



การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสารเร่งสี
CAROPHYLL® pink และฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ต่อการเร่งสีของปลาหมอสีซิมิลิส

วรรณิ ศิริมานะพงษ์^{1, #} กฤติญา พัชรวรรณทัศน์² กล้า เทียงตรง² ดุสิตา ชินเจริญดี² สุพัตรา กิจไพรบูลย์² และ
อรณี จงกลแพทย์²

¹ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกและการสาธารณสุข; ²คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอกุสุมาลย์
จังหวัดนครปฐม 73170 ประเทศไทย

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสามารถของเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ สารเร่งสีคลอโรฟิลล์ฟังค์ (CAROPHYLL® pink) และฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ต่อการเร่งสีของปลาหมอสีซิมิลิส (*Protomelas similis*) โดยใช้แบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มการทดลองตามชนิดของอาหารเสริมเพื่อใช้เร่งการเกิดสีของปลาหมอสีที่ต่างกัน ได้แก่ อาหารที่ไม่มีการเสริมสารสี อาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink เปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone และเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone โดยผสมอาหารให้กินวันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 10 วัน และประเมินคะแนนสีโดยผู้เชี่ยวชาญด้านการประกวดปลาหมอสี จากการศึกษาพบว่าอาหารที่มีการเสริมสารเร่งสีที่ต่างกันมีผลต่อการเกิดสีบนตัวปลาที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยอาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone มีคะแนนการเกิดสีมากที่สุด และอาหารที่เสริมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบไม่สามารถเร่งสีในปลาหมอสีซิมิลิสโดยการผสมอาหารให้กินเป็นระยะเวลา 10 วัน สรุปคือการให้อาหารเสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone สามารถช่วยเสริมฤทธิ์ทำให้ปลาหมอสีซิมิลิสมีสีที่ชัดเจนได้ในระยะเวลานี้

คำสำคัญ: เปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ปลาหมอสีซิมิลิส

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหานครสาร. 2563. 15(2): 167-178.

E-mail address: wanna.sir@mahidol.edu

Comparison of Color Enhancement Efficacy in the Ornamental Cichlid
Protomelas similis between Using CAROPHYLL® pink, Mangosteens Pericarp Crude Extract,
and 17 α -methyltestosterone Hormone

Wanna Sirimanapong^{1,#}, Krittiya Phatcharawannatat², Klar Thienstrong²,
Dusita Chincharoendee², Supatta Kijpraiboon², and Oranee Jongkolpath²

¹Department of Clinical Science and Public Health; ²Faculty of Veterinary Science, Mahidol University,
Salaya Sub-District, Phutthamonthon District, Nakhon Pathom 73170, Thailand

Abstract: The aim of this experiment was study the efficacy of color enhancement mangosteen pericarp crude extract, color enhancing CAROPHYLL® pink and 17 α -methyltestosterone hormone on color skin of *Protomelas similis*. The experimental design was a Completely Randomized Design (CRD) of 6 treatments follow as types of supplementation feed for color enhancement in *P. similis* (control feed, feed supplement with CAROPHYLL® pink, mangosteen pericarp crude extract, 17 α -methyltestosterone hormone, 17 α -methyltestosterone hormone plus CAROPHYLL® pink and 17 α -methyltestosterone hormone plus mangosteen pericarp crude extract). *P. similis* were fed by these feeding program and then were evaluated color scoring by expert who had experience about cichlid contests. From this study, found that the different color enhancing feed groups had significantly effect on *P. similis* skin color ($P < 0.05$) which *P. similis* that were fed 2 times a day for 10 days by 17 α -methyltestosterone hormone plus CAROPHYLL® pink had highest color score. However, *P. similis* were fed with mangosteen pericarp crude extract didn't show different color enhancing feed groups compared to the control group within 10 days ($P > 0.05$). The combination between 17 α -methyltestosterone hormone and CAROPHYLL® pink in the feed help to *P. similis* express skin color in short term.

Keywords: Mangosteens pericarp crude extract, CAROPHYLL® pink, 17 α -methyltestosterone hormone, Ornamental cichlid

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2020 15(2): 167-178.

E-mail address: wanna.sir@mahidol.edu

บทนำ	70-80% ของกลุ่มปลาหมอสีถูกพบในทะเลสาบวิกตอเรีย
ปลาหมอสีจัดเป็นปลาในตระกูล Cichlidae ซึ่งมี	(Victoria) แทนแกเนียกา (Tanganyika) และมลาวี
จำนวนสมาชิกภายในกลุ่มอยู่ 2,000 - 3,000 ชนิด ซึ่ง	(Malawi) ในประเทศแอฟริกา ลักษณะสีบนตัวปลา

แต่ละชนิดมีความสวยงามแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด (Stauffer Jr. et al., 2006) ซึ่งปัจจุบันปลาหมอสีได้รับความนิยมในการเลี้ยงเป็นสัตว์น้ำสวยงาม ทำให้เกษตรกรต้องการเพาะพันธุ์ปลาหมอสีให้มีสีสันสดใสเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้เลี้ยง สีสันของปลาไม่ได้มีเพียงความสวยงามเท่านั้น แต่ยังมีบทบาทสำคัญในด้านการสื่อสาร พฤติกรรม การสืบพันธุ์ ความหลากหลายทางด้านชีววิทยาของปลา และสามารถหลบซ่อนเหยื่อหรือปรับตัวให้กลมกลืนกับสภาพแวดล้อม เพื่อหลีกเลี่ยงศัตรู (Korzan et al., 2008; Sefc et al., 2014) สีสันของปลาหมอสีเกิดจากเซลล์ผลิตสี (chromatophore) ที่จะมีสารสี (pigment) อยู่ข้างใน ซึ่งเซลล์เหล่านี้จะอยู่ในชั้นผิวหนัง (dermis) ของปลา โดยสารสีที่ต่างกันจะทำให้เกิดสีที่แตกต่างกันไปตามชนิดของปลา (Goda et al., 2013; Hickman et al., 1993) สีสันมีความสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม ทำให้ในปัจจุบันมีการใช้สารต่าง ๆ เร่งสีเพื่อให้ปลามีสีที่สวยงดงาม เช่น การใช้ฮอร์โมนเพศผู้เพื่อให้ปลาแสดงลักษณะเด่นของเพศผู้มากขึ้น คือมีสีสันเด่นชัดเพิ่มมากขึ้น โดยสามารถให้ฮอร์โมนกับตัวผู้ที่ยังไม่โตเต็มวัยเพื่อเร่งให้ปลาแสดงลักษณะของเพศผู้ได้เร็วขึ้น หรือสามารถให้สารสีเพื่อเป็นการเร่งให้สีสด สีขึ้นเร็วและเต็มมากขึ้น (Karsli et al., 2018)

ฮอร์โมนที่ใช้เพื่อเป็นการเร่งสีในปลาหมอสี ได้แก่ เมทิลเทสโทสเตอโรน (17 α -methyltestosterone) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศผู้ที่มีบทบาทเกี่ยวกับลักษณะทางเพศปฐมภูมิ (primary sexual characteristics) การเจริญเติบโต และลักษณะทางเพศทุติยภูมิ (secondary sexual characteristics) เมื่อปลาหมอสีที่อายุน้อย (immature) ได้รับฮอร์โมนเพศผู้จากภายนอก (exogenous androgen) เข้าไป จะเหนี่ยวนำให้เกิดการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ให้สมบูรณ์รวดเร็วขึ้น และถ้าหากตัวเต็มวัยได้รับฮอร์โมนเข้าไปจะไปส่งเสริมให้ปลาแสดงพฤติกรรมทางเพศมากขึ้น ได้แก่ พฤติกรรมฝูง

(social) ความดุร้าย (aggression) และการแสดงออกทางเพศ (sexual behavior) (Goda et al., 2013; Hickman et al., 1993) การศึกษาเปรียบเทียบการให้ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone และ 17 β -estradiol ผสมอาหารให้ปลาหมอสี (Electric yellow cichlid; *Labidochromis caeruleus*) พบว่าฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ให้ผลในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต การเปลี่ยนเพศ และเพิ่มสีสันได้ดีกว่า (Karsli et al., 2018) ในปลา Chinese bitterling (*Rhodeus sinensi*) พบว่า ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ความเข้มข้น 40 และ 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สามารถทำให้เกิดสีได้ใน 50 วัน หลังจากผสมอาหารให้กินตั้งแต่ระยะวัยอ่อนที่เริ่มให้กินอาหาร และยังพบว่าลูกปลาที่ได้รับอาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เริ่มมีสีสันที่เพิ่มขึ้นเมื่อ 28 วัน หลังจากได้รับอาหาร และเพิ่มสีสันชัดเจนที่สุดในวันที่ 56 หลังจากได้รับอาหารผสมฮอร์โมน (Chen et al., 2018)

สารสีที่นิยมใช้ในการผสมอาหารให้ปลาสวยงามสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่มของแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) (Pérez-Escalante et al., 2012) กลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เช่น แอสตราแซนทิน (Astaxanthin) (Sefc et al., 2014) และไฟโคไซยานิน (Phycocyanin) (Biabani et al., 2019) ในปัจจุบันมีการใช้สารสีชื่อคลอโรฟิลล์ พิงค์ (Carophyll® pink) ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือแอสตราแซนทิน โดยใช้เติมลงไปในการอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น ปลาเทราท์ (*Oncorhynchus mykiss*) ปลาแซลมอน (*Salmo* sp.) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ปลากระพงแดง (*Lutjanus* sp.) และปลาสวยงามบางชนิดเช่น ปลาทอง (*Carasius auratus*) ปลาแคร์พ (*Cyprinus carpio*) และในกลุ่มปลาหมอสี (European Food Safety Authority, 2014; Lorenz and Cysewski, 2000) แอสตราแซนทิน

คือสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ ทำให้เกิดเม็ดสีแดง-ส้มบริเวณ ผิวหนังและไข่แดงของปลาได้โดยผ่านการกิน เช่น สาหร่าย ยีสต์ กุ้ง เป็นต้น (Nurhadi et al., 2019) ใน ส่วนสารสีที่มีขายตามท้องตลาดยกตัวอย่างเช่น CAROPHYLL® pink จะได้มาจากการสกัดจากพวก ฟาเฟียยีสต์ (*Phaffia rhodozyma*) ฮีมาโตคอคคัส (*Haematococcus pluvialis*) และสารเคมีสังเคราะห์ (Ambati et al., 2014) จึงทำให้มีราคาที่สูงขึ้น ดังนั้นหากสามารถใช้สารเสริมที่ต้นทุนต่ำก็จะเป็นอีก ทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรผู้เพาะพันธุ์ปลาในด้านการ การลดต้นทุนการผลิต

มังคุดเป็นผลไม้ที่พบทั่วไปในประเทศไทย อุดมไปด้วยสารแอนโทไซยานินที่มีรงควัตถุ เป็นสารสีแดง ม่วง และน้ำเงิน (Wrolstad et al., 2005) พบว่าในเปลือก มังคุดแห้ง 100 กรัมสามารถมีสารแอนโทไซยานินอยู่ถึง 200 มิลลิกรัม หรือคิดเป็น 0.2% โดยที่สารสีแอนโท-ไซยานินนี้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น ด้าน สุขภาพโดยนำไปผสมในอาหารเพื่อสุขภาพ (Seymour et al., 2014) หรือใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนสีของผลไม้ (Rahim et al., 2014) หรือช่วยในการเปลี่ยนสีของปลา อีกด้วย (Chaovanalikit et al., 2012) การศึกษา ความสัมพันธ์ของปริมาณสารสกัดแอนโทไซยานินจาก กลีบเลี้ยงกระเจี๊ยบ (*Hibiscus sabdariffa*) ต่อการ เจริญเติบโต และสีของปลาทอง (*Carassius auratus*) ผลการทดลองพบว่าสารสีในเนื้อเยื่อปลามีความสัมพันธ์ กับความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน (Pérez-Escalante et al., 2012) และในปลาสดหางแดง (*Xiphophorus helleri*) พบว่าการให้อาหารที่มีการผสมสารสกัดแอนโท-ไซยานินจากกลีบเลี้ยง และเปลือกปืทรูท ในขนาด 400 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จะสามารถช่วยให้การเกิด สีได้ (Monica et al., 2019) อย่างไรก็ตามข้อมูลใน การศึกษาสารแอนโทไซยานินที่ได้จากเปลือกมังคุดเพื่อ ใช้เป็นสารสีในการเร่งสีในปลาหมอสียังไม่พบข้อมูล ทาง ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นไปได้ในการ

นำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด สาร CAROPHYLL® pink และฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone มา ทดลองใช้ในการเร่งสีของปลาหมอสีซิมิลิสเพื่อเป็นการ เพิ่มมูลค่าของปลาหมอสีซิมิลิสให้เป็นที่ต้องการของ ตลาด

วิธีการดำเนินงาน

สัตว์ทดลอง

การใช้สัตว์ทดลองได้ผ่านการพิจารณาจาก Mahidol University-Institute Animal Care and Use Committee (MU-IACUC) รหัสโครงการ MU-IACUC 2017/021

การเตรียมปลาหมอสีซิมิลิส (*Protomelas similis*) เพศผู้ อายุ 8 เดือน น้ำหนัก 10-16 กรัม สุขภาพ แข็งแรง และไม่มีการเปลี่ยนสีของผิวหนัง (ไม่ขึ้นสี) จำนวน 18 ตัว กลุ่มละ 3 ตัว/ตู้ จำนวน 6 ตู้ ขนาดตู้ปลา ความกว้าง 16 นิ้ว ความยาว 24 นิ้วและเติมน้ำที่ระดับ ความลึก 12 นิ้ว บรรจุน้ำ 72 ลิตร โดยพักปลาทั้งหมดใน ตู้เป็นเวลา 5 วัน และให้กินอาหารสูตรควบคุมอาหารเม็ด สำเร็จรูป วันละ 2 ครั้ง ก่อนเริ่มการทดลอง

การแบ่งกลุ่มการทดลอง

สามารถแบ่งได้เป็น 6 กลุ่ม ดังนี้คือ กลุ่มควบคุม อาหารเม็ดสำเร็จรูป (C) กลุ่มที่ให้อาหารผสมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink (CP) กลุ่มที่ให้อาหารผสมเปลือก มังคุดแห้งสกัดหยาบ (M) กลุ่มที่ให้อาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (H) กลุ่มที่ให้อาหารผสม ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับ CAROPHYLL® pink (CP+H) และกลุ่มที่ให้อาหารผสม ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับเปลือก มังคุดแห้งสกัดหยาบ (M+H)

การเตรียมอาหาร และการให้อาหาร

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (C): ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูป (โปรตีนไม่น้อยกว่า 40% ไขมันไม่น้อยกว่า 4% ความชื้น ไม่มากกว่า 12% กากไม่มากกว่า 4%)

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ให้อาหารผสม CAROPHYLL® pink (CP): อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับสารละลาย CAROPHYLL® pink ปริมาณ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มีสารแอสตราแซนทีน 800 มิลลิกรัม) ทำการเตรียมสารละลายสารเร่งสี CAROPHYLL® pink โดยเตรียม สารเร่งสี CAROPHYLL® pink 2 กรัมผสมลงในน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้นโดยในแต่ละมื้ออาหารจะชั่งอาหาร 0.6 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อมื้ออาหาร) ผสมกับ สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ที่เป็นสารละลายตั้งต้น 0.3 มิลลิลิตร คลุกอาหารให้เข้ากันและทิ้งไว้ 5 นาทีก่อนนำไปเลี้ยงปลา

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ให้อาหารผสมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ (M): อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับสารละลายเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ ปริมาณ 80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มีสารแอนโทโรไซยานิน 160 มิลลิกรัม) ทำการเตรียมสารละลายเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ โดยเตรียมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ 16 กรัมผสมน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้น เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้นโดยในแต่ละมื้ออาหารจะชั่งอาหาร 0.6 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อมื้ออาหาร) ผสมกับสารละลายสารละลายเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบที่เป็นสารละลายตั้งต้น 0.3 มิลลิลิตร คลุกอาหารให้เข้ากันและทิ้งไว้ 5 นาทีก่อนนำไปเลี้ยงปลา

กลุ่มที่ 4 กลุ่มที่ให้อาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (H): อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับสารละลายฮอร์โมน ปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทำการเตรียมสารละลายฮอร์โมน โดยการใช้ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone 10 มิลลิกรัมผสมน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้น โดยในแต่ละมื้ออาหารจะชั่งอาหาร 0.6 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อมื้ออาหาร) ผสมกับสารละลาย สารละลายเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบที่เป็น

สารละลายตั้งต้น 0.3 มิลลิลิตร คลุกอาหารให้เข้ากันและทิ้งไว้ 5 นาทีก่อนนำไปเลี้ยงปลา

กลุ่มที่ 5 กลุ่มที่ให้อาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับ สารเร่งสี CAROPHYLL® pink (CP+H): อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับสารละลายฮอร์โมน ปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และ สารเร่งสี CAROPHYLL® pink 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มีสารแอสตราแซนทีน 800 มิลลิกรัม) ทำการเตรียมสารละลายฮอร์โมนร่วมกับ สารเร่งสี CAROPHYLL® pink โดยใช้ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone 10 มิลลิกรัม และเตรียมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink 2 กรัม แล้วผสมทั้งคู่ลงในน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้น โดยในแต่ละมื้ออาหารจะชั่งอาหาร 0.6 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อมื้ออาหาร) ผสมกับ สารละลายฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ที่เป็นสารละลายตั้งต้น 0.3 มิลลิลิตร คลุกอาหารให้เข้ากันและทิ้งไว้ 5 นาทีก่อนนำไปเลี้ยงปลา

กลุ่มที่ 6 กลุ่มที่ให้อาหารผสมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับ เปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ (M+H): อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับสารละลายฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ 80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มีสารแอนโทโรไซยานิน 160 มิลลิกรัม) ทำการเตรียมสารละลาย ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ โดยใช้ฮอร์โมน 10 มิลลิกรัม และเตรียมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ 16 กรัม แล้วผสมลงในน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันเป็นสารละลายตั้งต้น โดยในแต่ละมื้ออาหารจะชั่งอาหาร 0.6 กรัม (คิดเป็นร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อมื้ออาหาร) ผสมกับ สารละลายฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ร่วมกับเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบที่เป็นสารละลายตั้ง

ต้น 0.3 มิลลิลิตร คลุกอาหารให้เข้ากันและทิ้งไว้ 5 นาที ก่อนนำไปเลี้ยงปลา

ในแต่ละกลุ่มการทดลองจะให้อาหารสูตรต่าง ๆ ในปริมาณร้อยละ 3 ของน้ำหนักตัวต่อตัวต่อวัน หรือให้ตัวละ 0.4 กรัมต่อวัน (0.2 กรัม/ตัว/ครั้ง) ให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. และ 16.00 น.

การตรวจคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจคุณภาพน้ำ เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำตลอดการทดลอง โดยตรวจก่อนการเปลี่ยนถ่ายน้ำ เปลี่ยนถ่ายน้ำ 2 วันต่อครั้ง พารามิเตอร์ที่ตรวจ ได้แก่ ค่าออกซิเจนละลาย (mg/L) อุณหภูมิ (°C) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าคลอรีน (mg/L) ค่าไนโตรเจน (mg/L) ค่าไนเตรต (mg/L) ค่าแอมโมเนีย (mg/L) ค่าความเค็ม (ppt) ค่าความเป็นด่าง (mg/L) ค่าความกระด้าง (mg/L)

การติดตามประเมินการเปลี่ยนแปลงของสีบนตัวปลา

โดยจัดสภาพแวดล้อมให้เหมือนกันในทุกกลุ่มการทดลอง มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ให้อาหารทุกวัน มีการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีบนผิวหนังปลาด้วยการถ่ายรูป โดยใช้กล้องถ่ายรูปและตั้งค่าต่าง ๆ แบบเดียวกันตลอดการทดลอง (Cannon EOS 350D) ในช่วงเวลาบ่ายของทุกวันตลอดการทดลอง และประเมินสีบนตัวปลา โดยผู้ให้คะแนนจะเป็นกรรมการผู้เชี่ยวชาญด้านการประกวดปลาหมอสี พิจารณาจากสีที่เกิดขึ้นบนผิวหนังของปลาให้ตรงตามลักษณะของสายพันธุ์ซึ่งมีเกณฑ์การให้คะแนนเต็ม (30 คะแนน) แบ่งเป็น 3 ส่วน คือ บริเวณหัวและใบหน้า 10 คะแนน บริเวณลำตัว 10 คะแนน และบริเวณครีบ 10 คะแนน แต่ละส่วนจะมีคะแนน 0-10 คะแนน โดยการเทียบสีที่เกิดขึ้นกับสีที่ขึ้นสมบูรณ์ตรงตามสายพันธุ์ (0 = ไม่มีสี, 1 = 10%, 2 = 20%, 3 = 30%, ..., 8=80%, 9=90% และ 10 = มีสีขึ้นครบสมบูรณ์) ให้คะแนนปลาทุกตัวในตู้

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดสมบูรณ์ (Completely randomized design : CRD) มี 6 กลุ่มการทดลอง ได้แก่ อาหารที่ไม่มีการเสริมสารสี อาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink เปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone และเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) แบบทางเดียว (One-way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองด้วยวิธี Kruskal-Wallis test และ Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ผลการทดลอง

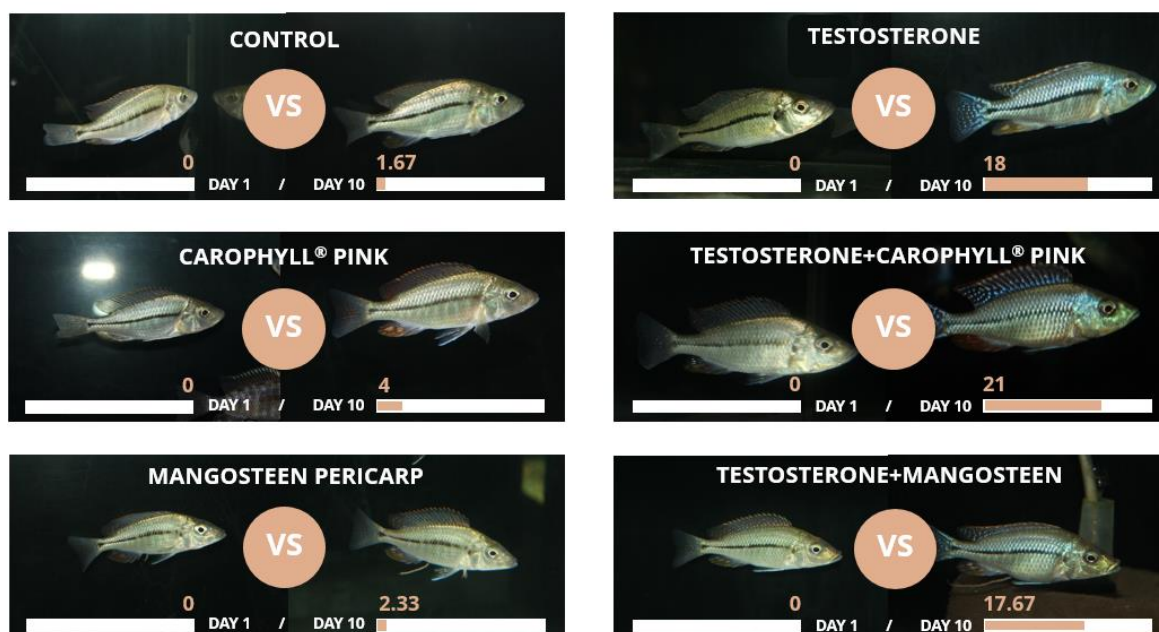
จากการศึกษาเปรียบเทียบคะแนนการเกิดสีของปลาหมอสีชนิดที่รับสารเร่งให้เกิดสีที่แตกต่างกันผ่านทางการกินอาหารมาเป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของคะแนนประเมินสีบนตัวปลาในกลุ่มอาหารที่ไม่มีการเสริมสารสี อาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink เปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone และเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.67 ± 0.58 , 4 ± 0 , 2.33 ± 1.53 , 18 ± 0 , 21 ± 0 และ 17.67 ± 1.15 ตามลำดับ โดยปลาที่ได้รับอาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเมื่อเทียบกับกลุ่มอาหารอื่นๆ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.05$) เมื่อนำคะแนนการเกิดสีของปลาแต่ละกลุ่มมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริม

สารเร่งสีในอาหาร พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone สารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone และเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และจากการศึกษานี้ยังพบว่ามีเพียงกลุ่มที่

ได้รับอาหารผสมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมสารเร่งสีในอาหาร (ดังแสดงในตารางที่ 1) และการเปรียบเทียบสีของปลาหมอสีซิมิลิสในวันที่ 0 และวันที่ 10 (รูปที่ 1) พบว่าผลค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ต่างๆ ของคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ปกติทุกค่าและทุกกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคะแนนสีรวม (30 คะแนน; ลักษณะสีบริเวณหัวและใบหน้า 10 คะแนน บริเวณลำตัว 10 คะแนน และบริเวณครีบ 10 คะแนน) ของปลาหมอสีซิมิลิสที่ได้รับการเสริมเร่งสีชนิดต่าง ๆ ผ่านทางการผสมอาหารให้กิน เป็นระยะเวลา 10 วัน

กลุ่มปลาที่ได้รับอาหาร	คะแนนสี
อาหารที่ไม่มีการเสริมสารสี (Control)	1.67 $\pm$ 0.58 ^a
อาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink (CP)	4 $\pm$ 0 ^b
อาหารที่เสริมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ (M)	2.33 $\pm$ 1.53 ^a
อาหารที่เสริมฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (H)	18 $\pm$ 0 ^c
อาหารที่เสริมสารเร่งสี CAROPHYLL® pink ร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (CP+H)	21 $\pm$ 0 ^d
อาหารที่เสริมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบร่วมกับฮอร์โมน 17 α -methyltestosterone (M+H)	17.67 $\pm$ 1.15 ^c



รูปที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบการเกิดสี และคะแนน (score) การเกิดสีของปลาหมอสีซิมิลิสในกลุ่มเดียวกันในวันที่ 0 และวันที่ 10 ของการทดลอง

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยคุณภาพน้ำของน้ำที่เลี้ยงปลาในแต่ละกลุ่ม ในแต่ละฟาร์มเตอร์ ตลอดระยะเวลาการทดลอง (Mean±SD)

ฟาร์มเตอร์	ค่ามาตรฐาน	C	CP	M	H	CP+H	M+H
Chlorine (mg/L)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
DO (mg/L)	≥ 3	6 ± 0.4	5.8 ± 0.6	5.6 ± 0.5	5.8 ± 0.5	5.9 ± 0.6	5.9 ± 0.5
Temp (°C)	25-32	24.8 ± 0.6	24.7 ± 0.9	24.3 ± 0.3	24.4 ± 0.3	24.1 ± 0.3	24.8 ± 1.2
pH	5-9	8.1 ± 0.2	8 ± 0	8 ± 0	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.2	8 ± 0
NO ₂ ⁻ (mg/L)	< 0.1	0.02 ± 0	0.02 ± 0	0.02 ± 0	0.02 ± 0	0.02 ± 0	0.02 ± 0
NH ₄ ⁺ (mg/L)	<0.02	0 ± 0	0 ± 0.1	0 ± 0.1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0.1
Alkalinity (mg/L CaCO ₃)	10-400	104.8 ± 6.9	116.2 ± 12.8	104 ± 14.4	102 ± 0	104.8 ± 6.9	113.3 ± 13.9
Hardness (mg/L CaCO ₃)	10-400	161.5 ± 20.8	144.5 ± 20.8	153 ± 0	144.5 ± 20.8	161.5 ± 20.8	153 ± 32.3

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การส่งเสริมให้ปลามีสีส้มที่สวยงามมีส่วนสำคัญมากในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสวยงาม เนื่องจากปลาที่มีสีส้มสวยงามจะเป็นที่ต้องการของตลาด และสามารถเพิ่มมูลค่าได้อีกด้วย และการทำให้ปลามีสีส้มสวยงามนั้นต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ สนับสนุน เช่น สายพันธุ์ที่ดี อาหารที่เหมาะสม คุณภาพน้ำที่ดี การจัดการที่มีประสิทธิภาพ ฯลฯ หากสามารถทำให้ปลามีสีส้มสวยงามตรงตามความต้องการของตลาดในระยะเวลาอันสั้นได้ก็จะเป็นการลดต้นทุนการผลิตไปในตัวด้วย ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาผลของอาหารที่ผสมเปลือกมังคุดแห้งสกัดหยาบ สารเร่งสีคลอโรฟิลล์พังก์ (CAROPHYLL® pink) และฮอร์โมน 17 α -methyl-testosterone ต่อการเร่งสีของปลาหมอสีชิลิลิส (*Protomelas similis*) ในระยะเวลา 10 วัน เนื่องจากสถานที่ทำการศึกษาค้างนี้เป็นการศึกษาในพื้นที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงปลาหมอสีชิลิลิส และโดยส่วนใหญ่ก่อนมีการขายปลาจะมีการผสมอาหารที่มีส่วนผสมของสารเร่งสีให้ปลากินเป็นเวลา 7-10 วันก่อนขาย เพื่อให้มีการแสดงออกของสีส้มที่ชัดเจนและเป็นที่ต้องการของตลาด พบว่าสารแอนโทไซยานินเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเมตาบอไลต์ และสะสมที่ชั้นผิวหนังของปลาได้น้อย เช่น ในปลากระดี่แคระ (Dwarf

gourami; *Trichogaster lalius*) (Baron et al., 2008) จากการศึกษาพบว่าอาหารที่ผสมสารสีที่สกัดจากเปลือกมังคุดไม่สามารถเร่งสีปลาหมอสีชิลิลิสได้ภายใน 10 วัน สาเหตุที่มีความเป็นไปได้ที่ทำให้ผลการศึกษาไม่เป็นไปตามที่คาดหวังนั้นมีหลายปัจจัยด้วยกัน เช่น ปริมาณของสารแอนโทไซยานินที่ปลาได้รับนั้นไม่เพียงพอ เนื่องจากความเข้มข้นของการผสมสารสกัดหยาบเปลือกมังคุดใช้อัตราส่วน 80 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ซึ่งมีสารแอนโทไซยานิน 160 มิลลิกรัม และอาจเกิดได้จากในขั้นตอนการเตรียมผสมระหว่างผงสกัดหยาบของเปลือกมังคุดกับเม็ดอาหาร พบว่าสารสกัดหยาบของเปลือกมังคุดละลายน้ำไม่หมด ทำให้มีบางส่วนไม่ดูดซึมเข้าสู่เม็ดอาหาร ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Kurnia et al. (2019) ในการใช้อาหารที่มีการผสมสารสกัดเปลือกแก้วมังกร (dragon fruit peel) 150 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ สามารถช่วยให้ปลาคาร์พมีสีส้มที่ชัดเจนเข้มข้น อีกทั้งระยะเวลาในการศึกษานี้ค่อนข้างสั้นสำหรับทำให้ปลาหมอสีชิลิลิสที่กินอาหารผสมสารสกัดหยาบของเปลือกมังคุดไม่แสดงสีส้มที่แตกต่างอย่างชัดเจนในระยะเวลา 10 วัน ซึ่งแตกต่างจากปลาสดหางดาบที่กินอาหารผสมสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง และเปลือกปืทุท เป็นระยะเวลา 45 วัน สามารถเกิดสีส้มที่ชัดเจนขึ้น (Monica et al.,

2019) แต่หากในกลุ่มปลาหมอสีซิมิลิสที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหยาบของเปลือกมังคุดร่วมกับฮอร์โมน 17α -methyltestosterone ก็จะสามารถที่จะเร่งการเกิดสีได้ในระยะเวลาสั้น และพบว่าการศึกษาการใช้สารแอนโทไซยานินมาผสมอาหารให้ปลาทองกินต้องใช้เวลาประมาณ 8 สัปดาห์ในการทำให้ปลาทองมีสีส้มที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมได้ (Pérez-Escalante et al., 2012) จากการศึกษาพบว่าการใช้ CAROPHYLL® pink สามารถเร่งสีในปลาหมอสีซิมิลิสได้ภายในระยะเวลา 10 วัน เนื่องจากสาร CAROPHYLL® pink ค่อนข้างละลายน้ำได้ดี ดังนั้นในขั้นตอนของการเตรียมสารผสมอาหารนั้นจึงทำให้สารสกัดสามารถซึมเข้าสู่เม็ดอาหารได้ดี และมีรายงานพบว่าสาร CAROPHYLL® pink ซึ่งอยู่ในกลุ่มของแอสตราแซนทีน สามารถเมตาบอไลต์ และถูกนำไปเก็บไว้ที่ชั้นผิวหนังได้ดี จึงส่งผลทำให้ปลามีสีส้มที่สดได้ (European Food Safety Authority, 2014) ในส่วนของการใช้ฮอร์โมน 17α -methyltestosterone นั้น จากผลการศึกษาพบว่าสามารถเร่งสีปลาหมอสีซิมิลิสได้ภายใน 10 วัน เนื่องจากฮอร์โมนนี้จะไปกระตุ้นให้มีการแสดงลักษณะของเพศผู้ โดยฮอร์โมนสามารถเหนี่ยวนำให้มีการนำสารสีไปสะสมที่ชั้นผิวหนังจำนวนมากส่งผลให้ปลามีสีที่สดขึ้นซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญของเพศผู้ (Shahidian et al., 2012) และการใช้ฮอร์โมน 17α -methyltestosterone ร่วมกับ CAROPHYLL® pink สามารถที่จะเร่งสีของปลาหมอสีซิมิลิสได้ชัดเจนมากกว่าการใช้อย่างใดอย่างหนึ่งแสดงว่าสาร CAROPHYLL® pink ในกลุ่มของสารแอสตราแซนทีนสามารถที่จะเสริมการทำงานของฮอร์โมน 17α -methyltestosterone ได้ในปลาหมอสีซิมิลิส

ในส่วนของการประเมินสีส้มของปลานั้นสามารถประเมินได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น เทคนิคการวิเคราะห์ค่าสี (RGB Analysis) จากภาพถ่ายโดยใช้ โปรแกรม J software ในการเปรียบเทียบกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง การให้คะแนนสีจากการเปรียบเทียบกับตารางสี

(color index chart) (Monica et al., 2019) การวัดสีจากผู้สังเกตจำนวน 8 คน โดยใช้วิธีการ Toca color finder (TCF) ในการเทียบให้คะแนนสี (Kurnia et.al., 2019) แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ปลาหมอสีซิมิลิสเป็นสายพันธุ์แท้ที่มีการจัดประกวดปลาสวยงามในงานประกวดต่างๆ เช่น งานประมงน้อมเกล้า งานประมงน้อมใจ ไทยทั่วหล้า งานมหกรรมสัตว์เลี้ยง ฯลฯ ดังนั้นการตัดสินการประกวดจะมาจากกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่เป็นผู้มีความรู้ความชำนาญในสายพันธุ์ปลาสวยงามชนิดนั้น ๆ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้ดัดแปลงเกณฑ์การตัดสินการประกวดปลาหมอสีมาใช้ และเชิญกรรมการผู้เชี่ยวชาญด้านการประกวดปลาหมอสีมาเป็นผู้ให้คะแนนซึ่งถือเป็นวิธีการวัดผลอีกรูปแบบหนึ่ง

ความเข้มข้นของการใช้ฮอร์โมน 17α -methyltestosterone ในการผสมให้ปลากินอยู่ในช่วงที่กว้างทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของปลา เช่น ปลาซิวข้าวสารจิ๋ว (Medaka), ปลาทอง (goldfish), ปลานิล (tilapia) 20-30 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ปลาหมาลาย (zebrafish) 1-100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (Yamazaki, 1983) จากการศึกษาพบว่าปลาหมอสีซิมิลิสที่ให้อาหารผสม ฮอร์โมน 17α -methyltestosterone 50 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สามารถที่จะพบการเปลี่ยนแปลงสีได้หลังจาก 10 วัน การใช้สาร CAROPHYLL® pink ในการผสมอาหารให้ปลากินเพิ่มสีส้มสามารถใช้ได้ทั้งในปลาที่เลี้ยงเพื่อการบริโภค เช่น ปลาแซลมอน (salmon) และปลาเทราท์ (trout) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (European Food Safety Authority, 2014) ปลาทะเล เช่น ปลาออกิตดอดดีแบค (*Pseudochromis fridmani*) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 70 วัน (Jiang et.al., 2019) ปลาทอง ขนาด 75 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 144 วัน (Yeşilayer et.al., 2011) ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าได้ใช้ สาร CAROPHYLL® pink ความเข้มข้น 10 กรัม ต่ออาหาร 1

กิโลกรัม เป็นเวลา 10 วัน สามารถที่จะทำให้ปลาหมอสี ซิมิลิสมีสีได้ในระยะเวลาที่สั้น ถือเป็นการเพิ่มมูลค่าในการผลิต เนื่องจากปลาที่มีสีสันสวยงามเป็นที่ต้องการของตลาด มีราคาสูง และเป็นการลดระยะเวลาในการเลี้ยงปลาซึ่งถือเป็นการลดต้นทุนในการผลิตได้อีกด้วย หากแต่ความเข้มข้นของสารต่างๆ ที่ใช้ในการผสมอาหาร ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์น้ำที่ให้ และระยะเวลาในการเกิดสีที่ต้องการ

ข้อเสนอแนะ

การผสมสารต่างๆ ในอาหารสำหรับปลานั้น ควรทำการเคลือบอาหาร เช่น น้ำมันตับปลา น้ำมันพืช ฯลฯ หลังจากการผสมอีกครั้งในขั้นตอนสุดท้าย เพื่อให้สารที่ผสมไว้ติดกับเม็ดอาหาร และป้องกันการสูญเสียในน้ำ ก่อนที่ปลาจะกินอาหารผสมที่เตรียมไว้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณฟาร์มด็อกเตอร์ฟิช (Dr. fish) ผู้ให้การสนับสนุนสถานที่และสัตว์ทดลอง หน่วยวิจัยและดูแลสุขภาพสัตว์น้ำทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล สำหรับสารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์

เอกสารอ้างอิง

Ambati, R. R., S. M. Phang, S. Ravi, and R. G. Aswathanarayana. 2014. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications a review. Mar. drugs. 12(1): 128-152.

Baron, M., S. Davies, L. Alexander, D. Snellgrove, and K. Sloman. 2008. The effect of dietary pigments on the coloration and behaviour of flame-red dwarf gourami. Colisa. lalia. Anim. Behav. 75(3): 1041-1051.

Biabani, A. M., M. Sudagar, N. Shahraki, and S. Vahdat. 2019. Effect of extracted phycocyanin from *Spirulina platensis* on growth parameters, colorations, digestive enzymes and body chemical compositions of Guppy fish (*Poecilia reticulata*). J. Sur. Fish. Sci. 6(1): 1-8.

Chaovanalikit, A., A. Mingmuang, T. Kitbunluewit, N. Choldumrongkool, J. Sondee, and S. Chupraturum. 2012. Anthocyanin and total phenolics content of mangosteen and effect of processing on the quality of mangosteen products. Int. Food Res. J. 19(3): 1047-1053.

Chen, X. J., W. Li, Y. Y. Zhu, and Q. Wang. 2018. Effect of methyl testosterone on the body color of Chinese bitterling (*Rhodeus sinensi*). Pak. J. Agri. Sci. 55(2): 417-422.

European Food Safety Authority (EFSA). 2014. Scientific Opinion on the safety and efficacy of astaxanthin (CAROPHYLL® Pink 10% CWS) for salmonids and ornamental fish. EFSA J. 12(6): 3725-3758.

Goda, M., Y. Fujiyoshi, M. Sugimoto, and R. Fujii. 2013. Novel dichromatic chromatophores in the integument of the mandarin fish *Synchiropus splendidus*. Biol. Bull. 224(1): 14-17.

Hickman, C. P., L. Roberts, and A. Larson. 1993. Integrated principles of zoology. 9th ed. Mosby. St. Louis. 905 p.

Jiang, J., W. Nuez-Ortin, A. Angell, C. Zeng, R. de Nys, and M. J. Vucko. 2019. Enhancing the colouration of the marine ornamental

- fish *Pseudochromis fridmani* using natural and synthetic sources of astaxanthin. Algal. Res. 42: 101596. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101596>.
- Karsli, Z., D. Şahin, M. Öz, and O., Aral. 2018. The effect of hormone (17 α -methyl testosterone, 17 β -estradiol) usage on development, sex inversion and pigmentation of electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956). Appl. Ecol. Env. Res. 16(6): 8093-8103.
- Korzan, W. J., R. R. Robison, S. Zhao, and R. D. Fernald. 2008. Color change as a potential behavioral strategy. Horm. Behav. 54(3): 463-470.
- Kurnia, A., I. Nur, W. H. Muskita, M. Hamzah, W. Iba, R. S. Patadjai, A. M. Balubi, and N. Kalidupa. 2019. Improving skin coloration of koi carp (*Cyprinus carpio*) fed with red dragon fruit peel meal. Aquac. Aqua. Conserv. Legis. Biof. 12(4): 1045-1053.
- Lorenz, R. T. and G. R. Cysewski. 2000. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Trends. Biotechnol. 18(4): 160-167.
- Monica, J., N. Vyjayanthi, and D. Seenappa. 2019. Effect of dietary incorporation of anthocyanin pigments on the coloration and growth of orange swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). Int. J. Fish. Aqua. Stud. 7(5): 144-149.
- Nurhadi, T., W. Lili, R.I. Pratama, and K. Haetami. 2019. Effects of Astaxanthin and Canthaxanthin Addition to Ranchu Goldfish (*Carassius auratus*) Diet Related to Rate of Color Quality Enhancement. World. News. Nat. Sci. 24: 178-183.
- Pérez-Escalante, V., G. Aguirre-Guzmán, P. E. Vanegas-Espinoza, and A. A. Del Villar-Martínez. 2012. Effect of Anthocyanin's Extract from flour of Roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa*) on growth and pigmentation of Goldfish (*Carassius auratus*). Thai. J. Vet. Med. 42(1): 107-111.
- Rahim, M. A., N. Busatto, and L. Trainotti. 2014. Regulation of anthocyanin biosynthesis in peach fruits. Planta. 240(5): 913-929.
- Sefc, K. M., A. C. Brown, and E. D. Clotfelter. 2014. Carotenoid-based coloration in cichlid fishes. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 173(100): 42-51.
- Seymour, E. M., S. M. Warber, A. Kirakosyan, K. R. Noon, B. Gillespie, V. E. Uhley, J. Wunder, D. E. Urcuyo, P. B. Kaufman, and S. F. Bolling. 2014. Anthocyanin pharmacokinetics and dose-dependent plasma antioxidant pharmacodynamics following whole tart cherry intake in healthy humans. J. Funct. Food. 11: 509-516.
- Shahidian, M., S. Fatemi, I. Sharifpour, A. Mashinchian, and S. Kakoolaki. 2012. Effects of 17 α -methyl testosterone on the secondary sex characteristics in the scat (*Sarcophagus argues*) J. Mar. Sci. Technol. Res. 7(1): 67-73.
- Stauffer Jr., J. R., K. Black, M. Geerts, A. Konings, and K. McKaye. 2006. Cichlid fish diversity

- and speciation, In: Reconstructing the Tree of Life: Taxonomy and Systematics of Species Rich Taxa. 1st ed. Hodgkinson, T.R. and J. A. N. Parnell. CRC Press. London. 213-225 p.
- Wroblestad, R. E., R. W. Durst, and J. Lee. 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. Trends. Food. Sci. Technol. 16(9): 423-428.
- Yamazaki, F. 1983. Sex control and manipulation in fish. Aquaculture. 33(1-4): 329-354.
- Yeşilayer, N., O. Aral, Z. Karsli, M. Öz, A. Karaçuha, and F. Yağci 2011. The effects of different carotenoid sources on skin pigmentation of Goldfish (*Carassius auratus*). Israel. J. Agr. Res. 63: 1-9.

