میزان انتقال محتوای آستازانتین تخمک به لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و اثر آن بر رشد ابتدایی

امیرعباس بازیار لاکه[۱]، محمدرضا احمدی[۲]*، بوجونر برکنگ[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲- دانشیار گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۳- مؤسسه تحقیقات آبزی پروری آکوافورسک، نروژ

چکیده

پنج گروه از مولدان ماده دوساله قزل‌آلای رنگین‌کمان با تیمارهای غذایی محتوی ۰/۰۷، ۱۲/۴۶، ۶۵/۱،۳۳/۳۳ و ۹۲/۹mg آستازانتین در کیلوگرم غذا تا حصول رسیدگی جنسی نهایی مورد تغذیه قرارگرفتند. ماهیان تخمهایی محتوی ۲/۰۳-۲۹/۹۷ میلیگرم آستازانتین آزاد در کیلوگرم تخم تولید کردند. تفاوت معناداری ($p<0/05$) در محتوای آستازانتینی تخم بین تیمارها مشاهده گردید. لاروهای حاصل از تخمهای هر یک از گروههای آزمایشی دارای محتوای ۰/۷ تا ۷mg آستازانتین در کیلوگرم لارو بودند. تفاوت معناداری ($p<0/05$) در محتوای آستازانتینی بدن لارو بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. مقدار محتوای آستازانتینی بدن لارو در مقایسه با تخم بسیار کمتر بود که نشان‌دهنده مقدار انتقال کم این رنگدانه از تخم به لارو و میزان بالای تبدیل رنگدانه آستازانتین به متابولیتهایش در طی نمو جنینی است. تفاوت معناداری در میزان انتقال رنگدانه آستازانتین بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0/05$). روابط رگرسیونی برازش داده شده بین محتوای آستازانتین غذا و تخم و همچنین محتوای آستازانتین تخم و بدن لارو بیانگر یک روند افزایشی و معنادار ($p<0/05$) بود. تفاوت معناداری درخصوص وزن و طول اولیه لاروهای تازه به تغذیه افتاده حاصل از تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید($p<0/05$) به طوری که لاروهای حاصل از تیمار با محتوای آستازانتین ۵/۳۲mg/kg دارای میانگین وزن و طولی ابتدایی بالاتری نسبت به سایر تیمارها بودند. کمترین مقدار میانگین وزن و طول ابتدایی مربوط به تیمار شاهد با محتوای آستازانتینی ۰/۷mg/kg بود. با توجه به محتوای آستازانتینی تخم و لارو و نیز مشاهده نرخ انتقال آستازانتین تخم به لارو، مشاهده گردید که آستازانتین انباشته شده در تخم که ناشی از جیره غذایی مولدان ماده است می‌تواند با تبدیل‌شدن به متابولیتهای خود طی نمو جنینی و شرکت در مکانیسم رشد و نمو جنینی به عنوان یک راه‌انداز و تحریک‌کننده رشد ابتدایی محسوب گردد.

کلید واژگان: آستازانتین، نرخ انتقال، قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

نویسندهٔ مسؤول مقاله: تلفن: ۶۱۱۱۷۰۹۲-۰۲۱، Email:mahmadi@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱- مقدمه

کاروتنوئیدها نه فقط یکی از گروههای وسیع و گسترده رنگدانه‌های طبیعی‌اند بلکه مسؤول انجام عملکردهای گسترده‌ای نیز می‌باشند. این مواد در سرتاسر سلسله جانوری دیده می‌شوند اما هیچ جانوری نمی‌تواند این مواد را بسازد. بنابراین جانوران برای تأمین این مواد محتاج جیره غذایی خود می‌باشند. کاروتنوئیدها در فرمهای گوناگونی همانند فرم آزاد، فرم استری وحتی فرم سولفاته و به عنوان کمپلکس با پروتئینها یا لیپوپروتئینها وجود دارند[۱]. یکی از عمده‌ترین کاروتنوئیدهای یافت شده در ارگانیسمهای آبی، آستازانتین می‌باشد که به مقدار فراوانی در بدن سخت‌پوستان و ماهیان یافت می‌شود[۲]. رنگدانه آستازانتین به‌صورت ایزومرهای هندسی سیس (z) و ترانس (E) و ایزومرهای نوری (S ′۳ و ۳S)، (۳S و۳R) و (R ′۳ و ۳R) یافت می‌شود. اما عمده‌ترین ایزومرهای هندسی و نوری یافت شده در خانواده آزادماهیان به ترتیب ترانس (All-E) و (S ′۳ و۳S) می‌باشند[۳]. در محیط پرورشی عمده‌ترین منابع کاروتنوئیدی برای آزادماهیان پرورشی تولیدات سنتزی آستازانتین و کانتاگزانتین می‌باشد[۴]. آستازانتین مصرفی موجود در غذا به صورت آستازانتین آزاد در عضلات آزادماهیان به‌وسیله اتصال به سطح رشته‌های آکتومیوزین به وسیله پیوندهای هیدروفوبیک انباشته می‌شود، اما آستازانتین انباشته شده در پوست آزاد ماهیان با اتصال به اسیدهای چرب به فرم استری مونو یا دی استر انباشته می‌شود[۵]. در زمان رسیدگی گناد در ماهیان ماده آستازانتین متصل شده به عضله وارد خون شده، به سمت تخمدانها رفته و در تخمکها انباشته و باعث رنگین شدن تخمها می‌شود. پرورش‌دهندگان قزل‌آلا یکی از معیارهای طبقه‌بندی کیفیت تخم را رنگ آن بیان می‌کنند و طبق رنگ تخم آنها را به دو دسته تخمهای مات[1] و رنگدانه‌دار[2] تقسیم‌بندی می‌کنند.

بنابراین کیفیت بالای تخمهای تولیدی که نشان دهنده محتوای آستازانتینی تخم می‌باشد برای تکثیر مصنوعی مهم است و تولید تخمهای با بازماندگی بالا یکی از ضروریات آبزی پروری است[۶]. در کشور ایران نیز با داشتن توان بالای تولید تخم چشم زده و لارو در اکثر مزارع تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین کمان متأسفانه توجه قابل قبولی به کیفیت رژیم مولدان یا ماهیان مادر از لحاظ ریز مغذیهای مورد نیاز همانند رنگدانه‌ها نشده است. باالتبع نتیجه این عدم توجه در مراحل مقدماتی زندگی که همان دوره انکوباسیون و پرورش لارو است خودنمایی خواهد کرد. بنابراین با توجه به موارد ذکر شده در این مقدمه و نقش مثبت رنگدانه‌های کاروتنوئیدی بویژه رنگدانه آستازانتین در بهبود خصوصیات تولیدمثلی در مطالعه حاضر سعی شد که مقدار تجمع آستازانتین ناشی از جیره غذایی در تخم و نیز میزان انتقال آن به لارو در طی نمو جنینی و نیز تأثیر این رنگدانه در رشد و نمو جنینی و به تبع آن وزن و طول اولیه لاروهای حاصل در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گیرد.

۲- مواد و روش کار

پنج گروه از مولدان ماده دوساله قزآلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی و طولی به‌ترتیب ۸۴۵/۶±۲۵g و ۴۲/۶±۸cm برای انجام این تحقیق انتخاب شدند. مولدان هر یک از تیمارهای آزمایشی به سالن فتوپریود مصنوعی منتقل شدند و درون کانالهای سیمانی با ابعاد۱×۱×۸ متر قرار گرفتند. دبی آب ورودی به هر یک از کانالها، اکسیژن محلول، درجه حرارت و pH آب ورودی به‌ترتیب ۰/۸ l/s، ۷/۵ mg/l، ۱۱/۶°C و ۷/۷ بود. سیستم فتوپریود مورد استفاده در این تحقیق به دو دوره سه ماهه تقسیم گردید که تعداد ساعات روشنایی و تاریکی در سه ماه اول و دوم دوره فتوپریود به‌ترتیب ۱۸ و ۶ ساعت و ۶ و ۱۸ ساعت بود. میانگین شدت روشنایی در سطح آب استخرها در کل دوره فتوپریود مصنوعی ۷۵ لوکس برآورد گردید. مولدان هر یک از تیمارهای آزمایشی با پنج تکرار به وسیله غذای مخصوص مولدان شرکت بهپرور (جدول۱) با رنگدانه کاروتنوئیدی آستازانتین حاوی مقادیر ۰/۰۷، ۱۲/۴۶، ۳۳/۳۳، ۶۵/۱ و ۹۲/۹۵ میلیگرم آستازانتین در کیلوگرم غذا تغذیه شدند. رنگدانه آستازانتین مورد استفاده از کمپانی

1. Pale
2. Pigmented

Archive of SID
www.SID.ir

Roche خریداری گردید و در کارخانه ابتدا با مواد پرکننده به حجم رسانده شد. سپس درون همزن به مقدار تعیین شده برای هر تیمار به پودر پایه غذا اضافه و بقیه مراحل همانند روش معمول انجام گردید. برای فراهم کردن اسپرم مورد نیاز، یک گروه از مولدان نر دوساله به وسیله غذای حاوی ۰/۰۷ رنگدانه آستازانتین (کنترل) در طول دوره نوری تا حصول رسیدگی جنسی نهایی تغذیه شدند. مقدار غذای مصرفی روزانه مولدان براساس وزن زنده ماهیان درون استخر و درجه حرارت آب به مقدار یک درصد برآورد گردید و در سه وعده در طول ساعات روشنایی (۹ صبح، ۱۲ ظهر و ۳ بعدازظهر) در سه ماهه اول و در دو وعده غذادهی در ساعات روشنایی (۹ صبح و ۱۲ ظهر) در سه ماهه دوم به منظور نزدیک شدن به رسیدگی نهایی کاهش یافت و به مولدان داده می‌شد. پس از پایان یافتن دوره نوری، مولدان هر یک از استخرها پس از بیهوش شدن در مخلوط آرد گل میخک و آب (۳۰ گرم در ۶۰ لیتر آب) از نظر حصول رسیدگی جنسی نهایی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از اطمینان ازحصول رسیدگی جنسی تعداد ۳ عدد مولد رسیده ماده از هر استخر انتخاب گردید و به سالن تکثیر مصنوعی انتقال داده شدند.

پس از تخم‌کشی از مولدان ماده و قبل از انجام عملیات لقاح برای برآورد محتوای آستازانتین تخمک از تخمهای حاصل از هـر یک از مـولدان تیمارهای آزمایشی مقداری نمونه بـه طورکاملاً تصادفی برداشت گردید و بقیه تخمکها توسط اسپرم همگن شده چهارعدد مولد نر که با غذای محتوی ۰/۰۷mg/kg رنگدانه آستازانتین تغذیه شده بودند، لقاح داده شدند. پس از انجام عملیات لقاح، تخمهای لقاح یافته هر مولد ماده مربوط به هر تیمار آزمایشی به صورت جداگانه و کاملاً تصادفی درون جعبه‌های آلومینیومی مشبک به ابعاد ۵×۱۰×۲۵ سانتیمتر قرار داده شد و به تعداد ۳ عدد جعبه آلومینیومی در درون یک عدد سینی انکوباتور کالیفرنیایی قرار داده شدند. تخمهای لقاح یافته پس از گذراندن مراحل چشم‌زدگی، تخمه گشایی و جذب کیسه زرده وارد مرحله تغذیه فعال گردیدند و در این زمان یعنی شروع مرحله تغذیه فعال و قبل از انجام هرگونه تغذیه خارجی از لاروهای تازه به تغذیه افتاده هر یک از سینیها تعدادی لارو برای به دست آوردن محتوای آستازانتین بدن و نیز برآورد وزن و طول اولیه لارو برداشت گردید.

جدول۱ ترکیب شیمیایی جیره غذایی

تیمار / عامل	۱	۲	۳	٤	۵
پروتئین خام ٪	۳۵/۸۲	۳٦/٦۱	۳٦/۳	۳٦/۷	۳۷/۰۳
چربی خام ٪	۱۲/۳	۱۲/۹۹	۱٤	۱۳/۷۷	۱۱/۵۳
خاکستر کل ٪	۸/٦٦	۸/٤٤	۸/۵٤	۸/٦۵	۸/۸
رطوبت ٪	۱٤/۵۳	۱٤/٤۸	۱۳/٦٤	۱۳/٦۲	۱۳/۹
آستاگزانین ppm	۰/۰۷	۱۲/٤٦	۳۳/۳۳	٦۵/۱	۹۲/۹

Archive of SID
www.SID.ir

۲-۱- اندازه‌گیری محتوای آستاگزانتین

اندازه‌گیری آستازانتین موجود در غذا براساس روش وِبر (۱۹۹۰) انجام گردید[۷]. برای خالص‌سازی آستازانتین موجود در غذا، در ابتدا نمونه غذا در هر تکرار یکنواخت گردید. سپس به مقدار ۵g از آن برداشت گردید و برای حذف لایه ژلاتینی اطراف، دانه‌های کاروفیل پنیک آنزیم پروتئاز[1] به آنها اضافه شد. مقدار آنزیم ۳۰mg بود که این کار در درون یک ارلن حجمی ۲۵۰mL انجام گردید. سپس مقدار ۱۰mL آب مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه درون یک حمام آب گرم اولتراسونیک ۵۰°C قرار داده شد. پس از اتمام زمان مذکور، مقدار ۱۰۰mL اتانول به محتویات ارلن اضافه شد و بعد به وسیله دی کلرومتان به حجم ۲۵۰mL رسید. این مخلوط توسط کروماتوگرافی ستونی باز بر روی ۶۰ Silica[2] ریخته شد و عصاره به‌دست آمده در تبخیرکننده چرخشی، تبخیر گردید. پس از اضافه‌کردن محلول n–هگزان و استون به نسبت ۸۶ به ۱۴ و حل کردن عصاره به‌دست آمده، مقدار رنگدانه آستازانتین با روش کروماتوگرافی مایع با بازده بالا (HPLC) بر طبق روش کار [۸] اندازه‌گیری شد. برای خالص‌سازی آستازانتین موجود در تخم و لاروماهی به نمونه‌های آزمایشی مقدار۲mL اتانول حاوی ۵۰۰ppm بوتیل هیدروکسی تولوئن و ۱mL آب مقطر یونیزه شده اضافه و نمونه‌ها با هم زن[3] به مدت ۲۰ ثانیه هم زده شدند. به مخلوط حاضر ۶mL کلروفورم اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه هم زده شد. پس از مدتی سکون به مدت ۱۰ دقیقه دوباره هم زده شدند و بعد سانتریفیوژ گردیدند (Ca ۱۷۰۰rpm, ۱۰min) تقریباً ۴mL از محلول فاز بالایی طبق روش برکنگ و همکاران برداشته [۹] و نمونه مورد نظر به مدت ۳۰ ثانیه هم زده شد. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در یک محیط تاریک نگهداری شد. سپس دوباره ۳۰ ثانیه هم زده و بعد سانتریفیوژ گردیدند(۱۰min و ۱۸°C و ۱۵۰۰rpm Ca). حدود ۲mL از قسمت بالایی نمونه که حاوی آستازانتین حل شده در کلروفورم بود با پیپت در لوله آزمایش ریخته شد و در یک حمام آب گرم در درجه حرارت ۴۰°C به همراه برقراری جریان ملایمی از گاز نیتروژن قرار گرفت تاتمام حلال بخار گردد. پس از آن، نمونه مورد نظر در ۳mL استون ۲۰٪ حل شده و در n– هگزان حل و در درون لوله‌های آزمایشی فیلتر گردیدند[4] و درب آنها فوراً بسته شد. نمونه‌های به‌دست آمده با روش کروماتوگرافی مایع با بازده بالا HPLC و بر طبق روش کار برکنگ و همکاران اندازه‌گیری گردید[۸].

1. Maxatase Moel., International Br, Delft, Tke Netherlands
2. Merck, Darmstadt, Germany, No:7733
3. Whil Mixer, Fisons, England

۲-۲- تجزیه و تحلیل داده‌ها

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرحی کاملاً تصادفی (CRD) بود. قبل از انجام تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌های به دست آمده حاصل از اندازه‌گیریها مورد آزمون قرار گرفت و با توجه به نرمال بودن داده‌ها نیازی به تبدیل داده‌ها وجود نداشت. تجزیه واریانس با استفاده از روش One Way ANOVA و مقایسه میانگین به وسیلهٔ آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد. همچنین نیز برازش خطوط رگرسیونی بین محتوای آستازانتین تخم و لارو و نیز محتوای آستازانتین لارو با طول و وزن به وسیلهٔ نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۱ انجام گردید.

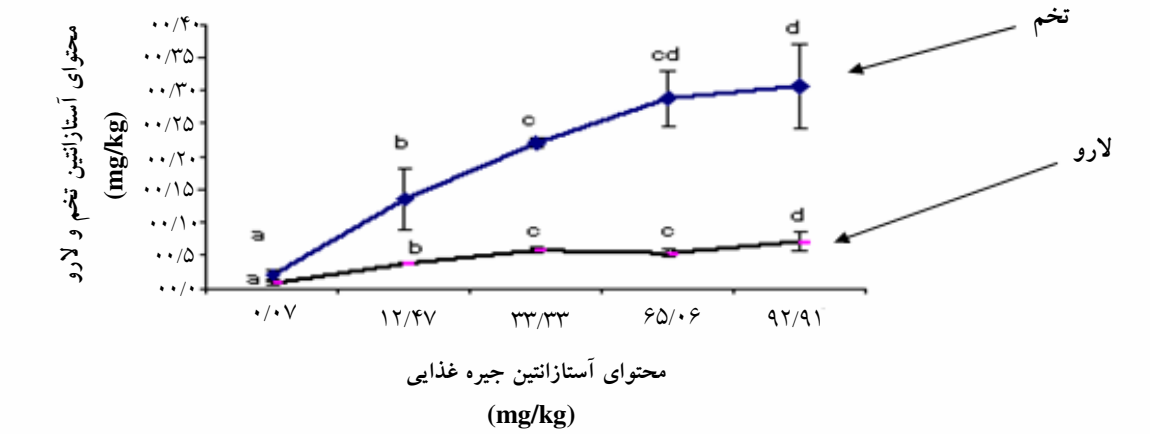
۳- نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای آستازانتین تخمک ماهیان گروه‌های آزمایشی نشان دهنده یک روند افزایشی بود. تفاوت معناداری ($p<0/05$) بین تیمارهای آزمایشی در خصوص این شاخص مشاهده گردید (شکل ۱). به طوری که پس از اندازه‌گیریهای آستازانتین موجود در تخم تیمارهای یک (کنترل) تا تیمار پنج به‌ترتیب دارای مقادیر ۲/۰۳، ۱۴/۸۳، ۲۱/۶، ۲۴/۹۴ و ۲۹/۷۹mg/kg بودند که کمترین و بیشترین مقدار به ترتیب مربوط به تیمار یک (کنترل) و پنج بود. رابطه

4. 0.45,µm, minisart srp15 sartorius, Germany

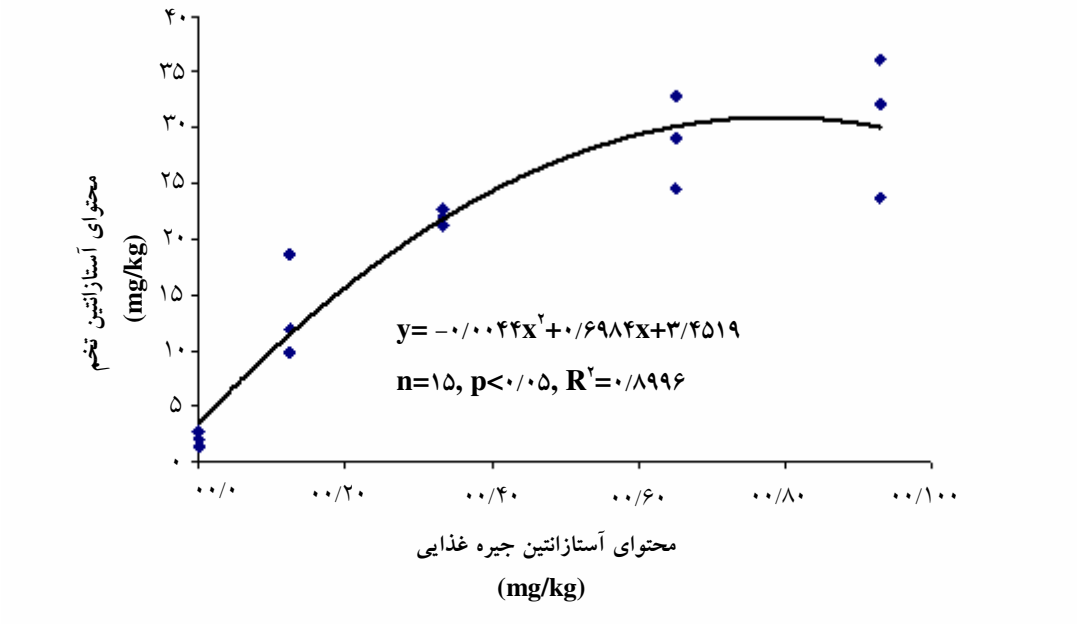
Archive of SID
www.SID.ir

رگرسیونی برازش داده شده بین محتوای آستازانتین غذا و محتوای آستازانتین تخم یک رابطه معنادار (p<۰/۰۵) بود و نشان‌دهنده یک روند افزایشی در محتوای آستازانتین تخم با افزایش آستازانتین موجود در غذا بود (شکل ۲). پس از آنالیز و برآورد محتوای آستازانتین بدن لارو مشاهده گردید که کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به محتوای آستازانتین تخم وجود دارد ولی با وجود این هنوز یک روند افزایشی مشاهده گردید. تفاوت معناداری (p<۰/۰۵) بین تیمارهای آزمایشی در خصوص آستازانتین موجود در بدن لارو مشاهده گردید (شکل۱) به طوری که تیمارهای یک (کنترل) تا پنج به‌ترتیب دارای مقادیر ۰/۷۱، ۳/۷، ۵/۷۴، ۵/۳۲ و ۷/۰۸mg/kg بودند که کمترین و بیشترین مقدار به‌ترتیب مربوط به تیمارهای یک (کنترل) و پنج بودند. رابطه رگرسیونی برازش داده شده بین محتوای آستازانتین تخم و محتوای آستازانتین بدن لارونیز یک رابطه معنادار (p<۰/۰۵) و افزایشی بود (شکل۳) و نشان دهنده یک روند افزایشی در محتوای آستازانتین بدن لارو با افزایش محتوای آستازانتین تخم بود. با مقایسه مقدار آستازانتین موجود در تخم و بدن لارو کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار آستازانتین تخم در بدن لارو مشاهده گردید. به طوری که کمترین و بیشترین مقدار کاهش مربوط به تیمار یک و چهار بود (شکل ۱)؛ اگرچه تفاوت معناداری در مقدار انتقال آستازانتین کل موجود در تخم به بدن لارو بین تیمارها مشاهده نگردید (p>۰/۰۵) ولی با وجود این کمترین مقدار میزان انتقال مربوط به تیمار چهار و بیشترین مقدار مربوط به تیمار یک بود (شکل ۶). اندازه‌گیریهای مربوط به وزن و طول ابتدایی لاروهای تازه به تغذیه افتاده تفاوت معناداری (p<۰/۰۵) را در خصوص این دو عامل در بین تیمارها نشان داد (شکل ۴ و ۵). به طوری که تیمار چهار با بالاترین مقادیر وزن و طول ابتدایی تفاوت معناداری (p<۰/۰۵) با سایر تیمارها داشت و تیمار کنترل نیز دارای پایین‌ترین مقادیر درخصوص عوامل مورد بررسی فوق بود. این مقدار در مورد عامل وزن در تیمار کنترل معنادار نبود (p>۰/۰۵) ولی در مورد عامل طول تیمار کنترل تفاوت معناداری (p<۰/۰۵) با سایر تیمارها داشت.

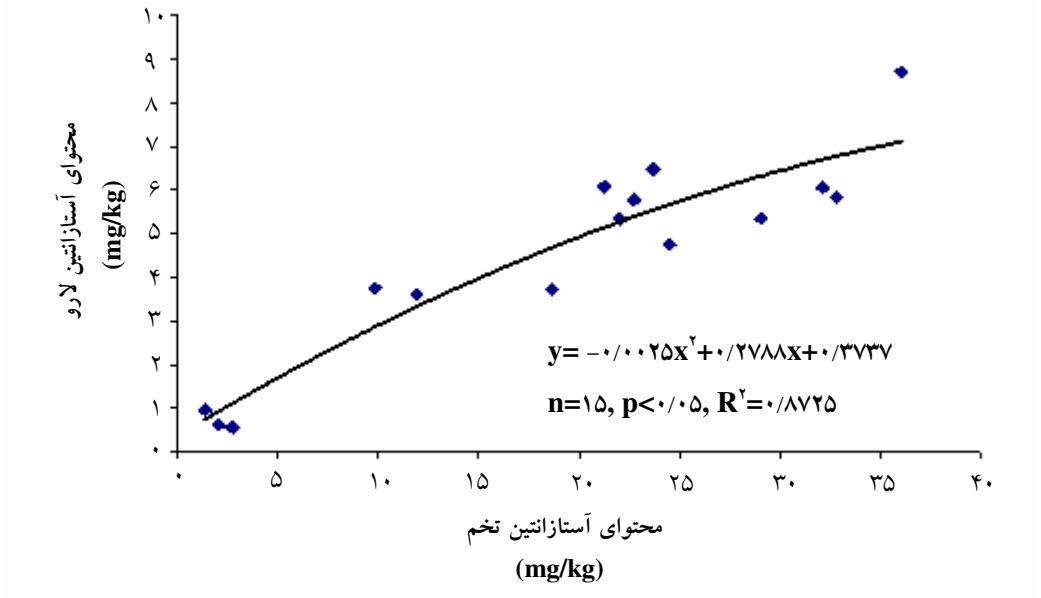


شکل۱ محتوای آستازانتین تخمک و لارو از تیمارهای آزمایشی

www.SID.ir

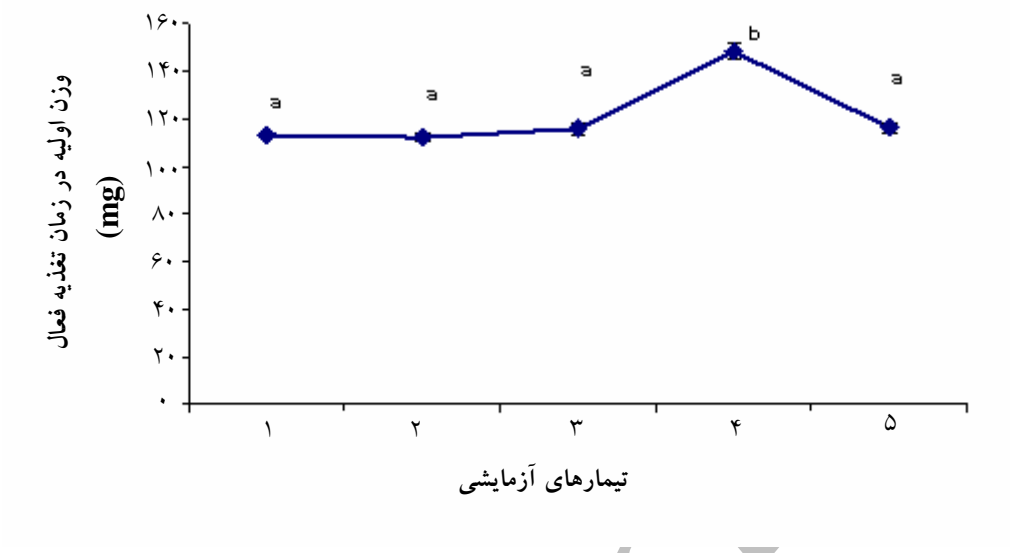


شکل۲ رابطه رگرسیونی برازش داده شده بین محتوای آستازانتینی جیره آزمایشی و تخمک

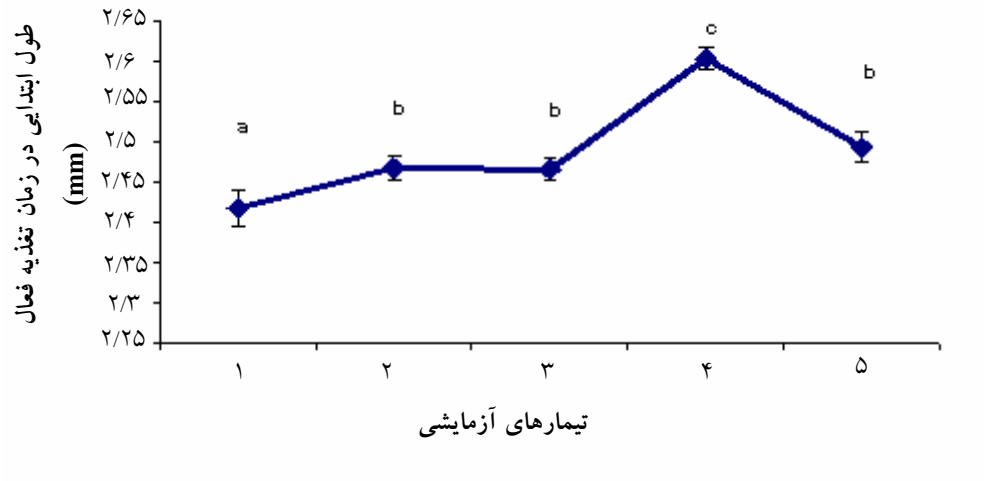


شکل۳ رابطه رگرسیونی برازش داده شده بین محتوای آستازانتینی تخمک لاروهای تیمارهای آزمایشی

www.SID.ir

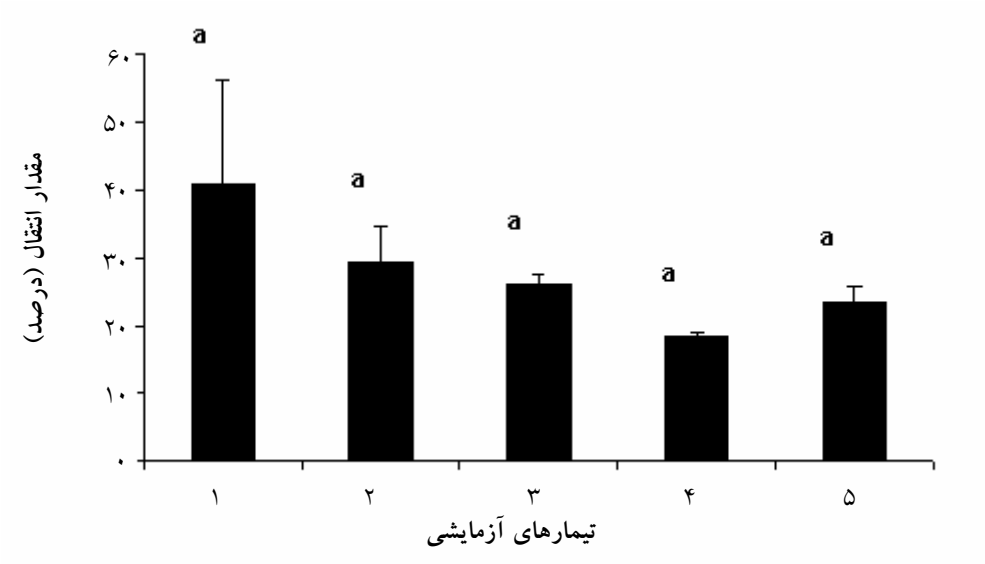


شکل۴ تأثیر آستازانتین جیره غذایی بر رشد وزنی ابتدایی لاروهای تازه به تغذیه افتاده



شکل۵ تأثیر آستازانتین جیره غذایی بر رشد طولی ابتدایی لاروهای تازه به تغذیه افتاده

www.SID.ir



شکل۶ درصد انتقال محتوای آستازانتینی تخم به لارو

۴- بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای آستازانتین تخمک تیمارهای آزمایشی نشان دهنده یک روند افزایش درمحتوای آستازانتین تخمک در ارتباط با افزایش محتوای آستازانتین جیره غذایی بود. به طوری که ماهیان تیمار پنج تخمهای رنگینتری نسبت به ماهیان تیمارهای دیگر تولید کردند. وجود کاروتنوئیدها درگناد آبزیان دریایی، آب شیرین و پرورشی مختلف گزارش شده است و ترکیب کاروتنوئیدها در این آبزیان از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت می‌باشد. در این میان درصد وجود رنگدانه آستازانتین که عمده‌ترین کاروتنوئید یافت شده در محیطهای آبزی می‌باشد بین صفر تا ۹۵٪ کاروتنوئید کل گزارش شده است. در گناد برخی از این آبزیان کاروتنوئیدها به فرم آزاد و در برخی دیگر به فرم استری قرار دارند[۱۰-۱۳]. طی رشد عضله ماهی آستازانتین هضم شده در روده ناشی از غذای مصرفی چه در طبیعت و چه در محیط پرورشی در عضله آزاد ماهیان تجمع می‌یابد و طی رشد و نمو تخمدانی کاروتنوئیدهای ذخیره شده در عضله و کبد به سمت گنادها انتقال داده می‌شوند و در تخمکها انباشته می‌شوند[۱۴، ۱۵]. به همین دلیل محتوای کاروتنوئید تخمک و رنگ ناشی از آن بستگی تام به مقدار کاروتنوئید کل انباشته شده دارد که ناشی از جیره غذایی بوده و طی زردەگیری مصرف شده است. در زردەگیری تخمدانها بر خلاف رشد عضله سریعاً رشد می‌کنند و انتقال کاروتنوئیدها به گنادها از عضله ممکن است در ارتباط با چربیها یا پیوندهای شیمیایی با زرده یا لیپوپروتئین‌هایHDL و VHDL باشد[۱۶]. در آزادماهیان یک تنوع بزرگ در محتوای کاروتنوئید عضله و تخم هم در بین گونه و هم در درون گونه‌ها وجود دارد[۶]. محتوای آستازانتین تخمک به دست آمده در مطالعه حاضر در دامنه ۲۹/۹۷-۲/۰۳ قرار داشت که تمام آستازانتین اندازه‌گیری شده به فرم آزاد یا غیر استری شده بود. ورانگر نیز در سال ۱۹۸۶ مقدار محتوای آستازانتین تخمک قزل‌آلای رنگین کمان را به فرم آزاد و در محدوده ۴/۶mg/kg-۱/۴ به دست آورد. با توجه به شکل (۱) مشاهده می‌شود که پس از سپری شدن دوره انکوباسیون و تبدیل شدن تخم به لاروهای در مرحله تغذیه فعال، مقدار قابل ملاحظه‌ای از محتوای آستازانتین موجود در تخم طی مرحله رشد و نمو جنینی کاهش می‌یابد و مقدار باقیمانده در مقایسه با محتوای آستازانتینی تخمک ناچیز می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین یک روند افزایشی درمحتوای آستازانتین بدن لارو در ارتباط با افزایش محتوای آستازانتین تخمک مشاهده می‌گردد (شکل ۳). مرگ و میر بالا طی رشد و نمو تخم ناشی از نبود مواد ضروری در تخم است که ماهی مادر نتوانسته آنها را طی رشد تخمدانی در تخم انباشته کند.یکی از این ترکیبات بسیار متنوع در تخم ماهیان کاروتنوئیدها بویژه آستازانتین می‌باشند. فرم آزاد رنگدانه آستازانتین در تخم نشان‌دهنده حضور فعال آنها از لحاظ متابولیک طی رشد و نمو جنینی می‌باشد[۲]. یک کاهش در مقدار غلظت آستازانتین طی دوره رسیدگی جنسی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده گردید[۵] که این کاهش می‌تواند به وسیله تبدیل آستازانتین به ویتامین A [۱۷]، کاروتنوئیدهای دیگر یا متابولیتهایش همانند ززانتین (Zexanthin)[۱۶] توجیه گردد.

غلظت بالای آستازانتین و پایین بتاکاروتن در تخمهای آزاد ماهیان [۶، ۱۸–۲۰] بیان می‌کند که آستازانتین می‌تواند بسیار مهمتر از بتاکاروتن در تبدیل به ویتامین A باشد و کاهش در مقدار غلظت آستازانتین می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که آستازانتین به عنوان پیش‌ساز ویتامین A طی رشد و نمو جنینی مورد نیاز بوده و از نظر متابولیک فعال می‌باشد[۲۱]. با توجه به نتایج حاصل از اندازه‌گیریهای مربوط به میزان انتقال رنگدانه آستازانتین از تخم هر یک از تیمارهای آزمایشی به لاروهای حاصل آن تیمار یک روند کاهشی در مقدار انتقال از تخم به لارو مشاهده گردید. به طوری که علیرغم عدم تفاوت معنادار بین تیمارها، تیمار کنترل بالاترین و تیمار چهار کمترین میزان انتقال را دارا بودند که این نتایج می‌تواند در توافق با نقش پیش‌سازی ویتامین A برای رنگدانه آستازانتین در طی رشد و نمو جنینی باشد و بیان کننده این امر است که تیمار چهار بالاترین توانایی در تبدیل آستازانتین به متابولیتها را دارد. درخصوص کاهش محتوای آستازانتینی تخمک در مرحله لاروی نتایج متفاوتی به‌دست آمده است، به طوری که در برخی از این مطالعات هیچگونه تفاوت معناداری از لحاظ کاهش غلظت کاروتنوئیدها در طی رشد و نمو جنینی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نگردید [۱۹، ۲۰] و در برخی از مطالعات دیگر یک کاهش در محتوای آستازانتین تخم در طی رشد و نمو جنینی مشاهده گردید[۲۲]. میکولین و سوین در سال ۱۹۷۵ نیز کاهشی را در محتوای تخم ماهی Lumpfish مشاهده کردند[۲۳]. همین طور کرایک و هاروی نیز در سال ۱۹۸۶ کاهش ناچیزی در حدود ۲–۴mg/kg را در محتوای تخم ماهی در طی رشد و نمو جنینی دیدند که نشان دهنده عملکرد متابولیکی کاروتنوئیدها در طی این دوره بود. تنها Jitariu و همکاران در سال ۱۹۷۵ یک افزایش غیرقابل توجیه در محتوای آستازانتین تخم در طی رشد و نمو جنینی مشاهده کردند[۲۴] که به دلیل مقدار پائین محتوای کاروتنوئید تخم (۰/۲۶ppm) احتمالاً عدم اطمینان از اندازه‌گیری آنها ناشی می‌شود. در مطالعه حاضر بیشترین مقدار آستازانتین یافت شده موجود در بدن لارو ناشی از تخم به فرم غیرآزاد یا استری شده بود و بقیه آستازانتین به فرم آزاد به دست آمد. به نظر می‌رسد که نقش عمده کاروتنوئیدهای تخم برای تولید و توسعه کروماتوفورهای پوست بدن لارو باشد[۲۵]. تئوری بیان شده گودوین با نتایجی که استون در سال۵۰–۱۹۴۹ و کیتاهارا در سال ۱۹۸۴ به‌دست آوردند که مبتنی بر عدم انتقال رنگدانه از تخم به لارو بود، تأیید گردید و نیز در آزمایشی که گلبولهای چربی لاروهای تخم‌گشایی شده قزل‌آلای رنگین‌کمان را برداشتند، هیچگونه تفاوتی در نرخ بقا در بین آنها به جز تفاوت رنگ در لاروهای مورد مطالعه ندیدند. بنابراین نقش و اهمیت کاروتنوئیدها در توسعه کروماتوفورها مدنظر قرار گرفت. همانطور که بیان شد آستازانتین استری شده در بدن لارو می‌باشد که در کروماتوفورها به‌صورت غیرفعال وجود دارد. بنابراین به نظرمی‌رسد که آستازانتین استری به‌دست آمده در این تحقیق از محتوای آستازانتین کل بدن لارو مربوط به کروماتوفورهای موجود در پوست بدن لارو بود که برای حفاظت در برابر تابش اشعه ماوراء بنفش مؤثر باشد[۲۶]. لاروهای تازه به تغذیه افتاده در شرایط طبیعی در

Archive of SID
www.SID.ir

موقع شنای آزاد وتغذیه اولیه در آب کم عمق رودخانه می‌باشند و در برابر اشعه ماوراء بنفش قرار دارند و این کاروتنوئیدهای استری شده موجود در کروماتوفورهای پوست می‌باشند که دارای نقش محافظتی‌اند [۲، ۱۹، ۲۲]. این امر در مورد قزل‌آلای پرورشی نیز مهم است چرا که اشعه ماوراء بنفش اگر در قسمت فوقانی سطح آب استخرهای پرورشی لارو قرار گیرد، می‌تواند باعث ایجاد آفتاب سوختگی در لارو ماهی گردد[۲۷]. بنابراین آستازانتین و دیگر کاروتنوئیدها می‌توانند اهمیت حیاتی در حفاظت از بچه ماهیان وحشی در رودخانه و در استخرهای پرورشی در برابر تشعشع کشنده نور خورشید داشته باشند. با اندازه‌گیری وزن و طول لاروهای تازه به تغذیه افتاده تیمارهای مختلف مشاهده گردید که تیمار چهار دارای بالاترین و تیمار کنترل دارای کمترین وزن و طول ابتدایی قبل از هر گونه تغذیه خارجی بوده است (شکل۴ و۵). بالاترین مقدار وزن و طول ابتدایی در لاروها در مورد تیمار چهار می‌تواند در ارتباط با پایین‌ترین میزان انتقال آستازانتین از تخم به لارو و بالاترین میزان تبدیل بوده باشد (شکل۶) که نشان‌دهنده این امر می‌باشد که آستازانتین موجود در تخمهای این تیمار بیشتر به متابولیتهای خود و در نهایت ویتامین A تبدیل شده‌اند و توانسته‌اند در مکانیسم رشد دخالت کنند. مطالعات نشان داده‌اند که آستازانتین طی دوره تغذیه ابتدایی نیاز است که در ارتباط با نیاز به نقش پیش‌سازی ویتامین A آستازانتین می‌باشد[۲۸، ۲۹]. در مطالعه حاضر لاروهای مورد آزمایش هیچگونه تغذیه خارجی نداشتند و تنها منبع تغذیه‌ای آنها کیسه زرده بود. این کیسه زردهٔ ناشی از تخمهای حاصل از ماهیان مولد ماده در ابتدا فقط آستازانتین آزاد داشتند که در طی نموجنینی قسمت اعظم آن تبدیل به فرم استری شده بود. باقیمانده که به فرم آزاد بود به نظر می‌رسد از نظر متابولیکی فعال بوده و به وسیلهٔ نقش پیش‌سازی ویتامین A و ایجاد دیگر متابولیتهای فعال خودش باعث تحریک رشد اولیه لاروهای حاصل شده باشد[۳۰].

۵- منابع

[1] Ando S., Hatano M.; Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon Oncorhynchus deta during spawning migration. Comp. Biochem; Physiol. 1987; 87B, 411-416.

[2] Bjerkeng B., Følling M., Lagocki S., Storebakken T., Olli J. J., Alsted N.; «Bioavailability of all-E-astaxanthin and Z-astaxanthin isomers in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)»; *Aquaculture*; 1997; 157, 63-82.

[3] Bjerkeng B., Hatlen B., Jobling M.; Astaxanthin and its metabolites idoxanthin and crustaxanthin in flesh, skin, and gonads of sexually immature and maturingArctic charr (Salvelinus alpinus (L.)); Comp. Biochem. Physiol; 2000; 125B, 395-404.

[4] Bjerkeng B., Storebaken T., Liaaen-Jensen S.; «Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation»; *Aquaculture*; 1992; 108, 333-346.

[5] Bullock A. M., Roberts R. J.; «Sunburn lesions in salmonid fry: a clinical and histological report»; *J. Fish Dis*., 1981; 4: 271-275.

[6] Christiansen R., Lie Ø., Torrissen O. J.; Effect of astaxanthin and vitamin A on growth and survival during first feeding of Atlantic salmon, Salmo salar L; Aquacult. Fish. Manage; 1994; 25, 903-914.

[7] Christiansen R., Struksnaes G., Estermann R. & Torrissen O. J.; Antioxidant status and immunity in Atlantic salmon, Salmo salar L. *Aquacult*. Res.; 1995a; 26, 311-321.

[8] Christiansen R., «The effects of Astaxanthin on the early life stages of atlantic salmon (Salmo salar)». *Disseration presented for the degree of Doctor scientarium*. University of Bergen; 1996; pp:328

Archive of SID
www.SID.ir

[9] Craik J. C. A.; Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes; *Aquaculture*; 1985; 47, 61-88.

[10] Glover M., Morton R. A., Rosen D. G.; Astaxanthin, cholesterol and lipids in developing salmon eggs; *Biochem. J*., 1952; 50: 425-429.

[11] Goodwin T. W.; Carotenoids in fish. In: Williams R. T., ed. The Biochemistry of Fish., (pp. 63-82). Biochemical Society Symposia no. 6; 1951.

[12] Goodwin T. W.; The comparative biochemistry of the carotenoeds; Chapman and Hall, London; 1952; 356-pp.

[13] Grung M., Svendsen Y. S., Liaaen-Jensen S.; The carotenoids of eggs of wild and farmed cod (Gadus morhua). Comp. Biochem. Physiol; 1993; 106B: 237-242.

[14] Jitariu M., Chera E., Duca E., Linck G., Rotimberg P., Szilagyi I.; Lipidocarotenoid metabolism in Salmo gairdneri during embryogenesis; Rev. Roum. Biol., Ser. Biol. Anim.; 1975; 20: 269-274.

[15] Kitahara T.; Behavior of carotenoids in the chum salmon migration; Comp. Biochem. Physiol; 1983; 76B, 97-101.

[16] Kitahara T.; Behavior of carotenods in the chum salmon (Oncorhynchus keta) during development; *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish*; 1984; 50, 531-536.

[17] Guillou A., Choubert G., Storebakken T., De La Noue J., Kaushik S.; Bioconversion pathway of astaxanthin into retinol 2 in mature rainbow trout (Salmo gairdneri Rich) Comp. Biochem. Physiol., 1989; 94 B: 481-485.

[18] Matsuno T., Maoka T. and Ikuno Y.; Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes- XXVII; Carotenoids in the eggs of three species of Cyprinidae; Comp. Biochem. Physiol.; 1986; 83B: 335-337.

[19] Miki W., Yamaguchi K., Konosu S.; Comparison of carotenoids in the ovaries of marine fish and shellfish; Comp. Biochem. Physiol.; 1982; 77B: 7-11.

[20] Mikulin A. Y.; Soin S. G.; The functional significance of carotenoids in the embryonic development of telests; *J. Ichthyol*.; (Engl. Trans. Vopr. Ikhtiol.); 1975; 15: 749-759.

[21] Schiedt K.; Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans. In: Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H.; (Eds.) Carotenoids. Biosynthesis and Metabolism, Birkhäuser, Base., Switzerland; 1998; Vol. 3. pp. 285-358.

[22] Schiedt K., Leuenberger F., J., Vecchi M.; Natural occurrence of enantiomeric and meso-astaxanthin 5. Ex wild salmon (Salmo salar and Oncorhynchus); Helv. Chim. Acta; 1981; 64, 449-457.

[23] Steven D. M., Studies on Animal Carotenoids. 1. Carotenoids of the Brown Trout; *J. Exp. Biology*, 1948; 25: 369-387.

[24] Steven D. M.; Studies on Animal Carotenoidss. 2. Carotenoids in the reproductive cycle of the brown Trout; *J. Exp. Biology*; 1949-1950; 26: 295-303.

[25] Torissen K. R., Torrissen O. J.; Protease activities and carotenoid levels during the sexual maturation of Atlantic salmon (Salmo salar); *Aquaculture*; 1985; 50: 113-122.

[26] Torrissen O. J.; Pigmentation of salmonidw-Effect of carotenoids in eggs and start-feeding diet on survival and growth rate; *Aquaculture*; 1984; 43, 185-193.

[27] Torrissen O. J., Biological activities of carotenoids in fishes. In: Takeda M., Watanabe T.; eds. The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture. Proc. Third Int. Symp. On Feeding and Nutr. In Fish, (pp. 387-399). Tolyo University of Fisheries; Tokyo; 1990.

[28] Torrissen O. J., Hardy R. W., Shearer K. D.; Pigmentation of salmonids-Carotenoid deposition and metabolism; CRC Crit. Rev. Aquat. Sci; 1989; 1, 209-225.

Archive of SID

www.SID.ir

premixes with HPLC. In: Keller, H. E. (Ed.), Analytical methods for vitamins and carotenoids in feed, Hoffmann-La Roche, Basel, Switzeland, Index no; 1990; 2264, 4p.

[29] Tveranger B., Effect of pigment content in broodstock diet on subsequent fertilization rate. Survival and growth rate of rainbow trout (Salmo gairdneri) offspring; *Aquaculture*; 1986; 53: 85-93.

[30] Weber S.; Revised supplement: Determination of stabilized, added astaxanthin in fish feeds and

Archive of SID

www.SID.ir