تأثیر ال- کارنیتین بر میزان رشد،بقاء، تولید مثل و ترکیب اسیدهای چرب*Artemia parthenogenetic* در شرایط آزمایشگاهی

یاسمن خامه چین [۲و۱*]، رامین مناف فر [۳]، امیر توکمه‌چی [۳]، ویدا حجتی [۱]، امید ملکی بالاجو [۱]

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
۲. عضو باشگاه پژوهشگران جوان
۳. گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه

چکیده
ارزش غذایی و برخی ویژگی‌های خاص آرتمیا موجب شده است که این موجود به عنوان یک غذای زنده و یک مدل بیولوژیک در آبزی‌پروری و تحقیقات مورد توجه قرار گیرد. ال- کارنیتین به عنوان یک مکمل غذایی باعث تحریک اکسیداسیون اسیدهای چرب، افزایش احتباس نیتروژن و افزایش مقاومت در برابر استرس‌های محیطی می‌شود که اخیراً کاربرد جالبی در پرورش موجودات مختلف یافته است. در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف (۱، ۱۰، ۱۰۰ و۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) ال-کارنیتین روی رشد، بقاء، تولید مثل و پروفایل اسیدهای چرب *Artemia parthenogenetic* مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سیست آرتمیا در شرایط مناسب تفریخ شده و لاروهای حاصل در شوری ۸۰ گرم در لیتر با ترکیبی از مخمر غنی‌سازی شده با اسیدهای چرب غیراشباع و جلبک *Dunaliella tertioleca* به مدت ۱۵ روز تغذیه شدند. ال- کارنیتین در غلظت‌های اشاره شده به صورت مستقیم و همچنین به صورت غنی سازی شده در درون جلبک تک‌سلولی در اختیار آرتمیا قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که این ماده تأثیر مثبتی بر تحریک بلوغ جنسی تیمارهای مورد آزمایش داشته و همچنین موجب بلوغ زودرس شده است به طوری که در روز ۱۳ اولین بلوغ زودرس در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال- کارنیتین با میانگین ۵/۰۴٪ دیده شد. بررسی میزان رشد نیز حاکی از این بود که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال- کارنیتین بهترین تأثیر را بر رشد کلی آرتمیا داشته است ($P<0/05$) . همچنین در ترکیب اسید چرب در هیچ یک از غلظت ها اسیدچرب DHA مشاهده نمی‌شود. ال- کارنیتین می‌تواند به عنوان یک ماده محرک رشد و بلوغ جنسی، کاربرد خوبی در آبزی‌پروری و تحقیقات مولکولی داشته باشد.

واژگان کلیدی: آرتمیا پارتوژنتیک، ال- کارنیتین، بلوغ زودرس، رشد، بقاء، مخمر، DHA

*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: yasaman.khamechin@gmail.com

۱. مقدمه

آرتمیا یکی از انواع مهم و نسبتا گسترده سخت-پوستان است که از آب‌های شور تا آب‌های خیلی شور که میزان املاح آنها ممکن است تا چند برابر آب دریا باشد زندگی می‌کند. اسم و جنس این سخت‌پوست به زبان لاتین با توجه به شکل ظاهری آن آرتمیا به معنی گوشواره آبی می‌باشد. در زبان انگلیسی به آن آرتمیا *(Artemia)* یا میگوی آب‌شور *(Brine shrimp)* می‌گویند (اکبری و همکاران۱۳۸۷؛ وجود زاده و همکاران ۱۳۸۶؛ Dong *et al*., 2005). آرتمیا گسترش جهانی دارد و در دنیا تحت عنوان آرتمیای دو جنسی *Artemia Bisexual* و آرتمیای بکرزا *Artemia Parthenogenetic* مورد شناسایی قرار گرفته‌است (Triantaphyllidis *et al*., 1995). با روشن شدن ارزش غذایی و کاربرد آرتمیا در تغذیه ماهیان پرورشی، برای اولین بار آکواریوم عمومی سانفرانسیسکو موفق به جمع‌آوری و خشک کردن تخم مقاوم آن اصطلاحاً سیست نامیده می‌شود گردید. از نیمه دوم قرن نوزدهم به بعد مطالعات و تحقیقات وسیعی در رابطه با مورفولوژی، اکولوژی، هیستولوژی، ژنتیک، بیوشیمی، توکسیکولوژی، بیولوژی مولکولی و بسیاری از موضوعات دیگر آرتمیا آغاز گردیده و سال به سال گسترش بیشتری یافته است. در حال حاضر تحقیقات و پژوهش در مورد موضوعات مختلف آرتمیا توسط مرکز مرجع آرتمیا Artemia Reference Center در دانشگاه گنت بلژیک Ghent university و هسته‌های تحقیقاتی بین‌المللی International study on Artemia (I.S.A) در کشورهای مختلف دنبال می‌شود (Sorgeloos, 1980). امروز صنعت آبزی پروری خصوصاً پرورش میگو به صورت اجتناب ناپذیری با آرتمیا پیوند خورده است (Agh ., 2001). مهمترین عامل برای استفاده از آرتمیا به عنوان غذای زنده، ارزش غذایی بالای آن‌ها بخصوص ناپلیوس آن است که دارای حداکثر ۶۶ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی بوده و همچنین کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب را در حد مطلوب دارا می‌باشد (Ahmadi *et al*., 1990). در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۵۱ در پرورش ماهیان خاویاری از آرتمیا استفاده شد. استفاده از غذاهای سنتتیک، غذاهای گیاهی و یا استفاده از مخمرها به دلیل روش تغذیه نتایج متفاوتی را از رشد در آرتمیا نشان داده است، به این منظورجلبک همراه با ال-کارنیتین و مخمر غنی شده به عنوان منبع تغذیه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت تا بتوانیم تاثیر این منبع غذایی را بر روی رشد، بقاء، بلوغ زودرس و پروفایل اسیدچرب بر روی گونه *Artemia parthenogenetic* را بررسی کنیم.

کارنیتین نوعی پرویتامین است که قبلا تحت عنوان ویتامین BT ویا B_{11} شناخته می‌شد. کارنتین با فرمول شیمیایی$NO_2H_{15}C_7$ به صورت محلول در آب می باشد و دارای وزن مولکولی ۱۶۱,۲ می باشد (Aoki *et al*., 2002). وجود کارنیتین برای متابولیسم و حرکت اسیدهای چرب در داخل سلول ضروری است. مشخص شده است که این ماده در ساختمان آنزیمی به نام کارنیتین استیل ترانسفراز شرکت می کند که بخشی از مکانیسم کوآنزیم A و استیل کوآنزیم A را تشکیل می‌دهد. لازم به ذکر است که کارنیتین در۲ فرم یافت می شود که ال- کارنیتین تنها فرم فعال آن از لحاظ بیولوژیک است و اصولاً فرم D درسیستمهای بیولوژیک یافت نمی شود. همچنین کارنیتین تنها ترکیب ویتامینی است که برخلاف سایر ویتامینها فرم ال آن فعال است ومصرف فرم D و DL تأثیرات منفی به همراه دارد اصولاً بیوسنتز داخلی کارنیتین مستلزم وجود آسیدهای آمینه متیونین، لیزین، ویتامینهای نیاسین واسید اسکوربیک می باشد. مهمترین نقش ال-کارنیتین به عنوان یک مولکول حامل در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره به داخل (Aoki *et al*., 2002)، بنابراین می تواند نقش حیاتی را در متابولیسم چربی ایفا کند ودرنتیجه با افزایش قابلیت جذب پروتئین باعث افزایش رشد گردد(Sorgeloos., 1998).

استفاده از مکمل ال- کارنیتین (L- Carnitine) در جیره آبزیان از چندین جهت حائز اهمیت می باشد. این ماده با عملکرد ویژه خود به عنوان یک افزاینده رشد، موجب سوخت و ساز و جذب بالای چربی از جیره غذایی شده و باعث صرفه جویی در مصرف پروتئین می‌شود. بدین ترتیب با افزایش جذب انواع اسیدهای چرب، آبزیان در مقابل مقادیر سمی آمونیاک ناشی از تراکم، مقاومت بیشتری یافته و در کل باعث مقابله با شرایط استرس‌زای محیطی مانند تغییرات ناگهانی دمای آب می‌شود. همچنین تأثیر این ماده بر اسپرماتوژنز و بهبود میزان زاد و ولد نیز از موارد تأثیر مثبت این ماده گزارش شده است.

۲. مواد و روش ها

سیست مورد استفاده در این مطالعه از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی تهیه شد. این سیست‌ها در شرایط مناسب (شوری g/l ۳۵، دمای °C ۱±۲۷ و نور ۳۰۰۰-۲۰۰۰ لوکس و ۹-pH=۷ و هوادهی کافی بعد از مدت ۲۴ ساعت تفریخ شدند. برای تهیه شوری ۳۵ گرم بر لیتر مقداری از آب دریاچه ارومیه با شوری بیش ازg/l ۳۰۰ فیلتر شد تا هر گونه آلودگی وسیست از آن جدا شود. در نهایت با افزودن آب شیر به آن میزان شوری به ۳۵ رسانده شد که این شوری توسط شوری‌سنج و pH توسط pH متر تنظیم شد. سپس آب در ظرف مخصوص تفریخ ریخته شد و داخل آکواریومی که دمای آن توسط بخاری آکواریومی در حد °C۱ ±۲۷ بود قرار داده شد. عمل هوادهی هم توسط یک پیپت پلاستیکی فیلتردار و لوله‌های هوادهی که به پمپ مرکزی وصل می‌شد از ته مخروط صورت گرفت. نور هم توسط دو مهتابی که درفاصله ۳۰ سانتی متری ظروف تفریخ قرار داشت تأمین شد وحدود ۱ گرم از سیست مربوطه به هر ظرف مخروطی اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت لاروهایInstar-I از آنها خارج شدند. لاروهای نورس آرتمیا(Instar-I)به تعداد ۵۰۰ لارو شمارش شده و در هر ظرف مخروطی که چهار تکرار از هر کدام از تیمارهای کنترل و غلظت‌های مختلف ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ ال- کارنیتین که هر کدام حاوی یک لیتر آب با شوری ۸۰ گرم در لیتر بودند انتقال داده شدند. لاروها طی چند ساعت اول بعد از تفریخ از ذخیره کیسه زرده استفاده کرده و تقریباً هیچ غذایی از محیط نمی‌گیرند. غذای مورد استفاده در طول پرورش، توسط جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* با غلظت cells/ml $۱۰^{۶}$ × ۱۸ و مخمر فورموله شده کارخانه خوزستان با غلظت ۵ گرم در ۳۰۰ میلی‌لیترسرم فیزیولوژی بود که غنی‌سازی شده توسط اسیدهای چرب غیر اشباعی بود (Agh *et al.*, 2001). غلظت ال- کارنیتین نیز به صورت مستقیم در محیط پرورش و همچنین بوسیله غنی سازی در جلبک مورد تغذیه آرتمیا قرار گرفت. غذادهی طبق جدول غذادهی (Coutteau *et al.*, 1992) هر روز به تعداد آرتمیا محاسبه و انجام شد. برای کشت جلبک در آزمایشگاه استوک‌های آماده از بانک پژوهشکده تهیه و به طور انبوه کشت داده شد. بدین ترتیب که ابتدا به میزان لازم از آب دریاچه فیلتر و سپس توسط دستگاه اتوکلاو استریل شد به ازای هر ارلن ۵ لیتری ۵۰۰ میلی لیتر استوک لازم است و طبق جدول غذادهی ۵ میلی‌لیتر از Valne و ۰/۵ میلی لیتر از ویتامین به ارلن اضافه شد و دهانه ارلن توسط پنبه مسدود و توسط لوله هوادهی و پیپت فیلتردار هوادهی شد تا پس از رسیدن به غلظت مناسب برداشت شود. پس از برداشت، غلظت‌های مختلف ال-کارنیتین به جلبک افزوده شدند و به مدت ۲۴ ساعت عمل هوادهی ادامه یافت. جلبک‌های غنی شده با غلظت های مختلف ال- کارنیتین در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال تا زمان مصرف نگهداری شدند. درصد بقای آرتمیاهای هر دو گونه در روزهای ۷، ۱۱و ۱۵ مورد سنجش قرار گرفت. برای این منظور در این روزها تمامی آرتمیای همه تیمار ها و تمام تکرارها با استفاده از صافی‌های ۳۰۰-۲۰۰ فیلتر شده وتوسط قطره چکان مخصوص شمارش گردیدند. نهایتاً درصد بقاء نسبت به آرتمیاهای اولیه محاسبه

شده ودرصد بقا یادداشت گردید. به منظور بررسی میزان رشد هر دو گونه آرتمیاها از چهار تکرار مختلف هر تیمار به طور تصادفی در روزهای ۷، ۱۱و ۱۵انتخاب و توسط استریومیکروسکوب آینه‌دار مجهز به Projection تصویری از طول کل بدن آرتمیاها رسم گردید، در هر مورد بزرگنمایی مربوطه یادداشت شده و در نهایت این خطوط رسم شده، توسط دستگاه Digitizer اندازه‌گیری و توسط برنامه نرم افزاری مربوطه به اعدادی که نشانگر طول این خطوط بر حسب میلی‌متر بودند تبدبل گردیدند (Sorgeloos., 1997).

همچنین از روز ۱۱ تا ۱۷ روزانه بلوغ هر دو گونه آرتمیاها مورد بررسی قرار گرفت. بررسی آماری داده-ها نیز با استفاده از برنامه آماری SPSS و آنالیزOneway-ANOVA انجام گرفت.

و برای استخراج اسیدهای‌چرب بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌ها در لوله‌های شیشه‌ای درب‌دار مخصوص ریخته شدند و به هر کدام از آنها حدود ۵ میلی‌لیتر محلول متانول و تولوئن (۲:۳V/V) و ۵ میلی‌لیتر محلول تازه تهیه شده استیل کلراید و متانول (۱:۲۰V/V) به عنوان عامل استریفیکاسیون اضافه گردید. درب ظروف محکم بسته و مواد مخلوط شدند و در حمام آب ۱۰۰℃به مدت یک ساعت جوشانده شدند هر ۱۰ دقیقه یکبار تکان داده شدند بعد از اینکه لوله‌ها سرد شدند به هر یک ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۵ میلی‌لیتر هگزان اضافه گردیده و لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی به لوله‌های جدید منتقل گردید و در نهایت از طریق فیلتر سولفات سدیم آبگیری و به بالنهای گلابی شکل انتقال داده شدند و توسط روتاتور در دمای ۳۵℃ تغلیظ گردیدند. سپس در ۰/۵ میلی‌لیتر ایزوکتان حل شدند و به ویال‌های کوچکی انتقال داده شدند و نمونه‌ها جهت تزریق به دستگاه Agilent Technologies 7890A GC System آماده شدند در نهایت درصد هر اسید چرب نسبت به کل اسیدهای چرب هر نمونه با مقایسه طول منحنی‌های هر اسیدچرب با طول منحنی استاندارد داخلی محاسبه شدند (Lepage & Roy, 1984).

جدول۱. جدول غذادهی به ازای هر ناپلی آرتمیا که توسط Coutteau و همکاران در سال ۱۹۹۲ ارائه شده است

روز پرورش	جلبک دونالیلا ترتیولکتا	مخمر خوزستان	حجم محیط کشت
۱	۰/۰۰۲۰۹	۰/۰۰۲۰۹	۲
۲،۳،۴	۰/۰۰۴۱۳	۰/۰۰۴۱۳	۲
۵،۶	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۶۲۵	۲
۷	۰/۰۰۸۲۶	۰/۰۰۸۲۶	۲
۸	۰/۰۱۰۶۰	۰/۰۱۰۶۰	۲
۹	۰/۰۱۷۰۰	۰/۰۱۷۰۰	۳
۱۰،۱۱	۰/۰۲۰۰۰	۰/۰۲۰۰۰	۳
۱۲،۱۳	۰/۰۲۵۰۰	۰/۰۲۵۰۰	۳
۱۴،۱۵	۰/۰۳۰۰۰	۰/۰۳۰۰۰	۴
۱۶،۱۷	۰/۰۳۵۰۰	۰/۰۳۵۰۰	۴
۱۸،۱۹	۰/۰۴۲۵۰	۰/۰۴۲۵۰	۴
۲۰ و بعد	۰/۰۵۰۰۰	۰/۰۵۰۰۰	۴

۳. نتایج

بررسی میزان رشد *Artemia parthenogenetic* در اثر تغذیه با مقادیر مختلف ال-کارنیتین در جدول ۲ نشان داد که در روز هفتم *Artemia parthenogenetic* غذادهی شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم بیشترین رشد و گروه شاهد کمترین رشد را داشتند که با هم اختلاف معنی‌داری داشتند (P>۰/۰۵) و گروه ۱۰۰۰ اختلاف معنی‌داری با گروه ۱۰ میلی‌گرم نداشت. اما در روز یازدهم بیشترین رشد گروه ۱۰۰ میلی‌گرم و کمترین رشد را گروه کنترل داشتند که باز هم این دو گروه اختلاف معنی‌داری نسبت به هم داشتند(P>۰/۰۵) . و گروه ۱۰۰ با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند. روز پانزدهم گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم بیشترین رشد و گروه ۱۰ میلی‌گرم کمترین رشد را داشتند. که نسبت به هم اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دادند. و در میان گروه ۱۰۰ میلی‌گرم و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. و همچنین گروه ۱۰ میلی‌گرم و کنترل هم اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند.

جدول۲. میزان رشد در ۵ تیمار مختلف ال- کارنیتین در *Artemia parthenogenetic*

روز غلظت	۷	۱۱	۱۵
کنترل	۲/۸۸ ±۰/۶۴a	۴/۶۴ ±۰/۸۱a	۶/۶۷ ±۰/۸۲a
۱ میلیگرم ال کارنیتین	۳/۱۸±۰/۲۹ab	۵/۸۴ ±۰/۹۷b	۶/۹۸ ±۱/۳۹ab
۱۰ میلیگرم ال کارنیتین	۳/۳۱±۰/۲۰b	۵/۴۵ ±۰/۷۷b	۶/۵۰ ±۰/۶۶a
۱۰۰ میلیگرم ال کارنیتین	۳/۰۹ ±۰/۵۳ab	۵/۹۵ ±۱/۸۵b	۷/۷۱ ±۱/۲۸b
۱۰۰۰ میلیگرم ال کارنیتین	۳/۳۳ ±۰/۵۸b	۵/۶۱±۱/۲۰ b	۷/۷۲ ±۱/۵۰b

اعداد در ستون با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری هستند (p<0.05).

بررسی میزان بقاء *Artemia parthenogenetic* در اثر تغذیه با مقادیر مختلف ال-کارنیتین در جدول ۳ نشان داد که در روز هفتم *Artemia parthenogenetic* که با گروه ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین غذادهی شده بودند بیشترین و گروه کنترل که فاقد مکمل ال-کارنیتین بودند کمترین میزان بقاء را داشتند که این دو گروه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشتند (P>۰/۰۵) . در روز یازدهم بیشترین بقاء گروه ۱۰۰۰ و کمترین بقاء گروه کنترل بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P<۰/۰۵) . در روز پانزدهم بیشترین بقاء گروه ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین و کمترین بقاء گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P>۰/۰۵) . گروه ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین با گروه ۱۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین اختلاف آماری را نشان ندادند.

اعمال غلظت‌های مختلفی از ال-کارنیتین موجب شد که بلوغ آرتمیا در تمیارهای مختلف ال-کارنیتین در روزهای مختلف پرورش به شدت متفاوت دیده شود. جدول درصد بلوغ *Artemia parthenogenetic* به تفکیک تیمار غذایی و جنسیت در ذیل آورده شده است (جدول ۴).

جدول ۳. میزان رشد در ۵ تیمار مختلف ال- کارنیتین در *Artemia parthenogenetic*

روز غلظت	۷	۱۱	۱۵
کنترل	۷۴/۵ ±۲۱/۹۳a	۷۲/۲۵ ±۲۱/۷۷ a	۶۳± ۱۸/۵۴ab
۱ میلیگرم الکارنیتین	۹۳±۴/۸۹ab	۸۵/۲۵± ۴/۲۷a	۷۸/۲۵ ±۲/۷۵ab
۱۰ میلیگرم الکارنیتین	۹۱±۶/۲۱ ab	۸۵/۵۷± ۲/۹۸a	۷۹/۷۵± ۶/۷۰b
۱۰۰ میلیگرم الکارنیتین	۹۶± ۱/۴۱ b	۸۵/۷۵ ±۶/۵۰a	۸۲/۷۵± ۳/۷۷b
۱۰۰۰ میلیگرم الکارنیتین	۹۴/۷۵ ±۲/۶۲ ab	۸۶± ۴ a	۲۶ ±۳۳/۰۷a

اعداد در ستون با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری هستند (P<۰/۰۵) .

در*Artemia parthenogenetic* گروه ۱۰۰۰ میلی-گرم ال-کارنیتین از روز ۱۳ اولین بلوغ را نشان دادند و گروه ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین از روز ۱۴ اولین بلوغ را نشان دادند و گروه‌های ۱ و ۱۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین از روز ۱۵ بلوغ خود را نشان دادند و گروه کنترل از روز ۱۷ بلوغ خود را نشان دادند.

جدول۴. درصد بلوغ زودرس در ۵ تیمار مختلف ال ـ کارنیتین در *Artemia parthenogenetic* در روزهای مختلف

روز غلظت	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
	ماده	ماده	ماده	ماده	ماده
کنترل	۰	۰	۰	۰	۰/۲۰
۱ میلیگرم الکارنیتین	۰	۰	۰/۰۶	۰/۱۱	۰/۴۵
۱۰ میلیگرم الکارنیتین	۰	۰	۰/۰۷	۰/۱۵	۰/۳۰
۱۰۰ میلیگرم الکارنیتین	۰	۰/۰۱	۰/۳۸	۰/۴۱	۰/۷۱
۱۰۰۰ میلیگرم الکارنیتین	۰/۱۹	۰/۱۵	۰/۲۸	۳/۰۴	۳/۳۸

در بررسی پروفایل اسیدهای چرب تمامی اسیدهای چرب شاخص و مهم در آبزی پروری مورد بررسی قرار گرفت با توجه به آنچه که در جدول نتایج آمده است. نتایج نشان داد که اسیدچرب C14:0 بیشترین مقدار در گروه کنترل و کمترین مقدار در گروه ۱ میلی‌گرم ال-کارنیتین دیده شد. در اسیدچرب C16:0 بیشترین مقدار در گروه ۱۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار در گروه ۱ میلی‌گرم بود. در اسیدچرب C18:0 بیشترین مقدارش مربوط به گروه ۱۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار مربوط به گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد. اما در اسیدچرب C20:0 فقط در گروه-های ۱و ۱۰ میلی‌گرم مشاهده شد. در اسیدچرب C22:0 فقط در گروه ۱۰ میلی‌گرم دیده شد. C14:1n5 بیشترین مقدار در گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کمترین در گروه ۱ میلی‌گرم مشاهده شد و در سایر گروه‌ها هم دیده نشد. در اسیدچرب C16:1n7 بیشترین در گروه کنترل و کمترین در گروه ۱ میلی-گرم دیده شد.در اسیدچرب C18:1n9 فقط در گروه ۱۰ دیده شد. در اسیدچرب C18:1n7 بیشترین مقدار در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار در گروه ۱ میلی‌گرم مشاهده شد. در اسیدچرب C18:2n6 بیشترین در گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم و کمترین در گروه ۱ میلی‌گرم بود. در اسیدچرب C18:3n3 بیشترین میزان در ارتباط با گروه کنترل و کمترین میزان در

گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بود. در اسیدچرب‌های C18:3n6 و C18:4n3 در هیچ گروهی مشاهده نشد. اما در اسیدچرب C20:2n6 فقط در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بود. در اسیدچرب C20:4n6 بیشترین در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم و کمترین در غلظت ۱ میلی‌گرم دیده شد. در اسیدچرب C20:5n3 بیشترین مقدار در گروه ۱۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین و کمترین کقدار در گروه ۱ میلی‌گرم ال-کارنیتین دیده شد اما اسیدچرب C22:5n6 در هیچ گروهی دیده نشد و در آخر اسیدچرب C22:6n3 بیشترین میزان مربوط به گروه ۱۰۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین و کمترین مربوط به گروه ۱۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین مشاهده شد.

جدول۵. مقایسه درصد اسیدهای چرب مختلف *Artemia parthenogenetic* در اثر تغذیه با مقادیر مختلف ال-کارنیتین

	نام عمومی	*Con.*	*mg ۱*	*mg ۱۰*	*mg ۱۰۰*	*mg ۱۰۰۰*
Saturated						
C14:0	Myristic	۱/۴۶	۱/۰۲	۱/۲۲	۱/۴۴	۱/۳۸
C16:0	Palmitic	۱۶/۵۲	۱۳/۸۷	۲۴/۵۵	۱۶/۴۶	۱۶/۵۹
C18:0	Stearic	۱۱/۱۳	۹/۷۵	۱۵/۰۹	۱۱/۵۵	۱۱/۰۱
C20:0	Arachidic	nc	۰/۵۹	۱/۵۶	nc	nc
C22:0	Behenic	nc	nc	۷/۵۵	nc	nc
Monounsaturated						
C14:1n	Myristoleic	۰/۲۱	۰/۱۳	nc	nc	۰/۲۵
C16:1n7	Palmitoleic	۰/۸۷	۰/۶۷	۰/۷۲	۰/۷۸	۰/۷۵
C18:1n9	Oleic	nc	nc	۰/۶۵	nc	nc
C18:1n7	Vaccenic	۲۷/۲۳	۲۲/۰۶	۴۰/۲۶	۲۹/۷۱	۲۸/۵۹
Polyunsaturated						
C18:2n6	Linoleic	۱۱/۴۳	۹/۹۳	۱/۷۰	۱۲/۸۴	۱۳/۷۹
C18:3n3	α-Linolenic	۱۸/۵۵	۱۵/۴۸	۱۴/۴۳	۱۲/۶۵	۱۳/۲۲
C18:3n6	γ-linolenic	nc	nc	nc	nc	nc
C18:4n3	Stearidonic	nc	nc	nc	nc	nc
C20:2n6	eicosadienoic acid	nc	nc	۰/۸۸	nc	nc
C20:4n6	Arachidonic	۱/۴۳	۱/۱۷	۱/۳۱	۱/۶۹	۱/۴۷
C20:5n3	Eicosapentaenoic	۹/۰۰	۷/۵۰	۱/۰۸	۱۰/۷۳	۱۰/۵۸
C22:5n6	Docosapentaenoic	nc	nc	nc	nc	nc
C22:6n3	Docosahexaenoic	۲/۱۱	۲/۰۵	۱/۷۷	۲/۱۲	۲/۳۲

۴. بحث و نتیجه گیری

در بررسی تاثیر ال-کارنیتین بر روی موجودات مختلف و در تحقیق حاضر مشخص شد که ال-کارنیتین تأثیر مثبتی روی رشد رشد *Artemia parthenogenetic* داشته بطوری‌که در این تیپ آرتمیا تیماری که بالاترین غلظت ال-کارنیتین را دریافت کرده بودند نسبت به سایر گروه‌ها بیشترین رشد را داشتند و همین غلظت کمترین بقاء را به خود اختصاص دادند ولی در مقایسه با گروه کنترل بقاء بیشتری از خود نشان داد و بنابراین در این گونه تأثیر مثبتی روی بقاء از خود نشان می‌دهند. این نتایج به درستی نشان دادند که ال-کارنیتین در غلظت‌های مختلف تاثیرهای متفاوتی بر روی گونه‌های تیپ های مختلف آرتمیا دارد که بایستی بصورت کامل مورد بررسی قرار گیرد. به عنوان یک نتیجه جنبی بررسی دقیق تیمارهای آزمایشی نشان داد که در غلظت‌های

بالای ال-کارنیتین آرتمیاها از نظر تولیدمثل زودتر به بلوغ رسیدند.

بررسی میزان اسیدهای چرب *Artemia parthenogenetic* که تغذیه با ال-کارنیتین و مخمر غنی سازی شده نشان داد که مقدار اسیدچرب دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) در هیچ یک از غلظت-ها مشاهده نمی شود. اسیدچرب ایکوزاینتانوئیک اسید (EPA) در *Artemia parthenogenetic* *بیشترین* مقدار مربوط به گروه ۱۰۰ میلی‌گرم و کمترین مقدار مربوط به گروه ۱ میلی‌گرم ال-کارنیتین به خود اختصاص دادند.

البته تأثیر ال- کارنیتین بر روی همه موجودات نیز یکسان نیست. مثلاً در تحقیقی که از غلظت‌های مختلف این ماده برای پرورش روتیفر استفاده شده بود معلوم شد که ال- کارنیتین می‌تواند به عنوان یک ماده تحریک کننده رشد، بقاء و تولید مثل برای روتیفر مطرح شود (Dong *et al*, 2005). استفاده از مکمل غذایی ال- کارنیتین روی ماهی قزل‌آلای رنگین کمانی باعث افزایش رشد ۴ درصدی و افزایش جذب غذایی در این ماهی می‌شود (Santulli and Amelio 1989). کارنیتین توسط انرژی حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد ماهی آزاد آتلانتیک باعث افزایش سرعت رشد در این حیوان می‌شود(Becker *et al*, 1999).ماهیان آب شور براحتی می‌توانند کارنیتین را از محیط بدست بیاورند در ماهی Sea bass اروپایی بطور مشخصی افزایش سرعت رشد دیده می‌شود هنگامی که کارنیتین در آب تانک پرورشی حل شود (Santull and Amelio 1989) رشد در نتیجه تأثیر کارنیتین از طریق افزایش استفاده از انرژی غذایی در نتیجه افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب بدست می‌آید (Becker Jayaprakas .*et al*, 1999) و همکارانش در سال ۱۹۹۶ اثر مکمل ال- کارنیتین (در ۴ مقدار مختلف ۹۰۰، ۳۰۰،۵۰۰،۷۰۰mg/kg) را روی رشد و راندمان تولیدمثل ماهی تیلاپیای نر به وزن ۲/۲ g به مدت ۲۵۲روز و به مقدار ٪۵ بیوماس ماهی بررسی کردند، نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین مقدار ال-کارنیتین در جیره جهت افزایش تولیدمثل و رشد ۹۰۰mg/kg می‌باشد (Agarwal and Said 2004).در مطالعات جنبدگی اسپرم از ال- کارنیتین به عنوان یک مکمل تغذیه‌ای، لبنیات درمانی در باروری نر استفاده می‌شود. اخیراً اینطور استدلال کردند که غلظت کارنیتین آزاد در پلاسمای منی، انسان با کیفیت منی مرتبط است (Morano *et al*., 2007; Sinclair, 2000). بدین ترتیب مشخص شد که استفاده از ال- کارنیتین در آزمایشگاه می‌تواند بلوغ اسپرم را ارتقا دهد و حرکت پذیری (جنبش) آن را افزایش دهد.

همانطور که گفته شد کارنیتین نوعی پرووِیتامین است که قبلاً تحت عنوان ویتامینBT شناخته می-شد. ال-کارنیتین با فرمول ۳-هیدروکسی۴-تری متیل‌آمونیوم‌بوتیرات به عنوان یک نمک داخلی بدن نقش‌های مهمی را در مسیرهای متابولیکی مختلف بازی می‌کند و به عنوان کوفاکتور برای انتقال اسیدهای‌چرب به داخل ماتریکس میتوکندری عمل می‌کند و با کاهش سطح اسیدهای‌چرب و با جلوگیری از کاتابولیسم پروتئین‌ها باعث افزایش سطح پروتئین‌ها شده و در نهایت منجر به افزایش رشد بدن می‌شود (Moder *et al*., 2005). با استفاده از مکمل غذایی ال-کارنیتین روی ماهی Rainbow trout با نام علمی*oncorhynchus mykiss* نتیجه گرفته شد که اگر چه اختلاف آماری در محتوای لیپید کل ماهیچه نداشت اما گروه تغذیه شده با کارنیتین محتوی لیپید کمتری نسبت به گروه کنترل داشت و نیز کارنیتین هیچ تاثیر روی وزن مفید قزل-آلا نداشت. اما در تحقیق دیگری اعلام شد اعمال ال-کارنیتین در غذا باعث فعال شدن متابولیسم لیپید می‌شود (Nakagawa *et al*., 2000). فعال شدن متابولیسم لیپید ممکن است در نتیجه کاهش امولوسیون لیپیدها در ماهی تغذیه شده با ال-کارنیتین باشد. از آنجایی که تاثیر ال-کارنیتین روی امولوسیون لیپیدها می‌باشد تغذیه با این مکمل

غذایی روی متابولیسم اسیدچرب از طریق تغییر انرژی از C14-16 به C20-22 اسیدچرب اعمال می-شود (Chatzifotis *et al*.,1995, 1996) همچنین نتایج نشان داد که ال-کارنیتین تاثیر مثبتی روی محتوی اسیدچرب DHA polyunsaturated در قزل آلا می‌گذارد.

اکسیداسیون اسیدهای چرب در کبد ماهی آزاد آتلانتیک هنگام استفاده از ۳۷۰۰ میلی‌گرم کارنیتین افزایش نشان می‌دهد که این با کاهش سطح چربی در ماهیچه و احشاء بدن همراه است بدون افزایش در وزن و راندمان غذایی و افزایش مشخص در پروتئین (Ji *et al*., 1996). بنابراین کارنیتین افزایش در بکارگیری و استفاده از چربی‌های ضروری را القاء می-کند که منجر به یک پیشرفت در سرعت رشد می-شود. همچنین کارنیتین تاثیر آشکاری روی غلظت چربی در هیبریدتیلاپیا مه با ۱۵۰-۳۰۰ میلی‌گرم ال-کارنیتین تغذیه شده باشند ندارند (Jayaprakas *et al*., 1996). رابطه بین تغیرات ساختار اسیدچرب در پلاسما و پیشرفت آسیب دیدگی ناحیه لومینال آئورت خرگوش نیز آنالیز شده است و نتایج حاکی از این است که خرگوش‌های بدون مکمل ال-کارنیتین در پایان آزمون حدود ۸۳/۵ درصد آئورت با تصلب شرائین داشتند در حالی که جانورانی که مکمل ال-کارنیتین مصرف کرده بودند فقط ۲۱ درصد آسیب دیدگی آئورت نشان می‌دادند که مساوی با کاهش مشخص ۷۵ درصدی آسیب است(Diaz Gomez *et al*., 2006). بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه می‌توان گفت که ال- کارنیتین تأثیر بسزایی روی رشد و بقاء و بلوغ زودرس *parthenogenetic Artemia* داشته و می‌تواند به عنوان یک ماده محرک رشد و بلوغ جنسی کاربرد خوبی در آبزی پروری و تحقیقات مولکولی داشته باشد.

منابع

اکبری، پ.، حسینی، س. ع.، ایمانپور، م.، سوداگروف، م. و شالویی، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثر ناپلئوس‌های آرتمیا ارومیانا غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C روی مقاومت در برابر تنش-های محیطی دما و و کمبود اکسیژن در لاروهای قزل-آلای رنگین کمانی (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله زیست شناسی ایران جلد۲۱ ،شماره ۴.

وجود زاده، ح.، قزلباش، ف.، ریاحی، ح. و منافی‌فر، ر. ۱۳۸۶. بررسی میزان رشد و بقای سه گونه مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبک‌های تک سلولی، مجله علمی شیلات ایران، سال۱۶، شماره ۴.

Agarwal A., and Said TM, 2004. Carnitines and male infertility. Reprod Biomed Online, 8:376-84.

Ahmadi M.R., Leibovitz H., Simpson K.L. 1990. Nutrient comasition of the Iranian brimp (Artemia urmiana). Comp. Biochem. Physiol. 95: 225-228.

Agh N., Sorgeloos P., Abatzopoulos T., Rezavi Rouhani S.M., Lotfi G.V. 2001. Artemia resources in Iran. International work shop on Artemia and 3 Aquatic animal research. Urmia university, Iran.

Aoki, H., Miyamoto, N.,Furuya,Y., Mankura, M., Endo,Y.and Fujimoto, IC,2002. Incorporation and Accumulation of Docosahexaenoic Acid from the Medium by Pichia methanolica HA-32.

Becker, K., Schreiber, S., Angoni, C., Blum, R. 1999. Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* **Oreochromis aureus* hybrid to L-carnitine measured over afull fattening cycle under commercial conditions Aquaculture, 174: 313-322.

Coutteau P., L. Brendonck, P. Lavens, and P. Sorgeloos (1992), The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiol., 234: 25-32.

Chatzifotis, S., Takeuchi, T., Seikai, T. 1995. The effect of dietary 1-carnitine on growth performance and lipid composition in red sea bream fingerlings. Fish. Sci. 61: 1004-1008.

Chatzifotis, S., Takeuchi, T., Seikai, T. 1996. The effect of dietary supplementation (carnitine on growth of red sea bream *Pagrus major* fingerlings at two levels of dietary lysine. Aquaculture, 147: 235-248.

Dong M. Z., Takao Y., Mitsuhiro F,2005. effect of L-carnitine enrichment on the population growth, egg ratio and body size of

dysfunction: a double-blind, placebo-controlled study. Eur. Urol., 52: 1768-74.
Nakagawa, H., Mustafa, MG., Takii, K.,Umino, T., Kumai, H. 2000. Effect of dietarycatechin and Spinilina on vitamin C metabolism in red sea bream. Fish Sci. 66:321-326.
Santulli A., Amelio V. 1989. Effecta of Supplemental Dietary Carnitine on Growth and Lipid Metabolism of Hatchery-Reared Sea Bass *Dicentrarchus labrax* L. Aquaculture, 59: 177-186.
Sorgeloos, P. 1980. Life history of the brine shrimp Artemia. In: The brine shrimp. University Press, Wettern, Belgium, ixxx-xxii.
Sorgeloos P, 1998. Biochemical and enzimic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp Artemia at different developmental stage, Aquaculture, 161: 501-514.
Sinclair S.(2000), Male infertility: nutritional and environmental considerations Altern Med Red, 5:28-38.
Triantaphyllidis, G.V., poulopoulou, K.,Abatzopoulos, T.J., Perez, C.A.P., Sorgeloos, P. 1995. International study on Artemia XLIX. Salinity effects onsurvival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics ofbisexual and a parthenogenetic population of Artemia. Hydrobiol., 302: 215-227.
the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. Aquaculture, 248: 51-57.
Diaz comet, M., Urbina, J., Lopez, F., Hernandez Rosales, F. 2006.1carnitine induced modulation of plasma, fatty acid metabolism in hyperlipidemic rabbits. Rev. J. Biomed., 1:33-41.
Jayaprakas, V.,Sambhu, C. 1996. Growth response of white prawn, penaeus indices, to dietary Leamitine. Asian Fish Sci., 9: 209-219.
Ji,H., Bradley, T.M.,Tremblay, G. C.1996.Atlantic salmon *(saltno salar)fed*L-camitine exhibit altered intermediary metabolism and reduced tissue lippid , but no Chang in growth rate . J. Nutr., 126:1937-1950.
Lepage, G. and Roy, C.C., 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research, volume 25,1984, Notes on Methodology, pp. 1391-1396.
Moder, M., Kiebling, A., Loster, H. 2005. Current method for determination of L-carnitine and Acylcarnitine. Monatshefte fur chemie 136: 1279- 1291.
Morano S., Mandosi E., Fallarino M., Gatti A., Tiberti C., Sensi M, 2007. Antioxidant Treatment associated with sildrnafil reduces monicyte activation and markers of endothelial Damage in patients with diabetic erectile