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، ایران. کدپستی: ٤٣٧١١-٦٥١٤٣
- **رضا طاعتی*:** گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران. کدپستی: ٤٣٧١١-٦٥١٤٣
- **سیدجواد ابوالقاسمی:** گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران. کدپستی: ٤٣٧١١-٦٥١٤٣

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۵

چکیده

بررسی تاثیر کاروتنوئیدهای طبیعی (گاماروس و گل همیشه بهار) و مصنوعی (آستازانتین) بر شاخص های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سرقرمز (*Paraneetroplus synspilus*) در بهار ۱۳۹٤ اجرا شد. تعداد ۱۲۰ عدد بچه ماهی سیچلاید سرقرمز با میانگین وزنی۲/۹۰±۹/٦۳ گرم در ۱۲ آکواریوم با تراکم ۱۰ عدد در هر آکواریوم توزیع شدند. ماهیان با چهار جیره شامل ۱: شاهد (غذای اسکرتینگ بدون رنگدانه)، ۲: ۱۰۰ گرم گاماروس در کیلوگرم اسکرتینگ، ۳: ۱۰۰ گرم گل همیشه بهار در کیلوگرم اسکرتینگ و ٤: ۵۰ میلی‌گرم آستازانتین در کیلوگرم اسکرتینگ با سه تکرار به‌مدت ۷۰ روز تغذیه شدند. در پایان آزمایش، خونگیری از سرخرگ یا سیاهرگ دمی (زیر ستون مهره) صورت پذیرفت. بیش‌ترین وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، شاخص رشد ویژه، ضریب چاقی، شاخص گنادی وکم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با آستازانتین مشاهده شد که در شاخص گنادی اختلاف معنی داری داشت (P<۰/۰۵). ماهیان تغذیه کرده از گل همیشه بهار افزایشی (P<۰/۰۵) را در تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین نشان دادند. ماهیان تغذیه شده با آستازانتین، گل همیشه بهار و رش دارای آستازانتین بیش‌تری (P<۰/۰۵) در خون و رنگ‌پذیری بالاتری (P<۰/۰۵) در بالای سرپوش آبششی و زیر باله سینه‌ای نسبت به شاهد بودند. براساس نتایج، افزودن رنگدانه به جیره ضروری بوده و سطوح ۵۰ میلی‌گرم آستازانتین و ۱۰۰ گرم گل همیشه بهار می‌توانند نقش مهمی را در افزایش رشد، رنگ‌پذیری و نیز بهبود شاخص‌های خونی در ماهیان سیچلاید سرقرمز ایفا نمایند.

کلمات کلیدی: سیچلاید سرقرمز، پارامترهای رشد، خون، گل همیشه بهار، آستازانتین، رش

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: r.taati@gmail.com

مقدمه

ماهیان زینتی (آکواریومی) عمدتاً در دو گروه ماهیان زینتی آب شور و شیرین قرار می‌گیرند. بیش از ۹۰٪ گونه‌های موجود متعلق به آب شیرین و کم‌تر از ۱۰٪ در گروه ماهیان دریایی قرار دارند. امروزه شرکت‌هایی به‌طور تخصصی در زمینه آکواریوم‌های آب شور و شیرین، طبیعی و مصنوعی وارد عرصه شده‌اند و به مشتریان خود خدمات ارایه می‌دهند. ایران یکی از بزرگ‌ترین واردکنندگان ماهیان زینتی به‌شمار می‌رود. اکثر این ماهیان از کشورهای آسیایی نظیر مالزی، تایلند، اندونزی، سریلانکا، چین و تایوان به ایران صادر شده‌اند (امینی، ۱۳۸۵). در حال حاضر در پرورش انواع موجودات آبزی از انواع رنگدانه‌ها استفاده می‌گردد تا از این افزودنی به‌عنوان یک عامل مهم و خوش‌رنگ کننده پوست آبزیان، بهره‌های لازم 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 به‌نظر آیند و پرورش‌دهنده 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 به‌صورت طبیعی و زنده در طبیعت یافت می‌شوند و در شرایط مصنوعی هزینه تولید غذاهای زنده بسیار بالاست. بنابراین بسیاری از تولیدگان ماهیان زینتی فقط در مراحل لاروی از غذاهای زنده استفاده می‌کنند. رنگ ماهیان از غذا و محیط زیست اطراف آن‌ها ناشی می شود. 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، ۲۰۰۸). رنگ ماهیان عمدتاً به‌دلیل 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 به‌راحتی در چربی حل شده و دامنه رنگی زرد تا قرمز را در پوست ایجاد می‌نمایند. آستازانتین رنگدانه قرمز رنگ بوده و مهم‌ترین رنگدانه در آزاد ماهیان و بسیاری از سخت‌پوستان می‌باشد. از نقش‌های مهم آستازانتین 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 به‌وسیله مهار کردن اکسیژن آزاد اشاره نمود (گالیوم و همکاران، ۲۰۰۱).

گل همیشه بهار *Calendula officinalis* گیاهی از تیره ستاره‌ای، علفی و پایا است. ساقه هوایی افراشته منشعب، دارای پرزهای غده‌ای و گل آن زردرنگ می‌باشد. این گل یکی از فراوان‌ترین گیاهان جهان به‌حساب می‌آید و بومی اروپا و آمریکای شمالی است. همیشه بهار در ایران در ارتفاعات ۲۵۰۰ متری استان کهگیلویه و بویراحمد می‌روید. به‌عنوان 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، ۱۳۸۴).

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 می‌کند. هم‌چنین گاماروس‌ها از غذاهای زنده‌ای هستند که نزد بسیاری از آبزیان پرورشی غذای مطلوبی بوده و از ارزش غذایی بالایی برخوردارند (Vernberg و Vernberg، ۱۹۹۹). غلظت کاروتنوئید در گاماروس تقریباً ۲۰٪ بالاتر از دافنی و کرم خونی می‌باشد و قابلیت هضم کاروتنوئید گاماروس نیز تقریباً ۳ برابر بیش‌تر از کرم خونی است (Mathias و Rurkowski، ۲۰۰۲).

سیچلایدها دارای الگوهای رنگی بسیار زیادی هستند و از آن‌جا که آن‌ها در شرایط اسارت به‌راحتی 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 ۳۷ سانتی‌متر و ماده‌ها ۳۲ سانتی‌متر بوده و تشخیص جنسیت به‌راحتی امکان‌پذیر است. جنس نر از طریق جثه بزرگ‌تر و باله کشیده‌تر و همین‌طور قوز برآمده روی پیشانی قابل تفکیک است (Mcmahan و همکاران، ۲۰۱۱). مقایسه منابع‌طبیعی کاروتنوییدها نظیر جلبک *دونالیلا سالینا*، جلبک *کلرلا وولگاریس*، جلبک قرمز *پوریفیریدیوم*، پودر گاماروس، هویج و فلفل قرمز با کاروتنویید مصنوعی (آستازانتین) در ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) (مشعل‌چی و همکاران، ۱۳۸۹)، ماهی طلایی (*Carassius auratus*) (Gouveia و Rema، ۲۰۰۵)، ماهی سورم (*Cichlasoma severum*) (Kop و Durmaz، ۲۰۰۸)، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Erdem و همکاران، ۲۰۰۹) مورد ارزیابی قرار گرفته است. هدف از مطالعه حاضر مقایسه کاروتنوئیدهای طبیعی (گاماروس و گل همیشه بهار) و مصنوعی (آستازانتین) بر شاخص‌های رشد، رنگ پوست و خون ماهی سیچلاید سر قرمز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی هامون کرج در بهار ۱۳۹۴ انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ عدد بچه‌ماهی سیچلاید سرقرمز (*Paraneetroplus synspilus*) پس از هم‌دمایی و زیست‌سنجی (اندازه‌گیری وزن و طول کل) و تعیین زی‌توده، با میانگین وزنی ۹/۲±۶۳/۹۰ گرم به ۱۲ عدد آکواریوم با ابعاد ۳۵×۴۰×۴۰ سانتی‌متر

با تراکم ۱۰ 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 ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. جیره پایه از شرکت اسکرتینگ (ایتالیا) تهیه گردید که ترکیبات آن شامل: ۵۴٪ پروتئین، ۱۸٪چربی، ۸/۸٪ خاکستر، ۷/۳٪ رطوبت، ۰/۶٪ فیبر و ۱۹/۲٪ مگاژول بر کیلوگرم انرژی قابل هضم بود (AOAC، ۱۹۹۵). تیماربندی شامل چهار تیمار هر یک با سه تکرار به‌شرح ذیل طراحی گردید:

تیمار اول: شاهد (غذای اسکرتینگ بدون رنگدانه)

تیمار دوم: ۱۰۰ گرم در کیلوگرم پودر گاماروس در غذای اسکرتینگ (Erdem و همکاران، ۲۰۰۹)

تیمار سوم: ۱۰۰ گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار در غذای اسکرتینگ (Awasthi و همکاران، ۲۰۱۴)

تیمار چهارم: ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین (شرکت مرک آلمان) در غذای اسکرتینگ (Kop و Durmaz، ۲۰۰۸)

غذادهی به‌صورت دستی انجام شد و ماهی‌ها بلافاصله غذای ریخته شده در آکواریوم‌ها را مصرف می‌کردند. بچه ماهیان سیچلاید سر قرمز به‌مدت ۷۰ روز با چهار جیره غذایی و براساس حداکثر ۳٪ وزن توده زنده در ۳ نوبت (۱۰ صبح، ۱۴ عصر و ۱۸ عصر) تغذیه شدند (مشعل‌چی و همکاران، ۱۳۸۹؛ غیاثوند و شاپوری، ۱۳۸۸). جهت تعیین توده زنده هر یک از آکواریوم‌ها، بعد از ۴ هفته همه ماهیان هر آکواریوم با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ 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 ۱/۳۴±۲۷/۶۶ درجه سانتی‌گراد، ۰/۷۴±۷/۸۹ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۴۵±۷/۳۳ 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، ۲۰۱۰):

- درصد افزایش وزن بدن:

وزن ابتدایی(گرم)/۱۰۰ ×(وزن ابتدایی (گرم)-وزن انتهایی (گرم))

- نرخ رشد ویژه:

دوره پرورش(روز)/۱۰۰×(لگاریتم نپرین وزن ابتدایی(گرم)-لگاریتم نپرین وزن انتهایی (گرم))

- ضریب چاقی (شاخص وضعیت):

^{3}طول (سانتی‌متر) /۱۰۰× وزن(گرم)

- ضریب تبدیل غذایی:

وزن ابتدایی(گرم)-وزن انتهایی(گرم)/مقدار غذای خورده شده (گرم)

- میانگین رشد روزانه:

دوره پرورش(روز)×وزن ابتدایی(گرم)/۱۰۰×(وزن ابتدایی(گرم)-وزن انتهایی(گرم))

- درصد زنده‌مانی:

تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش/۱۰۰×تعداد ماهیان در پایان آزمایش

- شاخص گنادی:

وزن بدن (گرم)/۱۰۰× وزن گناد (گرم)

فرایند خونگیری: در پایان آزمایش از هر تیمار ۶ عدد ماهی (مجموعاً ۲۴ نمونه) به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. تغذیه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از خونگیری قطع شد و سپس با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری و از سرخرگ یا سیاهرگ دمی (زیر ستون مهره) واقع در پشت باله مخرجی خونگیری به‌عمل آمد. در هنگام خونگیری از مواد بی‌هوش‌کننده به علت احتمال تاثیر بر شاخص‌های خونی استفاده نگردید (Torrecillas و همکاران، ۲۰۱۱). شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی(MCHC)طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند (Klontz، ۱۹۹۴). با استفاده از سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سرم تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. جهت تعیین میزان آستازانتین خون، نیم میلی‌لیتر سرم به لوله آزمایش منتقل و یک میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درجه به آن اضافه شده و به‌مدت ۳۰ ثانیه با هم مخلوط شدند. آنگاه یک میلی‌لیتر هگزان به آن افزوده شده و به‌مدت یک دقیقه با شیکر تکان داده شدند. سپس هگزان توسط سانتریفوژ جدا گردیده و جذب نوری مخلوط در اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت شد و غلظت آستازانتین محاسبه گردید (Mendes-Pinto و همکاران، ۲۰۰۴؛ Weber، ۱۹۸۸).

فرایند عکس‌برداری: در انتهای دوره از ۳ ماهی از هر تیمار پس از بی‌هوش نمودن با پودر گل میخک عکس‌برداری انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ ایجاد شده در پوست ماهی از روش توصیه شده (Yam و Papakadis، ۲۰۰۴) استفاده گردید. برای ایجاد شرایط یکسان در تصویربرداری از یک جعبه یونولیتی با پوشش کاملاً سیاه داخلی مجهز به یک لامپ فلوروسنت ۲۰ وات و دوربین دیجیتال استفاده گردید. آنالیز عکس گرفته شده توسط نرم‌افزار فتوشاپ تجزیه و تحلیل شد. این نرم‌افزار رنگ را براساس سه فاکتور کمی L*a*b ارایه می‌دهد. رنگ L*a*b دارای مولفه روشنایی L که محدوده آن از ۰ تا ۱۰۰ می‌باشد و دو مولفه رنگی یکی a از رنگ سبز تا قرمز و دیگری b از رنگ آبی تا زرد می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف اسمیرنوف و آزمون همگنی گروه‌ها با آزمون Levene انجام پذیرفت. برای داده‌های همگن، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه‌ای و از آزمون دانکن برای جداسازی گروه‌های همگن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. آزمون غیرپارامتریک کروسکال-والیس برای داده‌های غیرهمگن استفاده گردید که معنی‌دار بودن گروه‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون من-ویتنی در سطح احتمال ۵٪ مشخص گردید. نرم‌افزار آماری SPSS Version ۱۹ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌کار برده شد.

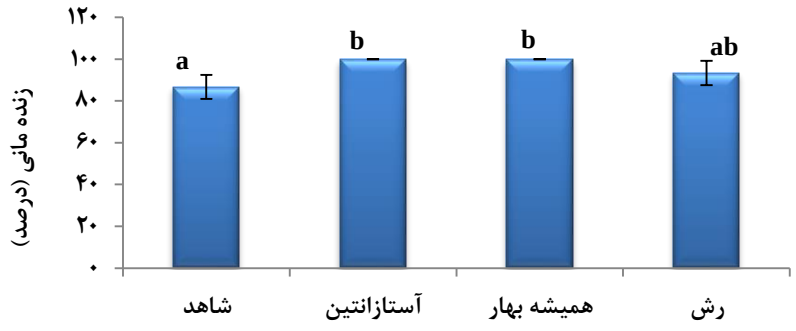
نتایج

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 آستازانتین مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری نداشت (p>۰/۰۵). در فاکتورهای شاخص گنادی و درصد زنده‌مانی بیش‌ترین میزان به تیمارهای آستازانتین و گل همیشه بهار اختصاص داشت که با بقیه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار آماری داشتند (p<۰/۰۵) (جدول ۱، شکل ۱).

جدول ۱ : مقایسه شاخص‌های رشد ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف

شاخص‌های رشد/ تیمارها	شاهد	آستازانتین	گل همیشه بهار	گاماروس
وزن اولیه (گرم)	۹/۷۸ ±۲۰/۷	۹/۵۷ ±۳/۵۴	۹/۹۲ ±۳/۱۹	۹/۲۷ ±۲/۷۳
وزن نهایی (گرم)	۱۳/۱۵ ±۱/۳۴	۱۶/۴۹ ±۳/۴۳	۱۴/۷۷ ±۰/۸۷	۱۳/۴±۵۹/۰۵
طول کل نهایی (سانتی‌متر)	۸/۹۴ ±۰/۳۴	۹/۱۳ ±۰/۶۶	۹/۱۱ ±۰/۳۷	۸/۷۶ ±۰/۷۹
افزایش وزن بدن (٪)	۴۴/۴۹ ±۶/۴۸	۸۲/۴۳ ±۳۷/۷۴	۶۴/۶۹ ±۳۱/۰۲	۴۷/۵۵ ±۱۰/۹۸
شاخص رشد ویژه (٪ در روز)	۰/۶۳ ±۰/۰۷	۱/۰۱ ±۰/۳۶	۰/۸۴ ±۰/۳۳	۰/۶۶ ±۰/۱۲
ضریب تبدیل غذایی	۶/۹۸ ±۳	۲/۵۱ ±۱/۳۴	۳/۲۲ ±۱/۷۳	۵/۱۲ ±۲/۱۹
میانگین رشد روزانه (گرم در روز)	۰/۷۷ ±۰/۱۱	۱/۴۲ ±۰/۶۵	۱/۱۱ ±۰/۵۳	۰/۸۲ ±۰/۱۹
شاخص گنادی (٪)	۳/۴۷ ±۰/۳۱^{a}	۶/۳۲ ±۰/۴۰^{c}	۵/۹۲ ±۰/۱۵^{c}	۵/۰۴ ±۰/۰۴^{b}
ضریب چاقی (٪)	۱/۸۳ ±۰/۱۴	۲/۱۴ ±۰/۰۶	۱/۹۴ ±۰/۱۵	۱/۹۷ ±۰/۱۲
زنده مانی (٪)	۸۶/۶۶ ±۵/۷۷^{a}	۱۰۰^{b}	۱۰۰^{b}	۹۳/۳۳ ±۵/۷۷^{ab}

اعداد (میانگین±انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p<۰/۰۵)



شکل ۱: مقایسه درصد زنده‌مانی در تیمارهای مختلف

جدول ۲ نتایج شاخص‌های خونی را در ماهیان سیچلاید سر قرمز در پایان آزمایش نشان می‌دهد. ماهیان تغذیه شده با آستازانتین دارای بیش‌ترین (p<۰/۰۵) تعداد گلبول‌های سفید و لنفوسیت بودند. بیش‌ترین تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین، هماتوکریت و MCV در ماهیان تغذیه کرده با گل همیشه بهار ثبت گردید (p<۰/۰۵). تیمارهای آستازانتین و گل همیشه‌بهار به‌ترتیب بیش‌ترین میزان رنگدانه آستازانتین را در خون به‌خود اختصاص دادند که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری داشتند (p<۰/۰۵).

جدول ۲ : مقایسه شاخص‌های خونی ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف

شاخص‌های خونی/ تیمارها	شاهد	آستازانتین	گل همیشه بهار	گاماروس
هماتوکریت (٪)	۳۴±۱^{a}	۳۲/۶۶ ±۰/۵۷^{a}	۳۷ ±۲/۶۴^{b}	۳۵±۱ ^{ab}
هموگلوبین (گرم/ دسی‌لیتر)	۹/۱۳ ±۰/۲۰^{ab}	۸/۶۳ ±۰/۱۵^{a}	۹/۴۳ ±۰/۵۰^{b}	۹/۲۶ ±۰/۲۳^{b}
گلبول قرمز (تعداد × ۱۰^{۶})	۱/۵۴ ±۰/۰۵^{b}	۱/۴۳ ±۰/۰۲^{a}	۱/۵۶ ±۰/۰۷^{b}	۱/۵۵ ±۰/۰۴^{b}
گلبول سفید (تعداد × ۱۰^{۳})	۳/۹۳ ±۰/۳۷^{a}	۶/۵۶ ±۰/۷۵^{b}	۵/۴۰ ±۰/۴۵^{b}	۶/۰۳ ±۰/۷۵^{b}
MCV (فمتولیتر)	۲۲۰/۶۶ ±۲/۰۸^{a}	۲۲۸/۳۳ ±۰/۵۷^{a}	۲۳۶ ±۷/۵۴^{b}	۲۲۵ ±۱/۷۳^{a}
MCH (پیکوگرم)	۵۹±۱	۶۰±۱	۶۰/۳۳ ±۰/۵۷	۵۹/۶۶ ±۰/۵۷
MCHC (٪)	۲۷ ±۰^{b}	۲۶/۶۶ ±۰/۵۷^{b}	۲۵/۳۳ ±۰/۵۷^{a}	۲۶/۳۳ ±۰/۵۷^{b}
لنفوسیت (٪)	۶۵/۶۶ ±۲/۰۸^{a}	۷۶/۳۳ ±۰/۵۷^{c}	۷۰/۳۳ ±۲/۰۸^{b}	۶۸ ±۱/۷۳^{ab}
مونوسیت (٪)	۴/۶۶ ±۰/۵۷^{c}	۲/۳۳ ±۰/۵۷^{a}	۲/۶۶ ±۰/۵۷^{ab}	۳/۶۶ ±۰/۵۷^{bc}
نوتروفیل (٪)	۲۹/۳۳ ±۱/۱۵^{b}	۲۱ ±۱^{a}	۲۶/۶۶ ±۱/۱۵^{b}	۲۷/۳۳ ±۲/۰۸^{b}
ائوزینوفیل (٪)	۰/۳۳ ±۰/۵۷	۰/۳۳ ±۰/۵۷	۰/۳۳ ±۰/۵۷	۱ ±۰
آستازانتین (میکروگرم/ میلی‌لیتر)	۳/۱۶ ±۰/۵۰^{a}	۱۰/۶۶ ±۱/۰۷^{c}	۶/۶۳ ±۱/۱۶^{b}	۳/۳۰ ±۰/۳۶^{a}

اعداد (میانگین±انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p<۰/۰۵)

نتایج مولفه‌های رنگی ماهیان سیچلاید سرقرمز در جدول ۳ ارایه شده است. همه تیمارها دارای بالاترین میزان روشنایی رنگ در بالای سرپوش آبششی بوده که با تیمار آستازانتین اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند (p<۰/۰۵). تیمارهای آستازانتین و همیشه بهار به ترتیب دارای بیش‌ترین میزان رنگ قرمز در بالای سرپوش آبششی و نیز زیر باله سینه‌ای بوده که با تیمارهای گاماروس و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند (p<۰/۰۵). در میزان رنگ زرد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری ثبت نگردید (شکل‌های ۲ تا ۵).

جدول ۳ : مقایسه مولفه‌های رنگی ماهیان سیچلاید سر قرمز در تیمارهای مختلف

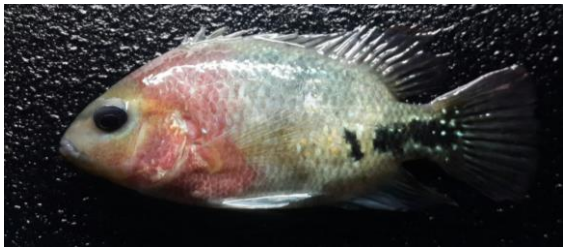
مولفه های رنگی/ تیمارها	شاهد	آستازانتین	گل همیشه بهار	گاماروس
روشنایی L- بالای سرپوش آبششی	۷۵/۳۳ ±۳/۰۵^{b}	۴۶ ±۹/۶۴^{a}	۶۵ ±۱/۷۳^{b}	۶۵/۳۳ ±۴/۰۴^{b}
رنگ قرمز a- بالای سرپوش آبششی	۲/۳۳ ±۱/۱۵^{a}	۳۱/۳۳ ±۷/۲۳^{b}	۲۴/۳۳ ±۳/۰۵^{b}	۷/۶۶ ±۲/۸۸^{a}
رنگ زرد b- بالای سرپوش آبششی	۱۷ ±۳/۴۶	۱۳/۶۶ ±۱/۱۵	۹/۳۳ ±۵/۷۷	۱۸ ±۵/۵۶
روشنایی L- زیر باله سینه‌ای	۳۶ ±۲۵/۷۰	۱۷ ±۱۰/۵۳	۲۹/۳۳ ±۵/۵۰	۸±۱۶/۵۴
رنگ قرمز a- زیر باله سینه‌ای	۳/۳۳ ±۱/۱۵^{a}	۱۶/۳۳ ±۲/۰۸^{b}	۱۵/۳۳ ±۴/۷۲^{b}	۵ ±۱/۷۳^{a}
رنگ زرد b- زیر باله سینه‌ای	۸ ±۷/۲۱	۸ ±۲/۶۴	۱۳/۳۳ ±۰/۵۷	۵ ±۱/۷۳

اعداد (میانگین±انحراف معیار) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p<۰/۰۵)

شکل ۲: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با غذای شاهد

شکل ۳: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با گاماروس

شکل ۴: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با گل همیشه بهار



شکل ۵: سیچلاید سرقرمز تغذیه شده با آستازانتین

بحث

رنگ به‌عنوان یک عامل مهم در زندگی ماهیان نقش عمده‌ای را ایفا کرده و وظایف متعدد و مهمی را بر عهده دارد. ازجمله این‌که در مراحل نوزادی، دستگاه عصبی مرکزی را از نور محافظت می‌کند یا به تنظیم درجه‌حرارت 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 به‌کار می‌رود (ستاری، ۱۳۸۱). نوع رنگ ماهیان به‌وسیله 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. به‌علاوه 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 کاروتنوئیدها نبوده و این دسته از مواد را در شرایط طبیعی به‌وسیله غذای مصرفی شامل گیاهان، سخت‌پوستان و نرم‌تنان غنی از کاروتنوئید تامین می‌کنند. بنابراین کاروتنوئیدها در شرایط پرورشی باید به‌صورت مکمل غذایی مورد استفاده قرار گیرند. جذب و تجمع آستازانتین در ماهیان بیش‌تر از سایر کارتنوئیدهاست (Torrisen و همکاران، ۱۹۸۹).

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 به‌خود 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 به‌همراه خواهد 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، ۱۹۸۹) که این موضوع با یافته‌های تحقیق جاری تطابق دارد. هم‌سو با تحقیق حاضر، غیاثوند و شاپوری (۱۳۸۸) تاثیر ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه‌های طبیعی هویج، گوجه و فلفل قرمز و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه مصنوعی آستازانتین را بر رنگ پوست ماهی اسکار آلبینو (*Astronotus ocellatus*) به‌مدت ۳۰ 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 طلایی (*Carassius auratus*) به‌مدت ۵ هفته مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تیمار آستازانتین افزایشی را در میزان رنگ‌پذیری ماهی قرمز نشان داد (Gouveia و Rema، ۲۰۰۵). Ezhil و همکاران (۲۰۰۸) در آزمایشی تاثیر سطوح ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۵۰ گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه‌بهار را به‌مدت ۲۱ روز در ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*) مورد ارزیابی قرار دادند. تیمار ۱۵۰ گرم در کیلوگرم پودر گل همیشه بهار بیش‌ترین میزان رنگ‌پذیری را ایجاد نمود لیکن بالاترین درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه در تیمار ۸۰ گرم در کیلوگرم ثبت گردید. این محققین تاکید نمودند که بایستی سطح میانی انتخاب شود تا هم‌زمان شاخص‌های رشد و رنگ‌پذیری در ماهیان تحت تاثیر قرار گیرند. در مطالعه‌ای دیگر، Erdem و همکاران (۲۰۰۹) تاثیر ۵۰ گرم در کیلوگرم پودر گاماروس، ۱۰ گرم در کیلوگرم فلفل قرمز، ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین و ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کانتازانتین را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مطالعه کردند. تیمارهای تغذیه شده با غذای حاوی کانتازانتین درصد بیش‌تر تجمع رنگدانه در پوست و عضلات را نشان دادند. Awasthi و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی سطوح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ گرم در

کیلوگرم پودر گل همیشه بهار به مدت ۴۰ روز در ماهی گورامی دارف (*Colisa lalia*) دریافتند که ماهیان تغذیه شده با سطح ۱۰۰ 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 رنگ‌پذیری 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، ۲۰۰۰). 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 آنتی بادی و محافظت از چشم و پوست در برابر آسیب های اشعه ماوراء بنفش به‌وسیله مهار کردن اکسیژن آزاد نقش دارد (گالیوم و همکاران، ۲۰۰۱). گلبول‌های سفید یکی از مهم‌ترین سلول‌هایی هستند که می توانند واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی را در ماهیان تحریک کنند. در ماهیان سیستم ایمنی ذاتی یا غیراختصاصی یک مکانیسم دفاعی اساسی در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود (سلطانی، ۱۳۸۷). 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، ۱۳۸۹) و این نشان‌دهنده مناسب بودن آب آکواریوم‌ها می‌باشد. مجدمحمدی و همکاران (۱۳۹۲) با افزودن عصاره گل همیشه بهار در سطوح ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵٪ به جیره غذایی ماهی قرمز (*Carassius auratus*) افزایش معنی‌داری را در تعداد لنفوسیت‌ها، شاخص‌های ایمنی نظیر C_3 و C_4 در سطح ۱/۵٪ گزارش نمودند. حجم فشرده شده گلبول‌های قرمز را هماتوکریت می‌نامند که تا حدی به تعداد گلبول‌های قرمز وابسته است اما بیش‌تر به‌میزان 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 به‌هم وابسته هستند (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). ثابت شده که کاهش تعداد و کیفیت گلبول‌های قرمز منجر به اختلال در تامین اکسیژن می‌شود. به‌علاوه گلبول‌های قرمز نقش مهمی در انتقال اکسیژن در بدن ایفا می‌کنند و مقادیر ناکافی گلبول‌های قرمز اثر منفی روی متابولیسم دارد (Klontz، ۱۹۹۴). در هم‌خوانی با این موضوع، رابطه یکسان و مستقیمی در مطالعه حاضر بین هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در همه تیمارها وجود داشت. افزودن سه سطح ۳۳، ۴۴ و ۵۵ گرم پودر فلفل قرمز و ۴۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین برای مدت ۸ هفته در قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و شمارش افتراقی تیمار آستازانتین بیش‌ترین مقدار را به‌خود اختصاص داد که در برخی از این شاخص‌ها مطالعه حاضر با آن هم‌سو می‌باشد (Talebi و همکاران، ۲۰۱۲). در آزمایشی دیگر، Azimi و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر چهار جیره حاوی پودر گوجه‌فرنگی، پودر فلفل قرمز، رنگدانه‌های بتاکاروتن و آستازانتین را در ماهی فلاورهورن (*Cichlasoma* sp.) مطالعه نمودند. تیمار آستازانتین بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید و تعداد لنفوسیت را به‌خود 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 ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ گرم در کیلوگرم پودر جلبک *Dunaliella salina* به‌مدت ۶ هفته در تغذیه ماهی سوروم (*Heros severus*) ثابت کرد که میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و لیزوزیم اختلاف معنی داری را در سطح ۲۰۰ گرم در کیلوگرم با سایر سطوح نشان دادند (Alishahi و همکاران، ۲۰۱۴). ماهیان تغذیه شده با آستازانتین و گل همیشه بهار به‌ترتیب دارای بالاترین میزان رنگدانه آستازانتین در خون بودند که با تیمارهای گاماروس و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری داشتند. این افزایش و اختلاف بدیهی می‌باشد چراکه 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 به‌عنوان منبع کاروتنوئید طبیعی گیاهی، گاماروس به‌عنوان منبع کاروتنوئید طبیعی جانوری و آستازانتین به‌عنوان 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 به‌دلیل 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 به‌دلیل داشتن رنگدانه طبیعی تاثیر به‌سزایی 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 به‌عنوان جایگزین مناسب آستازانتین در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان زینتی معرفی نماید. گاماروس به‌دلیل داشتن پوسته کیتینی باعث کاهش کارایی تغذیه شده و در نتیجه کاهش رشد و رنگ‌پذیری ماهی را به‌همراه داشته است. با این وجود به‌دلیل 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 می گذارد، می تواند مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس ایمان حیاتی رئیس محترم کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی هامون کرج به‌دلیل راهنمایی‌های ارزشمندشان و نیز در اختیار گذاشتن کلیه امکانات تشکر و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

۱. **احمدی، م. و زمینی، ع.ع.، ۱۳۹۴.** تاثیر رنگدانه طبیعی چغندر قرمز (*Beta vulgaris*) و روناس (*Rubia tinctorum*) بر رنگ‌پذیری پوست و رشد ماهی آنجل سفید (*Pterophyllum scalare*). مجله زیست شناسی جانوری تجربی. سال ۴، شماره ۳، صفحات ۵۳ تا ۶۰.

۲. **امیدبیگی، ر.، ۱۳۸۴.** تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد دوم). انتشارات به نشر (آستان قدس رضوی). ۴۳۸ صفحه.

۳. **امینی، م.، ۱۳۸۵.** تکثیر و پرورش ماهیان زینتی. انتشارات نقش مهر. ۲۱۴ صفحه.

۴. **ستاری، م.، ۱۳۸۱.** ماهی‌شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ صفحه.

۵. **سلطانی، م.، ۱۳۸۷.** ایمنی‌شناسی ماهیان و سخت‌پوستان. انتشارات دانشگاه تهران. ۲۶۴ صفحه.

۶. **غیاثوند، ز. و شاپوری، م.، ۱۳۸۸.** تاثیر رنگدانه‌های طبیعی و مصنوعی و مقایسه اثر آن‌ها بر ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*). مجله بیولوژی دریا. سال ۱، شماره ۱، صفحات ۷۸ تا ۸۵.

۷. **کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ یوسفی‌جوردهی، ا.؛ یارمحمدی، م. و نصری‌تجن، م.، ۱۳۸۹.** فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان. ۱۹۴ صفحه.

۸. **گالیوم، ج.؛ کاشیک.، س.؛ برگات و.ر، پ. و متیلر، ر.، ۲۰۰۱.** تغذیه و غذادهی ماهی و سخت‌پوستان. ترجمه: مرتضی علیزاده، ۱۳۸۸. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۵۰۹ صفحه.

۹. **مجدمحمدی، س. ح.؛ منوچهری، ح.؛ محمدی‌زاده‌خوشرو، م. و درویشی، ص.، ۱۳۹۲.** اثر عصاره گیاه همیشه بهار بر ویژگی‌های ایمنی و برخی فاکتورهای خونی ماهی قرمز. مجله تحقیقات منابع طبیعی تجدید شونده. سال ۴، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۱۴.

۱۰. **مشعل‌چی، م.؛ علیشاهی، م.؛ جواهری‌بابلی، م. و حجازی، م.ا.، ۱۳۸۹.** مقایسه اثر آستاگزانتین و جلبک دونالیلا سالینا (*Dunaliella salina*) بر پوست ماهی اسکار سفید (*Astronotus ocellatus*). مجله بیولوژی دریا. سال ۲، شماره ۶، صفحات ۷۵ تا ۸۳.

۱۱. **AOAC. ۱۹۹۵**. Official methods of analysis of AOAC, Vol.۱, ۱۵th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

۱۲. **Alishahi, M.; Karamifar, M.; Mesbah, M. and Zarei, M., ۲۰۱۴**. Hemato-immunological responses of *Heros severus* fed diets supplemented with different levels of *Dunaliella salina*. Fish Physiol. Biochem. Vol. ۴۰, pp: ۵۷-۶۵.

۱۳. **Awasthi, M.; Kashyap, A. and Serajuddin, M., ۲۰۱۴.** Effect of plant meal as a carotenoid source on the developmentof pigmentation in Dwarf Gourami, *Colisa lalia*. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biol. Sci. Vol. ۸۴, No. ۴, pp: ۱۰۳۱-۱۰۳۴.

۱۴. **Azimi, A.; Imanpoor, M.R.; Maleknejad, R. and Shokrollahi, S., ۲۰۱۴.** 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. ۲, No. ۱۱, pp: ۲۷۶۱-۲۷۶۷.

۱۵. **Erdem, M.E.; Yesilayer, N. and Kaba, N., ۲۰۰۹.** Effects of organic and synthetic carotenoids on the sensory quality and chemical composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Anim. Vet. Adv. Vol. ۸, No.۱, pp: ۳۳-۳۸.

۱۶. **Ezhil, J.; Jeyanthi1, C. and Narayanan, M., ۲۰۰۸.** Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red swordtail, *Xiphophorus helleri*. Turkish J. Fish. Aquat. Sci. Vol. ۸, pp: ۹۹-۱۰۲.

۱۷. **Gouveia, L. and Rema, P., ۲۰۰۵.** Effect of microalgal biomass concentration and temperature on ornamental goldfish skin pigmentation. Aquacult. Nutr. Vol. ۱۱, pp: ۱۹-۲۳.

۱۸. **Keiffer, J.D., ۲۰۰۰.** Limits to exhaustive exercise in fish. Comp. Biochem. Phys. Vol. ۱۲۶, pp: ۱۶۱-۱۷۹.

۱۹. **Klontz, G.W., ۱۹۹۴.** 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. ۳. SOS Publications, New Jersey, USA. pp: ۱۲۱-۱۳۲.

۲۰. **Kop, A. and Durmaz, Y., ۲۰۰۸.** The effect of synthetic and natural pigments on the color of the cichlids (*Cichlasoma severum*). Aquacult. Int. Vol. ۱۶, pp: ۱۱۷-۱۲۲.

۲۱. **Luo, G.; Xu, J.; Teng, Y.; Ding, C. and Yan, B., ۲۰۱۰.** Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass reared in freshwater. Aquacult. Res. Vol. ۴۱, pp: ۲۱۰-۲۱۹.

۲۲. **Mathias, J.A. and Rurkowski, I., ۲۰۰۲.** Nutritional quality of *Gammarus lacustris* for trout culture. T. Am. Fish Soc. Vol. ۱۱۱, pp: ۸۳-۸۹.

۲۳. **Mcmahan, C.D.; Murray, M.C.; Geheber, A.D.; Boeckman, C.D. and Piller, K.R., ۲۰۱۱.** *Paraneetroplus synspilus* is a junior synonym of *Paraneetroplus melanurus* (Teleostei: Cichlidae). Zootaxa. Vol. ۲۸۳۳, pp: ۱-۱۴.

۲۴. **Mendes-Pinto, M.M.; Choubert, G. and Morais, R., ۲۰۰۴.** Effect of dietary bile extracts on serum response of astaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a preliminary study. Aquacult. Nutr. Vol. ۱۰, pp:۳۵۳-۳۵۷ .

۲۵. **Talebi, M.; Khara, H.; Zoriehzahra, J.; Ghobadi, S.H.; Khodabandelo, A. and Mirrasooli, E., ۲۰۱۳.** Study on effect of red bell pepper on growth, pigmentation and blood factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). World J. Zool. Vol. ۸, No.۱, pp: ۱۷-۲۳.

۲۶. **Torrecillas S.; Makol A.; Caballero M.J.; Montero D.; Gines R.; Sweetman J. and zquierdo M.S., ۲۰۱۱**. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Aquacult. Nutr. Vol. ۱۷, No. ۲, pp: ۲۲۳-۲۳۳.

۲۷. **Torrisen, O.J.; Hardy, R.W. and Shearer, K.D., ۱۹۸۹.** Pigmentation of salmonids carotenoid deposition and metabolism. CRC Crit. Rev. Aquat. Sci. Vol. ۱, pp:۲۰۹-۲۲۵.

۲۸. **Vernberg, F.J. and Vernberg, W.B., ۱۹۹۹.** The biology of crustacea. Vol. B. Academic Press. New York, USA. ۲۵۹ p.

۲۹. **Weber, S., ۱۹۸۸.** Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and premixes with HPLC. In: Analytical Methods for Vitamins and Carotenoids in Feeds. Edited by H.E. Keller. Roche Publication No.۲۲۶۴, Basel, Switzerland. pp:۵۹-۶۱.

۳۰. **Yam, K.L. and Papadakis, S.E., ۲۰۰۴.** A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. J. Food Eng. Vol. ۶۱, pp:۱۳۷-۱۴۲.