اثر سطوح مختلف شوری بر دفاع آنتی اکسیدانی در میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) جوان

صفورا خدادادی[1]، امیر پرویز سلاطی[1]، محمود نفیسی[2]، حمید محمدی آذرم[1]

1. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

2. پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس بوشهر

چکیده:

یکی از مهم¬ترین آلاینده های محیط زیست ترکیبات نیترژنی می¬باشد که از جمله مهم¬ترین و خطرناک¬ترین آن¬ها آمونیاک است. افزایش آمونیاک آب یکی از مشکلات عمده در آبزی پروری است. این افزایش مخصوصا در سیستم¬های تکثیر ماهی و میگو، سیستم¬های فوق متراکم پرورش ماهی با گردش مجدد آب، آکواریوم-ها و درهنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر شوری و آمونیاک بر دفاع آنتی اکسیدانی میگوی سفید غربی مورد بررسی قرار گرفت. پست لارو میگوی سفید غربی در شوری های 10، 20، 30، 35 و 45 ppt و غلظت های آمونیاک 6، 13 و 19 میلی گرم در لیتر توزیع شدند. میگوها 60 روز در این شرایط نگه داری شدند. در پایان دوره نمونه هپاتوپانکراس برداشت و فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و محتوای مالون دی آلدهید در این بافت اندازه گیری شد. بیشترین فعالیت آنزیم های آنتی های آنتی اکسیدانی و محتوای مالون دی آلدهید در شوری 45 ppt و آمونیاک 6 میلی گرم در لیتر بیشترین مقدار را داشتند. در مجموع می توان گفت که سطوح مختلف شوری آب و غلظت های متفاوت آمونیاک، بر فعالیت SOD، CAT، GPX و MDA در میگوی پاسفید غربی تأثیر داشته و باعث تغییر وضعیت ایمنی در میگو می گردد.

واژگان کلیدی: دفاع آنتی اکسیدانی، میگوی سفید غربی، شوری، آمونیاک

مقدمه

یکی از مهم¬ترین آلاینده های محیط زیست ترکیبات نیترژنی می¬باشد که از جمله مهم¬ترین و خطرناک¬ترین آن¬ها آمونیاک است. بطورکلی در تقسیم بندی آلاینده¬های آب وجود نیتریت، نیترات و آمونیاک دلالت بر وجود آلاینده¬های شیمیایی معدنی در داخل منابع آبی دارد. افزایش آمونیاک آب یکی از مشکلات عمده در آبزی پروری است. این افزایش مخصوصا در سیستم¬های تکثیر ماهی و میگو، سیستم¬های فوق متراکم پرورش ماهی با گردش مجدد آب، آکواریوم-ها و درهنگام انتقال ماهی همواره مطرح بوده است(Wright et al., 1985). در سیستم¬های پرورش متراکم، آمونیاک، شکل غالب نیتروژن غیر آلی دفع شده توسط حیوانات آبزی، به وسیله باکتری¬های اتوتروف هوازی اکسید می¬شود. تجمع آمونیاک و یا محصول میانی آن، نیتریت، باعث مرگ و میر و تاثیر بر روی رشد حیوانات پرورشی می¬شود (Colt et al., 1981). بنابراین تجمع آمونیاک و سمیت آن نگرانی اولیه برای پرورش دهندگان میگو است. کنترل آمونیاک و نیتریت در سیستم¬های آبزی پروری دومین فاکتور بسیار مهم تاثیر گذار بقا و رشد موجودات پرورشی متعاقب اکسیژن محلول است (Ebeling et al., 2006). پرورش میگو ارتباط مستقیم با کیفیت آب استخرهای پرورشی دارد، بطوری که اگر کیفیت آب و خاک استخر در حد مطلوب حفظ نشوند تغذیه میگوها بخوبی انجام نگرفته و میگوها نسبت به بیماری ها حساس می شوند و بازماندگی آن¬ها کاهش می یابد. آب استفاده شده در آبزی پروری حاوی مواد آلی و معدنی است و یون های معدنی محلول، گازهای محلول و میکروارگانیسم ها بر کیفیت آب آبزی پروری اثر دارند (Van wyk et al., 1999). سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلولی یکی از استراتژی های مهم بیوشیمیایی است که باعث حفاظت سلول ها در برابر اثرات مخرب درون سلولی توسط ROS می شود. این مطالعه با هدف بررسی اثر شوری و آمونیاک بر دفاع آنتی اکسیدانی میگوی سفید غربی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر در مرکز مطالعات دانشگاه خلیج فارس بوشهر به مدت 2 ماه انجام شد. پست لاروها (PL 13)در ابتدا به مدت یک هفته قبل از انجام آزمایش دوره سازگاری را در محیطی با آب همان منطقه نگهداری و به تدریج به شوری های مورد نظر10 ، 20 ، 30 ، 35 و 45 ppt رسانده می شود. آب مورد استفاده در این آزمایش از آب دریا تامین می شود و قبل از ورود به آزمایشگاه توسط دستگاه فیلتراسیون (فیلتر شنی ماسه ای 5 لایه) موجود فیلتر می شود. برای مطالعه اثر متقابل شوری و آمونیاک در هر سطح شوری میگوها

در معرض 3 سطح آمونیاک (6 ، 13 و 19 میلی گرم بر لیتر) قرار گرفتند. برای این کار میگوها در 45 تانک 100 لیتری (در هر تانک 12میگو) توزیع شدند.

در طول دوره ی مطالعه میگوها در سه نوبت (صبح و ظهر و عصر) توسط غذای تجاری شرکت هوواراش در حد 15 درصد وزن بدن غذادهی شدند. در طول آزمایش برای حفظ کیفیت آب به صورت روزانه به میزان یک سوم تعویض آب انجام شد و غذای خورده نشده نیز توسط سیفون کردن از محیط خارج گردید.

در پایان دوره آزمایش، یک روز قبل از نمونه برداری، غذادهی به میگوها قطع خواهد شد (Cheng et al ., 2002). تعداد 10 میگو از هر تانک به صورت تصادفی انتخاب شده و بعد از عصب کشی کردن اقدام به جمع آوری نمونه ها ی هپاتوپانکراس شد. نمونه های هپاتوپانکراس برای سنجش شاخص های دفاع آنتی اکسیدانتی به درون کرایوتیوپ منتقل و در فریزر -80 قرار خواهند گرفت . هپاتوپانکراس *L. vanamei* در بافر Tris-HCl (pH=7.4) در 4 درجه سانتی گراد همگن شده و مایع رویی به طور مستقیم برای سنجش پارامترهای آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار می گیرد (Yang et al , 2010). در نمونه های هپاتوپانکراس برای ارزیابی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی میزان فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و محتوای مالون دی آلدهید (MDA) مورد بررسی قرار گرفت.

در ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Shapiro – Wilk بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از آنالیز واریانس دو طرفه (Two ways ANOVA) برای تعیین تفاوت معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال ($P\leq 0.05$)انجام شد. چنان چه تفاوت معنی دار شناخته شد، برای مقایسه میانگین ها از پس آزمون چند دامنه Duncan استفاده گردید.

نتایج و بحث

براساس این نتایج بیشترین فعالیت کاتالاز در شوری45 ppt مشاهده شد و در بین سطوح مختلف شوری (10، 20، 30 و 35) اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P>0.05$). در غلظت آمونیاک mg/l13 هرچند که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت هپاتوپانکراس در شوری 45 ppt و کمترین فعالیت در شوری30 ppt می باشد ولی در بین سطوح مختلف شوری مورد آزمایش اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز هپاتوپانکراس میگوی پا سفید غربی در غلظت آمونیاک19 mg/l و شوری های متفاوت آب در شوری 35 ppt و کمترین میزان فعالیت در شوری 30 ppt مشاهده شد اما با سطوح دیگر شوری 10 ppt و 45 اختلاف معنی داری ندارد ($P>0.05$). بیشترین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را در شوری 45 ppt ثبت شد، در صورتیکه اختلاف معنی داری بین سایر شوری ها مشاهده نشد ($P>0.05$). حداکثر میزان فعالیت این آنزیم در غلظت 13 mg/l در شوری 45 ppt مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت در شوری30 ppt به ثبت رسید اما سطح شوری45 ppt با سطح شوری ppt 35 و 20 ppt اختلاف معنی داری نداشت ($P>0.05$). در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در غلظت آمونیاک 19 mg/l و شوری های متفاوت آب اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز هپاتوپانکراس میگوی پاسفید غربی در غلظت آمونیاک6 mg/l مربوط به شوری ppt45 می باشد ($P>0.05$). در حالی که بین سایر شوری ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$). حداکثر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز هپاتوپانکراس در غلظت آمونیاک13 mg/l و شوری های متفاوت آب را در شوری45 ppt و کمترین میزان فعالیت در شوری10 ppt نشان می دهد اما اختلاف معنی داری با سایر شوری های مورد آزمایش نداشتند ($P>0.05$). فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز هپاتوپانکراس در آمونیاک 19 mg/l و شوری های متفاوت آب در شکل 4-9 نشان داده شده که در آن بیشترین فعالیت این آنزیم در شوری 30 و 35 ppt و کمترین فعالیت این آنزیم در شوری 10 و 45ppt مشاهده شد. آنالیز آماری داده ها نشان داد که دو فاکتور مورد آزمایش یعنی شوری های مختلف آب (10 ppt، 20، 30، 35 و 45) و غلظت های متفاوت آمونیاک (6 mg/l، 13 و 19) تأثیری در محتوای مالون دی آلدهید هپاتوپانکراس میگوی پاسفید غربی نداشتند ($P>0.05$)، در صورتی که بین این فاکتورها اثر متقابل وجود دارد ($P<0.05$).

سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، از مکانیسم های فیزیولوژیک مهم برای حفظ سلامت جانوران آبزی است که باعث تضمین بقا و مقاومت آبزیان در برابر استرس های محیطی می شود. به طور کلی، قابلیت های دفاع آنتی اکسیدانی میگوی پرورش یافته در محیط های مختلف می تواند وضعیت سلامت جانور را منعکس سازد (Xu and Pan, 2014). در مجموع می توان گفت که سطوح مختلف شوری آب و غلظت های متفاوت آمونیاک، بر فعالیت SOD، CAT، GPX و MDA در میگوی پاسفید غربی تأثیر داشته و باعث تغییر وضعیت

ایمنی در میگو می گردد. به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی هپاتوپانکراس در شوری 45 ppt و آمونیاک 6 میلی گرم بر لیتر بود و کمترین میزان فعالیت در شوری ppt30 و آمونیاک 6 میلی گرم بر لیتر بود.

منابع

Chong-Robles, J., Charmantier, G., Boulo, V., Lizárraga-Valdéz, J., Enríquez-Paredes, L. M.and Giffard-Mena, I., 2014. Osmoregulation pattern and salinity tolerance of the white shrimp (Litopenaeus vannamei) (Boone, 1931) during post-embryonic development. Aquaculture, 422: 261-267.

Van Horn J, Malhoe V, Delvina M, Thies M, Tolley SG, Ueda T .2010. Molecular cloning and expression of a 2-Cys peroxiredoxin gene in the crustacean Eurypanopeus depressus induced by acute hypo-osmotic stress. Comp Biochem Physiol B 155:309–315.

Romano,N. Zeng, Ch . 2007. Acute toxicity of ammonia and its effects on the haemolymph osmolality,ammonia-N, pH and ionic composition of early juvenile mud crabs, Scylla serrata (Forskål). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 148 ,278–285.

Hernández R, M., Bückle R, L.F., Palacios, E. and Barón S, B., 2006. Preferential behavior of white shrimp *(Litopenaeus vannamei)* (Boone 1931) by progressive temperature–salinity simultaneous interaction. Journal of Thermal Biology, 31: 565-572.

Gomez-Jimenez, S.Urias-Reyes, A. A.Vazquez-Ortiz, F. Hernandez-Watanabe, G.2004. Ammonia efflux rates and free amino acid levels in Litopenaeus vannamei postlarvae during sudden salinity changes. Aquaculture 233, 573–581.