اثر سطوح مختلف نوکلئوتید جیره‌غذایی بر رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف مولد ماده میگوی سفیدغربی (*Litopenaeus vannamei*) طی رسیدگی جنسی و قطع پایه چشمی

علی ارشدی[1*]، وحید یاوری[2]، امین اوجی فرد[3]، سید محمد موسوی[2]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۳. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۸

چکیده

در این پژوهش تأثیر استفاده از چهار سطح نوکلئوتید (۰، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد) جیره‌غذایی بر رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف مولد میگوی سفیدغربی (*Litopenaeus vannamei*) در چهار تیمار آزمایشی (هر یک دارای سه تکرار) بررسی شد. تغذیه مولدین به‌صورت توأم (۲وعده غذای تر و ۲ وعده غذای کنسانتره) صورت گرفت. پس از ۳ هفته تغذیه، میگوها با قیچی داغ شده، قطع پایه چشمی شدند. نمونه‌گیری از همولنف طی ۳ مرحله یعنی ابتدای دوره (قبل از شروع تغذیه)، ۲۱ روز (قبل از قطع پایه چشمی) و ۳۰ روز (۹ روز پس از قطع پایه چشمی) پس از شروع تغذیه با جیره‌های‌غذایی هر تیمار صورت‌گرفت. در طی دوره آزمایش، دما (۱/۲۴ ± ۲۷/۷۹ درجه سانتیگراد)، اکسیژن محلول (۰/۴۱ ± ۵/۷۸ میلی گرم در لیتر)، شوری (۳/۱ ± ۳۱/۸۲ ppt) و pH (۰/۱۸ ± ۷/۹) آب تیمارهای آزمایشی روزانه بررسی و ثبت شد. شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف مولدین آزمایشی از جمله گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، کلسیم، آلبومین، پروتئین کل و HDL در ابتدای دوره تغذیه‌ای، ۲۱ روز (قبل از قطع پایه چشمی) و ۳۰ روز پس از شروع تغذیه به روش‌های متداول بیوشیمیایی مورد سنجش قرارگرفت. نتایج نشان دادند افزایش وزن، درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه و میزان رشد روزانه مولدین تغذیه شده با تیمارهای مختلف نوکلئوتید نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. طبق نتایج، سطوح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین و پروتئین‌کل همولنف مولدین آزمایشی پس از ۲۱ روز تغذیه با جیره‌های حاوی نوکلئوتید افزایش معنی‌داری یافت ($P<0/05$). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از نوکلئوتید خوراکی در سطح ۰/۴ درصد جیره‌غذایی می‌تواند رسیدگی جنسی در میگوی سفیدغربی را بهبود بخشد.

واژه های کلیدی: میگوی سفیدغربی، نوکلئوتید، شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف، رشد، رسیدگی جنسی.

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: arshadi@uoz.ac.ir

۱. مقدمه

آبزی‌پروری یکی از بخش‌های تولیدات غذایی با بیشترین رشد در دنیا است که از دهه ۱۹۷۰ تاکنون متوسط رشد ۹/۲ درصدی داشته؛ در صورتی‌که متوسط افزایش سالانه صید و صیادی آبزیان و تولیدات گوشتی از طریق پرورش جانوران خشکی‌زی به ترتیب ۱/۴ و ۲/۸ درصد بوده‌است (FAO, 2014). صنعت تکثیر و پرورش میگو در ایران سابقه‌کوتاهی دارد؛ و در این مدت از رشد چشمگیری داشته‌است، به‌طوری‌که انتظار می‌رود براساس سند چشم‌انداز برنامه بیست ساله در پایان سال ۱۴۰۴ هجری شمسی حدود یکصدهزارهکتار از اراضی مستعد به این امر اختصاص یابد (Afsharnasab, 2007). مهمترین استراتژی در مدیریت کارگاه تکثیر میگو حفظ تنوع ژنتیکی مولدین با برنامه‌های اصلاح نژادی و دورگه‌گیری، افزایش عملکرد تولیدمثل مولدین، رعایت اصول مربوط به امنیت زیستی[۱]، حفظ کیفیت آب و همچنین مدیریت تغذیه است (Kolkovski, 2011). در میگوهای پنائیده، تغذیه مولدین یکی از فاکتورهای کلیدی مؤثر در رسیدگی جنسی، کارایی تکثیر و کیفیت لاروهای حاصله است (Harrison, 1990; Holt, 2011). استعمال داروهای شیمیایی[۲]، محرک‌های بلوغ جنسی مولدین، محرک‌های سیستم ایمنی[۳] و پروبیوتیک‌ها از طریق غذا بهترین روش برای بهبود رشد، بلوغ جنسی، پیشگیری و کنترل انواع بیماری‌های میگو گزارش شده‌است. محققین نشان‌دادند که هرگاه در غذای مولدین، تعدیل ترکیبات جیره به خوبی صورت نگرفته و یا عناصر ضروری به حد کافی در غذا موجود نباشد، راندمان تولیدمثلی کاهش یافته و یا حتی ممکن‌است روند آن به‌طور کامل متوقف شود. از طرفی در اغلب مراکز نگهداری مولدین میگو، تهیه غذا، بالاترین هزینه را به خود اختصاص می‌دهد (Wouters *et al.*, 2000). با توجه به این‌که در کشور ما میگوی سفیدغربی یک گونه تجاری مهم غیر بومی می‌باشد و سالانه هزینه‌های زیادی جهت تأمین مولد از خارج کشور صورت می‌گیرد؛ لذا یکی از راهکارهای اساسی در تأمین مولد و بی‌نیازی به مولدین وارداتی، تولید مولدپرورشی است. با تأمین نیازهای غذایی، شرایط مناسب محیطی و همچنین کنترل بیماری‌ها، اهلی‌سازی میگوی سفیدغربی در سیستم پرورشی را می‌توان در تولید مولدپرورشی مدنظر قرارداد (Arcos *et al*, 2003a). میزان موفقیت درفرآیند پرورش آبزیان به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر کیفیت مولدین، تخم‌ها و متعاقب آن لاروهای حاصله است که هریک خود به‌طور قابل‌توجهی به تغذیه مولدین وابسته‌است (Holt, 2011; Fegan, 2006). نوکلئوتیدها یکی از اجزاء ضروری جیره‌غذایی مولدین میگو است‌که به‌عنوان واحد ساختمانی اسیدهای نوکلئیک، DNA و RNA هستند و در ذخیره، انتقال، بیان اطلاعات و افزایش تکثیر سلول‌ها، کاهش استرس، تأمین انرژی متابولیک، ساخت آنزیم‌ها و پروتئین‌های مختلف نقش تعیین کننده‌ای دارند (Davis & Parker, 1990; Fontana *et al.*, 1998). همچنین به عنوان یکی از اجزای اساسی جیره‌غذایی و محرک‌های سیستم ایمنی در بسیاری از مسیرهای بیوسنتز نیز نقش دارند؛ به‌عنوان مثال یوریدین‌دی‌فسفات (UDP) در بیوسنتز پلی‌ساکاریدها و ویتامین C و سیتیدین‌دی‌فسفات (CDP) در بیوسنتز لیپیدها، پروتئین‌ها و افزایش روند زرده‌سازی و تجمع زرده در تخم، افزایش میزان هماوری مولدین و بهبود مراحل تکامل جنینی تخم نقش دارند (Boza, 1998 ؛ Li and Gatlin, 2006؛ Phiriyangkul, 2006). نوکلئوتیدها ازترکیبات غیرضروری بوده و پورین‌ها و پریمیدین‌های ساخته شده از مسیر *de novo* یا *salvage* در شرایط معمولی برای فرد کافی هستند. اما طی مراحل تولیدمثل و تکامل جنینی تخم و همچنین در شرایط استرس‌زا تولید نوکلئوتید طبیعی از دو مسیر فوق کافی نبوده و نوکلئوتید خارجی

[۱] Biosecurity
[۲] Chemotherapeutant
[۳] Immunostimulant

(اضافه‌شده به‌صورت مکمل به غذا) می‌تواند مفید باشد (Davis & Parker, 1990; Fegan, 2006). وزن تخمدان میگوهائی که در مرحله رسیدگی جنسی قرار دارند پس از قطع پایه چشمی ظرف یک هفته به ۴ تا ۶ برابر وزن اولیه رسیده و بالغ می‌گردد. از این‌رو لازم است طی این مدت مواد مغذی کافی و لازم جهت ذخیره‌سازی در تخمک‌ها فرآهم باشد تا تکامل جنینی و مراحل اولیه لاروی بخوبی به‌انجام رسد (Wouters *et al.*, 2000). در بسیاری از گونه‌ها وتیلوژنین[1] که پیش‌ساز زرده[2] است، توسط همولنف از هپاتوپانکراس به تخمدان انتقال داده‌می‌شود که منجربه رشد نهایی اووسیت‌ها می‌شود، وتیلوژنین تا اینجا به‌شکل مجزا بوده و سپس با اضافه شدن پلی‌ساکاریدها و لیپیدها به‌صورت ویتلین یا زرده در اووسیت‌ها ذخیره می‌گردد. از این جهت در بسیاری از گونه‌ها سنجش پارامترهای بیوشیمیایی همولنف که در سنتز پروتئین زرده دخالت دارند، یک شاخص مناسب جهت ارزیابی فعالیت تولیدمثلی جنس ماده محسوب می‌شود (Tsukimura, 2001). همچنین تکامل و کیفیت تخم و ناپلی که اولین مرحله لاروی می‌باشد به طور مستقیم متأثر از ترکیبات جیره‌غذایی مولد می‌باشد که این ترکیبات از مادر به‌صورت ذخایر غذایی زرده به تخم منتقل می‌گردند و تا قبل از شروع تغذیه خارجی به‌عنوان منبع غذایی لارو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Racotta *et al.*, 2003).

همولنف به‌عنوان یک مایع بیولوژیک مهم قابل دسترس در تعداد زیادی از گونه‌های آبزیان از جمله انواع گونه‌های میگو همانند خون نقش مهمی در تبادلات یونی و حمل و نقل مواد و انجام بسیاری از فعالیت‌های شیمیایی مورد نیاز بدن بر عهده دارد؛ لذا مطالعه و سنجش ترکیبات بیوشیمیایی آن می‌تواند حائز اهمیت باشد. با توجه به این که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر نوکلئوتید جیره‌غذایی بر رسیدگی جنسی و تولیدمثل مولدین میگوهای پنائیده صورت نگرفته‌است و از طرفی با توجه به اثرات گوناگون و متنوعی که مکمل غذایی نوکلئوتید بر واکنش‌های مختلف فیزیولوژیک از جمله زرده‌سازی می‌گذارند، این مطالعه با هدف بررسی اثرات این ماده مغذی بر پارامترهای بیوشیمیایی همولنف مولد میگوی سفیدغربی طی مراحل رسیدگی جنسی و قطع پایه چشمی طراحی و اجرا گردید.

۲. مواد و روش ها

این تحقیق در بهار سال ۱۳۹۳ در کارگاه تکثیر میگوی صیدان جنوب بندر گناوه (استان بوشهر) در ۴ تیمار آزمایشی و با ۳ تکرار اجرا شد. ۱۲ مخزن مدور پلی اتیلن ۳۰۰ لیتری (قطر کف ۷۰ سانتیمتر، قطر دهانه ۸۰ سانتیمتر و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر) با دیواره تیره رنگ برای این آزمایش در نظر گرفته‌شد. قبل از ذخیره‌سازی، تانک‌ها به‌وسیله مواد ضدعفونی‌کننده هیپوکلریت‌سدیم کاملا ضدعفونی شده و سپس با آب شستشو داده‌شدند. ۱۲۰ قطعه مولد میگو به نسبت جنسی ۱ نر به ۱/۵ ماده (۱۰ قطعه در هر تانک ذخیره‌سازی) شدند. هر یک از مخازن با ۲۸۰ لیتر آب فیلتر شده دریا با شوری ppt ۳/۱± ۳۱/۸۲، pH ۰/۱۸± ۷/۹، اکسیژن محلول ppm ۰/۴۱± ۵/۷۸ و دمای ۱/۲۴± ۲۷/۷۹ درجه‌سانتیگراد آب‌گیری و در طول دوره آزمایش روزانه ۱۰۰ درصد آب از طریق سیفون کردن جهت برداشت باقیمانده‌های غذایی و مدفوع تعویض می‌گردید. برای هوادهی و تأمین اکسیژن به هر یک از مخازن ۱ عدد سنگ هوا که به سیستم هواده متصل بود نصب گردید. دمای هوای سالن رسیدگی جنسی مولدین نیز به کمک سیستم گرمایشی در حد ۲۸ درجه‌سانتیگراد تنظیم شد. برای جلوگیری از خارج شدن و تلفات مولدین میگو هر تانک با توری پوشانده شد. آزمایش در سالن رسیدگی جنسی مولدین مرکز تکثیر میگوی صیدان جنوب با دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی طی

[1] Vitellogenin
[2] Vitellin

۳۰ روز انجام شد. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب طی دوره آزمایش به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد (جدول ۱). زیست‌سنجی میگوها در ابتدا و انتهای دوره با دقت ۰/۰۱ گرم برای سنجش وزن و با دقت ۱ میلی متر برای طول کل (نوک رستروم تا انتهای تلسون) انجام گرفت (Arcos *et al.*, 2004; Arcos *et al.*, 2005; Racotta *et al.*, 2003; FAO, 2003).

از نرم‌افزار (Copy right 1999, release 6.1, USA) Lindo در تهیه ۴ جیره آزمایشی استفاده شد. ترکیب چهار جیره ساخته شده برای مولدین میگوی سفیدغربی در جدول ۱ نشان‌داده‌شده‌است. کلیه مراحل ساخت غذا در آزمایشگاه تغذیه آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر انجام‌شد. اجزای غذایی نظیر پودر ماهی و پودر سر میگو ابتدا آسیاب شده و با الک ۰/۵ میلیمتری غربال شده، سپس کلیه مواد اولیه بر اساس فرمول نوشته شده توزین شدند. برای ساخت جیره‌ها مواد اولیه درون همزن به مدت ۳۰ دقیقه کاملا هم‌زده شدند تا مخلوطی همگن تهیه شد. ابتدا براساس بیوماس موجود و همچنین طول دوره آزمایش میزان دقیق نوکلئوتید موردنیاز در چهار سطح صفر (تیمار ۱)، ۰/۲ (تیمار ۲)، ۰/۴ (تیمار ۳) و ۰/۶ درصد (تیمار ۴) جیره روزانه برای هر تیمار محاسبه گردید؛ سپس این مکمل‌غذایی بر اساس دستورالعمل شرکت کموفورما، با آب مخلوط و به جیره پایه اضافه شد. پس از اضافه نمودن مکمل، مواد غذایی از چرخ گوشت با قطر چشمه ۳ میلیمتر عبور داده شد و رشته‌های خارج شده بر روی سینی‌های توری فلزی جمع‌آوری و در خشک‌کن با دمای ۵۰ درجه‌سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. در نهایت پلت‌های غذایی در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی و در فریزر (دمای منفی ۲۰ درجه‌سانتیگراد) دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر نگهداری شدند.

تغذیه روزانه به‌صورت توأم[1] (۲ وعده غذای تر با رطوبت ۷۰ تا ۷۵ درصد و ۲ وعده غذای کنسانتره) صورت گرفت که به میزان ۱۵ درصد وزن بدن غذای تر (اسکوئید، کرم پلی کت و جگر مرغ) و به میزان ۳ درصد وزن بدن میگوها نیز از غذای دستی با ۴ سطح (۰ ، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ درصد) مکمل نوکلئوتید استفاده شد (Alday-Sanz, 2010; Arcos *et al.*, 2011; Wouters *et al.*, 2000). پس از ۳ هفته تغذیه، میگوها با قیچی داغ‌شده قطع پایه چشمی شدند. پس از قطع پایه چشمی، به کمک تاباندن نور چراغ قوه به سطح پشتی بدن با مشاهده اندازه، حجم و رنگ توده تخمدان، مراحل رسیدگی جنسی مولدین ماده به‌صورت روزانه مورد ارزیابی قرار می‌گرفت (Alday-Sanz, 2010).

نمونه‌گیری از هملونف که حدود ۵ درصد وزن بدن میگوها را تشکیل می‌دهد طی ۳ مرحله یعنی ابتدای دوره (قبل از شروع تغذیه)، ۲۱ روز (قبل از قطع پایه چشمی) و ۳۰ روز (۹ روز پس از قطع پایه چشمی) پس از شروع تغذیه با جیره‌های‌غذایی هر تیمار صورت گرفت. حدود ۱۰ دقیقه قبل از هملونف‌گیری، برای کاهش استرس و تحرک، مولدین آزمایشی در آب تشت حاوی یخ خشک با دمای ۴ درجه‌سانتیگراد قرار داده و برای جلوگیری از انعقاد و تغییر رنگ هملونف میگوها از ترکیب ۱:۱ هملونف با محلول خنک ضد انعقاد ۱۰ میلی‌مول Tris–HCl، ۲۵۰ میلی‌مول Sucrose، ۱۰۰ میلی‌مول Sodium Citrate با pH = ۷/۶ استفاده شد. با توجه به سرعت بالای انعقاد هملونف میگو، ابتدا سرنگ ۱ میلی‌لیتری انسولین را به میزان ۰/۴ میلی‌لیتر از ماده ضد انعقاد با دمای ۴ درجه‌سانتیگراد پر کرده و سپس اقدام به گرفتن هملونف (۰/۴ میلی‌لیتر) از ناحیه بین پاهای اول و دوم شنا و از کنار طناب عصبی‌شکمی گردید.

[1] Co-Feeding

جدول ۱. ترکیب جیره‌های ساخته شده در چهار تیمار آزمایشی مولدین میگوی سفیدغربی

اجزای تشکیل دهنده	تیمارهای آزمایشی			
(درصد)	۱	۲	۳	۴
پودر ماهی[۴]	۶۵	۶۵	۶۵	۶۵
پودر میگو[۳]	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
آرد گندم	۷/۰۵	۷/۰۵	۷/۰۵	۷/۰۵
روغن ماهی[۱]	۲/۵۹	۲/۵۹	۲/۵۹	۲/۵۹
روغن سویا [۲]	۲/۵۹	۲/۵۹	۲/۵۹	۲/۵۹
مکمل معدنی[۲]	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامینی[۲]	۱	۱	۱	۱
کلسترول [۵]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
ضد قارچ[۲]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات[۳]	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
سلولز[۵]	۱	۰/۸	۰/۶	۰/۴
آنتی اکسیدان[۸]	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲
بایندر[۳]	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
لستین[۷]	۱	۱	۱	۱
مکمل نوکلئوتید[۶]	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۶
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
تجزیه تقریبی (٪)				
پروتئین	۵۵/۵			
چربی	۱۲			
رطوبت	۱۰			
خاکستر	۱۳			
فیبرخام	۴/۴			

۱-تهیه شده درشرکت پارس کیلکا ۲-تهیه شده ازکارخانه خوراک دام و آبزیان ۲۱ بیضاء شیراز ۳-تهیه شده از کارخانه غذای میگو هوواش بوشهر ۴-تهیه شده از کارخانه پودر ماهی میناب ۵-تهیه شده از شرکت مرک آلمان ۶-ساخت شرکت Chemoforma (سوئیس)، ۷-تهیه شده در شرکت کیمیا رشد ۸-تهیه شده از شرکت گرماب شیمی

با توجه به نسبت ۱:۱ همولنف با محلول ضد انعقاد، ضریب ۲ در سنجش تمام شاخص‌های همولنف لحاظ گردید. رنگ ترکیب همولنف با ضد انعقاد در مجاورت هوا از حالت بی رنگ به رنگ آبی آسمانی تغییر می‌کند (Yang *et al.*, 2014). بعد از استحصال همولنف بلافاصله محتویات درون سرنگ به درون یک میکروتیوپ استریل منتقل شد و تا مرحله آنالیز به تانک ازت مایع با دمای منفی ۱۹۶ درجه‌سانتیگراد منتقل گردید. پس از انتقال فلاکس نیتروژن به آزمایشگاه، میکروتیوب حاوی نمونه در دمای اتاق یخزدایی شده و با دستگاه ورتکس[۱] نمونه‌ها به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه همگن شدند. ترکیب نمونه و محلول ضد انعقاد جهت سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی همولنف ابتدا در ۶۰۰۰ دور دردقیقه با دمای ۴ درجه‌سانتیگراد به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید، سپس قسمت فوقانی نمونه سانتریفوژ شده را به کمک سمپلر جدا و جهت آنالیز بیوشیمیایی پلاسما به میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری دیگری انتقال داده شد (Palacios *et al.*, 2000; Acros *et al.*, 2003b). آنالیز بیوشیمیایی همولنف با دستگاه اتوآنالیزر بیوشیمیایی مدل BS-200 ساخت کارخانه Mindray کشور چین صورت گرفت. سنجش پروتئین کل محلول[۲](TSP)، کلسترول[۳](TC)، گلوکز، کلسیم، تری‌گلیسرید[۴](TG)، [۵]HDL و آلبومین با استفاده از روش رنگ‌سنجی و بااستفاده از کیت‌های بیوشیمیایی شرکت‌پارس‌آزمون (تهران–ایران) صورت گرفت (Pascual *et al.*, 2003 Emerenciano *et al.*, 2012).

شاخص‌های مختلف رشد مولدین از جمله درصد افزایش وزن بدن[۶] (BWI)، ضریب رشد ویژه[۷] (SGR) و میزان رشد روزانه[۸] (DGR) به‌ترتیب با استفاده از فرمول‌های شماره ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد (Sandeepa *et al.*, 2015):

$$BWI(\%) = \frac{W2-W1\times100}{W1} \quad (1)$$

W_1 :میانگین وزن اولیه(گرم)، W_2: میانگین وزن ثانویه(گرم)

[۱] Vortex
[۲] Total Soluble Proteins
[۳] Total Cholesterol
[۴] Triglyceride
[۵] High Density Lipoprotein
[۶] Body Weight Increase
[۷] Specific Growth Rate
[۸] Daily Growth Rate

$$SGR = \frac{(\mathrm{LnW2}-\mathrm{LnW1})\times 100}{\mathrm{t}} \quad (۲)$$

LnW_1: لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه، LnW_2: لگاریتم طبیعی میانگین وزن‌نهایی، t: طول دوره(روز)

$$DGR(\frac{gr}{day}) = \frac{\mathrm{W2}-\mathrm{W1}}{\mathrm{t}} \quad (۳)$$

W_1 :میانگین وزن اولیه(گرم)، W_2: میانگین وزن ثانویه (گرم) ، t: طول دوره رشد(روز)

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده گردید و پس از آن جهت بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده گردید. پس از برقراری شرایط همگنی داده‌ها از آزمون آماری One Way ANOVA و پس آزمون Duncan در سطح اعتماد ۵ درصد جهت مقایسه میانگین‌ها و از نرم افزار SPSS(18) برای آنالیز آماری استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های رشد از جمله درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و میزان رشد روزانه در جدول ۲ نشان داده‌شده‌است. نتایج نشان‌داد که تیمار ۰/۴ درصد دارای شاخص‌های رشد بالاتر از سایر تیمارها است ولی بین چهار تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده‌نشد (P>۰/۰۵).

میانگین ترکیبات بیوشیمیایی هملنف از جمله پروتئین‌کل، کلسترول، گلوکز، تری گلیسرید، HDL، کلسیم و آلبومین طی سه مرحله نمونه‌برداری برای تیمارهای مختلف آزمایش در جداول ۳، ۴ و ۵ نشان داده‌شده‌است. مطابق نتایج حاصله از آنالیز بیوشیمیایی هملنف مولدین میگوی سفیدغربی، سطح پارامترهای مورد بررسی در ابتدای آزمایش در هر چهار تیمار اختلاف معنی‌داری را نشان‌نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۳)، و پس از ۲۱ روز (قبل از قطع پایه چشمی) و ۳۰ روز تغذیه با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید، سطح اغلب پارامترهای مذکور در تیمار ۰/۴ درصد نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵) (جداول ۴ و ۵). نتایج حاصل از مقایسه فاکتورهای مختلف بیوشیمیایی هملنف مولدین میگو سفیدغربی طی سه مرحله نمونه برداری از هملنف یعنی مرحله اول: ابتدای آزمایش، مرحله دوم: پس از ۲۱ روز تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید (قبل از قطع پایه چشمی) و همچنین مرحله سوم: پس از ۳۰ روز تغذیه با جیره‌های غذایی مذکور (۹ روز بعد از قطع پایه چشمی) در شکل شماره ۱ نشان داده‌شده‌است.

جدول ۳. نتایج آنالیز بیوشیمیایی هملنف مولدین قبل از شروع دوره تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید (میانگین SD ± برای ۳ تکرار، (n=۳))

پارامترها (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	مقادیر
گلوکز	۱۱/۲ ± ۰/۳
کلسترول	۵۷/۳۷ ± ۰/۵۵
تری گلیسرید	۳۷/۶۷ ± ۲/۵۲
کلسیم	۵۷/۳۳ ± ۱/۵
آلبومین	۳/۶۴ ± ۰/۰۶
پروتئین کل	۱/۷۲ ± ۰/۰۳
HDL	۵/۶۷ ± ۱/۵۲

۴. بحث و نتیجه گیری

مطالعه‌ای در خصوص تأثیر نوکلئوتید جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، بلوغ و رسیدگی جنسی مولدین میگو یافت نشد و اطلاعات مربوط به نقش نوکلئوتید بر مولدین سایر آبزیان نیز بسیار محدود است. نتایج این تحقیق نشان‌داد که افزودن مکمل نوکلئوتیدی به جیره در هر سه تیمار آزمایشی منجر به افزایش شاخص‌های رشد مولدین در مقایسه با گروه شاهد می‌شود.

جدول ۲. نتایج شاخص‌های رشد مولدین میگوی سفیدغربی تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید پس از ۳۰ روز

تیمارهای آزمایشی نوکلئوتید(٪) / شاخص رشد	شاهد	۰/۲ درصد	۰/۴ درصد	۰/۶ درصد
متوسط وزن اولیه (گرم)	۲۹/۱۶ ±۱/۸۹	۳۰/۶ ±۲/۷۴	۳۰/۱۳ ±۲/۵۱	۳۱/۶ ±۲/۳۳
متوسط وزن نهایی (گرم)	۳۵/۳۸ ±۳/۰۴	۳۸/۲۶ ±۳/۱۷	۳۸/۵۱ ±۱/۵۷	۳۹/۶۲ ±۲/۵۶
متوسط طول کل اولیه (سانتیمتر)	۱۵/۰۷ ±۰/۸۴	۱۵/۱۱ ±۰/۷۳	۱۵/۲ ±۰/۷۶	۱۵/۳۶ ±۰/۳۱
متوسط طول کل نهایی (سانتیمتر)	۱۶/۲۲ ±۰/۶۱	۱۶/۴۱ ±۰/۸۱	۱۶/۳۷ ±۰/۲۱	۱۶/۸۲ ±۰/۳۸
درصد افزایش وزن بدن (BWI)	۲۱/۳۳ ±۳/۵۸	۲۶/۱۸ ±۲/۲۷	۲۸/۳۴ ±۴/۳۰	۲۵/۴۳ ±۱/۱۳
ضریب رشد ویژه (SGR) (درصد در روز)	۰/۵۴ ±۰/۱۷	۰/۶۳ ±۰/۱۶	۰/۷۸ ±۰/۲۶	۰/۶۶ ±۰/۰۲۸
میزان رشد روزانه (DGR) (گرم در روز)	۰/۱۹ ±۰/۰۶	۰/۲۳ ±۰/۰۷	۰/۲۶ ±۰/۰۹	۰/۲۳ ±۰/۰۴

میانگین SD ± برای ۳ تکرار، تعداد نمونه برای هر تیمار ۱۵ قطعه می‌باشد(n=۱۵)، نبودن حروف در هر ردیف نشانه نبود اختلاف معنی‌دار است(P>۰/۰۵).

جدول ۴. نتایج آنالیز بیوشیمیایی هملونف پس از ۲۱ روز (قبل از قطع پایه چشمی) تغذیه با جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید

تیمارهای آزمایشی نوکلئوتید(٪) / پارامترها (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	شاهد	۰/۲ درصد	۰/۴ درصد	۰/۶ درصد
گلوکز	$۱۲/۸ \pm ۰/۳^{c}$	$۱۳/۷۳ \pm ۰/۲۱^{b}$	$۱۴/۴۳ \pm ۰/۴۷^{a}$	$۱۴/۱۳ \pm ۰/۱۷^{ab}$
کلسترول	$۷۵/۸۷ \pm ۱/۰۱^{c}$	$۷۸/۱ \pm ۱/۲۱^{bc}$	$۸۰/۳ \pm ۱/۸۳^{ab}$	$۸۱/۲ \pm ۰/۶۲^{a}$
تری گلیسرید	۴۹ ± ۲^{c}	$۵۲/۶۷ \pm ۱/۵۳^{bc}$	$۵۸/۶۷ \pm ۱/۴۶^{a}$	۵۵ ± ۲^{ab}
کلسیم	$۵۷/۹۶ \pm ۱/۸۱^{b}$	$۶۲/۰۳ \pm ۱/۳۲^{a}$	$۶۱/۷ \pm ۲/۶۲^{ab}$	$۶۱/۶۳ \pm ۱/۹۵^{ab}$
آلبومین	$۴/۳۱ \pm ۰/۱۱^{d}$	$۴/۶۸ \pm ۰/۰۹^{c}$	$۵/۴۱ \pm ۰/۱۳^{b}$	$۵/۷۲ \pm ۰/۰۷^{a}$
پروتئین کل	$۲/۲۷ \pm ۰/۰۴^{d}$	$۲/۷۴ \pm ۰/۰۵^{c}$	$۳/۷۵ \pm ۰/۰۳^{a}$	$۳/۶۲ \pm ۰/۰۴^{b}$
HDL	$۶/۶۷ \pm ۱/۵۲^{b}$	$۸/۶۷ \pm ۱/۸۳^{ab}$	$۱۱/۳۳ \pm ۱/۲۶^{a}$	$۱۰/۳۳ \pm ۱/۳۸^{a}$

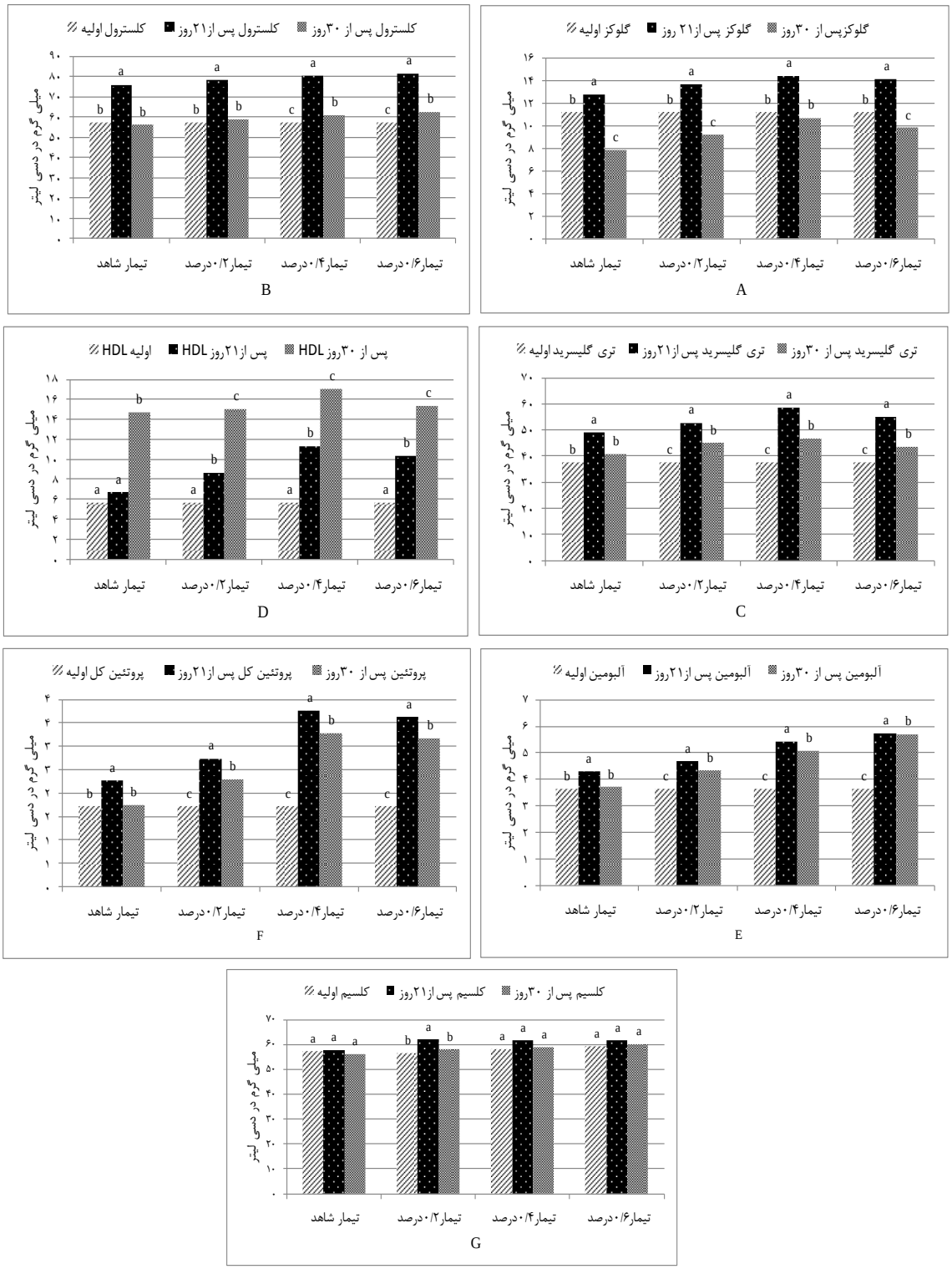
میانگین± SD برای ۳ تکرار، تعداد نمونه برای هر تیمار ۶ قطعه می‌باشد (n=۶)، نبودن حروف در هر ردیف نشانه نبود اختلاف معنی‌دار است (P>۰/۰۵).

جدول ۵. نتایج آنالیز بیوشیمیایی هملونف مولدین پس از ۳۰ روز تغذیه با جیره های حاوی مقادیر مختلف نوکلئوتید

تیمارهای آزمایشی نوکلئوتید(٪) / پارامترها (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	شاهد	۰/۲ درصد	۰/۴ درصد	۰/۶ درصد
گلوکز	$۷/۹ \pm ۰/۳^{c}$	$۹/۲۳ \pm ۰/۳۵^{b}$	$۱۰/۷۳ \pm ۰/۴۵^{a}$	$۹/۸۳ \pm ۰/۲۷^{b}$
کلسترول	$۵۶/۰۳ \pm ۱/۲۲^{c}$	$۵۹ \pm ۱/۵۱^{b}$	$۶۰/۷۳ \pm ۱/۲۳^{ab}$	$۶۲/۳۳ \pm ۱/۰۵^{a}$
تری گلیسرید	$۴۰/۶۷ \pm ۱/۵۳^{b}$	۴۵ ± ۲^{b}	$۴۶/۶۷ \pm ۱/۵۳^{a}$	$۴۳/۶۷ \pm ۲/۰۸^{ab}$
کلسیم	$۵۶/۱۷ \pm ۴/۳۸$	$۵۸/۰۷ \pm ۱/۷۲$	$۵۹/۱ \pm ۲/۹۱$	$۶۰/۱۷ \pm ۳/۰۴$
آلبومین	$۳/۷۱ \pm ۰/۰۴^{d}$	$۴/۳۳ \pm ۰/۱۳^{c}$	$۵/۲۷ \pm ۰/۰۱^{b}$	$۵/۷ \pm ۰/۱۴^{a}$
پروتئین کل	$۱/۷۵ \pm ۰/۰۳^{d}$	$۲/۳ \pm ۰/۰۷^{c}$	$۳/۲۷ \pm ۰/۰۵^{a}$	$۳/۱۶ \pm ۰/۰۵^{b}$
HDL	$۱۴/۶۷ \pm ۱/۵۳$	۱۵ ± ۱	۱۷ ± ۲	$۱۵/۳۳ \pm ۲/۰۸$

میانگین SD ± برای ۳ تکرار، تعداد نمونه برای هر تیمار ۶ قطعه می‌باشد(n=۶)، وجود حروف غیر مشابه نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

همچنین طبق نتایج تیمار ۰/۴ درصد نوکلئوتید سبب افزایش وزن نهایی بدن، درصد افزایش وزن بدن، ضریب رشدویژه و میزان رشد روزانه بیشتر در مقایسه با سایر تیمارها شد، هر چند این اختلاف معنی‌دار نبود.



شکل ۱. مقایسه میانگین سطح پارامترهای بیوشیمیایی گلوکز (A)، کلسترول (B)، تری‌گلیسرید (C)، HDL (D)، آلبومین (E)، پروتئین کل (F) و کلسیم (G) (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) همولنف مولدین میگو در سه مرحله نمونه برداری از چهار تیمار آزمایشی

تأثیر مثبت نوکلئوتید جیره بر رشد میگوی سفیدغربی درتحقیقات Oujifard (2008) و همکاران، Wang (2006) و Li و همکاران (2007) گزارش شده‌است. در تحقیق Hertrampf (2003) روی میگوهای تغذیه شده با نوکلئوتید، میزان وزن به‌دست‌آمده ۱۷/۸ تا ۲۴/۷ درصد در مقایسه با شاهد بهبودیافت. Borda و همکاران (2003) در بررسی‌های خود این فرضیه را مطرح کردند که یک منبع خارجی از نوکلئوتیدها ممکن است در مرحله تولیدمثل مولدین و مراحل اولیه رشد به دلیل تکثیر و همانندسازی بالای سلول‌ها، رشد ماهی و سخت پوستان را افزایش دهد. به‌علاوه این فرضیه مطرح شده‌است که اثر افزایش رشد متأثر از نوکلئوتیدهای جیره غذایی در نتیجه نقش آن در متابولیسم و تأمین واحدهای ساختمانی RNA و DNA در تقسیمات سلولی می‌باشد. نتایج این تحقیقات در ارتباط با افزایش رشد با نتایج تحقیق حاضر منطبق بود.

در مطالعه حاضر سطوح گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، آلبومین و پروتئین کل پلاسمای مولدین میگوی سفیدغربی تغذیه شده پس از ۲۱ روز با جیره تکمیلی حاوی نوکلئوتید نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت که در این‌میان تیمار ۰/۴ درصد نوکلئوتید نسبت به سایر تیمارها سطوح پارامترهای بیوشیمیایی بیشتری را نشان‌داد ($P<۰/۰۵$).

گلوکز یکی از ترکیبات مهم قندی در همولنف میگو است. در واقع گلوکز برای تمامی ارگانیسم‌ها اهمیت متابولیکی دارد. کربوهیدرات‌ها مقدار کمی از اجزاء سازنده زرده تخم و ناپلی را تشکیل می‌دهند و از این‌رو ذخیره انرژی محدودی دارند. یکی از کاربردهای ویژه گلوکز زرده، سنتز کیتین موردنیاز ناپلی طی چرخه‌های پوست‌اندازی متعدد است که در رشد دخالت دارد. بنابراین سنجش میزان کربوهیدرات‌های پلاسما را می‌توان مهم دانست. همچنین میزان گلوکز آزاد در تخم و ناپلی تحت تأثیر وضعیت تغذیه‌ای مولدین میگو قرار دارد (Palacios *et al.*, 1999). میزان غلظت کربوهیدرات کل در توده تخم‌ها بیشتر از مراحل تکامل بعدی تا پست لارو است که بیانگر مصرف آن طی تکامل مراحل لاروی است، که پس از ترکیب پلی ساکاریدها و لیپیدها با ویتلوژنین به صورت ویتلین یا زرده در اووسیت‌ها ذخیره می‌شود (Tsukimura, 2001). کربوهیدرات‌ها در بلوغ اووسیت‌ها و در بقاء مراحل اولیه لاروی دخالت دارند (Fredrick and Ravichandran, 2012). در تحقیقات حاضر کاهش سطح گلوکز در همولنف پس از قطع پایه چشمی و تا روز ۳۰ آزمایش طی بلوغ به‌دلیل نقش آن در زرده‌سازی و بلوغ نهایی اووسیت‌ها است که با مطالعات دیگر محققین هم‌خوانی داشت. طبق نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۱-A) میزان گلوکز طی ۲۱ روز تغذیه با جیره شاهد کمترین (۰/۳ ±۱۲/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و با جیره حاوی ۰/۴ درصد نوکلئوتید بیشترین افزایش (۰/۴۷ ±۱۴/۴۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) را داشت ($P<۰/۰۵$). پس از قطع پایه چشمی و تا روز ۳۰ آزمایش با توجه به ذخیره گلوکز در اووسیت‌ها میزان آن در همولنف کاهش یافت که در هر چهار تیمار در سه مرحله نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).

مطالعات زیادی درخصوص تأثیر نوکلئوتید بر سنتز چربی‌ها در میگو صورت‌نگرفته‌است. Siahanidou و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که نوزادان تغذیه‌شده با مکمل نوکلئوتید جیره به‌طور معنی‌داری میزان لیپوپروتئین با دانسیته بالا (کلسترولHDL) بیشتر و میزان لیپوپروتئین با دانسیته کم سرم کمتری نسبت به گروه کنترل داشتند (Nakagawa and Gatlin, 2007).

نوکلئوتیدها در بیوسنتز لیپیدها نیز نقش دارند، در نتیجه از طریق سنتز اسیدهای چرب غیراشباع[1] (PUFAs)، نقش مهمی در رشد، تولید مثل و همچنین القاء رسیدگی جنسی آبزیان دارند

[1] Polyunsaturated Fatty Acids

(Nakagawa and Gatlin, 2007). سخت‌پوستان توانایی محدودی در سنتز اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک و لینولنیک دارند و در تبدیل این اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA) به اسیدهای چرب فوق غیراشباع (HUFA) مانند اسیدهای آراشیدونیک، ایکوزاپنتانوئیک و دوکوزاهگزانوئیک، توانایی و کارایی لازم را ندارند (Calado, 2005). به‌علت طبیعت آب‌گریز بودن چربی‌ها، انتقال آنها در همولنف میگو به شکل کمپلکس چربی-پروتئین به نسبت ۱:۱ به‌صورت مولکول‌های محلول در آب به‌نام لیپوپروتئین[1] HDL صورت می‌گیرد (Fredrick and Ravichandran, 2012). ویتلین و ویتلوژنین میگوهای مختلف و دیگر سخت‌پوستان جزو لیپوپروتئین هستند (Lee, 1991). وتیلوژنین یک پروتئین ویژه جنس ماده است که فقط در همولنف میگوی ماده در حال رسیدگی جنسی و رشد تخمک دیده‌می‌شود (Wolin *et al.*, 1973). قطع پایه چشمی منجر به تسریع رشد گناد میگوی مولد ماده شده، که به‌واسطه انتقال ذخایر لیپیدی از هپاتوپانکراس به تخمدان از طریق همولنف صورت می‌گیرد (Teshima *et al.*, 1988; Harrison, 1990; Arcos *et al.*, 2003a)؛ بعد از قطع پایه چشمی جهت القاء رسیدگی جنسی میگو از میزان غلظت تری‌گلیسرید (TG) در هپاتوپانکراس کاسته می‌شود و غلظت این چربی‌ها در تخمدان افزایش می‌یابد که این خود گویای انتقال چربی با کمک ناقل لیپوپروتئین از هپاتوپانکراس از طریق همولنف به تخمدان است (Teshima *et al.*, 1988). تری‌گلیسرید یکی از چربی‌های بسیار مهم برای ذخیره انرژی است. در میگوهای پنائیده بیش از ۵۰ درصد چربی‌های تخم و بین ۲۰ تا ۳۰ درصد از چربی‌های مرحله ناپلی را تری‌گلیسرید تشکیل می‌دهد (Wouters *et al.*, 2001). چربی‌ها در مرحله تغذیه داخلی جنین و ناپلی و همچنین تأمین انرژی جهت پوست‌اندازی و رشد نقش دارند (Palacios *et al.*, 2001). نوسانات سطوح چربی‌های پلاسمای مولدین میگوی سفیدغربی در مطالعه حاضر با نتایج تحقیقات مذکور مطابقت داشت، بدین ترتیب که طبق شکل ۱-B, C میزان کلسترول و تری‌گلیسرید طی ۲۱ روز تغذیه با جیره شاهد به‌ترتیب کمترین مقدار (۱/۰۱ ±۷۵/۸۷ و ۲ ±۴۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و با جیره حاوی ۰/۶ درصد نوکلئوتید، کلسترول بیشترین افزایش (۰/۶۲ ±۸۱/۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و با جیره حاوی ۰/۴ درصد نوکلئوتید، تری‌گلیسرید بیشترین افزایش (۱/۴۶ ±۵۸/۶۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) را داشت (P<۰/۰۵). پس از قطع پایه چشمی تا روز سی‌ام آزمایش با توجه به تغییر و تبدیل چربی‌ها از منابع ذخیره‌ای خود در هپاتوپانکراس و انتقال آنها به تخمدان و ذخیره آنها در اووسیت‌ها طبق شکل ۱-D میزان HDL در همولنف افزایش یافت که با جیره شاهد کمترین مقدار (۱/۵۳ ± ۱۴/۶۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و با جیره حاوی ۰/۴ درصد نوکلئوتید، بیشترین افزایش (۲ ± ۱۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) را داشت و در هر چهار تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده‌گردید (P<۰/۰۵).

سطوح پروتئین در همولنف می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای پیش‌بینی توان تولیدمثلی و تخم‌ریزی استفاده‌شود (Arcos *et al.*, 2003a). بیشترین فراوانی اجزاء سازنده زرده تخم و ناپلی در میگوهای پنائیده پروتئین است که نقش ساختمانی و همچنین در مراحل ناپلی پیشرفته نقش تأمین انرژی را نیز ایفا می‌کند. سطوح پروتئین کل در ناپلی که در کیفیت لارو تأثیر دارد به وضعیت تغذیه‌ای مولد بستگی دارد (Palacios *et al.*, 1999). نتایج چندین مطالعه نشان داد که مولدین میگوهای ماده با سطوح بالاتر پروتئین کل، آلبومین، کلسترول، تری‌گلیسرید و چربی‌ها در همولنف قبل از قطع پایه چشمی در مرحله رسیدگی جنسی پیشرفته‌تری هستند و پس از قطع پایه چشمی با تسریع ذخیره‌سازی این ترکیبات مغذی دخیل در تکامل و زرده‌سازی نهایی اووسیت، غلظت

[1] High Density Lipoprotein

ترکیبات بیوشیمیایی مذکور پلاسما کاهش معنی‌داری پیدا می‌کنند که این کاهش نتیجه ذخیره ترکیبات مغذی در تخمدان و تسریع رسیدگی جنسی در میگوی سفیدهندی (Quinitio & Millamena, 1992) و میگوی سفیدغربی می‌شود(Arcos *et al.*, 2003b; Wouters *et al.*, 2001). در مطالعه حاضر نیز طبق شکل ۱- E و F پس از ۲۱ روز تغذیه با جیره کنترل و جیره‌های حاوی نوکلئوتید، محتوای آلبومین و پروتئین‌کل پلاسما همه میگوهای تغذیه شده با نوکلئوتید افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند به‌طوری که مقدار آلبومین و پروتئین کل پلاسمای مولدین تغذیه شده با جیره شاهد، کمترین مقدار و با جیره حاوی ۰/۶ درصد نوکلئوتید، بیشترین افزایش را آلبومین پلاسما و با جیره حاوی ۰/۴ درصد نوکلئوتید، بیشترین افزایش را پروتئین کل پلاسما داشت و در هر چهار تیمار اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

مطالعات زیادی در خصوص سنجش و مقایسه پارامترهای همولنف میگوهای مختلف صورت‌گرفته‌است، از جمله مطالعات Wilder و همکاران (1998)،Cheng و همکاران (2002) و Song و همکاران (۲۰۰۳) که میانگین میزان کلسیم همولنف را در گونه های *L.vannamei*، *M.rosenbergii* و *L.vannamei* به‌ترتیب ۱± ۷۰/۹۶ ، ۶۷ و ۳/۳۲± ۶۴/۰۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گزارش‌نموده‌اند که از میانگین میزان به‌دست‌آمده در تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق (۵۶ تا ۶۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) از میزان بالاتری برخوردارربود. تشابهات و اختلافات نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات صورت گرفته توسط محققین در گونه‌های مختلف و حتی نتایج متفاوت به‌دست‌آمده در یک گونه خاص بیانگر این است که مقادیر کلسیم همولنف نیز احتمالا همانند برخی دیگر از پارامترهای همولنف تحت تأثیر فاکتورها و شرایط مختلف از جمله پوست‌اندازی و نقل و انتقالات کلسیم اسکلتی به همولنف و معده، نوع جیره غذایی، نقش کلسیم در انتقال ویتلوژنین، روش‌های اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و مرحله زیستی میگو دست‌خوش نوسان می‌گردد (Chen *et al.*, 1997; Greenaway, 1985).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، می‌توان بیان نمود که نوکلئوتید جیره منجر به بهبود شاخص‌های رشد و افزایش بیوسنتز ترکیبات مختلف از جمله پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش روند زرده‌سازی و تجمع زرده در تخم می‌شود. طی مراحل بلوغ جنسی تولید نوکلئوتید طبیعی از دو مسیر *de novo* یا *salvage* کافی نیست و میزان نوکلئوتید بیشتری نسبت به آنچه در جیره‌های رایج میگو وجود دارد، نیاز است (Davis & Parker, 1990; Fegan, 2006). بنابراین براساس نتایج حاصل از این تحقیق، تأمین نوکلئوتیدهای خارجی در سطح ۰/۴ درصد می‌تواند آثار مفیدی را در رشد و افزایش سطح ترکیبات بیوشیمیایی همولنف دخیل در رسیدگی جنسی مولد میگوی سفیدغربی داشته باشد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و تقدیر خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، به‌منظور حمایت جهت انجام مراحل عملی این طرح و همچنین از مدیریت کارگاه تکثیر میگوی صیدان جنوب بندرگناوه، جناب آقای محمد عبدالهی به‌خاطر فراهم نمودن امکانات و محیط اجرای این تحقیق، ابراز می‌نمایند.

منابع

Afsharnasab, M. 2007. Methods to detect shrimp diseases. Ministry of Agriculture, Fisheries Research Institute of Iran. Pp: 35-48.

Alday-Sanz, V. 2010. The Shrimp Book. Nottingham University Press. P: 899.

Arcos, F. G., Ibarra, A. M., Racotta, I. S. 2011. Vitellogenin in hemolymph predicts gonad maturity in adult female *Litopenaeus vannamei* shrimp.Aquaculture,Vol:316.Pp:93-98.

Arcos, F. G., Ibarra, A. M., Vazquez-Boucard, C., Palacios, E.,Racotta, I. S. 2003b. Haemolymph metabolic variables in relation to eyestalk ablation and gonad development of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research, Vol: 34, Pp: 749-755.

Arcos, F. G., Palacios, E., Ibarra, A. M., Racotta, I. S. 2005. Larval quality in relation to consecutive spawning in *L. vannamei* Boone. Aquaculture research. Vol: 36. Pp: 890-897.

Arcos, F. G., Racotta, I. S., Ibarra, A. M. 2004. Genetic parameter estimates for reproductive traits and egg composition in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. Vol: 236. Pp: 151–165.

Arcos, G. F., Ibarra, A. M., Palacios, E., Vazquez-Boucard, C., Racotta, I. S. 2003a. Feasible predictive criteria for reproductive performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*: egg quality and female physiological condition. Aquaculture.Vol:228.Pp:335–349.

Borda, E., Martinez-Puig, D., Cordoba, X. 2003. A balanced nucleotide supply makes sense. Feed Mix. 11: 24-26.

Boza, J. 1998. Nucleotide in infant nutrition. Monatsschr Kinderheilkd, Vol: 146,Pp:39–48.

Calado, R., Rosa, R., Morais, S., Nunes, M. L., Narciso, L. 2005. Growth, survival, lipid and fatty acid profile of juvenile monaco shrimp *Lysmata seticaudata* fed on different diets. Aquaculture Research, Vol: 36, Pp: 493-504.

Chen, J. C., Chia, P.G. 1997. Oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels in the hemolymph of *Scylla serrata* in relation to size and molt cycle. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Vol: 217, Pp: 93 – 105.

Cheng, W.; Liu, C.H.; Yan, D.F., Chen, J.C. 2002. Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. Aquaculture, Vol: 211, Pp: 325 – 339.

Dall, W., Hill, J., Rothlisberg, P.C., Shaples, D.J. 1990. The Biology of the Penaeidae. Academic Press, San Diego, CA, P: 489.

Davis, K.B., Parker, N.C. 1990. Physiological stress in striped bass: Effect of acclimation temperature. Aquaculture. Vol: 91: Pp: 349–358.

Emerenciano, M., Cuzon, G., Mascaro, M., Arevalo, M., Norena-Barroso, E., Jeronimo, G., Racottae, I. S., Gaxiolab, G. 2012. Reproductive performance biochemical composition and fatty acid profile of wild-caught and 2nd generation domesticated *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) broodstock. Journal Aquaculture. Volumes: 344–349, Pp: 194-204.

FAO. 2003. Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (*penaeus vannamei*) hatcheries in Latin America. FAO fisheries technical paper no: 450, Rome. P: 69.

FAO. 2014. State of world fisheries and aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy. Pp: 230.

Fegan, D. F. 2006. Feeds for the future: the importance of better broodstock and larval nutrition in successful aquaculture. Alltech Inc. Bangkok. Thailand. P: 13.

Fontana, L., Moreira, E., Torres, M. I., Fernandez, I., Rios, A., Medina, F. S., Gil, A. 1998. Dietary nucleotides correct plasma and liver microsomal fatty acid alterations in rats with liver cirrhosis induced by oral intake of thioacetamide. J. Hepatol. Vol: 28. Pp: 662–669.

Fredrick, W. S., Ravichandran, S. 2012. Hemolymph proteins in marine crustaceans. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Vol: 2(6). Pp: 496-502.

Goimier, Y., Pascual, C., Sanchez, A., Gaxiola, G., Sanchez, A. 2006. Relation between reproductive, physiological, and immunological condition of *Litopenaeus setiferus* preadult males fed different dietary protein levels. Animal Reproduction Science, Vol.92. Pp:193-208.

Greenaway, P. 1985. Calcium balance and moulting in the Crustacea. Biological Rev. Vol: 60, Pp: 425 – 454.

Harrison, K. E. 1990. The role of nutrition in maturation reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review. J. Shellfish Res. Vol: 9. Pp: 1-28.

Hertrampf, J. W. 2003. Less stress with nucleotides. Asian Aquaculture Magazine. 6:22-24.

Holt. J. G., 2011. Larval Fish Nutrition. Wiley-Blackwell Publishing UK. P: 434.

Kolkovski, S. 2011. Maturation diets for shrimp. Inter Aqua Feed. Vol: May. Pp: 14-15.

Lee, R. 1991. Lipoproteins from the hemolymph and ovaries of marine invertebrates. Adv. Comp. Environ. Physiol. Vol: 7, Pp: 187–207.

Li, P., Gatlin, D.M. 2006. Nucleotide nutrition in fish Current knowledge and future applications. Aquaculture. Vol: 251. pp: 141-152.

Li, P., Lawrence, L., Castille, L., Gatlin, M. 2007. Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for *L.vannemei*. Aquaculture Res. 38, 887–889.

Nakagawa. H., Sato. M., Gatlin. D. M., 2007. Dietary supplements for the health and quality of cultured fish. CABI North American Office publication. P: 256.

Oujifard, A., Abedinkenari, A., Nafisi bahabadi, M., Qaednia, B., Mahmoudi, N. 2008. The effect of dietary nucleotides on growth, survival and *Litopenaeus vannamei* shrimp hemolymph indices. Journal of Marine Science and Technology. Vol: 2. Pp:21-31.

Palacios, E., Carreno, D., Rodriguez-Jaramillo, C., & Racotta, I. 1999. Effect of eyestalk ablation on maturation, larval performance and biochemistry of *Penaeus vannamei* broodstock. Journal of Applied Aquaculture 9. 1-23

Palacios, E., Ibarra, A. M., Racotta, I. S. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. Aquaculture. Vol: 185. Pp: 353–371.

Pascual, C., Gaxiola, G., Rosas, C. 2003. Blood metabolites and hemocyanin of *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. Marine Biology 142, 735–745.

Phiriyangkul, P. 2006. molecular cloning and characterization of vitellin cDNA in banana shrimp *Fenneropenaeus merguiensis*. Thesis submitted for the degree of doctor of philosophy in biochemistry prince of Songkla university. Thailand. P: 191.

Quackenbush, L.S. 2001. Yolk synthesis in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. Am. Zool. 41, 458– 464.

Quinitio, E. T., & Millamena, O. M. 1992. Ovarian changes and female-speci ¢ c protein levels during sexualmaturation of *Penaeus indicus*. Aquaculture - Bamidgeh 44, 7-12.

Racotta, I. S., Palacios, E., Ibarra, A. M. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture. Vol: 227. Pp: 107-130.

Sandeepa, M. G., Ammani, K. 2015. Effect of probiotic bacterium on growth and biochemical parameters of shrimp *Litopenaeus vannamei*. International Journal of Recent Scientific Research. Vol: 6. Issue: 2. Pp: 2871-2875.

Siahanidou, T., Mandyla, H., Papassotiriou, I., Anagnostakis, D. 2004. Serum Lipids in Preterm Infants Fed a Formula Supplemented With Nucleotides. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 38: 56–60.

Song, L., Yu, I., Lien, W., Huang, C. 2003. Haemolymph parameters of *Litopenaeus vannamei* infected with Taura syndrome virus. Fish & Shellfish Immunology, 14, 317 – 331.

Teshima, S., Kanazawa, A., Horinouchi, K. 1988. Lipid metabolism in destalked prawn *Penaeus japonicus*: Induced maturation and transfer of lipid reserves to the ovaries. Nippon Suisan Gakkaishi 54, 1123–1129.

Tom, M., Fingerman, M., Hayes, T.K., Johnson, V., Kerner, B., Lubzens, E. 1992. A comparative study of the ovarian proteins from two penaeid shrimps, *Penaeus semisulcatus* and *Penaeus vannamei*. Comp. Biochem. Physiol. 102 B, 483–490.

Tsukimura, B. 2001. Crustacean Vitellogenesis: Its Role in Oocyte Development. American Zoology. Volume: 41. Pp: 465-476.

Wang, G.J., Zhu, W.M., Tan, Y.G., Kang, Y. 2006. The effects of yeast nucleotides on growth, immunity and resistance of *L. vannamei* to stressors. Feed Industry. 27, 29–32.

Wilder, N., Ikuta, K., Atmomarsono, M., Hatta, T., Komuro, K. 1998. Changes in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the cuticle. Comparative Biochemistry and Physiology Part A. 119. 941 – 950.

Wolin, E. M., Laufer, H., Albertini, D. F. 1973. Uptake of the yolk protein lipovitellin, by developing crustacean oocytes. Dev. Biol. 35, 160–170.

Wouters, R. Zambrano, B. Espin, M. Calderon, J. Lavens, P. Sorgeloos, P. 2002. Experimental Broodstock Diets as partial fresh food substitutes in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition, vol. 8. Pp: 249-256.

Wouters, R., Lavens, P., Nieto, J., Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition an updated review on research and development. Aquaculture. Vol: 202. Pp: 1–21.

Wouters, R., Nieto, J., Sorgeloos, P. 2000. Artificial Diets for Penaeid Shrimp. The Advocate, Global Aquaculture Alliance. Vol: April. Pp: 61-62.

Yang, C., Chen, N., Lu, L., Chen, S., Lai, C. 2014. Effect of Mushroom Beta Glucan on Immune and Haemocyte Response in Shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal Aquaculture Research Development. Volume 5. Issue 6: 275.

Yepiz-Plascencia, G., Vargas-Albores, F., Higuera-Ciapara, I. 2000. Penaeid shrimp hemolymph lipoproteins. Aquaculture. Volume: 191. Pp: 177–189.

Effect of Different Levels of Dietary Nucleotide on Growth and Haemolymph Biochemical Parameters of Female *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) during Maturation and Eyestalk Ablation

Ali Arshadi[1*], Vahid Yavari[2], Amin Oujifard[3], Seyed Mohammad Mousavi[2]

1. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Zabol University, Zabol, Iran
2. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
3. Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

Abstract

In this study, the effect of different dietary nucleotide levels (0, 0.2, 0.4 and 0.6%) was investigated on growth indices and some haemolymph biochemical parameters of *Litopenaeus vannamei* female broodstock during 30 days. Broodstocks were fed twice with fresh food and twice with concentrate feed). After 3 weeks of feeding, eyestalk of broodstocks was ablated with hot scissors. Hemolymph was sampled for glucose, total cholesterol, triglyceride, calcium, albumin, total soluble proteins, high density lipoprotein on the first day of the trial, 21 days (before eyestalk ablation) and 30 days (9 days after eyestalk ablation) after starting the feeding trial. Water parameters including temperature, dissolve oxygen, salinity and pH recorded daily as 27.79 ± 1.24 ˚C, 5.78 ± 0.41 ppm, 31.82 ± 3.1 ppt and 7.9 ± 0.18, respectively. Weight gain, specific growth rate and daily growth rate in samples treated by dietary nucleotide showed no significant difference ($p> 0.05$) compared to control group. Significant increase ($p< 0.05$) in glucose, total cholesterol, triglyceride, albumin and total protein were were observed in all groups compared to control group. In conclusion 0.4 % nucleotide can improve the dietary sexual maturation of *Litopenaeus vannamei*.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; nucleotide; heamolymph biochemical parameters; growth; maturation.

Figure 1. Comparison of average level of biochemical parameters of glucose (A), cholesterol (B), triglycerides (C), HDL (D), albumin (E), total protein (F) and calcium (G) (milligrams per deciliter) hemolymph of shrimp broodstock in three samples of four treatments.

Table 1. Ingredients and composition of the experimental diets for *Litopenaeus vannamei* broodstock

Table 2. Growth performance of *Litopenaeus vannamei* broodstock fed diets containing different amounts of nucleotides after 30 days.

Table 3. Biochemical analysis of hemolymph of female *Litopenaeus vannamei* before the onset of feeding trial

Table 4. Biochemical analysis of hemolymph 21 days (before eyestalk ablation) after feeding with diets containing different amounts of nucleotides.

Table 5. Biochemical analysis of hemolymph after feeding broodstock with diets containing different amounts of nucleotides for 30 days.

*Corresponding author, Email: arshadi@uoz.ac.ir