فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۳، شمارهٔ ٤، زمستان ۱۳۹۳، صفحه ۱۵– ۲۹

اثر متقابل اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره بر رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی نورس آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

ابراهیم ستوده[۱]، عبدالمحمد عابدیان کناری[۲*]، صابر خدابنده[۳]، خسرو خواجه[٤]

۱–دانش آموخته دکتری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس، نور
۲– استاد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس، نور
۳–استادیار، گروه بیولوژی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس، نور
٤– استاد، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت:۹۳/۳/۱۸ تاریخ پذیرش:۹۳/۸/۲٤

* نویسنده مسئول مقاله: aabedian@yahoo.co.uk

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر ترکیبی مقادیر مختلف اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ HUFA (DHA, C22:6n-3 و EPA, C20:5n-3) و ویتامین E جیره بر شاخص‌های رشد (وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک (هماتوکریت، میزان چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های پلاسما)، در بچه‌ماهی نورس ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) انجام شد. ابتدا شش جیره با سه مقدار مختلف از اسیدهای چرب امگا ۳ (DHA و EPA) ۱ به ۰/۵ (پایین)، ۲ به ۱ (متوسط) و ٤ به ۲ (بالا) درصد و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین) و ۱۰۰۰ (بالا) میلی‌گرم ویتامین E در کیلوگرم جیره تهیه شد (به‌ترتیب LL، LH، ML، MH، HL و HH). بچه‌ماهیان نورس با میانگین وزن اولیه ۲۵±۶۰۰ (میلی‌گرم) به‌طور تصادفی در تانک‌های پرورشی تقسیم و به مدت ۱۰ هفته با هر یک از جیره‌ها تغذیه شدند. نتایج نشان داد ضریب نرخ رشد ویژه و میانگین وزن نهایی به‌طور معناداری در تیمار MH و HH نسبت به دیگر تیمارها بالاتر است ($p<0/05$). شاخص‌های سلامتی مانند درصد هماتوکریت تغییرات معناداری نداشتند، با این حال، چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های پلاسما به میزان بیشتری تحت تأثیر اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA جیره قرار گرفتند و ویتامین E و اثر متقابل ویتامین E و اسیدهای چرب تأثیر اندکی بر این شاخص‌ها نشان دادند. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان داد وقتی سطح مناسبی از ویتامین E در جیره باشد، افزایش امگا ۳ HUFA می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد و بهبود شرایط فیزیولوژیک این ماهی در این مرحله از رشد گردد.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

کلید واژگان: ماهی آزاد دریای خزر، اسیدهای چرب امگا ۳، ویتامین E، شاخص‌های خونی

مقدمه

ویتامین E، ویتامین محلول در چربی است که در طبیعت شامل چهار توکوفرول و چهار توکوتری‌انول است. در میان آنها، آلفا-توکوفرول بالاترین فعالیت ویتامین E را دارد و چربی‌های غیراشباع را در برابر اکسیداسیون حفاظت می‌کند (NRC, 2011). مطالعات انجام شده در زمینه ارتباط ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع نشان می‌دهد اثر متقابل این دو ماده مغذی تأثیرهای مستقیمی بر رشد و سلامتی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss) دارد. استفاده از روغن کبد پولاک، روغن بزرک و روغن گلرنگ در ترکیب با سطوح ۱۰۰ و ۱۰۰۰ ویتامین E (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)، نشان داد صرف‌نظر از میزان ویتامین E، میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه در گروه تغذیه شده با روغن کبد پولاک، روغن بزرک به میزان قابل توجهی بیشتر بود. میزان ایمونوگلوبولین‌ها و شاخص هماتوکریت نیز در این دو تیمار بالاتر بود که به نقش مهم اسیدهای چرب امگا ۳ این روغن‌ها در خون‌سازی نسبت داده شد (Kiron et al., 2004). در مطالعه‌ای دیگر، در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع مختلف چربی و سطوح متفاوت ویتامین E، میانگین وزن نهایی و ضریب رشد ویژه ماهیان تغذیه شده با جیره‌های فاقد ویتامین E، نسبت به هر دو سطح اسیدهای چرب غیراشباع کاهش یافت. در این بررسی کاهش ویتامین E با کاهش مقادیر هماتوکریت، بزرگ شدن کبد و طحال و افزایش هیدروپروکساید چربی همراه شد (Puangkaew et al., 2005). افزایش ویتامین E جیره تا سطح بالا (۲۹۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب بهبود قابل ملاحظه رشد لارو ماهی سیم سرطلایی (Sparus aurata)، به‌ویژه زمانی‌که سطح HUFA جیره کمتر است، می‌شود (Atalah et al., 2011).

مطالعه عوامل مختلف از جمله نیازهای تغذیه‌ای یک گونه برای معرفی آن به‌عنوان گونه مناسب برای آبزی‌پروری از اهمیت ویژه‌ای برخودار است. ماهی آزاد دریای خزر (Salmo trutta caspius) به‌دلیل داشتن ارزش بالای اقتصادی و تغذیه‌ای، رشد مناسب و قابلیت تکثیر مصنوعی می‌تواند به‌عنوان یکی از گونه‌های مناسب برای آبزی‌پروری در ایران مورد توجه قرار گیرد. شرایط طبیعی پرورشی منجر به ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیک در ماهی می‌شود که می‌تواند سلامتی و رشد ماهی را تحت تأثیر قرار دهد (Welker et al., 2011). بنابراین، مطالعه عوامل مختلف مؤثر در پرورش، از جمله اثرهای مواد مغذی جیره بر تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیک متعدد می‌تواند کمکی برای ایجاد شرایط سلامتی مناسب و رشد مؤثر در ماهی باشد.

چربی‌ها و اجزای تشکیل‌دهندهٔ آنها یعنی اسیدهای چرب به‌همراه مشتقات متابولیک، نقش‌های اساسی در رشد متعادل، عملکرد مناسب آبشش و کلیه، تکامل سیستم عصبی و بینایی، تولیدمثل و کیفیت گوشت ماهیان ایفا می‌کنند (Higgs & Dong, 2000). در این بین اهمیت دو اسید چرب C20:5n-3 (EPA)[1] و C22:6n-3 (DHA)[2] به‌خوبی مشخص شده است. به‌طور کلی مطالعات انجام شده در زمینه تعیین احتیاجات اسیدهای چرب ضروری برای بچه ماهیان و ماهیان جوان گونه‌های آب شیرین و مهاجر نشان می‌دهد که احتیاجات اسیدهای چرب ضروری می‌تواند به‌وسیله اسیدهای چرب ۱۸ کربنه PUFA[3] (18:2n-6 و 18:3n-3) تأمین شود که حدود ۱ درصد وزن خشک جیره است. با وجود اینکه اسیدهای چرب ۱۸ کربنه PUFA

1. Eicosapentaenoic acid
2. Docosahexaenoic acid
3. Polyunsaturated fatty acids

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

اغلب در تأمین احتیاجات اسیدهای چرب ضروری ماهیان آب شیرین مؤثرند، در برخی از گونه ها از جمله آزاد ماهیان، اسیدهای چرب HUFA[4] n-3 مانند EPA و DHA نیازهای اسیدهای چرب ضروری را در سطوح پایین‌تری نسبت به 18:3n-3 تأمین و باعث افزایش رشد بیشتری در مقایسه با اسید چرب 18:3n-3 می‌شوند (Sargent et al., 1989). شواهد نشان می‌دهد در مراحل اولیه زندگی، امگا ۳ HUFA از اهمیت بیشتری برخوردار است و لارو برخی از گونه‌های ماهی های آب شیرین در مقایسه با بچه‌ماهیان و ماهیان جوان به مقادیر بیشتری از امگا ۳ HUFA نیاز دارند (Webster & Lovell, 1990; Wirth et al., 1997). علاوه بر این، اثرهای مثبت این اسیدهای چرب در افزایش بازماندگی آبزیان با کنترل استرس (Izquierdo, 2005)، تکامل سیستم ایمنی (Montero et al., 2003) و بهبود سلامتی و مقاومت باکتریایی لارو ماهیان ارتباط داده شده است (Bransden et al., 2003). همچنین EPA می‌تواند به‌عنوان ذخیره انرژی بالقوه مهم در لارو در حال توسعه، به‌ویژه در طول دوره‌های گرسنگی محسوب شود. هر چند این میزان نسبت به تک غیراشباع و اشباع کمتر است، اما نسبت به DHA و ARA به میزان بیشتری برای β- اکسیداسیون میتوکندریایی ترجیح داده می‌شود (Madsen et al., 1999). با این حال این مواد حساسیت زیادی نسبت به آسیب اکسیداتیو دارند (Halliwell & Gutteridge, 1996). وقتی اسیدهای چرب در معرض اکسیژن و یا گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرند، رادیکال‌های چربی و دیگر مشتقاتی ایجاد می‌کنند که به مولکول‌های حساس زیستی مانند پروتئین‌ها و DNA آسیب می‌رساند. ویتامین E به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، با ایجاد واکنش با رادیکال‌های چربی موجب شکستن زنجیره اکسیداسیون و جلوگیری از واکنش بیشتر با HUFAهای جدید می‌شود. علاوه بر این ویتامین E در سیستم ایمنی ماهیان (Montero et al., 1998; Wang et al., 2006)، تولید مثل (Izquierdo et al., 2001)، مقاومت در برابر استرس (Montero et al., 2001) و رشد لاروی (Gonzalez et al., 1995) نقش مهمی دارد. در تحقیقات نشان داده شد که میزان نیازمندی به ویتامین E کاملاً تحت تأثیر سطوح دیگر مواد مغذی جیره (Hamre & Lie, 1995a) مانند سلنیوم، ویتامین C (ماهیان را در برابر کمبود ویتامین E محافظت می‌کند) (Hamre et al., 1997) و اکسیداسیون اسیدهای چرب HUFA (Blazer, 1982) قرار دارد.

با توجه به اثرهای مثبت اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ HUFA و ویتامین E و اینکه تاکنون این نوع اسیدهای چرب به‌صورت خالص در جیره آزاد ماهیان استفاده نشده‌اند، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر سطوح متفاوت اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی وضعیت سلامتی و فیزیولوژیک بچه ماهی نورس ماهی آزاد دریای خزر است.

مواد و روش‌ها

بچه‌ماهیان نورس ماهی آزاد دریای خزر (با میانگین وزن ۲۵±۶۰۰ میلی‌گرم) پرورشی (نسل F1) از مرکز تکثیر و پرورش شهید باهنر کلاردشت به سالن تکثیر و پرورش دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. این بچه‌ماهیان نورس در تراف‌های با ابعاد ۱۸×۴۲×۲۳۰ سانتی‌متر مجهز به سیستم مدار بسته (با میزان تعویض روزانه ۳۰ درصد) در ۶ تیمار و ۳ تکرار (۶۰ بچه‌ماهی در هر تراف و تراکم ۲ عدد در لیتر) ذخیره شدند. غذادهی روزانه در ۵ نوبت و در ساعات ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ در حد سیری انجام گرفت. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۱۰ هفته و منبع تأمین‌کنندهٔ آب مورد نیاز، آب کلرزدایی شده شهری بود.

4. Highly unsaturated fatty acids

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

عوامل کیفی آب، همچون دمای آب (°C ۰/۵±۱٤) و اکسیژن (mg/l ۸-٦) به‌صورت روزانه و نیترات (mg/l ۰/۱۳)، آمونیاک (کمتر از mg/l ۰/۰۸) و pH (۷/٦) به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد.

شش جیره با میزان ۵۰ درصد پروتئین و ۱۷ درصد چربی و مقادیر متفاوت اسیدهای چرب DHA به EPA (ساخت شرکت Croda، انگلیس) به‌صورت ۱+۰/۵ (پایین، Low)، ۲+۱ (متوسط، Medium) و ٤+۲ (بالا، High) درصد جیره و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین، Low) و ۱۰۰۰ (بالا، High) میلی‌گرم ویتامین E (آلفا-توکوفرول استات) در کیلوگرم جیره (تیمارها به اختصار شامل: LL، LH، ML، MH، HL و HH، حرف لاتین اول نشان‌دهندهٔ میزان دو اسید چرب امگا ۳ و حرف دوم بیانگر میزان ویتامن E است)، تهیه و از پودر ماهی و کازئین به‌عنوان منبع پروتئینی استفاده شد. برای بالانس اسیدهای چرب ضروری و حصول درصدهای مورد انتظار، پودر ماهی با کلروفرم (۱:۳) شستشو شد. برای ساخت جیره، ابتدا تک تک ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی مورد نیاز آزاد ماهیان (NRC, 2011) به دقت توزین و از سلولز (آلفا-سلولز) به‌عنوان ماده حامل برای ساخت مخلوط ویتامینی استفاده گردید (Huang & Huang, 2004). دیگر ترکیبات جیره بر اساس مطالعات انجام شده بر روی این گونه (Sotoudeh et al., 2010; Abedian Kenari et al., 2011) تنظیم شد. جدول ۱ و ۲ اجزا، ترکیب شیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های مورد استفاده را نشان می‌دهد.

جدول۱ اجزا و ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های غذایی برای تغذیه ماهیان نورس آزاد دریای خزر.

ترکیبات جیره (درصد جیره)	LL	LH	ML	MH	HL	HH
پودر ماهی۱	٤٦	٤٦	٤٦	٤٦	٤٦	٤٦
کازئین۲	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
اولئیک اسید۳	۱۲/۱	٤/۹	٤/۹	۹/۷	۹/۷	۱۲/۱
٤EPA	۰/۷	۰/۷	۱/٤	۱/٤	۲/۸	۲/۸
۵DHA	۱/۷	۱/۷	۳/٤	۳/٤	٦/۸	٦/۸
دکسترین۲	۹	۹	۹	۹	۹	۹
لسیتین سویا	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مخلوط ویتامینی٦	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مخلوط مواد معدنی٦	۳	۳	۳	۳	۳	۳
کولین کلراید۷	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ضد قارچ۷	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مونوکلسیم فسفات۷	۱	۱	۱	۱	۱	۱
ویتامین ۸E	۰/۰۳	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱
سلولز	۱/٤۷	۱/٤	۱/٤۷	۱/٤	۱/٤۷	۱/٤
آنالیز شیمیایی ترکیبات جیره						
آلفا-توکوفرول (mg kg-1)	۳۲۵	۱۰۵۰	۳۳۰	۱۰٤۰	۳۲۰	۱۰۱۰
پروتئین (٪)	۵۰/۱۲	٤۹/۵۰	٤۹/٦۸	۵۰/۲۹	٤۸/۸۹	٤۹/۳۷
چربی (٪)	۱۷/۲	۱۷/۰۵	۱۷/۳۲	۱٦/۸۵	۱٦/۹٦	۱۷/۳
خاکستر (٪)	۹/۱	۹/٤	۸/۹	۸/٦	۹/۵	۹/۲
رطوبت (٪)	۸/۱	۷/٦۵	۷/۸۵	۷/۷۲	۷/۱	۸/۱۲
کربوهیدرات (٪)	۱۵/٤	۱٦/۰٤	۱٦/۰۹	۱٦/۲	۱٦/٦	۱٦/۱

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

انرژی ناخالص(Kj/g)	۲۱/۲۸	۲۱/۱۷	۲۱/۳۳	۲۱/۳۲	۲۱/۱۰	۲۱/۲۸

۱- تهیه شده در شرکت پارس کیلکا، ۲- ساخت شرکت مرک، آلمان، ۳- تولید شرکت Applichem، آلمان، ٤- روغن ماهی تصفیه و غنی شده Incromega TG6015 (حاوی ۱۸/٤ گرم در ۱۰۰ گرم DHA و ۵۹/۲ گرم در ۱۰۰ گرم EPA)، ساخت شرکت Croda، انگلیس، ۵- روغن ماهی تصفیه و غنی‌شده Incromega DHA500TG (حاوی ۵۸/٦ گرم در ۱۰۰ گرم DHA و ۸/٤ گرم در ۱۰۰ گرم EPA)، ساخت شرکت Croda، انگلیس، ٦- مخلوط ویتامینی (mg/kg جیره): ویتامین A (۰/۸)، ویتامین D (۰/۰٦)، ویتامین K (۱۰)، تیامین (۱۵)، ویتامین B6 (۱۰)، اسید پانتوتنیک (٤۰)، ویتامین B12 (۰/۰۲)، نیاسین (۱۵۰)، بیوتین (۱)، اسید فولیک (۵)، اسید آسکوربیک (۲۰۰)، کولین (۱۰۰۰)، اینوزیتول (٤۰۰) (NRC, 2011) هر کیلوگرم مکمل ماده معدنی شامل مواد معدنی کمیابی مانند: منگنز: mg/kg ۲٦۰۰، مس: ٦۰۰، آهن: ٦۰۰، روی: ٤٦۰۰، سلنیوم: ۵۰، ید: ۱۰۰، کبالت: ۵۰، کولین کلراید: ۱۰۰۰۰۰، کریر تا یک کیلوگرم است،۷- تهیه شده از کارخانه خوراک دام و آبزیان، ساری و ۸- ویتامین E به‌صورت DL- a- tocopherol acetate، تولید شرکت سیگما، آلمان.

جدول ۲ ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های مورد استفاده

اسیدهای چرب (درصد)	جیره‌های مختلف					
	LL	LH	ML	MH	HL	HH
C12:0	۰/۰۷۹	۰/۰۷۸	۰/۰۸۲	۰/۰۱۳	۰/۰۵۳	۰/۰۹۲
C14:0	۱/۱۵	۱/۱۳	۱/۰۲	۰/۹۸	۰/۹۹	/۹۸
C16:0	۹/۱٦	۱۰/۳۳	۸/۸۲	۸/۲۸	٦/۸۰	۷/۳۲
C18:0	٤ /۷۸	۳/٤۷	٤/٦٦	٤/٦۰	۵/٤۹	۷/٦۱
C20:0	۰/۰۲۹	۰/۰۹۸	۰/۰۲۹	۰/۰۳۱	۰/۰٤۳	۰/۰۷۱
C24:0	۰/۳۸	۰/۱۸	۰/۰۵٤	۰/۰۱۱	۰/۰٤	۰/۰۷
C16:1n-7	۰/۲۵	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۰
C18:1n-9	٦٦/۷۳	٦٤/۷۸	۵۸/٦۲	۵۹/۰۲	۵٤/۳۰	۵۳/۲۳
C18:2n-6	۹/۰٤	۹/۵۵	۱۰/۲۵	۱۰/۰۲	۹/۸۵	۹/٦۷
C18:3n-6	۰/۲۳	۰/٤۹	۰/۵٦	۰/۹٦	۰/۷۱	۰/۳۲
C18:3n-3	۰/٤٤	۰/٤۳	۰/۳۷	۰/۳٦	۰/۹۱	۰/۸۵
C20:1n-9	۱/۰۵	۱/۱۷	۱/٦٦	۱/۸۹	۱/۹۹	۱/۲۳
C20:3n-6	۰/۳۳	۰/۱۹	۰/۱٦	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۱۷
C20:3n-3	۰/۱٦	۰/۲۱	۰/٤۸	۰/٦۲	۱/٦٤	۱/٤
C20:4n-6	۰/۱۹	۰/۲۵	۰/٤۹	۰/٦۳	۰/۹۸	۱/۰۳
C20:5n-3	۰/٤۲	۰/۵۲	۱/۲۱	۱/۳٦	۲/۲۷	۲/۱۹
C22:6n-3	۱/۱۹	۱/۲۵	۲/۱۷	۲/۰۳	٤/۰۷	۵/۱۵
C24:1n-9	۰/۱۵	۰/۵۸	۰/٦٤	۰/٤٦	۰/۸٦	۰/۹۷
∑ SFA۱	۱۵/۷٦	۱۵/٤٤	۱٤/۸۳	۱۳/۹٦	۱۳/٤۸	۱٦/۲
∑ MUFA	٦۸/۳۱	٦٦/۸	٦۱/۲۸	٦۱/۸٦	۵۷/۷۵	۵۵/۸۵
n-3	۲/٦	۲/٦۲	٤/٤۵	٤/٦۹	۹/۳	۸/۷
n-6	۹/۷۹	۹/٤۹	۱۱/٤٦	۱۱/۸	۱۱/۷٦	۱۱/۱۹

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

EPA/DHA	۰/۵۵	۰/٤۱	۰/٥٦	۰/٦۷	۰/٥٦	۰/٤٤
n-3/n-6	۰/۲٦	۰/۲۱	۰/۳۸	۰/۳۹	۰/۷۹	۰/۷۷

۱- SFA اسیدهای چرب امگا ۳ (DHA و EPA) ۱ به ۰/۵ (پایین)، ۲ به ۱ (متوسط) و ٤ به ۲ (بالا) درصد و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین) و ۱۰۰۰ (بالا) میلی‌گرم ویتامین E در کیلوگرم جیره (به‌ترتیب LL، LH، ML، MH، HL و HH). اسیدهای چرب اشباع و MUFA: اسیدهای چرب تک غیراشباع

در پایان آزمایش، غذادهی بچه‌ماهیان به مدت ۲٤ ساعت قطع و برای بررسی تغییرات رشد و مقایسه بین تیمارهای مختلف، بچه‌ماهیان زیست‌سنجی شده و شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شد.

برای انجام آزمایش‌های خون‌شناسی از هر تکرار ۹ قطعه بچه‌ماهی آزاد دریای خزر به‌طور تصادفی برداشته و خونگیری صورت پذیرفت (نمونه‌های خونی به‌صورت یک‌جا جمع‌آوری شد). برای خونگیری ابتدا بچه‌ماهیان در محلول حاوی عصاره گل میخک (به مقدار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) (Velisek et al., 2005) غوطه‌ور شده و پس از بیهوشی، آنها را کاملاً خشک کرده و خونگیری به‌دلیل کوچک بودن ماهی با قطع ساقه دمی انجام شد. برای جمع‌آوری نمونه‌های خونی از لوله موئین هپارینه و میکروتیوب‌های ضد عفونی شده حاوی هپارودیک IU ۵۰۰۰ (محلول هپارین سدیم) استفاده شد.

برای سنجش میزان هماتوکریت از روش Subhadra و همکاران (۲۰۰٦) استفاده گردید. برای این منظور بیش از دو سوم لوله‌های هماتوکریت از نمونه‌های خونی پر شده و پس از فرو بردن در خمیر هماتوکریت در دستگاه سانتریفیوژ هماتوکریت قرار داده و پس از ۵ دقیقه با دور (۲۵۰۰g)، مقدار هماتوکریت به‌وسیله خط‌کش هماتوکریت تعیین و مقدار هموگلوبین خون از روش سیان مت هموگلوبین (Houston, 1990) سنجش شد.

برای تهیه پلاسما نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده از ساقه دمی بچه‌ماهیان در میکروتیوب‌های حاوی هپارین سانتریفیوژ (۳۰۰۰ g، ۱۰ دقیقه) گردید و پس از جداسازی پلاسما، نمونه‌ها در چندین میکروتیوپ مجزا تقسیم شده و در نهایت در دمای ۸۰- °C زمان سنجش نگهداری شدند.

پروتئین کل با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و در طول موج ٥٦۰-٥۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Kumar et al., 2005). مقدار آلبومین سرم با استفاده از کیت تشخیصی شرکت زیست شیمی و با روش romocresol green binding اندازه‌گیری و میزان گلوبولین با کسر آلبومین از پروتئین کل محاسبه شد. کلسترول کل، تری‌گلیسرید و گلوکز با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (Technicon, RA 1000, Technicon Instruments Corporation) سنجش شد (Abedian Kenari et al., 2013). مقدار لیپوپروتئین‌های سرم ۵(LDL، HDL و VLDL) با استفاده از روش آنزیمی، کالریمتری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری این شاخص‌ها از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (Technicon, RA 1000) استفاده گردید و مقادیر آنها بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بیان شد. میزان آنزیم‌های کبدی با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر در طول موج ۳٤۰ نانومتر [٦] (AST،ALT و LDH) و در طول موج ٤۰٥ نانومتر برای آنزیم [۷] ALP انجام گرفت. مقدار آنزیم‌های کبدی بر حسب (IU/l) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج

5. LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein; VLDL, very low-density lipoproteins
6. ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase, LDH ،lactate dehydrogenase
7. ALP, alanine aminotransferase

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد. پیش از تجزیه تحلیل، طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smironov ارزیابی شد. آزمون همگنی واریانس با تست Levene انجام گرفت. برای مقایسه کلی داده‌ها از روش آنالیز واریانس دو طرفه Two-way-ANOVA و از مدل خطی زیر استفاده گردید:

$$Yijk = \mu + Fi + Hj + (FH)ij + \varepsilon ijk$$

که Yijk مقدار میانگین هر تکرار، μ جمعیت متوسط، Fi اثر ثابت عامل اول (n-3 HUFA)، Hj اثر ثابت عامل دوم (ویتامین E)، (FH)ij اثر متقابل بین دو عامل و εij خطای باقی مانده است. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون آماری Duncan در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان نورس آزاد دریای خزر در پاسخ به سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان رشد، میانگین وزن نهایی، ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن در تیمارهای تغذیه شده با سطوح متوسط و بالای اسیدهای چرب HUFA نسبت به تیمارهای تغذیه شده با سطوح پایین اسیدهای چرب HUFA، به‌طور معناداری بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). افزایش میزان ویتامین E در جیره‌های حاوی سطوح متوسط و بالای اسیدهای چرب HUFA باعث افزایش رشد گردید، اگرچه این افزایش معنادار نبود ($p>۰/۰۵$). آنالیز دو طرفه ANOVA نشان داد رشد بچه‌ماهیان به‌طور معناداری تحت تأثیر ویتامین E جیره و اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA قرار می‌گیرد و اثر متقابل بین ویتامین E و اسیدهای چرب جیره معنادار نیست ($p>۰/۰۵$). ضریب تبدیل غذایی با افزایش میزان ویتامین E جیره کاهش یافت و در تیمار تغذیه شده با میزان متوسط HUFA و بالای ویتامین E (MH) به‌طور معناداری نسبت به دیگر تیمارها پایین‌تر بود ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳ شاخص‌های رشد: میانگین وزن نهایی، بازماندگی، ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی بچه‌ماهیان نورس آزاد دریای خزر.

شاخص‌های رشد۱	تیمارهای غذایی مختلف						HUFA	ویتامین E	HUFA× ویتامین E
	LL	LH	ML	MH	HL	HH			
وزن اولیه (گرم)	۰/٦±۰/۰۲۵	۰/٦±۰/۰۲۵	۰/٦±۰/۰۲۵	۰/٦±۰/۰۲۵	۰/٦±۰/۰۲۵	۰/٦±۰/۰۲۵			
وزن (گرم)	۵/٦±۰/۱٦b	٦/۰٤±۰/۲۳b	٦/٤±۰/۰٤ab	۷/۰۷±۰/۳a	٦/۲٤±۰/۱۳ab	۷/۰۳±۰/۵a	*	*	ns
بازماندگی (٪)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	ns	ns	ns
(% d- SGR 1)	۲/۱۸±۰/۰٤b	۲/۲۹±۰/۰۵b	۲/۳۳±۰/۱ab	۲/۵±۰/۰٦a	۲/۲۹±۰/۰۸b	۲/۵±۰/۱a	*	*	ns
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲٤±۰/۰۳a	۱/۱٤±۰/۰۸ab	۱/۲۱±۰/۰۷ab	۱/۰۹±۰/۰۷b	۱/۲۵±۰/۰۸a	۱/۱۰±۰/۰۹b	ns	*	ns

۱- اسیدهای چرب امگا ۳ (DHA و EPA) ۱ به ۰/۵ (پایین)، ۲ به ۱ (متوسط) و ٤ به ۲ (بالا) درصد و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین) و ۱۰۰۰ (بالا) میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم جیره (به‌ترتیب LL، LH، ML، MH، HL و HH). میانگین± SD ۳ تکرار، نبود حروف در ردیف‌ها نشان‌دهندهٔ معنادار نبودن اختلافات در شاخص‌های

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

مذکور است. علامت * (significant) بیانگر وجود اختلاف معنادار و ns (not significant) بیانگر نبود تفاوت معنادار است. (تعداد ماهی انتهای دوره/تعداد ماهی ابتدای دوره)×۱۰۰= بازماندگی، ضریب تبدیل غذایی (FCR) = وزن اضافه شده (گرم) / غذای خشک داده شده (گرم)، دوره پرورش/[(وزن اولیه)Ln- (وزن نهایی)Ln] ×۱۰۰= ضریب رشد ویژه (SGR)

نتایج شاخص‌های فیزیولوژیک مورد مطالعه شامل هماتوکریت، میزان چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های پلاسما در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ٤ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان پروتئین کل پلاسما و گلوبولین تحت تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب و ویتامین E جیره قرار نمی‌گیرد (p>۰/۰۵). میزان پروتئین آلبومین به‌طور معناداری (p<۰/۰۵) تحت تأثیر سطح اسیدهای چرب قرار گرفت، ولی میزان ویتامین E یا اثر متقابل این دو ترکیب جیره اثر معناداری بر میزان آلبومین نشان نداد. میزان کلسترول در تیمارهای تغذیه شده با سطوح پایین اسیدهای چرب HUFA بالاتر از دیگر تیمارها بود (p<۰/۰۵) و با افزایش HUFA کاهش یافت. آنالیز واریانس دو طرفه نشان می‌دهد اثر متقابل اسیدهای چرب HUFA و ویتامن E اثر معناداری بر میزان کلسترول پلاسما دارد. میزان گلوگز و تری‌گلیسیرید پلاسما نیز به‌طور معناداری تحت تأثیر سطح HUFA جیره قرار گرفت، ولی اثر مستقل ویتامین E و اثر متقابل این دو ترکیب تأثیر معناداری (p>۰/۰۵) بر میزان این دو عامل نداشت.

نتایج سنجش لیپوپروتئین‌های پلاسما بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر در پایان آزمایش نشان داد همه لیپوپروتئین‌های سنجش شده به‌طور معناداری تحت تأثیر سطوح اسیدهای چرب HUFA قرار گرفتند (جدول ٤). میزان HDL به‌طور معناداری در تیمارهای حاوی سطوح متوسط و بالای HUFA بالاتر از تیمارهای حاوی سطوح پایین HUFA بود (p<۰/۰۵). نتایج سنجش ترکیبات چربی پلاسما نشان داد میزان کلسترول به‌طور معناداری تحت تأثیر میزان اسیدهای چرب HUFA و اثر متقابل HUFA ویتامین E جیره قرار می‌گیرد. با این حال اثر مستقل ویتامین E تأثیر معناداری بر میزان کلسترول پلاسما ندارد.

تیمارهای تغذیه شده با سطوح پایین HUFA بالاترین میزان تری‌گلیسرید پلاسما را داشتند و میزان تری‌گلیسرید ارتباط معکوسی با میزان HUFA نشان داد. نتایج این آزمایش نشان داد میزان اسیدهای چرب آزاد پلاسما به‌طور معناداری تحت تأثیر سطوح HUFA و اثر متقابل HUFA و ویتامین E جیره قرار دارد.

نتایج نشان داد همه لیپوپروتئین‌های پلاسمای بچه‌ماهی آزاد دریای خزر (به‌جز VLDL) به‌طور معناداری تحت تأثیر ویتامین E و اثر متقابل این دو مکمل قرار نمی‌گیرد. میزان HUFA، ویتامین E و اثر متقابل این دو تأثیر معناداری بر میزان هماتوکریت نشان داد، اگرچه در ماهیان تغذیه شده با سطوح بالاتر ویتامین E (LH، MH و HH) میزان هماتوکریت بالاتر بود. میزان هموگلوبین پلاسما در بین تیمارهای مختلف متفاوت بود و ماهیان تغذیه شده با سطوح پایین‌تر HUFA (LL و LH به‌ترتیب ۹/۳ و ۹/۰۷) میزان هموگلوبین بالاتری نشان دادند.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

جدول ٤ نتایج شاخص‌های فیزیولوژیک بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی۱

	تیمارهای غذایی مختلف						HUFA	ویتامین E	HUFA×ویتامین E
	LL	LH	ML	MH	HL	HH			
پروتئین کل (g/dl)	۳/۵۲±۰/۰۸	۳/۵۲±۰/۱	۳/۵۱±۰/۳	۳/۵٤±۰/۰۵	۳/۵۷±۰/۰۷	۳/۵۵±۰/۱۳	ns	ns	ns
آلبومین (g/dl)	۱/۲±۰/۰۵b	۱/۲±۰/۱۳b	۱/٤±۰/۳۲ab	۱/٦±۰/۲a	۱/٤±۰/۱ab	۱/۵±۰/۱۵a	*	ns	ns
گلبولین (g/dl)	۱/۸۹±۰/۰٦	۱/۸۷±۰/۱	۱/۸۸±۰/۰۸	۱/۹۰±۰/۰۳	۱/۸۸±۰/۰۵	۲/۰۱±۰/۱٦	ns	ns	ns
گلوکز (mg/dl)	۸۰/۰±٤/۵b	۸٦/۷±۷/٦b	۸۲/۳±۸/۷b	۸۳/٤±۱۰/٤b	۱۲٤/٦±۳۰/۱a	۹۵/۵±٤/۰٤b	*	ns	ns
کلسترول کل (mg/dl)	۳۷٦/٦±۲۰/۵a	۳۷۱/۰±۸/۸a	۳۱۳/۷±٦/۰b	۳۲٦/۰±۱۱/۷b	۳۲۱/٦±۱۲/۵bc	۲۹۲/۵±۲/۹c	*	ns	*
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۲۳۱/۳±۱۲/٦ab	۲٤۵/٦±۹/٤a	۱۹۹/۰±۱۱/۵bc	۱۹۵/٦±۱۲/۹bc	۱۷۱/۸±۲۵/۷c	۱۸۵/۷±۳۳/٦c	*	ns	ns
اسیدهای چرب آزاد (mmol/l)	۰/۳۸±۰/۰٤d	۰/٤٦±۰/۰٦cd	۰/۵۵±۰/۱bc	۰/۵۳±۰/۰۵bc	۰/٦۸±۰/۰٦a	۰/۵۷±۰/۰٤b	*	ns	*
HDL(mg/dl)	۱۵٦/۱±۷/۹b	۱۵۵/۸±۳/۲b	۱۷۳/۳±۷/۵a	۱۷۰/٤±۸/۹a	۱٦۸/٦±٤/۷ab	۱۷۱/۰±۹/۰a	*	ns	ns
LDL(mg/dl)	۷۵/٦±٤/۵a	۷۸/۰±۳/۰a	۵۲/۵±٦/۱c	۵۰/٦±۲/۵c	٦٦/۵±۳/۵b	٦۵/٤±٤/۲b	*	ns	ns
VLDL (mg/dl)	۹٦/۵±٤/٦a	۷۹/٤±۱۳/٦b	۸٤/٦±٤/۵ab	۵۹/۳±۳/۷c	۵۷/۳±٤/۷c	٤٤/۰±۷/۲d	*	*	ns
Hct (%)	۳۵/۲±۱/۱	۳٦/۰±۰/۵	۳۲/۸±۱/۷	۳٤/٦±۰/۹	۳٤/٦±۱/۸	۳٤/۱±۳/۳	ns	ns	ns
Hb(g/dl)	۱۰/۰۷±۰/۹a	۱۰/۳±۰/۲a	۷/۸۹±۰/۰۷b	۹/۷۱±۰/۰٤a	٦/۵±۰/۳٤c	۸/۲۹±۰/۳b	*	*	*

۱- اسیدهای چرب امگا ۳ (DHA و EPA) ۱ به ۰/۵ (پایین)، ۲ به ۱ (متوسط) و ٤ به ۲ (بالا) درصد و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین) و ۱۰۰۰ (بالا) میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم جیره (به‌ترتیب LL، LH، ML، MH، HL و HH). میانگین± SD ۳ تکرار، نبود حروف در ردیف‌ها نشان‌دهندهٔ معنادار نبودن اختلافات در شاخص‌های مذکور است. علامت * (significant) بیانگر وجود اختلاف معنادار و ns (no significant) بیانگر نبود تفاوت معنادار است.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد افزایش میزان EPA و DHA جیره بچه‌ماهیان نورس آزاد دریای خزر موجب افزایش رشد می‌شود. در تیمارهای تغذیه شده با جیره MH و HH میزان رشد به‌طور معناداری نسبت به دیگر تیمارها بالاتر بود (١٦/٦ درصد). در یک بررسی مشابه، لارو ماهی سیم سر طلایی با سطوح مختلف HUFA و ویتامین E جیره تغذیه شده است. نتایج عملکرد رشد (از نظر طول کل) نشان داد در ماهیان تغذیه شده با سطح متوسط HUFA (EPA+DHA ،۱/۵+۲/۵) و سطوح بالای ویتامین E (۲۹۰۰ میلی‌گرم) در مقایسه با دیگر ماهیان به‌طور معناداری بالاتر بود (Atalah et al., 2011). در بچه‌ماهیان هامور (Epinephelus malabaricus) افزایش ویتامین E جیره به میزان بیش از ۱۰۰ (میلی‌گرم / کیلوگرم) موجب بهبود رشد در دو سطح چربی ٤ یا ۹ گرم در ۱۰۰ گرم جیره شد (Lin & Shiau, 2005). در این مطالعه، افزایش سطح ویتامین E تا سطح بالا باعث بهبود قابل توجهی در رشد لاروها، به‌ویژه در سطح پایین‌تر HUFA جیره گردید که نشان می‌دهد میزان ویتامین E بیشتری برای حفاظت

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

اکسیداسیونی لازم است. علاوه بر این، اثر مثبت اسیدهای چرب HUFA در افزایش رشد می‌تواند به‌دلیل نقش عملکردی ساختاری آنها در غشای دو لایه فسفولیپیدی سلولی و تأثیر آن بر روی سیالیت غشای سلولی (Koven et al., 1993) و ابقای انتخابی این اسیدهای چرب به‌ویژه DHA در بافت‌های عصبی (Mourente & Tocher, 1992) باشد. از سوی دیگر، آزمایش‌های انجام شده بر روی آزاد ماهیان نشان می‌دهد که مقادیر بالاتر از حد نیاز 18:3n-3، EPA و DHA در جیره برای تأمین انرژی استفاده می‌شوند (Bell et al., 2001).

افزایش معنادار میانگین وزن نهایی، SGR بچه‌ماهیان تیمارهای MH و HH با وجود داشتن میزان یکسان HUFA، نشان می‌دهد مقادیر بالاتر ویتامین E (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در سطح متوسط و بالاتر HUFA اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. این اسیدهای چرب به‌دلیل داشتن تعداد زیاد پیوندهای غیراشباع در مقابل اکسیداسیون بسیار حساس هستند و در جیره‌های لاروی به‌دلیل افزایش نسبت سطح به حجم جیره این حساسیت افزایش پیدا می‌کند. از سوی دیگر، وجود مقادیر بالای این اسیدهای چرب در بافت لارو ماهی (Salhi et al., 1997) نیازمند وجود مقادیر بالاتر آنتی‌اکسیدان‌های برون و درون سلولی است (Sargent et al., 1997). ویتامین E موجود در غشای سلول برای اهدای اتم هیدروژن به رادیکال پروکسیل چربی با اسیدهای چرب HUFA فسفولیپیدی رقابت می‌کند و موجب شکستن زنجیره واکنش‌های درگیر در اکسیداسیون چربی می‌شود. از این‌رو افزایش میزان اسیدهای چرب HUFA میزان ویتامین E مورد نیاز برای محافظت سلولی را افزایش می‌دهد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد افزایش میزان اسیدهای چرب EPA و DHA و سطوح ویتامین E در جیره بچه‌ماهی نورس آزاد دریای خزر هیچ‌گونه تأثیر معناداری بر پروتئین کل و گلوبولین پلاسمای این گونه ندارد. با این حال، میزان آلبومین پلاسما به‌طور معناداری تحت تأثیر میزان امگا ۳ HUFA جیره قرار می‌گیرد و در گروه تغذیه شده با سطوح پایین‌تر امگا ۳ HUFA پایین‌تر بود ولی اثر مستقل ویتامین E و تأثیر معناداری بر این پروتئین ندارد. پروتئین‌ها یکی از مهم‌ترین ترکیبات پلاسما هستند و میزان آنها به‌عنوان یکی از شاخص‌های اصلی برای سلامتی ماهی محسوب می‌شوند (Sheikhzadeh et al., 2012). گلوبولین‌ها مانند گاما گلوبولین که حاوی ایمونوگلوبین هستند، برای حفظ تعادل سیستم ایمنی ماهی اهمیت زیادی دارند. در نتیجه می‌توان گفت افزایش هم‌زمان میزان امگا ۳ HUFA و آلبومین بیانگر وضعیت ایمنی بهتر در بچه‌ماهیان است. آزمایش‌ها در خصوص ارتباط بین ویتامین E و میزان پروتئین نشان می‌دهد تغذیه ماهیان با جیره‌های فاقد ویتامین E باعث کاهش پروتئین پلاسما می‌شود (Blazer & Wolke, 1984; Clerton et al., 2001). در این مطالعه میزان ویتامین E برای تأمین حداقل نیاز این ماهی وجود داشت در نتیجه ویتامین E تأثیر معنادار و قابل ملاحظه‌ای بر میزان پروتئین پلاسما ایجاد نکرد.

اندازه‌گیری میزان گلوگز و اسیدهای چرب آزاد پلاسما نشان داد با افزایش میزان EPA و DHA میزان این دو عامل در پلاسما افزایش می‌یابد و بچه‌ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای این دو اسید چرب بالاترین میزان گلوکز و اسیدهای چرب آزاد را دارند. بر خلاف این میزان تری‌گلیسرید و کلسترول کل پلاسما با افزایش امگا ۳ HUFA به‌طور معناداری کاهش یافت و تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های LH و LL بالاترین میزان تری‌گلیسرید پلاسما را داشتند. بررسی‌ها نشان می‌دهند تغذیه ماهی با جیره‌های حاوی اسیدهای چرب HUFA در مقایسه با

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

دیگر اسیدهای چرب، موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در فرایندهای لیپوژنزیز، گلیکولیز و تجزیه اسیدهای آمینه در کبد می‌شود. به نظر می‌رسد این تغییر متابولیکی در ماهیان تغذیه شده با اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA، موجب تغییر منابع تأمین‌کننده انرژی از پروتئین و کربوهیدرات به منابع چربی باشد (Takafumi & Sado, 1964). افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد پلاسما هم‌زمان با کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسما می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که این اسیدهای چرب از این منابع تأمین شده‌اند. کاهش میزان تری‌گلیسرید پلاسما با افزایش EPA و DHA ممکن است به‌دلیل کاهش تولید لیپوپروتئین‌های VLDL یا کاهش ترشح آن از کبد باشد. در ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با اسیدهای چرب EPA و DHA، کاهش بیوسنتز تری‌گلیسرید عامل اصلی کاهش ترشح VLDL های حاوی تری‌گلیسرید گزارش شده است (Kjær et al., 2008). در این آزمایش میزان لیپوپروتئین‌های VLDL پلاسما با افزایش امگا ۳ HUFA به‌طور معناداری کاهش یافت. نتایج این بررسی نشان می‌دهد اسیدهای چرب EPA و DHA جیره با کاهش سنتز VLDL در کبد و متعاقباً کاهش آن در پلاسما موجب کاهش تری‌گلیسرید پلاسمای بچه‌ماهی آزاد دریای خزر می‌شوند. از سوی دیگر، مطالعات نشان می‌دهد افزایش نسبت n-6 / n-3 سبب تحریک سلول‌های کبدی به سنتز و ترشح تری‌آسیل گلیسرول و کاهش این نسبت موجب کاهش سنتز تری‌آسیل گلیسرول در کبد می‌گردد. مطالعات بر سلول‌های کبدی موش آزمایشگاهی نشان داد که اولئیک اسید سبب افزایش سنتز تری‌آسیل گلیسرول در سلول‌های کبد شد، در حالی‌که EPA و DHA سبب کاهش سنتز تری‌آسیل گلیسرول به‌وسیله سلول‌های کبدی گردید (Nossen et al., 1986) که مشابه با نتایج آزمایش حاضر است.

لیپوپروتئین‌های پلاسما در پاسخ به دریافت غذا، تناوب غذادهی و نوع چربی مصرفی تغییر می‌یابد (Babin & Vernier, 1989). در آزاد ماهیان مانند ماهی آزاد اقیانوس اطلس HDL غالب‌ترین لیپوپروتئین است (Lie et al., 1993). کاهش میزان LDL پلاسما با افزایش میزان اسیدهای چرب EPA و DHA ممکن است به‌دلیل مصرف بیشتر این لیپوپروتئینی‌ها یا کاهش بیوسنتز VLDL در انتروسیت‌ها یا کبد باشد، زیرا اغلب ذرات LDL در نتیجه لیپولیز ذرات VLDL تولید می‌شوند (Kjær et al., 2008). همان‌طور که پیش از این ذکر شد میزان VLDL پلاسمای بچه‌ماهیان با افزایش اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA جیره کاهش یافت که می‌تواند یکی از دلایل کاهش میزان LDL باشد. کلسترول کل و LDL پلاسما به‌وسیله اسیدهای چرب اشباع افزایش و در اثر تغذیه با اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک، EPA و DHA کاهش می‌یابند (Spady, 1993). در ماهی آزاد اقیانوس اطلس نیز ارتباطی قوی بین ترکیب اسیدهای چرب جیره و ترکیب لیپوپروتئین‌ها مشاهده شده است (Lie et al., 1993). آنزیم لیپوپروتئین لیپاز با هیدرولیز لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسرید (LDL)، باعث رهاسازی اسیدهای چرب می‌گردد و این اسیدهای چرب برای ذخیره‌سازی یا مصرف به‌وسیله بافت‌ها دریافت می‌شود. مطالعات انجام شده بر روی موش نشان می‌دهد اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA باعث افزایش فعالیت این آنزیم در عضله (Baltzell et al., 1991) و بافت‌های چربی (Murphy et al., 1993) می‌گردد. از آنجایی که در این مطالعه فعالیت این آنزیم سنجش نشد، در نتیجه به‌طور قطعی نمی‌توان این فرضیه را پذیرفت. با این حال با توجه به افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد و

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

کاهش میزان تری‌گلیسرید پلاسما می‌توان گفت شاید کاهش میزان LDL و VLDL پلاسما به‌دلیل افزایش فعالیت این آنزیم باشد. مقایسه نتایج میزان VLDL پلاسما در این آزمایش نشان داد علاوه بر اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA، میزان ویتامین E جیره نیز تأثیر معناداری بر این لیپوپروتئین دارد و میزان VLDL پلاسما در تیمارهای تغذیه شده با ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین E به‌طور معناداری نسبت به ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین E بالاتر است. ویتامین E ذخیره شده در کبد به‌وسیله VLDL به پلاسما منتقل و به مصرف بافت‌ها می‌رسد (Hamre et al., 1998). بنابراین وقتی بافت‌ها به میزان بیشتری ویتامین E به‌عنوان آنتی‌اکسیدان یا برای شرکت در فرایندهای فیزیولوژیک دیگری نیاز دارند، میزان VLDL بیشتری برای تأمین این نیاز تولید می‌شود. در نتیجه افزایش میزان VLDL در تیمارهای تغذیه شده با سطح پایین‌تر ویتامین E شاید به‌دلیل افزایش نیازمندی به ویتامین E به‌عنوان آنتی اکسیدان باشد.

هماتوکریت یک شاخص سودمند برای سنجش استرس‌های محیطی و شیمیایی در ماهی است (Roche & Boge, 1996). از آنجا که گلبول قرمز آزاد ماهیان حاوی مقادیر بالایی اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع (Hamre, 2011) و مقدار اندکی آلفا-توکوفرل (Hamre et al., 1997) است، در نتیجه به عنوان یکی از محل‌های اصلی تولید رادیکال‌های آزاد نیز است و برخی از آنها می تواند اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع را در فسفولیپید غشای خود آغاز کنند، در نتیجه تغییر کیفیت آنها (یکپارچگی و اندازه) و کمیت (تعداد) می تواند به‌عنوان شاخصی برای استرس اکسیداتیو باشد. کاهش میزان این شاخص در بسیاری از ماهیان تغذیه شده با جیره‌های فاقد ویتامین E گزارش شده است (Roem et al., 1990; Puangkaew et al., 2005). با این حال، در این بررسی ویتامین E و اسیدهای چرب EPA و DHA هیچ‌گونه اثر معناداری بر این شاخص ندارند که احتمالاً به‌دلیل وجود مقادیر کافی ویتامین E برای حفظ سطح طبیعی هماتوکریت بوده است. در سطوح متوسط و بالای اسیدهای چرب EPA و DHA، میزان هموگلوبین در ماهیان تغذیه شده با سطح پایین ویتامین E به‌طور معناداری نسبت به سطح بالاتر آن کمتر بود. این کاهش می‌تواند به دلیل اکسیداسیون بالاتر هموگلوبین بچه‌ماهیان این تیمارها باشد زیرا هموگلوبین به خودی خود و یا رهاسازی آهن در معرض خطر انواع اکسیژن‌های فعال هستند.

در مجموع نتایج به‌دست آمده در خصوص اثر متقابل اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره بچه‌ماهی نورس نشان داد افزایش هم‌زمان این اسیدهای چرب و ویتامین E اثر مثبتی بر شاخص‌های رشد این ماهی دارد. همچنین نتایج نشان داد میزان بازماندگی این گونه در این مرحله از رشد بالا بوده و سطوح مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره تأثیری بر این شاخص ندارد. شاخص‌های سلامتی مانند درصد هماتوکریت تغیرات معناداری نداشتند، با این حال چربی‌ها و لیپوپروتئین‌های پلاسما به میزان زیادی تحت تأثیر اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA جیره قرار گرفتند و ویتامین E و اثر متقابل ویتامین E و اسیدهای چرب تأثیر اندکی بر این شاخص‌ها نشان دادند. از این‌رو، با توجه به نتایج مطالعه حاضر برای جلوگیری از بروز اثرهای مضر مقادیر بالای اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA، افزودن ویتامین E به جیره در مقادیر بالا (۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در جیره این ماهی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از خانم مهندس سیده فاطمه هاشمی و آقای مهندس مهدی نادری کوشک به‌دلیل کمک در نمونه‌برداری و انجام بخشی از آزمایش‌ها به عمل می‌آورد. همچنین از ریاست محترم کارخانه خوراک دام و طیور آبزیان ساری جناب آقای مهندس کابلی، سرکار خانم گیلدا نماینده شرکت CRODA در ایران و مدیریت محترم شرکت ارس بازار به‌دلیل فراهم کردن بخشی از ترکیبات مورد نیاز جیره، همچنین از مدیریت بازسازی ذخایر سازمان شیلات ایران و مدیریت محترم کارگاه تکثیر و پرورش شهید باهنر کلاردشت به‌دلیل همکاری و در اختیار گذاشتن بچه‌ماهی سپاسگزاریم.

منابع

Abedian Kenari, A., Mahmoudi, N., Soltani, M. and Abediankenari, S. 2013. Dietary nucleotide supplements influence the growth, haemato-immunological parameters and stress responses in endangered Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Aquaculture Nutrition*, 19: 54–63.

Abedian Kenari, A., Sotoudeh, Ebrahim. and Habibi Rezaei, M. 2011. Dietary soybean phosphatidylcholine affect growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) alevin. *Aquaculture Research*, 42: 655- 663.

Atalah, E., Hernández-Cruz, C. M., Ganga, R., Ganuza, E., Benítez-Santana, T., Roo, J. and Izquierdo, M. S. 2012. Enhancement of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval growth by dietary vitamin E in relation to two different levels of essential fatty acids. *Aquaculture Research*, 43: 1816–1827.

Babin, P. J. and Vernier, J. 1989. Plasma lipoproteins in fish. *Journal of Lipid Beaearch*, 30: 467–489.

Baltzell, J. K., Wooten, J.T. and Otto, D.A. 1991. Lipoprotein lipase in rats fed fish oil: apparent relationship to plasma insulin levels. *Lipids*, 26: 289–294.

Bell, M., Dick, J. R. and Porter, E. 2001. Biosynthesis and tissue deposition of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*, 36: 1153–9.

Blazer, R. E. and Wolke, V. S. 1984. The effects of α-tocopherol on the immune response and non-specific resistance factors of rainbow trout (*Salmo gairdneri Richardson*). *Aquaculture*, 37: 1–9.

Blazer, V. S. 1982. The effect of marginal deficiencies of ascorbic acid and a-tocopherol on the natural resistance and immune response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). University of Rhode Island, USA.

Bransden, M. P., Carter, C. G. and Nichols, P. D. 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 135: 611 – 625.

Gonzalez, M. M., Izquierdo, M. S., Salhi, M., Hernandez-Cruz, C. M. and Fernandez-Palacios, H. 1995. Dietary vitamin E for *Sparus aurata* larvae. *European Aquaculture Society*, 24: 239–242.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1996. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. In J. Halliwell, B. Gutteridge (Ed.), Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford. pp. 188–266.

Hamre, K. 2011. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 17: 98–115.

Hamre, K., Berge, R. K. and Lie, O. 1998. Turnover of a-, g-, and y-tocopherol and distribution in subcellular and lipoprotein fractions indicate presence of an hepatic tocopherol binding protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 71–83.

Hamre, K. and Lie, Ø. 1995. Minimum requirement of vitamin E for Atlantic salmon, *Salmo salar*, at first feeding. *Aquaculture Research*, 26: 175–184.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 12: 249–60.

Lin, Y.-H. and Shiau, S.-Y. 2005. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture*, 248: 235–244.

Madsen, L., Rustan, C., Vaagenes, H., Berge, K., Dyrøy, E., and Berge, R. K. 1999. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. *Lipids*, 34(9): 951–63.

Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M. S., Robaina, L. and Vergara, J. M. 1998. Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by α-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 399–407.

Montero, D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J. M. and Izquierdo, M. S. 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 11(6): 473–90.

Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina, L., Tort L., Caballero, M.J. and Izquierdo, M. S. 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, 225: 353 –370.

Murphy, M. C., Zampelas, A., Puddicombe, S. M., Furlonger, N. P., Morgan, L. M. andWilliams, C. 1993. Pretranslational regulation of the expression of the lipoprotein-lipase (EC 3.1.1.34) gene by dietary fatty-acids in the rat. *British Journal of Nutrition*, 70: 727–736.

National Research Council (NRC). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC, USA: National Academies Press. p 114.

Nossen, J. O., Rustan, A. C., Gloppestad, S. H., Malbakken, S. and Drevon, C. 1986. Eicosapentaenoic Acid Inhibits Synthesis and Secretion of Triacylglycerols by Cultured Rat Hepatocytes. *Biochim Biophys Acta*, 879: 56–65.

Puangkaew, J., Kiron, V., Satoh, S. and Watanabe, T. 2005. Antioxidant defense of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E

Hamre, K., Waagbø, R., Berge, R.K. and Lie, Ø. 1997. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Free Radical Biology and Medicine*, 22: 137–149.

Higgs, D. A. and Dong F. M. 2000. Lipids and fatty acids. In: Stickney RR (ed.) Encyclopedia of Aquaculture, John Wiley & Sons, New York, p. 476–496.

Houston, A. H. 1990. Blood and circulation. In Schreck, C.B. and Moyle, P.B. (Ed.), Methods in Fish Biology. Bethesda, MD, USA: American Fisheries Society. pp. 273–335.

Huang, C.-H. and Huang, S.-L. 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture*, 237: 381–389.

Izquierdo, M. 2005. Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 63: 91–102.

Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H. and Tacon, A. G. J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25–42.

Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S. and Watanabe, T. 2004. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. *Aquaculture*, 234: 361–379.

Kjær, M., Vegusdal, A., Gjøen, T., Rustan, A. C., Todorcevic, M. and Ruyter, B. 2008. Effect of rapeseed oil and dietary n−3 fatty acids on triacylglycerol synthesis and secretion in Atlantic salmon hepatocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1781: 112–122.

Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S. and Mukherjee, S. 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish and Shellfish Immunolog*, 19: 331–344.

Lie, O., Sandvin, A. and Waagbø, R. 1993. Influence of dietary fatty acids on the lipid composition of lipoproteins in farmed Atlantic

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]

transport in the rat. *The Journal of Lipid Research*, 34: 1337–1346.

Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S. and Chen, R. 2006. Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmonides*). *Aquaculture*, 255: 210–220.

Takafumi, S. and Sadao, S. 1994. Metabolic Response to Dietary Stearic Acid , Linoleic Acid , and Highly Unsaturated F atty Acid in Carp. *Fisheries Science*, 60(6): 735–739.

Welker, T. L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M. and Klesius, P. H. 2011. Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture Research*, 42: 1878–1889.

Wang, Z., Mai, K., Liufu, Z., Ma, H., Xu, W., Ai, Q., Zhang, W., Tan, B. and Wang, X. 2006. Effect of high dietary intakes of vitamin E and n-3 HUFA on immune responses and resistance to Edwardsiella tarda challenge in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck and Schlegel). *Aquaculture Research*, 37(7): 681–692.

Webster, C. D. and Lovell, R. T. 1990. Response of striped bass larvae fed brine shrimp from different sources containing different fatty acid compositions. *Aquaculture*, 90(1): 49–61.

Wirth, M., Steffens, W., Meinelt, T. and Steinberg, C. 1997. Significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Fett/Lipid*, 99(7): 251–253.

contents. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C* 140: 187–96.

Roche, H. and Boge, G. 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Marine Environmental Research*, 41: 27–43.

Roem, A. J., Kohler, C. C. and Stickney, R. 1990. Vitamin E requirements of the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), in relation to dietary lipid level. *Aquaculture*, 87: 155–164.

Salhi, M., Izquierdo, M. S., Hernandez-Cruz, C. M., Socorro, J. and Fernandez-Palacios, H. 1997. The improved incorporation of polyunsaturated fatty acids and changes in liver structure in larval gilthead seabream fed on microdiets. *Journal of Fish Biology*, 51: 869–879.

Sargent, J., Henderson, R. J. and Tocher, D. R. 1989. The lipids. In J. E. Halver (Ed.), Fish Nutrition London, UK: Academic Press. pp. 154 – 218.

Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Oushani, A. K. and Enferadi, M. H. 2012. Effects of Haematococcus pluvialissupplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 413–419.

Sotoudeh, E., Kenari, A. A. and Rezaei, M. H. 2010. Growth response, body composition and fatty acid profile of Caspian brown trout (*Salmo trutta Caspius*) juvenile fed diets containing different levels of soybean phosphatidylcholine. *Aquaculture International*, 19: 611–623.

Spady, D. 1993. Regulatory effects of individual n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on LDL

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-02-26]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1393.3.4.2.9]