

تأثیر جایگزینی روغن ماهی با روغن‌های گیاهی در توسعه گناد و تغییرات سطح برخی هورمون‌های جنسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده (*Oncorhynchus mykiss*)

- ❖ سیده مرضیه حسینی خواه: کارشناس ارشد مهندسی منابع طبیعی - شیلات دانشگاه تهران، ایران
- ❖ باقر مجازی امیری*: استاد گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران
- ❖ غلامرضا رفیعی: استاد گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران
- ❖ مهرداد فرهنگی: دانشیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران
- ❖ سید مهیا موسوی: کارشناس ارشد مهندسی منابع طبیعی - شیلات دانشگاه تهران، ایران

چکیده

به منظور بررسی تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی در رشد تخمدان و میزان ترشح هورمون‌های جنسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، چهار جیره آزمایشی بر پایه ۱۵٪ چربی فرموله شد. در تیمار شاهد ۱۰۰٪ روغن مورد استفاده روغن ماهی بود و در تیمارهای اول، دوم و سوم از ۲۵٪ روغن ماهی و به ترتیب ۷۵٪ روغن سویا، کانولا و کتان استفاده شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار طراحی شد. پس از شش هفته تغذیه ماهیان با وزن متوسط ۲/۵ ± ۲۰۰ گرم، بافت تخمدان و میزان هورمون‌های استروئیدی (تستسترون، ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون) ارزیابی شدند. میزان توسعه بافت تخمدان همچنین میزان هورمون‌های تستسترون و ۱۷-بتا استرادیول در تیمار اول به طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P < 0/05$)، در حالی که میزان هورمون پروژسترون در بین تمام تیمارها و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به مطالب ارائه‌شده، روغن سویا به‌منزله بهترین روغن در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای توسعه بافت تخمدان و افزایش میزان هورمون‌های جنسی پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: روغن ماهی، بافت تخمدان، جایگزینی روغن‌های گیاهی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، هورمون‌های جنسی.

۱. مقدمه

آبزیان به منزله یکی از منابع مهم غذایی سهم رو به تزایدی در جیره غذایی مردم جهان دارند. امروزه با توجه به افزایش جمعیت و محدودیت منابع دریایی، آبی پروری به منزله روشی پایدار در تولید منابع غذایی باکیفیت توسعه یافته و بیشترین میزان رشد (تقریباً ۱۰٪) را در میان سایر صنایع تولیدی به خود اختصاص داده است (SOFIA, 2008). کنترل تولیدمثل مرحله مهمی در تولید آبزیان در هجری هاست و پارامترهایی مثل میزان و نوع تغذیه، دما و دوره نوری گامتوزنیز و باروری را تحت تأثیر قرار می دهد (Bromage, 1992). توسعه گناد، باروری و کیفیت تخمک و اسپرم ماهی از طریق کیفیت تغذیه مولدین بهبود می یابد (Watanabe, 1995; Memis, 2004). تغذیه نقش مهمی در تکامل گنادها و مواد تناسلی ماهی دارد. به طور کلی، برای انجام دادن همه فعالیت های حیاتی ماهی به انرژی نیاز دارد. غذا باید به خوبی در بدن سوخت و ساز شود و انرژی حاصل از آن برای فعالیت های حیاتی ماهی از جمله تولید مواد تناسلی استفاده شود. در ماهی قزل آلا نیز علاوه بر این که تغذیه در کیفیت و میزان همآوری ماهی نقش دارد در رسیدگی جنسی ماهیان نیز نقش مهمی بر عهده دارد.

چربی ها یکی از فاکتورهای تغذیه ای کلیدی اند که میزان تخم گشایی تخم و بقای لارو را تحت تأثیر قرار می دهند. چربی ها به منزله پیش ساز هورمون های جنسی مطرح اند و نقش مهمی در توسعه گناد دارند، از جمله اثر در ساختمان غشا، باروری، عملکرد تخمدان و کیفیت اووسیت. ماهی مثل همه مهره داران

دیگر که تاکنون مطالعه شده اند به اسید چرب غیر اشباع بلند زنجیره^۱ برای رشد عادی و توسعه تولیدمثل نیاز دارد. ایکوزاپانتانوئیک اسید^۲ نقش مهمی در تشکیل ایکوزانوئیدها دارد که این ها در عملکردهای فیزیولوژیکی گوناگون از جمله تنظیم فشار اسمزی، عملکرد قلب و عروق، کنترل طبیعی و عملکردهای سیستم های تولیدمثل دخیل اند (Cejas et al., 2004).

در ماهی قزل آلا رنگین کمان کنترل هورمونی روند تکامل گنادها مانند سایر ماهیان استخوانی تحت تأثیر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد و هورمون های مترشحه از این محور صورت می گیرد. مهم ترین هورمون هایی که در روند تکامل و رشد گنادها و تخمک ها تولید و ترشح می شوند هورمون آندروژنی تستسترون و هورمون استروژنی ۱۷-بتا استرادیول است که این هورمون های استروئیدی، به خصوص ۱۷-بتا استرادیول، هورمون اصلی در رشد تخمک محسوب می شوند.

امروزه منبع تأمین کننده اسیدهای چرب امگا-۳ در جیره غذایی ماهی قزل آلا رنگین کمان، به منزله یک ماهی سردابی و گوشت خوار که بازده خوبی در مورد اسیدهای چرب امگا-۳ دارد، روغن ماهی است. به دلیل افزایش روند تولید آبی پروری در جهان میزان استفاده از روغن ماهی افزایش یافته است (Albert & Metian, 2008; IFFO, 2008) اما به دلیل محدودیت منابع طبیعی، آلودگی های ارگانیک و غیر ارگانیک و مهم تر از همه آلودگی های ارگانوکلره، افزایش قیمت و عدم دسترسی به روغن ماهی، جایگزینی روغن ماهی به وسیله ترکیباتی با منشأ

1. High Unsaturated Fatty Acid (HUFA)
2. Eicosa Pentaenoic Acid (EPA)

جیره‌ای مرجع با توجه به نیاز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به منزله جیره شاهد (حاوی روغن ماهی) و سه جیره غذایی دیگر (شامل روغن‌های گیاهی سویا، کانولا و کتان با پایه ۲۵٪ روغن ماهی) به منزله تیمارهای اول، دوم و سوم (حاوی ۱۵٪ چربی، ۴۰٪ پروتئین خام و نسبت پروتئین قابل هضم به انرژی قابل هضم ۲۳/۶ گرم در مگاژول) (NRC, 1993; Hardy & Barrows, 2002) با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA فرموله شد که در جدول ۱ ارائه شده است.

اجزای جیره‌ها با افزودن آب (به میزان ۱۰٪ وزنی) به خمیری یکنواخت تبدیل شد. خمیر حاصله از دستگاه چرخ گوشت با قطر چشمه ۵ میلی‌متر عبور داده شد (Hardy & Barrows, 2002). در نهایت پلت‌های مرطوب در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک روز خشک (Farhangi & Carter, 2001)، بسته‌بندی و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا شروع آزمایش نگهداری شد (Yanar et al., 2008).

۲.۲. تهیه ماهی و شرایط انجام دادن آزمایش

آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده با وزن متوسط $2/5 \pm 200$ گرم در هر مخزن ۳۲۰ لیتری به طور مساوی (۱۰ قطعه در هر مخزن) توزیع شدند. بعد از دو هفته آدآپتاسیون آزمایش اصلی شروع شد و مدت شش هفته به طول انجامید. طی دوره آزمایش ماهیان در دو نوبت صبح و عصر با جیره‌های ساخته‌شده تغذیه می‌شدند و به طور روزانه ۴۰٪ آب تعویض می‌شد و آب کلرزدایی شده

حیوانی و گیاهی در غذای آبزیان به منظور تعدیل هزینه تولید و کاهش وابستگی به این ماده یک ضرورت محسوب می‌شود (Kaushik, 1990; Higgs et al., 1995; Drew et al., 2007). بنابراین با بررسی تأثیر استفاده از روغن‌های گیاهی سویا، کانولا و کتان در جیره غذایی آبزیان در میزان ترشح هورمون‌های جنسی (تستسترون، ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون) و کیفیت گناد با توجه به قیمت مناسب و پایداری تولید روغن‌های گیاهی می‌توان چشم‌انداز روشنی برای آینده صنعت آبزی‌پروری ترسیم کرد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه اقلام و جیره‌های غذایی

اقلام مورد نیاز در تهیه جیره‌های غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از شرکت‌های تولید غذای تجاری تهیه شد (شرکت تولید خوراک دام، طیور و آبزیان به‌پرور) و ترکیب شیمیایی از جمله ماده خشک با قراردادن نمونه‌ها در آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و با قراردادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی با دمای ۵۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت، خاکستر آن‌ها اندازه‌گیری شد. عصاره اتری با استفاده از دستگاه سوکسله و چهار ساعت شست‌وشو با دی اتیل اتر اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام مواد خوراکی نیز با استفاده از دستگاه کلدال تعیین شد (نیتروژن × ۶/۲۵). ترکیبات دیواره سلولی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری الیاف تعیین شد (Van Soest et al., 1991). به علاوه، انرژی خام به وسیله بمب کالری‌متر (IKA C7000) تعیین شد، اسید بنزوئیک به منزله استاندارد استفاده شد (AOAC, 1995). سپس

آزادماهیان (دما 16 ± 0.08 درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول 7.7 ± 0.03 میلی گرم در لیتر و pH برابر با 7.6 ± 0.04) تنظیم می شد.

وارد سیستم می شد. شاخص های فیزیوشیمیایی آب، واحدهای آزمایشی از جمله اکسیژن، دما و pH به طور روزانه کنترل می شد و در دامنه مطلوب برای پرورش

جدول ۱. ترکیب شیمیایی و اجزای تشکیل دهنده جیره های غذایی (بر حسب درصد)

جیره های با درصد چربی های مختلف				اجزای جیره
جیره سوم	جیره دوم	جیره اول	شاهد	
۴۲	۴۲	۴۲	۴۲	پودر ماهی
۱۲/۴۹	۱۲/۴۹	۱۲/۴۹	۱۲/۴۹	کنجاله سویا
۴/۵۸	۴/۵۸	۴/۵۸	۴/۵۸	آرد گندم
۵	۵	۵	۵	آرد ذرت
۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	گلو تن گندم
۳/۵۸	۳/۵۸	۳/۵۸	۱۴/۳۳	روغن ماهی
۰	۰	۱۰/۷۵	۰	روغن سویا
۰	۱۰/۷۵	۰	۰	روغن کانولا
۱۰/۷۵	۰	۰	۰	روغن کتان
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	مخلوط ویتامینی*
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	ویتامین ث
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	مخلوط مواد معدنی*
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	دی کلسیم فسفات
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	کولین کلراید ۷۰ درصد
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	لیزین (۰/۹۸)
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	متیونین (۰/۹۸)
۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	بتنونیت (همبند)
۰	۰	۰	۰	پرکن
				ترکیب شیمیایی
۹۰/۸۳	۹۰/۸۳	۹۰/۸۳	۹۰/۸۳	ماده خشک (%)
۴۰/۲۳	۴۰/۲۳	۴۰/۲۳	۴۰/۲۳	پروتئین خام (%)
۱۵/۰۱	۱۵/۰۱	۱۵/۰۱	۱۵/۰۱	چربی خام (%)
۷/۵۱	۷/۵۱	۷/۵۱	۷/۵۱	خاکستر (%)
۳/۸۸	۳/۸۸	۳/۸۸	۳/۸۸	انرژی خام (کیلوکالری در گرم)

* مواد معدنی و مولتی ویتامین به کاررفته در این تحقیق در هر کیلوگرم غذا تأمین کننده مواد زیر است: منیزیم، ۱۰۰ میلی گرم؛ روی، ۶۰ میلی گرم؛ آهن، ۴۰ میلی گرم؛ مس، ۵ میلی گرم؛ کبالت، ۰/۱ میلی گرم؛ ید، ۱ میلی گرم؛ آنتی اکسیدان، ۱۰۰ میلی گرم؛ ویتامین E، ۳۰ میلی گرم؛ ویتامین K، ۳ میلی گرم؛ تیامین، ۲ میلی گرم؛ ریوفلاوین، ۷ میلی گرم؛ پیریدوکسین، ۳ میلی گرم؛ پانتوتینیک اسید، ۱۸ میلی گرم؛ نیاسین، ۴۰ میلی گرم؛ فولاسین، ۱/۵ میلی گرم؛ کولین، ۶۰۰ میلی گرم؛ بیوتین، ۰/۷ میلی گرم؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۲ میلی گرم (تهیه شده از شرکت کیمیا رشد - تهران).

در کیت‌های سنجش (Diagnostics Biochem Canada Inc.dbc. Kit) در نظر گرفته شد. بعد از نمونه‌گذاری در چاهک‌های کیت و ایجاد رنگ در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر میزان هورمون‌های استروئیدی با توجه به رنگ‌سنجی محاسبه شد.

سپس ماهی به طور کامل کالبدشکافی شد، تخمدان به طور کامل از بدن ماهی خارج و وزن شد و شاخص گنادوسوماتیک تعیین شد. برای بافت‌شناسی تخمدان، از بافت تخمدان نمونه برداشته شد. نمونه‌های بافت در اندازه کوچک برداشته شد، پس از تمیزکردن آن‌ها با سرم فیزیولوژی، در ماده نگهدارنده (محلول بوئن که شامل ۷۵٪ میلی‌لیتر اسید پیکریک، ۲۵٪ میلی‌لیتر فرمالین و ۵٪ میلی‌لیتر اسید استیک است) قرار داده شد. برای تهیه برش بافتی از روش پارفینه‌کردن استفاده شد (Mojazi Amiri *et al.*, 1996).

۴.۲. آنالیز آماری

همه داده‌های درصدی به صورت $\arcsin \sqrt{x}$ تبدیل شدند. بعد از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتریک تجزیه واریانس (هموژن بودن واریانس و نرمال بودن داده‌ها) (Zar, 1999)، از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) برای مقایسه واریانس بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا نبود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) با کمک نرم‌افزار آماری تحت ویندوز SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. نمودارها و جداول نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ تهیه شدند.

۲.۲. تهیه ماهی و شرایط انجام دادن آزمایش

آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده با وزن متوسط $200 \pm 2/5$ گرم در هر مخزن ۳۲۰ لیتری به طور مساوی (۱۰ قطعه در هر مخزن) توزیع شدند. بعد از دو هفته آدپتاسیون آزمایش اصلی شروع شد و مدت شش هفته به طول انجامید. طی دوره آزمایش ماهیان در دو نوبت صبح و عصر با جیره‌های ساخته شده تغذیه می‌شدند و به طور روزانه ۴۰٪ آب تعویض می‌شد و آب کلرزدایی شده وارد سیستم می‌شد. شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب، واحدهای آزمایشی از جمله اکسیژن، دما و pH به طور روزانه کنترل می‌شد و در دامنه مطلوب برای پرورش آزادماهیان (دما $16 \pm 0/08$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $7/7 \pm 0/03$ میلی‌گرم در لیتر و pH برابر با $7/6 \pm 0/04$) تنظیم می‌شد.

۳.۲. نمونه‌گیری و آنالیز شیمیایی

پس از طی دوره شش هفته‌ای آزمایش، به صورت تصادفی دو ماهی از هر تکرار (هر تیمار شش عدد) انتخاب و با عصاره گل میخک به غلظت ۱۰۰ ppm بیهوش و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شد و طول ماهیان نیز با کمک خط‌کش بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. خونگیری با استفاده از سرنگ‌های ۲/۵cc و بدون استفاده از مواد ضد انعقاد انجام گرفت و به منظور تعیین هورمون‌های استروئیدی تستسترون، ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون از روش ELISA استفاده شد روش مورد استفاده بر اساس دستورالعمل موجود

۳. نتایج

۱.۳. شاخص وزن

نتایج تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در وزن ماهی در انتهای دوره آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲. مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) وزن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دوره پرورش ($n = 3$)^{*}

وزن ماهی	
تیمار شاهد	$30.7/18 \pm 1/65^c$
تیمار اول	$25.4/32 \pm 9/47^b$
تیمار دوم	$31.4/36 \pm 1.6/62^c$
تیمار سوم	$26.0/64 \pm 1.7/0.5^b$

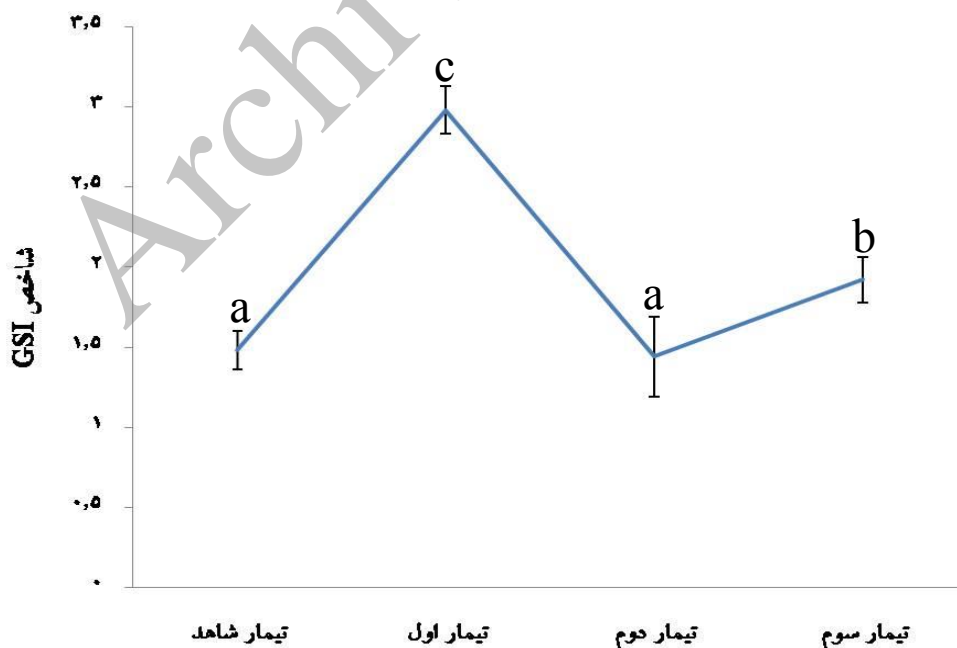
* حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست ($P < 0.05$).

همان‌طور که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین تیمار اول (روغن سویا) و سوم

(روغن کتان) با تیمار شاهد (روغن ماهی) وجود دارد ($P < 0.05$)، در حالی که بین تیمارهای اول و سوم و بین شاهد و تیمار دوم (روغن کانولا) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. شایان ذکر است بیش‌ترین افزایش وزن در تیمار دوم و کم‌ترین افزایش وزن در تیمار اول مشاهده شد.

۲.۳. شاخص GSI

بر اساس نتایج تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در شاخص GSI در انتهای دوره پرورش (نمودار ۱) مشاهده شد که بین تیمار دوم (روغن کانولا) با تیمار شاهد (روغن ماهی) اختلاف معنی‌دار از لحاظ شاخص GSI وجود ندارد. در حالی که تیمارهای اول (روغن سویا) و سوم (روغن کتان) با تیمار شاهد همچنین با تیمار دوم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P < 0.05$).

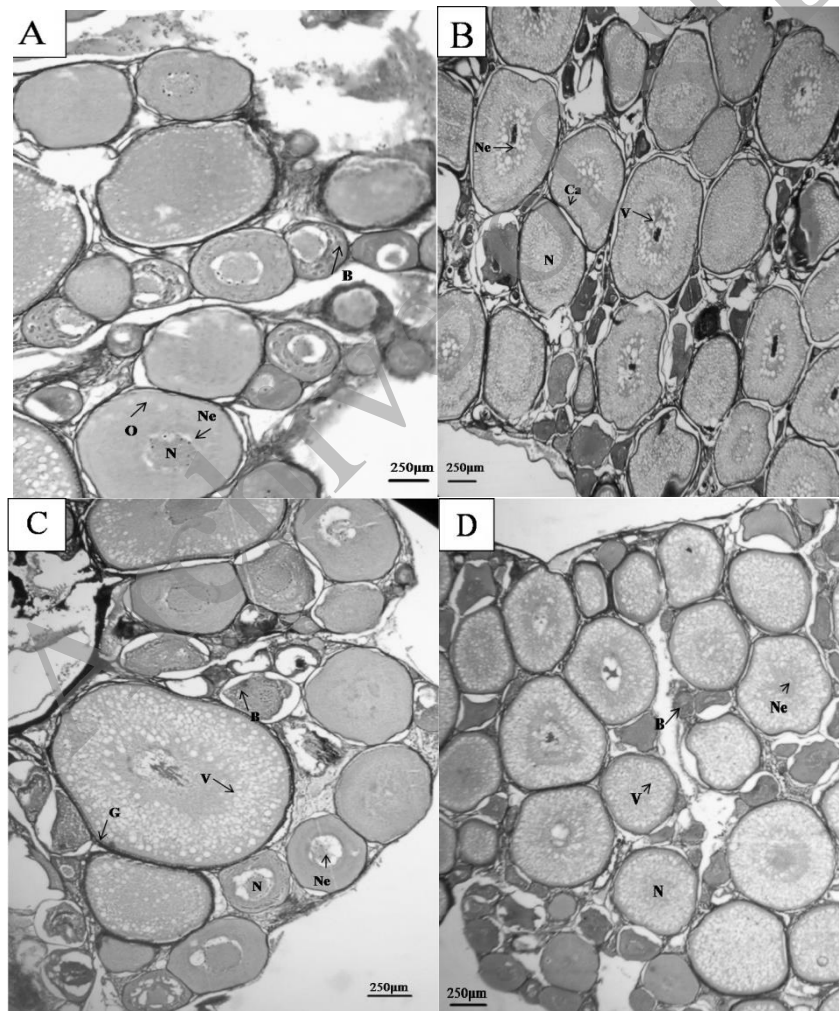


نمودار ۱. مقایسه میانگین (\pm انحراف معیار) شاخص GSI ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دوره پرورش ($n = 3$).

از خود نشان می‌دهند ($P < 0/05$). در تیمار سوم (روغن کتان) مشاهده شد (تصویر D) که قطر تخمک افزایش یافته و از نظر ظاهری در مرحله پیشرفته‌تری نسبت به تیمار شاهد و تیمار اول قرار دارد و تفاوت معنی‌داری با آن‌ها دارد ($P < 0/05$). همچنین بیش‌ترین میزان توسعه مربوط به تیمار اول (روغن سویا) است (تصویر B) که با تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0/05$) و در مرحله پیشرفته‌تری است.

۳.۳. بافت تخمدان

بر اساس نتایج تأثیر سطوح مختلف روغن ماهی و روغن‌های گیاهی در توسعه تخمدان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تفاوت مشاهده شد و با توجه به تصاویر بافت تخمدان در انتهای دوره آزمایش مشاهده شد که تیمار شاهد و تیمار دوم (روغن کانولا) از نظر توسعه تقریباً در یک مرحله‌اند و مرحله انتهایی هستک کناری را نشان می‌دهند (تصاویر A و C) که با توجه به اندازه تخمک تفاوت معنی‌داری را با ابتدای دوره

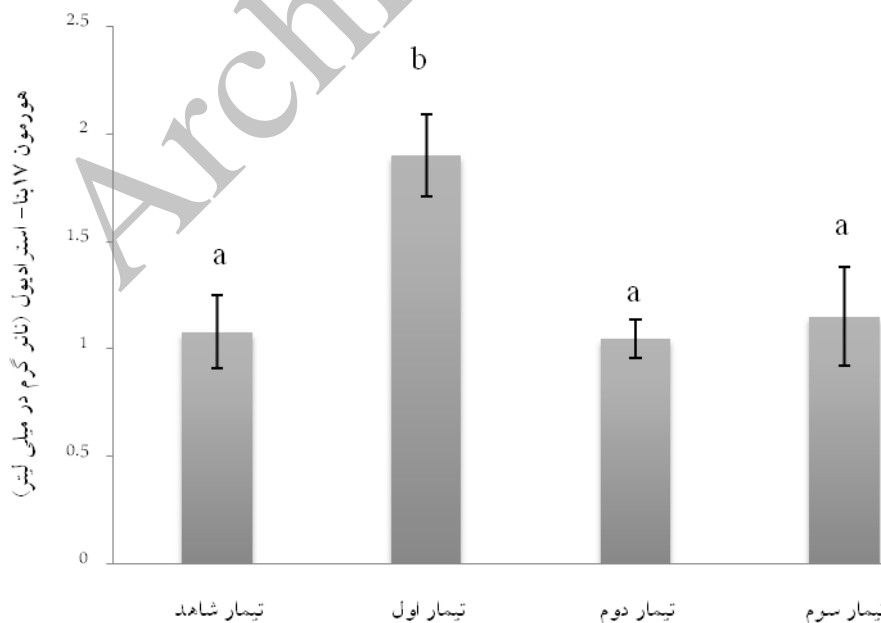


شکل ۱. مقایسه برش بافتی ۵ میکرومتری از تخمدان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان رنگ‌آمیزی شده با هماتوکسلین-انوزین در تیمارهای مختلف (تصاویر A، B، C و D به ترتیب مربوط به تیمار شاهد، اول، دوم و سوم) است. هستک (Ne)، هسته (N)، اجسام بالیانی (B)، قطرات چربی (O)، وریکول (آلوتول‌های کناری) (Ca) (V)، لایه گرانولوزا (G)

داشتند ($P < 0/05$)، و بیشترین قطر تخمک مربوط به تیمار اول بود.

۵.۳. هورمون‌های استروئیدی

نتایج تأثیر جیره‌های حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در هورمون‌های استروئیدی در نمودارهای ۲، ۳ و ۴ ارائه شده است. در انتهای دوره آزمایش بین تیمارهای دوم و سوم با تیمار شاهد درباره هورمون ۱۷-بتا استرادیول اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که بین تیمار اول با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$). درباره هورمون پروژسترون اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف و تیمار شاهد مشاهده نشد. این در حالی است که بین تیمارهای مختلف و تیمار شاهد در مورد هورمون تستسترون اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$).



نمودار ۲. میزان هورمون ۱۷-بتا استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دوره پرورش ($n = 3$ ، میانگین ± انحراف معیار).

۴.۳. قطر تخمک

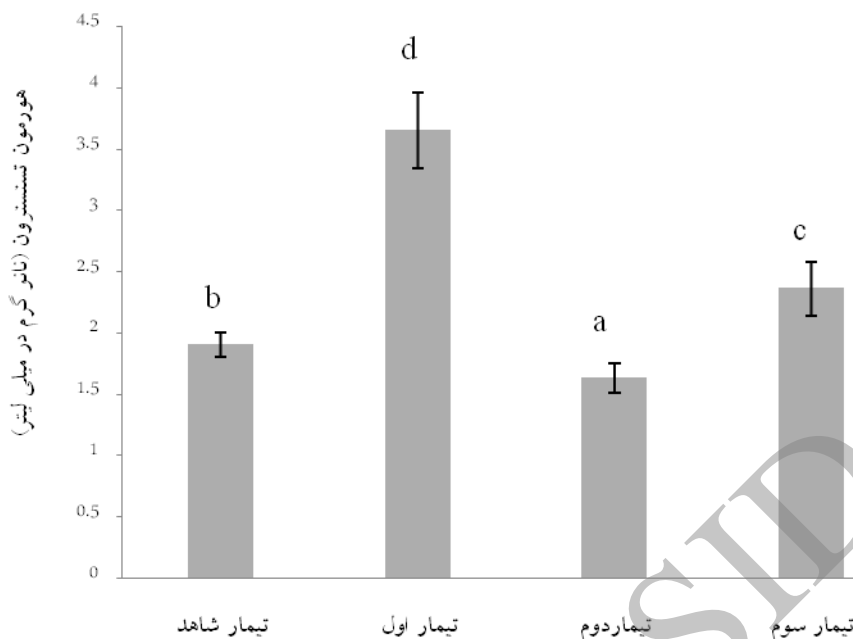
نتایج تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در قطر تخمک در انتهای دوره پرورش (جدول ۳) نشان داد که همه تیمارها با نمونه اول دوره اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($P < 0/05$).

جدول ۳. مقایسه میانگین (± انحراف معیار) قطر تخمک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دوره پرورش ($n = 3$)

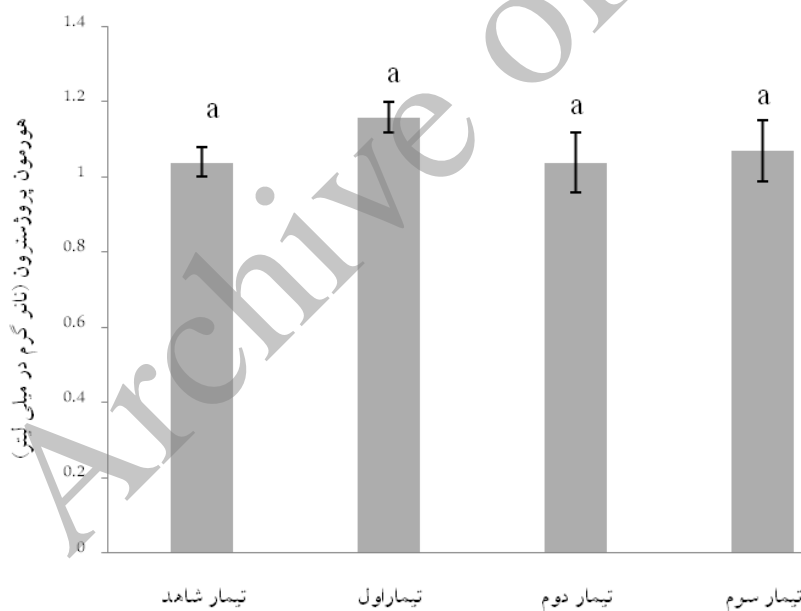
تیمار	قطر تخمک (میکرون)
تیمار شاهد	۴۴۴/۱۷ ± ۶/۵۱ ^b
تیمار اول	۷۹۶/۶۷ ± ۱۰/۹۳ ^d
تیمار دوم	۴۳۱/۹۴ ± ۱/۷۳ ^b
تیمار سوم	۶۵۶/۴۸ ± ۱/۵۱ ^c

* حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست ($P < 0/05$).

تیمار دوم با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت، در حالی که تیمارهای اول و سوم با یک‌دیگر همچنین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار



نمودار ۳. میزان هورمون تستوسترون (نانوگرم در میلی لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دوره پرورش ($n = 3$ ، میانگین \pm انحراف معیار).



نمودار ۴. میزان هورمون پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دوره پرورش ($n = 3$ ، میانگین \pm انحراف معیار).

و تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نشان ندادند این موضوع با مطالعات قبلی که درباره ماهی قزل‌آلا و چار اقیانوس اطلس انجام شده بود (Pettersson, 2010)

۴. بحث

در پژوهش حاضر، ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۷۵٪ روغن کانولا بیشترین افزایش وزن را نشان دادند

تستسترون در تخمدان و بیضه گلدفیش شده است (Wade & Van Der Kraak, 1993; Mecure & Van Der Kraak, 1995) همچنین ایکوزاپنتانویک اسید که بر اثر فرایند طویل سازی و غیر اشباع سازی از امگا-۳ به دست می آید ایکوزانوئیدهایی را تولید می کند که موجب کاهش تولید تستسترون در بیضه گلدفیش و قزل آلا و تخمدان گلدفیش می شود (Wede *et al.*, Mecure & Van Der Kraak, 1995) (1994). با توجه به این که مقدار امگا-۶ روغن سویا بیش تر از سایر روغن هاست، بیش ترین میزان هورمون های جنسی و به تبع آن پیشرفته ترین بافت تخمدان در این تیمار مشاهده شد. به علاوه، مطالعاتی که درباره پستانداران و پرندگان نیز انجام شده (Lopez-Ruiz *et al.*, 1992; Lopez-Ruiz *et al.*, 1991) مؤید این مطلب است که اسید آرشیدونیک موجب توسعه گناد می شود. همچنین در مطالعه ای (Lin, 1985) نشان داده شده که اسید آرشیدونیک از طریق تولید پروستاگلاندین ها موجب توسعه سلول های گرانولوزا می شود. در حالی که EPA و DHA اثر جلوگیری کننده در تولید پروژسترون و PGE2 در تخمدان گوساله داشته اند. همچنین در مطالعه ای که درباره ماهی نر سی باس اروپایی انجام گرفته این مطلب تأیید شده است که پروستاگلاندین های حاصل از اسید آرشیدونیک برای عملکرد بیضه ضروری اند و افزایش امگا-۶ جیره و پایین آمدن نسبت امگا-۳ به امگا-۶ در جیره موجب بهبود تولیدمثل شده است (Asturiano *et al.*, 2001). چون روغن سویا دارای مقدار زیادی امگا-۶ است و نسبت امگا-۳ به امگا-۶ پایین است، در این تیمار بیش ترین مقدار هورمون های جنسی و پیشرفته ترین بافت تخمدان دیده شد.

مطابقت دارد. نتایج مشابهی درباره میزان جایگزینی روغن های گیاهی با روغن ماهی ارائه شده که نشان می دهند ۷۵٪ جایگزینی روغن های گیاهی با روغن ماهی در جیره غذایی سی بریم تغییری در رشد و جذب غذا ایجاد نمی کند، ولی سطوح بالاتر جایگزینی باعث کاهش رشد و راندمان بهروزی غذا می شود (Wassf, 2009). از طرف دیگر، جایگزینی تمام یا بخشی از روغن های آفتابگردان، کانولا، زیتون و کتان با روغن ماهی در جیره غذایی غذای ماهیان سالمون نرخ رشد یا تبدیل غذایی را تحت تأثیر قرار نداده است (Miller *et al.*, 2007). بنابراین، طبق مطالعات انجام شده می توان گفت که نسبت امگا-۳ به امگا-۶ بسیار حائز اهمیت است؛ و از آن جا که علاوه بر روغن کانولا روغن های گیاهی سویا و کتان نیز در آزمایش فعلی استفاده شده می توان نتیجه گرفت که تفاوت در میزان اسید لینولئیک در این روغن ها و برهم خوردن نسبت بین امگا-۳ و امگا-۶ موجب شده مسیر رشد آیزی مورد آزمایش به سمت توسعه گناد رود و سرعت افزایش وزن نسبت به سایر تیمارها کاهش یابد.

علاوه بر این، همان طور که گفته شد بزرگ ترین قطر تخمک، بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، پیشرفته ترین بافت تخمدان و بیش ترین میزان هورمون تستسترون و ۱۷بتا- استرادیول در تیمار مربوط به روغن سویا دیده شد. این نتایج با مطالعاتی که درباره قزل آلا و گلدفیش انجام گرفته همخوانی دارد؛ در این مطالعات گفته شده که اسید آرشیدونیک، که بر اثر فرایند طویل سازی و غیر اشباع سازی از امگا-۶ به دست می آید، ایکوزانوئیدهایی را تولید می کند که موجب تولید

اندازه‌گیری اسیدهای چرب روغن‌های گیاهی و یافتن رابطه منطقی بین آن‌ها در بهبود نتایج بسیار مؤثر است. در نتیجه می‌توان گفت که احتمالاً نسبت امگا-۳ به امگا-۶ در جیره غذایی آبزیان اهمیت زیادی دارد و برای افزایش وزن نسبت متعادل امگا-۳ به امگا-۶ مورد نیاز است، به طوری که این میزان با نسبت این اسیدهای چرب در روغن ماهی تشابه داشته باشد. به همین دلیل در تیمار شاهد و تیمار مربوط به روغن کانولا افزایش وزن را مشاهده کردیم، ولی با برهم‌خوردن این نسبت مسیر رشد آبزی به سمت توسعه گناد می‌رود به همین دلیل ماهی‌ها در تیمارهای اول و سوم انرژی خود را صرف توسعه تخمدان می‌کنند و افزایش وزن زیادی را نشان ندادند، از طرفی چون ایکوزانوئیدهای حاصل از متابولیت‌های امگا-۶ نسبت به ایکوزانوئیدهای حاصل از متابولیت‌های امگا-۳ اثر بیشتری در توسعه گناد دارند و چون امگا-۶ روغن سویا بیش‌تر از روغن کانولا، کتان و ماهی است به همین دلیل ماهی‌ها در این تیمار توسعه گناد بیش‌تر و افزایش وزن کم‌تری را نشان دادند. پس افزایش امگا-۶ جیره برای توسعه گناد مناسب‌تر است و استفاده از روغن سویا به دلیل داشتن ۵۴ درصد امگا-۶ و ۸ درصد امگا-۳ برای توسعه گناد مناسب به نظر می‌رسد. البته این نکته حائز اهمیت است که مطلب اخیر نقش اسیدهای چرب بلندزنجیر مانند DHA و EPA را در توسعه جنینی و افزایش هم‌آوری آبزیان به چالش نمی‌کشد و تنها نشان‌دهنده نقش مهم‌تر نسبت‌های امگا-۳ و امگا-۶ در فرایند توسعه گناد است که نیاز به تحقیق بیش‌تر در این زمینه است.

به طور کلی، مطالعات اندکی در مورد دخالت ایکوزانوئیدها در تولیدمثل در دسترس است، ولی نتایج همه مطالعات این مطلب را تأیید کرده است که اسید آرشیدونیک، که از طریق فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۶ به دست می‌آید، پروستاگلاندین سری E (به‌ویژه PGE2 و PGE2 α) تولید می‌کند (Sorbera *et al.*, 2001) و تولید تستسترون را افزایش می‌دهد (Berndtson *et al.*, 1989). از طرفی ایکوزاپنتانویک اسید از طریق فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۳ به دست می‌آید (Wade & Van Der Kraak, 1993; Wade *et al.*, 1994; Asturiano *et al.*, 1997, 1999, 2000). اثر جلوگیری‌کننده این ایکوزانوئیدها را می‌توان این‌طور بیان کرد که اسید آرشیدونیک و پنتانویک اسید هر دو به‌منزله پیش‌ماده برای آنزیم سیکلو اکسیژناز برای ساخت ایکوزانوئیدها مطرح‌اند و زمانی که سطح بالای ایکوزاپنتانویک اسید وجود داشته باشد در رقابت با اسید آرشیدونیک برای باندشدن با این آنزیم پیروز می‌شود (Murdoch *et al.*, 1993; Weber, 1990) و پروستاگلاندین PGE1 و PGE3 را تولید می‌کند (Sorbera *et al.*, 2001)، که ثابت شده این دو نوع پروستاگلاندین نسبت به پروستاگلاندین‌های حاصل از اسید آرشیدونیک اثر کم‌تری در توسعه گناد دارند. به دلیل این‌که مقدار امگا-۶ روغن سویا بیش‌تر از روغن کانولا، کتان و ماهی است و احتمالاً دارای نسبت مناسب امگا-۳ به امگا-۶ مناسب برای توسعه گناد است، در این تیمار بیش‌ترین میزان هورمون‌های جنسی و به تبع آن پیشرفته‌ترین بافت تخمدان مشاهده شد که البته به تحقیقات بیش‌تر در این زمینه نیاز است، همچنین

References

- [1]. Albert, G.J., Metian, T. M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded *aquafeeds*: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158.
- [2]. AOAC., 1990. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th ed. Arlington, VA.
- [3]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Navarro, J.C., Bromage, N., 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194, 173-190.
- [4]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 1997. Preliminary observations on the influence of essential fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) primary testis culture. Abstracts Third International Symposium on Research for Aquaculture: Fundamental and Applied Aspects (ESCPB); Barcelona, Spain, P33.
- [5]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 1999. Evidence of the influence of the influence of polyunsaturated fatty acids in vivo and in vitro in the reproduction of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Abstracts 6th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish; Bergen, Norway, P64.
- [6]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 2000. Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in a primary testis cell culture system for the sea bass. *J. Fish Boil* 57, 1563-1574.
- [7]. Berndtson, A.K., Goetz, F.W., Duman, P., 1989. In vitro ovulation, prostaglandin synthesis and proteolysis in isolated ovarian components of yellow perch (*Perca flavescens*): Effects of 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one and phorbol ester. *Gen Comp Endocrinology* 75, 454–465.
- [8]. Bromage, N., Jones, L., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock Management, Fecundity, Egg Quality and Timing of Egg Production in Rainbow Trout *O. mykiss*. *Aquaculture* 100, 141-166.
- [9]. Cejas, J.R., Almansa, E., Jerez, S., Bolans, A., Samper, M., Lorenzo, A., 2004. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female brood stocks of white sea bream, *Diplodus sargus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 138, 91-102.
- [10]. Drew, M.D., Borgeson, T.L., Thiessen D.L., 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. *Animal Feed Science and Technology* 138, 118–136.
- [11]. Farhangi, M., Carter, C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of *dehulled lupin* (*Lupinus angustifolius*). *Aquaculture Research* 32, 329- 340.
- [12]. Hardy, R.W., Barrows, F., 2002. Diet Formulation and Manufacture. In: Halver, J.E., Hardy, R. W. (Eds.). *Fish Nutrition*. Academic Press, 505-600.
- [13]. Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Prendergast, A.F., Beames, R.M., Hardy, R.W., Riley, W., Deacon, G., 1995. Use of rapeseed/canola protein products in finfish diets. In: *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture* (eds C.E. Lim and D.J. Sessa), Champaign II, 130–156.

- [14]. IFFO (International Fishmeal and Fish Oil Organization), 2008. IFFO Update No. 186: 10 pp.
- [15]. Kaushik, S.J. (1990). Use of alternative protein sources for the intensive rearing of carnivorous fish. In: Mediterranean Aquaculture (eds R. Flos, L. Tort and P. Torres), Ellis Horwood Limited, 125–138.
- [16]. Lin T., (1985). Mechanism of action of gonadotropin-releasing hormone stimulated Leydig cell steroid genesis III. The role of arachidonic acid and calcium/phospholipids dependent protein kinase. Life Sci. 36, 1255–1264.
- [17]. López-Ruiz, J.M., Verbelen, J.P., Bocanegra, A., Diez, J., 1991. Immunocytochemical localization of nitrite reductase in green algae. Plant Physiology 96, 699-704.
- [18]. Lopez-Ruiz, M.P., Choi, M.S.K., Rose, M.P., West, A.P., Cooke, B.A., 1992. Direct effect of arachidonic acid on protein kinase C and LH-stimulated steroidogenesis in rat Leydig cells: evidence for tonic inhibitory control of steroid genesis by protein kinase C. Endocrinology 130, 1122–1130.
- [19]. Memis, D., 2004. Effects of different diets on the growth performance, gonad development and body composition at first sexual maturity of Rainbow trout. Turk J Vet Anim Sci 28, 315-322.
- [20]. Mercure, F., Van Der Kraak, G., 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. Lipids 30, 547–554.
- [21]. Miller, M. R., Nichols, P. D., Carter, C. G., 2007. Replacement of dietary fish oil for Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) with a stearidonic acid containing oil has no effect on omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations. Comparative Biochemistry and Physiology 146, 197-206.
- [22]. Mojazi Amiri, B., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S., Yamauchi, K., 1996. Ovarian development and serum sex steroid and vitelogenin profiles in female cultured sturgeon hybrid the bester. Journal of Fish Biology 48, pp. 1164-1178.
- [23]. NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington.
- [24]. Pettersson, A., 2010. Effects of Replacing Fish Oil with Vegetable Oils in Feed for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*). Doctoral Thesis Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, 43.
- [25]. SOFIA, 2008. The State of World Fisheries and Aquaculture [online] Available from: <http://www.fao.org/docrep/011/i0250e/i0250e00.htm> [Accessed 2010-02-01].
- [26]. Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S., 2001. Effects of Polyunsaturated Fatty Acids and Prostaglandins on Oocyte Maturation in a Marine Teleost, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Biology of Reproduction 64, 382-389.
- [27]. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74, 3583-3597.
- [28]. Wade, M., Van Der Kraak, G., 1993. Arachidonic acid and prostaglandin E2 stimulate testosterone production by goldfish testis in vitro. Gen. Comp. Endocrinol 90, 109-118.
- [29]. Wade, M.G., Van Der Kraak, G.J., Gerrits, M.F., Ballantyne, J.S., 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the gold fish testis. Biol Reprod 51, 131–139.
- [30]. Wallace, R.A., (1985). Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In: Browder, L.W. (Ed), Developmental Biology. Plenum Press, New York, Vol. 1, pp. 127-177

- [31]. Wassef, E.A., Saleh, N.E., EI-Abd EI-Hady, H.A., 2009. Vegetable oil blend as alternative lipid resources in diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture* 17, 421-435.
- [32]. Watanabe, T., 1995. Importance of the Study of Brood stock Nutrition for Further Development of Aquaculture. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Editors), *Nutrition and Feeding in Fish*. Academic Press, London, 400-405.
- [33]. Weber, P.C., 1990. The modification of the arachidonic acid cascade by n3 fatty acids. In: Samuelson, B., Dahlen, S.E., Fritsch and, J., Hedqvist, P. Eds. , *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research*, vol. 20. Raven Press, New York, pp. 232–240.
- [34]. Yanar, M., Ercen, Z., Hunt, A.Z., Buyukcapar, H.M., 2008. The use of alfalfa, (*Medicago sativa*) as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture* 284, 196-200.
- [35]. Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*. New Jersey, USA. Prentice-Hall, Inc.

Archive of SID