

اثر رنگدانه گیاهی لوتئین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگ‌پذیری گوشت‌ماهی

آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

چکیده

در این تحقیق، اثر رنگدانه گیاهی لوتئین بر فاکتورهای رشد، بقا و رنگ‌پذیری گوشت‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) با میانگین وزنی 87 ± 36 گرم، به مدت ۸ هفته مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل جیره‌های غذایی حاوی دوزهای ۰، ۱۴، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لوتئین و جیره فاقد افزودنی به عنوان شاهد انجام شد. نتایج نشان داد بر اساس زیست‌سنجی‌های انجام شده در طی دوره پرورش، از نظر طول، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتئین مشاهده نشد ($P > 0.05$) و تیمارهای تغذیه شده با لوتئین به طور معنی‌داری نسبت به شاهد دارای وزن و طول بیش‌تری بودند ($P < 0.05$). از نظر شاخص‌های رشد، تغذیه و بقا به‌جز فاکتور وضعیت (CF)، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتئین دیده نشد ($P > 0.05$)، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارها در تمام موارد ذکر شده به‌جز ضریب تبدیل غذایی (FCR)، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$). به‌طور کلی کم‌ترین میزان FCR و CF و همین‌طور بیش‌ترین میزان GR، BWI و بقاء مربوط به تیمار ۴ (حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره غذایی) بوده است. از لحاظ رنگ‌پذیری بین تیمارهای آزمایشی، تیمار تغذیه شده با ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین بیش‌ترین تغییر رنگ را نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد ایجاد نمود. این نتایج نشان داد که استفاده از رنگدانه گیاهی لوتئین در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر موثر و مناسب است.

واژگان کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)، لوتئین، رشد، بقا، رنگ‌پذیری.

شایان قبادی^{۱*}

الهه خدابخش^۲

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل، استادیار گروه شیلات، بابل، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشجوی دکتری بیولوژی دریا، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:

shgh_science@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۲۹

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان بومی کشور است (وئوقی و مستجیر، ۱۳۷۹). این گونه طی سال‌های اخیر در معرض انقراض قرار گرفته بود، به همین جهت تکثیر مصنوعی آن به منظور رهاسازی و بازسازی ذخایر طبیعی در مراکزی نظیر مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی شهید باهنر کلاردشت در دستور کار قرار گرفت. در حال حاضر بهبود شرایط تکثیر این گونه امکان پرورش مصنوعی آن را فراهم نموده و از آن‌جا که این ماهی قیمت بالاتری نسبت به گونه‌های نزدیک به خود مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد، رویکرد قابل توجهی به امر پرورش آن از سوی پرورش‌دهندگان مشاهده می‌شود.

رنگ گوشت آزادماهیان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های کیفی آن است (Sigurgisladottir et al., 1997). رنگ عضلات ماهی‌هایی که در محیط طبیعی تغذیه شده باشند، به علت بدست آوردن کاروتنوئیدهای طبیعی و تجمع آن در ماهیچه‌ها نارنجی است و این ویژگی عامل مهمی در بازاریابی و فروش مناسب آن‌ها محسوب می‌شود. امروزه استفاده از ترکیبات غذایی گیاهی به‌عنوان تولید رنگدانه کاربرد دارد و تحقیقاتی بر روی پتانسیل بکارگیری این مواد در حال انجام است (Gouveia et al., 1997; Raymundo et al., 2005). ماهی‌ها

توانایی سنتز کاروتنوئیدها را ندارند، بنابراین این ترکیبات می‌بایست به جیره غذایی آن‌ها اضافه شود (Goodwin, 1984). کاروتنوئیدها علاوه بر ایجاد رنگ در گوشت ماهیان، باعث بهبود شرایط رشد، افزایش توان سیستم ایمنی از طریق بالا رفتن تولید آنتی‌بادی، کاهش استرس، افزایش بقا، افزایش کارایی تکثیر و ... می‌گردند.

لوتئین رنگدانه گیاهی است که در عصاره گل همیشه بهار، علف و یونجه یافت می‌شود و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان فعال در بافت‌های مختلف محسوب می‌گردد (Yeum and Russel, 2002). منابع غذایی حاوی لوتئین شامل گیاهان سبز تیره، سبزیجات نشاسته دار، پوست تخم مرغ، میوه‌جات می‌باشد. این رنگدانه قابلیت جذب و تثبیت در عضله آزداماهیان را دارد (Welker et al., 2001). لذا، در این تحقیق جایگزینی رنگدانه گیاهی با رنگدانه مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت. در حال حاضر از آستاگزانتین مصنوعی برای رنگ‌پذیری آزاد ماهیان استفاده می‌شود، ولی اکنون می‌توان از کاروتنوئیدهای گیاهی برای این منظور استفاده کرد (Vernon Carer et al., 1994; Yanar et al., 1997).

تاکنون تحقیقات زیادی بر روی جوانب مختلف تاثیر رنگدانه‌ها بر ویژگی‌های رشد، بقا، رنگ‌پذیری، ایمنی و ... در آبزیان مختلف انجام شده است. به عنوان مثال زرین‌فر و ملایی در سال ۱۳۸۴ اثرات آستاگزانتین را بر روی رشد و کیفیت ظاهری قزل‌آلای رنگین‌کمان را بررسی و اعلام کردند که افزودن آستاگزانتین در اواخر دوره پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود رنگ گوشت‌ماهی می‌شود، هر چند در بحث افزایش وزن و طول هیچ گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. Bjerkeng و همکاران (۱۹۹۲)، طی تحقیقی بر روی تاثیر کاروتنوئیدها بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) اعلام کردند که رنگدانه‌ها در رشد و مقاومت در برابر بیماری‌ها و هورمون‌های جنسی موثرند و اثرات مثبت آستاگزانتین وابسته به فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. از سوی دیگر از آن‌جا که ممکن است انباشت رنگدانه‌های مصنوعی در بافت ماهیان موجب بروز خطراتی برای مصرف‌کنندگان گردد و همین‌طور با توجه به قیمت بالای این رنگدانه‌ها، رویکرد تحقیقات جدید به سوی یافتن رنگدانه‌های جایگزین و خصوصاً رنگدانه‌های گیاهی ارزان قیمت معطوف شده است. به عنوان مثال Gocer و همکاران (۲۰۰۶)، در تحقیقی اثرات فلفل قرمز، گل همیشه بهار و آستاگزانتین مصنوعی را بر روی رنگ‌پذیری و رشد میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) بررسی و گزارش کردند که افزودن کاروتنوئیدهای طبیعی و مصنوعی روی رشد اثری نداشت، اما تاثیر مثبتی بر میزان بقا نشان داد. Talebi و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر رنگدانه گیاهی لوتئین بر رشد و فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که استفاده از این رنگدانه در جیره غذایی، تاثیر مثبتی بر فاکتورهای ذکر شده خواهد داشت. همچنین Talebi و همکاران (۲۰۱۳)، تاثیر فلفل دلمه‌ای قرمز را بر رشد، رنگ‌پذیری بافت و فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند که نتایج این تحقیق نشان از تاثیر مثبت این رنگدانه گیاهی بر فاکتورهای یاد شده داشت. با این حال تاکنون تحقیقاتی بر روی تاثیر رنگدانه لوتئین در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر انجام نشده است. لذا تحقیق حاضر با هدف دستیابی به یک جیره غذایی طبیعی مناسب از لحاظ سلامت و هزینه تولید و همین‌طور بررسی اثر رنگدانه لوتئین بر روند رشد، تغذیه، بقا و رنگ‌پذیری ماهی آزاد دریای خزر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۸ هفته و در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۲۰×۲۰×۰/۵ متر به مدت ۵۶ روز، در مجتمع تحقیقاتی شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انجام شد. منبع تامین آب، آب چاه بود که پس از هوادهی به مدت ۲۴ ساعت در یک مخزن ذخیره، مورد استفاده قرار می‌گرفت. در طول دوره آزمایش میانگین دمای آب ۱/۲ ± ۱۶/۳۷ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول در آب معادل ۰/۴۱ ± ۸/۷۰ میلی‌گرم در لیتر و pH معادل ۰/۳۳ ± ۷/۵ بود. برای انجام تحقیق ۳۶۰ عدد ماهی آزاد دریای خزر پرورشی پس از انتقال و سازگاری با محیط پرورش و غذای کنسانتره با میانگین وزنی ۸۷±۰/۳۶ گرم در ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار در غالب طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل با تراکم یکسان در تمامی تیمارها (۳۰ عدد به ازای هر استخر) تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند. جهت اطمینان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار در

طول و وزن ماهیان توزیع شده در حوضچه‌های مختلف از برنامه آماری شاپیرو-ویلک (Shapiro-wilk) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی این تحقیق به صورت زیر بودند:

تیمار ۱: تیمار شاهد که از غذای تجاری معمولی تغذیه کردند.

تیمار ۲: مکمل شده با ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین

تیمار ۳: مکمل شده با ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین

تیمار ۴: مکمل شده با ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین (Talebi et al., 2011)

ماهیان سه بار در روز و در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ غذایی شدند. غذای مورد نیاز با توجه به وزن توده زنده اندازه‌گیری شده، پس از هر بار زیست‌سنجی (هر دو هفته یکبار) محاسبه و در اختیار ماهیان قرار گرفت. رنگدانه لوتئین مورد استفاده از شرکت آریا دالمن نماینده رسمی شرکت Biochem تهیه شد.

جیره مورد نظر بر اساس ۴۷ درصد پروتئین، ۱۳ درصد چربی و ۱۶/۲ کیلوژول بر گرم (Vernon Carter et al., 1994) بوسیله نرم افزار UFFDA فرموله شد. برای تهیه جیره، ابتدا اقلام غذایی مطابق با جدول شماره ۱ توزین و رنگدانه لوتئین به میزان مورد نظر در هر تیمار به اقلام خشک افزوده شد، سپس با افزودن روغن و آب و تهیه خمیر مناسب با کمک چرخ گوشت پلت مناسب تهیه و در خشک‌کن به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. آنالیز تقریبی جیره پایه در جدول ۲ قید شده است.

جدول ۱: درصد ترکیبات موجود در جیره پایه مورد استفاده در تحقیق.

درصد جیره	ترکیبات
۵۸	آرد ماهی ^۱
۵	آرد گندم ^۲
۹	کازئین ^۲
۷/۵	دکسترین ^۲
۸	روغن ماهی ^۱
۴	روغن سویا ^۲
۰/۵	کولین کلراید ^۲
۳	مکمل معدنی ^۳
۳	مکمل ویتامینی ^۴
۰/۴	آنتی‌اکسیدان ^۵
۱/۶	بایندر ^۶

۱- از شرکت پارس کیلکا واقع در شهرک صنعتی شیلاتی میروند شهرستان بابلسر تهیه شد.

۲- از کارخانه خوراک دام و طیور و آبزیان زرین بالان شمال واقع در شهرک صنعتی رجه شهرستان بابل تهیه شد.

3- Unit kg-1 of diet: Fe, 4500 mg; Cu, 500 mg; Co, 50 mg; Se, 50 mg; Zn, 6000 mg; Mn, 5000 mg; I, 150 mg; choline. Mazandaran Livestock and Poultry Company.

4- Unit kg-1 of diet: Vitamin A, 1200000 IU; D3, 400000; E, 30 IU; K3, 1200mg; C 5400mg; H2, 200mg; 1,200mg; B2, 3600mg; B3, 7200mg; B5, 9000mg; B6, 2400mg; B9, 600mg; B12,4mg; antioxidant 500mg Career up to 1 kg. Mazandaran Livestock and Poultry Company.

5- Anti-oxidant: Butylated hydroxytoluene (BHT). Mazandaran Livestock and Poultry Company.

6- Binder: Amet Binder (Component: Crude Protein: 71.98%, Crude Fiber: 0.9%, Ash: 17.8%, Moisture: 9.55%).

اثر رنگدانه گیاهی لوتئین بر فاکتورهای رشد، تغذیه، بقا و رنگ‌پذیری گوشت‌ماهی / قبادی و خدابخش

جدول ۲: ترکیب تقریبی جیره پایه (درصد وزن خشک).

پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت	انرژی ناخالص * (kJ . g ⁻¹)
۴۷/۳ ± ۰/۸۱	۱۳/۱ ± ۰/۳۲	۸/۸ ± ۰/۲۱	۹/۳ ± ۰/۲	۱۶/۳

*: انرژی ناخالص جیره بر اساس انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول)، هر گرم چربی (۳۹/۵ کیلوژول)، هر گرم کربوهیدرات (۱۷/۲ کیلوژول) محاسبه شد (NRC, 1993).

در طول دوره، هر ۱۴ روز یک‌بار کل ماهیان موجود در هر حوضچه مورد زیست‌سنجی قرار گرفته و پس از بیهوشی با استفاده از عصاره پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ قیمت در میلیون (مهرابی، ۱۳۷۸)، طول آن‌ها با خط‌کش میلی‌متری و وزنشان به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. همچنین هم‌زمان با هر مرحله زیست‌سنجی، رنگ گوشت ماهی‌ها نیز با استفاده از SalmoFan™ مورد ارزیابی قرار گرفت. این وسیله دارای ۱۵ نمونه رنگ می‌باشد که به ترتیب از اعداد ۲۰ تا ۳۴ شماره‌گذاری شده‌اند (شکل ۱). برای انجام این کار پس از جدا کردن پوست از بدن ۳ عدد ماهی در هر تکرار، از گوشت کنار دنده برای تطابق رنگ استفاده شد (Talebi et al., 2013). لازم به‌ذکر است ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی غذایی قطع می‌گردید.



شکل ۱: SalmoFan™.

با استفاده از اطلاعات زیست‌سنجی ماهیان در طول دوره و در هر استخر، فاکتورهای رشد و تغذیه با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

- ضریب تبدیل غذایی (FCR) (Ronyai et al., 1990)

$$FCR = F / (W_t - W_o)$$

F = مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی.

W_o = میانگین بیوماس اولیه (گرم).

W_t = میانگین بیوماس نهایی (گرم).

- ضریب رشد ویژه (درصد در روز) SGR (Ronyai et al., 1990)

$$SGR = (\ln W_t - \ln W_o) / t \times 100$$

W_o = میانگین بیوماس اولیه (گرم)

W_t = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

T = تعداد روزهای پرورش.

- درصد افزایش وزن بدن (%BWI) (Hung et al., 1989)

$$\%BWI = (B_{wf} - B_{wi}) / B_{wi} \times 100$$

B_{wi} = متوسط وزن اولیه در هر تانک.

B_{wf} = متوسط وزن نهایی در هر تانک.

- رشد روزانه (گرم در روز) GR (Hung et al., 1989)

$$GR = (B_{wf} - B_{wi}) / n$$

B_{wi} = متوسط وزن اولیه در هر تانک.

B_{wf} = متوسط وزن نهایی در هر تانک.

n = تعداد روزهای پرورش.

- ضریب چاقی (K یا CF) (Hung and Lutes 1987,)

$$CF = (B_w / TL^3) \times 100$$

B_w = میانگین وزن نهایی بدن بر حسب گرم.

TL = میانگین طول کل نهایی بر حسب سانتی‌متر.

- درصد بازماندگی (Ai et al., 2006)

$$\% \text{ بازماندگی} = \frac{\text{تعداد لاروهای موجود در پایان آزمایش}}{\text{تعداد لاروهای موجود در شروع آزمایش}} \times 100$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزارهای کامپیوتری SPSS ۱۳ و Excel ۲۰۰۳ انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری پس از کنترل همگن بودن داده‌ها، میانگین‌های بدست آمده از اندازه‌گیری وزن و طول و اعداد بدست آمده از طریق فرمول‌های تغذیه به‌وسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه آنوا (One-way Anor) و تست جداساز دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

نتایج مربوط به رشد نشان داد که پاسخ ماهیان در برابر غلظت‌های مختلف لوتئین جیره متفاوت است. براساس زیست‌سنجی‌های انجام شده در طی دوره پرورش از نظر طول اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتئین مشاهده نشد ($P > 0.05$)، اما میانگین وزن نهایی تیمارهای تغذیه شده با مقادیر بیش‌تر لوتئین با تیمار حاوی کم‌ترین دوز لوتئین در جیره اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، ضمناً تیمارهای تغذیه شده با لوتئین به طور معنی‌داری نسبت به شاهد دارای وزن و طول بیش‌تری بودند ($P < 0.05$)، (جدول ۳). تیمار شاهد، کم‌ترین افزایش وزن ($0.48 \pm 1.54/47$) و طول ($0.27 \pm 22/42$) و تیمار ۳ (لوتئین ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، بیش‌ترین افزایش وزن ($1.35 \pm 176/34$) و طول ($0.38 \pm 24/37$) را بدست آوردند.

جدول ۳: مقایسه میانگین وزن و طول کل در ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با

سطوح متفاوت رنگدانه لوتئین در انتهای دوره پرورش (میانگین \pm انحراف معیار).

تیمار	میانگین وزن کل (گرم)	میانگین طول کل (سانتی‌متر)
جیره شاهد	۱۵۴/۴۷ \pm ۰/۴۸ ^a	۲۲/۴۲ \pm ۰/۲۷ ^a
جیره حاوی لوتئین دوز ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۶۹/۹۶ \pm ۱/۵۱ ^b	۲۳/۶۳ \pm ۰/۵۱ ^b
جیره حاوی لوتئین دوز ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۷۶/۳۴ \pm ۱/۳۵ ^c	۲۴/۳۷ \pm ۰/۳۸ ^{bc}
جیره حاوی لوتئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم	۱۷۵/۹۱ \pm ۲/۴۲ ^c	۲۴/۳۷ \pm ۰/۶۰ ^{bc}

حروف غیر همسان در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

اما از نظر شاخص‌های رشد و تغذیه و بقا بجز فاکتور وضعیت (CF) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با لوتئین دیده نشد ($P > 0.05$)، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارها در تمام موارد ذکر شده بجز ضریب تبدیل غذایی (FCR) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0.05$)، (جدول ۴). بطور کل کمترین میزان FCR ($2/74 \pm 0/56$) و CF ($1/06 \pm 0/04$) و هم‌منظور بیشترین میزان BWI ($2/28 \pm 0/24$)، GR ($1/36 \pm 0/36$) و بقا ($96/33 \pm 1/52$) مربوط به تیمار ۴ حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین در جیره غذایی) بوده است.

جدول ۴: مقایسه میانگین عملکرد رشد، تغذیه و بقا در ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

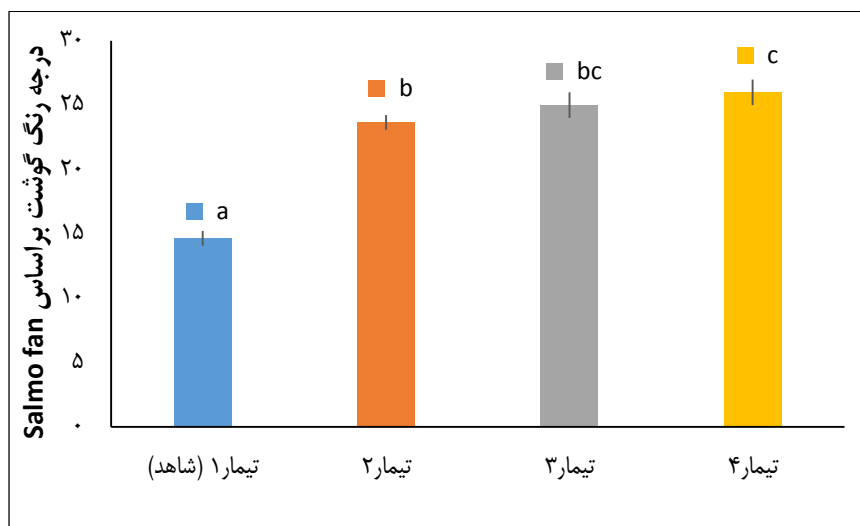
تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه لوتئین در انتهای دوره پرورش (میانگین \pm انحراف معیار).

تیمار	پارامترها	BWI (درصد)	FCR	SGR	GR	CF	بقاء (درصد)
جیره شاهد		۱۶/۶۲ ^a	۳/۲۱ ^b	۳۳/۱۲ ^a	۰/۱۱ ^a	۰/۱۰ ^c	۰/۵۷ ^a
جیره حاوی لوتئین دوز ۱۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۱۶/۰۲	۳/۱۵	۳۳/۱۲	۰/۹۱	۱/۱۶	۸۸/۳۳
جیره حاوی لوتئین دوز ۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۱/۲۹	۲/۸۶	۳۴/۸۱	۱/۳۵	۱/۱۲	۹۵/۳۳
جیره حاوی لوتئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۳/۹۶	۲/۷۵ \pm ۰/۰۵	۳۴/۳۰ \pm ۰/۲۳	۱/۳۶	۱/۱۲	۹۶/۰۰
جیره حاوی لوتئین دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم		۲۴/۱۳	۲/۷۴	۳۴/۲۱	۱/۳۶	۱/۰۶	۹۶/۳۳

حروف غیر همسان در هر ستون نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشد ($P < 0.05$).

از لحاظ رنگ‌پذیری، نتایج نشان داد ماهیانی که از رنگدانه تغذیه کردند نسبت به تیمار شاهد، دارای تغییر رنگ بیش‌تری در گوشت‌شان بودند. با توجه به نتایج بدست آمده بیش‌ترین تغییر رنگ در پایان دوره مربوط به تیمار ۴ حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم لوتئین در جیره غذایی) بود که درجه رنگین بودن آن با توجه به SalmoFanTM، 1 ± 26 بود و به ترتیب تیمار ۲ و ۳ با درجه رنگی شدن $23/66 \pm 0/57$

و 1 ± 25 در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. این درحالی است که تیمار شاهد تا پایان دوره آزمایش بدون تغییر رنگ بود و حتی به پایین‌ترین درجه رنگ SalmoFan™ ($0.57 \pm 14/66$) نیز نرسید (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میزان رنگین شدن گوشت ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه لوتئین در انتهای دوره پرورش (میانگین \pm انحراف معیار).

بحث و نتیجه‌گیری

واضح است که رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در ماهی آزاد یک نشانه طبیعی مهم از نظر زیست‌شناسی می‌باشد و بر بازارپسندی محصول نقش به‌سزایی دارد. ماهی مانند حیوانات دیگر قادر به تولید کاروتنوئیدها نیست و در شرایط طبیعی این دسته از مواد را به وسیله غذای مصرفی شامل جلبک، سخت‌پوستان و نرم‌تنان غنی از کاروتنوئیدها تأمین می‌کند. بنابراین کاروتنوئیدها در شرایط پرورشی باید به صورت مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرند (Wozniak, 1996).

میزان بقای بسیار بالا، رشد مناسب ماهیان و عدم تأثیرپذیری شاخص‌های عملکرد رشد و مصرف غذایی از جیره‌های غذایی در تحقیق حاضر، نشان داد که رنگدانه گیاهی لوتئین اثرات منفی بر روی سلامتی ماهی آزاد دریای خزر نداشته و برعکس تأثیر مثبت بروز می‌دهد. در این مطالعه بیش‌ترین و کم‌ترین میزان رشد به ترتیب در تیمار ۴ و تیمار شاهد مشاهده شد. از جمله علل احتمالی افزایش وزن می‌توان به اثر مثبت کاروتنوئیدها بر متابولیسم، تسریع هضم و جذب و افزایش بهره‌وری از مواد مغذی اشاره نمود (Tacon, 1981; Amar et al., 2001) و می‌توان نتیجه گرفت که کاروتنوئیدهای گیاهی باعث افزایش رشد در ماهیان می‌شوند که با یافته‌های Bjerkenge (۲۰۰۰)، Mehrabi و همکاران (۲۰۰۸) Harpaz و همکاران (۲۰۰۷) Buyukcapar و همکاران (۱۹۹۸) مشابهت دارد، هرچند با یافته‌های Gocer و همکاران در سال ۲۰۰۶ که عدم تأثیر کاروتنوئیدهای گیاهی بر روی رشد را گزارش نمودند، مغایرت دارد.

احتمالاً یکی از مهم‌ترین عوامل بهبود شرایط رشد در تحقیق حاضر، نقش مثبت این رنگدانه در بهبود شرایط ایمنی ماهیان می‌باشد. به طور کل رنگدانه‌ها بخاطر خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسب، سیستم ایمنی را تقویت کرده و باعث افزایش مقاومت می‌شوند که در نهایت موجب کاهش استرس و بقای بیش‌تر ماهیان و همین‌طور بهبود شرایط رشد می‌گردند. در تحقیق حاضر هم افزودن رنگدانه لوتئین که حاوی مقادیر بالایی از ویتامین A به عنوان آنتی‌اکسیدان می‌باشد، به جیره غذایی باعث افزایش بقا شد که با یافته‌های امانی نژاد، Bjerkenge (۱۳۸۸) و همکاران (۲۰۰۰) Torrisen و همکاران (۱۹۹۶) مشابهت دارد.

همچنین بیش‌ترین رنگ‌پذیری در تیمار ۴ دیده شد و می‌توان اظهار داشت که لوتئین به عنوان کاروتنوئیدی گیاهی به دلیل وجود ویتامین و کاروتن در خود باعث افزایش رنگدانه ذخیره شده در بافت ماهی آزاد دریای خزر می‌گردد. نتایج تحقیقات Welker و همکاران در سال ۲۰۰۱ هم به طور مشابه نشان داد که در بافت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با جیره حاوی رنگدانه لوتئین و فاقد رنگدانه آستاگزانتین، لوتئین در بافت ماهی ذخیره شد و موجب بهبود رنگ لاشه گردید. نتایج مشابهی هم در تحقیق Schiedt و همکاران (۱۹۸۶) که بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان وحشی دریاچه آلباین استرالیا انجام شده بود، گزارش گردید. در همین راستا Mehrabi و همکاران در سال ۲۰۰۸ در تحقیقی که روی رنگدانه‌های گیاهی در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان انگشت قد انجام دادند به این نتیجه رسیدند که مقدار کاروتنوئیدهای مختلف در گوشت ماهیان دارای رنگ‌های متنوعی هستند و کاروتنوئیدهای گیاهی دارای تاثیر مثبتی روی نگه‌داری رنگدانه‌ها در گوشت ماهیان می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های Foss و همکاران (۱۹۸۴)، و همکاران (۱۹۸۶) Torrisen و همکاران (۱۹۹۶)، Erdem و همکاران (۲۰۰۹)، مشابهت دارد ولی با نتایج تحقیقات زرین فر و ملایی (۱۳۸۴)، غیاثوند و شاپوری (۱۳۸۸) و مغایرت دارد که علت این اختلاف را می‌توان به منابع رنگدانه و دوزهای مختلف آن در جیره غذایی و شرایط محیطی و آزمایشی نسبت داد. البته باید توجه داشت که رنگدانه لوتئین حتی در تیمار ۴ که بیش‌ترین تغییر رنگ را نشان داد نیز تاثیر متوسطی بروز داده و میزان رنگ آن بر اساس معیار *Salmo fan* معادل 1 ± 26 بوده است. با توجه به تحقیق Buyukcapar و همکاران در سال ۲۰۰۷، آستاگزانتین رنگدانه اصلی و موثر در رنگ‌پذیری بافت آزادماهیان محسوب می‌شود. در حال حاضر نیز رنگدانه مورد استفاده در تغذیه آزادماهیان در کشور، آستاگزانتین است. اما به دلیل این‌که این رنگدانه شیمیایی است، توصیه می‌شود که استفاده از آن محدود گردد (غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۸). با توجه به تحقیق حاضر می‌توان گفت که کاروتنوئید گیاهی لوتئین باعث افزایش رشد، رنگ‌پذیری و بقای ماهی آزاد دریای خزر می‌شود و می‌تواند به عنوان جایگزینی سالم و کم هزینه بجای آستاگزانتین معرفی گردد. این تحقیق دوز موثر برای لوتئین جیره را ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اعلام می‌کند که البته با توجه شرایط مختلف پرورشی ممکن است دوزها نیز دچار تغییر گردند. لازم به ذکر است که نمی‌توان برای رنگدانه‌های گیاهی از دوزهای بالا استفاده کرد، چون این منابع دارای سلولز و ویتامین A بالایی هستند و مصرف بیش از اندازه آن‌ها باعث اختلال در تغذیه و کند یا متوقف شدن رشد می‌شوند.

منابع

- امانی نژاد، پ.، عمادی، ح. و امتیاز جو، م. و حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۸۸. بررسی اثر جلبک دونالی یا *Dunaliella salina* بر تغییرات شاخص‌های ایمنی (کمپلمان و پراکسیداز) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بیولوژی دریا، سال اول، شماره چهارم، صفحات ۳-۲۱.
- غیاثوند، ز. و شاپوری، م.، ۱۳۸۸. تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن‌ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus sp.*). مجله بیولوژی دریا، سال اول، شماره اول، صفحات ۷۸-۸۵.
- زرین فر، م. و ملایی، ز.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات آستاگزانتین بر روی رشد و کیفیت ظاهری قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه کارشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان.
- مهرابی، ی.، ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی گل درخت میخک بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۴۰.
- وثوقی، غ و مستجیر، ب.، ۱۳۷۹. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۱۳۸-۱۳۷.

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H. and Zhang, L., 2006. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, 260: 255-263.

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

- Ando, S., Tekeyama, T. and Hatano, M., 1986.** Isolation and characterization of a carotenoid carrying lipoprotein in the serum of chum salmon (*Oncorhynchus Keta*) during spawning migration. *Agricultural and Biological chemistry*, 50:907-914.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen-Jensen, S., 2000.** Response to carotenoids by rainbow trout in the sea: resorption and metabolism of dietary astaxanthin and canthaxanthin. *Aquaculture*, 91: 153-162.
- Bjerkeng, B., Storebakken, T. and Liaaen, 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 mikiss*) with carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*) and red pepper (*Capsicum annum*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(1): 7-12.
- Carter, C. G., Houlihan, D. F., Buchanan, B. I. and Mitchell, A., 1994.** Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon (*Salmo salar*) L., fed a diet containing supplementary enzymes. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 37- 46.
- Foss, P., Storebakken, T., Austreng, E. and Liaaen-Jensen, S., 1987.** Carotenoids in diets for salmonids V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with Astaxanthin source in salmonids diets. *Aquaculture*, 20: 23-134.
- Erdem, M. E., Yesilayer, N. and Kaba, N., 2009.** Effects of Organic and Synthetic Carotenoids on the Sensory Quality and Chemical Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, (1): 33-38.
- Gocer, M., Yanar, M., Kumlu, M. and Yanar, Y., 2006.** The effects of red pepper, Marigold flower, and Synthetic Astaxanehin on pigmentation, growth, and proximate composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30: 359-365.
- Goodwin, T. W., 1984.** The biochemistry of carotenoids. 2nd edition, Chapman and Hall, London, PP.64-96.
- Gouveia, L., Gomes, E. and Empis, J., 1997.** Use of *Chlorella vulgaris* in diets for rainbow trout to enhance pigmentation of muscle. *Journal of Applied Aquaculture*, 7: 61-70.
- Harpaz, S., Rise, M., Arad (Malis), S. and Gur, N., 1998.** The effect of three carotenoid sources on growth and pigmentation of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition*, 1998; 4: 201-208.
- Hung, S. S. O., Lutes, P. B. and Storebakken, T., 1989.** Growth and feed efficiency of whitesturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub yearling at different feeding rates. *Aquaculture*, volume 80, pp. 147-153.
- Hung, S. S. O. and Lutes, P. B., 1987.** Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20. *Aquaculture*, volume, .65, pp. 307-317.
- Mehrabi, Y., Saad, C. R. B. and Alimon, A., 2008.** The effects of plant pigments on the growth and survival on rainbow trout fry until fingerling stage. *Ulusal Alabalik Sempozyumu*, 14-16 Ekim – ISPARTA, pp. 24-30.
- NRC (National Research Council), 1993.** Nutrient Requirements fish. National Academies Press, Dey 11, 1371 AP - Technology and Engineering - 114 p.
- Raymundo, A., Gouveia, L., Batista, A. P., Empis, J. and Sousa, I., 2005.** Fat mimetic capacity of *Chlorella vulgaris* biomass in oil-in-water food emulsions stabilized by pea protein. *Food Research International*, 38: 961-965.
- Ronyai, A., Peteri, A. and Radics, F., 1990.** Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. *Aquaculture, Hungrica szarwas*, volume .6, PP. 13-18.
- Sigurgisladdottir, S., Torrissen, O., Lie, Q., Thomassen, M. and Hafsteinsson, H., 1997.** Salmon quality: methods to determine the quality parameters. *Review in Fisheries Science*, 5: 233-252.
- Schiedt, K., Vecchi, M. and Glinz, E., 1986.** Astaxanthin and its metabolites in wild rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*: 83B: 9-12.
- Tacon, A. G. J., 1991.** Speculative review of possible carotenoid function in fish. *Progressive Fish-Culturist*, 43: 205-208.
- Talebi, M., Khara, H., Zoriehzahra, J., Ghobadi, Sh., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2011.** The Effects of Lutein on Growth and Blood Factors of Rainbow Trout. *International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICCEES'2011)*, Dec. 17-18, 2011 in Pattaya, Thailand.

- Talebi, M., Khara, H., Zorichzaha, J., Ghobadi, Sh., Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., 2013.** Study on Effect of Red Bell Pepper on Growth, Pigmentation and Blood Factors of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). World Journal of Zoology, 8 (1): 17-23.
- Torrissen, O. J., Hardy, R. W., Shearer, K. D., Scott, T. M. and Stone, F. E., 1996.** Effect of Dietary Lipid on Apparent Digestibility Coefficients for Canthaxanthin in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 88: 351-362.
- Vernon Carter, J., Ponce Palafox, J. T. and Pedroza Islas, R., 1994.** Bioensayo de pigmentation de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) con extractos de chile ancho (*Capsicum annum*). Archivos Latinoamericanos de Nutricion, 44: 252-255.
- Yanar, M., Kumlu, M., Celik, M., Yanar, Y. and Tekelioglu, N., 1997.** Pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with carotenoids from red pepper. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 49: 193-198.
- Yanar, Y., Büyükçapar, H., Yanar, M. and Göcer, M., 2007.** Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower and pigmentation, sensory properties and fatty acid composition on rainbow trout. Food Chemistry, Volume 100: 326-330.
- Yeum, Yeum, K. J. and Russell, R. M., 2002.** Carotenoid bioavailability and bioconversion. Annual Review of Nutrition, 22: 433-504.
- Welker, C., De Negro, P. and Sarti, M., 2001.** Green algal carotenoids and yellow pigmentation of rainbow trout fish. Aquaculture International, 9: 87-93.
- Wozniak, M., 1996.** The Role of Carotenoids in Fish. Protectio Aquarum Et Piscatoria, 22: 65-75.