

## مقاله علمی - پژوهشی:

## تأثیر سطوح مختلف آستازانتین جیره غذایی بر شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده میگوی آب شیرین رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*)

محمد اتفاق دوست<sup>۱</sup>، حمید علاف نویریان<sup>۱\*</sup>، میرمسعود سجادی<sup>۱</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۱</sup>

\*navi@guilan.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران.

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۰

### چکیده

برای انجام تحقیق، ۲۲۵ قطعه میگوی آب شیرین رودخانه‌ای شرق (*Macrobrachium nipponense*) با میانگین وزنی  $0.05 \pm 1/40$  گرم به مدت ۸ هفته با پنج جیره غذایی فرموله شده، حاوی سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، در آکواریوم شیشه‌ای نگهداری گردیدند و مورد غذادهی قرار گرفتند. در پایان دوره پرورشی، پس از جمع‌آوری همولنف و همچنین نمونه‌برداری از بافت‌های روده، عضله و بخش پوسته، شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده در میگوها مورد مطالعه قرار گرفتند. شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف همچون اوره، ازت اوره، گلوکز، کراتینین و تری‌گلیسیرید با افزایش سطوح آستازانتین، کاهش یافتند درحالی‌که HDL و LDL به طور معنی‌داری افزایش پیدا نمودند ( $p < 0.05$ ). باین وجود، اوریک اسید، کلسیم، فسفر و کلسترول تحت تأثیر تیمارهای حاوی آستازانتین قرار نگرفتند ( $p > 0.05$ ). تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین، کمترین شمارش کل باکتری‌ها را از خود نشان دادند. باکتری‌های اسید لاکتیک روده نیز در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). محتوای کاروتنوئید کل میگوها با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش سطوح آستازانتین در جیره غذایی موجب بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده میگوی رودخانه‌ای شرق گردید و افزودن میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از این رنگدانه به جیره غذایی با هدف بهبود شاخص‌های مذکور در این میگو پیشنهاد می‌گردد.

**لغات کلیدی:** آستازانتین، کاروتنوئیدها، مکمل غذایی، متابولیسم، میگوی رودخانه‌ای شرق

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

جیره غذایی مطلوب و اختصاصی، از عوامل تأثیرگذار به منظور رشد بهینه، شاخص‌های ایمنی، ویژگی‌های ظاهری و مقابله با عوامل بیماری‌زا محسوب می‌گردد که در تولید محصولات با کیفیت و همچنین مقاوم‌تر ساختن آبزیان نسبت به شرایط متغیر پرورشی، مؤثر است (Jescovitch *et al.*, 2018). افزایش بهره‌وری تولید میگوها، علاوه بر فرمولاسیون جیره و مواد مغذی اصلی (پروتئین، چربی و کربوهیدرات)، به طور ویژه‌ای به مواد افزودنی جیره غذایی نیز بستگی دارد، زیرا جیره غذایی صرفاً مشتمل بر اجزاء اصلی آن، نمی‌تواند پاسخگوی تمامی احتیاجات غذایی میگوها به منظور رشد بهینه و عملکرد مطلوب بخش ایمنی باشد (Khatoun *et al.*, 2016; Flegel, 2019). یکی از مهم‌ترین افزودنی‌ها، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی به‌شمار می‌آیند که محلول در چربی هستند و در نهایت در بافت‌های مختلف آبزیان همانند پوست، عضله و ... تجمع می‌یابند و از این طریق علاوه بر اثرگذاری بر محتوای رنگ آبزیان، نقش قابل ملاحظه‌ای در رشد مطلوب و افزایش عملکرد ایمنی آنها دارند (Shahidi and Brown, 1998; de Carvalho and Caramujo, 2017). مهم‌ترین رنگدانه کاروتنوئیدی شناخته شده که کاربرد بسیار گسترده‌ای در صنعت آبزی‌پروری دارد، رنگدانه آستاگزانتین می‌باشد. این رنگدانه افزون بر نقش آن در تغییر رنگ آبزیان مختلف، به طور ویژه‌ای بر عملکردهای زیستی مهم آنها مؤثر است که از جمله این موارد می‌توان به پیش‌ساز برخی از ویتامین‌ها (ویتامین A)، ممانعت از اکسید شدن اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری، محافظت از اثرات منفی اشعه فرابنفش، نقش در بروز واکنش‌های ایمنی، بهبود عملکرد تولید مثلی و ... اشاره نمود. در نهایت، مجموعه ویژگی‌های این رنگدانه مهم که در حالت کلی به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولیدی ناشی از فعالیت طبیعی سلول‌ها و استرس‌های محیطی شناخته می‌شود، منجر به افزایش عملکرد رشد، تغذیه و ایمنی آبزیان می‌گردد که افزودن آن را به جیره غذایی را بسیار پر اهمیت می‌کند (Wade *et al.*, 2017b; Nakano

and Wiegertjes, 2020). از سوی دیگر، در مبحث آبزی‌پروری بالارفتن میزان تقاضا، ضرورت افزایش سطح تولید میگوهای پرورشی و نیز اهمیت بهبود کارایی و سودآوری آن موجب شد تا محققان و آبزی‌پروران فعال در این زمینه، شیوه‌های نوین آبزی‌پروری میگوها را مورد آزمون قرار دهند. از جمله آنها می‌توان به شناسایی و معرفی نمودن گونه‌های جدید و غیر بومی با قابلیت‌های مطلوب به این صنعت اشاره نمود. نتیجه این امر، وارد گردیدن تعدادی گونه مهم پرورشی آب شیرین از جمله میگوی آب شیرین رودخانه‌ای شرق ( *Macrobrachium nipponense* Briggs, 2005; Cocke *et al.*, 2017). فعالیت‌های مذکور با هدف‌گذاری سازمان شیلات ایران دارای همخوانی بوده که بر اساس آن بهره‌گیری از میگوهای مهم پرورشی به منظور تأمین منابع پروتئینی مورد نیاز در داخل کشور و حتی ارزآوری از طریق صادرات میگوها همواره مورد توجه بوده است که در این زمینه واردات گونه‌های جدید و غیر بومی مهم پرورشی همچون میگوهای آب شیرین به عنوان یکی از فعالیت‌های شیلات ایران انجام پذیرفت (Kalbassi *et al.*, 2013; Jouladeh-Roudbar *et al.*, 2017; Valipour *et al.*, 2017). میگوی رودخانه‌ای شرق و به طور کلی میگوهای جنس *Macrobrachium* از جمله آبزیان مهم اکوسیستم‌های دارای آب شیرین همچون تالاب‌ها، رودخانه‌ها و بخش‌های مصبی آن، در نواحی معتدله جهان محسوب می‌گردند (De Grave and Ghane, 2006). تولید مثل مناسب در محیط‌های محصور و طبیعی، قابلیت پرورش در استخرها، قفس‌ها، سیستم‌های متراکم و نیمه متراکم و نیز پرورش چند محصولی از جمله سایر ویژگی‌های آن می‌توان بر شمرد که بر اساس آن، میگوی رودخانه‌ای شرق از این توانایی برخوردار است که جایگاه سایر گونه‌ها را در صنعت آبزی‌پروری میگوها به‌دست آورد و آمار روند رو به رشد قابل ملاحظه میزان آبزی‌پروری آن از سال ۱۹۹۰ میلادی تا به امروز، بیانگر همین موضوع می‌باشد (Lavajoo *et al.*, 2019; FAO, 2020). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که این گونه از

*japonicus*) و Nguyen و همکاران (۲۰۲۰) بر میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) اشاره نمود. در نتیجه، با توجه به ویژگی‌های قابل توجهی که مرتبط با اهمیت آبی‌پروری میگوی رودخانه‌ای شرق و ویژگی‌های مثبت رنگدانه آستازانتین می‌باشد، می‌توان این میگو را به عنوان یک گونه جدید در صنعت آبی‌پروری کشور ایران معرفی نمود. از این رو، ضرورت ایجاد می‌نماید تا در ارتباط با افزودنی‌های جیره غذایی این گونه مطالعه بیشتری انجام گیرد تا بر اساس آن، فرمول تجاری اختصاصی و مطلوب با هدف آبی‌پروری آن تعیین گردد. به همین دلیل در مطالعه حاضر سعی شد به بررسی تأثیرات رنگدانه آستازانتین بر شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده میگوی رودخانه‌ای شرق به عنوان یک گونه برخوردار از پتانسیل بهینه اقتصادی و امکان پرورش در منابع مختلف آب شیرین کشور ایران پرداخته شود.

## مواد و روش کار

### تهیه میگو

نمونه‌های میگوی مورد پژوهش، به وسیله تله و نیز تور با محدوده وزن ۱/۵-۱ گرم و طول کل حدود ۵ سانتی‌متر از رودخانه سیاه درویشان (طول جغرافیایی ۳۰° ۴۹ شرقی؛ عرض جغرافیایی ۲۵° ۳۷ شمالی، ارتفاع از سطح دریا ۱۵- متر، صومعه سرا، گیلان، ایران) که از جمله نواحی مهم زیست این میگو در بخش‌های جنوبی دریای خزر می‌باشد، صید شده و به محل آزمایش (مرکز آکواریوم فیشلند) منتقل گردیدند.

### ساخت جیره غذایی

در ابتدا، تنظیم جیره‌های غذایی مورد استفاده در این مطالعه بر طبق جیره پایه میگوی رودخانه‌ای شرق صورت پذیرفت و سپس به جیره‌های آماده شده، پودر آستازانتین <sup>®</sup> DSM-CAROPHYLL pink (E161J<sup>\*</sup>، پاریس، فرانسه) حل شده در آب مقطر به‌وسیله همزن مغناطیسی (INTLLAB<sup>TM</sup>، مدل MS-500، کوالا لامپور، مالزی)، اسپری شد. پس از خشک شدن

غذای فرموله شده به‌خوبی استفاده می‌کند و دارای نرخ رشد بالایی در مدت زمانی کوتاه است. در نتیجه مطالعه مباحث مرتبط با آبی‌پروری و احتیاجات غذایی میگوی آب شیرین رودخانه‌ای شرق، نیازمند توجه ویژه‌ای می‌باشد و بهره‌گیری از جیره غذایی مطلوب و اختصاصی که در برگزیده اکثر نیازمندی‌های غذایی گونه مذکور است، موجب می‌گردد تا رشد بهینه آن در شرایط پرورشی تسریع شود (Makhiko and Numachi, 2000; Ding et al., 2017; Ettfaghdoost et al., 2018; Lavajoo et al., 2019). همولنف در سخت‌پوست‌هایی همچون میگوها، به عنوان یک مایع بیولوژیک شناخته می‌شود و از اهمیت بسیار بالایی در حمل و نقل ترکیبات مختلف، تبادلات یونی و انجام فعالیت‌های شیمیایی مورد نیاز بدن برخوردار است. همچنین شاخصی بسیار مهم در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن محسوب می‌گردد که آنالیز آن از نظر شاخص‌های بیوشیمیایی و نیز ایمنی، نقش قابل توجهی را در تشخیص بیماری‌های مختلف، پاسخ‌های مرتبط با جیره‌های غذایی و کنترل روند زیستی و پرورشی میگوها، ایفاء می‌کند. به همین دلیل، از آنجایی که شاخص‌های همولنف، نشان‌دهنده پاسخ‌های زیستی و فیزیولوژیک میگوها به شرایط تغذیه‌ای و محیطی است، اندازه‌گیری دقیق این شاخص‌ها و بررسی تغییرات در میزان آنها دارای اهمیت فراوانی به منظور ایجاد شرایط بهینه پرورشی و مدیریت سلامت میگوهاست (Fredrick and Ravichandran, 2012; Wang and Xing, 2015). بر این اساس، به دلیل اهمیت قابل توجه رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در جیره غذایی آبزیان به منظور ایجاد رشد مطلوب و بهبود عملکرد تغذیه‌ای، بهبود ایمنی، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، موجب افزایش مقدار تقاضا برای استفاده از این رنگدانه‌ها در محصولات آبی‌پروری شده است (Mahfuzur et al., 2018).

به همین دلیل پژوهش‌های بسیاری در ارتباط موضوع اثر رنگدانه آستازانتین بر میگوهای مختلف انجام پذیرفته است که می‌توان به تحقیقات Wade و همکاران (۲۰۱۵) بر میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*)، Wang و همکاران (۲۰۱۸) بر میگوی ژاپنی (*Marsupenaeus*)

### تیمارهای آزمایش

تیمارهای آزمایشی در این مطالعه شامل پنج جیره غذایی و سه تکرار در هر تیمار با سطوح متفاوت آستاگزانتین صفر (بدون رنگدانه یا شاهد)، (سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم رنگدانه در کیلوگرم جیره) بر اساس جیره غذایی پایه میگوی رودخانه‌ای شرق بود. فرآیند غذادهی به میگوها به صورت دستی در چهار نوبت (ساعت‌های ۸، ۱۲، ۱۶، و ۲۰) و به میزان سه درصد غذادهی (میانگین وزن توده زنده) به مدت ۸ هفته، انجام پذیرفت (اتفاق دوست و همکاران، ۱۳۹۴؛ اتفاق دوست و نویریان، ۱۳۹۵؛ Ding *et al.*, 2017؛ *Ettefaghdoost et al.*, 2018). در جدول ۱، اقلام غذایی و تجزیه تقریبی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه به منظور پرورش میگوی رودخانه‌ای شرق ارائه شده است (AOAC, 2016).

### فرآیند همولنف‌گیری

در انتهای دوره آزمایش، نمونه‌گیری از همولنف میگوهای تغذیه گردیده با سطوح مختلف رنگدانه کاروتنوئیدی آستاگزانتین انجام پذیرفت. در ابتدا بعد از قطع غذادهی به مدت زمان ۲۴ ساعت و قرار گرفتن نمونه‌ها با مدت زمان ۱۵ دقیقه در تشت دارای یخ (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به منظور جلوگیری از بروز استرس و کاهش تحرک میگوها، از هر تکرار به طور کاملاً تصادفی تعداد ۵ عدد میگو انتخاب و جهت نمونه‌گیری همولنف با استفاده از سرنگ انسولین (۱ میلی‌لیتر) دارای سر سوزن شماره ۲۶G که درون سرنگ جهت جلوگیری از انعقاد با ۰/۴ میلی‌لیتر محلول ضد انعقاد آلزور (۱۱۵ میلی‌مول گلوکز، ۲۷ میلی‌مول سیترات سدیم، ۳۳۶ میلی‌مول سدیم کلرید، ۹ میلی‌مول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، pH: ۷/۳) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و نسبت ۱:۱ آغشته شده بود، انجام گرفت.

نمونه‌های غذایی، این جیره‌ها در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد فریزر منجمد و نگهداری شدند. جیره‌های مصرفی روزانه با توجه به حساس بودن رنگدانه آستاگزانتین به عوامل محیطی همچون نور و دما، درون یخچال (دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) و نیز ظرف‌های پلاستیکی مشکی رنگ، مورد نگهداری قرار گرفتند.

### شرایط آزمایش و دوره سازگاری

پژوهش کنونی در فصل تابستان سال ۱۳۹۸ به مدت زمان ۸ هفته در مرکز آکواریوم فیشلند (رشت، گیلان، ایران)، انجام پذیرفت. میگوها به مدت زمان دو هفته در مخزن ۷۰۰ لیتری با هدف سازگاری با شرایط آزمایش، مورد نگهداری قرار گرفتند و طی این مدت با جیره غذایی پایه میگوی رودخانه‌ای شرق تا حد سیری تغذیه شدند. پس از طی دوره سازگاری، میگوها با ترازوی دیجیتال (A&D، مدل EK3200I، توکیو، ژاپن) مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. میگوهای زیست‌سنجی شده، با میانگین وزن  $1/40 \pm 0/05$  گرم جداسازی و سپس به طور کاملاً تصادفی در بین ۱۵ آکواریوم شیشه‌ای (۱۵ عدد میگو در هر آکواریوم) تقسیم گردیدند. حجم آبیگری مورد استفاده برای تیمارها، ۶۰ لیتر و منبع آب بهره گرفته شده برای آکواریوم‌ها، آب شهری بود که پیش از به‌کارگیری در مخازن پرورشی، به منظور کلرزدایی در آن به شکل مداوم هوادهی در طول مدت زمان ۲۴ ساعت، انجام پذیرفت. فرآیند هوادهی در آکواریوم‌های نگهداری میگو در کل طول دوره آزمایش به طور پیوسته با استفاده از سنگ‌های هوا که به هواده مرکزی (Danner، مدل AP-100، نیویورک، آمریکا) اتصال یافته بود، انجام گرفت. آب آکواریوم‌های پرورشی به صورت یک روز در میان پیش از غذادهی به مقدار یک سوم ظرفیت آن و در زمان زیست‌سنجی تمام ظرفیت آن مورد تعویض قرار گرفت و با آب کلرزدایی شده جایگزین شد. دوره نوری در طول دوره پرورشی بر اساس ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید که با لامپ فلورسنت (رنگ نور سفید) انجام پذیرفت (Ding *et al.*, 2017؛ *Ettefaghdoost et al.*, 2018).

جدول ۱: ارقام غذایی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی میگوی رودخانه‌ای شرق در مطالعه حاضر

**Table1: Composition and proximate analysis of experimental diets for the oriental river prawn in the present study**

آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم)				
۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر
<b>ترکیبات جیره (درصد)</b>				
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
۷	۷	۷	۷	۷
۷	۷	۷	۷	۷
۱۶	۱۶	۱۶	۱۶	۱۶
۲	۲	۲	۲	۲
۲	۲	۲	۲	۲
۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
۵/۱۸	۵/۱۸۵	۵/۱۹	۵/۱۹۵	۵/۲
۰/۰۲	۰/۰۱۵	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰
<b>تجزیه تقریبی (درصد ماده خشک)</b>				
۹/۵۷	۹/۱۸	۹/۵۳	۹/۵۶	۹/۵۷
۴۴/۹۰	۴۴/۷۴	۴۴/۶۸	۴۴/۶۰	۴۴/۹۱
۴/۷۵	۴/۸۶	۴/۷۴	۵/۰۴	۴/۹۰
۲/۷۷	۲/۸۳	۲/۷۸	۲/۸۵	۲/۹۱
۱۴/۵۲	۱۴/۵۴	۱۴/۱۲	۱۴/۷۸	۱۴/۷۱
۲۳/۴۹	۲۳/۸۵	۲۴/۱۵	۲۳/۱۷	۲۳/۰۰
۱۸/۲۹	۱۸/۰۳	۱۸/۲۴	۱۸/۲۷	۱۸/۱۸
۱۹۸/۶۹	۱۵۵/۸۵	۱۰۷/۳۸	۵۲/۲۷	۴/۷۲

<sup>۱</sup> شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران (ساری، مازندران، ایران)

<sup>۲</sup> شرکت لابراتوارهای Quelab (مونترآل، کبک، کانادا)

<sup>۳</sup> شرکت لابراتوارهای سنانس (قزوین، قزوین، ایران) - هر ۱۰۰۰ گرم مکمل ویتامینه شامل؛ ۱۶۰۰۰۰۰ واحد بین المللی رتینول، ۴۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی کوله کلسیفرول، ۴۰ گرم آلفا توکوفرول، ۲ گرم منادیون، ۶ گرم تیمین، ۸ گرم ریبوفلاوین، ویتامین ۱۲ گرم نیاسین، ۴۰ گرم پانتوتینیک اسید، ۴ گرم پیریدوکسین، ۲ گرم فولیک اسید، ۶۰ گرم اسکوربیک اسید، ۲۴۰ میلی‌گرم بیوتین، ۲۰ گرم اینوزیتول، ۲۰ گرم بوتیل هیدروکسی تولوئن

<sup>۴</sup> شرکت لابراتوارهای سنانس (قزوین، قزوین، ایران) - هر ۱۰۰۰ گرم مکمل معدنی شامل؛ ۲۰ گرم آهن، ۶۰ گرم روی، ۴۰۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۵۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۴۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۰ میلی‌گرم ید، ۸۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید

<sup>۵</sup> شرکت سیگما آلدریج (سنت لوئیس، میزوری، ایالات متحده آمریکا)

<sup>۶</sup> شرکت لابراتوارهای سنانس (قزوین، قزوین، ایران) - هر ۱۰۰۰ گرم ویتامین C شامل؛ ۵۰۰ گرم Stay-C 35

<sup>۷</sup> شرکت ارس تابان (آمل، مازندران، ایران)

<sup>۸</sup> شرکت کیمیا تهران اسید (تهران، تهران، ایران)

<sup>۹</sup> شرکت تولیدات غذایی DSM (پاریس، ایل-دو-فرانس، فرانسه) - Carophyll® pink شامل؛ ۱۰ درصد آستازانتین (E161j\*)

<sup>۱۰</sup> محاسبه انرژی ناخالص بر اساس؛ پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول بر گرم)، چربی (۳۷/۶ کیلوژول بر گرم)، کربوهیدرات (۱۶/۷ کیلوژول بر گرم)

لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند ( Zhao et al., 2016).

### بررسی محتوای کاروتنوئید کل

به منظور اندازه‌گیری میزان محتوای کاروتنوئید کل در پوسته و بافت عضله نمونه‌های میگو، از روش جذب نوری استفاده گردید. در ابتدا میزان ۱ گرم از پوسته و ۱ گرم از بافت عضله (نمونه همگن شده) به صورت جداگانه به لوله‌های فالكون منتقل گردیدند. سپس به نمونه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر استون (۹۸ درصد) و ۲ گرم سدیم سولفات خشک (Merck)، EMSURE<sup>®</sup>، Supelco<sup>TM</sup>No.106649، نیوجرسی، آمریکا) اضافه و توسط هموژنایزر در مدت ۱۰ دقیقه به طور کامل مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به وسیله کاغذ صافی (Grade 4. Whatman<sup>®</sup>، سنت لوئیس، آمریکا) فیلتر و در ادامه فرآیند خالص سازی آنها با افزودن متوالی ۱۰ میلی‌لیتر استون به میزان ۳ مرتبه انجام پذیرفت و طی آن با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت زمان ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ شدند. در نهایت، میزان جذب فاز مایع با دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway<sup>®</sup>، مدل UV/Vis، استافوردشر، انگلستان) در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Parisenti et al., 2011; Hu et al., 2019).

### بررسی فلور میکروبی روده

به منظور شمارش تعداد کل باکتری‌های روده و نیز تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک روده میگوها، ۴۸ ساعت پیش از نمونه‌برداری، غذادهی به آنها متوقف گردید. نمونه میگوهای هر تکرار به طور کاملاً تصادفی انتخاب و با پودر یخ بی‌حس شدند. سپس با قرار دادن در آب مقطر مورد شستشو قرار گرفتند. در ادامه به جهت از بین رفتن باکتری‌های لایه سطحی خارجی بدن میگوها، سطح بدن نمونه‌ها به وسیله الکل اتیلیک ۷۰ درصد مورد ضد عفونی قرار گرفتند و پس از آن بار دیگر با آب استریل شستشو شدند. بعد از جدا نمودن پوسته خارجی میگوها، ناحیه

برای انجام این کار، نوک سوزن سرنگ مورد استفاده را در ناحیه سینوس شکمی (پاهای اول و دوم شنا در کنار طناب عصبی شکمی) با زاویه مورب ۴۵ درجه در زیر لایه قشری پوسته به آرامی فرو گردید و از هر نمونه به میزان حداکثر همولنف (حدود ۰/۴ میلی‌لیتر و ۵ درصد وزن بدن میگو) اخذ و پس از آن سرنگ‌های نمونه‌گیری، تکان داده شد تا همولنف میگو با محلول ضد انعقاد کاملاً مخلوط شود. نمونه‌های همولنف اخذ شده تا مرحله آنالیز نمونه‌ها، در میکروتیوب‌های جداگانه و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد (Esco Lexicon<sup>®</sup>، مدل 668A-1، UUS، تورنتو، کانادا) نگهداری گردیدند. میکروتیوب‌های حاوی نمونه پس از انتقال از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد به محل آزمایشگاه با دمای اتاق (درجه حرارت حدود ۲۷ درجه سانتی‌گراد) فرآیند یخ زدایی انجام گرفت و سپس به وسیله دستگاه ورتکس (دنا تجهیز، مدل R<sub>3</sub>، تهران، ایران) در مدت زمان ۳۰-۲۰ ثانیه نمونه‌ها به طور کامل همگن و برای انجام آنالیزهای مورد نظر به کار گرفته شد (Zhao et al., 2016, Kuo et al., 2019, Liu et al., 2019, Xu et al., 2019).

### بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف

در ابتدا به منظور مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، ترکیب‌های نمونه و محلول ضد انعقاد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Hettich<sup>®</sup>، مدل ROTINA 420R، توتلینگن، آلمان) شدند. پس از آن بخش بالایی نمونه‌های سانتریفیوژ شده به وسیله میکروپیپت (Sartorius، مدل Biohit Proline<sup>®</sup>، گوتینگن، آلمان) جداسازی و جهت سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی به میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردیدند. اندازه‌گیری این شاخص‌ها به وسیله دستگاه اتوآنالایزر بیوشیمیایی (Roche/Hitachi، مدل ۹۰۲، توکیو، ژاپن) و رنگ‌سنجی با کیت‌های تشخیصی آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، البرز، ایران) انجام گرفت. در این مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما شامل: اوره، ازت اوره، گلوکز، اوریک اسید، کراتینین، کلسیم، فسفر، کلسترول، تری‌گلیسرید،

همچنین نتایج درون متن به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  Standard deviation) بیان شد.

## نتایج

### شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف

یافته‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف میگوی رودخانه‌ای شرق تغذیه گردیده با سطوح متفاوت رنگدانه آستازانتین در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بیشترین میزان اوره، ازت اوره، گلوکز، کراتینین و تری گلیسرید در تیمار بدون رنگدانه آستازانتین یا شاهد مشاهده گردید و شاخص‌های مذکور با افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی، کاهش معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی از خود نشان دادند ( $p < 0.05$ ) درحالی‌که شاخص‌های مورد اندازه‌گیری اوریک اسید، کلسیم، فسفر و کلسترول در تیمارهای مختلف آزمایشی، دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ( $p > 0.05$ ). شاخص‌های HDL و LDL همولنف میگوها با افزایش مقادیر آستازانتین در تیمارهای مطالعه کنونی، به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). کمترین میزان HDL و LDL در تیمار شاهد اندازه‌گیری گردید درحالی‌که شاخص‌های مذکور در تیمارهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم آستازانتین، به طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر بودند ( $p < 0.05$ ).

### محتوای کاروتنوئید کل

تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه آستازانتین، بیشترین میزان محتوای کاروتنوئید کل در بافت عضله (شکل ۱- الف) و نیز تیمار حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از این رنگدانه، بیشترین میزان محتوای کاروتنوئید کل در پوسته میگوهای مطالعه شده را از خود نشان دادند که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای آزمایشی داشتند (شکل ۱- ب) ( $p < 0.05$ ).

پشتی آنها به‌وسیله اسکالپل استریل کالبدگشایی و بخش روده نمونه‌ها با حرکت ملایم تیغ جراحی و به کمک پنس خارج و نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتویات، توزین شدند. نمونه‌های تهیه شده به همراه نسبت‌های ۱ به ۹ وزن آنها با محلول نمکی نرمال استریل (NaCl) وزنی/حجمی ۰/۸۷ درصد) توسط دستگاه ورتکس در مدت زمان ۲ دقیقه کاملاً یکنواخت شدند. از محلول به‌دست آمده، رقت‌های ممتد و سریالی در دامنه  $10^{-1}$  الی  $10^{-10}$  تهیه و در ادامه میزان ۱۰۰ میکرولیتر از آن به‌وسیله سمپلر برداشته شد و به پلیت‌های محیط کشت تریپتیک سوی آگار برای تعیین میزان تعداد کل باکتری‌های روده و محیط کشت ام آر اس آگار برای تعیین میزان تعداد کل باکتری‌های اسید لاکتیک روده منتقل و به صورت سطحی در آن پخش گردید. فرآیند انکوباسیون پلیت‌های TSA (شرایط هوازی-دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و پلیت‌های MRS (شرایط بی‌هوازی-دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت زمان ۴۸ ساعت انجام گرفت. در نهایت بعد از سپری شدن انکوباسیون، شمارش باکتری‌های هر پلیت بر اساس لگاریتم واحد تشکیل کلنی در گرم وزن روده (CFU) انجام پذیرفت (Chuchird et al., 2015; Miao et al., 2017).

### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

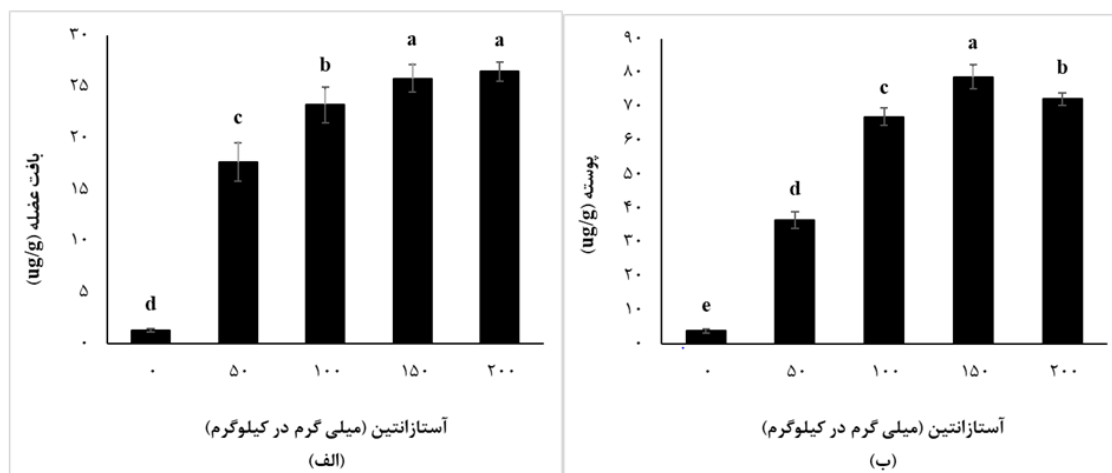
در ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و برای همگنی واریانس‌ها از آزمون لون (Levene) استفاده گردید. تجزیه و تحلیل نتایج، با آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) به کمک نرم افزار آماری IBM® (SPSS®، نسخه ۲۲، ایلینوی، آمریکا) صورت گرفت. سپس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple range) در سطح اطمینان ۹۵ درصد، به جهت مقایسه میانگین تیمارها استفاده گردید. در نهایت از نرم افزارهای میکروسافت آفیس (ورد و اکسل، نسخه ۲۰۱۳، ردmond، آمریکا) برای رسم نمودن جداول و نمودارها استفاده،

جدول ۲: مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف میگوی رودخانه‌ای شرق نسبت به اثر سطوح متفاوت آستاگزانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در پایان دوره پرورش (۸ هفته آزمایش)

Table 2: Comparison of mean ( $\pm$  standard deviation) hemolymph biochemical parameters of oriental river prawn to the effect of different astaxanthin levels (mg/kg diet) at the end of culture period (8-week experiment)

One-way ANOVA			آستاگزانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم)					شاخص‌های بیوشیمیایی
P	d.f.	F	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰	صفر	
۰/۰۰۰	۴	۱۸/۱۲۸	۱۰/۲۰±۰/۱۵ <sup>b</sup>	۱۰/۱۴±۰/۲۰ <sup>b</sup>	۱۰/۴۶±۰/۱۹ <sup>b</sup>	۱۰/۵۰±۰/۲۳ <sup>b</sup>	۱۱/۴۰±۰/۱۷ <sup>a</sup>	اوره (mg/dl)
۰/۰۰۰	۴	۱۷/۲۵۴	۴/۷۷±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۴/۷۴±۰/۱۱ <sup>b</sup>	۴/۸۹±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۴/۹۱±۰/۱۴ <sup>b</sup>	۵/۳۲±۰/۱۰ <sup>a</sup>	ازت اوره (mg/dl)
۰/۰۰۰	۴	۹۲/۶۱۲	۳۴/۵۰±۰/۲۱ <sup>b</sup>	۳۳/۱۰±۰/۲۶ <sup>d</sup>	۳۳/۹۱±۰/۳۵ <sup>c</sup>	۳۴/۴۹±۰/۷۱ <sup>b</sup>	۳۶/۴۶±۰/۵۵ <sup>a</sup>	گلوکز (mg/dl)
۰/۷۵۷	۴	۰/۴۷۰	۱/۳۹±۰/۴۱	۱/۳۸±۰/۳۲	۱/۳۷±۰/۴۳	۱/۳۹±۰/۳۷	۱/۴۱±۰/۳۵	اوریک اسید (mg/dl)
۰/۰۰۴	۴	۸/۰۸۷	۰/۲۰±۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۰/۱۸±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۰/۲۰±۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۰/۲۲±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۲۴±۰/۰۲ <sup>a</sup>	کراتینین (mg/dl)
۰/۷۸۳	۴	۰/۴۳۲	۶۳/۰۱±۱/۴۸	۶۱/۴۱±۱/۸۷	۶۱/۴۹±۱/۵۴	۶۲/۴۳±۲/۳۶	۶۱/۸۹±۱/۷۹	کلسیم (mg/dl)
۰/۹۸۸	۴	۰/۰۷۷	۱۰/۱۹±۰/۳۵	۱۰/۰۷±۰/۲۴	۱۰/۰۱±۰/۲۸	۱۰/۱۶±۰/۶۸	۱۰/۰۳±۰/۵۷	فسفر (mg/dl)
۰/۳۴۵	۴	۱/۲۶۷	۴۲/۷۴±۰/۱۷	۴۲/۵۵±۰/۱۰	۴۲/۵۸±۰/۳۶	۴۲/۹۱±۰/۱۶	۴۳/۰۳±۰/۵۸	کلسترول (mg/dl)
۰/۰۰۰	۴	۱۱۳/۵۷۲	۷۴/۲۴±۰/۲۹ <sup>b</sup>	۷۱/۷۵±۰/۳۱ <sup>d</sup>	۷۲/۶۶±۰/۵۷ <sup>c</sup>	۷۴/۱۴±۰/۲۵ <sup>b</sup>	۷۸/۱۲±۰/۴۵ <sup>a</sup>	تری‌گلیسیرید (mg/dl)
۰/۰۰۰	۴	۲۴/۰۷۷	۱۲/۸۷±۰/۳۴ <sup>bc</sup>	۱۴/۱۸±۰/۶۰ <sup>a</sup>	۱۳/۳۵±۰/۴۲ <sup>b</sup>	۱۲/۲۲±۰/۲۸ <sup>c</sup>	۱۱/۰۹±۰/۳۷ <sup>d</sup>	HDL (mg/dl)
۰/۰۰۰	۴	۴۴/۸۵۸	۶/۱۹±۰/۲۷ <sup>a</sup>	۶/۲۸±۰/۲۳ <sup>a</sup>	۵/۶۴±۰/۱۸ <sup>b</sup>	۴/۹۷±۰/۱۰ <sup>c</sup>	۴/۳۶±۰/۳۴ <sup>d</sup>	LDL (mg/dl)

در هر سطر، اعداد فاقد یک حرف مشترک نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌دار آماری هستند ( $p < 0.05$ ).



شکل ۱: مقایسه میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) محتوای کاروتنوئید کل بدن (الف - بافت عضله، ب - پوسته) میگوی رودخانه‌ای شرق نسبت به اثر سطوح متفاوت آستاگزانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در پایان دوره پرورش (۸ هفته آزمایش); حروف متفاوت، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ).

Figure 1: Comparison of mean ( $\pm$  standard deviation) total carotenoid content of oriental river prawn to the effect of different astaxanthin levels (mg/kg diet) at the end of culture period (8-week experiment); Different letters indicate a significant difference between various treatments ( $p < 0.05$ ).

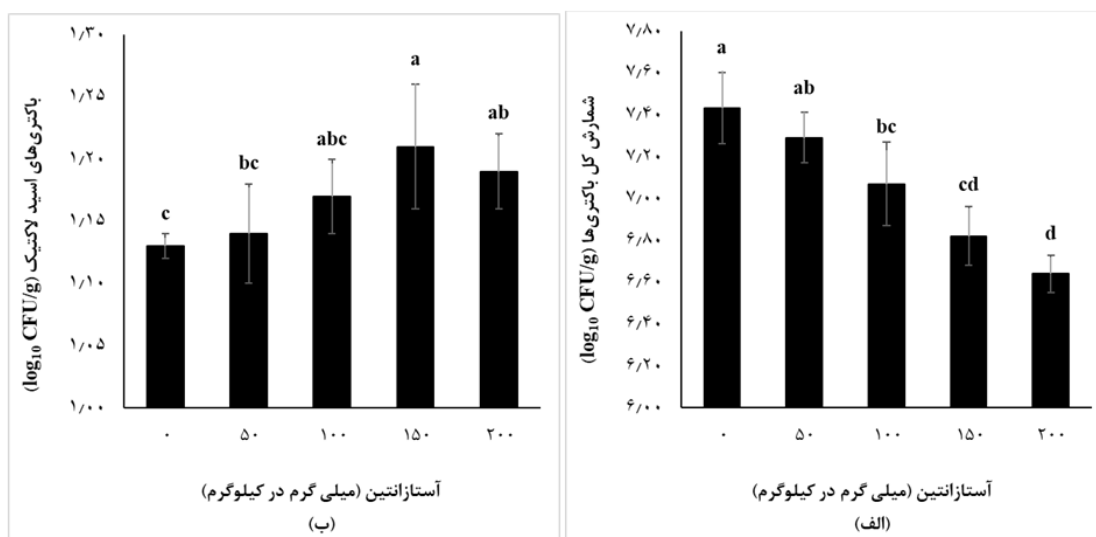
آستاگزانتین در شکل ۲ نشان داده شده است. شمارش کل باکتری‌های روده با افزایش آستاگزانتین جیره غذایی، کاهش معنی‌داری یافت و تیمارهای حاوی ۱۵۰ و ۲۰۰

فلور میکروبی روده یافته‌های حاصل از مطالعه فلور میکروبی روده میگوی رودخانه‌ای شرق تغذیه شده با سطوح متفاوت رنگدانه



شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در روده میگوهای مورد مطالعه را از خود نشان داد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۲-ب) ( $p < 0.05$ ).

میلی‌گرم در کیلوگرم رنگدانه، کمترین شمارش کل باکتری‌ها را از خود نشان دادند (شکل ۲-الف) ( $p < 0.05$ ). تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیشترین



شکل ۲: مقایسه میانگین (± انحراف معیار) فلور میکروبی روده (الف - شمارش کل باکتری‌ها، ب - باکتری‌های اسید لاکتیک) میگوی رودخانه‌ای شرق نسبت به اثر سطوح متفاوت آستازانتین (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) در پایان دوره پرورش (۸ هفته آزمایش)؛ حروف متفاوت، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ( $p < 0.05$ ).

**Figure 2: Comparison of mean (± standard deviation) intestinal microbial flora of oriental river prawn to the effect of different astaxanthin levels (mg/kg diet) at the end of culture period (8-week experiment); Different letters indicate a significant difference between various treatments ( $p < 0.05$ ).**

## بحث

Alizadeh و همکاران (۲۰۱۷) بر ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و Rigi Ghazagh و همکاران (۲۰۱۷) بر ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) اشاره نمود. به طور کلی، در شرایط طبیعی افزایش مصرف مواد غذایی حاوی پروتئین، موجب افزایش میزان اوریک اسید می‌گردد. ولی شرایط نامناسب تغذیه‌ای و محیطی نیز به دلیل تخریب گسترده نوکلئیک اسیدها، موجب افزایش میزان آن در همولنف می‌شوند (Liu et al., 2014). با بررسی نتایج، می‌توان اینطور نتیجه‌گیری نمود که عدم تغییر در سطوح اوریک اسید تیمارهای آزمایشی به دلیل یکسان بودن میزان پروتئین جیره‌های غذایی و مهمتر از آن، عدم تأثیرگذاری منفی رنگدانه آستازانتین موجود در جیره‌ها بر میگوهای مورد مطالعه است. کلسیم و فسفر عمدتاً تحت تأثیر میزان آنها در رژیم

در مطالعه کنونی، اکثر شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف میگوهای مورد مطالعه به جز اوریک اسید، کلسیم، فسفر و کلسترول تحت تأثیر سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین قرار گرفتند. در تیمارهای آزمایشی با افزایش مقادیر آستازانتین جیره، شاخص‌های اوره، ازت اوره، گلوکز، کراتینین و تری‌گلیسرید نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته، ولی شاخص‌های HDL و LDL در تیمارهای حاوی آستازانتین نسبت به تیمار شاهد افزایش یافتند. پژوهش کنونی با مطالعات مشابه صورت گرفته در ارتباط با اثرات آستازانتین بر شاخص‌های بیوشیمیایی آریزان مختلف دارای تطابق بود که از جمله آنها می‌توان به تحقیقات Farhangi و همکاران (۲۰۱۴) بر میگوی جوان پاسفید غربی (*L. vannamei*)، Alitabar، و همکاران (۲۰۱۷) و

مهم به منظور مطالعه استرس‌های کوتاه مدت شناخته می‌شود که در زمان بروز استرس، میزان آن به شکل قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا می‌کند. این شرایط تنش‌زا شامل تغذیه، کیفیت جیره غذایی، سن و فصل می‌شود که کاهش میزان گلوکز در همولنف میگوهای تیمارهای غذایی حاوی آستاگزانتین، نشان دهنده بهبود تغذیه، جیره غذایی و کاهش استرس‌های مرتبط با آن است (Enes *et al.*, 2012; Polakof *et al.*, 2009; *al.*, 2009). افزایش میزان کراتینین در همولنف میگوها، بیانگر بروز استرس، شرایط نامناسب محیطی، تغذیه‌ای و نارسایی در غدد آنتنی یا سبز<sup>4</sup> آنهاست که منجر به تجمع این پروتئین در همولنف میگوها می‌گردد. در نتیجه، کاهش کراتینین در میگوهای غذایی شده با آستاگزانتین تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نسبت به تیمار شاهد، نشان دهنده اثر مطلوب آن بر سوخت و ساز ماهیچه‌ای در گونه مورد مطالعه و بهبود عملکرد اندام دفعی آن است (Wyss and Kaddurah-*Daouk*, 2000; Akbarzadeh *et al.*, 2019). در شرایط تنش‌زا، میزان چربی‌های زیادی به عنوان منبع انرژی استفاده می‌شود و نیز با هدف ساخت هورمون‌های استروئیدی، سطوح بالای از کلسترول و تری‌گلیسیریدها به همولنف وارد می‌گردد که این عامل نشان‌دهنده وقوع استرس در سخت‌پوستان است. بر این اساس کاهش میزان تری‌گلیسیرید در همولنف میگوهای تغذیه شده با آستاگزانتین، نشان دهنده تأثیرگذاری این رنگدانه در افزایش توانایی دفاعی بدن در برابر استرس اکسید شونده از طریق جفت شدن رنگدانه کاروتنوئیدی با اسیدهای چرب و استری شدن آن است که در نتیجه موجب تجمع پایین‌تری از تری‌گلیسیرید می‌گردد (Khan *et al.*, 2017). لیپوپروتئین با چگالی بالا با برداشت کلسترول از سطح آنها، دارای نقش محافظت از سلول‌هاست و لیپوپروتئین با چگالی پایین نیز در حمل و نقل کلسترول به داخل سلول‌ها نقش عمده‌ای ایفاء می‌کند. در نتیجه، کاهش سطوح این لیپوپروتئین‌ها در همولنف سخت‌پوستان، نشان‌دهنده اختلالات مرتبط با

غذایی و محیط هستند. در نتیجه تشابه جیره‌های غذایی، محیط پرورشی و قابلیت بالای گونه مورد مطالعه به عنوان تنظیم کننده فعال یونی از جمله عوامل مهم در عدم وجود تفاوت آنها در همولنف میگوهای تیمارهای مختلف آزمایشی، در این پژوهش است (Wang *et al.*, 2003; Zhao *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2017). کلسترول نیز همانند کلسیم و فسفر به مقدار آن در جیره غذایی بستگی دارد و عدم تأمین احتیاجات غذایی (مصرف کلسترول برای انرژی) و افزایش شرایط تنش‌زا به دلیل ساخت هورمون‌های استروئیدی مرتبط با استرس همچون کورتیزول موجب کاهش شدید آن در همولنف می‌گردد و افزایش قابل توجه آن نیز به دلیل آسیب دیدن هیپاتوپانکراس میگوها و عدم تعادل سطوح چربی جیره است. عدم وجود تفاوت معنی‌دار کلسترول در تیمارهای آزمایشی را می‌توان به شرایط پرورشی با استرس پایین و تأمین شدن احتیاجات تغذیه‌ای نسبت داد. در واقع، چون هیپاتوپانکراس میگوها یکی از محل‌های مهم در سوخت و ساز چربی‌ها محسوب می‌شود، تعادل در میزان کلسترول همولنف از بار اضافی آن جلوگیری کرده و از مستعد گردیدن میگو در برابر برخی بیماری‌های مرتبط با هیپاتوپانکراس، ممانعت می‌کند (Mykles, 2011; Kumar *et al.*, 2018). اوره به طور کلی تحت تأثیر مقدار پروتئین موجود در جیره غذایی و عوامل اثرگذار بر سطوح اوریک اسید قرار دارد. در مطالعه کنونی میزان اوریک اسید مشاهده شده در همولنف میگوهای تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. در نتیجه، موجب کاهش میزان سنتز اوره در مسیر اوریکولایتیک گردید (Weihrach *et al.*, 2009; Fehsenfeld *et al.*, 2017) که در شرایط استرس‌زا، کاتکول‌آمین‌ها<sup>1</sup> با اثرگذاری بر هیپاتوپانکراس موجب القاء گلیکولیز<sup>2</sup> یا گلوکونئوز<sup>3</sup> می‌گردند و بر این اساس میزان گلوکز همولنف افزایش می‌یابد. به همین دلیل بررسی میزان گلوکز به عنوان یکی از شاخص‌های فیزیولوژیک

<sup>1</sup> Catecholamines<sup>2</sup> Glycolysis<sup>3</sup> Gluconeogenesis<sup>4</sup> Antennal gland

نشان‌دهنده اثرگذاری مثبت افزایش رنگدانه آستازانتین در جیره غذایی بر رنگ‌پذیری، عملکرد رشد، شاخص‌های ایمنی و میزان بازماندگی در میگوهای مورد مطالعه است. در این مطالعه با بررسی فلور میکروبی روده میگوها مشخص گردید که شمارش کل باکتری‌های روده تیمارهای تغذیه شده با آستازانتین نسبت به تیمار شاهد از خود کاهش نشان داد درحالی‌که باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای حاوی آستازانتین به طور معنی‌داری افزایش یافت. یافته‌های به‌دست آمده از مطالعه کنونی با تحقیق Chuchird و همکاران (۲۰۱۵) و Nguyen و همکاران (۲۰۲۰) در ارتباط با تأثیر سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین بر میگوی پاسبید غربی دارای همخوانی بود. کاهش شمارش کل باکتری‌ها و افزایش باکتری‌های اسید لاکتیک روده در تیمارهای تغذیه شده با آستازانتین در این پژوهش و همخوانی این نتایج با مطالعات مذکور، نشان‌دهنده نقش مؤثر آستازانتین به عنوان یک ماده فعال در بهبود فلور باکتریایی روده از طریق ایجاد شرایط رقابتی مناسب با حفظ pH اسیدی محیط روده به منظور افزایش تکثیر باکتری‌های گرم-مثبت جنس *Lactobacillus* و کاهش نسبت جمعیت باکتری‌های بیماری‌زاست (Lim *et al.*, 2018; Azwar *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). در نهایت، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش سطوح آستازانتین جیره غذایی موجب بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده میگوی رودخانه‌ای شرق گردید که نشان‌دهنده اهمیت قابل‌ملاحظه رنگدانه آستازانتین در افزایش عملکرد بهینه فرآیندهای سوخت و ساز سلولی، تأثیرگذاری مطلوب بر استرس‌های کوتاه‌مدت فیزیولوژیک، رنگ‌پذیری و بهبود فلور میکروبی روده می‌باشد. در نتیجه، با مشاهده و بررسی نتایج حاصله، افزودن مقادیر این رنگدانه کاروتنوئیدی تا سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستازانتین به جیره غذایی با هدف بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، محتوای کاروتنوئید کل و فلور میکروبی روده این میگو، پیشنهاد می‌گردد.

آنهاست که منجر به افزایش سطوح کلسترول و تری‌گلیسیریدها در همولنف و نیز باعث آسیب رسیدن به سلول‌ها می‌گردد. بنابراین، افزایش میزان لیپوپروتئین‌های مذکور در همولنف تیمارهای حاوی آستازانتین، بیانگر تأثیر مثبت این رنگدانه بر فرآیند نقل و انتقال بهینه چربی‌ها در میگوی مورد مطالعه است (Hoeger and Schenk, 2020).

با توجه به نقش قابل ملاحظه‌ای که میزان محتوای کاروتنوئیدها در آبزیان دارد و علاوه بر رنگ‌پذیری و مدیریت بازارپسندی، در بهبود عملکرد رشد، تغذیه‌ای و ایمنی مؤثر است، در نتیجه، مطالعه این شاخص از اهمیت بالایی برخوردار است و به عنوان معیاری بر میزان جذب و اثرگذاری این رنگدانه‌ها بر آبی مورد نظر محسوب می‌شود (Shahidi and Brown, 1998; Yanar *et al.*, 2004; Ahmad *et al.*, 2020). در پژوهش کنونی با افزایش سطوح آستازانتین در جیره غذایی، محتوای کاروتنوئید کل پوسته و عضله میگوهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد از خود افزایش نشان داد که با تحقیقات انجام شده پژوهشگران در ارتباط با اثر سطوح متفاوت رنگدانه آستازانتین بر محتوای کاروتنوئید کل در سخت‌پوستان مختلف، دارای همخوانی بود. از جمله آنها می‌توان به مطالعات Wade و همکاران (۲۰۱۵) بر میگوی ببری سیاه، Jiang و همکاران (۲۰۲۰)، Su و همکاران (۲۰۲۰) بر خرچنگ میتن چینی (*Eriocheir sinensis*) و Tomas و همکاران (۲۰۲۰) بر میگوی گیلاسی سرخ (*Neocaridina davidi*) اشاره نمود. افزایش میزان تجمع رنگدانه آستازانتین در بافت‌ها، موجب محافظت از سلول‌ها در برابر اکسیداسیون ناشی از انرژی بازتابی نور<sup>۱</sup> می‌شود که در نتیجه میزان محتوای کاروتنوئید کل، علاوه بر معیار رنگ‌پذیری دارای اهمیت بالایی در تکامل رشد، ایمنی و بازماندگی میگوها می‌باشد (Dose *et al.*, 2016; Babin *et al.*, 2019). در نتیجه، افزایش میزان محتوای کاروتنوئید کل در تیمارهای تغذیه شده در مطالعه کنونی و تشابه این نتایج با سایر مطالعات مذکور در این زمینه،

<sup>1</sup> Photo-oxidation

- Journal of Breeding and Aquaculture Sciences*, 4(11): 43-50.
- Alizadeh, M., Khanjani, M.H., Karimi, O., Ansari, R. and Rafiepour, A., 2017.** The effect of different levels of synthetic and algal astaxanthin (*Haematococcus pluvialis*) on some biochemical parameters of blood serum in rainbow trout broodstock *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792). *Journal of Applied Ichthyological Research*, 5(2): 47-64.
- AOAC. 2016.** Official Methods of Analysis, 20<sup>th</sup> Ed. (Editor: Dr. George W. Latimer, Jr.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. USA. 3172P. ISBN: 0935584870.
- Azwar, A., Rantetondok, A. and Anshary, H., 2019.** Screening and application of lactic acid bacteria isolated from vanamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) intestine as a probiotic potential for tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 12(5): 1866-1881.
- Babin, A., Moreau, J. and Moret, Y., 2019.** Storage of Carotenoids in Crustaceans as an Adaptation to Modulate Immunopathology and Optimize Immunological and Life-History Strategies. *BioEssays*, 41(11): 1800254. DOI: 10.1002/bies.201800254.
- Briggs, M., 2005.** Introductions and movement of two penaeid shrimp species in Asia and the Pacific. *Aquaculture Consultant Bangkok, Thailand*, 476 P.
- منابع**
- اتفاق دوست، م.، حقیقی، ح. و علاف نویریان ح.، ۱۳۹۴. اثر دفعات غذایی بر شاخص های رشد، بازماندگی و ترکیب شیمیایی بدن میگوی رودخانه ای شرق *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۴، شماره ۱، صفحات ۸۳-۹۵. DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103096.
- اتفاق دوست، م. و علاف نویریان ح.، ۱۳۹۵. اثر درصد های غذایی متفاوت بر شاخص های رشد، ضریب تبدیل غذایی و ترکیب شیمیایی بدن میگوی رودخانه ای شرق *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849). مجله علمی شیلات ایران. دوره ۲۵، شماره ۵، صفحات ۹۷-۱۱۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110318.
- Ahmad, M.T., Shariff, M., Yusoff, F., Goh, Y.M. and Banerjee, S., 2020.** Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(1): 328-346. DOI: 10.1111/raq.12320.
- Akbarzadeh, A., Pakravan, S., Karimi, K., Abkenar, K.B., Nimvari, M.E., Niroomand, M., Sobhani, S.A. and Dorcheh, E.E., 2019.** Utilization of date seed meal in the diet of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*): growth performance, body and fatty acid composition, biochemical parameters, and tolerance of salinity stress. *Aquaculture International*, 27(3): 647-661. DOI: 10.1007/s10499-019-00352-y.
- Alitabar, A., Hosseinifard, S.M. and Ghobadi, S., 2017.** Comparative effect of astaxanthin and red beet (*Beta vulgaris conditiva*) on blood serum factors of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

- Chuchird, N., Rorkwiree, P. and Rairat, T., 2015.** Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and their resistance to *Vibrio parahaemolyticus*. *SpringerPlus*, 4(1): 440-447. DOI: 10.1186/s40064-015-1234-x.
- Cocke, J., Salazar, M. and Rye, M., 2017.** Strategies for managing diseases in non-native shrimp populations. *Reviews in Aquaculture*, 9(3): 211-226. DOI: 10.1111/raq.12132.
- de Carvalho, C.C. and Caramujo, M.J., 2017.** Carotenoids in aquatic ecosystems and aquaculture: a colorful business with implications for human health. *Frontiers in Marine Science*, 4(93): 1-14. DOI: 10.3389/fmars.2017.00093.
- De Grave, S. and Ghane, A., 2006.** The establishment of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense* (de Haan, 1849) in Anzali Lagoon, Iran. *Aquatic Invasions*, 1(4): 204-208. DOI: 10.3391/ai.2006.1.4.2.
- Ding, Z., Kong, Y., Zhang, Y., Li, J., Cao, F., Zhou, J. and Ye, J., 2017.** Effect of feeding frequency on growth, body composition, antioxidant status and mRNA expression of immunodependent genes before or after ammonia-N stress in juvenile oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*. *Fish & Shellfish Immunology*, 68: 428-434. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.07.045.
- Dose, J., Matsugo, S., Yokokawa, H., Koshida, Y., Okazaki, S., Seidel, U., Eggersdorfer, M., Rimbach, G. and Esatbeyoglu, T., 2016.** Free radical scavenging and cellular antioxidant properties of astaxanthin. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1): 103-110. DOI: 10.3390/ijms17010103.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S. and Oliva-Teles., 2009.** Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(3): 519-539. DOI: 10.1007/s10695-008-9259-5.
- Ettefaghdoost, M., Alaf Noveirian, H. and Falahatkar, B., 2018.** Growth performance, feed efficiency and whole-body chemical composition of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense*, fed different dietary protein to lipid ratio. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(3): 585-602. DOI: 10.22092/IJFS.2018.116551.
- FAO, 2020.** Fishery Statistics Yearbook. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action, Retrieved Nov.2019. FAO, Rome, Italy. ISBN: 978-92-5-132692-3.
- Farhangi, M., Ahmadi, S., Rafiee, G., Ghaednia, B. and Taghavi, D., 2014.** Evaluation of the effect of different dietary levels of astaxanthin pigment on some biochemical parameters and non-specific immuno of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles faced with a sharp decline in oxygen tension. *Journal of Khoramshahr Marine Science and Technology*, 12(2): 103-114.

- Fehsenfeld, S., Weihrauch, D. and Quijada-Rodriguez, A., 2017.** Nitrogen excretion in aquatic crustaceans. Acid-base balance and nitrogen excretion in invertebrates, 1-24.
- Flegel, T.W., 2019.** A future vision for disease control in shrimp aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(2): 249-266. DOI: 10.1111/jwas.12589.
- Fredrick, W.S. and Ravichandran, S., 2012.** Hemolymph proteins in marine crustaceans. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(6): 496-502. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60084-7.
- Hoeger, U. and Schenk, S., 2020.** Crustacean Hemolymph Lipoproteins. *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins*, 94(1): 35-62. DOI: 10.1007/978-3-030-41769-7\_2.
- Hu, J., Lu, W., Lv, M., Wang, Y., Ding, R. and Wang, L., 2019.** Extraction and purification of astaxanthin from shrimp shells and the effects of different treatments on its content. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(1): 24-29. DOI: 10.1016/j.bjp.2018.11.004.
- Huang, F., Wang, L., Zhang, C.X. and Song, K., 2017.** Replacement of fishmeal with soybean meal and mineral supplements in diets of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. *Aquaculture*, 473: 172-180. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.02.011.
- Jescovitch, L.N., Ullman, C., Rhodes, M. and Davis, D.A., 2018.** Effects of different feed management treatments on water quality for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 49(1): 526-531. DOI: 10.1111/are.13483.
- Jiang, X., Zu, L., Wang, Z., Cheng, Y., Yang, Y. and Wu, X., 2020.** Micro-algal astaxanthin could improve the antioxidant capability, immunity and ammonia resistance of juvenile Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 102: 499-510. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.05.021.
- Jouladeh-Roudbar, A., Eagderi, S., Ghanavi, H.R. and Doadrio, I., 2017.** A new species of the genus *Capoeta valenciennes*, 1842 from the Caspian Sea basin in Iran (Teleostei, Cyprinidae). *ZooKeys*, 682:137-155. DOI: 10.3897/zookeys.682.12670.
- Kalbassi, M. R., Abdollahzadeh, E. and Salari-Joo, H., 2013.** A review on aquaculture development in Iran. *Ecopersia*, 1(2): 159-178.
- Khan, M.T., Dalvin, S., Nilsen, F. and Male, R., 2017.** Microsomal triglyceride transfer protein in the ectoparasitic crustacean salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*). *Journal of Lipid Research*, 58(8): 1613-1623. DOI: 10.1194/jlr.M076430.
- Khatoon, H., Banerjee, S., Yuan, G. T. G., Haris, N., Ikhwanuddin, M., Ambak, M.A. and Endut, A., 2016.** Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 113: 304-309. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.04.006.

- Kumar, V., Sinha, A. K., Romano, N., Allen, K.M., Bowman, B.A., Thompson, K.R. and Tidwell, J. H., 2018.** Metabolism and nutritive role of cholesterol in the growth, gonadal development, and reproduction of crustaceans. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(2): 254-273. DOI: 10.1080/23308249.2018.1429384.
- Kuo, H.W., Lin, D.W., and Cheng, W., 2019.** Transient enhancement of immune resistance functions in *Litopenaeus vannamei* through a low-dose octopamine injection. *Fish & Shellfish Immunology*, 84: 532-540. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.10.060.
- Lavajoo, F., Amrollahi Biuki, N., Khanipour, A.A., Mirzajani, A., Gutiérrez Fruitos, J. and Akbarzadeh, A., 2019.** Natural diet of *Macrobrachium nipponense* shrimp from three habitats in Anzali Wetland, Iran. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 17(2): 101-111. DOI: 10.22124/cjes.2019.3404.
- Lim, K. C., Yusoff, F.M., Shariff, M. and Kamarudin, M. S., 2018.** Astaxanthin as feed supplement in aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 10(3): 738-773. DOI: 10.1111/raq.12200.
- Liu, H., Zhang, X., Tan, B., Lin, Y., Chi, S., Dong, X. and Yang, Q., 2014.** Effect of dietary potassium on growth, nitrogen metabolism, osmoregulation and immunity of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in low salinity seawater. *Journal of Ocean University of China*, 13(2): 311-320. DOI: 10.1007/s11802-014-2118-3.
- Liu, T., Zhang, G., Feng, Y., Kong, C., Ayisi, C.L., Huang, X. and Hua, X., 2019.** Dietary soybean antigen impairs growth and health through stress-induced non-specific immune responses in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 84: 124-129. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.062.
- Mahfuzur, R., Lutz, G. A., Alam, A., Sarker, P., Chowdhury, M.K., Parsaeimehr, A., Liang, Y. and Daroch, M., 2018.** Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology*, 30(1): 197-213. DOI: 10.1007/s10811-017-1234-z.
- Mashiko, K. and Numachi, K.I., 2000.** Derivation of populations with different-sized eggs in the palaemonid prawn *Macrobrachium nipponense*. *Journal of Crustacean Biology*, 20(1): 118-127. DOI: 10.1163/20021975-99990021.
- Miao, S., Zhu, J., Zhao, C., Sun, L., Zhang, X. and Chen, G., 2017.** Effects of C/N ratio control combined with probiotics on the immune response, disease resistance, intestinal microbiota and morphology of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Aquaculture*, 476: 125-133. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.04.027.
- Mykles, D.L., 2011.** Ecdysteroid metabolism in crustaceans. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(3-5): 196-203. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2010.09.001.
- Nakano, T. and Wiegertjes, G., 2020.** Properties of Carotenoids in Fish Fitness: A

- Review. *Marine Drugs*, 18(11): 568-581. DOI: 10.3390/md18110568.
- Nguyen, T., Nguyen, H., Pham, H., Nguyen, A., Phan, T., Hara, T., Takatsuka, Y. and Nguyen, A., 2020.** Cooperative improvement in growth rate, red-colour score and astaxanthin level of white-leg shrimp by *Bacillus* strains originating from shrimp gut. *Journal of Applied Microbiology*, 129(1): 51-62. DOI: 10.1111/jam.14603.
- Parisenti, J., Beirão, L., Maraschin, M., Mourino, J., Do Nascimento Vieira, F., Bedin, L. and Rodrigues, E., 2011.** Pigmentation and carotenoid content of shrimp fed with *Haematococcus pluvialis* and soy lecithin. *Aquaculture Nutrition*, 17(2): 530-535. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00794.x.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J. L. and Moon, T.W., 2012.** Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(8): 1015-1045. DOI: 10.1007/s00360-012-0658-7.
- Rigi Ghazagh, H., Aberomand, A., Ziaienzhad, S. and Akbary, P., 2017.** Effect of astaxanthin on growth, body chemical composition and some blood serum biochemical indices in grey mullet, (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 26(2): 15-24. DOI: 10.22092/isfj.2017.113480.
- Shahidi, F. and Brown, J.A., 1998.** Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Critical Reviews in Food Science*, 38(1): 1-67. DOI: 10.1080/10408699891274165.
- Su, F., Yu, W. and Liu, J., 2020.** Comparison of effect of dietary supplementation with *Haematococcus pluvialis* powder and synthetic astaxanthin on carotenoid composition, concentration, esterification degree and astaxanthin isomers in ovaries, hepatopancreas, carapace, epithelium of adult female Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture*, 523: 735146. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735146.
- Tomas, A.L., Sganga, D.E. and Lopez Greco, L.S., 2020.** Effect of background color and shelters on female pigmentation in the ornamental red cherry shrimp *Neocaridina davidi* (Caridea, Atyidae). *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3): 775-787. DOI: 10.1111/jwas.12660.
- Valipour, A., Zahmatkesh, A. and Khanipour, A., 2017.** Freshwater crayfish as a suitable Species for introducing to aquaculture of Iran. *Advanced Aquaculture Sciences Journal*, 1(1): 73-87.
- Wade, N.M., Budd, A., Irvin, S. and Glencross, B.D., 2015.** The combined effects of diet, environment and genetics on pigmentation in the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 449: 78-86. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.01.023.
- Wade, N.M., Cheers, S., Bourne, N., Irvin, S., Blyth, D. and Glencross, B.D. 2017a.** Dietary astaxanthin levels affect colour, growth, carotenoid digestibility and the accumulation of specific carotenoid esters



- in the Giant Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*, 48(2): 395-406. DOI: 10.1111/are.12888.
- Wade, N.M., Gabaudan, J. and Glencross, B.D., 2017b.** A review of carotenoid utilisation and function in crustacean aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 9(2): 141-156. DOI: 10.1111/raq.12109.
- Wang, W.N., Wang, A.L., Wang, D.M., Wang, L.P., Liu, Y. and Sun, R.Y., 2003.** Calcium, phosphorus and adenylate levels and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase activities of prawn, *Macrobrachium nipponense*, during the moult cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 134(2): 297-305. DOI: 10.1016/S1095-6433(02)00284-2.
- Wang, X.W. and Xing, J., 2015.** Crustacean hemolymph microbiota: Endemic, tightly controlled, and utilization expectable. *Molecular Immunology*, 68(2): 404-411. DOI: 10.1016/j.molimm.2015.06.018.
- Wang, W., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Hossain, M.S. and Moss, A.S., 2018.** Effects of dietary astaxanthin supplementation on juvenile kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 491: 197-204. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.03.025.
- Wehrauch, D., Wilkie, M.P. and Walsh, P.J., 2009.** Ammonia and urea transporters in gills of fish and aquatic crustaceans. *Journal of Experimental Biology*, 212(11): 1716-1730. DOI: 10.1242/jeb.024851.
- Wyss, M. and Kaddurah-Daouk, R., 2000.** Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews*, 80(3): 1107-1213. DOI: 10.1152/physrev.2000.80.3.1107.
- Xu, Z., Guan, W., Xie, D., Lu, W., Ren, X., Yuan, J. and Mao, L., 2019.** Evaluation of immunological response in shrimp *Penaeus vannamei* submitted to low temperature and air exposure. *Developmental & Comparative Immunology*, 100: 103413. DOI: 10.1016/j.dci.2019.103413.
- Yanar, Y., Çelik, M. and Yanar, M., 2004.** Seasonal changes in total carotenoid contents of wild marine shrimps (*Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monoceros*) inhabiting the eastern Mediterranean. *Food Chemistry*, 88(2): 267-269. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.01.037.
- Zhang, L., Cao, W., Gao, Y., Yang, R., Zhang, X., Xu, J. and Tang, Q., 2020.** Astaxanthin (ATX) enhances the intestinal mucosal functions in immunodeficient mice. *Food & Function*, 11(4): 3371-3381. DOI: 10.1039/C9FO02555C.
- Zhao, W., Wang, Z., Yu, Y., Qi, Z., Lü, L., Zhang, Y. and Lü, F., 2016.** Growth and antioxidant status of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* fed with diets containing vitamin E. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(3): 477-483. DOI: 10.1007/s00343-015-4396-z.
- Zhao, C., Fu, H., Sun, S., Qiao, H., Zhang, W., Jin, S., Jiang, S., Xiong, Y. and Gong, Y., 2017.** Experimental inoculation of oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* with white spot syndrome virus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms*, 126(2): 125-134. DOI: 10.3354/dao03165.

**Influence of different dietary Astaxanthin levels on hemolymph biochemical parameters, total carotenoid content and intestinal microbial flora of the oriental river prawn, *Macrobrachium nipponense***

Ettefaghdoost M.<sup>1</sup>; Alaf Noveirian H.<sup>1\*</sup>; Sajjadi M.M.<sup>1</sup>; Falahatkar B.<sup>1</sup>

\*navi@guilan.ac.ir

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran.

**Abstract**

In the present experiment, two hundred and twenty-five oriental river prawns (*Macrobrachium nipponense*) with mean weight of  $1.40 \pm 0.05$  gram were fed by five formulated diets containing different astaxanthin levels, zero (control), 50, 100, 150 and 200 milligrams per kilogram in glass aquarium tank for eight weeks. At the end of the culture period, after collecting hemolymph and also the tissues of intestinal tract, muscle and exoskeleton were sampled, hemolymph biochemical parameters, total carotenoid content and intestinal microbial flora in prawns were studied. Hemolymph biochemical parameters such as urea, urea nitrogen, glucose, creatinine and triglycerides were decreased with increasing of astaxanthin levels, while HDL and LDL increased significantly ( $p < 0.05$ ). However, uric acid, calcium, phosphorus and cholesterol were not affected by astaxanthin treatments ( $p > 0.05$ ). Treatments containing 150 and 200 mg/kg astaxanthin showed the lowest total bacterial count. Intestinal lactic acid bacteria also increased in the treatment of 150 mg/kg astaxanthin ( $p < 0.05$ ). Total carotenoid content of prawns was elevated by increasing dietary astaxanthin levels ( $p < 0.05$ ). Generally, the results of present study showed that increasing dietary astaxanthin levels improves hemolymph biochemical parameters, total carotenoid content and intestinal microbial flora of the oriental river prawn and adding 150 milligrams astaxanthin per kilogram of this pigment to the diet was suggested to improve the parameters that mentioned of this prawn.

**Keywords:** Astaxanthin, Carotenoids, Dietary supplement, Metabolism, Oriental river prawn

---

\*Corresponding author