

تغییرات ترکیب اسیدهای چرب در طول نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis*

مناهل جیحون^۱، مهران جواهری بابلی^{*}

۱- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۹۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۶ اردیبهشت ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۲۴ آذر ۱۳۹۵

چکیده

در این پژوهش تغییرات ترکیب اسیدهای چرب در طول نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری از مراحل تخم لقاح یافته، تخم چشم زده، لارو کیسه زرده دار، لارو کیسه زرده جذب کرده و قبل از ورود به استخر انجام شد. شناسایی اسیدهای چرب به وسیله دستگاه کروماتوگراف گازی انجام گرفت. نتایج نشان دادند که اسیدهای چرب اشباع (SFA) در طول دوره جنینی کاهش معنی داری یافت ($P < 0/05$). اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه (MUFA) در طول دوره جنینی و لاروی کاهش معنی داری نیافتند. نتایج نشان داد که اسیدهای چرب امگا ۳ و DHA در طول دوره جنینی و لاروی روند افزایشی و کاهش را به ترتیب نشان دادند ($P < 0/05$). در کل نقش انرژی زایی اسیدهای چرب اشباع در دوره جنینی و نقش ساختاری اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه در دوران جنینی و لاروی نشان داده شد.

کلمات کلیدی: اسید چرب، ماهی کپور سر گنده، *Hypophthalmichthys nobilis*، مرحله جنینی، مرحله لاروی.

* عهده دار مکاتبات (✉). mehranjavaheeri@gmail.com

مقدمه

کپور سر گنده از ماهی های آب شیرین و یکی از کپورهای آسیایی است. به دلیل کیفیت بسیار مرغوب گوشت، رشد بسیار سریع، امکان تکثیر مصنوعی و قابلیت گله پذیری، در کلیه استخرها و منابع آبی پرورشی جهان گسترده شده است. ماهی کپور سر گنده دارای ارزش اقتصادی هست و میزان تولید کپور سر گنده در سال ۲۰۱۱ برابر با ۲،۷۰۵،۴۳۲ تن بود که رتبه هفتم در میان آبریان پرورشی را دارا بوده است (FAO, 2013).

چربی ها و اجزاء تشکیل دهنده اسیدهای چرب همراه با پروتئین ها اجزای مهم زیستی ماهی هستند و آن ها نقش مهمی در منابع متابولیکی انرژی برای رشد شامل تکثیر و حرکت به انضمام مهاجرت را دارند. درصد لقاح و تفریح و بازماندگی اولیه لارو، وابسته به ترکیب اسیدهای چرب، به ویژه افزایش در سطوح اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره امگا ۳ و امگا ۶ و نسبت DHA:EPA تخم ماهی هست (Bruce et al., 1999).

سطح چربی موجود در زرده تخم ماهی استراتژی زندگی جنین و لارو را تعیین می نماید و نیز امکان ارزیابی توان سازگاری لارو در برابر تغییر شرایط محیطی و نیز کیفیت تخم را فراهم می سازد (Tocher, 2003). ترکیب چربی در طول نمو تخم نشان دهنده نیازهای انرژی لارو در طی انتقال به تغذیه خارجی است (Haliloglu et al., 2002).

اسیدهای چرب غیراشباع به عنوان ترکیبات ساختاری در روند اندام سازی (بافت مغز، شبکیه، ماهیچه و...) و پیش ماده های مولکول های با فعالیت فیزیولوژیکی هم چون پروستاگلاندین ها و

ایکوزانوئیدها مورد توجه قرار می گیرند (Bell and Tocher, 1989). دکوزا هگزانوئیک اسید (DHA) برای تکامل سیستم عصبی ضروری است (Sargent et al., 1995).

در نتیجه با توجه به اهمیت بحث تکثیر مصنوعی و لزوم اتخاذ تدابیر و راهکارهای عملی در جهت افزایش بقاء و ماندگاری ماهی کپور سر گنده در دوران لاروی و همین طور با توجه به نقش اسیدهای چرب در رشد و نمو، بقاء و کیفیت تخم و لارو، شناخت روند تغییرات اسیدهای چرب در طول نمو جنینی و دوران لاروی ماهی کپور سر گنده به منظور آگاهی از ترکیب غذای دستی لارو به هنگام مراحل تغذیه فعال و هم چنین مولدین پرورشی امری لازم و ضروری است.

انتورنی پروفیل اسیدهای چرب در گونه های مختلف ماهی مانند؛ کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Farhoudi et al., 2012)، کپور نقره ای *Hypophthalmichthys molitrix* (Mehdi Zarei et al., 2013) مورد مطالعه قرار گرفته است.

هدف از این مطالعه تغییرات ترکیب اسیدهای چرب در طول نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* است.

مواد و روش ها

برای تعیین تغییرات پروفیل اسید چرب طی دوران جنینی و لاروی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis*، نمونه برداری از نیمه اردیبهشت تا اواخر خردادماه ۱۳۹۳ صورت گرفت. وزن مولدین ماده ۹ تا ۱۰ کیلوگرم و مولدین نر ۸ تا ۹ کیلوگرم بود. بعد از تزریق هورمون و بررسی مولدین از لحاظ آمادگی برای تخم کشتی، از مولدین اسپرم و تخم گرفته شد. اولین

استری کردن چربی استخراج شده

به منظور استری کردن چربی از روش (Metcalfe and Schmitz, 1961) استفاده شد. چربی استخراج شده از نمونه‌ها با افزودن ۳ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی (۲ مولار) صابونی می‌شوند و بعد با افزودن ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک متانولی (۲ مولار) به متیل استر تبدیل می‌گردید (Desvilettes *et al.*, 1994). متیل استر اسیدهای چربی در یک میلی لیتر هپتان نرمال استخراج و جهت آنالیز پروفیل اسیدهای چرب یک میکرو لیتر از فاز هپتان نرمال را به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شدند. جهت شناسایی تک تک اسیدهای چرب از مخلوط استاندارد اسیدهای چرب ساخت شرکت سیگما با مقایسه زمان‌های بازداری استفاده گردید. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) ۶۸۹۰-Agilent مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (120m×0/25mm BPX70 SGE) و آشکارساز نوع (FID) $\text{ID} \times 0/25$ و $\text{ionization detector}$ استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۱۶۰ و ۱۸۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. ۱ میکرو لیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ میکرو لیتری به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق شد. دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد. به مدت ۷۵ دقیقه دما در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز هلیوم (با خلوص ۹۹/۹۹٪) به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹٪) به عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه زمان

نمونه که تخم‌های تازه لقاح یافته بودند پس از توزین به میزان ۵ گرم به درون ظروف پلاستیکی درب دار استریل منتقل می‌شوند. نمونه دوم از تخم‌ها ۲۴ ساعت بعد از انجام عمل لقاح از تخم‌های چشم زده و از درون انکوباتورهای زوک برداشته می‌شوند. نمونه سوم ۷۲ ساعت بعد از لقاح از لاروهای دارای کیسه زرده برداشته می‌شوند. نمونه برداری چهارم در این مرحله از آزمایش از لاروهای کیسه زرده جذب کرده است. نمونه آخر در این مرحله از آزمایش از لاروهای تغذیه شده با تخم مرغ سه روز قبل از ورود به استخر است. پس از انجام نمونه گیری، نمونه‌های برداشته شده در درجه حرارت ۹۰- درجه سانتی گراد نگهداری و منجمد شدند. برای ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه از فلاسک نیتروژن استفاده شد.

استخراج چربی از نمونه‌ها

جهت استخراج چربی از روش (Folch *et al.*, 1957) استفاده شد. مقدار ۱ گرم نمونه را بعد از هم‌ژن نمودن به لوله آزمایش درب پیچ دار انتقال داده، جهت تسریع بخشیدن به عمل استخراج بعد از بستن در لوله‌ها، آن‌ها را به شدت به هم زده و در داخل اولتراسوند به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده بعد مخلوط را سانتریفیوژ نموده و حلال حاوی چربی را به داخل لوله آزمایشی که وزن آن قبلاً اندازه گیری شده و مرحله فوق را دومرتبه دیگر انجام داده و سپس توسط گاز نیتروژن کلروفورم و متانول را تبخیر کرده و وزن لوله حاوی چربی را اندازه گیری و از اختلاف آن‌ها درصد چربی محاسبه گردید.

اسید اولئیک ۹- ۱۸:۱n روند کاهشی را در نمو جنینی و لاروی داشت به طوری که از ۱۸/۸۷ درصد از کل اسیدهای چرب در مرحله تخم لقاح یافته به ۱۶/۳۱ درصد از کل اسیدهای چرب در مرحله قبل از ورود به استخر رسید ($P < 0/05$).

اسید چرب لینولئیک ۶- ۱۸:۲n روند کاهشی را در طول نمو جنینی ماهی کپور سر گنده داشت ($P < 0/05$). میزان این اسید چرب در تخم لقاح یافته و تخم چشم زده به ترتیب ۳/۶۴ و ۳/۱۹ درصد از کل اسیدهای چرب بود. با ورود به نخستین مرحله لاروی یعنی لارو دارای کیسه زرده افزایش در میزان این اسید چرب اتفاق می افتد به طوری که میزان آن به ۳/۴۴ درصد از کل اسیدهای چرب رسید. در لارو کیسه زرده جذب کرده میزان این اسید چرب به ۲/۸۶ درصد از کل اسیدهای چرب کاهش یافت. میزان آن در مرحله قبل از ورود لارو به استخر به طور معنی داری افزایش یافت و به ۴/۹۲ درصد از کل اسیدهای چرب رسید ($P < 0/05$).

روند تغییرات اسید چرب لینولئیک ۳- ۱۸:۳n در طول مراحل نمو جنینی یعنی از مرحله تخم لقاح یافته ۱/۸۹ درصد از کل اسیدهای چرب تا تخم چشم زده ۱/۷۲ درصد از کل اسیدهای چرب روند کاهشی یافت ($P < 0/05$)، با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار افزایش در میزان این اسید چرب اتفاق می افتد به طوری که میزان آن به ۲/۰۶ درصد از کل اسیدهای چرب رسید و در لارو کیسه جذب کرده روند آن کاهشی بود و به ۱/۳۲ درصد از کل اسیدهای چرب رسید. میزان این اسید چرب در مرحله قبل از ورود به استخر به ۲/۶۴ درصد از کل اسیدهای چرب افزایش معنی داری یافت. ($P < 0/05$).

بازداری کروماتوگرام های نمونه مجهول با کروماتوگرام های به دست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در تخم و لارو ماهی کپور سر گنده شناسایی شد و نتایج به صورت درصد گزارش گردید. هر نمونه با سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت و نتایج آن ثبت و گزارش گردید. نتایج با استفاده از نرم SPSS ۱۸ و اکسل ۲۰۱۰ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه در سطح اطمینان ۹۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

نتایج بررسی تغییرات کمی اسیدهای چرب در مراحل ۵ گانه در جدول ۱ آمده است.

بررسی روند تغییرات اسید چرب اشباع پالمیتیک (۱۶:۰) نشان دهنده کاهش معنی دار این اسید چرب از مرحله تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار از ۲۹/۸۵ به ۲۶/۶۲ می باشد. سپس مقدار آن از مرحله لارو کیسه زرده دار تا قبل از ورود به استخر (به ترتیب از ۲۶/۶۲ به ۳۲/۱۹ درصد از کل اسیدهای چرب) افزایش معنی داری یافت ($P < 0/05$).

همان گونه که در جدول ۱ ملاحظه می شود، مجموع اسیدهای چرب اشباع از تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار روند کاهشی معنی داری دارند، به طوری که میزان مجموع این اسیدهای چرب از تخم لقاح یافته تا کیسه زرده دار به ترتیب ۴۱/۳۷، ۳۸/۲۹، ۳۷/۱۳ درصد از کل اسیدهای چرب است. میزان مجموع این اسیدهای چرب از لارو کیسه زرده جذب کرده تا قبل از ورود لارو به استخر به ترتیب ۳۸/۴۹، ۴۸/۴۶ درصد از کل اسیدهای چرب افزایش معنی داری یافت ($P < 0/05$).

جدول ۱: تغییرات کمی اسیدهای چرب (درصد از کل اسید چرب) در طول نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده±

نام فارسی	اسید چرب	تخم لقاح یافته	تخم چشم زده	لارو کیسه زرده	لارو کیسه زرده	قبل از ورود به استخر
		تخم لقاچ یافته	تخم چشم زده	لارو کیسه زرده	لارو کیسه زرده	قبل از ورود به استخر
اسید میرستیک	C14:0	۲/۶۱±۰/۳۶ ^{bc}	۱/۸۵±۰/۱۳ ^{ab}	۱/۹۳±۰/۴۳ ^{ab}	۱/۷۲±۰/۵۸ ^a	۲/۷۹±۰/۱۲ ^c
اسید تتراد سنوئیک	C14:1n-5	۰/۱۲±۰/۰۲ ^a	۰/۲۳±۰/۰۳ ^b	۰/۲۰±۰/۰۵ ^{ab}	۰/۱۷±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۶۲±۰/۰۲ ^c
اسید پالمیتیک	C16:0	۲۹/۸۵±۱/۵۱ ^b	۲۷/۳۶±۱/۱۱ ^a	۲۶/۶۲±۰/۹۶ ^a	۲۷/۷۹±۰/۷ ^{ab}	۳۲/۱۹±۰/۰۳ ^c
اسید پالمیتولئیک	C16:1n-7	۷/۴۶±۰/۶ ^b	۶/۰۰۹±۰/۲۸ ^a	۷/۱۲±۰/۷۷ ^{ab}	۶/۰۶±۰/۸۰ ^a	۷/۰۶±۰/۰۲ ^a
اسید استئاریک	C18:0	۷/۸۹±۰/۶ ^b	۸/۰۱±۰/۲۲ ^b	۶/۴۹±۰/۷۷ ^a	۷/۵۰±۰/۹۲ ^{ab}	۱۱/۳۲±۰/۱۷ ^c
اسید اولئیک	C18:1n-9	۱۸/۸۷±۱/۳۷ ^b	۱۶/۹۶±۰/۵۱ ^{ab}	۱۶/۹۶±۱/۶۵ ^{ab}	۱۶/۶۱±۰/۲۸ ^a	۱۶/۳۱±۰/۰۷ ^a
اسید لینولئیک	C18:2n-6	۳/۶۴±۰/۳۰ ^a	۳/۱۹±۰/۱۴ ^a	۳/۴۴±۰/۵۴ ^a	۲/۸۶±۱/۰۵ ^a	۴/۹۲±۰/۰۳ ^b
اسید لینولئیک	C18:3n-3	۱/۸۹±۰/۲۱ ^{ab}	۱/۷۲±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۰۶±۰/۵۵ ^{ab}	۱/۳۲±۱/۰۵ ^a	۲/۶۴±۰/۰۵ ^b
اسید آراشیدیک	C20:0	۰/۱۲±۰/۰۶ ^a	۰/۱۸±۰/۰۵ ^a	۰/۱۵±۰/۰۶ ^a	۰/۳۳±۰/۲۵ ^a	۰/۶۷±۰/۰۲ ^b
اسید آلفا-لینولئیک	C18:3n-6	۰/۳۹±۰/۲۳ ^a	۰/۵۰±۰/۲۵ ^a	۱/۹۵±۱/۱۹ ^b	۰/۵۶±۰/۱۴ ^a	۰/۴۲±۰/۰۲ ^a
اسید استئاریدونیك	C18:4n-3	۰/۵۲±۰/۱۱ ^a	۰/۵۹±۰/۰۳ ^a	۰/۷۰±۰/۶۳ ^a	۱/۶۲±۱/۹۷ ^a	۰/۷۶±۰/۰۱ ^a
اسید بهنیک	C22:0	۰/۰۸±۰/۰۱ ^a	۰/۱۳±۰/۰۳ ^a	۰/۲۸±۰/۲۴ ^a	۰/۲۸±۰/۱۴ ^a	۰/۵۵±۰/۰۲ ^b
اسید دی هومو-گاما-لینولئیک	C20:3n-6	۱/۴۳±۱/۷۸ ^a	۲/۶۷±۱/۸۸ ^{ab}	۰/۶۲±۰/۲۶ ^a	۳/۸۱±۰/۳۶ ^b	۳/۶۹±۰/۱۵ ^b
اسید ایکوزا تری انوئیک	C20:3n-3	۲/۳۹±۱/۷۳ ^a	۱/۴۸±۱/۸۰ ^a	۲/۶۶±۲/۰۱ ^a	۰/۴۲±۰/۰۸ ^a	۰/۸۳±۰/۰۷ ^a
اسید آراشیدونیک	C20:4n-6	۰/۳۴±۰/۱۸ ^a	۰/۲۲±۰/۲۳ ^a	۱/۴۱±۱/۷۹ ^a	۰/۱۰±۰/۰۱ ^a	۰/۲۶±۰/۰۲ ^a
اسید ایکوزا پنتانوئیک	C20:5n-3	۴/۱۱±۰/۲۴ ^a	۴/۰۶±۰/۳۰ ^a	۵/۱۰±۰/۲۴ ^b	۴/۸۱±۰/۱۹ ^b	۵/۶۴±۰/۲۶ ^c
اسید دکوزا پنتانوئیک	C22:5n-6	۱/۲۱±۰/۳۰ ^{ab}	۱/۱۶±۰/۰۵ ^{ab}	۱/۴۲±۰/۱۸ ^b	۱/۳۸±۰/۱۵ ^b	۰/۹۰±۰/۰۴ ^a
اسید دکوزا پنتانوئیک	C22:5n-3	۰/۲۲±۰/۱۱ ^a	۰/۲۶±۰/۰۹ ^a	۰/۵۵±۰/۱۱ ^b	۰/۵۰±۰/۰۶ ^b	۰/۳۳±۰/۰۳ ^a
اسید دکوزا هگزانوئیک	C22:6n-3	۱۱/۸۱±۲/۲۳ ^b	۱۰/۸۵±۴/۲۵ ^b	۱۴/۲۸±۱/۵۶ ^b	۱۳/۹۲±۰/۸۳ ^b	۵/۴۰±۰/۲۰ ^a
اسید لیگنوسریک	C24:0	۰/۸۰±۰/۴۳ ^a	۰/۸۸±۰/۲۳ ^{ab}	۱/۶۴±۰/۷۰ ^b	۰/۸۴±۰/۲۳ ^a	۰/۹۲±۰/۰۲ ^{ab}
مجموع اسیدهای چرب اشباع	Saturation	۴۱/۳۷±۱/۲۲ ^b	۳۸/۲۹±۱/۴۰ ^a	۳۷/۱۳±۰/۷۴ ^a	۳۸/۴۹±۰/۹۲ ^a	۴۸/۴۶±۰/۲۲ ^c
مجموع اسیدهای چرب تک غیر اشباع	MUFA	۲۶/۴۶±۱/۸۹ ^b	۲۳/۲۰±۰/۷۸ ^a	۲۴/۲۹±۲/۱۵ ^{ab}	۲۲/۸۵±۰/۵۶ ^a	۲۳/۹۹±۰/۱۰ ^{ab}
مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع	PUFA	۲۸/۰۰±۲/۴۰ ^{ab}	۳۰/۰۶±۱/۹۳ ^{bc}	۳۴/۲۵±۱/۳۴ ^c	۳۱/۱۳±۰/۷۳ ^d	۲۵/۸۱±۰/۲۴ ^a
مجموع اسیدهای چرب سری امگا ۳	n-3	۲۰/۹۷±۳/۶۶ ^{ab}	۲۲/۳۱±۱/۱۹ ^{ab}	۲۵/۳۷±۳/۶۴ ^b	۱۸/۷۵±۶/۴۰ ^{ab}	۱۵/۶۱±۰/۳۲ ^a
مجموع اسیدهای چرب سری امگا ۶	n-6	۷/۰۳±۱/۴۸ ^a	۷/۷۵±۱/۸۷ ^{ab}	۸/۷۸±۲/۳۴ ^{ab}	۸/۵۲±۰/۹۱ ^{ab}	۱۰/۱۹±۰/۱۰ ^b
مجموع اسیدهای چرب سری امگا ۳ به امگا ۶	n-3/n-6	۳/۱۲±۱/۰۲ ^a	۳/۰۲±۰/۰۹ ^a	۳/۰۴±۱/۰۶ ^a	۲/۱۶±۰/۵۵ ^a	۱/۵۳±۰/۰۴ ^a
دکوزا هگزانوئیک به ایکوزاپنتانوئیک	DHA/EPA	۲/۸۶±۰/۴۵ ^b	۳/۴۹±۰/۳۶ ^c	۲/۷۹±۰/۲۶ ^b	۲/۸۹±۰/۱۶ ^b	۰/۹۵±۰/۰۱ ^a

معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار میزان این اسید چرب به ۱۴/۲۸ درصد افزایش معنی‌داری یافت. در دو مرحله بعدی یعنی لارو کیسه زرده جذب کرده میزان این اسید چرب به ۱۳/۹۲ درصد و در مرحله قبل از ورود لارو به استخر به ۵/۴۰ درصد از کل اسیدهای چرب کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$).

بررسی مجموع اسیدهای چرب تک غیراشباع MUFA بیانگر آن است که تخم لقاح یافته بالاترین مقدار اسید چرب تک غیراشباع با مقدار ۲۶/۴۶ درصد از کل اسیدهای چرب را در بین مراحل نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* دارد. میزان مجموع اسیدهای چرب تک غیراشباع روند کاهشی را در طول مراحل نمو جنینی دارند، به طوری که میزان مجموع این اسیدهای چرب از ۲۶/۴۶ درصد در تخم لقاح یافته به ۲۳/۲۰ درصد از کل اسیدهای چرب در تخم چشم زده رسید ($P < 0/05$). میزان تغییرات این اسید چرب روند کاهشی را در مرحله لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* دارد به طوری که این میزان در مرحله لارو کیسه زرده دار ۲۴/۲۹ درصد در لارو کیسه زرده جذب کرده ۲۲/۸۵ درصد و در لارو تغذیه شده با تخم مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر ۲۳/۹۹ درصد از کل اسیدهای چرب رسید.

بررسی تغییرات اسیدهای چرب چند زنجیره غیراشباع PUFA نشان می‌دهد که میزان مجموع این اسیدهای چرب از ۲۸/۰۰ درصد در تخم لقاح یافته به ۳۴/۲۵ درصد از کل اسیدهای چرب در لارو دارای کیسه زرده افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). میزان این اسید چرب در مرحله لارو دارای کیسه زرده

روند کاهشی و افزایشی اسید آراشیدونیک ۶-۴n:۲۰ به این صورت است که میزان آن از ۰/۳۴ درصد در تخم لقاح یافته به ۰/۲۲ درصد از کل اسیدهای چرب در تخم چشم زده کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). سپس این اسید چرب روند افزایش معنی‌داری را طی نمود و میزان آن به ۱/۴۱ درصد در لارو کیسه زرده دار رسید با ورود به مرحله لارو کیسه زرده جذب کرده میزان این اسید چرب به ۰/۱۰ درصد از کل اسیدهای چرب کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). میزان این اسید چرب در مرحله قبل از ورود لارو به استخر افزایش یافت و به میزان ۰/۲۶ درصد از کل اسیدهای چرب رسید.

بررسی مقادیر میانگین اسیدایکوزا پنتانویک ۳-n:۲۰ بیانگر آن است که این اسید چرب روند کاهشی معنی‌داری را در طول نمو جنینی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* دارد. به طوری که میزان این اسید چرب از ۴/۱۱ درصد در تخم لقاح یافته ۴/۰۶ درصد در تخم چشم زده کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). با ورود به نخستین مرحله لاروی (لارو دارای کیسه زرده) میزان EPA به ۵/۱۰ درصد افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$). در مرحله لارو کیسه زرده جذب کرده میزان این اسید چرب به ۴/۸۱ درصد از کل اسیدهای چرب کاهش معنی‌داری پیدا کرد. میزان آن در مرحله قبل از ورود به استخر به ۵/۶۴ درصد افزایش یافت.

روند تغییرات رخ داده در میزان اسید چرب دکوزاهگزانویک ۳-۲۲:۶n بیانگر روند کاهشی این اسید چرب در مراحل نمو جنینی است. به طوری که میزان این اسید چرب از ۱۱/۸۱ درصد در تخم لقاح یافته به ۱۰/۸۵ درصد در تخم چشم زده کاهش

از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۶ در تمامی مراحل آزمایش دارند.

بررسی نسبت اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ به اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۶ $n-3/n-6$ نشان می‌دهد که مقادیر این نسبت در مراحل پنجگانه نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سرگنده به ترتیب $3/12$ ، $3/02$ ، $3/04$ ، $2/16$ ، $1/53$ درصد از کل اسیدهای چرب است که در تمامی مراحل تفاوت وجود دارد ($P < 0/05$).

نسبت DHA/EPA در طول نمو جنینی دارای افزایش معنی‌داری است به طوری که میزان آن در تخم لقاح یافته $2/86$ درصد و در تخم چشم زده $3/49$ درصد است. با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار روند کاهشی دارد و به $2/79$ درصد رسید. مقدار این نسبت در لارو کیسه زرده جذب کرده افزایش می‌یابد و در لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر روند کاهشی معنی‌داری یافت ($P < 0/05$).

بحث

طی مطالعات انجام‌شده توسط محققین این مسئله ثابت شده که ترکیب چربی و اسیدهای چرب در طول رشد و نمو جنینی و لاروی دستخوش تغییراتی می‌گردد (Tocher *et al.*, 1985; Dabrowski *et al.*, 1991;) (Abi-Ayad *et al.*, 2004). سوخت‌وساز چربی طی نمو اولیه ماهی‌ها در گونه‌های مختلف با یکدیگر تفاوت دارد که علت آن تفاوت میزان و ترکیب چربی‌ها در زرده و رده چربی مورد استفاده برای سوخت‌وساز یا سنتز بافت و نقش‌های مختلف اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف است (Sargent, 1995; Vasquez

بالاترین مقدار را دارد. با ورود به مرحله لارو کیسه جذب کرده روند کاهشی یافت به طوری که میزان آن در این مرحله $31/13$ درصد و در لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر به $25/81$ درصد از کل اسیدهای چرب رسید.

میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ از $20/97$ درصد در تخم لقاح یافته به $25/37$ درصد افزایش معنی‌داری می‌یابد. این رقم بالاترین مقدار در تمامی مراحل آزمایش است. با ورود به مرحله لارو کیسه زرده جذب کرده میزان مجموع این اسیدهای چرب به $18/75$ درصد کاهش یافت و این روند کاهشی تا مرحله لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر ادامه یافت و به $15/61$ درصد رسید.

میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۶ در طول نمو جنینی و مرحله اولیه لاروی ماهی کپور سرگنده روند افزایشی داشتند. به طوری که میزان مجموع این اسیدهای چرب از $7/03$ درصد در تخم لقاح یافته به $8/78$ درصد از کل اسیدهای چرب در لارو کیسه زرده داردار رسید (جدول ۱). میزان این اسیدهای چرب در لارو کیسه زرده جذب کرده روند کاهشی داشت و به $8/52$ درصد رسید. میزان مجموع این اسیدهای چرب در لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر روند افزایشی معنی‌داری یافت و به $10/19$ درصد از کل اسیدهای چرب رسید که بالاترین مقدار را در بین تمامی مراحل آزمایش داشت.

چنان‌که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ مقادیر بالاتری

ماده مغذی در غذای مصرفی لارو زمان تغذیه با تخم مرغ بالاست. پژوهشگران این افزایش در ذخایر اسیدهای چرب اشباع را به سنتز *Bioconversion* و *de novo* نسبت می دهند که طی این فرآیند این دسته از اسیدهای چرب در بدن سنتز می شوند (Henderson and Sargent, 1985). این نتایج با نتایج مشابه به دست آمده در مراحل جنینی و لاروی در ماهی *Hypophthalmichthys molitrix* به وسیله Mehdi Zarei و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشته است.

با وجود اینکه اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه در بیشتر گونه های ماهیان دریایی و آب شیرین منبع خوبی جهت تأمین انرژی جهت رشد، متامورفوز، متابولیسم پایه و غیره می باشند، در مطالعه حاضر این گروه از اسیدهای چرب در دوران جنینی و لاروی کاهش نیافتند. نتایج مشابه در دوران جنینی و لاروی ماهی کپور به وسیله Farhoudi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد.

می توان نقش ساختاری را علاوه بر نقش انرژی زایی برای این دسته از اسیدهای چرب در نظر گرفت. Tucher و همکاران (۱۹۸۵) و Buda و همکاران (۱۹۹۴) نقش ابقایی اسیدهای چرب تک غیر اشباع را بیان نمودند. تغییرات اسید چرب تک غیر اشباع در دوران لاروی فیتوفاگ هم گزارش نشد (Mehdi Zarei et al., 2013).

در تحقیق حاضر، مقدار اسید آراشیدونیک (۶-۴n:۲۰) در ابتدای نمو جنینی ماهی کپور سر گنده روند کاهشی داشت. اسید آراشیدونیک به عنوان پیش ماده پروستاگلاندین ها، لوکوترین ها ترومبوکسان ها در متابولیسم ایکوزانوئیدها مورد مصرف قرار می گیرد (Bell et al., 1994; Van der kraak and)

(and Mourente, 1996). چربی ها و اسیدهای چرب سازنده آن ها یکی از اصلی ترین اجزاء ترکیبات آلی بدن ماهی بوده و به عنوان منبع اصلی انرژی سوخت و سازی برای رشد، تولید مثل، حرکت و مهاجرت ایفا می کنند (Tocher, 2003). همچنین چربی ها نقش اساسی در ترکیب غشاء سلولی، پیش ساز پروستاگلاندین ها، ایکوزانوئید و پیش ساز هورمون های استروئیدی با کارکردهای فیزیولوژیک در پوست اندازی و رشد متعادل، عملکرد آب شش و کلیه، تکامل سیستم عصبی و بینایی دارند (Higgs and dong, 2000). ترکیب اسید چرب بدن ماهی در تمام دوره زندگی تابعی از محتوای اسید چرب غذای مصرفی است (Sargent et al., 2002). در واقع غذا مهم ترین عامل محیطی است که ترکیب اسیدهای چرب را در ماهی تحت تأثیر قرار می دهد. تأثیر جیره بر ترکیب اسید چرب ماهی در مطالعات مختلف بررسی شده است (Plant et al., 2007).

کاهش میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) در دوران جنینی (تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار) نشان دهنده مصرف این ماده مغذی جهت تأمین انرژی است. این نتایج مشابه با مطالعات Mehdi Zarei و همکاران (۲۰۱۳) و Khosravi Bakhtiarvandi و همکاران (۲۰۱۳) و مغایر با Farhoudi و همکاران (۲۰۱۳) می باشد و افزایش آن در مرحله جذب کیسه زرده و قبل از ورود به استخر نشان دهنده عدم مصرف این ماده مغذی جهت تأمین انرژی است. میزان اسید چرب ۱۶:۰ در اکثر گونه ها از فراوان ترین اسیدها بود و به دلیل این که جز اصلی فسفولیپیدها، عمدتاً فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانل آمین است در شکل گیری غشا در دوره جنینی اهمیت دارد. از طرفی، میزان این

(1996). اسید چرب DHA از دوران جنینی تا لارو کیسه زرده جذب کرده ذخیره شده و به عنوان منبع انرژی مصرف نمی شود و کاربرد ابقایی دارد. علیرغم اهمیت DHA به عنوان یک ترکیب ساختاری در بافت های عصبی و بینایی، این اسید چرب به طور کامل ذخیره نشده و برای تأمین انرژی نیز به کار می رود (Ronnestad et al., 1994).

مقایسه بین ترکیب اسیدهای چرب در مراحل مختلف رشد و تکامل کپور سر گنده نشان داد میزان اسیدهای چرب مختلف طی مراحل رشد و تکامل تغییر نمود و این امر نشان دهنده تغییر احتیاجات لارو به اسیدهای چرب مختلف در دوره های مختلف زندگی بوده است. لاروها از اسیدهای چرب مختلف به عنوان منبع انرژی استفاده نمودند. کاهش مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFA) به ویژه در مراحل جنینی به لاروی نقش این گروه را در انرژی زایی مشخص نمود.

اسید چرب DHA از دوران جنینی تا لارو کیسه زرده جذب کرده ذخیره شده و به عنوان منبع انرژی مصرف نمی شود و کاربرد ابقایی دارد. علیرغم اهمیت DHA به عنوان یک ترکیب ساختاری در بافت های عصبی و بینایی، این اسید چرب به طور کامل ذخیره نشده و برای تأمین انرژی در دوره تغذیه خارجی به کار رفته است.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می دانیم از زحمات کلیه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

(Biddiscombe, 1999). اسید آراشیدونیک از طریق فرآیند اشباع زدایی و طولیل سازی اسیدهای چرب چند زنجیره غیراشباع (۱۸:۲ و ۱۸:۳) تولید می شود (Pickova, 1999). این اسید چرب در ماهیان نقش مهمی را در نگهداری و عملکرد غشا سلولی ایفا می کند (Sargent, 1999). شاید بتوان کاهش معنی دار اسید آراشیدونیک از مرحله لارو دارای کیسه زرده به لارو کیسه زرده جذب کرده در ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* را به اعمال فیزیولوژیک آن ارتباط داد.

اسید چرب ایکوزاپنتانویک (۳-۵n:۲۰) در دوران جنینی یعنی از مرحله تخم لقاح یافته تا تخم چشم زده روند کاهشی داشته و با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار به طور معنی داری افزایش یافت. علت این افزایش در مرحله شروع شنای آزاد، مشارکت EPA در غشای سلولی کیسه شنا است. به همین دلیل بیوستتر آن در این دوران افزایش می یابد (Awaiss et al., 1996). مطالعات نشان داده کاهش EPA در trout طی تکامل لاروی می تواند به دلیل مصرف این اسید چرب برای تأمین انرژی نیز باشد (Tocher and Sargent, 1990). اسید چرب EPA در لیپیدهای ساختاری نقش برجسته ای دارد و می تواند تولید ایکوزانویدهای به دست آمده از آراشیدونیک اسید را تعدیل کند (Sargent et al., 1989). در تحقیق حاضر، میزان اسید چرب DHA در مراحل اولیه تکامل بیشتر از مراحل انتهایی است که نشان دهنده اهمیت آن در فعالیت های فیزیولوژیک در مراحل اولیه زندگی است. اسید چرب DHA ماهیان به عنوان یک جزء ساختاری در غشا سلول و به ویژه در نمو مغز، شبکه و سلول های عصبی نقش دارد (Zengin and Akpınar, 2006; Weigand, 2006).

10. Farhoudi, A., Abedian Kenari, A., Chamanara, V., Salehi Farsani, A., 2012. Ontogeny Changes in Fatty Acid and Amino Acid Profiles in Yellowfin Seabream (*Acanthopagrus latus*) Eggs and Larvae. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(3), 290-296.

11. Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.

12. Haliloglu, H.I., Aras, N.M., Yanik, T., Atamanalp, M., Kocaman, E.M., 2002. Investigation of changes in fatty acid composition at early development stages of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 1105-1109.

13. Henderson, R.J., Sargent, J.R., 1985. Fatty acid metabolism in fish. In: nutrition and feeding in fish. Blackwell Sciences Ltd., Oxford, 349-364.

14. Higgs, D.A., Dong, F.M., 2000. Lipids and fatty acids. In: Stickney, R.R. (Ed.), *The Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley and Sons, New York, U.S.A., 476-496

15. Khosravi Bakhtiarvandi, N., Abedian Kenari, A., Mohammad Nazari, R., Makhdoomi, C., 2013. Ontogenetic changes in lipids, fatty acid, and body composition during larval stages of Caspian Kutum (*Rutilus frisii kutum*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13:365-383

16. Mehdi Zarei, Sh., Javaheri Baboli, M., Askary Sary, A., 2013. Fatty acid composition of *Hypophthalmichthys molitrix* during embryogenesis and larval development. *Life Science Journal*, 10, 882-885

17. Metcalfe, L.D., Schmitz, A.A., 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33, 363-364.

18. Planta, S.F., Pernet, R., Hache, R., Ritchie, B.Ji., Mcintosh, D., 2007. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in relation to changes in diet and microbial environment. *Aquaculture*, 263: 107-121.

19. Pickova, J.A., Kiessling, A., Pettersson, P.C., 1999. Dutta. Fatty acid and carotenoid composition of eggs from two nonanadromous Atlantic salmon stocks of cultured and wild origin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21, 147-156.

20. Ronnestad, I., Koven, W.M., Tandler, A., Harel, M., Fyhn, H.J., 1994. Energy metabolism during development of eggs and

منابع

1. Abi-Ayad, S.M.E.A., Boutiba, Z., Mèlard, C., Kestemont, P., 2004. Dynamics of total body fatty acids during early ontogeny of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30, 129-136.
2. Awaiss A., Kestemont, P., Micha, J.C., 1996. Fatty acid profiles of two freshwater fish larvae (gudgeon and perch) reared with *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifer) and/or dry deit. *Aquaculture research*, 27: 651-658.
3. Bell, M.V., Tocher, D.R., 1989. Molecular species composition of the major phospholipids in brain and retina from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Biochemical Journal*, 264, 909-915.
4. Bell, J.G., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1994. Effects of supplementation with 20:3(n-6), 20:4(n-6) and 20:5(n-3) on the production of prostaglandins E and F of the 1-, 2-, and 3-series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. *Biochimica et biophysica acta*, 1211, 335-342 .
5. Bruce, M., Oyen, F., Bell, J.G., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Bromage, N., 1999. Development of broodstock Fish Physiol Biochem 123 diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acids to reproductive performance. *Aquaculture*, 177, 85-97.
6. Buda, C., Dey, I., Balogh, N., Horvath, L.I., Maderspach, K., Juhasz, M., Yeo, Y.K., Farkas, T., 1994. Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 8234-8238.
7. Dabrowski, K., Culver, D.A., Brooks, C.L., Voss, A.C., 1991. Biochemical aspects of the early life history of yellow perch (*Perca flavescens*). In: *Fish Nutrition in Practice* (June 24-27, Biarritz, France). No. 61. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris. Colloques, 531-539.
8. Desvillettes, C., Bourdier, G., Breton, J.C., 1994. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in Pike (*Esox lucius*) eggs and larve. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16.381-393.
9. FAO, 2013. Word review of fisheries and aquaculture, 2011. FAO fisheries and aquaculture Circular. No. 912, Rev. I. FAO, Rome, 159 P.

- various ¹⁴C-labelled (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in trout astrocytes in primary culture. *Journal of Neurochemistry*, 54, 2118-2124.
27. Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science*, 11:107-184.
 28. Van Der Kraak, G., Biddiscombe, S., 1999. Polyunsaturated fatty acids modulate the properties of the sex steroid binding protein in goldfish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20, 69-74.
 29. Vazquez, R., Gonzalez, S., Rodriguez, A., Mourente, G., 1996. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first feeding larvae of Senegal sole (*sole senegalensis*). *Aquaculture*, 119, 273- 286.
 30. Wiegand, M.D., 1996. Utilization of yolk fatty acids by goldfish (*Carassius auratus L.*) embryos and larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15, 21-27.
 31. Zengin, H., Akpınar, M.A., 2006. Fatty acids composition of *Oncorhynchus mykiss* during embryogenesis and other developmental. *Biologia*, 61(3), 305-311.
- larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Marine Biology*, 120, 187-196.
21. Sargent, J.R., Henderson, R.J., Tocher, D.R., 1989. The Lipid, In: *Fish Nutrition*, Halver, J.E. (Ed). Academic Press, New York, 154-18.
 22. Sargent, J.R., 1995. Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: N.R. Bromage and R.J. Roberts (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 353-372.
 23. Sargent, J.R., Bell, J.G., McEvoy, L., Tocher, D.R., Este'vez, A., 1999. Recent developments in the essential fatty acids nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191-199.
 24. Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipid in Fish. In: HALVER, R. W., HARDY, R. W. (eds.) *Fish Nutrition*. San Diego, VA, USA: Academic Press, 181-257
 25. Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R., Gamble, J.C., 1985. Lipid class composition during embryonic and early development in Atlantic herring (*Clupea harengus L.*). *Lipids*, 20, 84-89.
 26. Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1990. Incorporation into phospholipid classes and metabolism via desaturation and elongation of