

تاثیر رنگدانه های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آنها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus* sp.)

زهرا غیاثوند (عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر)

مریم شاپوری (عضو هیأت علمی و باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سوادکوه)

چکیده

در این تحقیق تاثیر استفاده از رنگدانه های موجود در مواد گیاهی همچون فلفل دلمه قرمز (*Capsicum annum*) ، گوجه (*Solanum lycopersicum*) و هویج (*Daucus carota*) که دارای بتاکاروتن طبیعی بوده و رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین بر روی ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus* sp., Agassiz, 1831) مورد مطالعه قرار گرفت. ماهیان با مواد غذایی حاوی ترکیبات فوق به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. میزان کارتنوئید موجود در ماهیان توسط آزمایشات طیف سنجی مورد بررسی قرار گرفت. در پایان آزمایش تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی رنگدانه شیمیایی آستاگزانتین درصد بیشتر تجمع رنگدانه در بافت خود را نشان داده ولی تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی رنگدانه طبیعی نیز تجمع رنگدانه در پوستشان دیده شده که دارای مقادیر کمتری بود.

لغات کلیدی : سیچلاید ، رنگدانه ، آستاگزانتین ، رنگدانه بتاکاروتن طبیعی ، ماهی اسکار

مقدمه:

یکی از مهمترین جذابیت‌های بصری موجودات دریایی میزان زیبایی رنگی آنهاست. منبع رنگی آنها از غذای و محیط زیست اطرافشان ناشی می‌شود. این ماهیان می‌بایستی از غذاهایی تغذیه شوند که رنگ مورد نظر مطلوب را در آنها ایجاد نمایند (Kop, 2007). اما برخی از تولید کنندگان ماهیان زینتی از هورمون و رنگهای مصنوعی جهت جذب مشتری بیشتر استفاده می‌کنند که با اینکار درصد سود بیشتری را عاید خود کرده و ماهیان آنها روشن و براق می‌باشند. با این وجود رنگ ایجاد شده با چنین اعمالی تداوم و ماندگاری زیادی نداشته و پس از مدتی کم رنگ می‌شود (Kop, 2007). ماهیان سیچلاید که مورد مطالعه قرار گرفت یکی از ماهیان عمومی و مورد پسند آکواریوم داران است. پوست ماهیان سیچلاید دارای ترکیب رنگی گوناگون می‌باشد.

رنگ ماهیان عمدتاً بدلیل حضور کروماتوفور که محتوی رنگدانه است بوده که معمولاً بر روی پوست حضور دارند. چهار گروه رنگدانه اصلی مسؤول ایجاد رنگ در بافت و پوست حیوانات و گیاهان می‌باشند که عبارتند از: ملانین، پورین، پریديوم و کارتنوئید. کارتنوئیدها که براحتی در چربی حل می‌شوند دامنه رنگی زرد تا قرمز را در پوست ایجاد می‌نماید. همچنین مسؤول رنگهای نارنجی و سبز در تخم، پوست و گوشت ماهیان می‌باشد (Fuji, 1969). کارتنوئیدها که بطور عمده توسط گیاهان و فیتوپلانکتونها تولید می‌شوند به دو گروه کارتن و زانتوفیل تقسیم بندی می‌شوند. اگرچه بیش از ۶۰۰ نوع کارتنوئید در طبیعت یافت شده است اما تعداد کمی از آنها به عنوان ماده افزودنی در غذای جانوران، داروها، مواد آرایشی و رنگ غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bricaud et al. 1998; Ong and Tee 1992).

استفاده از ترکیبات غذایی گیاهی بعنوان منبع تولید رنگدانه کاربرد دارد و امروزه تحقیقاتی بر روی پتانسیل بکارگیری این مواد در حال انجام است (Gouveia et al. 1997; Raymundo et al. 2005). اما استفاده از منابع رنگدانه مصنوعی رایجتر بوده که علت آن راحتی بدست آوردن آن می‌باشد که البته دارای قیمت بالایی در بسیاری از کشورها می‌باشند که هزینه بالای آن سبب شده تا آکواریوم داران تمایل چندانی به استفاده نداشته باشند (Sales and Janssens 2003).

مطالعات چندانی درباره تأثیر رنگدانه های مصنوعی (Synthetic) و طبیعی بر روی ماهیان سیچلاید صورت پذیرفته است. بنابراین این تحقیق برای مقایسه میان رنگدانه مصنوعی بتاکارتن و رنگدانه های طبیعی موجود در موادی همچون فلفل دلمه ای قرمز ، گوجه فرنگی و هویج انجام شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۴۵ ماهی اسکار آلبینو (*Astronotus ocellatus sp.*, Agassiz, 1831) استفاده شد. این ماهیان دارای میانگین وزنی ۲۰ گرم و میانگین طول ۷ سانتیمتر داشتند. ماهیان انتخاب شده دارای بدن سفید رنگ با یک یا دو لکه کوچک قرمز در نزدیک ساقه دمی خود بودند. جنسیت این ماهیان در این تحقیق در نظر گرفته نشد.

بطور کلی موادی که در این آزمایش مورد استفاده قرار می گیرند عبارتند از : پمپ هوا به تعداد دو عدد یکی با توان ۴۵ وات با ۶ خروجی و دیگری ۴۰ وات با خروجی که عمل اکسیژن دهی به آکواریومها در آن صورت می پذیرفت. آکواریوم که ابعاد آنها به طول ۸۰ و عرض ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتیمتر بوده که به اندازه ۸۰ لیتر از آب پر می شود. جهت انجام هر آزمایش با سه تکرار به تعداد ۹ آکواریوم مورد استفاده قرار گرفت. قفسه بندی در دو طبقه که بر روی هر طبقه ۲ عدد آکواریوم قرار داده شده بود. دماسنج : یک دماسنج بر روی دیوار اتاق نصب شده بود که دمای محیط کارگاه را به ما نشان می داد. تعدادی دماسنج نیز بر روی هر آکواریوم که دمای آب را اعلام می نمود. قرنطینه به تعداد ۳ آکواریوم با ابعاد ۵۰ (طول) × ۳۰ (عرض) × ۴۰ (ارتفاع) جهت انجام امور مربوط به قرنطینه و درمانگاه . فیلترهای مخصوص به تعداد آکواریوم ها که در داخل هر یک قرار داشته و عمل فیلتراسیون و هوادهی را در طول مدت آزمایش انجام می دادند. دستگاه Heater برای هر آکواریوم جهت کنترل و ثابت نگهداشتن دما در طول مدت آزمایش. شلنگ و اتصالات مربوط به سیستم هوادهی . غذا شامل دل مرغ ، پور خشک هویج ، فلفل دلمه قرمز و گوجه فرنگی. داروهای بهداشتی و ضد عفونی. ماهی اسکار آلبینو به تعداد ۴۵ عدد.

در این آزمایش ماهیان به تعداد ۵ عدد در هر آکواریوم و با ۳ رژیم غذایی که دارای رنگدانه متفاوت بوده مورد تغذیه قرار خواهند گرفت. این تیمارها عبارتند از: دارای رنگدانه طبیعی و گیاهی ، مصنوعی و آزمایش شاهد که فاقد مواد رنگدانه ای اضافه می باشد. قبل از وارد کردن ماهیان نسبت به بیومتری آنها اقدام خواهد شد.

برای تهیه غذای پایه از ترکیب دل مرغ چرخ شده همراه با پودر همبند برای ایجاد حالت چسبندگی و تهیه پلت استفاده خواهد شد. برای تولید غذای تیمار طبیعی پودر خشک شده هویج، فلفل دلمه قرمز و گوجه را با غذای پایه مخلوط و چرخ کرده و پس از منجمد نمودن از آن استفاده می نماییم. برای تولید غذای تیمار مصنوعی پودر شیمیایی آستاگزانتین به میزان ۱۰۰ میلیگرم در کیلوگرم را به غذای پایه اضافه و چرخ کرده و پس از منجمد نمودن از آن استفاده می شود. برای تولید غذای شاهد نیز از غذای پایه منجمد شده بدون افزودن مواد رنگدانه ای استفاده می گردد.

بیومتری ماهیان قبل از شروع آزمایش و در طول دوره نیز هر ۱۵ روز یکبار انجام گرفت. غذادهی بصورت روزانه در دو وعده در ساعات ۱۰ و ۱۷ و غذادهی اولیه بر حسب ۳ تا ۴ درصد وزن توده زنده صورت پذیرفت. به تدریج با بررسی وضعیت آکواریومها و میزان غذای خورده شده و خورده نشده عمل غذادهی در حد سیری صورت گرفت. جهت جلوگیری از تولید بیماری و آلودگی ها نسبت به سیفون کردن اقدام شد که اینکار هر روز یکبار صورت گرفت. برای جلوگیری از بروز بیماریهای قارچی و انگلی معمولا هر دوهفته یکبار از داروهای ضد قارچی و ضدباکتری استفاده شد. دمای آب در کلیه آکواریومها بصورت روزانه اندازه گیری اما مقدار pH بصورت دو روز در میان محاسبه گشت. میانگین دما در طول دوره ۲۸,۵ درجه سانتیگراد و مقدار pH برابر با ۷,۸ اندازه گیری شد. در پایان آزمایش برای تعیین میزان رنگدانه موجود در بافت از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (Choubert and Storebakken, 1989).

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزارهای SPSS انجام گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها پس از ارزیابی نرمالیتی داده ها از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) ارزیابی گشت.

نتایج

نواحی رنگی در کلیه تیمارها تقریباً مشابه بود. بطوریکه ابتدا لکه های بخش ساقه دمی و سپس بخش سینه ای و شکمی رنگ بیشتری از خود نشان دادند.

آنالیزهای اسپکتوفتومتری برای مشاهده تغییرات رنگ پوست ماهیانی که با رنگدانه های مختلف تغذیه شده بودند صورت پذیرفت که نتایج آن در جدول زیر بیان می گردد.

تیمارهای آزمایش	میانگین میزان رنگدانه کل بر حسب میلیگرم بر گرم
تیمار آستاگزانتین	۰,۴۳ mg/g
تیمار رنگدانه طبیعی	۰,۳۵ mg/g
تیمار شاهد	۰,۰۹ mg/g

در ابتدای این تحقیق مقدار میانگین رنگدانه اندازه گیری شده در پوست ماهیان مورد نظر برابر با ۰,۰۷ میلیگرم بر گرم محاسبه شد. در این مطالعه تغییرات رنگ دقیقاً در مناطق مشابه بدنی در کلیه گروههای ماهیان دیده شد. هرچند که ماهیان تغذیه شده با ترکیبات حاوی آستاگزانتین دارای رنگ قرمز روشن تر و با مقدار تجمع بافتی ۰,۴۳ mg/g بودند ($p < 0,05$). همانطور که از جدول مشاهده می گردد مقادیر رنگدانه اندازه گیری شده برای تیمارهای تغذیه شده با ترکیبات حاوی رنگدانه طبیعی و فاقد رنگدانه به ترتیب کمتر از تیمار اول می باشد.

لازم بذکر است که ماهیان تغذیه شده با تیمار حاوی رنگدانه های طبیعی از رشد کمتری نسبت به سایر تیمارها برخوردار بودند.

بحث و نتیجه گیری

امروزه نقش مثبت کارتنوئیدها به عنوان عامل واسطه ای در متابولیسم ماهیان شناخته شده است (Segner et al.1989). نوع رنگ ماهیان بوسیله سیستمهای عصبی آندوکرینی کنترل شده اما منابع غذایی رنگدانه ها نیز نقش مهمی در تعیین رنگ ایفا می کنند. تاثیر منابع کارتنوئیدی از دیدگاه رنگدانه و ایجاد رنگ

مختص هر گونه می باشد. بعلاوه تمام گونه های ماهیان راهای مشابه سوخت و ساز رنگدانه ای نداشته و بنابراین نمی توان یک روش انتقال کلی و سراسری کارتنوئیدها را در بافت ماهیان در نظر گرفت (Chatzifotis et al. 2004).

همانطور که مشاهده شد مواد رنگدانه دار مصنوعی دارای تجمع بیشتر در بافتها بوده بطوریکه مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق که اثرات ماده آستاگزانتین مشهود می باشد. جذب و تجمع آستاگزانتین در ماهیان بیشتر از سایر کارتنوئیدهاست (Torrison. 1989). گذشته از این بتاکاروتن در مقایسه با دوره مشابه زمانی استفاده از آستاگزانتین اثر جذبی کمتری دارد. همچنین مشاهده شده است که تغذیه ماهیان با غذای حاوی آستاگزانتین دارای خواص رنگدانه ای بهتری نسبت به سایر گروهها بوده و ایجاد رنگ قرمز می نماید. اما کاربرد بتاکاروتن تولید رنگ قرمز مایل به صورتی می کند.

بعنوان نتیجه گیری می توان گفت تیمارهای تغذیه شده با مواد حاوی آستاگزانتین رنگین تر از تیمارهای تغذیه شده با مواد دارای رنگدانه طبیعی بودند. به نظر می رسد که برای رسیدن به نتایج مطلوبتر یا میزان مواد گیاهی جیره می بایستی افزایش یابد و یا مدت زمان تغذیه بیشتر باشد.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق می توان گفت که ماهیان اسکار به اثرات رنگ پذیری حاصل از مواد مصنوعی و طبیعی رنگدانه دار پاسخ می دهند. این تفاوتهای ناشی از میزان شدت رنگ ایجاد شده توسط دو گروه فوق را می توان ناشی از کیفیت ، مقدار و دوره جذب این مواد دانست.

آستاگزانتین بطور موثری بر رنگ پوست ماهی سیم قرمز و سرخو استرالیایی موثر واقع شده است (Lorenz, 1988; Booth et al, 2004). همچنین در ماهی سیم طلایی رنگدانه های آستاگزانتین ، کانتازانتین و یا رنگدانه های حاصل از مواد طبیعی جذب شده است.

اگرچه ترکیبات آستاگزانتین به عنوان مواد رنگدانه ای مصنوعی دارای اثرات سرطانزایی شناخته شده نمی باشند و بکارگیری آنها در بسیاری از کشورها مجاز می باشد ولی تحقیقات زیادی درخصوص استفاده از سایر رنگدانه های جایگزین با منبع طبیعی صورت می پذیرد که علت آنرا می توان در قیمت بسیار بالای این مواد در مقایسه با ترکیبات گیاهی و طبیعی (بین ۴۰ تا ۶۰ درصد) و همچنین اثرات بهداشتی شناخته شده آنها دانست. از مواد گیاهی رنگدانه دار بعنوان یک جانشین مناسب نام برده می شود زیرا این مواد هم دارای اثرات تغذیه ای (مقادیر پروتئین ۲۸ تا ۳۹ درصد ، کربوهیدرات ۴۰ تا ۵۷ درصد و چربی کل ۹ تا ۱۴ درصد) و هم رنگدانه ای می باشند.

مواد گیاهی همچون فلفل دلمه قرمز ، گوجه و هویج که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند شامل رنگدانه از نوع کاروتن طبیعی بوده و مشاهده شد که ترکیبات فوق موجب ایجاد رنگ چشمگیر در پوست ماهیان اسکار شد. هرچند که نسبت دقیق ترکیب مواد غذایی گیاهی به عنوان منابع رنگدانه ای و اثر آنها بر روی گونه های مختلف ماهیان ، اندازه ، تنوع رنگی و مدت زمان تغذیه بعنوان موضوعات جالب توجه جهت سایر کارهای تحقیقاتی مدنظر قرار گیرد.

**The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the Albino Oscar
(*Astronotus ocellatus* sp., Agassiz, 1831)**

2006

Zahra Ghiasvand¹, *Maryam Shapouri²

1- Department of fishery of Islamic Azad University (Azadshahr Branch), Iran

2- Department of fishery of Islamic Azad University and member of young researchers club (Savadkooh Branch), Iran

Abstract :

Abstract In this study, we have investigated the effects of mix of Tomato (*Solanum lycopersicum*) & Carrot (*Daucus carota*) and red Bell pepper (*Capsicum annuum*) as a natural pigment source and astaxanthin as synthetic pigment sources on the skin colour of cichlid fish (*Astronotus ocellatus* sp., Agassiz, 1831), which are generally white with red patches in the dorsal skin. The fish were fed diets containing 100 mg kg⁻¹ astaxanthin and natural pigment. The amount of both natural and synthetic pigment sources given as feed was 100 mg kg⁻¹, and the experiment was continued for 60 days. Total carotenoid content of the fish was determined spectrophotometrically at the end of the experiment. As a result, while a visible change of colour in the skin of the fish fed on the feed containing astaxanthin was observed with 0.43 ± 0.2 mg g⁻¹ of pigment accumulation, a relatively change of colour was observed in the skin of other fish that were fed on the feed containing powder of Tomato & Carrot and red Bell pepper with 0.35 ± 0.2 mg g⁻¹ of pigment accumulations, respectively. Therefore, it was determined that these pigment sources have an effect on the colour of cichlid fish.

Keywords: *Pigments, Astronotus sp. Natural pigment, Astaxanthin*

منابع

1. Booth M, Warner-Smith R, Allan G, Glencross B (2004) Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch and Schneider, 1801). *Aquac Res* 35:458–464
2. Bricaud A, Morel A, Babin M, Allali K, Claustre H (1998) Variations of light absorption by suspended particles with chlorophyll a concentration in oceanic (case 1) waters: analysis and implications for biooptical models. *J Geophys Res* 103(C13):31033–31044
3. Chatzifotis S, Pavlidis M, Donate Jimeno C, Vardanis P, Divanach P (2004) The effect of carotenoid sources on skin coloration of red Porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture Europe Conference, Biotechnology for Quality, Barcelona, Spain*
4. Choubert G, Storebakken T (1989) Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoids concentrations. *Aquaculture* 81:69–77
5. Fuji R (1969) Chromatophores and pigments. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology. Reproduction and growth. Bio luminescence, pigments and poisons*, vol 111. Academic Press, New York, pp 301–353
6. Gouveia L, Gomes E, Empis J (1997) Use of *Chlorella vulgaris* in diets for rainbow trout to enhance pigmentation of muscle. *J Appl Aqua-Cult* 7:61–70
7. Kop A, Durmaz Y (2007). The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlosoma severum* sp.). *Springer Science*: 117-122
8. Lorenz TR (1998) A review of astaxanthin as a carotenoid and vitamin source for sea bream, vol 052. *Naturerose Technical Bulletin, Cyanotechnology, Hawaii, USA*
9. Ong ASH, Tee ES (1992) Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Meth Enzymol* 213:142–167
10. Raymundo A, Gouveida L, Batista AP, Empis J, Sousa I (2005) Fat mimetic capacity of *Chlorella vulgaris* biomasses in oil-in-water food emulsions stabilized by pea protein. *Food Res Int* 38:961–965
11. Sales J, Janssens PX (2003) Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquat Living Resour* 16:533–540
12. Segner H, Arend P, Von Poeppinghaussen K, Schmidt H (1989) The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture* 79:381–390
13. Torrisen OJ, Hardy RW, Shearer KD (1989) Pigmentation of salmonids-carotenoid deposition and metabolism. *CRC Crit Rev Aquat Sci* 1:209–225