

(OPEN ACCESS)

The effect of different levels of carrot powder in angel fish (*Pterophyllum scalare*) diet on the growth performance and activity of digestive and antioxidant enzymes

Abbas Zamani*

*Corresponding Author, Dept. of Fisheries Sciences and Engineering, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Malayer, Hamadan, Iran. E-mail: a.zamani@malayeru.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 09.19.2024

Revised: 10.22.2024

Accepted: 11.05.2024

Keywords:

Angel fish,
Carotenoid,
Carrot powder,
Trypsin

ABSTRACT

This study was aimed to assess the effect of carrot powder as a natural source of carotenoid on growth performance, digestive enzymes and antioxidant activity in angel fish (weight: 2.76 ± 0.28) for 8 weeks. Five experimental diets, including the control diet (D1: without carrot powder) and diets containing carrot powder (D2: 0.5%, D3:1%, D4: 1.5 % and D5: 2%) were prepared as isonitrogenous and isocaloric in triplicate. The results obtained from body weight gain, specific growth rate and protein & lipid efficiency ratio showed that they were significantly higher in fish fed with diets D4 and D5 compared to diet D1 ($P<0.05$). Fish fed with D4 diet significantly showed lower food conversion ratio compared to fish fed with D1 diet ($P<0.05$). The condition factor and the survival rate showed no significant difference among the experimental diets. The results obtained from digestive enzymes analysis of fish intestine showed that trypsin and amylase were significantly higher in D4 and D5 than those of D1 and D2 ($P<0.05$); while no significant difference was observed among fish fed with D3, D4 and D5 diet. The results of antioxidant enzymes assessment from fish tissue indicated that SOD and catalase in fish fed with diets containing carrot powder had a significant decrease compared to control group in both before and after stress ($P<0.05$). Based on the results obtained from this study, the growth performance, digestive enzymes and antioxidant activity in fish fed with diets containing carrot powder especially in high level (1.5 and 2 %) were significantly higher than those of control group.

Cite this article: Zamani, Abbas. 2026. The effect of different levels of carrot powder in angel fish (*Pterophyllum scalare*) diet on the growth performance and activity of digestive and antioxidant enzymes. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 15 (1), 1-17.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2024.22802.1906

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه هویج در جیره غذایی ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی

عباس زمانی*

* نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، ملایر، همدان، ایران.
رایانامه: a.zamani@malayeru.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	در این پژوهش، تأثیر پودر گیاه هویج به عنوان منبع طبیعی کاروتنوئید بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی آنجل (وزن متوسط: $2/28 \pm 2/76$ گرم) به مدت ۸ هفته مطالعه شد. پنج جیره آزمایشی شامل جیره غذایی فاقد پودر هویج (D1: جیره شاهد) و جیره‌های حاوی پودر هویج (D2: ۰/۵، D3: ۱، D4: ۱/۵ و D5: ۲ درصد) همسان از نظر پروتئین و انرژی در ۳ تکرار تهیه گردید. نتایج شاخص‌های رشد نشان داد میزان افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی پروتئین در جیره‌های غذایی D4 و D5 به‌طور معنی‌داری بالاتر از D1 بود ($P < 0/05$). بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در جیره‌های غذایی D1 و D4 مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0/05$). کم‌ترین و بیش‌ترین میزان شاخص وضعیت به ترتیب در جیره‌های غذایی D5 و D1 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. میزان نرخ بقاء در جیره‌های آزمایشی ۱۰۰ درصد بود. نتایج فعالیت آنزیم‌های گوارشی در روده نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و آمیلاز در جیره‌های D4 و D5 به‌طور معنی‌داری بالاتر از جیره‌های D1 و D2 بود ($P < 0/05$)؛ ولی با جیره D3 اختلاف معنی‌داری نداشت. نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در عضله ماهیان نشان داد آنزیم‌های سوپراکساید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز در جیره‌های حاوی پودر هویج در هر دو مرحله قبل و بعد از استرس کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند ($P < 0/05$). بر اساس نتایج به‌دست آمده، استفاده از پودر هویج به‌ویژه در سطوح بالا (۱/۵ و ۲ درصد) افزایش معنی‌داری بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی در ماهی آنجل به همراه داشت.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۵	
واژه‌های کلیدی: پودر هویج، تریپسین، کاروتنوئید، ماهی آنجل	

استناد: زمانی، عباس (۱۴۰۵). تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه هویج در جیره غذایی ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۵ (۱)، ۱۷-۱.

Doi: 10.22069/japu.2024.22802.1906



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

امروزه پرورش ماهیان زینتی به عنوان بخشی از صنعت آبی پروری به سرعت در حال گسترش است به طوری که میزان تولید این ماهیان در سال ۲۰۲۲ حدود ۴ میلیون تن بوده است که حدود ۲/۳ درصد کل تولید آبی پروری جهان را شامل می شود (۱). امروزه بیش از ۷۰۰۰ گونه آبی زینتی پرورش داده شده و به بازار عرضه می شود که از این تعداد، تقریباً ۵۰۰۰ گونه ماهی آب شیرین و ۱۸۰۰ گونه ماهی دریایی هستند (۲ و ۳). بیش از ۱۲۰ کشور در صنعت ماهیان زینتی مشارکت دارند که در راس آنها کشورهای آسیایی و در حال توسعه هستند که تقریباً ۶۰ درصد ماهیان زینتی را تولید می کنند (۴). ارزش تجاری ماهیان زینتی در سال ۲۰۲۱ حدود ۵/۴ میلیارد دلار بوده است و پیش بینی می شود از سال ۲۰۲۲ تا ۲۰۳۰ یک نرخ رشد سالانه ۸/۵ درصد در ارزش تجاری این ماهیان مشاهده گردد (۵). میزان تولید ماهیان زینتی در ایران در سال ۱۴۰۲ بیش از ۳۸۰ میلیون قطعه بوده که در ۵ سال اخیر حدود ۳۲ درصد رشد نشان می دهد (۶). اهمیت اقتصادی ماهیان زینتی کم تر از ماهیان خوراکی نیست، بنابراین بررسی و پژوهش جنبه های مختلف پرورش آنها امری مهم تلقی می شود. آشنایی با نیازهای تغذیه ای ماهیان جهت تهیه یک جیره غذایی مناسب یکی از اولین گام ها برای تولید انبوه است؛ با این وجود، داده های اندکی در زمینه نیازهای غذایی ماهیان زینتی وجود دارد.

یکی از مهم ترین ترکیبات غذایی در جیره غذایی ماهیان کاروتنوئیدها هستند که پژوهش های اندکی در زمینه اثرات این رنگدانه ها بر میزان رشد ماهیان زینتی صورت گرفته است. کاروتنوئیدها گروهی از رنگدانه های

چربی دوست با ساختار شیمیایی $C_{40}H_{56}$ هستند که به راحتی در حلال های آلی مانند استون، الکل، دی اتیل اتر و کلروفرم حل می شوند و به دلیل دارا بودن پیوندهای دوگانه، فعالیت آنتی اکسیدانی قوی از خود نشان می دهند. کاروتنوئیدها در یو باکتری ها، آرکی باکتری ها و یوکاریوت ها (مانند جانوران و گیاهان) دیده می شوند و تاکنون بیش از ۷۵۰ نوع کاروتنوئید در طبیعت کشف شده است (۷ و ۸).

بسیاری از کاروتنوئیدها، به ویژه آستازانتین (ASX)، برای بهبود حالت آنتی اکسیدانی و سیستم ایمنی، که منجر به ایجاد مقاومت در برابر بیماری، عملکرد رشد، بقا و بهبود کیفیت تخم در ماهیان پرورشی بدون هیچ گونه سمیت سلولی یا جانبی می شود مورد استفاده قرار می گیرند (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲).

در میان موجودات زنده فقط گیاهان، باکتری ها، قارچ ها و جلبک ها توانایی تولید این رنگدانه ها را دارند و جانوران مانند ماهیان نمی توانند کاروتنوئیدها را تولید کنند و در نتیجه نیاز بدن باید از طریق مواد غذایی تامین شود (۱۱ و ۱۳). این رنگدانه ها (مانند زآزانتین، لوتین، کپزانتین، کانتازانتین و آستازانتین) به طور طبیعی در گیاهانی مانند گوجه فرنگی، فلفل قرمز، یونجه، ذرت، هویج، ریشه چغندر و انواع قارچ های خوراکی وجود دارند (۱۴). معمولاً استفاده از اشکال مصنوعی رنگدانه ها مانند آستازانتین و کانتازانتین در جیره غذایی ماهیان چندان مقرون به صرفه نیست بنابراین در مطالعات انجام شده استفاده از کاروتنوئیدهای گیاهی به دلیل قیمت مناسب و هم چنین دارا بودن ظرفیت بالاتر جهت بهبود رشد ماهی مدنظر قرار گرفته اند (۱۴ و ۱۵).

از گروه شاهد بود و سطح آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافت (۲۴). بنابراین استفاده از منابع حاوی کاروتنوئید در جیره غذایی ماهیان می‌تواند در بهبود فعالیت فیزیولوژیک و در نتیجه رشد آن‌ها مؤثر باشد.

یکی از محبوب‌ترین گونه‌های ماهیان آکواریومی آب شیرین، ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*) است که بومی منطقه آمازون در آمریکای جنوبی و از خانواده دهان تفریخ ماهیان (*Cichlidae*) است که به دلیل زیبایی، ظرفیت تولیدمثل، سازگاری با شرایط اسارت و ارزش اقتصادی بالا، تقاضای زیادی دارد (۲۵ و ۲۶). در مقایسه با ماهیان پرورشی خوراکی، اطلاعات در مورد نیازهای غذایی ماهیان زینتی مانند ماهی آنجل محدود است. هدف از این پژوهش استفاده از پودر هویج (*Daucus carota*) به عنوان منبع غنی از کاروتنوئید در جیره غذایی ماهی آنجل و بررسی اثرات آن بر عملکرد رشد، آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش ماهیان: در این پژوهش تعداد ۲۲۵ عدد بچه‌ماهی آنجل نقره‌ای با وزن متوسط $2/76 \pm 0/28$ گرم و طول متوسط $3/05 \pm 0/10$ سانتی‌متر از کارگاه تکثیر محلی تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه ماهیان با شرایط دمایی محل آزمایش و تغذیه با جیره غذای تجاری (میکروپلت ساخت مالزی) به مدت ۲ هفته، در ۱۵ عدد آکواریوم (با ابعاد $30 \times 40 \times 60$ ؛ هر یک با ظرفیت آبگیری ۷۲ لیتر حاوی ۱۵ عدد بچه‌ماهی) در غالب ۵ تیمار و ۳ تکرار

تأثیر استفاده از کاروتنوئیدهای گیاهی بر رشد و بازماندگی ماهیان در پژوهش‌های مختلف بررسی شده است. مطالعه رانا و همکاران (۱۲) نشان داد استفاده از پودر گل همیشه‌بهار در جیره غذایی ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*) در مقایسه با پودر گل رز چینی و هویج بر عملکرد رشد تأثیر مثبتی داشته است. از دیگر مطالعات می‌توان به بررسی تأثیر دانه آناتو در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، ریزجلبک سبز (*Haematococcus pluvialis*) در جیره غذایی ماهی آنجل (*Pterophyllum scalare*)، هویج و لبو در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، پودر هویج در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)، فلفل دلمه قرمز و نارنجی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و پودر گل رز و پودر گل جعفری در ماهی گورامی (*Trichogaster fasciata*) اشاره نمود (۱۰، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹). همچنین در مطالعات برخی پژوهش‌گران تأثیر استفاده از کاروتنوئیدها در جیره غذایی ماهیان بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی بررسی شده است و نتایج نشان داده است که استفاده از این رنگدانه‌ها می‌تواند در بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی مؤثر باشد (۲۰، ۲۱، ۲۲). مطالعه حسان و همکاران (۲۳) نشان داد استفاده از بتاکاروتن و فیکوسیانین استخراج شده از جلبک اسپیرولینا (*Spirulina platensis*) باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های تریپسین و آمیلاز در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) گردید فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، آمیلاز و لیپاز در ماهی کوی (*C. carpio*) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی جلبک *Arthrospira platensis* به طور معنی‌داری بیش‌تر

تهیه جیره‌های آزمایشی: جهت بررسی تأثیر پودر هویج در جیره غذایی، ۵ تیمار شامل جیره شاهد D1 (فاقد پودر گیاه)، جیره D2 (حاوی ۰/۵ درصد پودر هویج)، جیره D3 (حاوی ۱ درصد پودر هویج)، جیره D4 (حاوی ۱/۵ درصد پودر هویج) و جیره D5 (حاوی ۲ درصد پودر هویج) با استفاده از نرم‌افزار WUFFDA تهیه گردید و فرمولاسیون غذایی مطابق با نیازهای غذایی بچه‌ماهی آنجل صورت گرفت به طوری که از نظر میزان پروتئین، چربی و انرژی همسان باشند (۱۵ و ۲۵). جهت تهیه جیره‌های آزمایشی ابتدا اقلام غذایی بر اساس جدول ۱ از بازار تهیه شده و بعد از الک کردن و آسیاب نمودن به صورت کاملاً پودری آماده شدند. سپس اقلام غذایی بر اساس مقادیر مورد نیاز توسط ترازو توزین و با یکدیگر مخلوط شدند و به آن‌ها آب اضافه شد. خمیر حاصله به وسیله چرخ گوشت با اندازه چشمه ۵ میلی‌متر پلت شده و برای خشک کردن به مدت ۲۴ ساعت در معرض جریان هوا در دمای اتاق قرار گرفت و پلت‌های خشک شده در کیسه‌های پلاستیکی و در دمای یخچال (20°C) نگهداری شدند. غذای خشک شده با استفاده از هاون چینی خرد شده و ذرات کوچک (حدود ۰/۵ میلی‌متر) با کمک الک مخصوص غربال گردیده و برای استفاده به عنوان غذای ماهی انتخاب شدند.

به طور کاملاً تصادفی ذخیره‌سازی شدند. آب مورد استفاده برای پرورش ماهیان در طول دوره از نظر شاخص‌های فیزیوشیمیایی شامل دما ($25-24^{\circ}\text{C}$)، اکسیژن محلول (۷-۸ میلی‌گرم در لیتر)، پی‌اچ ($7.2-7.6$) و شوری (کم‌تر از 1 g/L) مورد ارزیابی قرار گرفت و رژیم نوری نیز به صورت طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی) بود. برای حفظ کیفیت آب از فیلتر شنی و برای حفظ دما و اکسیژن آکواریم‌ها به ترتیب از بخاری و هواده استفاده گردید. تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی تهیه شده، روزانه ۴ بار (ساعت ۸، ۱۲، ۱۵ و ۱۸) و به مدت ۸ هفته بر اساس ۳ درصد وزن بدن انجام گرفت (۱۵ و ۲۷). در این مدت مدفوع و غذای بجای مانده در محیط پرورشی ۳۰ دقیقه بعد از اتمام غذادهی روزانه سیفون شده و روزانه با توجه به کیفیت آب ۱۰ درصد حجم کل آب تعویض گردید.

تهیه پودر گیاه: گیاه مورد نظر در این پژوهش شامل هویج، بعد از تهیه از بازار به خوبی شسته شده و بعد از آبکشی اولیه به قطعات کوچک بریده شدند و سپس در آون در دمای 50°C خشک شدند. بعد از خشک شدن با کمک دستگاه آسیاب به خوبی پودر گردیدند و تا زمان استفاده در ظروف درب‌دار تیره رنگ در دمای 4°C نگهداری شدند (۱۷).

جدول ۱- اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی جهت تغذیه ماهی آنجل (*P. scalare*).

Table 1. Ingredients and proximate composition of the experimental diets for feeding angel fish (*P. scalare*).

جیره‌های آزمایشی Experimental diets					اجزاء جیره: گرم/کیلوگرم Ingredients: g/kg diet
D5	D4	D3	D2	D1	
450	450	450	450	450	پودر ماهی (Fish meal)
100	100	100	100	100	آکوپرو ^۱ (Aquapro)
100	100	100	100	100	گلو تن ذرت (Corn Gluten)
280	280	280	280	280	آرد گندم (Wheat flour)
5	5	5	5	5	روغن سویا (Soybean oil)
5	5	5	5	5	روغن ماهی (Fish oil)
5	5	5	5	5	مکمل معدنی ^۲ (Mineral premix)
5	5	5	5	5	مکمل ویتامینی ^۳ (Vitamin premix)
0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	آنتی‌اکسیدان (Antioxidant)
2	2	2	2	2	ویتامین C (Vitamin C)
5	5	5	5	5	توکسین بایندر (Toxinbinder)
2	1.5	1	0.5	0	پودر هویج (Carrot powder)
40.8	41.3	41.8	42.8	42.8	پرکننده : سلولز (Carrier : cellulose)

ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی (%).

(Proximate composition of the experimental diets)

D5	D4	D3	D2	D1	
6.50	6.45	6.50	6.55	6.45	رطوبت (Moisture)
41.43	41.51	41.32	41.67	41.25	پروتئین کل (Crude protein)
8.42	8.55	8.61	8.45	8.23	چربی کل (Crude fat)
9.73	9.73	9.87	9.91	9.80	خاکستر (Ash)
40.42	40.21	40.20	39.97	40.72	کربوهیدرات (Carbohydrate)
4.79	4.80	4.80	4.79	4.78	انرژی ناخالص (Gross energy) (kcal/g) ^۴

- ۱- آکوپرو (تولید شده در شرکت یسنا مهر): سویای فرآوری شده. میزان پروتئین ۵۱ درصد، انرژی قابل متابولیسم ۲۸۷۰ kcal/kg، رطوبت ۱۲ درصد، خاکستر ۷ درصد، چربی ۲/۸ درصد، فیبر خام ۴ درصد، نشاسته ۵ درصد و قند ۹ درصد است.
- ۲- مکمل معدنی (میلی‌گرم/کیلوگرم): حاوی کبالت (۳۴۵ میلی‌گرم)، سلنیوم (۱۷۲ میلی‌گرم)، آهن (۲۲۰۰۰ میلی‌گرم)، منگنز (۱۸۰۰۰ میلی‌گرم)، ید (۲۰۸۰ میلی‌گرم)، روی (۳۵۲۰۰ میلی‌گرم)، مس (۲۴۰۰ میلی‌گرم) می‌باشد.
- ۳- مکمل ویتامینی (میلی‌گرم/کیلوگرم): ویتامین A (۶۷۸۰ میلی‌گرم)، ویتامین D (۸۴۸ میلی‌گرم)، ویتامین E (۱۶۰۰ میلی‌گرم)، ویتامین K (۱۲۰۰ میلی‌گرم)، ویتامین C (۷۰۰۰۰ میلی‌گرم)، تیامین (۴۰۰۰ میلی‌گرم)، ریوفلاوین (۴۰۰۰ میلی‌گرم)، پیرویدوکسین (۳۶۰۰ میلی‌گرم)، سیانوکوبالامین (۱۶ میلی‌گرم)، اینوزیتول (۱۶۰۰۰۰ میلی‌گرم)، پانتوتینیک اسید (۱۸۰۰۰ میلی‌گرم)، فولیک اسید (۳۲۰۰ میلی‌گرم)، بیوتین (۴۰۰ میلی‌گرم)، نیاسین (۳۰۰۰۰ میلی‌گرم).
- ۴- پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بر حسب درصد ماده خشک است و محاسبه کربوهیدرات بر حسب رابطه (پروتئین + چربی + خاکستر + رطوبت) - ۱۰۰ و محاسبه انرژی ناخالص بر حسب کیلوکالری بر گرم جیره از رابطه حاصل ضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۵/۶۵ kcal)، چربی (۹/۴۵ kcal) و کربوهیدرات (۴/۱۱ kcal) تعیین گردید (۲۸).

- کارایی مصرف پروتئین:

$$PER = WG / \text{total amount of protein ingested}$$

- کارایی مصرف چربی:

$$LER = WG / \text{total amount of lipid ingested}$$

تعیین ترکیب شیمیایی جیره غذایی: برای تعیین ترکیب شیمیایی، میزان رطوبت بر اساس اختلاف وزن حاصل از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای °C ۱۰۵، میزان پروتئین خام از روش کجلدال، میزان چربی خام با استفاده از روش سوکسله و میزان خاکستر نیز با سوزاندن نمونه خشک شده در کوره الکتریکی در دمای °C ۵۵۰ و برای مدت ۵ ساعت سنجش گردید (۳۱).

تست استرس: جهت بررسی میزان مقاومت ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی نسبت به محدودیت هوا، در پایان دوره پرورش تعداد ماهیان هر تکرار به ۸ عدد کاهش یافت. سپس ماهیان با استفاده از ساچوک از آب خارج شده و پس از ۳۰ ثانیه به تانک بازگردانده شدند و به منظور ارزیابی میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ۳ ساعت پس از اعمال استرس نمونه‌برداری انجام گردید (۳۲).

تهیه عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم: برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی شامل تریپسین و آمیلاز، بعد از کالبدشکافی ماهیان، جداسازی روده در حضور یخ انجام شد و بعد از توزین نمونه‌ها، با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس - HCl، pH = ۸/۰ (حاوی ۱۰ میلی‌مولار CaCl₂ و ۰/۵ مولار NaCl) با نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شدند (۳۳). برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل SOD و کاتالاز، ابتدا بافت عضله جدا گردید و سپس با نسبت ۱ به ۱۰ با بافر فسفات سدیم (۰/۱ مولار، pH ۷) مخلوط گردید (۳۴). هر دو مخلوط حاصله با استفاده

کارایی رشد: برای بررسی کارایی رشد، ماهیان در انتهای دوره آزمایش ابتدا به مدت ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع غذا شده و بعد از بیهوشی با عصاره گل میخک با استفاده از سوزن قطع نخاع گردیدند (۲۹). سپس شاخص‌های افزایش وزن بدن (WG)^۱، نرخ رشد ویژه (SGR)^۲، شاخص وضعیت (CF)^۳، ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۴، نرخ بقاء (SR)^۵، کارایی مصرف پروتئین (PER)^۶ و کارایی مصرف چرب (LER)^۷ با استفاده از روابط زیر محاسبه شد که در آن‌ها W_o وزن اولیه (گرم)، W_t وزن نهایی (گرم)، t تعداد روزهای پرورش، BW وزن نهایی بدن (گرم)، TL طول کل (سانتی‌متر)، Nb (تعداد ماهیان در شروع دوره آزمایش) و Nt (تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش) است (۳۰).

- افزایش وزن بدن:

$$WG = W_t - W_o$$

- نرخ رشد ویژه:

$$SGR = [(LnW_t - LnW_o) / t] \times 100$$

- شاخص وضعیت:

$$CF = [(BW / TL^3)] \times 100$$

- ضریب تبدیل غذایی:

$$FCR = \text{Feed intake} / WG$$

- نرخ بقاء:

$$SR = (N_t / N_b) \times 100$$

- 1- Weight Growth
- 2- Specific Growth Rate
- 3- Condition Factor-3
- 4- Feed Conversion Ratio
- 5- Survival Rate
- 6- Protein efficiency ratio
- 7- Lipid efficiency ratio

وجود اختلاف معنی‌دار بین شاخص‌های رشد و آنزیم‌های مورد مطالعه در جیره‌های آزمایشی با ۳ تکرار از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، میانگین‌ها با کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردیدند.

نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد ماهی آنجل تغذیه شده با پودر هویج در جدول ۲ نشان داده شده است. بیش‌ترین میزان وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی D4 و کم‌ترین این شاخص‌ها در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی D1 مشاهده گردید که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$)؛ در حالی‌که بین جیره‌های غذایی D3، D4 و D5 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی به ترتیب در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی D1 و D4 مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$). کم‌ترین و بیش‌ترین میزان شاخص وضعیت به ترتیب در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی D1 و D5 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. در رابطه با نرخ بقاء هیچ‌گونه تلفاتی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در طول دوره پرورش ثبت نگردید.

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در روده ماهیان آنجل تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در شکل ۱ نشان داده شده است. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و آمیلاز به ترتیب در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی D4 و D1 مشاهده شد جایی‌که میزان فعالیت این آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر از جیره‌های غذایی D1 و D2 بود

از هموژنایزر (مدل Hand Held WT130) در حضور یخ به مدت ۱ دقیقه در ۱۱۰۰۰rpm همگن‌سازی شدند. سپس سوسپانسیون‌های حاصله برای ۳۰ دقیقه در دمای 4°C در ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردیدند و محلول رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم انتخاب گردید. فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از سوبسترای BAPNA^۱ سنجش گردید و جذب پارانیتروانیلید رهاسازی شده در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت گردید (۳۵). سنجش آنزیم آمیلاز با استفاده از نشاسته به‌عنوان سوبسترا و دی‌نیتروسالیسیلیک اسید به‌عنوان معرف انجام شد و جذب مالتوز رهاسازی شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۳۶). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با روش آبی (۳۷) و از طریق کاهش غلظت میزان H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم SOD براساس روش وینتربورن و همکاران (۳۸)، با استفاده از NBT^۲ در طول موج ۵۶۰ نانومتر سنجش شد. در تمام سنجش‌ها برای نمونه شاهد از آب مقطر به‌جای نمونه آنزیمی استفاده گردید و قرائت نوری نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. جهت تعیین فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد مطالعه، میزان پروتئین محلول در روده و عضله با روش لوری و همکاران (۳۹) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی (۱ mg/ml) به‌عنوان استاندارد سنجش گردید.

آنالیز آماری: این مطالعه بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی طراحی گردید و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با کمک آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد ارزیابی قرار گرفت و آزمون همگنی واریانس نیز توسط تست Levene انجام شد. برای بررسی

1- $\text{N}\alpha$ -Benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide hydrochloride
2- Nitro Blue Teuazlium chloride

مرحله پیش از استرس و پس از استرس کاهش معنی‌داری وجود داشت ($P < 0/05$) درحالی‌که بین جیره‌های D2، D3، D4 و D5 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. فعالیت آنزیم SOD و کاتالاز در جیره D1 در مرحله پس از استرس افزایش معنی‌داری نسبت به مرحله پیش از استرس داشت ($P < 0/05$)؛ درحالی‌که در جیره‌های D2، D3، D4 و D5 افزایش معنی‌داری مشاهده نگردید.

($P < 0/05$)؛ ولی با جیره‌های غذایی D3 و D4 اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و کاتالاز در عضله ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و کاتالاز نشان داد در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های D2، D3، D4 و D5 نسبت به جیره D1 در هر دو

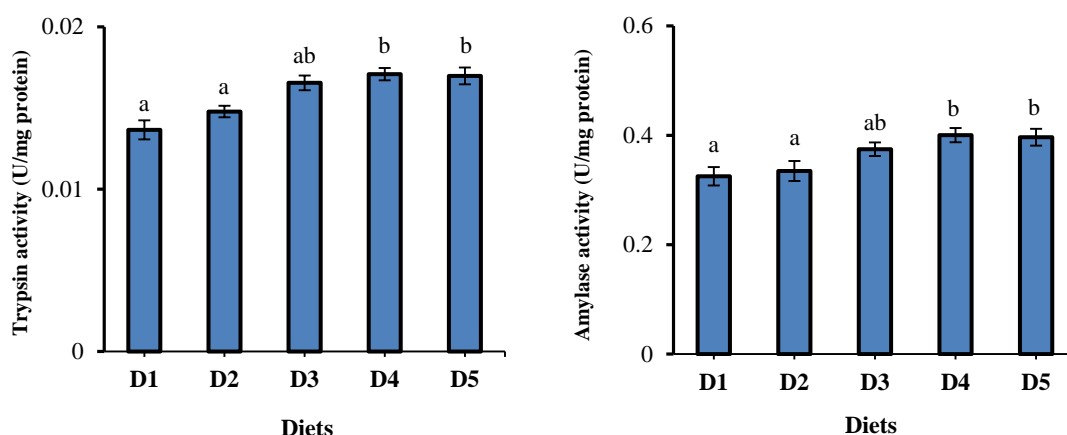
جدول ۲- شاخص‌های رشد ماهی آنجل (*P. scalare*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی.

Table 2. Growth performance of angel fish (*P. scalare*) fed with experimental diets.

جیره‌های آزمایشی Experimental diets					شاخص‌های رشد Growth performance parameters
D5	D4	D3	D2	D1	
2.76 ± 0.28	2.76 ± 0.28	2.76 ± 0.28	2.76 ± 0.28	2.76 ± 0.28	وزن اولیه (گرم) Initial weight (g)
5.81 ± 0.24 ^c	5.95 ± 0.23 ^c	5.65 ± 0.19 ^{bc}	5.23 ± 0.26 ^{ab}	4.85 ± 0.32 ^a	وزن نهایی (گرم) Final weight (g)
3.05 ± 0.35 ^b	3.19 ± 0.18 ^b	2.89 ± 0.38 ^{ab}	2.47 ± 0.31 ^a	2.09 ± 0.24 ^a	افزایش وزن بدن (گرم) Weight gain (g)
1.24 ± 0.27 ^c	1.28 ± 0.21 ^c	1.19 ± 0.33 ^{bc}	1.06 ± 0.19 ^{ab}	0.94 ± 0.12 ^a	نرخ رشد ویژه Specific growth rate
1.08 ± 0.09	1.11 ± 0.08	1.10 ± 0.14	1.12 ± 0.12	1.14 ± 0.10	شاخص وضعیت Condition factor
1.51 ± 0.61 ^a	1.49 ± 0.51 ^a	1.65 ± 0.31 ^b	1.74 ± 0.33 ^b	1.81 ± 0.37 ^b	ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio
100	100	100	100	100	نرخ بقا Survival rate
0.36 ± 0.04 ^b	0.37 ± 0.07 ^b	0.34 ± 0.07 ^b	0.29 ± 0.06 ^a	0.25 ± 0.05 ^a	نسبت کارایی چربی Lipid efficiency ratio
0.074 ± 0.005 ^b	0.077 ± 0.007 ^b	0.070 ± 0.004 ^b	0.059 ± 0.007 ^a	0.051 ± 0.006 ^a	نسبت کارایی پروتئین Protein efficiency ratio

حروف کوچک غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های آزمایشی است (میانگین ± انحراف معیار، تعداد تکرار = ۳ و میزان $P < 0/05$)

Different lower cases in each row indicate the significant difference among the experimental diets (Mean ± SD, n = 3, $P < 0.05$)



شکل ۱- فعالیت آنزیم‌های تریپسین و آمیلاز از روده ماهی آنجل (*P. scalare*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی.

حروف کوچک غیرمشترک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم است (میانگین \pm انحراف معیار، تعداد تکرار = ۳ و میزان $P < 0.05$).

Figure 1. The enzymes activity of trypsin and amylase from intestine of angel fish (*P. scalare*) fed with experimental diets.

Different lower cases indicate the significant difference in enzyme activity (Mean \pm SD, n = 3, $P < 0.05$).

جدول ۳- فعالیت آنزیم SOD در بافت عضله ماهی آنجل (*P. scalare*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی.

Table 3. The activity of SOD in angel fish (*P. scalare*) tissue fed with experimental diets.

پس از استرس After stress	پیش از استرس Before stress	جیره‌های آزمایشی Experimental diets
0.21 \pm 0.03 ^{Bb}	0.15 \pm 0.04 ^{Ab}	D1
0.16 \pm 0.06 ^{Aa}	0.11 \pm 0.06 ^{Aa}	D2
0.16 \pm 0.05 ^{Aa}	0.11 \pm 0.05 ^{Aa}	D3
0.14 \pm 0.04 ^{Aa}	0.10 \pm 0.05 ^{Aa}	D4
0.14 \pm 0.05 ^{Aa}	0.10 \pm 0.07 ^{Aa}	D5

حروف کوچک غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های آزمایشی است (میانگین \pm انحراف معیار، تعداد تکرار = ۳ و میزان $P < 0.05$)

Different lower cases in each row indicate the significant difference among the experimental diets (Mean \pm SD, n = 3, $P < 0.05$)

جدول ۴- فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت عضله ماهی آنجل (*P. scalare*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی.

Table 4. The activity of catalase in angel fish (*P. scalare*) tissue fed with experimental diets.

پس از استرس After stress	پیش از استرس Before stress	جیره‌های آزمایشی Experimental diets
0.16 \pm 0.05 ^{Bb}	0.14 \pm 0.03 ^{Ab}	D1
0.13 \pm 0.03 ^{Aa}	0.10 \pm 0.04 ^{Aa}	D2
0.13 \pm 0.02 ^{Aa}	0.10 \pm 0.02 ^{Aa}	D3
0.11 \pm 0.02 ^{Aa}	0.09 \pm 0.03 ^{Aa}	D4
0.11 \pm 0.02 ^{Aa}	0.09 \pm 0.04 ^{Aa}	D5

حروف کوچک غیرمشترک در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های آزمایشی است (میانگین \pm انحراف معیار، تعداد تکرار = ۳ و میزان $P < 0.05$)

Different lower cases in each row indicate the significant difference among the experimental diets (Mean \pm SD, n = 3, $P < 0.05$)

بحث و نتیجه گیری

کاروتنوئیدها نقش مهمی در متابولیسم ماهیان داشته و باعث بهبود رشد، افزایش میزان بقاء، تقویت سیستم ایمنی، افزایش تولیدمثل و مقاومت در برابر شرایط استرس زا می‌شوند (۲۱ و ۴۰). در شرایط طبیعی، این رنگدانه‌ها از منابع طبیعی مانند جلبک‌ها و سخت‌پوستان تامین می‌شوند ولی در شرایط پرورش بایستی از طریق اقلام غذایی حاوی این رنگدانه‌ها نیاز ماهیان تامین گردد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند استفاده از کاروتنوئیدهای مصنوعی یا طبیعی در جیره غذایی ماهیان باعث افزایش رشد می‌شود. با این حال، سطح بهینه استفاده از این رنگدانه‌ها در جیره غذایی خاص هر گونه است (۴۱، ۴۲، ۴۳). در مطالعه حاضر، استفاده از پودر گیاه هویج به‌عنوان منبع کاروتنوئید تأثیر مثبتی بر شاخص‌های رشد ماهی آنجل داشت به‌طوری‌که در سطوح بالا (۱/۵ و ۲ درصد) افزایش معنی‌داری در میزان شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی پروتئین مشاهده شد در حالی‌که کاهش معنی‌داری در میزان ضریب تبدیل غذایی ثبت گردید. برخی مطالعات نشان داده‌اند استفاده از مقدار مناسب این رنگدانه‌ها در جیره غذایی تأثیر مثبتی بر رشد ماهیان داشته است. مطالعه عبدالسمی گودا و همکاران (۲۱) نشان داد استفاده از پودر گل همیشه‌بهار در جیره غذایی ماهی سی‌بس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) تأثیر معنی‌داری در افزایش شاخص‌های رشد این ماهی در مقایسه با گروه شاهد (فاقد رنگدانه) داشت و با مطالعات انجام شده در ماهی دم‌شمشیری (*X. helleri*) (۴۴)، گیش‌ماهی طلایی (*Trachinotus ovatus*) (۴۵) و سیچلاید دم زرد (*Pseudotropheus acei*) (۴۶) همخوانی داشت. علاوه بر این، استفاده از پودر گل همیشه‌بهار در جیره غذایی ماهی کوی (*C. carpio*).

سی‌بس اروپایی (*D. labrax*) و ماهی دم‌شمشیری (*X. helleri*) باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه شاهد گردید (۱۲، ۲۱ و ۴۷). نتایج مطالعه هاین و همکاران (۴۸) نشان داد استفاده از رنگدانه‌های آستازانتین، کانتازانتین و زانتوفیل در جیره غذایی گربه‌ماهی (*Clarias macrocephalus*) باعث بهبود عملکرد رشد در مقایسه با گروه شاهد گردید. در برخی مطالعات استفاده از رنگدانه‌ها در جیره غذایی ماهیان تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد نداشته است که می‌توان به مطالعات انجام شده در ماهی آفتاب‌پرست کوتوله (*Badis badis*) (۴۰) و ماهی کوی (*C. carpio*) (۴۹) اشاره نمود. همچنین استفاده از این رنگدانه‌ها در غلظت‌های بالا نیز اثر منفی روی رشد ماهیان داشته است (۵۰، ۵۱، ۵۲). نتایج مطالعه زای و همکاران (۴۵) نشان داد آستازانتین در جیره غذایی گیش‌ماهی طلایی (*T. ovatus*) می‌تواند ضریب هضم ظاهری و بیان فاکتورهای رشد شبه انسولین را افزایش دهد (IGFs). اثر بخشی کاروتنوئیدها از نظر انباشتگی در بافت و عملکرد فیزیولوژیک، وابسته به گونه ماهی است و مسیرهای مختلفی برای متابولیسم کاروتنوئیدها در گونه‌های مختلف وجود دارد که هنوز به وضوح مشخص نیست ولی می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و نقش در متابولیسم واسط باعث بهبود عملکرد رشد گردد (۵۳). از دیگر عواملی که ممکن است منجر به نتایج فوق در مطالعات مختلف شده باشد اندازه ماهی، رفتار تغذیه‌ای و گونه ماهی مورد مطالعه است (۲۱، ۵۴، ۵۵).

در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تریپسین و آمیلاز در جیره‌های حاوی پودر هویج در سطوح بالا (۱/۵ و ۲ درصد) نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. تریپسین آنزیم

در جیره D1 در مرحله پس از استرس افزایش معنی‌داری نسبت به مرحله پیش از استرس مشاهده گردید در حالی‌که در جیره‌های D2، D3، D4 و D5 افزایش معنی‌داری مشاهده نشد. رادیکال‌های آزاد ترکیباتی هستند که در طول فرایند متابولیسم هوازی طبیعی در بدن جانوران تولید می‌شوند جایی‌که واکنش‌های مربوط به استرس می‌تواند غلظت این رادیکال‌ها را افزایش داده و در نتیجه آسیب بدنی را به همراه داشته باشد. اثرات منفی این رادیکال‌ها می‌تواند توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خنثی شود. در مهره‌داران عالی مانند ماهیان دو نوع سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی وجود دارد: سیستم غیرآنزیمی (ویتامین‌ها و مولکول‌هایی مانند گلوکاتیون و...) و سیستم آنزیمی شامل SOD و کاتالاز (۵۷ و ۵۸) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و کاتالاز، نقش مهمی در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ایفا می‌کنند. SOD آنزیمی سیتوزولیک بوده و اولین آنزیمی است که به‌طور خاص واکنش‌های مربوط به رادیکال‌های سوپراکسید را کاتالیز می‌کند و با رادیکال‌های اکسیژن واکنش می‌دهد که منجر به تولید H_2O_2 می‌شود که برای سلول سمی می‌باشد (۴۵). در مقابل آنزیم کاتالاز تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند. کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های زیستی مهم می‌توانند پراکسیداسیون چربی را مهار کرده و واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش را از طریق حذف رادیکال‌های آزاد به تاخیر بباندازند و باعث تقویت سیستم دفاعی و ایمنی جانور گردد (۷). اگرچه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با میزان کاروتنوئید غذا رابطه عکس دارد ولی اطلاعات درباره اثرات مفید بالقوه آن در وضعیت اکسیداتیو ماهی و مکانیسم‌های تحت کنترل آن اندک است. بنابراین، سطوح SOD و کاتالاز می‌تواند وضعیت آنتی‌اکسیدانی ماهی را منعکس کند و سطوح بالای این آنزیم‌ها

آندوپروئتینازی است که می‌تواند پروتئین را به پپتیدها و اسیدهای آمینه تبدیل کند تا جذب آن‌ها سریع‌تر انجام شوند. آمیلاز نیز نوعی آنزیم کربوهیدرازی است که می‌تواند نشاسته را به مالتوز هیدرولیز کرده و سپس مالتوز تحت آنزیم مالتاز به گلوکز شکسته شود تا در روده جذب گردد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم ظرفیت تغذیه را تعیین کند و بر رشد ماهی تأثیر بگذارد. مطالعه عبدالجواد و همکاران (۵۶) نشان داد استفاده از کانتازتین و لیکوپین در جیره غذایی ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*) باعث افزایش فعالیت آنزیم تریپسین در مقایسه با گروه شاهد گردید. مطالعه ژو و همکاران (۲۲) نشان داد استفاده از رنگدانه آستازانتین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش آنزیم‌های گوارشی مانند تریپسین و آمیلاز در ماهی هامور (*Plectropomus leopardus*) گردید ولی افزایش مقدار رنگدانه در سطوح بالاتر باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و در نتیجه کاهش رشد گردید. استفاده از رنگدانه‌ها در جیره غذایی در سطوح مناسب می‌تواند بر رشد میکروبه‌های مفید روده تأثیر گذاشته و از طریق ترشح آنزیم‌های گوارشی باعث بهبود عملکرد رشد گردد (۲۳). در مطالعه حاضر نیز بین میزان آنزیم‌های گوارشی مورد مطالعه و شاخص‌های رشد ارتباط مستقیم وجود داشت به‌طوری‌که در ماهیان تغذیه شده با پودر هویج به ویژه در سطوح بالا میزان آنزیم‌های گوارشی و شاخص‌های رشد نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد.

در این مطالعه، نتایج حاصل از فعالیت آنزیم‌های SOD و کاتالاز نشان داد در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر هویج (D2، D3، D4 و D5) نسبت به جیره غذایی D1 در هر دو مرحله پیش از استرس و پس از استرس کاهش معنی‌داری داشتند و

سلام و همکاران (۲۰) و عبدالسمی گودا و همکاران (۲۱) نشان دادند میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل TAC، ALT و AST در سی‌بس اروپایی (*D. labrax*) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی پودر گل همیشه‌بهار به عنوان منبع کاروتنوئید نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از پودر هویج در جیره غذایی ماهی آنجل به‌ویژه در سطوح ۱/۵ و ۲ درصد تأثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنتی‌اکسیدانی داشت؛ بنابراین پیشنهاد می‌گردد سطوح بررسی شده در این مطالعه در ماهیان با وزن بالاتر و هم‌چنین سطوح بالاتر پودر این گیاه در ماهی با وزن‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد تا سطوح مطلوب‌تری از پودر این گیاه در جیره غذایی این گونه در وزن‌های مختلف شناسایی گردد.

سپاسگزاری

نویسنده بر خود لازم می‌داند از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه ملایر به جهت حمایت مالی از مطالعه حاضر تحت قرارداد شماره ۵۷۶۷ قدردانی نماید.

همواره نشان‌دهنده میزان بالای رادیکال‌های آزاد است که باید مهار شوند (۵۹). در مطالعه لیگرن و همکاران (۶۰) مشخص گردید سطوح بالای آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی مانند آستازانتین در جیره غذایی ماهیان دوتابستانه آزاد اطلس می‌تواند نیاز به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و کاتالاز را برای مهار به ترتیب رادیکال اکسیژن و H_2O_2 کاهش دهد. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عصاره‌های تهیه شده از منابع طبیعی می‌توانند اثر مهارکننده بالایی روی رادیکال‌های آزاد داشته باشند و توالی‌های اکسیداسیون را در سطوح مختلف تجزیه کنند (۶۱). در مطالعه نیو و همکاران (۶۲) استفاده از کاروتنوئیدها شامل آستازانتین و کانتازانتین در جیره غذایی میگو ببری سیاه (*Penaeus monodon*) نشان داد میزان آنزیم SOD بعد از شوک کوتاه‌مدت اکسیژنی نسبت به گروه شاهد که غذای فاقد رنگدانه را دریافت کردند در سطوح پائین‌تری قرار داشت. نتایج مطالعه لی و همکاران (۶۳) در استفاده از جلبک تک‌سلولی سبز آب شیرین (*H. pluvialis*) حاوی رنگدانه طبیعی آستازانتین در جیره غذایی ماهی پاروت (*Cichlasoma citrinellum*) نشان داد ماهیان تغذیه شده با این رنگدانه نسبت به گروه شاهد از سطح آنزیم SOD پائین‌تری برخوردار بودند. هم‌چنین

منابع

- 1.FAO. (2024). Fishery and Aquaculture Statistics. Global Aquaculture Production 1950–2020 (Fish Stat J). In FAO Fisheries and Aquaculture Department [Online]; FAO: Rome, Italy: Available online: <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0683en>.
- 2.Novák, J., Kalous, L., & Patoka, J. (2020). Modern ornamental aquaculture in Europe: early history of freshwater fish imports. *Reviews in Aquaculture*, 12 (4), 2042-2060.
- 3.Prakash, S., Kumar, T. T. A., Raghavan, R., Rhyne, A., Tlustý, M. F., & Subramoniam, T. (2017). Marine aquarium trade in India: Challenges and opportunities for conservation and policy. *Marine Policy*, 77, 120-129.
- 4.Evers, H. G., Pinnegar, J. K., & Taylor, M. I. (2019). Where are they all from?—sources and sustainability in the ornamental freshwater fish trade. *Journal of Fish Biology*, 94(6), 909-916.

5. Hoseinifar, S. H., Maradonna, F., Faheem, M., Harikrishnan, R., Devi, G., Ringø, E., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., & Carnevali, O. (2023). Sustainable ornamental fish aquaculture: the implication of microbial feed additives. *Animals*, 13(10), 1583.
6. Iranian Fisheries Organization., 2024. Annual report. Ghorbanzade, R. A., Sedghpour, S., (editors). 64p. Available online: <https://www.fisheries.ir>.
7. Nakano, T. (2020). Stress in Fish and Application of Carotenoid for Aquafeed as an Antistress Supplement. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*, 2999-3019.
8. Schiedt, K. (1998). Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans. In: *Carotenoids Biosynthesis and Metabolism*, Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander (Eds.), Birkhäuser: Basel, Switzerland, pp. 285-358.
9. García-Chavarría, M., & Lara-Flores, M. (2013). The use of carotenoid in aquaculture. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8(2), 38-49.
10. Bano, F., Kashyap, A., & Serajuddin, M. (2020). Effects of different dietary supplementation of plant carotenoids on growth, coloration and behaviour of giant gourami, *Trichogaster fasciata* (Bloch and Schneider, 1801). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(6), 2770-2789.
11. Nakano, T., & Wiegertjes, G. (2020). Properties of carotenoids in fish fitness: a review. *Marine drugs*, 18(11), 568.
12. Rana, S., Al Bari, A., Shimul, S. A., Al Mazed, M., & Al Nahid, S. A. (2023). Enhancement of body coloration of sword-tail fish (*Xiphophorus helleri*): Plant-derived bio-resources could be converted into a potential dietary carotenoid supplement. *Heliyon*, 9(4), e15208.
13. Maoka, T. (2015). Diversity and biological functions of natural carotenoids. *FFI J.* 220, 118-124.
14. Pattanaik, S. S., Sawant, P. B., KA, M. X., Srivastava, P. P., Dube, K., Sawant, B. T., & Chadha, N. K. (2021). Dietary carotenoprotein extracted from shrimp shell waste augments growth, feed utilization, physio-metabolic responses and colouration in Oscar, *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831). *Aquaculture*, 534, 736303.
15. Kouba, A., Sales, J., Sergejevová, M., Kozák, P., & Masojídek, J. (2013). Colour intensity in angelfish (*Pterophyllum scalare*) as influenced by dietary microalgae addition. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(1), 193-199.
16. Bora, M. M. (2010). Adsorption of pigment from annatto seed utilizing fish scale as biosorbent. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(5), 75-83.
17. Adhami, B., Jafari, S., & Janikhalili, K. (2017). Effect of natural (carrot and beetroot) and artificial pigments (astaxanthin) on growth, blood indices, and colour changes in skin, tissue and blood in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries Science and Technology*, 5(4), 1-11.
18. Beygi Kaleshtari, A., Hosseini, S. V., Farhangi, M., & Rafiee, G. (2019). Replacement of carrot powder with synthetic astaxanthin in the rainbow trout diet: effect on the growth performance and blood parameters. *Aquatic Animals Nutrition*, 5(1), 59-70.
19. KasAlipour, M., Khara, H., & Sadeghpour, A. (2020). Effects of astaxanthin, red pepper and orange pepper on growth, coloration, hematological and immunology factors in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*). *Applied Biology*, 32(4), 38-57.
20. Sallam, A. E., Mansour, A. T., Srour, T. M., & Goda, A. M. A. (2017). Effects of different carotenoid supplementation sources with or without sodium taurocholate on growth, feed utilization, carotenoid content and antioxidant status in fry of the European seabass,

- Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture Research*, 48(7), 3848-3858.
21. Abdelsamee Goda, A., Sallam, A. E., & Srour, T. M. (2018). Evaluation of natural and synthetic carotenoid supplementation on growth, survival, total carotenoid content, fatty acids profile and stress resistance of european seabass, *Dicentrarchus labrax*, fry. *Aquaculture Studies*, 18(1), 27-39.
 22. Zhu, X., Hao, R., Zhang, J., Tian, C., Hong, Y., Zhu, C., & Li, G. (2022). Dietary astaxanthin improves the antioxidant capacity, immunity and disease resistance of coral trout (*Plectropomus leopardus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 122, 38-47.
 23. Hassaan, M. S., Mohammady, E. Y., Soady, M. R., Sabae, S. A., Mahmoud, A. M., & El-Haroun, E. R. (2021). Comparative study on the effect of dietary β -carotene and phycocyanin extracted from *Spirulina platensis* on immune-oxidative stress biomarkers, genes expression and intestinal enzymes, serum biochemical in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 108, 63-72.
 24. Ansarifard, F., Rajabi Islami, H., Shamsaie Mehrjan, M., & Soltani, M. (2018). Effects of *Arthrospira platensis* on growth, skin color and digestive enzymes of Koi, *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(2), 381-393.
 25. Zuanon, J. A. S., Salario, A. L., Moraes, S. S. S., Alves, L. M. D. O., Balbino, E. M., & Araújo, E. S. (2009). Dietary protein and energy requirements of juvenile freshwater angelfish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 989-993.
 26. Kasiri, M., Farahi, A., & Sudagar, M. (2011). Effects of feeding frequency on growth performance and survival rate of angel fish, *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae). In *Veterinary Research Forum* (Vol. 2, No. 2, pp. 97-102). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.
 27. Rajeswari, M. V., Rajasree, S. R. R., & Balasubramanian, T. (2017). Effect of light levels on growth, survival and skin colour enhancement of marine angelfish, *Apothemichthys xanthurus* (Bennett, 1833). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(6), 1083-1087.
 28. NRC (National Research Council) (2011). *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington DC, USA.
 29. Zamani A., & Khajavi M. (2019). Assessment of growth performance and proteolytic enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed by different levels of single cell protein. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 28 (4), 103-115.
 30. Hamza, N., Mhetli, M., Khemis, I. B., Cahu, C., & Kestemont, P. (2008). Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture*, 275(1-4), 274-82.
 31. AOAC (2005). Official Method 950.89 Horwitz, W., Latimer, G. (Eds). *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.
 32. Kumari, J., & Sahoo, P. K. (2005). High dietary vitamin C affects growth, non-specific immune responses and disease resistance in Asian catfish, *Clarias batrachus*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 280, 25-33.
 33. Zamani, A., Khajavi, M., Abedian Kenari, A., Haghbin Nazarpak, M., Solouk, A., Esmaeili, M. & Gisbert, E. (2023). Physicochemical and Biochemical Properties of Trypsin-like Enzyme from Two Sturgeon Species. *Animals*, 13(5), 853.
 34. dos Santos Carvalho, C., Bernusso, V. A., de Araújo, H. S. S., Espíndola, E. L. G., & Fernandes, M. N. (2012). Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*, 89(1), 60-69.

35. Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 95(2), 271-278.
36. Bernfeld, P. (1951). Amylases α and β . In: *Methods in Enzymology*. Colowick, P. and Kaplan, N.O. (Eds.). Vol 1. New York: Academic Press, 149-157.
37. Aebi, H. (1974). Catalase. In: *Bergmayer, H.U. Methods of Enzymatic Analysis*. New York, Academic Press, 1248.
38. Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brian, M., & Carrell, R. W. (1975). The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 85(2), 337-341.
39. Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, 193(1), 265-275.
40. Biswas, P., Singh, S. K., Debbarma, R., Dey, A., Waikhom, G., Deb, S., & Patel, A. B. (2024). Effects of carotenoid supplementation on colour, growth and physiological function of the endemic dwarf chameleon fish (Badis badis). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 108(1), 126-138.
41. Yi, X., Xu, W., Zhou, H., Zhang, Y., Luo, Y., Zhang, W., & Mai, K. (2014). Effects of dietary astaxanthin and xanthophylls on the growth and skin pigmentation of large yellow croaker *larimichthys croceus*. *Aquaculture*, 433, 377-383.
42. Nhan, H. T., Minh, T. X., Liew, H. J., Hien, T. T. T., & Jha, R. (2019). Effects of natural dietary carotenoids on skin coloration of false clownfish (*Amphiprion ocellaris cuvier*, 1830). *Aquaculture Nutrition*, 25, 662-668.
43. Mansour, A. T., El-feky, M. M. M., El-Beltagi, H. S., & Sallam, A. E. (2020). Synergism of Dietary Co-Supplementation with Lutein and Bile Salts Improved the Growth Performance, Carotenoid Content, Antioxidant Capacity, Lipid Metabolism, and Lipase Activity of the Marbled Spinefoot Rabbitfish, *Siganus rivulatus*. *Animals*, 10, 1643.
44. Ezhil, J., Jeyanthi, C., & Narayanan M. (2008). Marigold as a carotenoid source on pigmentation and growth of red swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8, 99-102.
45. Xie, J. J., Chen, X., Niu, J., Wang, J., Wang, Y., & Liu, Q. Q. (2017). Effects of astaxanthin on antioxidant capacity of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) in vivo and in vitro. *Fisheries and aquatic sciences*, 20, 1-8.
46. Guroy, B., Sahin, I., Mantoglu, S., & Kayali, S. (2012). Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid *Pseudotropheus acei*. *Aquaculture International*, 20(5), 869-878.
47. Swian, H. S., Senapati, S. R., Meshram, S. J., Mishra, R., & Murthy, H. S. (2014). Effect of dietary supplementation of marigold oleoresin on growth, survival and total muscle carotenoid of Koi carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Applied and Natural Science*, 6(2), 430-435.
48. Hien, T. T. T., Loc, T. V., Tu, T. L. C., Phu, T. M., Duc, P. M., Nhan, H. T., & Liem, P. T. (2022). Dietary effects of carotenoid on growth performance and pigmentation in bighead catfish (*Clarias macrocephalus* Günther, 1864). *Fishes*, 7(1), 37.
49. Ninwichian, P., Chookird, D., & Phuwan, N. (2020). Effects of dietary supplementation with natural carotenoid sources on growth performance and skin coloration of fancy carp, *Cyprinus carpio* L. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(1), 167-181.
50. Buttle, L. (2001). Pigment. International Patent Classification: A23K 1/18, International Publication Number: WO 00/67591, Applicant: EWOS Ltd, Livingston.

51. Wassef, E. A., Chatzifotis, S., Sakr, E. M., & Saleh, N. E. (2010). Effect of two natural carotenoid sources in diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*, on growth and skin coloration. *Journal of Applied Aquaculture*, 22(3), 216-229.
52. Kurnia, A., Satoh, S., Haga, Y., Kudo, H., Nakada, M., Matsumura, H., Watanabe, Y., & Adachi, S. (2015). Muscle coloration of rainbow trout with astaxanthin sources from marine bacteria and synthetic astaxanthin. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 6(5).
53. 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.
54. Pan, C. H., Chien, Y. H., & Wang, Y. J. (2010). The antioxidant capacity response to hypoxia stress during transportation of characins *Hyphessobrycon callistus* fed diets supplemented with carotenoids. *Aquaculture Research*, 41, 973-981.
55. Talebi, M., Khara, H., Zorieh Zahra, J., Ghobadi, S., Khodabandelo, A., & Mirrasooli E. (2013). Study on effect of red bell pepper on growth, pigmentation and blood factors of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *World Zoology Journal*, 8, 17-22.
56. Abd El-Gawad, E. A., Wang, H. P., & Yao, H. (2019). Diet supplemented with synthetic carotenoids: Effects on growth performance and biochemical and immunological parameters of yellow perch (*Perca flavescens*). *Frontiers in physiology*, 10, 1056.
57. Liu, J., Zhang, X., Sun, Y., & Lin, W. (2010). Antioxidative capacity and enzyme activity in *Haematococcus pluvialis* cells exposed to superoxide free radicals. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28, 1-9.
58. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, USA.
59. Ross, S. W., Dalton, D. A., Kramer, S., & Christensen, B. L. (2001). Physiological (antioxidant) responses of estuarine fishes to variability in dissolved oxygen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(3), 289-303.
60. Lygren, B., Hamre, K., & Waagbø, R. (1999). Effects of dietary pro- and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11(3), 211-221.
61. Rahman, M. M., Khosravi, S., Chang, K. H., & Lee, S. M. (2016). Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Preventive nutrition and food science*, 21(3), 281.
62. Niu, J., Li, C. H., Liu, Y. J., Tian, L. X., Chen, X., Huang, Z., & Lin, H. Z. (2012). Dietary values of astaxanthin and canthaxanthin in *Penaeus monodon* in the presence and absence of cholesterol supplementation: effect on growth, nutrient digestibility and tissue carotenoid composition. *British Journal of Nutrition*, 108(1), 80-91.
63. Li, F., Huang, S., Lu, X., Wang, J., Lin, M., An, Y., Wu, S., & Cai, M. (2018). Effects of dietary supplementation with algal astaxanthin on growth, pigmentation and antioxidant capacity of the blood parrot (*Cichlasoma citrinellum* × *Cichlasoma synspilum*). *Journal of Oceanology and Limnology*, 36, 1851-1859.

