

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم دریایی

گروه شیلات

پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات

عنوان:

تاثیر غنی سازی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با روغن های ماهی و سویا همراه با ویتامین E بر رشد، ترکیب اسید چرب، برخی آنزیم ها و مقاومت به استرس در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

نگارنده

مهدي نادري كوشك

استاد راهنما

دکتر عبدالمحمد عابدیان کناری

آبان ۱۳۹۲

## آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان‌نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می‌باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان‌نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می‌باشد.

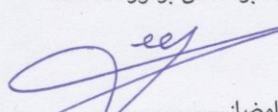
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته‌ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب، به نام و به نمایندگی از دانشجو، دانشکده علوم ریاضی، متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آئین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته‌های علمی مستخرج از پایان‌نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین‌نامه فوق‌الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:   
تاریخ: ۹۲/۸/۱۵

### آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته شیلات است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر عبدالمحمد عابدیان کناری، مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر و مشاوره سرکار خانم/جناب آقای دکتر

از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

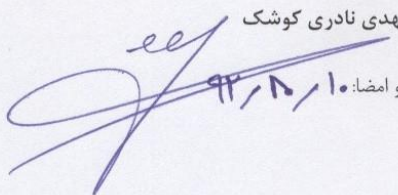
ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب مهدی نادری کوشک دانشجوی رشته شیلات مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: مهدی نادری کوشک

تاریخ و امضا: ۹۳/۱۰/۱۰





بسمه تعالی

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه

بدین وسیله گواهی می‌شود آقای مهدی نادری کوشک در تاریخ ۹۲/۸/۱ از پایان نامه ۶ واحدی خود با عنوان: تأثیر غنی‌سازی آرتیما فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با روغنهای ماهی و سویا همراه با ویتامین E بر رشد، ترکیب اسید چرب، برخی آنزیم‌ها و مقاومت به استرس در لارو تاسماهی‌ایرانی (*Acipenser persicus*)، دفاع کرده است. اعضای هیأت داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا بررسی کرده و پذیرش آن را برای دریافت درجه کارشناسی ارشد تأیید می‌نمایند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتر عبدالمحمد عابدیان	دانشیار	
استاد ناظر	دکتر محمدرضا کلباسی	استاد	
استاد ناظر (خارجی)	دکتر بهرام فلاحتکار	دانشیار	
استاد ناظر (داخلی)	دکتر مسعود رضایی	استاد	
نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر محمدرضا کلباسی	استاد	

همراه با یک دنیا سپاس و عشق تقدیم به:

مادرم، آنکه آفتاب مهرش در آستانه قلمم، همچنان پا

بر جاست و هرگز غروب نخواهد کرد

پدرم کوهی استوار و حامی من در طول تمام زندگی

و همسرم به پاس محبت و حمایت های بی دریغش.

## تقدیر و سپاس

الهی خلق تو شکر نعمت‌های تو کنند، من شکر بودن تو کنم، نعمت بودن توست.

شکر شایان نثار ایزدمنان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پژوهش را به پایان برسانم.

پس از حمد و سپاس خداوند متعال بر خود لازم می دانم از آموزگار یگانه و استاد فرزانه جناب آقای دکتر عبدالمحمد عابدیان کناری که با صبوری خود زحمت راهنمایی پایان نامه اینجانب را بر عهده گرفتند و بیش از آنچه بر عهده ایشان بود بنده را یاری نمودند، نهایت تشکر و قدردانی را به عمل آورم و از خداوند منان آرزوی توفیق روزافزون برای ایشان مسئلت دارم.

از جناب آقایان دکتر محمدرضا کلباسی، دکتر مسعود رضایی و دکتر بهرام فلاحتکار که با دقت و حوصله فراوان پایان نامه اینجانب را داوری نمودند، سپاسگزارم.

از جناب آقای دکتر محمدرضا کلباسی به عنوان نماینده تحصیلات تکمیلی نیز نهایت قدردانی را به عمل می آورم.

از سرکار خانم حقدوست و آقایان مهندس کمالی، بور، حسینی و نورانی مسئولین محترم آزمایشگاه تشکر و قدردانی می کنم.

از سازمان شیلات ایران، اداره کل شیلات استان مازندران و مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری که مرا در تهیه نمونه یاری نمودند، نهایت سپاسگزاری را دارم.

به رسم ادب از جناب آقایان دکتر صابر خدابنده و دکتر محمود قاسمپوری که در بهار نشستن این اثر مرا یاری نمودند، تشکر فراوان را دارم.

با سپاس بیکران از زحمات دوستان عزیز و بزرگوaram آقایان مهندس ستوده، عبدالهی، لطفی زاده، خسرویانی، شیردل، قوسی، اسماعیلی، حاتمی و خانم‌ها بابایی، حسن آبادی، خواجوی، ملک پور، عموزاد، اولیایی، بهارلویی، صالح پور، طهماسبی، کاظمی، عاطف، دانشگر و تمامی دوستانی که مرا در انجام این تحقیق یاری نمودند.

از هم‌اتاقی‌های عزیز و هم‌کلاسی‌های مهربانم که در این دو سال اوقات خوشی را با آنان سپری کردم صمیمانه سپاسگزارم و در پایان از تمامی دوستان خوبم که ذکر نامشان در این مقدور نمی‌گنجد تشکر و قدردانی می کنم.

مهدی نادری کوشک

## چکیده

در این تحقیق جهت بهبود رشد و مقاومت لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) از آرتمیای غنی‌شده با روغن ماهی و سویا همراه با ویتامین E استفاده شد. پنج تیمار مختلف غذائی شامل دو تیمار غنی‌شده با روغن ماهی مخلوط با ۱۵ یا ۳۰ درصد ویتامین E، دو تیمار غنی‌شده با روغن سویا مخلوط با ۱۵ یا ۳۰ درصد ویتامین E و آرتمیای غنی‌نشده (گروه شاهد) به مدت ۱۷ روز استفاده شدند. تغذیه لاروهای تاسماهی ایرانی در روز دهم پس از تفریح شروع شد. لاروها در ۵ روز ابتدایی آزمایش با آرتمیای غنی‌نشده تغذیه و سپس با تیمارهای غذایی مورد اشاره تغذیه شدند. نتایج نشان داد که لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی‌شده با روغن‌ها و ویتامین E در مقایسه با تیمار شاهد از نظر رشد و بازماندگی اختلاف معناداری نداشت ولی افزایش میزان ویتامین E از ۱۵ به ۳۰٪ رشد و مقاومت به استرس شوری را در لاروها بهبود بخشید. لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی‌شده از روغن سویا و ویتامین E (S15 و S30) بیشترین میزان ویتامین E بدن را نشان دادند. بیشترین میزان HUFA و نسبت n-3/n-6 در لاروهای تغذیه شده با روغن ماهی و ویتامین E (F15 و F30) مشاهده شد. فعالیت اختصاصی آنزیم لیپاز در لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی‌شده نسبت به گروه شاهد افزایش معناداری را نشان داد. بنابراین مشخص گردید که تاسماهی ایرانی توانایی استفاده از چربی‌ها را در مرحله لاروی دارد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمار شاهد و لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی‌شده از روغن ماهی و ویتامین E (F15 و F30) بالاتر بود. بیشترین مقدار تیوباربیتوریک اسید نیز در تیمار شاهد که با آرتمیای غنی‌نشده تغذیه شده بودند، مشاهده گردید. در نتیجه در غنی‌سازی آرتمیای روغن ماهی می‌تواند به طور کامل با روغن سویا جایگزین شود. همچنین اضافه کردن ویتامین E به روغن‌های ماهی و سویا جهت غنی‌سازی آرتمیای می‌تواند اکسیداسیون روغن‌ها را کاهش دهد و برای سلامتی و کیفیت لارو مفید باشد.

**کلمات کلیدی:** تاسماهی ایرانی، رشد، غنی‌سازی، آرتمیای، روغن، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین E.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	<b>فصل اول: مقدمه و کلیات</b>
۱	۱-۱ مقدمه
۸	۲-۱ کلیات
۸	۱-۲-۱ چربی‌ها و اسیدهای چرب
۹	۱-۱-۲-۱ شیمی اسیدهای چرب
۹	۲-۱-۲-۱ بیوسنتز اسیدهای چرب
۱۰	۳-۱-۲-۱ عملکرد اسیدهای چرب
۱۲	۲-۲-۱ آنزیم‌ها
۱۳	۱-۲-۲-۱ لیپاز
۱۴	۳-۲-۱ ویتامین E
۱۵	۱-۳-۲-۱ برهم‌کنش ویتامین E با چربی‌ها و اسیدهای چرب جیره
۱۶	۴-۲-۱ اکسیداسیون چربی‌ها در بدن ماهی
۱۷	۱-۴-۲-۱ اکسیداسیون با اکسیژن یگانه
۱۷	۲-۴-۲-۱ عوامل مؤثر در اکسیداسیون چربی‌ها
۱۸	۵-۲-۱ دفاع آنتی‌اکسیدانی
۱۹	۱-۵-۲-۱ عملکرد آنتی‌اکسیدانی ویتامین E
۲۰	۲-۵-۲-۱ احیای آلفا-توکوفرول از رادیکال tocopheroxyl
۲۰	۶-۲-۱ علائم کمبود ویتامین E در ماهیان
۲۱	۷-۲-۱ مقدار نیاز به ویتامین E در ماهیان
۲۳	۸-۲-۱ نقش ویتامین E در پاسخ ایمنی و جلوگیری از بیماری
	<b>فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده</b>
۲۴	۱-۲ نوع روغن جیره
۲۶	۲-۲ آنزیم گوارشی لیپاز

- ۲۷ ۳-۲ اسیدهای چرب ضروری
- ۲۹ ۴-۲ ویتامین E
- ۳۲ ۵-۲ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

### فصل سوم: مواد و روشها

- ۳۶ ۱-۳ مواد و وسایل آزمایشگاهی مورد نیاز
- ۳۶ ۱-۱-۳ دستگاه، وسایل و لوازم غیرمصرفی آزمایشگاهی
- ۳۷ ۲-۱-۳ مواد و لوازم مصرفی آزمایشگاهی
- ۳۸ ۲-۳ روشها
- ۳۸ ۱-۲-۳ محل اجرای آزمایش
- ۳۸ ۲-۲-۳ آماده سازی مخازن پرورش لارو
- ۳۸ ۳-۲-۳ پرورش لاروها
- ۳۹ ۴-۲-۳ کنترل کیفیت آب و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آن
- ۳۹ ۵-۲-۳ کشت و غنی‌سازی آرتمیا
- ۴۰ ۶-۲-۳ زیست‌سنجی و نمونه‌برداری از لاروها
- ۴۱ ۷-۲-۳ سنجش شاخص‌های رشد
- ۴۲ ۸-۲-۳ تست‌های استرس
- ۴۲ ۹-۲-۳ سنجش میزان ویتامین E
- ۴۳ ۱۰-۲-۳ تعیین ترکیب اسیدهای چرب
- ۴۳ ۱-۱۰-۲-۳ استخراج چربی
- ۴۴ ۲-۱۰-۲-۳ استری کردن چربی
- ۴۴ ۳-۱۰-۲-۳ شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه
- ۴۴ ۱۱-۲-۳ استخراج عصاره آنزیمی جهت سنجش آنزیم گوارشی لیپاز
- ۴۵ ۱۲-۲-۳ استخراج عصاره آنزیمی جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
- ۴۵ ۱۳-۲-۳ سنجش غلظت پروتئین محلول دستگاه گوارش و بافت ماهیچه
- ۴۷ ۱۴-۲-۳ سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم گوارشی لیپاز
- ۴۸ ۱۵-۲-۳ سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم کاتالاز

- ۴۹ ۱۶-۲-۳ سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم سوپراکسید دسموتاز
- ۵۱ ۱۷-۲-۳ سنجش فعالیت اختصاصی آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفراز
- ۵۱ ۱۸-۲-۳ اندازه‌گیری مقدار تیوباربیتوریک اسید
- ۵۲ ۱۹-۲-۳ تجزیه و تحلیل آماری

#### فصل چهارم: نتایج و بحث

- ۵۳ ۱-۴ شاخص‌های رشد
- ۵۸ ۲-۴ مقاومت به استرس
- ۵۸ ۱-۲-۴ استرس شوری
- ۵۸ ۲-۲-۴ استرس در معرض‌گذاری هوا
- ۶۲ ۳-۴ سنجش میزان ویتامین E
- ۶۳ ۴-۴ ترکیب اسید چرب
- ۶۳ ۱-۴-۴ ترکیب اسید چرب در تیمارهای مختلف آرتمیا
- ۶۶ ۲-۴-۴ ترکیب اسید چرب لارو تاسماهی ایرانی
- ۷۱ ۵-۴ فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز
- ۷۲ ۶-۴ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی
- ۷۳ ۷-۴ تعیین مقدار تیوباربیتوریک اسید (TBA)

#### فصل پنجم: نتیجه‌گیری و پیشنهادها

- ۷۹ ۱-۵ نتیجه‌گیری کلی
- ۸۰ ۲-۵ آزمون فرضیه‌ها
- ۸۱ ۳-۵ پیشنهادها
- ۸۱ ۱-۳-۵ پیشنهادهای مستخرج از پایان نامه
- ۸۲ ۲-۳-۵ پیشنهادهای پژوهشی

۸۳

منابع

## فهرست جدول‌ها

- جدول ۱-۱ مقدار موردنیاز ویتامین E اندازه‌گیری شده در گونه‌های مختلف ماهیان ..... ۲۲
- جدول ۱-۳ غلظت‌های مختلف آل‌بومین سرم‌گاو (BSA) جهت رسم منحنی استاندارد پروتئین محلول ..... ۴۶
- جدول ۱-۴ نتایج تجزیه واریانس دوطرفه شاخص‌های رشد لارو تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۵۴
- جدول ۲-۴ نتایج شاخص‌های رشد لارو تاسماهی ایرانی تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۵۴
- جدول ۳-۴ نتایج تجزیه واریانس دوطرفه مقاومت به استرس‌ها در لارو تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۵۹
- جدول ۴-۴ میزان ویتامین E در تیمارهای مختلف آرتمیا و لاروهای تاسماهی ایرانی تغذیه شده با این تیمارها ..... ۶۲
- جدول ۵-۴ نتایج تجزیه واریانس دوطرفه مجموع اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۶۴
- جدول ۶-۴ ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۶۵
- جدول ۷-۴ نتایج تجزیه واریانس دوطرفه مجموع اسیدهای چرب در لاروهای تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۶۷
- جدول ۸-۴ ترکیب اسیدهای چرب لاروهای تاسماهی ایرانی تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۶۷
- جدول ۹-۴ نتایج تجزیه واریانس دوطرفه برای فعالیت اختصاصی آنزیم گوارشی لیپاز و آنزیم‌های
- آنتی‌اکسیدانی و مقدار TBA در لاروهای تاسماهی ایرانی تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا .. ۷۳

## فهرست نمودارها

- نمودار ۱-۳ منحنی استاندارد ویتامین E جهت سنجش میزان ویتامین E لارو تاسماهی ایرانی ..... ۴۳
- نمودار ۲-۳ منحنی استاندارد پروتئین محلول جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول
- عصاره آنزیمی دستگاه گوارش و بافت ماهیچه لارو تاسماهی ایرانی ..... ۴۶
- نمودار ۱-۴ درصد بازماندگی لارو تاسماهی ایرانی در شوری ppt ۱۲ ..... ۵۹
- نمودار ۲-۴ درصد بازماندگی لارو تاسماهی ایرانی در زمان استرس در معرض گذاری هوا ..... ۶۰
- نمودار ۳-۴ فعالیت اختصاصی آنزیم گوارشی لیپاز در لاروهای تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۷۱
- نمودار ۴-۴ فعالیت اختصاصی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت ماهیچه لاروهای تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۷۵
- نمودار ۵-۴ مقدار تیوباربیتوریک اسید TBA در لاروهای تاسماهی ایرانی
- تغذیه شده با تیمارهای مختلف آرتمیا ..... ۷۵

## فهرست شکل‌ها

- شکل ۱-۱ مسیر شماتیک سنتز اسیدهای چرب چند غیراشباع C20 و C22
- از پیش‌سازهای C18 سری n-3 ، n-6 و n-9 ..... ۱۰
- شکل ۱-۲ ساختمان توکوفرول‌ها ..... ۱۴
- شکل ۱-۳ اتو-اکسیداسیون چربی‌ها ..... ۱۶
- شکل ۱-۴ مکانیسم واکنش آلفا-توکوفرول با چربی‌های اکسید شده ..... ۱۹

# فصل اول

## مقدمه و کلیات

## ۱-۱ مقدمه

در سالهای اخیر توجه ویژه‌ای به صنعت آبی‌پروری و توسعه پرورش گونه‌های جدید در ایران شده است که در این میان تاسماهیان به دلیل قدرت سازگاری اکولوژیک زیاد، توانایی همزیستی با ماهیان استخوانی و توانایی استفاده از بیوتوپ‌های گوناگون (Chebanov و همکاران، ۲۰۰۱) از لحاظ پرورش به شکل سودمندی می‌توانند در صنعت آبی‌پروری وارد و توسعه یابند. ایران به دلیل داشتن وضعیت مناسب اقلیمی و برخورداری از پنج گونه ماهیان خاویاری از موقعیت بسیار مناسبی جهت آغاز پرورش گوشتی و تولید خاویار تاسماهیان برخوردار است.

ماهیان خاویاری دریای خزر که از گونه‌های قدیمی نیمکره شمالی محسوب می‌شوند دارای ارزش زیستی و اقتصادی ویژه‌ای هستند. یکی از گونه‌های باارزش بومی در سواحل جنوبی دریای خزر، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) می‌باشد. این ماهی هم جهت استفاده از گوشت و هم خاویار صید می‌شود. بر هیچ‌کس پوشیده نیست که ذخایر این ماهیان به دلایلی نظیر صید بی‌رویه، آلودگی‌های زیست‌محیطی و ورود فاضلاب‌های شهری به رودخانه‌ها، از بین رفتن زیستگاهها و مناطق تخم‌ریزی، موانع موجود بر سر راه مهاجرت این ماهیان به مناطق تولیدمثل طبیعی نظیر سدهای احداث شده در مسیر رودخانه‌ها و همچنین حضور صیادان سودجو که اقدام به گستردن دام در مسیر مهاجرت می‌نمایند، در حال کاهش بوده و بسیاری از آن‌ها در فهرست ماهیان در معرض خطر<sup>۱</sup> اتحادیه بین‌المللی حفاظت از طبیعت IUCN<sup>۲</sup> قرار دارند (IUCN، ۲۰۱۲).

<sup>۱</sup> Critically endangered

<sup>۲</sup> The International Union for Conservation of Nature

بدین سبب توجه بسیاری از دولت‌ها و سازمان‌های مختلف به امر حفاظت و حراست از این گونه‌های ارزشمند معطوف گشته و توجه ویژه‌ای به امر تکثیر و پرورش آن‌ها و درک نکات گوناگون در این مقوله شده است. مهمترین اقدام در جهت حفظ این آبزیان، تکثیر مصنوعی و رهاسازی بچه ماهیان است. در این راستا به منظور بازسازی ذخایر این ماهیان چندین مرکز تکثیر مصنوعی در ایران مشغول تولید این ماهیان هستند و سالانه میلیون‌ها بچه‌ماهی در دریا رهاسازی می‌شود. در حال حاضر تاسماهی ایرانی به دلیل وجود ذخایر و مولدین قابل دسترس، در مراکز تکثیر بیشتر مورد استفاده قرار گرفته و عمده بچه‌ماهیان خاویاری رهاسازی شده از این گونه می‌باشد.

یکی از مشکلات پرورش این ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش، وابستگی بالای آن‌ها به غذای زنده و تلفات ناشی از استفاده از جیره خشک در مراحل ابتدایی زندگی می‌باشد. بازماندگی و رشد بالا در این مرحله می‌تواند بازماندگی و رشد در مراحل بالاتر را تحت تأثیر قرار دهد. مرحله لاروی یکی از مراحل حیاتی ماهی محسوب می‌شود که به علت عبور از مرحله تغذیه داخلی (کیسه زرده) به یک منبع غذایی خارجی با مرگ و میر زیادی همراه است. مهمترین مسئله در دوره لاروی، فراهم کردن غذایی با کیفیت بالاست. غذاهای زنده شامل فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها به عنوان یک منبع غذایی مهم در تغذیه اولیه لارو ماهیان کاربرد دارند (Dehert و همکاران، ۲۰۰۱).

درک نیازهای تغذیه‌ای لاروهای اولیه ماهیان خاویاری مخصوصاً اسیدهای چرب ضروری برای موفقیت در تولید انبوه آن‌ها مهم است اما اطلاعات درباره‌ی نیازهای تغذیه‌ای آن‌ها ناکافی می‌باشد. چربی یکی از مهمترین نیازهای غذایی ماهیان بوده که دارای کارکردهای مختلفی در بدن آبزیان می‌باشد. در جیره آبزیان استفاده از چربیها به منظور تامین انرژی، جذب غذا، رشد، تشکیل غشای سلولی، تکثیر سلول، ایمنی و تامین اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (HUFA) از ترکیبات فسفولیپیدی غشای سلولی بوده و در تنظیم و کنترل اعمال فیزیولوژیک

و نیز اعمال سلولی نقش دارند و همچنین<sup>1</sup> DHA مهمترین تشکیل دهنده بافت عصبی است (Sargent و همکاران، ۱۹۹۷؛ Furuita و همکاران، ۱۹۹۹؛ Castell و همکاران، ۲۰۰۳).

تعدادی از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره مانند آراشیدونیک اسید،<sup>2</sup> EPA و DHA نقش ساختاری در مراحل اندامزایی دارند به عنوان مثال در غشای سلولها (سلولهای ماهیچه، مغز و شبکه چشم) مورد استفاده قرار می‌گیرند و پیش‌ساز مولکولهای فعال فیزیولوژیک مثل ایکوزانوئیدها<sup>3</sup> می‌باشند (Sargent، ۱۹۹۵). ترکیب اسید چرب بدن ماهی در تمام دوره زندگی وابسته به محتوای اسید چرب غذای مصرفی است (Sargent و همکاران، ۲۰۰۲). در واقع، غذا مهمترین عامل محیطی است که ترکیب اسیدهای چرب را در ماهی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Millamena، ۱۹۹۶). منابع مختلف چربی جیره، موجب تغییرات معنادار در ترکیب اسید چرب بافت ماهی می‌شود. تاسماهی آدریاتیک<sup>4</sup> تغذیه شده با روغن ماهی، مقدار بیشتری از اسیدهای چرب چند غیراشباع n-3 را در کبد، ماهیچه و قلب نسبت به آنهایی که از روغن نارگیل تغذیه کرده بودند، ذخیره کرده بود (Agnisola و همکاران، ۱۹۹۶؛ Mckenzie و همکاران، ۱۹۹۷).

تاسماهیان هم به اسیدهای چرب سری n-6 و هم به اسیدهای چرب سری n-3 نیاز داشته و توانایی غیراشباع‌سازی اسیدهای چرب لینولئیک و آلفا-لینولئیک و طول‌سازی آنها به آراشیدونیک اسید، EPA و DHA را دارا می‌باشند. بنابراین  $\Delta 6$ -desaturase ممکن است در متابولیسم اسید چرب ماهیان خاویاری محدودکننده نباشد (Xu و همکاران، ۱۹۹۳، ۱۹۹۶؛ Deng، ۱۹۹۶؛ Deng و همکاران، ۱۹۹۸؛ Sener و همکاران، ۲۰۰۵).

روغن ماهی از لحاظ اسیدهای چرب n-3 غنی بوده و حاوی EPA و DHA که از نیازهای اصلی دوره لاروی ماهیان هستند می‌باشد و به واسطه داشتن اسیدهای چرب غیراشباع، امکان اکسیداسیون آن زیاد است که برای کاهش سرعت اکسیداسیون، استفاده از انواع آنتی‌اکسیدانها به عنوان یکی از

<sup>1</sup> Docosahexaenoic acid

<sup>2</sup> Eicosapentaenoic acid

<sup>3</sup> Eicosanoids

<sup>4</sup> *Acipenser naccarii*



شيوه‌های مناسب معرفی شده است. روغن‌های گیاهی از لحاظ اسیدهای چرب n-6 غنی بوده ولی فاقد اسیدهای چرب n-3 نظیر EPA و DHA هستند و قاعدتاً اکسیداسیون آن‌ها نسبت به روغن ماهی کمتر است (Hosseini و همکاران، ۲۰۱۰b).

برای افزایش رشد، بازماندگی و کیفیت لارو ماهیان دریایی اجتناب از مشکلات اکسیداسیون چربی که به عنوان عامل آسیب‌ها و بیماری‌ها شناخته می‌شوند، مهم می‌باشد. اکسیداسیون چربی به ویژه اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) بسیار زیان‌آور می‌باشد زیرا به غشاهای سلولی آسیب می‌رساند. محتوا و ترکیب PUFA چربی بافت و میزان ویتامین E آن، فاکتورهای مهم در اکسیداسیون چربی هستند.

در حال حاضر عمده چربی جیره غذایی آبزیان از روغن ماهیان صید شده از منابع دریایی تامین می‌گردد. توسعه صنعت آبزی‌پروری و گسترش تولید خوراکی‌های پرانرژی، همچنین استفاده از روغن ماهی در جیره دام، طیور و آبزیان موجب کاهش دسترسی و افزایش قیمت آن شده است (Opsahl-Ferstad و همکاران، ۲۰۰۳). همچنین صید بی‌رویه، آلودگی و پدیده‌هایی نظیر El Nino تامین ماده خام جهت تهیه روغن ماهی را غیرقابل پیش‌بینی کرده است (Caballero و همکاران، ۲۰۰۲؛ Rennie و همکاران، ۲۰۰۵).

بنابراین با توجه به گسترش روزافزون صنعت آبزی‌پروری و محدود بودن منابع تامین روغن ماهی، لزوم پیدا کردن منبعی مناسب و پایدار جهت جایگزینی آن شدیداً احساس می‌شود که برای این منظور می‌توان از منابع روغنی گیاهی، به دلیل ارزان بودن، دسترسی آسان و همچنین فراوانی بیشتر آن‌ها در مقایسه با روغن ماهی استفاده نمود (Izquierdo و همکاران، ۲۰۰۳؛ Figueiredo-Silva و همکاران، ۲۰۰۵؛ Rennie و همکاران، ۲۰۰۵). البته لازم به ذکر است که جایگزینی کامل روغن ماهی مورد استفاده در جیره ماهیان با روغن‌های گیاهی منوط به توانایی آن‌ها در بیوسنتز

آراشیدونیک اسید، EPA و DHA از طریق غیراشباع سازی (اشباع زدایی<sup>۱</sup>) و طولی سازی<sup>۲</sup> پیش سازهایی چون اسیدهای چرب لینولئیک و آلفا-لینولئیک است.

برخی از روغن های گیاهی مانند سویا و کلزا به دلیل داشتن اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) به خصوص لینولئیک (18:2n-6) و لینولنیک (18:3n-3) و همچنین به دلیل غنی بودن از اسید اولئیک (18:1n-9)، جایگزینی مناسب برای روغن ماهی در جیره آبزیان می باشند (Bell و همکاران، ۲۰۰۳؛ Regost و همکاران، ۲۰۰۴؛ Imanpoor و همکاران، ۲۰۱۱).

به طور کلی اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع به دلیل داشتن رادیکال های آزاد بیشتر نسبت به اسیدهای چرب کوتاه زنجیره مستعد اکسیداسیون می باشند. آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین E با دادن یک اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تشکیل شده از گسترش واکنش های زنجیره ای اکسیداسیون جلوگیری می کنند (فاطمی، ۱۳۸۴).

ویتامین E در طبیعت به ۸ فرم مختلف شامل  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ،  $\delta$ ، توکوفرول و  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ، ویتامین E در طبیعت به ۸ فرم مختلف شامل  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ،  $\delta$ ، توکوفرول و  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ،  $\delta$ -توکوترینول وجود دارد. از این ۸ فرم از ویتامین E فرم  $\alpha$ -توکوفرول بالاترین فعالیت بیولوژیک را دارد (Hamre، ۲۰۱۱). ویتامین E یک ماده مغذی ضروری برای حفظ کیفیت گوشت، ایمنی، مقاومت طبیعی گلبول های قرمز خون به همولیز، تراوایی یا نفوذپذیری مویرگ ها و ماهیچه های قلب است (Halver و Hardy، ۲۰۰۲). این ویتامین به عنوان یک آنتی اکسیدان محلول در چربی عمل کرده، موجب حفاظت از غشای سلول ها، لیپوپروتئین ها و چربی ها در مقابل شرایط اکسیداسیون می گردد (Sargent و همکاران، ۱۹۹۷؛ Sau و همکاران، ۲۰۰۴).

نیاز به ویتامین E در گونه های مختلف ماهیان محدوده ای از ۲۵ تا ۱۲۰ میلی گرم all-rac- $\alpha$ -TOAc<sup>۳</sup> در کیلوگرم جیره خشک دارد و مقدار مورد نیاز اندازه گیری شده در گونه های مشابه، ممکن است به طور قابل ملاحظه ای تغییر کند (Hamre، ۲۰۱۱). Chaiyapechara و همکاران (۲۰۰۳)

<sup>1</sup> Desaturation

<sup>2</sup> Elongation

<sup>3</sup> all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate

مقدار ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی گرم ویتامین E را برای حصول نتیجه مناسب در هر کیلو جیره آبزیان توصیه کردند اما نیاز دقیق به این آنتی‌اکسیدان در جیره به مقدار و نوع چربی جیره، به ویژه سهم اسیدهای چرب چند غیراشباع موجود در آن بستگی دارد (Kiron و همکاران، ۲۰۰۴). از آنجاییکه ترکیب بدن متأثر از ترکیبات جیره است (Bell و همکاران، ۲۰۰۱)، لذا وجود آنتی‌اکسیدان در جیره، موجب افزایش غلظت آن در بدن آبزی می‌گردد.

از ناپلی آرتمیا به عنوان غذای زنده برای لارو سخت پوستان و ماهیان در آبزی‌پروری دریایی و آب شیرین به طور گسترده استفاده می‌شود. لارو چندین گونه از ماهیان دریایی مانند سیم، باس و ماهیان پهن بعد از هفته اول که از یک طعمه کوچکتر مانند روتیفر<sup>۱</sup> استفاده می‌کنند، با آرتمیا تغذیه می‌شوند. در مقایسه با لارو سخت‌پوستان، لارو ماهیان دریایی برای مدت طولانی‌تری مثلاً ۲۰ تا ۴۰ روز با آرتمیا پرورش داده می‌شوند. آرتمیا به شکل زنده یا منجمد اغلب به عنوان یک غذای انتقالی برای نوزاد<sup>۲</sup> ماهیان، وقتی که رژیم غذایی از غذای زنده به غذای بیجان (خشک)<sup>۳</sup> تغییر می‌کند، بکار می‌رود.

غذاهای لاروهای تاسماهی ایرانی که غذاهای مصنوعی را به سختی می‌پذیرند با آرتمیا به عنوان اولین غذا در تفریح‌گاه ضروری است و یک غذای مناسب برای تولید و پرورش لارو آن محسوب می‌شود. اما غذاهای زنده مانند آرتمیا به طور طبیعی از لحاظ اسیدهای چرب ضروری ضعیف هستند. عامل سنجش ارزش غذایی غذاهای زنده، محتوای اسیدهای چرب ضروری آن‌هاست (Furuita و همکاران، ۱۹۹۹)، بنابراین غنی‌سازی غذاهای زنده با روغن‌های غنی از اسیدهای چرب ضروری قبل از غذاهای ضروری و مناسب برای بهبود کیفیت لارو می‌باشد (Copeman و همکاران، ۲۰۰۲؛ Yousefian و همکاران، ۲۰۱۱).

---

<sup>۱</sup> *Brachionus plicatilis*

<sup>۲</sup> Fry

<sup>۳</sup> Inert food

با توجه به اینکه ماهیان خاویاری جزء ماهیان لبشور محسوب می‌شوند و عدم توانایی این ماهیان در سنتز اسیدهای چرب ضروری و نیاز آن‌ها به دریافت این ماده غذایی از طریق زنجیره غذایی (Coutteau, ۱۹۹۶؛ Lee و همکاران، ۲۰۰۳) به کارگیری انواع روغن‌ها (روغن ماهی و روغن سویا) همراه با ویتامین E از طریق غنی‌سازی آن‌ها در آرتمیا جهت استفاده در دوران لاروی ماهیان خاویاری تحقیقی پایه‌ای و کاربردی در مرحله تولید بچه‌ماهیان خاویاری می‌باشد. به نظر می‌رسد که با افزودن این مواد به جیره غذایی به خصوص در مرحله شروع تغذیه فعال بتوان موجب افزایش رشد، بازماندگی و مقاومت لارو تاسماهی ایرانی شد.

بنابر مطالب ارائه شده، در این تحقیق غنی‌سازی آرتمیا با انواع روغن‌های حیوانی (روغن ماهی کیلکا) و گیاهی (روغن سویا) به همراه سطوح مختلف ویتامین E انجام می‌شود و اثرات آن بر لارو تاسماهی ایرانی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

با این توضیحات، این تحقیق به دنبال پاسخ به سؤالات زیر می‌باشد:

۱) آیا غنی‌سازی آرتمیا با روغن‌های ماهی و سویا همراه با ویتامین E بر رشد، بازماندگی و

مقاومت لارو تاسماهی ایرانی به استرس‌های محیطی تاثیر مطلوب دارد؟

۲) آیا غنی‌سازی آرتمیا با روغن سویا همچنان کمبود اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره را

در لارو تاسماهی ایرانی دنبال خواهد داشت؟

۳) آیا استفاده از ویتامین E موجب بهبود عملکرد روغن‌ها در لارو تاسماهی ایرانی خواهد شد؟

۴) غنی‌سازی آرتمیا با روغن‌ها و ویتامین E چه تغییراتی را در ترکیب اسیدچرب لارو تاسماهی

ایرانی ایجاد می‌کند؟

در این تحقیق اهداف زیر مورد نظر است:

۱) مقایسه آثار غنی‌سازی آرتمیا با روغن‌های حیوانی و گیاهی به همراه ویتامین E بر رشد و

مقاومت لارو تاسماهی ایرانی