شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
ص ۴۵۷-۴۶۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۱۷

تغییر رفتارهای خشونتی و غلظت تستوسترون در ماهی جنگجو (*Betta splendens*)، به دنبال در معرض‌گذاری با فلوکستین

❖ **محمدنوید فرصت‌کار:** دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
❖ **محمدعلی نعمت‌اللهی*:** دانشیار گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران
❖ **باقر مجازی امیری:** استاد گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیرات فلوکستین در رفتارهای خشونتی جنسیت نر در مقابل ماده و غلظت هورمون تستوسترون آن در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) طی یک دورهٔ تولیدمثل انجام شد. ماهیان نر به مدت شش روز در معرض غلظت‌های صفر (گروه کنترل) و ۰/۵۴ µg/L (گروه در معرض قرار داده شده) فلوکستین قرار داده شدند و رفتارهای خشونتی ماهی نر در مقابل ماده «مزاحم» در مراحل قبل از لانه‌سازی، بعد از ساخت لانه، بعد از تخم‌ریزی و بعد از تفریخ تخم‌ها اندازه‌گیری شد. پس از ۶ روز، سطوح تستوسترون در گروه در معرض قرار داده شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار نشان داد. رفتارهای خشونتی در اغلب مراحل تولیدمثلی از فلوکستین تأثیر گرفت و تفاوت تعداد رفتار رفت و برگشت به لانه در مراحل بعد از لانه‌سازی و بعد از تخم‌ریزی نیز بین دو گروه از لحاظ آماری معنادار بود. نتایج این مطالعه مشخص می‌کند که فلوکستین در غلظت کم (۰/۵۴ µg/L) با تأثیر در سیستم درون‌ریز ماهی جنگجو موجب کاهش سطوح کلی تستوسترون شده و خشونت جنسیت نر را در تقابلات مستقیم با ماده طی تولیدمثل کاهش می‌دهد.

واژگان کلیدی: تولیدمثل، رفتار خشونتی، غلظت تستوسترون، فلوکستین، *Betta splendens* .

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۳۲۲۴۵۹۰۹-۰۲۶
Email: malahi@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRI ها) از جمله موادی‌اند که با افزایش میزان سروتونین در مغز موجب حفظ تعادل روحی می‌شوند و با ایجاد احساس آرامش همراه‌اند. در بیماران دچار افسردگی سطوح سروتونین در مغز کم است. سروتونین انتقال‌دهنده‌ای عصبی است که به محض رهاشدن، به ترمینال‌های پیش‌سیناپسی عصبی باز می‌گردد. فلوکستین یکی از معروف‌ترین SSRI هاست و به صورت تجاری در قالب داروی ضد افسردگی پروزاک (Prozac^{TM}) به فروش می‌رسد. در نقش یک داروی SSRI، راهکار فعالیت فلوکستین افزایش سطوح سروتونین در مغز است که این عمل را با جلوگیری از بازجذب سروتونین به ترمینال‌های پیش‌سیناپسی انجام می‌دهد و در نتیجه میزان سطوح سروتونین در مغز افزایش خواهد یافت. با این عمل، فلوکستین می‌تواند علائم افسردگی را با تصحیح بی‌نظمی‌های سروتونین در مغز برطرف کند (Stroud, 2012).

فلوکستین مانند اغلب داروهای دیگر با عوارض جانبی همراه است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به حالت تهوع، بی‌خوابی اما ایجاد حالت خواب‌آلودگی، بی‌اشتهایی، دستپاچگی، ضعف و ناتوانی و ایجاد رعشه اشاره کرد. باید توجه داشت که مشابه سایر داروهای SSRI، فلوکستین در پستانداران در سیستم جنسی نیز مؤثر است؛ این تأثیرات شامل کاهش میل جنسی و انزال دیررس است (Zajecka *et al.*, 1991؛ Herman *et al.*, 1990). با توجه به ورود این ترکیب دارویی به اکوسیستم آب‌های طبیعی (Brooks *et al.*, 2003)، تاکنون مطالعات فیزیولوژیک و رفتارشناسی بسیاری دربارهٔ تأثیرات آن در جنبه‌های مختلف زندگی آبزیان انجام شده است. نشان داده شده است که بروز رفتارهای خشونتی در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) به دنبال تزریق (Clotfelter *et al.*, 2007) یا در معرض‌گذاری با فلوکستین (Lynn *et al.*, 2007؛ Forsatkar *et al.*, 2014) کاهش می‌یابد. در معرض قراردهی جنسیت نر ماهی طلایی (*Carassius auratus*) با فلوکستین موجب اختلال در محور تولیدمثلی آن شده است (Mennigen *et al.*, 2010). این محققان نشان دادند که در مدت ۱۴ روز، شاخص گنادی (GSI)، حجم مایع اسپرمی و سطوح پلاسمایی تستوسترون در اثر فلوکستین کاهش خواهد یافت. ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) قرار داده شده در معرض فلوکستین نیز افزایش معناداری از سطوح استرادیول نشان داده است (Foran *et al.*, 2004). همچنین، در معرض قراردادن جنسیت مادهٔ ماهی زبرا (*Zebra danio*) در دوره‌ای هفت‌روزه با فلوکستین با کاهش تعداد تجمعی تخم‌های تولیدشده و متوسط تعداد تخم تولیدی به ازای هر ماده در هر روز همراه بوده است (Lister *et al.*, 2009). بنابراین، همانند تأثیرات جانبی فلوکستین در پستانداران، توجه به عواقب ناشی از حضور این داروی پرمصرف (Stroud, 2012) در محیط آبی بر مهره‌داران پست مانند ماهی‌ها اهمیت بسزایی دارد، اما به هر حال، مطالعه‌ای در زمینهٔ تأثیر فلوکستین در تغییر رفتارهای خشونتی جنسیت نر ماهی جنگجو در مقابل ماهی ماده طی دورهٔ تولیدمثلی انجام نشده است.

ماهی جنگجو بومی آبگیرهای آب شیرین در جنوب شرقی آسیاست و یکی از عمومی‌ترین مدل‌ها برای مطالعات آزمایشگاهی است. این ماهی با توجه

Archive of SID

www.SID.ir

به ویژگی‌های خاص رفتاری چه در زمان تولیدمثل و چه در فصول دیگر مورد توجه بسیاری از محققان بوده است. جنسیت نر در این ماهی با کمک اندام لابیرنت موجود در آبشش خود لانه‌ای حبابی می‌سازد، در زیر لانه با جنسیت ماده جفت‌گیری می‌کند و از تخم‌های حاصل و لاروهای تفریخ‌شده تا زمان شنای آزاد مراقبت می‌کند، البته نرهای موفق می‌توانند طی یک فصل تولیدمثلی، ۳-۲ مرتبه جفت‌گیری کنند و قلمرو موفقی را تشکیل دهند. ماده‌ها معمولاً کوچک‌تر از نرهایند و رنگ آن‌ها مات است. بعد از اتمام جفت‌گیری، ماهی نر جنسیت ماده را از ناحیهٔ لانه دور کرده و به‌تنهایی به مراقبت از تخم‌ها می‌پردازد (Jaroensutasinee and Jaroensutasinee, 2001). هورمون تستوسترون به‌منزلهٔ یکی از مهم‌ترین آندروژن‌ها در تولید اسپرم و بروز رفتارهای جنسی / خشونتی مطرح است. بنابراین، در این مطالعه تغییرات غلظت هورمون تستوسترون همچنین واکنش‌های خشونتی در مقابل جنسیت ماده در ماهی جنگجوی نر به دنبال شش روز قرارگیری در معرض فلوکستین بررسی شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. ماهی‌ها

تعداد ۱۹ عدد ماهی جنگجوی نر با میانگین وزن ۰/۳۹ ± ۱/۵۷ گرم و ۳۳ عدد مادهٔ بالغ (۰/۳۱ g ± ۱/۰۲) از یک مرکز توزیع ماهیان زینتی در شهرستان کرج خریداری شد. ماهیان به آزمایشگاه انتقال داده شدند و نرها به صورت انفرادی در مخزن‌های پلاستیکی ۱ لیتری کاملاً کدر قرار داده شدند؛ ماده‌ها نیز در دو تانک ۲۰ لیتری نگهداری شدند. دمای آب در ۲۶ °C و دورهٔ نوری در ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شد. ماهی‌ها روزانه یک یا دو مرتبه با کرم خونی منجمد (ماهیران) و غذای پلت (بیومار) تغذیه می‌شدند و هر سه روز یک‌بار نیز آب مخازن با آب تازه و کلرزدایی‌شده تعویض می‌شد.

۲.۲. آماده‌سازی محلول ذخیره

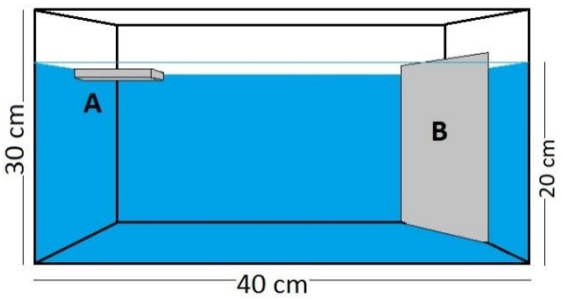
در این آزمایش از غلظت ۰/۵۴ µg/L فلوکستین استفاده شد، چرا که این غلظت در آب‌های طبیعی (در آمریکای شمالی به‌خصوص کشور کانادا) گزارش شده است (Fent *et al*., 2006) و البته دامنهٔ غلظت ۰/۵ µg/L تا ۶ µg/ml برای تغییر در بروز رفتارهای خشونتی ماهی جنگجو مؤثر است (Lynn *et al*., 2007). برای ساخت محلول ذخیره، ۱ mg فلوکستین (شرکت داروسازی دکتر عبیدی، تهران) در ۱۰ ml سرم فیزیولوژیک حل شد و مقدار لازم به مخازن برای غلظت نهایی ۰/۵۴ µg/L اضافه شد. ماهی‌ها در دو مدت زمان شش روز (انتخاب این تعداد روز بر پایهٔ مدت زمان لازم برای طی یک دورهٔ تخم‌ریزی و محافظت از تخم‌ها و لاروها بود) ارزیابی شدند. بدین صورت که ماهی‌ها نخست در تیمار کنترل تست شدند سپس همان ماهیان در تیمار فلوکستین ارزیابی شدند تا رفتارها از نمونه‌های مشابه به دست آید و امکان مقایسه فراهم باشد. شایان ذکر است که همهٔ شرایط خارجی از قبیل منبع آب مورد استفاده، درجهٔ حرارت، کیفیت آب و رژیم نوری در بین دو تیمار یکسان بود.

Archive of SID

www.SID.ir

۳.۲. تانک تکثیر و عملیات تخم‌ریزی

از همهٔ ماهیان نر آزمون‌های رفتاری به عمل آمد، اما تنها اطلاعات ۱۴ نر استفاده شد. پنج ماهی باقیمانده برای اندازه‌گیری میزان هورمون استفاده شدند. تانک‌های تکثیر (۴۰×۳۰×۳۰ cm؛ ۳۶ لیتر) بدون کف‌پوش شنی بود، ارتفاع آب ۲۰ cm و دمای آب به وسیلهٔ بخاری خودکار در ۲۶ °C تنظیم شد. هیچ‌گونه هوادهی انجام نشد. برای تخم‌ریزی، به ازای هر ماهی نر یک ماده به تانک اضافه شد. برای حفظ جان ماده از حملات و ضربه‌های ماهی نر طی لانه‌سازی، گلدانی سفالی در گوشهٔ تانک قرار داده شد. تانک‌ها حاوی یک محفظه (B) برای معرفی «ماهی مزاحم» در سمت مخالف محل لانه‌سازی بودند. این محفظه با چسباندن شیشه‌ای (۲۰×۱۱ cm) به صورت مورب ایجاد شد. از یک قطعه یونولیت ۸×۱۰ cm به منظور لانه‌سازی در سطح آب استفاده شد (A؛ شکل ۱). در ابتدا ماهی نر به تانک معرفی شد. پس از لانه‌سازی اولیه، ماهی ماده آمادهٔ تخم‌ریزی نیز به آن اضافه شده و پس از اتمام تخم‌ریزی، بلافاصله از تانک خارج شد.



شکل ۱. نمای شماتیک از یک تانک تکثیر مورد استفاده در آزمایش. A نشان‌دهندهٔ سوبسترای ساخت لانهٔ حبابی روی سطح آب و B محفظهٔ ورود ماهی مزاحم است.

۴.۲. رفتارهای خشونتی

اولین آزمون (به‌منزلهٔ آزمون قبل از لانه‌سازی؛ BB) در ۵ الی ۷ ساعت بعد از ورود ماهی نر به تانک انجام شد. دومین آزمون، پس از ساخت لانهٔ حبابی اولیه (AB) انجام شد. در اکثر موارد، آزمون دوم در صبح روز بعد از ورود ماهی نر بود، چرا که اغلب نرها در این مدت لانهٔ اولیه ساخته بودند. پس از انجام آزمون دوم، یک ماهی ماده آمادهٔ تخم‌ریزی به تانک معرفی شد. پس از تخم‌ریزی، ماده خارج شد و سومین آزمون رفتاری (AS) بررسی شد. چهارمین آزمون نیز پس از تفریخ تخم‌ها (AH) صورت گرفت. همهٔ آزمون‌های رفتاری ۵ دقیقه بودند. در هر مرحله، مادهٔ مزاحم به محفظهٔ B وارد می‌شد و رفتارها با اولین نمایش آبشش‌ها در ماهی میزبان به وسیلهٔ دوربین Nikon Coolpix P6000 فیلم‌برداری شد.

رفتارهای مورد بررسی شامل: ۱. بروز اولین واکنش به ماهی مزاحم، ۲. مدت زمان نمایش آبشش‌ها، ۳. مدت زمان گسترده‌کردن باله‌ها، ۴. تعداد گازگرفتن‌ها، ۵. تعداد رفت و برگشت به لانه و ۶. تعداد چرخش‌های ۹۰ درجه در مقابل مزاحم بودند.

۵.۲. اندازه‌گیری هورمون

برای سنجش میزان تستوسترون در نمونه‌ها (۵ نمونه از ۱۹ ماهی اولیه و ۵ نمونه از ۱۴ ماهی باقیمانده پس از در معرض‌گذاری با فلوکستین) از کیت الایزا شرکت پادتن‌گستر ایثار استفاده شد و با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر BioTek مدل GLX 808™ اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که این کیت انسانی روی ماهی سنجش شد. توازی خوب مشاهده‌شده

Archive of SID
www.SID.ir

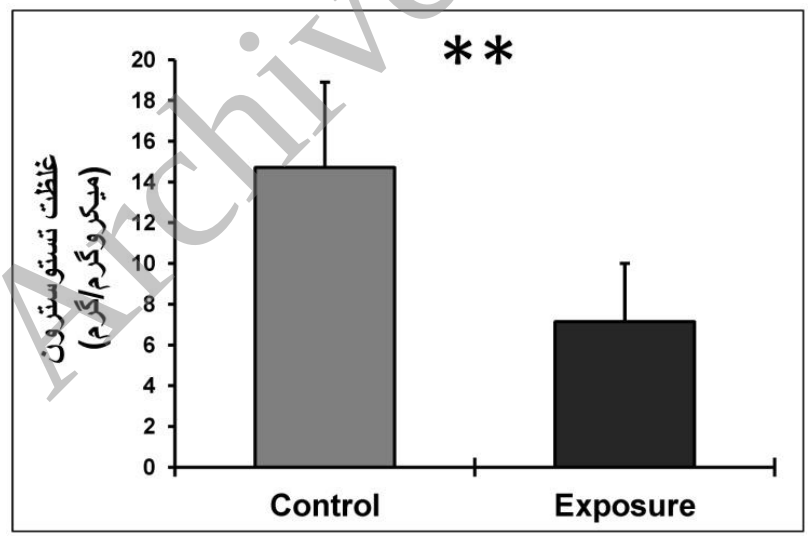
بین خطوط استاندارد کیت انسانی و منحنی رقت نمونه‌های ماهی حاکی از اعتبار این سنجش در ماهی بود. به علت اندازهٔ کوچک ماهی‌ها، از کل بدن آن‌ها سنجش هورمون انجام گرفت (Kroon and Liley, 2000). بدین صورت، پس از کوبیدن ماهی در یک ظرف دوجدارهٔ محتوی یخ، مقدار ۱ گرم از آن در اپندورف ریخته شد تا غلظت تستوسترون نهایی در ۱ گرم محاسبه شود. اپندورف‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. سپس سوپرناتانت به‌دقت خارج شد و در اپندورف‌های جدید در °C ۷۰- تا زمان سنجش نگهداری شدند.

۶.۲. آنالیز آماری

داده‌های مربوط به رفتارهای خشونتی و سطح تستوسترون در دو تیمار آزمایشی در نرم‌افزار SPSS v.19 پردازش شدند. نخست، تست نرمال‌بودن برای داده‌ها انجام شد. سپس از آزمون t مستقل (در صورت نرمال‌بودن) یا آزمون ناپارامتریک ویلکاکسون (در صورت نرمال‌نبودن) در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ برای مقایسهٔ میانگین‌ها استفاده شد.

۳. نتایج

پس از گذشت ۶ روز از در معرض‌گذاری با غلظت‌های صفر و ۰/۵۴ µg/L فلوکستین، تفاوت معناداری بین دو تیمار از لحاظ میزان تستوسترون کل بدن مشاهده شد ($F= ۳/۰۶۷$، $p< ۰/۰۱$). با توجه به شکل ۳ مشخص است که گروه کنترل میزان تستوسترون بیش‌تری (۴/۱۹ ± ۱۴/۷۱) نسبت به گروه در معرض قرار گرفته با فلوکستین (۲/۸۷ ± ۷/۱۳) داشته است.



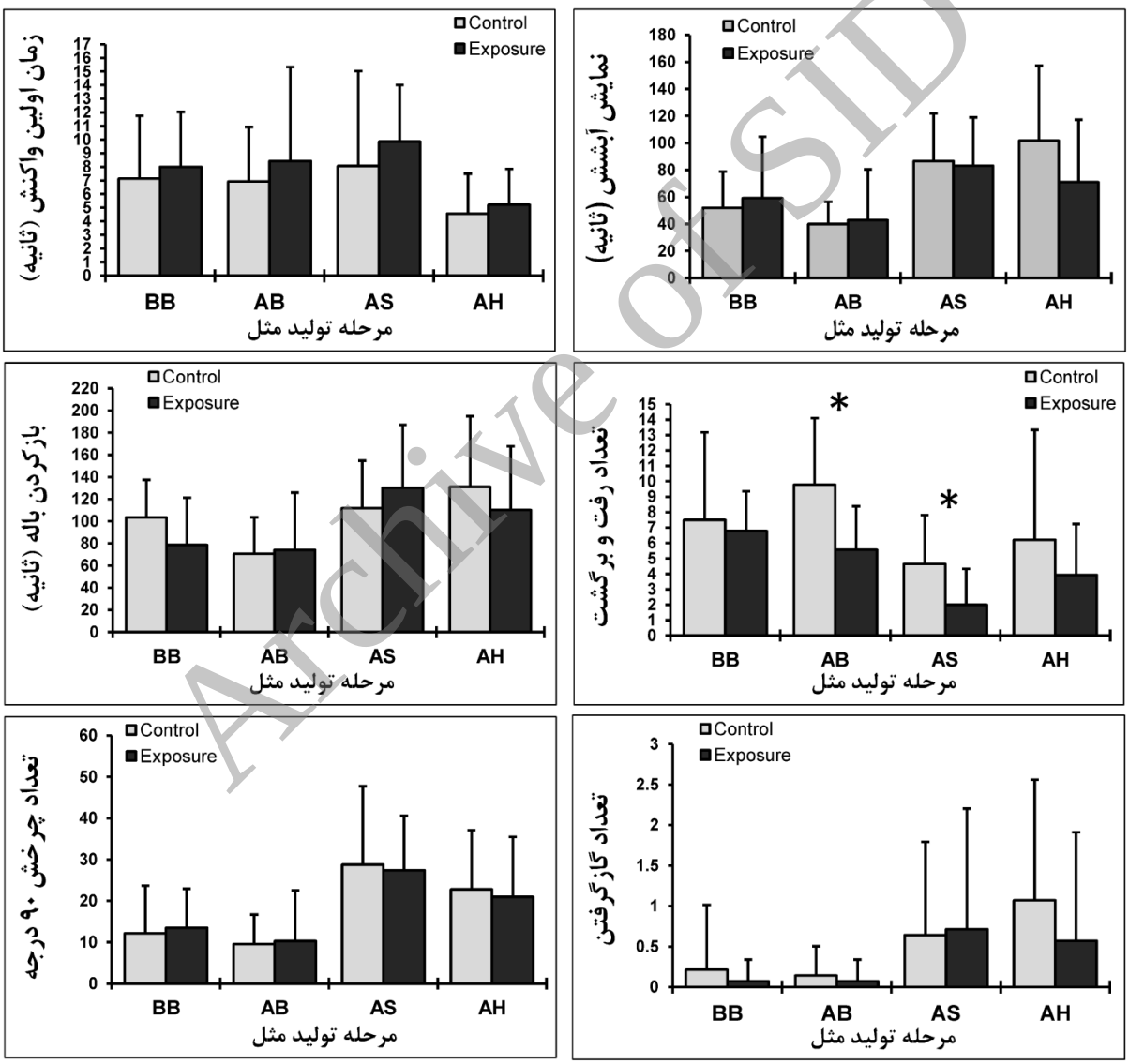
شکل ۲. غلظت هورمون تستوسترون کل بدن در ماهی جنگجو (*Betta splendens*) به دنبال شش روز قرارگیری در معرض غلظت‌های صفر و ۰/۵۴ µg/L فلوکستین؛ (p<0.01).**

طی شش روز در معرض‌گذاری با فلوکستین، اختلاف معنادار آماری بین دو تیمار آزمایشی در رفتارهای زمان اولین واکنش به ماهی مزاحم، فراوانی نمایش آبشش‌ها و بازکردن باله‌ها در مقابل ماهی

Archive of SID

www.SID.ir

مزاحم، تعداد گازگرفتن‌ها و تعداد چرخش‌های ۹۰ درجه در مقابل مزاحم در مراحل مختلف تولیدمثلی شامل قبل از لانه‌سازی، بعد از ساخت لانه، بعد از تخم‌ریزی و بعد از تفریخ تخم‌ها مشاهده نشد. با وجود معنادارنبودن این رفتارها، در شکل ۴ مشخص است که مقادیر داده‌های خشونتی در اغلب مراحل تولیدمثلی در تیمار کنترل بیش‌تر از ماهیان در معرض قرار گرفته با فلوکستین است. در مورد رفتار رفت و برگشت به لانه در مقابل ماهی ماده مزاحم، مشخص است که علاوه بر بیش‌تربودن تعداد این رفتار در تیمار کنترل در همهٔ مراحل تولیدمثلی اختلاف دو گروه در مراحل بعد از لانه‌سازی و بعد از تخم‌ریزی معنادار است.



شکل ۳. فراوانی یا تعداد بروز (میانگین ± انحراف معیار) رفتارهای خشونتی جنسیت نر ماهی جنگجو (*Betta splendens*) در مقابل ماهی ماده طی مراحل مختلف یک دورهٔ تولیدمثل (BB: قبل از لانه‌سازی؛ AB: بعد از لانه‌سازی؛ AS: بعد از تخم‌ریزی؛ AH: بعد از تفریخ). (,* $p<0.05$).

Archive of SID
www.SID.ir

۴. بحث و نتیجه‌گیری

با ورود هرچه بیش‌تر مواد دارویی به اکوسیستم‌های طبیعی، تأثیرات جانبی آن‌ها در جانوران مختلف آبزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این مواد آلاینده می‌توانند در سیستم درون‌ریز، مورفولوژی، رفتار و دیگر جنبه‌های زندگی یک موجود تأثیرگذار باشند. نتایج این مطالعه نشان داد که در ماهی جنگجو سطوح تستوسترون کل بدن به دنبال در معرض قرارگیری با غلظت محیطی فلوکستین نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار داشته است. این یافته با مطالعهٔ انجام‌شده دربارهٔ *C. auratus* همخوانی دارد که در آن Mennigen *et al*. (2010) نشان دادند فلوکستین، با کاهش سطوح در گردش تستوسترون، موجب پایین‌آمدن شاخص گنادی و در نتیجه حجم کم‌تر مایع اسپرمی می‌شود. یکی از مهم‌ترین تأثیرات جانبی مصرف فلوکستین در افراد دارای افسردگی کاهش میل جنسی و حجم کم‌تر مایع منی در مردان است که ذکر شده است این تأثیرات با کاهش میزان تستوسترون پلاسما در ارتباط مستقیم‌اند (Safarinejad, 2008). با توجه به این نکته که تستوسترون در ماهیان نقش اساسی در فرایندهای بلوغ اسپرم (اسپرماتوژنزیس و اسپرمیشن) ایفا می‌کند (Schulz *et al*., 2009)، بنابراین می‌توان گفت که القای فلوکستین موجب تغییرات جدی در بروز رفتارها و نتایج تولیدمثلی در آبزیان خواهد شد (برای مثال، کاهش تولید تخم در ماهی زبرا، Lister *et al*., 2009؛ اختلال در مسیر تولیدمثلی و کاهش هورمون استرادیول در جنسیت ماده ماهی طلایی، Mennigen *et al*., 2008؛ القای تخم‌ریزی و تغییر سطوح استرادیول در صدف زبرا، *Dreissena polymorpha*، Lazzara *et al*., 2012).

بر اساس نتایج این مطالعه مشخص است که فلوکستین در رفتارهای خشونتی ماهی نر در مقابل جنسیت ماده طی یک دورهٔ تولیدمثل تأثیرگذار بوده است. زمان اولین واکنش به ماهی مزاحم در ماهیان در معرض بوده با فلوکستین در اغلب مراحل تولیدمثلی بیش‌تر از ماهیان تیمار کنترل بود. این امر نشان می‌دهد که فلوکستین سستی و رخوت را در ماهیان به همراه داشته است. Lynn *et al*. (2007) نشان دادند که غلظت‌های ۳ و ۶ µg/ml فلوکستین در ۳ و ۵ ساعت در معرض قراردهی موجب افزایش زمان لازم برای پاسخ ماهی جنگجوی نر به محرک مصنوعی می‌شود، اگرچه اختلاف معناداری در این رفتار گزارش نشده بود که مطابق نتایج مطالعهٔ حاضر است. در این زمینه، تعداد رفت و برگشت‌ها به لانه و تعداد چرخش‌های ۹۰ درجه در مقابل ماهی مزاحم نیز از فلوکستین تأثیر گرفته بودند. کاهش میزان تحرک در ماهی جنگجو به دنبال القای فلوکستین از سوی دیگر محققان نیز گزارش شده است (برای مثال، Kohlert *et al*., 2012). در انسان، فلوکستین موجب کاهش استرس و حس آرامش می‌شود، هرچند میل جنسی را نیز پایین می‌آورد (Stroud, 2012). رفتار رفت و برگشت به لانه در ماهی جنگجو در مقابل جنسیت ماده بیش‌تر به معنای جذب آن برای جفت‌گیری است و کم‌ترشدن معنادار آن در حضور فلوکستین بیانگر کاهش میل جنسی ماهی نر برای تولیدمثل دوباره است.

رفتارهای نمایش آبشش‌ها و بازکردن باله‌ها عمومی‌ترین حالت‌های خشونتی ماهی جنگجوی نر

Archive of SID

www.SID.ir

در مقابل افراد همنوع است (Dzieweczynski and Hebert, 2012) که در مطالعهٔ حاضر به دنبال القای فلوکستین در اغلب مراحل تولیدمثلی کاهش داشتند. همچنین، گازگرفتن خشن‌ترین حالتی است که ماهی نر برای تقابل از خود بروز می‌دهد. این رفتار نیز در اثر فلوکستین کم‌تر شده بود. اگرچه چندین مطالعه کاهش رفتارهای فوق را در اثر فلوکستین در ماهی جنگجو نشان داده‌اند (Dzieweczynski and Hebert, 2012؛ Kohlert *et al.*, 2012؛ Lynn *et al.*, 2007؛ Clotfelter *et al.*, 2007)، اما آزمایش این محققان به صورت تک‌فاز بوده است. این در حالی است که در مطالعهٔ حاضر، رفتارهای ماهی جنگجوی نر در بستر یک فاز دنباله‌دار (تولیدمثل) بررسی شده است. با توجه به نتایج مشخص است که بروز رفتارهای اصلی خشونتی ماهی نر (نمایش آبشش‌ها، بازکردن باله‌ها و گازگرفتن) با نزدیک‌شدن به مراحل انتهایی تولیدمثل افزایش یافته‌اند. این وضعیت در هر دو تیمار آزمایشی قابل مشاهده است؛ هرچند میانگین رفتارها در اغلب مراحل تولیدمثلی در تیمار کنترل بیش‌تر از ماهیانی بود که در معرض فلوکستین قرار گرفته بودند.

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که فلوکستین با ایجاد اختلال در سیستم درون‌ریز و سطوح آندروژن‌ها و به تبع آن، تأثیر در بروز واکنش‌های خشونتی، نقش تخریبی زیادی بر موفقیت تولیدمثلی ماهی جنگجو دارد. فلوکستین موجب شد که ماهی میزبان در مدت زمان بیش‌تری به محرک پاسخ دهد که این امر احتمال ازدست‌دادن قلمرو را برای ماهی نر محافظ لانه بیش‌تر می‌کند. کاهش رفتارهای اصلی خشونتی همانند نمایش آبشش‌ها، بازکردن باله‌ها و گازگرفتن و کاهش سطح کلی تستوسترون از جمله تأثیرات در معرض قرارگیری ماهی جنگجو در غلظت ناچیز ۰/۵۴ µg/L فلوکستین است. مسلماً، با توجه به افزایش استفاده از داروهای SSRI برای درمان مجموعه اختلالات افسردگی، مدیریت مناسب در زمینهٔ تصفیهٔ پساب‌های شهری و بیمارستانی نیاز است تا از ورود آن‌ها به طبیعت جلوگیری شود.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1]. Brooks, B.W., Foran, C.M., Richards, S.M., Weston, J., Turner, P.K., Stanley, J.K., Solomon, D.R., Slattery, M., La Point, T.W., 2003. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. Toxicological Letters 142, 169-183.

[2]. Clotfelter, E.D., O'Hare, E.P., McNitt, M.M., Carpenter, R.E., Summers, C.H., 2007. Serotonin decreases aggression via 5-HT_{1A} receptors in the fighting fish *Betta splendens*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 87, 222-231.

[3]. Dzieweczynski, T.L. and Hebert, O.L., 2012. Fluoxetine alters behavioral consistency of aggression and courtship in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. Physiology and Behavior 107, 92–97.

[4]. Fent, K., Westron, A.A., Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic Toxicology 76, 122–59.

[5]. Foran, C.M., Weston, J., Slattery, M., Brooks, B.W., Huggett, D.B., 2004. Reproductive assessment of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) following a four week fluoxetine exposure (SSRI). Archive Environmental Contaminant Toxicology 46, 511–517.

[6]. Forsatkar, M.N., Nematollahi, M.A., Amiri, B.M., Huang, W.B., 2014. Fluoxetine inhibits aggressive behaviour during parental care in male fighting fish (*Betta splendens*). Ecotoxicology 23(9), 1794-1802.

[7]. Gaworecki, K.M., Klain, S.J., 2008. Behavioral and biochemical responses of hybrid striped bass during and after fluoxetine exposure. Aquatic Toxicology 80, 207-13.

[8]. Herman, J.B., Brotman, A.W., Pollack, M.H., Falk, W.E., Biederman, J., Rosenbaum, J.F., 1990. Fluoxetine-induced sexual dysfunction. Journal of Clinical Psychiatry 51, 25-7.

[9]. Jaroensutasinee, M. and Jaroensutasinee, K., 2001. Bubble nest habitat characteristics of wild Siamese fighting fish. Journal of Fish Biology 58, 1311–1319.

[10]. Kohlert, J.G., Mangan, B.P., Kodra, C., Drako, L., Long, E., Simpson, H. 2012. Decreased aggressive and locomotor behaviors in Betta splendens after exposure to fluoxetine. Psychological Reports 110(1), 51-62.

[11]. Kroon, F.J., Liley, N.R., 2000. The Role of Steroid Hormones in Protogynous Sex Change in the Blackeye Goby, Coryphopterus nicholsii (Teleostei: Gobiidae). General and Comparative Endocrinology 118(2), 273-283.

[12]. Lazzara, R., Blázquez, M., Porte, C., Barata, C., 2012. Low environmental levels of fluoxetine induce spawning and changes in endogenous estradiol levels in the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Aquatic Toxicology 106-107, 123-13.

[13]. Lister, A., Regan, C., Van Zwol, J., Van der Kraak, G., 2009. Inhibition of egg production in zebrafish by fluoxetine and municipal effluents: a mechanistic evaluation. Aquatic Toxicology 95, 320–329.

[14]. Lynn, S.E., Egar, J.M., Walker, B.G., Sperry, T.S., Ramenofsky, M., 2007. Fish on Prozac: a simple, noninvasive physiology laboratory investigating the mechanisms of aggressive behavior in *Betta splendens*. Advances in Physiology Education 31, 353-63.

[15]. Mennigen, J.A., Lado, W.E., Zamora, J.M., Duarte-Gutermna, P., Langlois, V.S., Metcalfe, C.D., Chang, J.P., Moon, T.W., Trudeau, V.L., 2010. Waterborne fluoxetine disrupts the

Archive of SID

www.SID.ir

reproductive axis in sexually mature male goldfish, *Carassius auratus*. Aquatic Toxicology 100, 354-64.

[16]. Mennigen, J.A., Martyniuk, C.J., Crump, K., Xiong, H., Zhao, E., Popesku, J., Anisman, H., Cossins, A.R., Xia, X., Trudeau, V.L., 2008. Effects of fluoxetine on the reproductive axis of female goldfish (*Carassius auratus*). Physiological Genomics 35, 273-282.

[17]. Safarinejad, M.R., 2008. Evaluation of endocrine profile and hypothalamic-pituitary-testis axis in selective serotonin reuptake inhibitor-induced male sexual dysfunction. Journal of Clinical Psychopharmacology 28, 418–423

[18]. Schulz, R.W., de Franc, L.R., Lareyre, J.J., Legac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R.H., Miura, T., 2009. Spermatogenesis in fish. General and Comparative Endocrinology 165, 390-411.

[19]. Stroud, P., 2012. Corticosteroidogenesis as a Target of Endocrine Disruption for the Antidepressant Fluoxetine in the Head Kidney of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thesis, University of Ottawa, p:127.

[20]. Zajecka, J., Fawcett, J., Schaff, M., Jeffriess, H., Guy, C., 1991. The role of serotonin in sexual dysfunction: fluoxetine-associated orgasm dysfunction. Journal of Clinical Psychiatry 52, 66-8.

Archive of SID

www.SID.ir

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
ص ۴۶۷-۴۷۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۲۹

تنوع ژنتیکی اردک‌ماهی (*Esox lucius*; Linnaeus, 1758) در شرق دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهواره

❖ **محمدرضا کلباسی*:** استاد گروه شیلات دانشکدهٔ منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس، نور
❖ **مونا تبرک:** کارشناس ارشد رشتهٔ تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه تربیت مدرس، نور
❖ **محمدصادق علوی یگانه:** استادیار گروه زیست‌شناسی دریا دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

اردک‌ماهی یکی از گونه‌های اقتصادی و باارزش حوزهٔ جنوبی دریای خزر است که اطلاعات دربارهٔ جمعیت‌های مختلف آن در حوزهٔ جنوبی خزر در دسترس نیست. با توجه به اهمیت شناخت تنوع ژنتیکی در مدیریت ذخایر و حفاظت از گونه‌ها در این مطالعه از هفت جفت آغازگر ریزماهواره‌ای برای بررسی ۹۰ نمونه اردک‌ماهی از سه منطقهٔ دهانهٔ رودخانهٔ تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز واقع در استان مازندران استفاده شد. میانگین تعداد آلل مشاهده‌شده در نمونه‌های رودخانهٔ تجن ۰/۲۸۶ و ایزدشهر ۱/۰۱۰ و تالاب لپوی ۰/۸۰۰ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار برای مجموع نمونه‌ها به ترتیب ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ محاسبه شد. نتایج آزمون انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد که تنها یکی از نمونه‌ها در تعادل قرار داشت. با توجه به نتایج، علائمی از تنگنای ژنتیکی در جمعیت‌ها دیده شد. دندروگرام ترسیمی و آزمون واریانس مولکولی بیانگر وجود سه جمعیت مجزا در سه منطقهٔ مورد مطالعه بود که می‌بایست در مدیریت ذخایر این گونه مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: اردک‌ماهی، تالاب لپوی زاغمرز، تعادل هاردی- واینبرگ، خزر، ریزماهواره.

* نویسندهٔ مسئول تلفکس: ۰۹۱۱۲۲۰۴۳۳۶
Email: kalbassi_m@modares.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

تنوع ژنتیکیْ قابلیت بقای یک گونه یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی تعیین می‌کند و از این رو برای بقای طولانی‌مدت یک گونه ضروری است (Bataillon *et al.*, 1996). در منابع آب شیرین نیز، تنوع ژنتیکی اهمیتی حیاتی در مدیریت و حفاظت از گونه‌ها دارد و به‌منزلهٔ اولین پیش‌نیاز برای حفظ سازگاری جمعیت‌ها در شرایط محیطی در حال تغییر قلمداد می‌شود (Diz and Persa, 2009). بسیاری از عوامل تکاملی در میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها و در نتیجه اختلاف جمعیت‌ها تأثیرگذارند (Felsenstein, 1985).

آگاهی از میزان ذخایر توارثی و تنوع ژنتیکی بین افراد یک گونه از اهداف ارزشمند مدیریت ذخایر و اصلاح نژاد است، به طوری که بررسی‌های ژنتیک جمعیت یا اکولوژی مولکولی ماهیان باارزش اقتصادی به منظور حفاظت از جمعیت آن‌ها و حفظ صید پایدار بسیار ضروری است (Wang *et al.*, 2007). هم‌اکنون، کاهش ذخایر آبزیان در اکثر نقاط دنیا توجه محققان را به اعمال روش‌های دقیق مولکولی برای مدیریت ذخایر آبزیان جلب کرده است (Lin *et al.*, 2002). در ابتدا ارزیابی ساختار ذخایر، تشخیص گونه‌ها و جمعیت‌ها با استفاده از صفات مورفومتریک و مریستیک صورت می‌گرفت، اما با توجه به حساسیت بالای این صفات به تغییرات محیطی و آثار منفی دستکاری در نشانه‌گذاری بر سلامت ماهیان همچنین، محدودبودن تفسیر داده‌های حاصل از آن، علم استفاده از نشانگرهای مولکولی، همچون ریزماهواره‌ها، آلوزایم و RAPD برای شناسایی ساختار ژنتیکی ذخایر توسعه یافت (Verapoor and Jordan, 1989).

ریزماهواره‌ها توالی‌های تکرارشونده از توالی DNA هستند، که به‌منزلهٔ نشانگری جمعیتی به‌سرعت در حال جایگزینی با دیگر نشانگرهایند و کاربردهای فراوانی در زمینهٔ ژنتیک تکامل و حفاظت دارند (Ward *et al.*, 2002). نشانگر ریزماهواره‌ها دارای چندریختی بالایی است به طوری که می‌تواند برای آنالیزهای ژنتیک جمعیت، به‌ویژه در مورد جمعیت‌هایی که در دیگر نشانگرها تنوع کمی نشان می‌دهند، بسیار مفید باشد (Evans *et al.*, 2004) و امروزه نشانگرهای مولکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص دهند (Ferguson *et al.*, 1995). بنابراین، یکی از ضروریات اصلی مدیریت علمی ذخایر شناخت ذخایر و جمعیت‌های تشکیل‌دهندهٔ آن گونه است.

اردک‌ماهی با نام علمی *Esox lucius* متعلق به خانوادهٔ اردک‌ماهیان است. اعضای این خانواده عمدتاً ساکن آب شیرین و لب شورند و به طور گسترده در نیمکرهٔ شمالی زمین پراکنده‌اند. ارزش بالای اردک‌ماهی از نظر کیفیت بالای گوشت، داشتن استخوان‌های کم، پایین‌بودن مقدار چربی (۰/۵ تا ۱/۲ درصد) و پروتئین بالا (۱۸/۷ تا ۱۹ درصد) باعث شده تا این گونه جایگاه ویژه‌ای از نظر تغذیه‌ای در بین مردم دنیا به خود اختصاص دهد و نقش اقتصادی مهمی را در بازارهای منطقه‌ای و ملی ماهی ایفا کند. هم‌اکنون عمدهٔ صید اردک‌ماهی در ایران از تالاب انزلی صورت می‌گیرد و زندگی و معیشت بسیاری از صیادان منطقه به آن وابسته است، اما پراکنش این گونه محدود به این تالاب نیست و در اغلب

Archive of SID

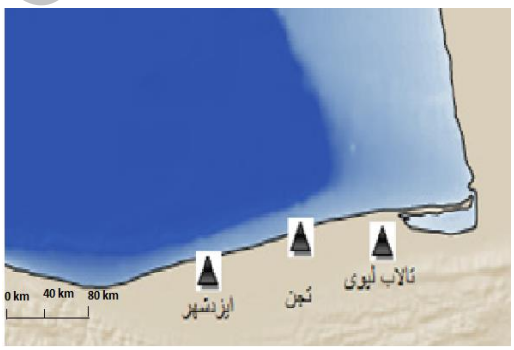
www.SID.ir

تالاب‌های حاشیه‌ای جنوب خزر زیست می‌کند که این زیستگاه‌ها با توجه به مساحت کم‌تر و به‌تبع وجود جمعیت پایهٔ اندک از حساسیت‌های بیش‌تری برخوردار است و ذخایر ژنی محدودتری را دربر می‌گیرد.

متأسفانه با وجود اهمیت موضوع، هیچ اطلاعاتی در خصوص جمعیت‌های مختلف اردک‌ماهی در ایران در دسترس نیست (Coad, 2012) و تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای دربارهٔ جمعیت‌شناسی و وضعیت ژنتیکی این گونهٔ ارزشمند صورت نگرفته است. با توجه به ضروری‌بودن این اطلاعات برای مدیریت ذخایر این گونه و امکان استفاده از این اطلاعات در برنامه‌های بازسازی ذخایر و حفظ تنوع این ماهی، این مطالعه با هدف بررسی ساختار ژنتیکی اردک‌ماهی در سواحل شرقی دریای خزر در استان مازندران و زیستگاه‌های اصلی این گونه یعنی منطقهٔ تالاب لپوی زاغمرز، ایزدشهر و رودخانهٔ تجن با روش مولکولی و استفاده از هفت جایگاه ریزماهواره بررسی شده است. با هدف تعیین تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت اردک‌ماهی تالاب انزلی، به‌منزلهٔ یکی از گونه‌های باارزش تالاب انزلی، و با استفاده از نشانگرهای میکروستلایت تنوع ژنتیکی و جمعیت‌های احتمالی شناسایی می‌شود.

۲. مواد و روش‌ها

۹۰ عدد اردک‌ماهی از رودخانهٔ تجن، آب‌بندان‌های ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز در سال ۱۳۹۱ نمونه‌برداری شد (شکل ۱).



	N	E
تالاب لپو	۳۶ ۴۹ ۲۱	۵۳ ۲۰ ۱۲
امیر کلایه	۳۶ ۳۸ ۶۵	۵۲ ۳۷ ۷۰
ایزدشهر	۳۶ ۳۴ ۰۹	۵۲ ۱۱ ۱۵

شکل ۱. مناطق نمونه‌برداری اردک‌ماهی

به منظور مطالعهٔ مولکولی حدود ۳-۲ گرم از بافت بالهٔ سینه‌ای هر ماهی جدا و تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم (Hillis *et al.*, 1996) انجام پذیرفت. DNAاستخراج‌شده پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر دوبارتقطیر تا زمان انجام مطالعات در فریزر نگهداری شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی نیز با استفاده از ژل آگاروز یک درصد و روش اسپکتروفتومتری تعیین شد.

۱.۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی از هفت جفت نشانگر ریزماهوارهٔ Elu19، Elu51، Elu78، Elu87، EluB38INRA، Elu276 (Launey *et al.*, 2003 و Miller *et al.*, 1996) استفاده شد (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. خصوصیات جایگاه‌های به‌کار برده‌شده

کد آغازگر	توالی آغازگر	طول آلل
Elu19	CATCATGAACATTCAGACGC GAGATGCTAATTCATCCACTG	۱۴۷,۱۴۹,۱۵۵
Elu51	GTGGGCATTCAGCCGATATAGC CTGTCTCATTACTGCCTGGCTC	۱۳۸,۱۵۰
Elu76	ACCACATTCCACATCTGATGG AATCCCTTATTCTGACCCTGC	۱۶۵,۱۶۷
Elu78	CTAGAGGGGGAAAACAAACC CACTGTCCATCATCACCCCTCTC	۱۳۲,۱۳۶
Elu87	AGCACTGCCACACATGACGTG CCAGCTGCCTCAGATTGCTCCCC	۱۵۳,۱۵۷,۱۶۱
Elu276	CTCTCACAGTTCAAAGATGGC TCTTTAAACTGGGGGGGAGGAAAG	۱۴۹,۱۶۵
EluB38INRA	TGTCAGTGTGACTTGCTCC GTATTGTCAGCATTTCAGCTC	۱۸۸,۱۷۰

جایگاه‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۵ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۴۰۰ میکرومولار از نوکلئوتیدها، یک واحد بین‌المللی تگ DNA پلیمراز، ۱/۵ میلی‌مولار بافر 1X PCR، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم و آب مقطر تا رسیدن به حجم انجام گرفت. سیکل دمایی برای هر جایگاه عبارت بود از یک سیکل ۳ دقیقه‌ای در ۹۴ درجه، ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه برای ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه برای ۴۰ ثانیه به منظور اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه، بسطی نهایی در دمای ۷۲ درجه برای ۳ دقیقه و در انتها ۲۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۶ درصد (غیریونیزه) جداسازی شد. سپس ژل‌ها به روش نیترات نقره (Sambrook *et al.*, 1989) رنگ‌آمیزی شدند و پس از تهیهٔ تصویر با دستگاه مستندساز ژل، از نرم‌افزار Gel pro analyzer برای محاسبهٔ طول قطعات استفاده شد. تعداد آلل مشاهده‌شده و مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار (He) با استفاده از نرم‌افزار Genealex (Peakall and Smouse, 2006) محاسبه شد. برای تست انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ، مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار همچنین معنی‌داربودن احتمال کسری هتروزیگوسیتی یا زیادبودن هتروزیگوسیتی از نرم‌افزار Genepop (Raymond and Rousset, 1995) استفاده شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی درون و بین‌جمعیتی همچنین، میزان تمایز بین جمعیتی بر اساس مدل آللی بی‌نهایت (Fst) با استفاده از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بستهٔ نرم‌افزاری Genealex استفاده شد. تعیین فاصله و شباهت ژنتیکی نئی و رابطهٔ تکاملی بین جمعیت‌ها با استفاده از ترسیم درخت UPGMA نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh *et al.*, 1999) صورت گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۲. دندروگرام UPGMA برای نشان‌دادن روابط فیلوژنتیک بین نمونه‌های مناطق مختلف ایزدشهر، رودخانهٔ تجن و تالاب لپوی زاغمرز

۳. نتایج

هر هفت جفت آغازگر مورد استفاده چندشکلی را نشان دادند و بیش‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده در جایگاه EluB38 (۹) و کم‌ترین تعداد آلل مشاهده‌شده از جایگاه Elu76 (۲) بود. تعداد متوسط آلل‌های مشاهده‌شده و مؤثر در تالاب لپوی زاغمرز به ترتیب ۳/۸۵۷ و ۳/۱۵۰، در آب‌بندان‌های ایزدشهر ۳/۸۵۷ و ۳/۶۳۲ و در رودخانهٔ تجن ۳/۲۸۶ و ۲/۹۴۲ به دست آمد. میانگین مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (Ho) و مورد انتظار در کل نمونه‌ها (He) ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲. تنوع ژنتیکی هفت جایگاه مورد مطالعه در سه جمعیت اردک‌ماهی

		Elu19	Elu51	Elu76	Elu78	Elu87	Elu276	EluB38INRA
رودخانهٔ تجن	N_a	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۵
	N_e	۲/۵۷۱	۲/۸۶۶	۲/۵۷۱	۲/۶۳۲	۲/۷۷۸	۲/۶۳۲	۴/۵۴۵
	H_o	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۳۰۰	۰/۱۳۳	۰/۲۰۰	۰/۶۰۰	۰/۷۳۳
	H_e	۰/۶۱۱	۰/۶۵۱	۰/۶۱۱	۰/۶۲۰	۰/۶۴۰	۰/۶۲۰	۰/۷۸۰
	pHw	*	**	***	***	***	***	***
ایزدشهر	N_a	۲	۵	۵	۲	۲	۲	۹
	N_e	۱/۹۶۵	۵/۰۰۰	۴/۵۰۰	۱/۹۹۱	۸/۳۳۳	۳/۸۴۶	۵/۰۰۰
	H_o	۰/۲۰۰	۰/۸۰۰	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۰۶۷	۰/۱۳۳	۱/۰۰۰
	H_e	۰/۴۹۱	۰/۸۰۰	۰/۷۷۸	۰/۴۹۸	۰/۴۹۸	۰/۳۹۱	۰/۸۸۰
	pHw	**	***	***	*	***	***	***
تالاب لپوی زاغمرز	N_a	۳	۵	۲	۴	۳	۲	۸
	N_e	۲/۴۱۹	۴/۵۹۲	۱/۲۲۰	۳/۰۸۲	۲/۶۶۳	۱/۹۹۱	۶/۰۸۱
	H_o	۰/۲۶۷	۰/۹۳۳	۰/۱۳۳	۰/۳۳۳	۰/۲۶۷	۰/۲۶۷	۰/۴۳۳
	H_e	۰/۵۸۷	۰/۷۸۲	۰/۱۸۰	۰/۶۷۶	۰/۶۲۴	۰/۴۹۸	۰/۸۳۶
	pHw	***	***	ns	***	***	*	***

N_a: تعداد آلل، N_e: تعداد آلل مؤثر

H_o: هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده، H_e: هتروزیگوسیتی مورد انتظار، F_{is}: ضریب درون‌آمیزی

pHw: تست احتمال انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ (ns: عدم معنی‌داری، P≤۰/۰۵ *، P≤۰/۰۱ **، P≤۰/۰۰۱ ***)

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین بین مناطق مورد بررسی تفاوت معنی‌داری، از نظر میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار، مشاهده نشد ($p >$ ۰/۰۵). در بررسی تعادل هاردی- واینبرگ، ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) انحراف از تعادل نشان دادند. متوسط شاخص درون آمیزی (Fis) و جریان ژنی به ترتیب ۰/۴۱۱ و ۱/۴۴۴ را نشان دادند (جدول ۳).

جدول ۳. شاخص Fit، شاخص Fis، میزان جریان ژنی (Nm) و شاخص Fst در میان جایگاه‌های مورد استفاده

	Elu19	۵۱Elu	۷۶Elu	۷۸Elu	۸۷Elu	۲۷۶Elu	۳۸B	میانگین
Fis	۰/۵۲۶	۰/۱۰۴	۰/۴۹۰	۰/۵۹۱	۰ /۶۹۷	۰/۳۳۷	۰/۱۳۲	۰/۴۱۱
Fit	۰/۶۰۵	۰/۲۰۴	۰/۶۰۲	۰/۶۳۳	۰/۷۶۷	۰/۵۵۷	۰/۲۱۲	۰/۵۱۲
Fst	۰/۱۶۶	۰/۱۱۱	۰/۲۲۰	۰/۱۰۳	۰/۲۲۹	۰/۳۳۲	۰/۰۹۲	۰/۱۷۹
Nm	۱/۲۵۳	۱/۹۹۴	۰/۸۸۵	۲/۱۷۷	۰/۸۴۲	۰/۵۰۳	۲/۴۵۶	۱/۴۴۴

شاخص تمایز (Fst)، شاخص همخونی در جمعیت (Fis)، شاخص همخونی در کل نمونه‌ها (Fit)

از نظر تمایز بین مناطق میزان شاخص Fst و Rst به ترتیب بر اساس آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) ۰/۱۷۹ و ۰/۶۰۸ به دست آمد. بر اساس معیار فاصلهٔ ژنتیکی Nei بیش‌ترین میزان شباهت ژنتیکی بین مناطق ایزدشهر و تجن و بیش‌ترین فاصلهٔ ژنتیکی بین ایزدشهر و تالاب لپوی زاغمرز بود. تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها ۲۳ درصد و درون جمعیت‌ها ۷۷ درصد محاسبه شد. دارنگارهٔ UPGMA به‌دست‌آمده بر اساس مقدار فاصلهٔ ژنتیکی نیز جدایی را بین جمعیت‌های سه منطقهٔ مورد بررسی نشان داد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

امروزه تنوع ژنتیکی یکی از شاخص‌های مهم وضعیت اکولوژیک اکوسیستم‌های آبی است که به‌منزلهٔ ابزاری منحصر به فرد و توانمند برای ارزیابی و مدیریت جوامع زیستی مطرح است (Avise, 2000). تنوع ژنتیکی یکی از سه سطح تنوع زیستی پیشنهادشدهٔ سازمان حفاظت جهانی برای برنامهٔ حفظ ذخایر است (Lucentini *et al.*, 2009).

ریزماهواره‌ها نشانگرهای ژنتیکی‌اند که به صورت گسترده در مطالعات ژنتیک جمعیت گونه‌های پرورشی و وحشی ماهیان استفاده می‌شوند (Liu *et al.*, 2006). در واقع، این نشانگرها ارزش بالایی دارند به طوری که علاوه بر فراوانی بالا در ژنوم همهٔ موجودات، تنوع قطعات تکرارشونده در آن‌ها بالاست که علت آن را می‌توان به نرخ بالای جهش در این نشانگر نسبت داد و از طرفی، به دلیل هم‌بارزبودن، هتروزیگوسیتی و جهش را بهتر از سایر نشانگرها نشان می‌دهد (Liu and Cordes, 2004). با توجه به آمار میزان صید اردک‌ماهی در سال‌های گذشته مشخص می‌شود که حجم تودهٔ زندهٔ این گونهٔ باارزش به علت صید بی‌رویه، آلودگی زیست‌محیطی و تخریب زیستگاه در معرض خطر است، به همین علت نیاز به آگاهی از ذخایر این ماهیان ضروری به نظر می‌رسد، که با وجود اهمیت بالای اردک‌ماهی اطلاعاتی دربارهٔ وضعیت ژنتیکی این ماهی در سواحل جنوبی خزر وجود ندارد.

Archive of SID

www.SID.ir

هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌ها جزو شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها از لحاظ روبه‌روشدن با تغییرات محیطی‌اند (Frankham, 2008) و ویژگی‌هایی همچون قابلیت رقابت و توانایی موجود برای بقا در زیستگاه‌های طبیعی را تعیین می‌کنند (Hakansson and Jensen, 2005). کاهش تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در سطح جمعیتی می‌تواند بیانگر کاهش تنوع ژنتیکی باشد (Lind *et al.*, 2009). هتروزیگوسیتی در مطالعهٔ ساختار جمعیت گونه‌ها ارزش بسیار دارد، زیرا هر هتروزیگوت ناقل آلل‌های متفاوتی است که نشان‌دهندهٔ تنوع است (Diz and Presa, 2009). در این بررسی متوسط تعداد آلل‌ها، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار به ترتیب ۳/۶۶۷، ۰/۳۸۳ و ۰/۶۲۱ به دست آمد. روی هم رفته، تفاوت معنی‌داری ($P>0.05$) از لحاظ تعداد آلل و هتروزیگوسیتی بین مناطق مورد بررسی مشاهده نشد. همچنین، متوسط هتروزیگوسیتی در جمعیت‌های مورد بررسی نزدیک به مقدار گزارش‌شده برای ماهیان آب شیرین به دست آمد (۰/۵۴، DeWoody and Avise, 2000). میانگین تعداد آلل‌ها در هر جایگاه ۷/۵ گزارش شده است (DeWoody and Avise, 2000). مقایسهٔ داده‌های حاصل نشان می‌دهد که هتروزیگوسیتی به‌دست‌آمده در این بررسی مناسب، ولی تعداد آلل آن پایین‌تر از تعداد آللی است که برای ماهیان آب شور بیان شده است (۱۳/۵، DeWoody and Avise, 2000). تحقیقات نشان می‌دهند که غنای آللی برای ارزیابی تنوع نمونه‌ها نسبت به هتروزیگوسیتی مناسب‌تر است. همچنین بالابودن غنای آللی نشان‌دهندهٔ بالابودن اندازهٔ جمعیت مؤثر است (Diz and Presa, 2009). در سطح جمعیت کاهش در تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در لکوس‌های ریزماهواره می‌تواند نشانه‌ای از کاهش تنوع ژنتیکی کاربردی در دیگر نواحی ژنوم باشد. بنابراین، جلوگیری از آن باید به‌منزلهٔ اولویتی در آبزی‌پروری بررسی شود (Lind *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای دربارهٔ پرورش P.maxima با وجود کاهش شایان توجه در غنای آللی افزایش زیادی در هموزیگوسیتی دیده نشد، همچنین این الگو در صدف‌های تولید هچری و چندین گونه از ماهیان مشاهده شد که موارد فوق این دیدگاه را، که هتروزیگوسیتی همچون غنای آللی به‌سرعت در معرض کاهش قرار نمی‌گیرد، تأیید می‌کند (Lind *et al.*, 2009). به طور کلی، تعداد کم آلل نشانه‌ای از تنگنای ژنتیکی است که در شرایط جمعیت وحشی ممکن است به علت جداشدن جمعیت یا کاهش شدید اندازهٔ مؤثر باشد (Ha *et al.*, 2009). از آن‌جا که میزان انحراف ژنتیکی نسبت معکوسی با اندازهٔ جمعت دارد، این اثر باعث افزایش انحراف ژنتیکی نیز می‌شود. تنگناهای جمعیتی کوتاه‌مدت، همانند وقتی که جمعیت پرورشی پایه‌گذاری می‌شود، ممکن است اثر کمی در هتروزیگوسیتی داشته باشد، اما انتظار می‌رود که به‌شدت تعداد آلل‌های موجود را کاهش دهد (Pampoulie *et al.*, 2006).

تعادل هاردی- واینبرگ در جوامعی صادق است که شرایطی چون تعداد افراد بالا، جمعیت بسته، جفت‌گیری تصادفی و احتمال جهش بالا در آن حکمفرما باشد و به طور کلی انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت‌های ماهیان زیاد است (Lucentini *et al.*, 2006). در این بررسی هر دو جمعیت در اکثر جایگاه‌ها انحراف از تعادل هاردی-

Archive of SID

www.SID.ir

واینبرگ را نشان دادند. ۲۰ نمونه از ۲۱ تست مورد بررسی به طور معنی‌داری انحراف از تعادل نشان دادند. ضریب درون‌آمیزی در همهٔ جایگاه‌های ژنی کسری هتروزیگوسیتی بالایی را نشان داد، علل زیست‌شناختی کسری هتروزیگوسیتی به‌خوبی شناخته نشده است و عوامل زیادی همچون اثر وهلاند، درون‌آمیزی، آلل صفر و به‌گزینی برای توضیح آن مطرح شده‌اند (Li *et al.*, 2009). وجود آلل‌های تکثیرنشده یا صفر در ماهی پدیده‌ای کاملاً عادی است و وجود این آلل‌ها در توارث ریزماهواره در ماهیان تأیید شده است (Rodzen and May, 2002). Xu *et al.* (2001) نیز وجود آلل‌های صفر را از عوامل مهم کسری هتروزیگوسیتی برشمردند، البته یک فاکتور به‌تنهایی نمی‌تواند این کسری هتروزیگوسیتی را توضیح دهد. جدا از دلایل زیست‌شناختی معمول در ایجاد کسری هتروزیگوسیتی، ریزماهواره‌ها به طور خاص مستعد این پدیده‌اند (Diz and Presa, 2009).

مقادیر Fst (۰/۱۷۹) به‌دست‌آمده بر اساس معیار Wright (1987) میان ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ مقدار بالای تمایز را بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد. با توجه به ماهیت ریزماهواره و نوع جهش‌های مؤثر در آن بسیاری از محققان آنالیز Rst را برای آن مناسب‌تر دانسته‌اند. Wachirachaikarn *et al.* (2009) نیز Rst را از آن رو که برای اندازه‌گیری تمایز جمعیت‌ها از اطلاعات مربوط به اندازهٔ آللی استفاده می‌کند نسبت به Fst قوی‌تر دانسته‌اند. نتایج Rst نیز نشان‌دهندهٔ تمایز بالا بین مناطق است، دندروگرام ترسیمی بر اساس فاصلهٔ ژنتیکی نیز جدایی بین مناطق را نشان داد به طوری که، در شرق دریای خزر ۳ جمعیت مجزای اردک‌ماهی شناسایی شد. بنابراین همهٔ آنالیزها تمایز بالایی را بین مناطق نشان می‌دهند. با توجه به فواصل جغرافیایی محدود و کم‌عمق سواحل دریای خزر به نظر می‌رسد این جمعیت‌ها به‌ویژه در رودخانهٔ تجن و ایزدشهر ارتباط محدودی با یک‌دیگر دارند. با تبادل نمونه‌ها تبادل ژن‌ها نیز پیش می‌آید و تبادل بیش‌تر منجر به کم‌شدن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌شود. با این‌که قانون ثابتی وجود ندارد، ولی مورد قبول واقع شده است که تمایزهای ژنتیکی بارز یا مهم احتمالاً تنها بین جمعیت‌هایی به وجود می‌آیند که به طور میانگین تنها کم‌تر از یک نمونه در هر نسل بین آن‌ها جابه‌جا می‌شود (Ryman and Utter, 1987). در این مطالعه نیز متوسط مهاجرت نزدیک به یک بود (۱/۴۴) که می‌تواند یکی از دلایل اصلی تمایز جمعیت‌ها باشد. این مورد نیز بر پایهٔ این فرضیه قرار دارد که تغییرات در فراوانی‌های آللی تنها بر اساس انحراف ژنتیکی تصادفی ایجاد می‌شود، به طور مشخص در برخی لکوس‌ها امکان ایجاد تفاوت‌های بارز به علت به‌گزینی و تغییرات مشابه وجود دارد (Hillis, 1996). با توجه به محدودبودن زیستگاه و تنگنای ژنی مشاهده‌شده این زیستگاه‌ها نیازمند حفاظت‌اند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1]. Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish

[2]. with special reference to the role of photoperiod and melatonin. Aquaculture 197, 63-98.

[3]. Avise, J. C., 2000. Phylogeography the history and formation of species. Harward University Press, Cambridge.

[4]. Bataillon, T. M., David, J. L. and Schoen, D. J., 1996. Neutral genetic markers and conservation: simulated Germplasm collections. Genetics 144,409-417.

[5]. Dewoody, J. A. and Avise, J. C. , 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. Fish biology 56, 461-473.

[6]. Diz, P. A., and Presa, P., 2009. The genetic diversity pattern of *Mytilus alloprovincialis* in Galician Rías (NW Iberian estuaries). Aquaculture 287, 278-285.

[7]. Frankham, R., 2008. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. Molecular Ecology 17, 325-333.

[8]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to Salmo. Fish Biology 47,103-126.

[9]. Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39,783-791.

[10]. Ferguson, A., Taggart, J. B., Prodohl, P. A., McMeel, O., Thompson, C., Stone, C., McGinnity, P. and

[11]. Hynes, R. A., 1995. The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations whit special reference to Salmo. Fish Biology 47,103-126.

[12]. Ha, H. P., Nguyen, T. T., Poompuang, S., Na-Nakorn, U., 2009. Microsatellites revealed no genetic differentiation between hatchery and contemporary wild populations of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage 1878) in Vietnam. Aquaculture 291, 154-160.

[13]. Hakansson, J. and Jensen, P., 2005. Behavioural and morphological variation between captive populations of red junglefowl (*Gallus gallus*) possible implications for conservation. Biological Conservation 122, 431-439.

[14]. Hillis, D. M. and Mortiz, C. 1996. Molecular systematic. 2nd Ed, Sinauer Associates Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts.

[15]. Launey, S., Krieg, F., Morin, J., Laroche, J., 2003. Five new microsatellite markers for Northern pike (*Esox lucius*). Mol. Ecol. Notes 3, 366–368.

Archive of SID

www.SID.ir

[16]. Li, J., wang, G., and Bai, Z. 2009. Genetic variability in four wild and two farmed stocks of the Chines freshwater pearl mussel (Hyriopsis cumingii) estimated by microsatellite DNA markers. Aquaculture 287 ,286-291.

[17]. Lin, Y. S., Poh, Y. P., Lin, S. M. and Tzeng, C. S. , 2002. Molecular techniques to identify freshwater eels. Zoological Studies 41,421-430.

[18]. Lind, C. U., Evans, B. S., Knauer, J., Taylor, J. J. U. and Jerry, D. R., 2009. Decreased genetic diversity and a reduced effective population size in cultured silver-lipped pearl oysters (*Pinctada maxima*). Aquaculture 286,12-19.

[19]. Liu, Z. and Cordes, J. F., 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238,1-37.

[20]. Liu, F., Xia, J. H., Bai, Z. H., Fu, J. J., Li, J. L. and Yue, G. H., 2009. High genetic diversity and substantial population differentiation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) revealed by microsatellite analysis. Aquaculture 297, 51-56.

[21]. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Natali, M., Panara, F., 2006. Microsatellite polymorphism in Italian populations of northern pike (*Esox lucius* L.). Fisheries Research 80, 251-262.

[22]. Lucentini, L., Palomba, A., Lancioni, H., Gigliarelli, L., Sgaravizzi, G., Natali, M., Panara, F., 2009. Temporal changes and effective population size of an Italian isolated and supportive-breeding managed northern pike (*Esox Lucius*) population. Fisheries Research 96,139-147.

[23]. Miller, L.M., Kapuscinski, A.R., 1996. Microsatellite DNA markers reveal new levels of genetic variation in northern pike. Trans. Am. Fish. Soc. 125, 971–977.

[24]. Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist 106, 283- 92.

[25]. Pampoulie, C., Jorundsdottir, T.D., Steinarsson, A., Petursdottir, G., tefansson, M.O., Danlelsdottir, A.K. , 2006. Genetic comparison of experimental farmed strains and wild Icelandic populations of Atlantic cod (*Gadus morhus* L.). Aquaculture 261,556-564.

[26]. Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology 6,288-295.

[27]. Pinera, J. A., Blanco, G., Vázquez, E. and Sánchez, J. A., 2007. Genetic diversity of black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*) populations Spanish Coasts: a preliminary study. Marin Biology 151,2153-2158.

[28]. Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (Version 1.3): Population genetic software for exact tests and ecumenicisim. Heredity 86,248-249.

[29]. Rodzen, J.A., May, B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the polyploidy white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Genome 54, 1064-1076.

[30]. Ryman, N. and Utter, F. (eds) 1987. Population genetics and fishery management. University of Washington Press, Washington.

Archive of SID

www.SID.ir

[31]. Sambrook J., Fritsch E. F, Maniatis T., 1989: Electrophpresis of RNA through Gels Containing Formaldehyde: Molecular Cloning, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: CSH Laboratory Press, p: 743-745

[32]. Verspoor, E. and Jordan, W. C., 1989. Genetic variation at the Me-2 locus in the Atlantic salmon within and between rivers: evidence for its selective maintenance. Fish Biology 35, 205-213.

[33]. Wachirachaikaran, A., Rungsin, W., Srisapoome, P., 2009. Crossing of African catfish (Clarias gariepinus) strains based on strain selection using genetic diversity data. Aquaculture.

[34]. Wang, C., Yu, X. and Tong, J. (2007) Microsatellite diversity and population genetic structure of redfin culture (*Culter erythropterus*) in fragmented lakes of the Yangtze River. Hydrobiologia 586:321-329.

[35]. Willson, A. C., Cann, S. M., Goerge, M., Gyhensten, V. B., Helm By Chcowsh, K. M., 1997. Mitochondrial DNA and two perspective on evolutionary genetics. Biological Journal of the Linnean Society 26,375-400.

[36]. Wright, S., 1987. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4: variability within and among natural populations. University of Chicago Press, Chicago.

[37]. Xu, Z., Primavera, J.H., De la pena, L.D., Pettit,P., Belak, J., Warren, A.A., 2001. Genetic diversity of wild and cultured black tiger shrimp (Penaeus monodon) in the Philippines using microsatellites. Aquaculture 199,13-40.

[38]. Yeh, F. C., Yang, R. C. and Boyle, T., 1999. POPGENE version 1.3.1. Microsoft Window-bases Freeware for population Genetic Analysis. Retrieved from: www.uallberta.ca/fyeh/. University of Alberta and the Centre for International Forestry Research.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۲، پاییز ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۰

ص ۴۷۹-۴۹۳

رشد و تغییرات بیوشیمی بدن بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii Kutum*) تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره

❖ **زهرا محمودی:** کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
❖ **بهرام فلاحتکار*:** استاد گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
❖ **حمید علاف نویریان:** استادیار گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران
❖ **مجیدرضا خوش خلق:** استادیار گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیرات سطوح مختلف پروتئین (۴۰، ۳۵ و ۳۰ درصد) و چربی (۱۴، ۱۲ و ۱۰ درصد) در عملکرد رشد و تغییرات فیزیولوژیک بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) انجام شد. ۶۷۵ ماهی (۰/۰۱ ± ۱/۱۵ گرم) در ۲۷ آکواریوم ۴۵ لیتری توزیع و به مدت ۸ هفته در ۴ وعدهٔ غذایی غذادهی شدند. تقابل بین پروتئین و چربی تفاوت معنی‌داری در هیچ‌یک از عوامل رشد ایجاد نکرد ($P > 0/05$). نتایج نشان داد به‌کارگیری پروتئین تا سطح ۳۵ درصد موجب افزایش برخی از شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی و افزایش وزن شده است ($P < 0/05$). بهترین عملکرد رشد در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۱۴ درصد چربی مشاهده شد ($P< 0/05$). بازده پروتئین و گلوکز تحت تأثیر تقابل بین پروتئین و چربی جیره قرار نگرفتند ($P > 0/05$). میزان تری‌گلیسرید و کلسترول به طور معنی‌داری تحت تأثیر پروتئین و چربی و تقابل بین این دو قرار گرفت ($P < 0/05$)، بالاترین میزان تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه‌شده با ۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ و ۱۲ درصد چربی و بیش‌ترین میزان کلسترول در ماهیان تغذیه‌شده با ۴۰ درصد پروتئین به همراه ۱۲ و ۱۴ درصد چربی مشاهده شد. نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که پروتئین کم‌تر (۳۰ درصد) و بیش‌تر (۴۰ درصد) از حد نیاز ماهی سفید می‌تواند تأثیرات منفی در رشد و پارامترهای فیزیولوژیک داشته باشد و افزایش سطح چربی تا ۱۴ درصد اثر منفی در پارامترهای رشد بچه‌ماهیان سفید نداشت. به منظور عملکرد بهتر ماهی سفید در این محدودهٔ سنی جیره‌ای با ۳۵ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: پروتئین، چربی، رشد، ماهی سفید دریای خزر.

* نویسندهٔ مسئول تلفن : ۰۱۳۴۴۳۲۳۵۹۹ فکس: ۰۱۳۴۴۳۲۳۶۰۰
Email: falahatkar@guilan.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

با افزایش جمعیت جهان در چند دههٔ اخیر رشد فزاینده‌ای در میزان تولید محصولات دریایی دیده شد، اما این مقدار تولید جوابگوی نیاز بازار نبوده و موجب کاهش در میزان منابع طبیعی (موجودات دریایی) در اکثر نقاط جهان شده است که ایران هم از این امر مستثنی نیست. ماهی سفید از جمله آبزیانی است که در چند دههٔ اخیر به علل مختلف ذخایرش در دریای خزر تهدید شده است. این ماهی با زندگی در آب‌های لب شور دریای خزر و تالاب‌های اطراف آن سازگار شده است. ماهی سفید نقش مهمی در سبد صید صیادان شمال از دیرباز تاکنون بر عهده داشته است. در سال ۱۳۶۱، شیلات ایران به دلیل کاهش شدید ذخایر این ماهی، با توجه به اهمیت این گونه، اقدام به بازسازی ذخایر آن از طریق تکثیر مصنوعی کرد (Abdolmaleki, 2006). سالانه بیش از ۲۵۰ میلیون قطعه بچه‌ماهی ۲-۱ گرمی از سوی سازمان شیلات ایران در کارگاه‌های تکثیر تولید و به رودخانه‌ها رهاسازی می‌شود (Ghorbanzade and Nazari, 2014).

پرورش موفقیت‌آمیز ماهیان از جمله ماهی سفید به قابلیت دسترسی به غذای مناسب برای تغذیه بستگی دارد تا بتوان سلامت و رشد را به‌خصوص در دوران نوزادی تضمین کرد (Giri *et al.*, 2002). تکثیر و تولید بچه‌ماهی سفید در استخرهای خاکی از جمله راهکارهای حفظ و بهبود ذخایر این ماهی بوده که سازمان شیلات به کار گرفته است. جیرهٔ غذایی مورد استفاده برای این ماهی در استخرهای خاکی به صورت خمیری و محتوی ۳۵-۲۸ درصد پروتئین و ۱۰-۸ درصد چربی است که این جیره بر اساس نیاز کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تهیه شده است. نیاز غذایی این گونه هنوز به‌درستی مشخص نشده است، البته مطالعاتی در این زمینه صورت گرفته که می‌توان به مطالعات Noverian, *et al.* (2005, 2007)، Talebi Haghighi (2006)، Falahatkar *et al.* (2012) و Mohammadzadeh *et al.* (2013) اشاره کرد.

با توجه به این‌که در تغذیهٔ ماهی آمینواسیدهای ضروری و غیرضروری برای سنتز پروتئین بدن استفاده می‌شود و نیز قسمتی از انرژی لازم برای ابقا از طریق پروتئین تأمین می‌شود، پروتئین از اجزای ضروری جیره به شمار می‌رود. پروتئین لازم برای گونه‌های مختلف به گونهٔ ماهی، کیفیت پروتئین، منابع انرژی‌زای غیرپروتئینی و اندازهٔ ماهی بستگی دارد (McGoogan and Gatlin, 1999; Webster and Lim, 2002). افزایش سطح پروتئین، به‌ویژه برای ماهیان گوشتخوار، می‌تواند به بهبود تولید ماهی منجر شود. با این حال، استفادهٔ بیش از حد از پروتئین در پرورش ماهی به این دلیل که بخش زیادی از هزینهٔ جیره و منبع اصلی ضایعات نیتروژنی مربوط به پروتئین است از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست (Ergun *et al.*, 2010).

با توجه به مطالعات صورت‌گرفته، روند اخیرِ فرمولاسیون تجاری غذا به سمت استفادهٔ بیش‌تر از چربی در جیره پیش می‌رود که این امر موجب بهبود بازده غذا و رشد شده است، اما این نگرانی نیز وجود دارد که افزایش بیش از حد چربی غذا بتواند موجب تجمع چربی در لاشه و احشا شود و در نتیجه کیفیت و بازده تولید کاهش یابد (Ogata and Shearer,

Archive of SID

www.SID.ir

2000; Borba *et al*., 2003). برخی ماهیان به‌خصوص ماهیان گوشتخوار (بیش‌تر ماهیان دریایی و سخت‌پوستان دریایی) می‌توانند سطوح بالای چربی را برای حداکثر رشد به کار گیرند (Peres and Oliva-Teles, 1999; Williams *et al*., 2003; Lopez *et al*., 2006). از طرف دیگر، برخی محققان و نویسندگان گزارش دادند که سطوح بالای چربی ممکن است رشد را محدود کند (Chou and Shiau, 1996; Lin and Shiau, 2003) و این کاهش رشد ممکن است به علت کاهش مصرف غذا، تجمع چربی اضافی در بافت احشایی و کاهش در کارایی یا بازده آنزیم‌های گوارشی باشد (Tocher, 2003)، بنابراین باید استفاده از چربی در رژیم غذایی به‌دقت ارزیابی شود.

دستیابی به اثر بهینهٔ پروتئین به وسیلهٔ منابع انرژی‌زای غیرپروتئینی در بسیاری از گونه‌ها به اثبات رسیده است (Serrano *et al*., 1992; Shiau and Peng, 1993; Thoman *et al*., 1999; Azevedo *et al*., 2002). توانایی استفاده از چربی به جای پروتئین می‌تواند موجب کاهش در کاتابولیسم پروتئین‌های خورده‌شده شود (Refstie *et al*., 2001; Williams *et al*., 2003) و در نتیجه به طور بالقوه ورود مواد زائد نیتروژنی به داخل سیستم پرورش کاهش پیدا می‌کند (Miller *et al*., 2005). کمبود منابع انرژی‌زای غیرپروتئینی موجب کاتابولیسم پروتئین برای تولید انرژی می‌شود، در حالی که انرژی بیش از حد می‌تواند موجب سرکوب اشتها، کاهش رشد، افزایش رسوب چربی، افزایش هزینهٔ تولید و کاهش کیفیت آب ناشی از غذای هدررفته شود (NRC, 1993; Ahmad, 2008; Garling and Wilson, 1976).

بنابراین سطح نامناسب پروتئین و چربی و نسبت این دو ممکن است موجب کاهش عملکرد رشد، افزایش هزینهٔ تولید ذخیرهٔ چربی در بدن و کاهش کیفیت آب ناشی از غذای هدررفته شود.

فاکتورهای فیزیولوژیک در پرورش متراکم ماهی از پارامترهای جدایی‌ناپذیر در سلامت ماهیان به شمار می‌رود. جیرهٔ غذایی، سازگاری‌های متابولیک و متغیرهای مختلف در فعالیت ماهی از فاکتورهای عمده در تغییرات پارامترهای فیزیولوژیک‌اند (Cnaani *et al*., 2004; Abdel-Tawab *et al*., 2010). جیرهٔ غذایی و تعادل بین چربی و پروتئین جیره در بهره‌وری از غذا تأثیر می‌گذارد و موجب تأثیر در متابولسیم گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول می‌شود. مطالعات مختلف نشان داده است پروتئین و چربی جیره می‌توانند در متابولیسم گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در ماهیان تأثیر بگذارد (Cameron *et al*., 2002; Matter *et al*., 2004; Du *et al*., 2005).

با توجه به اهمیت استراتژیک ماهی سفید دریای خزر و مطالعات اندک صورت‌گرفته دربارهٔ این گونه، تحقیق و پژوهش دربارهٔ این ماهی امری ضروری به نظر می‌رسد. تعیین سطح مطلوب پروتئین و چربی نقش مهمی در سلامت ماهی، کاهش مصرف پروتئین، هزینهٔ تمام‌شدهٔ غذا، کاهش آلودگی آمونیاکی و رشد بهینهٔ بچه‌ماهی دارد. بنابراین، این مطالعه با هدف تعیین جیره‌ای کاربردی و قابل استفاده در مراکز تکثیر و بازسازی ذخایر این ماهی در ارتباط با سطح بهینهٔ پروتئین و چربی و تأثیر این جیره‌ها در رشد و برخی از فاکتورهای فیزیولوژیک بدن ماهی سفید طراحی و اجرا شد.

Archive of SID

www.SID.ir

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در کارگاه تکثیر و پرورش دانشکدهٔ منابع طبیعی دانشگاه گیلان انجام گرفت. پس از تهیهٔ بچه‌ماهیان از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل و انتقال آن‌ها به مخازن، ۶۷۵ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی ۰/۰۱ ± ۱/۱۵ گرم پس از دو هفته عادت‌دهی با جیرهٔ تجاری استارتر قزل‌آلا (پروتئین ۵۰٪، چربی ۱۳٪، خاکستر ۱۲٪، رطوبت ۱۲-۱۰٪، انرژی ۳۷۰۰kcal/kg، قطر کرامبل ۰/۹-۰/۵ mm)، به ۲۷ آکواریوم ۴۵ لیتری به ابعاد ۱۵ × ۱۵ × ۲۰ سانتی‌متر به تعداد ۲۵ قطعه در هر مخزن معرفی شدند. در این تحقیق از ۹ تیمار و ۳ تکرار استفاده شد. غذادهی روزانه بر حسب اشتها به صورت دستی در ۴ نوبت (ساعات ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰) انجام گرفت. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دورهٔ نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به مدت ۸ هفته انجام گرفت. منبع آب مورد استفاده چاه بود، هوادهی با استفاده از سنگ هوا متصل به هواده مرکزی انجام گرفت. آب آکواریوم‌ها هر دو روز یک‌بار قبل از غذادهی صبحگاهی به میزان ۵۰ درصد و در زمان زیست‌سنجی به طور کامل تعویض شد و آب تخلیه‌شده با آبی که از قبل هوادهی شده بود جایگزین شد. زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یک‌بار انجام شد. طی دورهٔ آزمایش میزان دما در حد ۰/۵ ± ۲۲/۵ درجهٔ سانتی‌گراد، pH ۰/۱ ± ۷/۹ و اکسیژن ۰/۲ ± ۷/۱ میلی‌گرم در لیتر بود.

۹ جیرهٔ ایزوانرژیک که شامل سطوح مختلف پروتئین (۴۰، ۳۵ و ۳۰ درصد) و چربی (۱۴، ۱۲ و ۱۰ درصد) بود فرموله شد. اجزای جیره (جدول ۱) از توری با اندازهٔ ۱۰۰ میکرون عبور داده شد سپس، مواد اولیهٔ مورد نیاز برای ساخت هر یک از جیره‌های غذایی به کمک ترازوی آزمایشگاهی توزین و مخلوط شدند. پس از آن روغن به مخلوط مواد اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه کاملاً با هم مخلوط شدند. آب به میزان ۳۰ درصد مادهٔ خشک اضافه شد، سپس مخلوط حاصل به کمک چرخ‌گوشت خانگی به صورت رشته‌هایی به قطر ۲ تا ۲/۵ میلی‌متر درآمد. جیره‌های ساخته‌شده در آون در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند. در زمان خشک‌شدن، رشته‌های غذا به هم زده شدند تا همهٔ رشته‌ها به طور یکنواخت خشک شوند. پلت‌ها تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. فقط غذای روزانه یا غذای چندروزهٔ ماهیان در یخچال نگهداری شد. جیره‌ها به هنگام استفاده به اندازهٔ دهان ماهی خرد و به ماهیان داده شد.

برای بررسی عملکرد غذا روی بچه‌ماهیان هر دو هفته یک‌بار بیومتری انجام شد و شاخص‌های رشد و تغذیه محاسبه شدند (De Almeida Bicudo *et al.*, 2009; Ozorio *et al.*, 2009; Countinho *et al.*, 2012). این شاخص‌ها شامل موارد زیر بودند:

افزایش وزن (WG) (گرم) = وزن نهایی ـ وزن اولیه

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = کل غذای خورده‌شده (گرم) / افزایش وزن کسب‌شده

پروتئین مصرفی (DPI) (گرم) = میزان غذای خورده‌شدهٔ × پروتئین خام موجود در غذا (٪)

نرخ کارایی پروتئین (PER) = [WG (گرم) / پروتئین خورده‌شده (گرم)]

جدول ۱. اجزای غذایی و ترکیب جیره‌های غذایی مورد استفاده در جیرهٔ غذایی ماهی سفید در آزمایش حاضر

Archive of SID

www.SID.ir

	جیره‌های آزمایشی								
پروتئین (درصد)	۳۰			۳۵			۴۰		
چربی (درصد)	۱۰	۱۲	۱۴	۱۰	۱۲	۱۴	۱۰	۱۲	۱۴
اقلام جیره (درصد)									
پودر ماهی	۲۷	۲۷	۲۷	۲۷	۲۷/۵	۲۷/۵	۲۷	۲۷/۷۵	۲۸
آرد سویا	۱۳	۱۶	۱۸	۱۸/۵	۱۹/۵۲	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
آرد گندم	۲۵	۲۰	۱۶	۱۷	۱۵/۵	۱۳	۱۵/۵	۱۲	۱۰
آرد ذرت	۲۰	۱۸	۱۷	۱۶/۵	۱۴	۱۳	۱۳/۵	۱۲	۱۱/۵
ژلاتین[1]	۲/۸۷	۲/۳۴	۲/۰۴	۶/۷۳	۶/۴۳	۶/۶۳	۱۱/۳۹	۱۱/۷۲	۱۱/۹۱
روغن آفتابگردان	۱	۳	۵	۱	۳	۵	۱	۳	۵
مکمل ویتامینه[2]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی[3]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
ویتامین C[4]	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
دی‌کلسیم فسفات[5]	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
فیلر (ماسه)	۶/۴۳	۸/۹۶	۱۰/۲۶	۸/۵۷	۹/۳۵	۱۰/۱۷	۶/۹۱	۸/۸۳	۸/۸۹

۱ ژلاتین آریا، مشهد، ایران.

۲ شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، ایران). هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس ویتامینه حاوی IU ۱۶۰۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۴۰۰۰۰۰ ویتامین D3، ۳۰ گرم ویتامین E، ۱۰ گرم تیامین، ۸ گرم ریبوفلاوین، ۴۰ گرم پیریدوکسین، ۳ گرم اسید فولیک، ۰/۰۱ گرم سیانوکوبالامین، ۱۰۰ گرم ویتامین C، ۱۰ گرم ویتامین K3، ۱۰ گرم بیوتین، ۲۰ گرم BHT و ۱۰۰ گرم ویتامین اینوزیتول است. ۳شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، ایران). هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس معدنی حاوی ۲۰ گرم آهن، ۶۰ گرم روی، ۴۰۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰ میلی‌گرم کبالت،۲ گرم مس، ۴۰ گرم منگنز، ۴۰۰ میلی‌گرم ید است.

۴شرکت لابراتوارهای سیانس (قزوین، ایران). ۵ دی کلسیم فسفات: شرکت ارس‌تابان، مازندران، ایران.

پس از اتمام دورهٔ پرورش و بیومتری نهایی، ۱۸ ماهی از هر تیمار (۳ ماهی از هر تکرار) برای اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول در بافت به صورت تصادفی انتخاب شدند و پس از وزن‌شدن تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰°C- نگهداری شدند. برای انجام آزمایش، نمونه‌ها در سرم فیزیولوژیک (به ازای هر ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه، ۰/۲ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی)، با دستگاه هموژنایزر (T 10 basic Ultra turrax, IKA, Germany) هموژن شدند. پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و جداکردن مایع رویی، نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری در دمای ۸۰°C- نگهداری شدند (Aranguren *et al.*, 2006). مقادیر گلوکز در نمونه‌ها با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) و با روش آنزیمی رنگ‌سنجی با دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000, USA) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری با طول موج ۵۰۰ نانومتر و با واحد $mg\ dl^{-1}$ در درجهٔ حرارت ۳۷°C انجام شد. کلسترول نیز با روش آنزیمی رنگ‌سنجی با استفاده از کیت شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) با واحد $mg\ dl^{-1}$ به وسیلهٔ

Archive of SID

www.SID.ir

دستگاه اتوآنالایزر (Technicon RA-1000, USA) در طول موج ۵۴۰-۵۰۰ نانومتر سنجیده شد. برای اندازه‌گیری تری‌گلیسرید نیز از طول موج ۴۶۰ نانومتر استفاده شد (Dein , 1986). تجزیهٔ تقریبی جیره‌های ساخته‌شده (جدول ۲) از طریق روش‌های استاندارد (۱۹۹۰) AOAC اندازه‌گیری شد.

جدول ۲. میانگین (± SE) آنالیز تقریبی جیره‌های مورد استفاده برای پرورش ماهی سفید در مطالعهٔ حاضر (n=۳)

پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)	انرژی ناخالص[1] (KJ/g)
۳۰	۱۰	۲۹/۸۲ ± ۰/۳۰	۱۰/۰۳ ± ۰/۰۸	۱۳/۹۱ ± ۱/۲۰	۸/۲۰ ± ۱/۰۰	۱۷۲۹ ± ۴/۳
	۱۲	۲۹/۴۲ ± ۰/۱۶	۱۱/۹۹ ± ۰/۰۵	۱۵/۵۸ ± ۱/۵	۸/۵۰ ± ۰/۹۰	۱۷۲۴ ± ۰/۵۰
	۱۴	۲۹/۸۸ ± ۰/۰۶	۱۳/۸۰ ± ۰/۱۰	۱۶/۹۷ ± ۲/۰۰	۸/۰۰ ± ۰/۸۰	۱۷۵۴ ± ۳/۹
۳۵	۱۰	۳۴/۶۳ ± ۰/۰۶	۹/۹۵ ± ۰/۰۷۰	۱۴/۴۰ ± ۱/۸۰	۹/۰۰ ± ۱/۲۰	۱۷۲۲ ± ۰/۱۳
	۱۲	۳۴/۷۸ ± ۰/۰۰	۱۱/۹۱ ± ۰/۰۵	۱۴/۳۳ ± ۱/۷۰	۹/۵۰ ± ۰/۸۰	۱۷۵۷ ± ۰/۷۲
	۱۴	۳۴/۶۳ ± ۱/۵۰	۱۳/۸۵ ± ۰/۰۲	۱۵/۲۴ ± ۱/۹۰	۹/۰۰ ± ۰/۸۵	۱۸۸۹ ± ۰/۶۸
۴۰	۱۰	۳۹/۸۵ ± ۰/۰۰	۱۰/۰۰ ± ۱/۳۰	۱۲/۸۱ ± ۱/۵۰	۸/۵۰ ± ۱/۰۰	۱۸۹۷ ± ۰/۱۳
	۱۲	۳۹/۶۳ ± ۰/۰۶	۱۲/۱۱ ± ۰/۰۴	۱۳/۹۰ ± ۱/۲۲	۸/۸۰ ± ۰/۸۰	۱۸۱۴ ± ۰/۳۳
	۱۴	۳۹/۸۵ ± ۰/۱۲	۱۳/۸۸ ± ۰/۰۲	۱۴/۴۳ ± ۱/۲۵	۸/۵۰ ± ۰/۷۰	۱۸۵۷ ± ۱/۲۵

۱ انرژی ناخالص بر حسب هر گرم انرژی موجود در پروتئین (۲۳/۶ KJ)، چربی (۳۹/۵ KJ)، کربوهیدرات (۱۷/۲KJ)

۱.۲. آنالیز آماری

نخست، وضعیت داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov برای نرمال‌بودن و آزمون Levene برای همگنی واریانس‌ها بررسی شد. در صورت برقراری شرایط مذکور، به منظور مقایسهٔ معنی‌داربودن تفاوت بین میانگین‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) همراه با حالت اثر متقابل و در صورت معنی‌داربودن اثر متقابل از تست Tukey استفاده شد. همهٔ آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 16) در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت. داده‌های درون متن به صورت میانگین ± خطای معیار (mean ± S.E) بیان شدند.

۳.نتایج

تأثیر پروتئین و چربی جیره در عملکرد رشد ماهی سفید دریای خزر در جدول ۳ نشان داده شده است. پروتئین و چربی به طور معنی‌داری عملکرد رشد را تحت تأثیر قرار دادند ($P < ۰/۰۵$)، ولی اثر متقابل این دو تفاوت معنی‌داری در عملکرد رشد بچه‌ماهی سفید نداشت ($P > ۰/۰۵$). با افزایش پروتئین تا ۳۵ درصد رشد افزایش و در سطوح ۴۰ درصد پروتئین رشد کاهش پیدا کرد ($P < ۰/۰۵$). با افزایش چربی شاخص‌های رشد افزایش پیدا کردند ($P < ۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

ضریب تبدیل غذایی تحت تأثیر سطوح پروتئین و چربی و تقابل بین این دو قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). بیش‌ترین میزان پروتئین مصرفی مربوط به تیمار ۴۰ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی بود ($P < ۰/۰۵$). با افزایش پروتئین جیره بازده پروتئین به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P < ۰/۰۵$). بازده پروتئین با افزایش چربی بهبود پیدا کرد، ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که گلوکز تحت تأثیر سطوح پروتئین و چربی جیره قرار نگرفت ($P > ۰/۰۵$). تری‌گلیسرید به طور معنی‌داری در ماهیان تغذیه‌شده با ۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ و ۱۲ درصد چربی بیش‌تر بود ($P < ۰/۰۵$). کم‌ترین میزان کلسترول در ماهیان تغذیه‌شده با ۳۵ درصد پروتئین و ۱۰ درصد چربی به دست آمد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین (SE ±) شاخص‌های رشد و کارایی غذا در بچه‌ماهی سفید نسبت به اثر متقابل سطوح متفاوت پروتئین به چربی جیره پس از ۵۶ روز پرورش

چربی/پروتئین (درصد)	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	افزایش وزن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	پروتئین مصرفی (گرم)	بازده پروتئین
۳۰/۱۰	۱/۱۸±۰/ ۰۴	۲/۱۸±۰/۰۵	۱/۰۰±۰/۰۴	۲/۱۹±۰/۱۲	۱/۱۷±۰/۰۵^{e}	۱/۵۲±۰/۰۵
۳۰/۱۲	۱/۱۵±۰/۰۲	۲/۳۱±۰/۰۳	۱/۱۶±۰/۰۳	۲/۰۹±۰/۲۱	۱/۳۰±۰/۰۸^{de}	۱/۶±۰/۰۹
۳۰/۱۴	۱/۰۸±۰/۰۱	۲/۳۵±۰/۱۱	۱/۲۷±۰/۱	۲/۰۵±۰/۳۴	۱/۳۷±۰/۰۵^{cd}	۱/۶۵±۰/۱۶
۳۵/۱۰	۱/۱۴±۰/۰۱	۲/۳۹±۰/۰۸	۱/۲۴±۰/۰۷	۱/۹۷±۰/۲۶	۱/۵۲±۰/۰۶^{bc}	۱/۴۴±۰/۱
۳۵/۱۲	۱/۰۸±۰/۰۲	۲/۳۶±۰/۰۲	۱/۲۷±۰/۰۲	۲/۰۱±۰/۰۹	۱/۶۰±۰/۰۶^{ab}	۱/۴۱±۰/۰۴
۳۵/۱۴	۱/۲۵±۰/۰۴	۲/۶±۰/۱۲	۱/۳۵±۰/۱	۱/۷۸±۰/۲۹	۱/۴۸±۰/۰۶^{cd}	۱/۶۶±۰/۱۶
۴۰/۱۰	۱/۱۳±۰/۰۰	۲/۱۲±۰/۰۶	۰/۹۹±۰/۰۵	۲/۳۵±۰/۱۰	۱/۶۷±۰/۰۷^{ab}	۱/۰۶±۰/۰۳
۴۰/۱۲	۱/۱۶±۰/۰۵	۲/۳۱±۰/۰۵	۱/۱۵±۰/۱	۱/۷۰±۰/۳۴	۱/۳۷±۰/۰۷^{cd}	۱/۵۰±۰/۱۶
۴۰/۱۴	۱/۱۵±۰/۰۴	۲/۳۵±۰/۰۹	۱/۲±۰/۰۶	۲/۰۸±۰/۲۱	۱/۷۸±۰/۰۷^{a}	۱/۲۱±۰/۰۷
آنالیز واریانس دوطرفه						
پروتئین	۰/۷۲	۰/۰۱	۰/۰۱۵	۰/۲۸	۰/۰۰	۰/۰۰۴
چربی	۰/۵۶	۰/۰۱	۰/۰۱۲	۰/۱۱	۰/۰۰۴	۰/۱۶
پروتئین×چربی	۰/۱	۰/۵۴	۰/۷۸	۰/۱۳	۰/۰۰	۰/۱۶

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴. مقایسهٔ تأثیر سطوح مختلف پروتئین به چربی بر شاخص‌های فیزیولوژیک بچه‌ماهیان سفید پس از ۵۶ روز پرورش (n= 3)

چربی/پروتئین (درصد)	گلوکز (mg g^{-1})	تری‌گلیسرید (mg g^{-1})	کلسترول (mg g^{-1})
۱۰/۳۰	۵۳ ± ۱۹/۵	۲۸۰± ۲۱^{a}	۰۰/۴۸± ۴۶/۳^{ab}
۱۲/۳۰	۸۳/۵۷± ۹۱/۳	۲۹۴± ۱۶^{a}	۰۰/۴۳± ۳۵/۶^{abc}
۱۴/۳۰	۰۰/۵۷± ۵/۷	۱۹۴± ۲/ ۳^{cd}	۰۰/۴۵± ۸۸/۲^{ab}
۱۰/۳۵	۰۰/۶۱± ۵۷/۰	۱۷۸± ۱۶/۱۶^{d}	۰۰/۳۰± ۰۰/۰^{c}
۱۲/۳۵	۳۳/۵۹± ۷/۷	۲۷۱± ۲۰^{ab}	۰۰/۳۸± ۲/۳ ^{bc}
۱۴/۳۵	۰۰/۶۸± ۱۵/۱	۲۵۲± ۱۴^{abc}	۰۰/۴۴± ۷۳/۱^{abc}
۱۰/۴۰	۰۰/۷۰± ۴۶/۳	۲۰۲± ۱۲^{bcd}	۰۰/۴۲± ۰۰/۰^{abc}
۱۲/۴۰	۰۰/۵۶± ۳/۲	۲۲۴± ۱۱^{abcd}	۰۰/۵۳± ۷۳/۱^{a}
۱۴/۴۰	۶۴/۰۰± ۳/۲	۲۳۹±۱۲ ^{abcd}	۰۰/۵۰± ۳/۲^{ab}
آنالیز واریانس دوطرفه			
پروتئین	۰/۶۰۶	۰۳/۰	۰۰۱/۰
چربی	۰/۲۲۱	۰۰۶/۰	۰۴/۰
پروتئین × چربی	۰/۰۷۷	۰۰/۰	۰۳/۰

۴.بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که در هر سطح از چربی جیره با افزایش پروتئین تا سطح ۳۵ درصد رشد افزایش و پس از آن کاهش می‌یابد. Winfree و Stickney (۱۹۸۸) گزارش کردند هنگامی که منابع انرژی‌زای غیرکافی در جیره وجود داشته باشد پروتئین‌های موجود در غذا دی‌آمینه می‌شود و به جای این‌که برای رشد مورد استفاده قرار گیرد به منظور تولید انرژی استفاده می‌شود و این امر می‌تواند دلیلی بر رشد ضعیف ماهی در جیره‌ای با سطوح بالای پروتئین باشد. Dabrowski (۱۹۷۷) در کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)، Sen و همکاران (۱۹۷۸) در کپورماهیان، Santiago و Reyes (۱۹۹۱) در کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*)، Ozorio و همکاران (۲۰۰۹) در two-banded seabream (*Diplodus vulgaris*) و Guo و همکاران (۲۰۱۲) در هیبرید ماهی خاویاری (*Acipenser baerii* ♀ × *A. gueldenstaedtii* ♂) کاهش رشد در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح بالای پروتئین را گزارش کرده‌اند.

سطح مناسب احتیاجات پروتئینی برای بچه‌ماهی سفید دریای خزر در آزمایش حاضر ۳۵ درصد تعیین شد. این نتایج موافق با نتایج Noverian *et al.* (2005) است. در مطالعهٔ حاضر با افزایش چربی

Archive of SID

www.SID.ir

جیره شاخص‌های رشد افزایش پیدا کرد که موافق با نتایج Li *et al.* (2010) دربارهٔ سیم بدون پوزه (*Megalobrama amblycephala*) و Shalaby *et al.* (2011) دربارهٔ سیم دریایی سفید (*Diplodus sargus*) است. در این مطالعه سطح بهینهٔ چربی برای ماهی سفید ۱۴ درصد تعیین شد. Noverian *et al.* (2007) سطح بهینهٔ چربی برای ماهی سفید (۲ گرمی) را ۱۲ درصد و Talebi Haghighi (2006) این سطح را برای لارو ۷/۶۷ درصد بیان کرد. تفاوت در گزارش‌های سطح مورد نیاز چربی در آبزیان ممکن است به علت تفاوت در دمای آب، نوع چربی، محتوای انرژی، پروتئین جیره، نوع و اندازهٔ گونه باشد (NRC, 1993). در این مطالعه کم‌ترین عملکرد رشد مربوط به جیره‌هایی با پایین‌ترین سطح چربی بود. می‌توان گفت در سطوح پایین چربی، ماهی از پروتئین به‌منزلهٔ منبع انرژی استفاده می‌کند و در نتیجه پروتئین که در شرایط ایده‌آل باید صرف رشد و تشکیل بافت شود به منظور تأمین انرژی استفاده می‌شود. بنابراین مشاهده می‌شود که شاخص‌های رشد کاهش می‌یابد (Hernandez *et al*., 2001).

ضریب تبدیل غذایی برای تیماری که بهترین عملکرد رشد را در این آزمایش از خود نشان داد ۱/۷۸ بود که مشابه و تاحدی بهتر از کارهای قبلی دربارهٔ این ماهی بوده است. Talebi Haghighi (2006) در بررسی اثر سطوح متفاوت پروتئین در بچه‌ماهی سفید ۲۰۰ میلی‌گرمی نشان داد که تیمار حاوی ۵۰ درصد پروتئین بهترین عملکرد را از نظر ضریب تبدیل غذایی (۱/۹۹) داراست. Ebrahimi و Ouraji (۲۰۱۱) در تحقیق خود دربارهٔ تأثیر چربی در بچه‌ماهی سفید ۰/۵ گرمی بهترین ضریب تبدیل غذایی را ۱/۷۷ گزارش کردند.

در تحقیق حاضر بازده پروتئینی تحت تأثیر پروتئین جیره قرار گرفت. به طوری که در سطوح ۱۰ و ۱۴ درصد چربی با افزایش پروتئین جیره بازده پروتئینی کاهش پیدا کرد. این امر نشان‌دهندهٔ این است که پروتئین در سطوح بالاتر بیش‌تر به‌منزلهٔ یک منبع انرژی استفاده شده است. مشابه نتایج حاضر را می‌توان در مطالعات انجام‌شده دربارهٔ سایر گونه‌ها نیز مشاهده کرد (Kim and Lall, 2001; Boujard *et al*., 2004; Mohanta *et al*., 2008; Ozorio *et al*., 2009; Abdel-Tawwab *et al*., 2010; Li *et al*., 2010; Shalaby *et al*., 2011; Countinho *et al*., 2012; Guo *et al*., 2012). نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد هر چند چربی و تقابل بین پروتئین و چربی تفاوت معنی‌داری در بازده پروتئینی ایجاد نکرد، ولی بالاترین بازده پروتئینی در تیماری مشاهده شد که حداکثر رشد را دارا بود. همچنین نتایج مطالعهٔ حاضر نشان داد با افزایش چربی جیره بازده پروتئینی بهبود می‌یابد و این امر ثابت می‌کند که بچه‌ماهی سفید دریای خزر توانایی بالایی در استفاده از چربی به‌منزلهٔ منبع انرژی دارد و استفاده از میزان مناسب منابع انرژی‌زای غیرپروتئینی در جیرهٔ این ماهی می‌تواند موجب کاهش کاتابولیسم پروتئین برای تولید انرژی شود و در نتیجه موجب افزایش رشد و بازده پروتئینی شود (Cho and Kauchik, 1990).

در آزمایش حاضر میزان گلوکز تحت تأثیر پروتئین و چربی و تقابل بین این دو قرار نگرفت. این احتمال وجود دارد که غلظت کل انرژی جیره نزدیک یا بالاتر از حد نیاز بوده باشد. بنابراین، نیازهای غذایی برای رشد برابر یا بالاتر از میزان مورد نیاز برای نگهداری است و سطح گلوکز تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد (Carmichael *et al*., 2012).

Archive of SID

www.SID.ir

در پژوهش حاضر انتظار می‌رفت در تیمار ۳۰ درصد پروتئین ماهیان تغذیه‌شده با ۱۴ درصد چربی میزان تری‌گلیسرید بیش‌تری نسبت به ماهیان تغذیه‌شده با ۱۰ و ۱۲ درصد چربی داشته باشند، ولی نتایج عکس این قضیه را اثبات کرد. جیرهٔ ماهیان تغذیه‌شده با ۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ و ۱۲ درصد چربی میزان کربوهیدرات بیش‌تری نسبت به ماهیان تغذیه‌شده با ۱۴ درصد چربی داشت، در واقع ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌ای که دارای چربی بالاتر و کربوهیدرات پایین‌تر (۳۰ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی) است کاهشی را در تری‌گلیسرید نشان می‌دهد که ممکن است به این دلیل باشد که فعالیت لیپوپروتئینی لیپاز افزایش پیدا می‌کند و احتمالاً به اسیدهای چرب اجازه می‌دهد نقش بیش‌تری در تأمین انرژی سلول‌های محیطی ایفا کنند (Volek *et al.*, 2003).

مطالعهٔ حاضر به‌وضوح نشان می‌دهد که غلظت پروتئین در جیره اثری قوی در سوخت‌وساز چربی ماهی سفید داشته است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که غلظت تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی پروتئین کم (۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ و ۱۲ درصد چربی) نسبت به جیره با پروتئین بالا بیش‌تر است که نشان می‌دهد تأمین نامناسب آمینواسیدهای ضروری برای بدن موجب افزایش مجدد در سنتز چربی و کاهش در B- اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شود. سپس، این اسیدهای چرب برای سنتز تری‌گلیسرید استفاده می‌شوند (Matter *et al.*, 2004).

در مطالعهٔ حاضر در سطح ۱۰ درصد چربی بیش‌ترین میزان کلسترول بدن ماهی سفید در تغذیه با جیرهٔ ۳۰ درصد پروتئین به دست آمد. مطالعات Adamidou *et al.* (2011) و Countinho *et al.* (2012) دربارهٔ سیم پوزه‌تیز (*Diplodus puntazzo*) نشان داد با کاهش پروتئین و افزایش سطح کربوهیدرات جیره میزان کلسترول خون سیم دریایی پوزه‌تیز افزایش پیدا می‌کند که این امر نشان‌دهندهٔ سنتز کلسترول از طریق کربوهیدرات است.

در مطالعهٔ حاضر بیش‌ترین میزان کلسترول در ماهیان تغذیه‌شده با سطح بالای پروتئین و چربی (۴۰ درصد پروتئین و ۱۲ و ۱۴ درصد چربی) به دست آمد. می‌توان گفت رژیم غذایی با پروتئین بالا میزان سنتز اسیدهای چرب و اسیدهای چرب آزاد در حال گردش را کاهش می‌دهد در حالی که کلستروژنزیز را افزایش می‌دهد (Yeh and Leveille, 1969; Rosebrough *et al.*, 1999) و از طرفی فعالیت درونی انتقال چربی به دلیل افزایش چربی جیره افزایش پیدا می‌کند. بنابراین عوامل ذکرشده موجب افزایش کلسترول بدن ماهی سفید در این تیمارها (۴۰ درصد پروتئین و ۱۲ و ۱۴ درصد چربی) شده است.

نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که در سطوح ۳۵ و ۴۰ درصد پروتئین بیش‌ترین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح بالای چربی (۱۴ و ۱۲ درصد) به دست آمد. مطالعات *et al.* Du (2005) دربارهٔ کپور علفخوار و Ann Cheng *et al.* (2006) دربارهٔ هامور (*Epinephelus coioides*) نشان داد که با افزایش چربی جیره میزان تری‌گلیسرید و کلسترول نیز افزایش پیدا می‌کند که نشان‌دهندهٔ فعالیت درونی انتقال چربی در پاسخ به چربی بالاست (Du *et al.*, 2005).

پژوهش حاضر نشان می‌دهد بیش‌ترین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول بدن ماهی سفید در

Archive of SID

www.SID.ir

تیمارهایی با سطوح پایین (۳۰ درصد پروتئین و ۱۰ و ۱۲ درصد چربی) و بالای پروتئین (۴۰ درصد پروتئین و ۱۲ و ۱۴ درصد چربی) مشاهده شد که در واقع می‌توان گفت در سطوح پایین به دلیل تأمین نامناسب آمینواسیدها و در سطوح بالا نیز به سبب افزایش پیش‌سازهای کلسترول، که در اثر متابولیسم بالای پروتئین تولید می‌شود، تری‌گلیسرید و کلسترول افزایش یافت. این ماهی دارای نیاز پروتئینی متوسطی (۳۵ درصد) است و چربی اثر مثبتی در رشد بچه‌ماهی سفید دریای خزر دارد. بنابراین می‌توان گفت که به‌کاربردن چربی در ترکیب جیرهٔ بچه‌ماهیان سفید دریای خزر سبب بهبود شاخص‌های رشد در این ماهی می‌شود. با وجود بهبود شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان سفید در سطح چربی ۱۴ درصد، میزان مطلوب دریافت چربی در دامنه‌های بالای ۱۴ درصد و تأثیرات آن در شاخص رشد مشخص نیست. این مطالعه نشان داد جیرهٔ با ۳۵ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی دارای کارایی مناسبی در بچه‌ماهی سفید در این محدودهٔ وزنی است. با این حال تأیید این نتایج نیاز به تحقیقات بیش‌تر دارد تا بتوان به جیره‌ای مناسب از لحاظ رشد و تغییرات فیزیولوژیک برای ماهی سفید دست یافت.

Archive of SID

www.SID.ir

References

[1]. Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture 298, 267-274.

[2]. Abdoli, A., 1999. The Inland water fishes of Iran. Museum of Nature and Wildlife, Tehran, 378p. (in Persian)

[3]. Abdolmaleki, S.H., 2006. Trends in stocks fluctuation of *Rutilus frissi kutum* in Caspian Sea. Iranian Scientific Fisheries Journal 15, 87-100. (in Persian)

[4]. Adamidou, S., Rigos, G., Mente, E., Nengas, I., Fountoulaki, E., 2011. The effects of dietary lipid and fibre levels on digestibility of diet and on the growth performance of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). Mediterranean Marine Science 12, 401-412.

[5]. Ahmad, M.H., 2008. Response of African catfish, *Clarias gariepinus*, to different dietary protein and lipid levels in practical diets. Journal of the World Aquaculture Society 39, 541-548.

[6]. AOAC., 1990. Official Methods Analysis of Association of Official Analytical Chemists. 15th edn. Published by the Association of Analytical Chemists, USA, 2220p.

[7]. Aranguren, L.F., Brinez, B., Aragon, L., Platz, C., Caraballo, X., Suarez, S., Salazar, M., 2006. Necrotizing hepatopancreatitis (NHP) infected *Penaeus vannamei* female broodstock: Effect on reproductive parameters, nauplii and larvae quality. Aquaculture 258, 337-343.

[8]. Azevedo, O.A., Bureau, D.P., Leeson, S., Cho, C.Y., 2002. Growth and efficiency of feed usage by Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with different dietary protein: energy at two feeding levels. Fisheries Science 68, 878-888.

[9]. Borba, M.R., Fracalossi, D.M.D., Pezzato, L.E., Menoyo, D., Bautista, J.M., 2003. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. Aquatic Living Resources 16, 362-369.

[10]. Boujard, T., Tineau, A.G., Cove, D., Corraze, G.V., Dutto, G., Gasset, H., Kaushik, S., 2004. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. Aquaculture 231, 529-545.

[11]. Cameron, C., Gurure, R., Reddy, K., Moccia, R., Leatherland, J., 2002. Correlation between dietary lipid: protein ratios and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (Linnaeus). Aquaculture Research 33, 383-394.

[12]. Carmichael, B., Kouakou, B., Gelaye, S., Kannan, G., Lee, J.H., Terrill, T.H., 2012. Organ mass and composition in growing dairy goat wethers fed different levels of poultry fat and protein. Small Ruminant Research 104, 104-113.

[13]. Ann Cheng, Ch., Chia Yung, Ch., Chyng Hwa, L., Ching Fong, Ch., 2006. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters and superoxide anion production in the grouper, *Epinephelus coioides* (*Serranidae: Epinephelinae*). Zoological Studies 45, 492-502.

[14]. Cho, C.Y., Kaushik, S.J., 1990. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). World Review of Nutrition and Dietetics 61,132-172.

Archive of SID

www.SID.ir

[15]. Chou, B.S., Shiau, S.Y., 1996. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. Aquaculture 143, 185-195.

[16]. Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., Hulata, G., 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochomis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. Aquaculture Research 35, 1434-1440

[17]. Countinho, F., Peres, H., Guerreiro, I., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2012. Dietary protein requirement of sharp snout seabream (*Diplodus puntazzo*, Cetti1777) juveniles. Aquaculture 356-357, 391-397.

[18]. Dabrowski, K., 1977. Protein requirements of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture 12, 63-73.

[19]. De Almeida Bicudo, A.J., Sado, R.Y., Cyrino, J.E.P., 2009. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. Aquaculture Research 40, 486-495.

[20]. Dein, F.J., 1986. Hematology. In: Harisson G.J., Harisson L.R. (Eds.), Clinical Avian Medicine and Surgery. Saunders Co, Philadelphia, pp. 174-191.

[21]. Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Wang, J.T., Wang, Y., Liang, G.Y., 2005. Effect of dietary lipid level on growth, Feed composition and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Nutrition 11, 139-146.

[22]. Ebrahimi, G., Ouraji, H., 2011. Dietary lipid requirement for the kutum fingerlings, *Rutilus frissi kutum* (Kamenskii 1901). Research Journal of Animal Sciences 5, 1-5.

[23]. Ergun, S., Guroy, D., Tekesoglu, H., Guroy, B., Celik, I., Tekinay, A., Bulut, M., 2010. Optimum Dietary Protein Level for Blue Streak Hap, *Labidochromis Caeruleus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 10, 27-31.

[24]. Falahatkar, B., Mohammadi, H., Noveirian, H., 2012. Effects of different starter diets on growth indices of Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum* larvae. Iranian Journal of Fisheries Science 11, 28-36.

[25]. Garling, D.L., Wilson, R.P., 1976. Optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. Journal of Nutrition 106, 1368-1375.

[26]. Ghorbanzade, R.A., Nazari, S., 2014. Statistical Yearbook of Iran Fisheries Organization 2002-2012. Iranian Fisheries Organization, Tehran, 64p. (in Persian)

[27]. Giri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, B.B., Sahu, B.B., Mohanty, S.N., Mukhopadhyay, P.K., Ayyappan, S., 2002. Larval survival and growth in Wallago attu (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213, 151-161.

[28]. Guo, Z.N., Zhu, X.O., Liu, J.Sh., Hn, D., Yang, Y., Lan, Z., Xie, Sh. 2012. Effects of dietary protein level on growth performance, nitrogen and energy budget of juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser baerii* ♀ × *A. gueldenstaedtii* ♂. Aquaculture 89-95, 338-341.

[29]. Hernandez, M.D., Egea, M.A., Rueda, F.M., Aguado, F., Martinez, F.J., Garcia, B., 2001. Effect of commercial diet with different P/E ratios on sharpsnout seabream (*Dipodus puntazzo*) Growth and nutrition utilization. Aquaculture 195, 321-329.

Archive of SID

www.SID.ir

[30]. Kim, J.D., Lall, S.P., 2001. Effects of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). Aquaculture 195, 311-319.

[31]. Li, X.F., Liu, W.B., Jiang, Y.Y., Zhub, H., Gec, X.P., 2010. Effects dietary protein and lipid levels in practical diets on growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings. Aquaculture 303, 65-70.

[32]. Lin, Y.H., Shiau, S.Y., 2003. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune response. Aquaculture 225, 243-250.

[33]. Lopez, L.M., Torres, A.L., Durazo, E., Drawbridge, M., Bureau, D.P., 2006. Effect of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. Aquaculture 253, 557-563.

[34]. Matter, F., Peganova, S., Eder, K., 2004. Lipid concentrations of fillets, liver, plasma and lipoproteins of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), fed diets with varying protein concentrations. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 88, 275-287.

[35]. McGoogan, B.B., Gatlin, D.M., 1999. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*: I. Effects of dietary protein and energy levels. Aquaculture 178, 333-348.

[36]. Miller, C.L., Davis, D.A., Phelps, R.P., 2005. The effects of dietary protein and lipid on growth and body composition of juvenile and sub-adult red snapper, *Lutjanus campechanus* (Poey, 1860). Aquaculture Research 36, 52-60.

[37]. Mohammadzadeh, S., Noverian, H., Ouraji, H., Falahatkar, B., 2013. Effects of dietary carbohydrate levels on growth, survival and body composition in Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii, 1901). Iranian Scientific Fisheries Journal 21, 85-94.(in persian)

[38]. Mohanta, K.N., Mohanty, S.N., Jena, J.K., Sahu, N.P., 2008. Protein requirement of silver barb, *Puntius gonionotus* fingerling. Aquaculture Nutrition 14, 143-152.

[39]. National Research Council (NRC)., 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, 114p.

[40]. Noverian, H.A., Mostafazadeh, S., Toluei, M.H., 2005. A study on various protein levels on growth indices (SR, WG, RGR, FCR and PER) of *Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901(Advanced fry). Pajouhesh & Sazandegi 68, 61-68. (in Persian).

[41]. Noverian, H.A., Shabanipour, N., Zamani Kia Sajmahalleh, H.A., Khadem, H., 2007. The effect of different level of lipids on growth Index of Caspian *frisii kutum* (Fry stage) (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii, 1901) Utilizing Semi-purified diets. Pajouhsh & Sazandegi 76, 35-42. (in Persian).

[42]. Ogata, H.Y., Shearer, K.D., 2000. Influence of dietary fat and adiposity on feed intake of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). Aquaculture 189, 237-249.

[43]. Ozorio, R.O.A., Valente, L.M.P., Correia, S., Pousao-Ferreira, P., Damasceno-Oliveira, A., Escorcio, C., Oliva-Teles, A., 2009. Protein requirement for maintenance and maximum growth of two-banded sea bream (*Diplodus vulgaris*) juveniles. Aquaculture Nutrition 15, 85-93.

[44]. Peres, H., Olivia-Teles, A., 1999. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture179, 325-334.

Archive of SID

www.SID.ir

[45]. Refstie, S., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Roem, A.J., 2001. Long term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy proteins products at medium or high lipid level. Aquaculture 193, 91-106.

[46]. Rosebrough, R.W., McMurtry, J.P., Vasilatos-Younken, R., 1999. Dietary fat and protein interactions in the broiler. Poultry Science 78, 992-998.

[47]. Santiago, C.B., Reyes, O.S., 1991. Optimum dietary protein level for growth of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fry in a static water system. Aquaculture 93, 155-165.

[48]. Sen, P.R., Rao, N.G.S., Ghosh, S.R., Rout, M., 1978. Observation on the protein and carbohydrate requirements of carps. Aquaculture 13, 245-255.

[49]. Serrano, I., Nematipour, G.L., Gatlin, D.M., 1992. Dietary protein requirement of red drum (*Sciaenops ocellatus*) and the relative use of dietary carbohydrate and lipid. Aquaculture 101, 283-291.

[50]. Shalaby, S.M., El-Dakar, A.Y., Wahbi, O.M., Saoud, I.M., 2011. Growth, feed utilization and body composition of white sea bream, *Diplodus sargus* juveniles offered diets with various protein and energy levels. Marine Science 22, 3-17.

[51]. Shiau, S., Peng, C., 1993. Protein sparing effect by carbohydrate in diets for tilapia *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*. Aquaculture 117, 327-334.

[52]. Talebi Haghighi, D., 2006. Embryonic development and nutritional requirements of kutum fry, *Rutilus frisii kutum*. PhD thesis. Putra University. Kuala Lumpur, The Malaysia, 198p.

[53]. Thoman, E.S., Davis, D.A., Arnold, C.R., 1999. Evaluation of grow out with varying protein and energy levels for red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 176, 343-353.

[54]. Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipid and fatty acid in teleost fish. Review in Fisheries Science 11, 107-184.

[55]. Volek, J.S., Sharman, M.J., Gomez, A.L., Scheett, T.P., Kraemer, W.J., 2003. An isoenergetic very low carbohydrate diet improves serum HDL cholesterol and triacylglycerol concentrations, the total cholesterol to HDL cholesterol ratio and postprandial pipemic responses compared with a low fat diet in normal weight, normolipidemic women. Journal of Nutrition 133, 2756-2761.

[56]. Webster, A.H., Lim, C.E., 2002 Nutrition Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International, New York, 421p.

[57]. Williams, K.C., Barlow, C.G., Rodgers, L., Hockings, I., Agcopra, C., Ruscoe, I., 2003. Asian seabass *Lates calcarifer* perform well when fed pelleted diets high in protein and lipid. Aquaculture 225, 191-206.

[58]. Winfree, R.A., Stickney, R.R., 1981. Effects of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea*. Journal of Nutrition 111, 1001-1012.

[59]. Yeh, Y.Y., Leveille, J.A., 1969. Effect of dietary protein on hepatic lipogenesis in the growing chick. Journal of Nutrition 98, 356-366.

Archive of SID

www.SID.ir