

بررسی تأثیر نسبت‌های متفاوت HUFA^۱ در جیره غذایی بر رشد و بازماندگی مولدین ماده میگوی پاسبید^۲

عباس متین‌فر: مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

حسین عمادی، سید مهدی میرحیدری، هومن عبدالله بیگی:

دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

رضا قربانی واقعی: پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر

چکیده

این آزمایش به منظور تعیین مقدار مناسب اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره HUFA برای رشد و بقای مولدین ماده میگوی پاسبید در یک دوره دوماهه (از ۱۵ فروردین تا ۱۵ خرداد ۱۳۸۷) انجام شد. در این پژوهش غذای خشک اولیه حاوی مواد تشکیل دهنده یکسان و پروتئین یکسان (۳۱/۵ درصد پروتئین) بود ولی به جیره‌های آزمایشی مقادیر متفاوت HUFA ۲،۱ و ۳ درصد افزوده شد که تأثیر آن روی وزن، طول بدن و بازماندگی میگوهای تیمارهای مربوط بررسی شد و با میگوهای جیره شاهد که با غذاهای طبیعی (کرم پرینریپس، صدف ملالیس و ماهی مرکب^۳) تغذیه شده بودند مقایسه شد. غذاهای خشک استفاده شده با نسبت‌های مذکور HUFA تفاوت معنی‌داری از لحاظ درصد بازماندگی (SVR) با یکدیگر و با جیره شاهد نداشتند ($P > 0/05$). بیش‌ترین درصد افزایش طول بدن (ΔL %) در میگوهای جیره شاهد و بعد از آن در جیره حاوی ۱ درصد HUFA بود ($P < 0/05$) و بالاترین درصد افزایش وزن (WG%) در جیره حاوی ۱ درصد HUFA دیده شد که با میگوهای سایر تیمارها و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار آماری نداشتند ($P < 0/05$).

مقدمه

در سال‌های اخیر میگوی پاسبید سهم چشمگیری از تولید جهانی میگو را به‌دست آورده است و در ایران نیز پرورش این‌گونه رو به گسترش است. شیوع بیماری لکه سفید در استان خوزستان (۱۳۸۱) موجب تعطیلی موقت سایت پرورشی میگوی موندون^۴ شد، همچنین بروز این بیماری در استان بوشهر (۱۳۸۴) زمینه توجه به گونه‌های جدید را فراهم کرد. نتایج مطلوب تکثیر و پرورش آزمایشی میگوی وانامی مورد استقبال پرورش دهندگان قرار گرفت [۱].

واژه‌های کلیدی: HUFA Litopenaeus vannamei، رشد، بازماندگی

Mehdi1240@yahoo.com

پنیرش ۸۸/۸/۲۷

دریافت ۸۷/۵/۱۲

۱. Highly unsaturated fatty acids

۲. Litopenaeus vannamei

۳. Sepia officinalis

۴. Penaeus monodon

اسیدهای چرب از مهم‌ترین مواد مغذی ضروری برای متابولیسم مناسب میگوها و سایر سخت پوستان است [۳]. با این حال، در ایران بررسی‌های چندانی درباره اثرات این ماده غذایی روی رشد میگوی پارس سفید انجام نشده است.

معمولاً مصرف اسیدهای چرب غیر اشباع در مقایسه با اسیدهای چرب اشباع شده بر کاهش میزان کلسترول خون تأثیر دارد [۴]. میزان اندک کلسترول در کنار اسیدهای چرب غیر اشباع فراوان در میگوها مشوق مناسبی برای مصرف کنندگانی است که می‌خواهند کلسترول دریافتی رژیم غذایی‌شان را بکاهند و این موضوع سبب شده است که بیش از ۳۵ درصد میگوی مصرفی در ایالات متحده از طریق صنعت رو به گسترش آبی‌پروری حاصل شود [۵].

امروزه تلاش برای ساخت غذاهای فرموله که بتواند ضامن رشد و بقای خوب و سریع در میگو باشد رو به توسعه است. غذاهایی که با فرمول مناسب و کاربردی تهیه شده باشند شاید بتوانند به کیفیت غذاهای تازه نزدیک شوند [۶].

معمولاً سطوح مواد مغذی داخل غذا به صورت قطعی قابل کنترل نیستند [۷] ولی شاید گروه چربی‌ها از این قاعده مستثنا باشند، چون اجزای کاربردی چربی را می‌توان جداسازی کرد و برای ساخت فرمول جیره‌های غذایی متفاوت از روغن‌های مختلف با ترکیبات چربی متفاوت استفاده کرد [۲].

تحقیقات نشان داده‌اند که در مرحله (Juvenile) گونه‌های تلیکوم باز مثل میگوی پارس سفید نیاز به لینولینیک اسید^۱ و لینولینیک اسید^۲ بسیار ناچیز است. این دو نه به تنهایی و نه به صورت ترکیب با هم نمی‌توانند سبب افزایش معنی‌دار وزن بدن شوند؛ ولی درجیره غذایی حاوی ۵ درصد HUFA که در کل ترکیبی از (ARA) آراشیدونیک اسید^۳ و (EPA) ایکوزاپنتائونیک اسید^۴ و (DHA) دوکوزاهگزانوئیک اسید^۵ و همچنین HUFA (n-3) بود، افزایش رشد معنی‌داری در میگوها دیده شد [۳].

در ایران با وجود بررسی تأثیر انواع مواد مغذی بر روی پارامترهای رشدی میگو تا کنون هیچ پژوهشی درباره تأثیر اسیدهای چرب غیر اشباع HUFA روی رشد و بازماندگی میگوی سفید غربی انجام نشده است، بنا بر این هدف این تحقیق بررسی اثرات نسبت‌های مختلف HUFA بر روی میزان رشد و بازماندگی میگوی سفید غربی است. دست‌یابی به چنین نتایجی می‌تواند کمک مؤثری در جهت بهبود تولید این‌گونه و رشد و استمرار حرفه پرورش میگو در کشور ما باشد.

۱. Linolenic Acid

۲. Linoleic Acid

۳. Arachidonic Acid

۴. Eicosapentaenoic Acid

۵. Docosahexaenoic Acid

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر که در یک دورهٔ دوماهه (از ۱۵ فروردین تا ۱۵ خرداد ۱۳۸۷) انجام شد، چهار تیمار (شامل ۳ تیمار آزمایشی حاوی ۱، ۲ و ۳ درصد HUFA و یک تیمار غذای زنده به عنوان شاهد) و هر تیمار با سه تکرار آزمایش شد. میگوهای ماده پاسفید پیش مولد پرورشی^۱ نسل دوم (F2) از استخر گل‌خانه‌ای پژوهشکده میگوی بندرگاه در بوشهر به دست آمدند. در این تحقیق در آغاز دوره به علت حساس بودن میگوها در مراحل مولدی و پیش مولدی و نیاز آن‌ها به جای کافی به هر تانک پلاستیکی ۳۰۰ لیتری با سطح مقطع ۶۰ سانتی متر مربع، ۴ عدد پیش مولد ماده میگوی پاسفید معرفی شدند که متوسط وزن آن‌ها (31 ± 1) گرم بود [۸]. میگوهای پیش مولد قبل از معرفی به تانک‌ها ابتدا در فرمالین ۳۷ درصد (۵/۰ ppm به مدت ۱۰ دقیقه) ضد عفونی شدند و پیش از شروع دورهٔ آزمایشی به مدت ۱۵ روز دورهٔ سازگاری را طی کردند که در این مدت مراحل پوست اندازی انفرادی میگوها در هر یک از تانک‌ها انجام شد. در انتهای این مرحله تمام میگوهای ماده آزمایشی برای رسیدن به مرحله مولدی قطع پایه چشمی شدند [۹].

جیره غذایی

مبنای غذای کنسانتره مورد استفاده غذای تجاری ۴۰۰۶ هوراش بود که در اصل آخرین جیره‌ای است که در مرحله پایانی پرورشی به میگو داده می‌شود. به غذاهای کنسانتره مذکور روغن مایع HUFA به نسبت‌های (۱، ۲ و ۳ درصد) افزوده شد که باید تأثیرات این ۳ جیره با هم و در نهایت با غذای شاهد (ماهی مرکب، صدف ملالیس و کرم پری نریس) مقایسه شود.

تمام غذاهای خشک آزمایشی حاوی پروتئین یکسان (۳۱/۵ درصد پروتئین) بودند، ولی مقدار HUFA در آن‌ها متفاوت بود. برای کنترل بهتر سطح HUFA جیره‌های کنسانتره ابتدا میزان اسیدهای چرب غذای تجاری هوراش اندازه‌گیری شد، با توجه به نتایج آنالیز شیمیایی مشخص شد که میزان HUFA در غذای تجاری ۴۰۰۶ هوراش در حد صفر است. بنا بر این به نسبت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد روغن سرشار از HUFA اسپیراسلکو به غذاهای خشک آزمایشی افزوده شد. این روغن ترکیبی از EPA، DHA و ARA است.

(n-3 HUFA= 300mg\G, DHA\EPA=3, INVE Aquaculture, Belgium)

مبنای ساخت جیره‌های آزمایشی غذای تجاری ۴۰۰۶ هوراش بود که ابتدا مطابق روش غفله مرمزی [۲] مواد اولیه تشکیل دهندهٔ غذا با دستگاه آسیاب خرد و کاملاً آردی شد. سپس آرد هر یک از جیره‌ها به طور جداگانه در دستگاه مخلوط‌کن ریخته شد و با افزودن حدود ۳۵ درصد آب گرم ۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد، با کمک همزن به صورت خمیر در آمد. پس از ۱۰ دقیقه روغن غنی از HUFA با سرنگ روی این خمیر ریخته شده

۱. Subadault

و مجدداً خمیر حدود ۴۵ دقیقه با همزن به هم زده شد تا کاملاً با HUFA مخلوط شد. خمیر هر یک از جیره‌ها از چرخ گوشت با اندازه سوراخ‌های ۱ میلی‌متر عبور داده شد و بعد از آن غذاهای دان (پلت) به دست آمده در کف سینی‌های آون ریخته و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد آون قرار داده شدند. در پایان پلت‌ها ۱۵ ساعت دیگر هم در آون خاموش در بسته باقی ماندند تا به مرور زمان بقیه رطوبت را در هوای گرم باقیمانده درون آون از دست دادند (قرار گرفتن پلت‌ها در مدت بیش از ۳ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد می‌توانست منجر به از دست رفتن اسیدهای چرب جیره‌ها شود [۲]). غذای دان به دست آمده برای استفاده در طول دوره آزمایش در برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریزر نگهداری شد.

مواد اولیه غذایی تجاری ۴۰۰۶ هوراش برای تهیه جیره‌های آزمایشی غذایی خشک شامل: آرد ماهی، آرد اسکویید، آرد جگر اسکویید، آرد سر و دم میگو، کنجاله سویا، آرد گندم، روغن ماهی، روغن اسکویید، روغن سویا، اینوزیتول، مکمل‌های ویتامینه و معدنی، ویتامین ث ویژه آبزیان، جاذب‌ها، آنتی‌اکسیدان، متیونین، لیزین، مواد ضد قارچ و سایر افزودنی‌های مجاز بود.

جدول ۱. عناصر تشکیل دهنده غذایی تجاری ۴۰۰۶ هوراش (پیش از افزودن HUFA)

| مقدار بر حسب درصد | عناصر تشکیل دهنده |
|-------------------|-------------------|
| ۳۱/۵۰ درصد | پروتئین کل |
| ۶/۹۰ درصد | چربی کل |
| ۶/۱۰ درصد | رطوبت |
| ۰/۰۸۱ درصد | خاکستر |

پایداری هریک از جیره‌های غذایی در آب به روش وترز^۱ و همکاران [۹] از طریق ریختن ۲ گرم از هر غذا در یک بطری ۱۰۰ میلی‌لیتری و تکان دادن آن با سرعت حدود ۵۰-۶۰ بار در دقیقه (۵۰-۶۰ m.p.r) بررسی شد که زمان پایداری جیره‌ها حدود ۳ ساعت به دست آمد.

تعیین مصرف اولیه غذا پس از قطع پایه چشمی در تمام جیره‌ها در یک دوره ۳ روزه و به روش غفله مرمضی [۲] انجام شد. قبل از هر دوره غذایی غذاهای باقیمانده وعده قبلی از طریق سیفون کردن جمع شد و پس از خشک کردن و توزین، معادل وزنی آن را از وعده غذایی بعدی کم، و یا در صورت مصرف کامل غذا مقدار مشخصی به غذا افزوده شد.

آنالیز شیمیایی غذای خشک

برای تعیین نوع و مقدار اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی ساخته شد، از روش متیل استر اسیدهای چرب برای استخراج و آنالیز اسیدهای چرب به کمک دستگاه گاز کروماتوگراف استفاده شد [۱۰]. ابتدا طی دو مرحله

۱. Wouters

۲۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر به‌عنوان حلال استخراج کننده به هر نمونه اضافه شد و در هر مرحله ۱۲ ساعت در آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس به مایع چرب به دست آمده حلال (n-Heptan) اضافه شد و پس از طی ۲۴ ساعت اسیدهای چرب شکل گرفته به دستگاه گاز کاروماتوگراف تزریق شدند. درصد و نوع اسید چرب را اپراتور و بر اساس داده‌های دستگاه تشخیص داد. نتایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۲. درصد اسیدهای چرب موجود در جیره‌ها (مقادیر اسیدهای چرب بر حسب درصد از کل اسیدهای چرب هستند)

| غذاهای تر (طبیعی) | | | غذاهای خشک کنسانتره | | | | گروه اسیدهای چرب | نام علمی |
|--|----------------------------|-----------------------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------------|
| کرم بری نریس Perinereis cultrifera | نرمتن ملالیس Melalis sp | ماهی مرکب Sepia officinalis | جیره فاقد HUFA (غذای تجاری ۴۰۰۶ هوراش) | جیره ۱ درصد HUFA | جیره ۲ درصد HUFA | جیره ۳ درصد HUFA | | |
| ۱۸/۱۱ | ۳/۲۱ | ۰/۹۳ | ۱/۷۲ | ۲/۹۵ | ۱/۷۱ | ۱/۸۴ | C14:0 | میریبیستیک |
| ۱۱/۱۲ | ۸/۳۴ | ۰/۶۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | C14:1n5 | |
| ۱۸/۱۱ | ۱۲/۱۳ | ۰/۴۶ | ۰/۶۰ | ۰/۹۳ | ۰/۴۹ | ۰/۴۵ | C15:0 | |
| ۲۹/۱۸ | ۳۰/۱۰ | ۲/۸۳ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | C15:1 | |
| ۱۲/۲۳ | ۶۷/۲ | ۳۰/۶۹ | ۳۱/۸۴ | ۲۹/۸۷ | ۲۴/۹۹ | ۲۴/۷۲ | C16:0 | پالمیتاتیک |
| ۷/۹۸ | ۳/۱۴ | ۱/۱۰ | ۴/۳۶ | ۲/۸۳ | ۴/۶۶ | ۴/۶۶ | C16:1n7 | پالمیتولینیک |
| ۰/۱۱ | ۰/۹۸ | ۸/۱۵ | ۰/۷۸ | ۱/۱۶ | ۰/۶۶ | ۰/۷۱ | C17:0 | |
| ۱/۱۷ | ۱/۲۰ | ۰/۱۲ | ۰/۲۹ | ۰/۲۵ | ۰/۳۴ | ۰/۳۷ | C17:1n7 | اسرئاتیک |
| ۱۱/۲۳ | ۱۰/۳۲ | ۱۳/۰۸ | ۹/۵۳ | ۸/۲۹ | ۷/۴۲ | ۷/۴۸ | C18:0 | الئاتیک |
| ۲۸/۲۱ | ۱۸/۱۹ | ۱۳/۱۷ | ۳۱/۹۶ | ۲۹/۴۴ | ۳۱/۲۲ | ۳۰/۶۹ | C18:1n9 | واکسینیک |
| ۷/۱۸ | ۸/۰۳ | ۱۱/۰۰ | ۲/۵۴ | ۱/۵۵ | ۰/۸۳ | ۱/۰۳ | C18:1n7 | لینولینیک |
| ۰/۰۱ | ۱۷/۰۱ | ۲/۱۴ | ۱۰/۴۴ | ۱۲/۳۶ | ۱۸/۱۱ | ۱۶/۷۰ | C18:2n6 | لینولنیک |
| ۰/۱۱ | ۰/۰۱ | ۰/۱۱ | ۰/۳۴ | ۰/۰۰ | ۱/۲۶ | ۱/۱۹ | C18:3n3 | |
| ۱۲/۱۰ | ۰/۱۱ | ۰/۱۱ | ۰/۵۵ | ۰/۰۰ | ۰/۴۲ | ۰/۴۵ | C20:0 | |
| ۳/۱۲ | ۰/۱۳ | ۱/۱۶ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۹۴ | ۰/۰۰ | C20:1n9 | |
| ۲/۱۴ | ۰/۲۱ | ۰/۱۲ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | C20:2n6 | |
| ۱/۱۹ | ۰/۱۱ | ۳/۰۲ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | C20:3n3 | آراشیدونیک |
| ۱/۰۱ | ۰/۵۶ | ۰/۱۲ | ۰/۰۰ | ۰/۱۹ | ۰/۳۵ | ۰/۳۸ | C20:4n6 | (ARA) |
| ۱/۰۶ | ۰/۶۴ | ۰/۰۶ | ۰/۰۰ | ۰/۴۰ | ۰/۸۸ | ۱/۰۶ | C20:5n3 | ایکوز اپنتانوییک |
| ۱/۷۱ | ۰/۳۶ | ۰/۴۱ | ۰/۰۰ | ۰/۴۹ | ۱/۴۶ | ۱/۶۸ | C 22: 6n3 | (EPA) |
| | | | | | | | | دوکوزاهگزانتوییک (DHA) |

تذکر: فقط ۳ اسید چرب (ARA)، (EPA) و (DHA) اسیدهای چرب ضروری HUFA است و سایر آن‌ها یا اسیدهای چرب اشباع و یا مثل لینولینیک و لینولینیک اسید از نوع PUFA هستند.
مجموع ۳ اسید چرب (ARA)، (EPA) و (DHA) در جیره‌های ۱، ۲ و ۳ درصد HUFA به ترتیب ۱، ۲ و ۳ درصد است که دقیقاً متنطبق با مقدار اسید چرب افزوده به جیره‌ها است.

غذای زنده صرف‌نظر از مواد مغذی آن اعم از HUFA و PUFA و یا ویتامین‌های محلول در چربی و غیره به‌عنوان مبنای تأثیرگذاری مطلوب بر رشد و بازماندگی میگوهای مولد است [۸].

کنترل شرایط پرورش و تغذیه

پس از طی دوره سازگاری دوهفته‌ای، عمل قطع یک پایه چشمی بر روی میگوهای پیش مولد صورت پذیرفت و سپس در هر تانک ۳۰۰ لیتری ۴ عدد میگوی پیش مولد ذخیره‌سازی شد. با ثابت نگهداشتن شرایط محیطی شامل دوره نوری (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی)، اکسیژن محلول در آب ($DO > 5 \text{ ppm}$)، (pH = ۸-۸/۵) دمای ۲۸-۲۹/۵ درجه سانتی‌گراد (دمای سالن نگهداری به کمک بخاری تنظیم شد)، تنظیم شوری (32 ppt) و تعویض آب روزانه ۵۰-۷۰ درصد [۸] دوره آزمایش جیره‌های غذایی ادامه یافت.

میزان غذادهی با جیره‌های آزمایشی در ابتدا ۴ درصد وزن بدن در هرروز بود که در انتهای دوره با توجه به رشد میگوها به ۶ درصد افزایش یافت. در زمان آدابت‌اسیون میگوهای تمام تانک‌ها با یک وعده غذای کنسانتره هوراش (بدون HUFA) و ۲ وعده غذای تر تغذیه شدند (مطابق آنچه تا قبل از آن در دوره پیش مولدی انجام می‌شد) ولی پس از قطع پایه چشمی، میگوهای جیره شاهد با غذاهای تر (کرم پری نریس، صدف ملالیس و ماهی مرکب) ۳ بار در روز (۸، ۱۴ و ۲۰) و میگوهای تغذیه شونده با غذاهای خشک آزمایشی ۴ بار در روز (۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰) غذادهی شدند.

پس از طی دوره ۴۰ روزه تغذیه، میگوهای تحت تیمارها از تانک‌ها خارج شدند و وزن و طول همه آن‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس از آن‌جا که تجزیه و تشریح اسیدهای چرب هپاتوپانکراس عمدتاً نشان دهنده ترکیب چربی جیره غذایی است [۳]، اقدام به خارج کردن هپاتوپانکراس به روش Floch و همکاران [۱۱] شد. هپاتوپانکراس‌های خارج شده در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شد و در مرحله بعد با انتقال آن‌ها به آزمایشگاه دانشگاه ارومیه، آنالیز اسیدهای چرب هپاتوپانکراس یکی از میگوهای هر تانک که بالاترین مرحله رسیدگی جنسی را داشت به روش لیبوریتز^۱ و همکاران [۱۰] و با دستگاه (GC) انجام شد (جدول ۳). با توجه به این‌که وزن و طول میگوهای هر تیمار در ابتدا و انتها اندازه‌گیری و ثبت شده بود، میزان بازماندگی و درصد افزایش طول و وزن محاسبه شده و در نهایت تجزیه و تحلیل آماری صورت گرفت. درصد افزایش وزن و درصد افزایش طول و درصد بازماندگی از طریق این فرمول‌های محاسبه شد [۲]:

$$(۱۰۰ \text{ درصد}) \Delta L = L2 - L1 / L1 \times ۱۰۰$$

$$(۱۰۰ \text{ درصد}) WG = W2 - W1 / W1 \times ۱۰۰$$

$$(۱۰۰ \text{ درصد}) SVR = N2 / N1 \times ۱۰۰$$

۱. Leiboritz

WG = افزایش وزن، W1 = وزن اولیه، W2 = وزن نهایی، ΔL = افزایش طول، W1 = طول اولیه،
W2 = طول نهایی، SVR = درصد بازماندگی، N1 = تعداد اولیه، N2 = تعداد نهایی.

آنالیز آماری

از درصد افزایش وزن، درصد افزایش طول و بازماندگی میگوهای هر تانک میانگین گرفته شد تا معدل هر تانک مشخص شود. نمودارهای احتمالی و متعارف واریانس برای مقایسه فرضیات با نتایج آنالیز بعدی بررسی شد. برای تعیین تفاوت‌های میان تیمارها از نرم افزار آماری ANOVA یک‌طرفه و پس از آن از مضرب گسترده Duncan از نرم افزار STATISTICA (software) استفاده شد [۱۲].

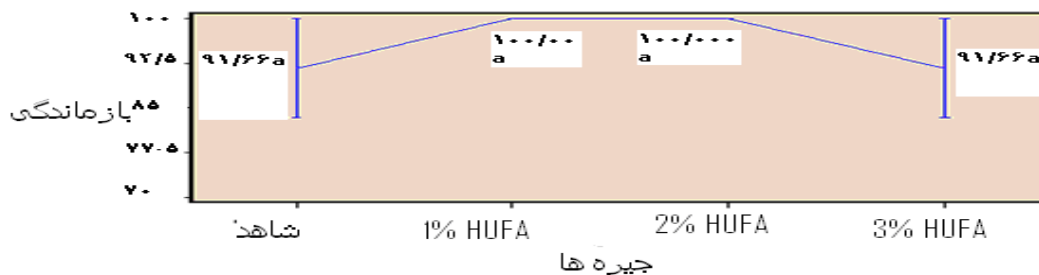
نتایج

جدول ۳. محتوی اسیدهای چرب هیپاتوپانکراس‌های تیمارهای آزمایشی و شاهد

| اسیدهای چرب هیپاتوپانکراس | میانگین نمونه‌های جیره شاهد | میانگین نمونه‌های جیره ۳ درصد HUFA | میانگین نمونه‌های جیره ۲ درصد HUFA | میانگین نمونه‌های جیره ۱ درصد HUFA |
|---------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| C14:0 | ۰/۶۸۶ ± ۰/۲۲۳ a | ۲/۱۹۶ ± ۰/۳۶۳ b | ۰/۹۶۳ ± ۰/۲۰۰ a | ۰/۹۶ ± ۰/۱۷۴ a |
| C14:1n5 | ۰/۲۱ ± ۰/۰۶۹ a | ۱/۳۹۳ ± ۰/۰۴۹ c | ۰/۲۸ ± ۰/۷۱۰۳ a | ۰/۳۵۶ ± ۰/۱۷۹ ab |
| C16:0 | ۱۸/۵۵۳ ± ۰/۹۰۵ b | ۱۷/۷۳ ± ۲/۱۱۳ ab | ۱۵/۱۹ ± ۴/۲۹۳ a | ۱۶/۸۶۶ ± ۱/۶۵۹ ab |
| C16:1n7 | ۴/۴ ± ۰/۷۱۱۸ a | ۴/۴۶ ± ۰/۶۰۶ a | ۵/۴۷۶ ± ۱/۰۶۸ b | ۵/۷۹ ± ۱/۴۵۵ b |
| C18:0 | ۵/۵۲۳ ± ۱/۲۵۷ ab | ۵/۰۵۳ ± ۱/۶۰۶ a | ۵/۳۴ ± ۰/۷۹۰ ab | ۵/۹۶ ± ۱/۹۱۵ b |
| C18:1n9 | ۲۵/۷۰۶ ± ۱/۵۶۷ b | ۲۵/۹۰۶ ± ۷/۲۳۹ b | ۲۵/۲۷۶ ± ۵/۹۷۵ b | ۲۴/۱۹ ± ۵/۵۲۴ ab |
| C18:1n7 | ۵/۵۳۳ ± ۰/۹۰۵ b | ۲/۹۵ ± ۰/۸۲۷ a | ۴/۹۹ ± ۲/۳۰۲ b | ۵/۱۳ ± ۲/۸۰۸ b |
| C18:2n6 | ۱۶/۱۲ ± ۱/۵۶۶ b | ۱۶/۸۳۶ ± ۴/۸۰۳ b | ۱۶/۲۰۳ ± ۴/۶۵۵ b | ۱۲/۹۰۶ ± ۶/۳۰۶ a |
| C18:3n3 | ۱/۲۴۶ ± ۰/۱۹۸ ab | ۱/۱۱ ± ۰/۲۲۹ a | ۱/۳ ± ۰/۰۷۸ ab | ۱/۵۱۶ ± ۰/۲۷۶ b |
| C20:0 | ۰/۳ ± ۰/۰۷۰ a | ۰/۳۰۶ ± ۰/۰۳۲۱ a | ۰/۲۹ ± ۰/۰۲۰ a | ۰/۳۲ ± ۰/۰۴۰ a |
| C20:1n9 | ۰/۷۹۶ ± ۰/۷۹۱ b | ۰/۳۳ ± ۰/۰۱۰ a | ۰/۳۴۶ ± ۰/۰۵۰ a | ۰/۳۹ ± ۰/۰۷۰ a |
| C20:2n6 | ۱/۲۴ ± ۰/۵۶۳ b | ۱/۰۸۶ ± ۰/۲۷۰ a | ۱/۱۲۳ ± ۰/۵۵۷ ab | ۱/۰۰۳ ± ۰/۳۷۵ a |
| C20:3n3 | ۰/۱۹۳ ± ۰/۱۳۲ c | ۰/۱۶۶ ± ۰/۰۸۶ c | ۰/۰۰۰ a | ۰/۰۰۰ a |
| (ARA)C20:4n6 | ۲/۰۲۳ ± ۰/۲۲۶ a | ۲/۰۹ ± ۰/۴۸۰ a | ۲/۱۵۶ ± ۱/۰۶۴ a | ۳/۷۷۳ ± ۰/۶۳۰ b |
| (EPA)C20:5n3 | ۴/۱۶۶ ± ۰/۹۱۲ ab | ۴/۶۹۳ ± ۰/۰۲۳ ab | ۲/۶۶۶ ± ۰/۱۸۴ a | ۵/۹۸ ± ۱/۵۵۴ b |
| (DHA) C22:6n3 | ۵/۳۷ ± ۱/۱۹۷ ab | ۵/۱۴ ± ۰/۱۳۰ ab | ۳/۷۸۳ ± ۰/۶۲۸ a | ۶/۰۱۳ ± ۰/۰۱۲ b |

قسمت‌های مشخص شده شامل اسیدهای چرب ضروری HUFA است (حروف غیر مشابه نشان‌گر تفاوت معنی‌دار هستند)

با وجود اختلافات جزئی در درصد بازماندگی (SVR) بین تیمارها، اختلافات معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد و دامنه بازماندگی در همه تیمارها بالا بوده است (جدول ۴).



شکل ۱. درصد بازماندگی (Survival ratio) در هر یک از جیره‌ها برحسب درصد (خطوط عمودی نشان‌گر انحراف معیارند)

بیش‌ترین درصد افزایش طول بدن ($\Delta L\%$) در جیره شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). در تیمارهای غذای خشک به ترتیب از بیش‌تر به کمتر تیمار ۱ درصد HUFA، جیره ۳ درصد HUFA، جیره ۲ درصد HUFA بودند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p > 0.05$) (جدول ۴). بیش‌ترین و کمترین مقدار درصد افزایش وزن بدن ($WG\%$) به ترتیب در جیره ۱ درصد HUFA و جیره ۳ درصد HUFA به دست آمد. تمام تیمارها با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند ($p < 0.05$). در مجموع ترتیب تیمارها براساس مقادیر درصد افزایش وزن بدن از بیش‌ترین به کمترین مقدار به ترتیب به صورت: (جیره HUFA ۱ درصد) < (جیره HUFA ۲ درصد) < (جیره غذایی شاهد) < (جیره HUFA ۳ درصد) بود (جدول ۴).

جدول ۴. میانگین درصد افزایش وزن، طول و بازماندگی همه تیمارها و تفاوت آماری آن‌ها

| میانگین و تفاوت آماری | | | | | | جیره‌ها |
|--|--------------------|--|-------------------|----------------------------------|------------------|------------------|
| بدن درصد افزایش طول ($\Delta L\%$) \pm SD | | درصد افزایش وزن بدن ($WG\%$) \pm SD | | درصد بازماندگی (SVR) \pm SD | | |
| ۱۷/۷۲۰ | ($\pm 2/442$) b | ۶/۷۷۲ | ($\pm 2/001$) b | ۹۱/۶۶۷ | ($\pm 8/92$) a | جیره غذایی شاهد |
| ۹/۲۳۰ | ($\pm 1/499$) ab | ۲۲/۲۷۳ | ($\pm 8/678$) d | ۱۰۰/۰۰۰ | ($\pm 0/00$) a | جیره ۱ HUFA درصد |
| ۴/۹۶۷ | ($\pm 0/876$) a | ۱۶/۲۴۳ | ($\pm 0/067$) c | ۱۰۰/۰۰۰ | ($\pm 0/00$) a | جیره ۲ HUFA درصد |
| ۶/۵۹۳ | ($\pm 0/911$) a | ۲/۳۷۰ | ($\pm 0/343$) a | ۹۱/۶۶۷ | ($\pm 8/92$) a | جیره ۳ HUFA درصد |

حروف غیرمشابه در ستون عمودی نشان‌گر تفاوت معنی‌دار هستند

بحث

با توجه به توصیه‌هایی که وترز^۱ و همکاران [۹]، مایدلیچ^۲ و همکاران [۱۳] و لیتل^۳ و همکاران [۱۴] در مورد جیره‌های غذایی کرده‌اند و نظر به این‌که ساگی^۴ و همکاران [۱۵] و هریسون^۵ و همکاران [۱۶] اعتقاد داشتند ARA بیش ماده‌ای است که پروستاگلاندین از آن ساخته می‌شود، لذا در این کار تحقیقی از نوعی روغن سرشار از HUFA به نام اسپیراسلکو که نسبت HUFA n-3 به HUFA n-6 در آن ۳ به ۱ بود در فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی استفاده شد.

در این پژوهش بین HUFA حیره و HUFA هیپاتوپانکراس و نیز بین نسبت n-3:n-6 حیره و n-3:n-6 هیپاتوپانکراس رابطه معکوس وجود داشت.

در این پژوهش میزان بازماندگی (SVR) مولدین ماده میگوی پاسفید در جیره‌های حاوی ۱ و ۲ درصد HUFA تا حدودی از جیره ۳ درصد HUFA و حتی جیره شاهد بیش‌تر بود (۱۰۰ درصد به ۹۱/۶ درصد) که البته تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P > 0/05$). این موضوع احتمالاً بیان‌گر همبستگی نسبتاً اندک میان بازماندگی و HUFA در این‌گونه میگو است. با این‌حال در پژوهش کنتارا^۱ و همکاران [۱۷] کمترین میزان بازماندگی میگوی ژاپنی زمانی بروز کرد که آرتمیای غنی شده با HUFA کم (۰/۱ درصد) به پست لارو داده شد. در تحقیقات نایسن^۶ و همکاران [۱۸] نیز که روی پست لاروهای میگوی پاسفید انجام شد جیره‌های حاوی نسبت‌های ۱، ۲ و ۴٪ HUFA هیچ تفاوت معنی‌داری از لحاظ بازماندگی نداشتند ($P > 0/05$) با این‌حال در جیره شاهد که میزان HUFA صفر بود بازماندگی به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). به این ترتیب از مجموع نتایج پژوهش حاضر و نایسن و همکاران [۱۸] می‌توان چنین نتیجه گرفت که HUFA در نسبتی حداقل ۱ درصد جیره برای افزایش بازماندگی لازم است و مقادیر بیش از ۱ درصد HUFA نیز تفاوت معنی‌داری در بازماندگی ایجاد نمی‌کند. با این‌حال در مقادیر کمتر از ۱ درصد HUFA بازماندگی به شدت کاهش می‌یابد [۱۷]، [۱۸].

در بررسی حاضر کمترین درصد جذب (EPA ۲۰:5n-3) و (DHA ۲۲:۶n-۳)، در هیپاتوپانکراس میگوهای تیمار ۲ درصد HUFA مشاهده شد. با توجه به نقش اساسی ۲ اسید چرب EPA و DHA در رشد میگوها [۳]، علت این‌که کمترین درصد افزایش طول بدن ($\Delta L\%$) در میگوهای تیمار ۲ درصد HUFA دیده شد احتمالاً عدم انتقال این اسیدهای چرب ضروری از هیپاتوپانکراس به بدن میگو باشد که تأثیر منفی در رشد طولی داشته است. این نتیجه‌گیری با نتایج بررسی [۱۸] مطابقت دارد.

۱. Wouters ۲. Middleditch ۳. Lytle ۴. Sagi ۵. Harison ۶. Kontara
۷. Naessens

در این پژوهش بیش‌ترین درصد جذب اسیدهای چرب HUFA (اعم از EPA، DHA و ARA) در هیاتوپانکراس میگوهای تیمار ۱ درصد HUFA است (جدول ۳) و بیش‌ترین (%WG) هم در همین تیمار است (جدول ۴) که این موضوع می‌تواند نشان‌گر ارتباط مستقیم این اسیدهای چرب با (%WG) باشد. جالب توجه است که در پژوهش‌هایی هم که کانازاوا^۱ و همکاران [۱۹] روی میگوی ژاپنی^۲، کین^۳ و تسای^۴ [۲۰] روی میگوی ببری سیاه^۵ و اکسو^۶ و همکاران [۲۱] روی میگوی چینی^۷ انجام دادند، بهترین حد رشد در هر یک از این گونه‌ها در جیره‌های با سطح حدود ۱ درصد HUFA به دست آمد.

از سوی دیگر با توجه به این‌که HUFA جذب شده در هیاتوپانکراس تیمارهای شاهد و ۳ درصد بیش‌تر از تیمار ۲ درصد HUFA است ولی افزایش وزن تیمار ۲ درصد HUFA به صورت معنی‌داری بیش‌تری از تیمارهای شاهد و ۳ درصد HUFA بود ($P < 0/05$). همچنین با وجود نسبت مساوی جذب HUFA در هیاتوپانکراس جیره شاهد و جیره ۳ درصد HUFA، جیره شاهد افزایش وزن معنی‌داری نسبت به جیره حاوی ۳ درصد HUFA بود ($P < 0/05$). از این مطالب احتمالاً می‌توان نتیجه گرفت که شاید هم عوامل دیگری نیز (چون عوامل محیطی و یا تفاوت جزئی احتمالی در فیزیولوژی میگوها) در این مورد نقش داشته‌اند [۲۲].

نتایج بررسی نیاز میگوهای جوان^۸ به اسیدهای چرب غیر اشباع لینولئیک و لینولنیک که رید^۹ Read [۲۳] انجام داد مشخص نمود که رشد وزنی میگوها در تیمارهای حاوی ۲n۶: ۱۸ یا ۳n۳: ۱۸ نسبت به تیمارهای فاقد آن‌ها به صورت معنی‌داری بیش‌تر بوده است و هنگامی که هر دو اسید چرب مذکور وارد جیره شدند (%WG) افزایش بیش‌تری داشت. با این‌حال در این پژوهش با وجود این‌که جیره ۱ درصد HUFA کم‌ترین مقدار اسید چرب لینولئیک (۲n۶: C۱۸) را چه در جیره غذا و چه در هیاتوپانکراس داشته است، ولی (%WG) این تیمار به‌صورت معنی‌داری از سایر تیمارها بیش‌تر بوده است. البته با توجه به این‌که (۲n۶: C۱۸) منشأ آراشیدونیک اسید است که از اهمیت بسیاری برای رشد میگو برخوردار است [۳]، نمی‌توان آن‌را در رشد میگو کم اهمیت دانست و احتمالاً (%WG) در پژوهش حاضر تحت تأثیر عوامل دیگری، از جمله شرایط محیطی و یا اختلاف جزئی فیزیولوژیک بدن میگوها این تغییرات را نشان داده است.

در پایان ذکر چند نکته ضروری به نظر می‌رسد:

۱. اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (HUFA) فقط شامل ARA، EPA و DHA است و بقیه یا از نوع PUFA هستند (لینولئیک و لینو لنیک اسید) یا اسید چرب اشباع [۳]. در این تحقیق مجموع مقدار ۳ اسید چرب HUFA در آنالیز شیمیایی جیره‌های ۱، ۲ و ۳ درصد HUFA به ترتیب ۱، ۲ و ۳ درصد است (جدول ۱)؛

۱. Kanazawa ۲. Marssopeaenus japonicas ۳. Chen ۴. Tsai ۵. Penaeus monodon
۶. Xu ۷. Farfantepenaeyns chinensis ۸. Penaeus indicus

یعنی دقیقاً منطبق با مقدار اسید چرب اولیه افزوده شده به هر جیره است و بنا بر این اختلاف مقدار آن‌ها در جدول ۱ به همین دلیل است.

۲. در گذشته نقش سودمند اسیدهای چرب ضروری در مورد رشد و بازماندگی آبزیان به اثبات رسیده است. همچنین در تحقیق گنزالس فلکس^۱ [۳] که روی میگوهای جوان (*L.vannamei*) انجام شد جیره ۵ درصد HUFA بهترین نتایج را در رشد و بقای میگوهای جوانیل^۲ juvenile داشت.

در پژوهش حاضر که روی میگوهای مولد ماده (*L.vannamei*) انجام شد، با این‌که کمترین مقدار HUFA در جیره تیمار ۱ درصد HUFA وجود داشت ولی بیش‌ترین HUFA در هیپاتوپانکراس تیمار ۱ درصد بود و بیش‌ترین رشد هم در همین تیمار مشاهده شد. این موضوع نشان می‌دهد که انتقال اسیدهای چرب از هیپاتوپانکراس به تخمدان میگوهای مولد ماده که در مرحله رسیدگی جنسی اتفاق می‌افتد [۲۴] و [۲۵]، در میگوهای تیمار ۱ درصد HUFA به خاطر مقدار نسبتاً کمتر HUFA (نسبت به سایر تیمارها) صورت نگرفته است و در نتیجه HUFA در هیپاتوپانکراس باقی مانده و مقدارش از HUFA هیپاتوپانکراس سایر تیمارها بیش‌تر شده است و لذا در مرحله رشد مولدین، مقدار بیش‌تر HUFA در این تیمار منجر به رشد بیش‌تر مولدین تیمار ۱ درصد HUFA شده است.

۳. با توجه به این‌که در اغلب گونه‌های خانواده پناپیده از جمله میگوهای ژاپنی، ببری سیاه و چینی که تا کنون بررسی شده‌اند، بهترین مقدار HUFA برای رشد مولدین مقدار ۱ درصد جیره بوده است و در مقادیر بالاتر HUFA، نتایج رشد به طرز معنی‌داری کاهش یافت [۱۹]، [۲۰]، [۲۱]. بنا بر این می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً در میگوهای خانواده پناپیده در مرحله مولدی نیاز به HUFA برای رسیدن به حداکثر رشد کاهش می‌یابد که نتایج پژوهش‌های مذکور و همچنین تحقیق حاضر مؤید این مطلب است.

۳. با توجه به مجموع نتایج پژوهش حاضر در جدول ۴ می‌توان گفت سطح ۱ درصد HUFA برای رشد وزنی و تا حدودی رشد طولی این‌گونه میگو نسبت به سایر سطوح HUFA در غذاهای خشک مطلوب است. با این‌حال با توجه به این‌که بهترین نتایج رشد در میان میگوهای تیمارهای خشک این پژوهش در کمترین سطح HUFA بررسی شده به دست آمد، پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده پژوهندگان سطوح کمتر از یک درصد HUFA را نیز بیازمایند تا در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش، بهترین سطح HUFA مؤثر بر رشد و بازماندگی میگوی پانسفید به دست آید.

۱. Gonzalez-Felix

تقدیر و تشکر

از کارکنان محترم کارخانه هووراش، به ویژه آقایان مهندس فروتن و دکتر شکوری بابت کمک‌های ارزنده‌شان در آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، از آقای دکتر آیین جمشید رییس مؤسسه تحقیقات شیلات بوشهر بابت حمایت مشفقانه ایشان در طی زمان اجرای پروژه و از دکتر ناصر آق و دستیار اجرایی ایشان خانم عطابخش که تجزیه و تشریح اسیدهای چرب را انجام دادند و از آقای مهندس عبدالله بیگی بابت محاسبات آماری سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع

- ۱- فانو، مدیریت بهداشتی و حفظ امنیت زیستی کارگاه‌های تکثیر میگوی پسفید غربی در آمریکای لاتین، تهران، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. (۱۳۸۶) ۱۰۲ صفحه.
۲. غفله مرمضی، ج. تأثیرات اسیدهای چرب غیراشباع بر شاخص رشد میگوی سفید هندی *indicus Miline*، *Edwards) Penaeus*، پایان‌نامه دکتری شیلات، دانشکده علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس (۱۳۸۰) ۱۶۲ صفحه.
3. M.L. Gonzalez-Felix, Nutritional value of various dietary lipids to *Litopenaeus vannamei* juveniles and their essential fatty acid requirements, Ph.D thesis of fisheries, Texas A and M University (2001) 159.
4. J.R. Hibbeh, and N. Salem, Dietary poly unsaturated fatty acids and deoression: When cholestrol does not satisfy .Am.J. Chin-Nutr, No. 62 (1995)1-9.
5. Z.J. Cheng and R.W. Hardy, Protein and lipid sources affect cholesterol concentration of science juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) Journal of animal, 82(2004) 1136-1145.
6. R.Wouters, J.Nieto, and P.Sorgeloos, Artificial diets for penaeid shrimp. Global Aquaculture Advocate, 3 (2000) 61-62.
7. J.A.H. Benzie, A review of the effect of genetics and environment on the maturation and larval quality of the gient tiger prawn *Penaeus monodon*.Aquacuture, Vol.155, (1997) 69-85.
8. J.A. Broke and K.L. Main, A guide to the common problems and diseases of cultured *Penaeus vannamei*, The Oceanic Institue Publication (1994) 230-241.

9. R. Wouters, X. Pigauve, L. Bastidas, J. Calderon and P. Sorgeloos, Ovarian maturation and haemolymphatic vitellogenin concentration of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA, *Aquaculture Research*, 32 (2001) 573-582.
10. B.E. Leiboritz, M.L. Hu, and A.L. Tappel, Lipid proxidation in rat tissue slices: Effect of dietary vitamin E, covn oil-lard and menhaden oil. *Journal of lipids*, 10 (1987) 125-129.
11. J. Floch, M. Lee, and G.H.S. Stanley, A simple merthod for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 266 (1957) 497-509 .
12. R. Mead, R.N. Curnow, and A.M. Hasted, *Statistical Methods in Agriqulture and Experimental Biology*. Champen and Hall, London (1993) 85-09.
13. B.S. Middleditch, S.R. Missler, D.J.B. McVey, A. Brown, and A.L. Lawrence, Matura-tion of penaeid shrimp: dietary fatty acids. *Proceeding of the World Mariculture Society*, 10 (1979) 472-476.
14. J.S. Lytle, T.F. Lytle and J.T. Ogle, Polyunsaturated fatty acid profiles as a Mead R. Comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. Vol. 89 (1990) 287-299.
15. A. Sagi, J. Silkovsky, F. Berkovich and A. Donan, Prostaglandin E2 in previtellogenic ovaries of the prawn *Macrobrachium rosenbergii*: synthesis and effect on the level of Camp, *General Comoarative endocrinology*, 100 (1995) 308-313.
16. K.E. Harrison, Broodstock nutrition in maturation diets, *Crustacean nutrition, Advanced in World Aquacultutr*, 6 (ed. by L.R. Dabramo, D.E. Conklin and D.M Akiyama) (1997) 390-408.
17. E.k. Konatra, P. Lavens, and P. Sargeloos, Dietary effect of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of *P. monodon* postlarvae, LARVI95-Fish and shellfish larviculture symposium, European aquaculture society, Special publica-tion. Gent, Belgium, 15 (1995) 260-263.

18. E.Naessens, A.Van-Hauwaert, M.L.Coba, S.T.Owensend, R.Romas, W.Wouters, and D. Lavens, Dietary n-3 HUFA and DHA/EPA requirements of (*Penaeus vannamei*) postlarvae .Larvi95- fish and shellfish symposium, European aquaculture society (EAS), Special publication Gent, Belgium. 24 (1995) 73-76.
19. A. Kanazawa, S. Teshima, K. Ono, Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comparative biochemistry and physiology*. 63B (1979a) 295-298.
20. H.Y. Chen, and L. Tsai, Combined effects of dietary phosphatidylcholine and cholesterol on the growth, survival and body lipid composition of shrimp *Penaeus monodon*, 96(1986)167-178.
21. X.L. Xu, W.L. Ji, J.D. Castell, and R.K. Odor, Influence of dietary lipid sources on fecundity, egg hatchability and fatty acid composition of Chinese prawn (*Penaeus chinensis*) broods tock. *Aquaculture*, 119 (1994)359-370.
22. A. Nascimento, W. A. Bray, L.J.R .Trujillo, and A. Lawrence, Reproduction of ablated and unablated *Penaeus schmitti* in captivity using diets consisting of fresh-frozen natural and dried formulated feeds. *Aquaculture*, 99 (1991) 387-398.
23. J.f. Reed, Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus indicus* juveniles, *Aquaculture*, 122 (1981) 195-211.
24. S. Teshima, and A. Kanazawa, Nutritive value of sterols for the juvenile prawn. *Bull. Soc. Sci. Fish.*52 (1988.) 1417-1422.
25. G. Mourente, In vitro metabolism of C-14-polyunsaturated fatty acid in midgut gland and ovary cells from *Penaeus kerathurus* Forskal at the beginning of sexual maturation *Comparative Biochemical and Phisiology*. 115 (1990) 255-266.