فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

مقایسه اثر رنگدانه آستاگزانتین، زردچوبه و جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر رشد، شاخص‌های خونی، ایمنی و رنگ‌پذیری ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*)

عباس همرنگ امشی[۱]، امیرهوشنگ بحری[۲]، حسین خارا[۳]*، فلورا محمدی‌زاده[۴]

تاریخ دریافت: شهریور ۹۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۹۶

چکیده

در این مطالعه اثر چهار جیره آزمایشی شامل جیره‌های حاوی آستاگزانتین، زردچوبه و جلبک اسپیرولینا (هر یک به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره) و جیره فاقد افزودنی رنگدانه‌ای (شاهد) بر روی رشد، شاخص‌های خونی، ایمنی و رنگ‌پذیری ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۲۰ قطعه ماهی اسکار ببری با وزن متوسط ۰/۵±۷/۵ گرم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. در انتهای دوره برای بررسی شاخص‌ها، از آن‌ها نمونه‌برداری به عمل آمد. نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها اختلاف معنی‌داری را بین تیمار تغذیه شده با آستاگزانتین با سایر تیمارها از نظر شاخص‌های WG، FCR، SGR، BWI، افزایش طول و فعالیت لیزوزیمی نشان داد (P<۰/۰۵)، ولی در سایر شاخص‌های ایمنی (ایمنوگلوبولین کل، IgM)، شاخص‌های خونی و کاروتنوئید کل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد رنگدانه‌های مورد استفاده می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های رشد، ایمنی و رنگی شدن در ماهی اسکار ببری شود که در بین این رنگدانه‌ها، آستاگزانتین عملکرد مطلوب‌تری نسبت به دیگر رنگدانه‌ها داشت.

واژگان کلیدی: *آستاگزانتین، ماهی اسکار، زردچوبه، جلبک اسپیرولینا، شاخص‌های ایمنی.*

۱- دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.
۲- استادیار گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.
۳- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران.
* نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

رنگ نقش مهمی در چرخه زیستی طبیعی بسیاری از گونه‌ها از جمله ماهی دارد (Amaya and Nickell, 2015). رنگ جانوران در ارتباطات، تعاملات زیست‌محیطی و گونه‌زایی نقش به سزایی دارد (Gupta et al., 2007). تجارت گونه‌های زینتی آکواریومی دارای دو بخش دریایی و آب شیرین است. این صنعت چند میلیون دلاری شامل برداشت، فروش و استفاده از موجودات زنده برای نمایش در آکواریوم‌ها، استخرها و دریاچه‌ها است (UNEP, 2007). یکی از بزرگ‌ترین چالش‌های صنعت ماهیان زینتی، دستیابی به رنگ طبیعی ماهی در محیط آکواریومی است (Gupta et al., 2007). کاروتنوئیدها شماری از عملکردهای زیستی را در طبیعت انجام می‌دهند و از مهم‌ترین رنگدانه‌هایی هستند که رنگ را در موجودات آبزی مانند ماهیان و سخت‌پوستان فراهم می‌کنند. اکنون روشن است که بدون کاروتنوئیدها، عملکرد زیستی و بقای بسیاری از ماهی‌های پرورشی کاهش می‌یابد (Amaya and Nickell, 2015). مکانیسم‌های بیوشیمیایی جذب کاروتنوئید در ماهی شبیه به پستانداران در نظر گرفته می‌شود که شامل مراحل (۱) شکستن شبکه غذایی و پیوندهای مولکولی، (۲) جذب در قطرات چربی، (۳) تشکیل و جذب در میسل‌ها، (۴) افزایش اندازه اینتروسیت‌ها و (۵) ایجاد پیوند به منظور انتقال درون کیلومیکرون‌ها است (Van Het Hof et al., 2000). کاروتنوئیدها قبل از شروع انتقال توسط لیپوپروتئین‌ها در مخاط روده جانوران و انسان جذب می‌شوند (Wang et al., 1996). آن‌ها همچنین می‌توانند بین گروه‌های لیپوپروتئین در سیستم گردش خون انتقال یابند یا مبادله شوند (Tyssandier et al., 2002; Salvador et al., 2009). آستاگزانتین فراوان‌ترین منبع کاروتنوئیدی و رنگدانه‌ای در ماهی و سخت‌پوستان در محیط طبیعی آبی است. بنابراین، بیشتر مواد رنگدانه‌ای مورد استفاده در خوراک آبزیان مبتنی بر آستاگزانتین است (Amaya and Nickell, 2015). رنگدانه‌های مصنوعی معمولا قیمت بالایی دارند و این امر سبب می‌شود تا بیشتر آکواریوم‌داران تمایل چندانی به استفاده از آن‌ها نداشته باشند (Sales and Janssens, 2003).

زردچوبه از دیرباز در طب سنتی هند (آیورورا[1]) از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار

1- Ayurvda

بوده است (Verghese, 1993). در مکتب پیروان این طب زردچوبه به عنوان آنتی‌بیوتیک، عامل کمکی در گوارش و تثبیت فلور روده، تصفیه کننده خون و خون‌ساز شناخته می‌شود. این گیاه سبب پیشبرد متابولیسم طبیعی بدن می‌شود و به هضم پروتئین کمک می‌کند (Zhang et al., 2008). زردچوبه شامل ترکیبات متعددی است که مهم‌ترین آن‌ها روغن‌های ضروری (تورمرون‌ها، آتلانتون‌ها و زینجیبرن)، تورمین (یک پپتید محلول در آب) و کورکومینوئیدها هستند. از دیگر مواد موجود در زردچوبه می‌توان به مواد معدنی (مانند پتاسیم)، کاروتن، ویتامین C و نشاسته ژلاتینه شده اشاره کرد (Bolurian et al., 2013).

جلبک سبز- آبی اسپیرولینا *Spirulina platensis* منبع خوبی از پروتئین، گزانتوفیل و بتاکاروتن است و برای تغذیه ماهی و میگو مناسب است. این جلبک در آب‌های شور و شیرین یافت می‌شود (Regunathan and Wesley, 2006). از سال‌ها قبل فایده اسپیرولینا به دلیل پروتئین بالا، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب ضروری آن شناخته شده بود. ماده خشک اسپیرولینا از ۶۰ تا۷۰ درصد پروتئین تشکیل شده است و منبع غنی از ویتامین‌ها به ویژه ویتامین B، پیش‌ساز ویتامین A و مواد معدنی به ویژه آهن است. همچنین حاوی مقدار کمی اسید گامالینولنیک است (Belay, 2002). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که نوعی پلی‌ساکارید در اسپیرولینا قادر است فعالیت آنزیمی هسته سلول را افزایش دهد و DNA را بازسازی و اصلاح کند. اسپیرولینا نه تنها بر روی سیستم ایمنی اثر تقویتی دارد و موجب تحریک سیستم ایمنی می‌شود، بلکه در حقیقت توانایی بدن را برای ایجاد نسل جدیدی از سلول‌های خونی افزایش می‌دهد (Tahami, 2001).

ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) از پرطرف‌دارترین ماهیان آکواریومی در سطح جهان است و در ایران نیز مهم‌ترین و پرفروش‌ترین ماهی آکواریومی است. پرورش این ماهی گوشتخوار، با مشکلاتی از قبیل قیمت بالای خوراک، رشد نسبتا کند و بیماری‌های باکتریایی (معمولا گونه‌های *Aeromonas*) در طول دوره پرورش روبروست (Abdi et al., 2009). در مطالعه حاضر، اثر رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین در مقایسه با زردچوبه و جلبک اسپیرولینا بر روی شاخص‌های رشد، خونی و رنگ‌پذیری ماهی اسکار ببری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر، تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*) با وزن متوسط ۷/۵±۰/۵ گرم، میانگین طول ۶/۹۰±۰/۶۳ سانتی‌متر و کاملا همسن و حاصل تکثیر یک جفت مولد، بدون در نظر گرفتن جنسیت از یکی از مراکز تکثیر ماهیان زینتی در استان گیلان خریداری شد و پس از یک هفته سازگاری با محیط اقدام به تیماربندی ماهی‌ها شد. در این مطالعه، ماهی‌ها به طور تصادفی به چهار تیمار با سه تکرار در ۱۲ آکواریوم به ابعاد ۳۳×۴۰×۵۰ (هر آکواریوم با ۱۰ قطعه ماهی) طبق جدول ۱ تقسیم شدند.

جیره پایه (بیومار، فرانسه) استفاده شده در تیمارهای آزمایشی حاوی ٪۵۴ پروتئین، ٪۱۸چربی، ٪۱۰سلولز، ٪۱۰ خاکستر و ٪۱/۶ فسفر کل بود. در تیمار شاهد تنها از جیره پایه استفاده شد. در تیمار ۱ از آستاگزانتین با نام تجاری Lucantin Pink (BASF، آلمان) و فرمول شیمیایی Dihydroxy-4,4’Dioxo-b-carotene-’3,3 به صورت پودر بنفش رنگ با اندازه ذرات کمتر از ۰/۶ میلی‌متر و کاملا قابل حل در آب ۴۰ درجه سلسیوس استفاده شد (Li et al., 2014; Pham et al., 2014). جلبک اسپیرولینا استفاده شده در تیمار ۲ از پژوهشکده بیوتکنولوژی جهاد کشاورزی شمال غرب کشور در تبریز تهیه شد. برای تیمار ۳، پودر زردچوبه نیز از بازار محلی تهیه شد. مقادیر رنگدانه مورد استفاده در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه الکترومغناطیسی (Hot Plate Magnetic HPMA700، Fartest، ایران) و یک مگنت با دمای ۵۰ درجه سلسیوس حل و سپس بر روی غذا اسپری شد. غذای حاوی رنگدانه در دستگاه خشک کن با درجه حرارت

جدول ۱: ترکیب جیره در تیمارهای مختلف

تیمار	ترکیب جیره
تیمار شاهد	جیره پایه بدون افزودنی رنگدانه
تیمار ۱	جیره پایه به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین
تیمار ۲	جیره پایه به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پودر زردچوبه
تیمار ۳	جیره پایه به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پودر جلبک اسپیرولینا

ملایم خشک شد و در محلی تاریک و خنک قرار داده شد و سپس تا زمان مصرف در داخل فریزر نگهداری شد. در طول دوره تیمار، ماهیان به میزان حدود ۳ درصد وزن زنده روزانه در دو نوبت (صبح و عصر) غذادهی شدند. تغذیه با جیره‌های آزمایشی به مدت ۸ هفته انجام شد (Ghiasvand and Shapouri, 2006).

میانگین دمای آب آکواریوم‌ها در طول دوره مطالعه ۱/۳۲±۲۷/۱۵ درجه سلسیوس، میانگین اکسیژن محلول ۳/۲۴±۷/۶۳ میلی‌گرم در لیتر، که با دستگاه اکسیژن‌متر دیجیتال (Oxi 3205 Set 3، WTW، آلمان) اندازه‌گیری شد. میانگین pH ۰/۳۳±۸/۰۳ که با دستگاه pHمتر (370، Jenway، انگلستان) و میانگین سختی آب (DH) ۰/۲۰±۲۳۱/۹۹ میلی‌گرم در لیتر، آمونیاک قبل از غذادهی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و آمونیاک بعد از غذادهی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر که با کیت (VAHEB، ایران) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و بازماندگی

در پایان دوره تیمار ماهیان زیست‌سنجی شدند و طول آن‌ها توسط خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر و وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال (Sartorius، آلمان) با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای بررسی وضعیت رشد ماهی‌ها و اثر تیمارهای مختلف، شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، درصد بازماندگی (SVR) (Mazurkiewicz et al., 2008)، درصد افزایش وزن بدن (BWI) (Hung et al., 1989)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) (Ronyai et al., 1990; Abdelghany and Ahmad, 2002)، ضریب رشد ویژه (SGR) (Ronyai et al., 1990)، شاخص کیفیت (K) (Ojolick et al., 1995) و افزایش طول (L) طبق رابطه‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد.

رابطه ۱:

$$SVR\,(\%) = [(S-D)/S] \times 100$$

S: تعداد نمونه‌های مورد آزمایش؛ D: تعداد تلفات.

رابطه ۲:

$$BWI\,(\%) = [(BW_f - BW_i)/BW_i] \times 100$$

BW_i: متوسط وزن اولیه (گرم)؛ BW_f: متوسط وزن نهایی (گرم).

رابطه ۳:

$$FCR = F/(W_f - W_i)$$

F: مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی (گرم)؛ W_i: میانگین بیوماس اولیه (گرم)؛ W_f: میانگین بیوماس نهایی (گرم).

رابطه ۴:

$$SGR\,(\%) = [(LnW_f - LnW_i)/t] \times 100$$

W_i: میانگین بیوماس اولیه (گرم)؛ W_f: میانگین بیوماس نهایی (گرم)؛ t: دوره زمانی (روز).

رابطه ۵:

$$K = (W / L^3) \times 100$$

W: وزن ماهی (گرم)؛ L: طول ماهی (سانتی‌متر).

رابطه ۶:

$$L\ (cm) = L_f - L_i$$

L_i: طول اولیه (سانتی‌متر)؛ L_f: طول نهایی (سانتی‌متر).

شاخص‌های خون‌شناسی

برای سنجش شاخص‌های خون‌شناسی، در پایان ۵۶ روز و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، به منظور تهیه حجم خون مورد نیاز سه تا شش قطعه از ماهیان هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و در عصاره پودر گل میخک به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در یک لیتر آب بیهوش شدند (Alishahi et al., 2014). سپس خونگیری از ماهیان با استفاده از سرنگ‌های انسولین هپارینه شده از ساقه دمی انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های خون به میکروتیوب‌هایی که حاوی ۲۰µL هپارین بودند، منتقل شد. میکروتیوب‌ها شماره‌گذاری و برای انجام آزمایش‌های خون‌شناسی در مراحل بعد آماده‌سازی شدند (Thrall, 2004). باقی مانده خون نیز به منظور مطالعات سرم‌شناسی، به لوله‌های اپندورف فاقد ماده ضدانعقاد هپارین انتقال یافت و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Labofuge، Heraeus Sepatch، آلمان) شد. سرم به دست آمده با سمپلر در اپندورف‌های تازه ریخته و در دمای ۸۰°C- نگهداری شد.

شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (Hct)، هموگلوبین (Hb)، تعدادگلبول سفید (WBC)، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها اندازه‌گیری شد و متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط مقدار هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) از روابط ۷ تا ۹ محاسبه شد (Klontz, 1994).

رابطه ۷:

$$MCV\ (fL) = [Hct / RBC\ (per\ million)] \times 10$$

رابطه ۸:

$$MCH\ (pg) = [Hb / RBC\ (per\ million)] \times 10$$

رابطه ۹:

$$MCHC\ (\%) = (MCH / MCV) \times 100$$

شاخص‌های سرمی شامل سطح لیزوزیم بر اساس روش Clerton و همکاران (۲۰۰۱) و میزان ایمنوگلوبین M (IgM) و ایمنوگلوبین

کل بر اساس روش Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد.

سنجش کاروتنوئید کل و رنگ‌پذیری

سنجش کاروتنوئید کل بر اساس روش Weber (۱۹۸۸) انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در ماهی از روش توصیه شده توسط Yam و Papadakis در سال ۲۰۰۴ استفاده شد. این روش مبتنی بر پردازش تصویر گرفته شده توسط دوربین دیجیتال با میزان نور و شرایط کاملا مشابه است. بدین منظور ۶ قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوش کردن در عصاره پودر گل میخک، عکس‌برداری از آن‌ها با دوربین ۱۲/۱ پیکسل Canon از فاصله ۳۰ سانتی‌متری از پهلوی چپ انجام گرفت. محل اندازه‌گیری شدت رنگ‌ها در ماهی اسکار، ساقه دمی یا منطقه R و O بود که یک نقطه مشترک برای کلیه نژادهای اسکار است. عکس‌برداری در ۴ مرحله انجام شد. عکس‌برداری مرحله اول قبل از تغذیه با جیره حاوی رنگدانه، عکس‌برداری دوم ۱۰ روز بعد از شروع غذادهی با جیره حاوی رنگدانه، عکس‌برداری سوم ۲۰ روز بعد از عکس‌برداری دوم و برای تعیین جذب رنگ و عکس‌برداری چهارم ۲۷ روز بعد از تغذیه از رنگدانه‌ها صورت گرفت. تجزیه و تحلیل رنگ‌ها و بررسی عکس‌های گرفته شده توسط نرم‌افزار Photoshop CS6 Extended صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف، به منظور بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس‌آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

میانگین شاخص‌های رشد ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*) در تیمارهای شاهد، آستاگزانتین، زردچوبه و اسپیرولینا در پایان دوره نگهداری (۵۶ روز) در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص / تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
درصد بقا (درصد)	۸۵±۰/۷ b	۱۰۰±۰/۰ a	۹۰±۰/۰ a	۹۵±۰/۷ a
درصد افزایش وزن بدن (درصد)	۱۰۱/۷۷±۱/۵۱ b	۲۷۱/۴۶±۱/۳۴ a	۶۸/۵۳±۰/۶۳ b	۸۸/۱۷±۰/۹۷ b
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۵±۰/۲۷ b	۰/۹۰±۰/۰۴ d	۱/۶۲±۰/۱۵ c	۳/۵۶±۰/۰۹ a
درصد ضریب رشد ویژه (درصد)	۱/۲۵±۰/۱۳ c	۲/۳۴±۰/۰۶ a	۱/۵۲±۰/۰۷ b	۰/۹۹±۰/۰۱ d
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۱۳±۱/۷۸ b	۲۷/۸۶±۱/۶۹ a	۱۲/۶۵±۲/۸۴ c	۹/۴۵±۱/۸۸ d
شاخص کیفیت	۲/۹۶±۰/۲۷ a	۲/۴۰±۰/۰۰ bc	۲/۳۳±۰/۰۹ c	۲/۴۵±۰/۰۱ bc
افزایش طول (سانتی‌متر)	۰/۹۰±۰/۱۴ b	۳/۴۱±۰/۱۲ a	۱/۰۶±۰/۰۱ b	۰/۲۰±۰/۰۰ c

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

تجزیه و تحلیل آماری اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد شامل ضریب تبدیل، ضریب رشد و وزن نهایی، بین شاهد با سایر تیمارها و بین تیمارها با یکدیگر نشان داد (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد و سایر تیمارها از لحاظ درصد بقا مشاهده شد، در حالی که بین تیمارهای دیگر اختلاف آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از لحاظ درصد افزایش بدن، اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار ۱ مشاهده شد (P<۰/۰۵) و این در حالی است که اختلافی بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در شاخص کیفیت اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد با سایر تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵) ولی اختلافی بین تیمارهای دیگر مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از نظر میزان افزایش طول اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد با تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد، بین تیمارهای دیگر نیز اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

شاخص‌های خونی و ایمنی

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های خونی و ایمنی در جدول‌های ۳ و ۴ آورده شده است.

جدول ۳: شاخص‌های خونی ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص / تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
WBC (تعداد × $۱۰^۳/mm^۳$)	۵۲۰۰±۱/۵۵ [a]	۵۰۵۰±۱/۷۰ [a]	۴۵۰۰±۰/۰۰ [a]	۴۰۰۰±۰/۰۰ [a]
RBC (تعداد × $۱۰^۶/mm^۳$)	۱/۸۶±۰/۴۸ [a]	۱/۸۸±۰/۵۳ [a]	۲/۰۹±۰/۴۱ [a]	۱/۸۷±۰/۴۱ [a]
Hb (g/dL)	۷/۲۰±۰/۳۵ [a]	۷/۵۵±۰/۰۷ [a]	۷/۸۵±۰/۴۹ [a]	۷/۵۵±۰/۷۰ [a]
Hct (٪)	۳۳/۵±۰/۵۳ [a]	۳۲/۵±۰/۷۰ [a]	۳۳/۰±۰/۴۱ [a]	۳۲/۰±۱/۴۱ [a]
MCV (fL)	۱۶۳/۵±۱/۵۳ [a]	۱۷۳/۰±۰/۰۰ [a]	۱۶۳/۰±۱/۴۱ [a]	۱۶۵/۰±۱/۴۱ [a]
MCH (pg)	۳۹±۰/۰ [a]	۴۰±۰/۰ [a]	۴۰±۰/۷ [a]	۴۰±۰/۰ [a]
MCHC (٪)	۲۳/۵±۰/۷ [a]	۲۳/۰±۰/۰ [a]	۲۳/۵±۰/۷ [a]	۲۳/۵±۰/۷ [a]
نوتروفیل (٪)	۳۵±۱/۹۵ [a]	۳۷±۰/۷۰ [a]	۲۴±۱/۴۱ [a]	۲۴±۰/۰۰ [a]
لنفوسیت (٪)	۷۱±۱/۷۷ [a]	۷۱±۱/۳۶ [a]	۷۱±۰/۷۰ [a]	۷۲±۰/۰۰ [a]
مونوسیت (٪)	۵±۱/۱۲ [a]	۶±۱/۴۱ [a]	۵±۰/۷۰ [a]	۴±۰/۷۰ [a]
ائوزینوفیل (٪)	۱±۰/۰۷ [a]	۰±۰/۰۰ [a]	۰±۰/۰۰ [a]	۰±۰/۰۰ [a]

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

جدول ۴: شاخص‌های ایمنی ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص / تیمار	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
IgM (mg/dL)	۱۲/۷۵±۲/۴۷ [a]	۱۴/۱۰±۱/۵۵ [a]	۱۷/۷۰±۱/۱۴ [a]	۱۹/۲۰±۱/۵۴ [a]
ایمنوگلوبین کل (mg/mL)	۱۹/۷۵±۰/۳۵ [a]	۱۷/۷۵±۱/۷۶ [a]	۲۲/۵۰±۱/۹۵ [a]	۲۴/۰۰±۱/۲۴ [a]
لیزوریم (µg/mL)	۱۹/۵±۳/۵۳ [c]	۷۵/۰±۱/۲۷ [a]	۲۴/۵±۰/۷۰ [ab]	۲۴/۰±۱/۴۱ [ab]

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های خونی در طی ۵۶ روز اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵).

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری فعالیت لیزوزیمی اختلاف معنی‌داری را بین تیمار شاهد و تیمار ۱ نشان داد (P<۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد با سایر تیمارها در شاخص‌های ایمنی IgM و ایمنوگلوبولین کل مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

کاروتنوئید کل و رنگ‌پذیری

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری کاروتنوئید کل و تغییر شدت رنگ‌های اصلی و فرعی در چهار مرحله در جدول ۵ آورده شده است.

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری کاروتنوئید کل خون اختلاف معنی‌دار آماری بین شاهد و سایر تیمارها نشان نداد (P>۰/۰۵).

تغییرات شدت رنگ‌های اصلی و فرعی در مرحله اول

در مرحله اول عکس‌برداری هیچ گونه غذای رنگدانه‌ای به ماهیان داده نشد، در نتیجه اختلاف معنی‌دار آماری از لحاظ میزان رنگ‌های اصلی (RGB) و فرعی (CMYK) در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ جدول ۵).

تغییرات شدت رنگ‌های اصلی و فرعی در مرحله دوم و سوم

در عکس‌برداری‌های مراحل دوم و سوم غذای رنگدانه‌ای به ماهیان داده شد، در نتیجه رنگ اصلی قرمز (R) در برخی تیمارها اختلاف معنی‌داری را با رنگ‌های اصلی سبز (G) و آبی (B) و رنگ‌های فرعی (CMYK) نشان داد. به جز تیمار تغذیه شده با زردچوبه که کاهش مقدار رنگ قرمز (R) در مرحله دوم و سوم مشاهده شد، در بقیه تیمارها رنگ قرمز افزایش یافت. در کلیه مراحل عکس‌برداری ضریب R در رنگ‌های اصلی و ضریب Y در رنگ‌های فرعی بیشترین افزایش رنگ را در ناحیه مذکور داشت.

تغییرات شدت رنگ‌های اصلی و فرعی در مرحله چهارم

اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمار شاهد و برخی تیمارهای تغذیه شده با رنگدانه مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۵: کاروتنوئید کل و تغییر شدت رنگ‌های اصلی و فرعی ماهی اسکار ببری در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص / تیمار	مراحل رنگ سنجی	R	G	B	C	M	Y	K	کاروتنوئید کل (µg/mL)
شاهد	مرحله اول	۷۸/۷۷±۱/۰۲ a	۱۰۹//۷۸±۲/۵۰ a	۱۰۱/۰۰±۳/۹۰ a	۳۷/۳۳±۳/۱۰ a	۴۳/۵۰±۲/۲۹ a	۴۸/۶۶±۱/۲۰ a	۲۸/۶۶±۲/۱۰ a	۲/۹±۰/۱۴
	مرحله دوم	۸۵/۶۶±۵/۵۰ a	۸۰/۸۸±۳/۰۲ a	۶۱/۰۰±۴/۹۰ d	۴۸/۵۵±۱/۵۷ c	۴۶/۶۶±۴/۶۶ a	۶۳/۸۹±۲/۱۰ a	۴۳/۳۳±۲/۹۰ d	
	مرحله سوم	۱۲۰/۴۴±۱/۷۰ ab	۸۳/۳۳±۱/۳۳ bc	۳۵/۲۲±۱/۲۳ bc	۲۸/۶۷±۲/۵۱ b	۵۶/۷۷±۱/۸۹ b	۸۷/۳۳±۲/۰۶ b	۳۸/۲۲±۱/۷۳ c	
	مرحله چهارم	۱۷۳/۸۹±۲/۸۳ c	۱۲۷/۰۰±۲/۵۶ c	۳۲/۶۶±۱/۷۱ c	۲۰/۶۶±۲/۳۴ b	۵۰/۴۴±۱/۴۹ b	۹۳/۵۵±۱/۰۴ b	۱۸/۵۵±۱/۳۱ b	
تیمار ۱	مرحله اول	۷۸/۲۲±۰/۱۲ a	۱۰۹/۳۱±۰/۵۴ a	۱۰۱/۷۷±۰/۱۷ a	۳۶/۱۴±۰/۴۴ a	۴۶/۱۷±۰/۸۲ a	۴۸/۱۷±۰/۳۹ a	۲۸/۲۱±۰/۴۹ a	۵/۶±۲/۵۴
	مرحله دوم	۱۷۴/۵۵±۴/۸۰ c	۱۰۱/۱۱±۴/۵۰ bc	۴۹/۶۷±۳/۶۰ bc	۲۱/۲۲±۱/۹۰ ab	۶۵/۶۶±۱/۲۰ b	۸۶/۰۰±۰/۳۳ bc	۱۳/۴۴±۰/۹۰ ab	
	مرحله سوم	۱۷۶/۱۱±۲/۳۳ bc	۶۸/۶۶±۱/۲۶ ab	۱۹/۹۹±۲/۳۰ c	۲۰/۵۵±۱/۰۷ ab	۸۲/۲۱±۰/۵۰ c	۹۹/۳۳±۰/۳۳ c	۱۱/۴۴±۱/۵۷ b	
	مرحله چهارم	۱۹۰/۰۰±۱/۴۸ c	۶۲/۷۷±۱/۳۸ a	۵/۴۴±۰/۸۴ c	۱۷/۷۷±۱/۳۴ ab	۸۳/۴۴±۰/۱۹ b	۹۹/۸۹±۰/۱۹ c	۵/۰۰±۱/۱۵ c	
تیمار۲	مرحله اول	۷۸/۲۴±۲/۶۰ a	۱۰۹/۷۸±۲/۵۰ a	۱۰۱/۰۰±۱/۳۰ a	۳۷/۳۳±۱/۳۰ a	۴۶/۵۰±۲/۲۹ a	۴۸/۶۶±۱/۲۰ a	۲۸/۶۶±۲/۱۰ a	۳/۸±۱/۱۳
	مرحله دوم	۱۱۵/۵۵±۲/۴۵ b	۹۴/۰۰±۱/۷۶ ab	۴۹/۸۸±۲/۲۸ bc	۳۸/۸۸±۱/۱۷ b	۴۹/۲۲±۲/۲۰ ab	۷۶/۶۶±۱/۴۵ b	۴۱/۸۹±۲/۱۷ c	
	مرحله سوم	۱۲۳/۰۰±۱/۳۸ b	۹۳/۹۹±۱/۷۶ c	۵۲/۰۰±۱/۱۹ c	۳۵/۷۶±۱/۲۰ c	۴۳/۶۲±۲/۰۳ a	۷۸/۶۶±۲/۴۵ ab	۳۴/۲۱±۱/۲۸ d	
	مرحله چهارم	۱۴۹/۲۳±۲/۳۶ b	۱۲۱/۸۹±۲/۵۳ b	۵۷/۵۵±۱/۰۲ c	۳۰/۳۲±۱/۵۷ c	۴۱/۷۷±۱/۵۷ a	۷۹/۲۲±۲/۶۷ ab	۲۳/۲۱±۱/۳۸ b	
تیمار۳	مرحله اول	۷۸/۲۸±۰/۸۷ a	۱۰۹/۰۶±۰/۳۴ a	۱۰۱/۴۶±۰/۷۲ a	۳۷/۶۵±۰/۴۱ a	۴۶/۵۲±۰/۷۰ a	۴۸/۷۰±۱/۱۳ a	۲۸/۲۰±۰/۸۸ a	۳/۲±۰/۷
	مرحله دوم	۱۶۱/۰۰±۲/۱۶ b	۱۱۹/۷۷±۱/۷۷ c	۳۷/۲۱±۱/۴۸ abcd	۲۲/۶۶±۲/۶۴ ab	۴۸/۴۴±۲/۲۱ a	۹۴/۳۲±۲/۲۱ cd	۲۱/۳۳±۱/۳۷ bc	
	مرحله سوم	۱۴۲/۳۸±۱/۱۲ b	۱۰۲/۰۴±۲/۲۳ c	۳۵/۴۳±۱/۴۳ c	۲۱/۲۰±۲/۶۴ ab	۴۹/۷۰±۱/۲۲ ab	۹۲/۷۲±۱/۰۶ c	۳۰/۱۸±۱/۴۵ b	
	مرحله چهارم	۱۲۷/۲۱±۱/۱۷ a	۹۱/۴۴±۱/۶۹ b	۳۱/۶۶±۱/۷۵ c	۲۰/۷۷±۱/۰۳ c	۵۳/۵۵±۱/۴۵ b	۹۱/۳۳±۲/۶۹ b	۳۴/۱۱±۱/۵۳ d	

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($P<0/05$).

بحث

بررسی اثر آستاگزانتین (تیمار ۱)، زردچوبه (تیمار ۲) و جلبک اسپیرولینا (تیمار ۳) بر ماهی اسکار ببری (*Astronotus ocellatus*) در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد درصد بقا کمترین مقدار را در تیمار شاهد و بیشترین مقدار را در تیمار ۱ داشت. اما اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۱ با تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده نشد. بیشترین درصد افزایش وزن در تیمار ۱ مشاهده شد و کمترین آن مربوط به

تیمار ۲ بود. همچنین در بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اختلاف معنی‌دار آماری بین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف مشاهده شد. کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار ۱ و بیشترین آن مربوط به تیمار ۳ بود. اختلاف معنی‌دار آماری بین ضریب رشد ویژه در تیمارهای مختلف مشاهده شد. بیشترین ضریب رشد ویژه را تیمار ۱ و کمترین آن را تیمار ۳ داشت. بیشترین وزن نهایی مربوط به تیمار ۱ و کمترین آن مربوط به ۲ بود. بین تیمار شاهد و تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. Verakunpiriya و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که منابع رنگدانه‌ای می‌تواند شاخص‌های رشد را بهبود بخشند. در مطالعه Beiranvand و همکاران (۲۰۱۵)، افزودن پودر جلبک اسپیرولینا به جیره غذایی ماهی گورخری (*Danio rerio* Hamilton, 1822) سبب افزایش وزن بدن و ضریب رشد ویژه در این ماهی شد. Amar و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که کاروتنوئیدها قادر هستند رشد، ایمنی و بقای ماهی را بهبود بخشند و از سوی دیگر می‌توانند ماهی را از اثرات مضر اکسیداسیون چربی محافظت کنند (Liebler, 1993; Waagbo et al., 2003). Li و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند جیره‌های غذایی دارای آستاگزانتین و جلبک *Haematococcus pluvialis* بر روی شاخص‌های رشد ماهی *Pseudosciaena crocea* موثر بود. Boonyaratpalin و Unprasert (۱۹۸۹) در بررسی تاثیر رنگدانه‌های مختلف بر روی ماهی تیلاپیای قرمز نشان دادند که زردچوبه می‌تواند از رشد ماهی ممانعت کند. در این مطالعه ضریب تبدیل غذایی در تیمار حاوی زردچوبه نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود و از سوی دیگر بیان شد زردچوبه فاقد ارزش غذایی و رنگی است (Boonyaratpalin and Unprasert, 1989). در مطالعه حاضر اسکارهای ببری تغذیه شده با آستاگزانتین دارای بالاترین BWI، SGR، WG و افزایش طول و کمترین FCR نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای حاوی زردچوبه و جلبک سبز-آبی اسپیرولینا بود. به نظر می‌رسد افزودن این رنگدانه در جیره غذایی این گروه از ماهیان در بهبود شاخص‌های رشد موثر باشد. دلیل این امر را می‌توان به افزایش سوخت و ساز، تسریع هضم و افزایش کارایی مواد غذایی در اثر افزودن رنگدانه مرتبط دانست (Tacon, 1990; Amar et al., 2001). از سوی دیگر آستاگزانتین علاوه بر اهمیتی که در تولید رنگ عضله دارد، اثرات

فیزیولوژیکی در متابولیسم چربی و کلسیم نیز دارد (Rehulka, 2000).

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های خونی پس از ۵۶ روز در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را در هیچ یک از شاخص‌های مورد ارزیابی نشان نداد. هر چند که این شاخص‌ها در برخی موارد افزایش یافتند و در برخی موارد دستخوش کاهش شدند، ولی در مجموع این تغییرات معنی‌دار نبود. در باره شاخص‌های خونی و گلبولی نتایج موافق و مخالف مطالعه حاضر به وفور یافت شد. Rezaei و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر عصاره گیاه مورخوش *Zhumeria majdae* در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی گربه‌ماهی *Pangasianodon hypophthalmus* را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که این عصاره تاثیر معنی‌داری بر روی شاخص‌های خونی نداشت. Kamali و همکاران (۲۰۱۴) اثر افزودن زنجبیل را بر روی ضریب تبدیل غذایی، رشد ویژه، نرخ بقا و شاخص‌های خونی ماهی اسکار مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه زنجبیل بر روی شاخص‌های WBC، RBC، Hb و Hct معنی‌داری داشت، ولی این تاثیر در شاخص‌های گلبولی معنی‌دار نبود. Tukmechi و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند شاخص‌هایی مانند عوامل محیطی خصوصا به علت خونسرد بودن ماهی‌ها، فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت، تراکم، عوامل فیزیولوژیکی، گونه آبزی، چرخه تولیدمثلی، وضعیت بلوغ، سن، جنس، شرایط تغذیه‌ای، زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری می‌تواند بر شاخص‌های رشد و بقا تاثیر بگذارد و باعث اختلاف در تفسیر پژوهشگران شوند. در مطالعه حاضر، شاخص‌های رشد در برخی تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند.

برخی مطالعات نشان دادند تغذیه با اسپیرولینا در ماهی و ماکیان می‌تواند مقاومت بدن در برابر بیماری‌ها را افزایش دهد و درصد بقا و رشد را بهبود بخشد و از سوی دیگر می‌تواند عملکرد سیستم ایمنی را ارتقا دهد (Belay, 2002; Hayashi, 1998). در مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۴)، با افزایش سطوح آستاگزانتین و جلبک *Haematococcus pluvialis* در جیره غذایی ماهی *Pseudosciaena crocea* فعالیت لیزوزیمی افزایش یافت. سطح لیزوزیم یکی از شاخص‌های مهم ایمنی طبیعی (Innate Immunity) در ماهی است که در اندام‌های زنده آن وجود دارد (Saurabh and Sahoo, 2008). مطالعات گذشته در پستانداران نشان داده است که

لیزوزیم می‌تواند توسط جیره‌های غذایی حاوی آستاگزانتین فعال شود (Chew et al., 2001; Park et al., 2011).

نقش مواد محرک عمدتا بالا بردن ایمنی غیراختصاصی است. سیستم ایمنی ماهی به علت کارایی بیشتر سیستم ایمنی غیراختصاصی نسبت به ایمنی اختصاصی (نسبت به جانوران خونگرم) تاثیر مواد محرک ایمنی را بیشتر نشان می‌دهد. لیزوزیم توسط نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها به داخل خون رها می‌شود (Sakai, 1999). در مطالعه حاضر، ماهیان تیمار ۱ بیشترین فعالیت لیزوزیمی را نسبت به شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ از خود نشان دادند. Li و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر آستاگزانتین و جلبک *Haematococcus pluvialis* بر روی ایمنوگلوبین کل ماهی *Pseudosciaena crocea* مورد بررسی قرار دادند که مقدار آن ناچیز بود. مطالعات گذشته درباره جانوران خونگرم نشان داد که بتاکاروتن و کانتاگزانتین می‌تواند تکثیر سلول‌های T و B را بهبود بخشد (Bendich and Shapiro, 1986) اما شواهدی که نشان دهد کاروتنوئید می‌تواند تولیدات ایمنوگلوبین را بهبود بخشد، یافت نشد. نتایج مطالعه حاضر عدم تاثیر معنی‌دار رنگدانه‌های استفاده شده بر کاروتنوئید کل را نشان داد و این در حالی است که تغذیه ماهی از منابع رنگدانه‌ای می‌تواند سبب افزایش کاروتنوئید کل خون شود. از سوی دیگر، طیف وسیعی از شاخص‌های محیطی و زیستی می‌تواند در این امر موثر باشد.

کاروتنوئیدها در پوست در قسمت زانتوفورها تجمع می‌یابند (Goodwin, 1984; Gourveia et al., 2003). رنگ‌پذیری توسط غدد درون‌ریز و سیستم عصبی کنترل می‌شود، اما منابع غذایی رنگدانه‌ای نیز در تعیین رنگ ماهی نقش دارند (Kop and Durmaz, 2008). در ماهیان جذب آستاگزانتین بیشتر از سایر کاروتنوئیدها است (Torrissen, 1989). نتایج به دست آمده از چهار مرحله عکس‌برداری از ماهی اسکار ببری مبین تاثیر مثبت رنگدانه‌ها بر رنگی شدن پوست ماهی است. که این نتایج با نتایج به دست آمده توسط سایر پژوهشگران مطابقت دارد (Sun et al., 2012; Azimi et al., 2014; Pham et al., 2014; Yi et al., 2014; Abbasi Aghda et al., 2016; Hasaniniya et al., 2016). بهبود رنگ و افزایش مقدار رنگ قرمز در ماهی کپور زینتی (Koi، *Cyprinus carpio* L.) بعد از مصرف جلبک اسپیرولینا و باکتری فتوسنتز کننده *Rhodopseudomonas palustris* گزارش شد (Sun et al., 2012). از سوی دیگر کاهش مقدار قرمزی (R) در مراحل

دوم و سوم عکس‌برداری در تیمار زردچوبه را می‌توان عدم توانایی ماهی در جذب و متابولیسم مناسب رنگدانه کورکومین موجود در زردچوبه بیان کرد که این امر سبب کاهش رنگ قرمز در پوست ماهی نسبت به سایر رنگدانه‌ها شد. تفاوت بین منابع رنگدانه‌ای مصنوعی و طبیعی در رنگ‌پذیری ماهیان را می‌توان با تفاوت کیفیت، مواد تشکیل دهنده و دوره انباشت این رنگدانه‌ها در بدن ماهی مرتبط دانست (Kop and Durmaz, 2008).

در مطالعه حاضر، رنگدانه آستاگزانتین عملکرد موثرتری نسبت به سایر منابع رنگدانه‌ای بر روی برخی از شاخص‌های رشد، ایمنی و رنگ‌پذیری ماهی اسکار ببری داشت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس که در این پژوهش ما را یاری نموده‌اند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

Abbasi Aghda M., Vosoughi A.R. and Matinfar A. 2016. Investigation on the effect of walnut green skin on coloration of oscar fish (*Astronotus ocellatus*). Marine Science and Technology Research, 11(1): 1–9.

Abdelghany A.E. and Ahmad M.H. 2002. Effects of feeding rates on growth and production of Nile tilapia, common carp and silver carp polycultured in fertilized ponds. Aquaculture Research, 33: 415–423.

Abdi A., Alishahi M. and Mesbah M. 2009. The effect of levamisole and ergosens on resistance to septicemia of aeromonies in oscar fish. Scientific Conference on the Development of Iran's Medicinal Plants, Tehran. 235P.

Alishahi M., Cheshme B., Payghan R., Ghorbanpour M. and Mohammadian T. 2014. Effects of three anesthetics: MS222, clove oil and 2-phenoxyethanol on some immunological parameters of *Cyprinus carpio*. Journal of Wetland Ecobiology, 5(18): 23–32.

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

Amaya E. and Nickell D. 2015. Using feed to enhance the color quality of fish and crustaceans. P: 269–298. In: Davis D.A. (Ed.). Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Woodhead Publishing, UK.

Azimi A., Taghizadeh V. and Imanpoor M.R. 2014. The effect of natural (red bell pepper and tomato) pigments on the variability in color of flower horn (*Cichlasoma* sp.). Journal of Animal Environment, 6(1): 19–25.

Beiranvand M., Ghaeni M. and Velayatzadeh M. 2015. Impact of *Spirulina* sp. on growth and food intake in (*Danio rerio* Hamilton, 1822). Nova Biologica Reperta, 2(3): 207–215.

Belay A. 2002. The potential application of *Spirulina* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. Journal of American Nutrition Association, 2: 26–50.

Bendich A. and Shapiro S.S. 1986. Effect of β-carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat. Journal of Nutrition, 116: 2254–2262.

Bolurian S.H., Khalilian S. and Khalilian M. 2013. Extraction of curcumin from *Curcuma longa*: Optimization condition of extraction with ultrasound waves by RSM. Electronic Journal of

Food Processing and Preservation, 5(2): 75–89.

Boonyaratpalin M. and Unprasert N. 1989. Effects of pigments from different sources on colour changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 79: 375–380 .

Chew B.P., Mathison B.D., Hayek M.G., Massimino S., Reinhart G.A. and Park J.S. 2001. Dietary astaxanthin enhances immune response in dogs. Veterinary Immunology and Immunopathology, 140: 199–206.

Clerton P.T.D., Verlhac V., Gabraudan J. and Deschaux P. 2001. Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: Effect on gut and on head kidney leucocytes. Fish and Shellfish Immunology, 11: 1–13 .

Ghiasvand Z. and Shapouri M. 2006. The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the albino oscar (*Astronotus ocellatus* sp., Agassiz, 1831). Marine Biology, 1(3): 78–85.

Goodwin T.W. 1984. The Biochemistry of the Carotenoids, Vol. 2, Animals. Chapman and Hall, UK. 224P.

Gourveia L.A.D., Rema P.B., Pereira O.B. and Empis J.C. 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. Aquaculture Nutrition, 9(2): 123–129.

Gupta S.K., Jha A.K., Pal A.K. and Venkateshwarlu G. 2007. Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. Natural Product Radiance, 6(1): 46–49.

Hasaniniya A., Vahabzadeh Roudsari H. and Sadeghpour A. 2016. Effect of pink leucantin on white oscar (*Astronotus ocellatus*) skin. Aquaculture Development, 10(1): 23–31.

Hayashi O., Hirahashi T., Katoh H., Miyajima H., Hirano T. and Okuwaki Y. 1998. Class specific influence of dietary *Spirulina platensis* on antibody production in mice. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 44(6): 841–851.

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, 80: 147–153.

Kamali M., Jorjani S. and Ghalichi A. 2014. The effect of adding ginger on specific growth rate and survival rate and hematological parameters of oscar fish. Second National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, Iran. 946P.

Klontz G.W. 1994. Fish hematology. P: 121–132. In: Stolen J.S., Fletcher C., Rowley A.F., Kelikoff

T.C., Kaatari S.L. and Smith S.A. (Eds.). Techniques in Fish Immunology, Vol. 3. SOS Publications Fair Haven, USA.

Kop A. and Durmaz Y. 2008. The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlasoma severum* sp., Heckel 1840). Aquaculture International, 16(2): 117–122.

Li M., Wu W., Zhou P., Xie F., Zhou Q. and Mai K. 2014. Comparison effect of dietary astaxanthin and *Haematococcus pluvialis* on growth performance, antioxidant status and immune response of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture, 434: 227–232 .

Liebler D.C. 1993. Antioxidant reactions of carotenoids. Annals of the New York Academy of Sciences, 691(1): 20–31.

Mazurkiewicz J., Przyby A. and Golski J. 2008. Usability of some plant protein ingredients in the diets of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt). Archives of Polish Fisheries, 17(2): 45–52.

Ojolick E.J., Cusack R., Benfey T.J. and Kerr S.R. 1995. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperatures. Aquaculture, 131: 177–187.

Park J.S., Mathison B.D., Hayek M.G., assimino S., Reinhart G.A. and Chew B.P. 2011. Astaxanthin stimulates cell-mediated and humoral immune responses in cats. Veterinary Immunology and Immunopathology, 144: 455–461.

Pham M.A., Byun H.G., Kim K.D. and Lee S.M. 2014. Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical composition of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture, 31: 65–72.

Regunathan C. and Wesley S.G. 2006. Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using *Spirulina* as a carotenoid source. Aquaculture Nutrition, 12(6): 425–432.

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

Rezaei M.H., Sourinejad I., Soltanian S. and Yousefzadi M. 2013. The effects of dietary *Zhumeria majdae* extract on growth indices, hematology and immunology of catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Aquatic Ecology, 3(1): 8–19.

Ronyai A., Peteri A. and Radics F. 1990. Cross breeding of starlet and Lena river sturgeon. Aquaculture, Hungrica Szarwas, 6: 13–18.

Sakai M. 1999. Current research status of fish immunistimulants. Aquaculture, 172: 63–92.

Sales J. and Janssens P.X. 2003. Nutrient requirements of ornamental fish. Aquatic Living Resources, 16: 533–540.

Salvador A.M., Alonso-Damian A., Choubert G., Milicua J.C.G. 2009. Impact of different dietary phospholipid levels on cholesterol and canthaxanthin lipoprotein-serum transport and muscle deposition in rainbow trout. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(5): 2016–2021.

Saurabh S. and Sahoo P.K. 2008. Lysozyme: An important defense molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research, 39: 223–239.

Siwicki A.K. and Anderson D.P. 1993. Non-Specific defence mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish diseases diagnosis and preventions methods. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodladowego, Poland. 111P.

Sun X., Chang Y., Ye Y., Ma Z.H., Liang Y., Li T., Jiang N., Xing W. and Luo L. 2012. The effect of dietary pigments on the coloration of Japanese ornamental carp (koi, *Cyprinus carpio* L.). Aquaculture, 342: 62–68.

Tacon A.G.J. 1990. Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Argent Laboratories Press, USA. 208P.

Tahami F.S. 2001. Therapeutic properties of *Spirulina* algae. Iranian South Medical Journal, 4: 60.

Thrall M.A. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA. 518P.

Torrissen O.J., Hardy R.W. and Shearer K.D. 1989. Pigmentation of salmonids- carotenoid deposition and metabolism. Reviews in Aquatic Science, 1: 209–225.

Tukmechi A., Rahmati H.R., Manaffar R. and Sheikhzadeh N. 2011. Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cervisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease. Fish and Shellfish Immunology, 30: 923–928.

Tyssandier V., Choubert G., Grolier P. and Borel P. 2002. Carotenoids, mostly the xanthophylls, exchange between plasma lipoproteins. International Journal for Vitamin and Nutrition Research, 72(5): 300–308.

UNEP. 2007. Monitoring of international trade in ornamental fish. United Nations Environment Programme- World Conservation Monitoring Centre. Retrieved from.http://ec.europa.eu/environment/cites/pdf/reports/ornamental_fish.pdf.

Van Het Hof K.H., West C.E., Weststrate J.A. and Hautvast J.G. 2000. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. The Journal of Nutrition, 130(3): 503–506.

Verakunpiriya V., Watanabe K., Mushiake K., Kawano K., Kobayashi T., Hasegawa I., Kiron V. and Satoh S., Watanabe T. 1997. Effect of krill meal supplementation in softdry pellets on spawning and quality of egg of yellowtail. Fisheries Science, 63: 433–439.

Verghese J. 1993. Isolation of curcumin from *Curcuma longs* L. rhizome. Flavour and Fragrance Journal, 8: 315–319.

Waagbo R., Hamre K., Bjerkas E., Berge R., Wathne E., Lio O. and Torstensen B. 2003. Cataract formation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolt relative to dietary pro and antioxidants and lipid level. Journal of Fish Diseases, 26: 213–229.

Wang H., Dudley A.W., Dupont J., Reeds P.J., Hachey D.L. and Dudley M.A. 1996. The duration of medium-chain triglycerides feeding determines brush border membrane lipid composition and hydrolase activity in newly weaned rats. The Journal of Nutrition, 126(5): 1455–1462.

Weber S. 1988. Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and premixes with HPLC. P: 59–61. In: Keller H.E. (Ed.). Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feeds. Roche Publication, Switzerland.

Yam K.A. and Papadakis S.E. 2004. A simple digital imaging method for measuring andanalyzing color of food surfaces. Journal of Food Engineering, 61: 137–142 .

Yi X., Xu Y., Zhou H., Zhang Y., Luo Y., Zhang W. and Mai K. 2014. Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker (*Larimichthys croceus*). Aquaculture, 433: 377–383.

Zhang J.S., Guan J., Yang F.Q., Liu H.G., Cheng X.J. and Li S.P. 2008. Qualitative and quantitative analysis of four species of *Curcuma* rhizomes using twice development thin layer chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 48: 1024–1028.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 7, No. 1, Spring 2019

Research Paper

Comparing effects of astaxanthin, turmeric and spirulina (*Spirulina platensis*) on growth, hematological and immunological parameters and coloration in the tiger oscar (*Astronotus ocellatus*)

Abbas Hamrang Omshi[1], Amir Houshang Bahri[2], Hossein Khara[3]*, Flora Mohammadizadeh[4]

Received: September 2017 Accepted: March 2018

Abstract

The present study aimed to determine the effects of 4 experimental diets including diets contain astaxanthin, turmeric and spirulina (100mg per Kg diet) and diet without adding pigment, on growth, hematological and immunological parameters and coloration of the tiger oscar (*Astronotus ocellatus*). For this purpose, 120 fingerlings of tiger oscar, with a mean weight of 7.5±0.5g, were fed with experimental diets for 8 weeks. At the end of this period, fish were sampled to measure the parameters. The results of data statistically analysis showed that there was a significant difference between the treatment fed with astaxanthin and other treatments in WG, FCR, SGR, BWI, length increase and lysozyme activity ($P<0.05$). However, there was no significant difference between treatments in other immunological parameters (total immunoglobulin, IgM), hematological parameters and total carotenoids ($P>0.05$). The results of this study showed that the pigments used can improve the growth, immunity and coloration factors of the tiger oscar. Among these pigments, astaxanthin has a better performance than other pigments.

Key words: *Astaxanthin, Oscar Fish, Turmeric, Spirulina Algae, Immunological Parameters*.

1- Ph.D. Student, Department of Fisheries, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.
2- Assistant Professor in Department of Fisheries, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.
3- Associate Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
4- Young Researchers and Elites Club, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: h.khara1974@yahoo.com