

اثر جیره‌های حاوی سطوح مختلف آستاگزانتین بر شاخص‌های تولید مثلی و رشد لارو ماهی طلایی (*Carassius auratus*)

بابک تیزکار^{۱*}، محمود بهمنی^۲، همایون حسین زاده صفایی^۳، افشار ذوقی شلمانی^۱، عسگر زحمتکش کومله^۱، حمید منصف کسمایی^۴

۱- مرکز تحقیقات و آموزش گیلان، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۳۳۹۴-۴۱۶۳۵

۲- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۱۶

۴- موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۷۸-۹۶۶۸۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۱۶

چکیده

این تحقیق به منظور تأثیر استفاده از رنگدانه آستاگزانتین در افزایش راندمان تولید لارو ماهی قرمز در چهار تیمار و سه تکرار در زمستان ۱۳۹۳ انجام پذیرفت. به این منظور ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۴ مترمکعبی آماده و در هر حوضچه ۵۰ عدد مولد ماده طلایی با وزن متوسط $47/21 \pm 2/19$ گرم در آذرماه رهاسازی شدند. چهار نوع جیره غذایی حاوی مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا آستاگزانتین تهیه و به مدت ۳ ماه براساس ۵ درصد زی‌توده وزنی‌شان تغذیه شدند. در فروردین ماه سال ۱۳۹۴ مولدین ماده هر حوضچه با نرهایی که فقط از جیره شاهد تغذیه شده بودند؛ بصورت انفرادی تلقیح شده و کلیه خصوصیات زیستی مولدین مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله پرورش لارو، لاروهای تولید شده از هر تیمار در مخازن جداگانه‌ای نگهداری شده و میزان تغییرات وزنی لاروها در قبل و بعد از جذب کیسه زرده و همچنین ضریب چاقی و درصد بازماندگی لاروهای هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت. همچنین خصوصیات ریخت‌شناسی لاروها شامل طول نو توکورد، ارتفاع بدن و مساحت کیسه زرده در قبل و بعد از جذب کیسه زرده تعیین و مقایسه شد. نتایج کلی این تحقیق نشان داد که آستاگزانتین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره در بسیاری از شاخص‌های مورد بررسی باعث بهبود خصوصیات تولیدمثلی مولدین، تخم‌ها و همچنین لاروها شده است و تخم‌های لقاح‌یافته و لاروهای حاصله از این تیمار در صدد بازماندگی بیشتری داشته و باعث افزایش راندمان تولید می‌شوند. در نتیجه مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم آستاگزانتین در جیره برای ماهیان گرمابی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: ماهی طلایی، تکثیر، لارو، کارتنوئید، آستاگزانتین.

مقدمه

در سال‌های اخیر استفاده از تکنیک‌ها و روش‌های جدید علمی، عامل موثری در بهبود فرآیند تکثیر و تولید مثل آبزیان بوده است (Izquierdo *et al.*, 2001). تغذیه مولدین، در کنار فراهم بودن عوامل محیطی مناسب یکی از اصلی‌ترین عوامل تاثیرگذار بر فرایند تولید مثلی مولدین پرورشی است، این امر نه تنها در افزایش تولید محصولات جنسی و با کیفیت اثرگذار است، بلکه در میزان بازماندگی لاروها و تولید آبزیان قوی و مقاوم نیز نقش دارد (Wooster *et al.*, 2000). بنابر اظهار نظر بسیاری از محققان، دانش ما در خصوص تغذیه مولدین بسیار محدود است (Izquierdo *et al.*, 2001). محدود شدن منابع غذایی چه به لحاظ کمیت و چه به لحاظ کیفیت به طور جدی فرآیند تکثیر مصنوعی مولدین را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

امروزه جهت بهبود کیفیت تکثیر ماهیان از مواد افزودنی‌های زیادی مثل ویتامین‌های C، E و... استفاده می‌شود. کاروتنوئیدها^۱ نیز یکی از این مواد هستند (Harris, 1984; Crick, 1985)؛ این مواد رنگدانه‌هایی هستند که در محصولات گیاهی و جانوری یافت می‌شوند ولی فقط گیاهان و بعضی از باکتریها و مخمرها قادر به تولید آنها هستند. تنوع در عملکرد کاروتنوئیدها با تنوع در ساختمان‌شان در ارتباط است. درک روابط بین خواص کاروتنوئیدها و ساختار آنها، جهت بهینه‌سازی در عملکرد آنها بسیار ضروری به نظر می‌رسد. این مواد با تجمع در کبد و انتقال به تخمدان و سپس اووسیت‌ها، تغییرات مثبتی را در بهبود رسیدگی جنسی مولدین فراهم می‌آورند (Kerfeld *et al.*, 2003). آستاگزانتین و سایر کاروتنوئیدها به عنوان

آنتی‌اکسیدان‌های مهم در گیاهان و جانوران شناخته شده‌اند (Milicua *et al.*, 1991) که می‌توانند به پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن پرداخته و از آسیب رسیدن به سلول‌های هدف جلوگیری نمایند (Birkhauser, 2003). وجود دسته‌ای از رنگدانه‌ها در ایجاد رنگ تخمک‌ها نقش اصلی داشته، باعث افزایش شدت رنگ تخم مولدین می‌شود. محققان به این نتیجه رسیده‌اند که کیفیت و رنگ تخم ماهیان وحشی نسبت به تخم ماهیان پرورشی همان گونه بیشتر است و این امر در کیفیت تخم در زمان تکثیر مصنوعی نقش مهمی را ایفا می‌کند (Steven, 1948). در آبزیان کاروتنوئید مورد نیاز از طریق زنجیره غذایی وارد بدن می‌شود. در سال‌های اخیر گزارش‌های متعددی در خصوص رابطه مثبت رنگدانه‌های تخم، درصد لقاح و درصد بقاء بالای لاروها در قزل‌آلای رنگین‌کمان^۲ بدست آمده است (Bazyar *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داده است که کاروتنوئیدهای داخل تخم در مراحل جنینی و لاروی فعالیت کرده و عملکردهای مختلفی دارند که می‌توانند در سلامت و حفاظت تخم تاثیرگذار باشند (حمید اوغلی و همکاران، ۱۳۹۲) و (Crick and Harvi, 1986). تاکنون اطلاعات منتشر شده‌ای در خصوص نقش کاروتنوئیدها در فیزیولوژی تولید مثل و بهبود روند زادآوری ماهیان خانواده کپور ماهیان و به ویژه ماهی طلایی وجود نداشته است. علی‌رغم نقش‌های مهمی که برای عملکرد کاروتنوئیدها در بهبود فرایند تولید مثلی خانواده آزاد ماهیان، ماهیان خاویاری (فداکار و همکاران، ۱۳۹۶) و بعضی از گونه‌های میگوی پرورشی وجود دارد، ولی در این خصوص تحقیقات همه‌جانبه‌ای در خصوص نقش

^۲- *Oncorhynchus mykiss*

^۱- Carotenoids

کارتونئیدها در عملکرد تولیدمثلی کپور ماهیان و ماهی طلایی به عنوان یک ماهی زینتی و گونه‌ای که می‌تواند به عنوان نماینده ماهیان پرورشی خانواده کپور ماهیان باشد (Milicua et al., 1991) صورت نگرفته است. این تحقیق می‌تواند به نقش آستاگزانتین در افزایش بهره‌وری مراحل تکثیر ماهی طلایی پرداخته و تاثیر آن را در بهبود فرایند تولیدمثلی و مراحل رشد و نمو لارو آن مشخص نماید و سؤال‌های مهمی که هر کدام می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای برای کارگاه های تکثیر ماهیان گرمابی باشد را پاسخگو باشد. در این تحقیق سعی شده است میزان اثربخشی آستاگزانتین در عملکرد تولید مثل مصنوعی ماهی طلایی در مسیر مراحل رشد و نمو لاروی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

این تحقیق از آذر ۱۳۹۳ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۴ در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت انجام شد. مراحل ساخت غذای دستی در موسسه بین‌المللی تحقیقات ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت و سنجش فاکتورهای کیفی تخم و لارو در آزمایشگاه ماهی‌شناسی مرکز آموزش میرزا کوچک خان رشت انجام شد. جهت مقایسه جیره‌های حاوی آستاگزانتین با جیره شاهد (فاقد آستاگزانتین)، چهار تیمار و سه تکرار در نظر گرفته شد، لذا به منظور پرورش مولدین با جیره‌های آماده شده ۱۲ وان فایبر گلاس ۴ متر مکعبی با قطر ۲ متر و ارتفاع آبگیری ۱/۲ متر جهت پرورش مولدین در نظر گرفته شد. بچه ماهیان ماده یکساله مورد استفاده، از کارگاه تکثیر مصنوعی بخش خصوصی تهیه شدند. به منظور سازگاری ماهیان با جیره غذایی دست ساز، مولدین به

مدت یک هفته با غذای آماده شده شاهد، روزانه دو مرحله (ساعت ۱۰ صبح و ۱۵ عصر) مورد تغذیه قرار گرفتند. در شروع آزمایش تعداد ۶۰۰ قطعه ماهی مولد ماده با میانگین وزن $27.21 \pm 19/19$ گرم و طول 14.71 ± 0.31 سانتی متر انتخاب (۵۰ قطعه در هر مخزن) و توزیع شدند. عملیات تغذیه و تیمار بندی از آذر ۱۳۹۳ آغاز گردید. به منظور سنجش زیست‌سنجه های حرارت، اکسیژن محلول و pH از دستگاه دیجیتال Multi-parameter WTW استفاده شد. این زیست‌سنجه ها بصورت روزانه در تمامی مخازن مورد سنجش قرار گرفت. آب مورد استفاده برای مخازن از آب فیلتر شده مخازن رسوب گیر کارگاه تهیه می‌شد. به منظور بهبود کیفیت آب، روزانه مقدار ۱۰ درصد آب مخازن از کف مورد تعویض قرار می‌گرفت. به منظور مقایسه کارتئونئیدهای آستاگزانتین سه جیره غذایی شامل مقادیر (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰) میلی گرم در کیلوگرم آستاگزانتین^۱ (A150, A100, A50) و یک جیره شاهد بدون کارتئونئید افزودنی، مطابق جدول ۱ تهیه گردید. در ابتدا به منظور یکسان سازی جیره های مورد استفاده، جیره پایه (جدول ۱) تهیه و آماده شده و سپس کارتئونئید آستاگزانتین به مقدار مشخص پس از حل شدن در آب ۳۵ درجه سانتی گراد به جیره ها اضافه شدند (Page and Davies, 2003). غذای آماده شده در دستگاه پلیت زن نوع کالیفرنایی^۲ به پلیت‌هایی با قطر ۳×۲ میلی متر تبدیل شدند. پلیت‌های آماده شده در دستگاه خشک کن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک و در فریزر ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

1-Carophyll ® pink DSM 10%

2-California Pelleting Machine(CPM)

جدول ۱: ترکیبات مورد استفاده در جیره های غذایی مختلف بر حسب گرم

شاهد	A _{۱۵۰}	A _{۱۰۰}	A _{۵۰}	جیره
				اقلام غذایی
۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	پودر ماهی
۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	۲۹۰	کنجاله سویا
۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	پودر ذرت
۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	روغن ماهی کیلکا
۱۶۴	۱۶۴	۱۶۴	۱۶۴	آرد گندم
۵	۳/۵	۴	۴/۵	آهک
۲	۲	۲	۲	متیونین
۲	۲	۲	۲	لیزین
۵	۵	۵	۵	نمک
۲	۲	۲	۲	کاویلا مایسین ^a
۵	۵	۵	۵	دی کلسیم فسفات
۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	پرمیکس ویتامینه ^b
۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	پرمیکس معدنی ^c
–	۱/۵	۱	۰/۵	آستاگزانتین ^d
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	جمع

a. Kavillamycine: Contant 10000 mg Avillamaycine

b. Vitamin Permixon: p-aminobenzoic acid 10.0 mg; biotin 0.40 mg; inositol 400.0 mg; nicotinic acid, 40.0 mg; Ca-pantothenate, 60.0 mg; pyridoxine-HCl, 12.0 mg; riboflavin, 8.0 mg; thiamin-HCl, 4.0 mg; menadione, 4.0 mg; cyanocobalamine,

0.08 mg; calciferol, 1.20 mg; folic acid, 0.80 mg; choline chloride, 120.0 mg.

c. Mineral. Permixon: k_2HPO_4 2.0g, $Ca_3(PO_3)_2$ 2.720g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 3.041g.

d. Astaxanthin = Carophyll® pink 10% DSM

اندازه گیری کیفی جیره غذایی

جهت سنجش میزان پروتئین خام، چربی، خاکستر،

فیبر و رطوبت غذا از روشهای ارایه شده توسط

(AOAC)^۱ استفاده شده است. این کار در آزمایشگاه

تخصصی دامپزشکی استان گیلان صورت پذیرفت.

جدول ۲ مشخصات کیفی جیره های مورد استفاده را

مشخص می سازد.

^۱- Association of Official Analytical Chemists

جدول ۲: مشخصات کیفی جیره های آزمایشی

شاهد	A _{۱۵۰}	A _{۱۰۰}	A _{۵۰}	جیره ترکیب تقریبی مواد
۳۳/۸۱ ± ۰/۷۰	۳۴/۱۱ ± ۰/۳۴	۳۳/۱۶ ± ۰/۵۰	۳۳/۱۶ ± ۰/۲۶	پروتئین خام (درصد)
۷/۰۳ ± ۰/۵۲	۸/۷۵ ± ۰/۴۳	۷/۶۷ ± ۰/۶۸	۷/۹۸ ± ۰/۷۰	چربی خام (درصد)
۹/۰۳ ± ۰/۲۱	۹/۳۱ ± ۰/۰۴	۹/۲۹ ± ۰/۰۸	۹/۰۵ ± ۰/۳۲	خاکستر (درصد)
۳/۰۵ ± ۰/۰۳	۲/۸۴ ± ۰/۲۸	۲/۹۴ ± ۰/۱۴	۲/۳۲ ± ۰/۲۴	فیبر (درصد)
۵/۷۷ ± ۰/۰۲	۵/۷۳ ± ۰/۰۷	۵/۷۱ ± ۰/۰۳	۵/۷۰ ± ۰/۰۳	رطوبت (درصد)
۳/۴۴ ± ۱/۹۲	۱۴۹/۵۶ ± ۱/۲۶	۹۹/۵۳ ± ۳/۰۶	۵۲/۲۶ ± ۱/۵۸	کارتونید کل (میلی گرم بر کیلوگرم)

ماهیان هر حوضچه در ماه های آذر تا بهمن به میزان ۲ درصد زی توده ماهی موجود در هر حوضچه و در ماه های اسفند و فروردین به میزان ۵ درصد در ظروف غذادهی با جیره های ساخته شده تغذیه شدند.

مراحل تکثیر و اندازه گیری شاخص ها

طول و وزن مولدین در زمان شروع تحقیق و زمان تکثیر مولدین اندازه گیری شد. برای سنجش وزن شکم پر مولدین از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده گردید. درجه حرارت آب در زمان تکثیر مولدین ۱۹ درجه سانتی گراد بود. عملیات تکثیر در طی چهار مرحله و با فاصله یک روز در میان انجام شد. در هر مرحله از تکثیر با توجه به عدم همزمانی رسیدگی کامل تعدادی از مولدین، از هر تکرار ۱۰ مولد به طور تصادفی انتخاب شدند. مولدین با هورمون اوپرایم^۱ (Haniffa and Sridhar, 2002) به مقدار ۰/۲ میلی لیتر در کیلوگرم وزن مولد، تزریق شدند. جهت یکسان شدن عملیات تکثیر و عدم تأثیر گذاری مولدین نر در نتایج بدست آمده، یک ماه قبل از شروع عملیات تکثیر، تعداد ۳۰۰ قطعه مولد نر با میانگین وزنی ۵۱±۲/۲۱ گرم تهیه و با جیره شاهد مورد تغذیه

قرار گرفتند. همزمان با تزریق مولدین ماده، نرها نیز به مقدار ۰/۱ میلی لیتر در کیلوگرم مورد تزریق هورمون قرار گرفتند. عملیات لقاح بصورت نیمه خشک انجام شد. در زمان تکثیر از تخمک مولدین و تخم های لقاح یافته در سه زمان لقاح، شروع مرحله گاسترولاسیون و در زمان خروج نوزادان از تخم، نمونه برداری های لازمه انجام و بلافاصله زیست سنجه ها مورد بررسی قرار گرفتند. میزان هم آوری کاری، مطلق نسبی هر مولد محاسبه گردید. با تعیین هم آوری کاری هر مولد، نسبت تخم تولید شده هر مولد به وزن مولد تعیین گردید (Bromage, 1995). در زمان تکثیر ابتدا از تخمک هر ماهی نمونه برداری شده و قطر (میلی متر) و تعداد در گرم تخمک مورد سنجش قرار گرفت. دو ساعت پس از تکثیر در زمان شروع تقسیم های چهارتایی از تخم ها نمونه برداری شده تا تعداد تخم در گرم، قطر تخم (میلی متر) و درصد لقاح مورد اندازه گیری قرار گیرد. قطر تخمک و تخم به کمک لام میکرومتر و بالوپ (Olympus SZH) اندازه گیری شد. پس از تعیین درصد لقاح تعداد تخم های لقاح یافته هر مولد به نسبت وزن مولد براساس رابطه زیر تعیین گردید (Bromage, 1995).

$$\text{درصد لقاح} = \frac{\text{تعداد کل تخم استحصال شده}}{\text{نسبت تخم های لقاح یافته به وزن وزن مولد}}$$

^۱-Ovaprim

اندازه‌گیری شاخص‌های پرورش لارو

جهت مقایسه میزان رشد لاروهای حاصله از مولدین تیمارهای مختلف از ۱۲ مخزن فایبر گلاس ۵۰۰ لیتری با قطر یک متر استفاده شد. یک هفته قبل از خروج لاروها از تخم، مخازن با آب فیلتر شده پر شدند. به منظور حذف موجودات مضر و بخصوص سیکلوپسها در وان‌های مورد نظر، سه روز قبل از انتقال لاروها از سم تری کلروفون به میزان ۰/۵ میلی گرم در لیتر در یک نوبت استفاده شد. لاروهای حاصله از هر انکوباتور در یک وان مجزا به میزان تقریبی ± 265 ۵۰۰۰ عدد لارو ریخته شدند. تعداد لاروها با روش وزنی محاسبه گردید. دمای آب در زمان انکوباسیون ۲۲ درجه سانتی گراد بود. میانگین وزن (میلی گرم) و طول (میلی متر) انفرادی لاروها در زمان هچ (همراه با کیسه زرده) و پس از جذب کامل کیسه زرده اندازه‌گیری شد. با محاسبه طول و وزن لاروها در قبل و بعد از جذب کیسه زرده، میزان ضریب چاقی لاروها براساس رابطه زیر محاسبه گردید (Nielsen and Johnson, 1983).

b (طول نوتوکورد (میلی متر) / $100 \times$ وزن (گرم) = ضریب چاقی که در این معادله b شیب خط رابطه طول و وزن لاروها است.

در پایان جذب کیسه زرده و روز دوم بعد از جذب کیسه زرده؛ لاروهای داخل هر مخزن جمع‌آوری و پس از محاسبه وزن لاروهای زنده و محاسبه تعداد در گرم لارو؛ درصد بازماندگی لاروها به درصد براساس روابط زیر محاسبه گردید (Bromage, 1995).

تعداد در گرم لارو (گرم) $\times$ وزن لارو استحصالی از هر مخزن = تعداد لارو زنده

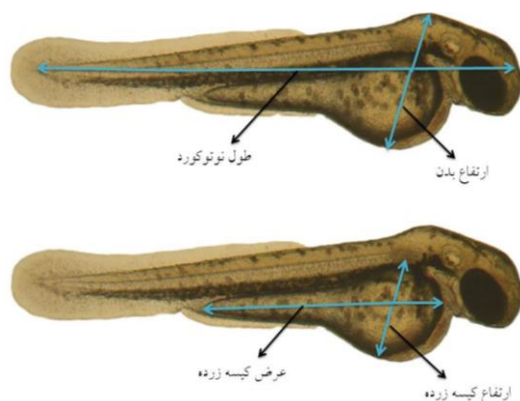
$$100 \times \frac{\text{تعداد لارو زنده هر مخزن}}{\text{تعداد لارو ریخته شده}} = \text{درصد بازماندگی لارو}$$

از لاروها در پایان جذب کیسه زرده، به منظور سنجش مقدار آستاگزاتین و کارتنوئید کل نمونه برداری شد. به منظور مقایسه وزن لاروهای حاصله از تیمارهای مختلف میانگین وزن لاروهای هر تیمار در زمان خروج از تخم (زمان قبل از جذب کیسه زرده) و بعد از جذب کامل کیسه زرده تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری وزن لاروها از رابطه زیر استفاده شد (Bromage, 1995):

$$1000 / \text{تعداد در گرم لارو} = \text{وزن انفرادی لارو (میلی گرم)}$$

اندازه‌گیری خصوصیات ریختی لاروها

مشخصات ریخت‌سنجی لاروها پس از عکسبرداری از لاروها و به کمک دستگاه اندازه‌گیری نیکون (Nikon) انجام شد. برای هر لارو زیست‌سنجه‌های نوتوکورد، ارتفاع بدن، عرض کیسه زرده و ارتفاع کیسه زرده که در اشکال زیر نمایش داده شده اندازه‌گیری شد.



شکل ۱: نحوه زیست‌سنجی لاروها

اندازه‌گیری کاروتنوئید کل

نمونه‌های تخم ماهیان که در مراحل مختلف نمونه‌برداری شده بودند، پس از انجماد در نیتروژن مایع در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. ۱/۵ گرم از نمونه پس از خروج از فریزر در دستگاه Christ

به منظور بررسی وضعیت نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف^۱ استفاده شد. جهت بررسی یکنواختی واریانس داده‌ها از آزمون لون استفاده گردید (Leven and Howard, 1960). جهت مقایسه داده‌های حاصله از پارامترهای تکثیر و مرحله لاروی از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه^۲ استفاده شد (Zar, 1999). به منظور تعیین اختلاف معنی‌دار (در صورت موجود بودن) بین میانگین‌ها از آزمون تفکیکی دانکن^۳ استفاده شد. سطوح معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ بررسی شدند.

نتایج

میانگین روزانه درجه حرارت، اکسیژن محلول و pH و میزان هفتگی آمونیاک غیر یونیزه و نیتريت در طی مراحل پرورش مولدین در تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P \geq 0.05$). جدول ۳ میانگین زیست‌سنجه‌های فیزیوشیمیایی اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد.

Freeze Dryer مدل Alpha-L-2-LD Plus در دمای ۵۵- درجه سانتیگراد خشک شدند. به منظور اندازه‌گیری مقدار کارتنوئیدها در وزن تر، نمونه‌ها قبل و بعد از خشک شدن توزن شده و از روی مقدار اختلاف وزن ایجاد شده، مقدار رطوبت در هر نمونه محاسبه و پس از اندازه‌گیری کارتنوئید، وزن خشک مورد استفاده در آزمایش به وزن تر تعمیم داده شد. استخراج کارتنوئید از نمونه به کمک استون خالص مخصوص CLPH و آن هگزان با درجه آنالیتیک با نسب حجمی (۱:۳) (استون به هگزان) انجام شد. عصاره جدا شده بالایی بالا فاصله با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری VU مدل IHCATIH-U-0081 در طول موج ۰۷۴ نانومتر خوانده شده و بالاترین مقدار جذب آن ثبت شد. مقدار کارتنوئید کل بر اساس قانون لامبرت-بیر (Lambert-Beer) و رابطه زیر تعیین گردید.

[وزن نمونه خشک شده (میلی گرم)] / [حجم محلول (میلی لیتر)] × ضریب جذب مولکولی (ε) × حداکثر مقدار جذب = کارتنوئید کل (میکروگرم بر گرم)

مقدار ضریب جذب نوری 1×10^4 ، ε برابر (astaxanthin) ۱۲۴۰۰۰ در طول موج ۴۶۰ نانومتر است (Mínguez-Mosquera et al., 2000). مقدار جذب برای هر نمونه در سه تکرار ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه داده‌های حاصله از نتایج بدست آمده براساس میانگین تکرارها با محاسبه میزان خطای استاندارد (Means ± SE) گزارش شده است (Limenez et al., 2007).

¹- One- sample Kolmogorom smirnov test

²- One- Way Analyses of Variance

³- Duncan

جدول ۳: میانگین فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مخازن پرورش مولدین در طول دوره پرورش مولدین

دما °C	pH	اکسیژن محلول (mg/l)	آمونیاک غیر یونیزه (mg/l)	نیتريت (mg/l)
آذر	$12/61 \pm 0/22$	$7/10 \pm 0/53$	$< 0/01$	$< 0/01$
دی	$10/24 \pm 0/14$	$8/20 \pm 0/45$	$< 0/01$	$< 0/01$
بهمن	$6/57 \pm 0/38$	$7/90 \pm 0/45$	$< 0/01$	$< 0/01$
اسفند	$8/89 \pm 0/33$	$7/30 \pm 0/53$	$< 0/01$	$< 0/01$
فروردین	$16/65 \pm 0/38$	$6/20 \pm 0/23$	$< 0/01$	$< 0/01$
اردیبهشت	$20/85 \pm 0/31$	$5/80 \pm 0/44$	$< 0/01$	$< 0/01$

زیست سنجی مولدین

میانگین طول و وزن مولدین تیمارهای مختلف در چهارمین ماه تغذیه مولدین با جیره های مختلف، اختلاف معنی داری نداشتند ($P \geq 0/05$). اگرچه میانگین کل وزن مولدین با توجه به افزایش وزن گنادر آنها، نسبت به زمان شروع تحقیق به میزان $8/73 \pm 0/11$ درصد افزایش یافته بود ولی این افزایش وزن اختلاف معنی داری را در بین تیمارهای مختلف ایجاد نکرد ($P \geq 0/05$). شاخص شکل بدنی مولدین در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری را با یکدیگر نشان ندادند ($P \geq 0/05$).

در بین تیمارهای مختلف بیشترین تعداد در گرم تخمک ($1111/87 \pm 54/96$) در تیمار شاهد و کمترین آن ($937/96 \pm 54/96$) در تیمار A_{15} مشاهده گردید ($P \leq 0/05$). آزمون آماری اختلاف معنی داری را به لحاظ اندازه میزان تخمک های مولدین در تیمارهای مختلف نشان داد ($P \leq 0/05$)؛ به عبارت دیگر تخمک های حاصله از مولدین شاهد نسبت به تخمک های حاصله از مولدین تیمارهای A_5 ، A_{10} و A_{15} کوچکتر بوده و اختلاف معنی داری به لحاظ وزن با این تیمارها نشان داد ($P \leq 0/05$) (جدول ۴).

بیشترین ($870/90 \pm 11716/22$ عدد) میزان همآوری کل در تیمار A_{15} و کمترین ($793/25 \pm 8448/45$ عدد) آن در تیمار شاهد مشاهده شد ولی آزمون آماری اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف برای میزان همآوری کل نشان نداد ($P \leq 0/05$) (جدول ۴).

پس از عملیات تکثیر و محاسبه میزان کل تخم استحصال شده از مولدین هر تیمار، بیشترین ($743/35 \pm 10296/92$ عدد) همآوری کاری را تیمار A_{15} و کمترین ($7329/14 \pm 706/56$ عدد) آن را تیمار شاهد نشان داد ($P \geq 0/05$) (جدول ۵)؛ در ضمن بیشترین ($11/83 \pm 171/42$ عدد به گرم) همآوری نسبی در تیمار A_{15} و کمترین ($10/64 \pm 135/16$ عدد به گرم) آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. این نتایج نشان داد که علی رغم بالاتر بودن مقدار همآوری نسبی در تیمار A_{15} نسبت به تیمارهای دیگر و شاهد، اختلاف معنی داری بین میزان همآوری نسبی در تیمارهای مختلف دیده نشده است ($P \geq 0/05$) (جدول ۴).

جدول ۴: میانگین زیست‌سنجه‌های ریخت‌سنجی و تولید مثلی

شاخص	جیره	A _{۵۰}	A _{۱۰۰}	A _{۱۵۰}	شاهد
وزن (گرم)	۶۳/۵۰±۳/۶۶ ^a	۶۲/۷۱±۳/۵۱ ^a	۶۸/۷۹±۲/۶۷ ^a	۶۳/۳±۱۳/۱۵ ^a	
طول (سانتی‌متر)	۱۱/۳۲±۰/۲۵ ^a	۱۱/۲۲±۰/۲۴ ^a	۱۱/۵۹±۰/۱۸ ^a	۱۱/۳۰±۰/۰۷ ^a	
شاخص شکل بدن (درصد)	۴/۳۵±۰/۰۷ ^a	۴/۳۹±۰/۰۴ ^a	۴/۴۱±۰/۰۹ ^a	۴/۳۸±۰/۰۲ ^a	
هماوری کل	۹۶۶۸/۶۶±۱۰۳۵/۶۶ ^a	۹۳۲۵/۳۹±۱۰۵۱/۷۵ ^a	۱۱۷۱۶/۲۲±۸۷۰/۹۰ ^a	۸۴۴۸/۴۵±۷۹۳/۲۵ ^a	
هماوری کاری	۸۴۴۰/۷۰±۸۷۲/۰۵ ^a	۸۱۹۱/۱۳±۸۹۶/۵۷ ^a	۱۰۲۹۶/۹۲±۷۴۳/۳۵ ^a	۷۳۲۹/۱۴±۷۰۶/۵۶ ^a	
هماوری نسی	۱۵۰/۷۸±۱۲/۰۱ ^a	۱۴۸/۶۸±۱۵/۵۲ ^a	۱۷۱/۴۲±۱۱/۸۳ ^a	۱۳۲/۱۶±۱۰/۶۴ ^a	
تعداد تخمک در گرم	۹۸۷/۶۸±۵۵/۴۸ ^{ab}	۹۶۶/۵۳±۶۲/۶۹ ^b	۹۳۷/۴۸±۳۰/۶۶ ^b	۱۱۱۱/۸۷±۵۴/۹۶ ^a	

وجود حداقل یک حرف مشترک بین تیمارهای یک سطر، نشانه عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در سطح $\alpha=0/05$ است

لقاح و انکوباسیون

نتایج حاصله از مراحل تکثیر مولدین نشان داده است که در بسیاری از زیست‌سنجه‌های تکثیر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد که در زیر به شرح آن‌ها پرداخته خواهد شد:

میانگین زمان رسیدگی نهایی مولدین پس از تزریق دردمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد $419/20 \pm 3/31$ درجه-ساعت بود. زمان رسیدگی نهایی در بین تیمارها، اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P \leq 0/05$). دیرترین زمان رسیدگی جنسی ($439/30 \pm 6/38$ درجه-ساعت) در تیمار A_{۱۵۰} و سریع‌ترین آن ($383/88 \pm 7/17$ درجه-ساعت) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۵). آزمون آماری اختلاف معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف برای مدت زمان رسیدگی جنسی نهایی نشان داد و در این بین زمان رسیدگی نهایی تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بوده و نسبت به آن‌ها پایین‌تر بود (جدول ۵).

نتایج اولیه پس از تکثیر مولدین نشان داد که میانگین تعداد درگرم تخم‌های مولدین تیمارهای مختلف (دو ساعت پس از لقاح) اختلاف معنی‌داری با

یکدیگر داشتند ($P \leq 0/05$). بیشترین تعداد تخم در گرم، ($6/39 \pm 488/76$) در تیمار A_{۵۰} و کمترین آن ($2/00 \pm 453/40$) متعلق به تیمار A_{۱۰۰} بود (جدول ۵). این نتایج نشان داد، میانگین وزن انفرادی تخم‌های تیمارهای A_{۵۰} و شاهد به نسبت تیمارهای دیگر کمتر بود (جدول ۵).

نتایج درصد لقاح تخم‌های مولدین تیمارهای مختلف نشان داد که اختلاف معنی‌داری به لحاظ درصد لقاح بین تیمارها وجود دارد ($P \leq 0/05$) (جدول ۵). این نتایج نشان داد بیشترین درصد لقاح ($96/94 \pm 0/49$ درصد) در تیمار A_{۱۰۰} و کمترین آن ($87/70 \pm 1/13$ درصد) متعلق به تیمار شاهد بوده است. نتایج آزمون‌های آماری، اختلاف معنی‌داری را بین تیمار شاهد با تیمارهای دیگر به لحاظ درصد لقاح نشان داد ($P \leq 0/05$).

در زمان تکثیر، میانگین قطر تخم (میلی‌متر) مولدین در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P \leq 0/05$). این نتایج بیانگر آن بود که قطر تخم در مولدین شاهد ($1/21 \pm 0/02$ میلی‌متر) نسبت به قطر تخم

مولدین در تیمارهای دیگر اختلاف معنی داری دارد ($P \leq 0/05$) (جدول ۵).

میانگین نسبت تعداد تخم‌های لقاح یافته به وزن مولدین در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی داری بود ($P \leq 0/05$). بیشترین ($25/78 \pm 78/61$) نسبت تعداد تخم لقاح یافته به وزن مولدین (گرم) در تیمار A_{15} و کمترین ($15/70 \pm 45/56$) نسبت در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۵).

در مرحله انکوباسیون، متوسط تعداد در گرم تخم‌ها از $3/32 \pm 466/50$ عدد در شروع زمان لقاح به $3/32 \pm 417/82$ عدد رسید و در مجموع تخم‌ها به میزان ($0/46 \pm 10/39$ درصد) افزایش وزن پیدا کردند (جدول ۵). نتایج نشان دهنده اختلاف معنی داری بین تعداد در گرم تخم مولدین در زمان گاسترولاسیون در بین تیمارهای مختلف بود ($P \leq 0/05$). بیشترین ($7/26 \pm 455/32$) تعداد در گرم تخم در تیمار شاهد و کمترین ($7/98 \pm 390/47$) تعداد در گرم تخم در تیمار A_{15} مشاهده گردید. نتایج نشان داند که میانگین وزن انفرادی تخم‌های مولدین تیمارهای مختلف در زمان شروع مرحله گاسترولاسیون با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند ($P \leq 0/05$) (جدول ۵). درفاصله بین لقاح تا مرحله گاسترولاسیون تخم‌ها افزایش وزن نسبی پیدا کردند. نتایج حاصله از اختلاف وزن انفرادی تخم‌ها در زمان لقاح و شروع مرحله گاسترولاسیون نشان دهنده افزایش معنی دار وزن تخم مولدین

تیمار A_{15} نسبت به تیمارهای دیگر بود. تخم مولدین این تیمار از زمان لقاح تا شروع مرحله گاسترولاسیون افزایش وزنی معادل $1/44 \pm 15/56$ درصد داشت (جدول ۵).

مقایسه درصد بازماندگی تخم‌ها در مرحله انکوباسیون نشان داد که در مرحله شروع گاسترولاسیون، درصد بازماندگی تخم‌های مولدین، اختلاف معنی داری با یکدیگر داشته‌اند ($P \leq 0/05$) (جدول ۵). این نتایج نشان داده، بیشترین ($0/37 \pm 87/68$ درصد) درصد بازماندگی تخم‌ها؛ در شروع مرحله گاسترولاسیون، در تیمار A_{15} و کمترین ($1/60 \pm 57/51$ درصد) آن در تیمار شاهد بوده است. در پایان مرحله انکوباسیون، پس از محاسبه تعداد لارو حاصله از هر انکوباتور، بالاترین ($1/17 \pm 45/56$ درصد) درصد تفریخ تخم در تیمار A_{15} و پایین‌ترین ($1/23 \pm 25/51$ درصد) آن در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۵).

در پایان مرحله انکوباسیون و پس از محاسبه تعداد لارو حاصله از هر انکوباتور، نسبت لارو حاصله از هر مولد به وزن مولد تکثیر شده، بدست آمده و نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین میانگین نسبت لارو حاصله به وزن بدن مولدین (گرم) در تیمارهای مختلف بود ($P \geq 0/05$). این نتایج نشان داد، میانگین لارو به وزن مولدین در تیمار A_{15} نسبت به تیمارهای دیگر بالاتر بوده ($P \leq 0/05$).

جدول ۵: میانگین نرماتیوهای مرحله تکثیر و انکوباسیون مولدین در تیمارهای مختلف ($n=12$)

شاخص	جیره	A _۰	A _{۱۰۰}	A _{۱۵۰}	شاهد
زمان رسیدگی نهایی (درجه ساعت)		۴۰۸/۵۷ ± ۴/۰ ^b	۴۲۴/۹۳ ± ۸/۱۷ ^{ab}	۴۳۹/۶۳ ± ۶/۳۸ ^a	۳۸۳/۸۸ ± ۷/۱۷ ^c
تعداد در گرم تخم (زمان لقاح)		۴۸۸/۷۶ ± ۶/۳۹ ^a	۴۵۳/۴۰ ± ۲/۰۹ ^b	۴۶۳/۲۹ ± ۱۰/۶۷ ^b	۴۸۷/۹۴ ± ۴/۶۹ ^a
وزن تخم بعد از لقاح (میلی گرم)		۲/۰۵ ± ۰/۰۳ ^c	۲/۲۱ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۲/۱۷ ± ۰/۰۴ ^{ab}	۲/۰۵ ± ۰/۰۲ ^c
درصد لقاح (درصد)		۹۴/۶۳ ± ۰/۲۷ ^b	۹۶/۹۴ ± ۰/۴۹ ^a	۹۶/۵۲ ± ۰/۳۱ ^a	۸۷/۷۰ ± ۰/۱۳ ^c
قطر تخم (میلی متر)		۱/۲۸ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۳۱ ± ۰/۰۱ ^a	۱/۲۸ ± ۰/۰۲ ^a	۱/۲۱ ± ۰/۰۲ ^b
نسبت تعداد تخم لقاح یافته به وزن بدن (گرم)		۷۸/۶۱ ± ۷/۴۴ ^a	۶۹/۵۱ ± ۸/۰۶ ^a	۷۷/۹۹ ± ۶/۰۵ ^a	۴۵/۵۶ ± ۴/۵۳ ^b
تعداد در گرم تخم (گاسترولاسیون)		۴۴۰/۱۳ ± ۵/۲۷ ^a	۴۱۰/۵۷ ± ۵/۴۲ ^{bc}	۳۹۰/۴۷ ± ۷/۹۹ ^c	۴۵۵/۳۲ ± ۷/۲۶ ^a
وزن تخم در گاسترولاسیون (میلی گرم)		۲/۲۸ ± ۰/۰۳ ^d	۲/۴۴ ± ۰/۰۳ ^{bc}	۲/۵۷ ± ۰/۰۵ ^a	۲/۲۰ ± ۰/۰۳ ^d
درصد بازماندگی در گاسترولاسیون (درصد)		۶۹/۳۰ ± ۰/۹۸ ^{cd}	۷۰/۴۳ ± ۱/۸۵ ^c	۸۷/۷۰ ± ۰/۳۷ ^a	۵۷/۱ ± ۱/۶۰ ^e
درصد افزایش وزن تخم (درصد)		۹/۸۷ ± ۱/۰۲ ^b	۹/۴۳ ± ۱/۲۳ ^{bc}	۱۵/۵۶ ± ۱/۴۴ ^a	۶/۷۳ ± ۰/۸۴ ^c
درصد تفریخ (درصد)		۳۰/۸۵ ± ۱/۴۶ ^c	۳۱/۹۴ ± ۱/۴۸ ^c	۴۵/۵۶ ± ۱/۱۷ ^a	۲۵/۵۲ ± ۱/۲۳ ^d
نسبت تعداد لارو تولید شده به وزن بدن (گرم)		۲۷/۱۰ ± ۳/۰۹ ^b	۲۳/۹۵ ± ۲/۴۸ ^b	۴۳/۰۰ ± ۴/۲۱ ^a	۱۲/۵۱ ± ۱/۴۰ ^d

وجود حداقل یک حرف مشترک بین تیمارهای یک سطر، نشانه عدم اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی در سطح $\alpha=0.05$ است

مرحله پرورش لارو

نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری بین وزن لاروهای (میلی گرم) حامل کیسه زرده در تیمارهای مختلف بود ($P \leq 0.05$). بیشترین وزن لارو حامل کیسه زرده ($2/48 \pm 0/02$ میلی گرم) در تیمار A_{۱۵۰} و کمترین وزن لارو ($1/50 \pm 0/01$ میلی گرم) در تیمار A_۰ مشاهده شد (جدول ۶).

میانگین وزن لاروها پس از جذب کیسه زرده، نسبت به مرحله قبل از جذب، کاهش یافته و این مقادیر در تیمارهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی داری را نشان دادند ($P \leq 0.05$). بیشترین وزن لارو پس از جذب ($2/20 \pm 0/00$ میلی گرم) در تیمار A_{۱۵۰} و کمترین آن ($1/47 \pm 0/00$ میلی گرم) در تیمار A_۰ مشاهده شد (جدول ۶).

با محاسبه میانگین ضریب چاقی لاروها، نتایج نشان دادند که در قبل و بعد از جذب کیسه زرده اختلاف معنی داری بین ضریب چاقی لاروها در تیمارهای مختلف وجود دارد ($P \leq 0.05$) (جدول ۶).

تا پایان مرحله جذب کیسه زرده کمترین میزان درصد بازماندگی ($78/94 \pm 5/19$ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد، اما نتایج اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد ($P \geq 0.05$) (جدول ۶)؛ این در حالی است که میانگین درصد بازماندگی لاروها از پایان مرحله جذب کیسه زرده تا پایان مرحله لاروی، در تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند ($P \leq 0.05$) (جدول ۶). در این مرحله بیشترین درصد بازماندگی ($95/52 \pm 1/31$ درصد) در تیمار A_{۱۵۰} و کمترین ($28/36 \pm 4/52$ درصد) در تیمار شاهد مشاهده گردید.

جدول ۶: میانگین وزن و ضریب چاقی ($n=10$) و بازماندگی لاروها در مراحل پایان جذب کیسه زرده و پایان مرحله لاروی ($n=3$)

شاخص	جیره	A _{۵۰}	A _{۱۰۰}	A _{۱۵۰}	شاهد
وزن قبل از جذب (میلی گرم)	$1/50 \pm 0/01^d$	$1/68 \pm 0/01^c$	$2/48 \pm 0/02^a$	$1/59 \pm 0/02^d$	
وزن پس از جذب (میلی گرم)	$1/47 \pm 0/00^e$	$1/51 \pm 0/01^e$	$2/20 \pm 0/00^a$	$1/58 \pm 0/01^d$	
ضریب چاقی پایان جذب	$1/10 \pm 0/09^d$	$1/78 \pm 0/10^{bc}$	$2/16 \pm 0/11^a$	$1/82 \pm 0/16^{bc}$	
ضریب چاقی پایان لاروی	$0/70 \pm 0/02^c$	$0/84 \pm 0/04^b$	$0/98 \pm 0/04^a$	$0/79 \pm 0/03^c$	
بازماندگی در پایان جذب (درصد)	$86/97 \pm 6/19^a$	$88/35 \pm 3/73^a$	$96/67 \pm 0/64^a$	$78/94 \pm 5/19^a$	
بازماندگی در پایان لاروی (درصد)	$38/29 \pm 3/02^d$	$73/46 \pm 2/34^c$	$96/52 \pm 1/31^a$	$28/36 \pm 4/52^e$	

وجود حداقل یک حرف مشترک بین تیمارهای یک سطر، نشانه عدم اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی در سطح $\alpha=0/05$ است

خصوصیات ریختی لاروها

نتایج نشان می‌دهد که در زمان بعد از دنیا آمدن لاروها (Hatching)، اختلاف معنی داری در پارامترهای اندازه‌گیری شده (طول نوتوکورد، ارتفاع بدن و مساحت کیسه زرده) بین لاروها در تیمارهای مختلف مشاهده نشده است (جدول ۷).

نتایج نشان داد که در زمان قبل از جذب کیسه زرده، در هیچ یک از خصوصیات ریختی لاروها بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشده است (جدول ۷).

نتایج تجزیه تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد که در زمان جذب کامل کیسه زرده، اختلاف معنی داری بین تیمارها بوجود آمده است ($P \leq 0/05$). بیشترین طول نوتوکورد در تیمار A_{۱۵۰} و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. مقدار طول نوتوکورد در تیمار A_{۵۰} با

تیمارهای دیگر یکسان بود. بیشترین ارتفاع بدن در تیمار A_{۱۵۰} و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. تیمار A_{۱۰۰} و A_{۱۵۰} اختلاف معنی داری را برای ارتفاع بدن نشان ندادند ولی مقدار ارتفاع بدن در تیمار A_{۵۰} کمتر از دو تیمار حاوی رنگدانه بود (جدول ۷).

نتایج نشان داد که در زمان پایان مرحله لاروی بین تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده شده است. تیمار A_{۱۵۰} اختلاف معنی داری را نسبت به سایر تیمارها در فاکتورهای طول نوتوکورد نشان داده است و بیشترین میزان را شامل می‌شود. کمترین مقدار مربوط به تیمار A_{۵۰} بوده که با شاهد اختلاف معنی داری نداشته است. مقدار ارتفاع بدن نیز در لاروهای حاوی مقادیر بالاتر آستاگزاتین مشاهده گردید (جدول ۷).

جدول ۷: میانگین خصوصیات ریختی لاروها در تیمارها در مراحل مختلف

شاهد	A _{۱۵۰}	A _{۱۰۰}	A _{۵۰}		
۴/۲۱±۰/۱۲ ^a	۴/۳۵±۰/۰۷ ^a	۴/۲۴±۰/۰۷ ^a	۴/۱۷±۰/۱۲ ^a	نوتوکورد	مرحله بعد از هچ
۱/۱۲±۰/۰۴ ^a	۱/۱۵±۰/۰۳ ^a	۱/۱۶±۰/۰۲ ^a	۱/۳۱±۰/۰۵ ^a	ارتفاع بدن	
۱/۴۲±۰/۰۹ ^a	۱/۴۵±۰/۰۴ ^a	۱/۴۸±۰/۰۵ ^a	۱/۶۵±۰/۰۱۲ ^a	مساحت کیسه زرده	
۵/۷۰±۰/۱۰ ^a	۵/۵۶±۰/۰۶ ^a	۵/۵۰±۰/۰۶ ^a	۵/۵۰±۰/۰۶ ^a	نوتوکورد	مرحله قبل از جذب
۰/۹۸±۰/۰۲ ^a	۰/۹۸±۰/۰۲ ^a	۱/۰۲±۰/۰۲ ^a	۱/۰۰±۰/۰۲ ^a	ارتفاع بدن	
۰/۱۷±۰/۰۱ ^a	۰/۲۰±۰/۰۱ ^a	۰/۱۸±۰/۰۱ ^a	۰/۱۸±۰/۰۱ ^a	مساحت کیسه زرده	
۵/۶۳±۰/۰۶ ^b	۶/۰۹±۰/۰۸ ^a	۵/۷۷±۰/۰۹ ^{ab}	۵/۹۵±۰/۰۴ ^{ab}	نوتوکورد	مرحله بعد از جذب
۰/۸۹±۰/۰۲ ^c	۱/۰۴±۰/۰۱ ^a	۱/۰۲±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۹۴±۰/۰۵ ^b	ارتفاع بدن	
۷/۲۵±۰/۱۶ ^c	۹/۸۹±۰/۱۴ ^a	۹/۱۲±۰/۱۸ ^b	۶/۹۱±۰/۰۸ ^c	نوتوکورد	پایان مرحله لاروی
۱/۲۱±۰/۰۷ ^b	۱/۶۵±۰/۰۶ ^a	۲/۰۴±۰/۰۷ ^b	۱/۱۷±۰/۰۲ ^b	ارتفاع بدن	

وجود حداقل یک حرف مشترک بین تیمارهای یک سطر، نشانه عدم اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی در سطح $\alpha=0/05$ است.

بحث

بیش از ۵۰ سال است که محققان بسیاری در خصوص ارتباط بین مقادیر کارتنوئید تخم ماهیان و کیفیت تخم تحقیق نموده و نتایج مختلفی بدست آورده‌اند.

در این زمینه بیشتر تحقیقات انجام شده در خصوص آزاد ماهیان بوده است (Torrissen, and Christiansen, 1995). گزارش‌های ارایه شده در این خصوص درباره آزاد ماهیان متناقض بوده به‌طوری‌که بعضی از نویسندگان ارتباط مؤثری را بین میزان کارتنوئید تخم آزاد ماهیان و کیفیت تخم، بدست آورده‌اند (Harris, 1984). از طرف دیگر عده‌ای این ارتباط را بی‌معنی دانسته و تاثیر این مواد در کیفیت تخم و رسیدگی جنسی را موثر ندانستند (Torrissen, and Christiansen, 1995). وجود این اختلافات می‌تواند ناشی از نوع روش کار، نوع گونه، سن مولدین، اختلاف در مقدار و نوع کارتنوئید و تفاوت در معیارهای مورد استفاده برای اندازه‌گیری کیفیت تخم باشد. رژیم‌های حاوی منابع

مختلف کارتنوئیدی از جمله آستاگزانتین، کانتازانتین و بتاکاروتن توانسته‌اند باعث بهبود کیفیت تخم خرچنگ آب شیرین^۱ (*Cherax quadricarinatus*) (Harpaz et al., 1998)، مولدین تن زردباله^۲ (*Seriola quinquerod*) (Verakunpiriy et al., 1997)، تخم‌های توتیای دریای (*Lytechinus variegatus*) (George et al., 2001) و تخم شیرماهی^۳ (*Pseudo caranx dentex*) (Vassallo- Agius et al., 2001) شوند. در بعضی از گونه‌های دریایی، مثل میگوی موندون^۴ (Pangantihon et al., 1998) صدف آبالون^۴ (*Haliotis discus*) (Tsushima and Matsuno, 1998). کارتنوئیدها باعث بهبود رشد و بازماندگی لاروها شده‌اند. در سالیان گذشته، برای آستاگزانتین حتی نقش هورمونی تأثیرگذار بر لقاح نیز قائل شده‌اند (Hartman et al., 1947)

^۱- Cray fish

^۲- Yellow tail

^۳- Striped jack

^۴- Abalone

(2003) در گونه استریپت جک (*Pseudocaranx dentex*) و (Varghese et al, 2009) در گونه دلفک ماهی (*Amphiprion sebae*) مغایرت داشت. شاید یکی از علل اصلی این مغایرت آن باشد که ماهی مورد مطالعه در این تحقیق تخمک‌های داخل تخمدان خود را بصورت دسته‌ای آماده تخم‌ریزی می‌کنند (Bathch Spawner) و همزمان با تخم‌های رسیده در بدن تخم‌های نارس نیز در آن دیده می‌شود (West 1990). نتایج این تحقیق نشان داد که متوسط تعداد در گرم تخمک‌های بیمار شاهد نسبت به تیمارهای حاوی کارتنوئید بالاتر بوده و اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت. به عبارت دیگر متوسط وزن انفرادی تخمک‌های بیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر کوچکتر بود. علاوه بر این در بین تیمارهای حاوی کارتنوئید، تیمارهایی که از غلظت کارتنوئید بیشتری برخوردار بودند؛ نسبت به تیمارهای با غلظت پایین‌تر دارای تخمک‌های بزرگتری بودند. این مسأله در مطالعات انجام شده توسط شوبرت و همکاران (۲۰۰۶) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نیز مورد تأیید قرار گرفت. البته (Usen, 1984) در گونه مرغابی آمریکایی (*Fulica amricana*) نتیجه گرفت که کارتنوئیدهای موجود در رژیم غذایی بر روی اندازه تخم آن تأثیری نداشته است. بسیاری از محققان در نتایج تحقیقاتی خود بیان داشته‌اند که بالاتر بودن سطوح کارتنوئید در جیره مولدین، باعث افزایش تولید لیوپروتئین‌های ترکیبی در تخمدان می‌شود که این مواد در افزایش ذخیره انرژی مواد زرده نقش مهمی دارند (Harison et al., 1997; Quinitio et al., 1967, Cheese man et al., 1990). چنین نتایجی درخصوص سایر جانوران مثل سختپوستان (میگوی موندون) توتیا دریایی (*lytechinus variegate*) و

در تحقیقات دیگری گزارش شده است که جیره های حاوی کارتنوئید می‌توانند باعث افزایش درصد لقاح، رسیدگی جنسی و افزایش درصد بازماندگی تخم‌ها پس از لقاح، در ماهیان شوند (Huang et al., 2008 and Hubbs et al., 1985). از طرف دیگر محققان دیگری مثل Quantz (1980)، Tveranger (1986)، Torrissen, and Christiansen (1995) هیچ ارتباط و همبستگی موثری بین رژیم‌های غذایی حاوی کارتنوئید با درصد مرگ و میر و تفریخ تخم‌ها و درصد بازماندگی آلوین‌های^۱ ماهی آزاد پیدا نکردند. در طی مراحل نمونه‌برداری میانگین وزن و طول ماهیان اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان نداد. همچنین میانگین شاخص شکل بدن مولدین در تیمارهای مختلف، نیز اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نداشتند. این نتیجه در مطالعات انجام شده توسط Yanar and Tekeliglu (1997) نیز تأیید شده است. آنها به این نتیجه رسیدند که کارتنوئیدهای موجود در جیره تأثیری در رشد ماهی طلایی نداشته‌اند.

در تحقیقات گذشته، نشان داده شد که رژیم‌های حاوی کانتاگزانتین باعث بهبود همآوری ماهی قزل‌آلا شده است (Harris, 1984). این نتیجه بوسیله (Huang et al., 2008) در گونه میگوی موندون نیز به اثبات رسیده است. در این تحقیق، اگرچه میانگین میزان همآوری کل، کاری و نسبی مولدین در تیمار A_{۱۵۰} بیشتر از دیگر تیمارها و بخصوص بیمار شاهد بوده است ($P \geq 0.05$) ولی اختلاف معنی‌داری بین میزان همآوری‌های مورد مطالعه در تیمارهای مختلف دیده نشد ($P \geq 0.05$). این نتیجه با نتایج بدست آمده بوسیله Watanabe et al و Vassallo-Agius et a (2001)،

^۱ - Alevins

پرستوی انبار^۱ (*Hirund rustica*) نیز به اثبات رسیده است (George et al., 2001; Salze et al, 2005; Huang et al., 2008).

در تحقیق حاضر، در زمان تکثیر مصنوعی مولدین، پس از عملیات تزریق هورمون جنسی، میانگین زمان رسیدگی نهایی مولدین تیمار شاهد، نسبت به تیمارهای دیگر سریع‌تر اتفاق افتاد؛ بعبارت دیگر زمان رسیدگی نهایی و آزاد شدن تخمک‌ها از دیواره تخمدان در تیمار شاهد نسبت به دیگر تیمار سریع‌تر بود. به نظر می‌رسد که پایین‌تر بودن شاخص گنادی تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر، باعث تاثیرگذاری بیشتر هورمون تزریقی و رهاسازی سریع‌تر تخمک‌ها از جداره تخمدان در این تیمار باشد.

میانگین تعداد در گرم تخم مولدین تیمار شاهد و تیمار A_۵ نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بوده است. به عبارت دیگر میانگین وزن انفرادی تخم‌ها در این تیمارها کوچکتر از تیمارهای دیگر بود. وزن کمتر تخم‌های این مولدین پس از لقاح، می‌تواند ناشی از ذخیره کمتر منابع غذایی در این تخم‌ها باشد (Heinimaa and Heinimaa, 2004). این امر می‌تواند در میزان درصد لقاح و درصد بازماندگی پایین‌تر تخم‌های این مولدین نیز تاثیرگذار باشد (Heinimaa and Heinimaa, 2004). کوچک‌تر بودن وزن انفرادی تخم‌های تیمار شاهد و A_۵ با وزن تخمک‌های مولدین این تیمارها در قبل از لقاح، ارتباط دارد. لازم به ذکر است که، تخمک‌های مولدین این تیمارها در قبل از لقاح از تیمارهای دیگر کوچکتر بوده‌اند. Beacham and Murray, در سال ۱۹۸۵ و Ojanguren و همکاران در سال ۱۹۹۶ گزارش داده‌اند که بین اندازه تخم و میزان زرده تجمع یافته در تخم

گونه آزاد اقیانوس اطلس ارتباط معنی‌داری وجود دارد. تغییرات اندازه تخم می‌تواند در مراحل رشد و نمو جنینی و بازماندگی لاروها تاثیر مستقیمی داشته باشد. در این زمینه نتایج بدست آمده در خصوص قطر تخم‌ها پس از لقاح نیز نشان دهنده کوچکتر بودن قطر تخم‌های مولدین تیمار شاهد نسبت به دیگر تیمارها بوده است ($P \leq 0.05$).

شواهد زیادی مبنی بر اثر جیره‌های حاوی کارتنوئید بر میزان درصد لقاح در مولدین ماهی و دیگر آبزیان موجود است (Harris, 1984) در تحقیق حاضر میانگین درصد لقاح در تخم‌های حاوی کارتنوئید نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود. این نتیجه با نتایج بدست آمده قبلی، مبنی بر افزایش درصد لقاح در تخم‌های مولدین ماهی قزل‌آلایی که حاوی کارتنوئیدهای بیشتری بودند، مطابقت دارد (Ahmadi, 2006). محققان دیگری نیز مثل Tsushima و Matsuno در سال ۱۹۹۸ این مساله را در گونه قزل‌آلا مورد تایید قرار دادند. بعضی از محققان درصد بالاتر لقاح تخم‌های حاوی منابع کارتنوئیدی را به علت جاذب بودن این دسته از تخم‌ها در مقابله با اسپرماتوزئید می‌دانند و معتقدند که تخم‌ها رنگی‌تر زودتر مورد جذب اسپرم قرار گرفته و این امر می‌تواند درصد لقاح را در این گونه تخم‌ها بالاتر ببرد (Hartman, 1997). البته Vassallo-Agius و همکاران در سال ۲۰۰۱ چنین نظری را در گونه ماهی استریت جک (*Pseudocaranx dentex*) ندارند. ولی Kariono و Haijima در سال ۲۰۰۴ تاکید کرده‌اند که جیره‌های حاوی کارتنوئید در افزایش درصد لقاح ماهی گوپی موثر است. محققان دیگری مثل Christiansen and Tveranger (1995)، Quantz, g(1980)،

^۱ - Barn swallow

(1986) نیز اگرچه بر عملکرد موثر کارتنوئیدها، روی بهبود فرآیند تولید مثل ماهی قزل آلا تاکید کردند ولی معتقد بودند که جیره های حاوی کارتنوئید تاثیر مثبتی روی درصد لقاح تخم ها در مقابل تیمار شاهد ندارد. (Sawanboonchum and William (2008 اثرات مثبت کارتنوئیدها را بر درصد لقاح تخم ماهی کاد^۱ نشان دادند.

نسبت تخم های لقاح یافته به وزن مولدین در تیمارهای حاوی آستاگزانتین نسبت به شاهد بیشتر بود ($P \leq 0/05$). با توجه به عدم اختلاف معنی دار بین میزان هماوری نسبی و کاری مولدین در تیمارهای مختلف، بالاتر بودن میزان نسبت تخم لقاح یافته به وزن مولدین نیز تاکید می است بر بالاتر بودن درصد لقاح در تخم های حاوی آستاگزانتین و این نتیجه نشان می دهد که متوسط تعداد تخم لقاح یافته به ازاء هر گرم وزن مولدین در جیره های حاوی آستاگزانتین نسبت به تیمار شاهد بالاتر بوده است. هر سه تیمار حاوی آستاگزانتین نسبت به تیمار شاهد از نسبت تخم لقاح یافته به وزن بدن بالاتری برخوردار بودند ($P \leq 0/05$). ساوان بون چون و همکاران (۲۰۰۸) نیز چنین نتیجه ای را تایید می نماید. آنها با مطالعاتی که بر روی مولدین ماهی کاد (*Gadus morhua*) انجام دادند، نتیجه گرفتند که جیره های حاوی آستاگزانتین نسبت به جیره شاهد، باعث افزایش ۳۷ درصدی تخم های لقاح یافته شناور نسبت به وزن مولدین شده و همچنین ۴۷ درصد نسبت تخم های لقاح یافته به وزن بدن را می افزایند. افزودن ۵۰ میلی گرم آستاگزانتین در کیلو گرم جیره میگوی موندون نیز باعث افزایش

نسبت تعداد تخم به وزن مولدین شده است (Huang et al., 2008).

در مرحله انکوباسیون تخم ها، در فاصله بین زمان لقاح تا شروع گاسترولاسیون متوسط وزن تخم ها افزایش یافت. این افزایش وزن همراه با افزایش حجم تخم ها در اثر آگیری های پس از لقاح و تقسیمات سلولی بوده است. در مرحله گاسترولاسیون نیز مانند زمان لقاح تخم های مولدین تیمار A_{150} از میانگین وزن بالاتری برخوردار بودند و تیمار شاهد و A_{50} نسبت به تیمارهای دیگر دارای تخم های کوچکتری بوده و افزایش وزن کمتری را نسبت به سایر تیمارها تولید نمودند ($P \leq 0/05$). درصد بالاتر افزایش وزن تخم ها در تیمار A_{150} می تواند نشان دهنده بالاتر بودن حجم آب جذب شده و یا افزایش تراکم سلولی در جنین های شکل گرفته در تخم های این تیمارها باشد.

بسیاری از محققان ارتباط معنی داری بین مقدار کارتنوئید تخم و درصد بازماندگی تخم ها در طی مراحل انکوباسیون را اثبات کرده اند (Harris, 1984; Palace et al., 1998; Ahmadi et al., 2006 and Tyndale et al., 2008) در تحقیق حاضر تخم هایی که حاوی مقادیر بیشتری از آستاگزانتین بوده اند، از درصد بازماندگی بالاتری تا مرحله گاسترولاسیون برخوردار بودند. به عبارت دیگر تیمار A_{150} نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای دیگر درصد بازماندگی لارو بالاتری داشت ($P \leq 0/05$). در تایید نتیجه بالا، احمدی و همکاران (۲۰۰۶) نیز با مطالعاتی که روی گونه قزل آلا ی رنگین کمان انجام دادند، نتیجه گرفتند که جیره های حاوی منابع بالاتر آستاگزانتین، درصد بازماندگی بالاتری را برای تخم ها تا زمان چشم زدگی ایجاد می کنند. ضمناً این نتیجه توسط Tyndale و همکاران

^۱- Gadus Morhua

(۲۰۰۸) در گونه آزاد ماهی چینوک^۱ (*Oncorhynchus tshawytscha*) نیز مورد تایید قرار گرفت.

نتایج این تحقیق نشان داد که در پایان مرحله انکوباسیون درصد تفریخ تخم‌ها در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشته و در این بین تیمار A_{15} نسبت به دیگر تیمارها درصد بازماندگی بالاتری را نشان داد؛ این مسأله نشان می‌دهد که منابع آستازانتین در طی رشد و نمو جنینی ماهی طلایی مؤثر واقع شده و باعث بهبود کیفیت تخم‌ها شده است ($P \leq 0/05$). نتایج مشابهی توسط (Tsushima and Matsuno, 1998) در شکم پای گوش دریا (*Haliotis discus*) و (Kawakami, 2008) در توتیای دریایی (*Psedocentrotus depressus*) ثابت شده است.

از آنجائیکه کارتنوئیدهای موجود در تخم ماهیان می‌توانند باعث کاهش پراکسیده شدن چربی‌ها در طی مراحل انکوباسیون شوند (Young and Lowe, 2001). این امر می‌تواند از حساسیت ناشی از تنش‌های مختلف تخم‌ها در طی مراحل رشد و نمو جنینی کاسته و ضمن کاهش آسیب‌های ناشی از مخاطرات پراکسیده‌ها، از مرگ و میر تخم‌ها در طی مراحل انکوباسیون جلوگیری نماید. غلظت بالاتر کارتنوئید در تخم این حساسیت را کاهش می‌دهد (Graw et al., 2005). علاوه بر آن از بالاتر بودن درصد تفریخ و بازماندگی کل تخم‌ها در تیمارهای حاوی آستازانتین، نسبت به تیمار شاهد و همچنین بالاتر بودن درصد بازماندگی کل تخم‌ها در این تیمار نسبت به تیمارهای با غلظت پایین‌تر آستازانتین، می‌توان نتیجه گرفت که این اختلاف می‌تواند ناشی از عملکرد بالای کارتنوئیدها و بخصوص کارتنوئیدهای اکسیژنی مثل

آستازانتین در حذف رادیکالهای آزاد اکسیژنی ناشی از اکسیده شدن چربی در طی مراحل رشد و نمو جنینی باشد (Woodall et al., 1997).

در بسیاری از ماهیان ثابت شده است که تخم‌هایی که دارای درصد لقاح بالایی باشند در نهایت درصد تفریخ بالاتر و درصد لاروهایی که شروع به تغذیه فعال می‌کنند در آنها بالاتر است (Graw et al., 2005). ضمناً ماهیانی که تخم‌های بزرگتری نسبت به هم نوعان خود تولید کنند، لاروهای بزرگتر و قویتری خواهند داشت. این مسأله توسط Bagenal (۲۰۰۶) در گونه قزل‌آلای قهوه‌ای ثابت شده است.

در این تحقیق میانگین وزن اولیه لاروها (پس از خروج از تخم) در تیمار شاهد و A_5 کمترین مقدار را در بین تیمارها دارا بودند. با نگاهی به سائز تخم‌های مولدین در زمان لقاح می‌توان نتیجه گرفت که بین سائز تخم‌ها و اندازه لاروها ارتباط مثبتی وجود دارد. نتیجه بدست آمده در این تحقیق با نتایج بدست آمده توسط Elliot در سال ۱۹۸۹ و Beacham and murray در سال ۱۹۸۵ در لاروهای ماهی آزاد (*Salmo salar*) همخوانی دارد. به احتمال زیاد تخم‌های بزرگتر دارای انرژی ذخیره‌ای بیشتری هستند (Srivastava and Brown, 1991).

پس از جذب کیسه زرده واز بین رفتن محتویات آن، متوسط وزن لاروها در تمامی تیمارها کاهش یافت. مقدار نسبی این کاهش در تیمار A_{15} نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود. علت این امر می‌تواند بزرگتر بودن اندازه کیسه زرده در تخم مولدین این تیمار باشد. در مرحله بعد از جذب کیسه زرده بعلت درصد تلفات بالاتر لاروها؛ در تیمارهای A_5 و شاهد و کم شدن تراکم لاروها در مخازن؛ فضای رشد برای لاروها در

^۱- Chinook

این مخازن بیشتر شده، لذا رشد انفرادی لاروها در این تیمارها افزایش یافته و این امر باعث افزایش ضریب چاقی لاروها در تیمارهای A_5 و شاهد نسبت به مرحله قبل از جذب کیسه زرده در مقایسه با تیمارهای دیگر شد.

شواهد زیادی مبنی بر ارتباط بین کارتنوئیدهای موجود در تخم و کیفیت لاروها موجود است. George و همکاران در سال ۲۰۰۱ ثابت کردند که مقادیر بیشتر کارتنوئیدهای آستاگزانتین در تخم آزاد ماهیان باعث افزایش درصد بازماندگی لاروها در قبل و بعد از جذب کیسه زرده می‌شود.

Christiansen و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش کرده اند که مکمل های آستاگزانتین باعث افزایش سلامت و عملکرد سیستم ایمنی لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌شوند.

بنظر می‌رسد چنین نتایجی با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت داشته باشد. در این تحقیق متوسط درصد بازماندگی لاروها تا پایان مرحله جذب کیسه زرده اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان داد و مقدار درصد بازماندگی در این مرحله در تیمار شاهد و تیمار A_5 نسبت به دیگر تیمارها پایین تر بود. لاروهای این تیمارها، به لحاظ شکل ظاهری، نوع حرکت داخل وان و رنگ بدن نسبت به گروه های دیگر متفاوت بودند. همچنین در پایان مرحله جذب کیسه زرده و شروع تغذیه فعال (دو روز پس از جذب) متوسط درصد بازماندگی تیمار شاهد نسبت به تیمار A_{15} ، تفاوت آشکاری را نشان داد. این نتیجه نشان می‌دهد که لاروهای با مقادیر بالاتر کارتنوئید چه به لحاظ اندازه و چه به لحاظ درصد بازماندگی نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای با سطوح پایین تر کارتنوئید

ارجحیت دارند. لاروهای تیمارهای A_{15} به نسبت لاروهای تیمارهای دیگر از اندازه ضریب چاقی بالاتری نیز برخوردار بوده و نوع رفتار بیولوژیک آنها در داخل وان‌ها نیز (نحوه حرکت، تجمع‌های گروهی، سرعت شروع تغذیه فعال و رنگ تیره تر) نشان از سلامت بالاتر و فعالیت بیشتر این لاروها نسبت به گروه های دیگر بود.

در خاتمه می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به عدم اختلاف معنی دار بین میزان همآوری کل و کاری مولدین در تیمارهای مختلف، اندازه تخمک‌های مولدین در تیمارهای حاوی آستاگزانتین بیشتر بزرگتر از تیمار شاهد بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار شاهد و تیمارهایی که از مقادیر پایین تر آستاگزانتین برخوردار بودند؛ تخمک‌ها و تخم‌های لقاح یافته کوچک تری داشتند. همچنین میانگین درصد لقاح در تیمارهای حاوی آستاگزانتین بالاتر، بیشتر از تیمار شاهد بود و این امر نشان داد که آستاگزانتین در غلظت‌های بالاتر در جیره می‌تواند در افزایش درصد لقاح مؤثر باشند. در پایان مرحله انکوباسیون متوسط درصد بازماندگی تخم‌ها، در تیمارهای با مقادیر بالاتر آستاگزانتین، بالاتر بوده و اختلاف بسیار زیادی با تیمار شاهد از خود نشان دادند. نتایج این تحقیق بیانگر آن بود که میانگین نسبت تخم و لارو لقاح یافته در تیمارهای آستاگزانتین از تیمار شاهد بالاتر بود.

در خاتمه این تحقیق نشان داد که لاروهای حاصله از تیمار آستاگزانتین در بالاترین مقدار استفاده شده (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم) لاروهای قوی تر و با ضریب چاقی بالاتری بوده و در نتیجه بازماندگی بالاتری را حاصل می‌نمایند.

performance, mortality and carotenoid pigmentation of fry offspring as affected by dietary supplementation of astaxanthin to female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* broodstock. *Journal of Applied Ichthyology*, 286 pp.

6. Beacham, T. D., Murray, C. B., 1990. Temperatur, egg size, and development of embryos and alevins of five species of pacific salmon: a comparative analysis trans. American fishery Society, 119:927-945.
7. Birkhauser, V., 2002. Carotenoides. Norwegian University of Science and Technology (NTNU), 322pp.
8. Britton, G., 1983. The Biochemistry of Natural Pigments, Cambridge University Press, Cambridge, p. 45.
9. Bromage, N. R., 1995. Broodstock management and seed quality - general considerations. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. (Eds.), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, London, pp. 1-24.
10. Cheeseman, D. F., Lee, W. L., Zagalsky, P. F., 1967. Carotenoproteins in invertebrates. *Biological Reviews*, 42, 132-160.
11. Craik, J. A. C., Harvey, S. M., 1986. Egg quality in Atlantic salmon. *ICES Reports* 1986, F:2, 9 pp.
12. Christiansen, R., Torrissen, O. J., Struksnæs, G., and Esterman, R., 1995. Astaxanthin deposition in the flesh of Atlantic salmon *Salmo salar* L., in relation to dietary astaxanthin concentration and period. *Aquaculture Nutrition*, 84-177.
13. Elliot, J. M., 1989. Mechanisms responsible for population regulation in young migratory trout (*Salmo trutta*). The critical time for survival. *Journal of Animal Ecology*, 58:987-1002.
14. Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Gonzalez, M., Robaina, L., Valencia, A.,

سپاسگزاری

در خاتمه تشکر خود را از همکاری و مساعدت مرکز بازسازی ذخایر ماهیان استخوانی شهید انصاری رشت که در طول انجام تحقیق همکاری‌های بی دریغی را بابت اجرای مناسب و در اختیار قرار دادن حوضچه‌های پرورش با این مجموعه به انجام رساندند؛ اعلام می‌نمایم.

منابع

۱. حمید اوغلی، ع.، فلاحتکار، ب.، یوسفی جوردی، ا.، صحراگرد، احد.، ۱۳۹۶. تولید و غنی سازی لارو شیرونومیدها سطوح مختلف ویتامین C و تاثیر آن بر تغذیه لاروی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). نشریه توسعه آبی پروری، ۷(۴)، ۲۴-۱۳.
۲. فداکار، ا.، بهمنی، م.، یوسفی جوردی، ا.، ۱۳۹۶. تعیین سطوح باقیمانده کاروتنوئید آستازانتین در مراحل مختلف رشد و نمو جنینی و لارو و تاثیر آن بر برخی شاخص‌های ایمنی در ماهی استرلیاد پرورش (*Acipenser ruthenus*). نشریه توسعه آبی پروری، ۱۱(۴)، ۸۹-۷۹.
3. Ahmadi, M. R., Bazyar, A., Safi, S., Ytrestoyl, T., Bjerkeng, B., 2006. Effects of dietary astaxanthin supplementation on reproductive characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Applied Ichthyology*, 22(5), 22-38.
4. Bagenal, T. B., 2006. Relationship between Egg Size and Fry Survival in Brown Trout *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology*, 44-52
5. Bazyar, A., Ahmadi, M. R., Safi, S., Ytresta, T., Bjerkeng, B., 2009. Growth

- the viability of darter *Osteichthys* sp offspring. *Physiological Zoology*, 31, 280-283.
24. Izquierdo, M., Ferná'ndez-Palacios, H., 1997. Nutritional requirements of marine fish larvae and broodstock. *Cah. Options Mediterr*, 22, 243-264.
 25. Kerfeld, C. A., Sawaya, M. R., Brahmandam, V., Cascio, D., Ho, K. K., Trevithick-Sutton, C. C., Krogmann, D. W., Yeates, T. O., 2003. The Crystal Structure of a Cyanobacterial Water-Soluble Carotenoid-Binding Protein. *Structure*, 11, 55-65.
 26. Levene, Howard., 1960. Robust tests for equality of variances. In Ingram Olkin, Harold Hotelling, et alia. Stanford University Press, pp. 278-292.
 27. Mikulin, A. Y., 2003: The influence of carotenoids contained in the eggs upon the offspring quality at artificial fish breeding. *Proceedings book, Internat. Symp., Coldwater Aquaculture*, 8-13, September 2003, St Petersburg, Russia, p. 72.
 28. Milicua, J. C. G., Juarros, J. L., de las Rivas, J., Ibarrondo, J., Gomez, R., 1991. Borohydride reduction of the blue carotenoid-protein complex from *Procambarus clarkii*. *Phytochemistry*, 30, 1535.
 29. Nielsen, L. A., Johnson, D. L., 1983. *Fisheries Techniques*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 468 pp.
 30. Ojanguren, A. F., Reyes-Gavilan, F. G., Brana, F., 1996. Effects of egg size on offspring development and fitness in brown trout, *Salmo trutta* L. *Aquaculture*, 147, 9-20.
 31. Page, G. I., Davies, S.J., 2003. Hepatic carotenoid uptake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using an isolated organ perfusion model. *Aquaculture*, 225:405-419.
 32. Palace, V. P., Brown, S. B., Baron, C. L., Fitzsimons, J., Woodin, B., Stegeman, J. 1998. Combined effect of dietary α -tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 161, 475-476.
 15. George, S.B., Lawrence, J.M., Lawrence, A.L., Smiley, J., Plank, L., 2001. Carotenoids in the adult diet enhance egg and juvenile production in the sea urchin (*Lytechinus variegates*). *Aquaculture*, 199, 353-369.
 16. Graw, K. J., Adkins-Regan, E., Parker, R. S., 2005. *Naturwissenschaften*, 92, 375.
 17. Harpaz, S., Rise, M., Arad, S., Gur, N., 1998. The effect of three carotenoid sources on growth and pigmentation of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture Nutrition*, 4, 201-208.
 18. Harris, L. E., 1984. Effects of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and egg color. *Aquaculture*, 43, 179-183.
 19. Harrison, K.E., 1997. Broodstock nutrition and maturation diets. In: *Crustacean Nutrition*. World Aquaculture Society, 6, 390-408.
 20. Hartman, M., Medem, F. G., Kuhn, R., Bielig, H. J., 1947. Untersuchungen über die Befruchtungsfstoffe der Regenbogenforelle. *Z. Naturforsch.* 2b, 330-349.
 21. Heinimaa, S., Heinimaa, P., 2004. Effect of the female size on egg quality and fecundity of the wild Atlantic Salmon in the sub-arctic River Teno, Boreal Environment Research, 9: 55-62.
 22. Huang, J. H., Jiang, S. G., Lin, H. Z., Zhou, F. L., Ye, L., 2008. Effects of dietary highly unsaturated fatty acids and astaxanthin on the fecundity and lipid content of pond-reared *Penaeus monodon* (Fabricius) broodstock. *Aquaculture Research*, 39, 240-251.
 23. Hubbs, C., Stavenbagen, L., 1985. Effects of maternal carotenoid deficiency on

- diets. Journal of Applied Ichthyology, 11, 225-230.
41. Tsushima, M., Matsuno, T., 1998. The role of b-carotene on growth and survival of juvenile Japanese abalone *Haliotis discus*. Fisheries Science, 64, 660-661.
 42. Tveranger, B., 1986: Effect of pigment content in broodstock diet on subsequent fertilization rate, survival and growth rate of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) offspring. Aquaculture, 53, 85-93.
 43. Tyndale, S. T., Letcher, R. J., Heath, J. W., Heath, D. H., 2008. Why are salmon eggs red? Egg carotenoids and early life survival of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Evolutionary Ecology Research, 10, 1187-1199.
 44. Usne, J., Butt, H., 2005. Carotenoids in the eggs of American Coots: Associations with size of eggs, local environment, and diate .Thesis submitted to the College of Graduate Studies and Research In Partial Fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science in the Department of Biology, 456-463.
 45. Verakunpiriya, V., Mushiake, K., Kawano, K., Watanabe, T., 1997. Supplemental effect of astaxanthin in broodstock diets on the quality of yellowtail eggs. Fisheries Science, 63, 816-823.
 46. Varghese, B., Paulraj, R., Gopakumar, G., Chakraborty, K., 2009. Dietary influence on the egg production and larval viability in True Sebae Clownfish *Amphiprion sebae* Bleeker 1853. Asian Fisheries Science, 22, p: 7-20.
 47. Vassallo-Agius, Imaizumi, R. H., Watanabe, T., Yamazaki, T., Satoh, S., Kiron, V., 2001. Effects of dry pellets containing astaxanthin and squid meal on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. Fisheries Science, 67, 260.
 - J.Klaverkamp, J. F., 1998. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario. Aquatic Toxicology, 43, 195-208.
 33. Pangantihon-Kuhlmann, M. P., Millamena, O., Chern, Y., 1998. Effect of dietary astaxanthin and vitamin A on the reproductive performance of *Penaeus monodon* broodstock. Aquatic Living Resources, 11, 403-409.
 34. Quantz, G., 1980: Über den Einfluss von Carotinoidreichem Trockenfutter auf die Eibefruchtung der Regebogenforelle (*Salmo gairdneri* R.). Archiv für Fischereiwissenschaft, 31, 29-40.
 35. Quintio, E. T., Hara, A., Yamauchi, K., Fuji, A., 1990. Isolation and haracterization of vitellin from the ovary of *Penaeus monodon*. Invertebrate Reproduction and Development., 17, 221-227.
 36. Salze, G., Tocher, D. R., Roy, W. J., Robertson, D.A., 2005. Egg quality eterminants in cod (*Gadus morhua*. L): egg performance and lipids in eggs from farmed and wil, p32527.
 37. Sawanboonchun, J., William, J., 2008. The impact of dietary supplementation with Astaxanthin on egg quality in Atlantic cod broodstock *Gadus morhua* Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling FK9 4LA, Scotland, UK.
 38. Srivastava, R. k., Brown, J. A., 1991. The Biochemcal characteristics and hatching performance of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs. Canadian Journal of Zoology, 69:2436-2441.
 39. Steven, D.M., 1998. Studies on animal carotenoids. I. Carotenoids of the brown trout *Salmo trutta* L. Journal of Expermental Biology, 25, 369-387.
 40. Torrissen, O. J., and Christiansen, R., 1995. Requirements for carotenoids in fish

52. Wooster, G. A., Bowser, P. R., 2000. Remediation of Cayuga Syndrome in landlocked Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using egg and sac-fry bath treatments of thiamin-hydrochloride. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31, 149–157.
53. Yanar, M., Tekeliöülu, N., 1999. The Effect of Natural and Synthetic Carotenoids on Pigmentation of Gold Fish (*Carassius auratus*). *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*. 23 Ek Sayy, 3, 501-505.
54. Young A. J., Lowe, G. M., 2001. Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385, 1, 20-27.
55. Zar, J. H., 1999. *Biostatistical Analysis*. 4th edn, Prentice Hall International Editions, New Jersey, 663 pp.
48. West, G., 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41, 199-222.
49. Wallace, R.A., Walker, S.L., Auschap, V., 1967. Crustacean lipovitellin, isolation and characterization of major high-density lipoproteine from eggs of decapods, *Biochemistry*, 6, 1582-1590.
50. Watanabe, T., Ohashi, S., Itoh, A., Kitajima, C., Fujita, S., 1984. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 50, 503–515.
51. Woodall, A. A., Lee, S. W., Weesie, R. J., Jackson, M.J., Britton, G., 1997. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1336, 33–42.