فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۵، صفحه ۱ – ۱۱

# تأثیر رنگدانه‌های طبیعی (هویج و لبو) و رنگدانه مصنوعی (آستاگزانتین) جیره بر شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی و تغییرات رنگ پوست، بافت و خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

**بتول ادهمی*[۱]، سیده سارا جعفری کناری [۲]، خسرو جانی خلیلی [۳]**

۱ – دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
۲ – دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
۳– دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری

دریافت: ۹٤/۱۱/۰۲ پذیرش:۹۵/۰۳/۲۹

*نویسنده مسئول مقاله: amine.adhami@yahoo.com

**چکیده:**

در این تحقیق تأثیر رنگدانه‌های طبیعی (هویج و لبو) و رنگدانه مصنوعی (آستاگزانتین) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و برخی فراسنجه‌های خونی و تغییرات رنگ پوست، گوشت و خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد. بدین منظور ۵ جیره آزمایشی شامل جیره شاهد (بدون رنگدانه)، هویج در ۲ سطح (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، لبو (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و آستاگزانتین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) تهیه شد. ۱۵۰ بچه ماهی با میانگین وزنی ۱/۲۵±۲۱/٤٤ گرم به‌مدت ۳۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. نتایج عملکرد رشد نشان داد افزودن لبو به‌طور معناداری بیشترین افزایش وزن و ضریب رشد ویژه را در پی داشت، درحالی‌که کمترین آن مربوط به گروه شاهد بود ($p<0/05$). مطالعه فراسنجه‌های خونی تفاوت معناداری را در تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت بین تیمارها و شاهد نشان داد ($p<0/05$). بیشترین گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین به‌ترتیب در تیمارهای هویج ۰/۵ درصد، لبو ۱ درصد، هویج ۱ درصد و هویج ۰/۵ درصد مشاهده شد. میزان تری‌گلیسرید و کلسترول در تیمار ۱ درصد لبو به‌صورت معناداری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p<0/05$). نتایج مربوط به اندازه‌گیری کاروتنوئید در پوست، بافت و خون اختلاف معناداری را بین تیمارها نشان داد ($p<0/05$). در مجموع به‌نظر می‌رسد رنگدانه‌ها به‌ویژه رنگدانه‌های گیاهی روی شاخص‌های رشد تأثیر مثبت داشته باشند و باعث تقویت سیستم ایمنی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با افزایش تعداد گلبول سفید) شوند. همچنین، رنگدانه‌های گیاهی با افزایش کاروتنوئیدها رنگ بهتری نسبت به رنگدانه‌های مصنوعی (آستاگزانتین) ایجاد می‌کنند.

**کلید واژگان:** ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، رنگدانه، شاخص‌های رشد و خونی، کاروتنوئید



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

**مقدمه**

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نام علمی *Oncorhynchus mykiss* از خانواده آزاد ماهیان (Salmonidae) می‌باشد. این ماهی یکی از مهم‌ترین گونه ماهیان آب شیرین است که سهم بالایی در تأمین غذای انسان دارد و به‌عنوان گونه اصلی در بیشتر کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی در بیشتر نقاط جهان درآمده است. وجود رنگ مطلوب در پوست و گوشت این ماهیان موجب افزایش بازارپسندی می‌شود و از لحاظ اقتصادی می‌تواند حائز اهمیت باشد. رنگ ماهیان عمدتاً به‌دلیل حضور کروماتوفور که محتوای رنگدانه است، بوده که معمولاً بر روی پوست وجود دارند. چهار گروه رنگدانه اصلی مسئول ایجاد رنگ در بافت و پوست حیوانات و گیاهان می‌باشند که عبارتند از ملانین، پورین، پریدیوم و کاروتنوئید. رنگدانه اصلی در بسیاری از ماهیان کاروتنوئید می‌باشد. کارتنوئیدها که به‌راحتی در چربی حل می‌شوند، دامنه رنگی زرد تا قرمز را در پوست ایجاد می‌کنند و همچنین مسئول رنگ‌های نارنجی و سبز در تخم، پوست و گوشت ماهیان می‌باشند (fuji, 1969). آزاد ماهیان قادر به ساخت کاروتنوئید نیستند و آن را از طریق غذا تأمین می‌کنند (Gouveia et al., 2003). از بین رنگدانه‌های استفاده شده در جیرهٔ غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان، آستاگزانتین و کانتاگزانتین در جیرهٔ غذایی آنها بیشتر استفاده می‌شود. رنگ‌پذیری ماهی علاوه بر عامل تغذیه‌ای، به جذب و عبور در خون وابسته است که به ذخیره‌سازی و نگهداری آستاگزانتین در گوشت بستگی دارد و میزان آن بین ۳ تا ۱۸ درصد متغیر است (Choubert et al., 1995). آستاگزانتین به‌دلیل ذخیرهٔ بیشتر در بدن، بیشتر از کانتاگزانتین به‌کار می‌رود (Torrissen, 1986). طالبی و همکاران (1391)، اثر رنگدانه آستاگزانتین را در قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند که نتیجه آن افزایش رشد، رنگ‌پذیری، بهبود فاکتورهای خونی و در نتیجه ارتقای سیستم ایمنی بود. به‌دلیل قیمت بالای رنگدانه‌های مصنوعی مانند آستاگزانتین می‌توان از رنگدانه‌های طبیعی استفاده کرد. رنگدانه‌های طبیعی در سبزیجاتی مانند گوجه‌فرنگی، فلفل قرمز، ذرت، هویج، ریشه چغندر و انواع قارچ‌های خوراکی و غیره وجود دارند. طبق تحقیقات انجام‌شده رنگدانه‌های طبیعی و گیاهی علاوه بر قیمت مناسب پتانسیل به‌مراتب بهتری نسبت به رنگدانه‌های مصنوعی دارند (Yanar et al., 2007). مطالعه‌ای از سوی Awashti و همکاران (2013) در ارتباط با تأثیر پودر جعفری بر رنگ‌پذیری ماهی گورامی کوتوله (*Colisa lalia*) انجام شد و نتایج نشان داد که پودر جعفری تأثیر معناداری بر رنگ بافت داشت. همچنین Ghiasvand و همکاران (1389) تأثیر استفاده از رنگدانه‌های موجود در مواد گیاهی همچون فلفل دلمه قرمز، گوجه‌فرنگی و هویج را بر اسکار سفید بررسی کردند و نتایج نشان داد تیمارهای تغذیه‌شده با غذای حاوی رنگدانه طبیعی، تجمع رنگدانه در پوستشان مشاهده شد. کارتنوئیدها در فرایند متابولیسمی ماهیان (Segner et al., 1989)، تحریک رشد (Torrissen, 1984)، افزایش بازماندگی و افزایش ایمنی (Christiansen et al., 1995) نقش دارند. از آنجایی‌که قیمت تمام شده استفاده از رنگدانه‌های مصنوعی در جیره ماهیان مقرون به‌صرفه نیست و به‌دلیل مضرات استفاده از برخی افزودنی‌ها، در بسیاری از تحقیقات استفاده از رنگدانه‌های گیاهی مطالعه شده است. هویج و لبو به‌دلیل ارزان بودن، فراوانی زیاد و طبیعی بودن می‌توانند حائز اهمیت باشند. از آنجایی‌که تأثیر استفاده از هویج (Ramamoorthy et al.,2010) و لبو (Jha et al., 2012) در رنگ‌پذیری ماهی شناخته شده است و مطالعات زیادی در زمینه اثر استفاده از رنگدانه‌های گیاهی بر فاکتورهای خونی در دست



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

نمی‌باشد، در این تحقیق تأثیر رنگدانه‌های طبیعی هویج و لبو بر شاخص‌های رشد، خون، رنگ‌پذیری پوست، گوشت و خون در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی شد و با رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین مقایسه گردید.

## مواد و روش‌ها

تهیه بچه ماهی، تیمارهای آزمایش، شرایط پرورش و جیره غذایی

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۳ در یک کارگاه پرورش ماهی واقع در شهرستان ساری انجام شد. ۱۵۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۱/۲۵ ± ۲۱/٤٤ گرم از یک کارگاه پرورش ماهی قزل‌آلا واقع در شهر ساری خریداری شد و به سالن پرورش انتقال یافت. غذادهی ماهیان ۲٤ ساعت پیش از انتقال قطع شد و تا ٤۸ ساعت پس از انتقال نیز غذادهی صورت نگرفت.

ماهیان در ۵ تیمار و ۳ تکرار در ۱۵ تانک پلی‌اتیلن ۱۰۰ لیتری با تراکم ۱۰ قطعه ماهی در هر تانک به‌صورت کاملاً تصادفی قرار داده شدند. ٤۸ ساعت پس از انتقال، سازگاری ماهیان انجام گرفت. بدین منظور ماهیان با غذای تجاری ویژه ماهی قزل‌آلا (شرکت بهدانه شمال، شهرک صنعتی میرود، بهنمیر) به‌مدت یک هفته تغذیه شدند. سپس روزانه ۲ بار (ساعت ۱۰:۰۰ و ۱۷:۰۰) با غذای آزمایشی تا حد سیری به‌مدت ۳۰ روز غذادهی شدند. غذاسازی پس از آرد کردن غذای تجاری و اضافه کردن میزان مورد نظر از رنگدانه به آن انجام گرفت و دربارهٔ لبو (*Beta vulgrisvar*) و هویج (*Daucus carota*) پس از خشک‌کردن آنها در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد با جیره غذایی مخلوط شد. سپس از چرخ گوشت با چشمهٔ ۳ میلی‌متر عبور داده شد و در نهایت در هوای آزاد تا زمان خشک‌شدن قرار گرفت. تیمارهای مورد آزمایش به‌صورت زیر بودند: ۱- تیمار شاهد (بدون رنگدانه)، ۲- ۰/۵درصد هویج، ۳- ۱درصد هویج، ٤- ۱درصد لبو و ۵- ۱درصد آستاگزانتین.

سیفون و تعویض‌کردن ۵۰ درصد آب به‌صورت روزانه انجام شد. دورهٔ نوری با توجه به رژیم نوری طبیعی محیط روشنایی ۱۰: ۱٤ تاریکی بود. دمای آب روزانه با دماسنج آکواریومی معمولی اندازه‌گیری شد و اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی آب یعنی اکسیژن و pH با دستگاه دیجیتال اندازه‌گیری اکسیژن Aqualytic مدل AL15 ساخت آلمان به‌صورت هفتگی انجام شد. میانگین فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول، pH و نیتریت در جدول ۲ آورده شده است. نتایج فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب هیچ‌گونه اختلاف معناداری را در طول دوره پرورش بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($p>0/05$).

### نمونه‌گیری

در انتهای دوره، غذادهی به‌مدت ۲٤ ساعت پیش از نمونه‌گیری قطع شد و زیست‌سنجی ماهیان با استفاده از خط‌کش میلی‌متر و ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ انجام شد. ابتدا ماهیان با پودر گل میخک (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) بیهوش شدند و سپس خون‌گیری از ناحیه ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ انجام شد. در ادامه، خون به لوله‌های هپارینه به‌منظور جلوگیری از لخته شدن منتقل شد و فراسنجه‌های خونی مانند شمارش گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین بررسی گردید.

سپس پلاسمای خون به‌وسیله دستگاه سانتریفیوژ با دور ٦۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط جدا شد و مقدار تری‌گلیسیرید و کلسترول در طول موج ٥٤٦ نانومتر با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون انجام



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

شد. این شاخص‌های بیوشیمیایی به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (unico uv- 2150) اندازه‌گیری شدند. محاسبه مقادیر ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، افزایش وزن بدن (BWI) و درصد بازماندگی با استفاده از اطلاعات ماهیان هر تانک و مطابق با رابطه‌های زیر به‌دست آمد (Watanabe et al., 1993; Luz et al., 2008).

$BW_i$ و $BW_f$: متوسط وزن اولیه و وزن نهایی $BWI=100 (BW_f - BW_i)/BW_i$

t: طول دوره آزمایش، $W_i$ و $W_f$: میانگین زی‌تودهٔ اولیه و نهایی $SGR=100 (\ln W_f - \ln W_i)/t$

F: مقدار غذای مصرف‌شده به‌وسیلهٔ ماهی $FCR=F/(W_f-W_i)$

**اندازه‌گیری کاروتنوئید پوست و فیله**

برای اندازه‌گیری رنگ پوست و فیله از روش اسپکتروفتومتری (Torrissen and Naevdal, 1984) استفاده شد. به این منظور، ۱ گرم نمونه پوست به‌دقت از اطراف خط جانبی ماهی جدا و داخل لوله آزمایش ریخته شد. ۱۰ میلی‌لیتر استون (۹۸ درصد) و ۳ گرم سدیم‌سولفات بی‌آب به نمونه‌ها اضافه شد و با دور rpm ۳۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس فاز مایع جدا و جذب نوری آن در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ٤۵۰ نانومتر قرائت شد و از ضریب خاموشی ۲۵۰۰ برای محاسبه میزان کاروتنوئید استفاده شد. برای اندازه‌گیری کاروتنوئید فیله ۲۰ گرم از فیله به‌خوبی آسیاب و نمونه ۱ گرمی از آن جدا و به همان ترتیبی که برای پوست ذکر گردید، آزمایش شد.

**اندازه‌گیری کاروتنوئید خون**

برای اندازه‌گیری کاروتنوئید خون از روش Barbosa و همکاران (1999)، ۲۰۰ میکرولیتر سرم با ٤۰۰ میکرولیتر اتانول (۹۵ درصد) به‌خوبی مخلوط و سپس ۱ میلی‌لیتر انهگزان به آن اضافه و به‌مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. انهگزان به‌وسیله سانتریفوژ (دور rpm ٤۵۰۰ و به‌مدت ۱۰ دقیقه) جداسازی شد و جذب نوری کاروتنوئید در انهگزان و با طول موج ٤۵۰ نانومتر قرائت گردید.

**آنالیز آماری**

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل آماری شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 22 و رسم شکل‌ها نیز با نرم‌افزار Excel انجام شد. برای بررسی طبیعی بودن داده‌ها از آزمون shapiro-wilk و برای همگنی واریانس از آزمون لون استفاده شد. به‌منظور بررسی وجود یا نبود اختلاف معناداری بین تیمارها از تجزیه واریانس یکطرفه استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با درصد اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شدند.

## نتایج

آنالیز تقریبی جیره تجاری در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاصل از بررسی عملکرد رشد و مصرف غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای حاوی رنگدانه طبیعی و مصنوعی در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه شاخص‌های رشد نشان داد از نظر شاخص‌های رشد مثل درصد افزایش وزن (BWI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و نرخ رشد ویژه (SGR) بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، درحالی‌که بازماندگی بین تیمارها اختلاف معناداری را بین تیمارها نشان نداد ($p>۰/۰۵$). بیشترین و کمترین میزان BWI و SGR به‌ترتیب مربوط به تیمار ۱درصد لبو و گروه شاهد بود درحالی‌که، بیشترین FCR مربوط به تیمار ۱درصد هویج و کمترین آن مربوط به تیمار ۱درصد لبو بود.



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

**جدول۱** آنالیز تقریبی جیره آزمایشی استفاده شده برای تغذیه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان

| نوع خوراک | پروتئین | چربی | خاکستر | رطوبت | فیبر |
|---|---|---|---|---|---|
| GFT1 | ۳۸ | ۱۳/۵ | ۱۱ | ۱۲ | ۳/۵ |

**جدول۲** شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب

| فاکتورها | میانگین ± انحراف معیار |
|---|---|
| اکسیژن محلول | ۸/۲ ±۰/۳۵ |
| دما | ۱۱± ۰/٦۵ |
| pH | ۷/۲± ۰/۱۵ |
| نیتریت | ۰/۱۵ ±۰/۰۲ |

**جدول۳** نتایج عملکرد رشد و مصرف غذایی تیمارهای مختلف در طول دوره پرورش

| | وزن ابتدایی (گرم) | وزن نهایی (گرم) | ضریب تبدیل غذایی (گرم/گرم) | نرخ رشد ویژه (روز/ درصد) | افزایش وزن بدن (درصد) | بازماندگی (درصد) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۲۲/۷٤±۱/۲۱ | ۳۱/٦۳±۳/٤۵$^{bc}$ | ۱/۱۷ ±۰/۳۱$^{a}$ | ۱/۰۸ ± ۰/۱۹$^{c}$ | ۳۸/۸۲ ± ۸/۰۹$^{c}$ | ۱۰۰ |
| ۰/۵درصد هویج | ۲۱/۳۸±۰/۹۳ | ۳۳/۷±۱/۰٤$^{b}$ | ۰/۸۱ ± ۰/۰۱ $^{bc}$ | ۱/۵۱ ±۰/۰٤ $^{ab}$ | ۵۷/٦٦ ± ۲/۰۷ $^{ab}$ | ۱۰۰ |
| ۱درصد هویج | ۲۰ /۳۳±۱/۰۷ | ۲۸/٦۱±۱/۰۵$^{c}$ | ۱/۲۱ ± ۰/۱۳$^{a}$ | ۱/۱٤ ± ۰/۱۳$^{c}$ | ٤۰/۸٦ ± ۵/۹۱$^{c}$ | ۱۰۰ |
| ۱درصد لبو | ۲۲/۱۸±۰/۸٦ | ۳۷/۱۲±۱/۱٦$^{a}$ | ۰/٦٦± ۰/۰۲$^{c}$ | ۱/۷۱ ± ۰/۰۵$^{a}$ | ٦۷/٤۳ ± ۲/۵$^{a}$ | ۱۰۰ |
| ۱درصد آستاگزانتین | ۲۰/۵۵±۰/٦۲ | ۳۰/۳۱±۱/۰۹$^{bc}$ | ۱/۰٤ ± ۰/۱۸ $^{ab}$ | ۱/۲۹ ± ۰/۲۱ $^{bc}$ | ٤۷/٦۸ ± ۹/۷۳ $^{bc}$ | ۱۰۰ |

اعدادی که در هر ستون حروف غیرمشابه دارند، دارای اختلاف آماری معناداری با یکدیگر می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

مقایسه میانگین فراسنجه‌ها و ترکیبات بیوشیمیایی خون در جدول ٤ و ۵ ارائه شده است. مطالعه فراسنجه‌های خونی نشان داد که تفاوت معناداری در تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین و هماتوکریت بین تیمارها و شاهد وجود دارد ($p<۰/۰۵$). بیشترین گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین به‌ترتیب در تیمارهای ۰/۵درصد هویج، ۱درصد لبو، ۱درصد هویج و ۰/۵درصد هویج مشاهده شد و کمترین مقادیر گلبول قرمز، گلبول سفید و هماتوکریت مربوط به تیمار شاهد و کمترین مقدار هموگلوبین مربوط به تیمار ۱درصد هویج بود.

همچنین در میزان تری‌گلیسرید و کلسترول بین تیمارهای مختلف اختلاف معنادار مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). مطابق جدول ۵، بیشترین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول مربوط به تیمار ۱درصد لبو بود درحالی‌که کمترین مقدار آنها در تیمار حاوی ۱درصد آستاگزانتین مشاهده گردید.



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

**جدول ٤** مقایسه میانگین شاخص‌های خونی بین تیمارها در طول دوره پرورش

| فراسنجه‌های خونی | شاهد | ۰/۵درصد هویج | ۱درصد هویج | ۱درصد لبو | ۱درصد آستاگزانتین |
|---|---|---|---|---|---|
| گلبول قرمز$\times 10^6$(عدد در $mm^3$) | ۰/۵۸ ± ۰/۱۳۵$^{c}$ | ۰/۹۳ ± ۰/۱۱۵$^{a}$ | ۰/۷۰ ±۰/۰۸۸$^{bc}$ | ۰/۷۹ ±۰/۰۳۶$^{ab}$ | ۰/۷۹±۰/۰۳۶ $^{ab}$ |
| گلبول سفید $\times 10^3$(عدد در $mm^3$) | ۱/۳± ۰/۵$^{b}$ | ۱/٤٤ ±۰/۵$^{ab}$ | ۱/٤۲ ± ۰/٦$^{ab}$ | ۱/۵۵ ±۰/۵$^{a}$ | ۱/۳٤±۰/٦$^{b}$ |
| هماتوکریت (درصد) | ۳۲/۱٦ ±۱/۰٤$^{b}$ | ۳٦/۱٦ ± ۲/۲۵$^{a}$ | ۳٦/٤۱ ± ۰/۰۸$^{a}$ | ۳۵/۱٦ ± ۱/۲۵$^{a}$ | ۳٦/۲۳ ±۰/۲۵$^{a}$ |
| هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) | ۸/۲۹ ± ۱/۹۲$^{a}$ | ۸/٦٦ ± ۰/٦۸$^{a}$ | ٤/۵۵ ± ۰/۹٤$^{b}$ | ۵/۲۰ ± ۰/۱۳$^{b}$ | ۵/٤±۰/۵٤$^{b}$ |

اعدادی که در هر ردیف حروف غیرمشابه دارند، دارای اختلاف آماری معناداری با یکدیگر می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

**جدول۵** مقایسه میانگین تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم تیمارها در طول دوره پرورش

| فراسنجه‌های سرمی | شاهد | ۰/۵درصد هویج | ۱ درصد هویج | ۱ درصد لبو | ۱ درصد آستاگزانتین |
|---|---|---|---|---|---|
| تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) | ۱۵۸/۰ ±۹/۱$^{c}$ | ۱۹۳/۹ ± ۲۲/٦$^{b}$ | ۲۱۳/۱ ±۹/۸$^{ab}$ | ۲۲۷/۷ ± ۱/۹$^{a}$ | ۱۳۱/۳ ± ۷/۲$^{d}$ |
| کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) | ٤۹/۲ ± ۱۷/۲$^{c}$ | ۹٦/۱ ± ٦/۲$^{b}$ | ۱۲۲/۷±۰/۷$^{b}$ | ۲٦۷/۲ ± ۲/٦$^{a}$ | ۳۹/۲ ± ۱/۸$^{c}$ |

اعدادی که در هر ردیف حروف غیرمشابه دارند، دارای اختلاف آماری معناداری با یکدیگر می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

نتایج مربوط به میزان کاروتنوئید پوست، گوشت و خون که در جدول ٦ آمده است، اختلاف معناداری را بین تیمارهای مختلف و شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان کاروتنوئید پوست، گوشت و خون به‌ترتیب در ۰/۵ درصد هویج، ۱درصد لبو و ۱درصد هویج مشاهده شد و کمترین مقدار آنها در شاهد مشاهده شد که نشان‌دهندهٔ افزایش کاروتنوئید در ماهی تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی رنگدانه است.

**جدول٦** مقایسه میانگین میزان کاروتنوئید پوست، گوشت و خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

| | کاروتنوئید پوست | کاروتنوئید گوشت | کاروتنوئید خون ($mgl^{-1}$) |
|---|---|---|---|
| شاهد | ۱/۷۲±۰/۱٦$^{b}$ | ۰/۲۸±۰/۱۸$^{b}$ | ۰/۱۲±۰/۱$^{d}$ |
| ۰/۵درصد هویج | ۳/٤۱±۰/٤$^{a}$ | ۰/۷٤±۰/۳٦$^{a}$ | ۰/۱۳$^{d}$ |
| ۱درصد هویج | ۳/۲۱±۰/۱٦$^{a}$ | ۰/٦۸±۰/۰٤$^{a}$ | ۰/۸±۰/۱$^{a}$ |
| ۱درصد لبو | ۱/۸۵±۰/۰٦$^{b}$ | ۰/۸±۰/۰۸$^{a}$ | ۰/۵±۰/۰۲$^{b}$ |
| ۱درصد آستاگزانتین | ۳/۲۸±۰/۰۸$^{a}$ | ۰/۷۹±۰/۰٤$^{a}$ | ۰/۳±۰/۰۲$^{c}$ |

اعدادی که در هر ستون حروف غیرمشابه دارند، دارای اختلاف آماری معناداری با یکدیگر می‌باشند ($p<۰/۰۵$)

**بحث**

کاروتنوئیدها می‌توانند با افزایش مصرف مواد غذایی سبب بهبود رشد شوند (Amar et al., 2001). نتایج شاخص‌های رشد نشان داد بیشترین رشد مربوط به تیمار ۱درصد لبو بود، به عبارت دیگر رنگدانه‌های طبیعی مثل لبو و هویج در مقایسه با رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین تأثیر بیشتری در رشد داشت. تحقیق حاضر با یافته‌های Talebi و همکاران (1391) و Mehrabi (2008) مبنی بر افزایش رشد و



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

بازماندگی در ماهی قزل‌آلا که رنگدانه گیاهی دریافت کردند، همخوانی دارد که می‌تواند به‌دلیل افزایش سوخت‌وساز، تسریع هضم و افزایش کارایی مواد غذایی در اثر افزودن رنگدانه‌ها باشد (Amar et al., 2001; Tacon, 1981) که در گونه‌های مختلف پرورشی و مراحل مختلف زندگی جاندار تأثیرات متفاوتی وجود دارد. علاوه بر این، افزایش رشد در جیره لبو و هویج نسبت به سایر تیمارها می‌تواند به‌دلیل انرژی بیشتر موجود در پودر خشک هویج و لبو باشد. افزایش وزن بدن و نرخ رشد در ۱درصد هویج کمتر از این مقدار در ۰/۵ درصد هویج بود که می‌تواند به‌دلیل اثر منفی استفاده از مقادیر بالای مواد گیاهی در جیره غذایی ماهیان به‌ویژه ماهیان گوشتخواری چون قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد. مواد گیاهی حاوی مقادیر بالایی از سلولز می‌باشد و می‌تواند اثرهای منفی بر مزه غذا و بالانس مواد مغذی در جیره داشته باشد (Lim and Dominy 1989). به‌طور مشابه Büyükçapar و همکاران (2007) بیان کردند افزودن کاروتنوئید گیاهی از جمله گل جعفری و فلفل قرمز در سطوح بالا بر عملکرد رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان اثر منفی دارد.

نتایج حاصل از مطالعه Christiansen و Torrissen (1996) نشان‌دهنده افزایش رشد و بازماندگی در آزاد ماهی اقیانوس اطلس بود که با تحقیق حاضر هم‌سو است. همچنین، Jagadeesh و همکاران (2015) اثر کاروتنوئید گیاهی را در سطح ۱۲۰ ppm در افزایش رشد و بازماندگی ماهی زینتی مفید دانستند. ولی این داده‌ها با یافته‌های Harpaz و همکاران (1998)، Bjerkeng و همکاران (2000) و Buyukcapar و همکاران (2007) مغایرت داشت. هویج و لبو علاوه بر رنگدانه‌ها، دارای مواد دیگری از جمله مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشند و دلیل این مغایرت‌ها می‌تواند تفاوت در رنگدانه مورد استفاده باشد.

همان‌طور که Jha و همکاران (2012) در مطالعه‌ای اثر ریشه چغندر (لبو) را در مقایسه با گل جعفری در جیره ماهی بر رشد و بازماندگی مؤثرتر دانستند.

مطالعه فراسنجه‌های خونی در تحقیق حاضر نشان داد فاکتورهای خونی از جمله گلبول‌های قرمز و سفید، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای دارای رنگدانه طبیعی به‌ویژه تیمارهای حاوی پودر هویج بیشتر بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان گفت که رنگدانه‌های گیاهی سیستم ایمنی را افزایش داده و استفاده از آنها در جیره غذایی ماهیان مفید است که با یافته‌های Emaminejad و همکاران (1388)، Talebi و همکاران (1391)، Torrissen و همکاران (1996) مطابقت دارد. همچنین با نتایج Bjerkeng و همکاران (2000) که اثر مثبت رنگدانه بر رشد و مقاومت سیستم ایمنی را نشان دادند، هم‌سو است. به نظر می‌رسد رنگدانه‌ها روی شاخص‌های رشد تأثیر داشته باشند و می‌توانند سیستم ایمنی را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (با افزایش تعداد گلبول سفید) تقویت کنند. علاوه بر این، کاروتنوئید به‌دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد. افزایش رادیکال‌های آزاد در بدن موجب تخریب گلبول سفید می‌شود (Hill, 1999). به عبارت دیگر، می‌توان گفت با افزودن کاروتنوئید می‌توان تخریب گلبول سفید را کاهش داد. همان‌طور که در تحقیق حاضر، جیره شاهد بدون مواد آنتی‌اکسیدانی، کمترین گلبول سفید را داشت.

مطالعه فراسنجه‌های سرمی نشان داد تیمارهای حاوی رنگدانه‌های طبیعی لبو و هویج باعث افزایش کلسترول و تری‌گلیسیرید نسبت به گروه شاهد و تیمار آستاگزانتین شده است که ممکن است به‌دلیل ترکیبات متنوع موجود در آنها باشد. هویج و لبو دارای مقادیری از چربی و ویتامین A می‌باشند که می‌تواند افزایش کلسترول و تری‌گلیسیرید در



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

تیمار هویج و لبو را توجیه کند. از آنجایی‌که کاروتنوئیدها محلول در چربی هستند، ارتباط مستقیمی بین آستاگزانتین خون و مقدار چربی وجود دارد به‌طوری‌که افزایش لیپید در تحقیق Barbosa و همکاران (1999) آستاگزانتین خون را افزایش داده است. در تحقیق حاضر آستاگزانتین کمترین مقدار تری‌گلیسیرید را داشت. به‌طور مشابه در مطالعه Řehulka و همکاران (2000) افزودن آستاگزانتین تری‌گلیسیرید خون را در قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به جیره فاقد آن کاهش داد.

رنگ‌پذیری پوست و بافت اهمیت زیادی در ماهیان به‌ویژه آزاد ماهیان از لحاظ اقتصادی دارد و دارا بودن رنگ مناسب، بازارپسندی آنها را افزایش می‌دهد. کاروتنوئیدها در بافت‌ها و اندام‌های مختلفی مانند پوست، گوشت و روده تجمع می‌یابند. خانواده آزاد ماهیان در مقایسه با دیگر ماهیان، توانایی بی‌نظیری در ذخیره‌کردن کاروتنوئیدهای موجود در جیره، در بدن خود دارند (Bjerkeng et al., 1999). در ماهیان جذب آستاگزانتین بیشتر از سایر کاروتنوئیدها است (Torrissen, 1989) اما به‌دلیل قیمت بالا و برخی مضرّات استفاده از مواد شیمیایی، از رنگدانه‌های طبیعی که در هویج و لبو وجود دارد، می‌توان به‌عنوان جایگزین استفاده کرد. طبق نتایج این تحقیق، استفاده از هویج و لبو اثر خوبی نیز بر رنگ‌پذیری پوست و بافت داشته که تفاوت معناداری را با شاهد نشان داده است و در تیمارهای دارای رنگدانه میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد افزایش معناداری داشته است ($p<۰/۰۵$). همچنین تیمارهای دارای رنگدانه طبیعی به مقدار یکسان و یا حتی بیشتری از رنگدانه در پوست، گوشت و یا خون تیمار آستاگزانتین بوده است. در تحقیقی Awasthi و همکاران (2014) اثر پودر جعفری را به‌عنوان کاروتنوئید گیاهی بر رنگ‌پذیری ماهی گورامی بررسی و افزایش رنگدانه را مشاهده کردند. نتایج تحقیق Ghiasvand و همکاران (2006) که رنگدانه‌های طبیعی موجود در فلفل دلمه قرمز، گوجه و هویج را با رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین در ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus sp.*) مقایسه کردند، نشان داد تجمع رنگدانه در پوست تیمار آستاگزانتین بیشتر از سایر تیمارها بود که نتایج تحقیق حاضر با آن مغایرت داشت. دلیل این مغایرت می‌تواند تفاوت در نوع گونه باشد و این کاهش تجمع رنگدانه در ماهی اسکار تغذیه‌شده با رنگدانه طبیعی به‌نظر می‌رسد به‌دلیل کمتر بودن اثر جذبی بتاکاروتن موجود در فلفل دلمه قرمز، گوجه‌فرنگی و هویج نسبت به آستاگزانتین خالص باشد. از طرفی تحقیقات Emadi و همکاران (1389) و Teimouri و همکاران (2013) که به‌ترتیب جلبک دونالیلا و اسپیرولینا را بر تغییرات رنگ پوست و فیله بررسی کردند، اثر مثبتی را مشاهده نمودند که با تحقیق حاضر همسو بود. به‌طور مشابه، Lovell (1999) اثر ذرت و گلوتن ذرت را بررسی کرد و آنها را به‌دلیل داشتن منابع کاروتنوئید مانند زئازانتین و لوتئین در رنگ‌پذیری ماهی زینتی مؤثر دانست. به همین دلیل به‌نظر می‌رسد رنگدانه‌های طبیعی لبو و هویج موجب افزایش کاروتنوئید در ماهی قزل‌آلا می‌شود و همچنین با افزایش کارایی سیستم ایمنی و رشد در ماهی همراه است که با توجه به قیمت مناسب آن دارای توجیه اقتصادی فراوان نیز می‌باشد.

## منابع

**Amar, E., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T. 2001.** Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture research, 32: 162-173.



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

**Emadi, H., Amaninejad, P., Amtiyazjoo, M. And Houseinzadeh, S. H. 2010.** Effects of Dunaliella algae (*Dunaliella salina*) on different color skin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal Environment, 2: 57-66. (Abstract in English).

**Emaminejad, P., Emtiazju, M. And Houseinzadeh, S. H. 2009.** Effects of Dunaliella algae (*Dunaliella salina*) on immune factor changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marine Biology, 1(4): 3-21. (Abstract in Persian).

**Ghiasvand, sh. And Shapouri, M. 2006.** The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the Albino Oscar (*Astronotus ocellatus sp.*). Journal of Marine Biology, 9: 75-82. (Abstract in English).

**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.

**Harpaz, S., Rise, M., Arad, S. M. 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.

**Hill, G. E. 1999.** Is There an Immunological Cost to Carotenoid-Based Ornamental Coloration. The American Naturalist, 154: 589-595.

**Jagadeesh, T., Murthy, H. S., Surendranath, S., Panikkar, P., Manjappa, N. & Mahesh, V. 2015.** Effects of supplementation of marigold (*tagetes erecta*) oleoresin on growth, survival and pigmentation of rosy barb, *puntius conchonius* (hamilton). An Internal Quarterly Journal of Life Sciences. 10 (3):1431-1435.

**Jha, G. N., Sarma, D., Qureshi, T. & Akhtar, M. 2012.** Effect of Marigold Flower and Beetroot Meals on Growth Performance, Carcass Composition, and Total Carotenoids of Snow Trout (*Schizothorax richardsonii*). Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 64: 752-759.

**Lim, C. & Dominy, W. 1989.** Utilization of Plant Protein by Warm Water Fish American Soybean Association. USDA. ARS. Tropical Aquaculture Research Unit. The Oceanic Institute. Hawaii. 3AQ (15), 89-4.

**Lovell RT 1992.** Dietary enhancement of colour in ornamental fish. Aquac Mag. 18:77–79.

**Luz, R., Martínez-álvarez, R., De pedro, N. and Delgado, M. 2008.** Growth, food intake regulation

**Awasthi, M., Kashyap, A. and Serajuddin, M. 2014.** Effect of Plant Meal as a Carotenoid Source on the Development of Pigmentation in Dwarf Gourami, *Colisa lalia* (Hamilton, 1822). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 84: 1031-1034.

**Barbosa, M., Morais, R. and Choubert, G. 1999.** Effect of carotenoid source and dietary lipid content on blood astaxanthin concentration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 176: 331-341.

**Bjerkeng, B., Hatlen, B. and Jobling, M. 2000.** Astaxanthin and its metabolites idoxanthin and crustaxanthin in flesh, skin, and gonads of sexually immature and maturing Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.)). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 125: 395-404.

**Bjerkeng, B., Hatlen, B. and Wathne, E. 1999.** Deposition of astaxanthin in fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with herring, capelin, sand eel, or Peruvian high PUFA oils. Aquaculture, 180: 307-319.

**Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen-jensen, S. 1992.** Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. Aquaculture, 108: 333-346.

**Buyukcapar, H. M., Yanar, M. and Yanar, Y. 2007.** Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from Marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annum*). Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 3:1-7.

**Choubert, G., Milicua, J.-C. G., Gomez, R., Sancé, S., Petit, H., Nègre-sadargues, G., Castillo, R. and Trilles, J.-P. 1995.** Utilization of carotenoids from various sources by rainbow trout: muscle colour, carotenoid digestibility and retention. Aquaculture International, 3: 205-216.

**Christiansen, R., Torrissen, O.J., 1996.** Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed different dietary levels of astaxanthin. Juv. Aquacult. Nutr. 2: 55–62.

**Christiansen, R., Lie, Ø., Torrissen, O.J., 1995b.** Growth and survival of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different dietary levels of astaxanthin: first-feeding fry. Aquacult. Nutr. 1, 189–198.



[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

**Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, S., Khodabandelo, A. & Mirrasooli, E. 2012.** Effects of astaxanthin on pigmentation, growth and blood factors on rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquatic and Fisheries, 3(9): 71-80. (Abstract in English).

**Teimouri, M., Amirkolaie, A. K. and Yeganeh, S. 2013**. The effects of dietary supplement of Spirulina platensis on blood carotenoid concentration and fillet color stability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 414: 224-228.

**Torrissen, O.J., 1984.** Pigmentation of salmonids-effect of carotenoids in eggs and start-feeding diet on

survival and growth rate. Aquaculture 43: 185–193.

**Torrissen, O.J., 1989.** Pigmentation of salmonids: Interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. Aquaculture 79: 363–374.

**Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. and Stone, F.E., 1996**. Effect of dietray lipid on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 88 (3-4): 351-362.

and metabolic adaptations in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. Aquaculture, 276: 171-178.

**Ramamoorthy, K., Bhuvaneswari, 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* (Cuveir 1880). World J. Fish. Mar. Sci. 2(6): 545-550.

**Řehulka, J. 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 190: 27-47.

**Segner, H., Arend, P., Von Poeppinghausen, K. and Schmidt, H., 1989.** The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the river. Aquaculture, 79: 381-390.

**Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, Sh. and khodabandelo, A. 2005.** Effect of Different Levels of Pigment Lutein in the Diet on Growth and Blood factors on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Research in Redintegrate Natural Resources, 4: 39-47. (Abstract in English).

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 4, Winter 2017

# Effect of natural (carrot and beetroot) and artificial pigments (astaxanthin) on growth, blood indices, and colour changes in skin, tissue and blood in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

**Batoul Adhami * [1] S. Sara Jafari Kenari[2] Khosro Janni Khalili [3]**

1- M.Sc Graduate, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

2- M.Sc Graduate, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

3- PhD. Student, Department of Fisheries, Faculty of Animal Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

Received: 22.01.2016 Accepted: 18.06.2016

*Corresponding author: amine.adhami@yahoo.com

**Abstract:**

A 30-day experiment was carried out to comparison the effect of carrot and beetroot as natural pigments and synthetic astaxanthin on growth performance, hematological parameters, and tissue color in rainbow trout fingerlings. 150 juvenile rainbow trout with initial mean weight of 21.44 ± 1.25g fed diets containing 50 and 100 mg/kg carrot; 100 mg/kg beetroot; 100 mg/kg synthetic astaxanthin and a control diet. Body weight increasing and specific growth rate were higher in fish fed the diet containing 100 mg beetroot than those of the control diet. Hematological study including red blood cell, white blood cell, hematocrit and hemoglobin showed significant differences between treatments ($p<0.05$). Carrot and beetroot had higher values of red blood cell, white blood cell, hematocrit and hemoglobin than those of the synthetic astaxanthin and control diet. Triglyceride and cholesterol value were significantly higher in diet containing 100 mg beet ($p<0.05$). Carotenoid content analysis from skin, tissue and blood revealed that inclusion of plant source of carotenoid including carrot and beetroot resulted in a significant increase in carotenoid concentration ($p<0.05$). The study concluded that plant source of carotenoid such as carrot and beetroot could improve immune systems in rainbow trout by increasing white and red blood cells and also, fish fed diet supplemented with natural carotenoid (carrot and beet) showed better coloration.

**Keywords:** Rainbow trout, Pigments, Blood and growth indices, Carotenoid

[ Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2024-11-24 ]

[ DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.4.2.3 ]