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

مناهل جیحون[۱]، مهران جواهری بابلی*[۱]

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

تاریخ دریافت: ۲۴ آذر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۶ اردیبهشت ۱۳۹۶

چکیده

در این پژوهش تغییرات ترکیب اسیدهای چرب در طول نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* موردبررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری 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 به‌وسیله دستگاه کروماتوگراف گازی انجام گرفت. نتایج نشان دادند که اسیدهای چرب اشباع (SFA) در طول دوره جنینی کاهش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$). اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه (MUFA) در طول دوره جنینی و لاروی کاهش معنی‌داری نیافتند. نتایج نشان داد که اسیدهای چرب امگا ۳ و DHA در طول دوره جنینی ولا روی روند افزایشی و کاهشی را به ترتیب نشان دادند ($P<۰/۰۵$). در کل نقش انرژی‌زایی 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.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). mehranjavaheri@gmail.com

مقدمه

کپور سر گنده از ماهی‌های 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 آبزیان پرورشی را دارا بوده است (FAO, 2013).

چربی‌ها و اجزاء تشکیل‌دهنده اسیدهای چرب همراه با پروتئین‌ها اجزای مهم زیستی ماهی هستند و آن‌ها نقش مهمی در منابع متابولیکی انرژی برای رشد شامل تکثیر و حرکت به انضمام مهاجرت رادارند.

درصد لقاح و تفریخ و بازماندگی اولیه لارو، وابسته به ترکیب اسیدهای چرب، به‌ویژه 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 می‌نماید و نیز امکان ارزیابی توان سازگاری لارو در برابر تغییر شرایط محیطی و نیز کیفیت تخم را فراهم می‌سازد (Tocher, 2003). ترکیب چربی در طول نمو تخم نشان‌دهنده نیازهای انرژیک لارو در طی انتقال به تغذیه خارجی است (Haliloglu *et al*., 2002).

اسیدهای چرب غیراشباع به‌عنوان ترکیبات ساختاری در روند اندام‌سازی (بافت مغز، شبکیه، ماهیچه و...) و پیش ماده‌های مولکول‌های با فعالیت فیزیولوژیکی هم چون پروستاگلاندین‌ها و ایکوزانوئیدها موردتوجه قرار می‌گیرند (Bell and Tocher, 1989). دکوزا هگزانوئیک اسید (DHA) برای تکامل سیستم عصبی ضروری است (Sargent *et al*., 1995).

درنتیجه 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 همین‌طور 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 به‌منظور آگاهی از ترکیب غذای دستی لارو به هنگام مراحل تغذیه فعال و هم‌چنین مولدین پرورشی امری لازم و ضروری است.

انتوژنی پروفیل اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف ماهی مانند؛ کپور معمولی *Cyprinus carpio* (Farhoudi *et al*., 2012)، کپور نقره‌ای *Hypophthalmichths molitrix* (Mehdi Zarei *et al*., 2013) موردمطالعه قرارگرفته است.

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

مواد و روش‌ها

برای تعیین تغییرات پروفیل اسید چرب طی دوران جنینی و لاروی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis*، نمونه‌برداری 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 ازلحاظ آمادگی برای تخم‌کشی، از مولدین اسپرم و تخم گرفته شد. اولین

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. نمونه‌برداری چهارم در این مرحله از آزمایش از لاروهای کیسه زرده جذب کرده است. نمونه آخر در این مرحله از آزمایش از لاروهای تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود به استخر است. پس از انجام نمونه‌گیری، نمونه‌های برداشته‌شده در درجه حرارت ۹۰- درجه سانتی‌گراد 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 لوله‌آزمایش درب پیچ‌دار انتقال داده، جهت تسریع بخشیدن به عمل استخراج بعد از بستن در لوله‌ها، آن‌ها را به‌شدت 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 لوله‌آزمایشی که وزن آن قبلاً اندازه‌گیری شده و مرحله فوق را دومرتبه دیگر انجام داده و سپس توسط گاز نیتروژن کلروفرم و متانول را تبخیر کرده و وزن لوله حاوی چربی را اندازه‌گیری و از اختلاف آن‌ها درصد چربی محاسبه گردید.

استری کردن چربی استخراج‌شده

به‌منظور استری کردن چربی از روش (Metcalfe and Schmitz, 1961) استفاده شد. چربی استخراج‌شده از نمونه‌ها با افزودن ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی (۲ مولار) صابونی می‌شوند و بعد با افزودن ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک متانولی (۲ مولار) به متیل استر تبدیل می‌گردید (Desvilettes *et al.*, 1994). متیل استر اسیدهای چربی در یک میلی‌لیتر 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 تک‌تک 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) Agilent-۶۸۹۰ مجهز به ستون کاپیلاری از نوع BPX70 SGE (120m×0/25mm ID× 0/25) و آشکارساز نوع (FID) flame ionization detector استفاده گردید. دمای آشکارساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۱۶۰ و ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد 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 سانتی‌گراد تنظیم شد. بعد از مدت ۱۰ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد. به مدت ۷۵ دقیقه دما در این درجه باقی ماند. در این روش از گاز هلیم (با خلوص ۹۹/۹۹۹٪) به‌عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به‌عنوان سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹٪) به‌عنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. از مقایسه زمان

بـازداری کروومـاتوگرام هـای نمونـه مجهـول بـا کروماتوگرام های به‌دست‌آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در تخم و لارو ماهی کپور سر گنده شناسایی شد و نتایج به‌صورت درصد گزارش گردید. هر نمونه با سه تکرار مورد آزمون قرار گرفت و نتایج آن ثبت و گزارش گردید. نتایج با استفاده از نرم SPSS۱۸ و اکسل ۲۰۱۰ و آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

نتایج

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

بررسی روند تغییرات اسیدچرب اشباع پالمیتیک (۱۶:۰) نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار این اسید چرب از مرحله تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار از ۲۹/۸۵ به ۲۶/۶۲ می‌باشد. 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 معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵).

همان‌گونه که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، مجموع اسیدهای چرب اشباع از تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار روند کاهشی معنی‌داری دارند، به‌طوری‌که 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 معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵).

اسید اولئیک ۹- ۱۸:۱n روند کاهشی را در نمو جنینی و لاروی داشت به‌طوری‌که 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<۰/۰۵).

اسید چرب لینولئیک ۶- ۱۸:۲n روند کاهشی را در طول نمو جنینی ماهی کپور سر گنده داشت (P<۰/۰۵). 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 می‌افتد به‌طوری‌که 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 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به ۴/۹۲ درصد از کل اسیدهای چرب رسید (P<۰/۰۵).

روند تغییرات اسید چرب لینولنیک 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<۰/۰۵)، با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار افزایش در میزان این اسید چرب اتفاق می‌افتد به‌طوری‌که 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 معنی‌داری یافت. (P<۰/۰۵).

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 دار	لارو کیسه زرده جذب کرده	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±۰/۰۳^{a}
اسید استئاریک	C18:0	۷/۸۹±۰/۶۰^{b}	۸/۰۱±۰/۲۳^{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 لینولنیک	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 استئاریدونیک	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±۰/۰۰۸^{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 پنتائینوئیک	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 پنتائینوات	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 دکوزاهگزانوئیک	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 غیراشباع	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 غیراشباع	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±۰/۹۰^{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}

روند کاهشی و افزایشی اسید آراشیدونیک ۶-n۴:۲۰ 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<۰/۰۵). 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<۰/۰۵). 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 پنتانوئیک ۳- n ۵:۲۰ بیانگر آن است که این اسید چرب روند کاهشی معنی‌داری را در طول نمو جنینی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* دارد. به‌طوری‌که میزان این اسید چرب از ۴/۱۱ درصد در تخم لقاح یافته ۴/۰۶ درصد در تخم چشم زده کاهش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). با ورود به نخستین مرحله لاروی (لارو دارای کیسه زرده) میزانEPA به ۵/۱۰ درصد افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). 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 رخداده در میزان اسید چرب دکوزاهگزانوئیک ۳- n ۲۲:۶ بیانگر روند کاهشی این اسید چرب در مراحل نمو جنینی است. به‌طوری‌که میزان این اسید چرب از ۱۱/۸۱ درصد در تخم لقاح یافته به ۱۰/۸۵ درصد در تخم چشم زده کاهش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). 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<۰/۰۵).

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، به‌طوری‌که 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<۰/۰۵). میزان تغییرات این اسید چرب روند کاهشی را در مرحله لاروی ماهی کپور سر گنده *Hypophthalmichthys nobilis* دارد به‌طوری‌که این میزان در مرحله لارو کیسه زرده دار ۲۴/۲۹ درصد در لارو کیسه زرده جذب کرده ۲۲/۸۵ درصد و در لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ 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<۰/۰۵). میزان این اسید چرب در مرحله لارو دارای کیسه زرده

بالاترین مقدار را دارد. با ورود به مرحله لارو کیسه جذب کرده روند کاهشی یافت به‌طوری‌که میزان آن در این مرحله ۳۱/۱۳ درصد و در لارو تغذیه‌شده با تخم‌مرغ سه روز قبل از ورود لارو به استخر به ۲۵/۸۱ درصد از کل اسیدهای چرب رسید.

میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ از ۲۰/۹۷ درصد در تخم لقاح یافته به ۲۵/۳۷ 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 ۱۸/۷۵ 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 ۱۵/۶۱ درصد رسید.

میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره سری امگا ۶ در طول نمو جنینی و مرحله اولیه لاروی ماهی کپور سر گنده روند افزایشی داشتند. به‌طوری‌که میزان مجموع این اسیدهای چرب از ۷/۰۳ درصد در تخم لقاح یافته به ۸/۷۸ 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 ۸/۵۲ 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 ۱۰/۱۹ 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 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 پنجگانِ نمو جنینی و لاروی ماهی کپور سر گنده به ترتیب ۳/۱۲، ۳/۰۲، ۳/۰۴، ۲/۱۶، ۱/۵۳ 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 به‌طوری‌که میزان آن در تخم لقاح یافته ۲/۸۶ درصد و در تخم چشم زده ۳/۴۹ درصد است. با ورود به مرحله لارو کیسه زرده دار روند کاهشی دارد و به ۲/۷۹ 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 ثابت‌شده 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 مورداستفاده برای سوخت‌وساز یا سنتز بافت و نقش‌های مختلف اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف است (Sargent, 1995; Vasquez

and Mourente, 1996). چربی‌ها و اسیدهای چرب سازنده آن‌ها یکی از اصلی‌ترین اجزاء ترکیبات آلی بدن ماهی بوده و به‌عنوان منبع اصلی انرژی سوخت و سازی برای رشد، تولیدمثل، حرکت و مهاجرت ایفا می‌کنند (Tocher, 2003). همچنین چربی‌ها نقش اساسی در ترکیب غشاء سلولی، پیش ساز پروستاگلاندین‌ها، ایکوزانوئید و پیش ساز هورمون‌های استروئیدی با کارکردهای فیزیولوژیک در پوست‌اندازی و رشد متعادل، عملکرد آب‌شش 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). درواقع غذا مهم‌ترین عامل محیطی است که ترکیب اسیدهای چرب را در ماهی تحت تأثیر قرار می‌دهد. تأثیر جیره بر ترکیب اسید چرب ماهی در مطالعات مختلف بررسی‌شده است (Plant *et al*., 2007).

کاهش میزان اسیدهای چرب اشباع (SFA) در دوران جنینی (تخم لقاح یافته تا لارو کیسه زرده دار) نشان‌دهنده 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 نشان‌دهنده عدم مصرف این ماده مغذی جهت تأمین انرژی است. میزان اسید چرب ۱۶:۰ در اکثر گونه‌ها از فراوان‌ترین اسیدها بود و به دلیل این‌که جز اصلی فسفولیپیدها، عمدتاً فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانل آمین است در شکل‌گیری غشا در دوره جنینی اهمیت دارد. از طرفی، میزان این ماده مغذی در غذای مصرفی لارو زمان تغذیه با تخم‌مرغ بالاست. پژوهشگران این افزایش در ذخایر اسیدهای چرب اشباع را به سنتز *Bioconversion* و *de novo* نسبت می‌دهند که طی این فرآیند این دسته از اسیدهای چرب در بدن سنتز می‌شوند (Henderson and Sargent, 1985). این نتایج با نتایج مشابه به‌دست‌آمده در مراحل جنینی و لاروی در ماهی *Hypophthalmichths molitrix* به‌وسیله Mehdi Zarei و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشته است.

باوجوداینکه اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه در بیشتر گونه‌های ماهیان دریایی و آب شیرین منبع خوبی جهت تأمین انرژی جهت رشد، متامورفوز، متابولیسم پایه و غیره می‌باشند، در مطالعه حاضر این گروه از اسیدهای چرب در دوران جنینی و لاروی کاهش نیافتند. نتایج مشابه در دوران جنینی و لاروی ماهی کپور به‌وسیله Farhoudi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شد.

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

در تحقیق حاضر، مقدار اسید آراشیدونیک (۲۰:۴n-۶) در ابتدای نمو جنینی ماهی کپور سر گنده روند کاهشی داشت. اسید آراشیدونیک به‌عنوان پیش ماده پروستاگلاندین‌ها، لوکوترین‌ها ترومبوکسان‌ها در متابولیسم ایکوزانوئیدها مورد مصرف قرار می‌گیرد (Bell *et al*., 1994; Van der kraak and

Biddiscombe, 1999). اسید آراشیدونیک از طریق فرآیند اشباع زدایی و طویل سازی اسیدهای چرب چند زنجیره غیراشباع (۱۸:۲ و ۱۸:۳) تولید می‌شود (Pickova, 1999). این اسید چرب در ماهیان نقش مهمی را در نگهداری و عملکرد غشا سلولی ایفا می‌کند (Sargent, 1999). شاید بتوان کاهش معنی‌دار 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 ایکوزاپنتانوئیک (۲۰:۵n-۳) 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 به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. علت این افزایش در مرحله شروع شنای آزاد، مشارکت EPA در غشای سلولی کیسه شنا است. به همین دلیل بیوسنتز آن در این دوران افزایش می‌یابد (Awaiss *et al.*, 1996). مطالعات نشان داده کاهش EPA در trout طی تکامل لاروی می‌تواند به دلیل مصرف این اسید چرب برای تأمین انرژی نیز باشد (Tocher and Sargent, 1990). اسید چرب EPA در لیپیدهای ساختاری نقش برجسته‌ای دارد و می‌تواند تولید ایکوزانوئیدهای به‌دست‌آمده 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 نشان‌دهنده اهمیت آن در فعالیت‌های فیزیولوژیک در مراحل اولیه زندگی است. اسید چرب DHA ماهیان به‌عنوان یک جزء ساختاری در غشا سلول و به‌ویژه در نمو مغز، شبکیه و سلول‌های عصبی نقش دارد (Zengin and Akpinar, 2006; Weigand, 1996). اسید چرب DHA از دوران جنینی تا لارو کیسه زرده جذب کرده ذخیره‌شده و به‌عنوان منبع انرژی مصرف نمی‌شود و کاربرد ابقایی دارد. علیرغم اهمیت DHA به‌عنوان یک ترکیب ساختاری در بافت‌های عصبی و بینایی، این اسید چرب به‌طور کامل ذخیره نشده و برای تأمین انرژی نیز به کار می‌رود (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 نشان‌دهنده تغییر احتیاجات لارو به اسیدهای چرب مختلف در دوره‌های مختلف زندگی بوده است. لاروها از اسیدهای چرب مختلف به‌عنوان منبع انرژی استفاده نمودند. کاهش مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFA) به‌ویژه در مراحل جنینی به لاروی نقش این گروه را در انرژی‌زایی مشخص نمود.

اسید چرب DHA از دوران جنینی تا لارو کیسه زرده جذب کرده ذخیره‌شده و به‌عنوان منبع انرژی مصرف نمی‌شود و کاربرد ابقایی دارد. علیرغم اهمیت DHA به‌عنوان یک ترکیب ساختاری در بافت‌های عصبی و بینایی، این اسید چرب به‌طور کامل ذخیره نشده و برای تأمین انرژی در دوره تغذیه خارجی به‌کاررفته است.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات کلیه کسانی که مارا در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Abi-Ayad, S.M.E.A., Boutiba, Z., Mélard, 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 ofyellow 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. Desvilettes, C., Bourdier, G., Breton, J.C., 1994. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in Pike (*Esox lucicus*) 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.
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

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 implicitiations. 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 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 theproperties 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 larve 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., Akpinar, M.A., 2006. Fatty acids composition of *Oncorhnchus mykiss* during emberyogenesis and other developmental. Biologia, 61(3), 305–311.