

غذایی ماهی آزاد تریپلوئید در بهبود فرآیند غذاگیری

مهدی نقدی^۱، بهروز ابطحی^۲، محمدرضا کلباسی^۳

چکیده

باتوجه به اهمیت حس بویایی در تحریک رفتارهای تغذیه‌ای گونه‌های مختلف ماهیان، در این تحقیق پاسخ‌های تغذیه‌ای آزادماهی تریپلوئید یکساله هنگام تحریک حس بویایی بوسیله محلول اسیدهای آمینه مختلف بررسی گردید. بدین‌منظور ماهیان در مدت 3 دقیقه در اکواریومی با ابعاد 75*45*50 در معرض محلولهای بیست نوع اسید آمینه با غلظت 0/001 مولار قرار گرفته و در این مدت واکنشهای رفتاری آنها مورد سنجش واقع شد. نتایج آزمایش 20 اسید آمینه مختلف بر روی حس بویایی ماهیان بیانگر بروز رفتارهای جستجوی غذا در زمان افزودن متیونین به محیط آزمایش می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده استفاده از موثرترین اسیده آمینه آزمایش شده در تحقیق حاضر در جیره غذایی آزاد ماهی تریپلوئید می‌تواند منجر به تحریک بیشتر ماهی به مصرف غذا و کاهش ضریب تبدیل غذا (FCR)، همچنین کاهش هدررفت مواد مغذی به محیط آبی و نهایتاً کاهش بار آلودگی محیط پرورش ماهیان گردد.

کلمات کلیدی: پاسخ‌های بویایی، اسید آمینه، ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta*

caspius)، تریپلوئیدی

¹ - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه شیلات،

² - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه شیلات،

³ - دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه شیلات،

افزایش جمعیت و در نتیجه افزایش نیاز های غذایی بشر در سالهای اخیر باعث گردیده بحث تکثیر و پرورش آبزیان جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص دهد. همگام با گسترش این صنعت معرفی گونه‌های جدید به آن و بهبود کیفیت رشد و پرورش آنها لازم و ضروری به نظر می رسد. در این میان آزاد ماهیان به لحاظ تنوع بالا و قدرت سازگاری مناسب و قابلیت تکثیر آنها در شرایط مصنوعی یکی از مهمترین گونه های پرورشی در جهان (Laberge و Hara 2004) و ایران (پورغلام و نوروزی مقدم، 1374) محسوب می شوند. ماهی آزاد دریای خزر که امروزه یک گونه کمیاب قلمداد می گردد، از سرعت رشد و بازماندگی پایینی در محیط اسارت برخوردار می باشد. این مسئله یک عامل بازدارنده در امر پرورش این ماهی می باشد (پورغلام و نوروزی مقدم، 1374). یکی از عوامل موثر بر پایین بودن سرعت رشد، غذاگیری ضعیف ماهی در محیط اسارت است (Willoughby, 1999) که بنظر می رسد این مسئله در مورد این ماهی نیز صدق نماید. اگر چه برای بهبود رشد در این ماهی روشهایی چون تولید ماهیهای تریپلوئید یا هیبریدگیری این گونه با گونه های با سرعت رشد بالا مثل قزل آلاهی رنگین کمان انجام شده است، اما در موجودات تریپلوئید تنها در مرحله خاصی از زندگی به علت مصرف نشدن انرژی در جهت رشد و تکامل گناد سرعت رشد بالاتری نسبت به موجودات دیپلوئید وجود دارد (Benfy, 1999). در مورد ماهیان هیبرید نیز نتایج همیشه مطلوب نبوده و آگاهی از وضعیت نتاج مستلزم گذشت زمان زیادی می باشد.

لیکن یکی از شروط موفقیت در پرورش مصنوعی ماهیان توجه به تغذیه و نحوه غذاگیری در ماهیان می باشد. گرچه در حالت کلی آزاد ماهیان را در گروه ماهیان شکارچی وابسته به بینایی طبقه‌بندی نموده‌اند (Emde و همکاران، 2004) ولی هیچگاه نمی‌توان از نقش بویایی در زندگی این ماهیان بواسطه انجام فعایت‌های مختلفی از قبیل مهاجرت، رفتارهای تولید مثلی و

بهبود غذاگیری در ماهیان شناخت ترجیح بویایی آنها می‌باشد.

گیرنده های شیمیایی در شروع تغذیه فعال بچه ماهیان مهمتر از دیگر حواس می باشند. در این میان بویایی به جهت ردیابی غذا از فواصل دور مهمتر از دیگر گیرنده های شیمیایی می باشد (Boglione و همکاران 2003). بویایی مهمترین حس در دریافت محرکها از فواصل دور در ماهیان مختلف علی الخصوص ماهیان تغذیه کننده از کف بستر می باشد. مشخص گردیده است که سیستم بویایی ماهیها بطور معمول قادر به پاسخ دهی به حداقل چهار گروه از مواد محرک شامل:

1. اسیدهای آمینه (در زیر گروههای: اسیدی، خنثی و بازی با زنجیره های کوتاه و بلند)،
2. نمکهای صغراوی،
3. نوکلئوزیدها و
4. فرمونها (مواد استروئیدی).

اسیدهای آمینه از نظر ساختاری به دو دسته کلی L و D تقسیم می شوند که در آزمایشات متعدد قابلیت تحریک کنندگی بیشتر ایزومرهای نوع L نسبت به ایزومرهای نوع D و همچنین وجود ارتباط بین ساختار مولکولی اسیدهای آمینه و قدرت تحریک کنندگی آنها به اثبات رسیده است (Hara، 1973). استفاده از اسیدهای آمینه به عنوان محرک غذایی در تحقیقات مختلف مفید ذکر شده و بیان گردیده است که اسیدهای آمینه در ترکیب با یکدیگر از قابلیت بالاتری در جذب ماهی ها برخوردار می باشند (Polat و Beklevik، 1977). در مزارع پرورشی، برخی از گونه های ماهیان تمایل پایینی نسبت به جذب مواد غذایی فرموله شده از خود بروز می دهند که رشد پایین، افزایش FCR، وجود ضایعات بالای غذایی و نهایتا افزایش بار آلودگی در محیط پرورش از نتایج آن می باشد. افزودن مواد محرک و یا جاذب غذایی می تواند باعث تحریک این گونه ماهیان به فعالیت بیشتر جهت جستجوی غذا به میزان مناسب گردد (Yacoob و Browman 2007؛ Polat و Beklevik، 1997). متأسفانه عدم شناخت کافی از سیستم بویایی و چشایی و کم بودن اطلاعات در مورد ترجیحات غذایی ماهی آزاد باعث ناتوانی در تصمیم گیری در انتخاب ترکیب یا ترکیبات محرک غذایی مناسب جهت افزودن به فرمول غذای این ماهی ارزشمند گردیده است.

مواد و روشها

در این آزمایش برای شناسایی ترجیح بویایی ماهی آزاد (3n) در سن یک سالگی از بیست نوع اسید آمینه استفاده گردید. 20 نوع اسید آمینه ساخت شرکت MERCK شامل: تریپتوفان، آلانین، والین، ایزولوسین، آسپارژین، متیونین، گلوتامیک اسید، آرژینین، سرین، سیستئین، تیروزین، آسپارتیک اسید، فنیل آلانین، لیزین، لوسین، ترئونین، هیستیدین، گلیسین، پرولین و گلوتامین که همگی از نوع ایزومر L بودند. به عنوان شاهد مثبت از عصاره غذای مصرف شده در کارگاه که ماهیها به آن خو گرفته بودند و برای شاهد صفر از آب اکواریوم استفاده شد. ماهیها پس از انتقال از محل پرورش به آزمایشگاه مدت 14 روز جهت سازگار شدن (Barnard, 2006) با محیط جدید در تانکهای مخصوص نگهداری شدند. پس از این مدت جهت مطالعه ترجیح بویایی در دسته های 10 تایی بصورت تصادفی از جمعیت کل گرفته می شدند و به آرامی در آکواریوم 100 لیتری قرار می گرفتند.

آکواریوم مورد استفاده در این تحقیق متناسب با اندازه ماهیان مورد آزمایش در ابعاد 70×45×40 سانتی متر ساخته شد و بوسیله دو عدد شیلنگ مخصوص که در وسط دو دیواره کوچک (هر کدام به یک دیواره) بوسیله چسب آکواریوم اتصال داده شدند، با ظروف پلاستیکی 1 لیتری تجهیز گردید. هر کدام از اسیدهای آمینه در غلظت 0/001 M (Yacoob و Browman, 2007) در آزمایشی مجزا از یک سمت آکواریوم در ارتفاع میانی آب به داخل آن تزریق گردید. آستانه تحریک برای اسیدهای آمینه محرک در آزاد ماهیان در حدود 10^{-7} و 10^{-8} مولار می باشد (Hara و همکاران 1973). در هنگام تزریق اسید آمینه به آکواریوم از سمت دیگر، آبی با شرایط آب آکواریوم به عنوان شاهد منفی به درون آن تزریق شد (Kasumyan و Devitsina, 1997). ماهیها پس از قرار گرفتن در آکواریوم مورد نظر به مدت 15 دقیقه به حال خود رها شده تا از حالت استرس و آشفتهگی خارج شده، سپس به مدت سه دقیقه در محیطی آرام و بدور از تنش در معرض هر کدام از اسیدهای آمینه قرار گرفته و در این مدت حرکات و رفتار آنها مورد سنجش قرار

گرفت (Valentincic و همکاران، 1999). در آزمون کیفی شدت و میزان بروز واکنشهای ماهیها ثبت و بر حسب شدت واکنش به آنها امتیازدهی شد. در آزمون شاهد واکنش عادی ماهیان در تمام قسمتهای آکواریوم دیده شده و رفتار خاصی مبنی بر بروز رفتارهای جستجوی غذا در آنها مشاهده نگردید، درمورد سنجش اسیدهای آمینه امتیاز 0 برای محلولهای با خاصیت دفع کنندگی یا خنثی، امتیاز 1 برای اسیدهای آمینه با خاصیت جذب کنندگی بسیار کم (بروز حرکات در 0 تا 30٪ ماهیها)، امتیاز 2 برای اسیدهای آمینه با خاصیت جذب کنندگی متوسط (30 تا 60٪ ماهیها) و امتیاز 3 برای اسیدهای آمینه با خاصیت جذب کنندگی بالا (بیش از 60٪) (Kasumyan و Devitsina، 1997). ماهیها پس از انجام آزمون از جمعیت اولیه جدا گردیده تا حساسیت آنها نسبت به بوی اسید آمینه از بین نرود.

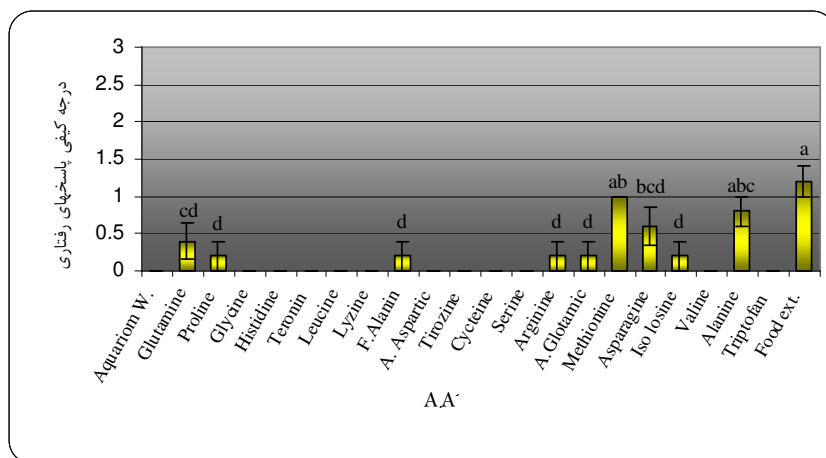
ماهیها در طول دوره انجام تحقیقات بصورت نیمه گرسنه نگهداشته می شدند تا تمایل به جذب غذا و واکنش نسبت به اسیدهای آمینه در آنها باقی بماند. آزمایش هر اسید آمینه در 5 تکرار صورت پذیرفت و نهایتاً بر اساس مشاهدات و محاسبات انجام شده شدت تمایل به اسیدهای آمینه مختلف مشخص گردید. محاسبات آماری این تحقیق به روش مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون ANOVA انجام پذیرفت.

نتایج

مشاهده رفتار ماهیها قبل از انتشار محلولهای شاهد و اسیدهای آمینه در آکواریوم بیانگر وجود شنای آرام در سرتاسر طول آکواریوم و ستون آب بود. در برخی موارد حرکت به سطح و کناره ها در آنها مشاهده شد. با انتشار محلول شاهد صفر نیز تغییری در این رفتارها مشاهده نگردید.

براساس آزمایشات کیفی انجام شده با اضافه شدن اسیدهای آمینه متیونین بچه ماهیان رفتارهای تغذیه ای درجه یک از خود نشان دادند، به گونه ای که در 0 تا 30 درصد از آنها در محدوده انتشار رفتارهایی همچون جستجو در کف یا شنای سریع و دایره وار و یا دهان زدن به محل خروجی اسید آمینه مشاهده گردید. در زمان افزودن اسیدهای آمینه تریپتوفان، گلوتامین،

پرولین، فنیل آلانین، آرژینین، گلوتامیک اسید، آسپارژین، ایزولوسین و آلانین شدت واکنشها بسیار ضعیف و قابل چشم پوشی بود. با وارد شدن عصاره غذای کارگاهی به آکواریوم بچه ماهیان، رفتارهای تغذیه ای درجه اول از خود بروز دادند، در حالیکه در زمان اضافه کردن اسیدهای آمینه گلیسین، هیستیدین، ترئونین، لوسین، لیزین، آسپارتیک اسید، تیروزین، سیستئین، سرین، والین و تریپتوفان همچون آب آکواریوم هیچگونه رفتار تغذیه ای در ماهیان مشاهده نگردید.



مقایسه کیفی پاسخهای رفتاری بچه ماهیان آزاد، به محلول اسیدآمینه در مقیاس چهار درجه ای (ستون های فاقد حروف لاتین مشترک دارای اختلاف معنی داری در سطح 99٪ هستند).

بحث

حساسیت بالای سیستم بویایی در اغلب ماهیان، که نقش مهمی در فرآیندهای حیاتی زندگی این موجودات دارد، و مجموعه رفتارهایی که موجود در معرض عوامل مختلف [تحت تاثیر این حس] بروز می دهد، این اندام را به موضوعی جالب برای مطالعه تبدیل نموده است (Eckart و همکاران، 2003). مطالعات بسیار زیادی در این زمینه صورت پذیرفته و هر کدام به نوعی به تشریح این گیرنده شیمیایی پرداخته اند و مشخص گردیده است که قدرت بویایی در ماهیان نیز بسیار متنوع بوده و وابسته به نحوه تغذیه و اکولوژی محیط زیست موجود می باشد (Emde و همکاران، 2004). Valentincic و همکاران، (1999) مهمترین واکنشهای رفتاری بچه ماهیان آزاد را حرکات رفتاری مثل تجمع در محدوده حاوی اسید آمینه، حرکت دوار و جستجو گرانه در محدوده تزریق

اسید آمینه و حرکت به سمت محل خروج اسید آمینه بیان نموده اند. از میان 20 اسید آمینه مورد آزمایش با در نظر گرفتن فاکتورهای کیفی مشخص گردید متیونین از بیشترین جذابیت (واکنشهای درجه یک) برخوردار بود، که این نتایج در مقایسه با گونه قزل آلی رنگین کمان (Hara, 1973) هم از نظر تعداد مواد محرک و هم از نظر شدت تحریک در میزان کمتری قرار دارد. عصاره غذا در آزمایشات کیفی از جاذبههای غذایی درجه یک معرفی گردید. همچنین در این تحقیق هیچیک از اسیدهای آمینه دارای تاثیر معنی دار منفی نسبت به نمونه شاهد نبودند. با توجه به این نتایج و با مقایسه این ماهیان با گونه های دیگر همچون کپور ماهیان (Rolen و همکاران، 2003) و گربه ماهیان (Suzuki و Tucker، 1971؛ Little، 1977) به وابستگی کمتر آزاد ماهیان به سیستم بویایی در بروز رفتارهای تغذیه ای و محدودیت گیرندگی بویایی در این گونه ها نسبت به دیگر گونه ها پی برده می شود، بنظر می رسد در گونه مورد آزمایش علی رغم قابلیت های اثبات شده در مورد سیستم بویایی، در جستجوی غذا موجود اتکای کمتری به بویایی داشته و محرک های دیگری مثل بینایی اثر مهمتری دارند اما به هر جهت شناسایی ترجیحات بویایی موجود، می تواند به بهتر مصرف شدن غذا منجر گردد. نتایج بدست آمده در این تحقیق از نظر تعداد پاسخها همخوانی چندانی با مطالعات انجام شده بر روی بچه ماهیان قزل آلی قهوه ای (پاسخ دهی به 5 اسید آمینه از 15 اسید آمینه) توسط Mearns (1986) ندارد.

1. پورغلام، ر.، نوروزی مقدم، ح.، 1374: دورگه گیری از ماهی قزل آلاى رنگین کمان و ماهی آزاد دریای خزر، مجله علمی شیلات ایران، 4: 45-49.
2. **Barnard, P. 2006:** gustatory and olfactory feeding responses in Japanese koi carp (*Cyprinus carpio*), stellenbosch Publisher P. 67
3. **Benfy, T. J. 1999:** The physiology and behavior of triploid fishes, Reviews in Fisheries Science, 7(1): 39-67.
4. **Boglione, C., Giganti, M., Selmo, C., Cataudella, S. 2003:** Morphoecology in larval fin fish for aquaculture *Diplodus puntazzo* (sparidae), Aquaculture International, 11: 17-41.
5. **Doving, K. B. 2003:** The fish olfactory system: its role in normal biology and in toxicological research, Fish physiology, Toxicology and water quality, 48: 149-158
6. **Eckart, Z., Kasumyan, A., Bartsch, P., Hanssen, A. 2003:** Early development of the olfactory organ in sturgeons of the genus *Acipenser*: a comparative and electron microscopic study, Anatomy and Embryology, 206: 357-372.
7. **Edward, E. L. 1977:** Conditioned aversion to amino acid flavors in the Catfish, *Ictalurus punctatus*, Physiology and Behavior, 19(6): 743-747.
8. **Emde, G, V, D., Mogdans, J., Kapoor, B, G. 2004:** The senses of fish: Adaptations of the reception of natural stimuli, Narosa publisher. P. 377.
9. **Hara, T. j. 1973:** Olfactory responses to amino acids in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comparative Biochemistry and Physiology, A, 44(2): 407-416
10. **Hara, T. j., Carolina Law, Y. M., Hobden, B. R. 1973:** Comparison of the olfactory response to amino acids in rainbow trout, brook trout and

- whitefish, *Comparative Biochemistry and Physiology*, A, 45(4): 969-970.
11. **Kasumyan, A. O., Devitsina, G. V. 1997:** The effect of olfactory deprivation on chemosensory sensitivity and the state of taste receptors of Acipenserids, *Ichthyology*, 37: 786-798.
 12. **Laberge, F., Hara, T, J. 2004:** Electrophysiological demonstration of independent olfactory receptor types and associated neuronal responses in the trout olfactory bulb, *Comparative Biochemistry and Physiology*: 137(A): 397-408
 13. **Mearns, K. J. 1986:** Sensivity of brown trout (*Salmo trutta* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry to amino acids at the start of exogenous feeding. *Aquaculture*, 55: 191-200.
 14. **Polat, A., Beklevik, G. 1997:** The importance of betaine and some attractive substances as fish feed additives, *CIHEAM – Options Mediterraneennes*, 217-220.
 15. **Rolen, S, H., Sorensen, P,W., Mattson, D., Caprio, J. 2003:** Polyamines as olfactory stimuli in the goldfish *Carassius auratus*, *Experimental Biology*, 206: 1683-1696
 16. **Suzuki, N., Tucker, D. 1971:** Amino acids as olfactory stimuli in fresh-water catfish, *Ictalurus catus* (Linn.), *Comparative Biochemistry and Physiology* (A),40(2): 399-404
 17. **Valentincic, T., Lamb, C. F., Caprio, J. 1999:** Expression of a reflex biting/ snapping response to amino acids prior to first exogenous feeding in Salmonid Alevins, *Physiology and Behavior*, 67(4): 567-572.
 18. **Willoughby, S. 1999:** Manual of salmonid farming. Blackwell Science Publisher. London. PP. 329.

19. **Yacoob, S. Y., Browman, H. I. 2007:** Olfactory and gustatory sensitivity to some feed-related chemicals in the Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), *Aquaculture*, 263: 303-309.

The effect of using different amino acid as olfactory stimulated in triploid salmon food ratio for improvement of food intake process

M. Naghdi; B. Abtahi; M. Kalbasi

Tarbiat modares University, Faculty of Natural resources and Marine sciences, Fisheries Dept.

Abstract

With regard importance olfactory senses in stimulating feeding behavior of different fish species, feeding responses of one year triploid Caspian trout were analyzed in this research when olfactory sense was stimulated with different amino acids solution. For this purpose fish were exposed to 0.001 M of twenty amino acid solutions in 50*45*75 cm³ aquarium for 3 minutes and behavioral responses of them were investigated. Results of twenty different amino acid tests on fish olfactory sense showed food searching behavior when methionine was added to aquarium water. Regarding to obtained results, using the most effecting amino acid in triploid Caspian trout food ratio as was tested in this research can result in more stimulation of fish to food consumption and decreasing of culture environment contamination.

Key word: olfactory responses, amino acid, Caspian trout (*Salmo trutta caspius*), triploid