



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره ششم، شماره اول، بهار ۹۷

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه عصاره گاماریده دریای خزر و

اثرات آن بر مطبوعیت غذایی، عملکرد رشد و تنش شوری

بچه‌ماهی کلمه (*Rutilus caspicus* (Yakovlev, 1870)

رودابه روفچایی^{۱*}، سیدحسین حسینی‌فر^۲، علیرضا میرزاجانی^۳، صاحبعلی قربانی^۱

^۱ کارشناس موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

^۲ دانشیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و

منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۳ استادیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

تاریخ ارسال: ۹۵/۵/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۹

چکیده

کلمه خزری (*R. caspicus*) به‌عنوان یک گونه جدید جهت افزایش تنوع گونه‌های پرورش کشور مطرح می‌باشد. هدف مطالعه حاضر تعیین اثرات بکارگیری سطوح مختلف عصاره گاماریده بر غذاگیری، شاخص‌های رشد و مقاومت بچه‌ماهی کلمه می‌باشد. برای انجام این آزمایش، عصاره گاماریده بعد از بررسی پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه با آب مقطر در دو غلظت (۱:۵۰ و ۱:۲۵) مخلوط شد و به میزان دو درصد به غذای دستی قبل از هر بار غذادهی اسپری شده و در کنار تیمار کنترل، هر یک در سه تکرار بررسی گردید. آزمایش در تانک‌های ۱۰۰ لیتری با حجم آبیگری ۸۰ لیتر انجام گرفت. ۲۰ عدد بچه ماهی به وزن $4/3 \pm 0/3$ گرم درون مخازن ذخیره سازی گردید. ماهی‌ها روزانه ۳ وعده تا حد سیری کامل به‌مدت ۸ هفته تغذیه شدند. میزان سرعت غذاگیری و تاثیر عصاره بر مطبوعیت غذا در ۱۵ دقیقه اول تغذیه محاسبه شد. همچنین در پایان دوره شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت، ضریب تبدیل غذایی) و بازماندگی در برابر تنش شوری (۱۵ گرم بر لیتر) تعیین گردید. نتایج نشان داد در بچه‌ماهی‌های تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی عصاره گاماریده به‌طور معنی‌داری فاکتورهای رشد و میزان غذاگیری بهبود یافت، اگر چه این

*نویسنده مسئول: roofchaie@gmail.com

اختلاف بین دو غلظت (۱:۲۵ و ۱:۵۰) عصاره گاماریده معنی‌دار نبود. همچنین نتایج تنش شوری نشان داد که بازماندگی بچه‌ماهیان تغذیه‌شده با عصاره پس از ۷۲ ساعت به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. نتایج مطالعه حاضر موید این امر است که عصاره گاماریده با افزایش مطبوعیت غذایی و بخاطر داشتن پروفایل اسید چرب و اسید آمینه مناسب می‌تواند سبب بهبود غذاگیری، عملکرد رشد و مقاومت در برابر تنش شود.

واژه‌های کلیدی: *R. caspicus*، عصاره گاماریده، فاکتور رشد، اسیدآمینه، اسید چرب، تنش شوری

مقدمه

یکی از گونه‌های با ارزش اقتصادی شمال ایران، ماهی کلمه دریای خزر می‌باشد که از نظر اکولوژیکی، نقش مهمی در زنجیره غذایی فیل‌ماهی دارد (Kaivan Shokoh and Kalbasi, 2009). افزایش روزافزون نیازهای غذایی، محدود بودن توان تولید طبیعی و برداشت از جمعیت‌های آبی دریای خزر سبب اهمیت بالای تکثیر و پرورش این گونه شده است. با این وجود در عمل، بررسی‌های بسیار اندکی در خصوص امکان پرورش این گونه انجام شده است (Piri *et al.*, 2010).

طعم غذا و برخی ویژگی‌های کیفی آن، مطبوعیت نوع غذا را برای ماهی تعیین می‌کند. بنابراین سیستم چشایی ارزیابی اصلی را در فرآیند تغذیه به عهده دارد (Kasumyan and Nikolaeva, 1997). گیرنده‌های چشایی ماهی‌ها اندام‌های خارجی هستند که در دهان، حلق، حفره دهانی و خارهای آبششی و همچنین در سطح بدن باتوجه به ویژگی‌های گونه وجود دارند (Ishimaru *et al.*, 2005). گیرنده‌های فوق نسبت به اسیدهای آمینه ایزومر L حساسیت بالا داشته و قادرند فعالیت نورون‌های چشایی را تحریک کنند. تاثیر این اسیدآمینه‌ها طی بررسی‌های انجام شده برای هر گونه اختصاصی است (Kasumyan and Doving, 2003). با افزایش تغذیه و جذب بهتر مواد غذایی کارایی سیستم ایمنی و رشد نیز افزایش می‌یابد (Dabrowski *et al.*, 2001). همچنین افزایش مطبوعیت غذایی منجر به کاهش هزینه مربوط به پرورش، افزایش سازگاری با غذای دستی در گونه‌های وحشی و وابسته به غذای زنده، کاهش ضایعات غذایی در محیط پرورش، مدیریت آسان‌تر کیفیت آب متعاقب کاهش زمان ماندگاری غذا در آب می‌شود (Sudagar *et al.*, 2013; Velez *et al.*, 2007).

گاماریده از رده ناجورپایان (Amphipoda) از مرغوبترین غذاهای زنده آبزیان دریای خزر است که ۴ گونه آن در حوضه جنوبی دریای خزر وجود داشته و گونه *Pontogammarous meoticus* فراوانترین آن است، که قابلیت پرورش و نگهداری در فضای بسته و آزمایشگاهی را دارا می‌باشد (Yavari *et al.*, 2010). گاماریده‌ها حاوی مقادیر بالایی بتا کاروتن و آنتی‌اکسیدان بوده و نیز غنی از اسید چرب غیراشباع (HUFA) می‌باشند (Correia *et al.*, 2003). این ناجورپایان همچنین دارای تنوع بالایی از اسیدهای آمینه هستند (Koprucu and Ozdemir, 2005). بررسی‌هایی که روی گونه‌های گاماریده آب

شور صورت گرفته نشان می‌دهد که اسیدهای چرب غیر اشباع درصد قابل ملاحظه‌ای از چربی گاماریده را تشکیل می‌دهد (Correia *et al.*, 2003).

در سال‌های اخیر از عصاره موجودات دریایی مختلف در جیره غذایی ماهیان استفاده شده است به طوری که در این بررسی‌ها عصاره دافنی و لارو شیرونومیده باعث افزایش غذاگیری ماهیان خاویاری و عصاره گاماریده، دافنی و آرتمیما نیز غذاگیری فیل ماهیان را افزایش داده است (Sudagar *et al.*, 2011; Darvish Bastami *et al.*, 2008; Velez *et al.*, 2007; Kasumyan, 2002). مطالعه‌ای در خصوص بررسی اثرات بکارگیری این دسته از مکمل‌های غذایی در جیره غذایی ماهی کلمه صورت پذیرفته است. از این‌رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره گاماریده بومی سواحل جنوبی دریای خزر (*Pontogammarous meoticus*) بر مطبوعیت غذایی، شاخص‌های رشد و نیز تحمل استرس محیطی در پرورش کلمه خزری صورت پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

تأمین گاماریده‌ها و تهیه عصاره: برای تهیه عصاره گاماریده، گاماریده‌ها از بخش ساب لیتورال سواحل جنوبی دریای خزر در ناحیه بندر انزلی با مختصات جغرافیایی یو تی ام ("۴۱°۴۸'۹۸" شمالی و ("۳۶°۲۸'۵۸" شرقی در شهریور ۱۳۹۳ از ساحل بندر انزلی توسط توری با چشمه ۱ میلی‌متر برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند. گاماریده‌ها پس از انتقال به ایستگاه تغذیه، شسته و در هاون تا حد امکان کوبیده شدند عصاره گاماریده حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد (Darvish Bastami *et al.*, 2008). پس از آن محلول به دست آمده در لوله آزمایش و در دستگاه سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. قسمت مایع رویی (سوپر ناتانت) جدا، در ظروف پلاستیکی ۲ سی‌سی دردار ریخته شده و در فریزر دمای منهای ۲۱ درجه سانتی‌گراد جهت هر بار غذا دهی نگهداری شدند (Darvish Bastami *et al.*, 2008 ; Velez *et al.*, 2007).

جدول ۱- آنالیز جیره غذایی مورد استفاده جهت تغذیه بچه‌ماهی کلمه خزری (*R. caspicus*).

ترکیبات تقریبی (درصد)	جیره غذایی
پروتئین خام	۱۵/۵۷
چربی خام	۶/۳
رطوبت	۷۲
خاکستر	۳/۵

تهیه جیره‌های آزمایشی: جیره غذایی مورد استفاده در این تحقیق از غذای اکستروود تولید خوراک دام و طیور آبزیان کیمیاگران شهر کرد، ایران (EXF 1) تهیه گردید (جدول ۱). عصاره گاماریده با غلظت عصاره به آب مقطر (۱:۵۰، ۱:۲۵) به میزان ۲ درصد به جیره غذایی، قبل از غذا دهی اسپری شده سپس جیره به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق خشک شده و مورد استفاده قرار می‌گرفت. به جیره شاهد که فاقد عصاره بود به میزان مشابه آب مقطراسپری گردید.

تأمین بچه‌ماهی‌ها و شرایط پرورش: بچه‌ماهی مورد نیاز از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر سیچوال گرگان تامین و به ایستگاه تحقیقاتی تغذیه و غذای زنده آبزیان (غازیان، بندرانزلی) منتقل گردید. بچه‌ماهیان شانزده ماه جهت رسیدن به اندازه مورد نظر (۴ گرمی) با جیره سازگاری (پروتئین ۴۰ درصد و انرژی ۴۵۰۰ کیلو کالری بر کیلوگرم) نگهداری شدند و پس از رسیدن به وزن مورد نظر در هر تکرار ماهی‌ها با تراکم ۲۰ عدد در مخازن ۱۰۰ لیتری که تا ۸۰ لیتر آب‌گیری شده بودند معرفی شدند. آب مصرفی جهت پرورش، از آب شهر تامین شده بود که پس از ذخیره در مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری و هوادهی به مدت ۲۴ ساعت، مورد استفاده قرار می‌گرفت. تامین اکسیژن محلول مورد نیاز ماهیان از طریق هوادهی بوسیله پمپ‌های آکواریمی انجام می‌شد. میزان غذادهی برحسب ۳ درصد وزن بدن، در ساعات روشنایی روز (۱۲ ساعت روشنایی)، در سه نوبت در طی ۸ هفته صورت گرفت. به طور روزانه غذای باقیمانده غذای باقیمانده بعد از هر بار تغذیه جمع‌آوری شده و در دمای ۶۰ درجه در آن خشک شد و از غذای مصرف شده خوراک توسط ماهی کسر گردید (Hoseinifar et al., 2013). آب مخازن هر دو روز سیفون شده و دو سوم آن با آب تازه تعویض می‌شد. شاخص‌های کیفی آب هر روزه بررسی می‌شد و در طول دوره آزمایش، میانگین درجه حرارت ۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد با دامنه ۲۲/۵ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین اکسیژن محلول ۷/۱۱ میلی‌گرم در لیتر با دامنه ۶/۲۰ تا ۷/۷۲ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد.

محاسبه شاخص‌های رشد و بازماندگی: پس از اتمام دوره پرورش میزان ضریب رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (گرم) (WG)، درصد رشد روزانه و درصد بازماندگی از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Wahli et al., 2003 ; Wang et al., 2003).

$$\Delta W \text{ (میزان افزایش وزن بدن) = میانگین وزن انتهای دوره - میانگین وزن ابتدای دوره}$$

$$WG \text{ (درصد افزایش وزن بدن) = } \left[\frac{\text{میانگین وزن انتهای دوره} - \text{میانگین وزن ابتدای دوره}}{\text{میانگین وزن ابتدای دوره}} \right] \times 100$$

$$SGR \text{ (ضریب رشد ویژه) = } \left[\frac{\text{لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی} - \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه}}{\text{زمان}} \right] \times 100$$

$$\text{درصد بقا} = \left(\frac{\text{تعداد بچه ماهیان ابتدای دوره}}{\text{تعداد بچه ماهیان باقی‌مانده در انتهای دوره}} \right) \times 100$$

$$FCR \text{ (ضریب تبدیل غذایی) = مقدار غذای خورده شده / افزایش وزن بدن}$$

آنالیز شیمیایی و پروفایل اسیدچرب گاماریده: جهت بررسی آنالیز شیمیایی و پروفایل اسیدهای چرب *Pontogammarous meoticus* نمونه عصاره در فریزر ۲۲ درجه سانتی‌گراد زیر صفر نگهداری و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات آرتمیا ارومیه جهت آنالیز ارسال شد. آنالیز پروفایل در این مرکز توسط دستگاه کروماتوگرافی مدل DNA 1000 و استخراج اسیدهای چرب با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم انجام گرفت و آنالیز شیمیایی نیز طبق استاندارد (AOAC, 1990) انجام شد. **بررسی پروفایل آمینواسید:** تعیین اسیدآمینه‌های موجود در عصاره گاماروس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و براساس روش گرانشی و گایزی (Graney and Giesy, 1986) اسیدهای آمینه عصاره گاماریده مورد بررسی قرار گرفت. عصاره به‌دست آمده مجدداً در سانتریفیوژ یخچال‌دار (۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس سوپر ناتانت به میکروتیوپ‌های دیگری منتقل شدند. ۲۰ میکرولیتر از سوپر ناتانت به دستگاه HPLC (Knauer, Germany) با ستون C18 و آشکارساز فلورسانس (UV- F-530, Knauer Germany) Visible تزریق شد. جذب اسیدهای آمینه با استفاده از آشکار ساز و با طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت.

تست مقاومت در برابر چالش شوری: جهت انجام تست مقاومت در برابر چالش شوری، در پایان بررسی از هر تکرار ۱۰ عدد ماهی در معرض تنش شوری ۱۵ گرم در لیتر نمک قرار گرفته و درصد بقا ۷۲ ساعت پس از چالش بررسی و ثبت گردید (Soleimani et al., 2012).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-13 و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار اکسل (Excell, 2007) انجام گرفت. بدین صورت که پس از جمع‌بندی اطلاعات جهت اطمینان از نرمال بودن اطلاعات با آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) بررسی شدند. سپس توزیع داده‌های نرمال برای مشاهده اختلاف کلی بین میانگین‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (One way Anova) بررسی گردید و در گام بعدی گروه‌ها با آزمون دانکن (Duncan) از یکدیگر تفکیک شدند.

نتایج

پس از بررسی فاکتورهای زیست‌سنجی بچه‌ماهیان مورد مطالعه در پایان دوره آزمایش، فاکتورهای مورد نظر اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همانطور که نتایج در جدول ۲ نشان می‌دهد بهبود فاکتورهای رشد در تیمارهای مورد استفاده از عصاره گاماروس مشاهده می‌شود ($p \leq 0.05$). در تیمارهای مورد استفاده از عصاره گاماریده همراه غذا نرخ رشد ویژه و درصد رشد اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p \leq 0.05$). همچنین ضریب تبدیل غذایی نیز به‌طور معنی‌داری در تیمارهای حاوی عصاره گاماریده نسبت به شاهد کمتر می‌باشد ($p \leq 0.05$) گرچه بین دو غلظت مورد بررسی

اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بازماندگی در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد بود و در طول بررسی مرگ و میری مشاهده نشد.

جدول ۲- شاخص‌های رشد و بازماندگی بچه‌ماهی کلمه خزری (*R. caspicus*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گاماریده طی ۸ هفته

فاکتورهای رشد	شاهد	۲۵:۱	۵۰:۱
وزن ابتدایی (گرم)	۴/۳۹ ± ۰/۱۱ ^a	۴/۳۸ ± ۰/۱۰ ^a	۴/۳۷ ± ۰/۱۳ ^a
وزن نهایی (گرم)	۸/۵۱ ± ۰/۳۱ ^a	۱۰/۹۳ ± ۰/۶ ^b	۱۰/۶۶ ± ۰/۹۶ ^b
رشد (/.)	۹۳/۸۸ ± ۳/۹۲ ^a	۱۴۹/۸۲ ± ۱۰/۲۶ ^b	۱۴۶/۹۲ ± ۱۴/۳۹ ^b
نرخ رشد ویژه	۰/۸۸ ± ۰/۰۵ ^a	۱/۲۱ ± ۰/۰۹ ^b	۱/۱۸ ± ۰/۱۳ ^b
ضریب تبدیل غذایی	۳/۴۲ ± ۰/۲۶ ^a	۲/۱۵ ± ۰/۱۱ ^b	۲/۲۹ ± ۰/۵۳ ^b
بازماندگی (/.)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* حروف لاتین متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0/05$).

نتایج بررسی و شمارش تعداد دانه‌های پلیت خورده شده در جدول ۳ حاکی از آن است که در ۱۵ دقیقه اول پس از غذادهی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای عصاره گاماریده و شاهد وجود داشت ($p < 0/05$) گرچه این اختلاف بین دو تیمار ۱:۲۵ و ۱:۵۰ معنی‌دار نبود ($p > 0/05$).

جدول ۳- مطبوعیت غذایی در بچه‌ماهی کلمه خزری (*R. caspicus*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گاماریده

تیمارها	مصرف غذا در هر بار غذا دهی (درصد)	
	۵ دقیقه	۱۵ دقیقه
شاهد	۸ ± ۲۸ ^a	۷ ± ۴۹ ^a
عصاره گاماریده ۱:۲۵	۵ ± ۴۵ ^b	۵ ± ۶۹ ^b
عصاره گاماریده ۱:۵۰	۸ ± ۵۹ ^b	۴ ± ۷۷ ^b

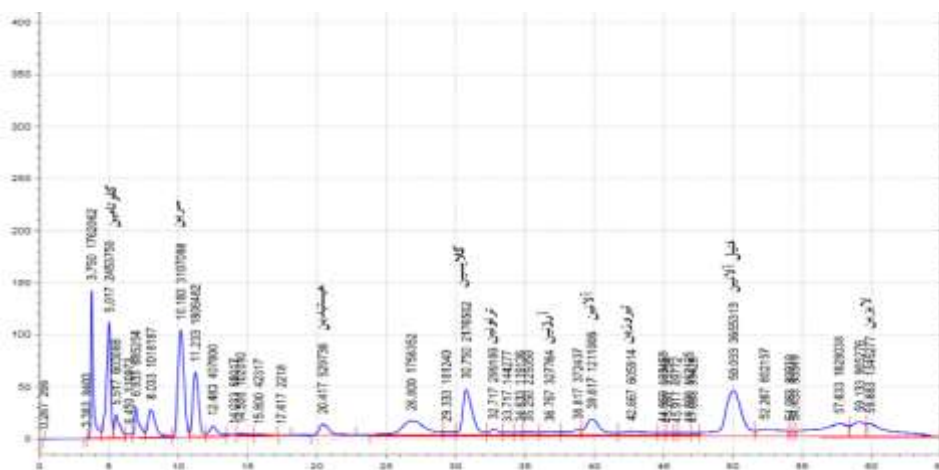
* حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($p < 0/05$).

در نتایج بررسی آنالیز گاماریده همانطور که جدول ۴ نشان می‌دهد پروتئین خام، چربی، رطوبت و خاکستر به ترتیب ۱۵/۵۷، ۱/۷، ۷۸/۶۷، ۶/۲۵ برآورد شده است.

جدول ۴- آنالیز *Pontogammarous meioticus* مورد استفاده جهت عصاره‌گیری.

ترکیبات تقریبی (درصد)	جیره غذایی
پروتئین خام	۱۵/۵۷
چربی خام	۱/۷
رطوبت	۷۸/۶۷
خاکستر	۶/۲۵

همانطور که نتیجه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در شکل ۱ نشان می‌دهد در عصاره گاماریده اسید آمینه‌های گلوتامین، سرین، هیستیدین، گلیسین، ترئونین، آرژنین، آلانین، تیروزین، فنیل آلانین و لایزین مشخص شده است. گرچه برآورد در این بررسی به صورت کیفی بوده اما اسید آمینه‌های فنیل آلانین، سرین، گلیسین، لایزین و آلانین با مساحت سطح زیر نمودار به ترتیب ۳۶۵۵۳۱۳، ۳۱۰۷۰۸۸، ۲۱۷۶۵۰۲، ۱۳۴۵۲۷۷، ۱۲۱۱۰۰۶ بیشترین مساحت زیر سطح نمودار را نشان دادند.



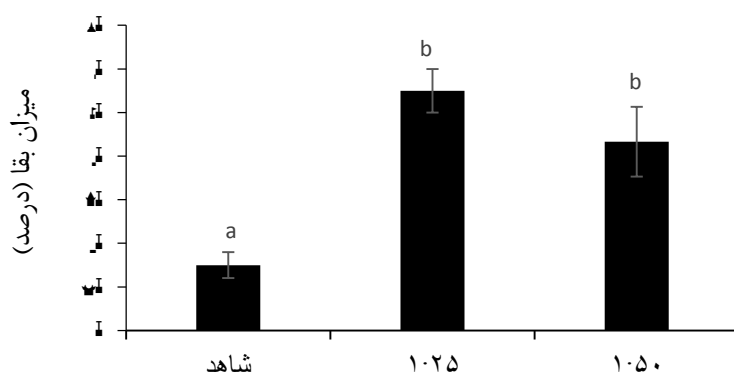
شکل ۱- پروفایل اسیدهای آمینه (منحنی کروماتوگرافی) عصاره گاماریده دریای خزر

در بررسی پروفایل اسیدهای چرب (جدول ۵) مشخص شده است که میزان اسیدچرب اشباع (SFA) ۳۴/۵۶ درصد، اسید چرب تک غیر اشباع (MUFA) ۴۶ درصد، میزان کل اسید چرب چند غیر اشباع (PUFA) حدود ۱۶ درصد است، که ۱۰/۶ درصد آن را امگا سه و ۵/۴ درصد آن را امگا شش با ۱/۶ آرشیدونیک اسید تشکیل داد.

جدول ۵ - پروفایل اسیدهای چرب عصاره گاماریده *Pontogammarous meoticus*

درصد	فرمول شیمیایی	درصد	فرمول شیمیایی
۰/۰۹	۳(n-۳):۱۸C	۳/۵۹	۰:۱۴C
۴/۰۶	۳(n-۵):۲۱C	۲۵/۷۹	۰:۱۶C
۰/۲	۳(n-۶):۲۲C	۴/۳۵	۰:۱۸C
۳/۷۲	۳(n-۳):۱۸C	۰/۸۳	۰:۲۴C
۱۰/۱۶	Total (n-3) PUFA	۳۴/۵۶	SFATotal
۳/۲	۶(n-۳):۱۸C	۰/۳۴	۵(n-۱):۱۴C
۰/۳۱	۶(n-۲):۱۸C	۱۳/۱۶	۷(n-۱):۱۶C
۰/۳۱	۶(n-۲):۲۰C	۳۰/۲۹	۹(n-۱):۱۸C
۱/۶۱	۴(n-۶):۲۰C	۲/۲۱	۹(n-۱):۲۰C
۵/۴۳	Total (n-6) PUFA	۴۶	Total MUFA
		۱/۲۳	۵(n-۱):۱۴C
		۰/۸۸	۷(n-۱):۱۶C
		۰/۴۲	۹(n-۱):۱۸C

طبق شکل ۲ نتایج چالش شوری نشان می‌دهد که در تیمار شاهد میزان بقا ۱۵ درصد بود، و بعد از ۷۲ ساعت اختلاف در میزان بقا بین تیمارهای تغذیه با عصاره گاماریده و شاهد معنی‌دار بوده است ($p < 0/05$). نتیجه این چالش نشان داد که تیمار غلظت ۱:۲۵ بالاترین درصد بازماندگی ۵۵ درصد بوده و با تیمار ۱:۵۰ با ۴۳ درصد بازماندگی، اختلاف معنی‌داری نداشت.



شکل ۲- میزان بقای بچه ماهی‌های کلمه خزری (*R. caspicus*) تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره گاماروس در مواجهه با تنش شوری

بحث و نتیجه‌گیری

تنوع چشایی در ماهیان نشان‌دهنده نقش مهم گیرنده‌های چشایی در انتخاب غذاست. سیستم درک چشایی و بویایی در گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است و از این‌رو استفاده از این دست مکمل‌ها باید با شناخت از عادات غذایی طبیعی و ساختار درک چشایی آنها صورت پذیرد (Kasumyan and Prokopova, 2001).

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود به‌نظر می‌رسد افزایش معنی‌داری فاکتورهای رشد متعاقب غذاگیری بیشتر و تحریک و افزایش اشتها باشد. این نتایج مشابه با تحقیقی است که نشان داده عصاره گاماریده سبب بهبود معنی‌دار عملکرد رشد فیل‌ماهی می‌گردد (Sudagar et al., 2011). همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بنظر می‌رسد افزایش میزان غذاگیری و تغذیه بیشتر در بهبود فاکتورهای رشد مؤثر بوده است. در مقایسه گونه‌های مختلف از ماهیان در ارتباط با تحریک گیرنده‌های چشایی با گروه‌های مختلف اسیدآمینه، مشخص شد اسیدهای آمینه آزاد از لحاظ کیفی نقش مهمی را در تحریک گیرنده‌های چشایی ماهی کلمه ایفا می‌کنند. در بررسی که کاسومیان و داویندژ (Kasumyan and Dovindg, 2003) روی اندیس مطلوبیت غذایی اسیدهای آمینه مختلف روی ۲۱ گونه ماهی مختلف انجام داد مشخص شد که ۸ اسیدآمینه از جمله آلانین، آرژنین، سرین، ترئونین، گلوتامین، تریپتوفان، تیروزین اثر تحریک چشایی بر ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) دارند.

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است بررسی پروفایل آمینو اسیدهای گاماریده مورد بررسی حاکی از حضور ۷ اسید آمینه از میان اسیدآمینه‌هایست که توانایی تحریک سیستم چشایی ماهی کلمه را داراست. از این‌رو نتایج غذاگیری در جدول ۳ نشان می‌دهد درصد مصرف غذا در تیمارهای غذایی همراه با عصاره به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بوده است. بررسی پروفایل اسید آمینه آمفی‌پود *Gammarus pseudolimnaeus* نیز حاکی از حضور تیروزین، آرژنین، گلوتامین و آلانین به‌ترتیب به میزان (۴/۳، ۷، ۹ و ۲۲/۱) میلی‌مول بر گرم در عصاره این موجود می‌باشد (Graney and Giesy, 1986). این در حالیست که تأثیر تحریک چشایی این اسیدهای آمینه برای همه گونه‌های ماهیان عمومیت ندارد به‌طوری‌که اندیکس مطبوعیت اسیدآمینه آرژنین برای کپور معمولی (۵۹/۸-) و آلانین برای کپور علفخوار (۴۹/۶-) می‌باشد (Kasumyan and Dovindg, 2003).

تفاوت در پاسخ چشایی ماهیان گونه‌های مختلف به اسیدهای آمینه مشابه را بعضی محققین به تفاوت‌های بین گونه‌ای در ترجیح چشایی نسبت به یک اسیدآمینه مشخص بیان نموده‌اند (et al., 2014). به‌طوری‌که بررسی‌ها نشان داده است که برای ماهی تیلاپیا حضور اسید آمینه‌های دیگری چون گلوتامیک اسید، آسپارتیک اسید، سرین، لیزین و آلانین موجود در عصاره کاهوی دریایی منجر به تحریک غذاگیری شده است (Kasumyan and Dovindg, 2003). همچنین گزارش شده است

که اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدهای موجود در عصاره میگو تأثیر در جذب غذای بیشتر برای قزل‌آلای رنگین‌کمان و ماهی آزاد اقیانوس اطلس دارد (Mearns *et al.*, 1987).

همانطور که پروفایل اسیدهای چرب گاماریده مورد بررسی (جدول ۵) نشان می‌دهد نسبت اسیدهای چرب امگا سه به امگا ۶ بیشتر از ۲ بوده است که این مسئله می‌تواند دارای اثرات مثبت بر سلامت موجود آبزی باشد. بررسی‌ها نشان داده که تغییر نسبت دکوزاهگزانوئیک اسید به ایکوزاپنتانوئیک اسید و آرشیدونیک اسید (DHA/EPA/ARA) می‌تواند افزایش مقاومت ماهیان را در برابر استرس‌های حاد به همراه داشته باشد (Koven *et al.*, 2003). کوون و همکاران (Koven *et al.*, 2001) در بررسی خویش نشان دادند که افزایش میزان غنی‌سازی روتیفرها و آرتمیا با آرشیدونیک اسید در تغذیه دوران لاروی شانک‌ماهی (*Sparus aurata*) باعث افزایش معنی‌دار بقای ماهیان در برابر استرس‌هایی چون تراکم و دستکاری می‌شود. در تأیید این فرضیه، مطالعات پیشین روی آزاد ماهیان اقیانوس اطلس *Salmo salar* نشان داده است که تغذیه با چربی حیوانی که نسبت اسید چرب امگا ۳ به امگا ۶ آن بیشتر است سبب فعالیت ماکروفاژی بیشتر و مقاومت بالاتری در برابر باکتری بیماری‌زای *Aeromonas salmonicida* می‌شود (Thompson *et al.*, 1996). به‌علاوه طبق جدول ۵ میزان آرشیدونیک اسید از اسیدهای چرب امگا ۶ نیز ۱/۶ بوده و از آنجایی که این اسید چرب پیش ساز ساخت پروستوگلاندین، لکوترین و لیپوکسین است در تنظیم ایمنی، افزایش مقاومت آبزی و بهبود کیفیت رشد آن بسیار مؤثر است. به‌طوری‌که بررسی‌ها، کاهش ایمنی ماهی‌های آزاد تغذیه شده با روغن گیاهی را ناشی از کاهش میزان آرشیدونیک اسید در مقایسه با ماهی‌های تغذیه شده با روغن جانوری دانسته‌اند (Gordon Bell and Sargent, 2003).

باید در نظر داشت که بررسی‌های سایر محققین حاکی از آن است که تأثیر اسیدهای آمینه آزاد و اسیدهای چرب بلند زنجیره‌ای در هر بار غذا دهی متأثر از آن است که به‌طور تازه در دسترس ماهی قرار گیرد (Thompson *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2007 & 2008). از اینرو در بررسی حاضر نیز عصاره‌ها دو ساعت قبل از غذا دهی اضافه شدند.

نتایج مقاومت ماهیان در برابر تنش شوری همانطور که در شکل ۲ دیده می‌شود، حدود ۵۵ درصد ماهی‌ها در تیمار تغذیه شده با عصاره تازه گاماریده با رقت ۱:۲۵ پس از ۷۲ ساعت زنده ماندند در حالی که این میزان در تیمار شاهد ۱۵ درصد بود. افزایش مقاومت در برابر تنش شوری می‌تواند ناشی از کیفیت بهتر بچه‌ماهی‌ها و نیز بهبود وضعیت سلامت ماهی‌ها باشد. به‌طوری‌که سالز و همکاران (Salze *et al.*, 2008) در بررسی تأثیر مکمل تغذیه‌ای مانان الیگوساکارید بر افزایش مقاومت لارو ماهی سوکلا در برابر تنش شوری، علت را تأثیر این مکمل بر افزایش کیفیت تغذیه بیان نمودند. اکرمی و همکاران

(Akrami *et al.*, 2010) نیز در بررسی مشابه، افزایش مقاومت ماهی کلمه را در برابر تنش شوری بعد از مصرف تغذیه‌ای پربیوتیک مانان الیگوساکارید، از اثر این مکمل بر فاکتورهای رشد نتیجه گرفتند. در مجموع نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از عصاره جانوران دریایی با آگاهی از مکانیزم عملکرد تحریک چشایی گونه مورد پرورش می‌تواند اثرات مطلوبی بر روی میزان غذاگیری و فاکتورهای رشد و افزایش مقاومت در برابر استرس شوری در پرورش گونه‌هایی با طبیعت وحشی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از حمایت سازمان تات، پژوهشکده آبی‌زی پروری آبهای داخلی و مؤسسه تحقیقات شیلات ایران و همچنین مساعدت‌های جناب دکتر دقیق روحی مسئول وقت ایستگاه تخصصی تغذیه و غذای زنده آبزیان تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- AOAC. 1990. Official Methods of Analyses, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc. Arlington VA. USA. Aquaculture, 181: 115–126.
- Akrami R., Barati M., Chitsaz M. 2010. Mannan oligosaccharide prebiotic effect on growth, body composition and Resistance to salinity stress in Caspian roach (*Rutilus rutilus*). Journal of Marine Biology, 11: 12-20. (In Persian).
- Correia A.D., Costa M.H., Luis O.J., Livingstone D.R. 2003. Age-related changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in whole body *Gammarus locusta* (Crustacean, Amphipoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 289: 83-101.
- Dabrowski K., 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms Status and Perspectives. CRC Press, USA. pp: 33-48.
- Darvish Bastami K., Sudagar M., Imanpour M.R., Taheri S.A. 2008. The effects of different levels of Daphnia and Artemia extract as attractant on feed intake and growth performance of Beluga (*Huso huso* Linnaeus 1758). Juvenile Iranian Scientific Fisheries Journal, 17: 35-45. (In Persian).
- Gordon Bell J., Sargent J.R. 2003. Nutrition Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture, 218: 491–499.
- Graney R.L., Giesy J.P. 1986. Effects of long-term exposure to pentachlorophenol on the free amino acid pool and energy reserves of the freshwater amphipod *Gammarus Pseudolimnaeus bousfield* (Crustacea, amphipoda). Ecotoxicology and Environmental Safety, 12: 233-251.
- Hoseinifar S.H., Khalili M., Khoshbavar Rostami H., Esteban A. 20013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and

- performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. Fish and Shellfish Immunology, 35: 1416-1420.
- Ishimaru Y., Okada S., Naito H., Toshitada N., Yasuoka A., Matsumoto I., Abe Keiko. 2005. Two families of candidate taste receptors in fishes. Mechanisms of Development, 122: 1310–1321.
- Kaivan Shokoh S., Kalbasi M. 2009. Genetic diversity of marine fish Iranian roach using RAPD markers. Modern Genetics, 4: 41-46.
- Kasumyan A.O. 2002. Taste Preference in Fish. Ichthyology, 41: 88-128.
- Kasumyan A.O., Doving K. 2003. Taste preferences in fishes. Fish and fisheries, 4:289–347.
- Kasumyan A.O., Nikolaeva E.V. 1997. Taste preferences in the Guppy *Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes). Journal of Ichthyology, 37: 696-703.
- Kasumyan A.O., Prokopova O.M. 2001. Taste preferences and the dynamics of behavioral taste response in the Tench *Tinca tinca* (Cyprinidae). Journal of Ichthyology, 41: 640–653.
- Kopruclu K., Ozdemir Y. 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 250: 308-316.
- Koven W., Anholt R.V., Barr Y., Lutzky S., Ben-Atia I., Nixon O., Ron B., Tandler A. 2003. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture, 228: 307– 320.
- Koven W., Barr Y., Lutzky S., Ben-Atia I., Weiss R., Harel M., Behrens P., Tandler A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture, 193: 107-122.
- Li P., Mai K., Trushenski J., Wu G. 2008. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeed. Amino Acids, 37: 43-53.
- Li P., Yin Y., Li D., Kim W.K., Wu G. 2007. Amino acids and immune function. British Journal of Nutrition, 98: 237–252.
- Mearns K.J., Ellingsen O.F., Doving K.B., Helmer S. 1987. Feeding behaviour in adult rainbow trout and Atlantic salmon parr, elicited by chemical fractions and mixture of compounds identified in shrimp extract. Aquaculture, 64: 47-63.
- Nouri G., Jafari V., Ghorbani R., Goli S.h. 2014. White fish taste preference and behavior using different concentrations of free amino acids. Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources, 67: 123-136. (In Persian).
- Piri, H. 2010. Reviews breeding roach (*Rutilus rutilus caspicus*) in earthen ponds with fresh and brackish waters. Fisheries Research Project Organization, 120P. (In Persian).

- Salze G., Mclean E., Schwarz M.H. and Craig S.R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture*, 174: 148-152.
- Soleimani N, Hoseinifar S.H, Merrifield D.L., Barati M., Abadi Z.H. 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish and Shellfish Immunology*, 32: 316-21.
- Sudagar M., Salehi M., Keivanloo V.S. 2013. Effects of Goldfish (*Carassius auratus*) and Roach (*Rutilus rutilus*) extracts on the growth indexes and survival rate of Beluga (*Huso huso* Linnaeus 1758) fingerlings. *Scientific Journal of Animal Science*, 2: 234-241. (In Persian).
- Sudagar M., Keivanloo S., Baghaei F. 2011. Effects of gammarus extracts on food acceptability, growth and survival rate of juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Journal of Animal Environment*, 4:13-20. (In Persian).
- Thompson K.D., Tantner M.F., Henderson R.J. 1996. Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Nutrition*, 2: 21-31.
- Velez S., Hubbard J., Hardege E. 2007. The contribution of amino acids to the odour of a prey species in the Senegalese sole (*Solea solea*). *Aquaculture*, 265: 336-342.
- Wahli T.,verlhae V.,Girling P.,Gabaudan J., Abescher C. 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 225: 371-386.
- Wang X., kim K.W., Bai S.C., Huh M.D., Cho B.Y. 2003.effect of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 215: 203-211.
- Yavari L., Shabanpoor N., Heidari B. 2010. The optimum conditions for reproduction and growth of the Caspian Sea Gammarus (*Pontogammarous meoticus*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19: 141-50. (In Persian).

