

وزارت جهاد كشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج كشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی كشور- انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان:

بررسی اثر تیامین (ویتامین B₁) بر عملکرد
تولیدمثل و کیفیت لارو فیل ماهی (*Huso huso*)

مجری:

محمود محسنی

شماره ثبت

۶۴۶۰۲

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور - انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری

عنوان طرح/ پروژه: بررسی اثر تیامین (ویتامین B₁) بر عملکرد تولیدمثل و کیفیت لارو فیل ماهی (*Huso huso*)
کد مصوب: ۹۹۰۲۳۱-۹۸۰۰۱-۹۸۰۰۴-۱۲-۳۲-۱۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان: محمود محسنی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: محمود محسنی

نام و نام خانوادگی همکار(ان): علیرضا شناورماسوله، محمود بهمنی، ایوب یوسفی جوردهی، ذبیح اله پزند، جلیل جلیل پور رود کلی، محمد پوردهقانی پیشکناری، بهرام فلاحتکار، مصطفی کرمی نسب، میرحامد سیدحسینی، علی حسین پورزلتی، تورج سهرابی لنگرودی، رضوان اله کاظمی، علی حلاجیان، علیرضا علی پور جورشری، رضا قربانی واقعی، هوشنگ یگانه راسته کناری، فروزان باقرزاده لاکانی، ساره قیاسی، داوود زرغام، سمیه حسن پور لسکو کلايه، جواد صیادفر، علیرضا عاشوری هراتبر، اسماعیل حسین نیا

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان گیلان

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۳/۰۱

مدت اجرا: ۳ سال

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۲

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسؤل / مجری»

طرح/پروژه: بررسی اثر تیامین (ویتامین B₁) بر عملکرد تولیدمثل و

کیفیت لار و فیل ماهی (*Huso huso*)

کد مصوب : ۹۹۰۲۳۱-۹۸۰۰۱-۹۸۰۰۴-۱۲-۳۲-۱۲

شماره ثبت (فروست) : ۶۴۶۰۲ تاریخ : ۱۴۰۲/۱۰/۹

با مسؤلیت اجرایی جناب آقای محمود محسنی دارای مدرک

تحصیلی دکتری در رشته شیلات (تغذیه ماهی) است.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در

تاریخ ۱۴۰۲/۹/۵ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد پژوهشکده مرکز ایستگاه

با سمت عضو هیئت علمی در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان

خاوباری مشغول بوده است.

| صفحه | «فهرست مندرجات» | عنوان |
|------|-----------------|--|
| ۱ | | چکیده |
| ۴ | | ۱- مقدمه |
| ۷ | | ۱-۱- تاریخچه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری |
| ۹ | | ۱-۲- تغذیه ماهیان خاویاری |
| ۱۰ | | ۱-۲-۱- ویتامین‌ها |
| ۱۱ | | ۱-۲-۱-۱- تیامین (ویتامین B ₁) |
| ۱۵ | | ۱-۲-۱-۲- حد نیاز تیامین در ماهیان |
| ۱۵ | | ۱-۲-۱-۳- ارزیابی بالینی |
| ۱۶ | | ۱-۲-۲- آنتی متابولیت و غیر فعال کننده ها |
| ۱۸ | | ۱-۲-۳- اهمیت ویتامین‌ها در بلوغ و تولید مثل ماهیان |
| ۲۰ | | ۲- ضرورت انجام تحقیق |
| ۲۲ | | ۳- روش کار |
| ۲۲ | | ۳-۱- فاز اول: تاثیر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثل فیله ماهی پرورشی |
| ۲۲ | | چکیده |
| ۲۳ | | ۳-۱-۱- مواد و روش‌ها |
| ۲۳ | | ۳-۱-۱-۱- نگهداری مولدین (پرورش و تغذیه) |
| ۲۶ | | ۳-۱-۱-۲- مراحل مختلف رسیدگی جنسی |
| ۲۹ | | ۳-۱-۱-۳- اندازه‌گیری مقدار تیامین در تخم |
| ۳۰ | | ۳-۱-۱-۳- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها |
| ۳۰ | | ۳-۱-۲- نتایج |
| ۳۰ | | ۳-۱-۲-۱- وزن مولدین |
| ۳۲ | | ۳-۱-۲-۲- هورمون پروژسترون |
| ۳۳ | | ۳-۱-۲-۳- هورمون ۱۷-بتا استرادیول |
| ۳۴ | | ۳-۱-۲-۴- هورمون تستوسترون |
| ۳۵ | | ۳-۱-۲-۵- گلوکز-۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH; IU/gHb) |
| ۳۸ | | ۳-۱-۳- بحث و نتیجه‌گیری فاز اول |
| ۳۸ | | ۳-۱-۳-۱- شاخص‌های رشد |

- ۳-۱-۲- شاخص قطبیت هسته ۴۰
- ۳-۱-۳- گلوکز -۶- فسفات دهیدروژناز (G6PDH) ۴۱
- ۳-۱-۴- استروئیدهای جنسی ۴۲
- ۳-۱-۵- تیامین در تخم ۴۳
- ۳-۱-۶- عملکرد تولید مثلی ۴۵
- ۳-۱-۴- نتیجه گیری نهایی فاز ۱: تاثیر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی فیل ماهی پرورشی ۴۷
- ۳-۲- فاز دوم: اثر غوطه‌وری تخم در سطوح مختلف تیامین محلول در آب بر بهبود شاخص‌های انکوباسیون و رشد لارو فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی ۴۸
- چکیده ۴۸
- ۳-۲-۱- مقدمه ۴۸
- ۳-۲-۲- مواد و روش‌ها ۴۹
- ۳-۲-۲-۱- القای تخم‌ریزی و تکثیر ماهیان ۴۹
- ۳-۲-۲-۲- غوطه‌وری تخم در محلول تیامین ۵۰
- ۳-۲-۲-۳- بررسی شاخص‌های کیفیت تخم ۵۰
- ۳-۲-۲-۴- پرورش لارو ۵۱
- ۳-۲-۲-۵- زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد و تغذیه ۵۱
- ۳-۲-۲-۶- آنالیز آماری ۵۲
- ۳-۲-۳- نتایج ۵۲
- ۳-۲-۴- بحث ۵۵
- ۳-۲-۵- نتیجه گیری فاز دوم: اثر غوطه‌وری تخم در سطوح مختلف تیامین محلول در آب بر بهبود شاخص‌های انکوباسیون و رشد لارو فیل ماهی پرورشی ۵۷
- ۳-۳- فاز سوم: تاثیر سطوح مختلف تیامین جیره غذایی بر رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون بچه فیلماهی پرورشی (*Huso huso*) ۵۸
- چکیده ۵۸
- ۳-۳-۱- مقدمه ۵۹
- ۳-۳-۲- مواد و روش‌ها ۶۱
- ۳-۳-۲-۱- مرحله اول آزمایش ۶۱

| | |
|----|---|
| ۶۷ | ۳-۲-۳-۱-مرحله دوم آزمایش |
| ۷۱ | ۳-۳-۳-نتایج |
| ۷۱ | ۳-۳-۱-مرحله اول آزمایش |
| ۷۴ | ۳-۲-۲-۲-مرحله دوم آزمایش |
| ۸۱ | ۳-۴-۳-بحث |
| ۸۱ | ۳-۴-۱-مرحله اول آزمایش |
| ۸۳ | ۳-۴-۲-مرحله دوم آزمایش |
| | ۳-۳-۵- نتیجه گیری نهایی فاز سوم: تأثیر سطوح مختلف تیامین جیره غذایی بر رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های |
| ۸۶ | گوارشی و برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهی پرورشی (<i>Huso huso</i>) |
| ۸۸ | منابع |
| ۹۷ | چکیده انگلیسی |

چکیده

مطالعه حاضر در راستای افزایش بهره‌وری مولدین، ارتقای عملکرد تولیدمثل، درصد زنده‌مانی لارو و بچه‌فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) به منظور بهینه‌سازی بهره‌وری مولدین و جیره غذایی آنها در سه فاز مطالعاتی طراحی و اجرا گردید.

در راستای اجرای پروژه در فاز اول (تأثیر تیامین بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی فیل ماهی پرورشی): تعداد ۹۷ عدد مولد فیل ماهی در مرحله رسیدگی جنسی ۳ به ۴ با میانگین وزن ۳۸ کیلوگرم در ۴ حوضچه بتنی گرد (قطر ۸ متر - مساحت ۵۰ متر مربع - ارتفاع آبگیری ۱/۶ متر - حجم آبگیری ۸۰ متر مکعب - دبی آب ۲/۷ لیتر بر ثانیه) تقسیم و با جیره غذایی ویژه مولدین محتوی سطوح مختلف ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم تیامین هیدروکلراید در کیلوگرم جیره (محتوی ۴۹ درصد پروتئین، ۴۳۰۰ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی قابل هضم، ۱۴ درصد چربی، ۲۲ درصد کربوهیدرات قابل هضم، ۶۰۰ میلی‌گرم ال کارنتین و ۱/۲ درصد اسید چرب لینولئیک و ریز مغذی‌های مورد نیاز بصورت سوپر مکمل) مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان هر سال، ماهیان زیست‌سنجی شده و پارامترهای رشد مانند وزن نهایی، افزایش وزن کسب شده، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بررسی شدند که اختلاف معنی‌داری در پارامترهای رشد بین تیمارها دیده نشد ($P > 0/05$). برخی شاخص‌های تولید مثلی از قبیل میانگین سطوح تستوسترون (T) و استرادیول (E2) و ۱۷ بتا - استرادیول در انتهای دوره بطور معنی‌داری در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ گرم در کیلوگرم تیامین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت ($P < 0/05$). در انتهای دوره پرورش مقادیر متوسط G6PDH (گلوگز شش فسفات دهیدروژناز) در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بطور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد بالاتر بود.

میزان تیامین کل تخم حاصل از ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم تیامین، به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت ($p < 0/05$). مشخص گردید که اضافه نمودن تیامین باعث افزایش میزان تیامین و در نتیجه افزایش اندازه تخمک در مولدین گردید. این مطالعه نشان داد که تیامین عملکرد تولید مثلی ماهیان را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری‌که بالاترین میزان قطر تخمک در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم تیامین مشاهده شد. با توجه به اهمیت تیامین در سنتز کربوهیدرات به نظر می‌رسد افزایش تیامین در ماهیان باعث افزایش ویتلوژنین و در نهایت درشت‌تر شدن اندازه تخم شده باشد. دو سال پس از تغذیه با تیامین تعداد ۲۰ عدد از مولدین به مرحله IV رسیدگی جنسی رسیدند که اغلب مربوط به تیمار تغذیه شده با سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم تیامین در کیلوگرم جیره بود که منجر به تولید تخمک‌هایی با قطر ۳/۵۶ تا ۳/۸۱ میلی‌متر شد. میانگین، نسبت خاویار به وزن بدن در مولدین فیل ماهی در پروژه مذکور ۱۳/۷۴ درصد بوده که از نرخ بسیار مناسبی برخوردار می‌باشد. با توجه به تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد تیامین می‌تواند بر برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و تولید مثلی اثر بگذارد و یک ماده موثر در تولید مثل ماهیان خاویاری باشد که نیاز به مطالعات کامل‌تری دارد.

فاز دوم (اثر غوطه‌وری تخم در سطوح مختلف تیامین محلول در آب بر بهبود شاخص‌های انکوباسیون و رشد لارو فیل ماهی پرورشی): به‌منظور بررسی اثر تیامین بر شاخص‌های انکوباسیون فیل ماهی تخم‌های حاصل از تکثیر مولدین نر و ماده پرورشی پس از لقاح و در زمان جذب آب به‌ترتیب با چهار تیمار و سه تکرار در هر تیمار شامل غلظت‌های شاهد (صفر میلی‌گرم تیامین در لیتر آب)، T_{500} (۵۰۰ میلی‌گرم تیامین در لیتر آب)، T_{1000} (۱۰۰۰ میلی‌گرم تیامین در لیتر آب) و T_{1500} (۱۵۰۰ میلی‌گرم تیامین در لیتر آب) به مدت ۳۰ دقیقه به روش غوطه‌وری تحت درمان با تیامین محلول در آب قرار گرفتند. سپس تخم‌ها پنج بار با آب تازه شستشو داده و تا زمان تخم‌گشایی در انکوباتورهای مخصوص نگهداری شدند. شاخص‌های انکوباسیون و رشد لارو از ۲۴ ساعت پس از لقاح تخم تا ۴۴ روز پس از شروع تغذیه فعال لارو بررسی شدند. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین بازماندگی تخم از ۲۴ ساعت پس از لقاح تا زمان تخم‌گشایی به ترتیب در تیمار T_{500} و تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). تیامین در سطوح T_{1000} و T_{1500} توانست منجر به افزایش معنی‌دار طول و وزن به دست آمده در انتهای دوره شود ($p < 0.05$). همچنین غوطه‌وری تخم در تیامین محلول توانست منجر به افزایش نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در دو تیمار T_{1000} و T_{1500} در روز ۳۶ پس از شروع تغذیه فعال گردد ($p < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین و کارایی چربی در تیمارهای T_{500} و شاهد به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). کمترین درصد بازماندگی لارو از زمان شروع تغذیه فعال تا ۴۴ روز بعد در تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). در مجموع نتایج تحقیق نشان داد، غوطه‌وری تخم در محلول تیامین می‌تواند منجر به افزایش رشد و بازماندگی لارو گردد. لذا پیشنهاد می‌شود که تخم فیل ماهی پس از لقاح به مدت ۳۰ دقیقه در محلول تیامین حداقل به میزان ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار داده شود.

فاز سوم: تأثیر سطوح مختلف تیامین جیره غذایی بر رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و برخی فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون بچه فیل ماهی پرورشی): تیامین یک ماده مغذی حیاتی در مرحله لاروی و رشد ماهی است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات مکمل غذایی تیامین بر بقا، عملکرد رشد و پارامترهای بیوشیمیایی لاروهای فیل ماهی و نیز اثر این مکمل بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی، ایمنی و آنتی‌اکسیدانی در فیل ماهیان جوان طراحی و اجرا شد. بدین منظور بررسی به صورت دو مرحله‌ای انجام گردید: مرحله اول بررسی اثر تیامین برای لاروهای تا ۳ گرم و مرحله دوم برای ماهیان با وزن ۳ گرم به مدت ۱۲ هفته بود. لاروهای ماهی از وزن ۵۰ میلی‌گرم (۱۸ روز پس از تفریخ) تا ۳ گرم (۴۴ روز پس از تفریخ) با جیره‌های حاوی ۰ (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیامین تغذیه شدند. تیامین به طور قابل توجهی بقای لارو، سرعت رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، پروتئین و خاکستر کل بدن را افزایش، اما چربی کل بدن، رطوبت، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز را کاهش داد. بیشترین میزان بقا و خاکستر کل بدن در تیمار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیامین مشاهده شد. بیشترین فعالیت پروتئین و لیپاز کل بدن در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیامین ملاحظه گردید. بیشترین سرعت رشد، فعالیت آمیلاز و همچنین کمترین مقدار چربی کل بدن، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیامین مشاهده شد. همه ماهی‌های تیمار شده با تیامین فعالیت‌های پیسین و کیموتریپسین مشابهی را نشان دادند به گونه‌ای که فعالیت آنزیم‌های

ذکر شده، بالاتر از تیمار شاهد بود. هیچ اثر قابل توجهی از مکمل تیامین در رژیم غذایی بر روی تریپسین، لیزوزیم کل بدن، کمپلمان، فعالیت لاکتات دهیدروژناز و سطوح ایمونوگلوبولین (IgM) وجود نداشت. با توجه به نتایج به دست آمده، مصرف ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل تیامین می‌تواند عملکرد لارو فیل ماهی را افزایش دهد.

برای انجام فاز دوم آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۱۲ هفته با جیره‌های حاوی ۰ (شاهد)، ۵ (TS5)، ۱۰ (TS10)، و ۲۰ (TS20) میلی گرم بر کیلوگرم تیامین تغذیه شدند. افزایش معنی‌داری در شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف تیامین نسبت به گروه شاهد گزارش شد. مقدار پروتئین کل بدن به طور معنی‌داری در ماهیان تغذیه شده با مکمل تیامین افزایش یافت و بیشترین میزان پروتئین بدن در ماهیان تیمار TS10 مشاهده شد. فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین، لپاز، پپسین و آمیلاز) به طور معنی‌داری در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی تیامین افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپاراتات آمینو ترانسفراز به طور معنی‌داری در تیمارهای TS۱۰ و TS۲۰ در مقایسه با تیمار شاهد کاهش و پارامترهای ایمونولوژیک هومورال به طور قابل توجهی در رژیم‌های غذایی حاوی تیامین نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. مکمل تیامین جیره به طور معنی‌داری فعالیت لیزوزیم و کمپلمان و نیز مقدار ایمونوگلوبولین (IgM) سرم خون را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داد. فعالیت لیزوزیم و مقدار IgM به طور معنی‌داری در تیمارهای TS10 و TS20 بالاتر از تیمار TS5 بود. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز، گلوکاتایون اس ترانسفراز و ترنسکتولاز اندازه‌گیری شده در کبد ماهیان تیمارهای TS10 و TS20 به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. فعالیت آنزیم کاتالاز کبد در تیمارهای تغذیه شده با مکمل تیامین نیز بالاتر از تیمار شاهد بود. در عوض، مقدار مالون دی‌آلدئید تیمارهای TS5، TS10، و TST20 طور قابل توجهی کمتر از تیمار شاهد بود.

اگرچه تمام سطوح تیامین (۲۰-۵ میلی گرم در کیلوگرم) اثرات مفیدی بر روی فاکتورهای مختلف آزمایش شده نشان داد، مقدار ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم تیامین اثر مثبتی بر اکثر فاکتورهای آزمایش شده داشت.

بنابراین این غلظت از مکمل تیامین، برای افزودن به رژیم غذایی فیل ماهیان جوان جهت بهبود رشد و سلامت آنها توصیه می‌شود. با اجرایی شدن این دستاورد در مزارع پرورش ماهیان خاویاری، ضمن کاهش هزینه‌های پرورش به دلیل کاهش زمان بلوغ، افزایش راندمان تکثیر و کاهش تهاجم به منابع طبیعی و بازسازی ذخایر این گونه و تجاری سازی آن، گامی موثر در راستای تأمین بخشی از تخم لقاح یافته، لارو مورد نیاز صنعت آبی پروری و تولید بچه ماهیان خاویاری و در نهایت تضمین سلامت جامعه و امنیت غذایی کشور خواهد بود. این موضوع می‌تواند استراتژی مهمی جهت توسعه پایدار در صنعت پرورش ماهیان خاویاری و اقتصادی نمودن آن در کشور باشد.

کلمات کلیدی: فیلماهی پرورشی، تیامین، کیفیت انکوباسیون، سیستم ایمنی، بازماندگی