بهبود رنگ پوست ماهی سیکلید مالاوی (*Pseudotropheus zebra*) با تجویزخوراکی ریزجلبک اسپیرولینا(*Arthrospira maxima*)

احمد شادی[1*]، امید پیرنیا[2]

۱. گروه زیست فناوری دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه خلیج فارس
۲. شرکت کاسپین فیش، جمهوری آذربایجان

تاریخ دریافت: ۹۴ /۲/۸ تاریخ پذیرش:۹۴/۶/۳

چکیده

ماهیان زینتی پرورشی در شرایط پرورشی متراکم، اغلب نسبت به ماهیان در محیط طبیعی کمرنگتر هستند. پژوهش‌های زیادی نشان داده‌است که افزودن جلبک‌ها به جیره غذایی ماهی، به‌دلیل داشتن رنگیزه‌های طبیعی، می‌تواند رنگ ماهیان را بهبود دهد؛ از این‌رو در تحقیق حاضر، اثر کاربرد جلبک اسپرولینا (*Arthrospira maxima*) به صورت خوراکی بر روی فاکتورهای رنگ پوست ماهی سیکلید مالاوی (*Pseudotropheus zebra*) مورد بررسی قرارگرفت. تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی با وزن تقریبی۱/۴± ۱۵گرم در ۶ تیمار غذایی به تعداد ۱۰ ماهی در هر تیمار و سه‌بار تکرار برای هر سطح آزمایشی و با درصدهای مختلف ۰، ۵ ، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد از پودر خشک اسپیرولینا در جیره غذایی آزمایش شدند. پس از ۵ هفته از ماهیان هر تیمار، نمونه برداری تصویری با شرایط عکس‌برداری مشابه و با کیفیت ۱۴۰۰۰dpi×۱۰۰۰۰ انجام شد. برای ارزیابی تغییرات رنگی ایجاد شده در پوست ماهیان، سیستم رنگ‌سنجیL×a×b و نرم افزار فوتوشاپ به‌کار گرفته‌شد. بر اساس آنالیزهای انجام شده، مولفه L در تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت($P<۰/۰۵$)؛ ولی به‌طورکلی سطح استفاده ۱۵ درصد پودر اسپیرولینا در جیره به عنوان درصد بهینه استفاده از این جلبک جهت بهبود کیفیت رنگ محاسبه شد. درتیمار دارای ۱۵درصد اسپیرولینا در جیره، تمام فاکتورهای رنگی مورد سنجش، اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت؛ همچنین تمام فاکتورهای تعیین شده در بهبود رنگ ماهی در این سطح مطلوب بود($P<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: جلبک اسپیرولینا، ماهی زینتی، آستازانتین، کاروتنوئید

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک:shadi@pgu.ac.ir

۱. مقدمه

بیش از ۷۰۰ گونه از ماهیان زینتی در شرایط اسارت تولید می شود و رنگ نقش بسیار مهمی در مقبولیت کلی ماهیان زینتی ایفا می کند(Chapman *et al.*,1997). در پرورش ماهیان زینتی، جدای از شکل بدن و بالهها و اندازه، مهمترین عاملی که به‌طور مستقیم بر قیمت فروش ماهی تاثیرگذار است، رنگ آمیزی جذاب و تنوع رنگ در آنهاست (Sinha&Asimi 2007;Gouveia and rema 2005;Gouveia*et al*. 2003; Wang *et al*. 2006). در شرایط پرورش متراکم، ماهیان منحصراً با غذاهای ترکیبی تغذیه می شوند که می بایست توسط کارتنوئیدها غنی سازی شوند(Gouveia et al.,2003) چرا که اکثر جانوران از جمله ماهیان قادر به سنتز کارتنوئیدها نیستند(Hata and Hata 1972; Trrissen*et al.*,1989 ; Storbakken and No, 1992). جیرههای افزایش دهنده رنگ در ماهیها میبایست حاوی رنگدانههای طبیعی اضافی باشند تا رنگ ماهیان زینتی افزایش یابد (Ahilian*et al.*,2008).

اسپیرولینا (*Arthrospira maxima*) یک جلبک سبز-آبی رشته ای چند سلولی متعلق به راسته Cyanophycea است (Torrissen *et al.*, 1989). اسپیرولینا به‌عنوان یک ماده غذایی مکمل جیرهٔ ماهی، میگو و ماکیان و به طور فزایندهای به عنوان مکمل پروتئین و ویتامین در جیرههای آبزیان مصرف میشود(Habib *et al.*, 2008).این ریزجلبک دربردارنده رنگدانههای بسیاری از جمله کلروفیل a، زانتوفیل، بتا-کاروتن، اکیننون، میکسوزانتوفیل، زیزانتین، کانتازانتین، دیاتوگزانتین، ۳- هیدروکسی اکیننون، بتا-کریپتوزانتین، به اضافه فیکو بیلیپروتئینهای سی- فیکوسیانین (رنگدانه آبی رنگ) و آلوفیکوسیانین است(Habib *et al.*, 2008).

مزایای زیادی در رابطه با کاربرد اسپیرولینا در آبزیپروری مشاهده شده‌است. از این موارد میتوان به نرخ رشد بهتر، افزایش درصد بقاء، بهبود کیفیت و افزایش رنگ ماهیان پرورشی، ضمن کاهش نیاز به مصرف داروها و کاهش آلوده کردن پساب ها (پاکسازی پساب خروجی) اشاره کرد نمود؛ بنابراین اسپیرولینا خوش خوراکی غذا را ضمن تأمین مواد مغذی ضروری افزایش می دهد(Hensen, 1990).

سیکلید مالاوی (*P. zebra*) متعلق به خانواده سیکلیده (Cichlidae) از رده ماهیان استخوانی(Osteichteyes) زیررده بالهشعاعیان (Actinopterygil) و راسته سوف ماهیان (Perciformes) است. این خانواده به عنوان یک نمونه برجسته از تکامل مهره داران است، که بسیاری از ویژگی های مربوط به سادگی تکثیر و تخم ریزی را در خود دارند. زیستگاه طبیعی آنها، اغلب در آمریکای جنوبی و مرکزی و آفریقا است (Walisiewicz*et al.*, 2005).

رنگ آمیزی سیکلید مالاوی زبرا ، همچون بسیاری از سیکلید های دریاچه ای بسیار متغیر است. بدن معمولاً متمایل به آبی است و جنس نر آن نقطه های زرد تخم‌مرغی بر روی باله مخرجی خود دارد؛ این نقطه ها معمولا در جنس ماده وجود ندارد و یا بسیار کمرنگ و غیرواضحاست. این ماهی ها جزء گروه ماهیان دهانپرور هستند. ماهی ماده وظیفه نگهداری از تخم ها در دهان را تا زمان شنای آزاد بچه ماهی ها به عهده می گیرد (Walisiewiczet al.,2005).

بررسیهای مختلفی درباره اثر مواد طبیعی دارای رنگدانه روی رنگ پوست ماهیها انجام شدهاست. از جمله Akoو همکاران(2000) پژوهشهایی به منظور افزایش رنگ چند گونه از ماهیان زینتی با استفاده از غذای خشک پوشش داده شده با جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) و (*Haemotococcus*

pluvialis ترتیب دادند که گونه‌های مورد استفاده شامل دم‌شمشیری(*Xiphophorus helleri*) ، رنگینکمان ماهی(*Pseudomugil furcatus*)، سیکلید توپاز(*Cichlasoma myrnae*)، گورامی بوسنده(*Helostoma temmincki*)، مولی(*Pachouli latipinna*) و بارب رزی (*Barbus conchonius*) بودند، که نتایج نشان داد که گروههای تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا و*Haemotococcus* نسبت به گروه شاهد که هیچگونه کارتنوئیدی مصرف نکرده‌اند، از نظر رنگ، اختلاف معنی‌داری داشته‌اند.

در حال حاضر، این گونه در کارگاههای تکثیر و پرورش ماهیان زینتی در ایران به وفور تکثیر و پرورش داده‌میشود و گونه بسیار زیبایی است؛ اما یکی از مشکلات عمده تولیدکنندگان این ماهی در کشور، در شرایط پرورش در سالن، کمرنگ بودن ماهیها و عدم توانایی رقابت با ماهیهای وارداتی از همین گونه است. درنتیجه، با توجه به اهمیت رنگ در افزایش ارزش تولید ماهیان زینتی، در مطالعه حاضر میزان رنگپذیری پوست در این گونه با استفاده از جیرهٔ غذایی حاوی پودر جلبک اسپیرولینا بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

به منظور تعیین میزان رنگ پذیری و نسبت بهینه، در مجموع ۱۵ اکواریوم با حجم کاری ۷۰ لیتر در نظر گرفته‌شد. مجموعا ۱۸۰ قطعه سیکلید مالاوی زبرا(*P. zebra*) با متوسط وزن۱/۴±۱۵ گرم انتخاب و در آکواریومهای آزمایشی با حجم کاری ۷۰ لیتر به صورت تصادفی تقسیم شدند. محل انجام آزمایش شرکت آرنگ ماهی لیان واقع در بوشهر بود. جنسیت ماهیان در این تحقیق در نظر گرفته‌نشده‌است و ماهیان بدون تفکیک جنسیتی انتخاب شدند. آکواریومهای مورد تحقیق، همگی مجهز به هواده و بیوفیلتربودند. ۵ تیمار با نسبت اسپیرولینای ۰۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ درصد در نظر گرفته‌شد. بررسی با ۳ تکرار برای هر سطح آزمایشی انجام شد و در هر تکرار ۱۰ قطعه سیکلید مالاوی زبرا (*Psodotropheuszebra*) ذخیرهسازی شد. در تمام طول آزمایش سعی بر این بوده تا میزان اکسیژن و فاکتورهای کیفی آب نیز در حد مطلوب این گونه حفظ شود. تعویض آب نیز روزانه یک ساعت پس از غذادهی با سیفون کردن آکواریوم ها توسط شلنگ تا ۸۰ درصد انجام شد.

در این آزمایش یک جیره غذایی تر پایه با مواد در دسترس و معمول در کارگاه پرورش ماهیان زینتی متشکل از دل و سنگدان مرغ (۸۴٪)، پودر ماهی(۱۴٪)، نمک(۱٪)، مخلوط ویتامین و مواد معدنی (۰/۵ ٪) تهیه و این مواد ابتدا توسط چرخگوشت کاملاً چرخ شده و سپس با استفاده از این جیرهٔ پایه ای، جیرههای غذاییتیمارهای آزمایش با اضافه کردن پودر جلبک به جیره پایه گفته شده تنظیم گردید.

پس از آمادهسازیجیرههای آزمایشی،جیرهٔ غذایی هر گروه تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجهٔ سانتیگراد منجمد گردید.غذادهی روزانه تا حد سیری در ساعت ۸ صبح صورت پذیرفت. با توجه به اینکه این ماهی بسیار خوشاشتها است، در عرض چند ثانیه در همان حالت نیمه منجمد به مصرف ماهیها میرسد و تراوش مواد غذایی و رنگدانهها به درون آب بسیار کاهش مییابد.پودر اسپیرولینا مورد استفاده در این پژوهش از نوع ارگانیک و محصول کشور تایوان(,®Febico Biophyto) است که از طریق شرکت سیناریزجلبک در قشم تهیه شده است.

نمونهبرداری جهت سنجش سه فاکتور رنگی L، a و b در پایان روز ۳۵ تغذیه صورت گرفت و پس از تعیین درصد بقاء (Wallat*et al.*,2005)، برای هر تیمار نمونهها برای رنگسنجی آمادهسازی شد.برای این منظور در پایان دوره آزمایش ماهیهای هر تیمار- تکرار پس از خارج کردن از آکواریومهای آزمایش ابتدا با استفاده از

پودر گل میخک به میزان ۳۰ گرم به ازاء ۱۰ لیتر آب بیهوش شده و پس از بیهوشی کامل ماهیهای هر تیمار- تکرار جهت عکسبرداریروی صفحه شیشهای یک دستگاه اسکنر (Canon 4200F) چیده شدند و پس از بستن درب اسکنر، تصویری با درجه کیفی 10000×14000 dpi از هر گروه تهیه گردید و برای مراحل بعدی با استفاده از نرم افزار فتوشاپ ۸ ذخیره - شد.

جدول۱. آنالیز تقریبی ارزش غذایی پودر اسپیرولینای مورد استفاده

ترکیب	درصد
پروتئین خام	۶۷-۵۵
چربی	۸ -۶
فیبر	۶ -۲
خاکستر	۸ -۶
کربوهیدرات	۲۰ -۱۲
رطوبت	۷ -۴

نمونهبرداری از رنگ ماهی بهوسیله نرمافزار فوتوشاپ از تصویر به دست آمده، صورتگرفت. در این تحقیق محل در نظر گرفته جهت نمونهبرداری برای تمام ماهیها ثابت بوده، در تمام آنها حدوداً نیم سانت زیر اولین شعاع بالۀ پشتی، بر روی باند تیرۀ بدن به عنوان محل رنگسنجی تعیین شد و از این منطقه ۵ نقطه در نظر گرفتهشد و میانگین این ۵ نقطه جهت انجام محاسبات آماری مورد استفاده قرار- گرفت(Ehtiati, 2008).

سیستم رنگی Lab پیشنهاد شده توسط CIE (1976) به عنوان مقیاس رنگسنجی در نظر گرفته شد. در این سیستم فاکتورL میزان روشنایی را اندازهگیری میکند و از صفر تا ۱۰۰ عدد آن تغییر میکند که صفر برای سیاه و ۱۰۰ برای سفید مطلق در نظر گرفته میشود به طوری که هرچه عدد به دست آمده برای فاکتور L به سمت صفر نزدیکتر باشد به عبارتی رنگ پوست ماهی نیز تیرهتر است که نشان دهنده تجمع بیشتر رنگدانه در سطح پوست است، که این تیرگی رنگ در خصوص ماهیان زینتی یک فاکتور مثبت در نظر گرفته می شود و بالعکس هرچه عدد به سمت ۱۰۰+ متمایل باشد رنگ پوست ماهی روشن تر و به عبارتی به معنای کم رنگ تر شدن پوست بدن است (Pavlidis, 2006).

در مورد دو پارامتر رنگی a وb نیز پارامتر a رنگ بندی قرمز تا سبز را تعیین میکند که مقدار آن از ۱۰۰+ تا ۱۰۰- متغیر است به طوری که هرچه عدد به دست آمده از صفر (رنگ خنثی) به سمت مثبت حرکت کند رنگ به سمت قرمزی متمایل میشود و هرچه به سمت منفی سوق پیدا کند رنگ به سبزی متمایل میشود. فاکتور b نیز رنگبندی زرد تا آبی را مشخص میکند که مقدار آن از ۱۰۰+ تا ۱۰۰- متغیر است به طوری که اعداد مثبت در محدودۀ رنگ زرد و صفر حالت خنثی و اعداد منفی در محدودۀ رنگ آبی است و هرچه به سمت انتهای این محدودۀ عددی حرکت کنیم بر میزان زردی یا آبی بودن رنگ افزوده میشود.

CIE (1978) ، رنگ را به صورت یک ویژگی سهبعدی بیان نمودهاست که از یک جزء روشنایی و دو جزء رنگی با نامهای کروما(Chroma) و تهرنگ (Hue°) تشکیل شدهاست. رنگهای مختلف را میتوان با تعیین این سه مؤلفه بصری از یکدیگر تشخیص داد. فاکتور ته- رنگ(hue) با طول موج غالب تعیین میشود و نام یک رنگ در حالت خالص خود در طیف رنگی است و این فاکتور به صورت زاویۀ ته رنگ در صفحۀ a-b معرفی می شود به طوری که با یک گردش پادساعت گرد حول محور a وb افزایش پیدا میکندکه در این حالت ۰° بیانگر قرمز، ۹۰° بیانگر زرد، ۱۸۰° بیانگر سبز و

۲۷۰° بیانگر آبی می باشد. کروما(C_{ab}) اشاره به میزان اشباع بودن رنگ دارد و مقیاسی است برای تعیین اینکه چه مقدار نور خاکستری و سفید با رنگ کانونی خالص ترکیب شده‌است.

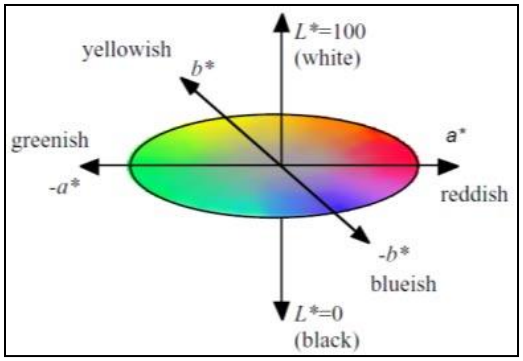
جدول۲.برخی از کاروتنوئید ها و ویتامین های موجود در ۱۰۰ گرم پودر اسپیرولینا

نوع ترکیب	مقدار
کارتنوئید کل	۵۰۴mg
بتا-کارتنوئید	۲۱۱mg
زاگزانتین	۱۰۱mg
Aویتامین (معادل بتاکارتونوئید)	۳۵۲۰۰۰IU
ویتامین B۱	۰/۵mg
ویتامین B۲	۴/۵mg
ویتامین B۶	۰/۹۶mg
ویتامین B۱۲	۱۶۲µg
ویتامین E	۶/۶mg
نیاسین	۱۴/۹mg
اینوزیتول	۷۰mg
بیوتین	۲۵mg
فولیک اسید	۶۱mg
کلروفیل	۱۵۰۰mg
فیکوسیانین	۱۵۰۰۰mg

فاکتور کروما (C_{ab}) از خنثی تا براق متغیر است و به صورت طول فاصله مبدأ محور بر روی صفحهٔ a-b بیان می شود(شکل۱.). فاکتور ته رنگ و کروما بر اساس فرمول های زیر محاسبه شد.

$$Chroma = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

$$H^{\circ} = \arctan[{b^*}/{a^*}]$$



شکل ۱.ابعاد فاکتورهای رنگی

به هر حال شاخص های رنگی ته‌رنگ و کروما دو متغیر ترکیبی تعریف شده در صفحه رنگی(a-b) است که نمیتوانند به صورت جداگانه در نظر گرفته‌شوند؛ اما تا حدودی میتوان آنها را به صورت یک متغیر برداری در نظر گرفت که فاکتور ته‌رنگ (hue) زاویهٔ جهت و کروما طول بردار رنگی است. از آنجایی که فاکتور ته-رنگ یک مقدار زاویه‌ای است، تجزیه تحلیلهای آماری کلاسیک را نمیتوان در مورد آن به‌کاربرد (Pavlidis, 2006) و رویکرد زیر برای آن انتخاب شده‌است. فاکتور ته‌رنگ یک مقدار زاویه ای، به عبارتی یک متغیر دایره-ای است؛ بنابراین برآورد مقدار میانگین و انحراف معیار با روشهای آماری مورد استفاده برای تشریح و آنالیز دادههای توزیع دایرهای صورت گرفتهاست(Pavlidis 2006; Zar, 1996). جهت تعیین نرمال بودن توزیع دایرهای نیز از آزمون ریلی (Rayleigh test) استفاده شد. برای بررسی تفاوت در گروههای آزمایشی نیز از آزمون والستون- ویلیامز ودر صورتی که حداقل یکی از گروههای مورد سنجش غیر نرمال بوده از آزمون ناپارامتری والستون استفاده شده است.

جهت تجزیه تحلیل آماری داده ها از نرم افزارهای EXCELL 2007 و SPSS۱۵ استفاده و برای بررسی مقایسه مقادیر زاویه ای فاکتور H° از نرم افزار Oriana۳.۰۰ استفاده‌شد (Pavilidis et al., 2006, Ebrahimi*et al*., 2010).

۳. نتایج

در پژوهش حاضر، در صدهای استفاده شده از اسپیرولینا (۵،۱۰، ۱۵، ۲۰و ۲۵درصد) در جیره ، بر روی نرخ بقاء تأثیری نداشت. نتایج به دست آمده از تاثیر سطوح مختلف به کارگیری اسپیرولینا در جیره غذایی ماهی سیکلید مالاوی زبرا (*P. zebra*)برفاکتورهای رنگی در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

در این مورد بر اساس آنالیزهای انجام شده ، سطح استفاده ۱۵ درصد پودر اسپیرولینا در جیره به عنوان درصد بهینه استفاده از این جلبک محاسبه شد. با توجه به دادههای بهدستآمده درتیمار دارای ۱۵ درصد اسپیرولینا در جیره، تمام فاکتورهای رنگی مورد سنجش دارای اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد بود و تمام فاکتورهای تعیین شده در این سطح مطلوب ارزیابی شد($P<۰/۰۵$).

جدول (۳)تاثیر سطوح مختلف مصرف اسپیرولینا در جیره غذایی بر پارامترهای رنگی پوست سیکلید مالاوی

فاکتور رنگی	درصد اسپیرولینا در جیره					
	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
L	۴۲/۱۸±۲/۹۲ ^{e}	۲۲/۶۹±۷/۱۸ ^{c}	۳۲/۴۱±۷/۵۰ ^{a}	۳۰/۱۴±۴/۵۱ ^{bc}	۲۷/۶۶±۹/۳۱ ^{bc}	۳۴ /۴۵±۶/۳۴ ^{ab}
a	۰/۴۱±۰/۱۳ ^{c}	۰/۷۷ ±۰/۳۰ ^{bc}	۰/۶۲ ±۰/۳۱ ^{bc}	۱/۹۹ ±۰/۸۵ ^{a}	۰/۴۸ ±۰/۲۵ ^{bc}	۱/۰۹ ±۰/۳۷ ^{a}
b	-۶/۴۲ ±۲/۱۷ ^{a}	-۹/۱۳ ±۳/۱۸ ^{a}	-۸/۴۱ ±۳/۳۸ ^{a}	-۱۵/۳۳ ±۲/۶۷ ^{b}	-۸/۷۳ ±۳/۴۹ ^{a}	-۹/۹۷ ±۴/۰۷ ^{a}
C	۳/۸۲ ±۹/۷۰ ^{a}	۱۱ ±۴/۴۷ ^{a}	۸/۹۴ ±۳/۵۱ ^{a}	۱۵/۳۵ ±۴/۰۸ ^{b}	۱۰/۰۲ ±۳/۵۸ ^{a}	۱۱/۴۶±۳/۵۲ ^{a}
H°	۲۸۶۳۷/۴۵± ^{a}	۲۹۶/۶۸±۴۲/۹۹ ^{a}	۳۰۱/۴۳±۲۹/۸۲ ^{a}	۳۱۲/۱۲±۲۱/۴۶ ^{b}	۳۲۵/۸۳±۸۴/۰۷ ^{a}	۲۸۹/۷۶±۴۵/۱۳ ^{a}

*داده های ذکر شده عبارتند از میانگین±انحراف معیار

*داده های موجود در یک ردیف که دارای بالا نویسهای متفاوتی میباشد از نظر آماری تفاوت معنادار دارند($p<۰/۰۵$)

* L تیرگی تا روشنی رنگ (۰ تا ۱۰۰) ؛ a : رنگ بندی قرمزتا سبز (۱۰۰+ تا ۱۰۰-)؛ b: رنگ بندی زردتا آبی (۱۰۰+ تا ۱۰۰-) ؛ c :کروما از خنثی تا براق؛ H° : ته رنگ(۰° قرمز ،۹۰° زرد، ۱۸۰° سبز، ۲۷۰° آبی)؛

*خانه‌های رنگی شده جدول دارای اختلاف عملکرد مطلوب ($p<۰/۰۵$)نسبت به گروه شاهد می باشند.

از بین ۵ فاکتور بررسی شده در این تحقیق، تنها فاکتور L دارای یک روند کاهشی بود . با توجه به اینکه این روند کاهشی مورد نظر ما است، باید دقت داشت که این کاهش به معنای تیرهتر شدن رنگ پوست است که احتمالا به‌دلیل تجمع رنگ‌دانهها در پوست ایجاد شده-باشد. مقدار فاکتور L در سطح شاهد ۴۲/۱۸ تعیین شده است که این رقم به سمت روشنی پوست متمایل است که این روشنی از نظر چشمی نیز در تصاویر گرفته شده کاملاً مشهود بود ؛ در سطح ۵ درصد جیره ، افزایش تیرگی مشهودی در پوست اتفاق افتاده و میزان L به ۲۲/۶۹ رسید. این مقدار از نظر آماری دارای اختلاف معنیدار با گروه شاهد بود؛ در سطح ۱۰ درصد با وجود کاهش میزان تیرگی پوست (L=۳۲)، اختلاف معنیدار با گروه شاهدداشت.

شکل۲. ماهیان زبرا مالاوی(*P. zebra*) تغذیه شده با جیره صفر درصد اسپیرولینا بعد از ۳۵ روز تغذیه

شکل۳. ماهیان زبرا مالاوی(*P. zebra*) تغذیه شده با جیره ۱۵ درصد اسپیرولینا بعد از ۳۵ روز تغذیه

در سطوح بالاتر ۱۵ و ۲۰و ۲۵درصد، افزایش تیرگی پوست با اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد مشاهده‌شد(به ترتیب ۳۰/۱۴، ۲۷/۶۶ و ۳۴/۴۵) ($P<۰/۰۵$). جیره با نسبت ۵ درصد بالاترین اختلاف را نسبت به گروه شاهد داشت، پس از آن، سطح ۲۰درصد و سپس سطح ۱۵درصد قرار داشت. در تیمار با سطح

۱۵درصد اسپیرولینا، تیرگی رنگ مشهودتر از دیگر تیمارها بود. همه فاکتورها در تیمار ۱۵درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند. فاکتور L در تمام تیمارها دارای اختلاف معنی دار نسبت به گروه شاهد بود (P<۰/۰۵)، فاکتورa در بین تیمارهای سطح صفر ،۵درصد ، ۱۰درصد ،۲۰درصد و ۲۵درصد، اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند(P>۰/۰۵). در سطح ۱۵درصد (a=۱/۹۹) و همچنین در سطح ۲۵درصد(a=۱/۰۹) رنگ ماهی نسبت به گروه شاهد(a=۰/۴۱) به سمت قرمز تمایل پیداکرد، البته این تمایل به سمت رنگ قرمز از نظر چشمی مشهود نیست چرا که رنگ زمینه اصلی این گونه آبی رنگ است و مقدار بدست آمده برای فاکتور a (۱/۹۹) نیز در سطح ۱۵درصد خیلی از حالت رنگ خنثی (صفر) فاصله ندارد.

در تیمار ۱۵درصد مقدار به‌دست‌آمده برای فاکتور b معادل ۱۵/۳۳- می‌باشد که این آبی رنگ شدن در تصاویر نیز کاملاً مشهود بود و دارای بیشترین اختلاف عملکردی نسبت به گروه شاهد بود. با توجه به این‌که در حالت طبیعی رنگ زمینه این ماهی، آبی است، این مقدار برای فاکتور b، نشان می‌دهد رنگ ماهی به سمت آبی متمایل شده‌است؛ فاکتورb تنها در سطح ۱۵درصد دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵).

در مورد فاکتور کروما، فقط در تیمار ۱۵درصد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد داشت و مقدارآن ۱۵/۳۵سنجش شد که نشان دهنده براق شدن رنگ ماهی است(P<۰/۰۵).

فاکتور H° (ته رنگ) نیز فقط در تیمار ۱۵درصد اسپیرولینا دارای اختلاف عملکرد با تیمار شاهد بود(P<۰/۰۵). در این تیمار ۱۵ مقدار فاکتور H° برابر ۳۱۲/۱۲ بود که این درجه نشان دهنده آبی بودن رنگ است که به رنگ طبیعی این ماهی در طبیعت نزدیکتر است. این در حالی است که در سایر ته رنگ(H°) به سمت قرمز متمایل بود.

۴. بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش با بررسی شاخصهای رنگی مورد مطالعه شامل b,a,L ، کروما و ته رنگ، مشخص شد که در استفاده از اسپیرولینا در سطح ۱۵ درصد بیشترین میزان شاخصهای رنگی مورد نظر را ایجاد می-کند و استفاده از درصدهای بالاتر تأثیری بر افزایش شاخصهای رنگی نداشت و حتی در بیشتر موارد موجب کاهش این شاخصها شد. این نتایج نشان می‌دهد که در سطح ۱۵ درصد میزان رنگ‌دانه‌های بدن به حد اشباع می‌رسد و به کارگیری درصدهای بالاتر سبب دفع کارتنوئیدها از بدن ماهی می‌شود؛ این نتایج در هماهنگی با پژوهش انجام شده توسط Yanar و همکاران (2008) است. آنه با مطالعه تأثیر استفاده از آرد یونجه بر رنگ ماهی طلایی (*Carassius auratus*) به این نتیجه رسیدند که استفاده از آرد یونجه بیش از مقدار تعیین شده ۲۵درصد، نه تنها منجر به تجمع بیشتر کارتنوئیدها در پوست نشده، بلکه موجب ایجاد روند کاهشی شده‌است و به عقیده این محققین، جذب کارتنوئیدها و انتقال آن به بافت‌ها در این سطح (۲۵٪) به حالت اشباع رسیده-است(Phaikshang, 2006).

ترکیبات رنگدانهای اسپیرولینا شامل فیکوسیانین که یک رنگدانه آبی‌رنگ است (1500mg/100g) ، کلروفیل(1500mg/100g)و کارتنوئیدهای مختلف می‌باشند که عمدهترین کارتنوئیدهای آن شامل بتاکاروتن و مقداری بتاکریپتوزانتین و زیزانتین میباشد(Yanar*et al.*, 2008)؛ به نظر می‌رسد کاهش فاکتورهای رنگی در سطح ۲۵ و ۳۰درصد(جدول۳) به علت همبستگی منفی قابلیت هضم و حفظ کارتنوئیدها در بافت های بدن با افزایش

غلظت کارتنوئیدها باشد(Bjerkeng and Berge 2008 ; PhaikShang, 2006).

در مطالعه کنونی، با در نظر گرفتن این نکته که رنگ زمینهای پوست سیکلید مالاوی در طبیعت آبی‌رنگ می‌باشد، فاکتورهای به‌دست آمده در تیمار ۱۵درصد تشدیدکننده این زمینه رنگ بودند. در این تیمار مقدار فاکتورb که مربوط به رنگ بندی زرد تا قرمز (۱۰۰+ تا ۱۰۰-) میباشد نشان دهنده تمایل رنگ این ماهی به سمت آبی است. همچنین در مورد فاکتور ته رنگ (H°) نیز میزان درجه رنگی به‌دست آمده برای تیمار ۱۵درصد ۳۱۲/۱۲° بود که متمایل به رنگ آبی است. تأثیر جیره اسپیرولینا بر رنگ آبی پوست را می‌توان به رنگدانه‌های تنفسی موجود در این جلبک، مانند فیکوسیانین و کلروفیل نسبت داد. با اینکه این گونه قادر به تبدیل کارآمد بتاکاروتن به آستازانتین نیست(Katayama, 1973 Cited in PhaikShang 2006) اما ظاهراً این توانایی را دارد که از این رنگدانه‌های تنفسی برای افزایش رنگ پوست بهره‌گیرد.

ازآنجاکه کارتنوئیدهای طبیعی معمولاً حاوی چندین نوع رنگدانه با فرم‌های مختلف می‌باشند و از لحاظ قابلیت هضم متفاوت هستند، توصیف کارآیی آنها در رنگ‌آمیزی گونههای مختلف متفاوت است. بنابراین برای اینکه مشخص شود که گونه (*P. zebra*) تا چه میزان قادر به تبدیل بتا-کاروتن به فرم‌های دیگر جهت رنگآمیزی پوست و یا رسوب خود بتا-کاروتن و یا رنگدانههای دیگر باشد تحقیقات جامع‌تری نیازمند است. با توجه به نتایج به دست آمده از بررسی کنونی می‌توان بیان کرد این گونه تا حدودی قادر است از رنگدانه های موجود در جلبک اسپیرولینا استفاده‌کند. این سطح جیره‌ای اسپیرولینا، نسبت به تحقیقات انجام شده توسط Alagappan (2004) که سطح ۴ درصد اسپیرولینا و James و همکاران (2006)که سطح ۸ درصد را به عنوان سطح بهینه تعیین کرده اند، مقداری بالاتر است. لازم به ذکر است در پژوهشهای مذکور، بهترین میزان گفته شده (۴درصد و۸درصد) ، حداکثر بکار رفته در آن پژوهشها بوده که از پژوهش کنونی کمتر بوده است. یکی دیر از دلایل احتمالی افزایش فاکتورهای رنگی در سطح ۱۵درصد جیره‌ای اسپیرولینا برای *P. zebra* ،کاربرد جیرهٔ غذایی تر و تراوش مقداری از مواد رنگدانه‌ای به درون آب بوده-باشد(Phaikshang 2006).

به‌هر روی، نمی‌توان به قاطعیت ابراز کرد که *P. zebra* از نظر تبدیل کارتنوئیدها به آستازانتین به کدام گروه تقسیمبندی شده توسط Meyers and cham(1982) تعلق دارد چرا که آستازانتین در ماهی‌ها مسئول رنگ های قرمز، نارنجی و زرد در پوست و عضله بسیاری از آبزیان و پرندگان است(Howell and Mattews 1991; Macedonia *et al*.,2000; Evans and Norris 1996; Hill and McGraw, 2006) و نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش‌حاکی از افزایش رنگ آبی (فاکتورb) در این گونه بوده‌است و اگرچه فاکتور a (میزان قرمزی رنگ) نیز در این گونه در سطح ۱۵ و ۲۵درصد اسپیرولینا نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود، اما این تغییر به صورت چشمی قابل مشاهده نیست، حال آنکه در مورد فاکتور b در سطح ۱۵درصد، این تغییر رنگ آبی کاملاً مشهود بود.

Katayama و همکاران در سال ۱۹۷۳ آبزیان را بر اساس تواناییشان در بیوسنتز کارتنوئیدها به سه گروه تقسیم کردند: گروه نخست جانورانی که قادر به تبدیل لوتئین، زیزانتین یا واسطه ها به آستازانتین می‌باشند، امّا بتا-کاروتن پیشساز اصلی آستازانتین نمیباشد. آنها قادرند آستازانتین موجود در جیرهٔ غذایی را به طور مستقیم در بدن خود ذخیره‌کنند(مانند ماهی طلایی(*Carrassius auratus*).گروه دوم جانورانی که قادر به تبدیل بتا-کاروتن و زیزانتین به آستازانتین

هستند(مانند اکثرسخت پوستان). گروه سوم جانورانی که قادر نیستند بتا-کاروتن، لوتئین یا زیزانتین را به آستازانتین تبدیل کنند امّا می توانند رنگدانه‌ها را از جیره غذایی به بافت بدن خود به فرم آزاد یا استری شده منتقل کنند(مانند سی باس).

به نظر می رسد اشباع شدن رنگ آبی در تیمار ۲۰ و ۲۵درصد اسپیرولینا نسبت به گروه شاهد به دلیل توانایی سیکلید مالاوی زبرا (*P. zebra*)در رسوب بتا-کاروتن و رنگدانه تنفسی آبی‌رنگ فیکوسیانین در پوست بوده‌باشد(Cysewski, 1992)، چرا که آستازانتین اصولاً مسئول رنگ قرمز تا نارنجی در بدن ماهیان است و اگر این گونه قابلیت تبدیل بتا-کاروتن به آستازانتین را میداشت می‌بایست بیشتر طیف رنگ قرمز موجود در بدن آن نسبت به گروه شاهد تفاوت محسوسی پیدا می کرد، در صورتی که این تفاوت محسوس در مورد فاکتور a اگرچه در سطح ۱۵ درصد نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار است ($P<۰/۰۵$) اما این تفاوت از نظر چشمی قابل مشاهده نبود. با این تفاسیر می‌توان این گونه را با توجه به دستهبندی انجام شده توسط Katayama(1973)در گروه سوم جای دارد که عبارتند از جانورانی که قادر نیستند بتا-کاروتن، لوتئین یا زیزانتین را به آستازانتین تبدیل کنند امّا می توانند رنگدانه ها را از جیره غذایی به بافت بدن خود به فرم آزاد یا استری شده منتقل-کنند (PhaikShang, 2006).

در بررسی کنونی جهت افزایش رنگ در ماهی سیکلید مالاوی سطح ۱۵در صد اسپیرولینا در جیره به عنوان میزان بهینه مشخص گردید. با توجه به بالا بودن محتوای پروتئینی اسپیرولینا، و همچنین دارا بودن مواد معدنی و ویتامینهای فراوان پیشنهاد می‌شود مطالعاتی در زمینه انواع پارامترهای زیستی و شیلاتی با استفاده از جیره‌های غذایی دارای اسپیرولینا روی گونه‌های پرورشی انجام پذیرد.

منابع

Ahilian, B., K. Jegan., N. Felix., K. Ravanesvaran . 2008. Inflience of Butanical Additives on the Growth and Colaration of Adult Goldfish *Carassiusauratus.* Veterinary & Animal Sciences 4 (4) 129-134.

Ako H, Tamaru CS, Asano L, Yuen B, Yamamoto M 2000. Achieving natural colouration in fish under culture.UJNR Technical Report 28.

Alagappan M. 2004. Utilization of spirulina algae as a source of cartenoid pigment for blue gouramis (Trichogastertrichopterus).Journal of Aquaculture and Aquatic Sciences.X(1) 1-27.

Chapman, F.A., Fitzcoy, S.A., Thunberg, E.M. & Adams, C.M. 1997. United States of America trade in ornamental fish. Journal of World Aquaculture Society .28, 1–10.

CIE, Commission Internationale de I,Eclairage, 1976. Colorimetry, Publication no15. Bureau central de LaCIE, Vienna, Austria.14 pp.

CIE (Commission Internationale de 1, Ecalairage). 1978. Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Supplement No 2 to Publication No 15, Colorimetry, CIE 1971, Paris.

Cysewski, G.R. (1992). Feeds, foods and pigments from *Spirulina*. J. Phycol., 28 (Suppl.):12.

Ebrahimi, M., Abbasi, F., Mahdavi, S., Rahimi, M. 2010.The effect of 17 alpha-methyl testosterone on secondary sexual

characteristics, ovary histology and larva production in (*Poeciliareticulate*).Khoramshahr Journal of marine science and technology. 3:8

Ehtiaty, A., Mohebi, V., Shahidi, F. 2008.Application of image processing in colorimetry of Bread crust using soy flour.18th national congress on food technology. P8

Evans M.R and Norris K. 1996. The importance of carotenoids in signaling during aggressiveinteractions between male firemouth cichlids (Cichlasomameeki). Behavioral Ecology. ; 7: pp 1–6.

Gouveia, L. &Rema, P. 2005. Effect of micro algal biomass concentrationand temperature on ornamental goldfish (Carassiusauratus)skin pigmentation. Aquaculture Nutrition, 11, 19-23.

Gouveia, L. Rema, P. Pereira, O. &Empis, J. 2003.Colouring ornamental fish (*Cyprinuscarpio* and *Carassiusauratus*) with microalgalbiomas. Aquaculture Nutrition 9;123-129

Habib M.A.B., Parvin M., Huntington M., Hasan M.R. 2008.A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish.*FAO Fisheries and Aquaculture Circular*.No. 1034. Rome, FAO. 33p

Hata, M., and M. Hata. 1972. Carotenoid pigments in goldfish, IV. Carotenoid metabolism.Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 38:331–338.

Hensen, R.H. 1990. Spirulina algae improves Japanese fish feeds. *Aquaculture Magazine*,6(6); 38-43.

Hill G.E and McGraw K.J. 2006.Bird coloration: function and evolution. Cambridge (MA): Harvard University Press.

Howell B.K. and A. D. Matthews. 1991. The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (PenaeusMonodon, fabricus). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry98(2–3) 375–379

James R; Sampath K; Thangarathinam R; Vasudevan I. 2006. Effect of dietary Spirulina level on growth,fertility, coloration and leucocyte count in red swardtail,Xiphophorushelleri. The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh 58(2), 97-104.

Katayama Teruhisa, Toshiro Miyahara, Yoshito Tanaka, MuneoSameshima. 1973. Mechanism of the Interconversion of Plant Carotenoids into Fish Carotenoids-III. Memoirs of Faculty of Fisheries, Kagoshima University 22(1), 39-45.

Macedonia J.M, James S, Wittle L.W and Clark DL.Skin pigments and coloration in theJamaican radiation of Anolis lizards.Journal of Herpetology. 2000; 34: pp 99–109.

Meyers, S.P., Chen, H.M., 1982. Astaxanthin and its role in fishculture.Proceedings of the Warmwater Fish Culture Workshop. Spec. Publ., vol. 3, pp. 153–165. Charleston, South Carolina, 1–4March.

Pavlidis, M., Papandroulakis, N. and Divanach, P. 2006. A method for the comparison of chromaticity parameters in fish skin: preliminary results for coloration pattern of red skin Sparidae. Aquaculture. 258: 211-219.

Phaik Shang T. 2006. Skin colour changes in ornamental Koi (Cyprinuscarpio) frd different dietary carotenoid sources M. Sc. Thesis. Univeritisains Malaysia

Sinha A, OyasAmedAsimi. 2007. China rose (*Hibiscus rosasinensis*)petals: a potent natural carotenoid source for goldfish (*Carassiusauratus*L). Aquaculture Res. 38:1123-1128.

Storebakken, T., and H. K. No. 1992.Pigmentation of rainbow trout. Aquaculture 100:209–229.

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

Walisiewicz M,. K. Dye, M. King, S. Sedford (2005). Aquarium Fish Encyclopedia. London. pp400.

Wang YJ.,Chien YH., Pan CH (2006). Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, Hyphessobryconcallistus. Aquaculture 261:641–648

Wallat GK, Lazur AM, Chapman FA .2005. Carotenoids of differenttypes and concentrations in commercial formulated fish diets affectcolor and its development in the skin of the Red Oranda variety ofGoldfish. North American Journal of Aquaculture. 67: 42-51.

Yanar, M., Erçen, Z., Hunt, A.O. and Büyükçapar, H.M. 2008. The use of alfalfa, Medicago sativa, as a natural carotenoid source in diets of goldfish, Carassiusauratus. Aquaculture, 284: 196-200.

Zar, J.H., 1996. Circular Distributions, Biostatistical Analysis, 3rd edition. Prentice-Hall International, INC, pp. 591–652.

Colour Enhancement in the zebra Malawi cichlid (*Pseudotropheus zebra*) by Addition of Spirulina microalga (*Arthrospiramaxima*)

Ahmad Shadi[*1], Omid Pirnia[2]

1. Department of Marine Biotechnology, Faculty of Marine Science and Technology, Persian Gulf University
2. Caspian Fish Co. Azerbaijan

Abstract

Cultured ornamental fish are often faint coloured due to extensive culture conditions . Experiments using algae as food additive to the diets of fish resulted in colour enhancement due to their natural colourant compounds.Effect of Spirulina microalgae *Arthrospira maxim* diet on colour enhancement of Zebra Malawi cichlid *Pseudotropheuszebra* was investigated. Total 180 fish were tested in 6 treatments with tree replicate for each (control, 5%, 10%, 15%, 20% and 25% of dry Spirulina in daily diet). After 5 weeks of experiments, colorimetry was performed using Image Processing (10000*14000dpi quality). Image processing was carried out in Photoshop software using L*a*b system. The results showed that Spirulina treatment led to significant enhancement of L mean level at all treatments. Optimum ratio of 15% Spirulina in daily diet of Zebra Malawi cichlid was resulted in colour enhancement as all studied colour parameters was in significant difference in contrast to the control group(P<0/05).

Keywords: Spirulina, ornamental fish, Astaxanthin, Carotenoid

Table1. proximate analysis of Spirulina used in diet
Table2. amount of carotenoids and vitamins in Spirulina
Table3. effects of using different amount of Spirulina on colorimetery parameters of *Pseudotropheuszebra* skin
Figure1. dimensions of colorful factors
Figure2. P. zebra fish feed by 0% spirulina diet after 35 day feeding
Figure3. P. zebra fish feed by 15% spirulina diet after 35 day feeding

*Corresponding author, E-mail: shadi@pgu.ac.ir