اثر مجزا و توأم گرسنگی دوره‌ای و مکمل ال- کارنیتین بر شاخصه‌های بیوشیمیایی و ایمنی غیراختصاصی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*, Houttyn, 1782)

پریا اکبری* و ناصر شهرکی

چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۲۸

چکیده

مطالعه حاضر بمنظور بررسی اثر گرسنگی دوره‌ای و مکمل ال- کارنیتین بر شاخصه‌های بیوشیمیایی (پروتئین کل، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید پلاسما و گلیکوژن کبد) ایمنی غیراختصاصی (فعالیت لیزوزیم پلاسما) ماهی شانک زرد باله طراحی گردید. در این تحقیق، ۲۴۰ ماهی با میانگین وزنی ۳/۲۳±۰/۴۶ گرم بصورت تصادفی در ۴ گروه ۶۰ تایی (با سه تکرار و در هر تکرار ۲۰ قطعه ماهی) در مخازن پلاستیکی ۶۰ لیتری قرارگرفتند. دو گروه بصورت روزانه تغذیه‌شده و دو گروه دیگر بعد از هر هفت روز محرومیت غذایی بمدت ۲ هفته مورد تغذیه قرار گرفتند. همچنین دوگروه از هر رژیم غذایی فوق، با ۸۰۰ میلی‌گرم ال‌کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی تغذیه شدند در حالیکه دو گروه دیگر تنها با غذای دستی تغذیه گردیدند. گرسنگی دوره‌ای منجر به کاهش معنی‌دار میزان پروتئین کل، کلسترول و گلوکز و افزایش معنی‌دار میزان گلیکوژن کبد، تری‌گلیسرید و فعالیت لیزوزیم پلاسما گردید ($P<0/05$). در حالیکه ال- کارنیتین، تأثیر معنی‌داری بر میزان گلیکوژن کبد، گلوکز پلاسما و فعالیت لیزوزیم پلاسما در بین گروه‌ها نداشت. اثر توأم ال- کارنیتین و گرسنگی دوره‌ای بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی و فعالیت لیزوزیم معنی‌دار نبود. رژیم غذایی حاوی ال- کارنیتین منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما در هر دو رژیم غذایی گردید. با توجه به نتایج حاضر می‌توان بیان نمود که در رژیم غذایی حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی منجر به افزایش متابولیسم چربی و ذخیره پروتئین در ماهی شانک زرد باله شد.

واژه های کلیدی: گرسنگی، ال- کارنیتین، کلسترول، تری‌گلیسرید، لیزوزیم، ماهی شانک زرد باله

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۳۱۲۷۲۳۴۰ ، پست الکترونیکی: paria.akbary@gmail.com

مقدمه

کارنیتین با فرمول شیمیایی $NO_3H_{15}C_7$ بصورت محلول در آب و دارای وزن مولکولی ۱۶۲/۲ می‌باشد. مهمترین نقش ال- کارنیتین، متابولیسم چربی و انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره به داخل میتوکندری است. ال- کارنیتین با همراهی کردن اسیدهای چرب فعال (آسیل کوآنزیم آ) جهت انتقال به داخل ماتریکس میتوکندری نقش مهمی در تولید انرژی دارد. جیره غذایی ماهی در مقایسه با سایر حیوانات پرورشی به پروتئین بیشتری نیاز دارد زیرا پروتئین بجای مصرف جهت رشد، برای تولید انرژی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. از طرفی بخش اقلام پروتئینی جیره هزینه زیادی داشته بنابراین صرفه‌جویی در مصرف پروتئین برای تولید انرژی اهمیت دارد. لذا ال- کارنیتین با اکسیداسیون چربی که منجر به تولید انرژی زیادی می‌گردد سبب صرفه‌جویی در مصرف پروتئین جهت تولید انرژی می‌شود (۱۸، ۲۶، ۳۷). در طول دو دهه اخیر مطالعات متعددی در خصوص تأثیر رژیم غذایی حاوی ال- کارنیتین بر روی گونه‌های مختلف ماهیها از قبیل باس راه‌راه هیبرید (*Morone chrysops*× *M.saxatilis*)(۴۱)، فیل‌ماهی (*Huso*

huso)(۲۹) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۲۳) انجام‌شده است اما اکثر این مطالعات به بررسی اثر ال- کارنیتین بر روی شاخصه‌های رشد، بقاء و کارایی تبدیل غذا پرداخته‌اند. اخیراً مطالعاتی در زمینه اثر ال- کارنیتین بر روی پاسخ‌های بیوشیمیایی و ایمنی صورت گرفته است (۲۹، ۳۳، ۳۵).

رشد اقتصادی و تغذیه جمعیت روبه تزاید و کیفیت برتر پروتئین آبزیان، صید در دریاها را چنان توسعه بخشیده است که کاهش گونه‌های متعددی از آبزیان ارزشمند ازجمله ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) در خلیج‌فارس را همراه داشته است بنابراین توجه و دستیابی بطول دوره محرومیت غذایی بمنظور بهینه‌سازی استراتژی تغذیه و رشد جبرانی، همچنین استفاده از ال- کارنیتین بمنظور صرفه‌جویی از پروتئین به‌عنوان منبع انرژی در مزارع پرورش ماهی حائز اهمیت است (۲۴، ۶).

گونه‌های مختلف ماهیان، از طریق تنظیم مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک خود می‌توانند دوره محرومیت غذایی را در شرایط محیطی نامناسب تحمل نمایند (۱، ۸، ۳۹). در ماهیانی که ذخیره چربی زیادی نداشته باشند میزان پروتئین ماهیچه سفید در طول گرسنگی کاهش پیدا می‌کند (۱۲). گروه دیگری از ماهیان ذخیره پروتئین را حفظ کرده و بیشتر از چربی و یا گلیکوژن برای تأمین انرژی استفاده می‌کنند. معمولاً افزایش گلوکز و انسولین، منجر به مهار لیپولیز چربی‌ها و درنتیجه منجر به کاهش سطح اسید چرب آزاد پلاسما می‌شود (۱۳). این موضوع بیشتر در حیواناتی که از رژیم غذایی حاوی کربوهیدرات بالا تغذیه می‌کنند اتفاق افتاده و در موقع محرومیت غذایی، بمنظور حفظ گلوکز خون در حد طبیعی، از گلیکوژن کبد استفاده می‌نماید (۱۳، ۲۸). بدنبال کاهش گلیکوژن کبد، ذخایر چربی برای کسب انرژی استفاده می‌شود (۲۸). لذا پاسخ-های فیزیولوژیکی و شیمیایی به تغذیه مجدد بستگی به شرایط محیطی، دوره محرومیت غذایی، گونه ماهی، اندازه جثه و تغذیه اولیه ماهی متفاوت است (۳۲،۳۰). اخیراً مطالعاتی در زمینه اثر گرسنگی بر شاخص‌های هماتولوژیکی در ماهی فیل‌ماهی (*Huso huso*)(۳۱)، بیوشیمیایی در ماهی گربه‌ماهی آفریقایی (*Rhamida quelen*) (۲)، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۱۸) و ماهی سوف جویباری ببری (*Scortum barcoo*) (۲۵)، ایمنی در ماهی باس دریایی (*Dicebtrarchus labrax*) (۹) و مارماهی اروپایی (*Anguilla Anguilla*) (۱۰) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ماهی قزل‌آلای جویباری (*Salmo trutta*) (۴)، قورباغه ماهی زرد (*Pseudosciaena crocea*) (۴۴) انجام‌شده است. اما تاکنون مطالعه‌های کمی در زمینه اثر گرسنگی روی شاخصهای بیوشیمیایی و هماتولوژیکی گونه‌های مختلف این خانواده صورت گرفته است. بعنوان مثال، اولین مطالعه در زمینه اثر گرسنگی کوتاه‌مدت و تغذیه مجدد بر روی پارامترهای هماتولوژیکی، بیوشیمیایی و ایمنی غیراختصاصی در شانک خط قرمز (*Pagrus pagrus*) توسط Caruso و همکاران (۸) انجام‌شده است.

ازآنجاکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر گرسنگی و ال- کارنیتین بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی غیراختصاصی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) صورت نگرفته لذا در این تحقیق به بررسی اثر گرسنگی و ال- کارنیتین بصورت مجزا و توأم بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی (پروتئین کل، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و گلیکوژن کبد) و ایمنی غیراختصاصی (فعالیت لیزوزیم) در این ماهی پرداخته‌شده است.

مواد و روشها

این تحقیق، در اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳ در انستیتو موسسه تحقیقات شیلات چابهار و با انتقال ۲۴۰ قطعه ماهی شانک زرد باله با میانگین وزنی ۳/۲۳±۰/۴۶ گرم از اسکله زمین واقع در ۵ کیلومتری بندر چابهار بوسیله صید گرگور توسط صیاد به محل آزمایش، انجام شد. پس از طی مرحله

سازگاری بمدت دو هفته و اطمینان از سلامتی ماهی‌ها، با تراکم ۲۰ قطعه به ۱۲ مخزن ۶۰ لیتری (چهار گروه با سه تکرار) منتقل شدند. در طول دوره، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه‌گیری شد. به‌طور میانگین در کل دوره شوری ۳۸±۰/۹۷ گرم بر لیتر، درجه حرارت آب ۲۸/۲±۰/۵درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۷/۰۱ ±۰/۸۷ میلی‌گرم بر لیتر و pH آب ۷/۸±۰/۴ بود. در طی دوره آزمایش دوره نوری بصورت ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی بود. بمنظور هوادهی و تأمین اکسیژن به هر یک از مخزن‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب گردید. پس از ۷ روز سازگاری با شرایط موجود، دو گروه بصورت روزانه در دو نوبت (۸ صبح و ۵ عصر) تغذیه شدند (بنام گروههای تغذیه‌شده) در حالیکه دو گروه دیگر بعد از هر ۷ روز محرومیت غذایی بمدت ۲ هفته تا پایان دوره آزمایش (۶۴ روز) تغذیه شدند (بنام گروههای تغذیه نشده دوره‌ای). یک گروه از هر رژیم غذایی (تغذیه‌شده و تغذیه نشده دوره‌ای) تنها با غذای کنسانتره (شرکت تعاونی تولیدی ۲۱ بیضاء، شیراز با میزان پروتئین ۴۸ درصد، چربی ۱۴ درصد، فیبر۱/۹ درصد و خاکستر جیره غذایی۱۰/۵۷ درصد) تغذیه شدند (تغذیه شده (۰) و تغذیه نشده دوره‌ای (۰). در حالیکه دو گروه دیگر از غذای کنسانتره حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم ال- کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی که بهمراه ۲۰ میلی‌لیتر آب‌بروی غذا اسپری شد، پس از خشک شدن استفاده نمودند (تغذیه شده (۸۰۰) تغذیه نشده دوره‌ای (۸۰۰)).

بمنظور تعیین شاخص‌های بیوشیمیایی (پروتئین کل، گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید و گلیکوژن کبد) و ایمنی غیراختصاصی (فعالیت لیزوزیم) در پایان دوره آزمایش (روز۶۴)، بصورت تصادفی از ۹ قطعه ماهی از هر گروه پس از بیهوشی با پودر گل‌میخک (۲گرم برلیتر) و قطع ساقه دمی خونگیری صورت گرفت و خون جمع‌آوری‌شده در میکروتیوبهای ۲ میلی‌لیتری آغشته به هپارین ریخته شد. سپس با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و پلاسمای آن جدا گردید و میکروتیوبهای ۲ میلی‌لیتر در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. همچنین بمنظور تعیین میزان گلیکوژن کبد، تعداد۹ قطعه ماهی از هر گروه را بصورت تصادفی انتخاب نموده و پس از کشتن، کبد آنها را بیرون آورده و در۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر و با استفاده از همزن هموژنیزه نموده سپس با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی را در میکروتیوبهای ۲ میلی‌لیتر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (۷)، تری گلیسرید توسط آنزیم لیپاز، گلیسرول کیناز و پر اکسیداز (۷)، گلوکز به روش واکنش پراکسیداز- اکسیداز گلوگز (۴۰)، پروتئین تام به روش بیوره (۴۲)، تری‌گلیسرید کبد براساس روش Bidinotto (۵)، آلانین آمینو ترانسفراز توسط آنزیم کلستریل استراز و اسپارتات آمینو ترانسفراز توسط آنزیم کلسترول اکسیداز (۱۱) توسط دستگاه اتوآنالایزر (PFP7 ساخت کشور انگلستان)، با استفاده از محلولها و استانداردهای مربوطه و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران) موردسنجش قرارگرفت.

سنجش میزان لیزوزیم پلاسما براساس روش توصیه‌شده توسط Ellis در سال ۱۹۹۰ صورت گرفت (۱۴). ابتدا ۱۷۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) (سیگما) (معادل مقدار ۰/۳۷۵ گرم بر لیتر بافر فسفات سدیم با ۰/۰۵ مولار و pH برابر ۶/۲) با میزان ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه مخلوط و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. میزان جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش اسپکتروفتومتری و در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید. سپس تفاوت جذب نوری بین اولین و دومین مرحله نورسنجی ثبت شد و نتایج حاصله برحسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی غیراختصاصی با استفاده از آزمون

تحلیل واریانس/کوواریانس تک متغیره (UNIANOVA) و آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت (P<۰/۰۵). برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 در محیط ویندوز XP استفاده گردید. با استفاده از تست کالموگراف اسمیرنوف نرمال بودن داده‌ها بررسی شد.

نتایج

میزان شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما و کبد ماهی شانک زرد باله تحت رژیم‌های تغذیه مختلف (تغذیه شده و تغذیه نشده دوره‌ای) و رژیم‌های غذایی آزمایشی (۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی) در پایان دوره آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. ال-کارنیتین منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین کل پلاسما و کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما در هر دو رژیم تغذیه مختلف (تغذیه شده و تغذیه نشده دوره‌ای) شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان پروتئین پلاسما در گروه تغذیه شده (۸۰۰) مشاهده شد. در حالیکه ال- کارنیتین تأثیر معنی‌داری بر گلیکوژن کبد و گلوکز پلاسما نداشت. گرسنگی منجر به افزایش معنی‌دار میزان گلیکوژن کبد و تری‌گلیسرید پلاسما و کاهش معنی‌دار میزان پروتئین کل و کلسترول گردید (P<۰/۰۵). در حالیکه اثر توأم گرسنگی و ال کارنیتین بر شاخص‌های بیوشیمیایی به‌استثنای کلسترول معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول۱- تغییرات میانگین (میانگین± خطای معیار) شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی شانک زرد باله تحت رژیم‌های تغذیه مختلف (گروه تغذیه شده و گروه تغذیه نشده دوره‌ای) و رژیم‌های غذایی آزمایشی (۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی) در پایان دوره آزمایش (n=۹)

	گروههای آزمایش				سطح معنی دار		
	تغذیه شده(۰)	تغذیه شده(۸۰۰)	تغذیه نشده دوره ای (۰)	تغذیه نشده دوره ای (۸۰۰)	کارنیتین	گرسنگی	کارنیتین× گرسنگی
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر))	۶/۲۳±۰/۹۸	۷/۶۸±۰/۰۹	۵/۹۳±۰/۸۷	۶/۹۸±۰/۶۵	*	*	ns
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۲۷/۹±۲/۱	۸۶/۱۵±۰/۸	۹۶/۹۰±۳/۸۹	۵۵/۱۵±۱/۹	*	*	*
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی-لیتر)	۷۸/۴۹±۰/۹	۶۵/۲۴±۱/۸	۸۳/۷۵±۱۱/۱	۷۵/۲±۱۳/۲	*	*	ns
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۵/۲±۰/۸۷	۱۴/۸±۰/۱۷	۱۷/۴۷±۱/۱۹	۱۶/۸±۰/۹۰	ns	ns	ns
گلیکوژن کبد(میلی‌مول گلوکز بر گرم)	/۴±۲/۸۷	۵۱/۲۷±۲/۸	۶۷/۴۷±۱/۹۰	۶۵/۳۰±۴/۶	ns	*	ns

- نشاندهنده اختلاف معنی دار رژیم‌های حاوی ۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی در گروههای تغذیه شده و یا تغذیه نشده دوره‌ای (P<۰/۰۵) و ns= عدم اختلاف معنی‌دار می باشد. میانگین داده‌ها بر اساس تحلیل کوواریانس تک متغیره مورد مقایسه قرار گرفتند.

جدول۲- تغییرات میانگین (میانگین± خطای معیار) فعالیت لیزوزیم ماهی شانک زرد باله تحت رژیم‌های تغذیه مختلف (گروه تغذیه شده و گروه تغذیه نشده دوره‌ای) و رژیم‌های غذایی آزمایشی (۰ و ۸۰۰mg/kg ال کارنیتین) در پایان دوره آزمایش (n=۹)

	گروههای آزمایش				سطح معنی دار		
	تغذیه شده(۰)	تغذیه شده(۸۰۰)	تغذیه نشده دوره ای (۰)	تغذیه نشده دوره ای (۸۰۰)	کارنیتین	گرسنگی	کارنیتین× گرسنگی
لیزوزیم (واحد بر میلی-لیتر)	۲۹/۶۰±۰/۴	۳۰/۵±۰/۸۷	۳۶/۳۸±۱/۴۶	۳۶/۲±۰/۱۸	ns	*	ns

- نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین رژیم‌های حاوی ۰ و ۸۰۰ میلی گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی در گروههای تغذیه شده و یا تغذیه نشده دوره‌ای (P<۰/۰۵) و ns= عدم اختلاف معنی‌دار می باشد. میانگین داده‌ها بر اساس تحلیل کوواریانس تک متغیره مورد مقایسه قرار گرفتند.

میزان فعالیت لیزوزیم پلاسما شانک زرد باله تحت رژیم-های تغذیه مختلف (تغذیه شده و تغذیه نشده دوره‌ای) و رژیم‌های غذایی آزمایشی (۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال- کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی) در پایان دوره آزمایش در جدول ۲ آورده شده است. ال- کارنیتین تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت لیزوزیم نداشت. گرسنگی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم در دو گروه تغذیه نشده دوره‌ای (۰) و تغذیه نشده دوره‌ای (۸۰۰) گردید ($P<۰/۰۵$). در حالیکه اثر توأم گرسنگی و ال کارنیتین بر فعالیت لیزوزیم در مقایسه با گروه تغذیه نشده و رژیم غذایی فاقد ال- کارنیتین معنی‌دار نبود.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ال- کارنیتین به‌عنوان مکمل غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین پلاسما در هر دو رژیم تغذیه (تغذیه شده و تغذیه نشده دوره‌ای) داشت و میزان پروتئین پلاسما (۷/۶۸±۰/۰۹ گرم بر دسی‌لیتر) در گروه تغذیه شده (۸۰۰) بیشتر از گروه تغذیه شده (۰) بود این موضوع نشان می‌دهد که ال- کارنیتین نقش مهمی در اکسیداسیون چربی بمنظور تولید انرژی داشته و سبب بهبود صرفه‌جویی در مصرف پروتئین جهت تولید انرژی می‌شود (۱۹).

در حالیکه Ozorio (۳۴) گزارش کردند که اضافه کردن ۵۵۰ میلی‌گرم ال- کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی به جیره غذایی، منجر به کاهش معنی‌دار پروتئین کل از ۳۶ به ۳۲ گرم بر دسی‌لیتر شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی نداشت که دلیل آن را می‌توان به میزان فاکتورهای مغذی نظیر میزان ال- کارنیتین طبیعی و چربی در بدن گونه‌های مختلف ماهی مربوط دانست. گرسنگی سبب کاهش معنی-دار میزان پروتئین پلاسما در هر دو رژیم غذایی حاوی ۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی در مقایسه با گروه تغذیه شده گردید که با نتایج بدست آمده بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (۱۷) همخوانی داشت. این موضوع نشان می‌دهد که احتمالاً پروتئین بعنوان منبع سوخت در طول دوره گرسنگی مورد استفاده قرارگرفته است.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد اثر توأم گرسنگی و ال- کارنیتین تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوکز پلاسما نداشت احتمال دارد دلیل آن، افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز باشد که غلظت گلوکز را در حد ثابت نگه‌داشته است (۲۳) همچنین افزایش معنی‌دار گلیکوژن کبد نیز در اثر گرسنگی می‌تواند ثبات گلوکز پلاسما را تأیید نماید. میزان گلوکز سرم در ماهی آزاد چینوک (*Oncorhynchus tshawytcha*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O.mykiss*) بصورت معنی‌داری بعد ۲۸ ،۲۰ و ۴۸ روز گرسنگی کاهش یافت (۱۵،۳). در حالیکه در کفشک ماهی زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) بعد از ۴ هفته محرومیت غذایی میزان گلوکز سرم بصورت معنی‌داری در گروه تغذیه نشده در مقایسه با گروه تغذیه شده افزایش یافت (۳۶). اما گرسنگی تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوکز سرم در سوف خط قرمز (*Pagrus pagrus*) نداشت (۸) . که با نتایج بدست آمده از این تحقیق همخوانی داشت.

در هردو رژیم تغذیه، ال- کارنیتین به‌عنوان مکمل غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوکز پلاسما نداشت که با نتایج بدست آمده بر روی گربه‌ماهی آفریقایی(*Clarias gariepinus*) توسط Ozorio (۳۴) که نشان داد افزایش میزان ال- کارنیتین در جیره غذایی منجر به کاهش میزان گلوکز سرم شد مغایرت داشت. که علت مغایرت نتایج بدست آمده مطالعات فوق می‌تواند به عواملی نظیر سن، گونه و میزان غلظت ال- کارنیتین مربوط باشد (۳۴).

گرسنگی منجر به کاهش معنی‌دار میزان کلسترول پلاسما در هر دو رژیم غذایی آزمایشی (۰و۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروههای تغذیه شده گردید که با نتایج بدست آمده روی اردک‌ماهی (*Esox lucius*). که

بیان نمودند که میزان کلسترول سرم وابسته به طول دوره گرسنگی می‌باشد (۲۱) همخوانی داشت.

تری‌گلیسرید بعنوان یکی از منابع چربی می‌تواند در طول دوره گرسنگی به گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد تجزیه گردد (۲۰). در تحقیق حاضر، گرسنگی منجر به افزایش معنی‌دار میزان تری‌گلیسرید پلاسما در ماهی شانک زرد باله در هر دو رژیم غذایی حاوی ۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ال- کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی شد که با نتایج بدست آمده از تحقیق صورت گرفته بر روی تاس ماهی (*Acipencer persicus*) همخوانی داشت (۴۳) که این موضوع نشان می‌دهد که تری‌گلیسرید ممکن است بعنوان منبع سوخت اولیه از بین مواد مغذی دیگر بمنظور تأمین انرژی در طول دوره گرسنگی مورد مصرف قرار بگیرد (۴۳).

کاربرد ال- کارنیتین بعنوان مکمل غذایی در تحقیق حاضر، سبب کاهش معنی‌دار کلسترول و تری گلیسرید پلاسما در هر دو رژیم تغذیه (تغذیه شده و تغذیه نشده دوره‌ای) گردید که این موضوع نشان می‌دهد که مهمترین نقش ال- کارنیتین متابولیسم چربی و انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره به داخل میتوکندری است (۱۹،۳۴). Sang و همکاران (۳۸) گزارش نمودند که میزان کلسترول و تری‌گلیسرید سرم قورباغه ماهی زرد (*Pseudosciaena crocea*) با اضافه نمودن ال- کارنیتین به‌عنوان مکمل غذایی به جیره غذایی بصورت معنی‌دار کاهش یافت همچنین بیان نمودند که میزان غلظت ال- کارنیتین نقش مهمی بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی ایفا می‌کنند (۳۸).

نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که میزان گلیکوژن کبد تنها تحت تأثیر عامل گرسنگی قرارگرفت و ال- کارنیتین و اثر توأم گرسنگی و ال کارنیتین تأثیر معنی‌داری بر میزان گلیکوژن کبد نشان ندادند. Mendez و همکاران (۲۷) گزارش کردند که گرسنگی بمدت ۷ روز منجر به افزایش میزان گلیکوژن کبد (۲ الی ۵ برابر) در مقایسه با گروه کنترل شد که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی داشت. این موضوع نشان می‌دهد که گلیکوژن بعنوان کربوهیدرات ذخیره‌شده در کبد اولین منبع انرژی در طول دوره گرسنگی بوده که مورد استفاده قرارگرفته سپس با تغذیه مجدد میزان ذخیره گلیکوژن کبدی افزایش‌یافته است (۲،۲۷،۳۹). در ارتباط با اثر ال کارنیتین بر گلیکوژن کبد تاکنون مطالعه‌ای صورت نگرفته است

ال- کارنیتین اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت لیزوزیم پلاسمای ماهی شانک زرد باله در هر دو رژیم تغذیه نداشت در حالیکه گرسنگی برای ۷ روز و تغذیه مجدد بمدت ۲ هفته منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت لیزوزیم پلاسما گردید که نتایج حاصل از این تحقیق با Feng و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی تاس ماهی چینی *Acipenser sinensis* همخوانی داشت. آنها نشان دادند که با افزایش طول دوره گرسنگی میزان لیزوزیم در تاس ماهی افزایش یافت (۱۶). لیزوزیم یکی از فاکتورهای ایمنی مؤثر برای مقاومت در برابر بیماریهای عفونی است و افزایش یا کاهش میزان آن وابسته به سن، اندازه، جنس و گونه ماهی است (۸).

در کل می‌توان نتیجه گرفت که گرسنگی دوره‌ای منجر به کاهش معنی‌دار میزان پروتئین کل، کلسترول و گلوکز و افزایش معنی‌دار میزان گلیکوژن کبد، تری گلیسرید و فعالیت لیزوزیم پلاسما گردید ($P<۰/۰۵$). در حالیکه ال- کارنیتین بعنوان مکمل غذایی، تأثیر معنی‌داری بر میزان گلیکوژن کبد، گلوکز پلاسما و فعالیت لیزوزیم پلاسما در بین گروه‌ها نداشت. اثر توأم ال- کارنیتین و گرسنگی دوره‌ای بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی (به‌استثنای کلسترول) و فعالیت لیزوزیم معنی‌دار نبود. ال- کارنیتین منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسما در هر دو رژیم غذایی گردید، با توجه به نتایج حاضر می‌توان بیان نمود که در هر دو رژیم غذایی حاوی ۸۰۰ میلی‌گرم ال- کارنیتین در هر کیلوگرم جیره غذایی منجر به

افزایش متابولیسم چربی و ذخیره پروتئین در ماهی شانک زرد باله شد.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم انستیتو موسسه تحقیقات شیلات چابهار، کارشناس محترم آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی شیراز، آزمایشگاه تشخیص طبی و پاتوبیولوژی صدف چابهار و پژوهشکده غدد متابولیسم و درون‌ریز شهید بهشتی تهران تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Bandeen, J., and Leatherland, J.F., 1997. Changes in the proximate composition of juvenile white suckers following re-feeding after a prolonged fast. Aquaculture International. 5, PP: 327-337.

2. Barcellos, L.J.G., Marqueze, A., Trapp, M., Quevedo, R.M., and Ferreira, D., 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen* . Aquaculture. 3, PP: 231-236.

3. Barton, B.A., Schreck, C.B., G., F.L., 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile chinook salmon. Progressive Fish Culturist.16, PP: 22-50.

4. Bayir, A., Sirkecioglu, A .N., Bayir, M., Haliloglu, H. I., Kocaman, E.M., and Aras, N.M., 2011. Metabolic responses to prolonged starvation, food restriction, and refeeding in the brown trout, *Salmo trutta*: oxidative stress and antioxidant defenses Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. 159, PP: 191-196.

5. Bidinotto, P.M., Souza, R.H.S., and Moraes, G., 1997. .Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinations of micro samples. Bol Tec CEPTA Pirassununga. 10, PP: 53-60.

6. Bromage, N.R., and Robert, R.G., 2001. Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science. 425p

7. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., and Brund, D.E., 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry (5thed.).W.B.Sunders Company. Philadelphia. USA, 560p.

8. Caruso, G., Denaro, M.G., Caruso, R., Genovese, L., Mancari, F., and Maricchiolo, G., 2012. Short fasting and refeeding in red porgy (*Pagrus pagrus,* Linnaeus 1758): Response of some haematological, biochemical and non specific immune parameters. Marine Environmental Research. 81, PP: 18-25.

9. Caruso, G., Denaro, M.G., Caruso, R., Mancari, F., Genovese, L., and Maricchiolo, G., 2011. Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*, Brünnich, 1768). Marine Environmental Research. 72, PP: 46-52.

10. Caruso, G., Maricchiolo, G., Micale, V., Genovese, L., Caruso, R., Denaro ,M.G., 2010. Physiological responses to starvation in European eel (*Anguilla anguilla*): effects on haematological, biochemical, non-specific immune parameters and skin structure Fish Physiology and Biochemistry. 36, PP: 71-83.

11. Celik, J., 2004. Blood chemistry (electrolytes, lipoproteins and enzymes) values of black scorpion fish (*Scorpaena porcus* Linneaus 1758)in the Dardanelles.Turkish Journal of Biology Sciences. 4, PP:716-719.

12. Chatzifotis, S., Papadaki, M., Despoti, S., Roufidou, C., and Antonopoulou, E., 2011. Effect of starvation and re-feeding on reproductive indices, body weight, plasma metabolites and oxidative enzymes of sea bass (*Dicentrarchus labrax).* Aquaculture.316, PP: 53-9.

13. Collins, A.L., and Anderson, T.A., 1995. The regulation of endogeneous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch.Journal of Fish Biology. 47, PP: 1004-1015

14. Ellis, A.E., 1990. Lysozyme Assays:In Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS,Van Muiswinkel WB, editors.Techniques in :Fish Immunology. Fair Haven, N.J: SOS Publications, PP: 101-103

15. Farbridge, K.J., and Leatherland, J.F., 1992. Plasma growth hormone levels in fed and fasted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) are

decreased following handling stress." Fish Physiology and Biochemistry. 10, PP: 67-73.

16. Feng, G., Shi, X., Huang, X., and Zhuang, P., 2011. Oxidative stress and antioxidant defenses after long-term fasting in blood of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). Procedia Environmental Sciences. 8, PP: 469-475.

17. Friedrich, M., and Stepanoswska, K., 2001. Effect of starvation nutritive value of carp (*Cyprinus carpio* L.) and selected biochemical components its blood. Acta Aichthyologic Ae Tpiscatoria. 31, PP:29-36.

18. Furné, M., Morales, A.E., Trenzado, C.E., García-Gallego, M., Hidalgo, M.C., and Domezain, A., et al., 2012. The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout Journal of Comparative Physiology B :Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology. 182, PP: 63-76.

19. Harpaz, S., 2005. L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition ^ a review. Aquaculture. 249, PP: 3-21.

20. Ida Coordt, E., Vestergaard, S.R., Fredens, J., and Joakin Faegeman, N., 2012. A method for measuring fatty acid oxidation in C.elegans. Worm: 1:1, landes Bioscience, PP: 1-5.

21. Ince, B.W., and Thorpe, A., 1976. The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the northern pike, *Esox lucius* L . Journal of Fish Biology. 8, PP: 79-88.

22. Jalali Haji-abadi, S.M.A., Mahboobi Soofiani, N., Sadeghi, A.A.M.C., and Riazi, G., 2010. Effects of supplemental dietary L-carnitine and ractopamine on the performance of juvenile rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research. 41, PP: 1582-91.

23. Laiz-Carrión, R., Viana, I.R., Cejas, J.R., Ruiz-Jarabo, I., Jerez, S., and Martos, J.A., et al. 2012. Influence of food deprivation and high stocking density on energetic metabolism and stress response in red porgy, *Pagrus pagrus*L. Aquaculture International. 20, PP: 585-599.

24. Lovell, R.T., 1998. Nutrition and Feeding of Fish, second ed. Kluwer Academic Publishers, Boston, London, PP: 1-267.

25. Luo, G., Liu, G., and Tan, H.-X., 2012.. Effects of stocking density and food deprivationrelated stress on the physiology and growth in adult *Scortum barcoo* (McCulloch & Waite). Aquaculture Research. 44, PP: 885-894.

26. Ma, J.J., Xu, Z.R., Shao, Q.J., Xu, J.Z., Hung, S.S.O., and Hu, W.L., et al., 2008. Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, (*Sparus macrocephalus)*.Aquaculture Nutrition. 14, PP: 464-471.

27. Mendez, G., and Wieser, W., 1993. Metabolic responses to food deprivation and refeeding in juveniles of Rutilis rutilus(Teleostei: Cyprinidae). Environmental of Biology Fish. 36, PP: 73-81.

28. Metón, I., Fernández, F., and Baanante, I.V., 2003. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata)*. Aquaculture. 225, PP: 99-107

29. Mohseni, M., Ozorio, R.O.A., Pourkazemi, M., Bai, S.C., 2008. Effects of dietary Lcarnitine supplements on growth and body composition in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology. 24, PP: 646-649.

30. Morales, A.E., Pérez-Jiménez, A., Parmen Hidalgo, M., Abellán, E., and Cardenete, G., 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentexliver* Comparative Biochemistry and Physiology 139C, PP:153-161.

31. Morshedi, V., Ashouri, G., Khochanian, P., Yavari, V., Bahmani, M., and Pourdehghani, M., et al. 2011. Effects of short-term starvation on hematological parameters in cultured juvenile Beluga Journal of Veterinary Research. 8, PP: 363-366.

32. Navarro, I., and Gutiérrez, J., 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Elsevier, Amsterdam, PP: 393-434.

33. Nogueira, N., Cordeiro, N., Canada, P., Cuz e Silva, P., Ozório, R.O.A., 2011. Separate and combined effects of cyclic fasting and L-carnitine supplementation in red porgy (*Pagrus pagrus*, L. 1758). Aquaculture Research. 41, PP: 795-806.

34. Ozório, R.O.A., 2001. Dietary L-carnitine and energy and lipid metabolism in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. PhD thesis. Holland:Wageningen University.

35. Ozório, R.O.A., Van Eekeren, T.H.B., Huisman, E.A., and Verreth, J.A.J., 2001. Effects of dietary carnitine and protein energy: nonprotein

energy ratios on growth, ammonia excretion and respiratory quotient in African catfish,C*larias gariepinus* (Burchell) juveniles. Aquaculture Research. 32, PP: 406-414.

36. Park, I.S., Hur, J.W., and J.W., C., 2012. Hematological responses, survival, and respiratory exchange in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, during starvation. Asian Australas Journal of Animal Sciences. 25, PP: 1276-1284.

37. Safari, O., Mehraban Sang Atash, M., and Paolucci, M., 2015. Effects of dietaryL-carnitine level on growth performance, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. Aquaculture. 439, PP: 20-28.

38. Sang, W., Deng, S., Shentu, J., Wang, L., and Duan, Q., 2012. Effects of Dietary L-carnitine and Betaine onSerum Biochemical Indices of Large Yellow Croaker (*Pseudosciaena crocea)* Cultured in Floating Net Cages. Advance Journal of Food Science and Technology. 4, PP: 304-308.

39. Small, B.C., 2005. Effect of fasting on nychthemeral concentrations of plasma growth hormone (GH), insulin-like growth factor I (IGF-I), and cortisol in channel catfish *(Ictalurus punctatus*). Comparative Biochemistry and Physiology. 142, PP: 217-223.

40. Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor Annuals of Clinical Biochemistry. 6, PP: 24-27.

41. Twibell, R.G., Brown, P.B., 2000. Effects of dietary carnitine on growth rates and body composition of hybrid striped bass (*Morone saxatilis* male×*M. chrysops* female) Aquaculture. 187, PP: 153-161.

42. Wootton, L.I., 1964. Micro-analysis in medical biochemistry in micrometer, 4th.ed. J &A Churchill, London. 264p.

43. YarMohammadi, M., Shabani, A., Pourkazemi, M., Soltanloo, H., and Imanpour, M.R., 2012. Effect of starvation and re-feeding on growth performance and content of plasma lipids, glucose and insulin in cultured juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus* Borodin, 1897). Journal of Applied Ichthyology. 28, PP: 692-696.

44. Zhang, X.D., Zhu, Y.F., Cai, L.S., and Wu, T.X., 2008. Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market-size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. 280, PP: 136-139.

Separate and combined effects of cyclic food deprivation and dietary L- carnitine supplementation on biochemical and non-specific immune indices in yellowfin seabream *(Acanthopagrus latus*, Houttyn, 1782)

Akbary P. and Shahraki N.

Fisheries Group, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, I.R. of Iran

Abstract

The present study was investigated the effect of starvation and L- carnitine supplementation on biochemical (plasma total protein, glucose, cholesterol, triglyceride and liver glycogen) and non- specific immune (plasma lysozyme activity) parameters in yellowfin seabream. In this study, a number of 240 fish with mean 3.23± 0.46 g were randomly fell into four groups (three replicates, n=20) in 60- L plastic tanks. Two groups were fed in daily manner and the other two ones were kept starved for 7 days once in 2 weeks. Two groups of feeding regimes were fed with L- carnitine free basal diet and the other were fed with 800 mg L- carnitine kg^{-1} diet. Cyclic fasting led to significantly decreased plasma total protein, cholesterol, glucose and significantly increased plasma triglyceride, liver glycogen and plasma lysozyme activity, whereas in both the feeding regimes, no significant difference was detected in plasma glucose, liver glycogen and plasma lysozyme activity of fish fed with 800 mg L- carnitine kg^{-1} diet. No significant differences were observed in biochemical and immunological parameters under combined cyclic fasting and L- carnitine supplementation. The supplemented L-carnitine diet significantly decreased plasma cholesterol and triglyceride ($P<0.05$). In light of the above results, it can be noted that in both feeding regimes the diet containing 800 mg L- carnitine kg^{-1} diet had an important role in lipolysis and increasing protein sparing effect of lipids in yellowfin seabream.

Key words: Food deprivation, Cholesterol, Triglyceride, Lysozyme, *Acanthopagrus latus*