

اثر لسیتین سویا بر شاخص‌های رشد، ترکیب شیمیایی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ریخت‌سنجدی روده ماهی آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*)

رضوانه جنابی حق پرست^۱، کوروش سروی مغانلو^{*}^۱، محمود محسنی^۲، احمد ایمانی^۱

^{*}sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تنكابن، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷

چکیده

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر لسیتین سویا بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و ریخت‌سنجدی روده پیش مولدین ماهی آزاد دریای خزر انجام شد. برای این منظور تعداد ۹۰ عدد ماهی آزاد (350 ± 10 گرم) بصورت تصادفی در سه تیمار (هر کدام با ۳ تکرار) تقسیم شدند. ماهیان گروه اول (شاهد) با غذای پایه مرکز، گروه دوم غذای پایه به همراه ۱۲٪ روغن سویا، گروه سوم غذای پایه بعلاوه ۶٪ روغن سویا و ۶٪ لسیتین به مدت ۹۰ روز تغذیه شدند. شاخص افزایش وزن بیانگر برتری آماری تیمار ۳ نسبت به تیمارهای شاهد و ۲ بود. همچنین شاخص ضربی تبدیل غذایی (FCR) در تیمار ۳ فقط با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($p \leq 0.05$). رطوبت لاشه ماهیان تیمارهای ۲ و ۳ با شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p \leq 0.05$)، ولی در محتوای پروتئین و چربی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($p > 0.05$). همچنین اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای ۲ و ۳ از لحاظ میزان انرژی خام وجود داشت ($p \leq 0.05$). فعالیت آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز، لیپاز و آمیلاز) ماهیان تیمار ۳ با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p \leq 0.05$). همچنین، ضخامت اپیتلیوم و عضله خارجی روده در تیمارهای ۲ و ۳ بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود ($p \leq 0.05$). نتیجه آنکه، افزودن ۶٪ لسیتین سویا به جیره غذایی ماهی آزاد موجب بهبود رشد و برخی فراسنجه‌های فیزیولوژیک گردید.

لغات کلیدی: لسیتین، رشد، آنزیم‌های گوارشی، ریخت‌سنجدی روده، ماهی آزاد دریای خزر

*نویسنده مسئول

۴۵ مقدمه

همکاران، ۱۳۹۱). ستوده و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعات خود بیان داشتند که فسفاتیدیل کولین به میزان ۴٪ در جیره آلوین ماهی آزاد دریای خزر بر پارامترهای رشد نهایی و نرخ رشد ویژه به طور معنی‌داری اثر دارد. بنظر می‌رسد یکی از مهمترین این مکانیسم‌ها، تأثیر فسفولیپیدها بر آنزیم‌های گوارشی پانکراتیک، روده‌ای و Seiedzadeh *et al.*, 2015). برای مثال استفاده از ۲ درصد لسیتین سویا در آلوین ماهیان قزل آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پانکراتیک (آمیلاز، لیپاز) و نوار مسوکی (آلکالین فسفاتاز، آمینو پپتیداز در مقایسه با تیمار شاهد شده است (Bell *et al.*, 1986). همچنین Cahu و همکاران (۲۰۰۳)، بیان داشتند تنظیم فعالیت‌های آنزیم لیپاز و فسفولیپاز با مقدار ژنتیکی mRNA و عوامل هورمونی کنترل می‌شود. افزایش سطح فسفولیپیدها و تری‌گلیسیریدها در رژیم غذایی موجب افزایش میزان انتقال mRNA آنزیم‌های مرتبط و سایر عوامل هورمونی مانند کوله سیستوکینین در تنظیم فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌شود. این نتایج مشابه نتیجه Azarm و همکاران (۲۰۱۳)، بر ماهی قزل آلای رنگین کمان است که نشان دهنده افزایش تولید شیلومیکرون توسط فسفاتیدیل کولین می‌باشد و منجر به افزایش غلظت کوله سیستوکینین و فعالیت آنزیم‌های پانکراتیک می‌شود که در نهایت هضم و جذب را بهبود می‌بخشد و اثر بر عملکرد رشد ماهی دارد. عوامل تغذیه‌ای، نقش بسزایی در بهبود عملکرد دستگاه گوارش جهت انجام فعالیت‌های طبیعی بدن دارد، تغذیه نامناسب موجب تجمع قطرات چربی در سلول‌های جذب کننده روده شده که نشان دهنده عدم توانایی سلول‌ها در انتقال تری‌آسیل گلیسیریدها است که با افزودن فسفولیپیدها به جیره غذایی برطرف می‌شود (حاجی نژاد و همکاران، ۱۳۹۶). مشاهده شده است کمبود فسفولیپیدها موجب تجمع چربی درون سلول‌های جذب کننده روده و تغییرات بافت شناختی روده در ماهیان کپور معمولی و آزاد ماهیان شده است (Olsen *et al.*, 2003). بنابراین، بررسی اثر مکمل

^۱ Phospholipid

در تانکهای پرورشی براساس جدول غذادهی (۲٪ وزن بدن) محاسبه گردید (Hardy, 2002). برای ساخت جیره غذایی تیمار ۱ (شاهد) فقط از غذای مرکز، تیمار ۲، از اضافه شدن ۱۲٪ روغن سویا به عنوان منبع چربی و تیمار ۳، از ۶٪ روغن سویا و ۶٪ لسیتین به جیره پودری استفاده شد. برای تهیه جیره تیمار دو و سه، پس از اضافه شدن روغن سویا و لسیتین، همراه آب مخلوط شدند و یک غذای خمیری شکل بدست آمد و این ترکیب توسط چرخ گوشتش صنعتی چرخ شده به سینی‌های خشک کن انتقال داده شدند و در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت خشک گردیدند و هنگام استفاده برای تغذیه، به صورت دستی به قطعات کوچک (سایز دهان ماهی) شکسته و به ماهیان داده شد. تعداد دفعات غذادهی ۳ بار در روز بود و غذاهای تهیه شده در طول آزمایش در یخچال نگهداری می‌شدند. کلیه مراحل ساخت غذا در مرکز تحقیقات ماهیان سرداری تنکابن انجام شد. دبی آب ۱۰ لیتر بر ثانیه، دما ۱۶-۲۴ درجه سانتی‌گراد و شوری صفر بود.

جدول ۱: تجزیه تقریبی جیره غذایی پایه

Table 1: The proximate composition of basal diet

درصد	ترکیب تقریبی جیره
٪۴۴	پروتئین
٪۱۶	چربی
٪۱۰	کربوهیدرات
٪۲۵	فیبر

به منظور تعیین پارامترهای رشد، زیست سنجی ماهیان در ابتدا و انتهای دوره طبق روش استاندارد انجام شد. برای این منظور، پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، ماهیان پرورشی به کمک پودر گل میخک با دوز 200 mg.ml^{-1} ابهوش شدند، سپس طول کل بوسیله خطکش با دقیقت یک میلی متر و وزن آن‌ها بوسیله ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد و شاخص‌های رشد شامل وزن ابتدایی و نهایی، فاکتور وضعیت (CF)^۱ ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۲ و

لسیتین بر وضعیت ریخت شناسی و بافت شناسی روده نیز مهم و قابل تامیل است.

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از جمله ماهیان مهاجر رودکوچ دریای خزر و یکی از زیر گونه قزل الای قهقهه‌ای در جهان و از گونه‌های مهم اقتصادی و در معرض خطر انقراض دریای خزر می‌باشد که اهمیت ویژه‌ای دارد. این ماهی طی سال‌های اخیر به دلیل شرایط نامساعد زیست محیطی و صید بی‌رویه با کاهش شدید ذخایر و صید مواجه شده است. بنابراین جهت بهبود ذخایر این ماهی، تکثیر مصنوعی و تولید و رهاسازی بچه ماهیان به محیط‌های طبیعی ضروری می‌باشد که این امر خود مستلزم دسترسی به مولдин چشمی و یا مولдин با کیفیت پرورشی می‌باشد. از سوی دیگر، نیازمندی‌های تغذیه‌ای یکی از اساسی‌ترین مواردی است که در پرورش یک گونه چه به منظور اقتصادی و چه بازسازی ذخایر، می‌باشد مورد توجه قرار بگیرد تا بتوان با تأمین نیازهای غذایی آن، رشد و بقاء را افزایش داد. مرور مطالعات پیشین بیانگر این است هنوز بسیاری از احتیاجات غذایی ماهی آزاد دریای خزر و جیره غذایی مناسب برای این گونه مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا، هدف از اجرای این پژوهش بررسی تاثیر استفاده از لسیتین بر رشد، ترکیبات لاشه، فعالیت آنزیمهای گوارشی و بافت شناسی روده است تا بتواند ما را در ارائه راهکاری برای بهبود رشد و شرایط فیزیولوژیک ماهی آزاد دریای خزر (*S. trutta caspius*) کمک نماید.

مواد و روش کار

این آزمایش در مرکز تحقیقات ماهیان سرداری تنکابن (استان مازندران) انجام شد. جهت انجام این آزمایش ۳ تیمار مختلف غذایی در نظر گرفته شد که برای هر تیمار ۳۰ قطعه ماهی آزاد با وزن تقریبی 350 ± 10 گرم انتخاب و در تانکهای ۱۷۰ لیتری (که قبلاً با فرمانیں ضد عفونی شده‌اند) توزیع شدند. مواد اولیه غذای پایه که بطور طبیعی در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان سرداری تنکابن برای ساخت غذای ماهی آزاد استفاده می‌شود توسط مرکز تامین گردید (جدول ۱). مقدار غذای روزانه بر اساس دمای متوسط آب، وزن و تعداد ماهیان موجود

^۱ Condition Factor

^۲ Feed Conversion Ratio

رنگ سنجی و تغییر شدت رنگ در معرف ترکیب کروموزن ۳ و ۵ دی نیتروسالیسیلیک اسید انجام شد. فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز p -nitrophenyl myristate و به طریق اسپکتروفوتومتری (طول موج ۵۸۰ نانومتر) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Iijima *et al.*, 1998). پروتئاز به روش Chong و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از کاژئین به عنوان سوبسترا با معرف فولین سیکالتو در ۵۰ میلی‌مولار بافر Tris/HCl pH ۷/۵ انجام گرفت. همچنین جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی، نمونه‌های بافت روده داخل محلول بؤن تشییت گردیدند و پس از ۷۲ ساعت به الکل اتانول ۷۰٪ انتقال داده شدند (حاجی نژاد و همکاران، ۱۳۹۶) و پس از تهییه بلوک‌های پارافینی و رنگ‌آمیزی PAS، شاخص‌های ضخامت عضله داخلی و خارجی، اپیتلیوم روده و همچنین طول و قطر پرزهای روده توسط نرم افزار LC ImageJ 1.45 مورد سنجش قرار گرفت. برای بررسی آماری داده‌ها، ابتدا نرمال بودن آن‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene مورد بررسی قرار گرفت. در صورت برقراری شرایط فوق، جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) استفاده شد و اختلاف بین میانگین‌ها بوسیله آزمون توکی (Tukey) بررسی شد. سطح معنی‌داری آماری در این بررسی ۰/۰۵ کدر نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS (version 21) انجام گرفت. نتایج بصورت Mean \pm SE ارائه شد.

نتایج

بر اساس نتایج داده‌های زیست سنجی در پایان دوره آزمایش (جدول ۲)، شاخص وزن نهایی در تیمار ۳ درصد لسیتین و ۶ درصد روغن سویا) دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد (غذای پایه) و تیمار ۲ (درصد روغن سویا) بود ($p \leq 0/05$). در شاخص ضربی تبدیل غذایی، تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و تیمار ۳ نداشت ($p > 0/05$). ولی تیمار ۳ با تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p \leq 0/05$). همچنین

ضریب رشد ویژه (SGR)^۱، طبق روابط ذیل محاسبه گردیدند (Waley and North, 1997):

$$\text{افزایش وزن / غذای خورده شده} = \frac{\text{فاکتور وضعیت}}{\text{طول / وزن نهایی}} \times 100$$

$$\text{ضریب رشد ویژه} = \frac{\text{وزن ثانویه Ln}}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

$$\text{اویله - زمان ثانویه} / (\text{وزن اویله})$$

 به منظور سنجش کیفیت لشه ماهیان (چربی، پروتئین، خاکستر، رطوبت و انرژی)، آنالیزهای تقریبی لشه با استفاده از روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) انجام گردید. میزان رطوبت به وسیله خشک کردن نمونه‌ها در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، پروتئین خام با ضرب محتوی نیتروژن نمونه در ۶/۲۵ و به روش کجلدال و میزان چربی خام به شیوه سوکسله و با استفاده از اتر تعیین شدند. خاکستر بوسیله سوزاندن نمونه‌ها در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت اندازه‌گیری شد و در نهایت میزان انرژی کل به روش بمب کالریمتری محاسبه گردید (پورعلی فشمی، ۱۳۹۲).

جهت سنجش اثرات تیمارهای مختلف آزمایشی بر روند تغییرات آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز، لیپاز و آمیلاز)، بعد از بیهودشی ماهیان نمونه برداری از زوائد پیلوریک (۳ ماهی برای هر تیمار) انجام گرفت و سپس بعد از جدا کردن چربی‌های زائد اطراف احشاء با آب مقطر به خوبی شسته شدند و عصاره آنزیمی استخراج شد. جهت تهییه عصاره آنزیمی، بافت زوائد پیلوریک به نسبت وزنی ۱:۵ در بافر ۵۰ میلی‌مولار، ۷، توسط هموژنایزر (مدل Polytron PT1300 Δ) به مدت ۱/۵ دقیقه همگن شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار (مدل Z36HK) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. محلول رویی، جهت سنجش پروتئین محلول و فعالیت آنزیمی در دمای ۸۰-۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Chong *et al.*, 2002). فعالیت آنزیم آمیلاز با به کارگیری روش Bernfeld (۱۹۵۱) و به وسیله سوبستراتی نشاسته محلول سنجش گردید که تحت تاثیر آنزیم تجزیه شده و تولید مالتوز می‌نماید که از طریق

^۱ Specific Growth Rate

و سطح پیشنهادی لسیتین (۰/۶) دیده نشد ($p > 0/05$).

شاخص‌های SGR و CF نهایی در تیمار ۳ بالاتر از بقیه تیمارها بود ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف

جدول ۲: نتایج شاخص‌های رشد ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean \pm SE)

Table 2: Growth indices of various experimental groups (Mean \pm SE)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
وزن اولیه (گرم)	۳۰۰ \pm ۹۸/۲۵ ^a	۳۵۱/۶۷ \pm ۵۲/۰۴ ^a	۳۴۸/۶۷ \pm ۲۵/۱۱ ^a
وزن نهایی (گرم)	۵۱۶/۶۷ \pm ۱۵/۲۸ ^a	۶۱۶/۶۷ \pm ۳۵/۴۷ ^b	۷۱۰ \pm ۳۵ ^c
CF _i	۱/۲۹ \pm ۰/۰۵ ^a	۱/۲۹ \pm ۰/۰۶ ^a	۱/۳۸ \pm ۰/۰۶ ^a
CF _f	۱/۶۷ \pm ۰/۱۳ ^a	۱/۶۰ \pm ۰/۰۳ ^a	۱/۷۰ \pm ۰/۰۴ ^a
SGR (درصد/روز)	۰/۵۱ \pm ۰/۰۶ ^a	۰/۵۳ \pm ۰/۱ ^a	۰/۶۷ \pm ۰/۱ ^a
FCR	۳/۱۹ \pm ۰/۳۴ ^{ab}	۳/۱۹ \pm ۰/۴۱ ^b	۲/۵۲ \pm ۰/۴۱ ^b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p \leq 0/05$).

و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0/05$) بود اما با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0/05$). همچنین در میزان پروتئین، چربی و خاکستر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود ندارد ($p > 0/05$) و وجود سطح لسیتین ۰/۶٪ در جیره، میزان چربی، پروتئین، خاکستر، رطوبت و انرژی لاشه را کاهش می‌دهد.

نتایج آنالیز ترکیب لاشه ماهیان در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج حاصل، اختلاف شاخص رطوبت، در تیمارهای ۳ (۶ درصد لسیتین و ۶ درصد روغن سویا) و ۲ (۱۲ درصد روغن سویا) با تیمار شاهد معنی‌دار بود ($p \leq 0/05$). ولی بین تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). میزان انرژی نیز بین تیمارهای ۲

جدول ۳: ترکیب لاشه ماهیان در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean \pm SE)

Table 3: Body composition of various experimental groups (Mean \pm SE)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
چربی (درصد از ماده خشک)	۱۰/۶۸ \pm ۱/۷۸ ^a	۱۰/۵۰ \pm ۱/۹۳ ^a	۱۳/۴۷ \pm ۱/۴۳ ^a
پروتئین (درصد از ماده خشک)	۶۴/۵۶ \pm ۳/۱۴ ^a	۶۸/۳۲ \pm ۴/۴۶ ^a	۶۴/۷۲ \pm ۲/۱۳ ^a
خاکستر (درصد از ماده خشک)	۷/۶۵ \pm ۰/۸۷ ^a	۶/۲۴ \pm ۰/۷۴ ^a	۸/۸۵ \pm ۰/۵۷ ^a
رطوبت (%)	۸۰/۱ \pm ۲/۴۸ ^a	۷۲/۱۷ \pm ۱/۶۲ ^b	۷۲/۶۴ \pm ۱/۷۹ ^b
انرژی (کیلوکالری/کیلوگرم)	۶۴۸۵/۷۷ \pm ۸۹/۰۶ ^a	۶۷۰۳/۹۲ \pm ۲۸۳/۰۵ ^a	۶۱۷۷/۶۵ \pm ۴۷/۱۳ ^b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار آماری است ($p \leq 0/05$).

و قطر پرزهای روده و ضخامت عضله داخلی روده در تیمار تغذیه شده با لسیتین اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و تیمار ۲ وجود ندارد ($p > 0/05$). اما در شاخص ضخامت اپیتلیوم و عضله خارجی روده، تیمار ۳ (۰/۶٪ لسیتین) و تیمار ۲ (۱۲٪ روغن سویا) دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بودند ($p \leq 0/05$). اما بین تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج فعالیت آنزیم‌های گوارشی (جدول ۴) نیز بیانگر تاثیر مثبت استفاده از لسیتین در جیره غذایی و اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0/05$) آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز و آمیلاز در تیمار ۳ (۶٪ لسیتین)، با تیمارهای شاهد و تیمار ۲ است. همچنین اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای شاهد و تیمار ۲ (۱۲٪ روغن سویا) مشاهده نشد ($p > 0/05$). بررسی و اندازه‌گیری بافت روده در آنالیز واریانس یکطرفه نشان داد (جدول ۵) با توجه با بالا بودن میانگین شاخص‌های طول

جدول ۴: فعالیت آنزیم‌های گوارشی (Mean \pm SE) در تیمارهای مختلف آزمایشی (U/g tissue)Table 4: Digestive enzymes activity of various experimental groups (Mean \pm SE)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
پروتئاز	۱۹/۲ \pm ۱/۴۷ ^a	۲۴/۸ \pm ۰/۶۲ ^a	۴۳/۳۳ \pm ۵/۹ ^b
لیپاز	۱۴۶ \pm ۶/۵۶ ^a	۱۸۱/۶۷ \pm ۱۱/۳۷ ^a	۳۱۸ \pm ۲۸/۶۴ ^b
آミلاز	۵۰/۳۳ \pm ۱۰/۲۲ ^a	۷۱/۳۳ \pm ۶/۵۱ ^a	۱۳۶/۳۳ \pm ۵/۰ ^b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار آماری است ($p \leq 0.05$).

جدول ۵: ریخت‌سنجه روده در تیمارهای مختلف آزمایشی (Mean \pm SE)Table 5: Intestinal histomorphometry of various experimental groups (Mean \pm SE)

شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
طول پرز روده (μm)	۲۰۹۴/۱ \pm ۷۰۳/۹۱ ^a	۲۵۹۴/۶۲ \pm ۵۸۲/۸۲ ^a	۲۸۴۰/۴۱ \pm ۳۶۰/۱۲ ^a
قطر پرز روده (μm)	۲۷۳/۵۵ \pm ۶۷/۴۵ ^a	۳۳۶/۸۷ \pm ۱۰۶/۷۲ ^a	۳۲۲/۷۱ \pm ۸۳/۱ ^a
ضخامت اپیتلیوم روده (μm)	۸۱۸/۷۳ \pm ۲۲۶/۲۵ ^a	۱۳۳۷/۶۲ \pm ۳۶۹/۷۴ ^b	۱۳۳۶/۸۵ \pm ۲۲۱/۳۶ ^b
ضخامت عضله داخلی روده (μm)	۲۷۷۵/۵۲ \pm ۴۰۵/۴۴ ^a	۲۶۷۵/۲ \pm ۱۱۴۰/۸۹ ^a	۲۶۵۸/۸ \pm ۲۲۹/۷۶ ^a
ضخامت عضله خارجی روده (μm)	۱۳۵۴/۳۲ \pm ۳۴۷/۵۲ ^a	۲۰۲۳/۱۲ \pm ۸۱۰/۸۸ ^b	۲۶۱۰/۸۸ \pm ۷۲۵/۳۷ ^b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار آماری است ($p \leq 0.05$).

بحث

بکارگیری ۷/۵ درصد لسیتین در جیره بچه تاسمه‌اهی سیبری باعث افزایش برخی شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی، نرخ رشد و پیوژه، فاکتور وضعیت و کاهش ضربیت تبدیل غذایی می‌شود مشابه است. شاخص SGR نیز میزان بالاتری نسبت به بقیه تیمارها داشت اما اختلاف معنی داری با تیمارهای شاهد و دوم نداشت. همچنین همراستا با نتایج تحقیق حاضر، افزودن فسفاتیدیل کولین (S.⁴) به جیره غذایی لارو ماهی آزاد دریای خزر (trutta caspius) منجر به افزایش رشد شده است (Sotoudeh *et al.*, 2011). تحقیق دیگری نشان داد که تکمیل جیره‌های غذایی با فسفولیپید در ماهیان از طریق کاهش مصرف انرژی که برای ساخت فسفولیپید مورد نیاز Craig and Gatlin (1997)، Abedian (1997) در مطالعات خود بیان داشتند که استفاده از فسفولیپید منجر به افزایش معنی دار رشد در آلوین ماهی آزاد دریای خزر شده است. احتمالاً تأثیر مثبت لسیتین بر افزایش رشد، بدلیل داشتن مقدار زیاد فسفاتیدیل کولین آن باشد. چرا که نقش فسفاتیدیل کولین افزایش برای انتقال چربی‌های خنثی از سلول‌های رودهای به جریان خون و تامین انرژی زیادتر برای رشد سریعتر با تکامل دستگاه گوارش باشد (Flahtkar and Hekmati, 1390)، این نتایج با نتایج تحقیق ستوده و همکاران (Seiliez *et al.*, 2006) یا تکامل

امروزه لسیتین یک افزودنی ارزشمند در فرآوری و تولید خوراک در صنایع مختلف است و تعداد کاربردهای آن نیز در صنایع غذایی بسیار زیاد می‌باشد. همچنین با توجه به آنالیز پروفیل اسیدهای چرب آن، لسیتین یک منبع انرژی به حساب می‌آید و می‌تواند به عنوان یک منبع اسیدهای چرب غیراشباح در جیره غذایی آبزیان به کار رود. مکمل لیستین به عنوان منبعی از فسفولیپید، کولین و اینوزیتول، رشد و بازماندگی ماهیانی از قبیل ماهیان خاویاری، سیم، سالمون، قزل آلا را افزایش می‌دهد (پورعلی فشمی و همکاران، 1392). بر اساس نتایج به دست آمده در این بررسی، اضافه کردن ۶ درصد لسیتین و ۶ درصد روغن سویا، در تیمار ۳ سبب بهبود وزن و پایین آمدن شاخص ضربیت تبدیل غذایی شده است. یکی از علت‌های مطرح در این خصوص می‌تواند مرتبط با تاثیر مثبت لسیتین سویا به دلیل داشتن مقدار زیاد فسفاتیدیل کولین و عملکرد آن جهت افزایش انتقال چربی‌های خنثی از سلول‌های رودهای به جریان خون و تامین انرژی زیادتر برای رشد سریعتر با تکامل دستگاه گوارش باشد (Flahtkar and Hekmati, 1390)، این نتایج با نتایج تحقیق ستوده و همکاران (Seiliez *et al.*, 2006) یا اظهار داشتند

دارد و بیشترین میزان درصد پروتئین و چربی لашه در ماهیانی بدست آمد که با جیره حاوی ۴ درصد لیسیتین تخم مرغ تغذیه شده بودند و طبق نتایج آنها سطوح لیسیتین ۴ و ۶ درصد در جیره این ماهی رشد و بازماندگی آنرا افزایش می‌دهد. همچنین در تحقیق Azarm و همکاران (۲۰۱۳)، سطح ۰/۲٪ لیسیتین تخم مرغ باعث افزایش معنی دار فعالیت آمیلاز، لیپاز، فسفولیپاز A2، آلکالین فسفاتاز (AP)، آمینوپتیداز و فعالیت پاپیون تر پپتیداز آلانین لوسین (LEU-ALA) در دستگاه گوارش بچه ماهیان قزل آلا نسبت به گروه شاهد شد که مشابه نتایج این تحقیق است. آنها افزایش فعالیت آمیلاز در تیمارها تغذیه شده با لیسیتین را مربوط به لیزوفسفولیپیدها دانستند که به عنوان امولسیفایر در روده عمل می‌کند. همچنین فعالیت آزیم آمیلاز به دلیل عادات تغذیه‌ای، جنس، مقدار کربوهیدرات‌رژیم غذایی و غلطت یون‌ها می‌تواند متفاوت باشد.

نقش عملی و مهم روده‌ها در به عهده داشتن بخش وسیعی از روند گوارشی و جذب مواد غذایی ثابت شده است و هرگونه کاهش ارتفاع و تعداد انتروسیت‌ها سلول‌های روده‌ای در ماهیان نشان دهنده‌ی عدم توانایی جذب، کاهش رشد و شرایط تغذیه‌ای نامناسب می‌باشد (حاجی نژاد و همکاران ۱۳۹۶). مشاهده شده است کمبود فسفولیپیدها موجب تجمع چربی درون سلول‌های جذب‌کننده روده و تغییرات بافت‌شناختی در ماهی کپور Fontagne *et al.*, 1998). در تحقیق حاضر، تیمار تغذیه شده با لیسیتین در شاخص‌های طول و قطر پرزهای روده و ضخامت عضله داخلی روده اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و ۲ نداشت، اما طول و قطر پرزهای روده در تیمار ۳ بالاتر از تیمار شاهد بود. همچنین ضخامت اپیتلیوم و عضله خارجی روده در تیمار ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بود که افزایش این موارد در واحد سطح می‌تواند به عنوان مکانیسمی جهت افزایش جذب مواد مغذی و عملکرد بهتر رشد ماهی باشد. Olsen و همکاران (۱۹۹۹)، مشاهده کردند که در ماهی چار قطبی تغذیه شده با روغن بزرک تمایل به تجمع قطرات چربی در داخل

دستگاه گوارش می‌باشد (Gisbert *et al.*, 2005). آنالیز شیمیایی لاشه نیز نشان داد، میزان چربی، پروتئین و خاکستر در ابتدا و پایان بررسی تغییر معنی‌داری نداشته است و میزان رطوبت در تیمارهای ۲ و ۱۲ درصد روغن سویا) و تیمار ۳ (۶٪ لیسیتین و ۶٪ روغن سویا) با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دارد. شریفیان (۱۳۹۳)، در تحقیقی ثابت کرد غذاي مصرف شده بر روی ترکیبات بدن ماهی به ویژه در خصوص میزان پروتئین، چربی، انرژی، خاکستر رطوبت، کلسیم و فسفر نقش ویژه‌ای ایفاء می‌نماید. نتایج یافته‌های به دست آمده در خصوص مقادیر چربی، در جیره‌های لارو سیم دریابی با بررسی Atar و همکاران (۲۰۰۹)، مشابهت دارد. مطالعات نشان دادند که فسفولیپیدها نقش مهمی در انتقال لیپید دارند که باعث افزایش عملکرد و دسترسی به انرژی می‌شود و در نتیجه Sink، 2014). در مورد اثر لیسیتین نیز گزارش شده است که متabolیسم بسیاری از پروتئین‌ها توسط فسفاتیدیل کولین تغییر می‌کند. بنابراین، رشد بالا در تغذیه با سطح بالای فسفولیپیدها به دلیل افزایش تقاضا برای اسید آمینه است که باعث افزایش تولید پروتئین می‌شود (Sotoudeh *et al.*, 2011 و Craig Gatlin ۱۹۹۷). نتایج پژوهش با فسفولیپید سبب نشان داد که تکمیل جیره‌های غذایی با فسفولیپید بازده مصرف چربی جیره غذایی، بهبود نرخ اباقی پروتئین و صرفه جویی در مصرف انرژی جهت ساخت فسفولیپید در بدن ماهی شده و عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد. البته عوامل زیادی مانند نوع گونه، اندازه اولیه ماهی و طول مدت آزمایش بر ترکیب بیوشیمیایی بدن اثر دارند. بررسی آزیم‌های گوارشی نیز نشان دهنده تاثیر مثبت استفاده از ۶ درصد لیسیتین در جیره غذایی آزاد ماهیان در این تحقیق بود. Seiedzadeh و همکاران (۲۰۱۵)، با بررسی اثرات سطوح مختلف لیسیتین تخم مرغ را بر آزیم‌های گوارشی و ترکیب بیوشیمیایی لاشه بدن ماهی بنی (Mesopotamichthys sharpeyi) جوان، گزارش کردند که سطوح مختلف لیسیتین بر مقادیر درصد محتوای پروتئین و چربی لاشه و همچنین فعالیت آزیم‌های گوارشی (لیپاز، آمیلاز و الکالین فسفات) تاثیر معنی‌داری

حاجی نژاد، س..، ایمانی، ا..، نوری، ف. و سروی مغانلو، ک.. ۱۳۹۶. بررسی آسیب شناختی بخش پیشین روده ماهیان تازه به تغذیه افتاده قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف HUFA و PUFA_(c18) جیره غذایی. مجله علمی شیلات ایران، ۴۰(۲۰): ۲۳-۲۳. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.113896

ستوده، ا.. عابدیان کناری، ع. و رضایی، م.. ۱۳۹۰. تاثیر فسفاتیدیل کولین جیره بر پارامترهای رشد و پروفیل اسیدهای چرب کبد آلوین ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). نشریه شیلات (مجله منابع طبیعی ایران)، ۶۴(۱): ۵۳-۴۱.

شریفیان، م.. ۱۳۹۳. بررسی ترکیبات بدن ماهی بنی شریفیان (*Barbus Sharpeyi*) در محدوده گروههای طولی مختلف در منابع آبی استان خوزستان. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۳): ۷۶-۶۵.

محمدی آذر، ح.. عابدیان کناری، ع. و هدایتی، م.. ۱۳۹۱. تاثیر لسیتین سویا و تخم مرغ بر رشد، زنده‌مانی و مقاومت به تنفس کمبود اکسیژن در آلوین ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه شیلات (مجله منابع طبیعی ایران)، ۶۵(۲): ۲۳۰-۲۱۹.

DOI: 10.22059/JFISHERIES.2012.28624

نجفی‌پور مقدم، ا.. فلاحتکار، ب. و کلباسی، م.. ۱۳۹۰. اثر لسیتین جیره بر شاخص‌های رشد و ویژگی‌های خونی بچه تاس ماهی سیربری (*Acipenser baeri*, Brant 1969). مجله علمی شیلات ایران، ۲۰(۳): ۱۵۴-۱۴۳.

DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110014

Abedian, A. M., Sotoudeh, E. and Rezaei, M.H., 2011. Dietary soybean phosphatidylcholine affects growth performance and lipolytic enzyme activity in Caspian brown trout (*Salmo trutta Caspius*) alevin. Aquaculture Research, 42: 655-663.

سیتوپلاسم قابل مشاهده است، در حالیکه در ماهی تغذیه شده با لسیتین سویا چنین حالتی گزارش نشد. آن‌ها چنین بیان نمودند که این تجمع می‌تواند به دلیل ناکافی بودن فسفولیپیدهای مورد نیاز برای تولید لیپوپروتئین‌ها باشد. Hall و Bellwood (۱۹۹۵)، بیان داشتند هرگونه کاهش ارتفاع و تعداد سلول‌های روده در لارو ماهیان نشان دهنده‌ی عدم توانایی جذب، کاهش رشد و شرایط نامناسب تغذیه‌ای می‌باشد. همچنین در تحقیقی استفاده از لسیتین سویا در مقایسه با روغن سویا در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان باعث کاهش تجمع قطرات چربی در روده گردید (Olsen *et al.*, 2003). استفاده از *Oreochromis mossambicus* قرار گرفته در معرض جیوه به طور قابل توجهی باعث مهار جذب جیوه توسط روده گردید (Kothari and Choughule, 2009). بطور کلی جیره حاوی ۶٪ لسیتین سویا، اثر مطلوبی بر شاخص‌های رشد خصوصاً رشد، ضریب تبدیل غذایی و فاکتور وضعیت دارد. همچنین آنزیم‌های گوارشی و ضخامت اپیتلیوم و عضله خارجی روده نیز تحت تاثیر لسیتین بهبود پیدا کرد و مکمل شدن جیره با لسیتین سویا منجر به افزایش کیفیت شیمیایی بدن ماهیان آزاد شده است. با توجه به اینکه وضعیت مناسب سلامت ماهی، تاثیر مستقیمی بر روند رشد و فاکتورهای فیزیولوژیک ماهی آزاد دارد، از این رو بکار بردن لسیتین در سطح ۶٪ توصیه می‌گردد. همچنین مطالعات تکمیلی درخصوص استفاده از سایر منابع فسفولیپیدی و تاثیرات آن بر عملکردهای متنوع فیزیولوژیک در سطح سلولی مولکولی، توصیه می‌گردد.

منابع

پورعلی فشتمنی، ح. ر.. سهیل نقشی، س..، یزدانی، م.. ع.. پژند، ذ. و پیکران مانا، ن.. ۱۳۹۲. بررسی اثر لسیتین سویا بر شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی و ترکیب شیمیایی لشه بچه تاسماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله توسعه آبزی پروری، ۷(۱): ۲۲-۹.

- DOI10.1111/j.1365-2109.2010.02587.x.
- AOAC, 1990.** Association of official analytical chemists, official methods of analysis, 16th edition. Arlington, VA, USA.
- Atar, H.H., Bekcan, S. and Olmez, M., 2009.** The effects of dietary of soybean lecithin on the growth performance feed conversion and body composition of Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. Journal of Animal and Veterinary Advances, 8: 1678-1684.
- Azarm, H.M., Kenari, A.A. and Hedayati, M., 2013.** Effect of dietary phospholipid sources and levels on growth performance, enzymes activity, cholecystokinin and lipoprotein fractions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Aquaculture Research, 44: 634-644. DOI: 10.1111/j.1365-2019.2011.03068.
- Bell, J.G., Adron, J.W. and Cowey, C.B., 1986.** Effect of selenium deficiency on hydroperoxide stimulated release of glutathione from isolated perfused liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). British Journal of Nutrition, 5(5): 421-428. DOI: 10.1079/BJN1986012.
- Bernfeld, P., 1951.** Enzymes of starch degradation and synthesis. Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology, 12: 379-428. DOI: 10.1002/9780470122570.ch7.
- Cahu, C. L., Zambonino-Infante, J. L. and Barbosa, V., 2003.** Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. British Journal of Nutrition, 90: 21-28. DOI: 0.1079/BJN2003880.
- Chong, A.S.C., Hashim, R., Lee, C.Y. and Ali, B.A., 2002.** Partial characterization and activities of proteases form the digestive tract of discus fish (*Sympodus aequifasciata*). Aquaculture, 203: 321-333. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00630-5.
- Craig, S.R. and Gatlin, D.M., 1997.** Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline. Aquaculture, 151: 259-267. DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01479-2.
- Fontagne, S., Burtaire, L., Corraze, G. and Bergot, P., 2000.** Effects of 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. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00400-2.
- Fontagne, S., Gurden, I., Escsffre, A. and Bergot, P., 1998.** Histological changes induced by dietary phospholipids in intestine and liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae. Aquaculture, 161: 213-223. DOI: 10.1016/S0044-8486(97)00271-8.
- Gisbert E., Villeneuve L., Zambonino Infante J.L., Quazuguel P. and Cahu C.L., 2005.** Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long-chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax*

- larval development. *Lipids*, 40: 1–11. DOI: 10.1007/s11745-005-1422-0.
- Hall, C.K. and Bellwood, R.D., 1995.** Histological effects of cyanide, stress and starvation on the intestinal mucosa of (*Pomacentrus coelestis*). *Journal of Fish Biology*, 47(3): 438-454. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1995.tb01913.x.
- Hardy, R.W., 2002.** Nutrient requirement and feeding of fish for aquaculture. CABI Publishing. Walling ford. Oxon. United Kingdom, 184-202. DOI: 10.1079/9780851995199.0000.
- Iijima, N., Ota, Y. and Tanaka, S., 1998.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from hepatopancrease of red sea bream *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18: 59-69. DOI: 1023/A:1007725513389.
- Kothari, S. and Choughule, N., 2009.** Essential phospholipids protection against mercury uptake and histopathological changes in the intestine of fish, *Oreochromis mossambicus* (Trewavas). *Journal of Applied and Natural Science*, 1(2): 264-268. DOI: 10.31018/jans.v1i2.68.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Kaino, T. and Ringø, E., 1999.** Lipid digestibility and ultrastructural changes in the enterocytes of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) fed linseed oil and soybean lecithin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21:35–44. DOI:10.1023/A:1007726615889.
- Olsen, R.E., Tore Dragnes, B. and Myklebust, R., 2003.** Effect of soybean oil and soybean lecithin on intestinal lipid composition and lipid droplet accumulation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Fish Physiology and Biochemistry*, 29(3): 181-192. DOI: 10.1023/B:FISH.0000045708.67760.43.
- Poston, H.A., 1991.** Response of Atlantic salmon fry to feed-grade lecithin and choline. *Progressive Fish-Culturist*, 53:224–228. DOI: 10.1577/1548-8640.
- Seiedzadeh, M. S., Yavari, V., Mohammadiazarm, H. and Mosavi, M., 2015.** Evaluation effect of dietary egg lecithin on digestive enzymes and body composition of juvenile binni (*Mesopotamichthys sharpeyi* Gunther, 1874). *International Journal of Aquatic Biology*, 3(2): 72-77. DOI: e5075dd2888740f994089ce437a39653.
- Seiliez, I., Bruant, J.S., Zambonino Infante, J.L., Kaushik, S.J. and Bergot, P., 2006.** Effect of dietary phospholipid level on the development of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae fed a compound diet. *Aquaculture Nutrition*, 12: 372-378. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2006.00436.x.
- Sink, T.D. and Lochmann, R.T., 2014.** The effects of soybean lecithin supplementation to a practical diet formulation on juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*): Growth, survival, hematology, innate immune activity, and lipid biochemistry. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45: 163-172.
- DOI: 10.1111/jwas.12108.

- Sotoudeh, E., Kenari, A.A. and Rezaei, M.H., 2011.** Growth response, body composition and fatty acid profile of Caspian brown trout (*Salmo trutta Caspius*) juvenile fed diets containing different levels of soybean phosphatidylcholine. *Aquaculture International*, 19: 611-623. DOI: 10.1007/s10499-010-9376-x.
- Waley, K. and North, J., 1997.** Haemolytic assays for whole complement activity and individual components. In: Dodds, A. W. and sim, R. B. (Eds), *Complement: A practical Approach*, Vol. 1: Oxford University Press, Oxford, Great Britain. Pp.19-47. DOI: 10.3791/1923.

Effect of soybean lecithin on growth indices, body composition, digestive enzymes activities and intestinal histomorphometry of Caspian Salmon (*Salmo trutta caspius*)

Jenabi Haghparast R.¹, Sarvi Moghanlou K.^{1*}, Mohseni M.², Imani A.¹

*k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2-Cold-water Fishes Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute,

Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon, Iran

Abstract

The present study conducted to evaluate the effects of soybean lecithin on growth indices, body composition, digestive enzymes activities and intestinal histomorphometry of Caspian salmon. Ninety fish ($350g \pm 10$) were randomly divided into three treatments with three respective replicates. The first treatment (control group) was fed with commercial feed, while the second group received diet supplemented with 12% soybean oil, and the third one received feed supplemented with 6% soybean oil and 6% soybean lecithin for 90 days. Weight gain was indicative of the statistical superiority of treatment 3 over control group and treatment 2. In addition, FCR of treatment 3 was only significantly different from control group ($p \leq 0.05$). There were significant differences regarding moisture content of treatments 2 and 3 in compare to control group ($p \leq 0.05$), however, protein and lipid contents of treatments were not significantly different ($p \leq 0.05$). Furthermore, energy contents of treatments 2 and 3 were significantly different ($p \leq 0.05$). Digestive enzymes activities (protease, lipase and amylase) of treatment 3 significantly differed from treatment 2 and control group ($p \leq 0.05$). Morphometric characteristics of intestine including epithelium thickness and external muscle thickness of treatments 2 and 3 were significantly different from those of control group ($p \geq 0.05$). In conclusion, supplementing Caspian salmon diet with 6% soybean lecithin improved growth and some physiological parameters of the fish.

Keywords: Lecithin, growth, Digestive enzymes, Intestinal histomorphometry, *Salmo trutta caspius*

*Corresponding author