

مقایسه کارایی منابع کاروتنوئیدهای طبیعی (گاماروس و گل همیشه بهار) و مصنوعی (آستازانتین) بر شاخص‌های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سر قرمز (*Paraneetroplus synspilus*)

- عامره نوزاد: گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش.
- رضا طاعتی*: گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش.
- سیدجواد ابوالقاسمی: گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش.

تاریخ پذیرش: شهریور 1395

تاریخ دریافت: خرداد 1395

چکیده

بررسی تاثیر منابع کاروتنوئیدهای طبیعی (گاماروس و گل همیشه بهار) و مصنوعی (آستازانتین) بر شاخص‌های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سرقرمز (*Paraneetroplus synspilus*) در بهار 94 اجرا شد. تعداد 120 عدد بچه ماهی سیچلاید سرقرمز با میانگین وزنی $9/63 \pm 2/90$ گرم در 12 آکواریوم با تراکم 10 عدد در هر آکواریوم توزیع شدند. بچه ماهیان با چهار جیره شامل 1- شاهد (غذای اسکریتینگ بدون رنگدانه)، 2- 100 گرم پودر گاماروس در کیلوگرم اسکریتینگ، 3- 100 گرم پودر گل همیشه بهار در کیلوگرم اسکریتینگ و 4- 50 میلی‌گرم آستازانتین در کیلوگرم اسکریتینگ با سه تکرار تغذیه شدند. نتایج نشان داد که بیشترین وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، شاخص رشد ویژه، ضریب جاقی، شاخص گنادی و کمترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با آستازانتین مشاهده شد که در شاخص گنادی اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0/05$). ماهیان تغذیه کرده از گل همیشه بهار افزایشی ($p < 0/05$) را در تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین نشان دادند. ماهیان تغذیه شده با آستازانتین، گل همیشه بهار و رش دارای آستازانتین بیشتری ($p < 0/05$) در خون و رنگ‌پذیری بالاتری ($p < 0/05$) در بالای سرپوش آبششی و زیر باله سینه ای نسبت به شاهد بودند. براساس نتایج می‌توان اظهار نمود که افزودن رنگدانه به جیره ضروری بوده و آستازانتین و گل همیشه بهار می‌توانند نقش مهمی را در افزایش رشد، رنگ‌پذیری و نیز بهبود شاخص‌های خونی در بچه ماهیان سیچلاید سرقرمز ایفا نمایند. کلمات کلیدی: سیچلاید سرقرمز، رنگ، گل همیشه بهار، آستازانتین، رش.

مقدمه

تجاری برده شود. اضافه نمودن انواع رنگدانه‌ها به جیره غذایی ماهیان باعث می‌شود که ماهی‌ها هم از لحاظ بدنی مقاوم و هم از لحاظ رنگ برای خریداران بسیار زیبا به نظر آیند و پرورش-دهنده در مدت زمان کوتاهی بتواند ماهی‌های خود را با ظاهری جذاب به بازار عرضه نماید و هزینه تولید را کاهش دهد. معمولاً بعضی از این غذاها بصورت طبیعی و زنده در طبیعت یافت می‌شوند و در شرایط مصنوعی هزینه تولید غذاهای زنده بسیار بالاست. بنابراین بسیاری از تولیدکنندگان ماهیان زینتی فقط در مراحل لاروی از غذاهای زنده استفاده می‌کنند. رنگ ماهیان از غذا و محیط زیست اطراف آنها ناشی می‌شود. برخی از پرورش‌دهندگان از هورمون و رنگ‌های مصنوعی جهت براق شدن ماهی‌ها استفاده می‌نمایند که رنگ ایجاد شده ماندگاری نداشته و پس از مدتی کم می‌شود (Kop و Durmaz، 2008).

ماهیان زینتی (آکواریومی) عمدتاً در دو گروه ماهیان زینتی آب شور و شیرین قرار می‌گیرند. بیش از 90% گونه‌های موجود متعلق به آب شیرین و کمتر از 10% در گروه ماهیان دریایی قرار دارند. امروزه شرکت‌هایی به طور تخصصی در زمینه آکواریوم‌های آب شور و شیرین، طبیعی و مصنوعی وارد عرصه شده‌اند و به مشتریان خود خدمات ارائه می‌دهند. ایران یکی از بزرگترین واردکنندگان ماهیان زینتی به شمار می‌رود. اکثر این ماهیان از کشورهای آسیایی نظیر مالزی، تایلند، اندونزی، سریلانکا، چین و تایوان به ایران صادر شده‌اند (امینی، 1385). در حال حاضر در پرورش انواع موجودات آبی از انواع رنگدانه‌ها استفاده می‌گردد تا از این افزودنی به عنوان یک عامل مهم و خوش رنگ کننده پوست آبزیان، بهره‌های لازم

مواد و روش‌ها

این تحقیق در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی هامون کرج در بهار 1394 انجام گرفت. تعداد 120 عدد بچه ماهی سیچلاید سرقرمز (*Paraneotroplus synspilus*) پس از همدمایی و زیست‌سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول کل) و تعیین زیتوده، با میانگین وزنی $9/63 \pm 2/90$ گرم به 12 عدد آکواریوم با ابعاد $35 \times 40 \times 40$ سانتی‌متر با تراکم 10 عدد ماهی در هر آکواریوم معرفی شدند. میانگین وزنی تیمارها در شروع آزمایش فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بود. آکواریوم‌ها به یک عدد بخاری ترموستات‌دار، یک عدد فیلتر ابری جهت جذب مواد دفعی ماهی و یک عدد سنگ هوا که توسط شلنگ مخصوص به دستگاه هواده متصل بود، مجهز شدند. دوره نوری به صورت 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی تنظیم گردید. جیره پایه از شرکت اسکر تینگ (ایتالیا) تهیه گردید که ترکیبات آن شامل: 54% پروتئین، 18% چربی، 8/8% خاکستر، 7/3% رطوبت، 6/0% فیبر و 19/2% مگازول بر کیلوگرم انرژی قابل هضم بود (AOAC، 1995). تیمار بندی شامل چهار تیمار هر یک با سه تکرار به شرح ذیل طراحی گردید:

تیمار اول: شاهد (غذای اسکر تینگ بدون رنگدانه)

تیمار دوم: 100 گرم در کیلوگرم پودر گاماروس در غذای اسکر تینگ (Erdem و همکاران، 2009)

تیمار سوم: 100 گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار در غذای اسکر تینگ (Awasthi و همکاران، 2014)

تیمار چهارم: 50 میلی‌گرم در کیلوگرم آستانزانتین (شرکت مرک-آلمان) در غذای اسکر تینگ (Kop و Durmaz، 2008)

غذاهای به صورت دستی انجام شد و ماهی‌ها بلافاصله غذای ریخته شده در آکواریوم‌ها را مصرف می‌کردند. بچه ماهیان سیچلاید سر قرمز به مدت 70 روز با چهار جیره غذایی و براساس حداکثر 3% وزن توده زنده در 3 نوبت (10 صبح، 14 عصر و 18 عصر) تغذیه شدند (غیاثوند و شاپوری، 1388؛ مشعل‌چی و همکاران، 1389). جهت تعیین توده زنده هر یک از آکواریوم‌ها، بعد از 4 هفته همه ماهیان هر آکواریوم با ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 گرم توزین شده و با دقت میلی‌متر طول کل آن‌ها اندازه‌گیری و در فرم‌های مخصوص ثبت شدند. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH طی دوره پرورش به ترتیب $27/66 \pm 1/34$ درجه سانتی‌گراد، $7/89 \pm 0/74$ میلی‌گرم در لیتر و $7/33 \pm 0/45$ بود.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: جهت ارزیابی میزان رشد و تعیین زیتوده هر آکواریوم پس از هر مرحله زیست‌سنجی، شاخص‌های رشد ذیل محاسبه شدند (Luo و همکاران، 2010):

وزن ابتدایی (گرم) / 100 × (وزن ابتدایی (گرم) - وزن انتهایی (گرم)) = درصد افزایش وزن بدن

دوره پرورش (روز) / 100 × (لگاریتم نپرین وزن ابتدایی (گرم) - لگاریتم نپرین وزن انتهایی (گرم)) = نرخ رشد ویژه

طول (سانتی‌متر) / 100 × (وزن (گرم)) = ضریب چاقی (شاخص وضعیت)

وزن ابتدایی (گرم) - وزن انتهایی (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

رنگ ماهیان عمدتاً بدلیل حضور کروماتوفور که محتوی رنگدانه است بوده و معمولاً روی پوست حضور دارند. یکی از رنگدانه‌های اصلی مسئول ایجاد رنگ در بافت و پوست حیوانات و گیاهان کاروتنوئیدها می‌باشند که براحتی در چربی حل شده و دامنه رنگی زرد تا قرمز را در پوست ایجاد می‌نمایند. آستانزانتین رنگدانه قرمز رنگ بوده و مهمترین رنگدانه در آزاد ماهیان و بسیاری از سخت‌پوستان می‌باشد. از نقش‌های مهم آستانزانتین می‌توان به تقویت سیستم ایمنی از طریق افزایش تولید آنتی‌بادی، جلوگیری از اکسایش چربی‌ها (آنتی‌اکسیدان) و محافظت از چشم و پوست در برابر آسیب‌های اشعه ماوراء بنفش بوسیله مهار کردن اکسیژن آزاد اشاره نمود (گالیوم و همکاران، 2001).

گل همیشه بهار *Calendula officinalis* گیاهی از تیره ستاره‌ای، علفی و پایا است. ساقه هوایی افراشته منشعب، دارای پرزهای غده‌ای و گل آن زرد رنگ می‌باشد. این گل یکی از فراوان‌ترین گیاهان جهان به حساب می‌آید و بومی اروپا و آمریکای شمالی است. همیشه بهار در ایران در ارتفاعات ۲۵۰۰ متری استان کهگیلویه و بویر احمد می‌روید. به عنوان رنگ موی طبیعی نیز استفاده می‌شود. از مهمترین مواد مؤثره این گیاه کاروتنوئیدها بوده که در چربی محلولند. رنگدانه زرد طبیعی آن حاوی زانتوفیل به مقدار ۲۰ تا ۴۰ گرم در کیلوگرم می‌باشد (امید بیگی، 1384). گاماروس (رش) از راسته ناجورپایان و خانواده گاماریده بوده که با تغذیه از ذرات آلی و بقایای اجساد موجودات زنده به پالایش محیط از مواد آلی کمک می‌کنند. همچنین گاماروس‌ها از غذاهای زنده‌ای هستند که نزد بسیاری از آبزیان پرورشی غذای مطلوبی بوده و از ارزش غذایی بالایی برخوردارند (Vernberg و Vernberg، 1999). غلظت کاروتنوئید در گاماروس تقریباً 20% بالاتر از دافنی و کرم خونی می‌باشد و قابلیت هضم کاروتنوئید گاماروس نیز تقریباً 3 برابر بیشتر از کرم خونی است (Mathias و Rurkowski، 2002).

سیچلایدها دارای الگوهای رنگی بسیار زیادی هستند و از آنجا که آن‌ها در شرایط اسارت به راحتی به تولیدمثل می‌پردازند آن‌ها را ماهیان آکواریومی مطلوبی می‌سازد. سیچلاید سرقرمز از ماهیان منحصر به فرد مناطق گرمسیری بوده و زیستگاه اصلی آن گواتمالا و مکزیک می‌باشد. حداکثر اندازه نرها 37 سانتی‌متر و ماده‌ها 32 سانتی‌متر بوده و تشخیص جنسیت به راحتی امکان‌پذیر است. جنس نر از طریق جنه بزرگتر و باله کشیده‌تر و همین‌طور قوز بر آمده روی پیشانی قابل تفکیک است (Mcmahan و همکاران، 2011). مقایسه منابع طبیعی کاروتنوئیدها نظیر جلبک دونالیلا سالیئا، جلبک کلرلا وولگاریس، جلبک قرمز پوریفیریدیوم، پودر گاماروس، هویج و فلفل قرمز با کاروتنوئید مصنوعی (آستانزانتین) در ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) (مشعل‌چی و همکاران، 1389)، ماهی طلائی (*Carassius auratus*) (Rema و Gouveia، 2005)، ماهی سورم (*Cichlasoma severum*) (Kop و Durmaz، 2008)، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Erdem و همکاران، 2009) مورد ارزیابی قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر مقایسه کاروتنوئیدهای طبیعی (گاماروس و گل همیشه بهار) و مصنوعی (آستانزانتین) بر شاخص‌های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سر قرمز می‌باشد.

دوره پرورش (روز) × وزن ابتدایی (گرم) / 100 × (وزن ابتدایی (گرم) - وزن انتهایی (گرم)) = میانگین رشد روزانه
تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش / 100 × تعداد ماهیان در پایان آزمایش = درصد زنده مانی
وزن بدن (گرم) / 100 × وزن گناد (گرم) = شاخص گنادی

فرایند خونگیری: در پایان آزمایش از هر تیمار 6 عدد ماهی (مجموعاً 24 نمونه) به صورت تصادفی انتخاب شدند. تغذیه ماهیان 24 ساعت قبل از خونگیری قطع شد و سپس با استفاده از سرنگ 2 میلی لیتری و از طریق رگ ساقه دمی واقع در پشت باله مخرجی خونگیری به عمل آمد. در هنگام خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص های خونی استفاده نگردید (Torrecillas و همکاران، 2011). شاخص های خونی شامل تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول های سفید، شمارش افتراقی گلبول های سفید شامل لنفوسیت، نوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) طبق روش های استاندارد اندازه گیری شدند (Klontz، 1994). با استفاده از سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور 3000 در دقیقه به مدت 10 دقیقه سرم تهیه و در دمای 20- درجه سانتی گراد نگهداری شد. جهت تعیین میزان آستاننتین خون، نیم میلی لیتر سرم به لوله آزمایش منتقل و یک میلی لیتر اتانول 95 درجه به آن اضافه شده و به مدت 30 ثانیه با هم مخلوط شدند. آنگاه یک میلی لیتر هگزان به آن افزوده شده و به مدت یک دقیقه با شیکر تکان داده شدند. سپس هگزان توسط سانتریفوژ جدا گردیده و جذب نوری مخلوط در اسپکتروفتومتر در طول موج 480 نانومتر قرائت شد و غلظت آستاننتین محاسبه گردید (Weber، 1988؛ Mendes-Pinto و همکاران، 2004).

فرایند عکس برداری: در انتهای دوره از 3 ماهی از هر تیمار پس از بیهوش نمودن با پودر گل میخک عکس برداری

انجام شد. برای اندازه گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در پوست ماهی از روش توصیه شده (Papakadis و Yam، 2004) استفاده گردید. برای ایجاد شرایط یکسان در تصویربرداری از یک جعبه یونولیتی با پوشش کاملاً سیاه داخلی مجهز به یک لامپ فلوروسنت 20 وات و دوربین دیجیتال استفاده گردید. آنالیز عکس گرفته شده توسط نرم افزار فتوشاپ تجزیه و تحلیل شد. این نرم افزار رنگ را بر اساس سه فاکتور کمی L^*a^*b ارائه می دهد. رنگ L^*a^*b دارای مولفه روشنایی L که محدوده آن از 0 تا 100 می باشد و دو مولفه رنگی یکی a از رنگ سبز تا قرمز و دیگری b از رنگ آبی تا زرد می باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون همگنی گروه ها با آزمون Levene انجام پذیرفت. برای داده های همگن، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه ای و از آزمون دانکن برای جداسازی گروه های همگن در سطح احتمال 5% استفاده شد. آزمون غیر پارامتریک کروسکال-والیس برای داده های غیر همگن استفاده گردید که معنی دار بودن گروه های مورد بررسی با استفاده از آزمون من-ویتنی در سطح احتمال 5% مشخص گردید. نرم افزار آماری SPSS Version 19 برای تجزیه و تحلیل داده ها به کار برده شد.

نتایج

بیشترین میزان وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، شاخص رشد ویژه، ضریب چاقی و کمترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با آستاننتین مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی دار آماری نداشت ($p > 0/05$). در فاکتورهای شاخص گنادی و درصد زنده مانی بیشترین میزان به تیمارهای آستاننتین و گل همیشه بهار اختصاص داشت که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی دار آماری داشتند ($p < 0/05$) (جدول 1).

جدول 1: مقایسه شاخص های رشد ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف.

شاخص های رشد/ تیمارها	شاهد	آستاننتین	گل همیشه بهار	گاماروس
وزن اولیه (گرم)	9/78 20±/7	9/57 3±/54	9/92 3±/19	9/27 2±/73
وزن نهایی (گرم)	13/15 1±/34	16/49 3±/43	14/77 0±/87	13/4±59/05
طول کل نهایی (سانتی متر)	8/94 0±/34	9/13 0±/66	9/11 0±/37	8/76 0±/79
افزایش وزن بدن (%)	44/49 6±/48	82/43 37±/74	64/69 31±/02	47/55 10±/98
شاخص رشد ویژه (%) (در روز)	0/63 0±/07	1/01 0±/36	0/84 0±/33	0/66 0±/12
ضریب تبدیل غذایی	6/98 3±	2/51 1±/34	3/22 1±/73	5/12 2±/19
میانگین رشد روزانه (گرم در روز)	0/77 0±/11	1/42 0±/65	1/11 0±/53	0/82 0±/19
شاخص گنادی (%)	3/47 0±/31 ^a	6/32 0±/40 ^c	5/92 0±/15 ^c	5/04 0±/04 ^b
ضریب چاقی (%)	1/83 0±/14	2/14 0±/06	1/94 0±/15	1/97 0±/12
زنده مانی (%)	86/66 5±/77 ^a	100 ^b	100 ^b	93/33 5±/77 ^{ab}

اعداد (میانگین ± انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی دار آماری دارند ($p < 0/05$).



همیشه بهار ثابت گردید ($p < 0/05$). تیمارهای آستانزانتین و گل همیشه بهار به ترتیب بیشترین میزان رنگدانه آستانزانتین را در خون به خود اختصاص دادند که با سایر تیمارها اختلاف معنی دار آماری داشتند ($p < 0/05$).

جدول 2 نتایج شاخص‌های خونی را در ماهیان سیچلاید سر قرمز در پایان آزمایش نشان می‌دهد. ماهیان تغذیه شده با آستانزانتین دارای بیشترین ($p < 0/05$) تعداد گلبول‌های سفید و لنفوسیت بودند. بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت و MCV در ماهیان تغذیه کرده با گل

جدول 2: مقایسه شاخص‌های خونی ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف.

گاماروس	گل همیشه بهار	آستانزانتین	شاهد	شاخص‌های خونی/ تیمارها
35 1± ^{ab}	37 2±/64 ^b	32/66 0±/57 ^a	34 1± ^a	هماتوکریت (%)
9/26 0±/23 ^b	9/43 0±/50 ^b	8/63 0±/15 ^a	9/13 0±/20 ^{ab}	هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)
1/55 0±/04 ^b	1/56 0±/07 ^b	1/43 0±/02 ^a	1/54 0±/05 ^b	گلبول قرمز (تعداد × 10 ⁶)
6/03 0±/75 ^b	5/40 0±/45 ^b	6/56 0±/75 ^b	3/93 0±/37 ^a	گلبول سفید (تعداد × 10 ³)
225 1±/73 ^a	236 7±/54 ^b	0±/57 ^a	2±/08 ^a	MCV (فمتولیترا)
59/66 0±/57	60/33 0±/57	60 1±	59 1±	MCH (پیکوگرم)
26/33 0±/57 ^b	0±/57 ^a	26/66 0±/57 ^b	27 0± ^b	MCHC (%)
68 1±/73 ^{ab}	2±/08 ^b	76/33 0±/57 ^c	65/66 2±/08 ^a	لنفوسیت (%)
3/66 0±/57 ^{bc}	0±/57 ^{ab}	2/33 0±/57 ^a	4/66 0±/57 ^c	مونوسیت (%)
27/33 2±/08 ^b	1±/15 ^b	21 1± ^a	29/33 1±/15 ^b	نوتروفیل (%)
1 0±	0/33 0±/57	0/33 0±/57	0/33 0±/57	انوزینوفیل (%)
3/30 0±/36 ^a	6/63 1±/16 ^b	10/66 1±/07 ^c	3/16 0±/50 ^a	آستانزانتین (میکروگرم/ میلی لیتر)

اعداد (میانگین ± انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p < 0/05$).

قرمز در بالای سرپوش آبششی و نیز زیر باله سینه‌ای بوده که با تیمارهای گاماروس و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند ($p < 0/05$). در میزان رنگ زرد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری ثبت نگردید (اشکال 1 تا 4).

نتایج مولفه‌های رنگی ماهیان سیچلاید سر قرمز در جدول 3 ارائه شده است. همه تیمارها دارای بالاترین میزان روشنایی رنگ در بالای سرپوش آبششی بوده که با تیمار آستانزانتین اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند ($p < 0/05$). تیمارهای آستانزانتین و همیشه بهار به ترتیب دارای بیشترین میزان رنگ

جدول 3: مقایسه مولفه‌های رنگی ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف.

گاماروس	گل همیشه بهار	آستانزانتین	شاهد	مولفه‌های رنگی/ تیمارها
65/33 4±/04 ^b	65 1±/73 ^b	46 9±/64 ^a	75/33 3±/05 ^b	روشنایی L- بالای سرپوش آبششی
7/66 2±/88 ^a	24/33 3±/05 ^b	31/33 7±/23 ^b	2/33 1±/15 ^a	رنگ قرمز a- بالای سرپوش آبششی
18 5±/56	9/33 5±/77	13/66 1±/15	17 3±/46	رنگ زرد b- بالای سرپوش آبششی
8±16/54	29/33 5±/50	17 10±/53	36 25±/70	روشنایی L- زیر باله سینه‌ای
5 1±/73 ^a	15/33 4±/72 ^b	16/33 2±/08 ^b	3/33 1±/15 ^a	رنگ قرمز a- زیر باله سینه‌ای
5 1±/73	13/33 0±/57	8 2±/64	8 7±/21	رنگ زرد b- زیر باله سینه‌ای

اعداد (میانگین ± انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p < 0/05$).



شکل 2: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با گاماروس



شکل 4: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با آستازانتین



شکل 3: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با گل همیشه بهار

داشت. ماهیان تغذیه شده با آستازانتین، گل همیشه بهار و گاماروس دارای رنگ قرمز بیشتری نسبت به شاهد در قسمت‌های بالای سرپوش آبششی و زیر باله سینه‌ای بودند که این افزایش در تیمارهای آستازانتین و گل همیشه بهار اختلاف معنی‌داری را با شاهد و گاماروس نشان داد ($p < 0/05$). بیشتر القای رنگ در ماهیان، افزایش طیف‌های قرمز رنگ در پوست و گوشت ماهی است (Torrissen و همکاران، 1989) که این موضوع با یافته‌های تحقیق جاری تطابق دارد. همسو با تحقیق حاضر، غیاثوند و شاپوری (1388) تاثیر 100 میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه‌های طبیعی هویج، گوجه و فلفل قرمز و 100 میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه مصنوعی آستازانتین را بر رنگ پوست ماهی اسکار آلبینو (*Astronotus ocellatus*) به مدت 30 روز ارزیابی نمودند. ماهیان تغذیه شده با آستازانتین درصد بیشتری از تجمع رنگدانه در بافت را نسبت به ماهیان تغذیه شده با غذاهای حاوی رنگدانه طبیعی نشان دادند. تاثیر جلبک سبز *Chlorella vulgaris* و رنگدانه مصنوعی آستازانتین در ماهی طلائی (*Carassius auratus*) به مدت 5 هفته مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تیمار آستازانتین افزایشی را در میزان رنگ پذیری ماهی قرمز نشان داد (Rema و Gouveia، 2005). Ezhil و همکاران (2008) در آزمایشی تاثیر سطوح 30، 40، 60، 80 و 150 گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار را به مدت 21 روز در ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*) مورد ارزیابی قرار دادند. تیمار 150 گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار بیشترین میزان رنگ پذیری را ایجاد نمود لیکن بالاترین درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه در تیمار 80 گرم در کیلوگرم ثبت گردید. این محققین تاکید نمودند که بایستی سطح میانی انتخاب شود تا همزمان شاخص‌های رشد و رنگ پذیری در ماهیان تحت تاثیر قرار گیرند. در مطالعه‌ای دیگر، Erdem و همکاران (2009) تاثیر 50 گرم در کیلوگرم پودر گاماروس، 10 گرم در کیلوگرم فلفل قرمز، 50 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین و 70 میلی‌گرم در کیلوگرم کانتازانتین را در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مطالعه

بحث

رنگ به عنوان یک عامل مهم در زندگی ماهیان نقش عمده ای را ایفا کرده و وظایف متعدد و مهمی را بر عهده دارد. از جمله اینکه در مراحل نوزادی، دستگاه عصبی مرکزی را از نور محافظت می‌کند و یا به تنظیم درجه حرارت بدن یاری می‌رساند. با این وجود بسیاری از وظایف رنگ، در رابطه با اکولوژی یا رفتار ماهی است و برای اهدافی مانند مخفی کردن، آگاهی دادن یا تغییر قیافه به کار می‌رود (ستاری، 1381). نوع رنگ ماهیان بوسیله سیستم‌های عصبی آندوکرینی کنترل شده اما منابع غذایی رنگدانه‌ها نیز نقش مهمی در تعیین رنگ ایفا می‌کنند. تاثیر منابع کارتنوئیدی از دیدگاه رنگدانه و ایجاد رنگ مختص هر گونه می‌باشد. بعلاوه تمام گونه‌های ماهیان راه‌های مشابه سوخت و ساز رنگدانه‌ای نداشته و بنابراین نمی‌توان یک روش انتقال کلی کارتنوئیدها را در بافت ماهیان در نظر گرفت. ماهیان همچون دیگر حیوانات قادر به تولید کارتنوئیدها نبوده و این دسته از مواد را در شرایط طبیعی به وسیله غذای مصرفی شامل گیاهان، سخت‌پوستان و نرم‌تنان غنی از کاروتنوئید تامین می‌کنند. بنابراین کاروتنوئیدها در شرایط پرورشی باید به صورت مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرند. جذب و تجمع آستازانتین در ماهیان بیشتر از سایر کارتنوئیدهاست (Torrissen و همکاران، 1989).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که بیشترین وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، شاخص رشد ویژه، ضریب چاقی، شاخص گنادی و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار آستازانتین مشاهده شد. البته گل همیشه بهار با فاصله کمی از آستازانتین وضعیت مطلوبی را در شاخص‌های مذکور داشت. شاخص گنادی در هر سه تیمار آزمایشی بالاتر از شاهد بود که ماهیان تغذیه شده با آستازانتین بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. این موضوع تایید می‌کند که افزودن هر یک از منابع طبیعی و مصنوعی رنگدانه به جیره میزان مواد تناسلی و رسیدگی جنسی را در ماهیان تحریک نموده و نتیجه مطلوبی را برای پرورش‌دهندگان ماهیان زینتی به همراه خواهد



وجود داشت. افزودن سه سطح 33، 44 و 55 گرم پودر فلفل قرمز و 41 میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین برای مدت 8 هفته در قزل-آلای رنگین کمان نشان داد که هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و شمارش افتراقی تیمار آستازانتین بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد که در برخی از این شاخص‌ها مطالعه حاضر با آن همسو می‌باشد (Talebi و همکاران، 2012). در آزمایشی دیگر، Azimi و همکاران (2014) تاثیر چهار جیره حاوی پودر گوجه‌فرنگی، پودر فلفل قرمز، رنگدانه‌های بتاکاروتن و آستازانتین را در ماهی فلاور-هورن (*Cichlasoma sp.*) مطالعه نمودند. تیمار آستازانتین بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و تعداد لنفوسیت را به خود اختصاص داد. میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار پودر فلفل قرمز رابطه مستقیمی با هم داشته و بالاتر از سایر تیمارها بود. کاربرد سطوح 0، 50، 100 و 200 گرم در کیلوگرم پودر جلبک *Dunaliella salina* به مدت 6 هفته در تغذیه ماهی سوروم (*Heros severus*) ثابت کرد که میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و لیروزیم اختلاف معنی‌داری را در سطح 200 گرم در کیلوگرم با سایر سطوح نشان دادند (Alishahi و همکاران، 2014). ماهیان تغذیه شده با آستازانتین و گل همیشه بهار به ترتیب دارای بالاترین میزان رنگدانه آستازانتین در خون بودند که با تیمارهای گاماروس و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشتند. این افزایش و اختلاف بدیهی می‌باشد چرا که رنگدانه آستازانتین خالص بوده و تاثیرپذیری بیشتری بر ماهیان گذاشته و با توجه به کوچک بودن ماهیان در زمان کوتاهی در خون آن‌ها نیز تاثیر گذاشته است. از طرف دیگر، ترکیبات کاروتنوئیدی گل همیشه بهار با فعال کردن سلول‌های رنگی در ماهیان و آزاد شدن ترکیبات آن‌ها در خون سبب ارتقاء میزان رنگدانه آستازانتین در خون ماهیان شده است. استفاده از گل همیشه بهار به عنوان منبع کاروتنوئید طبیعی گیاهی، گاماروس به عنوان منبع کاروتنوئید طبیعی جانوری و آستازانتین به عنوان منبع کاروتنوئید مصنوعی در تحقیق حاضر نشان داد که شاخص‌های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سر قرمز کاملاً متاثر از هر سه منبع رنگدانه بوده و افزودن رنگدانه به غذا ضروری می‌باشد. شایان ذکر است که استفاده از آستازانتین به دلیل قیمت بسیار بالای آن برای تکثیر و پرورش ماهیان زینتی مقرون به صرفه نبوده و یک ترکیب مصنوعی و شیمیایی می‌باشد. اما گل همیشه بهار به دلیل داشتن رنگدانه طبیعی تاثیر به سزایی در رنگ پوست و رشد ماهی داشته و باعث افزایش آستازانتین خون ماهی شده است. قیمت ناچیز این گیاه و در دسترس بودن آن در بازار می‌تواند آن را به عنوان جایگزین مناسب آستازانتین در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی معرفی نماید. گاماروس به دلیل داشتن پوسته کیتینی باعث کاهش کارایی تغذیه شده و در نتیجه کاهش رشد و رنگ‌پذیری ماهی را به همراه داشته است. با این وجود به دلیل ارزان قیمت بودن و در دسترس بودن آن در بازار و تاثیری که تا حدی بر رشد و رنگ پوست ماهی سیچلاید سر قرمز نسبت به غذاهای بدون رنگدانه می‌گذارد، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

کردند. تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی کانتازانتین درصد بیشتر تجمع رنگدانه در پوست و عضلات را نشان دادند. Awasthi و همکاران (2014) با بررسی سطوح 0، 50 و 100 گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار به مدت 40 روز در ماهی گورامی دارف (*Colisa lalia*) دریافتند که ماهیان تغذیه شده با سطح 100 گرم پودر گل همیشه بهار درصد بیشتری از تجمع رنگدانه در پوست را نشان دادند. نتیجه پژوهش حاضر همسو با تحقیقات فوق می‌باشد چرا که در همه مطالعات بین آستازانتین و منابع گیاهی و جانوری مقایسه‌ای صورت گرفته و در ماهیان تغذیه شده با آستازانتین رشد و رنگ پذیری بیشتری نمایان شده است.

شاخص‌های خونی در ارزیابی سلامت ماهیان، استرس محیطی، تغذیه، اندازه ماهی و تغییرات فصلی و تخم‌ریزی نقش مهمی دارند. تغییرات عوامل خونی در زمان‌های مختلف در ماهیان به اثبات رسیده است. بیماری، نوع تغذیه، مکمل‌های غذایی، آلودگی، دما، استرس، رنگدانه‌ها و ... می‌توانند در تغییر فاکتورهای خونی موثر باشند (Kieffer، 2000). در تحقیق حاضر، گلبول‌های سفید در گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند که این افزایش در ماهیان تغذیه شده با آستازانتین از بقیه بیشتر بود. آستازانتین در تقویت سیستم ایمنی از طریق افزایش تولید آنتی‌بادی و محافظت از چشم و پوست در برابر آسیب‌های اشعه ماوراء بنفش بوسیله مهار کردن اکسیژن آزاد نقش دارد (گالیوم و همکاران، 2001). گلبول‌های سفید یکی از مهمترین سلول‌هایی هستند که می‌توانند واکنش‌های ایمنی غیر اختصاصی و اختصاصی را در ماهیان تحریک کنند. در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیر اختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود (سلطانی، 1387). تعداد لنفوسیت‌ها در گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند که این افزایش در تیمار آستازانتین از بقیه بیشتر بود. افزایش تعداد لنفوسیت فاکتور خوبی بوده چون تعداد لنفوسیت در اثر استرس و طولانی‌شدن کمبود اکسیژن آب، در خون ماهیان کاهش نشان می‌دهند (کاظمی و همکاران، 1389) و این نشان‌دهنده مناسب بودن آب آکواریوم‌ها می‌باشد. مجد محمدی و همکاران (1392) با افزودن عصاره گل همیشه بهار در سطوح 0، 0/5، 1 و 1/5 درصد به جیره غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus*) افزایش معنی‌داری را در تعداد لنفوسیت‌ها، شاخص‌های ایمنی نظیر C_3 و C_4 در سطح 1/5 درصد گزارش نمودند. حجم فشرده شده گلبول‌های قرمز را هماتوکریت می‌نامند که تا حدی به تعداد گلبول‌های قرمز وابسته است اما بیشتر به میزان پلاسمای خون بستگی دارد. بنابراین نباید انتظار داشت با افزایش یا کاهش تعداد گلبول‌های قرمز حتماً درصد هماتوکریت زیاد یا کم شود. در میان فاکتورهای خونی، هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز به هم وابسته هستند (کاظمی و همکاران، 1389). ثابت شده که کاهش تعداد و کیفیت گلبول‌های قرمز منجر به اختلال در تامین اکسیژن می‌شود. بعلاوه گلبول‌های قرمز نقش مهمی در انتقال اکسیژن در بدن ایفا می‌کنند و مقادیر ناکافی گلبول‌های قرمز اثر منفی روی متابولیسم دارد (Klontz، 1994). در همخوانی با این موضوع، رابطه یکسان و مستقیمی در مطالعه حاضر بین هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در همه تیمارها

- از جناب آقای مهندس ایمان حیاتی رئیس محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی هامون کرج به دلیل راهنمایی‌های ارزشمندشان و نیز در اختیار گذاشتن کلیه امکانات کمال تشکر و قدردانی را داریم.
- منابع**
1. امیدبیگی، ر.، 1384. تولید و فراوری گیاهان دارویی (جلد دوم). انتشارات به نشر (استان قدس رضوی). 438 صفحه.
 2. امینی، م.، 1385. تکثیر و پرورش ماهیان زینتی. انتشارات نقش مهر. 214 صفحه.
 3. ستاری، م.، 1381. ماهی شناسی (1) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر. 659 صفحه.
 4. سلطانی، م.، 1387. ایمنی شناسی ماهیان و سخت‌پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. 264 صفحه.
 5. غیاثوند، ز. و شاپوری، م.، 1388. تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن‌ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال 1، شماره 1، بهار 1388. صفحات 78 تا 85.
 6. کاظمی، ر.؛ پور دهقانی، م.؛ یوسفی جوردی، الف.؛ یارمحمدی، م. و نصری تجن، م.، 1389. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. 194 صفحه.
 7. گالیوم، ج.؛ کاشیک، س.؛ برگات و.ر.؛ پ. و متیلر، ر.، 2001. تغذیه و غذاهای ماهی و سخت‌پوستان. ترجمه: مرتضی علیزاده، 1388. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. 509 صفحه.
 8. مجد محمدی، س. ح.؛ منوچهری، ح.؛ محمدی‌زاده خوشرو، م. و درویشی، ص.، 1392. اثر عصاره گیاه همیشه بهار بر ویژگی‌های ایمنی و برخی فاکتورهای خونی ماهی قرمز. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده، سال 4، شماره 4، زمستان 1392. صفحات 1 تا 14.
 9. مشعلچی، م.؛ علیشاهی، م.؛ جواهری بابلی، م. و حجازی، م. الف.، 1389. مقایسه اثر آستاگزانتین و جلبک دونالیلا سالینا (*Dunaliella salina*) بر پوست ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال 2، شماره 6، تابستان 1389. صفحات 75 تا 83.
 10. AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC, Vol.1, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
 11. Alishahi, M.; Karamifar, M.; Mesbah, M. and Zarei, M., 2014. Hemato-immunological responses of *Heros severus* fed diets supplemented with different levels of *Dunaliella salina*. Fish Physiol. Biochem. Vol. 40, pp: 57–65.
 12. Awasthi, M.; Kashyap, A. and Serajuddin, M., 2014. Effect of plant meal as a carotenoid source on the development of pigmentation in Dwarf Gourami, *Colisa lalia*. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biol. Sci. Vol. 84, No. 4, pp: 1031-1034.
 13. Azimi, A.; Imanpoor, M.R.; Maleknejad, R. and Shokrollahi, S., 2014. Effects of natural (red bell pepper & tomato) and synthetic (Astaxanthin & β-carotene) pigments on flower horn fish (*Cichlasoma* sp.) blood parameters. Int. J. Adv. Biol. Biom. Res. Vol. 2, No. 11, pp: 2761-2767.
 14. Erdem, M.E.; Yesilayer, N. and Kaba, N., 2009. Effects of organic and synthetic carotenoids on the sensory quality and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Anim. Vet. Adv. Vol. 8, No.1, pp: 33-38.
 15. Ezhil, J.; Jeyanthi, C. and Narayanan, M., 2008. Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red swordtail, *Xiphophorus helleri*. Turkish J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 8, pp: 99-102.
 16. Gouveia, L. and Rema, P., 2005. Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish (*Carassius auratus*) skin pigmentation. Aquacult. Nutr. Vol. 11, pp: 19–23.
 17. Keiffer, J.D., 2000. Limits to exhaustive exercise in fish. Comp. Biochem. Phys. Vol. 126, pp: 161-179.
 18. Klontz, G.W., 1994. Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Edited by J.S. Stolen, T.C. Fletcher, A.F. Rowley, T.C. Kelikoff, S.L. Kaatari, S.L. and S.A. Smith. Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp: 121-132.
 19. Kop, A. and Durmaz, Y., 2008. The effect of synthetic and natural pigments on the color of the cichlids (*Cichlasoma severum*). Aquacult. Int. Vol. 16, pp: 117–122.
 20. Luo, G.; Xu, J.; Teng, Y.; Ding, C. and Yan, B., 2010. Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. Aquacult. Res. Vol. 41, pp: 210-219.