شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۶۹، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵

صفحات ۲۸۳-۲۷۵

بررسی اثر سطوح فسفولیپید بر عملکرد رشد، هضم‌پذیری چربی و فعالیت آنزیم لیپاز در جیره‌ی حاوی پودر چربی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

بتول ادهمی*[۱] عبدالصمد کرامت امیرکلائی[۲]

۱. *کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران*

۲. *استادیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۲/۹

چکیده

در این تحقیق تاثیر سطوح مختلف فسفولیپید بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، هضم‌پذیری مواد غذایی و فعالیت آنزیم لیپاز در جیره‌ی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. بدین منظور جیره‌ای با ۲۰٪ چربی که ۶۰٪ از چربی آن از پودر چربی تشکیل شده ساخته شد و فسفولیپید در دو سطح ۵ و ۱۵ گرم بر کیلوگرم به جیره اضافه گردید. جیره بدون فسفولیپید به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در آن به جای پودر چربی از روغن ماهی استفاده شد. ۱۳۵عدد ماهی قزل‌آلا با وزن اولیه ۱/۸۸±۲۷/۴۵ گرم در ۹ تانک ۳۰۰ لیتری به مدت ۸ هفته روزانه ۲ بار با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. در انتهای آزمایش فراسنجه‌های رشد، برخی فراسنجه‌های پلاسما، هضم‌پذیری و فعالیت آنزیمی تعیین گردید. نتایج فراسنجه‌های رشد نشان داد که بین تیمارها و گروه شاهد از لحاظ درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، شاخص کبدی و ضریب چاقی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت درحالیکه شاخص احشایی در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. همچنین بیشترین میزان تری‌گلیسرید در شاهد یافت شد درحالیکه کلسترول بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. قابلیت هضم مواد غذایی، تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها نشان داد. بیشترین هضم‌پذیری چربی و پروتئین به ترتیب در شاهد و فسفولیپید ۱۵ بود و کمترین آنها در فسفولیپید ۵ مشاهده شد. همچنین افزودن فسفولیپید افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم لیپاز داشت و بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در فسفولیپید ۱۵ مشاهده شد. به نظر می‌رسد فسفولیپید از طریق افزایش هضم‌پذیری مواد مغذی به بهبود رشد کمک می‌کند و در سطح ۱۵ گرم بر کیلوگرم جیره موجب بهبود برخی پارامترها در جیره‌ی حاوی پودر چربی در قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، فسفولیپید، هضم‌پذیری، رشد، فعالیت لیپاز.

* نویسنده مسوول: تلفن: ۹۸۹۳۵۹۶۶۱۳۱۶ + ایمیل: amine.adhami@yahoo.com

۱. مقدمه

رشد سالیانه صنعت آبزی پروری در دنیا سریعتر از بخش‌های دیگر گروه‌های دامی و یا حتی صید ماهی می‌باشد (FAO, 2014). تهیه غذای متناسب با نیاز ماهی و همچنین با قیمت قابل قبول یکی از چالشهای فرا روی گسترش صنعت آبزی‌پروری می باشد. هزینه بالای غذا می‌تواند آینده نامطمئنی را برای گسترش صنعت آبزی‌پروری رقم زند و موجب کاهش رقابت این بخش در مقابل سایر بخش‌های تولید گردد.

قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhnchus mykiss*) نخستین گونه از خانواده آزاد ماهیان است که به غذای دستی و سیستم پرورش مصنوعی عادت داده شده و پرورش یافت. امروزه پرورش ماهی قزل‌آلا به علت بازار پسندی و تکثیر آسان و قابلیت تطابق با محیط‌های مختلف پرورش، رشد و گسترش قابل ملاحظه‌ای در ایران یافته است. غذای آبزیان به خصوص گونه‌های گوشتخوار مانند قزل‌آلا عمدتا از مواد غذایی گران قیمت مانند پودر ماهی و روغن ماهی تشکیل شده که دلیل عمده افزایش قیمت غذا می‌باشد (Babalola and Adebayo, 2007).

لیپید از اجزای مهم جیره محسوب می‌شود و نقش مهمی را به عنوان منبع تأمین‌کننده انرژی و اسیدهای چرب ضروری برای رشد و تکامل ماهیان و ویتامین‌های محلول در چربی ایفا می‌کند (Opsahl-Ferstad *et al*., 2003) و همچنین می‌تواند از مصرف پروتئین غذا به عنوان منبع انرژی کاسته و تولید آمونیاک را محدود نماید (Li *et al*., 2010). طبق برآوردهای انجام شده، در چند سال آینده، تامین روغن ماهی از طریق صید نمی‌تواند پاسخگوی نیاز روغن ماهی برای آبزی‌پروری باشد (Tocher *et al*., 2008). یافتن جانشین مناسب برای روغن ماهی در غذای آبزیان یکی از دغدغه‌های جدی صنعت غذاسازی آبزیان در سالیان اخیر بوده است. یکی از این منابع جایگزینی روغن گیاهی است که در تحقیقات زیادی از آن استفاده شده است (Bell *et al*., 2002, Ng *et al*., 2007). نتایج این تحقیقات نشان داد که روغن‌های گیاهی می‌تواند تا حد زیادی جایگزین روغن ماهی شود بدون آنکه اثرات منفی روی رشد و کارایی غذا داشته باشد (Turchini *et al*., 2009). پودر چربی که از محصولات جانبی ایجادشده هنگام استخراج و پالایش روغن‌های گیاهی است می‌تواند به عنوان یکی دیگر از راه‌حل‌ها برای حل این مشکل باشد. پودر چربی، پتانسیل استفاده در صنعت آبزی‌پروری و در جیره غذایی ماهی را دارد ولی به دلیل هضم‌پذیری پایین‌تر نسبت به روغن ماهی و مایع و همچنین دارا بودن مقادیر ناچیزی از فسفولیپید استفاده از آن در آبزی‌پروری با محدودیت مواجه است (Sargent *et al*., 1999).

۲. مواد و روشها

۱.۲. شرایط نگهداری و تیماربندی ماهی

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۳ در سالن تکثیر و پرورش دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی واقع در شهر ساری انجام شد. ماهی قزل‌آلا با وزن متوسط ۱/۸۸±۲۷/۴۵ خریداری شد و در تانک‌های ۳۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شد. به منظور آماده سازی ماهی و سازگاری با محیط پرورشی، ماهیان به مدت ۲هفته در این تانک‌ها نگهداری شدند و با غذای دستی (کارخانه-ی بهدانه شمال، میرود، ایران) ۲ بار در روز غذادهی شدند. سپس به هر تیمار ۳ تانک اختصاص داده شد که با توجه به تیمارهای آزمایشی مجموعا ۹ تانک بدین منظور اختصاص یافت. تیمارها بر اساس سطوح مختلف فسفولیپید به میزان ۰، ۵ و ۱۵ گرم بر کیلوگرم غذا تقسیم‌بندی شدند. در این تحقیق به منظور بررسی اثر فسفولیپید بر هضم‌پذیری پودر چربی از روغن ماهی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و تیمارها با آن مقایسه شدند که بدین جهت در تیمارهای آزمایشی (۵ و ۱۵ گرم فسفولیپید) بخش اعظم روغن ماهی با پودر چربی جایگزین شد درصورتیکه در شاهد (بدون فسفولیپید) تماما از روغن ماهی و روغن مایع استفاده گردید. سیفون و تعویض ۱۰۰٪ آب نیز به صورت روزانه انجام گرفت. دمای آب روزانه با دماسنج جیوه ای معمولی اندازه گیری شد و اندازه گیری پارامترهای کیفی آب به صورت هفتگی انجام شد که به این صورت بود: دما ۱۴°C، pH ۸/۴۴±۰/۱۷، اکسیژن محلول ۶/۳۴±۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر، نیتریت ۰/۱۵ میلی‌گرم در لیتر، هدایت الکتریکی ۵۹۸/۱۳±۱۲/۸ میکروزیمنس بر سانتیمتر، شوری ۰/۴ ppt و TDS

۳۸۱/۲±۴/۴۱ میلی‌گرم بر لیتر.

۲.۲. ساخت جیره‌های آزمایشی

برای ساختن جیره، فسفولیپید تجاری برگاپور (شرکت مهدامین، تهران، ایران) خریداری شد و به میزان مورد نظر به جیره اضافه شد. روغن گیاهی جایگزین که در این تحقیق استفاده شد پودر چربی بود. ۶۰٪ از روغن جیره با پودر چربی جایگزین شد (مابقی روغن جیره از روغن مایع بود که در همه تیمارها مشابه بود) و از غذای بدون پودر چربی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که سطح فسفولیپید آن صفر بود. به منظور ساخت جیره‌های غذایی ابتدا پودر ماهی به منظور یکدست‌شدن با الک ۱۰۰ میکرونی الک گردیده و سپس، تمامی اقلام جیره‌ی تنظیم‌شده (طبق جدول ۱) با ترازو توزین شده و به خوبی باهم مخلوط گردیدند. مقداری آب به اندازه‌ای که مخلوط حالت خمیری بگیرد اضافه شد. به نمونه غذاهای مارکردار اکسیدکروم به میزان ۰/۶٪ در حین مخلوط-شدن خمیر به آن اضافه شد. سپس خمیر به دستگاه چرخ گوشت منتقل شد و از مش ۲/۵ میلیمتر برای ساخت غذا استفاده شد. رشته‌های ایجادشده بر روی سینی‌های خشک‌کن قرارگرفته و در دمای اتاق به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت خشک گردید. پس از خشک شدن رشته‌ها آنها را خردکرده تا به اندازه مورد نظر درآیند. جهت نگهداری، پلت تا زمان مصرف در فریزر با دمای ۱۸- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. غذادهی با غذای آزمایشی روزانه ۲ بار (ساعت ۱۰ و ۱۷) تا حد سیری به مدت ۵۶ روز انجام گرفت.

جدول۱- ترکیب جیره های آزمایشی با سطوح مختلف فسفولیپید برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhnchus mykiss*)

اقلام غذایی (٪ ماده تر)	شاهد	فسفولیپید۵	فسفولیپید۱۵
پودر ذرت	۶	۵/۵	۵/۵
آرد گندم	۸	۸	۷
گلوتن گندم	۱۵	۱۵	۱۵
روغن مایع	۸	۳	۳
پودر چربی	۰	۱۰	۱۰
روغن ماهی	۸	۳	۳
پودر ماهی	۳۵	۳۵	۳۵
پودر سویا	۱۵	۱۵	۱۵
ماده معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ویتامین	۱/۵	۱/۵	۱/۵
بایندر	۲	۲	۲
فسفولیپید	۰	۰/۵	۱/۵
آنالیز تقریبی جیره (٪ ماده خشک)			
پروتئین	۳۸/۱	۳۷/۵	۳۸/۷
چربی	۲۳/۵	۲۴/۵	۲۴/۵
خاکستر	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۴
ماده خشک	۱۱/۸	۱۰/۸	۱۳/۷

۳.۲. سنجش شاخص‌های رشد

برای بررسی اثر فسفولیپید بر پارامترهای رشد، شاخص‌های رشد زیر مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین‌منظور زیست‌سنجی ماهیان با استفاده از خط‌کش میلیمتر و ترازوی دیجیتال انجام شد و به کمک رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Wahli *et al.*, 2003).

$$BWI=100\ (BW_f - BW_i)/BW_i$$

BW_i و BW_f: متوسط وزن اولیه و وزن نهایی

$SGR=100\ (\ln W_f - \ln W_i)/t$

t: طول دوره آزمایش، W_i و W_f: میانگین زی‌توده‌ی اولیه و نهایی

$FCR=F/(W_f-W_i)$

F: مقدار غذای مصرف‌شده توسط ماهی

درصد بازماندگی (Survival Rate : SR%):

۱۰۰× تعداد اولیه ماهیان/ تعداد ماهیان باقیمانده

شاخص کبدی (HSI):

۱۰۰× وزن بدن (گرم)/ وزن کبد

شاخص احشائی (VSI):

۱۰۰× وزن بدن (گرم)/ وزن امعاء احشاء (گرم)

۴.۲. فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

به منظور این کار خون ماهی با استفاده از سرنگ از قسمت بالای ساقه دمی جمع‌آوری شد و سپس خون در دستگاه سانتریفیوژ در دور ۴۶۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و پس از اینکه بخش پلاسما با دقت جدا گردید درون اپندروف در فریزر ۱۸- نگهداری شد (Adel *et al.*, 2015). تری‌گلیسیرید و کلسترول پلاسمای خون با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) به روش (Olesen and Jorgensen, 1986) در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شدند.

۵.۲. هضم‌پذیری مواد غذایی

جهت تعیین هضم‌پذیری، غذادهی ماهیان با جیره‌های مارکردار انجام گرفت سپس، برای جمع‌آوری مدفوع ۲ بار در روز غذادهی انجام شد و در روز بعد، قبل از غذادهی، مدفوع ماهی از روش سیفون‌کردن جمع‌آوری گردید. در روش سیفون، ابتدا با استفاده از شیلنگ، آب همراه با مدفوع از روی توری عبور داده شده و مدفوع باقیمانده بر روی توری جمع‌آوری شد سپس، در آون ۶۰ درجه خشک گردید. هضم‌پذیری با روش (Austreng, 1978) از طریق مارکر در جیره با فرمول زیر محاسبه شد:

ضریب هضم‌پذیری ظاهری = [۱ – (غلظت کروم در مواد × غلظت کروم اکسید مدفوع/ اکسید جیره در مغذی جیره/ مغذی مدفوع)] × ۱۰۰

اندازه‌گیری مارکر بدین صورت بود که مقداری نمونه مارکردار توسط کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت تبدیل به خاکستر شد. سپس ۱۵ میلی لیتر محلول هضم به نمونه خاکستر اضافه گردید و محلول ایجاد شده به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه هضم (دمای ۳۰۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد تا محلول به رنگ زرد تغییر رنگ یابد. سپس نمونه پس از خنک شدن به بالن ژوژه ۲۰۰ میلی لیتری منتقل شده و پس از سانتریفیوژ (مدل SH12) با دور ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، میزان عدد جذب نمونه ثبت شد. سپس بر اساس منحنی استاندارد میزان اکسید کروم موجود در نمونه محاسبه شد.

۶.۲. فعالیت آنزیم لیپاز

جهت سنجش فعالیت آنزیمی ، نمونه‌برداری از ماهیان در انتهای دوره‌ی پرورش انجام شد. به منظور تخلیه دستگاه گوارش ماهیان، ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع غذادهی انجام گرفت. پس از بیهوش کردن ماهیان با پودر گل میخک به میزان $100\ mgl^{-1}$، از هر تاتک ۳ نمونه ماهی گرفته و کالبدشکافی شدند سپس پانکراس و قسمت ابتدایی روده جدا گردید. عصاره آنزیمی به روش Furné و همکاران (2008) تهیه گردید به این صورت که یک گرم بافت در ۹ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، Triton X-100 ۰/۱ درصد در pH ۷/۸ توسط هموژنایزر (مدل T18) هموژن شده و سپس هموژنات به مدت ۳۰ ثانیه در سانتریفوژ یخچالدار (مدل D78532) در ۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت حاصله در ویال اپندورف تقسیم شده و تا زمان سنجش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده ماهی قزل‌آلا به روش Bradford (1976) سنجیده شد. در نهایت برای هر سنجش لیپازی ۵ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترا اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند،

سپس واکنش با افزودن ۰/۷ میلی‌لیتر از محلول (v/v، ۵:۲) acetone /n- heptane متوقف گردید. مخلوط واکنش بعد از هم زدن کامل به مدت ۲ دقیقه در دور g ۶۰۸۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و میزان جذب لایه آبی (aquatic) زیرین در ۴۰۵ نانومتر قرائت گردید (Iijima *et al*., 1998).

۷.۲. تجزیه و تحلیل آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (completely randomized design) برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و میانگین‌ها با استفاده از آزمون Duncan post-hoc با درصد خطا کمتر از ۵٪ صورت گرفت. از نرم‌افزار SPSS جهت آنالیز آماری و از نرم‌افزار Microsoft Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج پارامترهای رشد طبق جدول۲ نشان داد بین تیمارهای مختلف درصد افزایش وزن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب‌تبدیل غذایی (FCR)، درصد بازماندگی، فاکتور وضعیت (CF) و شاخص‌کبدی (HSI)، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی شاخص‌احشائی (VSI) اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها و شاهد نشان داد. بیشترین شاخص احشائی در گروه شاهد و کمترین آن در تیمار فسفولیپید ۵ مشاهده شد. همچنین در میزان تری‌گلیسیرید بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید درحالیکه کلسترول بین تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول۳). بیشترین میزان تری‌گلیسیرید در شاهد و کمترین آن در فسفولیپید ۵ مشاهده شد. قابلیت هضم مواد غذایی در جدول ۴ نشان داده شده است. قابلیت هضم موادغذایی از جمله چربی، پروتئین، خاکستر و ماده خشک بین تیمارهای آزمایشی دارای

جدول ۲. مقایسه میانگین عملکرد رشد و مصرف غذایی بین تیمارهای تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی دوره پرورش

	تیمار		
شاخص	فسفولیپید ۵	فسفولیپید ۱۵	شاهد
وزن‌اولیه (g)	۲۷/۵۴±۱/۸۶	۲۷/۹±۲/۳۴	۲۶/۹±۲/۱
افزایش وزن بدن (٪)	۳۱۹/۳۹±۴۹/۱۶	۳۳۰/۱۲±۴۰/۳۰	۳۴۹/۷۲±۱۹/۴۹
نرخ‌رشد ویژه (روز/ درصد)	۲/۵۵±۰/۲۱	۲/۶۰±۰/۱۶	۲/۶۸±۰/۰۸
ضریب‌تبدیل غذایی (g/g)	۱/۱۱±۰/۰۱	۱/۰۹±۰/۰۳	۱/۰۷±۰/۰۵
بازماندگی (٪)	۹۵/۵۵±۳/۸۵	۹۷/۷۸±۳/۸۵	۹۵/۲۴±۸/۲۵
فاکتور وضعیت (٪)	۰/۹۸±۰/۰۷	۰/۹۷±۰/۰۲	۱/۰۴±۰/۱۱
شاخص کبدی	۱/۲۴±۰/۴۱	۱/۱۴±۰/۳۸	۱/۲۵±۰/۱۱
شاخص احشایی	۹/۷۸±۰/۸۹[a]	۹/۹۷±۰/۶۵[a]	۱۲/۱۲±۰/۴۸[b]

جدول ۳. مقایسه میانگین تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی دوره پرورش

تیمارها	تری گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
فسفولیپید ۵	۲۵۲/۶۳±۵۷/۶۲[a]	۲۹۸/۴۶±۴۸/۳۷
فسفولیپید ۱۵	۳۳۶/۳۴±۲۱/۹۱[b]	۳۰۰/۵۱±۱۶/۸۸
شاهد	۳۸۴/۴۶±۲۲/۵۲[b]	۲۷۶/۹۲±۳۸/۸۳

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند و حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنادار بین تیمارها است

فسفولیپید و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان دادند. مقدار هضم‌پذیری چربی در تیمار شاهد به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود، درحالیکه بیشترین مقدار هضم‌پذیری پروتئین و

خاکستر در تیمار فسفولیپید ۱۵ مشاهده شد. طبق نتایج بدست‌آمده در جدول ۵ از لحاظ فعالیت آنزیم لیپاز بین تیمارهای آزمایشی دارای فسفولیپید و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد و بیشترین مقدار فعالیت آنزیمی مربوط به تیمار فسفولیپید ۱۵ بود.

جدول۴. قابلیت هضم مواد مغذی در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی دوره پرورش

تیمارها	درصد هضم‌پذیری چربی	درصد هضم‌پذیری پروتئین	درصد هضم‌پذیری خاکستر
شاهد	۹۰/۱۳±۱/۴۹^{b}	۹۱/۱۴±۰/۵۶^{a}	۵۴/۷۵±۰/۳۰^{b}
فسفولیپید ۵	۸۱/۹۲±۱/۰۳^{a}	۸۹/۵۴±۱/۶۶^{a}	۳۲/۳۲±۳/۹۲^{a}
فسفولیپید ۱۵	۸۲/۰۴±۱/۵۶^{a}	۹۳/۴۰±۰/۴۱^{b}	۵۸/۳۱±۲/۱۴^{b}

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند و حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنادار بین تیمارها است

جدول۵. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم لیپاز در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی دوره پرورش

تیمارها	شاهد	فسفولیپید ۵	فسفولیپید ۱۵
فعالیت آنزیم لیپاز (U/mg)	۰/۰۰۱۵±۰/۰۰۰۰۱ ^{b}	۰/۰۰۱۳±۰/۰۰۰۰۵ ^{a}	۰/۰۰۲۵±۰/۰۰۰۰۲ ^{c}

داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشند و حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر اختلاف معنادار سطح ۵ درصد بین تیمارها است.

۴. بحث و نتیجه گیری

طبق تحقیقات انجام‌شده فسفولیپیدها در افزایش رشد به خصوص در دوران اولیه زندگی در بسیاری از ماهیان آب شیرین مثل کپور معمولی(*Cyprinus carpio*) (Fontagne *et al.*, 2000) و گونه‌های دریایی مثل سیم‌دریایی‌اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) و باس‌دریایی(*Sparus aurata*) نقش مثبت داشته‌اند (Izquierdo *et al.*, 2001). در این بررسی از ۵ و ۱۵ گرم بر کیلوگرم فسفولیپید در جیره حاوی پودرچربی استفاده شد. پودر چربی هضم‌پذیری پایین‌تری نسبت به روغن‌ماهی دارد. نتیجه نشان داد پارامترهای رشد از جمله درصد افزایش‌وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب‌تبدیل غذایی، درصد بازماندگی، فاکتور وضعیت و شاخص‌کبدی در تیمارهای حاوی پودرچربی به رشد گروه شاهد که حاوی روغن ماهی است رسیده است و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد. اگرچه بین سطوح ۵ و ۱۵ گرم فسفولیپید اختلاف معنی‌داری از نظر درصد افزایش وزن بدن و ضریب‌رشدویژه وجود نداشت ولی به نظر می‌رسد که جیره‌ی حاوی پودرچربی که جایگزین روغن‌ماهی شد به همراه فسفولیپید توانست سطوح یکسانی از رشد را در مقایسه با جیره‌ی حاوی روغن‌ماهی نشان دهد. به طور مشابه، اثرات مثبت فسفولیپید بر رشد در مطالعات زیادی از جمله تحقیق بر روی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) (Geurden *et al.*, 1995; Fontagné *et al.*, 2000)، باس اروپایی (*Dicentrarchus abrax*) (Cahu *et al.*, 2003;Gisbert *et al.*, 2005)، سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Coutteau *et al.*, 1997; Fontagné *et al.*, 1999; Izquierdo *et al.*, 2001) و سوف (*Sander lucioperca*) (Hamza *et al.*, 2008) گزارش شده است. گنجانیدن فسفولیپید در جیره ممکن است با کاهش مصرف انرژی مورد نیاز برای سنتز این ماده باعث افزایش رشد ماهی گردد (Craig and gatlin III, 1997). از طرفی فسفولیپید به دلیل خاصیت امولسیفایری می‌تواند منجر به افزایش هضم چربی شود (Kanazawa, 1983) و در نهایت اثر مثبتی بر رشد بگذارد. کاهش معنی‌دار شاخص‌احشائی در تیمارهای دارای فسفولیپید نشان‌دهنده‌ی اثر فسفولیپید در انتقال چربی‌ها از انتروسیت روده‌ای به سایر بخش‌ها از جمله کبد می‌باشد همانطور که Salhi و همکاران (1999) و Fontagne و همکاران (1998) بیان کردند فسفولیپیدها با سنتز لیپوپروتئین‌ها در انتقال چربی‌ها از دستگاه گوارش به بافت‌ها نقش موثری دارند. فسفولیپیدها به هضم چربی‌ها مخصوصاً تری‌گلیسیریدها و انتقال آنها به بافت کمک می‌کنند

(Fontagne *et al*., 1998) که این امر کاهش تری‌گلیسیرید خون در جیره‌ی حاوی فسفولیپید نسبت به جیره‌ی فاقد آن را توجیه می‌کند که با تحقیق Jones و همکاران (1992) که اثر لسیتین را بر لیپید سرم خوک بررسی کردند و کاهش تری‌گلیسیرید خون را در تیمارهای دارای امولسیفایر شاهد بودند همسو بود. لسیتین با کاهش شیلومیکرون‌ها و یا کم‌کردن سرعت آنها باعث کاهش غلظت تری‌گلیسیریدها در خون می‌شود. مقدار کلسترول خون در جیره‌های حاوی فسفولیپید از لحاظ عددی بیشتر از جیره‌ی شاهد (فاقد فسفولیپید) است که ممکن است به دلیل وجود پودر چربی در جیره باشد که با افزایش ترشح صفرا از آنجاییکه کلسترول از ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی صفرا می‌باشد موجب افزایش کلسترول شد (Carey and Duane, 1994). مطالعه حاضر با تحقیق D'Abramo و همکاران (1982) همسو بود که فقدان لسیتین در جیره لابستر موجب کاهش کلسترول شد. فسفولیپید با ایجاد خاصیت امولسیفایری به دلیل داشتن دو سر آب‌دوست و آب‌گریز باعث قطبی‌شدن چربی ها و حل‌شدن آنها در محلول‌های قطبی می‌شود که در نهایت با اثر آنزیم لیپاز افزایش هضم‌پذیری چربی را در پی دارد. با این وجود این سطح از فسفولیپید نتوانست هضم‌پذیری چربی را در جیره‌های حاوی پودر چربی به جیره‌ی شاهد (حاوی روغن ماهی) برساند و هضم‌پذیری چربی در شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود. این امر می‌تواند به دلیل وجود اسیدهای چرب غیر اشباع در روغن ماهی که هضم‌پذیری بیشتری نسبت به چربی‌های جامد از جمله پودر چربی (دارای اسیدهای چرب اشباع) دارند و یا کافی‌نبودن میزان فسفولیپید باشد زیرا با افزایش میزان فسفولیپید در تحقیق حاضر، مقدار هضم‌پذیری چربی از لحاظ عددی افزایش یافت که با یافته‌های زیادی از جمله افزودن فسفولیپید در ماهی سالمون (*Salmo salar*) (Hung *et al*., 1997)، ماهی Red drum (*Sciaenops ocellatus*) (Craig and Gatlin III, 1997)، تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) (Kasper and Brown, 2003) و افزودن صفرا در ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Yamamoto *et al*., 2007) همسو بود.

همچنین فسفولیپید ۱۵ افزایش معنی‌داری در هضم‌پذیری پروتئین نسبت به سایر تیمارها داشت که نشان‌دهنده‌ی اثر مثبت فسفولیپید در این سطح بر هضم‌پذیری پروتئین می‌باشد. آنزیم لیپاز که توسط پانکراس و ابتدای روده ترشح می‌شود وظیفه هضم چربی‌ها را بر عهده دارد (Freed *et al*., 1986). از آنجاییکه مولکول‌های چربی در آب نامحلول هستند توسط نمک‌های صفراوی در روده کوچک شکسته و امولسیفیه می‌شوند سپس، لیپاز پانکراسی بر آن اثر می‌کند و ترکیب میسل شکل می‌گیرد. در نهایت لیپاز، مولکول‌های چربی را به ترکیبات سازنده‌ی آن تجزیه می‌کند. فسفولیپید با داشتن خاصیت امولسیونی می‌تواند در تشکیل میسل کمک کند و اثر آنزیم لیپاز را بهبود بخشد. در تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم لیپاز با افزودن ۱۵ گرم فسفولیپید داشتیم که علت این امر می‌تواند تحریک فعالیت آنزیم لیپاز توسط فسفولیپید در این سطح باشد. در تحقیق Bouraoui و همکاران (2011) روغن‌ماهی و پودر ماهی با اقلام گیاهی جایگزین شدند و نتیجه آن کاهش فعالیت آنزیم لیپاز در جیره روغن‌ماهی و جایگزینی ۷۵ درصد پروتئین گیاهی، در عضله و بافت سیم دریایی (*Sparus aurata*) بود که با تحقیق حاضر مغایرت داشت. دلیل این تفاوت ممکن است استفاده از فسفولیپید در تحقیق حاضر باشد. فسفولیپید به عنوان امولسیفایر می‌تواند با امولسیون کردن چربی‌ها، سطوح چربی و اثر آنزیم لیپاز را افزایش دهد که در نهایت موجب افزایش فعالیت آنزیم لیپاز در جیره حاوی پودر چربی شود. از آنجایی‌که اختلاف معنی‌داری از لحاظ پارامترهای رشد بین تیمار دارای پودر چربی به همراه فسفولیپید با تیمار دارای روغن ماهی وجود نداشت و با توجه به افزایش فعالیت آنزیم لیپاز در فسفولیپید ۱۵ و همچنین بهبود برخی پارامترهای هضم‌پذیری و بیوشیمیایی، فسفولیپید در سطح ۱۵ گرم بر کیلوگرم در جیره‌ی حاوی پودر چربی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پیشنهاد می‌شود اگرچه برای تعیین نقش دقیق‌تر فسفولیپید بر هضم‌پذیری نیاز به بررسی اثر فسفولیپید در سطوح بالاتر نیز می‌باشد.

References

Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., Angeles Esteban, M., 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). *Fish and Shellfish Immunology* 45, 841-847.

Austreng, E., 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 13, 265-272.

Babalola, T. & Adebayo, M., 2007. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by *Heterobranchus longifilis* fingerlings. *Journal of Fisheries International* 2, 60-64.

Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., Mcghee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P. & Sargent, J. R., 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *The Journal of Nutrition* 132, 222-230.

Bell, J. G., Tocher, D. R., Henderson, R. J., Dick, J. R. & Crampton, V. O., 2003. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *The Journal of Nutrition* 133, 2793-2801.

Bouraoui, L., Sanchez-Gurmaches, J., Cruz-Garcia, L., Gutierrez, J., Benedito-Palos, L., Perez-Sanchez, J., Navarro, I., 2011. Effect of dietary fish meal and fish oil replacement on lipogenic and lipoprotein lipase activities and plasma insulin in Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 17(1), 54-63.

Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.

Caballero, M., Izquierdo, M., Kjørsvik, E., Montero, D., Socorro, J., Fernández, A. & Rosenlund, G., 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225, 325-340.

Cahu, C., Infante, J. Z. & Takeuchi, T., 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture* 227, 245-258.

Carey MC, Duane W.C., 1994. Enterohepatic circulation. In: Arias IM, Boyer N, Fausto N, Jackoby WB, Schachter DA, Shafritz DA, editors. The liver: biology and pathobiology. New York (NY): Raven Press. pp. 719_ 738.

Coutteau, P., Geurden, I., Camara, M., Bergot, P. & Sorgeloos, P., 1997. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture* 155, 149-164.

Craig, R.S and D.M. Gatlin III., 1997. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocektus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. *Aquaculture* 151, 259-267.

Crespo, N. & Esteve-Garcia, E., 2003. Polyunsaturated fatty acids reduce insulin and very low density lipoprotein levels in broiler chickens. *Poultry Science* 82, 1134-1139.

D'Abramo, L. R., Bordner, C. E. & Conklin, D. E., 1982. Relationship between dietary phosphatidylcholine and serum cholesterol in the lobster (*Homarus* sp.). *Marine Biology* 67(2), 231-235.

FAO, 2012. The state of World Fisheries and Aquaculture. World review of fisheries and aquaculture.

Fontagné, S., I. Geurden, A. M. Escaffre and Bergot, P., 1998. Histological changes induced by dietary phospholipids in intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 16, 213–223.

Fontagné, S., Pruszynski, T., Corraze, A.-M., Bergot, P., 1999. Effect of coconut oil and tricaprylin vs triolein on survival, growth and fatty acid composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 161, 213–223.

Fontagne, S., Burtaire, L., Corraze, G. & Bergot, P., 2000. Effects of dietary medium-chain triacylglycerols (tricaprylin and tricaproin) and phospholipid supply on survival, growth and lipid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 190, 289-303.

Freed, L. M., York, C. M., Hamosh, M., Sturman, J. A. and Hamosh, P., 1986. Bile salt-stimulated lipase in non-primate milk: longitudinal variation and lipase characteristics in cat and dog milk. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism* 878, 209-215.

Furné, M., García-Gallego, M., Hidalgo, M. C., Morales, A. E., Domezain, A., Domezain, J. & Sanz, A. 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 149, 420-425.

Geurden, I., N. Charlon, D. Marion and Bergot, P., 1997. Influence of purified soybean phospholipids on early development of common carp. *Aquaculture International* 5: 137–149.

Geurden, I., Radünz-Neto, J., Bergot, P., 1995. Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. *Aquaculture* 131, 303–314.

Gisbert, E., Villeneuve, L., Zambonino Infante, J.L., Quazuguel, P., Cahu, C.L., 2005. Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass

(*Dicentrarchus abrax*) development. *Lipids* 40, 1–10.

Hamza, N., Mhetli, M., Khemis, I. B., Cahu, C. & Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 275, 274-282.

Hung, S.S.O., Berge, G.M., Storebakken, T., 1997. Growth and digestibility of soya lecithin and choline chloride in juvenile Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 3, 141–144.

Iijima, N., Tanaka, S. and Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, Pagrus major. *Fish Physiology and Biochemistry* 18, 59-69.

Izquierdo, M., Tandler, A., Salhi, M. & Kolkovski, S., 2001. Influence of dietary polar lipids' quantity and quality of ingestion and assimilation of labelled fatty acids by larval gilthead seabream. *Aquaculture Nutrition* 7, 153-160.

Jones, D., Hancock, J., Harmon, D. and Walker, C., 1992. Effects of exogenous emulsifiers and fat sources on nutrient digestibility, serum lipids, and growth performance in weanling pigs. *Journal of Animal Science* 70, 3473-3482.

Kanazawa, A., 1983. Effect of phospholipids on aquatic animals. *Feed Oil Abst* 18, 1-5.

Kanazawa, A., S. Teshima, S. Inamori, T. Iwashita and Nagao, A., 1981. Effects of phospholipids on survival rate and incidence of malformation in the larval ayu. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ, 30: 301– 309.

Kasper, C. S. & Brown, P. B., 2003. Growth improved in juvenile Nile tilapia fed phosphatidylcholine. North American *Journal of Aquaculture* 65, 39-43.

Li, X.-F., Liu, W.-B., Jiang, Y.-Y., Zhu, H. & Ge, X.-P., 2010. Effects of dietary protein and lipid levels in practical diets on growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings. *Aquaculture* 303, 65-70.

Liu, J., Caballero, M. J., Izquierdo, M., El-sayed ali, T., Hernández-cruz, C., Valencia, A. & Fernández-palacios, H., 2002. Necessity of dietary lecithin and eicosapentaenoic acid for growth, survival, stress resistance and lipoprotein formation in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Fisheries Science* 68, 1165-1172.

Ng, W. K., Tocher, D. R. & Bell, J. G., 2007. The use of palm oil in aquaculture feeds for salmonid species. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 394-399.

Olesen, N. Jand Jorgensen, P. E. V., 1986. Quantification of serum immunoglobulin in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) under various environmental conditions. *Diseases of Aquatic organisms* 1, 183-189.

Opsahl-Ferstad, H.-G., Rudi, H., Ruyter, B. & Refstie, S., 2003. Biotechnological approaches to modify rapeseed oil composition for applications in aquaculture. *Plant Science*, 165, 349-357.

Saito, H. & Ishihara, K., 1997. Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 74, 1531-1536.

Salhi, M., C.M. Hernandez-Cruz, M. Bessonart, M.S. Izquierdo and Fernandez-Palacios, H., 1999. Effect of different dietary polar lipid levels on gut and liver histological structure of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 179: 253-263.

Sargent, J., Mcevoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J. & Tocher, D., 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217-229.

Seiliez, I., J.S. Bruant, J. Zambonino-Infante, S. Kaushik and Bergot, P., 2006. Effect of dietary phospholipid level on the development of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae fed a compound diet. *Aquaculture Nutrition* 12, 372–378.

Sotudeh, E., Abedian Kenari, A., Habibi Rezaei, M., 2011. Effects of Dietary Phosphatidylcholine on Growth Parameters, Liver Fatty acid Composition of Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*) Alevin. *Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources* 64, 41-53. (In Persian)

Tocher, D. R., Bendiksen, E. Å., Campbell, P. J. & Bell, J. G., 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280, 21-34.

Turchini, G. M., Torstensen, B. E. & NG, W. K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.

Wahli, T., Verlhac, V., Girling, P., Gabaudan, J. & Aebischer, C., 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 225, 371-386.

Yamamoto, T., Suzuki, N., Furuita, H., Sugita, T., Tanaka, N. & Goto, T., 2007. Supplemental effect of bile salts to soybean meal-based diet on growth and feed utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fisheries Science* 73, 123-131.