 2010.** Antimycobacterial activity evaluation and MIC determination of liophilized hydroalcoholic extracts of *Bixa orellana* L., Bixaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2): 171-174. DOI: 10.1590/S0102-695X2010000200006
- Sinha, K., Chowdhury, S, Saha, P.D. and Datta, S., 2013.** Modeling of microwave-assisted extraction of natural dye from seeds of *Bixa orellana* (Annatto) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN). *Industrial Crops and Products*, 44 (2013): 165-171. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.04.004
- Srivastava, R. K., Shervani, T. A. and Fahey, L., 1999.** Marketing, business process, and shareholder value: An organizationally embedded view of marketing activities and the discipline of marketing. *Journal of Marketing*, 69(4): 168 -179. DOI:
- Storebakken, T. and No, H. K., 1992.** Pigmentation of rainbow trout. *Aquaculture*, 100 (1-3): 209-229. DOI: 10.1016/0044-8486(92)90372-R
- Teimouri, M., Amirkolaie, A. K. and Yeganeh, S., 2013.** The effect of *Spirulina platensis* as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 396 (2013): 14-19. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.02.009
- Tejera, N., Cejas, J. R., Rodríguez, C., Bjerkgeng, B., Jerez, S., Bolaños, A. and Lorenzo, A., 2007.** Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus*

- pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Aquaculture*, 270(4): 218-230. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.01.019
- Torrissen, O.J. and Naevdal, G., 1988.** Pigmentation of salmonids-variation in fish carotenoids of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 68(4): 305-310. DOI: 10.1016/0044-8486(88)90244-X
- Vázquez, G. R. and Guerrero, G. A., 2007.** Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell*, 39(3): 151-160. DOI: 10.1016/j.tice.2007.02.004
- Venugopalan, A., Girdhar, P. and Ravishankar, G.A., 2011.** Food, ethnobotanical and diversified application of *Bixa orellana* L.: A scope for its improvement through biotechnological mediation. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 1(4): 9-31.
- Yanar, Y., Büyükçapar, H., Yanar, M. and Göcer, M., 2007.** Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout. *Food Chemistry*, 100 (1): 326-330. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.09.056

**Effect of dietary annatto (*Bixa orellana*) seed powder on some hematological parameters, growth performance, and fillet color of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

Heidari F.<sup>1</sup>; Hosseini Shekarabi S.P.<sup>1\*</sup>; Shamsaie Mehrgan M.<sup>1</sup>

1- Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

**Abstract**

In this study, rainbow trout diet was supplemented with different levels of annatto (*Bixa orellana*) seed powder and then some blood parameters (i.e. red and white blood cells count, hemoglobin concentration and hematocrit percentage), growth performance and the fillets color was evaluated. The experimental diets consisted of 0 (control), 0.25, 0.5 and 0.75% annatto powder with three replicates. A total of 360 juvenile rainbow trout ( $100\pm 5$  g) were stocked completely randomly in 12 tanks and reared for 40 days. The maximum amount of all measured blood parameters except white blood cells were obtained in supplemented diet with 0.75% annatto seed powder and the minimum amount of the blood indices were observed in control group ( $p<0.05$ ). Also, the highest body weight (235 g) was related to 0.75% annatto seed powder and the lowest (108.2 g) was related to control one ( $p<0.05$ ). Spectrum of red and yellow colors in the fish fillets were increased by increasing in annatto seed powder level in the diet and the highest values were recorded in the fish fillet fed with 0.75% annatto seed powder in comparison with others ( $p<0.05$ ). Therefore, the addition of annatto seed powder at 0.75% in rainbow trout diet has a positive effect on the blood parameters, and on the other hand, by increasing the growth rate and fillet coloring, probably the cost of culturing will reduce and the customer's satisfaction with the fish meat will increase.

**Keywords:** Annatto, Pigment, Fillet color, Rainbow trout

---

\*Corresponding author