مطالعه روند تغییرات برخی شاخص‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در مراحل اولیه زندگی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss*

سمیرا شریفی[۱]، امیر پرویز سلاطی[۲]، پیمان اسدیان[۳]، عین‌الله گرجی‌پور[۴]، حسین مرادیان[۵]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۲
تاریخ تصویب: ۹۳/۳/۵

چکیده

با توجه به اینکه ماهی در مراحل ابتدایی زندگی به تغییرات محیطی بسیار حساس می‌باشد آگاهی از چگونگی بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مراحل اولیه جنینی در شناخت منشأ و شکل‌گیری مکانیسم های حفاظتی در طول چرخه زندگی ارگانیسم‌ها بسیار با اهمیت جلوه می‌کند. در این تحقیق به بررسی روند تکاملی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، CAT، GPX و پراکسیداسیون لیپید (MDA) بر روند تکاملی در

[۱] کارشناس ارشد دانشکده منابع طبیعی دریا، گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر
[۲] استادیار دانشکده منابع طبیعی دریا، گروه شیلات، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر؛ salatia@gmail.com
مقاله مستخرج از پایان نامه خانم سمیرا شریفی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته منابع طبیعی-تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر می باشد که به راهنمایی امیر پرویز سلاطی و پیمان اسدیان انجام گرفته است.
[۳] استادیار دانشکده دامپزشکی، گروه علوم دامپزشکی، دانشگاه لرستان
[۴] استادیار مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج
[۵] کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج

تخم و لاروهای قزل آلای رنگین‌کمان Oncorhynchus mykiss پرداخته شد. به منظور این بررسی، تخم ها در تراکم متداول ٤٠٠egg/l و در سه تکرار در تراف های تحقیقاتی ۱۰ لیتری که هر کدام حاوی ٤ سینی با ابعاد۱۰ ×۹/۵×۱٦ سانتی متر بودند با دمای آب ۱۰/۸ درجه سانتی‌گراد توزیع شدند. نتایج حاصل از این مطالعه در روزهای مختلف نمونه برداری افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم های SOD و GPX به ترتیب تا مرحله چشم زدگی و مرحله تخم گشایی در مقایسه با زمان لقاح، نشان داد (P<۰/۰۰۱). فعالیت این آنزیم ها تا شروع تغذیه فعال به صورت معنی داری کاهش یافتند (P<۰/۰۰۱)، اما کماکان سطح فعالیت این آنزیم در شروع تغذیه فعال در مقایسه با سطح فعالیت آنها در زمان لقاح، بیشتر بود. در تراکم متداول فعالیت CAT تا ارگان زایی در مقایسه با لقاح، افزایش یافت و پس از آن، کاهش معنی داری را تا شروع تغذیه فعال در مقایسه با لقاح نشان داد(P<۰/۰۰۱). محتوای MDA در تراکم متداول یک روند افزایشی معنی دار تا شروع تغذیه فعال در مقایسه با زمان لقاح نشان داد و برای تراکم بالا و پایین نیز روندی مشابه ثبت گردید(P<۰/۰۰۱).

واژه‌های کلیدی: کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، مالونیل دالدئید ، *Oncorhynchus mykiss*

۱- مقدمه

انکوباسیون مصنوعی تخم ماهیان بر پایه شناسایی خصوصیات فیزیولوژیک و اکولوژیک جنین استوار است، از این رو، بررسی و درک شرایط اکولوژیک و فیزیولوژیک مورد نیاز برای تکامل جنین و رشد لارو و فراهم کردن مناسب ترین شرایط برای تفریخ و نمو آن مهم ترین اقدام برای افزایش کارایی انکوباسیون می‌باشد. تولید ROS در زندگی هوازی اجتناب ناپذیر است، از این رو همه ارگانیسم‌های هوازی دارای مکانیسم های گوناگونی برای به حداقل رساندن اثرات ناشی از ROS هستند. آگاهی از چگونگی بیان آنزیم های آنتی اکسیدانی در مراحل اولیه جنینی در شناخت منشأ و شکل‌گیری مکانیسم‌های حفاظتی در طول

چرخه زندگی ارگانیسم‌ها بسیار با اهمیت جلوه می‌کند و می تواند بعضی مکانیسم‌های ذاتی جهت غالب آمدن بر این تغییرات را نشان دهد، زیرا در سلول های جنینی، گونه‌های واکنشگر اکسیژن می‌توانند باعث تغییرات غشایی شوند که به فرآیند لقاح آسیب می‌رسانند (Guerriero et al., 2004) و در مسیر تکامل جنین مانعی در برابر تقسیمات زیگوت ایجاد می‌کنند (Guerriero et al., 2004). از طرف دیگر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در موقعیت های استرس زای شدید و در طول تکامل جنینی به منظور حفاظت از سلول ها در مقابل آسیب‌های وارده تقویت می گردد (Livingstone,2001; Dandapat et al. 2003; Rueda-jasso et al. 2004). بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی پاسخ‌های آنتی اکسیدانی در مراحل اولیه زندگی قزل آلای رنگین کمان به عنوان یکی از گونه های اصلی پرورشی در کشور انجام گرفت. اطلاعات حاصل می تواند در طراحی جیره های مولدین و آغازین مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

مولدین آماده تکثیر به وان های مخصوص منتقل و با ماده بیهوش کننده پودر گل میخک (۲۰۰-۱۵۰ میلی گرم در هر لیتر) بیهوش شدند (مهرابی، ۱۳۸۱). مولدین بیهوش شده از وان ها خارج شده و با آب تمیز شستشو داده شدند. بدن مولدین به آرامی با حوله خشک و با فشار به شکم مولد ماده تخم‌گیری انجام شد. تخم ها درون یک تشت ریخته و سپس اسپرم اضافه گردید. نسبت آمیزش مولدین ماده به نر ۲ تا ۳ مولد ماده به یک نر بود. عمل لقاح به روش مصنوعی و خشک با اختلاط تخمک و اسپرم بدون مایعات تخمدانی و آب همراه انجام گرفت. بعد از لقاح تخم‌ها به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه با آب به تدریج شسته تا مواد زاید آن خارج شده و آب حاوی تخم ها کاملا شفاف گردد. در مرحله بعد به منظور سفت شدن تخم ها، مقداری از آب چشمه تامین کننده سالن انکوباسیون به تحم ها اضافه گردید و اجازه داده شد تا حدود ٤٥ دقیقه فرآیند جذب آب طول بکشد (نفیسی بهابادی و فلاحتی مروست، ۱۳۸۷).

پس از انجام عملیات لقاح، هنگامی که تخم‌ها به خوبی آب جذب نمودند با استفاده از پوآر اقدام به جمع آوری تخم های سفید و لقاح نیافته گردید و تخم های لقاح یافته به سالن انکوباسیون تخم با دمای آب $۱۰/۸^{\circ}C$، انتقال داده شدند و در تراف های تحقیقاتی ۱۰ لیتری که هر کدام حاوی ٤ سینی باابعاد۱۰×۹/۵×۱٦سانتی متر بودند، توزیع گردیدند. در طول دوره انکوباسیون ضدعفونی بر اساس دستورالعمل بخش بهداشت مرکز به روش شستشو به صورت

روزانه توسط مالاشیت گرین[۶] با دوز ppm ۰/۵ صورت گرفت. در طول مدت انکوباسیون برای جلوگیری از اثرات نور با استفاده از پوشش کارتن پلاست، تخم ها در تاریکی قرار گرفتند. جهت نمونه برداری لاروها تا زمان شروع تغذیه فعال که حدود ۵۰ روز طول کشید نگهداری شدند. درطی اجرای پروژه اکسیژن محلول و دمای آب به صورت روزانه و pH آب به صورت هفتگی اندازه‌گیری شدند. دبی آب نیز هر هفته یک بار اندازه گیری شد. با توجه به درجه حرارت آب (۱۰/۸°C) انکوباسیون تخم‌ها، نمونه برداری در زمان‌های۱ (لقاح)، ۳ (تسهیم)، ۸ (ارگان زایی)، ۱۶ (چشم زدگی)، ۳۱ (تخم گشایی) و ٤٨ (شروع تغذیه فعال) صورت گرفت. نمونه ها در ازت مایع فریز شدند و تا زمان آنالیز در دمای ۸۰- نگهداری گردیدند. برای ارزیابی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم های Glutathione peroxidase (GPX)، catalase (CAT)، superoxide dismutase (SOD) و پراکسیداسیون لیپید (MDA) اندازه گیری شد. برای همگن کردن، ۱ گرم از نمونه های تخم و لارو از هر تکرار توسط ترازو وزن و در یک فالکن ریخته شد. بافر فسفات ۲۰ میلی‌مولار و EDTA ۱ میلی مولار به آن اضافه گردید (Fontagne et al., 2008). سپس توسط دستگاه هموژنایزر مدل IKA® عمل همگن سازی درمجاورت یخ انجام گرفت. جهت جداسازی فاز مایع از باقی مانده‌ها، از سانتریفیوژ مدل K240R با دور ۷٤۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد استفاده شد. بعد از عمل سانتریفیوژ، مایع رویی توسط سمپلر جدا گردید. اندازه گیری کاتالاز بر اساس روش Goth (۱۹۹۱)، اندازه گیری فعالیت آنزیم GPX به روش Paglia و Valentine (۱۹٦۷) و سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Marklund (۱۹۷٤) صورت پذیرفت. به منظورسنجش MDA پلاسما از روش کالریمتری استفاده گردید. اساس این روش واکنش MDA با تیوباربیوتیک اسید (TBA) است که در نتیجه ی آن کمپلکس رنگی $MDA\text{-}TBA_2$ ایجاد شده که بیشینه جذب آن در طول موج ۵۳۵ نانومتر اتفاق می افتد. کلیه داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) آورده شده است. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از انجام آزمایشات، از نرم افزار SPSS (Version 16) استفاده شد. بعد از بررسی نرمال بودن داده ها، برای بررسی تفاوت بین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، مالون دی آلدهید و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در مراحل مختلف از One-way ANOVA استفاده شد و در صورت وجود اختلاف از پس آزمون دانکن جهت مقایسه اختلاف میانگین‌ها

1. Malachitegreen

استفاده گردید. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی داری در سطح آماری ۰/۰۵ و ۰/۰۰۱ تعیین شد. جهت تعیین میانگین، انحراف معیار و خطای استاندارد از آمار توصیفی استفاده گردید. رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

نتایج

دمای آب، میزان اکسیژن ورودی و pH در طول دوره انکوباسیون اندازه گیری شدند. دمای آب با میانگین ۰/۱۹ ± ۱۰/۵۹ درجه سانتی گراد در طول آزمایش تقریباً ثابت بود. میانگین pH، ۸/۰۴±۰/۲۳، میانگین اکسیژن ورودی ۰/۲۵ ± ۷/۹۳ میلی گرم بر لیتر و دبی آب ۸ لیتر در دقیقه ثبت گردیدند. در این مطالعه درصد لقاح، چشم زدگی و تخم‌گشایی به ترتیب ۱/۲۳±۹۸/۷۸، ۰/۸۵±۹۶/۵۰ و ۰/۷۹±۹۴/۳۱ تعیین گردید (جدول ۱). فعالیت در روز لقاح ۰/۲۸±۵/۹۵ واحد/میلی گرم پروتئین بود و به تدریج افزایش یافت تا به بیشترین مقدار در زمان چشم زدگی (۰/۶۸±۱۴/۷۵ units/mg protein) رسید (P<۰/۰۰۱). پس از آن فعالیت SOD تا شروع تغذیه فعال به طور معنی داری کاهش یافت و در شروع تغذیه فعال به ۱/۲۱± ۸/۸۸ units/mg protein رسید که در مقایسه با لقاح تغییر معنی داری نشان نمی داد (جدول ۲). فعالیت CAT از لقاح (۰/۳۹±۶/۵۳ units/mg protein) تا ارگان زایی (۰/۴۹±۸/۲۰ units/mg protein) روندی افزایشی نشان داد که در مقایسه با لقاح معنی دار بود ولی پس از آن، کاهشی معنی دار را تا شروع تغذیه فعال (۰/۵۶±۵/۰۴ units/mg protein) در مقایسه با لقاح نشان داد (P<۰/۰۵). همان گونه که در جدول ۲ مشاهده می گردد فعالیت GPX در زمان لقاح ۰/۲۸±۴/۴۸ units/mg protein می باشد. از مرحله لقاح تا زمان چشم زدگی فعالیت آنزیم یک روند افزایشی نشان داد (P<۰/۰۰۱). اما در مرحله تخم گشایی افزایش قابل توجه و ناگهانی در مقایسه با زمان های قبلی نمونه برداری رخ داد به صورتی که فعالیت این آنزیم در این مرحله ۰/۷۵±۱۸/۸۱ units/mg protein ثبت گردید، سپس از فعالیت GPX در شروع تغذیه فعال (۱/۴۰±۸/۰۹ units/mg protein) به میزان زیادی کاسته شد، اما سطح فعالیت این آنزیم نیز کماکان در شروع تغذیه فعال نسبت به سطح فعالیت آن در زمان لقاح، بیشتر بود (P<۰/۰۵). محتوای MDA نمونه ها در این مطالعه یک روند افزایشی نشان داد (جدول ۳)، به طوری که حداقل میزان MDA در مرحله لقاح ۰/۲۶±۲/۴۵ nmol/mg protein و بالاترین مقدار آن در زمان شروع تغذیه فعال ۰/۱۵±۴/۰۳ nmol/mg protein ثبت گردید که این افزایش در مقایسه با زمان لقاح معنی دار بود (P<۰/۰۵).

جدول ۱. درصد لقاح، چشم زدگی و تخم گشایی

لقاح (درصد± انحراف معیار)	چشم زدگی (درصد ± انحراف معیار)	تخم گشایی (درصد ± انحراف معیار)
۹۸/۷۸ ± ۱/۲۳	۹۶/۵۰ ± ۰/۸۵	۹٤/۳۱ ± ۰/۷۹

جدول ۲. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در مراحل اولیه زندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان. داده ها به صورت میانگین ±انحراف معیار بیان شده اند.

روز / آنزیم	۱	۳	۸	۱٦	۳۱	٤۸
کاتالاز (units/mg protein)	۰/۳۹±٦/۵۳ a	۰/۷۵±۷/۸۷ a	۰/٤۹±۸/۲۰ b	۰/۵۰±۷/۲۷ c	۰/٤۲±۵/۵۷ d	۰/٦٦±۵/۰٤ d
سوپراکسید دسموتاز (units/mg protein)	۰/۲۸±۷/۹۷ a	۰/٤۳±٦/۸۲ ab	۰/۹۹±۱۰/۸۰ cb	۰/٦۸±۱٤/۷۵ da	۰/۸۹±۸/۷۷ e	۱/۲۱±۸/۷۸ e
گلوتاتیون پراکسیداز (units/mg protein)	۰/۲۷±٤/۷٤ a	۰/۵٦±۱٦/٤۲ a	۰/٦۳±۱۷/٦٤ b	۰/۷۲±۸/٦۷ b	۰/۷۵±۱۸/۸۱ c	۱/٤۰±۹/۰٦ db

جدول ۳. غلظت MDA در مراحل اولیه زندگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. داده ها به صورت میانگین ±انحراف معیار بیان شده اند.

روز / آنزیم	۱	۳	۸	۱٦	۳۱	٤۸
MDA (nmol/mg protein)	۰/۲٦±۲/٤۵ a	۰/۲٤±۲/۹۸ b	۰/۰۲±۳/۱٦ cb	۰/۲٦±۳/۲٦ cb	۰/۱۰±۳/۵٤ dcb	۰/۲۷±٤/۰٦ e

بحث و نتیجه‌گیری

آگاهی از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و وضعیت استرس اکسیداتیو می تواند کلید شناسایی مکانیسم‌هایی کلیدی در تکامل جنینی ماهی و سپس زاد و ولد و بازماندگی‌شان در مزارع پرورشی باشد (Sanz et al, 2010).

نتایج حاصل از این مطالعه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX را در ابتدای تشکیل و رشد جنین (لقاح و تسهیم) اندک نشان داد، اما در مراحل بعدی زندگی فعالیت این آنزیم‌ها روندی افزایشی به خود گرفت. پایین بودن فعالیت این آنزیم‌ها در ابتدای تشکیل و رشد جنین احتمالاً می‌تواند ناشی از سطوح بالای آنتی اکسیدان هایی با وزن مولکولی پایین در مراحل ابتدایی تشکیل و رشد جنین باشد. آن‌چنان که Rudneva (۱۹۹۹) با بررسی نرمتنان، سخت پوستان، ماهیان غضروفی و ماهیان استخوانی دریای سیاه شامل کوسه ماهی (*Squalus acanthias*)، گاو ماهی گرد خزری (*Neogobius melanostomus*)، گاو ماهی مرمری (*Proterorhinus marmoratus*) و *Parablennius sanguinolentus* نشان داد که سطوح بالای آنتی‌اکسیدان‌های حذف‌کننده ROS با وزن مولکولی پایین در سخت پوستان و ماهیان استخوانی، فعالیت پایین آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را در مراحل ابتدایی تشکیل و رشد جنین جبران می کنند. همچنین Guerriero و همکاران (۲۰۰٤) سطوح بالایی از ویتامین E را در تخم سی باس قبل و بعد از لقاح و جنین های سالم بر خلاف تخم ها و جنین های مرده گزارش و بیان کردند که ذخایر ویتامین E در کیسه زرده تجمع می یابد و لارو طی رشد و نمو آن را مورد استفاده قرار می دهد. Mani-Ponset و همکاران (۱۹۹٦) نیز نتیجه ای مشابه در ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) سی باس (*Dicentrarchus labrax*) و ماهی سوف (*Stizostedion lucioperca*) گزارش کردند. علت افزایش فعالیت GPX، CAT و SODدر مراحل بعدی را می توان ناشی از نیاز به مقابله با رادیکال های آزاد تولید شده دانست که باعث القای فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می‌شوند مانند آن‌چه در *Acipenser naccarii* مشاهده شده است (Sanz et al, 2010). Subramanian و Arun (۱۹۹۸) با بررسی روند تکامل جنینی میگوی آب شیرین *Macrobrachium malcolmsonii* نشان دادند که در طول عبور از مرحله تخم و تکامل جنین، مصرف اکسیژن افزایش می یابد که افزایش فعالیت SOD و CAT را به دنبال دارد. Rudneva-Titova (۱۹۹٦) نیز با بررسی تکامل جنینی و لاروی ماهیان دریای سیاه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD و CAT را در مرحله پایانی تکامل جنینی و لارو نشان داد. روند افزایشی فعالیت SOD، می تواند ناشی از این باشد که

این آنزیم در طی تکامل جنینی جهت کاستن از مقادیر بالای O_2^- بافت مورد نیاز است (Peters and Livingstone, 1996). هر وضعیتی که مصرف اکسیژن توسط میتوکندری را افزایش دهد به طور نسبی تولید O_2^- را افزایش می دهد (Camougrand and Rigoulet, 2001). تخم ماهیان استخوانی به دلیل تکامل در آب و دارا بودن پوسته بسیار نازک، در برابر خطرات ناشی از اکسیژن کمتر محافظت می‌شوند و این وضعیت می تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم SOD گردد. (Rudneva ۱۹۹۹) نشان داد که SOD در تخم ماهیان استخوانی که در آب تکامل پیدا می کنند نسبت به تخم ماهیان غضروفی که در اندام مادری تا تخم گشایی تکامل می یابند و سیست آرتمیا که با یک پوسته محکم محافظت می شوند، فعالیت بالاتری نشان می‌دهد. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*) نیز در روند تکامل جنین روند افزایشی نشان داند، در حالی که آنتی اکسیدان هایی با وزن مولکولی پایین مانند ویتامین C و GSH کاهش یافتند (Kalaimani et al, 2008).

پس از افزایش ابتدایی در فعالیت آنزیم‌های SOD، GPX و CAT، کاهش معنی داری نیز در فعالیت این آنزیم ها تا شروع تغذیه فعال مشاهده گردید. در مطالعه انجام شده توسط (Moyano و همکاران، ۱۹۹۶) علت روند کاهشی آنزیم های SOD، CAT و GPX در لاروهای تخم گشایی شده ناشی از کاهش سطوح پروتئین در طول تکامل رشد و نمو بیان شده است. میزان پروتئین در مرحله لاروی کمتر از تخم است که این ناشی از کاهش مقدار کوریون و مایع پری ویتلین در مرحله لاروی گزارش شده است (Mourente et al, 1999). (Peters و Livingstone ۱۹۹۶) کاهش فعالیت SOD را در سفره ماهی (*Scophthalmus maximus*) در طول تکامل جنین از ۱۱ روز پس از تخم گشایی را نشان دادند. (Dandapat و همکاران نیز ۲۰۰۳) کاهش فعالیت SOD را در اواسط تکامل لاروی *Macrobrachium rosenbergii* ثبت کردند. کاهش فعالیت آنزیم های SOD، GOX و CAT در مرحله لاروی سی باس (*Lates calcarifer*) (Kalaimani et al., 2008) و کاهش فعالیت آنزیم CAT و GPX در مرحله لاروی *Dentex dentex* (Mourente et al, 1999) نیز گزارش شده است.

غلظت MDA شاخص مناسب استرس اکسیداتیو (عدم تعادل بین تولید ROS و دفاع آنتی اکسیدانی) و بیان کننده سطوح پراکسیداسیون لیپید می باشد (Buege and Aust, 1978). MDA به علت دارا بودن ساختار خاص در لیزوزوم قابل هضم نمی باشد، از این رو با افزایش سن

انباشته می شود (Leibovitzand Siegel, 1980; Halliwell and Gutteridge, 1989). محتوای MDA در تراکم متداول یک روند افزایشی تا شروع تغذیه فعال در مقایسه با زمان لقاح نشان داد و برای تراکم بالا و پایین نیز روندی مشابه ثبت گردید. در این مطالعه افزایش MDA در لاروهای تازه تفریخ شده، ممکن است ناشی از تولید و تجمع ROS باشد که می توان علت آن را مواجهه ناگهانی با محیط جدید و سطوح اکسیژن بیشتر در مقایسه با داخل تخم بیان کرد یا ناشی از مجتوای زرده غنی از لیپید وPUFA دانست (Dandapat et al., 2003). سطوح بالای MDA در مرحله لاروی می تواند ناشی از عدم تعادل بین آنزیم های آنتی اکسیدانی و همچنین آنتی اکسیدان هایی با وزن مولکولی پایین مانند ویتامین E با میزان تولید ROS باشد که این وضعیت منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپید در این مرحله از زندگی لاروی می شود (Sanz et al., 2010). افزایشMDA می تواند ناشی از افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید در نتیجه تغییر میزان متابولیسم نیز باشد، زیرا در این دوره نوع تغذیه تغییر کرده و تغذیه خارجی شروع می شود که منجر به تغییر میزان متابولیسم ناشی از اکسیداسیون PUFA می شود (Kalaimani et al., 2008). افزایش MDA در شروع تغذیه فعال را شاید بتوان ناشی از این دانست که تولیدات حاصل از پراکسیداسیون لیپید ممکن است توسط لارو جذب شده و به بافت ها انتقال یابند و استرس اکسیداتیو ایجاد کنند (Hata and Kaneda, 1980). (Trenzado و همکاران، ۲۰۰۹) سطوح بالای MDA در ماهیان قزل آلای تغذیه شده با سطوح بالای PUFA و سطوح پایین ویتامین Eرا نشان دادند و بیان کردند که عدم تعادل بین سطوح PUFA و ویتامین E منجر به استرس اکسیداتیو می گردد. در آزمایشی که توسط (Mourente و همکاران، ۱۹۹۹) در *Dentex dentex* انجام شد مقدار MDA را در مرحله تخم بیشتر از مرحله لاروی گزارش کردندکه بر خلاف یافته های مطالعه حاضر می باشد، علت این اختلاف را شاید بتوان ناشی از سطوح بالای PUFA در تخم ماهیان دریایی در مقایسه با تخم ماهیان آب شیرین بیان کرد که منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپید می گردد.

بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر ضرورت نیاز به افزودن آنتی اکسیدان هایی مانند ویتامینC وE به جیره غذایی مولدین و همچنین جیره آغازین لارو پیشنهاد می شود.

منابع

مهرابی، ی. (۱۳۸۱). بیهوشی روش عمل تکثیر دو بار در سال ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. انتشارات اصلانی، ۱۰۰ صفحه.

نفیسی بهابادی، م. و فلاحتی مروست، ع. (۱۳۸۷). اصول تکثیر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. انتشارات دانشگاه هرمزگان، ٤٠٤ صفحه.

Buege, J.A. and Aust, S.D., (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology. 52: 302–310.

Camougrand, N.and Rigoulet, M., (2001) Aging and oxidative stress:studies of some genes involved both in aging and in response tooxidative stress. Respiration Physiology. 15: 393–401.

Dandapat, J., Chainy, G.B.N.and Rao, KJ., (2003) Lipid peroxidation and antioxidant defence status during larval development and metamorphosis of giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii.* Comparative Biochemistry and Physiologyl C. 135: 221–233.

Fontagne, S., Lataillade, E., Breque, j. and Kaushik, S., (2008) Lipid peroxidative stress and antioxidant defence status during ontogeny of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). British Journal of Nutrition.100: 102–111.

Goth, L., (1991). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. International Journal of Clinical Chemistry. 196: 143–152.

Guerriero, G., Ferro, R., Russo, G.L. and Ciarcia, G., (2004) Vitamin E in early stages of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) development. Comparative Biochemistry and Physiology. 138: 435– 439.

Halliwell, B., (1996) Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo?. Free Radical Research. 25: 439–454.

Hata, K. and Kaneda, T., (1980) Effect of autoxidized oil on carp. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish. 46: 997–1000.

Kalaimani, N., Chakravarthy, N., Shanmugham, R., Thirunavukkarasu, A.R., Alavandi, S.V.and Santiago, T.C., (2008) Anti-oxidant status in embryonic, post-hatch and larval stages of Asian seabass (*Lates calcarifer*). Fish Physiology and Biochemistry. 34: 151–158.

Leibovitz, B.E. and Siegel, B.V., (1980) Aspects of free radical reactions in biological systems: aging. The Journals of Gerontology**.** 35: 45–56.

Livingstone, D.R., (2001) Contaminant-stimulated reactive oxygenspecies production and oxidative damage in aquatic organisms. Marine Pollution Bulletin. 42: 656–666.

Maklund, S., (1974) Involvement of superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and a convenient assay of superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry. 46: 469-474.

Mani-Ponset, E., Guyot, J.P.and Connes, D.R., (1996) Utilization of yolkreserves during post-embryonic development in three teleosteanspecies: the sea bream *Sparus aurata*, the sea bass *Dicentrarchuslabrax* and the pike-perch, *Stizostedion lucioperca*. Marine Biology. 126: 539–547.

Mourente, G., Tocher, D.R., Diaz, E., Grau, A. and Pastor, E., (1999) Relationships between antioxidants, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation products during early development in *Dentex dentex* eggs and larvae. Aquaculture. 179: 309–324.

Moyano, F.J., Díaz, M., Alarcón, F.J. and Sarasquete, M.C., (1996) Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry. 15: 121–130.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N., (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboratory Clinical Medicine. 70: 158–169.

Peters, L.D. and Livingstone, D.R., (1996) Antioxidant enzyme activities in embryologic and early larval stages of turbot. Journal of Fish Biology. 49: 986–997.

Rudneva, I.I., (1999) Antioxidant system of Black Sea animals in early development. Comparative Biochemistry and Physiology C. 122: 265– 271.

Rudneva-Titova, I.I., (1996) Blood antioxidant system of elasmobranchii and some teleost species of Black Sea fish. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 32: 197–203.

Rueda-Jasso, R., Conceic¸a¨o, L.E.C., Dias, J.W., De Coen, E., Gomes, E., Rees, J.F., Soares, F., Dinis, M.T.and Sorgeloos, P., (2004) Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. Aquaculture. 231: 417–433.

Sanz, A., Díaz, M.E., Furné, M., Trenzado, C.E., García-Gallego, M. and Domezain, A., (2010) Antioxidant defences in the first life phases of the sturgeon *Acipenser naccarii*. Aquaculture. 307: 123–129.

Subramanian, P. and Arun, S., (1998) Antioxidant enzymes in fresh water prawn *Macrobrachium malcolmsonii* during embryonic and larval development. Comparative Biochemistry and Physiology B. 121: 273–277.

Trenzado, C.E., Morales, A.E., Palma, J.M. and Higuera, M., (2009) Blood antioxidant defenses and hematological adjustments in crowded/uncrowded rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed on diets with different levels of antioxidant vitamins and HUFA. Comparative Biochemistry and Physiology. 149: 440-447.