University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

**Aquatic Animals Nutrition**

Vol. 6, No. 2, 2020, pages: 39-48

# Effects of different levels of dietary taurine amino acid on Rosy Barb (*Pethia conchonius*) pigmentation

**Fereshteh Nejatizadegan[1], Fatemeh Paykan Heyrati[1], Salar Dorafshan*[1], Vahid Morshedi[2]**

1- Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2- Department of Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

Received 16 April 2020 Accepted 16 June 2020

**KEYWORDS**

Taurine

Fat metabolism

Pigment

Marketability

Ornamental fish

Colorimetric assay

**ABSTRACT**

Taurine (2 amino ethane sulfonic acid), is a semi-essential amino acid and an end product of the sulfur amino acid metabolism. The aim of this study was improving Rosy barb (*Pethia conchonius*) pigmentation. The fish (average weight 32 ± 7 mg and length 12.83 ± 1.82 mm) were divided into five different groups including control (basic diet without taurine and astaxanthin) and four different levels of taurine (0, 100, 250 & 500 mg/kg diet) with constant amount of astaxanthin (100 mg/kg diet) and fed for 60 days. The pigmentation analysis was done using digital camera photography and whole body biochemical carotenoid analysis and showed that the fish fed on 100 + 250 mg/kg of astaxanthin & taurine respectively had the highest levels of pigmentation. Adding taurine up to 250 (mg/kg diet) caused increasing total carcasses lipid, plasma triglyceride, cholesterol, LDL & HDL levels in compression to the fish fed on control diet ($p<0.05$). It could be concluded that dietary taurine supplementation could affect fish lipid metabolism and improve astaxanthin absorption, which lead to better pigmentation in Rosy barb.

*Corresponding author: sdorafshan@iut.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

**تغذیه آبزیان**

سال ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹، صفحات ۴۸-۳۹

"مقاله پژوهشی"

# اثرات سطوح مختلف اسیدآمینه تورین در جیره بر رنگ پذیری ماهی رزی‌بارب (*Pethia conchonius*)

**فرشته نجاتی‌زادگان[۱]، فاطمه پیکان‌حیرتی[۱]، سالار درافشان[۱*]، وحید مرشدی[۲]**

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۲۷

**چکیده**

تورین (۲ آمینو اتان سولفونیک اسید)، جزء آمینواسیدهای نیمه‌ضروری و محصول نهایی سوخت و ساز آمینواسیدهای گوگردی است. هدف از این مطالعه، بهبود رنگ‌پذیری ماهی رزی‌بارب (*Pethia conchonius*) بود. به این منظور بچه‌ماهیان (میانگین وزن اولیه ۷ ± ۳۲ میلی‌گرم و طول ۱/۸۲ ± ۱۲/۸۳ میلی‌متر) در پنج تیمار مختلف شامل گروه شاهد (جیره پایه بدون تورین و آستاگزانتین) و چهار سطح مختلف تورین شامل صفر، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) به همراه میزان ثابت آستاگزانتین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۶۰ روز مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج شاخص‌های رنگ‌پذیری پوست به روش تصویربرداری دیجیتالی و سنجش محتوای کاروتنوئید عضله نشان داد که بیشترین میزان رنگ‌پذیری در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰ + ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) به ترتیب از آستاگزانتین و تورین مشاهده شد. افزودن تورین تا سطح ۲۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) منجر به افزایش میزان چربی کل، تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL لاشه در ماهیان در مقایسه با گروه شاهد شد ($p<0/05$). به نظر می‌رسد که افزودن تورین به جیره حاوی آستاگزانتین می‌تواند سبب تاثیر بر متابولیسم چربی و درنتیجه بهبود جذب استاگزانتین جیره و شدت رنگ‌پذیری در ماهی رزی‌بارب شود.

**کلمات کلیدی**

تورین

متابولیسم چربی

رنگدانه

بازارپسندی

ماهی زینتی

رنگ‌سنجی

نویسنده مسئول: sdorafshan@iut.ac.ir

**مقدمه**

وجود رنگ مطلوب در پوست وگوشت ماهیان موجب افزایش بازارپسندی آنها شده که می‌تواند از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت باشد (Gouveia et al. 2003). در حال حاضر جهت افزایش رنگ بدن ماهیان زینتی و افزایش تقاضا برای خرید آن‌ها می‌توان از مکمل‌های غذایی حاوی کاروتنوئیدها، از جمله آستاگزانتین استفاده کرد. آستاگزانتین از طریق فرآیندهای فیزیولوژیک باعث افزایش رنگدانه در پوست یا گوشت بدن ماهی می‌شود (Li et al. 2008). با توجه به قیمت بالای آستاگزانتین به منظور افزایش جذب آن و بهبود رنگ‌پذیری ماهی استفاده از مکمل‌هایی همچون نمک صفراوی و تورین حائز اهمیت است. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تورین نقش بسیار مهمی در تولید نمک‌های صفراوی در ماهیان دارد (Maita et al. 2006). تورین به طور عمده در کبد ساخته می‌شود، هر چند که در مغز نیز تولید می‌گردد. غلظت تورین در بافت‌هایی مثل روده بزرگ، پلاسما، سلول‌های خونی، گلبول‌های سفید، عضله اسکلتی، قرنیه، مغز و قلب زیاد است. این اسیدآمینه نقش مهمی در فعالیت‌های فیزیولوژیک از جمله متابولیسم چربی‌ها، افزایش جذب رنگدانه‌ها و نمک صفراوی، فعالیت‌آنتی‌اکسیدانی، انتقال کلسیم، تکامل قرنیه، عملکردهای غدد درون‌ریز، متابولیسم نمک‌صفراوی، تنظیم‌اسمزی، تثبیت‌غشا، انقباضات عضلات قلبی و ایمنی ایفا می‌کند (Kim et al. 2008). اسید آمینه تورین در ساخت و تولید نمک‌های صفراوی که برای هضم و جذب چربی‌ها ضروری هستند نقش دارد. نمک‌های صفراوی شامل ترکیب اسیدهای صفراوی و الکل صفراوی است که هر دوی آنها از مسیرهای پیچیده کلسترولی ایجاد می‌گردند (Salze and Davis. 2015). تورین از طریق آنزیم کلسترول ۱۷- آلفا هیدروکسیلاز و تحت تأثیراکسیداسیون کلسترول موجب تحریک تولید نمک‌های صفراوی و اتصال به آنها شده (Maita et al. 2006) و نقش مهمی در هضم چربی‌ها ایفا می‌کند (Kim et al. 2008). همچنین، تورین بر آنزیم ۳- هیدروکسیل- ۳- متیل گلوتاریل- کوآنزیم آ ردوکتاز که مسئول تولید کلسترول است نیز اثر تحریک‌کنندگی دارد (Maita et al. 2006). مقدار مناسب چربی نیز می‌تواند سبب افزایش اثربخشی آستاگزانتین شود (Pozo et al. 1988). یافته‌های اخیر نشان می‌دهد تورین به عنوان ماده‌ی مغذی برای لارو و بچه‌ماهی ضروری است و گنجاندن تورین در جیره باعث کاهش وضعیت کبد سبز و همچنین بهبود عدم تخم‌ریزی مولدین ماهی دم‌زرد (*Seriola quinqueradiata*) شده است. در این گزارش ماهیان مولد با جیره‌های مولدین حاوی مکمل تورین به‌مدت سه ماه پیش از تخم‌ریزی تغذیه شده و با مولدین تغذیه شده با جیره شاهد (۴۰ درصد پودر ماهی) فاقد مکمل تورین مقایسه شدند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر کمتر از ۷۰۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم قادر به تخم‌ریزی نیستند. بنابراین، افزودن تورین به جیره‌های مولدین ضروری است. علاوه بر این تخم‌های تمامی ماهیان مورد آزمایش تقریباً میزان تورین یکسانی دارند، از این رو به نظر می‌رسد ممکن است مولدین دم زرد تورین را به‌صورت انتخابی به تخم‌ها انتقال دهند (ناکاگاوا و همکاران، ۲۰۰۷). وضعیت سندروم کبد سبز در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی میزان کم یا فاقد پودر ماهی ممکن است به دلیل شکننده شدن اریتروسیت‌ها موجب بروز همولیز و در نتیجه کمبود تورین شود. از این‌رو میزان بیلی‌وردین (رنگدانه صفرا) افزایش یافته و وجود مقادیر بیش از حد آن در کبد باعث بروز سندروم کبد سبز می‌شود. دلیل دیگر این‌که تغذیه با جیره‌های حاوی میزان کم یا فاقد پودر ماهی می‌تواند موجب افزایش آلودگی انگلی میکوسپورین در مجرای صفراوی شود و در نتیجه مجرای صفراوی بسته شده و نتواند صفرا را رها سازد، لذا به نظر می رسد تاثیر اسید آمینه تورین در جیره ماهیان پیچیده و بسته به گونه، مراحل رشد و توانایی سنتز تورین متفاوت است (ناکاگاوا و همکاران، ۲۰۰۷). تورین مورد نیاز جانداران می‌تواند از طریق غذا یا سنتز داخلی (از متیونین یا سیستئین) تأمین شود. در بدن ماهی، تورین می‌تواند از متیونین و سیستئین ساخته شود. بدین ترتیب که متیونین تبدیل به هوموسیستئین شده و این ماده تحت تأثیر آنزیم سیستاتیونین سنتتاز و دخالت اسید آمینه سرین به سیستاتیونین تبدیل می‌شود. سیستاتیونین تحت تأثیر سیستاتیونیناز به سیستئین تبدیل می‌شود. سیستئین تحت تأثیر آنزیم سیستئین دی اکسیژناز

به سیستئین سولفینات تبدیل‌شده و این ماده تحت تأثیر آنزیم سیستئین سولفینیک اسید دکربوکسیلاز به هیپوتورین و در نهایت به تورین تبدیل می‌شود (Kim et al. 2008). با توجه به مقدار زیاد تورین در بدن ماهیان، این طور استنباط می‌شود که این ماده برای آن‌ها ضروری است. همچنین، با در نظر گرفتن توانایی پایین ماهیان در تولید تورین از منابع آن (سیستئین و متیونین)، باور بر این است که ماهیان به تورین جیره وابسته هستند (Kim et al. 2008).

آستاگزانتین می‌تواند پیوندی با سایر ترکیبات مانند لیپیدها و لیپو پروتئین‌ها برقرار کند (Higuera-Ciapara. 2006). بررسی منابع نشان داد که به منظور افزایش رنگ‌پذیری بر روی ماهی پرت خونی (*Cichlasoma synspilum*♀ × *Cichlasoma citrinellum*♂) مصرف آستاگزانتین (حاوی g/kg ۴ آستاگزانتین) توأم با نمک صفراوی در مدت زمان ۳۰ روز نتیجه‌ای برابر با مصرف آستاگزانتین به صورت تنها، به مدت ۹۰ روز داشته است (مخلص‌آبادی‌فراهانی و همکاران، ۱۳۹۷). این مساله، ارتباط بین نمک‌های صفراوی با جذب آستاگزانتین در ماهی زینتی را نشان داد.

پیشرفت علمی در صنعت تکثیر و پرورش ماهیان زینتی درآمد ارزی مناسبی نصیب برخی کشورها به‌ویژه در جنوب شرق آسیا کرده است (Sirajudheen et al. 2014). یکی از این ماهیان ماهی رزی‌بارب می‌باشد. رزی‌بارب گونه‌ای همه‌چیزخوار از خانواده کپورماهیان است. این ماهیان بسیار مقاوم، سرسخت و پرتحرک هستند و در آب‌های سبک تا سخت با دمای مطلوب ۲۸-۱۸ درجه‌سانتی‌گراد و میزان pH ۸-۶ زیست می‌کنند. حداکثر رشد طولی آنها ۸-۷ سانتی‌متر است (اندازه بالغین ۸ سانتی‌متر است). ماهیان ماده چاق‌تر از نرها هستند و بدنی طلایی و یک خال سیاه خیلی مشخص نزدیک ساقه دمی دارند. خاستگاه آن‌ها جنوب آسیا، شمال هندوستان و بنگال است (Patel et al. 2019). هدف از این مطالعه بهبود جذب آستاگزانتین با استفاده از افزودن اسید آمینه تورین به جیره غذایی و بررسی میزان شاخص‌های مرتبط با متابولیسم چربی و شدت رنگ‌پذیری در ماهی زینتی رزی‌بارب به عنوان یکی از گونه‌های بازارپسند در کشور بود.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۷ و در سالن آکواریوم دانشکده منابع‌طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. در این مطالعه از ۱۸۰ قطعه بچه ماهی رزی‌بارب (۷ ± ۳۲ میلی‌گرم و ۱/۸۲ ± ۱۲/۸۳ میلی‌متر) استفاده شد. ماهیان ابتدا به مدت دو هفته با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. برای این مطالعه پنج تیمار (هر کدام در سه تکرار) و هر تکرار شامل ۱۲ قطعه ماهی شامل تیمار شاهد (جیره پایه بدون تورین و آستاگزانتین)، تیمار آستاگزانتین-تورین صفر (جیره تنها حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین (Teimouri and Keramat Amirkolaie, 2015)، تیمارهای تلفیقی آستاگزانتین-تورین (جیره ها حاوی سطح ثابت آستاگزانتین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مقادیر مختلف تورین شامل ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تنظیم شدند. جیره غذایی بیومار فرانسه سایز ۰۴ (میزان پروتئین‌خام ۵۸٪، چربی‌خام ۱۵٪، رطوبت ۱۱/۵٪ و فیبرخام ۰/۵٪ و خاکستر ۱/۶٪ بود، مطابق با اظهار شرکت سازنده)، آستاگزانتین ساخت شرکت DSM فرانسه و تورین ساخت کارخانه Sumchon کره جنوبی برای این آزمایش تهیه شد. ماهیان تحت آزمایش به مدت ۶۰ روز با جیره‌های تعیین‌شده روزانه ۳ بار (۸ صبح،۱۲ ظهر و ۴ بعدازظهر) در حد سیری (*ad libitum*) تغذیه شدند. در طول دوره آزمایش، میانگین دمای آب ۱/۸ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۵ ± ۵/۸ میلی‌گرم بر لیتر، میزان pH ۱/۷ ± ۸، هدایت للکتریکی ۳۲ ± ۴۵۳/۲ میکروزیمنس، آمونیوم ۰/۰۲ ± ۰/۲۴ میلی‌گرم بر لیتر، نیترات ۰/۰۰۱ ± ۰/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر و TDS ۵/۷ ± ۲۶۸/۳۳ میلی‌گرم بر لیتر بود. در این مطالعه از دو آکواریوم مستطیل شکل بزرگ با ابعاد ۳۰ × ۵۰ × ۱۰۵ سانتی‌متر و ۱۵ عدد سطل پلاستیکی ۵ کیلویی برای نگهداری ماهی‌های تحت تیمارهای آزمایشی استفاده شد.

**سنجش شدت رنگ‌پذیری براساس ارزیابی با دوربین دیجیتال**

در پایان دوره تغذیه تعداد چهار ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و پس از بیهوشی با پودر گل میخک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، به‌وسیله دوربین دیجیتال ساخت شرکت Olympus آمریکا با قدرت تفکیک ۶/۱ MP و با استفاده از روش Yam و همکاران (۲۰۰۳) عکس‌برداری و تصاویر به صورت ظاهری از منظر میزان رنگ ماهی بررسی شدند.

**ارزیابی بیوشیمیایی محتوای کاروتنوئید بافت عضله**

در پایان دوره آزمایش، دو قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب شدند، سپس ماهیان با محلول غلیظ پودرگل میخک بی‌هوش و بافت بدن ماهی بعد از تخلیه امعاء و احشا و هموژن شدن، درون محلول استون خالص قرار گرفت و به مدت یک شبانه‌روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها را از کاغذ صافی عبور داده و در مدت زمان ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. نهایتاً با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (V-500, Jasco, Japan) میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. محتوای کاروتنوئید نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش گردید (Boonyaratpalin et al. 2001).

$$S = \frac{A \times K \times V}{E \times G}$$

S محتوای کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم بافت عضله، A میزان جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر، K ضریب ثابت ۱۰، V حجم محلول استخراجی (استون برحسب میلی‌متر)، E ضریب اطفاء (۲۵۰۰ برای کاروتنوئید)، G (وزن نمونه) است.

در ادامه برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی از روش‌های زیر استفاده شد: جهت اندازه‌گیری چربی‌کل، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر از دستگاه اسپکتروفتومتر، مدل UV-2100 S از شرکت UNICO- کشور آمریکا، استفاده گردید. میزان چربی موجود در نمونه‌ها از رابطه زیر به دست آمد (Dien, 1986).

$$\text{میزان چربی‌کل (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بافت)} = \frac{\text{میزان جذب نوری نمونه}}{\text{میزان جذب نوری استاندارد}} \times ۷۰۰$$

میزان تری‌گلیسرید توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، مدل UV-2100 S از شرکت UNICO- کشور آمریکا با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون در طول موج ۵۱۰-۴۹۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (Dien, 1986). میزان کلسترول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، مدل UV- S 2100 از شرکت UNICO- کشور آمریکا در طول موج ۵۲۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (Dien, 1986). برای اندازه‌گیری لیپوپروتئین‌های LDL و HDL از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر، مدل UV-2100 S از شرکت UNICO- کشور آمریکا، در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده گردید (Dien, 1986).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها**

در این مطالعه برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی بود. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 25 و آزمون نرمال بودن نیز با استفاده از آزمون Kalmogorv-Smiranov Test صورت گرفت. در نهایت داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) بررسی شدند و اختلاف بین میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح خطای ۰/۰۵ صورت گرفت.

**نتایج**

**داده‌های شدت رنگ‌پذیری بر اساس ارزیابی با دوربین دیجیتال**

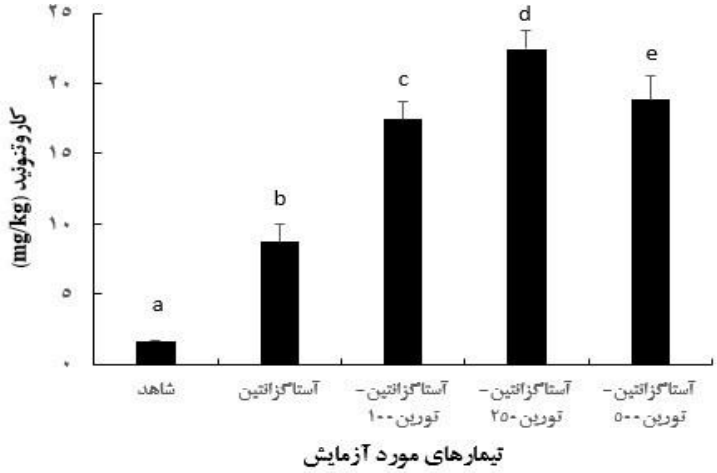
افزایش شدت رنگ‌پذیری در ماهیان تغذیه شده با تورین و استاگزانتین نسبت به گروه شاهد مشهود بود (شکل ۱). بیشترین میزان افزایش رنگ به ترتیب مربوط به تیمارهای دارای سطح ثابت استاگزانتین به همراه مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰ و صفر تورین در جیره بود (شکل ۱). به نظر می‌رسد از نظر ظاهری بهترین شدت رنگ‌پذیری در ماهیان تغذیه شده

با میزان ۱۰۰ mg/kg آستاگزانتین به همراه ۲۵۰ mg/kg
غذا از تورین وجود داشت (شکل ۱ د).

**شکل ۱ نتایج داده‌های شدت رنگ‌پذیری پوست ماهی رزی‌بارب تغذیه شده با جیره‌های مختلف آزمایشی در پایان دوره آزمایش. الف: جیره شاهد؛ ب: جیره تنها حاوی mg/kg ۱۰۰ استاگزانتین؛ ج، د و ه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی mg/kg ۱۰۰ استاگزانتین به همراه به ترتیب mg/kg ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ تورین. افزایش شدت رنگ ماهی در ماهیان گروه د مشهود است.**

**ارزیابی بیوشیمیایی محتوای کاروتنوئید بافت عضله**

میزان جذب آستاگزانتین در بافت ماهی رزی‌بارب در تیمار آستاگزانتین-تورین mg/kg ۲۵۰ جیره به صورت معناداری از تیمار شاهد و سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۲؛ $p<0/05$).

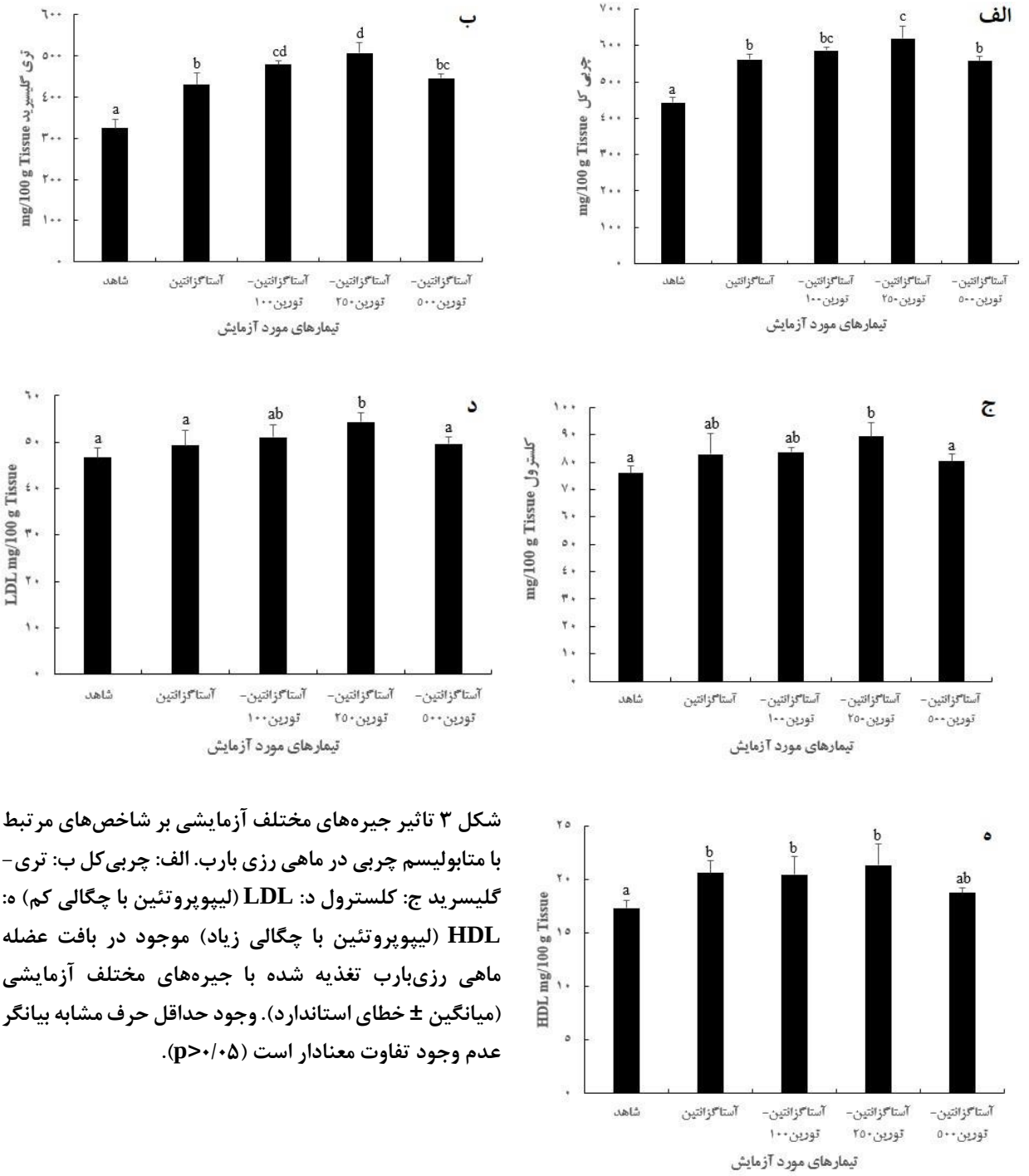



**شکل ۲ میزان کاروتنوئید موجود در بافت عضله ماهی رزی‌بارب تغذیه شده با جیره‌های مختلف آزمایشی طی ۶۰ روز به روش بیوشیمیایی. وجود حداقل حرف مشابه بیانگر عدم وجود تفاوت معنادار است ($p>0/05$).**

**ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی بافت عضله**

نتایج حاصل از چربی‌کل و تری‌گلیسرید نشان داد که تفاوت معناداری بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی وجود دارد و بیشترین میزان چربی‌کل و تری‌گلیسرید در تیمار آستاگزانتین- تورین mg/kg ۲۵۰ غذا به دست آمد و همچنین با افزایش میزان تورین از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم بر

کیلوگرم جیره میزان چربی‌کل و تری‌گلیســـرید با تفاوت معناداری نسبت به تیمار ۲۵۰ روند کاهشی را داشته است (شکل ۳- الف و ب؛ $p<۰/۰۵$).




**شکل ۳ تاثیر جیره‌های مختلف آزمایشی بر شاخص‌های مرتبط با متابولیسم چربی در ماهی رزی بارب. الف: چربی‌کل ب: تری-گلیسرید ج: کلسترول د: LDL (لیپوپروتئین با چگالی کم) ه: HDL (لیپوپروتئین با چگالی زیاد) موجود در بافت عضله ماهی رزی‌بارب تغذیه شده با جیره‌های مختلف آزمایشی (میانگین ± خطای استاندارد). وجود حداقل حرف مشابه بیانگر عدم وجود تفاوت معنادار است ($p>۰/۰۵$).**

نتـایج حاصـل از کلسـترول و LDL نشـان داد کـه تفـاوت معناداری بـین تیمـار شـاهد و تیمـار آسـتاگزانتین- تـورین

۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا وجود داشت و در خصوص افزایش میزان تورین از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم جیره میزان کلسترول و LDL با تفاوت معناداری نسبت به تیمار ۲۵۰ روند کاهشی داشت ($p<0/05$)، ولی بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای دیگر آزمایشی تفاوت معنادار نبود (شکل ۳ ج و د؛ $p>0/05$).

نتایج حاصل از HDL نشان داد که تفاوت معناداری بین تیمار شاهد و تیمار آستاگزانتین- تورین ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا وجود نداشت ($p>0/05$)، ولی بین تیمار شاهد و سه تیمار آزمایشی دیگر به غیر از تیمار آستاگزانتین- تورین ۵۰۰، تفاوت معنادار و بیشترین میزان HDL مربوط به تیمار آستاگزانتین- تورین ۲۵۰ بود ($p<0/05$). در خصوص افزایش میزان تورین از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره، میزان HDL با عدم وجود تفاوت معنادار نسبت به تیمار ۲۵۰ روند کاهشی داشت (شکل ۳، ه؛ $p>0/05$).

**بحث**

نتایج مرتبط با ارزیابی شدت رنگ‌پذیری به صورت چشمی و آنالیز بیوشیمیایی نشان داد که استفاده توأم از تورین ۲۵۰ و آستاگزانتین ۱۰۰ هر دو بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره سبب افزایش اثربخشی آستاگزانتین و افزایش رنگ‌پذیری در این تیمار شده است. در مطالعه مخلص‌آبادی فراهانی و همکاران (۱۳۹۷)، بر رنگ‌پذیری ماهی پرت خونی نتایج مقدار شاخص a (شاخص قرمزی) نشان داد که جیره حاوی آستاگزانتین توام با نمک صفراوی منجر به بهبود شاخص‌های رنگ‌پذیری در ماهی پرت در مقایسه با جیره فاقد نمک صفراوی داشته است. همچنین، بر اساس مطالعات Pozo و همکاران (۱۹۸۸) در ماهی *Xiphophorus helleri*، مقدار مناسب چربی جیره باعث افزایش جذب آستاگزانتین می‌شود. در مطالعه Sakaguchi و همکاران (۱۹۹۸) در آزاد ماهی چام (*Oncorhynchus keta*) جیره‌های حاوی صفر، ۰/۵ و ۲ درصد تورین منجر به افزایش سطح تورین در کبد و سرم خون شد. همچنین، Matsunari و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزودن تورین به جیره باعث افزایش محتوای چربی کبد در ماهی شانک (*Pagrus major*) شده است که نشان دهنده نقش تورین در متابولیسم چربی‌ها است. طبق بررسی صورت گرفته در این تحقیق مشخص شد که اسید آمینه تورین می‌تواند بر میزان رنگ‌پذیری ماهی تأثیرگذار باشد. به نظر می‌رسد تورین به عنوان یکی از آمینواسیدهای دخیل در ساخت نمک‌های صفراوی، منجر به افزایش میزان تولید آنها در کبد و در نتیجه بهبود شاخص‌های مرتبط با متابولیسم چربی جیره شده است (Salze and Davis, 2015). از طرف دیگر، تورین می‌تواند از طریق تحریک آنزیم کلسترول ۱۷- آلفا هیدروکسیلاز و تحت تأثیر اکسیداسیون کلسترول نیز موجب تحریک تولید نمک‌های صفراوی شود (Maita et al. 2006)، در نهایت نباید نقش تورین در هضم چربی‌ها با اتصال به نمک‌های صفراوی را نادیده گرفت (Kim et al. 2008). تمامی این موارد به همراه این واقعیت که میزان مناسب چربی در جیره و هضم و جذب آن متاثر از نمک‌های صفراوی می‌تواند به جذب موثرتر آستاگزانتین، کمک نماید و سبب افزایش اثربخشی آستاگزانتین شود (Pozo et al. 1988). در مطالعه حاضر افزایش میزان تورین جیره از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره باعث کاهش شاخص‌های چربی شامل چربی کل، تری-گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL شده است. در واقع افزایش تورین جیره از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره شاید منجر به باعث کاهش غذاگیری و گرسنگی ماهیان گردد. کاهش غذاگیری ماهیان و وقوع گرسنگی منجر به تحریک استفاده از ذخایر بدن به جهت تأمین انرژی می‌شود که در این فرآیند، چربی‌ها زودتر از پروتئین‌ها به مصرف می‌رسند (Yan et al. 2007; Hosseini and Ghalichpour, 2013). در واقع به نظر می‌رسد استفاده توأم تورین با آستاگزانتین سبب شده است که تورین با مکانیسم

خود در تولید نمک‌های صفراوی باعث افزایش میزان جذب چربی جیره گردد (Erdman, 1988) و توانایی محدود ماهی‌ها در جذب چربی زیاد سبب امتناع ماهی‌ها از دریافت غذای کافی می‌شود در نتیجه چربی بالای جذب شده می‌تواند باعث کاهش مصرف غذا گردد (Silverstein et al. 1999). با این وجود نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص نیازمند بررسی دقیق‌تر پارامترهای مرتبط با رشد و ضریب تبدیل غذایی است.

در تحقیق حاضر سه سطح ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تورین در جیره با میزان ثابت آستاگزانتین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره) منجر به افزایش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول خون در مقایسه با گروه شاهد شده بود، اما با افزایش میزان تورین از ۲۵۰ به ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید و کلسترول مشاهده شد، از طرف دیگر بهترین میزان رنگ‌پذیری ماهیان در گروه تغذیه شده با ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تورین به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین مشاهده گردید. در مطالعه علی تبار و همکاران (۱۳۹۵) بر شاخص های بیوشیمیایی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول عضله بین تیمار شاهد و تیمار ۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم آستاگزانتین مشاهده نشد که با نتیجه مطالعه حاضر نیز مطابقت دارد، به نظر نمی‌رسد آستاگزانتین به تنهایی منجر به تغییر شاخص‌های مرتبط با متابولیسم چربی (کلسترول) در ماهیان شود، از طرف دیگر، مطالعه Goto و همکاران (۲۰۰۱) در خصوص سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) نشان داد که استفاده از تورین در جیره می‌تواند میزان کلسترول و تری‌گلیسرید عضله را به طرز چشمگیری افزایش دهد. در مطالعه Maita و همکاران (۲۰۰۶)، در کفشک ماهی، افزودن تورین به جیره باعث افزایش بیان ژن آنزیم ۳- هیدروکسیل-۳- متیل گلوتاریل-کوآنزیم آ ردوکتاز و افزایش کلسترول شد، لذا به نظر می‌رسد تورین با نقش خود در تولید نمک‌های صفراوی می‌تواند منجر به افزایش شاخص‌های مرتبط با متابولیسم چربی از جمله کلسترول شود (Lunger et al. 2007). مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در مطالعه Qi و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزودن تورین به جیره ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) منجر به افزایش محتوای چربی لاشه می‌شود. همچنین، Hosseini و همکاران (۲۰۱۷;۲۰۱۸) نشان دادند که افزودن تورین ۰/۱ درصد به جیره غذایی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) باعث افزایش کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما می‌شود که مطابق با تحقیق حاضر است.

## نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان داد بیشترین میزان شاخص‌های مورد بررسی در تیمار تورین ۲۵۰-آستاگزانتین ۱۰۰ مشاهده شد. بنابراین، به نظر می‌رسد افزودن سطح معینی از تورین به جیره می‌تواند به افزایش جذب آستاگزانتین کمک کند. در مطالعات آتی بهینه‌سازی سطح تورین در حد فاصل مقادیر ۲۵۰ تا ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم و ارزیابی آنزیم‌های کبدی و شاخص‌های رشد و بقا پیشنهاد می‌شود. همچنین، ارزیابی میزان ماندگاری رنگ در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی استاگزانتین و تورین در مطالعات بعدی باید مورد بررسی و توجه قرار گیرد.

## منابع

علی تبار، ع.ا.، حسینی فرد، س.م.، قبادی، ش. ۱۳۹۵. مقایسه اثر رنگدانه‌های آستاگزانتین و لبو (Beta vulgaris conditiva) بر فاکتورهای سرمی خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). علوم تکثیر و آبزی‌پروری ۱۱: ۵۰-۴۳.

مخلص آبادی فراهانی، ا.، درافشان، س.، پیکان‌حیرتی، ف. ۱۳۹۷. تاثیر جیره غنی‌شده با آستاگزانتین و نمک صفراوی بر رشد، رنگ‌پذیری و میزان کاروتنوئید پوست ماهی پرت خونی

ناکاگاوا، اچ.، ساتو، ام.، گاتلین، دی. ۲۰۰۷. مکمل‌های غذایی برای سلامتی و کیفیت ماهیان پرورشی. ترجمه: عابدیان کناری، ع.، ستوده، ا. ۱۳۹۱. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۳۹۶ ص.

Boonyaratpalin, M., Thongrod, S., Supamattaya, K., Britton, G., Schlipalius, L. 2001. Effects of β carotene source *Dunaliella salina* and astaxanthin on pigmentation growth survival and health of *Penaeus monodon*. Aquaculture Research 32: 182-190.

Dien, F.J. 1986. Clinical avian medicine and surgery. Saunders Co; Philadelphia 174-191p.

Erdman, J. 1988. The physiologic chemistry of carotenes in man. The American Journal of Clinical Nutrition 7: 101-105.

Goto, T., Takagi, S., Ichiki, T., Sakai, T., Endo, M., Yoshida, T., Ukawa, M., Murata, H. 2001. Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and non-fish meal diets: relationship between hepatic taurine and biliverdin levels. Fisheries Science 67: 58-63.

Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O., Empis, J. 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. Aquaculture Nutrition 9: 123-129.

Higuera-Ciapara, I., Felix-Valenzuela, L., Goycoolea, F.M. 2006. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 46: 185-196.

Hoseini, S.M., Ghelichpour, M. 2013. Effects of pre-sampling fasting on serum characteristics of common carp (*Cyprinus carpio*). International Journal of Aquatic Biology 1: 6-13.

Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., Eskandari, S., Amirahmadi, M. 2018. Effect of dietary taurine and methionine supplementation on growth performance body composition taurine retention and lipid status of Persian sturgeon *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) fed with plant-based diet. Aquaculture Nutrition 24: 324-331.

Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., Eskandari, S., Amirahmadi, M., Soudagar, M. 2017. The effect of dietary taurine on growth performance and liver histopathology in Persian sturgeon *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) fed plant-based diet. Aquaculture Research 48: 4184-4196.

Kim, S.K., Matsunari, H., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Furuita, H., Murata, Y., Goto, T. 2008. Comparison of taurine biosynthesis ability between juveniles of Japanese flounder and common carp. Amino Acids 35: 161-168.

Kim, S.K., Matsunari, H., Takeuchi, T., Yokoyama, M., Murata, Y., Ishihara, K. 2008. Effect of different dietary taurine levels on the conjugated bile acid composition and growth performance of juvenile and fingerling Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 273: 595-601.

Li, X.H., Wang, X.J., Mu, X.D., Hu, Y.C., Wang, G.J., Liu, C., Luo, J.R. ( *Cichlasoma synspilum* × ♀*Cichlasoma citrinellum*♂). علوم آبزی‌پروری ۷: ۶-۱.

2008. Effects of astaxanthin on the color of blood parrot. Journal of Anhui Agricultural Sciences 36: 8606-8607.

Lunger, A.N., McLean, E., Gaylord, T.G., Kuhn, D., Craig, S.R. 2007. Taurine supplementation to alternative dietary proteins used in fish meal replacement enhances growth of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture 271: 401-410.

Maita, M., Maekawa, J., Satoh, K.I., Futami, K., Satoh, S. 2006. Disease resistance and hypocholesterolemia in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed a non-fishmeal diet. Fisheries Science 72: 513-519.

Matsunari, H., Yamamoto, T., Kim, S.K., Goto, T., Takeuchi, T. 2008. Optimum dietary taurine level in casein-based diet for juvenile red sea bream *Pagrus major*. Fisheries Science 74: 347-353.

Patel, S.K.M., Indulkar, S.T., Shaikh, A.L.A.H., Sawant, M.S., Pawase, A.S., Pai, R.K. 2019. Effect of calcium carbide on biochemical properties of rosy barb, *Pethia conchonius* (Hamilton, 1822). Journal of Experimental Zoology 22: 995-999.

Pozo, R., Lavety, J., Love, R.M. 1988. The role of dietary α-tocopherol (vitamin E) in stabilizing the canthaxanthin and lipids of rainbow trout muscle. Aquaculture 73: 165-175.

Qi, G., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Liufu, Z., Yun, B., Zhou, H. 2012. Effects of dietary taurine supplementation to a casein-based diet on growth performance and taurine distribution in two sizes of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture 358: 122-128.

Sakaguchi, M., Murata, M., Daikoku, T., Arai, S. 1988. Effects of dietary taurine on tissue taurine and free amino acid levels of the chum salmon *Oncorhynchus keta* reared in freshwater and seawater environments. Comparative Biochemistry and Physiology 89: 437-442.

Salze, G.P., Davis, D.A. 2015. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. Aquaculture 437: 215-229.

Silverstein, J.T., Shearer, K.D., Dickhoff, W.W., Plisetskaya, E.M. 1999. Regulation of nutrient intake and energy balance in salmon. Aquaculture 177: 161-169.

Sirajudheen, T.K., Salim, S.S., Bijukumar, A., Antony, B. 2014. Problems and prospects of marine ornamental fish trade in kerala india. Journal of Fisheries Economics and Development 1151: 14-30.

Teimouri, M., Keramat Amirkolaie, A. 2015. The effects of synthetic pigments on pigmentation of *Pethia conchonius* (Hamilton, 1822). Aquaculture Research 46: 1156-1161.

Yam, V.W.W., Li, B., Yang, Y., Chu, B.W.K., Wong, K.M.C., Cheung, K.K. 2003. Preparation photo luminescence and electro luminescence behavior of langmuir blodgett films of surfactant complexes. European Journal of Inorganic Chemistry 22: 4035-4042.

Yan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W., Yang, Y. 2007. Dietary methionine requirement for juvenile rockfish *Sebastes schlegeli*. Aquaculture Nutrition 13: 163-169.

Yang, H., Tian, L., Huang, J., Liang, G., Liu, Y. 2013. Dietary taurine can improve the hypoxia tolerance but not the growth performance in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. Fish Physiology and Biochemistry 39: 1071-1078.