شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴
ص ۳۵۵-۳۶۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰

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

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

چکیده

به منظور بررسی تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی در رشد تخمدان و میزان ترشح هورمون‌های جنسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، چهار جیرهٔ آزمایشی بر پایهٔ ۱۵٪ چربی فرموله شد. در تیمار شاهد ۱۰۰٪ روغن مورد استفاده روغن ماهی بود و در تیمارهای اول، دوم و سوم از ۲۵٪ روغن ماهی و به ترتیب ۷۵٪ روغن سویا، کانولا و کتان استفاده شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار طراحی شد. پس از شش هفته تغذیهٔ ماهیان با وزن متوسط ۲/۵ ±۲۰۰ گرم، بافت تخمدان و میزان هورمون‌های استروئیدی (تستسترون، ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون) ارزیابی شدند. میزان توسعهٔ بافت تخمدان همچنین میزان هورمون‌های تستسترون و ۱۷-بتا استرادیول در تیمار اول به طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود ($P < ۰/۰۵$)، در حالی که میزان هورمون پروژسترون در بین تمام تیمارها و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به مطالب ارائه‌شده، روغن سویا به‌منزلهٔ بهترین روغن در جیرهٔ غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای توسعهٔ بافت تخمدان و افزایش میزان هورمون‌های جنسی پیشنهاد می‌شود.

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

* نویسندهٔ مسئول تلفن: ۰۲۶۳۲۲۲۳۰۴۴
Email: bmamiri@ut.ac.ir

۱. مقدمه

آبزیان به‌منزلهٔ یکی از منابع مهم غذایی سهم رو به تزایدی در جیرهٔ غذایی مردم جهان دارند. امروزه با توجه به افزایش جمعیت و محدودیت منابع دریایی، آبزی‌پروری به‌منزلهٔ روشی پایدار در تولید منابع غذایی باکیفیت توسعه یافته و بیش‌ترین میزان رشد (تقریباً ۱۰٪) را در میان سایر صنایع تولیدی به خود اختصاص داده است (SOFIA, 2008). کنترل تولیدمثل مرحلهٔ مهمی در تولید آبزیان در هچری‌هاست و پارامترهایی مثل میزان و نوع تغذیه، دما و دورهٔ نوری گامتوژنزیز و باروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Bromage, 1992). توسعهٔ گناد، باروری و کیفیت تخمک و اسپرم ماهی از طریق کیفیت تغذیهٔ مولدین بهبود می‌یابد (Watanabe, 1995; Memis, 2004). تغذیه نقش مهمی در تکامل گنادها و مواد تناسلی ماهی دارد. به طور کلی، برای انجام‌دادن همهٔ فعالیت‌های حیاتی ماهی به انرژی نیاز دارد. غذا باید به‌خوبی در بدن سوخت‌وساز شود و انرژی حاصل از آن برای فعالیت‌های حیاتی ماهی از جمله تولید مواد تناسلی استفاده شود. در ماهی قزل‌آلا نیز علاوه بر این‌که تغذیه در کیفیت و میزان هماوری ماهی نقش دارد در رسیدگی جنسی ماهیان نیز نقش مهمی بر عهده دارد.

چربی‌ها یکی از فاکتورهای تغذیه‌ای کلیدی‌اند که میزان تخم‌گشایی تخم و بقای لارو را تحت تأثیر قرار می‌دهند. چربی‌ها به‌منزلهٔ پیش‌ساز هورمون‌های جنسی مطرح‌اند و نقش مهمی در توسعهٔ گناد دارند، از جمله اثر در ساختمان غشا، باروری، عملکرد تخمدان و کیفیت اووسیت. ماهی مثل همهٔ مهره‌داران دیگر که تاکنون مطالعه شده‌اند به اسید چرب غیراشباع بلندزنجیره[1] برای رشد عادی و توسعهٔ تولیدمثل نیاز دارد. ایکوزاپانتانوئیک اسید[2] نقش مهمی در تشکیل ایکوزانوئیدها دارد که این‌ها در عملکردهای فیزیولوژیکی گوناگون از جمله تنظیم فشار اسمزی، عملکرد قلب و عروق، کنترل طبیعی و عملکردهای سیستم‌های تولیدمثل دخیل‌اند (Cejas *et al.*, 2004).

در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کنترل هورمونی روند تکامل گنادها مانند سایر ماهیان استخوانی تحت تأثیر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد و هورمون‌های مترشحه از این محور صورت می‌گیرد. مهم‌ترین هورمون‌هایی که در روند تکامل و رشد گنادها و تخمک‌ها تولید و ترشح می‌شوند هورمون آندروژنی تستسترون و هورمون استروژنی ۱۷- بتا استرادیول است که این هورمون‌های استروئیدی، به خصوص ۱۷- بتا استرادیول، هورمون اصلی در رشد تخمک محسوب می‌شوند.

امروزه منبع تأمین‌کنندهٔ اسیدهای چرب امگا-۳ در جیرهٔ غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، به‌منزلهٔ یک ماهی سردآبی و گوشتخوار که بازده خوبی در مورد اسیدهای چرب امگا-۳ دارد، روغن ماهی است. به دلیل افزایش روند تولید آبزی‌پروری در جهان میزان استفاده از روغن ماهی افزایش یافته است (Albert & Metian, 2008; IFFO, 2008)، اما به دلیل محدودیت منابع طبیعی، آلودگی‌های ارگانیک و غیرارگانیک و مهم‌تر از همه آلودگی‌های ارگانوکلره، افزایش قیمت و عدم دسترسی به روغن ماهی، جایگزینی روغن ماهی به وسیلهٔ ترکیباتی با منشأ

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

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

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیهٔ اقلام و جیره‌های غذایی

اقلام مورد نیاز در تهیهٔ جیره‌های غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از شرکت‌های تولید غذای تجاری تهیه شد (شرکت تولید خوراک دام، طیور و آبزیان بهپرور) و ترکیب شیمیایی از جملهٔ مادهٔ خشک با قراردادن نمونه‌ها در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجهٔ سانتی‌گراد و با قراردادن نمونه‌ها در کورهٔ الکتریکی با دمای ۵۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت، خاکستر آن‌ها اندازه‌گیری شد. عصارهٔ اتری با استفاده از دستگاه سوکسله و چهار ساعت شست‌وشو با دی اتیل اتر اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام مواد خوراکی نیز با استفاده از دستگاه کلدال تعیین شد (نیتروژن × ۶/۲۵). ترکیبات دیوارهٔ سلولی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری الیاف تعیین شد (Van Soest *et al.*, 1991). به علاوه، انرژی خام به وسیلهٔ بمب کالری‌متر (IKA C7000) تعیین شد، اسید بنزوئیک به‌منزلهٔ استاندارد استفاده شد (AOAC, 1995). سپس جیره‌ای مرجع با توجه به نیاز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منزلهٔ جیرهٔ شاهد (حاوی روغن ماهی) و سه جیرهٔ غذایی دیگر (شامل روغن‌های گیاهی سویا، کانولا و کتان با پایهٔ ۲۵٪ روغن ماهی) به‌منزلهٔ تیمارهای اول، دوم و سوم (حاوی ۱۵٪ چربی، ۴۰٪ پروتئین خام و نسبت پروتئین قابل هضم به انرژی قابل هضم ۲۳/۶ گرم در مگاژول) (NRC, 1993; Hardy & Barrows, 2002) با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA فرموله شد که در جدول ۱ ارائه شده است.

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

۲.۲. تهیهٔ ماهی و شرایط انجام‌دادن آزمایش

آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده با وزن متوسط ۲/۵ ±۲۰۰ گرم در هر مخزن ۳۲۰ لیتری به طور مساوی (۱۰ قطعه در هر مخزن) توزیع شدند. بعد از دو هفته آداپتاسیون آزمایش اصلی شروع شد و مدت شش هفته به طول انجامید. طی دورهٔ آزمایش ماهیان در دو نوبت صبح و عصر با جیره‌های ساخته‌شده تغذیه می‌شدند و به طور روزانه ۴۰٪ آب تعویض می‌شد و آب کلرزدایی‌شده

وارد سیستم می‌شد. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب، واحدهای آزمایشی از جمله اکسیژن، دما و pH به طور روزانه کنترل می‌شد و در دامنهٔ مطلوب برای پرورش آزادماهیان (دما ۰/۰۸±۱۶ درجهٔ سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۰۳±۷/۷ میلی‌گرم در لیتر و pH برابر با ۰/۰۴±۷/۶) تنظیم می‌شد.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی و اجزای تشکیل‌دهندهٔ جیره‌های غذایی (بر حسب درصد)

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

* مواد معدنی و مولتی ویتامین به‌کاررفته در این تحقیق در هر کیلوگرم غذا تأمین‌کنندهٔ مواد زیر است: منیزیم، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۴۰ میلی‌گرم؛ مس، ۵ میلی‌گرم؛ کبالت، ۰/۱ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدان، ۱۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین E، ۳۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K، ۳ میلی‌گرم؛ تیامین، ۲ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۷ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۳ میلی‌گرم؛ پانتوتنیک اسید، ۱۸ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۴۰ میلی‌گرم؛ فولاسین، ۱/۵ میلی‌گرم؛ کولین، ۶۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۷ میلی‌گرم؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۲ میلی‌گرم (تهیه‌شده از شرکت کیمیا رشد – تهران).

۲.۲. تهیهٔ ماهی و شرایط انجام‌دادن آزمایش

آزمایش در طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ماده با وزن متوسط ۲/۵ ±۲۰۰ گرم در هر مخزن ۳۲۰ لیتری به طور مساوی (۱۰ قطعه در هر مخزن) توزیع شدند. بعد از دو هفته آداپتاسیون آزمایش اصلی شروع شد و مدت شش هفته به طول انجامید. طی دورهٔ آزمایش ماهیان در دو نوبت صبح و عصر با جیره‌های ساخته‌شده تغذیه می‌شدند و به طور روزانه ۴۰٪ آب تعویض می‌شد و آب کلرزدایی‌شده وارد سیستم می‌شد. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب، واحدهای آزمایشی از جمله اکسیژن، دما و pH به طور روزانه کنترل می‌شد و در دامنهٔ مطلوب برای پرورش آزادماهیان (دما ۰/۰۸±۱۶ درجهٔ سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۰۳±۷/۷ میلی‌گرم در لیتر و pH برابر با ۰/۰۴±۷/۶) تنظیم می‌شد.

۳.۲. نمونه‌گیری و آنالیز شیمیایی

پس از طی دورهٔ شش هفته‌ای آزمایش، به صورت تصادفی دو ماهی از هر تکرار (هر تیمار شش عدد) انتخاب و با عصارهٔ گل میخک به غلظت ۱۰۰ppm بیهوش و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شد و طول ماهیان نیز با کمک خط‌کش بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. خونگیری با استفاده از سرنگ‌های ۲/۵cc و بدون استفاده از مواد ضد انعقاد انجام گرفت و به منظور تعیین هورمون‌های استروئیدی تستسترون، ۱۷-بتا استرادیول و پروژسترون از روش ELISA استفاده شد روش مورد استفاده بر اساس دستورالعمل موجود در کیت‌های سنجش (Diagnostics Biochem Canada Inc.dbc. Kit) در نظر گرفته شد. بعد از نمونه‌گذاری در چاهک‌های کیت و ایجاد رنگ در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر میزان هورمون‌های استروئیدی با توجه به رنگ‌سنجی محاسبه شد.

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

۴.۲. آنالیز آماری

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

۳. نتایج

۱.۳. شاخص وزن

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

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین (± انحراف معیار) وزن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳)*

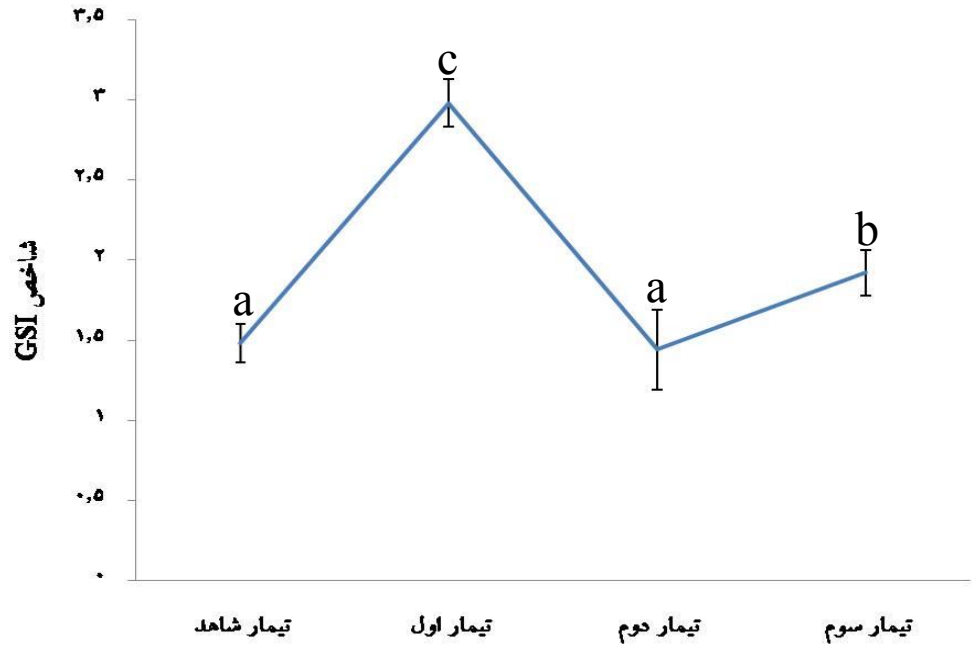
	وزن ماهی
تیمار شاهد	۳۰۷/۱۸± ۸/۶۵ c
تیمار اول	۲۵۴/۳۲±۹/۴۷b
تیمار دوم	۳۱۴/۳۶±۱۶/۶۲ c
تیمار سوم	۲۶۰/۶۴±۱۷/۰۵ b

* حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست (P < ۰/۰۵).

همان طور که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین تیمار اول (روغن سویا) و سوم (روغن کتان) با تیمار شاهد (روغن ماهی) وجود دارد (P < ۰/۰۵)، در حالی که بین تیمارهای اول و سوم و بین شاهد و تیمار دوم (روغن کانولا) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. شایان ذکر است بیش‌ترین افزایش وزن در تیمار دوم و کم‌ترین افزایش وزن در تیمار اول مشاهده شد.

۲.۳. شاخص GSI

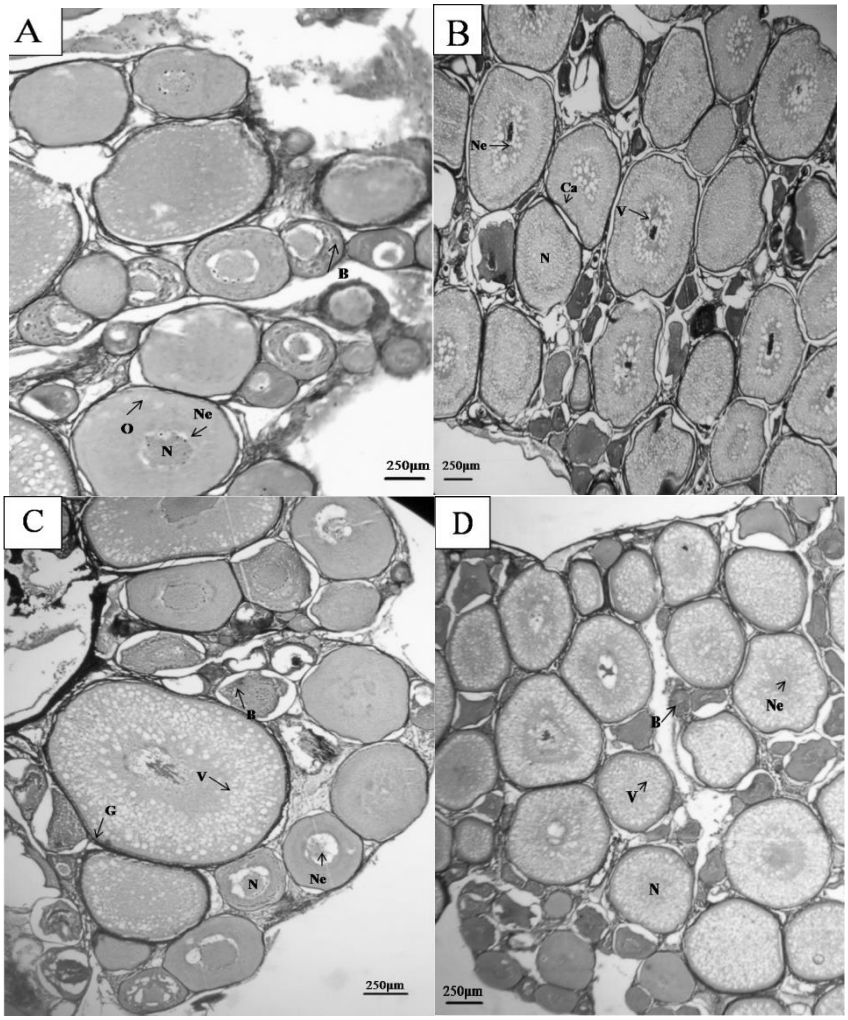
بر اساس نتایج تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در شاخص GSI در انتهای دورهٔ پرورش (نمودار ۱) مشاهده شد که بین تیمار دوم (روغن کانولا) با تیمار شاهد (روغن ماهی) اختلاف معنی‌دار از لحاظ شاخص GSI وجود ندارد. در حالی که تیمارهای اول (روغن سویا) و سوم (روغن کتان) با تیمار شاهد همچنین با تیمار دوم اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P < ۰/۰۵).



نمودار ۱. مقایسهٔ میانگین (± انحراف معیار) شاخص GSI ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳).

۳.۳. بافت تخمدان

بر اساس نتایج تأثیر سطوح مختلف روغن ماهی و روغن‌های گیاهی در توسعهٔ تخمدان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تفاوت مشاهده شد و با توجه به تصاویر بافت تخمدان در انتهای دورهٔ آزمایش مشاهده شد که تیمار شاهد و تیمار دوم (روغن کانولا) از نظر توسعه تقریباً در یک مرحله‌اند و مرحلهٔ انتهایی هستک کناری را نشان می‌دهند (تصاویر A و C) که با توجه به اندازهٔ تخمک تفاوت معنی‌داری را با ابتدای دوره از خود نشان می‌دهند ($P < ۰/۰۵$). در تیمار سوم (روغن کتان) مشاهده شد (تصویر D) که قطر تخمک افزایش یافته و از نظر ظاهری در مرحله پیشرفته‌تری نسبت به تیمار شاهد و تیمار اول قرار دارد و تفاوت معنی‌داری با آن‌ها دارد ($P < ۰/۰۵$). همچنین بیش‌ترین میزان توسعه مربوط به تیمار اول (روغن سویا) است (تصویر B) که با تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری دارد ($P < ۰/۰۵$) و در مرحلهٔ پیشرفته‌تری است.



شکل ۱. مقایسهٔ برش بافتی ۵ میکرومتری از تخمدان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان رنگ‌آمیزی‌شده با هماتوکسلین-ائوزین در تیمارهای مختلف (تصاویر A، B، C و D به ترتیب مربوط به تیمار شاهد، اول، دوم و سوم) است.
هستک (Ne)، هسته (N)، اجسام بالبیانی (B)، قطرات چربی (O)، وزیکول (آلوئول‌های کناری) ((V (Ca)، لایهٔ گرانولوزا (G)

۴.۳. قطر تخمک

نتایج تأثیر جیره‌های غذایی حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در قطر تخمک در انتهای دورهٔ پرورش (جدول ۳) نشان داد که همهٔ تیمارها با نمونهٔ اول دوره اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین (± انحراف معیار) قطرتخمک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳)*

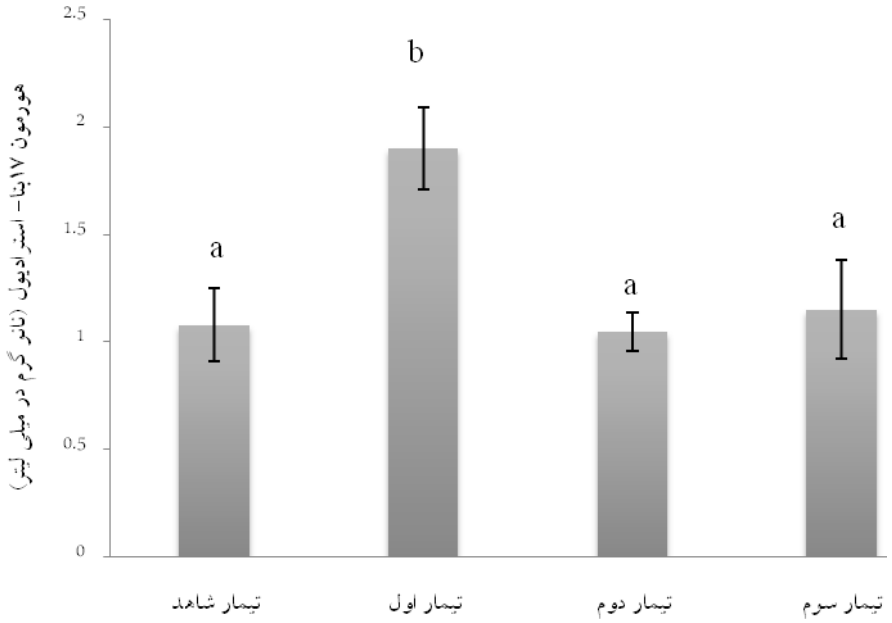
	قطر تخمک (میکرون)
تیمار شاهد	۴۴۴/۱۷± ۶/۵۱ [b]
تیمار اول	۷۹۶/۶۷±۱۰/۹۳[d]
تیمار دوم	۴۳۱/۹۴±۱/۷۳ [b]
تیمار سوم	۶۵۶/۴۸±۱/۵۱ [c]

* حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارهاست ($P < ۰/۰۵$).

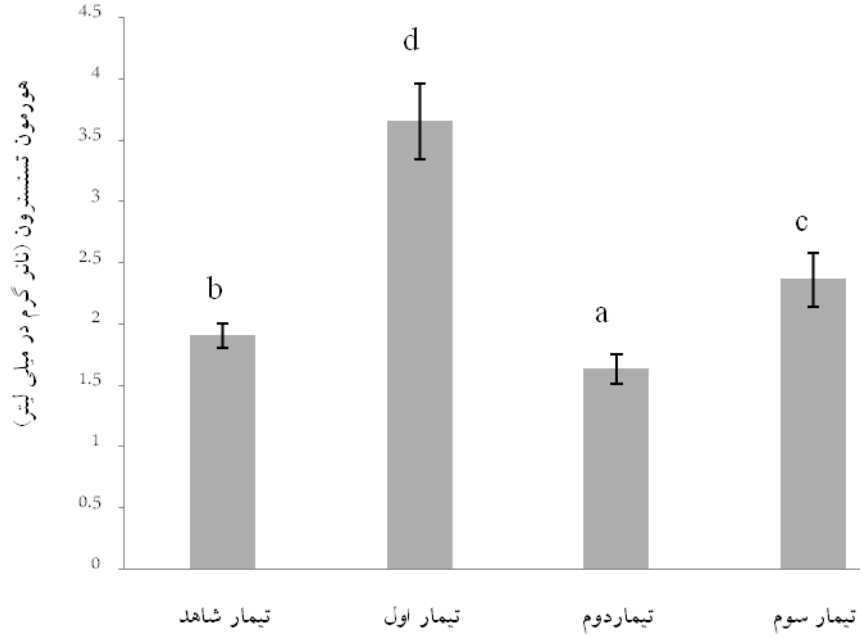
تیمار دوم با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت، در حالی که تیمارهای اول و سوم با یک‌دیگر همچنین با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < ۰/۰۵$)، و بیش‌ترین قطر تخمک مربوط به تیمار اول بود.

۵.۳. هورمون‌های استروئیدی

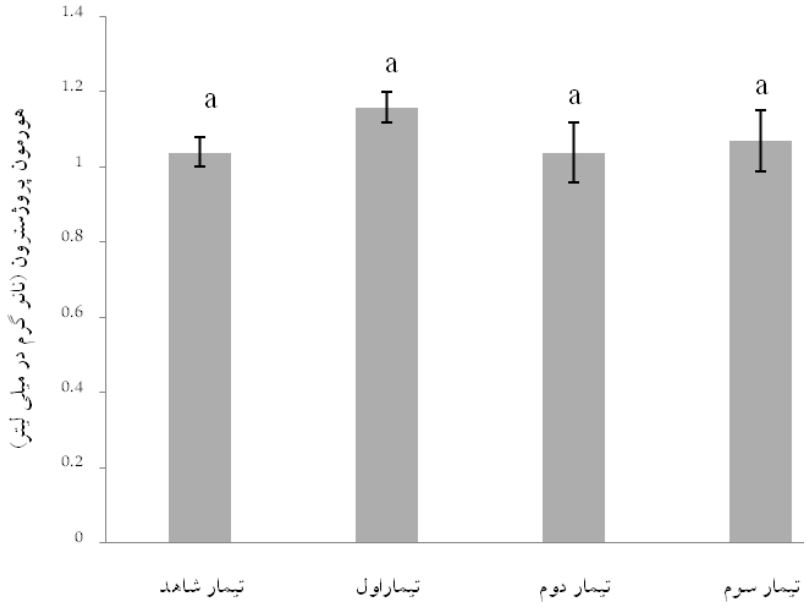
نتایج تأثیر جیره‌های حاوی روغن‌های مختلف گیاهی و جانوری در هورمون‌های استروئیدی در نمودارهای ۲، ۳ و ۴ ارائه شده است. در انتهای دورهٔ آزمایش بین تیمارهای دوم و سوم با تیمار شاهد دربارهٔ هورمون ۱۷-بتا استرادیول اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که بین تیمار اول با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). دربارهٔ هورمون پروژسترون اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف و تیمار شاهد مشاهده نشد. این در حالی است که بین تیمارهای مختلف و تیمار شاهد در مورد هورمون تستسترون اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < ۰/۰۵$).



نمودار ۲. میزان هورمون ۱۷-بتا استرادیول (نانوگرم در میلی‌لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳، میانگین± انحراف معیار).



نمودار ۳. میزان هورمون تستسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳، میانگین± انحراف معیار).



نمودار ۴. میزان هورمون پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با غذای حاوی روغن سویا (تیمار اول)، روغن کانولا (تیمار دوم) و روغن کتان (تیمار سوم) در پایان دورهٔ پرورش (n = ۳، میانگین± انحراف معیار).

۴. بحث

در پژوهش حاضر، ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی ۷۵٪ روغن کانولا بیش‌ترین افزایش وزن را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان ندادند این موضوع با مطالعات قبلی که دربارهٔ ماهی قزل‌آلا و چار اقیانوس اطلس انجام شده بود (Pettersson, 2010)

مطابقت دارد. نتایج مشابهی دربارهٔ میزان جایگزینی روغن‌های گیاهی با روغن ماهی ارائه شده که نشان می‌دهند ۷۵٪ جایگزینی روغن‌های گیاهی با روغن ماهی در جیرهٔ غذایی سی‌بریم تغییری در رشد و جذب غذا ایجاد نمی‌کند، ولی سطوح بالاتر جایگزینی باعث کاهش رشد و راندمان بهروی غذا می‌شود (Wassf, 2009). از طرف دیگر، جایگزینی تمام یا بخشی از روغن‌های آفتابگردان، کانولا، زیتون و کتان با روغن ماهی در جیرهٔ غذایی غذای ماهیان سالمون نرخ رشد یا تبدیل غذایی را تحت تأثیر قرار نداده است (Miller *et al.*, 2007). بنابراین، طبق مطالعات انجام‌شده می‌توان گفت که نسبت امگا-۳ به امگا-۶ بسیار حائز اهمیت است؛ و از آن‌جا که علاوه بر روغن کانولا روغن‌های گیاهی سویا و کتان نیز در آزمایش فعلی استفاده شده می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت در میزان اسید لینولئیک در این روغن‌ها و برهم‌خوردن نسبت بین امگا-۳ و امگا-۶ موجب شده مسیر رشد آبزی مورد آزمایش به سمت توسعهٔ گناد رود و سرعت افزایش وزن نسبت به سایر تیمارها کاهش یابد.

علاوه بر این، همان طور که گفته شد بزرگ‌ترین قطر تخمک، بالاترین میزان شاخص گنادوسوماتیک، پیشرفته‌ترین بافت تخمدان و بیش‌ترین میزان هورمون تستسترون و ۱۷بتا- استرادیول در تیمار مربوط به روغن سویا دیده شد. این نتایج با مطالعاتی که دربارهٔ قزل‌آلا و گلدفیش انجام گرفته همخوانی دارد؛ در این مطالعات گفته شده که اسید آرشیدونیک، که بر اثر فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۶ به دست می‌آید، ایکوزانوئیدهایی را تولید می‌کند که موجب تولید تستسترون در بیضهٔ گلدفیش (Wade & Van Der Kraak, 1993; Mecure & Van Der Kraak, 1995) همچنین ایکوزاپنتانویک اسید که بر اثر فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۳ به دست می‌آید ایکوزانوئیدهایی را تولید می‌کند که موجب کاهش تولید تستسترون در بیضهٔ گلدفیش و قزل‌آلا و تخمدان گلدفیش می‌شود (Wede *et al.*, Mecure & Van Der Kraak, 1995; 1994). با توجه به این‌که مقدار امگا-۶ روغن سویا بیش‌تر از سایر روغن‌هاست، بیش‌ترین میزان هورمون‌های جنسی و به تبع آن پیشرفته‌ترین بافت تخمدان در این تیمار مشاهد شد. به علاوه، مطالعاتی که دربارهٔ پستانداران و پرندگان نیز انجام شده (Lopez-Ruiz *et al.*, 1992; Lopez-Ruiz *et al.*, 1991) مؤید این مطلب است که اسید آرشیدونیک موجب توسعهٔ گناد می‌شود. همچنین در مطالعه‌ای (Lin, 1985) نشان داده شده که اسید آرشیدونیک از طریق تولید پروستاگلاندین‌ها موجب توسعهٔ سلول‌های گرانولوزا می‌شود. در حالی که EPA و DHA اثر جلوگیری‌کننده در تولید پروژسترون و PGE2 در تخمدان گوساله داشته‌اند. همچنین در مطالعه‌ای که دربارهٔ ماهی نر سی‌باس اروپایی انجام گرفته این مطلب تأیید شده است که پروستاگلاندین‌های حاصل از اسید آرشیدونیک برای عملکرد بیضه ضروری‌اند و افزایش امگا-۶ جیره و پایین‌آمدن نسبت امگا-۳ به امگا-۶ در جیره موجب بهبود تولیدمثل شده است (Asturiano *et al.*, 2001). چون روغن سویا داری مقدار زیادی امگا-۶ است و نسبت امگا-۳ به امگا-۶ پایین است، در این تیمار بیش‌ترین مقدار هورمون‌های جنسی و پیشرفته‌ترین بافت تخمدان دیده شد.

به طور کلی، مطالعات اندکی در مورد دخالت ایکوزانوئیدها در تولیدمثل در دسترس است، ولی نتایج همهٔ مطالعات این مطلب را تأیید کرده است که اسید آرشیدونیک، که از طریق فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۶ به دست می‌آید، پروستاگلاندین سری E (به‌ویژه PGE2 و PGE2α) تولید می‌کند (Sorbera *et al.*, 2001) و تولید تستسترون را افزایش می‌دهد (Berndtson *et al.*, 1989). از طرفی ایکوزاپنتانویک اسید از طریق فرایند طویل‌سازی و غیر اشباع‌سازی از امگا-۳ به دست می‌آید (Wade & Van Der Kraak, 1993; Wade *et al.*, 1994; Asturiano *et al.*, 1997, 1999, 2000)، اثر جلوگیری‌کنندهٔ این ایکوزانوئیدها را می‌توان این‌طور بیان کرد که اسید آرشیدونیک و پنتانویک اسید هر دو به‌منزلهٔ پیش‌ماده برای آنزیم سیکلو اکسیژناز برای ساخت ایکوزانوئیدها مطرح‌اند و زمانی که سطح بالای ایکوزاپنتانویک اسید وجود داشته باشد در رقابت با اسید آرشیدونیک برای باندشدن با این آنزیم پیروز می‌شود (Murdoch *et al.*, 1993; Weber,1990) و پروستاگلاندین PGE1 وPGE3 را تولید می‌کند (Sorbera *et al.*, 2001)، که ثابت شده این دو نوع پروستاگلاندین نسبت به پروستاگلاندین‌های حاصل از اسید آرشیدونیک اثر کم‌تری در توسعهٔ گناد دارند. به دلیل این‌که مقدار امگا-۶ روغن سویا بیش‌تر از روغن کانولا، کتان و ماهی است و احتمالاً دارای نسبت مناسب امگا-۳ به امگا-۶ مناسب برای توسعهٔ گناد است، در این تیمار بیش‌ترین میزان هورمون‌های جنسی و به تبع آن پیشرفته‌ترین بافت تخمدان مشاهده شد که البته به تحقیقات بیش‌تر در این زمینه نیاز است، همچنین اندازه‌گیری اسیدهای چرب روغن‌های گیاهی و یافتن رابطهٔ منطقی بین آن‌ها در بهبود نتایج بسیار مؤثر است. در نتیجه می‌توان گفت که احتمالاً نسبت امگا-۳ به امگا-۶ در جیرهٔ غذایی آبزیان اهمیت زیادی دارد و برای افزایش وزن نسبت متعادل امگا-۳ به امگا-۶ مورد نیاز است، به طوری که این میزان با نسبت این اسیدهای چرب در روغن ماهی تشابه داشته باشد. به همین دلیل در تیمار شاهد و تیمار مربوط به روغن کانولا افزایش وزن را مشاهده کردیم، ولی با برهم‌خوردن این نسبت مسیر رشد آبزی به سمت توسعهٔ گناد می‌رود به همین دلیل ماهی‌ها در تیمارهای اول و سوم انرژی خود را صرف توسعهٔ تخمدان می‌کنند و افزایش وزن زیادی را نشان ندادند، از طرفی چون ایکوزانوئیدهای حاصل از متابولیت‌های امگا-۶ نسبت به ایکوزانوئیدهای حاصل از متابولیت‌های امگا-۳ اثر بیش‌تری در توسعهٔ گناد دارند و چون امگا-۶ روغن سویا بیش‌تر از روغن کانولا، کتان و ماهی است به همین دلیل ماهی‌ها در این تیمار توسعهٔ گناد بیش‌تر و افزایش وزن کم‌تری را نشان دادند. پس افزایش امگا-۶ جیره برای توسعهٔ گناد مناسب‌تر است و استفاده از روغن سویا به دلیل داشتن ۵۴ درصد امگا-۶ و ۸ درصد امگا-۳ برای توسعهٔ گناد مناسب به نظر می‌رسد. البته این نکته حائز اهمیت است که مطلب اخیر نقش اسیدهای چرب بلندزنجیر مانند DHA و EPA را در توسعهٔ جنینی و افزایش هماوری آبزیان به چالش نمی‌کشد و تنها نشان‌دهندهٔ نقش مهم‌تر نسبت‌های امگا-۳ و امگا-۶ در فرایند توسعهٔ گناد است که نیاز به تحقیق بیش‌تر در این زمینه است.

References

[1]. Albert, G.J., Metian, T. M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded *aquafeeds*: Trends and future prospects. Aquaculture 285, 146–158.

[2]. AOAC., 1990. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th ed. Arlington, VA.

[3]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Navarro, J.C., Bromage, N., 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. Aquaculture 194, 173-190.

[4]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 1997. Preliminary observations on the influence of essential fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) primary testis culture. Abstracts Third International Symposium on Research for Aquaculture: Fundamental and Applied Aspects (ESCPB); Barcelona, Spain, P33.

[5]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 1999. Evidence of the influence of the influence of polyunsaturated fatty acids in vivo and in vitro in the reproduction of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Abstracts 6th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish; Bergen, Norway, P64.

[6]. Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Zanuy, S., Carrillo, M., 2000. Effects of polyunsaturated fatty acids and gonadotropin on prostaglandin series E production in a primary testis cell culture system for the sea bass. J. Fish Boil 57, 1563-1574.

[7]. Berndtson, A.K., Goetz, F.W., Duman, P., 1989. In vitro ovulation, prostaglandin synthesis and proteolysis in isolated ovarian components of yellow perch (*Perca flavescens*): Effects of 17 a,20□-dihydroxy-4-pregnen-3- one and phorbol ester. Gen Comp Endocrinology 75, 454–465.

[8]. Bromage, N., Jones, L., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock Management, Fecundity, Egg Quality and Timing of Egg Production in Rainbow Trout *O. mykiss*. Aquaculture 100, 141-166.

[9]. Cejas, J.R., Almansa, E., Jerez, S., Bolans, A., Samper, M., Lorenzo, A., 2004. Lipid and fatty acid composition of muscle and liver from wild and captive mature female brood stocks of white sea bream, *Diplodus sargus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B 138, 91-102.

[10]. Drew, M.D., Borgeson, T.L., Thiessen D.L., 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. Animal Feed Science and Technology 138, 118–136.

[11]. Farhangi, M., Carter, C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* to different dietary inclusion levels of *dehulled lupin* (*Lupinus angustifolius*). Aquaculture Research 32, 329- 340.

[12]. Hardy, R.W., Barrows, F., 2002. Diet Formulation and Manufacture. In: Halver, J.E., Hardy, R. W. (Eds.). Fish Nutrition. Academic Press, 505-600.

[13]. Higgs, D.A., Dosanjh, B.S., Prendergast, A.F., Beames, R.M., Hardy, R.W., Riley, W., Deacon, G., 1995. Use of rapeseed/canola protein products in finfish diets. In: Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture (eds C.E. Lim and D.J. Sessa), Champaign II, 130–156.

[14]. IFFO (International Fishmeal and Fish Oil Organization)., 2008. IFFO Update No. 186: 10 pp.

[15]. Kaushik, S.J. (1990). Use of alternative protein sources for the intensive rearing of carnivorous fish. In: Mediterranean Aquaculture (eds R. Flos, L. Tort and P. Torres), Ellis Horwood Limited, 125–138.

[16]. Lin T., (1985). Mechanism of action of gonadotropin-releasing hormone stimulated Leydig cell steroid genesis III. The role of arachidonic acid and calcium/phospholipids dependent protein kinase. Life Sci. 36, 1255–1264.

[17]. López-Ruiz, J.M., Verbelen, J.P., Bocanegra, A., Diez, J., 1991. Immunocytochemical localization of nitrite reductase in green algae. Plant Physiology 96, 699-704.

[18]. Lopez-Ruiz, M,P., Choi, M.S.K., Rose, M.P., West, A.P., Cooke, B.A., 1992. Direct effect of arachidonic acid on protein kinase C and LH-stimulated ste- roidogenesis in rat Leydig cells: evidence for tonic inhibitory control of steroid genesis by protein kinase C. Endocrinology 130, 1122–1130.

[19]. Memis, D., 2004. Effects of different diets on the growth performance ,gonad development and body composition at first sexual maturity of Rainbow trout. Turk J Vet Anim Sci 28, 315-322.

[20]. Mercure, F., Van Der Kraak, G., 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. Lipids 30, 547–554.

[21]. Miller, M. R., Nichols, P. D., Carter, C. G., 2007. Replacement of dietary fish oil for Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) with a stearidonic acid containing oil has no effect on omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid concentrations. Comparative Biochemistry and Physiology 146, 197-206.

[22]. Mojazi Amiri, B., Maebayashi, M., Hara, A., Adachi, S., Yamauchi, K., 1996. Ovarian development and serum sex steroid and vitelogenin profiles in female cultured sturgeon hybrid the bester. Journal of Fish Biology 48, pp. 1164-1178.

[23]. NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington.

[24]. Pettersson, A., 2010. Effects of Replacing Fish Oil with Vegetable Oils in Feed for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*). Doctoral Thesis Acta Universitatis Agriculture Sueciae, 43.

[25]. SOFIA, 2008. The State of World Fisheries and Aquaculture [online] Available from: http://www.fao.org/docrep/011/i0250e/i0250e00.htm [Accessed 2010-02-01].

[26]. Sorbera, L.A., Asturiano, J.F., Carrillo, M., Zanuy, S., 2001. Effects of Polyunsaturated Fatty Acids and Prostaglandins on Oocyte Maturation in a Marine Teleost, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Biology of Reproduction 64, 382-389.

[27]. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74, 3583-3597.

[28]. Wade, M., Van Der Kraak, G., 1993. Arachidonic acid and prostaglandin E2 stimulate testosterone production by goldfish testise in vitro. Gen. Comp. Endocrinol 90, 109-118.

[29]. Wade, M.G., Van Der Kraak, G.J., Gerrits, M.F., Ballantyne, J.S., 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the gold fish testis. Biol Reprod 51, 131–139.

[30]. Wallace, R.A., (1985). Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In: Browder, L.W. (Ed), Developmental Biology. Plenum Press, New York, Vol. 1, pp. 127-177

[31]. Wassef, E.A., Saleh, N.E., EI-Abd EI-Hady, H.A., 2009. Vegetable oil blend as alternative lipid resources in diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*. Aquaculture 17, 421-435.

[32]. Watanabe, T., 1995. Importance of the Study of Brood stock Nutrition for Further Development of Aquaculture. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Editors), Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press, London, 400-405.

[33]. Weber, P.C., 1990. The modification of the arachidonic acid cascade by ny3 fatty acids. In: Samuelson, B., Dahlen, S.E., Fritsch and, J., Hedqvist, P. Eds. , Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research, vol. 20. Raven Press, New York, pp. 232–240.

[34]. Yanar, M., Ercen, Z., Hunt, A.Z., Buyukcapar, H.M., 2008. The use of alfalfa, (*Medicago sativa*) as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*. Aquaculture 284, 196-200.

[35]. Zar, J.H., 1999. Biostatistical Analysis. New Jersey, USA. Prentice-Hall, Inc.