بررسی رفتار تغذیه‌ای ماهی سیلورشارک (*Blantiocheilos melanopterus*) با استفاده از اسیدهای آمینه آزاد اسیدی

- **سمیرا عنایتی*:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**
- **ولی‌اله جعفری:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**
- **رسول قربانی:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: **49138-15739**

تاریخ دریافت: فروردین 1393 تاریخ پذیرش: تیر 1393

چکیده

وجود اسیدهای آمینه در غذاهای آزمایشی باعث تغییر در رفتار غذایی ماهی‌ها شده و مصرف بیش‌تر غذا را در پی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی رفتار غذایی ماهی سیلور شارک نسبت به غلظت‌های مختلف مواد چشایی محرک می‌باشد. در مطالعه حاضر پاسخ‌های رفتار چشایی ماهی‌های سیلورشارک (*Blantiocheilos melanopterus*) 8/15±3/0 گرمی به گرانول‌های حاوی مقادیر مختلف اسید آمینه‌های آسپارتیک و گلوتامیک اسید و تعیین مطبوعیت چشایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور گرانول‌های حاوی غلظت‌های مختلف این مواد و شاهد تهیه و پاسخ‌های رفتار غذایی در مواجه با هر یک از گرانول‌ها ثبت گردید. بیش‌ترین درصد مصرف به‌میزان 85/82 درصد، بالاترین درصد خورده به تلاش 72/59 درصد، در غلظت 0/001 مولار اسیدگلوتامیک مشاهده شد (P<0/05). درصد مصرف دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با شاخص مطبوعیت بود (P<0/05). در مقایسه با شاهد اسیدهای آمینه اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک در دسته اسیدهای آمینه جاذب برای سیلور شارک قرار گرفتند. تفاوت در پاسخ چشایی گونه‌های مختلف ماهی به اسیدهای آمینه مشابه، به اختصاص گونه‌ای در ترجیح چشایی نسبت داده شده است.

کلمات کلیدی: اسیدهای آمینه آزاد اسیدی، رفتارتغذیه‌ای، *Blantiocheilos melanopterus*

مقدمه

در سطح جهانی، صنعت آبزی-پروری از نظر تنوع گونه‌ای و افزایش تراکم و پرورش در حال گسترش است و در حال حاضر هدف از آبزی‌پروری به حداکثر رساندن راندمان تولید، برای بهینه سازی سودآوری می‌باشد. در پژوهش‌هاي مرتبط با تغذیه آبزیان، بیشترین توجه به توازن جیره و مواد مغذي بوده و تاثیر مواد جاذب بر گیرنده‌هاي چشایي و بویایي کم‌تر مورد بررسي قرار گرفته است (Kasumyan و Doving، 2003). درحالي‌که یافته‌هاي موجود حاکي از آن است که ماهي غذاهاي حاوي مواد جاذب چشایي و بویایي را بهتر و با میل بیشتري مصرف مي‌کند (Atema، 1997). هم‌چنین وجود این مواد در جیره غذایي سبب تحریک گیرنده‌هاي چشایي شده و به این طریق مي‌تواند در تسریع بلعیدن غذا نقش داشته باشد (Kasumyan، 2002).

مواد جاذب موادی هستند که گرفتن یک ماده غذایی را توسط شکارچی با استفاده از گیرنده‌های چشایی درون دهانی و بیرون دهانی تسریع می‌بخشند، هم‌چنین شکارچی را تشویق نموده تا از آن ماده غذایی استفاده نماید. به‌علاوه گروهی از

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: samira.enayati25@gmail.com

مواد هم وجود دارد که تاثیر چندانی در رفتارهای تغذیه‌ای ماهی نداشته و سبب تحریک سیستم چشایی بیرون دهانی و درون دهانی ماهی نمی‌شود که این مواد را جز مواد بی اثر معرفی می‌کنند (Kasumyan، 1997). به‌خوبي مشخص شده است که ویژگي چشایي غذا یا طعمه اثر چشمگیر روي مصرف غذا توسط ماهي، نرخ رشد و موفقیت صید دارد (Kasumyan، 1997). در پرورش تجاری، غذا و جیره غذایی 60-50 درصد هزینه تولید را تشکیل می‌دهد. بنابراین برای سود اقتصادی و جبران هزینه‌های ثابت و جاری پرورش باید تا حد امکان هزینه‌های غذا کاهش یابد. افزودن مود جاذب در جیره غذایی می‌تواند سبب تحریک گیرنده‌های چشایی و بویایی شده و در بلعیدن غذا تاثیر داشته باشد (Kasumyan، 2002).

بویایي در اکثر ماهیان سیستم هدایتکننده در دریافت علائم شیمیایي و جستجوي غذا از راه دور است (Doving، 1986) و در تنظیم شکل‌هاي مختلف رفتار ماهي اهمیت دارد (Kasumyan، 1994). در مقابل عملکرد سیستم چشایي در مرحله نهایي رفتار غذایي و تعیین مناسب بودن غذاي کشف شده است (Kasumyan و Doving، 2003؛ Gerking، 1994). حساسیت-هاي چشایي ماهي و رفتار ویژه آن-ها نسبت به مواد چشایي مختلف مي-تواند از نظر کاربردي مهم باشد و ممکن است براي حل مسائل و مشکلات مربوط به صید و پرورش مورد استفاده قرار گیرند (Kasumyan، 1997). مواد محرک گیرنده‌های بویایی و چشایی را به جیره غذایی ماهیان اضافه نموده تا ماهیان غذای تهیه شده را با رغبت بیشتری به مصرف رسانده و از هدر رفتن غذا و آلودگی محیطی جلوگیری و در عین حال رشد آن‌ها افزایش یابد (Kasumyan، 2002).

تحقیق در فیزیولوژی چشایی در دهه اخیر علاوه بر مطالعه مورفولوژی، بافت‌شناسی و نوروفیزیولوژی، گرایش زیادی به کاربرد اسیدهای آمینه به‌عنوان مواد اصلی برای سنجش حساسیت‌ها و قابلیت‌های دستگاه داشته است، گیرنده‌های چشایی ماهیان نسبت به اسیدهای آمینه بسیار حساس هستند، که این امر بی‌تردید در یافتن غذا دارای اهمیت است (فتح‌پور و وحدتی، 1374). حالت دو یونی (+ و -) را یک ترکیب زویتریون می‌نامند. آمینواسیدها در مجاورت اسید و قلیا و یا در محلول آبی، تبدیل به زویتریون می‌شوند و می-توانند همانند اسید یا باز عمل نمایند یعنی یا پروتون بدهند و یا گیرنده پروتون باشند. موادی که چنین خاصیتی دارند را آمفوتر (آمفولیت) می‌نامند. برهمین اساس PH که هر آمینواسید در آن، کاملاً یونیزه شده ولی بار خالص آن، صفر است را PH ایزوالکتریک (PI) می-نامند. اسیدهای آمینه براساس قابلیت‌های عملکردی گروه R می-توانند به انواع اسیدی، بازی، آروماتیک، خطی یا گوگرددار تقسیم شوند. آسپارتیک و گلوتامیک اسیدآمینواسیدهای دی‌کربوکسیلیک هستند بنابراین در PHخنثی دارای بار منفی می‌شوند و جزء گروه‌های اسیدی می‌باشند (کریم‌زاده و همکاران، 1380).

در مطالعه پاسخ‌های چشایی در کپورمعمولی غلظت آستانه برای اسیدآمینه سیستئین 10^{-2} مولار بوده است (Kasumyan و Morsi، 1996). در بررسی ترجیح چشایی و واکنش‌های رفتاری نسبت به محرک‌های چشایی در کپورمعمولی مشخص گردید، که بیش-ترین جذابیت به اسیدآمینه سیستئین است، که مصرف پلت‌ها را 97/3% افزایش می‌دهد، بعد از آن گلوتامیک اسید با 41/8% در رتبه بعدی قرار دارد (Kasumyan، 2002).

Kasumyan و Morsi (1996) حساسیت چشایی کپور معمولی (*Cyprinuscarpio*) به اسیدهای آمینه آزاد و مواد چشایی را با استفاده ازمطالعات رفتارغذایی مورد بررسی قرار دادند. ارتباط مثبت بین جذابیت پلت‌ها و مدت حفظ در حفره دهانی وجود داشته و انواع اسیدهای آمینه باتوجه به پاسخی

که ایجاد کردند به گروه‌های خیلی جاذب، خنثی و دافع تقسیم‌بندی شدند. اسیدهای آمینه سیستئین، پرولین و گلوتامیک اسید از جاذبیت بسیاربالا در این گونه برخوردار بودند. درحالی‌که متیونین در دسته اسیدهای آمینه دافع قرارگرفته و میزان مصرف را به شدت کاهش داده است. در سلسه پژوهش‌هایی که توسط Kasumyan (1997) انجام شد، واکنش‌های چشایی زبانی القا شده به‌وسیله اسیدهای آمینه در 21 گونه از ماهیان بررسی گردید. طبق نتایج، تعداد اسیدهای آمینه محرک در آن گونه‌ها از صفر تا 13 بود، که به‌طورکلی 28% اسیدهای آمینه در گونه‌های مورد آزمایش محرک بودند که در کپورمعمولی 8 اسیدآمینه بی‌اثر، 7 اسیدآمینه بازدارنده و 6 اسیدآمینه محرک بودند. جمع‌بندي مطالب نشان مي‌دهد که آستانه تحريك نسبت به اسيدهاى آمينه براي هرگونه مقدار مشخصي بوده و به‌عنوان يك ويژگي اختصاصي در هر گونه مدنظر است.

با توجه به این‌که اطلاعات خاصی در مورد ویژگی‌های عملکردی سیستم چشایی ماهی سیلورشارک، وضعیت و جوانه‌های چشایی و ترجیح چشایی آن نسبت به مواد محرک وجود ندارد و جهت بررسی تغذیه پایه ماهی سیلورشارک نیازمند تعیین حد آستانه چشایی ماهی است. یافته‌های این پژوهش می‌تواند در تغذیه و تهیه جیره مناسب و متناسب با ترجیح چشایی ماهی سیلورشارک به‌کار گرفته شود. این تحقیق بر آن است که مواد محرک گیرنده‌های چشایی را به جیره غذایی این ماهیان اضافه نموده تا ماهیان، غذای تهیه شده را با رغبت بیشتری به مصرف رسانده و از هدر رفت غذا و آلودگی محیطی جلوگیری و در عین حال رشد آن‌ها افزایش یابد. با مشخص شدن ترجیح چشایی ماهی سیلورشارک با استفاده از مواد چشایی کلاسیک و شاخص‌های رفتاری ماهی در غلظت‌های مختلف اطلاعات بیشتری در زمینه فیزیولوژی و رفتار تغذیه‌ای و ساختن غذاهای مصنوعی به‌کار رود.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد استفاده در تحقیق حاضر، بچه‌ماهیان با طول متوسط 8-6 سانتی‌متری ماهی سیلورشارک بودند، این ماهیان از مراکز تکثیر و پرورش ماهیان آکواریومی تهیه و به مرکز تحقیقات آبزي‌پروري دانشگاه گرگان انتقال داده شدند. قبل از اجراي آزمايش، ماهيان به‌منظور سازگاري در آكواريوم‌هاي معمولي (23×20×30 سانتی‌متر) نگه‌داري شدند. در طي اين مدت، تغذيه يك‌بار در روز انجام شد. ماهي در اين مدت ياد گرفت كه پلت‌هاي معرفي شده به آكواريوم را بعد از چند ثانيه بگيرد (Kasumyan، 2011). رفتارهاي نرمال مانند شناي منظم در زمان تغذيه نشان‌دهنده بومي شدن ماهي با شرايط محيط آزمايشي است (Hara، 2005). یکماه قبل از شروع آزمایش، 20 قطعه ماهی با میانگین وزن 3/80±0/15 گرم به 20 آکواریوم با حجم 5 لیتر منتقل شدند، به‌طوری‌که در هر آکواریوم فقط یک ماهی قرار داده شد. تمام دیواره‌های آکواریوم به‌جز دیواره جلویی جهت مشاهده رفتار ماهی توسط پوششی غیرشفاف پوشیده شدند (Kasumyan و Prokopova، 2001). طی این مدت ماهی‌ها با لارو شیرونومیده منجمد شده تغذیه شدند. روزانه 50 درصد آب آکواریوم‌ها تعویض می‌شد. درجه حرارت آب در طول مدت آزمایش 25/5±0/43 درجه سانتی‌گراد و pH نیز 9±0/23 بود. آزمایش در 4 تیمار با 5 تکرار انجام شد. گرانول‌های دارای مواد محرک، عصاره شیرونومیده و شاهد در تکرارهای تصادفی به ماهی داده می‌شد. یک هفته قبل از شروع آزمایش ماهی‌ها با گرانول‌های دارای عصاره شیرونومیده تغذیه شدند. بعد از این مدت آزمایش برای گرانول‌های دارای مواد محرک در غلظت‌های 0/001، 0/005 و 0/0005 مولار برای آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید و برای شاهد و عصاره شیرونومیده نیز

انجام شد قبل از اجراي آزمايش گرانول‌ها مركب از ژل آگار آگار 2درصد، اسيدآمينه مورد نظر با غلظت معين و ماده رنگزا (اكسيدكروم 0/3 درصد)، تهيه و در اندازه قابل مصرف براي ماهي برش داده شد. گرانول‌هاي كنترل تنها حاوي ماده رنگي هستند. براي انجام آزمايش ترجيح چشايی (آزمايش‌های سری اول) ابتدا از نمونه‌ماهيان يك ماهي برداشته و در آكواريوم‌هاي انفرادي قرار داده شد تا با آكواريوم سازگار شود، در اين مدت و طول مدت آزمايش هوادهي صورت خواهد گرفت. گرانول‌های دارای مواد محرک، شیرونومیده و شاهد در تکرارهای تصادفی به ماهی داده می‌شد. مدت اجراي آزمايش يک دقيقه بود. در اين مدت گرانول‌هاي حاوي يكي از اسيدهای آمينه آزمايشي به ماهي داده شد. درصورت مصرف گرانول اول، گرانول‌هاي بعدي به‌ترتيب داده شد. درنهايت تعداد گرانول‌هاي مصرف شده محاسبه گرديد. علاوه براين بلعيدن و پس زدن گرانول‌ها، مدت نگه‌داری گرانول‌ها در دهان بعداز اولين قاپيدن و مدت نگه‌داري گرانول در دهان در كل آزمايش نيز ثبت گرديد. ماهيان بعدي و هم‌چنين اسيدهای آمينه ديگر نيز به اين ترتيب مورد آزمايش قرار گرفت. پس از آزمايشات سري اول، آزمايشات كنترل به اجرا درآمد. به اين صورت كه تعدادی گرانول دارای يكی از اين مواد به قسمت جلوی آكواريوم معرفی و طی اين مدت حركات و رفتار ماهی توسط دوربين مدل (Panasonic, SDR-H250GS-S Japan) ضبط می‌شد. در صورتی كه ماهی 30 ثانيه بعد از معرفی اولين گرانول هيچ واكنشی نسبت به آن نشان نمی‌داد، آزمايش روی اين ماهی متوقف می‌شد. هر آمينواسيد در هر سري 5 بار بر روي ماهيان آزمايش شد. در هر آزمايش (در صورت واكنش ماهي به گرانول معرفي شده) بعد از معرفي گرانول به آكواريوم پارامترهاي زير ثبت شدند.

1: تعداد گرانول‌هايي كه در نهايت مصرف يا بلعيده مي‌شد

2: تعداد گرانول‌هايي كه مصرف يا بلعيده نمي‌شد

3.: مدت زمان(به ثانيه) نگه‌داري گرانول‌ها در دهان بعد از اولين قاپيدن

4: مدت زمان(به ثانيه) نگه‌داري گرانول‌ها در دهان در كل زمان آزمايش

5: تعداد قاپيدن‌ها

زمان بلعيدن گرانول با توجه به حركات سرپوش آبششي و برگشتن به حالت طبيعي محاسبه و مدت زمان نگه‌داري گرانول در دهان نيز توسط كرنومتر ثبت شد. بعد از پايان آزمايش، گرانول‌هاي مصرف نشده از آكواريوم برداشته مي‌شد. ماهي‌ها با شيرونوميده منجمد شده غذادهي مي‌شدند. براي هر نوع گرانول شاخص ترجيح چشايي با استفاده از رابطه زير محاسبه شد. R تعداد گرانول‌هاي مصرف شده حاوي ماده جاذب، C تعداد گرانول‌هاي مصرف شده شاهد و Ind_{pal} (Index palatability) شاخص مطبوعيت يا شاخص جذابيت است (Kasumyan و Morsi، 1996).

براي محاسبه ترجيح چشايي از شاخص مطلوبيت استفاده مي‌شود (Kasumyan و Mikhailova، 2007).

$$Ipal = \frac{R - C}{R + C} * 100$$

R: مصرف پليت‌ها با ماده مورد نظر

C: مصرف پليت‌های كنترل (شاهد)

براي به‌دست آوردن حد آستانه چشايي نسبت به اسيدهای آمينه، ابتدا تحريك چشايي محرك‌ها در مرحله اول براساس غلظت پايه 0/001 مول انجام مي‌شود. در مراحل بعدي غلظت اين مواد براساس چگونگي تحريك كم يا زياد خواهد شد در نتيجه براساس ترجيح چشايی حدآستانه ماهی مشخص خواهد شد.

روش تجزيه و تحليل: ابتدا نرمال بودن داده‌ها (شاخص چشايي) با استفاده از آزمون‌های كلموگراف-اسميرنو و شاپير و ويلك آزمون شد. سپس در صورت نرمال بودن داده‌ها آزمون داده‌های نرمال با استفاده از آناليز واريانس يك-

طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری 0/05 صورت گرفت، درصورت نرمال نبودن داده‌ها از آزمون کروسکال والیس و مقایسه دوم در آزمون من ویتنی انجام شد. هم‌چنین برای تعیین رابطه بین غلظت و شاخص چشایی از رگرسیون استفاده شد.

نتایج

همبستگی فراسنجه‌های رفتاری در مواجه با اسیدهای آمینه آزاد:
بررسی همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده ارتباط مثبت و معنی‌داری بین اکثر پارامترها در مواجه با اسیدهای آمینه آزاد اسیدی نشان داد. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصد پلیت مصرفی و شاخص مطلوبیت و درصد خورده به تلاش و تعداد قاپیدن وجود داشت. هم‌چنین بین درصد خورده به تلاش و درصد پلیت مصرفی و شاخص مطلوبیت و تعداد قاپیدن دارای ارتباط مثبت و معنی‌داری بود. بالاترین میزان همبستگی بین درصد پلیت مصرفی و شاخص مطلوبیت وجود داشت. بین تعداد قاپیدن و اکثر پارامترها همبستگی وجود داشت. هم‌چنین فاکتور مدت نگه‌داری بعد از اولین گرفتن گرانول باتمام پارامترها همبستگی معنی‌داری نداشت ($P>0/05$) (جدول1).

جدول1: همبستگی پیرسون بین فراسنجه‌های رفتاری در زمان مصرف اسیدهای آمینه آزاد اسیدآسپارتیک و گلوتامیک

عامل	درصد پلیت مصرفی	شاخص مطلوبیت	مدت نگه‌داری بعد از اولین گرفتن	درصد خورده به تلاش	تعداد قاپیدن
درصد پلیت مصرفی					
شاخص مطلوبیت	%89**				
مدت نگه‌داری بعد از اولین گرفتن	%43**	%18**			
درصد خورده به تلاش	%75**	%57**	%38**		
تعداد قاپیدن	%75**	%63**	%31**	%74**	

علامت * نشان‌دهنده همبستگی معنی‌داری در سطح 0/05، ** در سطح 0/01 است.

مقایسه فراسنجه‌های رفتاری اسیدهای آمینه در غلظت‌های مختلف:
غلظت پایه 10^{-3} مولار اسیدآمینه آزاد اسیدآسپارتیک باعث افزایش معنی‌دار در مصرف گرانول‌های آزمایشی نسبت به شاهد شدند. به‌طور معمول مقادیر سایر پارامترهای رفتاری اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌دار بالاتر از مقادیر شاهد بود. بیشترین میزان مصرف، شاخص مطبوعیت و درصد خورده به تلاش مربوط به غلظت پایه 10^{-3} مولار مشاهده شد ($P<0/05$). این غلظت در تمامی پارامترهای رفتاری بررسی شده تفاوت معنی‌دار داشت ($P<0/05$). بیشترین گرانول‌های قاپیده شده توسط ماهی در این غلظت مورد مصرف ماهی قرار گرفتند. افزایش و کاهش غلظت نسبت به غلظت پایه باعث کاهش میزان مصرف، شاخص مطبوعیت، تعداد قاپیدن و درصد خورده به تلاش شد (جدول 2).
بیشترین مدت نگه داری در دهان بعد از اولین قاپیدن مربوط به غلظتی با بالاترین میزان مصرف بود. غلظت‌های مختلف آسپارتیک اسید در درصد مصرف، شاخص مطبوعیت و تعداد قاپیدن تفاوت معنی‌دار نشان دادند. مدت زمان نگه‌داری در دهان در غلظت پایه و کمترین غلظت 5×10^{-3} مولار تفاوت معنی‌دار نشان دادند ($P<0/05$). درصد خورده به تلاش تنها در غلظت پایه با سایر غلظت ها تفاوت معنی دار نشان داد

(P<0/05) (جدول 3). باتوجه به مقادیر بالای مصرف تا بیشتر از 70 درصد اسیدآمینه آسپارتیک اسید در دسته اسیدهای آمینه جاذب قرار گرفت (نمودار1).
تعداد قاپیدن و درصد خورده به تلاش در دو غلظت 10^{-3} و 5×10^{-4} مولار با شاهد اختلاف معنی‌دار داشته و در غلظت 5×10^{-3} با شاهد اختلاف معنی دار نداشته است (P>0/05). شاخص مطبوعیت در تمامی غلظت‌ها با شیرونومید اختلاف معنی‌دار داشته است (P<0/05) (جدول1).

جدول 2: مقایسه میانگین فراسنجه‌های رفتاری در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه آزاد آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید در مقایسه با شاهد و شیرونومیده

اسید آمینه	غلظت	زمان نگه‌داری در دهان بعد از اولین گرفتن گرانول	درصد مصرف	شاخص مطلوبیت (%)	میانگین تعداد قاپیدن	درصد خورده به تلاش
	0/0005	4/63)0/19±/58 (4*)	4/82±1/44*	-100) -90/39±2/87* (	1/60±0/35 (1)*	9/54)6/19±/95 (18*
آسپارتیک اسید	0/001	5/34)0/30±/53 (5)	75/71)4/76±/76 (70	33/33)6/14±/63 (31*	4/45±0/48 (4)*	77/50)5/01±/27 (72*
	0/005	5/46)0/15±/36 (5*)	25/47±4/59 (25)*	-61/11) -61/36±6/14* (	2/85±0/52 (2/50)*	22/77)4/47±/67 (28*
	0/0005	4/96)0/24±/99 (4*)	5/55) 8/7±3/84* (	-90/85) -85/57±3/89* (	1/35±0/28 (1)*	11/80)3/71±/61 (16*
گلوتامیک اسید	0/001	4/92)0/20±/09 (5*)	100) 85/72±3/78* (	35/90)4/64±/15 (43*	5/50)0/4 5/80±*	80) 72/59±5*
	0/005	5/34)0/27±/54 (5)	25/01±3/78 (25)*	-44/15) -46/31±10/86* (	3/30±0/55 (3)*	33/33)5/53±/46 (33*
شاهد		5/06)2/33±/09 (4)	30/90±26/.7 (25)	-	2/86±2/20 (3)	31/66)27/96±09 (35/
شیرونومیده		5/96)1/71±/96 (5)	76/38)28/92±/38 (72	-11/80) 20/06±35/81 (	6/36±2/64 (6/50)	88/88)17/46±34 (85/

علامت * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری با شاهد و شیرونومیده در سطح اطمینان 0/05 درصد است.
علامت * سمت راست اعداد نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری با شاهد و علامت * سمت چپ اعداد نشان-دهنده اختلاف معنی‌داری با شیرونومیده است.

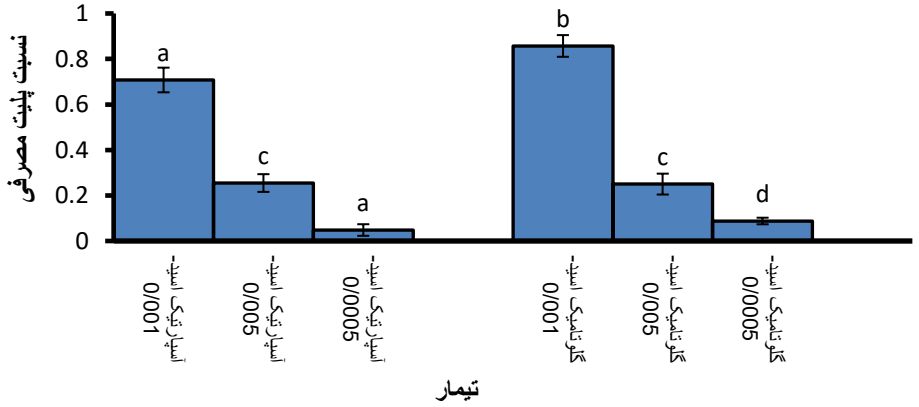
غلظت‌های مختلف گلوتامیک اسید باعث تغییر معنی‌دار در میزان مصرف گرانول‌های آزمایشی شدند به-طوری‌که بیشترین میزان مصرف در غلظت 10^{-3} مولار با 85/72 درصد مشاهده شد. به‌طورکل پارامترهای رفتاری در مواجه با گلوتامیک اسید در غلظت پایه 10^{-3} مولار تفاوتی با مقادیر مربوط به گرانول‌های شاهد نشان داد (P<0/05). در کم‌ترین و بیشترین غلظت ماهیان مورد آزمایش معمولاً بعد از تماس با اولین گرانول تمایلی به قاپیدن گرانول‌های بعدی از خود نشان نمی‌دادند و مقدار درصد خورده به تلاش نیز این موضوع را نشان می‌دهد (جداول2 و 3). در غلظت‌های مختلف گلوتامیک اسید، تنها در شاخص مطلوبیت و درصد خورده به تلاش تفاوت معنی‌دار نشان دادند. زمان نگه‌داری در دهان بعد از اولین گرفتن گرانول و درصد مصرف، در کم‌ترین غلظت و غلظت پایه تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<0/05). تعداد قاپیدن، در غلظت پایه نسبت به دو غلظت اختلاف

معنی‌دار نشان داد (جدول 3). باتوجه به مقادیر بالای درصد مصرف تا بیشتر از 70 درصد اسید آمینه گلوتامیک اسید در دسته اسیدهای آمینه جاذب قرار گرفت (شکل‌های 1 و 2).

جدول 3: مقایسه میانگین فراسنجه‌های رفتاری در غلظت‌های مختلف اسیدهای آمینه آزاد آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید

اسید آمینه	غلظت	زمان نگه‌داری در دهان بعد از اولین گرفتن گرانول	درصد مصرف	شاخص مطلوبیت (%)	میانگین تعداد قاپیدن	درصد خورده به تلاش
	0/0005	/58±0/19 (4/63) [b] 4	4/82±1/44 [d]	−100) [d] −90/39±2/87 (	1/60±0/35 (1) [ef]	bc 18/95±6/19 (9/54)
آسپارتیک اسید	0/001	a 5/53±0/30 (5/34)	±4/76 (75/71) [b] 70/76	a /63±6/14 (33/33) 31	4/45±0/48 (4) [bc]	a /27±5/01 (77/50) 72
	0/005	/36±0/15 (5/46) [ab] 5	c 25/47±4/59 (25)	−61/11) [c] −61/36±6/14 (	±0/52 (2/50) [de] 2/85	bc /67±4/47 (22/77) 28
	0/0005	/99±0/24 (4/96) [ab] 4	(5/55) [a] 8/7±3/84	−90/85) [c] −85/57±3/89 (	1/35±0/28 (1) [f]	c /61±3/71 (11/80) 16
گلوتامیک اسید	0/001	/09±0/20 (4/92) [ab] 5	(100) [a] 85/72±3/78	a /15±4/64 (35/90) 43	80±0/4 (5/50) [ab] 5/	72/59±5 (80) [a]
	0/005	a 5/54±0/27 (5/34)	c 25/01±3/78 (25)	−44/15) [b] −46/31±10/86 (	3/30±0/55 (3) [def]	b /46±5/53 (33/33) 33

حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح 0/05درصد است.

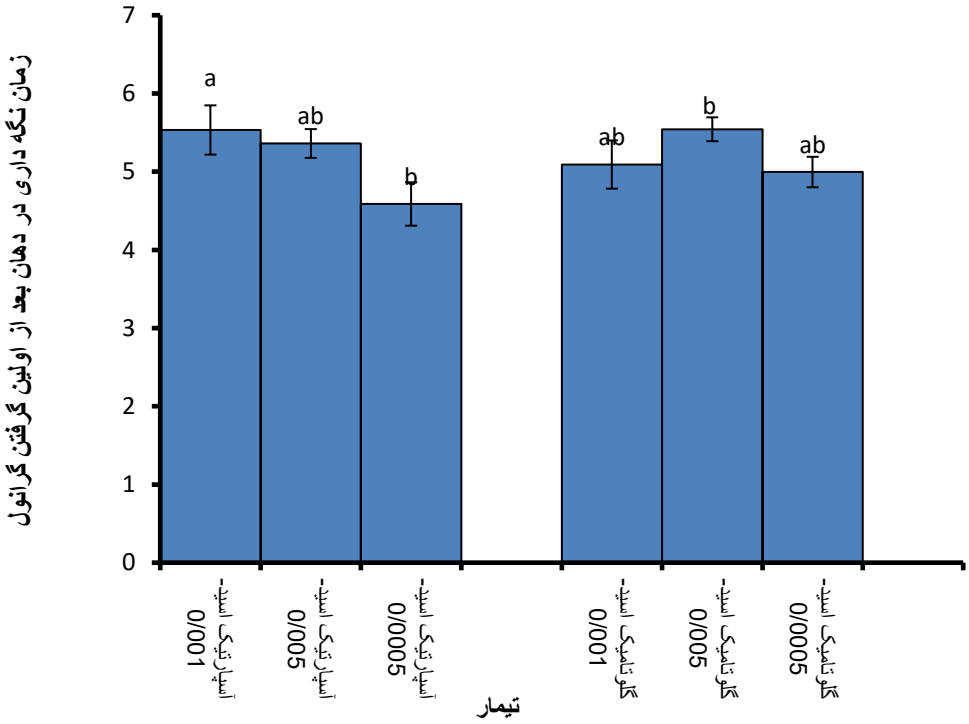


شکل 1: نمودار مقایسه میانگین‌های نسبت پلیت مصرفی نسبت به غلظت‌های مختلف مواد چشایی محرک در ماهی سیلورشارک

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<0/05).

اثر غلظت بر فراسنجه‌های رفتاری: برای بررسی اثر تغییر غلظت هر یک از اسیدهای آمینه بر فراسنجه‌های رفتار چشایی تست آماری کروسکال والیس انجام شد. این آزمون نشان می‌دهد که کدام یک

از فراسنجه‌های رفتاری تحت تأثیر غلظت و نوع اسیدآمینه دچار تغییرات معنی‌دار شده اند. تست کروسکال والیس در بررسی اثر غلظت اسید آسپارتیک و گلوتامیک بر فراسنجه‌های رفتاری نشان داد که غلظت‌های مختلف این ماده تأثیری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشته و در همه غلظت‌های مورد آزمایش از مطبوعیت بالا برخوردار بوده است. تنها در اسیدگلوتامیک، مدت نگه‌داری در دهان بعد از اولین قاپیدن در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌دار نداشته است (جدول 4).



شکل 2: نمودار بررسی زمان نگه‌داری در دهان بعد از اولین گرفتن گرانول نسبت به غلظت‌های مختلف مواد چشایی محرک در ماهی سیلورشارک

حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$).

جدول 4: تست کروسکال والیس، اثر اسیدهای آمینه آزاد اسیدی آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید بر فراسنجه‌های رفتاری

اسیدآمینه	عامل	شاخص مطلوبیت (%)	درصد مصرف	تعداد قاپیدن	مدت نگه‌داری در اولین قاپیدن (ثانیه)	درصد خورده به تلاش
آسپارتیک اسید	X^2	45/26	42/69	15/16	6/61	30/40
	df	2	2	2	2	2
	P	0	0	0	0/03	0
گلوتامیک اسید	X^2	40/86	44/29	28/93	2/83	31/69
	df	2	2	2	2	2
	P	0	0	0	0/24	0

X^2= مجموع مربعات، df= درجه آزادی، P= تفاوت معنی‌داری در سطح 0/05درصد

بحث

در رفتار ماهی‌ها عملکرد گیرنده‌های چشایی داخل دهانی نه تنها در ارزیابی کیفیت انواع غذاها، بلکه طی تغذیه از بستر در تشخیص و جداکردن مواد از هم نیز نقش دارند (Kasumyan و Prokopova، 2001). این ویژگی رفتاری ماهی‌ها توجه پژوهشگران را به مطالعه سیستم چشایی، به ویژه ریخت‌شناسی ویژگی‌های عملکردی آن‌ها بیشتر کرده است (Kasumyan و Mikhailova، 2007). در ماهي‌ها مدت زمان صرف شده براي شناسايي مواد دافع و جاذب با پس دادن يا بلعيدن طعمه صيد شده در ارتباط است. مطالعه پاسخ‌هاي چشايي انجام شده روي كپورمعمولي، كه معرف ديگر ماهيان خانواده سيپرينيده است، نشان داد كه همبستگي بالايي بين مواد با جذابيت چشايي بالا و مدت زمان نگه‌داري گرانول در دهان وجود دارد (Kasumyan و Morsi، 1996). اين همبستگي بالا همچنين در كپور علفخوار (Kasumyan و Morsi، 1996)، لاي ماهي (Kasumyan و Prokopova، 2001) و كلمه (Kasumyan و Nikolaeva، 2002) نيز مشاهده شده است. احتمالاً اين به‌دليل وجود دندان حلقي در خانواده سيپرينيده و قرار گيري جوانه‌هاي چشايي در حفره دهاني است (Kasumyan و Morsi، 1996). اين مطالعه نيز رابطه مثبت و معنی‌داری بين جاذبيت چشايي و مدت نگه‌داری گرانول در دهان برای ماهی سيلورشارک نشان داد.

تقريباً تمام اطلاعات مربوط به عملكرد سيستم چشايي در ماهي‌ها از روش‌هاي آزمايش رفتاري به‌دست آمده است. اين روش‌ها نه تنها اجازه مي‌دهند كه توانايي ماهي‌ها در تشخيص مواد مختلف موجود در غذا بررسي شود، بلكه مي‌توان رفتار آن‌ها نسبت به طعم‌هاي اين مواد را نيز مشخص كرد (Kasumyan، 2011). هم‌چنين با استفاده از آزمايش‌هاي رفتاري مي‌توان ويژگي‌هاي ترجيح چشايي ماهي‌ها (طيف مواد دافع، جاذب و بي اثر) را مشخص كرد.

تفاوت بين گونه‌هاي ماهي مي‌تواند از نظر ترکیبات جاذب و دافع با هم مقايسه شوند. آن‌چه مشخص است، شباهت ترجيح چشايي بين افراد يک گونه (درون گونه‌اي) و هم‌چنين در جنس نر و ماده آن‌ها است. اما ترجيح چشايي در گونه‌هايي با خانواده يا حتي جنس مشابه (بين گونه‌اي) ممكن است متفاوت باشد.

Valentincic (1993) با تحقيق محرک‌های بویایی، چشایی و رفتار در ماهیان، محرک‌های شیمیایی موجود در غذای زنده را به احتمال زیاد ترکیبات محلول در آب با وزن مولکولی کم مانند اسیدهای آمینه دانسته‌است. اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید جزء اسیدهای آمینه غیرضروری شناخته شده است، هرچند که اسیدهای آمینه جاذب، همیشه از اسیدهای آمینه ضروری برای ماهی نیستند. در کپورمعمولی، هیچ‌یک از اسیدهای آمینه ضروری جزء اجسام جاذب برای ماهی نبودند (Kasumyan و Morsi، 1996). اسیدهای آمینه‌ای که برای ماهی بی‌اهمیت هستند اغلب بیشتر اثر تحریکی دارند. اسیدگلوتامیک تنها در 3 گونه از ماهیان دافع بوده و از جمله اسیدهای آمینه‌ایی به‌شمار می‌رود که از جاذبیت بالا در بیشتر گونه‌ها برخوردار است (Kasumyan و Doving، 2003).

اسید گلوتامیک در کپورمعمولی جاذب، در کپور علفخوار دافع و در سایر ماهیان تاثیر خنثی داشته است. معمولاً عملکرد چشایی بر پایه بوم‌شناسی تغذیه حیوانات قابل تعریف می‌باشد. گونه‌های علفخوار بیشتر به ترکیبات اسیدی، مانند اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک پاسخ می‌دهند (افشارمازندران، 1381). سیلور شارک از جمله ماهیان همه‌چیزخوار است و دارای اسیدهای آمینه جاذب برای ماهیان گیاه‌خوار می‌باشد.

در سیلورشارک گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید که از شاخص مطلوعیت پایین در دو غلظت 5×10^{-2} و 5×10^{-3} مولار برخوردار بودند، تعداد

قاپیدن گرانول‌ها در آن‌ها کم‌تر از غلظت پایه بود. در ماهی لوچ که از کپورماهیان است، مواد محرکی که تعداد قاپیدن را افزایش دهند، مشاهده نشده است و تعداد قاپیدن در همه اسیدهای آمینه با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشته است (Kasumyan و Sidorov، 2010)، درحالی‌که در کپورمعمولی تعداد قاپیدن در اسیدهای آمینه مختلف متفاوت بوده است، هم‌چنین لای ماهی از تعداد قاپیدن‌های متفاوت نسبت به اسید-های آمینه مختلف برخوردار بوده است. نتایج نشان می‌دهد که مواد مختلف تاثیرات متفاوتی بر رفتار قاپیدن دارند و باتوجه به ویژگی چشایی خود آن را افزایش یا کاهش می‌دهند. هدف از رفتار قاپیدن ذرات غذایی، به‌دست آوردن اطلاعات اولیه از ویژگی‌های چشایی طعمه یافت شده است. این اطلاعات بسیار با اهمیت است و رفتارهای غذایی بعدی را مشخص می‌کند اگر مورد غذایی مناسب نباشد توقف رفتارهای غذایی برای ماهی ضروری است (Kasumyan و Sidorov، 2010). تعداد قاپیدن در گرانول‌های حاوی عصاره شیرونومیده و اسید گلوتامیک بیشتر از سایر موارد بود.

در مطالعه بررسی تفاوت ترجیح چشایی ماهیان بالغ سه‌خاره (*Gasterosteus aculeatus*) و نه خاره (*Pungitius pungitius*) که از بوم‌شناسی و الگوی غذایی مشابه برخوردارند، از بین 21 اسیدآمینه مورد آزمایش در هر دو گونه، اسیدهای آمینه اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک بیش-ترین پاسخ سیستم چشایی را ایجاد کرده و سایر اسیدهای آمینه تفاوت معنی‌داری در مصرف پلت ایجاد نکرده‌اند. نتایج مشابهی در بررسی دو گونه از ماهیان سه‌خاره (*Gasterosteus trachuruss aculeatu*) و (*Gasterosteus leiurus aculeatu*) گرفته شده است. سیستئین، اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک از بیشترین جذابیت در هر دو گونه برخوردار بوده‌اند (Kasumyan و Mikhailova، 2007).

در مقایسه ترجیح چشایی و محرک-های این حس در جنس‌های نر و ماده گوپی از تعدادی ماده شیمیایی و 3 اسیدآمینه ال هیستیدین، ال-گلوتامیک اسید و گلیسین استفاده شد که افزایش درصد مصرف گرانول را در هر دو جنس به دنبال داشت (Kasumyan و Nikolaeva، 2002). در آزمایش دیگری که توسط Johnsen و Adams (1986) انجام گردید نشان داده شد که اسیدآسپارتیک، اسیدگلوتامیک، سرین و آلانین محرک تغذیه‌ای خوبی در ماهی تیلاپیا هستند که این نتایج با تحقیق حاضر هم‌سو می‌باشد. در ماهی کپورعلف‌خوار (*Ctenopharyn godonidella*) اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید وسیستئین جاذب، گلوتامین خنثی و سایر اسیدهای آمینه تاثیر دافع بر سیستم چشایی داشته‌اند (Kasumyan و Morsi، 1996). Kasumyan و Morsi (1996) گلایسین و اسید آسپارتیک را به-عنوان ماده جاذب برای کپور علف-خوار مصرف نمودند که با تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. هنوز هم اطلاعات کمی درخصوص تأثیر اسیدهای آمینه به‌عنوان محرک و بازدارنده موجود است و نیاز به تحقیقات بیش‌تر دارد.

منابع

1. **افشارمازندران، ن.، 1381.** راهنمای عملی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش. تهران. 216 صفحه.
2. **عبدلی، ا.، 1378.** ماهیان آب‌های داخلی ایران. انتشارات موزه طبیعت و حیات وحش ایران. تهران. 377 صفحه.
3. **شاطریان، ر.، 1391.** آکواریوم. انتشارات آییژ. تهران. 159 صفحه.
4. **فتح‌پور، ح. و وحدتی، ا.، 1374.** فیزیولوژی جانوری. سازش و محیط. اطلاع و احساس. فصل 13. انتشارات دانشگاه اصفهان. جلد 2. 932 صفحه.
5. **کریم‌زاده، ح.؛ ملکنیا، ن. و شهبازی، پ.، 1380.** ترجمه بیوشیمی هارپر. ه.آ. انتشارات آینده-سازان. پژواک اندیشه. جلد 1. تهران. 760 صفحه.

6. وثوقی، غ. و مستجیر، ب.، 1385. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ 2. 228 صفحه.

7. Atema, J., 1997. Olfaction and taste in fish **.** London. pp: 165-174.

8. Doving, K.V., 1986. Functional properties of the fish olfactory system. Progress in Sensory Physiology. Vol 6, pp: 39-104.

9. Gerking, S.D., 1994. Mouth and sense organs. In: Feeding Ecology of Fish (et. By S.D. Gerking). Academic Press. London. pp: 15-40.

10. Hara, T.J.; Carolasfeld, J. and Kitamura, S., 1999. The variability of the gustatory sensibility in salmonids with special reference to strain differences in rainbow trout. *Oncorhynchusmykiss*. Canadian Journal and Aquatic Sciences. Vol. 56, pp. 13-24.

11. Hara, T.J., 2005. Feeding behavior in some teleosts is triggered by single amino acids primarily through olfaction. Journal of Fish Biology. Vol. 68, No. 3, pp: 810-825.

12. Johnsen, P.B. and Adams, M.F., 1986. Feed types. Manufacture and ingredients. In: Food Intake in Fish. (eds D. Houlihan, T. Boujard and M. Jobling) Blackwell Science. Oxford. pp: 25-48.

13. Kasumyan, A., 1994. Olfactory sensitivity of the sturgeon to free amino acids. Biophysics. Vol. 39, pp: 519-522.

14. Kasumyan, A., 1997. GastatoryReceptition and Feeding Behavior in fish. J. Ichtyology. Aquaculture. Vol. 169, pp: 25-35.

15. Kasumyan, A., 2002. Sturgeon food searching behavior evoked by chemical stimuli: a reliable sensory mechanism. J. Appl. Ichthyol. Vol. 18, No. 4-6, pp: 685-69.

16. Kasumyan, A., 2011. Functional Development of Chemosensory Systems in the Fish Ontogeny. Russian Journal of Developmental Biology. Vol. 42, No. 3, pp: 173-179.

17. Kasumyan, A. and Doving, K.V., 2003. Taste preferences in fish. Fish Fisheries, Vol. 4, No. 4, pp: 289-347

18. Kasumyan, A. and Morsi, A., 1996. Taste sensitivity of Common Carp *Cyprinus carpio* to free Amino Acids and Classical Taste Substancea. Ichtyology. pp: 391-403.

19. Kasumyan, A. and Morsi, A.M.K., 1997. Taste Preference for Classic Taste Substances in Juveniles of the Grass Carp *Ctenopharyngodon idella* (Cyprinidae, Pisces) Reared on Various Diets. Vopr. Vol. 357, pp: 284-286.

20. Kasumyan, A. and Mikhailova, E.S., 2007. Comparison of taste perception and behavior in two forms of the Three-Spined Stickleback Gasterosteus aculeatus, trachurus and leiurus. Journal of Biological Sciences. Vol. 413, pp: 153-155.

21. Kasumyan, A. and Nikolaeva, E.V., 2002 . The comparative analysis of taste preferences in fish with different ecology and feeding. J. Ichtyyology. Vol. 42, pp: 203-214.

22. Kasumyan, A. and Prokopova, O.M., 2001. Taste Preferences and the Dynamics of Behavioral Taste Response in the Tench *Tinca tinca* (Cyprinidae). J. of Ichthyology. Vol. 41, pp: 640-653.

23. Kasumya, A. and Sidorov, S.S., 2010. Taste preferences and Behavior of Testing Gustatory Qualities of food in Stone Loach *Barbatula barbatula* (Balitoridae, Cypriniformes). J. of Ichthylogy. Vol. 50, pp: 682-693.

24. Mikhailova, E. and Kasumyan, A., 2006. Comparison of Taste Preferences in the Three-Spined Gasterosteus aculeatus and Nine-Spined Pungitius pungitius Sticklebacks from the White Sea Basin. J. Ichtyyology. Vol. 46, pp: 151-160.

25. Mostafavi, H. and Abdoli, A., 2005. A Preliminary Survey on Diet of *Capoetacapoetagracilis* in Talar and Yasalegh Rivers from the Southern Basin of Caspian Sea. Environmental science. Vol. 7, No. 3, pp: 53-62 (In Persian).

26. Samaee, M.; Patzner, R.A. and Mansour, N., 2009. Morphological differentiation within the population of SiahMahi, *Capoetacapoeta*gracilis, (Cyprinidae, Teleostei) in a river of the south Caspian Sea basin: a pilot study. J. Appl. Ichthyol. Vol. 25, No. 5, pp: 583-590.

27. Samaee, S.M.R.; Mojazi Amiri, B. and Hosseini Mazinani, S.M., 2006. Comparison of *Capoeta capoeta gracilis* (Cyprinidae, Teleostei) populations in the south Caspian Sea River basin, using morphometric ratios and genetic markers. Folia Zool. Vol. 55, pp: 323-335.

28. Turan, C., 2008. Molecular systematic of the *Capoeta* (Cypriniformes: Cyprinidae) species complex inferred from mitochondrial 16s Rdna Sequence data. Vol 51, pp: 1-14.

29. Valentincic, T., 1993. Taste and olfactory stimuli and Behavior to amino Acids in Intact and Anosoic Channel Catfish. Ictalurus punctatus. Physiology and behavior. Vol. 55, pp: 857-863.