تغــذیه آبزیــان
سال چهارم، شماره دوم،
پاییز و زمستان ۱۳۹۷

مقایسه اثر رنگدانه آستازانتین، زردچوبه و جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر رشد، شاخص های ایمنی و رنگ پذیری ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*)

عباس همرنگ امشی[۱]، حسین خارا[۲*]، امیر هوشنگ بحری[۳]، فلورا محمدی زاده[۴]، عباس حسنی نیا[۱]
۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، گیلان
۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، گیلان
۳- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، هرمزگان
۴- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، هرمزگان

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۳۰

چکیده
در این مطالعه اثر چهار جیره آزمایشی شامل، جیره شاهد فاقد مواد رنگدانه ای، جیره حاوی آستازانتین، زردچوبه و جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) بر رشد، ایمنی و رنگ پذیری ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*) بررسی شد. به این منظور ۱۲۰ عدد ماهی اسکار سفید با وزن متوسط ۰/۵ ± ۷/۵ گرم در ۱۲ آکواریوم به تعداد مساوی ۱۰ ماهی در هر آکواریوم و به طور کاملاً تصادفی توزیع شدند. بعد از تیماربندی، ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی فاقد افزودنی رنگدانه‌ای، آستازانتین، پودر زردچوبه و پودر جلبک اسپیرولینا (هر یک به مقدار ۱۰۰ mg/kg) تغذیه شدند و در پایان دوره، شاخص‌های رشد، ایمنی و رنگ پذیری اندازه گیری و بررسی شدند. اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ mg/kg آستازانتین در همه شاخص‌های رشد به غیر از شاخص وضعیت مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری از نظر درصد بازماندگی و ضریب رشد در تیمار ۳، افزایش طول در تیمار ۲ و ضریب تبدیل در تیمار ۲ و ۳ با شاهد وجود داشت (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین فعالیت لایزوزیم در تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ mg/kg آستازانتین با دیگر تیمارها و شاخص ایمنی IgM بین شاهد و تیمار تغذیه شده با ۱۰۰ mg/kg اسپیرولینا مشاهده شد (p<۰/۰۵)، ولی در شاخص ایمنی ایمونوگلوبولین کل و میزان کاروتنوئید کل در خون، این اختلاف معنی دار نبوده است (p>۰/۰۵). اختلاف معنی داری در میزان شدت رنگ های اصلی و فرعی در برخی از تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد، رنگدانه‌های مورد استفاده می توانند سبب بهبود فاکتورهای رشد، ایمنی و رنگی شدن در ماهی اسکار سفید شوند که در بین این رنگدانه‌ها، آستازانتین عملکرد مطلوب‌تری نسبت به دیگر رنگدانه‌ها داشته است.

کلمات کلیدی: کاروتنوئید، آستازانتین، ماهی اسکار، زردچوبه، لایزوزیم

نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

رنگ ماهیان یکی از مهم‌ترین صفات کیفی آبزیان است و رنگدانه‌های موجود در رژیم غذایی مسئول ایجاد طیف گسترده‌ای از رنگ‌ها در آنها هستند (Sudagar et al. 2015). علاوه بر شکل بدن، شکل و اندازه باله، رنگ ماهیان زینتی از معیارهای کیفی مهم برای ارزش بازاری آنها به حساب می آیند. تغییر رنگ یک فرآیند پرهزینه در پرورش آبزیان محسوب می‌شود. بنابراین، با توجه به هزینه بالای ایجاد و حفظ کیفیت رنگ در آبزیان و همچنین، اهمیت رنگ در کیفیت و ارزش اقتصادی تولیدات آبزی‌پروری، مطالعه و شناخت عوامل موثر بر رنگزایی رنگدانه‌های کاروتنوئیدی اهمیت بسیاری دارد (اسلامی‌فر، ۱۳۹۶). منبع و غلظت کاروتنوئیدها نقش مهمی در رنگی شدن ماهی بازی می‌کنند (Gouveia and Rema, 2005). کاروتنوئیدها یکی از منابع اصلی تامین رنگ در بدن آبزیان به شمار می‌روند. رنگ‌های مختلف بدن آبزیان به وسیله کاروتنوئیدهای خاص و همچنین ترکیبی از مولکول‌های پروتئین-کاروتنوئید حاصل می شوند (Torrissen and Christiansen,1995). به‌کارگیری کاروتنوئیدها به لحاظ مزایای مختلف آنها در حیوانات خونگرم و آبزیان، از جمله تحریک رشد، ایمنی، افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و استرس‌ها و نیز ایجاد رنگ مناسب کاربرد زیادی یافته‌اند (Mashalchi et al. 2011). کاروتنوئیدها توسط مسیر ایزوپرنوئید تولید می‌شوند، مسیری که در طی آن، ترکیبات متنوعی همچون اسیدهای چرب ضروری، استروئیدها، استرول‌ها و ویتامین‌های E، D، A و K ساخته می‌شوند (Hatlen et al.1998). رابطه مستقیمی بین مصرف کاروتنوئید و رنگدانه‌های موجود در ماهیان وجود دارد. آستازانتین مهم‌ترین رنگدانه کاروتنوئیدی موجود در حیوانات آبزی است (Christiansen and Torrissen, 1997; Guerin et al. 2003). رنگدانه آستازانتین در بسیاری از سخت‌پوستان و ماهیان، به دلیل افزایش استفاده از مواد مغذی که نتیجه آن بهبود رشد است، از عوامل ضروری برای رشد محسوب می‌شود (تیزکار، ۱۳۹۲).

زردچوبه از دیرباز در طب سنتی هند (آیورودا)[1] از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده است (Verghese, 1993). در مکتب پیروان این طب، زردچوبه به عنوان آنتی بیوتیک، عامل کمکی در گوارش و تثبیت فلور روده، تصفیه کننده خون و خون ساز شناخته می‌شود. این گیاه سبب پیشبرد سوخت و ساز طبیعی بدن شده 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 اشاره کرد (Bolurian et al. 2013). جلبک سبز آبی اسپیرولینا حاوی مقدار زیادی پروتئین، اسیدهای چرب ضروری (گاما، لینولنیک اسید)، پلی-ساکاریدهای فیکوبیلی، پروتئین‌ها، بتاکاروتنوئید، ویتامین‌ها و مواد معدنی است (Peiretti and Meineri, 2008). از جلبک اسپیرولینا می‌توان به عنوان منبع جایگزین پروتئین استفاده کرد. همچنین، می‌توان از آن برای بهبود رنگ، بو و طعم گوشت استفاده کرد (Watanuki et al. 2006). محرک‌های ایمنی، عصاره‌های زیستی و ترکیبات شیمیایی هستند که واکنش‌های ایمنی را از طریق افزایش عملکرد بیگانه خواری سلول، افزایش فعالیت باکتری‌زدایی و یا سموم داخلی غیراختصاصی سلولی و تولید پادتن تحریک می‌کنند (Ahmadifar et al. 2009). رنگدانه‌های کاروتنوئیدی از طریق افزایش دستگاه کمپلمان و لایزوزیم باعث افزایش تعداد کل گلبول سفید و سلول‌های بیگانه خوار شده و از این طریق، باعث تحریک دستگاه ایمنی و افزایش ایمنی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند (Amar et al. 2004). لایزوزیم یک عنصر دفاعی در ماهی است که سبب تخریب دیواره باکتری‌ها می‌شود و با فعال‌سازی دستگاه کمپلمان و بیگانه‌خواری به عنوان یک اپسونین[2] عمل می‌کند (Magnadottri, 2006).

ماهی اسکار از شناخته‌ترین ماهیان زینتی گوشتخوار و از خانواده Cichlidae و دارای رنگ‌های مختلف است. با توجه به جذابیت بالای این ماهی در بین آکواریوم‌داران دنیا و ایران و لزوم توجه به رنگ در این ماهی که از جنبه بصری بسیار حائز اهمیت است، سعی بر این است تا با

[1] Ayurveda

[2] Opsonin

به‌کار بردن رنگدانه‌های مختلف، اثر آنها از زوایای مختلف بر روی این گونه ارزشمند بررسی شود تا این امر ضمن کاهش هزینه‌ها، منجر به تولید ماهیانی شود که هم از نظر زیبایی رنگ و هم از نظر مقاومت نسبت به عواملی از قبیل استرس و بیماری‌ها، زیباتر و مقاوم‌تر هستند. در این تحقیق، اثر رنگدانه مصنوعی آستازانتین در مقایسه با زردچوبه و جلبک اسپیرولینا بر شاخص‌های رشد، خونی، ایمنی و رنگ پذیری ماهی اسکار سفید بررسی شد.

مواد و روش ها

در این تحقیق، تعداد ۱۲۰ قطعه بچه ماهی اسکار سفید با وزن متوسط ۰/۵ ± ۷/۵ گرم و کاملاً همسن و حاصل تکثیر یک جفت مولد، بدون در نظر گرفتن جنسیت از یکی از مراکز تکثیر ماهیان زینتی در استان گیلان خریداری شد. به منظور سازگاری، ابتدا ماهی‌ها در مخازنی به مدت یک هفته قرنطینه و از غذای تجاری (بیومار، فرانسه) بدون افزودنی رنگدانه تغذیه شدند و سپس اقدام به تیماربندی آنها شد. در این تحقیق، از ۱۲ دستگاه آکواریوم به ابعاد ۳۳ × ۴۰ × ۵۰ سانتیمتر استفاده شد. ماهی‌ها به طور تصادفی به چهار تیمار در سه تکرار در ۱۲ آکواریوم (هر آکواریوم ۱۰ قطعه ماهی با حجم آبگیری ۶۶ لیتر) به شرح زیر تقسیم شدند:

تیمار شاهد: تغذیه با غذای بیومار بدون افزودنی رنگدانه
تیمار اول: تغذیه با غذای بیومار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین (Pham et al. 2014; Li et al. 2014)
تیمار دوم: تغذیه با غذای بیومار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پودر زردچوبه
تیمار سوم: تغذیه با غذای بیومار حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پودر جلبک اسپیرولینا

ماهی‌ها با غذای بیومار ساخت کشور فرانسه با پروتئین ۵۴٪، چربی خام ۱۸٪، سلولز ۱۰٪، خاکستر ۱۰٪ و فسفر کل ۱/۶٪، برای هر تیمار روزانه حدود ۳ ٪ وزن زنده و در دو نوبت (صبح و عصر) تغذیه شدند. طول دوره آزمایش ۸ هفته بود. آستازانتین با نام تجاری Lucantin Pink از شرکت BASF آلمان تهیه شد. این محصول با فرمول 3,3 ’-Dihydroxy-4,4’Dioxo-b-carotene و به صورت پودر بنفش با انـدازه ذرات کمتر از ۰/۶ میلی‌متر و کاملاً قابل حل در آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد است. پودر جلبک اسپیرولینا از پژوهشکده بیوتکنولوژی جهاد کشاورزی شمال غرب کشور در تبریز تهیه شد. پودر زردچوبه نیز از بازار تهیه شد. مقادیر رنگدانه مورد استفاده در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط دستگاه الکترومغناطیسی (Hot plate magnetic) و یک مگنت با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حل شد و سپس بر روی غذا، اسپری و غذای حاوی رنگدانه در دستگاه خشک کن با دمای ۴۰ درجه خشک شد و در محلی تاریک و خنک و سپس، در داخل فریزر قرار داده شد و فقط در مواقع غذادهی به میزان مورد نیاز برای تغذیه ماهیان استفاده شد.

میانگین دمای آب آکواریوم‌ها در طول دوره مطالعه ۱/۳۲ ± ۲۷/۱۵ درجه سانتی‌گراد و میانگین اکسیژن محلول ۳/۲۴ ± ۷/۶۳ میلی‌گرم در لیتر بود که با دستگاه اکسیژن‌متر دیجیتال (WTW Oxi 3205 SET3, Germany) اندازه‌گیری شد. میانگین pH ۰/۳۳ ± ۸/۰۳ و توسط دستگاه (JENWAY 370, UK) اندازه گیری شد. میانگین سختی آب (DH) ۰/۲۰ ± ۲۳۱/۹۹ میلی گرم در لیتر، آمونیاک قبل از غذادهی ۰/۱، و آمونیاک بعد از غذادهی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بود و اندازه‌گیری با استفاده از کیت (VAHEB, Iran) انجام شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و بازماندگی

در پایان دوره ۵۶ روزه، طول کل ماهیان با استفاده از خط‌کش با دقت میلی‌متر اندازه‌گیری شد و برای تعیین وزن از ترازوی دیجیتالی (Sartorius, Germany) با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. برای بررسی وضعیت رشد ماهی‌ها و عملکرد تیمارهای مختلف، شاخص‌های رشد شامل درصد بازماندگی (SVR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، وزن نهایی (WG) و شاخص کیفیت (K) به شرح زیر محاسبه شد:

$SVR^{1} = (S-D)/S \times 100$ (Mazurkiewicz et al. 2009)

S = تعداد نمونه های مورد آزمایش; D = تعداد تلفات

$BWI^{2} = 100 \times (BW_1 - BW_0)/BW_0$ (Hung et al. 1989)

BW_0 = متوسط وزن اولیه (گرم); BW_1 = متوسط وزن نهایی (گرم)

$FCR^{3} = (F/W_1-W_0)$ (Abdelghany and Ahmad, 2002)

F = مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی (گرم); W_0 = میانگین بیوماس اولیه (گرم); W_1 = میانگین بیوماس نهایی (گرم)

$SGR^{4} = [(LnW_1 - LnW_0) / t] \times 100$ (Ronyai et al. 1990)

W_0 = میانگین بیوماس اولیه (گرم); W_1= میانگین بیوماس نهایی (گرم); T = دوره زمانی (روز)

WG^{5} = وزن نهایی (گرم) - وزن اولیه (گرم) (Tacon,1990)

$K^{6} = (W/L^3) \times 100$ (Ojolick et al. 1995); W = وزن ماهی (گرم); L = طول نهایی ماهی (سانتی متر)

۱. Survival rate
2. Body Weight Increase
3. Food conversion ratio
4. Specific growth rate
5. Weight gain
6. K Index

شاخص‌های خون شناختی

برای سنجش شاخص‌های خون شناختی، در پایان ۵۶ روز و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، ۳ تا ۶ عدد از ماهیان هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و در عصاره پودر گل میخک (نیم میلی لیتر در یک لیتر آب) بیهوش شدند. سپس ماهیان را خشک کرده و خونگیری با استفاده از سرنگ‌های انسولین هپارینه از ساقه دمی انجام شد و نمونه های خون به میکروتیوب‌هایی که حاوی ۲۰ µL هپارین بود، منتقل شد. میکروتیوب‌ها شماره‌گذاری و برای انجام آزمایش‌های خون‌شناختی در مراحل بعد آماده‌سازی شدند (Thrall, 2004). برای انجام مطالعات سرم شناسی، خون موجود در میکروتیوب‌های فاقد ماده ضدانعقاد هپارین توسط سانتریفیوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus Sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند، سرم جدا و با سمپلر در اپندورف‌های تازه ریخته و در دمای ۸۰°C- نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری لایزوزیم از روش Clerton et al. 2001 استفاده شد. سنجش میزان ایمونوگلوبین (IgM) و ایمونوگلوبین کل به روش Siwicki و Anderson (۲۰۰۳) انجام شد.

سنجش کاروتنوئید کل و رنگ پذیری

برای سنجش کاروتنوئید کل از روش Weber (۱۹۹۸) استفاده شد. به این منظور ۰/۵ میلی لیتر سرم خون با ۱ میلی‌لیتر اتانول (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط و سپس ۱ میلی‌لیتر ان-هگزان به آن افزوده و به مدت یک دقیقه هم زده شد. جداسازی ان-هگزان توسط سانتریفوژ در دو مرحله با ۲۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه انجام شد. برای سنجش عصاره رنگدانه های کاروتنوئیدی، جذب در طول موج ۴۸۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV مشاهده و سپس با استفاده از ضریب محاسبه شد. برای اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در ماهی از روش توصیه شده توسط Yam و Papadakis (۲۰۰۴) استفاده شد. این روش مبتنی بر پردازش تصویر گرفته شده توسط دوربین دیجیتال با میزان نور و شرایط کاملاً مشابه است. به این منظور، تعداد ۶ قطعه ماهی از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و پس از بیهوش کردن ماهی‌ها در عصاره پودر گل میخک عکس‌برداری از آنها با دوربین ۱۲/۱ پیکسل Canon از فاصله ۳۰ سانتی‌متری از پهلوی چپ انجام شد. محل اندازه‌گیری شدت رنگ‌ها در ماهی اسکار، ساقه دمی یا منطقه (R,O) بود که یک نقطه مشترک برای تمام نژادهای اسکار است. عکس‌برداری اول، قبل از تغذیه از رنگدانه ها؛ دوم، ۱۰ روز بعد از غذادهی با رنگدانه‌ها و سوم، ۲۰ روز پس از آن انجام شد و برای تعیین جذب رنگ، عکس‌برداری چهارم، ۲۷ روز بعد از تغذیه از رنگدانه ها انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 20 تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف؛ برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene؛ برای مقایسه میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمایش چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

میانگین شاخص‌های رشد تیمارها در پایان دوره (۵۶ روز) در جدول ۱ آورده شده است. تجزیه و تحلیل آماری اختلاف معنی داری در شاخص‌های رشد (بازماندگی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، وزن نهایی و افزایش طول) بین شاهد و تیمار ۱ نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین، از لحاظ درصد بازماندگی و ضریب رشد در تیمار ۳، افزایش طول در تیمار ۲ با شاهد دارای اختلاف معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری بین شاهد و دیگر تیمارها در ضریب تبدیل مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). از نظر شاخص کیفیت، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۱ میانگین شاخص‌های رشد (Mean ± SD) در تیمارهای مختلف در مطالعه حاضر.

شاخص / تیمار	درصد بازماندگی (SVR)	درصد افزایش وزن بدن (BWI)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	ضریب رشد ویژه (SGR)	وزن نهایی (WG)	شاخص وضعیت (K)	افزایش طول (cm)
شاهد	۹۰ ± ۰^{c}	۱۱۱ ± ۱/۶۱^{b}	۱/۶۹ ± ۰/۲۴^{a}	۱/۳۲ ± ۰/۱۳^{b}	۸/۳۱ ± ۱/۲۳^{b}	۲/۷۰ ± ۰/۱۰	۱/۲۶ ± ۰/۱۰^{c}
تیمار ۱	۱۰۰ ± ۰^{a}	۳۰۷ ± ۰/۰۷ ^{a}	۰/۷۹ ± ۰^{d}	۲/۵۱ ± ۰^{a}	۲۳/۰۹ ± ۰^{a}	۲/۵۳ ± ۰/۰۹	۳/۵۶ ± ۰/۱۴^{a}
تیمار ۲	۹۰ ± ۰^{c}	۹۲ ± ۴/۸۴^{b}	۱/۲۰ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۱۶ ± ۰/۰۳^{b}	۶/۹۰ ± ۰/۳۲^{b}	۲/۳۴ ± ۰/۰۴	۱/۴۰ ± ۰^{b}
تیمار ۳	۹۳/۳۳ ± ۵/۷۷^{b}	۸۰ ± ۲/۹۰^{b}	۱/۱۲ ± ۰/۰۴^{bc}	۱/۰۶ ± ۰/۰۲^{c}	۶/۰۶ ± ۰/۲۱^{b}	۲/۴۰ ± ۰/۲۲	۱/۱۸ ± ۰/۲۱^{c}

حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

نتایج حاصل از سنجش شاخص‌های ایمنی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت لایزوزیمی، اختلاف معنی‌داری را بین شاهد و تیمار ۱ نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین، اختلاف معنی‌دار آماری بین شاهد با تیمار ۳ در IgM مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری از لحاظ ایمونوگلوبولین کل مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲ جدول ۲ میانگین شاخص های ایمنی (Mean ± SD) در تیمارهای مختلف در مطالعه حاضر.

شاخص / تیمار	IgM (mg/dL)	ایمونوگلوبین کل (mg/mL)	لایزوزیم (µg/mL)
شاهد	۱۵/۳۵ ± ۱/۹۰^{bc}	۱۶/۹۰ ± ۱/۹۷	۲۴ ± ۱/۶۵^{bc}
تیمار ۱	۱۳/۳۰ ± ۱/۸۰^{c}	۱۸/۶۰ ± ۱/۸۰	۵۶ ± ۱/۸۲^{a}
تیمار ۲	۱۷/۲۰ ± ۱/۱۳ ^{abc}	۲۰/۶۰ ± ۱/۸۰	۲۲ ± ۰/۷۰^{c}
تیمار ۳	۲۰/۳۵ ± ۱/۳۳^{a}	۲۲ ± ۱/۶۵	۲۷ ± ۱/۸۲^{bc}
شاهد	۱۵/۳۵ ± ۱/۹۰^{bc}	۱۶/۹۰ ± ۱/۹۷	۲۴ ± ۱/۶۵^{bc}

حروف متفاوت (a-c) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار هستند ($p<۰/۰۵$).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئید کل و تغییرات شدت رنگ‌های اصلی و فرعی در چهار مرحله در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاروتنوئید کل خون اختلاف معنی‌دار آماری بین شاهد و دیگر تیمارها نشان نداد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۳ میانگین کاروتنوئید کل و تغییرات شدت رنگ‌های اصلی و فرعی (Mean ± SD) در تیمارهای مختلف در مطالعه حاضر.

تیمار	کل کاروتنوئید (µg/mL)	مراحل رنگ‌سنجی	R[۱]	G[۲]	B[۳]	C[۴]	M[۵]	Y[۶]	K[۷]
شاهد	۳/۷ ± ۰/۲۸^{a}	اول	۱۷۹ ± ۱/۴۹^{a}	۱۴۰ ± ۱/۸۶^{a}	۱۲۳ ± ۱/۰۳^{a}	۱۶/۹ ± ۱/۲^{a}	۴۲/۵۵ ± ۱/۹^{a}	۴۴/۳۳ ± ۲/۹۶^{a}	۹/۲۲ ± ۲/۰۷^{a}
		دوم	۱۸۴/۷۲ ± ۲/۳۲^{bc}	۱۴۳/۸۹ ± ۴/۲۴^{d}	۱۷۳/۲۲ ± ۲/۳۷^{c}	۲۰/۴۴ ± ۲/۲۱^{b}	۲۱/۷۷ ± ۴/۱۱^{a}	۴۲/۹۹ ± ۱/۴۸^{a}	۳/۳۳ ± ۱^{bc}
		سوم	۲۰۶/۷۷ ± ۱/۹۸^{b}	۱۹۷/۶۶ ± ۳/۶۵^{cd}	۲۲/۶۵ ± ۱/۸۵^{a}	۱۸/۹۹ ± ۱/۵۲^{bc}	۵۵/۷۷ ± ۳/۷۴^{c}	۹۷ ± ۱^{b}	۱۰/۳۳ ± ۲/۶۴^{c}
		چهارم	۱۷۸/۱۱ ± ۲/۴۷^{a}	۱۲۱/۳۳ ± ۲/۴۵^{b}	۷۸/۲۲ ± ۱/۳۰^{b}	۲۳/۲۱ ± ۱/۳۵^{d}	۴۱/۲۲ ± ۲/۵۴^{a}	۷۱/۳۳ ± ۱/۸۷^{a}	۱۳/۵۵ ± ۲^{d}
تیمار ۱	۵/۱ ± ۰/۱۴^{a}	اول	۱۷۹/۷۲ ± ۱/۳۳^{a}	۱۴۰/۲۴ ± ۱/۳۱^{a}	۱۲۳/۴۸ ± ۰/۳۹^{a}	۱۶/۹۲ ± ۰/۲۷^{a}	۴۲/۵ ± ۱/۱۷^{a}	۴۳/۲۱ ± ۰/۳۴^{a}	۹/۳۳ ± ۱/۸۶^{a}
		دوم	۲۰۹/۱ ± ۲/۵۱^{bc}	۹۱/۳۳ ± ۲/۶۶^{a}	۳۳/۶۶ ± ۲/۷۲^{a}	۱۵/۱ ± ۲/۳۳^{d}	۷۱/۹۹ ± ۱/۴۸^{c}	۹۰/۳۳ ± ۱/۸۷^{d}	۳/۵۵ ± ۲/۸۳^{bc}
		سوم	۲۲۹ ± ۲/۸۸^{d}	۱۰۴/۹۹ ± ۱/۴۵^{b}	۴۱/۱ ± ۱/۲۵^{b}	۱۱/۹۹ ± ۰^{ab}	۷۳/۷۷ ± ۱/۵^{bc}	۹۴/۲۲ ± ۲/۳۱^{cd}	۰/۲۲ ± ۰^{a}
		چهارم	۲۲۳/۳۳ ± ۲/۷۲^{c}	۷۵/۱۰ ± ۲/۱۵^{a}	۱۵/۴۴ ± ۱/۴۱^{a}	۶/۱۰ ± ۱/۲۶^{cd}	۸۱/۵۵ ± ۳/۶۷^{d}	۹۷/۳۲ ± ۱/۰۴^{b}	۰/۷۷ ± ۰/۱^{ab}
تیمار ۲	۳/۳۵ ± ۰/۷۷^{a}	اول	۱۷۹/۲۲ ± ۱/۲۲^{a}	۱۴۰/۷۲ ± ۰/۸۲^{a}	۱۲۳/۱۲ ± ۱/۱۴^{a}	۱۶/۳۵ ± ۰/۸۸^{a}	۴۲ ± ۱/۳^{a}	۴۳/۳۹ ± ۱/۰۱^{a}	۹/۲۱ ± ۱/۲^{a}
		دوم	۱۹۳/۸۹ ± ۱/۱۷^{b}	۱۵۳/۴۴ ± ۱/۱۶^{b}	۱۰۴/۶۶ ± ۱/۹۳^{c}	۱۴/۶۶ ± ۱/۲^{b}	۳۲/۳۳ ± ۲/۳۳^{ab}	۵۳/۹۹ ± ۱/۶۶^{ab}	۵/۵۵ ± ۱/۹۵^{c}
		سوم	۱۹۹/۲۲ ± ۲/۴۵^{c}	۱۶۲/۱۱ ± ۱/۲۲^{c}	۱۰۹/۸۸ ± ۱/۷۸^{d}	۱۷/۶۶ ± ۰/۳۳^{c}	۳۴/۹۹ ± ۱/۶۳^{a}	۵۵/۶۶ ± ۱/۲۹^{a}	۶/۴۴ ± ۱/۲۶^{b}
		چهارم	۱۸۰/۷۷ ± ۲/۴۹^{a}	۱۴۰/۴۶ ± ۱/۸۹^{b}	۸۰/۲۲ ± ۲/۶۷^{b}	۲۱/۵۵ ± ۱/۱۶^{d}	۴۲/۷۷ ± ۱/۹۶^{ab}	۷۰/۵۵ ± ۱/۴۴^{a}	۱۲/۴۴ ± ۱/۳۸^{d}
تیمار ۳	۳ ± ۰/۷^{a}	اول	۱۷۹ ± ۱/۴۵^{a}	۱۴۰/۲۸ ± ۰/۱۳^{a}	۱۲۳/۵ ± ۰/۷۶^{a}	۱۶/۹ ± ۱/۳۱^{a}	۴۲/۷ ± ۱/۱^{a}	۴۳/۴ ± ۱/۲۹^{a}	۹/۲۱ ± ۱^{a}
		دوم	۱۶۴/۵۵ ± ۲/۶۸^{a}	۱۰۵/۳۳ ± ۲/۲۵^{a}	۳۶/۶۶ ± ۳/۴۸^{a}	۲۰/۹۹ ± ۱/۸۷^{b}	۵۷/۴۴ ± ۲/۷۵^{c}	۹۲/۲۱ ± ۱/۷^{c}	۱۵/۳۳ ± ۲/۳^{c}
		سوم	۱۷۰/۵۵ ± ۱/۳۳^{a}	۱۰۷ ± ۱/۷^{bc}	۳۷/۵۵ ± ۱/۵^{ab}	۲۱/۸۸ ± ۱/۵۷^{c}	۶۲/۱ ± ۱/۳۴^{c}	۹۴/۵۵ ± ۲^{bc}	۱۶/۳۳ ± ۱/۴۵^{b}
		چهارم	۲۰۲/۲۶ ± ۱/۰۹^{b}	۱۵۴/۳±۷۷/۶۱^{c}	۷۴/۲۱ ± ۲/۴۹^{bc}	۱۵/۱ ± ۲/۹۷^{d}	۴۳/۳۳ ± ۲/۰۸^{ab}	۷۷/۸۸ ± ۲/۷۵^{a}	۱/۷ ± ۱/۷۱^{c}

حروف متفاوت (a-d) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

۱. Red
۲. Green
۳. Blue
۴. Cyan
۵. Magenta
۶. Yellow
۷. Black

تغییرات شدت رنگ های اصلی(RGB) و رنگ های فرعی(CMYK) در چهار مرحله عکس‌برداری

در اولین مرحله از عکس‌برداری، ماهیان از غذای رنگدانه‌ای تغذیه نشدند. در نتیجه، اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان رنگ های اصلی و فرعی در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (p>۰/۰۵؛ جدول ۴).

با توجه به اینکه در عکس‌برداری دوم (۱۰ روز بعد از تغذیه با رنگدانه) ماهیان از غذای رنگدانه‌ای تغذیه شدند، در نتیجه، رنگ اصلی قرمز (R) در تیمارهای مختلف افزایش داشت ولی اختلافی بین شاهد با دیگر تیمارها به جز تیمار ۳ مشاهده نشد. در رنگ‌های اصلی (G, B) در برخی تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری بین شاهد و دیگر تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵). در رنگ‌های فرعی (CMY) در برخی تیمارها اختلاف معنی‌داری بین شاهد و دیگر تیمارها مشاهده شد. این در حالی است که اختلاف معنی‌داری در رنگ فرعی (K) بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. تیمارها اختلاف معنی‌داری را با رنگ‌های اصلی G, B و رنگ‌های فرعی نشان دادند. جز تیمار تغذیه شده با زردچوبه که کاهش مقدار رنگ قرمز (R) در مرحله دوم و سوم مشاهده شد، در بقیه تیمارها افزایش رنگ قرمز دیده شد. در کلیه مراحل عکس‌برداری، ضریب R در رنگ‌های اصلی و ضریب Y در رنگ‌های فرعی بیشترین افزایش رنگ را در ناحیه مذکور داشتند (جدول ۴).

در مراحل سوم و چهارم عکس‌برداری به ترتیب پس از ۲۰ و ۲۷ روز بعد از تغذیه با رنگدانه، تغییرات معنی‌داری در رنگ‌های RGB در برخی از تیمارها با شاهد مشاهده شد. در رنگ‌های فرعی نیز بجز رنگ فرعی C که اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نداد، در برخی دیگر از رنگ‌های فرعی (MYK) اختلاف معنی‌داری بین شاهد با دیگر تیمارها مشاهده شد (p<۰/۰۵؛ جدول ۴).

شکل ۱ اسکار سفید تغذیه شده با غذای شاهد

شکل ۲ اسکار سفید تغذیه شده با آستازانتین

شکل ۳ اسکار سفید تغذیه شده با زردچوبه

شکل ۴ اسکار سفید تغذیه شده با اسپیرولینا

بحث

رنگ در ماهیان زینتی، یک عامل موثر بر قیمت ماهی بوده و نقش اساسی در تخمین ارزش کلی آن ایفا می‌کند (Gouveia and Rema, 2005). الگوهای بارز رنگ در ماهی، در نتیجه ترکیب چندین نوع کروماتوفور که معمولاً در پوست یافت می‌شوند، به دست می‌آیند (Fujii, 1993). در این تحقیق بیشترین درصد بازماندگی در تیمار تغذیه شده با آستازانتین مشاهده شد و کمترین آن مربوط به شاهد و تیمار تغذیه شده با زردچوبه بود. بیشترین درصد افزایش وزن بدن، کمترین میزان ضریب تبدیل، بیشترین ضریب رشد ویژه، وزن نهایی و افزایش طول نسبت به شاهد در تیمار تغذیه شده با آستازانتین ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد. بررسی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان از بهبود شاخص‌های رشد توسط آستازانتین مصنوعی نسبت به دو رنگدانه طبیعی مورد استفاده دارد. Verakunpiriya و همکاران در سال ۱۹۹۷ بیان کردند که منابع رنگدانه‌ای می‌توانند شاخص‌های رشد را بهبود بخشند. همچنین نتایج مشابهی توسط Beiranvand و همکاران (۲۰۱۵) با افزودن پودر جلبک اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی زبرا دانیو (*Danio rerio* Hamilton, 1822) به دست آمد.

Amar و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که کاروتنوئیدها قادرند رشد، ایمنی و بقای ماهی را بهبود بخشند و از سوی دیگر، می‌توانند از اثرات مضر اکسیداسیون چربی محافظت کنند (Liebler, 1993; Waagbo et al. 2003). آستازانتین مصنوعی اثربخشی بیشتری نسبت به آستازانتین منبع جلبکی از خود باقی می‌گذارد (Sommer et al. 1991). درک فرآیندهای درگیر در جذب، انتقال و تجزیه کاروتنوئیدها در تعیین قابلیت زیستی کاروتنوئیدها از منابع مختلف مهم است. واژه قابلیت زیستی اشاره به این امر دارد که چه مقدار از کاروتنوئید مصرفی، در دسترس عملکردهای فیزیکوشیمیایی معمول، سوخت و ساز و ذخیره سازی قرار می‌گیرد. جذب، در برگیرنده حرکت کاروتنوئیدها از سلول‌های موکوسی به داخل دستگاه لنفاوی است (Canene-Adams and Erdman, 2009). جذب کاروتنوئیدها در روده با مکانیسم انتشار غیرفعال صورت می‌گیرد که شامل مراحل شکستن ترکیبات پیچیده غذا، انحلال کاروتنوئیدها درون نمک‌های صفراوی، حرکت از میان لایه آبی غیرقابل حل در مجاورت میکروویلی، جذب توسط سلول‌های روده‌ای[1]و کیلومیکرون‌ها[2] است (White et al. 2003). اطلاعات کمی در مورد تاثیر زردچوبه در جیره غذایی ماهیان بر عملکرد رشد و ایمنی ماهی وجود دارد. Boonyaratpalin و Unprasert (۱۹۸۹) در بررسی تاثیر رنگدانه‌های مختلف بر روی ماهی تیلاپیای قرمز دریافتند که زردچوبه می‌تواند از رشد ماهی ممانعت کند. از طرف دیگر، این محققان بیان کردند، زردچوبه فاقد ارزش غذایی و رنگی است. افزودن بیش از ۱٪ زردچوبه به جیره غذایی ماهی کپور معمولی باعث کاهش عملکرد رشد در این ماهی می‌شود (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۶). از سوی دیگر Mahmmod و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از ۰/۵٪ زردچوبه در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌تواند شاخص‌های رشد را بهبود بخشد. دلیل این عدم تطبیق را شاید بتوان به استفاده از دوز بالا و همچنین تفاوت در گونه ماهی، سن، وزن و شرایط پرورش دانست. در تحقیق حاضر اسکارهای سفید تغذیه شده با آستازانتین دارای بالاترین BWI، SGR، WG و افزایش طول و کمترین FCR نسبت به شاهد، زردچوبه و جلبک اسپیرولینا بودند. به نظر می‌رسد افزودن رنگدانه آستازانتین در جیره غذایی این گروه از ماهیان در بهبود شاخص‌های رشد موثر است. این امر را می‌توان به جذب و انباشت بیشتر آستازانتین نسبت به دیگر کاروتنوئیدها (Torrisen, 1989)، تفاوت کیفیت، مواد تشکیل دهنده و دوره انباشت منابع رنگدانه-ای مصنوعی و طبیعی مرتبط دانست (Kop and Durmaz, 2008).

سطح لایزوزیم یکی از شاخص‌های مهم ایمنی ذاتی[3] در ماهی است که در اندام‌های زنده آن توزیع شده است (Saurabh and Sahoo, 2008). مطالعات گذشته در پستانداران نشان می‌دهد که لایزوزیم می‌تواند توسط جیره‌های غذایی حاوی آستازانتین فعال شود (Park et al. 2011; Chew et al. 2011). Li و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند با افزایش سطوح آستازانتین و *Haematococcus pluvialis* در جیره غذایی ماهی شوریده زرد[4] (*Pseudosciaena crocea*)، فعالیت لایزوزیمی افزایش می‌یابد. همچنین، تغذیه ماهی روهو (*Labeo rohita*) با زردچوبه به مقدار ۱ گرم در کیلوگرم جیره غذایی می‌تواند بیشترین محافظت در برابر چالش آسیب شناسی را فراهم کند (Sahu et al. 2008). برخی تحقیقات نشان می‌دهند که تغذیه با اسپیرولینا در ماهی و ماکیان می‌تواند مقاومت بدن در برابر بیماری‌ها را افزایش داده و درصد بازماندگی و رشد را بهبود بخشد و از سوی دیگر می‌تواند عملکرد دستگاه ایمنی را ارتقا دهد (Hayashi, 1998: Belay, 2002).

نقش مواد محرک عمدتاً بالا بردن ایمنی غیراختصاصی است (Sakai, 1999). دستگاه ایمنی ماهی به علت کارایی بیشتر دستگاه ایمنی غیراختصاصی نسبت به ایمنی اختصاصی (نسبت به حیوانات خونگرم) تاثیر مواد محرک ایمنی را بیشتر نشان می‌دهد. لایزوزیم توسط نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها به داخل خون رها می‌شود (Sakai, 1999). در تحقیق حاضر ماهیان تیمار ۱ بالاترین فعالیت لایزوزیمی را نسبت به شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ از خود نشان دادند. Teodoresco (۱۹۸۵) نشان

۱. Enterocyte
۲. Chylomicrons
۳. Innate immunity
۴. Large yellow croaker

داد مصرف جیره‌های غذایی غنی از آنتی اکسیدان سبب افزایش فعالیت دستگاه ایمنی بدن آبزیان در برابر رادیکال‌های آزاد می‌شود. همچنین، بیشترین میزان IgM در تیمار تغذیه شده با اسپیرولینا مشاهده شد. Li و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر آستازانتین و *Haematococcus pluvialis* بر روی ایمونوگلوبین کل ماهی شوریده زرد را بررسی کردند که اثر آن کم بوده است. تحقیقات گذشته درباره حیوانات خونگرم نشان داد که بتاکاروتن و کانتاگزانتین می‌تواند تکثیر سلول‌های B و T را بهبود بخشد (Bendich and Shapiro, 1986)، اما شواهدی که نشان دهد کاروتنوئید می‌تواند تولیدات ایمونوگلوبین را بهبود بخشد، یافت نشد. نتایج تحقیق 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 عوامل محیطی و زیستی می‌توانند در افزایش کاروتنوئید کل خون موثر باشند.

نتایج حاصل از چهار مرحله عکس‌برداری نشان‌دهنده تاثیر مثبت رنگدانه‌ها بر رنگی شدن پوست ماهی بوده است که این نتایج با نتایج به دست آمده توسط دیگر محققان مطابقت دارد (Sun et al. 2012; Azimi et al. 2014; Pham et al. 2014). بیشترین میزان رنگ، در رنگ‌های اصلی در ضریب R و در رنگ‌های فرعی در ضریب Y مشاهده شد. در تحقیق حاضر، افزایش ضریب R که تحت تاثیر استفاده از رژیم‌های غذایی رنگدانه‌ای است، در طی مراحل چهارگانه عکس‌برداری مشهود بوده است و از طرف دیگر، با افزایش میزان قرمزی از میزان ضریب G و B کاسته شده است. در رنگدانه‌های فرعی میزان ضریب Y در طی مراحل افزایش یافته و از میزان دیگر ضرایب کاسته شده است که این امر نشان می‌دهد با افزایش تغذیه ماهی از غذاهای حاوی رنگدانه، شدت رنگ زرد افزایش می‌یابد (غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۸). در بررسی تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی در ماهی اسکار، بیشترین تغییر رنگ پوست در ماهی‌های تغذیه شده با آستازانتین مشاهده شد. همچنین، نواحی رنگی در تمام تیمارها تقریبا مشابه بوده، به طوری که ابتدا لکه‌های ساقه دمی و سپس سینه‌ای و شکمی رنگ بیشتری داشته‌اند. رنگ‌پذیری ماهیان علاوه بر عوامل زیستی، تحت تاثیر رنگدانه جیره، غلظت رنگدانه، طول مدت غذادهی و ترکیب جیره قرار دارد. اگر چه در تحقیق حاضر آستازانتین تغییرات مطلوب‌تری نسبت به رنگدانه-های طبیعی مورد استفاده از خود نشان داد، ولی دیگر رنگدانه‌ها نیز اثر مثبت و قابل قبولی را در برخی از شاخص‌های رشد، ایمنی و رنگ پذیری داشته‌اند و می-توان با بررسی اثرات استفاده ترکیبی رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و تعیین دوزهـای منـاسب، ضمن بهره‌مندی از ترکیبات طبیعی موثره آنها به کاهش هزینه های تولید کمک کرد.

منابع

اسلامی‌فر، ا. ۱۳۹۶. نقش عوامل تغذیه ای و گوارشی در میزان رنگزایی کاروتنوئیدها در آبزیان. بهره برداری و پرورش آبزیان ۶: ۳۹-۳۱.

تیزکار، ب. ۱۳۹۲. اثرات فیزیولوژیک کاروتنوئیدهای آستازانتین و بتاکاروتن بر فعالیت های تولید مثلی و رشد ماهی طلایی ماده. پایان نامه دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۵۸ ص.

غیاثوند، ز.، شاپوری، م. ۱۳۸۸. تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آنها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus* sp). مجله بیولوژی دریا ۱: ۸۳-۷۵.

قاسمی، ا.، مازندرانی، م.، سوداگر، م.، حسینی، س.م. ۱۳۹۶. اثر افزودن زردچوبه (*Curcuma longa*) در جیره بر عملکرد رشد و بقاء در برابر تنش شوری در کپـور معمـولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه بهره‌برداری و پرورش آبزیان ۲: ۳۰-۲۱.

Abdelghany, A.E., 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.

Ahmadifar, E., Takami, G.A., Sudagar, M. 2009. Growth performance, survival and immunostimulation, of beluga (*Huso huso*) juvenile following dietary administration of alginic acid

(Ergosan). Pakistan Journal of Nutrition 8: 227-232.

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

Amar, E.C., Kiron,V, Satoh, S., Watanabe, T. 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish and Shellfish Immunology 16: 527-537.

Azimi, A., Taghizadeh, V., Imanpoor, M.R. 2013. 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: 19-25.

Beiranvand, M., Ghaeni, M., Velayatzadeh, M. 2015. Impact of *Spirulina* sp. on growth and food intake in *Danio rerio* Hamilton, 1822. Nova Biologica Reperta 2: 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., Shapiro, S. 1986. Effect of beta-carotene and canthaxanthin on the immune responses. Journal of Nutrition 116: 2254-2262 .

Bolurian, S.H., Khalilian, S., Khalilian M. 2013. Extraction of curcumin from *Curcuma longa*: Optimization condition of extraction with ultrasound waves by RSM. EJFPP 5: 75-89.

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

Canene-Adams, K., Erdman, J.W. 2009. Absorption, transport, distribution in tissues and bioavailability *Carotenoids*. In: Britton, G., Pfander, H., Liaaen-Jensen, S. (eds) Carotenoids. Carotenoids, vol 5. Birkhäuser Basel 115-148.

Chew, B.P., Mathison, B.D., Hayek, M.G., Massimino, S., Reinhart, G.A., Park, J.S. 2011. Dietary astaxanthin enhancesimmune response in dogs. Veterinary Immunology and Immunopathology 140: 199-206.

Christiansen, R., Torrissen, O.J. 1997. Effects of dietary astaxanthin supplementation on fertilization and egg survival in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture 153: 51-62.

Clerton, P., Troutaud, D., Verlhac, V., Gabaudan, J., 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.

Fujii, R. 2000. The regulation of motile activity in fish chromatophores. Pigment Cell Research 13: 300-319.

Gouveia, L., Rema, P. 2005. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. Aquaculture Nutrition 11: 19-23.

Guerin, M., Huntley, M.E., Olaizola, M. 2003. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. Trends in Biotechnology 21: 210-216.

Hatlen, B., Jobling, M., Bjerkeng, B. 1998. Relationships between carotenoid concentration and colour of fillets of Arctic chair, *Salvelinus alpinus* (L.), fed astaxanthin. Aquaculture Research 29: 191-202.

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

Hung, S.S., Lutes, P.B., Conte, F.S., Storebakken, T. 1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub-yearlings at

different feeding rates. Aquaculture 80: 147-153.

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

Li, M., Wu, W., Zhou, P., Xie, F., Zhou, Q., 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: 20-31.

Magnadóttir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology, 20: 137-151.

Mahmoud, M., El-Lamie, M., Dessouki, A., Yusuf, M. 2014. Effect of turmeric (*Curcuma longa*) supplementation on growth performance, feed utilization, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Pseudomonas fluorescens* challenge. Global Research Journal of Fishery Science and Aquaculture 1: 26-33.

Mashalchi, M., Alishahi, M., Javaheri Baboli, M., Hejazi, M.A. 2011. Evaluation of the effect of oral administration of astaxanthin on some immunological factors (lysozyme activity and anti-bacterial strength of serum and mucus) Albino oscar fish *Astronorus ocellatus.* Fisheries and Aquaculture Conference 1-15.

Mazurkiewicz, J., Przybył, A., Golski, J. 2009. Usability of some plant protein ingredients in the diets of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt. Archives of Polish Fisheries 17: 45-52.

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

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

Peiretti, P., Meineri, G. 2008. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. Livestock Science 118: 173-177.

Pham, M.A., Byun, H.G., Kim, K.D., 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 431: 65-72.

Ronyai, A., Peteri, A., Radics, F. 1990. Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. Aquaculture Hungrica (Szarwas) 6: 13-18.

Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Samal, S.K., Sarangi, N. 2008. Effect of dietary *Curcuma longa* on enzymatic and immunological profiles of rohu, *Labeo rohita* (Ham.), infected with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture Research 39: 1720-1730.

Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172: 63-92.

Saurabh, S., Sahoo, P. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture Research 39: 223-239.

Siwicki, A.K., 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 level in erum. Disease diagnosis and prevention methods (pp. 105-112). Olsztyn, Poland: FAO-project GCP/INT/JPA, IFI.

Sommer, T.R., Potts, W.T., Morrissy, N.M. 1991. Utilization of microalgal

astaxanthin by rainbow trout. Aquaculture 94: 79-88.

Sudagar, M., Fiuz bakhsh, S., Zakariaee, H. 2015. The use of carotenoids and their importance in aquaculture. Ornamental Aquatic 2: 15-27.

Sun, X., Chang, Y., Ye, Y., Ma, Z., Liang, Y., Li, T., 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. 1990. Standards Methods for the Nutrition and Feeding Of Farmed Fish and Shrimp: Argent Laboratories Press. 208 p.

Thrall, M., Baker, D., Compbell, T., Denicola, D., Fettman, M., Lassen, E., Weiser, G. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins. 544p.

Tizkar, B. 2012. The Physiological effects of Carotenoids astaxanthin and beta-carotene on the activities of reproduction and growth of goldfish (*Carassius auratus*). Ph.D. Thesis. Faculty of Fisherise and Environment. Gorgan University of Agriculture Sciences and Natural Recourses. 148 p.

Torrissen, O., Christiansen, R. 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. Journal of Applied Ichthyology 11: 225-230.

Verakunpiriya, V., Watanabe, K., Mushiake, K., Kawano, K., Kobayashi, T., Hasegawa, I., Kiron, V., 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 longa* L. rhizome. Flavour and Fragrance Journal 8: 315-319.

Waagbø, R., Hamre, K., Bjerkås, E., Berge, R., Wathne, E., Lie, Ø., Torstense, 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.

Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A.C. M.A., Kato, T., Sakai, M. 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture 258: 157-163.

Weber, S. 1988. Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and premixes with HPLC. In Keller, H.E. (Ed.), Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feeds Roche Publication No. 2264, Basel, Switzerland, 59-61.

White, D., Moody, A., Serwata, R., Bowen, J., Soutar, C., Young, A., Davies, S. 2003. The degree of carotenoid esterification influences the absorption of astaxanthin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition 9: 247-251.

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

Zhang, J., Guan, J., Yang, F., Liu, H., Cheng, X., Li, S. 2008. Qualitative and quantitative analysis of four species of *Curcuma* rhizomes using twice development thin layer chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 8: 1024-1028.

Comparing effects of astaxanthin, turmeric and *Spirulina platensis* on growth, immunological parameters and coloration in white Oscar, *Astronotus ocellatus*

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

1- Young Researchers and Elites Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Guilan, Iran

2- Department of Fisheries, College of Natural Resources, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Guilan, Iran

3- Department of Fisheries, College of Agriculture, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Hormozgan, Iran

4- Young Researchers and Elites Club, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Hormozgan, Iran

Received 23 March 2018; accepted 21 August 2018

Abstract

The present study aimed to determine the effects of four experimental diets on growth, immunological parameters, and coloration of the white Oscar, *Astronotus ocellatus* (Agassiz in Spix and Agassiz, 1831). So that, 120 individuals, with an average weight of 7.5 ± 0.5 g, were randomly distributed in 12 aquaria (10 fish in each aquarium). The fish were fed with 4 diets as follows: pigment-free (as the control), astaxanthin, turmeric powder, and spirulina powder (100 mg kg^{-1}) for eight weeks. At the end of the experiment, growth and immunological indices, as well as coloration were measured. There was a significant difference between control and the astaxanthin treatment in all growth indices except for condition factor ($p<0.05$). There were also significant differences between control and the spirulina treatment in the survival rate and growth rate; between control and the turmeric treatment in the increased length; and between control and turmeric and spirulina treatments in food conversion ratio ($p<0.05$). The results also indicated that there was a significant difference between the astaxanthin treatment and other treatments in lysozyme activity as well as between control and the spirulina treatment in terms of IgM level ($p<0.05$). However, such a significant difference was not observed in total immunoglobulin and total carotenoids ($p>0.05$). There was a significant difference between some treatments in the intensity of primary and secondary colors ($p<0.05$). The findings exhibited that all three types of pigments employed in this study could improve the growth factors, immunological parameters, and coloration of white Oscar; however, astaxanthin outperformed the others.

Keywords: Carotenoid; Astaxanthin; Oscar fish; Turmeric; Lysozyme

Corresponding author: h.khara1974@yahoo.com