بررسی اثر جلبک دونالی‌یلا (*Dunaliella salina*) بر تغییرات رنگ پوست در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **حسین عمادی:** دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران خیابان شهید فلاحی، پلاک ۱٤
- **پریسا امانی‌نژاد*:** دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران خیابان شهید فلاحی، پلاک ۱٤
- **مژگان امتیازجو:** دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران خیابان شهید فلاحی، پلاک ۱٤
- **همایون حسین‌زاده صحافی:** موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۱٦٦۱-۱٤۱٥٥

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۸۹

چکیده

هدف از این تحقیق، تعیین میزان غلظت بتاکاروتن و تاثیر جلبک دونالی‌یلا (*Dunaliella salina*) بر تغییرات رنگ پوست ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان می‌باشد. ماهی‌ها در ٥ تیمار با تراکم جلبک دونالی‌یلا خالص با سطوح صفر (شاهد)، ٥، ۷، ۹ و ۱۱ گرم در کیلوگرم غذا به مدت ۳ ماه تغذیه و در انتهای ماه سوم ۱۰ نمونه بطور تصادفی برداشت شد و پس از نمونه‌گیری از پوست قسمت بالای خط جانبی، حد فاصل باله پشتی و مخرجی به آزمایشگاه دانشکده شیمی انتقال یافتند و پوست ماهیان از نظر رنگ مورد سنجش اسپکتوفتومتری قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی نشاندهندهٔ تاثیر جلبک دونالی‌یلا بر رنگ پوست ماهیان قزل‌آلای V نگین کمان بود، بطوریکه غلظت رنگدانه بتاکاروتن با افزایش مقدار جلبک دونالی‌یلا و زیاد شدن وزن افزایش یافت و وزن نهایی در تیمار ٤ بطور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود و با تیمار ۱ دارای اختلاف آماری معنی داری بود ($P<0/05$). لازم بذکر است که بیشترین غلظت رنگدانه بتاکاروتن در تیمار ٤ مشاهده گردید و این نشاندهنده رابطه مستقیم بین افزایش وزن با افزایش غلظت بتاکاروتن در پوست می‌باشد. توجه به نتایج حاضر نشان می‌دهد که در بازه صفر تا ۱۱ گرم در کیلوگرم از وزن خشک جلبک، بالاترین مقدار ذخیره‌سازی بتاکاروتن در پوست، در تیمار ٤ مشاهده شد که بطور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج آزمایش نشان داد که بتاکاروتن طبیعی این جلبک باعث افزایش رنگدانه در پوست ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان می‌شود.

کلمات کلیدی: جلبک دونالی‌یلا، *Dunaliella salina*، بتاکاروتن، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

* پست الکترونیکی نویسندهٔ مسئول: parisaamaninejad@yahoo.com

مقدمه

دونالی‌یلا یک جلبک سبز تک‌سلولی دوتاژکه و بدون دیوارهٔ سلولی است که متعلق به خانواده Polyblepharidacae می‌باشد. گونه تیپیک آن *D. salina* است. این جنس اولین بار در سواحل مدیترانه فرانسه بدست آمد (۸)، که بعدها در سال ۱۹۰۵ توسط Teodoresco توصیف گردید و به نام دونال نام‌گذاری شد. وی اولین کسی بود که دریافت رنگ قرمز آبگیرهای فوق اشباع از نمک بدلیل وجود این جلبک است (۱۷). جلبک *D. salina* یکی از بهترین جنس‌های مورد مطالعه در شاخه Chlorophyta با ۲۷ گونه می‌باشد. جنس دونالی‌یلا ، جلبک سبز تک سلولی بسیار معتبر برای تولیدات اولیه در شوری بالا در محیطهای اکوسیستم‌های مختلف جهانی می‌باشد. *D. salina* از جمله جلبکهای ریز دریایی است که توانایی تولید رنگدانه را دارد و منبع غنی از رنگدانه بتاکاروتن می‌باشد (۱۷). بتاکاروتن یکی از رنگدانه‌های طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی است (۹) و بدلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی که این رنگدانه دارد، از آن در تهیه مکمل‌های غذایی و مواد دارویی استفاد می‌شود (۱۸). تغذیه با جلبک دونالی‌یلا، بدلیل وجود مقدار فراوان بتاکاروتن باعث افزایش فعالیت کمپلمان (عامل مکمل) و لیزوزیم شده و در نهایت باعث افزایش سطوح ایمنی بدن می‌شود (۲). این جلبک به علت دارا بودن پروتئین و مواد معدنی، اثر مثبت روی رشد دارد و در محیطهای مختلف جهان از اهمیت ویژه‌ای بر خوردار است (۲). جلبک دریایی دونالی‌یلا مواد غذایی ضروری مانند پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، پلی‌ساکاریدها، فیکوسیانین، ویتامین‌ها، آنتی اکسیدان E/C و مواد معدنی موثر مانند روی، آهن و سلنیوم را که برای نگه‌داری و عملکرد نرمال ایمنی ضروری هستند، دارا می‌باشد (۲). Wang و همکاران (۲۰۰۶) اثر جلبک دونالی‌یلا روی فاکتورهای رشد، درصد بقا، رنگ پوست، گوشت و همچنین توانایی آنتی اکسیدانی آنرا روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بررسی کردند و نتیجه این آزمایش نشان داد که بتاکاروتن، باعث افزایش رنگدانه در پوست و گوشت ماهی، افزایش وزن، کاهش درصد تلفات و در نهایت باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی (سوپراکسیداز و پراکسیداز) می‌شود. تاثیر پودر خشک شده این جلبک، روی رشد، عملکرد ایمنی و کاهش بیماری در میگوی ببری سیاه مورد آزمایش قرار گرفت که باعث افزایش وزن و کاهش عفونت ویروسی سندرم بیماری لکه سفید و کاهش استرس در میگو می‌شود. لاز م بذکر است که شدت رنگ در این میگو، با مقدار دونالی‌یلا موجود در جیره غذایی ارتباط مستقیم دارد. در آزمایش دیگری، در لاروهای گونه‌هایی از طوطی ماهی (*Oplegnathus punctatus* و *O. fasciotus*) که با روتیفرهای غنی شده با بتاکاروتن تغذیه شده بودند، افزایش بقای لاروی مشاهده شد (۱۶). در سالهای اخیر استفاده از دونالی‌یلا بعنوان منبع غذا یا در ترکیب با دیگرارگانیسم‌های دریایی مانند روتیفر و آرتمیا بعنوان استاندارد، در آکواریوم و مزارع تکثیر آبزیان مورد استفاده قرار گرفته و معلوم شده است که علاوه بر افزایش وزن، باعث گسترش رنگ و بالا بردن محتوای چربی در میکروارگانیسم‌های دریایی می‌شود (۲۱). در آزاد ماهی اقیانوس اطلس استفاده از جیره غذایی حاوی ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستاگزانتین به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۶ تا ۱۸ ماه، بسته به اندازه مورد دلخواه بازار، باعث تغییر رنگ گوشت و پوست شد (۱). طبق نظر Torrissen و همکاران (۱۹۹۰) این تغییر رنگ در آزاد ماهیان پرورشی با اضافه کردن ۳۵ تا ۷۵ میلی‌گرم آستاگزانتین یا کانتاگزانتین به ازای هر کیلوگرم وزن خشک غذا حاصل شد. ولی در تحقیق Nickell (۱۹۹۸) این هدف با اضافه کردن ۴۰ تا ۸۰ میلی‌گرم رنگدانه به ازای هر کیلوگرم غذا بدست آمد. با توجه به این که جلبکهای دریایی مانند دونالی‌یلا، حاوی عناصر ریز معدنی می‌باشند که در رشد آبزیان موثر است و رنگدانه بتاکاروتن که در رنگ‌پذیری گوشت و پوست آبزیان نقش دارد نیز می‌باشند، آیا این تغییر رنگ پوست می‌تواند باعث افزایش کیفیت و بازارپسندی آبزیان گردد.

مواد و روشها

مراحل این بررسی در بهمن ماه سال ۱۳۸۸ در کارگاه تکثیر و پرورش امامزاده علی واقع در ۷۵ کیلومتری شهر تهران، جاده هراز، در کنار رودخانه لار انجام پذیرفت. چهار صد و پنجاه عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از نژاد فرانسوی با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم، در پنج گروه در حوضچه‌های سیمانی با ابعاد ۳۷×۱۰×۱۹۵ سانتیمتر که به سه قسمت مساوی تقسیم شده بودند، با میزان آب ورودی ۱/۵ لیتر در ثانیه نگهداری شدند. طی دوره سازگاری و پیش از آغاز تغذیه با جیره‌های آزمایشی، ماهی‌ها به مدت ۱۴روز با غذای قزل‌آلای

GFT2 غذادهی شدند. سپس ماهی‌ها با ۵ جیره آزمایشی در ۵ تکرار در یک دورهٔ ۹۰ روزه تغذیه شدند، ماهی‌ها ۲ بار در روز (ساعت‌های ۱۰ و ۱۶) و ۷ روز هفته بطور دستی غذادهی شدند. ابتدا غلظت مناسبی از محلول نشاسته تهیه گردید و سپس جلبک *D. salina* در مقادیر صفر، ۵، ۷ و ۱۱ گرم به محلول نشاسته اضافه شد. میزان غذا برای هر تیمار روزانه محاسبه و توزین شد و بر مبنای ۱/۸درصد وزن بدن در اختیار ماهی قرار می‌گرفت. غذای مورد استفاده در این تحقیق از شرکت Skretting ایتالیا بود که ترکیبات آن در جدول ۱ ارائه شده است.

میزان جلبک خالص مورد نیاز برای هرکیلوگرم غذا در تیمارهای مشخص شده ۵، ۷، ۹ و ۱۱ گرم بود، ولی از آنجا که جلبک خشک شده مورد استفاده در این تحقیق دارای ۳۰ درصد نمک بود، لذا به هر کیلوگرم غذا بترتیب ۷ ، ۱۰/۵، ۱۲/۵و ۱۵/۵ گرم جلبک اضافه گردید. جلبک مورد نیاز این تحقیق از آزمایشگاه بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات علمی- صنعتی ایران فراهم گردید. نمونه این جلبک برای کشت از دریاچه حوض سلطان (نزدیکی شهر قم) در اردیبهشت ماه، در دمای ۴۸ درجه سانتیگراد جمع‌آوری شده و بعد از خالص‌سازی و کشت دادن در آزمایشگاه و قرار گرفتن در شرایط خاص (استرس نوری و افزایش غلظت نمک از ۱۵ درصد به ۳۰ درصد) تولید رنگدانه بتاکاروتن نمود. سپس بوسیله دستگاه سانتریفیوژ با نام تجاری Separator (مدل ۲۰۴ و MAB، - ۸۴۰۰ دور در دقیقه، ساخت سوئد) جلبک از محیط کشت جمع‌آوری گردید و پس از خشک کردن به شکل آرد جلبک با ۳۰ درصد نمک در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. آب مورد نیاز از چشمه‌ای که در بالا دست کارگاه قرار داشت، تامین شد که طی دوره آزمایش، دمای آب ۱±۱۴درجه سانتیگراد و میزان pH و اکسیژن محلول در آب بترتیب ۷/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

مراحل نمونه‌برداری این بررسی در آزمایشگاه دانشکده شیمی (تهران شمال) در بهمن ماه ۱۳۸۸ انجام پذیرفت. در این مرحله به منظور نمونه‌برداری از پوست ماهی در پایان کار (۹۰ روز) بطور تصادفی ۱۰ عدد ماهی از مخازن برداشته شد و پس از قرار دادن در داخل ورقه‌های آلومینیومی، در کیسه‌های پلی‌اتیلنی گذاشته و پس از انجماد در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد به آزمایشگاه منتقل گردیدند. بمنظور آماده‌سازی نمونه‌ها برای اسپکتروفتومتری، نمونه را از پوست قسمت بالای خط جانبی، حد فاصل باله پشتی و مخرجی جدا کرده و در آون در دمای ۲۹ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ ساعت قرار داده (۱۱) و سپس برای همگن کردن، نمونه‌ها را در ۵ میلی لیتراستون در لوله‌های سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه در چرخش ۳۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده و پس از همگن نمودن، محلول‌ها را در سل دستگاه گذاشته و میزان جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر یادداشت گردید. برای ترسیم نمودار استاندارد، مقادیر ۴/۰۹، ۳/۲۷، ۲/۰۴، ۱/۶۳ و ۰/۱۶ میلی‌گرم در گرم از ماده استاندارد بتاکاروتن در ۵ میلی‌لیتر آستون حل گردید و محلولهای استاندارد در طیف‌های ۴۰۰ تا ۴۵۰ نانومتر در سل دستگاه قرار گرفتند تا حداکثر جذب بدست آمده و نمودار استاندارد ترسیم گردید (۱۰). برای وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0/05$) از آزمون دانکن و توکی استفاده شد. داده‌ها توسط آزمون کلموگروف- اسمیرنوف نرمال شده و سپس توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی همگنی داده‌ها از آزمون لون (Leven) استفاده گردید (۲۲).

جدول ۱: تجزیه کمی غذای پایه مورد استفاده

ترکیبات	مقدار (درصد)
پروتئین خام	٤٣
چربی خام	١٢
فیبر	٢/٨
خاکستر	٦/٨
فسفر	٠/٩

نتایج

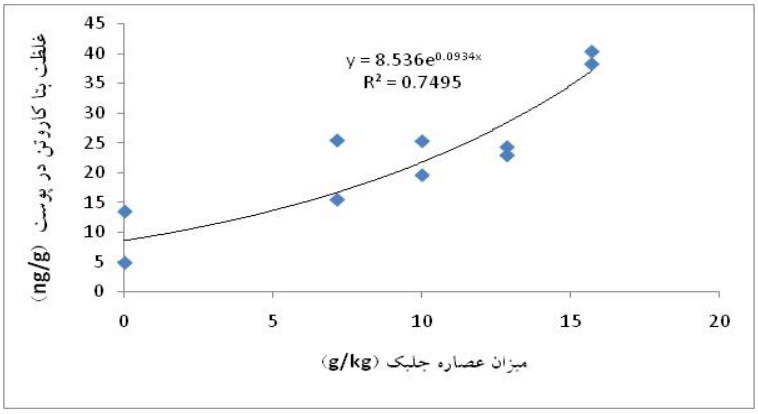
نتایج این بررسی، افزایش غلظت رنگدانه بتاکاروتن در پوست ماهی‌های تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا را نشان دادند که حاکی از تاثیر جلبک دونالی‌یلا بر رنگ پوست ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان بوده است. طبق نتایج حاصل از بررسی‌های آماری، با استفاده از رابطه رگرسیونی بین متغیرهای میزان عصاره جلبک و غلظت بتاکاروتن، مقادیر کل کاروتنوئید بدست آمده برای ماهیان تیمار شاهد، در مقایسه با سایر تیمارها بطور معنی‌داری کمتر بود ($P<0/05$, $R=0/74$) و پوست ماهی‌های تیمار ۴، در مقایسه با سایر تیمارها، دارای غلظتهای بیشتری از رنگدانه بودند. بطور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که میزان جلبک در افزایش یا کاهش رنگ تاثیر بسزایی دارد. رابطه رگرسیونی بین متغیرهای میزان عصاره جلبک و غلظت بتاکاروتن در پوست ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا در نمودار ۱ ارائه شده است.

نتایج حاصل از زیست‌سنجی (وزن و طول کل) در دورهٔ ۹۰ روز آزمایش، بصورت میانگین در جدول ۲ ارائه گردیده است. نتایج این جدول نشان می‌دهد که میانگین وزن در نمونه‌های شاهد ۱ با مقدار ۱۰۲/۶ گرم کمتر از میانگین وزن در نمونه‌های شاهد ۲ (ماهیان شاهد نمونه‌برداری شده در پایان دوره) با مقدار ۴۶۰ گرم بود. در پایان دوره، بیشترین میزان وزن در تیمار ۴ با مقدار ۵۵۰ گرم و کمترین میزان آن در تیمار ۱ با مقدار۴۵۰ گرم مشاهده شد. طبق این جدول میانگین طول در نمونه‌های شاهد ۱ (ماهیان شاهد نمونه‌برداری شده در اول دوره) با مقدار ۲۰/۳۶ سانتیمتر کمتر از میانگین طول در نمونه‌های شاهد ۲ با مقدار ۲۸/۴ سانتیمتر بود. بیشترین میزان طول در تیمار ۴ با مقدار ۳۰/۷۴ سانتیمتر و کمترین میزان آن در تیمار ۱ با مقدار ۲۹/۲ سانتیمتر دیده شد.

با توجه به داده‌های حاصل از فاکتور وزن و نتایج حاصل از آزمون دانکن، بخوبی مشخص می‌شود که با افزایش میزان جلبک در جیره غذایی، رشد ماهی‌ها به یک اندازه افزایش یافته است و اختلاف آماری معنی‌داری در تیمارها و ماهیان گروه شاهد ۲ دیده نشد ($P<0/05$). وزن ماهی‌ها در تمامی تیمارها افزایش یافته است. بیشترین افزایش وزن در تیمار ۴ و پس از آن در تیمار ۳ مشاهده شد.

نتایج حاصل از فاکتور طول و آزمون دانکن نشاندهندهٔ این است که طول ماهی‌های تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا در مقایسه با گروه شاهد ۲ بطور معنی‌داری افزایش یافته است. بطوریکه بیشترین میزان افزایش در تیمار ۳ و ۴ مشاهده گردید ($P>0/05$). از نکات قابل توجه این است که از نظر میزان غذای مصرفی بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت ($P<0/05$) و با افزایش مقدار جلبک در جیره غذایی طول ماهی‌ها افزایش یافت.

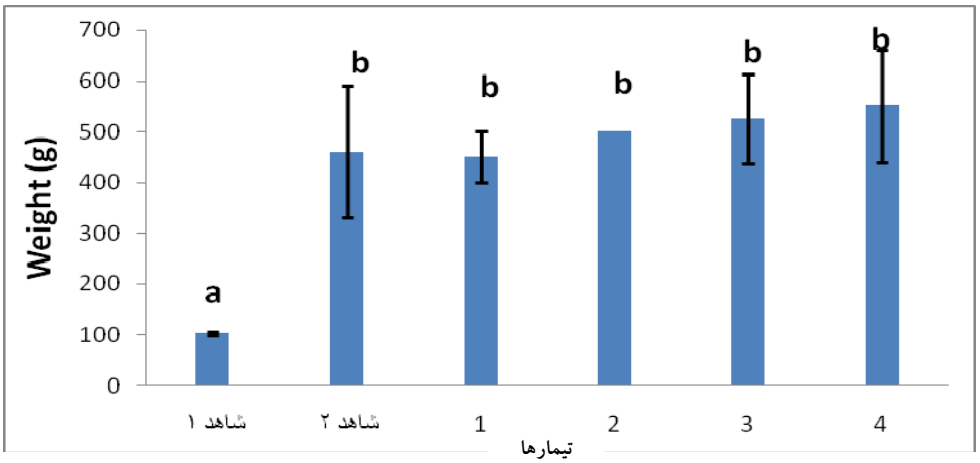
نتایج حاصل از بررسی شاخص ضریب وضعیت نشان می‌دهد که رشد ماهی در تمامی تیمارها به یک اندازه افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی‌شود ($P<0/05$).



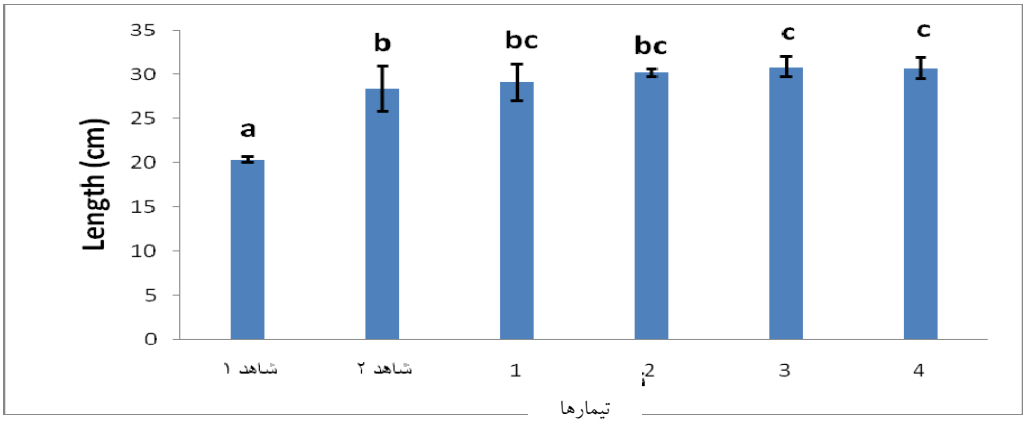
نمودار ۱: رابطه رگرسیونی بین متغیرهای میزان عصاره جلبک و غلظت بتاکاروتن در پوست ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا

جدول ۳ : میانگین تغییرات وزن و طول و شاخص وضعیت در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا از زمان شروع و سه ماه پس از پرورش

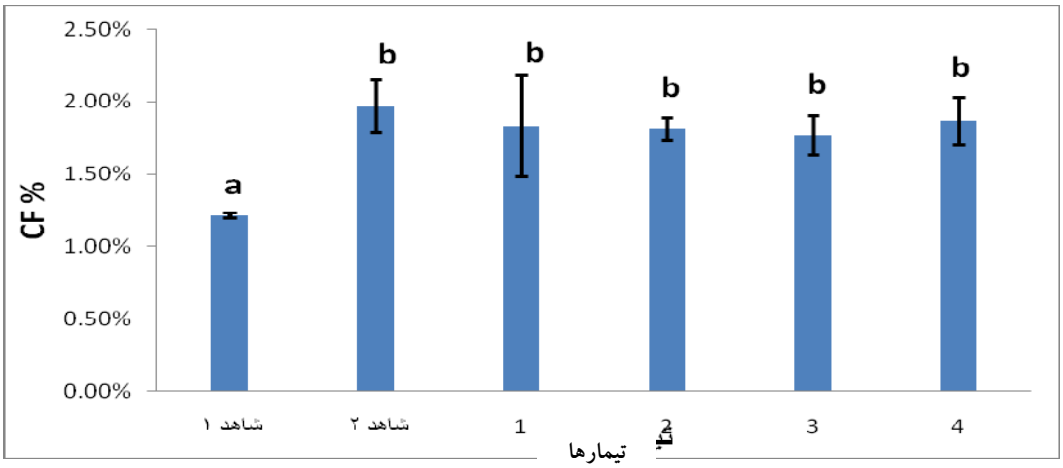
زمان	نمونه‌ها	میانگین		میانگین
		وزن (گرم)	طول (سانتیمتر)	شاخص وضعیت (درصد)
شروع آزمایش	شاهد ۱	۱۰۲/٦	۲۰/۳٦	۱/۲۲
۳ ماه بعد	شاهد ۲	٤٦۰	۲۸/٤	۱/۹۷
	تیمار۱	٤٥۰	۲۹/۲	۱/۸۳
	تیمار۲	٥۰۰	۳۰ /۲	۱/۸۲
	تیمار۳	٥۲٦	۳۰ /۹	۱/۷۷
	تیمار٤	٥٥۰	۳۰/۷٤	۱/۸۷



نمودار ۲: مقایسه میانگین وزن و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا



نمودار ۳: مقایسه میانگین طول وانحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد تیمارهای آزمایشی ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا



نمودار ٤: مقایسه میانگین ضریب وضعیت و انحراف معیارهای مربوطه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای آزمایشی در ماهی قزل‌آلای تغذیه شده با جلبک دونالی یلا

بحث

نتایج حاصل از بررسی غلظت رنگدانه بتاکاروتن در پوست ماهی‌های تغذیه شده با جلبک دونالی‌یلا ، نشان دادند که مقادیر کلی کاروتنوئید بدست آمده، در تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل بیشتر بود و در پوست ماهی‌های تیمار ۴ غلظت بیشتری از رنگدانه بتاکاروتن دیده شد، که این موضوع نشاندهندهٔ افزایش معنی‌داری ($P>0.05$) غلظت بتاکاروتن در پوست ماهی‌هایی است که با مکمل غذایی کاروتنوئیدی تغذیه شده‌اند، بطوریکه با افزایش مقدار جلبک، افزایش غلظت رنگدانه بتاکاروتن در پوست ماهی‌ها مشاهده شد.

رنگدانه بتاکاروتن یکی از رنگدانه‌های طبیعی است که قابلیت تجمع و رنگ‌پذیری در پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را دارد. بتاکاروتن پیش‌ساز ویتامین A است و قادر به ذخیره‌سازی ویتامین A در پوست ماهی می‌باشد. از طرف دیگر کبد از طریق ذخیره‌سازی موقت بتاکاروتن بعنوان یک اندام متابولیک عمل می‌نماید (۲۲) و اثرات آن در حفاظت از کاروتنوئیدها از طریق اندازه‌گیری میزان بتاکاروتن و قابلیت استفاده از آن مشخص می‌شود (۱۵). سایر رنگدانه‌های کاروتنوئیدی بویژه آستاگزانتین، قابلیت تجمع بیشتری در بافت ماهی داشته و در نتیجه رنگ بیشتری ایجاد می‌کند (۱۰). اختلاف در جذب این دو کاروتنوئید در ماهی قزل‌آلا ممکن است در اختلاف در جذب روده‌ای باشد (۷). جذب و ذخیره‌سازی کاروتنوئیدها، متأثر از ترکیب جیره می‌باشد، بطوریکه در قزل‌آلای رنگین کمان و دیگر آزاد ماهیان، افزایش چربی جیره، ذخیره کاروتنوئید را در گوشت و پوست افزایش می‌دهد (۲۰). کاروتنوئیدها در بافت‌ها و اندام‌های مختلفی مانند پوست، گوشت و روده تجمع می‌یابند. در ماهی چار قطبی (Arcticcharr) با نام علمی (*Salvenilus alpinus*) که با خوراک حاوی کانتاگزانیتن تغذیه شده بود، رنگدانه، بطور عمده در بافت و سپس در پوست تجمع پیدا کرد (۵). جذب کاروتنوئیدها از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت بوده و معمولاً در رودهٔ میانی و انتهایی صورت می‌گیرد (۲۰). ماهی‌ها قادر به ساخت کاروتنوئیدها نبوده و آنها را از طریق جیره غذایی جذب و در بدن متابولیزه می‌کنند (۱۳). آستاگزانتین و بتاکاروتن رایج‌ترین رنگدانه‌های کاروتنوئیدی هستند که برای ایجاد رنگ در قسمت‌های مختلف بدن ماهی استفاده می‌شوند (۲۰).

در تحقیقی که توسط Kop و Durmaz (۲۰۰۷) انجام شد، اثر آستاگزانتین، بتاکاروتن و جلبک *Porphytridium cruenfum* که حاوی بتاکاروتن بود، روی گونه‌ای از خانوادهٔ Cichilidae بررسی گردید. نتایج حاکی از آن بودند که رنگدانهٔ آستاگزانتین باعث ایجاد رنگ بیشتر (صورتی) در گوشت و

پوست این گونه شد. بعداز آن رنگدانه بتاکاروتن و کمتر از همه جلبک بکار برده شده، در ایجاد رنگ در این گونه موثر بود. اثر این جلبک روی پوست بیشتر از گوشت بود و اثر چندانی بر ایجاد رنگ در گوشت ماهی نداشت. یکی از دلائلی که می‌تواند باعث افزایش رنگ‌پذیری در گوشت ماهی شود، افزایش مقدار جلبک در جیره غذایی است یا برای مدت طولانی‌تری این جلبک در جیره غذایی مورد استفاده قرار گیرد (۱۰).

در تحقیق دیگری که توسط Appelbaum و Megeer (۱۹۹۸) انجام شد، اثر رنگدانهٔ آستاگزانتین، کانتاگزانتین، بتاکاروتن و جلبک *Hematococcus pluvialis* که حاوی آستاگزانتین بود، روی گونه‌ای از خانوادهٔ گربه ماهی آفریقایی *Clarrias gariepinus* بررسی گردید. نتایج این بررسی نشان دادند که رنگدانه آستاگزانتین باعث افزایش رنگ (صورتی) در پوست و گوشت این گونه شد، بعد از آن رنگدانه بتاکاروتن و کانتاگزانتین و کمتر از همه جلبک بکار برده شده، در ایجاد رنگ در این گونه موثر بود. میزان رنگ‌پذیری در ماهی‌های تغذیه شده با آستاگزانتین دو برابر میزان آن در ماهی‌های تغذیه شده با کانتاگزانتین، بتاکاروتن و جلبک *H. pluvialis* بود. بررسی آنها نشان داد که رنگدانه‌های کاروتنوئیدی پس از اضافه شدن به جیره غذایی در گوشت و پوست *C. garipinus* جذب و ذخیره می‌شوند. همچنین میزان رنگدانه بکار برده شده، برای رنگ‌پذیری در گوشت و پوست گربه ماهی، بیشتر از میزان رنگدانه‌ای است که برای رنگ‌پذیری در قزل‌آلا یا آزاد ماهیان استفاده می‌شود (۱۹). ذخیره‌سازی کاروتنوئیدها در پوست و گوشت گربه ماهی، با کمی تقلیل ثابت بود و این ذخیره‌سازی توسط Choubert (۱۹۸۵) در قزل‌آلای رنگین کمان نیز دیده شد. نتایج بدست آمده توسط Bjerkeng و همکاران (۱۹۹۹) مؤید این موضوع است که میزان جذب آستاگزانتین از کانتاگزانتین در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بیشتر می‌باشد.

نتایج بدست آمده در جذب و ذخیره‌سازی کاروتنوئیدها در گربه ماهی مشابه نتایجی است که در آزاد ماهیان بدست آمد. بطوریکه تأثیر بتاکاروتن و رنگ‌پذیری گوشت و پوست بیشتر از آستاگزانتین نبود (۱۳). خانواده آزاد ماهیان در مقایسه با دیگر ماهیان، توانایی بی‌نظیری در ذخیره کردن کاروتنوئیدهای موجود در جیره، در بافت ماهیچه خود دارند. آستاگزانتین و کانتاگزانتین اصلی‌ترین رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در آزاد ماهیان وحشی و پرورشی محسوب می‌شوند که همراه با غذا در اختیار آنها قرار می‌گیرد (۱۴).

میانگین مقادیر رنگدانه کاروتنوئیدی (بتاکاروتن) در عضله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با آرد جلبک *D. salina* بوسیله دستگاه اسپکترو فتومتردر مقادیر کل کاروتنوئید بدست آمده، برای ماهیان تیمار شاهد، در مقایسه با سایر تیمارها بطور معنی‌داری کمتر بود ($P<0/05$) و عضلات ماهی‌های تیمار ۴، در مقایسه با سایر تیمارها، دارای غلظت‌های بیشتری از رنگدانه بودند. بعنوان مثال، غلظت رنگدانه بتاکاروتن، در عضلات ماهی‌های تیمار ۴، در مقایسه با تیمار ۳، ۱/۴۲ برابر بود. به همین ترتیب، ماهیان تیمار ۳، در مقایسه با تیمار ۲، ۱/۳۳ برابر بیشتر بود.

نتایج این بررسی، از دو جنبه علمی و اقتصادی، قابل بررسی می‌باشد. از نظر علمی و شاخص‌های رشد، جلبک *D. salina*، همانند بسیاری از جلبکهای ریز دریایی، حاوی مواد معدنی مورد نیاز بدن می‌باشد. از اینرو، وجود آن در جیره غذایی، باعث افزایش رشد معنی‌داری در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌شود، بطوریکه داده‌های حاصل از فاکتورهای رشد، بخوبی این مطلب را به اثبات می‌رساند. جنبه اقتصادی تحقیق نیز مربوط به حضور رنگدانه کاروتنوئیدی بتاکاروتن در این جلبک دریایی می‌باشد. هر چند که، رنگدانه بتاکاروتن موجود در این جلبک، نسبت به آستاگزانتین، اثر کمتری در ایجاد رنگ در گوشت پوست ماهی دارد، ولی در این تحقیق مشخص شد که این رنگدانه نیز، قابلیت تجمع و رنگ‌پذیری در پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را دارد. بطوریکه، با افزایش مقدار جلبک و بدنبال آن افزایش مقدار رنگدانه بتاکاروتن در تیمارهای آزمایشی، افزایش غلظت رنگدانه در بافت ماهی مشاهده گردید. این از لحاظ اقتصادی بسیار حائز اهمیت است. امروزه، مصرف‌کنندگان، خواهان افزایش کیفیت و ظاهری جذاب برای محصولات دریایی می‌باشند که این رنگدانه با ایجاد رنگ در پوست، هم باعث ظاهری بازارپسند و جذاب و هم بلحاظ داشتن پروتئین و مواد معدنی، کیفیت ماهی را بالا می‌برند که این موضوع در ماهیان گرانقیمتی مانند خانواده آزاد ماهیان اهمیت دو چندان پیدا می‌کند.

تشکر و قدردانی

از تمام افرادی که در مراحل انجام این تحقیق همکاری نمودند و همچنین مدیریت محترم کارگاه تکثیر و پرورش امامزاده علی و مسئول محترم آزمایشگاه دانشکده شیمی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1-Amar, I., Aserin, A. and Garti, N., 2003. Solubilization patters of lutein esters in food grade nonionic micro emulsions. J. Agric . Food Chem. 51(16):4775-4781.

2-Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T., 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Japan. pp.527-537.

3-Appelbaum, S. and Megeer, J.S., 1997. Flash pigmentation of *Clarias gariepinus* (Burchell 1982); uptake and deposition of dietary carotenoids, Proceedings of Biology of Fishes. American Fisheries Society, San Francisco, USA. pp.209-213.

4-Bjerkeng, B., Hetlen, 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(3-u):307-309.

5-Bjerkeng, B., 2000. Carotenoid pigmentation of salmonid fishes-recent progress in advances in nutrition aculcola (L.E. Cruz -suarez , D. Riquer Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Overa–Novoa and Y.R. Civera-Cerecedo Eds.). pp.19-22.

6-Choubert, G., 1895. Effects of starvation and feeding on Canthaxanthin depletion in the muscle of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.). Aquaculture, 46:293-298.

7-Choubert, G. and Storebakken, T., 1989. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. Aquaculture, 81:69-77.

8-Dunal, F., 1838. Extrait dunmemori surles algues quicolorant enrouge certains eauxdes marais salasts mediterraneens.

9-Edge, R., McGarvey, D.J. and Truscott, T.G., 1997. The carotenoid as antioxidants. A review. Journal of Photochemistry and Photobiolog Biology, pp189 -200.

10-Kop, A. and Durmaz, Y., 2007. The effect of synthetic and natural pigments on the color of cichlid *Cichlasoma sererum* sp., Heckle 1840), Aquaculture, 16:117-122.

11-Nickell, D., 1998. Problems of pigmentation in rainbow trout. Trout News, 26:26-30.

12-Oren, A. and Dubinsky, Z., 1994. On the red coloration of saltern crystallizer ponds. II. Additional evidence for the contribution of halobacterial pigments. Int. J. Salt Lake Res., 1(2):877-890.

13-Schiedt, K., Leuenberger, M., Vecchi, M. and Glinz, E., 1985. Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, salmon, and chicken. Pure Appl. Chem., 57:685–692.

14-Sheehan, E.M., Oconnor, T.P., Sheehy, P.J.A., Buckley, D.J. and Fitzgerald, R., 1998. Stability of astaxanthin and canthaxanthin in raw and smoked Atlantic salmon during frozen storage. Food Chem. 63(3):313-317.

15-Storebakken, T. and Goswami, U., 1996. Plasma carotenoid concentration indicates the availability of dietary astaxanthin for Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 146:147–153.

16-Tachibana, K., Yagi, M., Hara, K., Mishima, T. and Suchimote, M., 1997. Effects of feeding of B-carotiene supplemented rotifers on survival and lymphocyte proliferation reaction of fish larvae Japanese parrotfish (*Oplegnathus fasciotus*) and spotted parrotfish (*Oplegnathu punctatus*): Preliminary trials. Hydrobiologia, 358:313-316.

17-Teodoresco, E.C., 1905. Organization et development du Dunaliella, nouveau genre de volvocacee-polyblepharilee. Beih z bot central b, Bd, XVIII:215-232.

18-Tim, J., Bowden, T.J., Thompson, K.D., Morgan, A.L. and Nikoskelainen, A., 2007. Seasonal variation and immune response: A fish perspective. Department of Zoology, University of Aberdeen, Scotland, UK. pp.695-70.

19-Torrissen, O.J., 1984. Pigmentation of salmonids: Effects of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate. Aquaculture, 43:185–193.

20-Torrissen, O.J., Hardy, R.W., Shearer, K.D., Scott, T.M. and Stone, E.E,. 1990. Effect of dietary canthaxanthin level and lipid level on apperent digestability coefficients for can thaxanthin in rainbow trout. Aquaculture, 88:351-362.

21-Wang, Y.J., Huchien, Y. and Hugpan, Ch., 2006. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation and antioxidant capacity of characins, (*Hyphessobry callistus*). Department of Aquaculture, National Taiwan Ocean University Keelung, Taiwan. 202P.

22-Yamashita, S. Arai and Matsuno, T., 1996. Metabolism of xanthophylls to vitamin A and new apocarotenoids in liver and skin of black bass (*Micropterus salmoides*). Comp. Biochem. Physiol. B, 113: 485–489.

23-Zar, J.H., 1999. Blostatistical Analysis. Prentic Hall. 4th Edition. New Jersey, USA. 663P.

Effects of Dunaliella algae (*Dunaliella salina*) on different color skin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

- **Hossein Emadi:** Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, # 14, Shahid Falahi Ave., Tehran, Iran
- **Parisa Amaninejad*:** Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, # 14, Shahid Falahi Ave., Tehran, Iran
- **Mozhgan Amtiyazjoo:** Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, # 14, Shahid Falahi Ave., Tehran, Iran
- **Homayon Houseinzadeh Sahafi:** Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

Received: January 2010 Accepted: June 2010

Keywords: Dunaliella microalgae, *Dunaliella salina,* Rainbow trout, β-carotene

Abstract

This study was conducted to measure density of β-carotene and the effects of Dunaliella algae on color skin changes of the rainbow trout. Rainbow trout were separated in five equal groups and were fed for three months with diets containing 0, 5, 7, 9 and 11g of pure dried Dunaliella in each kilogram of food, respectively. Skin samples were taken from 10 random collected fish, at the end of third months of culture and after sampling from high part of lateral line, between dorsal and anal fin, the samples send to the laboratory to measure skin factors. The colors of fish skin measured by spctophotometri.

Results indicated that by increasing of Dunaliella aglae and growing weight, the density of β-carotene was also increased. Treatment 4 had highest effect on growing weight of fish and had significantly difference with other treatment, especially with treatment 1 ($P<0.05$).

Results also showed that increasing skin of treatment 4 had highest reserving of β-carotene in skin, within the limits of 0 to 11 and Dunaliella aglae containing β-carotene, has favorable effects on increasing skin color of rainbow trout.

*Corresponding author's email: parisaamaninejad@yahoo.com