تاثیر سطوح مختلف مکمل غذایی اسید آراشیدونیک بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی گورخری (*Danio rerio*)

علیرضا خیابانی*[۱و۲]، عبدالصمد کرامت[۲]، حسین اورجی[۲]، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی[۲]، همایون حسین‌زاده صحافی[۳]

*khiabani@uast.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- گروه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه جامع علمی کاربردی، تهران، ایران
۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

چکیده

اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع (LC-PUFA)، همچون اسید آراشیدونیک (C20:4n-6) نقش حیاتی در کنترل و تنظیم عملکرد رشد، متابولیسم چربی‌ها، عملکرد غشای سلولی و عملکرد سیستم ایمنی ماهیان دارند. این پژوهش به منظور تولید ماهیان مقاوم و با کیفیت‌تر ماهی گورخری با استفاده از مکمل غذایی اسید آراشیدونیک جهت رسیدن به نرخ رشد و بازماندگی مطلوب‌تر صورت گرفت. برای این منظور، پنج جیره آزمایشی با سطوح مختلف اسید آراشیدونیک، شامل مقادیر صفر(کنترل)، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد به کل اسید چرب جیره ترکیب شدند. ماهیان نورس گورخری (۲۰ روزه) پنج مرتبه در روز به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. شاخص‌های رشد طول و وزن در این مدت ثبت شد. اگر چه پس از دوره، تیمارها در شاخص‌های رشد (طول و وزن) تفاوت معنی‌داری داشتند، اما در نرخ بازماندگی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشان داد، افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره (تا سطح ۲ درصد از چربی کل)، بیشترین میزان وزن نهایی (۰/۰۱±۰/۳۸ گرم)، افزایش وزن بدن (۰/۱۶±۰/۳۲)، درصد افزایش وزن بدن (۲۸/۴۴±۶۱۳/۴۲)، درصد رشد روزانه (۰/۰۲±۰/۴۶)، نرخ رشد ویژه (۰/۰۱±۱/۳۹) و کمترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۳±۱/۱۲) را به نسبت سایر تیمارها بدنبال داشت. لذا، نتایج نشان داد اسید آراشیدونیک بر شاخص‌های رشد ماهی گورخری تأثیر معنی‌داری دارد.

لغات کلیدی: اسید آراشیدونیک، اسید چرب ضروری، ماهی گورخری، شاخص‌های رشد

*نویسنده مسئول

مقدمه

ظهور ماهی گورخری (*Danio rerio*) در طول چند دهه گذشته به عنوان یک مدل آزمایشگاهی برجسته، در میان محققان علوم مختلف بخوبی تثبیت شده است (Santoriello and Zon, 2012). این ماهی در سنوات اخیر به عنوان مدل زیستی جهت آنالیز سریع عملکرد ژن‌ها و فعالیت‌های بیولوژیک مولکول‌های آلی مطرح شده است (Zon and Peterson, 2005). به سبب شباهت‌های بالای ژنتیکی، فیزیولوژیک و فارماکولوژیک با انسان، این ماهی جهت تشخیص مواد طبیعی با پتانسیل‌های درمانی مختلف، بسیار مناسب بنظر می‌رسد. عمده دلایل اولیه‌ای که سبب گسترش این مدل شده است شامل: اندازه کوچک لارو و جنین مورد آزمایش (۵-۱ میلی‌متر با توجه به مراحل رشد)، سرعت رشد، قدرت باروری بالای ماهیان بالغ، شفافیت جنین و لارو این ماهی (سهولت در مشاهده اندام‌ها و اعضای داخلی بدن ماهی زبرا) و دسترسی آسان به این ماهی که امکان ردگیری اثرات مختلف ترکیبات مورد آزمایش را امکان‌پذیر می‌سازد (Crawford *et al*., 2008; GRC, 2011). این ماهی از جمله مهره‌دارانی است که از سهام ژنومی بالا، همسانی پروتئوم و از نظر متابولیک با سایر مهره‌داران شامل ۸۰ درصد همولوژی با ژنوم انسان برخوردار است (Lieschke and Currie, 2007) که بر اهمیت استفاده از آن در پژوهش‌های نوین می‌افزاید. از منظر تاریخی، توسعه رویکردها برای مدیریت و پرورش این ماهیان به عنوان یک گونه زینتی بسیار پیش‌تر از پژوهش‌های امروزی علوم زیست‌فناوری آغاز شده است (Lawrence, 2011). در ابتدا این ماهی به عنوان یک گونه زینتی که گاهی نیز در آزمایشگاه مورد مطالعه قرار می‌گرفت، کاربرد داشت (Laale, 1977) و در حال حاضر، این گونه به عنوان یک مکمل همیشگی یا حتی جایگزین مناسبی برای موش‌ها و سایر پستانداران آزمایشگاهی مبدل شده است. گسترش استفاده از این ماهی آب شیرین در تحقیقات زیستی سبب شده است که تا مجموعه‌ای از پیشرفت‌های حوزه فن‌آوری و ابزارهای مولکولی مورد نیاز جهت مطالعه آن به خوبی میسر شود (خیابانی، ۱۳۹۸). یکی از راهکارهای تولید ماهیان مقاوم‌تر و با کیفیت‌تر، استفاده از افزودنی‌ها و مکمل‌های غذایی است و امروزه در صنعت آبزی پروری برای افزایش رشد، بهبود سلامت و افزایش مقاومت آبزیان در برابر بیماری‌ها، استفاده از آنها برای ارتقاء سطح رشد و ایمنی ماهی‌ها متداول گردیده است (Ringø *et al*., 2012). کمبود اسیدهای چرب ضروری در رژیم غذایی ماهیان منجر به بروز علائمی می‌شود که اغلب با کاهش رشد و افزایش نرخ تلفات همراه است (Glencross, 2009). علاوه بر آن، کمبود اسیدهای چرب ضروری باید در جیره غذایی ماهیان بنوعی تأمین شود تا نیازهای غذایی آنان را برطرف سازد. کمبود اسیدهای چرب ضروری در جیره غذایی ماهیان سبب کاهش شاخص‌های رشد، افزایش محتوای آب عضلات، افزایش محتوای چربی کبد (کبد چرب[1])، کاهش بازده تغذیه، کاهش توان تولیدمثل، پوسیدگی باله، خون‌ریزی آبشش‌ها، آماس میتوکندریایی، آماس دریچه قلب[2]، انحنای ستون فقرات[3] و کاهش میزان هموگلوبین خون می‌شود (Smith *et al*., 2004; Glencross, 2009). فقط برخی اسیدهای چرب بلند زنجیره می‌توانند از بروز این علائم کمبود جلوگیری کنند و سطح مواد مغذی ضروری مورد نیاز را مرتفع سازند. بنابراین، آنها به عنوان اسید چرب ضروری طبقه‌بندی می‌شوند (Tocher, 2010). از سوی دیگر، خوراک‌های تجاری مورد استفاده در آبزی‌پروری، یکی از گران‌قیمت‌ترین خوراک‌های حیوانات در بازار محسوب می‌شود. تولید این خوراک‌ها بویژه برای گونه‌های گوشتخوار، بستگی به استفاده از مقادیر قابل توجهی از روغن ماهی دارد. روغن ماهی، اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع (LC-PUFA)، فسفولیپیدها و کلسترول مورد نیاز ماهیان را تأمین می‌کند. علاوه بر نگرانی‌های اکولوژیک و اخلاقی استفاده از روغن ماهی در آبزی‌پروری که بواسطه صید بی‌رویه آبزیان تامین کننده روغن ماهی ایجاد می‌شود (Naylor *et al*., 2000)، یک مشکل اقتصادی فزاینده در رابطه با افزایش هزینه تولید غذا و در

1- Pale/swollen and fatty liver
2- Myocarditis
3- Lordosis

دسترس بودن روغن ماهی مرغوب وجود دارد (Coutteau *et al*., 2002). در نتیجه، تولیدکنندگان غذای کنسانتره ماهی اغلب اقدام به حذف یا کاهش مصرف روغن ماهی در ترکیب جیره تولیدی می‌کنند تا قیمت تمام شده محصول را کاهش دهند. فارغ از ضرورت انجام اقدامات لازم برای کاهش وابستگی به استفاده از روغن ماهی در آبزی‌پروری، ضرورت توجه به حذف نقش روغن ماهی و استفاده از اسیدهای چرب ضروری بیش از پیش احساس می‌شود (Tocher, 2010). تولید ماهیان زینتی، مانند سایر بخش‌های آبزی پروری، بشدت بر کیفیت و کمیت تولید تخم، تخم‌گشایی، هماوری و بقای لاروها بستگی داشته و در مورد احتیاجات غذایی اکثر گونه‌های ماهیان زینتی، دانش کمی وجود دارد. در حال حاضر، تولید جیره‌های غذایی مصنوعی (تجاری)، عمدتاً براساس مطالعات محدود انجام شده بر برخی گونه‌های شاخص تجاری و پر تولید انجام می‌شود که اغلب به مؤلفه‌های ظاهری غذا همچون دانه‌بندی، شناوری، رطوبت، طعم و استقامت در برابر آب توجه شده است تا مسائل کیفی ماده غذایی (Ohs *et al*., 2013). از سوی دیگر، مزارع پرورش ماهیان زینتی با مجموعه‌ای از نیازهای غذایی مختلف مواجه هستند و استفاده از غذاهای تجاری تخصصی چندان مقرون به صرفه نیست. زیرا اکثر کارخانجات تولید غذای ماهیان زینتی، جیره‌های سفارشی را در مقادیر کمتر از یک تن تولید نمی‌کنند (Pandey, 2013). در گذشته توجه کمتری به اهمیت استفاده از اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع در رژیم غذایی بویژه اسید آراشیدونیک (ARA; C20:4n-6) می‌شد، زیرا اسید آراشیدونیک در سنوات گذشته، تنها در مقادیر کم در ماهیان آب سرد و مناطق معتدله یافت می‌شد، ولی اکنون تولید تجاری آن به طرق مختلف همچون بهره‌برداری به روش فن‌آوری زیست مولکولی از نوعی قارچ پست به نام *Mortierella alpine* صورت می‌گیرد (Zhu *et al*., 2004). استفاده از اسید آراشیدونیک، باب جدیدی در صنعت پرورش ماهی و علم تغذیه آبزیان باز نموده است (Norberg *et al*., 2017). به طور کلی، سطحی از اسید آراشیدونیک برای استفاده در جیره‌های ماهیان پرورشی وجود دارد که ممکن است کافی نباشد و مقادیر بالاتر یا پایین‌تر از این سطح، موجب عدم بهره‌وری مناسب در عملکرد رشد و بقاء آنها می‌شود (Furuita *et al*., 2003). لذا، هدف از انجام این پژوهش تعیین سطح اسید آراشیدونیک مطلوب برای بهبود شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی گورخری به عنوان یک گونه مدل می‌باشد.

مواد و روش کار

تهیه ماهی گورخری

بچه ماهیان گورخری مورد استفاده در این پژوهش، در اردیبهشت ۱۳۹۸ از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان زینتی موج سبز تهران تهیه شد. بر اساس توصیه مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهی گورخری (William *et al*., 2016)، بچه‌ماهیان نورس شده، تا روز پنجم پس از تخم‌گشایی (تفریخ) در ظروف شیشه‌ای پتری‌دیش (جهت جذب کیسه زرده) نگهداری شدند. سپس تا روز دهم پس از تخم‌گشایی، به یک استخر سیمانی (به حجم ۵۰۰۰ لیتر) حاوی آب سبز (در محیط گلخانه‌ای)، جهت وزن‌گیری و تغذیه منتقل گردیدند. با اتمام روز دهم از تخم‌گشایی، ماهیان نورس برای مدت ۵ روز به یک مخزن پلی‌اتیلنی (با گنجایش ۱۰۰۰ لیتر آب) منتقل گردیده و بتدریج با ترکیبی از غذاهای زنده (شامل آب سبز، روتیفر و آرتمیا) تغذیه شدند. از روز شانزدهم تا روز بیستم پس از تخم‌گشایی، غذای پیش‌آغازین ماهی قزل‌آلا (محصول شرکت فرادانه ایران؛ با کد SFT000، با ابعاد ۰/۵ تا ۰/۳ میلی‌متر) به عنوان غذای پایه این آزمایش، به صورت کاملاً پودر شده (بوسیله دستگاه خردکن)، پس از الک شدن (و توزین و محاسبه خاکه آن از جیره کل)، در دسترس بچه ماهیان قرار گرفت (جدول ۱). بدین ترتیب، از تراکم غذای زنده و افزایش آن در مخزن بتدریج کاسته شده و جیره غذایی خشک جایگزین آن شد.

جدول ۱: فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب مخازن پرورشی در طی مدت آزمایش
Table 1: Physicochemical factors of water reservoirs during the test period

شاخص فیزیکوشیمیایی آب مخازن	انحراف معیار ± میانگین در تیمارهای مختلف					p value (sig)
	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (۱٪)	T_3 (۲٪)	T_4 (۴٪)	
دما (درجه سانتی‌گراد)	۲۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۲۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۲۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۲۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۲۷/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰
pH	۷/۱ ± ۰/۰۶	۷/۲ ± ۰/۱۰	۷/۲ ± ۰/۰۶	۷/۲ ± ۰/۰۶	۷/۲ ± ۰/۰۶	۰/۳۶
اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	۷/۴۳ ± ۰/۰۶	۷/۴۳ ± ۰/۰۶	۷/۳۶ ± ۰/۰۶	۷/۳۶ ± ۰/۰۶	۷/۴۳ ± ۰/۰۶	۰/۳۶
هدایت الکتریکی (میکروموس بر سانتی‌متر)	۵۰۰ ± ۱/۰۰	۵۰۰ ± ۱/۰۰	۵۰۰ ± ۱/۰۰	۵۰۰ ± ۲/۰۰	۵۰۰ ± ۱/۰۰	۱/۰
آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر)	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰
نیتریت (میلی‌گرم در لیتر)	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰
نیترات (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۸ ± ۰/۲۹	۰/۸ ± ۰/۲۹	۰/۸ ± ۰/۲۹	۰/۸ ± ۰/۲۹	۰/۸ ± ۰/۲۹	۱/۰۰

مخازن آزمایش

بچه‌ماهیان ۲۰ روزه، جهت انجام این آزمایش، به ۱۵ آکواریوم (با ابعاد برابر و گنجایش حجم ۱۰۰ لیتر) منتقل شدند. هر آکواریوم به بخاری ترموستات‌دار (ساخت شرکت Roxin، کشور چین)، سنگ هوا، سیستم ورود و خروج آب و سیستم نوردهی مرکزی (لامپ فلورسنت سقفی) مجهز گردیدند و آب‌گیری مخازن با استفاده از عبور سیستم مکانیزه تنظیم سختی آب، انجام شد. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش سنجش و ثبت شد (جدول ۱). بر این اساس دمای آب در طول دوره پرورش، به کمک بخاری ترموستات‌دار در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و به صورت روزانه، توسط دماسنج جیوه‌ای میزان آن کنترل شد. نوردهی مخازن به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی انجام شد. روزانه ۱۰ درصد آب در ساعت ۲۰:۰۰ از بستر مخازن سیفون گردید و جایگزینی آب اتلاف شده، توسط آب هم‌دما صورت گرفت. هدایت الکتریکی آب به صورت روزانه بوسیله دستگاه کنترل کل مواد جامد محلول (ساخت شرکت آب‌سان پالایش، کشور ایران)، خوانش شد، pH با پی‌اچ‌متر دیجیتال و میزان آمونیاک، نیتریت و نیترات آب نیز به طور روزانه توسط کیت‌های مربوطه (ساخت شرکت Macherey Nagel، کشور آلمان) سنجش و ثبت شد.

تهیه جیره‌های آزمایشی

برای تهیه جیره‌های آزمایشی، غذای پایه با با مقادیر ۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد اسید آراشیدونیک (روغن ۳۵ درصد آراشیدونیک، با نام تجاری *Vedovar* محصول شرکت DSM[1]، کشور هلند) به نسبت چربی کل جیره، آغشته و بخوبی مخلوط و همگن گردید. برای این منظور روغن مورد نظر، جهت فرموله کردن جیره در دوزهای مورد نظر به همراه مقداری آب به جیره پایه افزوده شد تا ترکیب حاصل به صورت خمیر آماده شود. در ادامه خمیرهای حاصل شده با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن به خوبی همگن گردید و از چرخ گوشت با اندازه چشمه ۲ میلی‌متر عبور داده شدند. رشته‌های خمیر ایجاد شده، پس از خشک شدن در فضای باز با دستگاه آسیاب خانگی، خرد و یکدست گردیدند. جهت اطمینان از اثرگذاری اسید آراشیدونیک افزوده شده به غذای پایه، پروفیل اسید چرب جیره‌ها اخذ گردیده و نتایج سطح اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع، در جدول ۲ درج شد.

1- DSM Nutrition Products

جدول ۲: آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی جیره پایه مورد استفاده در این آزمایش

Table 2: Approximate analysis of the chemical composition of the base diet used in this experiment

ترکیب شیمیایی غذای پایه	آنالیز تقریبی (درصد)	آنالیز اعلامی شرکت سازنده (درصد)
ماده خشک	۸۶/۸	۹۵-۸۹
پروتئین خام (برحسب درصد وزن خشک)	۵۱/۵	۵۴-۵۰
چربی خام (برحسب درصد وزن خشک)	۱۱/۵	۱۱-۱۵
خاکستر	۱۳	۹-۱۳

هر یک از تیمارهای غذایی بترتیب با اسامی C (تیمار کنترل: فاقد آراشیدونیک افزوده)، T_1 (تیمار یک: حاوی نیم درصد آراشیدونیک افزوده)، T_2 (تیمار دو: حاوی یک درصد آراشیدونیک افزوده)، T_3 (تیمار سه: حاوی دو درصد آراشیدونیک افزوده) و T_4 (تیمار چهار: حاوی چهار درصد آراشیدونیک افزوده) نام‌گذاری و تا زمان مصرف، درون ظروف پلاستیکی درب‌دار، در فریزر با دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

طرح آزمایش

از خرداد ۱۳۹۸، شمارش، توزین، بیومتری و توزیع ماهی‌ها (۳۰ قطعه در هر مخزن) آغاز شد. بر این اساس، تعداد ۴۵۰ قطعه بچه ماهی گورخری (با وزن متوسط ۰/۰۵۳ گرم و طول متوسط ۰/۴ میلی‌متر) با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در ۱۵ مخزن توزیع شد و مخازن جهت تغذیه با جیره‌های آزمایشی مورد نظر (با سه تکرار) شماره‌گذاری گردید. تغذیه تیمارهای مورد نظر به روش دستی، تا حد سیری ماهیان طی ۵ وعده در روز (در ساعات ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۶ و ۱۸) به مدت ۱۰ هفته (۷۰ روز) صورت گرفت. آمار تلفات و خروج ماهیان مرده از مخازن به صورت روزانه ثبت و انجام گردید. زیست‌سنجی ماهیان در روزهای یک، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ (هر ۱۴ روز یکبار)، با ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ گرم، ساخت شرکت Scale MH، کشور چین) و کولیس دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شد (شکل‌های ۱ و ۲). شاخص‌های رشد و بقاء با استفاده از رابطه‌های ذیل محاسبه شد (Burrells *et al*., 2001; Portz *et al*., 2001):

رابطه ۱: ۱۰۰× تعداد اولیه ماهیان/ تعداد ماهیان باقی‌مانده = (SR) درصد بقا[1]

رابطه ۲: میانگین وزن اولیه(گرم) - میانگین وزن ثانویه(گرم) = (WG) افزایش وزن بدن[2]

رابطه ۳: ۱۰۰ × وزن اولیه(گرم) / وزن اولیه(گرم) - وزن ثانویه(گرم) = (WGP) درصد افزایش وزن بدن[3]

رابطه ۴: ۱۰۰× تعداد روزهای پرورش/ (تفاوت وزن اولیه و ثانویه(گرم) = (DGR) درصد رشد روزانه[4]

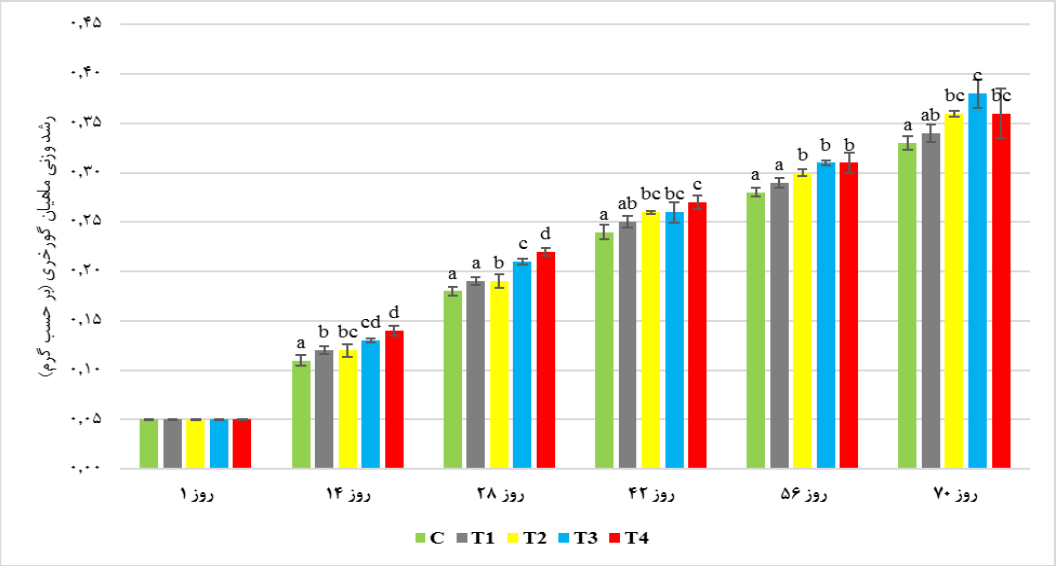
رابطه ۵: ۱۰۰ × ^{3}(طول کل بر حسب میلی‌متر) / وزن ثانویه (گرم) = (K) شاخص وضعیت[5]

رابطه ۶: ۱۰۰ × (دوره پرورش به روز / (Ln W2 – Ln W1) = (SGR) نرخ رشد ویژه[6]

رابطه ۷: میانگین طول کل اولیه - میانگین طول کل ثانویه(میلی‌متر) = (TLG) افزایش طول کل بدن[7]

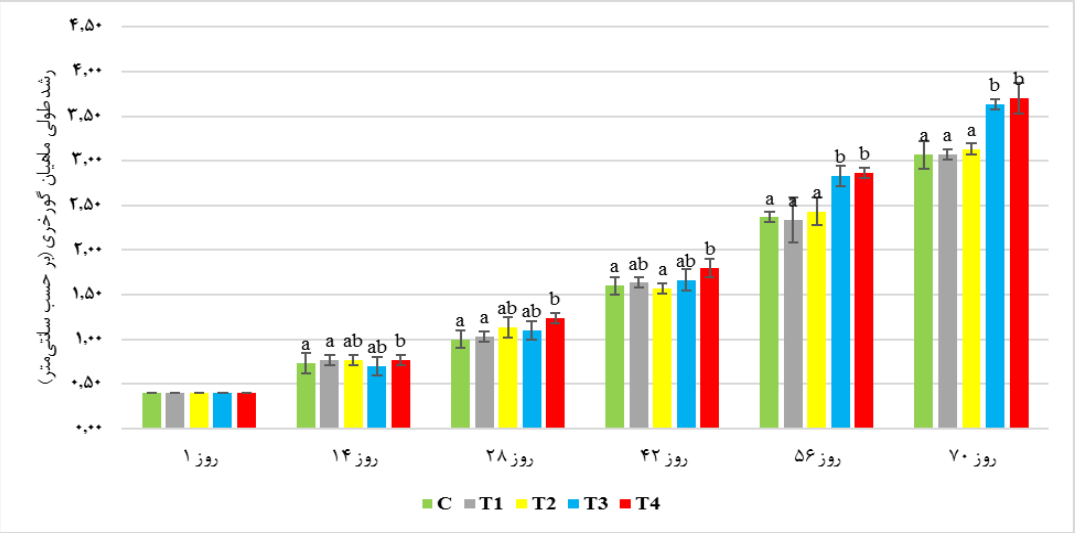
رابطه ۸: افزایش وزن بدن(گرم) / مقدار غذای خورده شده(گرم) = (FCR) ضریب تبدیل غذایی[8]

1 - Survival Rate (SR)
2- Weight Gain (WG)
3- Weight Gain Percent (WGP)
4- Daily Growth Rate (DGR)
5- Condition Factor (CF, K)
6- Specific Growth Rate (SGR)
7- Total Length Gain (TLG)
8- Feed Conversion Ratio (FCR)



شکل ۱: روند تغییرات وزنی ماهیان تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ آزمایش

Figure 1: The Trend of weight changes of fish in different treatments on days 1, 14, 28, 42, 56 and 70 trials



شکل ۲: روند تغییرات طول کل ماهیان تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ آزمایش

Figure 1: The Trend of total length changes of fish in different treatments on days 1, 14, 28, 42, 56 and 70 trials

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. برای یکنواختی واریانس و توزیع نرمال داده‌ها، بترتیب از آزمون‌های تک متغیره لون و آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

طی ۷۰ روز تغذیه با سطوح مختلف اسید آراشیدونیک، در نرخ تلفات اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). با بررسی شاخص‌های رشد مشخص شد، ماهیان تیمار $T_۳$ دارای بالاترین میزان وزن نهایی (۰/۰۱±۰/۳۸ گرم)، افزایش وزن بدن (۰/۱۶±۰/۳۲ گرم)، درصد افزایش وزن بدن (۲۸/۴۴±۶۱۳/۴۲)، درصد رشد

روزانه (۰/۴۶±۰/۰۲)، نرخ رشد ویژه (۱/۳۹±۰/۰۱)، بودند. همچنین در ماهیان تیمار کنترل (C)، کم‌ترین میزان فاکتورهای وزن نهایی (۰/۳۲±۰/۰۰ گرم)، افزایش وزن بدن (۰/۲۷±۰/۰۰ گرم)، درصد افزایش وزن بدن (۵۱۸/۶۴±۱۸/۸۲)، درصد رشد روزانه (۰/۳۹±۰/۰۱) و نرخ رشد ویژه (۱/۳۳±۰/۰۱) در آن‌ها مشاهده گردید و پس از گروه کنترل، ماهیان تیمار T_1، از کم‌ترین میزان فاکتورهای وزن نهایی (۰/۳۴±۰/۰۰ گرم)، افزایش وزن بدن (۰/۲۹±۰/۰۰ گرم)، درصد افزایش وزن بدن (۵۱۸/۰۴±۱۵/۱۴)، درصد رشد روزانه (۰/۴۱±۰/۰۱) و نرخ رشد ویژه (۱/۳۵±۰/۰۰) برخوردار شدند (جداول ۳ و ۴).

جدول ۳: ترکیب کلی اسید چرب غذای پایه (کنترل) و سایر جیره‌های آزمایشی

Table 3: Overall composition of basic fatty acid profile (control) and other diets

نوع اسید چرب	انحراف معیار ± میانگین در تیمارهای مختلف					p value
غذا (٪)	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (۱٪)	T_3 (۲٪)	T_4 (۴٪)	(sig)
C20:4 n6 (ARA)	۰/۴۹ ± ۰/۰۱ ^{a}	۱/۱۹ ± ۰/۰۱ ^{b}	۱/۶۷ ± ۰/۰۱ ^{c}	۲/۴۱ ± ۰/۰۱ ^{d}	۴/۷۰ ± ۰/۰۱ ^{e}	۰/۰۰
C22:6 n3 (DHA)	۷/۵۲ ± ۰/۰۰ ^{e}	۷/۲۸ ± ۰/۰۰ ^{d}	۷/۱۱ ± ۰/۰۰ ^{b}	۷/۱۹ ± ۰/۰۱ ^{c}	۶/۶۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰
C20:5 n3 (EPA)	۳/۰۸ ± ۰/۰۱ ^{b}	۳/۲۵ ± ۰/۰۱ ^{d}	۳/۱۷ ± ۰/۰۱ ^{c}	۳/۰۸ ± ۰/۰۱ ^{b}	۲/۹۸ ± ۰/۰۱ ^{a}	۰/۰۰
∑ LC-PUFA	۱۱/۰۹ ± ۰/۰۲ ^{a}	۱۱/۷۲ ± ۰/۰۲ ^{b}	۱۱/۹۵ ± ۰/۰۰ ^{c}	۱۲/۶۸ ± ۰/۰۱ ^{d}	۱۴/۲۷ ± ۰/۰۲ ^{e}	۰/۰۰

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

Different letters of each row indicate statistically significant difference at the level of five-hundredths (p<0.05)

جدول ۴: میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی در ماهیان گورخری در تیمارهای مختلف حاوی اسید آراشیدونیک

Table 4: Average of survival and growth indices of Zebrafish in different treatments containing Arachidonic acid

شاخص	انحراف معیار ± میانگین در تیمارهای مختلف					p value
	C (٪ ۰)	T_1 (٪ ۰/۵)	T_2 (۱٪)	T_3 (۲٪)	T_4 (۴٪)	(sig)
وزن اولیه (گرم)	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۵ ± ۰/۰۰	۰/۰۰
طول کل اولیه (سانتی‌متر)	۰/۴ ± ۰/۰۰	۰/۴ ± ۰/۰۰	۰/۴ ± ۰/۰۰	۰/۴ ± ۰/۰۰	۰/۴ ± ۰/۰۰	۰/۰۰
وزن نهایی (گرم)	۰/۳۲ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۳۴ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۰/۳۵ ± ۰/۰۰ ^{bc}	۰/۳۸ ± ۰/۰۱ ^{c}	۰/۳۵ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۰۱
طول کل ثانویه (سانتی‌متر)	۳/۰۷ ± ۰/۱۵ ^{a}	۳/۰۷ ± ۰/۰۶ ^{a}	۳/۱۳ ± ۰/۰۶ ^{a}	۳/۶۳ ± ۰/۰۶ ^{b}	۳/۷۰ ± ۰/۱۷ ^{b}	۰/۰۰
افزایش وزن (WG) گرم	۰/۲۷ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۲۹ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۰/۳۰ ± ۰/۰۰ ^{bc}	۰/۳۲ ± ۰/۱۶ ^{c}	۰/۳۰ ± ۰/۰۲ ^{bc}	۰/۰۱
درصد افزایش وزن (WGP)	۵۱۸/۶۴ ± ۱۸/۸۲ ^{a}	۵۱۸/۰۴ ± ۱۵/۱۴ ^{ab}	۵۷۳/۴ ± ۶/۳۹ ^{bc}	۶۱۳/۴۲ ± ۲۸/۴۴ ^{c}	۵۷۴/۵۹ ± ۴۷/۴۵ ^{bc}	۰/۰۱
درصد افزایش طول کل (TLG)	۶۶۶/۶۷ ± ۰/۱۵ ^{a}	۶۶۶/۶۷ ± ۰/۰۶ ^{a}	۶۸۳/۳۳ ± ۰/۰۶ ^{a}	۸۰۸/۳۳ ± ۰/۰۶ ^{b}	۸۲۵/۰۰ ± ۰/۱۷ ^{b}	۰/۰۰
درصد رشد روزانه (DGR)	۰/۳۹ ± ۰/۰۱ ^{a}	۰/۴۱ ± ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۴۳ ± ۰/۰۰ ^{bc}	۰/۴۶ ± ۰/۰۲ ^{c}	۰/۴۳ ± ۰/۰۳ ^{bc}	۰/۰۱
نرخ رشد ویژه (SGR)	۱/۳۳ ± ۰/۰۱ ^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۰ ^{ab}	۱/۳۷ ± ۰/۰۰ ^{bc}	۱/۳۹ ± ۰/۰۱ ^{c}	۱/۳۷ ± ۰/۲۴ ^{bc}	۰/۰۱
شاخص وضعیت (K)	۱/۱۵ ± ۰/۲ ^{a}	۱/۱۹ ± ۰/۰۴ ^{a}	۱/۱۷ ± ۰/۰۷ ^{a}	۰/۷۹ ± ۰/۰۴ ^{b}	۰/۷۲ ± ۰/۱۱ ^{b}	۰/۰۱
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۱/۱۵ ± ۰/۲ ^{a}	۱/۱۹ ± ۰/۰۴ ^{a}	۱/۱۷ ± ۰/۰۷ ^{a}	۰/۷۹ ± ۰/۰۴ ^{b}	۰/۷۲ ± ۰/۱۱ ^{b}	۰/۰۱

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

Different letters of each row indicate statistically significant difference at the level of five-hundredths (p<0.05)

بیش‌ترین میزان طول کل نهایی (طول کل بدن) در تیمار T_4 (۳/۷۰±۰/۱۷ میلی‌متر) و کم‌ترین مقدار آن در ماهیان تیمار T_1 (۳/۰۷±۰/۰۶ میلی‌متر) ثبت گردید. بالاترین درصد افزایش طول کل نهایی در ماهیان تیمار T_4 (۸۲۵/۰۰±۰/۱۷) و کم‌ترین مقدار آن در ماهیان تیمار T_1 (۶۶۶/۶۷±۰/۰۶) ثبت گردید (p<۰/۰۵). نتایج حاصل

از این آزمایش نشان داد، افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره غذایی، در شاخص وضعیت تیمارها، با روند کاهشی همراه بوده است. بر این اساس بالاترین نرخ شاخص وضعیت در ماهیان تیمار T_1 (۱/۱۹±۰/۰۷) و کم‌ترین نرخ شاخص وضعیت در تیمار T_4 (۰/۷۲±۰/۱۱) ثبت شد. کم‌ترین شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمار T_3 (۱/۱۲±۰/۰۳) و بیش‌ترین آن در ماهیان تیمار C (۱/۳۳±۰/۰۶) و پس از آن در ماهیان تیمار T_1 (۱/۲۶±۰/۰۶) ثبت شد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد، طی ۷۰ روز تغذیه با سطوح مختلف اسید آراشیدونیک افزوده شده به جیره، مشخص شد افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره غذایی، در نرخ بقا (تلفات) اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها ایجاد نکرده است ($p>0/05$). این موضوع در بسیاری از پژوهش‌های مشابه نیز نتایج مشابهی به همراه داشته است. برای مثال، در پژوهش Bransden و همکاران (۲۰۰۴) سطوح مختلف ۱/۳۳، ۳/۵۷، ۶/۲۱، ۸/۲۱ و ۱۱/۲۲ میلی‌گرم اسید آراشیدونیک در هر گرم غذا، اختلاف معنی‌دار آماری در نرخ بقاء ماهی *Latris lineata* ایجاد نکرد. همچنین در پژوهش Alves Martins و همکاران (۲۰۱۲)، سطوح مختلف اسید آراشیدونیک جیره (شامل مقادیر ۰/۴، ۰/۸، ۱/۵ و ۳ درصد به کل جیره) تفاوت معنی‌دار آماری در نرخ بقاء ماهی *Sparus aurata* نشان نداد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد، افزایش سطح اسید آراشیدونیک جیره غذایی، موجب ارتقاء و بهبود رشد وزنی و طولی ماهیان دانیوی گورخری و متعاقباً شاخص‌های متأثر از آن (WG، WGP، TLG، DGR و SGR) شده است. این موضوع در بسیاری از پژوهش‌های مشابه نیز دارای نتایج مشابهی بود. برای مثال، Bae و همکاران (۲۰۱۰) استفاده از مکمل غذایی اسید آراشیدونیک را برای رشد مطلوب‌تر مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) بسیار ضروری دانستند و اعلام کردند نرخ رشد با افزایش مقادیر آراشیدونیک جیره افزایش دارد و بیشترین نرخ رشد وزنی در تیمار ۴/۸۹ درصد مشاهده شد. Masoudi Asil و همکاران (۲۰۱۷) بهترین نرخ رشد ماهیان گورامی سه‌خال (*Trichopodus trichopterus*) را در گروه‌های حاوی ۲/۱۲ و ۱/۶ درصد آراشیدونیک مصرفی گزارش کردند، آنها نتیجه‌گیری کردند که به رغم توانایی احتمالی ماهیان آب شیرین در سنتز و برآورده کردن نیازهای اسیدهای چرب بسیار اشباع نشده خود، ARA رژیم غذایی بالاتر از سطح ۱/۰۵، دارای اثرات تحریک آمیز قابل توجهی در رشد ماهیان نوجوان است. Kolb و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی اثر سطوح مختلف اسید آراشیدونیک (شامل ۰/۴۸، ۱/۰۳ و ۰/۸۵ درصد از کل اسید چرب غذا) بر ماهی گورخری اعلام کردند، سطوح مختلف ARA رژیم غذایی دریافتی بر نرخ رشد لارو و ماهیان بالغ تأثیر می‌گذارد. استفاده از رژیم‌های غذایی متشکل از سطوح بالاتر اسید آراشیدونیک، به ماهیان امکان افزایش رشد وزنی و تولید لاروهای سالم‌تر را می‌دهد. بر خلاف پژوهش‌های مذکور، برخی پژوهش‌ها از آثار منفی یا بی‌تأثیر بودن افزایش سطح آراشیدونیک جیره بر ماهیان خبر دادند. برای مثال، Zheng و همکاران (۱۹۹۶) در ماهی کاد اقیانوس اطلس (*Gadus morhua*)، Furuita و همکاران (۱۹۹۸) در مورد ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و Ishizaki و همکاران (۱۹۹۸) در ماهی دم‌زرد (*Seriola quinqueradiata*) اعلام کردند نرخ بالاتر اسید آراشیدونیک بر شاخص‌های رشد اثر منفی دارد. علاوه بر آن، Fountoulaki و همکاران (۲۰۰۳) تأثیر دو سطح بسیار متفاوت از اسید آراشیدونیک رژیم غذایی (شامل ۰/۲ و ۱۱/۲ درصد از کل اسیدهای چرب جیره) را بر شاخص‌های رشد *Sparus aurata* انگشت‌قد بررسی و گزارش کردند. جیره‌های غذایی مذکور در این بازه سنی ماهیان (۵۴ روزه)، تفاوت آماری معنی‌داری در شاخص‌های رشد ایجاد نکرد. Bransden و همکاران (۲۰۰۴) سطوح ۱/۳۳، ۳/۵۷، ۶/۲۱، ۸/۲۱ و ۱۱/۲۲ میلی‌گرم اسید آراشیدونیک در هر گرم غذا، بر ماهی *Latris lineata* به مدت ۲۳ روز بررسی نمودند و اعلام کردند، مدت زمان تیماردهی و دوزهای تعیین شده، در فاکتورهای رشد اختلاف معنی‌دار آماری ندارد. همچنین بنظر می‌رسد این ماهیان به مقادیر کمتری از ARA نیاز

دارند. Adam و همکاران (۲۰۱۷) با دو سطح از اسید آراشیدونیک (۱/۸۷ و ۲۰/۶۶ درصد از کل اسید چرب غذا) از روز ۲۷ تا روز ۹۰ پس از تخم‌گشایی، ماهیان گورخری را تغذیه نمودند. آنها اختلاف وزنی کمی در ماهیان گورخری گروه‌های مختلف مشاهده کردند و دریافتند رژیم غذایی بسیار غنی از ARA سبب تغییر در لیپیدهای پیچیده، ایکوزانوئیدهای مرتبط با سیستم ایمنی، افزایش سطح اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای آمینه لاشه می‌شود و استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش می‌دهد. به همین علت شاخص‌های رشد در سطوح بالاتر اسید آراشیدونیک نتیجه مثبتی بهمراه ندارد. Lie و همکاران (۲۰۱۶) یافته مشابهی در این خصوص داشتند، آنها در سطوح بالای اسید آراشیدونیک جیره که با ویتامین A نیز همراه بود، کمترین رشد طولی را در ماهیان کاد اقیانوس اطلس گزارش کردند. این مطالعات نشان می‌دهد، پارامترهای رشد با افزایش مکمل آراشیدونیک جیره تا سطح مورد نیاز، افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد و بدن به تعادل می‌رسد. در واقع، مقدار بهینه اسید آراشیدونیک در رژیم غذایی برای رشد، توسعه و بقاء ماهیان لازم است، اما مصرف بیش از حد آن دارای اثرات منفی بر آنهاست که احتمالاً از طریق مکانیسم تولید ایکوزانوئیدها عمل می‌کند (Bae *et al*., 2010). بنابراین، بنظر می‌رسد، میزان دریافت یک اسید چرب، بر سطح اسید چرب دیگر اثر می‌گذارد که بارزترین نمونه آن در اسید آراشیدونیک و EPA رخ می‌دهد که رقبای مستقیمی در بسیاری از سطوح عملکرد سلولی می‌باشند. بنابراین، سطح نهایی نیاز به هر اسید چربی در ماهیان، نه تنها به رژیم غذایی بستگی دارد، بلکه به توانایی ژنتیکی متابولیسم آن اسید چرب نیز وابسته است. به همین دلیل، احتیاجات غذایی اسیدهای چرب برای گونه‌های مختلف ماهی می‌تواند به طور قابل توجهی متناسب با گونه، فصل، دما، مرحله رشد، شرایط پرورش، چرخه تولیدمثل، ترکیب رژیم غذایی و قابلیت هضم لیپیدها متفاوت باشد (National Research Council, 1993). با این حال، مقادیر کم اما مهم اسیدهای چرب ضروری جیره، نقش منحصربفردی در کنترل و تنظیم متابولیسم سلولی و فیزیولوژی ماهیان دارند (Schmitz and Ecker, 2008). بنابراین، از یافته‌های مذکور چنین بنظر می‌رسد، مجموعه‌ای از عوامل در اثرگذاری اسید آراشیدونیک در بهبود شاخص‌های رشد ماهی نقش داشته باشند و مقادیر بالاتر یا پایین‌تر از آن در جیره توصیه نمی‌شود. لذا، با عنایت به مطالعات مذکور و نتایج حاصله در این پژوهش، می‌توان اظهار کرد استفاده از مکمل غذایی اسید آراشیدونیک سبب ایجاد تاثیرات مثبتی بر عملکرد رشد ماهی گورخری در تیمارهای مختلف شده است. به نظر می‌رسد استفاده از مقایر ۲ درصد اسید آراشیدونیک افزوده به نسبت چربی کل جیره (تیمار T_3) به نسبت سایر تیمارهای این آزمایش، اثرات مطلوب‌تری بر شاخص‌های رشد وزنی، طولی و ضریب تبدیل غذایی ماهی گورخری داشته است، زیرا در این سطح از مکمل دریافتی، ماهیان دارای بیشترین نرخ رشد وزنی (۰/۰۱±۰/۳۸ گرم) بودند. همچنین در نرخ رشد طولی، با توجه به عدم معنی‌دار بودن نتیجه حاصله از این تیمار (۰/۰۶±۳/۶۳ میلی‌متر) با ماهیان تیمار T_4 (۰/۱۷±۳/۷۰ میلی‌متر)، می‌توان اظهار کرد، این تیمار با توجه به غلظت مصرفی کمتر اسید آراشیدونیک، کارایی بهتری در این خصوص داشته است. تیمار T_3 بهترین ضریب تبدیل غذایی (۱/۰±۱۲/۰۳) را نیز در میان سایر تیمارها بخود اختصاص داده است. بدیهی است با عنایت به اختلاف دو برابری غلظت اسید آراشیدونیک مصرفی، با تیمارهای بعد و قبل خود، تعیین غلظت بهینه برای بهبود فاکتورهای رشد ماهی گورخری، نیاز به مطالعات تکمیلی دیگری خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مدیر محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان زینتی موج سبز تهران (مهندس آرش استقلالیان) و سایر همکاران معزز آن مجموعه، به واسطه فراهم آوردن بستر لازم برای انجام این پژوهش، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌نمایند.

منابع

خیابانی، ع.، ۱۳۹۸. مروری بر اصول اخلاقی و فنی کار با ماهی گورخری به‌عنوان یک گونه مدل زیستی در مطالعات علوم پزشکی. اخلاق و تاریخ پزشکی. ۱۲(۱) :۵۸-۷۲.

Adam, A.C., Lie, K.K., Moren, M. and Skjærven, K.H., 2017. High dietary arachidonic acid levels induce changes in complex lipids and immune-related eicosanoids and increase levels of oxidised metabolites in zebrafish (*Danio rerio*). *British Journal of Nutrition*. Cambridge University Press; 117(8): 1075–1085. Doi: 10.1017/S0007114517000903.

Alves Martins D., Rocha F., Martínez-Rodríguez G., Bell G., Morais S., Castanheira F., Bandarra N., Coutinho J., Yúfera M. and Conceição L.E.C., 2012. Teleost fish larvae adapt to dietary arachidonic acid supply through modulation of the expression of lipid metabolism and stress response genes. *British Journal of Nutrition*. Cambridge University Press. 108(5): 864–874. Doi:10.1017/S0007114511006143

Bae J., Kim D., Yoo K., Kim S., Lee J. and Bai S., 2010. Effects of Dietary Arachidonic Acid (20:4n-6) Levels on Growth Performance and Fatty Acid Composition of Juvenile Eel, *Anguilla japonica*. *Asian-Australas J Anim Sci*, 23(4): 508-514. Doi: 10.5713/ajas.2010.90491

Bransden, M.P., Cobcroft, J.M., Battaglene, S.C., Dunstan, G.A., Nichols, P.D. and Bell, J.G., 2004. Dietary arachidonic acid alters tissue fatty acid profile, whole body eicosanoid production and resistance to hypersaline challenge in larvae of the temperate marine fish, striped trumpeter (*Latris lineata*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30: 241–256. Doi:10.1007/s10695-005-8245-4

Burrells, C., Williams, P.D. and Forno, P.F., 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds −1. Effects on resistance to disease in salmonids. *Aquaculture*, 199: 159–169. Doi: 10.1016/S0044-8486(01)00577-4

Coutteau, P., Ceulamans, S., VanHalteren, A. and Robles, R., 2002. Fish meal and fish oil in Aquafeeds-how narrow is the bottleneck for marine fish. *X International Symposium of Nutrition and Feed in Fish*. 1-7 June 2002, Rhodes, Greece. Poster 38.

Crawford, A.D., Esguerra, C.V. and Witte, P.A.M., 2008. Fishing for drugs from nature: zebrafish as a technology platform for natural product discovery. *Planta Medica*. 74: 624–632. Doi: 10.1055/s-2008-1034374

Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I. and Venou, B., 2003. Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 225: 309-323. Doi: 10.1016/S0044-8486(03)00298-9

Furuita, H., Takeuchi, T. and Uematsu, K., 1998. Effect of Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder, Paralichthys olivaceus. *Aquaculture*, 161: 269–279. Doi: 10.1016/S0044-8486(97)00275-5.

Furuita, H., Yamamoto, T., Shima, N. and Takeuchi, T., 2003. Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder Paralichthys olivaceus. *Aquaculture*, 220: 725–735. Doi: 10.1016/S0044-8486(02)00617-8

Glencross, B.E., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1, 71-124. Doi: 10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x

GRC (Genome Reference Consortium), 2011. Human, Mouse, Zebra fish: Genome Assemblies. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/as sembly/grc.

Ishizaki, Y., Takeuchi, T., Watanabe, T., Arimoto, M. and Shimizu, K., 1998. A preliminary experiment of the effect of Artemia enriched with arachidonic acid on survival and growth of yellowtail. *Fisheries Science*, 64: 295–299. Doi: 10.2331/fishsci.64.295.

Kolb, A., Hildebrandt, F. and Lawrence, C., 2018. Effects of Diet and Social Housing on Reproductive Success in Adult Zebrafish, Danio rerio. Zebrafish. 15(5): 445-453. Doi: 10.1089/zeb.2018.1599.

Laale, H.W., 1977. Biology and use of zebrafish, *Brachydanio rerio* in fisheries research - literature-review. *Journal of Fish Biology*, 10(2): 121. Doi: 10.1111/j.1095-8649.1977.tb04049.x

Lawrence, C., 2011. Advances in zebrafish husbandry and management. *Methods in Cell Biology*, 104, 429e451. Doi: 10.1016/B978-0-12-374814-0.00023-9.

Lie, K.K., Kvalheim, K., Rasinger, J.D., Harboe, T., Nordgreen, A. and Moren, M., 2016. Vitamin A and arachidonic acid altered the skeletal mineralization in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae without any interactions on the transcriptional level. *Comp Biochem Phys A*, 191: 80–8.
Doi: 10.1016/j.cbpa.2015.10.011.

Lieschke, G.J. and Currie, P.D., 2007. Animal models of human disease: zebra fish swim into view, *Nature Reviews Genetics*, 8: 353–367. Doi: 10.1038/nrg2091

Masoudi Asil, Sh., Abedian Kenari, A., Rahimi Mianji, Gh. and Glen Van der K., 2017. The influence of dietary arachidonic acid on growth, reproductive performance, and fatty acid composition of ovary, egg and larvae in an anabantid model fish, Blue gourami (*Trichopodus trichopterus*; Pallas, 1770). *Aquaculture*, 476. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.03.048

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. Washington, DC, National Academy Press. 114 P.

Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. and Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies.

Science: Research and Development, 2: 104. Doi:10.4172/2155-9910.1000104

Santoriello, C. and Zon, L.I. 2012. Hooked! modeling human disease in zebrafish. *Journal of Clinical Investigation*. DOI:10.1172/JCI60434

Schmitz, G. and Ecker, J., 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Progress in Lipid Research*, 47: 147–155. Doi: 10.1016/j.plipres.2007.12.004

Smith, D.M., Hunter, B.J., Allan G.L., Roberts, D.C.K., Booth, M.A. and Glencross, B.D., 2004. Essential fatty acids in the diet of silver perch (*Biandus biandus*): effect of linolenic and linoleic acid on growth and survival. *Aquaculture*, 14: 1-4.
Doi: 10.1113/expphysiol.1983.sp002714

Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41: 717–732. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x

William, D. H., Westerfield, M. and Zon, L., **2016.** Methods in Cell Biology, the Zebrafish: Genetics, Genomics, and Transcriptomics. *Academic Press*, Vol. 135.

Zheng, F., Takeuchi, T., Yoseda, K., Kobayashi, M., Hirokawa, J. and Watanabe, T., 1996. Requirement of larval cod for arachidonic acid, Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using by their enriched *Artemia nauplii*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 62: 669–676. Doi: 10.2331/suisan.62.669.

Zhu, M., Yu, L.J., Liu, Z. and Xu, H.B., 2004. Isolating *Mortierella alpina* Strains

Nature, 405: 1017-1024. Doi:10.1038/35016500

Norberg, B., Kleppe, L., Andersson, E., Thorsen, A., Rosenlund, G. and Hamre, K., 2017. Effects of dietary arachidonic acid on the reproductive physiology of female Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *General and Comparative Endocrinology*, 250: 21–35.
Doi: 10.1016/j.ygcen.2017.05.020

Ohs, C.L., DiMaggio, M.A., Grabe, S.W., Broach, J.S., Watson, C.A., Breen, N.E. and Barrows, F.T., 2013. Effects of Increasing Docosahexaenoic Acid (DHA) and Arachidonic Acid (ARA) in Brood Diets of *Monodactylus sebae* on Fecundity, Egg and Larval Quality, and Egg Fatty Acid Composition. *North American Journal of Aquaculture*, 75: 285–294. Doi: 10.1080/15222055.2012.746248

Pandey, G., 2013. Feed formulation and feeding technology for Fishes. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(3): 23-30.
Doi: 10.7897/2230-8407.04306

Portz, L., Cyrino, J.E.P. and Martino, R.C., 2001. Growth and body composition of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in response to dietary protein and energy levels. *Aquaculture Nutrition*, 7(4): 247-254. Doi: 10.1046/j.1365-2095.2001.00182.x

Ringø, E., Olsen, R.E., Vecino, J.L.G., Wadsworth, S. and Song, S.K., 2012. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: a review. *Journal of Marine*

Zon, L.I. and Peterson, R.T., 2005. In vivo drug discovery in the Zebra fish. *Natural Review Drug Discovery*, 4: 35 – 44 Doi:10.1038/nrd1606

of High Yield of Arachidonic Acid, Lett. *Applied Microbiology*, 39: 332–335. Doi: 10.1111/j.1472-765X.2004.01581.x

Influence of different levels of dietary Arachidonic Acid Supplementation on growth parameters and survival of Zebrafish (*Danio rerio*)

Khiabani A.R.[1,2*]; Keramat A.S.[1]; Orji H.[1]; Esmaili Fereidouni A.[1], Hosseinzadeh Sahafi H.[3]

[*]khiabani@uast.ac.ir

1-Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran

2-Department of Agriculture and Natural Resources, University of Applied Science and Technology, Tehran

3-Iranian Fisheries Sciences Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO) Tehran, Iran

Abstract:

Long-chain polyunsaturated fatty acids (such as Arachidonic acid, ARA, C20:4 n-6) have unique roles in controlling and regulating growth performance, lipid metabolism, cell membrane fluidity, and immune function in fish. This research was conducted to produce higher quality and resistant zebrafish using arachidonic acid diet to achieve the best growth and survival rate. Five experimental groups were established and fed diets with different levels of ARA corresponding to 0 (control), 0.5, 1, 2 and 4% of total fatty acid. Zebrafish larvae (20-days post-fertilization) were fed ad libitum 5 times daily for 10 weeks. Both weight and length were recorded to determine growth indices. Although there were significant differences in general growth demographics (length/weight) after the 10-week feeding trial, no significant differences in the overall survival rate of Zebrafish. Increase in dietary Arachidonic acid (up to 2%), maximum final weight (0.38 ± 0/01 g), body weight gain (0.32±0/16), body weight gain percent (613.42 ± 28/44), daily growth rate (0.46 ± 0/02) and the lowest feed conversion ratio (2.24 ± 0/05) were higher than other treatments. The results show that ARA has a significant influence on the growth factors of Zebrafish.

Key Words: Arachidonic acid, Essential fatty acid, Zebrafish, Growth factors

[*]Corresponding author