

تاثیر رنگدانه آستازانتین بر کارایی رشد، بازماندگی و تجمع رنگدانه در پست لارو

میگوی پا سفید (*Litopenaeus vannamei*)

بیژن رجبی^{(۱)*}؛ علیرضا سالارزاده^(۲)؛ مازیار یحیوی^(۳)؛ سعید مسندانی^(۴) و محسن نیرومند^(۵)

bijan.rajabi@yahoo.com

۱، ۲، ۳ و ۵- دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، صندوق پستی: ۷۹۱۵۹-۱۳۱۱

۴- معاونت آبی پروری استان هرمزگان، بندرعباس کد پستی: ۷۹۱۵۸-۴۴۸۵۹

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۰

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تاثیر رنگدانه آستازانتین بر کارایی رشد (افزایش وزن نسبی، نرخ رشد ویژه و وزن پایانی)، بازماندگی و تجمع رنگدانه آستازانتین در پست لارو میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) می باشد. این مطالعه در مرکز توسعه آبزیان کلاهی در بهار ۱۳۹۰ انجام گردید. در این آزمایش پست لاروهای ۸ روزه با متوسط ($\pm$ انحراف استاندارد) وزن اولیه $5/3 \pm 1/6$ میلی گرم بوسیله رژیم غذایی که حاوی سطوح مختلفی (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی) از رنگدانه آستازانتین بود به مدت ۳۰ روز مورد تغذیه قرار گرفتند. در میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم رنگدانه آستازانتین، کارایی رشد و بازماندگی بطور قابل ملاحظه ای نسبت به گروه شاهد بالاتر بود. میزان تجمع رنگدانه در بدن پست لاروها به روش HPLC مورد سنجش قرار گرفت. تجزیه و تحلیل تجمع رنگدانه در بدن پست لاروها نشان داد که با افزایش میزان رنگدانه آستازانتین در رژیم غذایی کارایی رشد و بازماندگی در پست لاروها افزایش می یابد بطوریکه در پست لاروهای تغذیه شده با ۲۰۰ میلی گرم رنگدانه، میانگین ($\pm$ انحراف استاندارد) وزن پایانی $7/12 \pm 6/7$ (میلی گرم) و نرخ بازماندگی $82 \pm 1/5$ درصد) نسبت به پست لاروهای گروه شاهد (وزن پایانی $9/28 \pm 2/4$ میلی گرم و بازماندگی $5/4 \pm 7/5$ درصد) بطور معنی داری بالاتر بود. از این رو با توجه به خواص تغذیه ای رنگدانه آستازانتین و تاثیر مثبت آن بر رشد و بازماندگی، توصیه می گردد رژیم غذایی پست لارو میگوی پاسفید حداقل حاوی ۱۰۰ میلی گرم رنگدانه آستازانتین در هر کیلوگرم از رژیم غذایی باشد.

لغات کلیدی: تغذیه، آبی پروری، رنگدانه های کاروتنوئیدی

مقدمه

در تغذیه آبزیان علاوه بر پروتئین، چربی و کربوهیدرات، آشکار شده است مواد معدنی، ویتامین‌ها و دیگر مواد مغذی بطور معمول برای رشد عادی و بازماندگی مناسب در سخت‌پوستان مهم هستند (Linan-Cabello *et al.*, 2002). ارزش بالقوه مواد افزودنی برای میگوهای پرورشی به رسمیت شناخته شده است. یکی از مواد افزودنی مورد استفاده در غذای میگو، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی می‌باشند، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در ایجاد رنگهای زرد، نارنجی و قرمز در گوشت و اسکلت خارجی حیوانات آبی مشارکت دارند (Shahidi & Brown, 1998). مهمترین منابع رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مصنوعی، مورد استفاده در آبی‌پروری آستازانتین و کانتازانتین مصنوعی و مهمترین منابع طبیعی آستازانتین، مخمر قرمز (*Xanthophyllomyces* *rhodorrhous*) و جلبک تک سلولی آب شیرین (*Haematococcus pluvialis*) می‌باشد (Bjerkeng, 2008). آستازانتین رنگدانه اصلی و غالب در میگو است (Meyers, 1994). همچنین مشخص گردیده پاره‌ای از سخت‌پوستان توانایی تبدیل سایر رنگدانه‌های کاروتنوئیدی را به آستازانتین دارند (Shahidi & Brown, 1998). علاوه بر این در مطالعه دیگری که روی میگوهای ببری سیاه (*Penaeus monodon*) انجام گردید، مشخص شد صرف نظر از اینکه میگوها با بتاکاروتن یا آستازانتین تغذیه شده‌اند، کاروتنوئید اصلی تجمع یافته در بدن میگوها آستازانتین بود که نشان‌دهنده توانایی میگوی مذکور در تبدیل بتاکاروتن به آستازانتین می‌باشد (Boonyaratpalin *et al.*, 2001). حیوانات و از جمله سخت‌پوستان قادر نیستند کاروتنوئیدها را بصورت زیستی بسازند و بایستی این رنگدانه‌ها را از رژیم غذایی دریافت کنند (Wouters; Meyers, 1994). (Boonyaratpalin *et al.*, 2001; *et al.*, 2001). کاروتنوئیدی آستازانتین عملکرد و وظایف گوناگونی دارد که می‌توان به مواردی مانند تجمع رنگدانه‌ها در بافت، خوش رنگ شدن محصول و در نتیجه افزایش بازپسندی میگو، بهبود عملکردهای زیستی، ثبات در غشاء سلولی و بهبود سلامتی و ایمنی از طریق حذف رادیکال‌های آزاد، مقاومت در برابر استرس‌های محیطی مانند استرس اسمزی و دمایی و کاهش اکسیژن محلول اشاره نمود (Latscha, 1989; Darachai *et al.*, 1998).

رژیم‌های غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین رنگ میگوهای خانواده پنائیده، بخصوص در پرورش متراکم را بهبود (Chien & Jeng, 1992; Liao *et al.*, 1993) یا تصحیح (Menasveta *et al.*, 1993) می‌کنند. در تحقیق دیگری که روی پست لارو میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) انجام گردید بالاترین میزان بازماندگی و رشد در پست لاروهای تغذیه شده با رنگدانه آستازانتین مشاهده شد (Niu *et al.*, 2009). از اینرو با توجه به اثرات مفید رنگدانه آستازانتین بر عملکردهای زیستی میگو، در این پژوهش تاثیر رنگدانه آستازانتین بر کارایی رشد، بازماندگی و تجمع رنگدانه مذکور در بدن پست لارو میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این تحقیق تاثیر رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین (Lucanthin Pink, 10% Astaxanthin, Basf, Germany) و رژیم غذایی فاقد رنگدانه آستازانتین (گروه شاهد) روی کارایی رشد، بازماندگی و تجمع رنگدانه آستازانتین در پست لاروهای میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) مورد ارزیابی قرار گرفت. این مطالعه دارای ۴ تیمار و هر تیمار شامل ۳ تکرار بود و به مدت ۳۰ روز در کارگاه توسعه آبزیان کلاهی در بهار ۱۳۹۰ انجام گردید. پست لاروها با رژیم غذایی که حاوی سطوح مختلفی از رنگدانه آستازانتین به مقادیر ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی بود، مورد تغذیه قرار گرفتند. پست لاروهای مورد آزمایش هشت روزه سن (PL8) و از کارگاه تکثیر مروارید تیاب خریداری گردید. پست لاروها پس از اینکه به کارگاه مذکور آورده شدند ابتدا با شرایط محیطی کارگاه سازگار شدند علاوه بر این برای خو گرفتن پست لاروها با رژیم غذایی، به مدت ۳ روز بوسیله رژیم غذایی فاقد رنگدانه (گروه شاهد) مورد تغذیه قرار گرفتند (Niu *et al.*, 2009). ذخیره‌سازی پست لاروها در مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری که ۲۰۰ لیتر آن آبگیری شده بود، انجام گردید. تراکم پست لاروها ۲ عدد در لیتر بود. برای بدست آوردن وزن متوسط اولیه پست لاروها ۳ گروه پست لارو که هر گروه شامل ۱۰۰ عدد بود

بصورت کاملاً تصادفی جمع‌آوری و با استفاده از ترازویی با دقت ده هزارم گرم (Satorius, B120S) وزن شدند، سپس وزن بدست آمده از هر گروه تقسیم بر تعداد پست لاروها شد. پست لاروها ۴ بار در روز و در ساعتهای ۰۷:۰۰، ۱۳:۰۰، ۱۸:۰۰ و ۲۲:۰۰ به میزان ۱۲ درصد از وزن مورد تغذیه قرار گرفتند. غذای خورده نشده و مدفوع روزانه از کف مخازن سیفون می‌شد. همچنین تعویض آب روزانه و به میزان ۳۵ درصد بود. طی آزمایش، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب شامل: درجه حرارت، اکسیژن محلول، شوری و pH بطور منظم و روزانه اندازه‌گیری شد بطوریکه میانگین ($\pm$ انحراف استاندارد) دمای آب 29 ± 1 درجه سانتیگراد، اکسیژن محلول 5.7 ± 0.4 میلی‌گرم در لیتر، شوری 40 ± 1 قسمت در هزار و pH آب 8.3 ± 0.4 بود. در انتهای آزمایش کارایی رشد (نرخ رشد ویژه، افزایش وزن نسبی و وزن پایانی) و بازماندگی هر تیمار محاسبه گردید که مطابق فرمول‌های زیر است (Niu *et al.*, 2009):

$100 \times$ تعداد اولیه میگو / تعداد نهایی میگو = درصد بازماندگی (روز)
/ (لگاریتم وزن اولیه - لگاریتم وزن پایانی) = درصد نرخ رشد ویژه (SGR)
 $100 \times$ تعداد روزهای آزمایش
 $100 \times$ وزن اولیه / (وزن اولیه - وزن پایانی) = افزایش وزن نسبی (درصد)
وزن پایانی نیز از تقسیم وزن بدست آمده از هر تیمار (۳) گروه ۱۰۰ تایی از هر تیمار بر تعداد پست لاروها بدست آمد (Niu *et al.*, 2009).

رژیم غذایی مصنوعی بوسیله رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین با خلوص ۱۰ درصد به مقادیر صفر (گروه شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از غذا آماده‌سازی شد (جدول ۱). آماده‌سازی رژیم غذایی مورد استفاده در این آزمایش بوسیله دستگاههای غذاساز موجود در مزارع پرورش میگو انجام

گردید. تمام ترکیبات خشک جهت هر رژیم غذایی ابتدا وزن، ترکیب و بوسیله مخلوط کن کاملاً مخلوط شدند، سپس روغن سویا به میزان ۳۰ گرم به ترکیبات خشک مخلوط شده اضافه و به مدت ۵ دقیقه دوباره توسط مخلوط کن مخلوط شدند. پس از آن آب مقطر نیز به میزان ۳۵۰ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم از ترکیبات مخلوط شده اضافه و بار دیگر به مدت ۵ دقیقه مخلوط شدند (Supamattaya *et al.*, 2005). در پایان قطر پلت‌ها ۱/۵ میلیمتر در نظر گرفته شد. پلت‌های بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در معرض نور آفتاب قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس پلت‌های خشک شده را خرد و توسط الک با اندازه‌های مختلف تقسیم‌بندی شدند. اندازه پلت‌های مورد استفاده در رژیم غذایی جهت پست لارو میگوی پاسفید آزمایش به شرح ذیل بود: ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرون به نسبت مساوی برای پست لاروهای ۸ تا ۱۰، ۵۰۰ میکرون برای پست لاروهای ۱۱ تا ۱۵، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرون به نسبت‌های مساوی برای پست لاروهای ۱۶ تا ۲۰، ۱۲۰۰ میکرون برای پست لاروهای ۲۱ تا ۳۸ در نظر گرفته شد (Niu *et al.*, 2009; Ahamad & Laxminarayana, 1995). تمام رژیم‌های غذایی پس از آماده‌سازی تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

مقداری از رژیم غذایی هر تیمار بطور کاملاً تصادفی برای تجزیه برداشته شد. میزان پروتئین رژیم غذایی با استفاده از روش کلدال (Kjeldahl)، میزان چربی با روش سوکسله، میزان رطوبت نیز در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد در آون و خاکستر بوسیله کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل موارد فوق براساس روشهای AOAC انجام پذیرفت (AOAC, 1990). آنالیز تقریبی رژیم غذایی در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱: ترکیبات خشک رژیم غذایی (گرم، به ازای هر کیلوگرم ماده خشک)

ترکیبات خشک	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
آرد ماهی ^۱	۵۲۰	۵۲۰	۵۲۰	۵۲۰
آرد سویا ^۲	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰
گلوتن ذرت ^۲	۵۰	۵۰	۵۰	۵۰
آرد گندم ^۲	۱۸۸	۱۸۷/۵	۱۸۷	۱۸۶
روغن سویا ^۳	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
مخلوط ویتامین ^۴	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
ویتامین C ^۴	۷	۷	۷	۷
مخلوط مواد معدنی ^۴	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
همبند ^۳	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین (۱۰ درصد) ^۵	۰	۰/۵	۱	۲

۴- ساخت لابراتورهای داروسازی ارس بازار

۱- تهیه شده از شرکت فرآوری ماهی قشم

۵- ساخت شرکت Basf آلمان (Chien et al., 2003)

۲- تهیه شده از شرکت هرمز دام

۳- تهیه شده از خوراک آبزیان حاتمی

جدول ۲: آنالیز تقریبی رژیم غذایی

۴۰/۸۳±۰/۱۹	پروتئین (درصد)
۱۱/۶۳±۰/۱۸	چربی (درصد)
۹/۸۵±۰/۲۴	رطوبت (درصد)
۱۲/۰۸±۰/۳۱	خاکستر (درصد)

کننده منتقل می‌شود و با افزودن ۳۰ میلی‌لیتر n- هگزان جز بندی می‌شود، لایه استون و n- هگزان در هم ممزوج شده، سپس این لایه ۳ بار بوسیله NaCl ۱۰ درصد شسته شده تا استون باقیمانده زدوده شود. حجم عصاره با استفاده از یک تبخیر کننده چرخان به ۱۰ میلی‌لیتر کاهش داده می‌شود و سپس از طریق فیلتر میلیپور ۰/۲ میکرومتر فیلتر و در شیشه نمونه قهوه‌ای رنگ ذخیره می‌شود. آستازانتین بوسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC, Agilent, 1100 series) مورد آنالیز قرار گرفت. شرایط عملیاتی دستگاه بشرح ذیل است:

ستون سیلیکا Si-60، طول موج دتکتور ۴۷۰ نانومتر، فاز متحرک استون ۱۴ درصد در n- هگزان، سرعت جریان حلال ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه؛ حجم تزریق ۱۰۰ میکرو لیتر، برنامه گرادیان پمپ: مخلوط A، استون: n- هگزان به نسبت ۱۴:۸۶، از

اندازه‌گیری میزان رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین براساس روش Chien و همکاران (۲۰۰۳) انجام گردید. ابتدا میگوها وزن و سپس مقداری از نمونه‌ها را تحت گاز نیتروژن مایع خشک منجمد کرده سپس نمونه‌ها در هاون چینی کوبیده و خرد شده و درون سانتریفیوژ قرار داده شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون اضافه و مخلوط در دور ۸۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه هم‌وزن شد. مجدداً نمونه با افزودن ۲۰ میلی‌لیتر استون سانتریفیوژ گردید. تا زمانیکه عصاره استون شفاف شود. پلیت ها مجدداً معلق شده و با ۲۰ میلیلیتر استون اضافه سنتریفیوژ می‌شوند تا زمانیکه عصاره استون پاک شود (شفاف شود پلیت ها مجدداً معلق شده و با ۲۰ میلیلیتر استون اضافه سنتریفیوژ می‌شوند تا زمانیکه عصاره استون پاک شود (شفاف شود عصاره استون به کیف جدا

۲۰ - ۰ دقیقه و مخلوط B، n-هپتان ۱۰۰ درصد از ۲۰/۵ تا ۴۰ دقیقه می‌باشد. آستازانتین بدن برای از بین بردن خطا بالقوه‌ای که ناشی از تغییرات در میزان رطوبت بدن میگو که مرتبط با سیکل پوست‌اندازی است براساس وزن خشک می‌باشد. برای تعیین معنی‌دار بودن تاثیر تیمارهای مختلف بر بازماندگی، کارایی رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و وزن پایانی) و میزان آستازانتین بدن در پایان ۳۰ روز پرورش از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA)، تست Tukey در سطح ۵ درصد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام پذیرفت.

نتایج

پس از ۳۰ روز پرورش، کارایی رشد (وزن پایانی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه) و بازماندگی در پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین نسبت به پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد رنگدانه (گروه شاهد) بطور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). نتایج بدست آمده در جدول ۳ ارائه گردیده است. در میان پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین بالاترین کارایی رشد در بین پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه در هر کیلوگرم از رژیم غذایی و پایین‌ترین کارایی رشد در پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم رنگدانه در هر کیلوگرم از رژیم غذایی مشاهده گردید اما این تفاوت در نرخ رشد میان گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). نرخ بازماندگی نیز در پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین نسبت به پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد رنگدانه آستازانتین بطور معنی‌داری بالاتر بود ($P < 0.05$). نرخ بازماندگی در میان پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بطور معنی‌داری کمتر از پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بود ($P < 0.05$). هیچ

تفاوت معنی‌داری در نرخ بازماندگی میان گروه‌های تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین مشاهده نگردید ($P > 0.05$).

تاثیر رژیم‌های غذایی حاوی سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین بر میزان انباشته شدن رنگدانه مذکور در بدن پست لاروها در جدول ۴ آمده است. میزان کل رنگدانه آستازانتین در پست لاروهای تغذیه شده با رژیم‌های غذایی حاوی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بطور معنی‌داری نسبت به پست لاروهای گروه شاهد و پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم رنگدانه بالاتر بود ($P < 0.05$). هیچ تفاوت معنی‌داری در پست لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین با گروه شاهد مشاهده نگردید ($P > 0.05$). همچنین میزان کل رنگدانه آستازانتین موجود در بدن پست لاروهای تغذیه شده با ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بطور معنی‌داری نسبت به پست لاروهای تغذیه شده با ۵۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بالاتر بود ($P < 0.05$).

نتایج حاصله از تجمع رنگدانه آستازانتین حاکی از آن است با افزایش رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین در جیره غذایی میزان تجمع آن در بدن هم افزایش خواهد یافت بطوریکه رژیم غذایی که حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین در هر کیلوگرم غذا بود بالاترین میزان انباشتگی رنگدانه و رژیم غذایی پست لاروهای گروه شاهد کمترین میزان انباشتگی رنگدانه را در بدن پست لاروها نشان داد. همچنین مشخص گردید انباشتگی رنگدانه آستازانتین در بدن، رشد و بازماندگی را در پست لارو میگوی پاسفید بهبود می‌بخشد بطوریکه میزان رشد و بازماندگی میگوهای تغذیه شده با سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین نسبت به پست لاروهای گروه شاهد بالاتر بود (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین ($\pm$ انحراف استاندارد) کارایی رشد و بازماندگی پست لاروهای تغذیه شده با رژیم‌های غذایی حاوی سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین*

میزان رنگدانه آستازانتین موجود در رژیم غذایی (میلی گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی)	۰ میلی گرم	۵۰ میلی گرم	۱۰۰ میلی گرم	۲۰۰ میلی گرم
وزن اولیه (میلی گرم)	۵/۳±۱/۶	۵/۳±۱/۶	۵/۳±۱/۶	۵/۳±۱/۶
وزن پایانی (میلی گرم)	۴۸۴/۲±۲۸/۹ ^b	۶۷۰±۲۷/۴ ^a	۶۹۰/۱±۱۳/۵ ^a	۷۰۰/۶±۱۲/۷ ^a
افزایش وزن نسبی	۹۰۳±۵۴ ^b	۱۲۵۴±۵۱۷ ^a	۱۲۹۲۱±۲۵۴ ^a	۱۳۱۱۸±۲۳۹ ^a
نرخ رشد ویژه	۱۵/۱±۰/۲ ^b	۱۶/۱±۰/۱ ^a	۱۶/۲±۰/۱ ^a	۱۶/۳±۰/۱ ^a
بازماندگی	۵۴/۷±۴/۵ ^c	۷۶/۵±۲/۳ ^b	۷۸/۵±۱/۸ ^{ba}	۸۲±۱/۵ ^a

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

جدول ۴: میزان کل رنگدانه آستازانتین (میکروگرم/گرم) انباشته شده در بدن پست لاروهای میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) در پایان ۳۰ روز*

سطوح آستازانتین جیره غذایی	۰ میلی گرم	۵۰ میلی گرم	۱۰۰ میلی گرم	۲۰۰ میلی گرم
میزان آستازانتین انباشته شده در بدن میگو	۱۷/۵±۰/۴ ^b	۱۸/۱±۰/۶ ^b	۲۲/۱±۰/۳ ^a	۲۳/۴±۰/۴ ^a

* میانگین‌های موجود در هر ردیف که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < 0.05$).

بحث

نقش مثبت کاروتنوئیدها در متابولیسم حیوانات آبی شناخته شده است که می‌تواند استفاده از مواد مغذی را افزایش دهد که نتیجه آن بهبود رشد است (Segner et al., 1989; Amar et al., 2001). Petit و همکاران (۱۹۹۷) دریافتند که استفاده از رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین سیکل پوست اندازی را در میگوی کروما (*Penaeus japonicus*) کاهش داده که نتیجه آن افزایش رشد بوده است. Niu و همکاران (۲۰۰۹) و Thongrod و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده نمودند که میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین رشد آنها نسبت به میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد رنگدانه آستازانتین بیشتر بوده است. مطالعات قبلی همچنین حاکی از آن است که میگوهای پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با جلبک تک سلولی آب شیرین (*Haematococcus pluvialis*) بعنوان منبعی از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی، بطور

معنی‌داری رشد بیشتری نسبت به گروهی که رژیم غذایی‌شان فاقد منابع رنگدانه کاروتنوئیدی بود داشته‌اند ($P < 0.05$) (Parisenti et al., 2011). علاوه بر مطالعات انجام شده، Merchie و همکاران (۱۹۹۸) نیز، پست لارو میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) را با استفاده از رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین و ویتامین C با سطوح مختلف مورد تغذیه قرار دادند نتایج حاصله ثابت نمود رشد و توده زنده گروه‌هایی که رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین و ویتامین C کمتری دریافت کرده بودند نسبت به سایر تیمارها بطور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). در تحقیق، حاضر کارایی رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و وزن پایانی) میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین بطور معنی‌داری نسبت به میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی گروه شاهد بالاتر بود ($P < 0.05$) که مطابق سایر مطالعات انجام شده می‌باشد. هیچ تفاوت معنی‌داری

در کارایی رشد (افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و وزن پایانی) بین میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم رنگدانه آستازانتین وجود نداشت. از سوی دیگر نتایج حاصل شده از سایر مطالعات حاکی از آن است رژیم های غذایی حاوی رنگدانه های کاروتنوئیدی تاثیری بر رشد ندارند. Boonyaratpalin و همکاران (۲۰۰۱) تاثیر رژیم غذایی حاوی رنگدانه های کاروتنوئیدی بتاکاروتن و آستازانتین را بر رشد و بازماندگی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد رژیم های غذایی حاوی رنگدانه های کاروتنوئیدی بتاکاروتن و آستازانتین هیچ تفاوت معنی داری با میگوهای گروه شاهد ندارند ($P>0.05$)، همچنین در مطالعات دیگری که روی میگوی کروما (*Marsupenaeus japonicus*) و میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) انجام گردید، هیچ تفاوت معنی داری در رشد و افزایش وزن ($P>0.05$) میان میگوهای تغذیه شده با رژیم های غذایی حاوی رنگدانه های کاروتنوئیدی و گروه شاهد بدست نیامد (Göçer et al., 2006) (Chien & Shiau, 2005). این اختلاف عمده بین نتایج تحقیقات ذکر شده با تحقیق حاضر شاید به این علت باشد که در مطالعه حاضر شرایط پرورش و گونه ای متفاوت بوده است، در تحقیقات سایر محققین مراحل بعد از پست لاروی میگو و بطور کلی روی میگوهای جوان یا بزرگتر کار شده است در حالی که در این مطالعه مرحله پست لاروی مد نظر قرار گرفته است این در حالی است که در آبیان در مراحل اولیه زندگی چون اندام ها و بافت ها شکل خواهند گرفت لذا در منحنی رشد بیشترین سرعت رشد را از خود نشان خواهند داد در حالی که بعد از این مرحله و بخصوص از مرحله جوانی به بعد یا بلوغ چون بافت ها و اندامها تشکیل شده اند منحصراً فرآیند رشد معطوف به ترمیم بافت ها خواهد گردید، لذا همین موضوع موجب خواهد شد تا در بعضی از مطالعات تغذیه ایی مانند مطالعه حاضر در مقایسه با سایر تحقیقات مشابه چون مرحله زندگی آبی متفاوت بوده است تاثیر ماده غذایی مورد مطالعه با توجه به سن آبی در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری نشان دهد. میزان بازماندگی نیز در میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین نسبت به میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد رنگدانه آستازانتین بالاتر بود که مشابه مطالعات انجام شده

توسط سایر محققین می باشد. در مطالعه انجام شده توسط Niu و همکاران (۲۰۰۹) بازماندگی میگوها با افزایش میزان رنگدانه آستازانتین در جیره غذایی افزایش یافت بطوریکه بالاترین نرخ بازماندگی در رژیم غذایی که حاوی ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم رنگدانه آستازانتین در هر کیلوگرم از رژیم غذایی بود بدست آمد. در مطالعه Chien و Jeng (۱۹۹۲) نرخ بازماندگی در میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین نسبت به سایر رژیم های غذایی بالاتر بود. بطوریکه مشخص گردید ارتباط مثبتی بین انباشته شدن رنگدانه آستازانتین در بدن میگو و نرخ بازماندگی وجود دارد که حاکی از آن است رنگدانه مذکور در بهبود بازماندگی میگو ایفای نقش می کند. Nègre-Sadargues و همکاران (۱۹۹۳) مشاهده نمودند که بالاترین نرخ بازماندگی در میگوهای دیده شده است که با رژیم غذایی حاوی ۵۰ میلی گرم آستازانتین و ۵۰ میلی گرم کانتازانتین تغذیه کرده بودند. مطالعه انجام شده توسط Chien و Shiau (۲۰۰۵) نیز نشان داد که بالاترین نرخ بازماندگی در میگوهای بدست آمده است که رژیم غذایی شان حاوی رنگدانه های کاروتنوئیدی بوده است به طوری که نرخ بازماندگی در مقایسه با میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد رنگدانه بطور معنی داری بالاتر بوده است ($P<0.05$). در مطالعه دیگری میگوهای پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) که با رژیم غذایی حاوی سطوح مختلف رنگدانه آستازانتین (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۵۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی) تغذیه شده بودند، بالاترین رشد و بازماندگی در میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۸۰ میلی گرم رنگدانه آستازانتین بدست آمد علاوه بر این سیکل پوست اندازی در میگوهای تغذیه شده با رژیم های غذایی حاوی رنگدانه در مقایسه با گروه شاهد کوتاهتر بود (Flores et al., 2007). بطور کلی با توجه به نتایج حاصل از مطالعات قبلی می توان نتیجه گرفت رنگدانه آستازانتین بعنوان ماده ای مغذی جهت رشد مناسب و بهبود بازماندگی در پست لارو میگوی پاسبید (*Litopenaeus vannamei*) ضروری است. تاثیر مثبت رنگدانه آستازانتین بر بازماندگی و رشد به دلیل درگیر بودن در سیستم های فیزیولوژی حیوانات آبی (Hunter, 2000) و خصوصیت آنتی اکسیدانی آن می باشد که بهتر از بتاکاروتن و الفا توکوفرول است (Miki, 1991). در میان عملکردهای رنگدانه های کاروتنوئیدی می توان به تجمع رنگدانه

روی میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) انجام شد مشخص گردید تقریباً ۷۰ تا ۹۰ درصد از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی تجمع یافته در پوسته و گوشت میگوهای مورد آزمایش آستازانتین می‌باشد علاوه بر این بالاترین بازماندگی نیز در میگوهای تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین مشاهده گردید (Menasveta et al., 1993). در مطالعه دیگری Kumlu و همکاران (۱۹۹۸) میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) را با استفاده از نماتود (*Panagrellus redivivus*) غنی شده با رنگدانه آستازانتین و چندین نوع لپید مورد تغذیه قرار دادند، نتایج حاصل شده از این آزمایش نشان داد بازماندگی، رنگ‌پذیری و تجمع رنگدانه در بافت نسبت به سایر تیمارها بطور معنی‌داری بهبود یافته است ($P < 0.05$)، هر چند شواهی مبنی بر تکامل و رشد لاروی میگوهای مورد آزمایش مشاهده نگردید. در پایان بهبود بازماندگی و رشد در پست لاروهای میگوی پاسفید (*Litopenaeus vannamei*) بواسطه استفاده از رژیم غذایی حاوی رنگدانه آستازانتین کاملاً مشهود بود از اینرو توصیه می‌شود رنگدانه مذکور بدلیل دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی قوی بعنوان یک عامل موثر برای بالا بردن رشد و بازماندگی در رژیم غذایی آغازین پست لاروها حداقل به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از رژیم غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- Ahamad Ali S. and Laxminarayana A., 1995. Microparticulate feed for postlarvae of shrimp *Penaeus indicus*. CIBA Bulletin, 5:1-21.
- Amar E.C., Kiron V., Satoh S. and Watanabe T., 2001. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defense mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 32:162-173.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official methods of analysis AOAC, Washington DC, USA. 1963P.

در بافت اشاره نمود، برخی از شواهد حاکی از آن است این رنگدانه‌ها نقش‌های حیاتی در رشد سخت‌پوستان ایفا می‌کنند (Linan-Cabello et al., 2002). مطالعه انجام شده توسط Cheng و Jeng (۱۹۹۲) روی میزان تجمع رنگدانه‌های کاروتنوئیدی آستازانتین و بتاکاروتن در میگوی کروما (*Marsupenaeus japonicus*) نشان داد شد ارتباط مثبتی بین انباشته شدن رنگدانه در بدن و نرخ بازماندگی وجود دارد که نشان‌دهنده نقش مثبت تجمع رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در بافت می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز با افزایش میزان رنگدانه آستازانتین در جیره‌های غذایی، میزان تجمع آن در بدن نیز افزایش یافت که نتیجه آن بهبود رشد و بازماندگی بود. علاوه بر این تجمع رنگدانه آستازانتین در بافت، سلولها را از اکسیداسیون حاصل از انرژی ساطع شده از نور (Photooxidant) محافظت می‌کند (You et al., 2006). این فواید قطعاً عملکرد مثبتی در توسعه و تکامل میگو ایفا می‌کنند به طوری که در مطالعه حاضر افزایش وزن و بازماندگی بالاتر در گروه‌های تغذیه شده با سطوح بالاتر رنگدانه آستازانتین مشاهده گردید. زمانی که میزان کل رنگدانه‌های کاروتنوئیدی به زیر ۲۰ میکروگرم در هر گرم کاهش می‌یافت میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*) تحت پرورش متراکم رنگ غیرطبیعی آبی را از خود بروز می‌داد که از علائم کمبود کاروتنوئیدها در رژیم غذایی می‌باشد (Howell & Matthews, 1991).

در تحقیق حاضر، میزان انباشتگی آستازانتین بدن در تیمارهای حاوی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم رنگدانه آستازانتین بیشتر از ۲۰ میکروگرم در هر گرم بود. در مطالعه‌ای تجمع رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در بافت میگوهای تغذیه شده با جلبک تک سلولی آب شیرین (*Haematococcus pluvialis*) بعنوان منبعی از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج حاصل شده نشان داد بالاترین میزان رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و از آن جمله آستازانتین در میگوهای تغذیه شده با جلبک مذکور مشاهده گردید، که نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (Pan, Parisenti et al., 2011). همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که رشد تحت تأثیر میزان غلظت رنگدانه‌های کاروتنوئیدی در بدن است، این مطالعه همچنین نشان داد ارتباط مثبتی بین نرخ بازماندگی و تجمع رنگدانه آستازانتین در بدن میگوها وجود دارد. در مطالعه دیگری که

- Bjerkeng B., 2008.** Carotenoids in aquaculture: Fish and crustaceans. *In:* (G. Britton, S. Liaaen-Jensen, & H. Pfander Eds.), Birkhäuser, Basel, Switzerland. 4:237-250.
- Boonyaratpalin M., Thongrod S., Supamattaya K., Britton G. and Schlipalius L.E., 2001.** Effects of β -carotene source, *Dunaliella salina*, and astaxanthin on pigmentation, growth, survival and health of *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research*, 32:182-190.
- Chien Y.H. and Shiau W.C., 2005.** The effects of dietary supplementation of algae and synthetic astaxanthin on body astaxanthin, survival, growth, and low dissolved oxygen stress resistance of kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* bate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 318:201-211.
- Chien Y.H., Pan C.H. and Hunter B., 2003.** The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin. *Aquaculture*, 216:177-191.
- Chien Y.H. and Jeng S.C., 1992.** Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicas* Beta, by various pigment source and levels and feeding regimes. *Aquaculture*, 102:333-346.
- Darachai J., Piyatitivorakul S., Kittakoo P., Nitithamyong C. and Menasveta P., 1998.** Effects of astaxanthin on larval growth and survival of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*. *In:* (T.W. Flegel ed.) *Advances in shrimp biotechnology*. 5th Asian Fisheries Forum, 11-14 Nov 1998. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, Thailand. pp.117-121.
- FAO, 2008.** The state of world fisheries and aquaculture, FAO Fisheries and Aquaculture Department, Room, Italy, 196P.
- Flores M., Díaz F., Medina R., Denisse A. and Licea A., 2007.** Physiological, metabolic and haematological responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles fed diets supplemented with astaxanthin acclimated to low-salinity water. *Aquaculture Research*, 38:740-747.
- Göçer M., Yanar M., Kumlu M. and Yanar Y., 2006.** The effects of Red Pepper, Marigold Flower, and Synthetic astaxanthin on Pigmentation, Growth, and Proximate Composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 30:359-365.
- Howell B.K. and Matthews D., 1991.** The carotenoids of wild and blue disease affected farmed tiger shrimp (*Penaeus monodon*, Fabricus). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 98B:375-379.
- Hunter B., 2000.** Physiological function of astaxanthin and other carotenoids in marine organisms. *In:* (P. Sungpuag ed.) *First South East Asia and Pacific Regional Meeting on Carotenoids*, 2-5 August 2000. Mahidol University, Bangkok, Thailand. 19P.
- Kumlu M., Fletcher D.J. and Fisher C.M., 1998.** Larval pigmentation, survival and growth of *Penaeus indicus* fed the nematode *Panagrellus redivivus* enriched with astaxanthin and various lipids. *Aquaculture Nutrition*, 4:193-200.
- Latscha T., 1989.** The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in Tropical Aquaculture*, 9:319-325.

- Liao W.L., Nur-E-Borhan S.A., Okada S., Matsui T. and Yamaguchi K., 1993.** Pigmentation of cultured black tiger prawn by feeding with a spirulina supplemented diet. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59:165-169.
- Linan-Cabello M.A., Paniagua-Michel J. and Hopkins P.M., 2002.** Bioactive roles of carotenoids and retinoids in crustaceans. *Aquaculture Nutrition*, 8:299-309.
- Menasveta P., Worawattanamateekul W., Latscha T. and Clark J.S., 1993.** Correction of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius) coloration by astaxanthin. *Aquaculture Engineering*, 12:203-213.
- Merchie G., Kontara E., Lavens P., Robles R., Kurmaly R. and Sorgeloos P., 1998.** Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistant of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture Research*, 29:579-585.
- Meyers S.P., 1994.** Developments in world aquaculture, feed formulations, and role of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66:1069-1076.
- Miki W., 1991.** Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 63:141-146.
- Nègre-Sadargues G., Castillo R., Petit H., Sancé S., Martinez R.G., Milicua J.C., Choubert G. and Trilles J.P., 1993.** Utilization of synthetic carotenoids by the prawn *Penaeus japonicus* reared under laboratory conditions. *Aquaculture*, 110:151-159.
- Niu J., Tian L.X., Liu Y.J., Yang H.H., Ye C.X. and Gao Wen., 2009.** Effect of dietary astaxanthin on growth, Survival, and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40:795-802.
- Pan C.H., Chien Y.H. and Cheng J.H., 2001.** Effects of light Regime, Algae in the water, and Dietary Astaxanthin on Pigmentation, Growth, and Survival of black tiger prawn *Penaeus monodon* postlarvae. *Zoological Studies*, 40:371-382.
- Parisenti J., Beirao L.H., Maraschin M., Mourino J.L., Nascimento Viera F.Do., Bedin L.H. and Rodrigues E., 2011.** Pigmentation and carotenoid content of shrimp fed with *Haematococcus pluvialis* and soy lecithin. *Aquaculture Nutrition*, 17:530-535.
- Petit H., Nègre S.G., Castillo R., Trilles J.P., 1997.** The Effects of dietary astaxanthin on growth and moulting cycle of postlarval stage of prawn, *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117A:539-544.
- Segner H., Arend P., Poeppinghaussen K.V., Schmidt H., 1989.** The effect of feeding astaxanthin to *Oreochromis niloticus* and *Colisa labiosa* on the histology of the liver. *Aquaculture*, 79:381-390.
- Shahidi F, Brown J.A., 1998.** Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38:1-67.
- Supamattaya K., Kiriratnikom S., Boonyaratpalin M, Borowitzka L., 2005.** Effect of a *Dunaliella* Extract on growth performance, health condition, immune response and disease resistance in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 248:207-216.

- Thongrod S., Tansutapanich A. and Torrissen O.J., 1995.** Effect of dietary astaxanthin supplementation on accumulation, survival and growth in postlarvae of *Penaeus monodon* Fabricius. In: (P. Cavens, E. Jaspers & I. Roelants eds.) Larvi'95 Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Special Publication, European Aquaculture Society, Gent, Belgium. 24:251-254.
- Wouters R., Lavens P., Nieto J. and Sorgeloos P., 2001.** Penaeid shrimp broodstock nutrition: An updated review on research and development. Aquaculture, 202:1-21.
- You K., Yang H., Liu Y., Liu S., Zhou, Y. and Zhang T., 2006.** Effects of different light sources and illumination methods on growth and body color of shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 252:557-565.

**Effect of astaxanthin pigment on growth performance, survival
and pigmentation in postlarval stage of
white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei***

**Rajabi B.^{(1)*}; Salarzadeh A.R.⁽²⁾; Yahyavi M.⁽³⁾; Masandani S.⁽⁴⁾ and
Niromand M.⁽⁵⁾**

bijan.ranjabi@yahoo.com

1,2,3,5- Islamic Azad University, Bandar Abbas Branch, P.O.Box: 79159-1311

4- Aquaculture Deputy of Hormuzgan Province, Bandar Abbas, Zip Cod: 79158-44859

Received: November 2011

Accepted: May 2012

Keywords: Carotenoid, Pigment, Nutrition, Aquaculture

Abstract

The aim of this reaserch was to study the effect of astaxanthin pigment on growth performance (weight again, specific growth rate and final body weight), survival and pigment accumulation in postlarvae of white leg shrimp. This study was carried out in spring 2011 at Kolahi Aquatic Development Center. Some 8-day postlarvae with mean ($\pm$ SD) initial weight 5.3 ± 1.6 mg were fed diets with containing various levels (0, 50, 100 and 200mg/kg diet) of astaxanthin pigment for 30 days. Shrimp fed with diet without astaxanthin pigment served as control. Shrimp fed diets containing 50, 100 and 200mg/kg astaxanthin, growth performance and survival was significantly higher than control group. The pigment accumulation rate was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The analysis of pigment accumulation showed that the higher increasing astaxanthin pigment amount in the diets, the higher growth performance and survival rate in postlarvae; as in postlarvae fed with 200mg astaxanthin/kg, final weight (700.6 ± 12.7 mg) and survival rate ($82 \pm 1.5\%$) was significantly higher than control group (484.2 ± 28.9 , $54.7 \pm 4.5\%$ final weight and survival rate, respectively). Due to nutritional properties of astaxanthin pigment and the positive effect on growth and survival, the feeding of postlarval white leg shrimp with the diet containing at least 100mg astaxanthin/kg is recommended.

*Corresponding author