Archive of SID

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹
صفحات ۱۴۸-۱۳۵

اثر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک در جیره غذایی بر سطح کورتیزول، گلوکز و ترکیب اسیدهای چرب لاشه ماهی گورخری (*Danio rerio*)

علیرضا خیابانی[1]*، عبدالصمد کرامت امیرکلایی[2]، حسین اورجی[2]،
ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی[2]، همایون حسین‌زاده صحافی[3]

۱. مربی گروه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه جامع علمی کاربردی. تهران، ایران.
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری. ساری، مازندران، ایران.
۳. استاد موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۷**

چکیده

علاوه بر توسعه فناوری‌های نوین موثر در بهبود شرایط زیستی ماهیان پرورشی، ماهیت بیوشیمیایی و عملکرد فیزیولوژیک مواد افزودنی به جیره، به شدت بر واکنش استرس ماهیان تأثیر می‌گذارد. این مطالعه به بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک (ARA, 20:4n-6) جیره غذایی بر سطوح کورتیزول، گلوکز و ترکیب اسیدهای چرب لاشه در ماهی دانیوی گورخری به عنوان ماهی مدل پرداخته است. ماهیان گورخری نورس (۲۰ روزه) با پنج جیره غذایی آزمایشی مختلف، که از نظر میزان انرژی و پروتئین یکسان بوده و از نظر سطح ARA (مقادیر صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد به کل اسید چرب جیره) با یکدیگر تفاوت داشتند، به مدت ۷۰ روز تغذیه شدند. سطح کورتیزول و گلوکز کل بدن تمامی تیمارها، پس از مواجهه با چالش کوتاه مدت (۴۸ ساعت گرسنگی) اخذ شد. نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش سطح ARA جیره، سطح ARA لاشه افزایش معنی‌دار آماری نشان می‌دهد ($P<0/05$). نتیجه آزمایش نشان داد، سطوح بالای ARA جیره (۲ و ۴ درصد) متابولیسم چربی لاشه را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار داده است ($P<0/05$). پس از القای چالش، با افزایش سطح ARA لاشه (تیمارهای دریافت‌کننده بالای یک درصد ARA جیره)، افزایش سطح کورتیزول را نشان دادند، در حالی که به نظر می‌رسد سطح ۴ درصد ARA جیره، باعث افزایش بیشتر کورتیزول پایه و پاسخ به استرس شده است. در واقع یک رژیم غذایی غنی از ARA می‌تواند باعث تغییر در لیپیدهای پیچیده و سطح کورتیزول و گلوکز بدن شود و به طور کلی بر شاخص‌های فیزیولوژیک ماهی گورخری تأثیر گذارد.

واژگان کلیدی: اسید آراشیدونیک، اسیدهای چرب ضروری، ماهی گورخری، استرس.

* نویسنده مسئول: علیرضا خیابانی
Email: khiabani@uast.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 2, Summer 2020
pp. 135-148

Effect of dietary Arachidonic acid on cortisol, glucose levels and whole Zebrafish (*Danio rerio*) fatty acid composition

Alireza Khiabani[1*], Abdol Samad Keramat Amirkolaie[2], Hossein Orji[2], Abolghasem Esmaili Fereidouni[2], Homayoun Hosseinzadeh Sahafi[3]

1. Instructor, Department of Agriculture and Natural Resources, University of Applied Science and Technology, Tehran
2. Associate professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran
3. Professor, Iranian Fisheries Sciences Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO) Tehran, Iran

Received: 01-May-2020 **Accepted: 27-May-2020**

Abstract

In addition to the development of new technologies to improve the biological conditions of cultured fish, the biochemical nature and physiological functionality of those feed additives strongly affect the stress response. This study explores the effect of dietary arachidonic acid (ARA, 20:4n-6) levels compared to cortisol and glucose levels and whole fatty acid composition in the using Zebrafish as the model organism. Juvenile zebrafish (20-days post-fertilization) fed the five iso-nitrogenous and iso-energetics experimental diets utilizing different ratios of the ARA diet (0, 0.5, 1, 2, and 4% ARA of total fatty acid) for 70 days. Then, Whole-body cortisol and glucose levels were determined, after short-term stress (48 hours' exposure to starvation). Results showed that the muscle ARA levels were highly correlated to dietary ARA levels. The experiments revealed significant, High ARA levels (2% and 4%) seemed to affect lipid metabolism in complicated ways ($p < 0.05$). Fish reflected dietary ARA content and post-stress cortisol increased with ARA supply up to 1%, whereas 4% ARA seems to enhance basal cortisol slightly and alter the response to stress. Actually, our results indicate that an ARA-enriched diet induces changes in complex lipids, cortisol and glucose levels, and overall affect physiological parameters.

Key Words: Arachidonic acid, Essential Fatty Acids, Zebrafish, Stress.

Corresponding author: Alireza Khiabani Email: khiabani@uast.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

آبزی‌پروری متراکم، می‌تواند تأثیرات منفی بر آرامش آبزیان پرورشی داشته باشد، از این رو شیوه‌های نوین پرورشی، با هدف به حداقل رساندن استرس در آبزیان و قبل از بروز انواع بیماری‌ها و نشانه‌های آسیب‌شناسی، توسعه یافته است تا از این طریق مانع بروز استرس، شیوع بیماری‌ها و نهایتاً مرگ و میر آنها شوند (Conte, 2004). علاوه بر تراکم آبزیان در واحد سطح، هر گونه ایجاد تغییر در شدت جریان و دمای آب و یا مواد تشکیل‌دهنده جیره غذایی، می‌تواند به عنوان عامل استرس‌زای خارجی عمل کند. این عوامل با ایجاد تغییر در عملکرد زیستی مطلوب ماهی‌ها، در شاخص‌های رشد، تولید مثل، توسعه اندام‌ها و بقای ماهی‌ها تأثیر می‌گذارند (Straalen, 2003) تضعیف سیستم ایمنی بدن به واسطه القای استرس‌های محیطی، می‌تواند منجر به مستعد شدن ماهی‌ها به ابتلا به بیماری‌ها شود، که به نوبه خود تولید اقتصادی سیستم‌های آبزی‌پروری را محدود می‌کند (Sado *et al.*, 2008). از سوی دیگر تأمین اسیدهای چرب ضروری در رژیم غذایی می‌تواند بر پاسخ به استرس در طول مراحل رشد اولیه تأثیر گذارد. اگرچه توصیف دقیق و جامعی از مکانیسم‌های درگیر و مربوط به تنظیم اسیدهای چرب در مواجهه و تحمل استرس صورت نگرفته است، اما اغلب فرض بر این است که اسیدهای چرب ضروری می‌توانند به واسطه تولید ایکوزانوئیدها، در تولید کورتیزول مؤثر باشند، زیرا اقدامات کورتیزول ژنومی توسط گیرنده‌های سیتوزولی که ممکن است به سیگنالینگ اسید چرب سلولی پاسخ دهند، مربوط باشد (Martins *et al.*, 2012). کمبود اسیدهای چرب ضروری در رژیم غذایی، همواره موجب تغییرات فیزیولوژیک، مورفولوژیک و رفتاری در ماهیان می‌شود، که به طور قابل توجهی باعث کاهش عملکرد آنها در طول دوره پرورش می‌شود و اغلب با کاهش رشد و افزایش تلفات، افزایش محتوای آب عضلات، افزایش محتوای چربی کبد، کاهش بازده تغذیه و... می‌شود (Glencross, 2009; Khiabani *et al.*, 2019). به طور خلاصه می‌توان گفت، مقاومت به استرس، به عنوان یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیک ماهی‌ها در نظر گرفته می‌شود و به عنوان هدفی برای بهبود ژنتیک گونه‌ها تلقی می‌گردد، زیرا استرس می‌تواند تأثیر منفی بر شاخص‌های رشد و نمو داشته باشد (Portz *et al.*, 2006). از سوی دیگر در دسترس نبودن مواد مغذی ضروری، به ویژه در دوران جنینی و لاروی، ممکن است رشد طبیعی و بقای ماهیان را به مخاطره اندازد و در مواجهه با عوامل استرس‌زا، منابع انرژی که باید صرف رشد و نمو و سایر فرآیندهای بیولوژیک طبیعی شوند، به واکنش‌های طبیعی برای مقابله برای جریان استرس منحرف می‌شوند، از این رو وجود عوامل استرس‌زا، مانع رشد و نمو طبیعی ماهی‌ها می‌گردد. در این میان، سطح چربی رژیم غذایی دریافتی، به شدت بر سطح ایمنی موجود زنده و پاسخ آن به استرس تأثیر می‌گذارد (Weirich and Reigh, 2001). تاکنون تقسیم‌بندی‌های مختلفی در خصوص توصیف عوامل استرس‌زا ارائه شده است. یکی از این تقسیم‌بندی‌ها عوامل بروز استرس را به دو نوع عوامل محیطی و متابولیک و عوامل فیزیولوژیک تقسیم می‌کند. استرس محیطی و متابولیک، تحت استرس ناشی از دستکاری، عوامل بیماری‌زا، کمبود مواد غذایی و... بروز کرده و استرس فیزیولوژیک نیز تغییراتی در فرآیند رشد سلولی، تمایز، تکامل و پیری بیان می‌شود (Calderwood *et al.*, 2007). کورتیزول معمول‌ترین هورمون شاخص استرس در ماهیان است و اندازه‌گیری آن می‌تواند نشان‌دهنده بروز استرس و شدت آن باشد، استرس و میزان آن در مدت زمان‌های مختلف بر میزان کورتیزول ترشح شده اثر گذاشته که به دنبال آن بر میزان گلوکز خون نیز تأثیر می‌گذارد. کاهش گلوکز خون باعث افزایش کورتیزول از ناحیه قشری غدد فوق کلیوی می‌شود تا با تأثیر بر سایر ذخایر بدن، امکان افزایش گلوکز خون فراهم شود. این مکانیسم یک عامل مهم برای حفظ دراز مدت میزان گلوکز خون محسوب می شود. وجود همبستگی منفی (معکوس) و معنی‌دار بین این دو عامل نیز حاکی از همین مسئله است (Lehninger, 1972). با وجود استفاده رایج از کورتیزول

www.SID.ir

Archive of SID

به عنوان یک شاخص بیان استرس، گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید به عنوان واسطه (میانجی[1]) اثرات فیزیولوژیک واقعی این هورمون شناخته می‌شوند. از این رو، مطالعه پتانسیل اسیدهای چرب ضروری رژیم غذایی برای تعدیل این گیرنده‌ها، احتمالاً سر نخ‌هایی را در مورد چگونگی تأثیر تغذیه لیپیدی بر پاسخ به استرس در ماهی‌ها ارائه می‌دهد (Martins *et al.*, 2012). برخی مطالعات نشان دادند که سطح اسید آراشیدونیک (ARA, 20:4n-6) جیره در تغییر سطح پایه هورمون کورتیزول یا در میزان مقاومت به استرس در گونه‌های مختلف ماهیان نقش دارد (Lund andSteenfeldt, 2011). ظهور ماهی دانیوی گورخری (*Danio rerio*) در طول چند دهه گذشته به عنوان یک مدل آزمایشگاهی در میان محققان به خوبی تثبیت شده است (Nowosad *et al.*, 2017). در حال حاضر این گونه به عنوان یک مکمل همیشگی و یا حتی جایگزین مناسبی برای موش‌ها و دیگر پستانداران آزمایشگاهی مبدل شده است. گسترش استفاده از این ماهی آب شیرین در تحقیقات زیستی سبب شده است که تا مجموعه‌ای از پیشرفت‌های حوزه فن‌آوری و ابزارهای مولکولی مورد نیاز جهت مطالعه آن به خوبی میسر شود (Khiabani, 2019). با توجه به موارد مذکور، در این پژوهش، تلاش شد تا رابطه بین سطوح دریافتی اسیدهای چرب جیره و لاشه و همچنین سطح کورتیزول و گلوکز در ماهی دانیوی گورخری، پس از مواجهه با چالش کوتاه مدت گرسنگی بررسی شود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. طرح آزمایش

از خرداد ۱۳۹۸، شمارش، توزین، بیومتری و توزیع ماهی‌ها آغاز شد. بر این اساس، تعداد ۹۰۰ قطعه بچه‌ماهی ۲۰ روزه دانیوی گورخری (با وزن متوسط ۰/۰۵۳ گرم و طول متوسط ۰/۴ میلی‌متر) با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۱۵ مخزن شیشه‌ای (۶۰ قطعه در هر آکواریوم) با ابعاد (طول ۵۰، عرض ۵۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) و حجم (۱۰۰ لیتر) برابر توزیع شد. محل انجام طرح در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان زینتی موج سبز استان تهران (در موقعیت جغرافیایی زیر[2]) بود. مخازن جهت تغذیه با جیره‌های آزمایشی مورد نظر (با سه تکرار) شماره‌گذاری گردید. تغذیه تیمارهای مورد نظر به روش دستی، تا حد سیری ماهی‌ها طی ۵ وعده در روز (در ساعات ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۶ و ۱۸) به مدت ۷۰ روز صورت گرفت. پس از اتمام دوره پرورش، یک دوره کوتاه مدت گرسنگی (۴۸ ساعت) به عنوان چالش استرس‌زا در نظر گرفته شد، سپس نمونه‌گیری از ماهیان تیمارهای مختلف برای سنجش کورتیزول و گلوکز صورت گرفت.

۲.۲. شرایط آزمایش

هر یک از مخازن به طور مجزا به بخاری ترموستات‌دار و سنگ هوا مجهز شد. نوردهی مخازن توسط لامپ فلورسنت سفید، با قابلیت تابش از سقف سالن انجام شد (۱۴ ساعت روشنایی). منبع آب مورد استفاده از طریق آب چاه تأمین شد و پس از ذخیره‌سازی و انتقال به سیستم مکانیزه تنظیم سختی آب، با عبور از دستگاه تابش نور فرابنفش وارد مخازن شدند. هوادهی مخازن از طریق یک دستگاه پمپ مرکزی انجام گردید و برای جلوگیری از تجمع قطرات چربی در سطح آب و پیشگیری از رشد و توسعه باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌های نامطلوب، کلیه مخازن به سیستم ورود و خروج آب از سطح مجهز شدند. میزان دِبی آب ورودی مخازن برابر با ۰/۵ لیتر در ساعت بود. شاخص‌های فیزیکو-شیمیایی آب در طول دوره آزمایش سنجش و ثبت شد، بدین ترتیب میانگین دمای آب در طول دوره پرورش (۰/۰۰ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد)، پی-اچ (۰/۰۶ ± ۷/۱)، اکسیژن محلول (۰/۰۶ ± ۷/۴۳

۱- Mediate

۲- Latitude and Longitude: 35°33'02"N 51°30'08"E

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌گرم در لیتر) هدایت الکتریکی آب (۱/۰۰ ± ۵۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر)، میزان آمونیاک (۰/۰۰ ± ۰ میلی‌گرم در لیتر)، نیتریت (۰/۰۰ ± ۰ میلی‌گرم در لیتر) و نیترات (۰/۲۹ ± ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر) بود.

تهیه جیره‌های آزمایشی

جیره پایه مورد استفاده در این آزمایش، غذای پیش‌آغازین ماهی قزل‌آلا (شرکت فرادانه ایران، با ابعاد ۰/۵ تا ۰/۳ میلی‌متر) به صورت کرامبل بود. برای تهیه جیره‌های آزمایشی، جیره پایه با مقادیر صفر (کنترل)، ۱/۶۵، ۳/۳، ۶/۶ و ۱۳/۲ گرم روغن تخمیری حاوی ۳۵ درصد اسید آراشیدونیک (*Vedovar*، محصول شرکت DSM کشور هلند) به نسبت یک کیلوگرم غذا، آغشته و به خوبی مخلوط و همگن گردید. به این ترتیب سطح آراشیدونیک افزوده به جیره پایه برابر با مقادیر صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد اسید آراشیدونیک به نسبت چربی کل جیره پایه (۱۱/۵ درصد وزن خشک جیره پایه) بود. برای تنظیم سطوح چربی جیره‌ها و نیل به جیره ایزوانرژتیک، جایگزینی روغن آفتاب‌گردان با سطوح افزوده روغن *Vedovar* صورت گرفت. جیره‌ها از نظر میزان پروتئین خام (۵۱/۵ درصد)، کربوهیدرات (۲۳/۴۲ درصد)، چربی خام (۱۲/۵۴ درصد) و میزان انرژی (۲۱/۱۶ کیلوژول بر گرم) یکسان (جدول ۱) و از لحاظ درصد اسید آراشیدونیک به نسبت کل اسیدهای چرب با یکدیگر تفاوت داشتند.

جدول ۱- آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی.

ترکیب شیمیایی جیره (درصد وزن خشک)	ترکیب شیمیایی جیره در تیمارهای مختلف (درصد)				
	C (۰٪)	T_1 (۰/۵٪)	T_2 (۱٪)	T_3 (۲٪)	T_4 (۴٪)
ماده خشک (جیره پایه)	۹۰/۷۶	۹۰/۷۶	۹۰/۷۶	۹۰/۷۶	۹۰/۷۶
پروتئین خام (جیره پایه)	۵۱/۵۰	۵۱/۵۰	۵۱/۵۰	۵۱/۵۰	۵۱/۵۰
کربوهیدرات (جیره پایه)	۲۳/۴۲	۲۳/۴۲	۲۳/۴۲	۲۳/۴۲	۲۳/۴۲
خاکستر (جیره پایه)	۱۱/۰۲	۱۱/۰۲	۱۱/۰۲	۱۱/۰۲	۱۱/۰۲
چربی خام	۱۲/۵۰	۱۲/۴۳	۱۲/۵۲	۱۲/۴۶	۱۲/۴۸
انرژی (کیلوژول/گرم)[a]	۲۱/۱۵	۲۱/۲۴	۲۱/۱۶	۲۱/۱۳	۲۱/۱۴

a: نحوه محاسبه انرژی بر اساس: چربی (۳۹/۷ کیلوژول/گرم)، پروتئین (۲۳/۷ کیلوژول/گرم) و کربوهیدرات (۱۷ کیلوژول/گرم).

در ادامه ترکیب مورد نظر جهت فرموله کردن جیره در غلظت‌های مورد نظر به همراه مقداری آب به جیره‌ها افزوده شد، تا به شکل خمیر آماده شود. در ادامه خمیرهای حاصله با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن به خوبی همگن گردید و از چرخ گوشت عبور داده شدند. رشته‌های خمیر ایجاد شده، پس از خشک شدن، توسط دستگاه آسیاب خانگی، خرد و یک‌دست شدند. پروفایل اسید چرب جیره‌های آزمایشی اخذ گردید (جدول ۲) و هر یک از تیمارهای غذایی به ترتیب با اسامی C (تیمار کنترل)، T_1 (تیمار یک)، T_2 (تیمار دو)، T_3 (تیمار سه) و T_4 (تیمار چهار) نام‌گذاری و تا زمان مصرف، درون ظروف پلاستیکی درب‌دار، در فریزر در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲،۳. تجزیه شیمیایی و سنجش اسیدهای چرب لاشه

در پایان دوره پرورش، ۳۰ تا ۳۲ قطعه ماهی (با مجموع وزن تقریبی ۱۰ گرم) برای بررسی تجزیه ترکیب بیوشیمیایی تقریبی لاشه (پروتئین، لیپید، خاکستر و رطوبت) از هر مخزن به صورت تصادفی جدا و بی‌هوش شدند تا پس از هموژن شدن، تجزیه تقریبی لاشه، بر اساس روش آزمایشگاهی استاندارد AOAC قرار گیرد (AOAC, 2000). پروتئین خام توسط دستگاه کجلدال (شرکت Tecator، مدل Kjeltec 1030)، لیپید توسط دستگاه سوکسله (شرکت Tecator، مدل Soxtec 1043)،

www.SID.ir

Archive of SID

رطوبت توسط دستگاه آون (شرکت Gallenkamp، مدل plus 300) و تعیین خاکستر با سوزاندن نمونه‌ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد (۱۲ ساعت) انجام شد. برای تجزیه پروفایل اسید چرب لاشه‌ها در پایان دوره پرورش، ۴ قطعه ماهی (حدوداً یک گرم) از هر مخزن به صورت تصادفی جدا و بی‌هوش شدند و پس از هموژن شدن، پروفایل اسید چرب لاشه آنها به روش (Folch *et al.*, 1957) توسط دستگاه کروماتوگراف گازی شرکت فیلیپس مجهز به ستون کاپیلاری از نوع SGE BPX70 (60m×0/32mm ID×0/25 µm- film thickness 60) و آشکارساز یونش شعله‌ای اندازه‌گیری شد و مقادیر به صورت درصد از کل اسید چرب اعلام شدند.

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی حاوی اسید آراشیدونیک.

نوع اسید چرب جیره	تیمارهای مختلف (درصد از کل اسیدهای چرب)				
	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (٪ ۱)	T_3 (٪ ۲)	T_4 (٪ ۴)
C14:0	۴/۱۲	۲/۹۴	۳/۷۱	۴/۷۱	۲/۱۹
C15:0	۰/۸۵	۰/۸۳	۰/۵۳	۰/۵۴	۰/۱۸
C16:0	۱۸/۲۴	۱۷/۴۴	۱۸/۶۱	۱۸/۴۸	۱۷/۰۶
C17:0	۰/۵۷	۰/۷۵	۰/۸۱	۰/۷۲	۰/۴۱
C18:0	۴/۷۵	۴/۶۵	۴/۱۱	۳/۴۱	۵/۱۲
C20:0	۰/۹۲	۱/۰۰	۰/۸۱	۰/۹۷	۱/۰۲
∑SFA[a]	۲۹/۴۵	۲۷/۶۰	۲۸/۵۸	۲۸/۸۳	۲۵/۹۸
C16:1	۳/۵۵	۳/۳۸	۳/۲۶	۳/۳۴	۳/۴۹
C17:1	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۳۸	۰/۵۷	۰/۱۷
C18:1(n-9)C	۳۲/۱۷	۳۲/۳۹	۳۲/۱۵	۳۱/۲۰	۳۱/۷۵
C20:1	۰/۷۷	۰/۸۰	۰/۷۰	۰/۶۸	۰/۷۰
∑MUFA[b]	۳۶/۵۶	۳۶/۶۰	۳۶/۴۹	۳۵/۷۹	۳۶/۱۱
C18:2(n-6)C	۱۷/۲۶	۱۷/۹۶	۱۷/۱۸	۱۷/۲۳	۱۷/۹۲
C18:3 n6	۰/۰۶	۰/۱۸	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۲۱
C18:3 n3	۳/۳۱	۳/۷۶	۳/۶۱	۳/۳۰	۳/۳۰
C20:2	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۹۶
C20:3 n3	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۰۹	۰/۱۵
C20:3 n6	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۱۶
C20:4 n6 ARA	۰/۴۹	۱/۱۹	۱/۶۷	۲/۴۱	۴/۷۰
C20:5 n3 EPA	۳/۰۸	۳/۲۵	۳/۱۷	۳/۰۸	۲/۹۸
C22:4 n6 DTA	۰/۴۲	۰/۳۶	۰/۳۷	۰/۳۹	۰/۳۱
C22:5 n6	۰/۳۶	۰/۳۱	/۳۰	۰/۳۶	۰/۳۱
C22:5 n3 DPA	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۳۷	۰/۳۹	۰/۳۲
C22:6 n3 DHA	۷/۵۲	۷/۲۸	۷/۱۱	۷/۱۹	۶/۶۰
∑PUFA[c]	۳۳/۹۹	۳۵/۷۹	۳۴/۹۲	۳۵/۳۸	۳۷/۹۰
∑n-6[d]	۱۸/۵۹	۲۰/۰۳	۱۹/۷۸	۲۰/۵۵	۲۳/۶۱
∑n-3e	۱۴/۴۸	۱۴/۸۴	۱۴/۴۱	۱۴/۰۵	۱۳/۳۴
∑n-6 / ∑n-3	۱/۲۸	۱/۳۵	۱/۳۷	۱/۴۶	۱/۷۷

a: مجموع اسیدهای چرب اشباع (Σ Saturate fatty acid)

b: مجموع اسیدهای چرب تک غیر اشباع (Σ Monounsaturated fatty acid)

c: مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع (Σ Poly unsaturated fatty acid)

d: مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع سری n-6

e: مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع سری n-3

www.SID.ir

Archive of SID

۴.۲. سنجش کورتیزول و گلوکز

برای بررسی کورتیزول و گلوکز، ماهیان گورخری از هر تیمار به صورت تصادفی صید و با محلول پودر گل میخک (با غلظت ۲۰۰ قسمت در میلیون) به سرعت بی‌هوش شدند. کورتیزول کل بدن با استفاده از دستورالعمل (Guest *et al.*, 2016) به روش الایزای مستقیم و بر اساس پروتکل سازنده کیت (IBL-International RE52061، آلمان)، مورد سنجش قرار گرفت و اندازه‌گیری گلوکز کل بدن با استفاده از روش آنزیمی-کالری‌متری بر اساس اندازه‌گیری تک نقطه‌ای با روش فتومتریک با استفاده از دستورالعمل (Herrera *et al.*, 2016) انجام شد.

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای یکنواختی واریانس و توزیع نرمال داده‌ها، به ترتیب از آزمون‌های تک متغیره لون و آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳. نتایج

۱.۳. تجزیه ترکیبات تقریبی ترکیب کل لاشه

تجزیه ترکیب تقریبی ترکیب کل لاشه در انتهای دوره پرورش اندازه‌گیری شد و بر اساس نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه مشخص شد. در بین ماهیان گورخری تغذیه شده با سطوح مختلف جیره، بین ترکیب شیمیایی لاشه در میان تیمارهای این آزمایش، اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت، بر این اساس سطح چربی، پروتئین و رطوبت کل ترکیب لاشه در تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌دار آماری داشت ($P<0/05$) و میزان خاکستر لاشه ماهیان در تیمارهای مختلف، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P>0/05$). بر این اساس بیش‌ترین سطح چربی بدن (بر مبنای وزن خشک) در تیمار C (۰/۰۶ ± ۳۸/۴۶ درصد) مشاهده شد و کم‌ترین میزان آن در تیمار T_3 (۰/۳۴ ± ۳۳/۵۱ درصد) و T_4 (۰/۳۰ ± ۳۴/۳۲ درصد) ثبت گردید ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان محتوی پروتئین بدن (بر مبنای وزن خشک) در ماهیان تیمار T_4 (۰/۴۹ ± ۵۱/۸۵ درصد) و T_3 (۰/۱۶ ± ۵۱/۵۱ درصد) به‌دست آمد و کم‌ترین میزان آن در تیمار T_2، T_1 و C مشاهده شد ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان محتوی رطوبت کل بدن در تیمار C (۰/۰۶ ± ۷۴/۰۷ درصد)، تیمار T_2 (۰/۲۵ ± ۷۳/۵۵ درصد) و تیمار T_1 (۰/۰۷ ± ۷۴/۰۲ درصد) مشاهده شد و کم‌ترین میزان آن در تیمار T_4 و تیمار T_3 ثبت شد ($P<0/05$). این نتایج در جدول ۳ منظور گردیده است.

۲.۳. اسیدهای چرب تیمارها

پروفایل اسید چرب لاشه ماهیان گورخری در انتهای دوره مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۴) و مشخص شد در میان تیمارهای این آزمایش، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<0/05$). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد، با افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره غذایی، سطح آراشیدونیک ترکیب لاشه در تمامی تیمارها افزایش می‌یابد. بر این اساس بالاترین سطح اسید آراشیدونیک لاشه به نسبت چربی خام، در ماهیان تیمار T_4 (۰/۰۴ ± ۲/۲۶ درصد) مشاهده شد که از جیره حاوی ۴ درصد اسید آراشیدونیک افزوده به نسبت چربی کل جیره تغذیه شده بودند. از سوی دیگر پایین‌ترین سطح اسید آراشیدونیک لاشه در ماهیان تیمار C (۰/۰۱ ± ۰/۵۱ درصد) مشاهده شد که از جیره فاقد اسید آراشیدونیک افزوده تغذیه کرده بودند. افزایش سطح اسید آراشیدونیک در جیره غذایی، تغییر معنی‌دار آماری در مجموع اسیدهای چرب اشباع شده (SFAs) و مجموع اسیدهای چرب با یک باند مضاعف (MUFAs) لاشه ایجاد نکرد ($P>0/05$)، اما در مجموع اسیدهای چرب دارای ۲ تا ۴ باند مضاعف یا اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFAs) لاشه تغییر معنی‌داری ایجاد کرد ($P<0/05$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- تجزیه تقریبی ترکیب شیمیایی لاشه ماهیان گورخری در انتهای دوره پرورش.

ترکیب شیمیایی لاشه	میانگین تیمارهای مختلف (± انحراف معیار)					P value
(درصد)	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (٪ ۱)	T_3 (٪ ۲)	T_4 (٪ ۴)	(sig)
چربی خام	۳۸/۴۶ ± ۰/۰۶ d	۳۷/۰۱ ± ۰/۸۲ c	۳۶/۰۲ ± ۰/۳۷ b	۳۳/۵۱ ± ۰/۳۴ a	۳۴/۳۲ ± ۰/۳۰ a	۰/۰۰
پروتئین خام	۵۰/۶۴ ± ۰/۰۲ a	۵۰/۲۸ ± ۰/۲۳ a	۵۰/۰۵ ± ۰/۸۷ a	۵۱/۵۱ ± ۰/۱۶ b	۵۱/۸۵ ± ۰/۴۹ b	۰/۰۰
خاکستر	۹/۵۱ ± ۰/۰۹	۹/۵۶ ± ۰/۲۸	۹/۵۵ ± ۰/۲۳	۹/۵۹ ± ۰/۱۴	۹/۶۰ ± ۰/۲۵	۰/۹۸
رطوبت کل بدن	۷۴/۰۷ ± ۰/۰۶ b	۷۳/۵۵ ± ۰/۲۵ b	۷۴/۰۲ ± ۰/۰۷ b	۷۲/۴۵ ± ۰/۰۸ a	۷۱/۸۶ ± ۱/۰۰ a	۰/۰۰

-حروف متفاوت هر سطر بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج صدم است (P<۰/۰۵).

جدول ۴- ترکیب اسید چرب لاشه ماهیان گورخری در تیمارهای مختلف (درصد از کل اسیدهای چرب).

نوع اسید چرب	میانگین تیمارهای مختلف (± انحراف معیار)					p value
لاشه	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (٪ ۱)	T_3 (٪ ۲)	T_4 (٪ ۴)	(sig)
C14:0	۱/۹۲ ± ۰/۱۷ a	۲/۳۶ ± ۰/۲۱ b	۲/۷۴ ± ۰/۲۱ c	۱/۸۷ ± ۰/۱۱ a	۲/۶۷ ± ۰/۱۵ bc	۰/۶۵
C15:0	۰/۴۳ ± ۰/۰۴	۰/۴۶ ± ۰/۰۳	۰/۴۳ ± ۰/۰۲	۰/۴۳ ± ۰/۰۲	۰/۴۵ ± ۰/۰۱	۰/۲۱
C16:0	۲۶/۳۱ ± ۰/۹۸ab	۲۶/۳۶ ± ۰/۳۲ b	۲۵/۵۸ ± ۰/۰۶ ab	۲۵/۹۵ ± ۰/۰۹ ab	۲۵/۴۳ ± ۰/۰۸ a	۰/۰۰
C17:0	۰/۷۷ ± ۰/۰۷	۰/۷۳ ± ۰/۰۶	۰/۸۲ ± ۰/۰۱	۰/۷۵ ± ۰/۰۶	۰/۸۶ ± ۰/۱۲	۰/۲۶
C18:0	۴/۲۹ ± ۰/۵۰ a	۴/۴۴ ± ۰/۲۱ ab	۴/۶۱ ± ۰/۰۲ ab	۴/۹۰ ± ۰/۱۵ b	۴/۸۰ ± ۰/۱۲ b	۰/۰۶
C20:0	۰/۱۸ ± ۰/۰۲	۰/۱۶ ± ۰/۰۱	۰/۱۶ ± ۰/۰۱	۰/۱۷ ± ۰/۰۱	۰/۱۷ ± ۰/۰۲	۰/۶۳
∑SFA	۳۳/۹۰ ± ۱/۶۴	۳۴/۵۲ ± ۰/۲۸	۳۴/۳۵ ± ۰/۳۰	۳۴/۰۷ ± ۰/۱۲	۳۴/۳۸ ± ۰/۱۳	۰/۰۳
C16:1	۵/۰۷ ± ۰/۲۲ c	۴/۶۹ ± ۰/۴۳ bc	۴/۳۳ ± ۰/۰۶ ab	۴/۰۳ ± ۰/۰۵ a	۳/۹۲ ± ۰/۱۸ a	۰/۰۱
C17:1	۰/۳۷ ± ۰/۰۱	۰/۳۸ ± ۰/۰۱	۰/۳۹ ± ۰/۰۱	۰/۳۸ ± ۰/۰۱	۰/۳۹ ± ۰/۰۱	۰/۸۲
C18:1 n-9 c	۳۷/۱۶ ± ۱/۶۳ a	۳۶/۹۱ ± ۰/۷۸ ab	۳۷/۱۴ ± ۰/۰۲ b	۳۸/۶۳ ± ۰/۴۰ c	۳۸/۶۸ ± ۰/۱۴ c	۰/۰۱
C20:1	۱/۰۷ ± ۰/۰۸ bc	۱/۱۴ ± ۰/۰۵ c	۰/۹۵ ± ۰/۱۴ b	۰/۷۹ ± ۰/۰۷ a	۱/۱۳ ± ۰/۰۲ c	۰/۰۵
∑MUFA	۴۳/۶۷ ± ۱/۵۰	۴۳/۱۲ ± ۰/۴۴	۴۲/۸۰ ± ۰/۱۵	۴۳/۸۳ ± ۰/۳۸	۴۴/۱۲ ± ۰/۳۲	۰/۲۵
C18:2 n-6 c	۱۰/۷۷ ± ۱/۰۴	۱۰/۴۰ ± ۰/۲۷	۱۱/۳۶ ± ۰/۱۳	۱۰/۶۲ ± ۰/۵۳	۱۰/۳۴ ± ۰/۱۰	۰/۰۰
C18:3 n6	۰/۲۵ ± ۰/۰۴	۰/۲۹ ± ۰/۰۵	۰/۲۵ ± ۰/۰۳	۰/۱۹ ± ۰/۰۴	۰/۲۸ ± ۰/۰۶	۰/۶۴
C18:3 n3 (ALA)	۲/۷۵ ± ۰/۱۴c	۱/۷۸ ± ۰/۰۵ b	۱/۶۴ ± ۰/۰۴ b	۱/۷۸ ± ۰/۰۷ b	۰/۷۳ ± ۰/۰۷ a	۰/۰۰
C20:3 n3	۰/۲۸ ± ۰/۰۴	۰/۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۳۵ ± ۰/۰۳	۰/۲۹ ± ۰/۰۸	۰/۲۸ ± ۰/۰۱	۰/۱۵
C20:3 n6(DGLA)	۰/۳۸ ± ۰/۰۳ a	۰/۴۲ ± ۰/۰۵ a	۰/۵۷ ± ۰/۰۱ b	۰/۴۳ ± ۰/۰۱ a	۰/۴۴ ± ۰/۰۸ a	۰/۰۰
C20:4 n6 (ARA)	۰/۵۱ ± ۰/۰۱ a	۰/۷۸ ± ۰/۰۱ b	۱/۲۸ ± ۰/۰۱ c	۱/۴۳ ± ۰/۰۱ d	۲/۲۶ ± ۰/۰۴ e	۰/۱۷
C20:5 n3 (EPA)	۱/۳۳ ± ۰/۰۴ b	۱/۵۱ ± ۰/۱۲ c	۱/۱۳ ± ۰/۰۱ a	۱/۲۳ ± ۰/۰۱ ab	۱/۳۲ ± ۰/۰۷ b	۰/۰۹
C22:4 n6 (DTA)	۰/۱۶ ± ۰/۰۲ a	۰/۲۱ ± ۰/۰۳ b	۰/۱۷ ± ۰/۰۲ a	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ a	۰/۲۱ ± ۰/۰۱ b	۰/۳۳
C22:5 n3 (DPA)	۰/۴۲ ± ۰/۰۳	۰/۴۳ ± ۰/۰۱	۰/۴۴ ± ۰/۱۱	۰/۴۶ ± ۰/۰۰	۰/۴۰ ± ۰/۰۲	۰/۰۰
C22:6 n3 (DHA)	۵/۵۹ ± ۰/۲۱ ab	۶/۲۷ ± ۰/۲۶ c	۵/۶۷ ± ۰/۰۴ b	۵/۵۲ ± ۰/۲۶ ab	۵/۲۵ ± ۰/۰۷ a	۰/۰۳
∑PUFA	۲۲/۴۳ ± ۱/۰۱ab	۲۲/۳۷ ± ۰/۱۹ ab	۲۲/۸۵ ± ۰/۱۹ b	۲۲/۱۱ ± ۰/۴۸ ab	۲۱/۵۰ ± ۰/۳۱ a	۰/۰۹
∑n-6	۱۲/۰۶ ± ۱/۰۵ a	۱۲/۱۰ ± ۰/۲۸ a	۱۳/۶۳ ± ۰/۱۴ b	۱۲/۸۲ ± ۰/۵۸ ab	۱۳/۵۲ ± ۰/۲۷ b	۰/۰۱
∑n-3	۱۰/۳۶ ± ۰/۴۲ c	۱۰/۲۶ ± ۰/۱۲ c	۹/۲۲ ± ۰/۲۰ b	۹/۲۸ ± ۰/۱۱ b	۷/۹۸ ± ۰/۰۴ a	۰/۰۰
∑n-6 / ∑n-3	۱/۱۷ ± ۰/۱۲ a	۱/۱۸ ± ۰/۰۴ a	۱/۴۸ ± ۰/۰۴ b	۱/۳۸ ± ۰/۰۸ b	۱/۶۹ ± ۰/۰۲ c	۰/۰۰

-حروف متفاوت هر سطر بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج صدم است (P<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

بر این اساس بالاترین میزان PUFAs در ماهیان تیمار $T_۲$ (۰/۱۹ ± ۲۲/۸۵ درصد) و کم‌ترین این مقدار در ماهیان تیمار $T_۴$ (۰/۳۱ ± ۲۱/۵۰ درصد) مشاهده شد. افزایش سطح اسید آراشیدونیک در جیره غذایی، تغییر معنی‌دار آماری در سطح این اسید در لاشه ایجاد کرد (P<۰/۰۵). بر این اساس بالاترین سطح اسید آراشیدونیک لاشه در ماهیان تیمار $T_۴$ (۰/۰۴ ± ۲/۲۶ درصد) و کم‌ترین این مقدار در ماهیان تیمار C (۰/۰۱ ± ۰/۵۱ درصد) ثبت شد. افزایش سطح اسید آراشیدونیک در جیره غذایی، تغییر معنی‌دار آماری در مجموع اسیدهای چرب سری n-6 و سری n-3 ایجاد کرد (P<۰/۰۵). بر این اساس بالاترین سطح اسیدهای چرب سری n-6 در ماهیان تیمار $T_۴$ (۰/۲۷ ± ۱۳/۵۲ درصد) و کم‌ترین این مقدار در ماهیان تیمار C (۱/۰۵ ± ۱۲/۰۶ درصد) و $T_۱$ (۰/۲۸ ± ۱۲/۱۰ درصد) ثبت شد. بالاترین سطح اسیدهای چرب سری n-3 در ماهیان تیمار C (۰/۴۲ ± ۱۰/۳۶ درصد) و $T_۱$ (۰/۱۲ ± ۱۰/۲۶ درصد) و کم‌ترین این مقدار در ماهیان تیمار $T_۴$ (۰/۰۴ ± ۷/۹۸ درصد) ثبت شد. بدین ترتیب بالاترین نسبت سطح اسیدهای چرب سری n-6 به n-3 در ماهیان تیمار $T_۴$ (۰/۰۲ ± ۱/۶۹ درصد) و کم‌ترین این مقدار در ماهیان تیمار C (۰/۱۲ ± ۱/۱۷ درصد) و $T_۱$ (۰/۰۴ ± ۱/۱۸ درصد) ثبت شد (P<۰/۰۵).

۳.۳. تغییرات سطح کورتیزول تیمارها

نتایج تجزیه واریانس یک‌طرفه نشان داد، سطح کورتیزول در میان تیمارهای مختلف این پژوهش، دارای اختلاف معنی‌دار آماری است و افزایش سطح اسید آراشیدونیک در جیره غذایی، با افزایش سطح کورتیزول همراه است (P<۰/۰۵). بر این اساس مقدار کورتیزول در ماهیان تیمار C با ماهیان تیمار $T_۱$، $T_۲$ و $T_۳$ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت، اما با ماهیان تیمار $T_۴$ اختلاف آماری معنی‌دار نشان داد (جدول ۵).

۴.۳. تغییرات سطح گلوکز تیمارها

سطح گلوکز در میان تیمارهای مختلف این پژوهش، دارای اختلاف آماری معنی‌دار بود و افزایش سطح اسید آراشیدونیک در جیره غذایی، با افزایش سطح گلوکز همراه بود (P<۰/۰۵). بر این اساس مقدار گلوکز در ماهیان تیمار C با ماهیان تیمار $T_۱$ و $T_۲$ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت، اما با ماهیان تیمار $T_۴$، $T_۳$ اختلاف آماری معنی‌دار داشت (جدول ۵).

جدول ۵- آنالیز کورتیزول و گلوکز ماهیان گورخری در انتهای دوره پرورش (پس از چالش گرسنگی ۴۸ ساعته).

نوع آنالیز	میانگین تیمارهای مختلف (± انحراف معیار)					P value (sig)
	C (٪ ۰)	$T_۱$ (٪ ۰/۵)	$T_۲$ (٪ ۱)	$T_۳$ (٪ ۲)	$T_۴$ (٪ ۴)	
کورتیزول (نانوگرم بر میلی‌گرم)	۱۱/۳۲ ± ۰/۱۳ ^{a}	۱۱/۳۰ ± ۰/۰۸ ^{a}	۱۱/۴۵ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۱۱/۴۵ ± ۰/۳۶ ^{ab}	۱۱/۶۹ ± ۰/۰۶ ^{b}	۰/۱۶
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۳/۰۸ ± ۰/۲۸ ^{a}	۲۳/۱۳ ± ۰/۶۲ ^{a}	۲۴/۲۶ ± ۰/۹۴ ^{ab}	۲۴/۷۶ ± ۰/۰۸ ^{b}	۲۵/۱۵ ± ۰/۹۴ ^{b}	۰/۰۱

حروف متفاوت هر سطر بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج صدم است (P<۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه گیری

به طور کلی با افزایش سطح ARA در رژیم غذایی، تجمع اسیدهای چرب با پیوندهای دو گانه کربنی کمتر، در لاشه مشاهده شد، مطالعات انجام شده توسط (Fountoulaki *et al.*, 2003) در مورد ماهی سیم سر طلایی[1] و یا پژوهش صورت گرفته توسط

1- *Sparus aurata* (Gilt-head bream)

www.SID.ir

Archive of SID

((Xu *et al.*, 2018 در مورد ماهی باس ژاپنی[1] از کاهش نسبی سطح چربی کل بدن، به واسطه افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره حکایت دارند. نتایج مطالعه (Adam et al., 2017) نشان داد، رژیم غذایی بسیار غنی‌تر از ARA، باعث تغییر در سطح لیپیدهای پیچیده، ایکوزانوئیدهای مرتبط با سیستم ایمنی بدن و افزایش سطح اکسیداسیون چربی‌ها شده و استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش داده است. از آنجایی که شرایط التهابی، اغلب با وقایع آنتی‌اکسیدانی، به عنوان نتیجه تغییر محیط اکسید شده همراه است، در تیمارهای حاوی ARA دریافتی بالاتر، تغییرات متمایزی در مقایسه با گروه کنترل دیده می‌شود. لذا افزایش سطوح بالاتر اسید آراشیدونیک در جیره، سبب افزایش فعالیت‌های التهابی از جمله اکسیداسیون لیپیدها در بدن شده است. (Tian *et al.*, 2014) اثبات نمودند افزایش سطح اسید آراشیدونیک لاشه به طور موثری تجمع لیپیدها را سرکوب کرده (به واسطه مهار بیان ژن‌های PPARγ و FAS) و بیان برخی ژن‌های کلیدی متابولیسم لیپیدها را تغییر می‌دهد. با عنایت به نتایج پژوهش حاضر و مطالعات صورت گرفته فوق، به نظر می‌رسد افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره غذایی در مقادیر بالا، موجب کاهش سطح چربی کل لاشه ماهیان گورخری شده است، که این موضوع با عنایت به تفاوت میان تیمارها و فاصله تصاعدی بین غلظت‌های مصرفی، نیازمند بررسی بیشتر و مطالعات تکمیلی دارد. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد، افزایش ARA جیره غذایی در تمامی تیمارها به نسبت گروه کنترل، موجب افزایش سطح ARA لاشه شده است. در مطالعه (Luo *et al.*, 2012) مشخص شد، ماهیان *Synechogobius hasta* نوجوان که برای مدت ۸ هفته سطوح ۰/۶، ۸/۶، ۱۶/۷، ۳۲/۷ و ۶۴/۸ گرم اسید آراشیدونیک در هر کیلوگرم غذا، به ترتیب ۲۴/۳، ۳۰/۷، ۳۴/۷، ۴۳/۰ و ۴۷/۷ درصد آراشیدونیک از کل اسیدهای چرب لاشه را سبب شدند و با افزایش سطح این اسید چرب، سطح اسید لینولئیک کبد لاشه روند کاهشی داشته است. مطالعه (Tian *et al.*, 2014) نشان داد، تغذیه ماهیان کپور علف‌خوار با سه جیره غذایی مختلف حاوی سطوح ۰/۵۷، ۵/۲۶ و ۱۰/۳۵ درصد اسید آراشیدونیک از کل اسید چرب جیره (به مدت ۶۰ روز)، با افزایش رسوب اسید آراشیدونیک در بافت لاشه به میزان ۱/۲۹، ۳/۲۸ و ۵/۰۹ درصد از کل اسید چرب لاشه منجر شده است. در پژوهش مشابهی که توسط Adam و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد، ماهیان گورخری با دو سطح از اسید آراشیدونیک رژیم غذایی (شامل ۱/۸۷ و ۲۰/۶۶ درصد از کل اسید چرب) از روز ۲۷ تا روز ۹۰ پس از تخم‌گشایی تغذیه شدند. پروفایل اسید چرب لاشه ماهیان این دو گروه نشان دهنده اثر پروفایل اسید چرب رژیم غذایی بود، به نوعی که گروه نخست حاوی ۱/۰۴ درصد و در گروه دوم حاوی ۵/۷۴ درصد اسید آراشیدونیک از کل اسید چرب لاشه بود. افزایش سطح صورت گرفته در تیمار اول پژوهش فوق‌الذکر، با نتایج حاصله در پروفایل اسید چرب تیمار T_2 پژوهش حاضر همخوانی دارد. در پژوهش (Chee *et al.*, 2020) مقادیر ۰/۴۹، ۲/۵۰، ۴/۷۱ و ۶/۴۳ درصد اسید آراشیدونیک به کل اسیدهای چرب جیره ماهی سرخوی مالاباری[2] افزوده شد و ماهیان به مدت ۶ هفته با دو مرتبه غذادهی روزانه تغذیه شدند. هیچ تغییر معنی‌داری در سطوح چربی کل کبد، آبشش و عضلات تیمارها مشاهده نشد، اما پروفایل اسید چرب لاشه (به ترتیب ۱/۶۷، ۴/۸۱، ۷/۳۸ و ۹/۵۸ درصد از کل اسیدهای چرب لاشه) تغییرات معنی‌داری را نشان داد، علاوه بر آن افزایش سطح آراشیدونیک در لاشه، کاهش سطح EPA لاشه را نیز به همراه داشت، که در مطالعه حاضر این کاهش سطح رخ نداده است. در واقع ترکیب بافت اسیدهای چرب بدن ماهی‌ها به طور عمده نشان‌دهنده رژیم غذایی مصرفی آنها است، در نتیجه ماهی‌هایی که از چربی‌های حاوی مقادیر قابل توجهی از ARA تغذیه نموده باشند، مقادیر قابل توجهی ARA در ترکیب بافت لاشه نشان

۱- *Lateolabrax japonicas* (Japanese seabass)

2- *Lutjanus malabaricus* (Malabar red snapper)

www.SID.ir

Archive of SID

می‌دهند (Adam *et al.*, 2017; Norberg *et al.*, 2017). با این حال، ترکیب اسیدهای چرب ممکن است با توجه به گونه‌های مختلف و حتی با دستجات مختلف از همان گونه نیز متفاوت باشد (Pickova *et al.*, 1997). علاوه بر رژیم غذایی دریافتی ماهی‌ها، پتانسیل ژنتیکی و بیوسنتز آنزیمی اسیدهای چرب نیز می‌تواند بر مشخصات و ترکیب نهایی اسیدهای چرب لاشه تاثیرگذار باشد (Tocher, 2010). سطح اسید آراشیدونیک لاشه می‌تواند حتی از سطوح دریافتی توسط جیره نیز بالاتر رود و این به سبب قابلیت سنتز آن در کبد ماهیان آب‌شیرین است (Atalah *et al.*, 2011)، این موضوع با عنایت به تغییر در سطوح اسیدهای چرب لاشه، نیازمند بررسی بیشتر و مطالعات تکمیلی دارد. بسیاری از ماهی‌های آب شیرین حاوی مسیرهای آنزیمی برای اصلاح و سنتز اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، مانند اسید آلفا لینولنیک (C18:3 n-3) و اسید لینولئیک (C18:2 n-6) به اسیدهای چرب بلند زنجیره‌های کربنی هستند (Quintero *et al.*, 2011) و به دلیل توانایی ماهیان آب شیرین برای تبدیل اسیدهای چرب به همولوگ‌های بالاتر (مثل EPA، DHA و ARA) مقدار اسید لینولئیک و اسید لینولنیک در بافت لاشه این ماهیان کاهش می‌یابد (Teshima, 1991). این موضوع در مطالعه صورت گرفته توسط (Martins *et al.*, 2012) نیز گزارش شد و طی آن با افزایش میزان ARA در بافت ماهی سیم سر طلایی، سطح اسید لینولئیک و اسید لینولنیک کاهش یافت. در این راستا، افزایش میزان ARA در بافت ماهی گورخری، با کاهش مقدار اسید لینولنیک همراه بود، اما در سطح اسید لینولئیک لاشه، تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول ۴). افزایش میزان ARA در لاشه با افزایش سطح اسید اولئیک (C18:1 n-9) همراه بود و با پژوهش صورت گرفته توسط (Dantagnan *et al.*, 2017) در خصوص آزادماهی آتلانتیک نیز همخوانی دارد، در پژوهش مذکور تغییرات ایجاد شده فوق را به فعالیت آنزیم‌های کبدی (نظیر Δ-5 و Δ-6 desaturase نسبت دادند. افزایش میزان ARA در لاشه ماهیان گورخری پژوهش حاضر، با افزایش مجموع اسیدهای چرب سری n-6 و متعاقباً افزایش نسبت ∑n-6/ ∑n-3 همراه شد. از آنجایی که ایکوزانوئیدهای مشتق شده از اسید آراشیدونیک فراوان‌ترین و فعال‌ترین تأمین کننده انرژی در نظر گرفته می‌شوند، سطح تحمل استرس در ماهی‌ها را به سطوح ARA نسبت می‌دهند، زیرا ایکوزانوئیدهای مشتق شده از اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA; 20:5n-3) در رقابت با ایکوزانوئیدهای مشتق شده از ARA، دارای اثرات کمتری هستند (Calder, 2009). از آنجایی که ARA و EPA برای مسیرهای آنزیمی درگیر در سنتز ایکوزانوئیدها با هم رقابت می‌کنند، ایکوزانوئیدهای حاصله ممکن است نتایج متفاوت یا حتی مخالفی در فرآیندهای زیستی ایجاد کنند، در حالی که ایکوزانوئیدهایی که از ARA تولید می‌شوند، عمدتاً فعال‌تر هستند (Bransden *et al.*, 2004)، این تغییرات سطح EPA در بافت ماهیان به فعالیت آنزیمی آسیل‌ترانسفراز[۱] وابسته است (Martins *et al.*, 2012). بر این اساس، اسیدهای چرب سری n-3 رژیم غذایی ماهیان استخوانی می‌تواند ایکوزانوئیدهای مشتق شده از ARA را با جابجایی نسبت n-3 و n-6 بالاتر در فسفولیپیدها کنترل کند (Arts andKohler, 2009). بررسی نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه این پژوهش مشخص کرد، سطح کورتیزول و گلوکز در میان تیمارهای مختلف این پژوهش، دارای اختلاف معنی‌دار آماری است و افزایش سطح ARA در جیره غذایی، با افزایش سطح کورتیزول و گلوکز همراه است. این موضوع در بسیاری از پژوهش‌های مشابه نیز نتایج مشابهی به همراه داشته است. در پژوهش صورت گرفته توسط (Koven *et al.*, 2003) اعلام شد سطح کورتیزول ماهیانی که از جیره حاوی اسید آراشیدونیک تغذیه کرده بودند، پس از چالش شوری، با افزایش سطح ARA دریافتی افزایش نشان داد، که مقدار آن به مراتب بیشتر از گروه کنترل بود. (Lund andSteenfeldt, 2011)

۱- Acyltransferases

www.SID.ir

Archive of SID

اعلام کردند که سطح اسید آراشیدونیک جیره در تغییر سطح پایه هورمون کورتیزول یا در میزان مقاومت به استرس در گونه‌های مختلف ماهیان نقش دارد. Martins و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند، تأمین اسیدهای چرب رژیم غذایی می‌تواند بر پاسخ استرس ماهیان در مراحل رشد تأثیر بگذارد. اگرچه دانش در مورد مکانیسم‌های درگیر در تنظیم اسیدهای چرب بر تحمل استرس اندک است، اما اغلب فرض بر این است که نوع اسید چرب موثر بر ایکوزانوئیدها (منجمله اسید آراشیدونیک) می‌توانند بر تولید کورتیزول تأثیر گذارد. در این راستا اقدامات کورتیزول ژنومی، توسط گیرنده‌های سیتوزولی که ممکن است به سیگنالینگ اسید چرب سلولی پاسخ دهند، واسطه (میانجی) می‌شوند. (Martins *et al.*, 2013) اعلام کردند، افزایش سطح ARA جیره غذایی تا سطح ۱/۷ درصد از ماده خشک جیره، سبب افزایش سطح کورتیزول لحظه‌ای (در سطح بالا به صورت مقطعی) می‌گردد در حالی که غلظت بالاتر از آن (۲/۳ درصد) کورتیزول پایه‌ای (در سطح پائین به صورت تثبیت شده) را در جهت آداپته‌شدن، در سطح بدن افزایش داده است. در واقع نوع اسید چربی که منشاء تولید ایکوزانوئیدها است، می‌تواند مسیرهای مختلف متابولیک بدن، از جمله پاسخ به استرس را در اغلب ماهی‌ها تحت تأثیر قرار دهد (Ganga, 2004). گیرنده گلوکوکورتیکوئیدها در اقدامات ژنومی کورتیزول به عنوان واسطه، نقش اساسی دارند و مطالعات به وضوح نشان می‌دهد تنظیم بیان ژن گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدها، با افزایش عرضه اسید آراشیدونیک در جیره غذایی ارتباط مستقیم دارد و بر بیان ژن‌های دخیل در پاسخ به استرس در ماهیان نیز تأثیر می‌گذارد (Martins *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2013). در واقع علت تأثیر سطوح مختلف اسیدهای چرب بلند زنجیره‌ای همچون ARA، بر سطح تحمل استرس در ماهی‌ها، به فعالیت واسطه‌ای ایکوزانوئیدها بر تولید کورتیکواستروئیدها نسبت داده می‌شود (Koven *et al.*, 2003) و از آنجایی که ایکوزانوئیدهای مشتق شده از اسید آراشیدونیک فراوان‌ترین و فعال‌ترین تأمین کننده انرژی در نظر گرفته می‌شوند، سطح استرس در ماهیان را به سطوح ARA نسبت می‌دهند (Calder, 2009). لذا، با عنایت به نتایج پژوهش حاضر و توجه به مطالعات مشابه فوق‌الذکر، می‌توان گفت افزایش سطح گلوکز و تطابق آن با روند افزایشی سطح کورتیزول در تیمارهای مختلف، اندازه‌گیری گلوکز به عنوان معیار سنجش غیر مستقیم هورمون کورتیزول را تأیید می‌نماید، هر چند این موضوع نیاز به بررسی بیشتر و مطالعات تکمیلی دارد. میزان دریافت یک اسید چرب، بر سطح اسید چرب دیگر اثر می‌گذارد، که بارزترین نمونه آن در ARA و EPA رخ می‌دهد، که رقبای مستقیمی در بسیاری از سطوح عملکرد سلولی محسوب می شوند. بنابراین، سطح نهایی نیاز به هر اسید چربی در ماهی‌ها، نه تنها بستگی به رژیم غذایی دارد، بلکه به توانایی ژنتیکی متابولیسم آن اسید چرب نیز وابسته است. به همین دلیل، احتیاجات غذایی اسیدهای چرب برای گونه‌های مختلف ماهی، می‌تواند به طور قابل توجهی متناسب با گونه، فصل، دما، مرحله رشد، شرایط پرورش، چرخه تولید مثل، ترکیب رژیم غذایی و قابلیت هضم لیپیدها متفاوت باشد (Council, 1993). با این حال، مقادیر کم اما مهم اسیدهای چرب ضروری جیره، نقش منحصر به فردی در کنترل و تنظیم متابولیسم سلولی و فیزیولوژی ماهی‌ها دارند (Schmitz andEcker, 2008). از یافته‌های فوق و نتایج پژوهش حاضر می‌توان اعلام کرد استفاده از مکمل غذایی اسید آراشیدونیک تا سطح ۲ درصد از کل اسید چرب جیره، نتیجه مطلوب‌تری در خصوص مواجهه با چالش کوتاه مدت گرسنگی در ماهی دانیوی گورخری و شرایط حاکم بر این آزمایش داشته است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود از زحمات آقایان دکتر حسین انوری‌فر (عضو محترم دانشگاه جامع علمی کاربردی واحد استانی گلستان)، دکتر هدایت حسینی (استاد محترم انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و

www.SID.ir

Archive of SID

صـنایع غذایی کشـور)، مهندس آرش اسـتقلالیان (مدیر محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان زینتی موج سبز) و خانم دکتر سـتاره بدری (مسـئول محترم آزمایشگاه گروه علوم دامی دانشـگاه پیام نور واحد تهران شرق)، به واسطه فراهم آوردن بسـتر لازم برای انجام این پژوهش، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایند.

۵. منابع

References

Adam, A.-C., Lie, K.K., Moren, M., Skjærven, K.H., 2017. High dietary rachidonic acid levels induce changes in complex lipids and immune-related eicosanoids and increase levels of oxidised metabolites in zebrafish (*Danio rerio*). *British Journal of Nutrition* 117(8), 1075-1085.

Arts, M.T., Kohler, C.C., 2009. Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. In: (Eds.), *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer, pp. 237-256.

Atalah, E., Hernández-Cruz, C.M., Ganuza, E., Benítez-Santana, T., Ganga, R., Roo, J., Montero, D., Izquierdo, M., 2011. Importance of dietary arachidonic acid for the growth, survival and stress resistance of larval European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture Research* 42(9), 1261-1268.

Bransden, M., Cobcroft, J., Battaglene, S., Dunstan, G., Nichols, P., Bell, J., 2004. Dietary arachidonic acid alters tissue fatty acid profile, whole body eicosanoid production and resistance to hypersaline challenge in larvae of the temperate marine fish, striped trumpeter (*Latris lineata*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30, 241-256.

Calder, P.C., 2009. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale. *Biochimie* 91(6), 791-795.

Calderwood, S.K., Mambula, S.S., Gray, P.J., Theriault, J.R., 2007. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. *FEBS letters* 581(19), 3689-3694.

Chee, W.-L., Turchini, G.M., Teoh, C.-Y., Ng, W.-K., 2020. Dietary arachidonic acid and the impact on growth performance, health and tissues fatty acids in Malabar red snapper (*Lutjanus malabaricus*) fingerlings. *Aquaculture* 519, 734757.

Conte, F., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science* 86(3-4), 205-223.

Council, N.R., 1993. Nutrient requirements of fish. *National Academies Press*, p.

Dantagnan, P., Gonzalez, K., Hevia, M., Betancor, M., Hernández, A., Borquez, A., Montero, D., 2017. Effect of the arachidonic acid/vitamin E interaction on the immune response of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) challenged against *Piscirickettsia salmonis*. *Aquaculture Nutrition* 23, 710-720.

Folch, J., Lees, M., Stanley, G.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J*ournal of biological chemistry* 226(1), 497-509.

Fountoulaki, E., Alexis, M., Nengas, I., Venou, B., 2003. Effects of dietary arachidonic acid (20: 4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 225(1-4), 309-323.

Ganga, R., 2004. Effect of feeding gilthead seabream (*Sparus aurata*) with vegetable lipid sources on two potential inmunomodulator products: prostanoids and leptins.

Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1, 71-124.

Guest T.W., Blaylock R.B.and Evans A.N. 2016. Development of a modified cortisol extraction procedure for intermediately sized fish not amenable to whole-body or plasma extraction methods. *Fish Physiol Biochem* 42(1),1-6.

Herrera, M., Rodiles, A., Sánchez, B., López, J.M., de La Roca, E., 2016. Physiological stress responses to captivity in early developmental stages of the wedge sole *Dicologoglossa cuneata* (Moreau). *Aquaculture research* 47, 732-740.

Khiabani, A., 2019. Review of the Ethical and Technical Principles of Working with Zebrafish as a Species of the Biological Model in Medical Science Studies. Iranian Journal of Medical Ethics and History of Medicine 12, 58-72.

www.SID.ir

Archive of SID

Khiabani, A., Keramat, A., Tahergorbi, R., 2019. Use of Highly unsaturated fatty acid (HUFA) in Ornamental Fish Feeds. Survey in Fisheries Sciences 6, 64-76.

Koven, W., van Anholt, R., Lutzky, S., Atia, I.B., Nixon, O., Ron, B., Tandler, A., 2003. The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival, and cortisol levels in different-age gilthead seabream larvae (*Sparus auratus*) exposed to handling or daily salinity change. *Aquaculture* 228(1-4), 307-320.

Lehninger, A.L., 1972. Bioquímica: las bases moleculares de la estructura y función celularBiochemistry: the molecular basis of cell structure and function. *Ediciones Omega*, p 1144.

Lund, I., Steenfeldt, S.J., 2011. The effects of dietary long-chain essential fatty acids on growth and stress tolerance in pikeperch larvae (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture nutrition* 17, 191-199.

Luo, Z., TAN, X.Y., LI, X.D., YIN, G.J., 2012. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, hepatic fatty acid profile, intermediary metabolism and antioxidant responses for juvenile *Synechogobius hasta*. *Aquaculture Nutrition* 18, 340-348.

Martins, D.A., Rocha, F., Castanheira, F., Mendes, A., Pousão-Ferreira, P., Bandarra, N., Coutinho, J., Morais, S., Yúfera, M., Conceição, L.E., 2013. Effects of dietary arachidonic acid on cortisol production and gene expression in stress response in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) post-larvae. *Fish physiology and biochemistry* 39(5), 1223-1238.

Martins, D.A., Rocha, F., Martínez-Rodríguez, G., Bell, G., Morais, S., Castanheira, F., Bandarra, N., Coutinho, J., Yúfera, M., Conceição, L.E., 2012. Teleost fish larvae adapt to dietary arachidonic acid supply through modulation of the expression of lipid metabolism and stress response genes. *British Journal of Nutrition* 108 (5), 864-874.

Norberg, B., Kleppe, L., Andersson, E., Thorsen, A., Rosenlund, G., Hamre, K., 2017. Effects of dietary arachidonic acid on the reproductive physiology of female Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *General and comparative endocrinology* 250, 21-35.

Nowosad, J., Kucharczyk, D., Targońska, K., 2017. Enrichment of zebrafish *Danio rerio* (Hamilton, 1822) diet with polyunsaturated fatty acids improves fecundity and larvae quality. *Zebrafish* 14 (4), 364-370.

Pickova, J., Dutta, P.C., Larsson, P.-O., Kiessling, A., 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success, and egg-lipid fatty acid composition: comparison between two cod (*Gadus morhua*) stocks. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54, 2410-2416.

Portz, D.E., Woodley, C.M., Cech, J.J., 2006. Stress-associated impacts of short-term holding on fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 16, 125-170.

Quintero, H., Durland, E., Allen Davis, D., Dunham, R., 2011. Effect of lipid supplementation on reproductive performance of female channel catfish, *Ictalurus punctatus*, induced and strip-spawned for hybridization. *Aquaculture Nutrition* 17, 117-129.

Sado, R.Y., Bicudo, Á.J.D.A., Cyrino, J.E.P., 2008. Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, Oreochromis niloticus, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the World Aquaculture Society* 39, 821-826.

Schmitz, G., Ecker, J., 2008. The opposing effects of n−3 and n−6 fatty acids. *Progress in lipid research* 47 (2), 147-155.

Teshima, S.-i., Year. Ability for bioconversion of ω3 fatty acids in fish and crustaceans. In: (Eds.), Proceeding of Growth Determinants in Aquaculture, *3rd, France-Japan Conf. in Oceanography*, pp. 67-75.

Tian, J., Ji, H., Oku, H., Zhou, J., 2014. Effects of dietary arachidonic acid (ARA) on lipid metabolism and health status of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Aquaculture* 430, 57-65.

Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research* 41, 717-732.

Weirich, C.R., Reigh, R.C., 2001. Dietary lipids and stress tolerance of larval fish. *Nutrition and fish health* 2001, 301-312.

Xu, H., Wang, C., Zhang, Y., Wei, Y., Liang, M., 2018. Moderate levels of dietary arachidonic acid reduced lipid accumulation and tended to inhibit cell cycle progression in the liver of Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. *Scientific reports* 8, 1-13

www.SID.ir