فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۷

اثرات تغذیه از آستاگزانتین مصنوعی بر کارایی تولیدمثلی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*)

قاسم رشیدیان[۱]*، غلامرضا رفیعی[۲]، محمد علی نعمت‌الهی[۳]، کامران رضایی توابع[۴]

تاریخ دریافت: تیر ۹۶ تاریخ پذیرش: آبان ۹۶

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر سطوح مختلف آستاگزانتین مصنوعی روی کارایی تولیدمثلی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) انجام شد. در این پژوهش ۲۴ قطعه مولد با نسبت جنسی ۱:۳ ماده به نر در سه تیمار و دو تکرار استفاده شد. جیره‌های غذایی حاوی ۰ (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین بر کیلوگرم جیره به عنوان تیمارهای آزمایشی در نظر گرفته شدند. مولدین در طی یک دوره ۴۵ روزه به میزان دو درصد وزن بیومس غذادهی شدند. اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید کل با روش اسپکتوفوتومتری انجام شد. محتوای کاروتنوئیدی، تعداد تخم در هر گرم، قطر تخم‌ها، و تعداد لاروها پس از رهاسازی به عنوان شاخص‌های کارایی تولیدمثلی مولدین و شاخص‌های تکوین لاروی (LSI) و طول لاروها به منظور ارزیابی کیفیت لاروها در نظر گرفته شدند. نتایج نشان دادند با افزودن آستاگزانتین مصنوعی به جیره غذایی مولدین در هر دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش معنی‌داری در تعداد تخم در هر گرم و تعداد لاروهای رها شده ایجاد شد ($P<۰/۰۵$). همچنین افزایش معنی‌دار تجمع کاروتنوئید، قطر تخم‌ها، شاخص تکوین لاروی (LSI) و طول لاروهای رها شده مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج این مطالعه و مقرون به صرفه‌تر بودن، آستاگزانتین در سطح ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به منظور بهبود عملکرد تولیدمثلی میگوی بزرگ آب شیرین پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: *آستاگزانتین، میگوی بزرگ آب شیرین، Macrobrachium rosenbergii، LSI، کارایی تولید مثلی.*

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲- استاد گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۳- دانشیار گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴- استادیار گروه مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
* نویسنده مسئول: ghasemrashidiyan@gmail.com

مقدمه

سهم تولید آبزیان خوراکی از بخش پرورش در آب‌های داخلی از ۵۰ درصد در ۱۹۸۰ به ۶۳ درصد در سال ۲۰۱۲ رسیده است (FAO, 2014). در خلال چند دهه اخیر آبزی‌پروری به ویژه به دلیل ثابت بودن منابع صید و پتانسیل پایین ذخایر و همچنین به دلیل افزایش جمعیت و افزایش مصرف آبزیان، که در ۵۰ سال گذشته دو برابر شده است، رشد قابل توجهی داشته است. علاوه بر عوامل فوق، آبزی‌پروری از نقطه نظر تامین محصولات غذایی ایمن، مغذی و با کیفیت بالا برای مصرف کنندگان توسعه یافته است (FAO, 2016). میگوی بزرگ آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii* که پراکندگی وسیعی در حوزه Indo-Pacific دارد، گونه‌ای مناسب برای پرورش در مناطق استوایی و نیمه استوایی جهان است (New, 2002, 2005). میگوی بزرگ آب شیرین در سراسر جهان دارای اهمیت تجاری است که عمده دلیل شهرت آن رشد سریع، مقاومت در برابر تغییرات شوری، دلپذیری، امکان پرورش با سایر گونه‌ها در سیستم پرورش چندگونه‌ای به همراه ماهیان آب شیرین مثل تیلاپیا و کپور و همچنین امکان جایگزین شدن را با سایر میگوهای پرورشی آب شور که به دلیل بیماری پرورش آن‌ها با مشکل عمده مواجه است، دارد (Kutty, 2005; New, 2005). گونه *Macrobrachium rosenbergii* یک گونه تجاری مهم از نظر مصرف منطقه‌ای و همچنین به عنوان یک گونه با ارزش صادراتی در کشورهای جنوب شرقی آسیا، کشورهای جنوب اقیانوس آرام و جزایر غربی آن و شمال اقیانوسیه محسوب می‌شود. پرورش و تولید سخت‌پوستانی مثل *M. rosenbergii* در سال‌های اخیر درحال افزایش است.

در ایران میزان تولید میگوی آب شیرین و شاه میگو بر اساس سالنامه آماری سازمان شیلات ایران در سال ۱۳۹۲ معادل ۲۶۳ تن بوده است (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳). در نتیجه برای در اختیار داشتن چنین توان تولیدی، به وجود منبع مناسب و با کیفیتی از لاروها نیاز است. عمده منبع تامین تخم میگوی *M. rosenbergii* از سالن‌های تفریخ تخم‌ها به دست می‌آید. با این حال در مقیاس بزرگ پرورش تجاری این گونه، محدودیت اساسی در تامین تخم با کیفیت به میزان کافی، در تمام مناطق وجود دارد. اصلی‌ترین مانع گسترش پرورش

M. rosenbergii قابلیت دسترسی محدود به تخم‌های سالم و با کیفیت بالا و از سوی دیگر عامل اصلی ممانعت از گسترش هر چه بیشتر سالن‌های تفریخ تخم‌ها، کیفیت تخم‌های تولیدی از مولدین پرورشی و کاهش شدید در میزان تولید ناشی از مرگ و میر توده‌ای است. این مشکلات می‌تواند ناشی از کیفیت مولدین، مشکلات مربوط به پرورش لارو و یا مشکلات ناشی از بیماری باشد. شرایط نگهداری و تغذیه مولدین می‌تواند بر روی کیفیت لاروها و همچنین در مراحل بالاتر و پست‌لاروی موثر باشد.

نقش کاروتنوئیدها به عنوان جزئی از ویتلوژنین در افزایش کارایی بلوغ، کارایی تولیدمثلی و کیفیت تولید لاروها شناخته شده است (Harrison, 1990). یکی از مهم‌ترین رنگدانه‌هایی که در جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود، آستاگزانتین است که علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضدسرطانی، برای سلامت انسان مضر نیست و اتحادیه اروپا و سازمان بهداشت ایالت متحده امریکا اجازه استفاده از این رنگدانه را در غذای جانوران داده‌اند (Scheidt, 1990).

با توجه به این که آبزیان نمی‌توانند رنگدانه‌های خود را تولید کنند، در شرایط طبیعی این رنگدانه‌ها را از طریق گیاهان، جلبک‌ها و میکروارگانیسم‌هایی که این رنگدانه‌ها را تولید می‌کنند به دست می‌آورند (Johnson and An 1991). بیشتر آبزیان قادر به تولید کاروتنوئیدهای مورد نیاز خود نیستند و سخت‌پوستان نیز توانایی محدودی در تبدیل سایر رنگدانه‌ها به آستاگزانتین دارند، بنابراین بهتر است که این رنگدانه به طور مستقیم در جیره غذایی آبزیان وارد شود (Meyers, 1977; Guerin et al., 2003). عملکرد شناخته شده و مورد انتظار آستاگزانتین در موجودات آبزی شامل بهبود فعالیت پیش‌سازی ویتامین A، عملکردهای آنتی‌اکسیدانتی، بهبود تکامل جنینی و لاروی، محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های نوری، ارتقای رشد و رسیدگی جنسی و ذخیره اکسیژن در زنجیره خود که می‌تواند منبع اکسیژن در شرایط کمبود اکسیژن باشد (Torrissen, 1990). پیشنهاد شده است که در ماهی آزاد چام (*Oncorhynchus keta*)، در طی مهاجرت تخم‌ریزی، وتیلوژنین در انتقال کاروتنوئیدها، که عمدتا از نوع آستاگزانتین است، از عضلات به تخمدان نقش دارد (Lubzens et al., 2003). آستاگزانتین نهایی‌ترین محصول متابولیسم کاروتنوئیدها در

سخت‌پوستان و رنگدانه اولیه برای تولید رنگ در میگوهای بالغ *Penaeus japonicus* است (Katayama et al., 1971).

اصلی‌ترین معضل پرورش *M. rosenbergii* در مقیاس بزرگ عدم وجود مقادیر کافی تخم و لارو با کیفیت مناسب در تمامی مناطق است. سالن‌های تفریخ تخم‌ها به دلیل محدودیت‌هایی قادر به تولید میزان ظرفیت اسمی خود نیستند همچنین دسترسی به تخم‌های سالم و لاروهای با کیفیت بالا همواره مانع اصلی بر سر راه توسعه پرورش گونه *M. rosenbergii* است. با توجه به خلا پژوهشی موجود در مورد این گونه و نظر به اهمیت پرورشی آن و در راستای فراهم کردن منبع مطمئن تخم و لارو با کیفیت برای حمایت از پرورش گونه *M. rosenbergii*، بررسی اثر مواد مغذی مهمی مثل کاروتنوئیدها با داشتن اثر احتمالی روی بهبود کارایی تولیدمثلی برخی گونه‌ها، انجام این پژوهش ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

مولدین

مولدین میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) در تابستان ۱۳۹۴ از مرکز تکثیر و پرورش میگوی کرمانشاه تهیه و به وسیله تانکر مخصوص حمل و نقل آبزیان به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان گروه شیلات منتقل شد. مولدین در طی این دوره در مخازن ۳۰۰ لیتری و تراکم ۸ عدد در هر مخزن با دمای ۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد و غذادهی با جیره تجاری قزل‌آلا (بهپرور، ایران) نگهداری شدند. تمام ماده‌ها بالغ بودند و نرها یا در شرایط چنگال‌های آبی‌رنگ و یا نارنجی (نشانه بزرگ بودن اندازه نرها) قرار داشتند (Cohen et al., 1981). دو مولد نر و شش مولد ماده با نسبت جنسی ۱:۳ در هر تیمار ذخیره‌سازی شدند (Verghese et al., 1992). برای ایجاد پناهگاه از گلدان‌های شکسته و لوله پولیکا بریده شده استفاده شد.

طول کل مولدین نر و ماده به وسیله تخته زیست‌سنجی و وزن آن‌ها توسط ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. وزن مولدین نر و ماده به ترتیب ۳/۳۸±۸۰/۱۸ و ۲/۷۲±۳۱/۹ گرم و طول کل مولدین نر و ماده به ترتیب ۰/۳۳±۱۶/۹۸ و ۰/۲۳± ۱۴/۲۳سانتی‌متر بود.

آماده‌سازی جیره‌های غذایی

جیره تجاری قزل‌آلا بدون افزودن هیچ‌گونه رنگدانه مصنوعی به عنوان تیمار شاهد در نظر

گرفته شد. برای تهیه کردن سایر تیمارها از جیره شاهد به عنوان جیره پایه استفاده شد و به آن آستاگزانتین مصنوعی Chlorophyll Pink 10% (Merck، آلمان) در سه سطح ۰ (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم جیره پایه اضافه شد. به این ترتیب، طبق جدول ۱ سه تیمار با دو تکرار تهیه شد.

میزان غذای لازم برای تیمارها هر دو هفته در طی ۴۵ روز دوره نگهداری، پس از توزین مولدین و بر اساس نرخ غذادهی ٪۲ وزن بدن در روز محاسبه شد (New, 2002).

آماده‌سازی محلول رنگدانه

مقدار آستاگزانتین بر اساس میزان مورد نظر، توزین و در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر با کمک گرم کردن و هم زدن محلول توسط دستگاه هیتر مگنت دار حل شد. محلول مورد نظر پس از پخش کردن غذا در یک سطح تمیز در یک لایه، روی آن اسپری شد (شکل ۱).

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی

تیمار	ترکیب جیره
تیمار ۱ (شاهد)	جیره پایه فاقد آستاگزانتین
تیمار ۲	جیره پایه + ۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین مصنوعی در هر کیلوگرم
تیمار۳	جیره پایه + ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین مصنوعی در هر کیلوگرم

شکل ۱: الف) آماده‌سازی محلول رنگدانه. ب) اسپری محلول رنگدانهروی غذا

قطر تخم‌ها

به منظور اندازه‌گیری قطر تخم‌ها بر حسب میلی‌متر از نرم‌افزار ImageJ استفاده شد. به این صورت که از هر نمونه ۱۰ عدد تخم به صورت تصادفی انتخاب و میانگین آن‌ها به عنوان قطر تخم تیمار در نظر گرفته شد.

محتوای کاروتنوئیدی

اندازه‌گیری کاروتنوئید تخم‌ها طبق روش Teimouri (۲۰۱۳) با اندکی تغییرات انجام شد. برای اندازه‌گیری کاروتنوئید از کلاف تخم مولدین، یک روز پس از مشاهده مولدین حامل تخم نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر استون (٪۹۸) به همراه ۲-۱ گرم سدیم سولفات بی‌آب هموژن و با دور ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (بهسان، ایران) شد. میزان جذب فاز مایع در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (6305، Jenway، انگلستان) اندازه‌گیری و از ضریب خاموشی ۲۵۰۰ برای محاسبه میزان کاروتنوئید کل استفاده شد. در انتها میزان کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن نمونه از رابطه ۱ به دست آمد (Oliveira et al., 2010).

رابطه ۱:

$$C = (10000 \times 10 \times A_S) / (W_S \times 2500)$$

C: غلظت کاروتنوئید؛ AS: میزان جذب نمونه در مقابل شاهد استون؛ WS: وزن نمونه (گرم).

میزان رنگدانه کاروتنوئیدی مصرفی

میزان رنگدانه مصرف شده در طی دوره انکوباسیون از محتوای کل کاروتنوئیدی تخم‌ها طبق رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه ۲:

$$P_U = P_1 - P_2$$

P_U: میزان رنگدانه کاروتنوئیدی مصرفی. P_1: میزان رنگدانه روز اول. P_2: میزان رنگدانه ۳-۲ روز قبل از رهاسازی لاروها.

هماوری نسبی

به دلیل حفظ کلاف تخم برای بررسی لاروها پس از تفریخ، از شاخص تعداد تخم در هر گرم به عنوان هماوری نسبی استفاده شد. برای این منظور از هر کلاف ۰/۳ گرم نمونه برداشته شد و میانگین سه مرتبه شمارش و ثبت شد.

هماوری کل

برای اندازه‌گیری هماوری کل، تعداد کل لاروهای آزاد شده از هر مولد به صورت چشمی

و تقریبی در سه مرتبه در ۱۰۰ میلی‌لیتر شمارش و میانگین به عنوان تعداد کل در واحد حجم مخازن محاسبه شد.

شاخص مرحله رشد لارو

شاخص رشد لارو یا LSI (Larval Stage Index) که یکی از شاخص‌های مهم در بررسی رشد لاروی سخت‌پوستان است بر اساس دستور العمل Uno و Kwon (۱۹۶۹) انجام شد. در این روش، در روز ۵ لاروی از هر تیمار حداقل ۳۰ قطعه لارو انتخاب شدند و شاخص رشد لاروی طبق رابطه ۳ محاسبه شد.

رابطه ۳:

$$LSI = \Sigma S_i / N$$

S_i: مرحله رشد لارو؛ N: تعداد لاروهای نمونه‌برداری شده.

طول لاروها

اندازه طولی لاروها با استفاده از نرم‌افزار ImageJ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به این ترتیب که از هر تیمار ۳۰ عدد لارو به طور تصادفی در روز اول لاروی نمونه‌برداری و مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها پس از کنترل نرمال بودن توزیع آن‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد (برای مقایسه میانگین‌ها) توسط نرم‌افزار SPSS 20 انجام شد. برای داده‌های غیرنرمال نیز از آزمون کروسکال والیس استفاده شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند.

نتایج

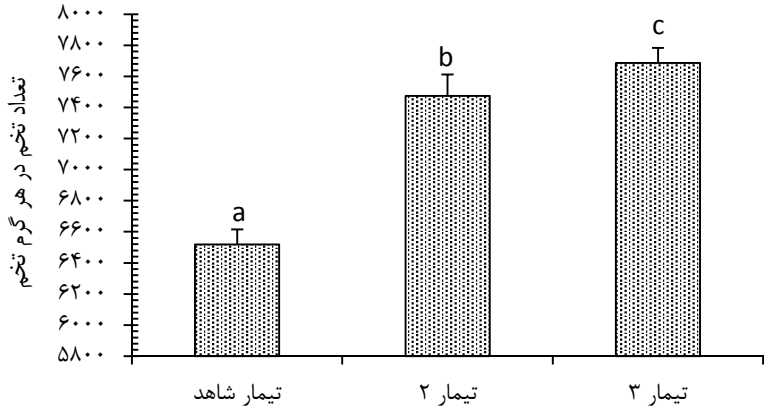
هماوری نسبی

نتایج حاصل از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری را در هماوری مولدین میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بین تیمارهای مختلف نشان داد ($P<0/05$؛ شکل ۲).

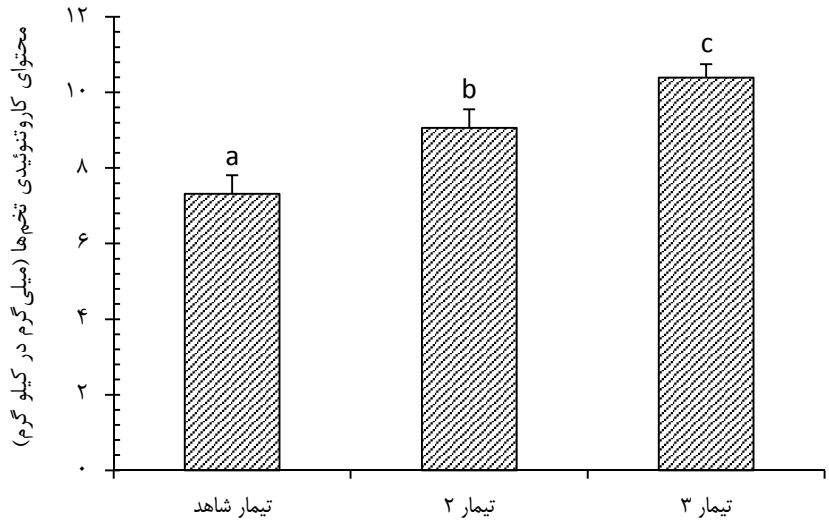
محتوای کاروتنوئیدی تخم‌ها

بررسی میزان کاروتنوئید تخم‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که افزایش سطح آستاگزانتین جیره موجب افزایش

معنی‌داری در میزان کل رنگدانه‌های کاروتنوئیدی تخم‌ها شد (شکل ۳) و تیمار ۳ بیشترین میزان رنگدانه کاروتنوئیدی را داشت (P<۰/۰۵).



شکل ۲: میزان هماوری نسبی اندازه‌گیری شده بر مبنای تعداد تخم در هر گرم تخم در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



شکل ۳: میزان کل رنگدانه کاروتنوئیدی موجود در تخم‌ها در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

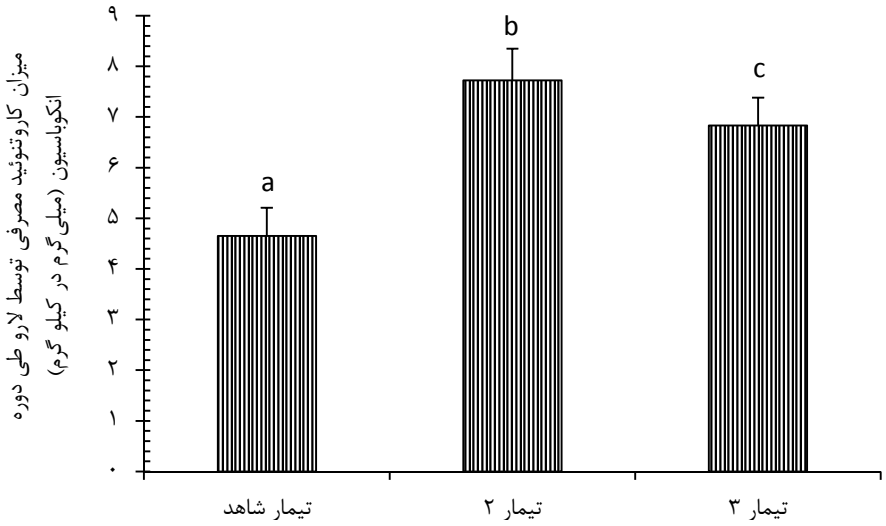
نتایج نشان داد که مولدین کاروتنوئید سطح ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم را با کارایی بیشتری جذب و مصرف کردند (P<۰/۰۵؛ شکل ۴).

قطر تخم‌ها

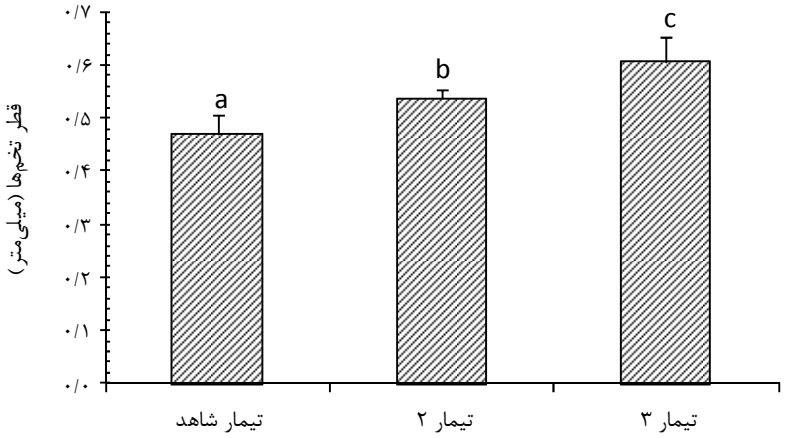
آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری قطر تخم‌ها، وجود تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵؛ شکل ۵). بزگترین قطر تخمک ثبت شده متعلق به تیمار ۳ و حدود ۶۵۰ میکرون بود. این میزان بسیار نزدیک به قطر تخم‌ها در شرایط تغذیه طبیعی است.

شاخص‌های کیفی لارو

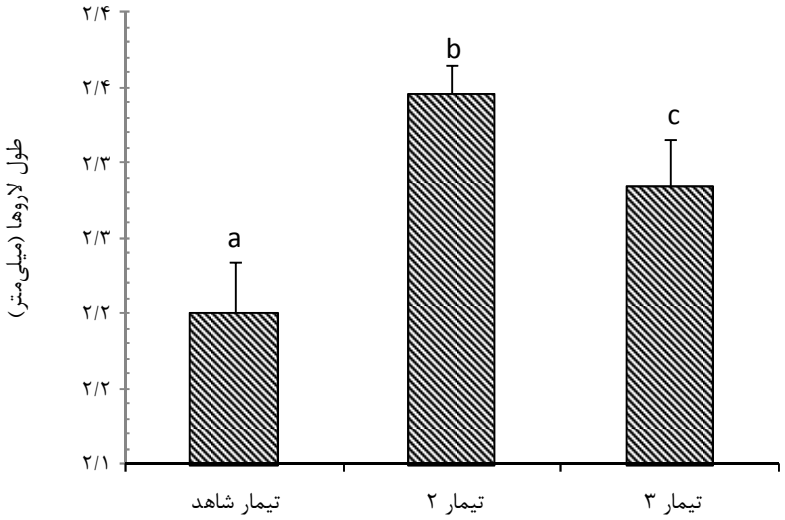
با توجه به غیرنرمال بودن داده‌های طول لاروها، برای بررسی آن‌ها از آزمون کروسکال والیس استفاده شد که تفاوت معنی‌داری بین طول لاروها در تیمارهای آزمایشی مختلف مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۴: میزان کاروتنوئید مصرفی طی دوره انکوباسیون در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجوداختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



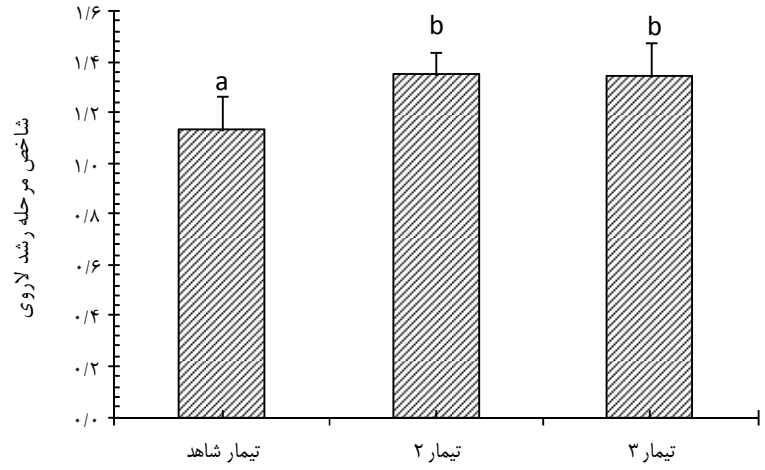
شکل ۵: قطر تخم‌ها در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



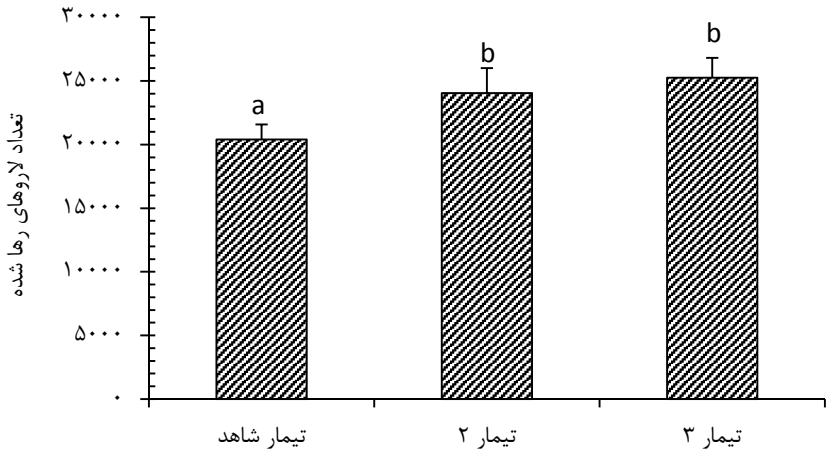
شکل ۶: طول لاروها در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

همچنین آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های مربوط به شاخص مرحله رشد لاروی (LSI)، اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایشی با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵؛

شکل ۷). در ارتباط با تعداد لاروهای تولید شده در هر تیمار، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵؛ شکل ۸).



شکل ۷: شاخص مرحله رشد لاروی LSI در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).



شکل ۸: هماوری کل بر اساس تعداد لاروهای رها شده بلافاصله پس از رهاسازی در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). حروف نامشابه روی ستون‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P<۰/۰۵).

بحث

مطالعه تاثیر جیره‌های غذایی مولدین بر شاخص‌های تولیدمثلی آبزیان در سال‌های اخیر مورد توجه واقع شده است (New et al., 2009). برخی مطالعات، نیازمندی تغذیه‌ای به لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و کاروتنوئیدها را در تولیدمثل میگوها نشان داده‌اند (Harrison, 1990; Wouters et al., 2001).

کاروتنوئیدها می‌توانند همچون ویتامین A، تاثیرات زیستی از جمله بهبود سیستم ایمنی و یا آنتی‌اکسیدانی (محافظت از لیپیدها در برابر اکسید شدن) داشته باشند. در واقع نیازمندی غذایی به آنتی‌اکسیدان‌ها در زمان تولیدمثل افزایش می‌یابد (Kalinowski et al., 2005) که به نظر می‌رسد این موضوع در ارتباط با حجم بالای اسیدهای چرب غیراشباع است. مواد مغذی اصلی و آنتی‌اکسیدان‌هایی همچون اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین E و C و کاروتنوئیدهایی مثل آستاگزانتین تاثیر مستقیم بروی کیفیت تخم مولدین دارند (Sawanboonchun et al., 2008). در ارتباط با میزان کل رنگدانه کاروتنوئیدی تخم‌ها، افزایش میزان آستاگزانتین جیره منجر به افزایش محتوای کاروتنوئیدی تخم‌ها شد. در بررسی‌های انجام شده رنگدانه آستاگزانتین به همراه مقادیر جزئی از سایر کاروتنوئیدها، به عنوان رنگدانه اصلی در میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) مشخص شده است (Scheidt 1990; Howell and Matthews 1991). افزایش میزان رنگدانه تخم‌ها همزمان با افزایش سطح رنگدانه جیره، مشابه نتایج به دست آمده از پژوهش انجام شده توسط Ahmadi و همکاران (۲۰۰۶) است، که با به کارگیری جیره‌های حاوی سطوح مختلف آستاگزانتین از ۱۲/۴۶ تا ۹۲/۹۱ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، مولدین تخم‌هایی با محتوای کاروتنوئیدی ۲/۰۳ تا ۲۹/۷۹ میلی‌گرم در کیلوگرم تولید کردند. افزودن پاپریکا یا فلفل قرمز به عنوان منبع ارزان‌قیمت کاروتنوئید به جیره غذایی مولدین نیز موجب افزایش زنده‌مانی تا مرحله زوآ (Zoa) و افزایش میزان کاروتنوئید موجود در تخم‌ها نیز شد (Wyban et al., 1997). به نظر می‌رسد که نقش محافظتی کاروتنوئیدها از چربی‌های اشباع نشده بلند زنجیره (HUFA) به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در برابر نور و مواد بیوشیمیایی می‌تواند نقشی تعیین کننده در نمو باشد (Wouters et al., 2001). اثر افزودن رنگدانه آستاگزانتین به جیره بر طول

لاروهای تفریخ شده در روز اول معنی‌دار بود. یکی از دلایل احتمالی در این باره می‌تواند این امر باشد که کاروتنوئید موجود در جیره غذایی پس از مصرف توسط موجود آبزی در کبد و هپاتوپانکراس سخت‌پوستان تجمع پیدا می‌کند که در طی اخرین مراحل بلوغ به تخمدان منتقل می‌شوند (Paibulkichakul et al., 2008). بسیاری از پژوهشگران معتقد هستند که کاروتنوئیدها نقش حذف کردن رادیکال‌های اکسیژن را در طی رشد و نمو لاروی بر عهده دارند. این عملکرد تخم‌ها را در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. گذشته از آن کاروتنوئیدها می‌توانند تخم‌ها را در برابر نور شدید در طی دوران انکوباسیون محافظت کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که کاروتنوئیدهای تخم عملکردهای مختلفی در طی دوران رشد و نمو جنینی دارند و می‌توانند تخم‌ها را با حذف مواد زائد سالم نگه دارند (Paibulkichakul et al., 2008). فرآیند مشابهی در آزادماهیان (Bjerkeng et al., 2003) میگوها (Linan-Cabello et al., 2004, Paibulkichakul et al., 2008) و ماهی قرمز (Del Tito, 1988) مشاهده شد. همچنین Wyban و همکاران (۱۹۹۷) دلیل کاهش کیفیت لاروها را در تولیدمثل‌های مکرر، کاهش در میزان رنگدانه تخم پیشنهاد کردند. در مطالعه‌ای مشابه وابستگی بین پایین بودن میزان کاروتنوئید تخم‌ها و لاروهای به دست آمده از مولدینی که زمان بیشتری را در مخازن بلوغ سپری کرده بودند، با پایین بودن کیفیت لاروها به اثبات رسید (Palacios et al., 1999). به علاوه با مشاهده افزایش زنده‌مانی لاروهای حاصل از تخم‌های با محتوای بیشتر کاروتنوئید پیشنهاد می‌کند که هر دو سطح کاروتنوئید و سطح لیپید می‌توانند به عنوان سنجه‌های نهایی و پیشگویی کننده مورد استفاده قرار گیرند. (Palacios et al., 1999). در باره عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین طول لاروها و میزان کاروتنوئید مصرف شده می‌توان بیان کرد که اگرچه طول لاروها نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود، در تیمار ۲ کاهش مدت زمان لازم برای تفریخ تخم‌ها مشاهده شد به شکلی که در تیمار ۲ لاروها سه تا پنج روز زودتر رهاسازی شدند. افزایش میزان هماوری نسبی مولدین (تعداد تخم در هر گرم نسبت به وزن مولدین) با افزایش سطح رنگدانه جیره مشاهده شد. در این باره مشخص شد که اثر آستاگزانتین جیره بر نرخ باروری، درصد تفریخ تخم‌های چشم زده و تلفات تخم‌های چشم زده در بین تیمارها معنی‌دار بوده است

(Ahmadi et al., 2006) (P<۰/۰۵). هماوری آبزیان موضوع جالبی برای پژوهش‌های اخیر است (Khara et al., 2012; Mousavi-Sabet et al., 2012). همچنین مطالعات بسیاری بر روی عملکرد کاروتنوئیدها در موجودات آبزی و گیاهان انجام شده است. (Turner, 2011; Mandal et Mustafa and al., 2012; Pingret et al., 2012; Black et al., 2013; Briers et al., 2013). میزان محتوای کاروتنوئیدی به ویژه آستاگزانتین از مرحله تخم تا زوآ بر اثر کاتابولیسم یا اکسیداسیون در طی این دوره کاهش می‌یابد (Dall, 1995). در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار در قطر تخم‌ها ناشی از تجمع رنگدانه در تخمک‌ها مشاهده شد که مشابه با نتایج حاصل از پژوهش بر روی ماهی قرمز است (Tizkar et al., 2013). قطر تخم و تعداد تخم‌های لقاح یافته در هرگرم در ماهی‌های تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (P≤۰/۰۵) و در این تیمار تخم‌ها در طول دوره انکوباسیون زنده‌مانی بیشتری را نشان دادند (Tizkar et al., 2013).

Paibulkichakul و همکاران (۲۰۰۸) با به کارگیری ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در کیلوگرم در ترکیب با غلظت‌های ۳ و ۸ درصد روغن ماهی در جیره غذایی مولدین میگوی ببری سیاه، موجب افزایش تعداد تخم به عنوان شاخص کارایی تولیدمثلی در هر دو سطح آستاگزانتین و روغن ماهی شد. در این میگو افزایش غلظت آستاگزانتین منجر به افزایش غلظت آستاگزانتین در بافت‌های هپاتوپانکراس، تخمدان و عضلات شد، اما میزان آن در پوسته تحت تاثیر قرار نگرفت. همچنین نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که غلظت آستاگزانتین در هپاتوپانکراس ماده‌ها نسبت به نرها بیشتر بود. به علاوه غلظت ۲۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره توانست در بهبود رسیدگی جنسی و موفقیت تخم‌ریزی مولدین میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) تاثیر مثبت داشته باشد (Paibulkichakul et al., 2008). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح آستاگزانتین در جیره، کارایی تولیدمثلی به عنوان تعداد تخم در هر گرم تخم به ازای وزن بدن مولدین افزایش یافت و سطح ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین غلظت مناسبی برای بهبود شاخص‌های تولیدمثلی و ارتقای کیفیت تخم و لاروهای تولیدی از مولدین پرورشی شد. در این زمینه بهبود کارایی تولیدمثلی میگوی ببری سیاه در

غلظت‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین شده است (Paibulkichakul et al., 2008).

همچنین افزایش غلظت آستاگزانتین در جیره موجب افزایش غلظت آن در بافت‌های عضلات و تخمدان‌ها می‌شود، در این باره پژوهشگران نقش آستاگزانتین را در رسیدگی تخمدان نشان داده‌اند (Menasveta et al., 1994; Sagi et al., 1996; Pangantihon-Kuhlmann et al., 1998; Ribeiro et al., 2001). در خلال فرآیند رسیدگی تخمدان آستاگزانتین از هپاتوپانکراس از طریق همولنف به سمت تخمدان‌ها به حرکت درمی‌آید و از طریق ویتلوژنین به تخم‌ها منتقل می‌شود (Nelson et al.,1988; Quinitio et al., 1989; Harrison, 1990). بنابراین مهم‌ترین نقش کاروتنوئید موجود در جیره غذایی مولدین و تاثیر آن بر کارایی تولیدمثلی می‌تواند فراهم کردن ذخایر ضروری برای جنین و پیش تغذیه جنین در حال رشد و تکامل چشم‌ها و کروماتوفورها باشد (Dall, 1995). بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر مشخص شد که به کارگیری جیره حاوی دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلو گرم جیره، بر شاخص‌های تولیدمثلی همچون تعداد تخم در هر گرم تخم، قطر تخم‌ها و طول کل لاروها در مقایسه با حالت شاهد معنی‌دار بود. نتایج حاصل از این پژوهش همچنین نشان داد که سطح ۵۰ میلی‌گرم آستاگزانتین در هر کیلوگرم جیره بهترین میزان برای بهبود کارایی تولیدمثلی گونه *M. rosenbergii* است.

جیره‌های غذایی حاوی رنگدانه مصنوعی آستاگزانتین توانست روی شاخص‌های کارایی تولیدمثلی همچون هماوری و کیفیت تخم‌ها و لاروهای رهاسازی شده اثر مثبت معنی‌داری داشته باشد. بهبود کیفیت تخم‌ها و کاهش طول دوره انکوباسیون می‌تواند در موفقیت کارگاه‌های تکثیر تاثیر چشمگیری داشته باشد. در نتیجه استفاده از منبع رنگدانه‌ای مصنوعی آستاگزانتین در سطح ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، با توجه به نتایج تقریبا مشابه و به علت مقرون به صرفه‌تر بودن به عنوان غلظت مناسب برای بهبود کارایی تولیدمثلی میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) توصیه می‌شود.

منابع

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران ۱۳۹۳. انتشارات سازمان شیلات ایران، دفتر برنامه و بودجه، گروه آمار و مطالعات توسعه شیلاتی. ۶۴ص.

FAO. 2014. The state of food insecurity in the world 2014: Strengthening the enabling environment for food security and nutrition. Food and Agriculture Organization, Rome. 57P.

Ahmadi M.R., Bazyar A.A., Safi S., Ytrestoyl T. and Bjerkeng B. 2006. Effects of dietary astaxanthin supplementation on reproductive characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyology, 22(5): 388–394.

Oliveira A.R.G., De Carvalho L.M.J., Nutti M.R., De Carvalho J.L.V. and Wania G.F. 2010. Assessment and degradation study of total carotenoid and ß-carotene in bitter yellow cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. African Journal of Food Science 4:148–155.

Del Tito Jr.B.J. 1988. Role of beta-carotene and lutein in the synthesis of vitamin A in goldfish. The Progressive Fish Culturist, 45: 94–97.

Bjerkeng B., Storebakken T. and LiaaenJensen S. 2003. Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. Aquaculture, 108: 333–346.

Black C.A., Scott R.J. and Bernards M.A. 2013. Seasonal changes in carotenoid and lipid storage by threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. Environmental Biology of Fishes, 1–6.

Briers R.A., Waterman J.O., Galt K. and Campbell R.N. 2013. Population differentiation and temporal changes of carotenoid pigments and stable isotope ratios in the offspring of anadromous and non-anadromous trout (*Salmo trutta*). Ecology of Freshwater Fish, 22(1): 137–144.

Cohen D., Ra'anan Z. and Brody T. 1981. Population profile development and morphotypic differentiation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Journal of the World Mariculture Society, 12: 231–243.

Dall W. 1995. Carotenoid versus retinoids (Vitamin A) as essential growth factors in penaeid prawns (*Penaeus semisulcatus*). Marine Biology, 124: 213–209.

Johnson E.A. and An G.H. 1991. Astaxanthin from Microbial

Sources, Critical Reviews in Biotechnology, 11(4): 297–326.

FAO. 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Food and Agriculture Organization, Rome. 190P.

Guerin M., Huntley M.E. and Olaizola M. 2003. Haematococcus astaxanthin: Applications for human health and nutrition. Trends in Biotechnology, 21(5): 210–216.

Harrison K.E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: A review. Journal of Shellfish Research, 9: 1–28.

Howell B.K. and Matthews A.D. 1991. The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricus). Comparative Biochemistry and Physiology B, 98(2-3): 375–379.

Kalinowski C.T., Robaina L.E., Fernandez-Palacios H., Schuchardt D. and Izquierdo M.S. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. Aquaculture, 244(1-4): 223–231.

Katayama T., Tsuchiya H. and Chichester C.O. 1971. Mechanism of the interconversion of plant carotenoids into fish carotenoids. Proceedings of the 7th International Seaweed Symposium, Sapporo. P: 598–601.

Khara H., Alijanpour N., Fallah Shamsi S.Z., Sattari M., Amiri K., Rahbar M., and Ahmadnezhad M. 2012. Effects of water temperature and migration time on some fecundity indices and fertilization rate of female Kutum, *Rutilus frisii kutum*, migratory to Shiroud River in the southwest Caspian Sea. Caspian Journal of Environmental Sciences, 10: 9–14.

Kutty M.N. 2005. Towards sustainable freshwater prawn aquaculture-Lessons from shrimp farming, with special reference to India. Aquaculture Research, 36: 255–263.

Linan-Cabello M.A., Medina-Zendejas R., Sanchez-Barajas M. and Herrera A.M. 2004. Effects of carotenoids and retinol in oocyte maturation of crayfish *Cherax quadrucarinatus*. Aquaculture Research, 35: 905–911.

Lubzens E., Lissauer L., Levavi-Sivan B., Avarre J.C. and Sammar M. 2003. Carotenoid and retinoid transport to fish oocytes and eggs: What is the role of retinol binding protein? Molecular Aspects of Medicine, 24(6): 441–457.

Mandal B., Mukherjee A., Sarkar S. and Banerjee S. 2012. Study

on the ornamental fin fish of Indian Sundarbans with special reference to few floral sources for carotenoid pigmentation. World, 4(6): 566–576.

Menasveta P., Choosuwap J., Piyatiratitivorakul S., Fast A. and Latscha T. 1994. Effect of dietary astaxanthin on gonadal maturation and spawning of giant tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius). P: 713–716. In: Chou L.M., Munro A.D., Lam T.J., Chen T.W., Cheong L.K., Hooi K.W., Phang V.P.E. and Tan C.H. (Eds.). The Third Asian Fisheries Forum.

Meyers S.P. 1977. Using crustacean meals and carotenoid fortified diets. Feedstuffs, 38: 26–27.

Mousavi-Sabet H., Kamali A., Soltani M., Bani A. and Rostami H. 2012. Age, sex ratio, spawning season, gonadosomatic index, and fecundity of *Cobitis faridpaki* (Actinopterygii, Cobitidae) from the Siahrud River in the south-eastern Caspian Sea basin. Caspian Journal of Environmental Sciences, 10: 15–23.

Mustafa A. and Turner C. 2011. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. Analytica Chimica Acta, 703(1): 8–18.

Nelson K., Heyer B., Johnson E., Hedgecock D. and Chang E.S. 1988. Photoperiod-induced changes in hemolymph vitellogenins in female lobsters (*Homarus americanus*). Comparative Biochemistry and Physiology B, 90(4): 809–821.

New M.B. 2002. Farming freshwater prawns. A manual for the culture of the giantriver prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper No. 428. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 212P.

New M.B. 2005. Freshwater prawn farming: Global status, recent research and glance at the future. Aquaculture Research, 36: 210–230.

New M.B., Valenti W.C., Tidwell J.H., D'Abramo L.R. and Kutty M.N. 2009. Freshwater Prawns: Biology and Farming. Wiley-Blackwell, USA. 544P.

Paibulkichakul C., Piyatiratitivorakul P., Sorgeloos P. and Menasveta P. 2008. Improved maturation of pond-reared, black tiger shrimp *Penaeus monodon*. Using fish oil and Astaxanthin feed supplements. Aquaculture, 282: 83–89.

Palacios E., Racolta I.S. and de La Paz A. 1999. Spawning frequency analysis of wild and pond-reared Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* broodstock under large-scale hatchery conditions. Journal of the World Aquaculture Society, 30(2): 180–191.

Pangantihon-Kuhlmann M.P., Millamena O. and Chern Y. 1998. Effect of dietary astaxanthin and vitamin A on the reproductive performance of *Penaeus monodon* broodstock. Aquatic Living Resources, 11(6): 403–409.

Pingret D., Fabiano-Tixier A.S. and Chemat F. 2012. Accelerated methods for sample preparation in food. Comprehensive Sampling and Sample Preparation Analytical Techniques for Scientists, 4: 441–455.

Quinitio E.T., Hara A., Yamauchi K., Mizushima T. and Fuji A. 1989. Identification and characterization of vitellin in a hermophrodite shrimp, *Pandalus kessleri*. Comparative Biochemistry and Physiology B, 94(3): 445–451.

Ribeiro E.A., Genofre G.C. and McNamara J.C. 2001. Identification and quantification of carotenoid pigments during the embryonic development of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Crustacea, Decapoda). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 34(2): 105–116.

Sagi A., Shoukrun R., Khalaila I. and Rise M. 1996. Gonad maturation, morphological and physiological changes during the first reproductive cycle of the crayfish *Cherax quadricarinatus* female. Invertebrate Reproduction and Development, 29(3): 235–242.

Sawanboonchun J., Roy W.J., Robertson D.A. and Bell J.G. 2008. The impact of dietary supplementation with astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock (*Gadus morhua*, L.). Aquaculture, 283(1-4): 97–101P.

Scheidt K. 1990. New aspects of carotenoid metabolism in animals P: 247–268. In: Krinsky N.I., Matthews-Roth M.M. and Taylor R.F. (Eds.). Carotenoids: chemistry and biology. Plenum Press, USA.

Tizkar B., Soudagar M., Bahmani M., Hosseini S.A. and Chamani M. 2013. The effects of dietary supplementation of astaxanthin and B-caroten on the reproductive performance and egg quality of female goldfish (*Carassius auratus*). Caspian Journal of Environmental Sciences, 11(2): 217–231.

Torrissen O.J. 1990. Biological activities of carotenoids in fishes. The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture. Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish, Japan. P: 387–399.

Uno Y. and Kwon C.S. 1969. Larval development of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) reared in the laboratory. Journal of the Tokyo University of Fisheries, 55: 179–190.

Wouters R., Lavens P., Nieto J. and Sorgeloos P. 2001. Penaeid shrimp brood stock nutrition: An updated review on research and development. Aquaculture, 202: 1–21.

Wyban J., Martinez G. and Sweeney J. 1997. Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplii quality. World Aquaculture, 28: 59–62.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 6, No. 2, Summer 2018

Effects of dietary supplementation of synthetic astaxanthin on reproductive performance of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)

Ghasem Rashidian[1]*, Gholam Reza Rafiee[2], Mohammad Ali Nematollahi[3], Kamran Rezaei Tavabe[4]

Received: July 2017 Accepted: November 2017

Abstract

The present study was carried out to investigate the dietary effects of different levels of synthetic astaxanthin on reproductive performance of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). 24 broodstock prawns were randomly distributed into 3 treatments considering male to female ratio as 1:3 in duplicates. Experimental diets were supplemented with an amount of 0 (as control), 50 and 100 mg.Kg^{-1} astaxanthin. Prawns were fed on experimental diets in a ratio of 2% biomass for a period of 45 days. Total carotenoid, number of eggs per gram, eggs diameter, hatching rate and number of larvae after hatching as broodstock reproductive performance indices while larval somatic index (LSI) and larval length were measured to assess larval quality. Results showed that diet supplementation with synthetic astaxanthin significantly affects the number of eggs and number of larvae after hatch ($P<0.05$). Also, a significant difference was observed in total carotenoid, eggs diameter, LSI and larval length ($P<0.05$). Thus, based on these results and being more cost-effective 50 mg.Kg^{-1} supplementation level is recommended to improve giant freshwater prawn reproductive performance.

Key words: *Astaxanthin, Giant Freshwater Prawn,* Macrobrachium rosenbergii*, LSI, Reproductive Performance.*

1- M.Sc. in Fisheries, Fisheries Department, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
2- Professor in Fisheries Department, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
3- Associate Professor in Fisheries Department, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
4- Assistant Professor in Fisheries Department, Natural Resources Faculty, University of Tehran, Karaj, Iran.
*Corresponding Author: ghasemrashidiyan@gmail.com