قابلیت هضم چربِی و اسیدهای چرب، ابقاء چربی و عملکرد رشد در ماهی نورس آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامین E

ابراهیم ستوده [۱] ، عبدالمحمد عابدیان کناری [۲]*، صابر خدابنده [۳]

aabedian@modares.ac.ir

۲،۱ و ۳-دانشگاه تربیت مدرس - مازندران-نور

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۲ **تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۲**

چکیده

به منظور بررسی اثر ترکیبی مقادیر مختلف اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ HUFA و سطوح ویتامین E جیره بر رشد، قابلیت هضم و ابقاء ظاهری اسیدهای چرب و بکارگیری چربی در بچه ماهی نورس آزاد دریای خزر، یک آزمایش ۱۰ هفته‌ای انجام شد. شش جیره حاوی مقادیر مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA شامل نسبت‌های مختلف اسید چرب C22:6n-3 (DHA) به C20:5n-3 (EPA) بصورت ۱+۰/۵ (پایین، Low)، ۲+۱ (متوسط، Medium) و ۴+۲ (بالا، High) درصد جیره و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین، Low) و ۱۰۰۰ (بالا، High) میلیگرم ویتامین E در کیلوگرم جیره تهیه شد (به اختصار: LL، LH، ML، MH، HL و HH). بچه ماهیان نورس با میانگین (±SD) وزن اولیه ۲۵±۶۰۰ (میلیگرم) بطور تصادفی در تانک های پرورشی تقسیم شدند و تا سیر شدن کامل با هر یک از جیره‌ها تغذیه شدند. با افزایش مقدار HUFA و ویتامین E جیره رشد بچه ماهیان به طور معنی داری افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که بازماندگی بچه ماهیان آزاد دریای خزر تحت تاثیر میزان ویتامین E و اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA قرار نمی‌گیرد. میزان اسیدهای چرب C20:5n-3 و C22:6n-3 چربی‌های خنثی و قطبی همبستگی مثبتی با میزان آنها در جیره داشتند. قابلیت هضم ظاهری و ابقاء چربی کل جیره بطور معنی داری تحت تاثیر HUFA جیره قرار گرفت. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که اسیدهای چرب HUFA و ویتامین E اثر مثبتی بر عملکرد رشد، متابولیسم و قابلیت هضم ظاهری چربی بچه ماهی نورس آزاد دریای خزر دارد.

لغات کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، قابلیت هضم چربی، اسیدهای چرب HUFA، ویتامین E

*نویسنده مسئول

مقدمه

برداشت آبزیان از آب‌های طبیعی به بالاترین میزان خود رسیده است (Turchini *et al.*, 2010). برای حفظ سرانه مصرفی محصولات آبزیان نسبت به جمعیت در حال رشد، توسعه آبزی‌پروری به عنوان ابزاری برای افزایش تولید مواد غذایی با منشاء دریائی ضروری خواهد بود. به نظر می‌رسد تقاضاهای آینده برای غذاهای دریایی و محصولات شیلاتی تنها از طریق گسترش پرورش آبزیان تامین گردد. این افزایش تولید مستلزم پرورش متراکم است که خود وابسته به افزایش مواد مغذی و کارآمدی غذاهای آبزیان می‌باشد. از آنجا که ذخایر غذایی لارو ماهی در اولین مراحل تغذیه بسیار محدود است، از این رو زنده ماندن ماهی به طور چشمگیری وابسته به تغذیه از جیره‌های با کیفیت بالا است. لذا فرمولاسیون مطلوب ترکیبات جیره مطابق با نیازهای ماهی ضروری است.

اسیدهای چرب دارای نقش های متعددی در دوره لاروری از جمله: منبع تامین انرژی متابولیکی (Tocher, 2003)، به عنوان اجزای فسفولیپیدها در ساختار دیواره سلولی و پیش‌ساز مولکول‌های زیستی فعال می‌باشند. در این میان اسیدهای چرب بلند زنجیره چند غیر اشباع (HUFAs) مانند دوکوهگزانوئیک اسید (DHA, 22:6n-3)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA, 20:5n-3) و آراشیدونیک اسید (ARA, 20:4n-6) عملکردهای فیزیولوژیک مهمی دارند.

اهمیت اسید چرب DHA در جیره‌های لارو ماهیان دریائی به اثبات رسیده است (Watanabe *et al*., 1989; Izquierdo 1996; Sargent *et al*., 1999b). اثرات مثبت آن در افزایش بازماندگی آبزیان با نقش مهم این اسید چرب در کنترل استرس (Izquierdo 2005; Ganga *et al*., 2006)، تکامل سیستم ایمنی (Montero *et al*., 2003) و بهبود سلامتی و مقاومت باکتریائی لارو ماهیان ارتباط داده شده است (Bransden *et al.,* 2005). با این حال جدای از تاثیر مثبت این اسید چرب در افزایش بازماندگی، به نظر می‌رسد DHA نسبت به سایر اسیدهای چرب ضروری باعث افزایش رشد بیشتر (Watanabe *et al*., 1989; Watanabe & Kiron, 1994) و رفتار نرمال می‌گردد (Masuda *et al.,* 1999). اسید چرب EPA سوبسترای مناسبی برای تولید ایکوزانوئیدها می‌باشد (Ganga *et al.,* 2005). علاوه بر این، این اسید چرب می تواند به عنوان ذخیره انرژی بالقوه مهم در لارو در حال توسعه، به ویژه در طول دوره های گرسنگی محسوب شود. هر چند این میزان نسبت به MUFA و SFA کمتر است اما نسبت به DHA و ARA به میزان بیشتری برای بتا- اکسیداسیون میتوکندریائی ترجیح داده می‌شود (Madsen *et al.,* 1999).

با وجود همه‌ی اثرات مثبت اسیدهای چرب HUFA، این مواد مولکول‌های بسیاری حساسی در برابر آسیب‌های اکسیداسیونی هستند (Halliwell & Gutteridge, 1996). اکسیداسیون اسیدهای چرب HUFA موجب تولید ترکیباتی مانند هیدروپرواکسیدهای اسید چرب، آلدهیدها و هیدروکربن-ها می‌گردد (Holt, 2011). بسیاری از این متابولیت‌ها بسیار سمی هستند و در نهایت موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشائی، پروتئین‌ها و DNA می‌گردند (Frankel, 1998). خطر بروز اکسیداسیون اسیدهای چرب HUFA در دوره لاروی به دلیل افزایش نسبت سطح به حجم جیره (Betancor, 2011) و وجود مقادیر بسیار بالای اسیدهای چرب HUFA در بافت لارو ماهیان (Salhi *et al*., 1997) اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. در نتیجه برای محافظت داخل و خارج سلولی در برابر رادیکال‌های آزاد نیاز به حضور آنتی اکسیدان‌ها است. ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان شکننده زنجیره به رادیکال‌های پراکسید متصل می شود و از واکنش بیشتر با اسیدهای چرب HUFA دیگر جلوگیری می‌کند. علاوه بر این ویتامین E نقش مهمی در سیستم ایمنی ماهیان (Wang *et al*., 2006)، تولید مثل (Izquierdo *et al.,* 2001)، مقاومت در برابر استرس (Montero *et al.,* 2001) و رشد لاروی (Gonzalez *et al.*, 1995) دارد. میزان نیازمندی ویتامین E کاملاً تحت تاثیر سطوح دیگر مواد مغذی جیره (Hamre *et al.,* 1994; Hamre & Lie 1995) مانند سلنیوم، ویتامین C (Hamre *et al.,* 1997) و اکسیداسیون اسیدهای چرب HUFA (Blazer, 1982) قرار دارد.

احتیاجات اسیدهای چرب در گونه های مختلف بوسیله طیف وسیعی از عوامل از جمله مرحله زندگی، نرخ رشد، سن ماهی و وزن، میزان چربی جیره، دمای پرورش و قابلیت هضم و ابقای اسیدهای چرب تعیین می شود (Glencross *et al.*, 2007). بررسی‌ها نشان داده است که قابلیت هضم اسیدهای چرب تحت تاثیر میزان و ترکیب اسیدهای چرب جیره قرار دارد (Giovanni *et al.*, 2009). بنابراین اندازه گیری قابلیت هضم می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های مهم اندازه‌گیری میزان جذب چربی و اسیدهای چرب و وضعیت تغذیه ای مورد استفاده قرار گیرد. از این رو هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر مقادیر مختلف اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA و ویتامین E جیره بر رشد، بازماندگی و قابلیت هضم چربی و اسیدهای چرب بچه ماهیان نورس آزاد دریای خزر می‌باشد.

مواد و روش ها

شرایط پرورشی

این آزمایش با استفاده از بچه ماهیان نورس ماهی آزاد دریای خزر (با میانگین وزن ۲۰۰ میلی گرم) پرورشی (نسل F۱) در سالن تکثیر و پرورش دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بچه ماهیان نورس در تراف‌های با ابعاد ۱۸×۴۲×۲۳۰ سانتیمتر (۶۰ بچه ماهی در هر تراف و تراکم ۲ عدد در لیتر) در ۶ تیمار و ۳ تکرار در هر تیمار در سیستم سیستم مداربسته است یا جریان باز آب (با میزان تعویض روزانه ۳۰ درصد) ذخیره شدند. غذاهی روزانه در ۵ نوبت و در ساعات ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ در حد سیری اشباع انجام گرفت. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۱۰ هفته و منبع تامین کننده آب مورد نیاز، آب کلرزدائی شده شهری بود. عوامل کیفی آب، همچون دمای آب و اکسیژن بصورت روزانه و نیتریت، نیترات، آمونیاک و بصورت هفتگی اندازه‌گیری شد

جیره های آزمایشی

شش جیره با میزان ۵۰ درصد پروتیئن و ۱۷ درصد چربی و مقادیر متفاوت اسیدهای چرب DHA به EPA بصورت ۱+۰/۵ (پایین، Low)، ۲+۱ (متوسط، Medium) و ۴+۲ (بالا، High) درصد جیره و هر یک از این مقادیر با یکی از سطوح ۳۰۰ (پایین، Low) و ۱۰۰۰ (بالا، High) میلیگرم ویتامین E (آلفا-توکوفرول استات) در کیلوگرم جیره (تیمارها به اختصار شامل: LL، LH، ML، MH، HL و HH، حرف لاتین اول نشان دهنده میزان دو اسید چرب امگا ۳ و حرف دوم بیانگر میزان ویتامن E است) تهیه و از پودر ماهی و کازئین به عنوان منبع پروتئینی استفاده گردید. جهت بالانس اسیدهای چرب ضروری و حصول درصدهای مورد انتظار، پودر ماهی با کلروفرم (۱:۳) شستشو شد. برای ساخت جیره، ابتدا تک تک ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی مورد نیاز آزاد ماهیان بر اساس منابع موثق (NRC, 2011) به دقت توزین و از سلولز (آلفا-سلولز) به عنوان ماده حامل جهت ساخت مخلوط ویتامینی استفاده گردید (Huang & Huang, 2004). جدول ۱ اجزا و ترکیب شیمیایی جیره‌های مورد استفاده را نشان می-دهد. پس از ساخت جیره، جیره‌ها بوسیله الک‌های ۵۰۰ و ۷۰۰ میکرومتری الک شده و با توجه به طولانی بودن دورهٔ پرورش، تا زمان مصرف در کیسه‌های پلاستیکی و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

جدول۱ اجزاء و ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های غذایی برای تغذیه ماهیان نورس آزاد دریای خزر.

ترکیبات جیره	LL	LH	ML	MH	HL	HH
پودر ماهی[۱]	۴۶	۴۶	۴۶	۴۶	۴۶	۴۶
کازئین[۲]	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱	۲۱
اولئیک اسید[۳]	۱۲/۱	۴/۹	۴/۹	۹/۷	۹/۷	۱۲/۱
EPA[۴]	۰/۷	۲/۸	۲/۸	۱/۴	۱/۴	۰/۷
DHA[۴]	۱/۷	۶/۸	۶/۸	۳/۴	۳/۴	۱/۷
دکسترین[۲]	۹	۹	۹	۹	۹	۹
لسیتین سویا[۵]	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵

ترکیبات جیره	LL	LH	ML	MH	HL	HH
مخلوط ویتامینی*[1]	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مخلوط مواد معدنی••[1]	۳	۳	۳	۳	۳	۳
کولین کلراید[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ضد قارچ[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مونوکلسیم فسفات[1]	۱	۱	۱	۱	۱	۱
ویتامین E[2]	۰/۰۳	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱	۰/۰۳	۰/۱
سلولز	۱/۴۷	۱/۴	۱/۴۷	۱/۴	۱/۴۷	۱/۴

۱- تهیه شده از کارخانه خوراک دام آبزیان ساری، ۲- ساخت شرکت مرک، آلمان، ۳- تولید شرکت Applichem، آلمان ۴- ساخت شرکت Croda، انگلیس، ۵- تهیه شده در شرکت کیمیا رشد.

• مخلوط ویتامیی (میلی گرم بر کیلو گرم جیره): A= ۰/۸، D3= ۰/۰۶، K3= ۱۰، C=۲۰۰، B1=۱۵، B2=۱۰، B6=۱۰، B5=۴۰، B12=۰/۰۲ ، B3=۱۵۰، B1=۱، B9=۵، ۱۰۰۰=کولین و ۴۰۰=اینوزیتول (NRC, 2011).

•• هر کیلو گرم مکمل ماده معدنی شامل مواد معدنی کمیابی مانند: منگنز: mg/kg ۲۶۰۰، مس: ۶۰۰، آهن: ۶۰۰، روی: ۴۶۰۰، سلنیوم: ۵۰، ید: ۱۰۰، کبالت: ۵۰، کولین کلراید: ۱۰۰۰۰۰، کریر تا یک کیلوگرم می باشد (Pennell & Barton, 1996).

سنجش قابلیت هضم ظاهری

به منظور اندازه گیری قابلیت هضم، مدفوع ماهیان در یک دوره ۲۰ روزه (انتهای دوره) جمع آوری 'گردید. در این مدت پس از هر وعده غذایی غذاهای خورده نشده سیفون شده و مدفوع ماهیان دو بار در روز جمع آوری گردید. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۴۰۰۰ rpm) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد و جداسازی آب، توزین و برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی، تا زمان سنجش در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. میزان قابلیت هضم و ابقا ظاهری چربی بر اساس معادلات زیر انجام گرفت:

۱۰۰×(ماده مغذی خورده شده/(ماده مغذی دفع شده-ماده مغذی خورده شده) = قابلیت هضم ظاهری (٪)

۱۰۰×[چربی کل جیره (گرم)/ (چربی کل اولیه× وزن اولیه)-(چربی کل نهایی×وزن نهایی)] = ابقاء ظاهری چربی (٪)

سنجش اسیدهای چرب

برای استخراج چربی جیره ها، چربی کل بدن و نمونه های مدفوع از روش Folch و همکاران (۱۹۵۷) و استری کردن چربی از روش Metcalfe و همکاران (۱۹۶۱) استفاده شد. سپس اسیدهای چرب با(BF3) Boron Trifluoride در متانول متیله و نمونه‌های متیل استر شده چربی بوسیله n-هگزان بازیافت شدند. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه‌ها از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) (Model:CP 3800 Varian, Walnut Creek, CA, USA) مجهز به ستون کاپیلاری از نوع (BPX 70 SGM; 60 m ×0.25 mm i.d., film thickness 0.25 mm, Victoria, Australia) و آشکار ساز نوع یونش شعله‌ای FID استفاده - گردید. دمای آشکار ساز و محل تزریق به ترتیب برروی ۲۴۰ و ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

دمای ستون بین ۱۶۰ تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ ۲ درجه افزایش دما در دقیقه برنامه ریزی گردید. در این روش از گاز هلیم بعنوان گاز حامل و گاز هیدروژن بعنوان سوخت، ازت بعنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده شد. جدول ۲ ترکیب اسیدهای چرب جیره های مورد استفاده را نشان می دهد.

جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های مورد استفاده.

جیره‌های مختلف	LL	LH	ML	MH	HL	HH
آنالیز تقریبی جیره (بر حسب درصد ماده خشک)						
رطوبت	۸/۱	۷/۶۵	۷/۸۵	۷/۷۲	۷/۱	۸/۱۲
پروتئین	۵۰/۱۲	۴۹/۵	۴۹/۶۸	۵۰/۲۹	۴۸/۸۹	۴۹/۳۷
چربی	۱۷/۲	۱۷/۰۵	۱۷/۳۲	۱۶/۸۵	۱۶/۹۶	۱۷/۳
خاکستر	۹/۱	۹/۴	۸/۹	۸/۶	۹/۵	۹/۲
کربوهیدرات	۱۵/۴	۱۵/۰۴	۱۶/۰۹	۱۶/۲۵	۱۶/۶۴	۱۶/۱۲
انرژی ناخالص (Kj/g)	۲۱/۲۸	۲۱/۱۷	۲۱/۳۳	۲۱/۳۲	۲۱/۱۰	۲۱/۲۸
اسیدهای چرب (درصد)						
C12:0	۰/۰۷۹	۰/۰۷۸	۰/۰۸۲	۰/۰۱۳	۰/۰۵۳	۰/۰۹۲
C14:0	۱/۱۵	۱/۱۳	۱/۰۲	۰/۹۸	۰/۹۹	/۹۸
C16:0	۹/۱۶	۱۰/۳۳	۸/۸۲	۸/۲۸	۶/۸۰	۷/۳۲
C18:0	۴ /۷۸	۳/۴۷	۴/۶۶	۴/۶۰	۵/۴۹	۷/۶۱
C20:0	۰/۰۲۹	۰/۰۹۸	۰/۰۲۹	۰/۰۳۱	۰/۰۴۳	۰/۰۷۱
C24:0	۰/۳۸	۰/۱۸	۰/۰۵۴	۰/۰۱۱	۰/۰۴	۰/۰۷
C16:1n-7	۰/۲۵	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۰
C18:1n-9	۶۶/۷۳	۶۴/۷۸	۵۸/۶۲	۵۹/۰۲	۵۴/۳۰	۵۳/۲۳
C18:2n-6	۹/۰۴	۹/۵۵	۱۰/۲۵	۱۰/۰۲	۹/۸۵	۹/۶۷
C18:3n-6	۰/۲۳	۰/۴۹	۰/۵۶	۰/۹۶	۰/۷۱	۰/۳۲
C18:3n-3	۰/۴۴	۰/۴۳	۰/۳۷	۰/۳۶	۰/۹۱	۰/۸۵
C20:1n-9	۱/۰۵	۱/۱۷	۱/۶۶	۱/۸۹	۱/۹۹	۱/۲۳
C20:3n-6	۰/۳۳	۰/۱۹	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۱۷
C20:3n-3	۰/۱۶	۰/۲۱	۰/۴۸	۰/۶۲	۱/۶۴	۱/۴
C20:4n-6	۰/۱۹	۰/۲۵	۰/۴۹	۰/۶۳	۰/۹۸	۱/۰۳
C20:5n-3	۰/۴۲	۰/۵۲	۱/۲۱	۱/۳۶	۲/۲۷	۲/۱۹
C22:6n-3	۱/۱۹	۱/۲۵	۲/۱۷	۲/۰۳	۴/۰۷	۵/۱۵
C24:1n-9	۰/۱۵	۰/۵۸	۰/۶۴	۰/۴۶	۰/۸۶	۰/۹۷
∑ SFA[1]	۱۵/۷۶	۱۵/۴۴	۱۴/۸۳	۱۳/۹۶	۱۳/۴۸	۱۶/۲
∑ MUFA	۶۸/۳۱	۶۶/۸	۶۱/۲۸	۶۱/۸۶	۵۷/۷۵	۵۵/۸۵
n-3	۲/۶	۲/۶۲	۴/۴۵	۴/۶۹	۹/۳	۸/۷
n-6	۹/۷۹	۹/۴۹	۱۱/۴۶	۱۱/۸	۱۱/۷۶	۱۱/۱۹
EPA/DHA	۰/۳۵	۰/۴۱	۰/۵۶	۰/۶۷	۰/۵۶	۰/۴۲
n-3/n-6	۰/۲۶	۰/۲۱	۰/۳۸	۰/۳۹	۰/۷۹	۰/۷۷

[1] SFA: اسیدهای چرب اشباع و MUFA: اسیدهای چرب تک غیر اشباع

تجزیه و تحلیل آماری نتایج

تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار Spss 18 انجام شد. قبل از تجزیه تحلیل، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smironov مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه کلی داده‌ها از روش آنالیز واریانس دو طرفه Two-way-ANOVA و از مدل خطی زیر استفاده گردید:

$$Yijk = \mu + Fi + Hj + (FH)ij + \varepsilon ijk$$

که Yijk مقدار میانگین هر تکرار، μ جمعیت متوسط، Fi اثر ثابت عامل اول (n-3 HUFA)، Hj اثر ثابت عامل دوم (ویتامین E)، (FH)ij اث متقابل بین دو عامل و εij خطای باقی‌مانده است. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون آماری Duncan در سطح اعتماد ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

نتایج

ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در جدول ۲ نشان می‌دهد که سطح چربی خام (حدود ۱۷ درصد)، پروتئین خام (۴۹ درصد) و انرژی ناخالص (۲۱ Kj/g) در همه جیره‌ها یکسان است. آنالیز اسیدهای چرب جیره‌ها در جدول۲ آورده شده است. مجموع اسیدهای چرب n-3 با افزایش میزان EPA و DHA افزایش یافته و بالاترین میزان n-3 در تیمارهای HL و HH دیده می‌شود.

در پایان هفته دهم، میانگین وزن بچه ماهیان تغذیه شده با میزان متوسط HUFA و سطح بالای ویتامین E (MH) و میزان بالای HUFA و سطح بالای ویتامین E (HH) نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. با این حال این تفاوت نسبت به تیمارهای ML و HL معنی دار نبود (F=?, d.f.=?, $P\leq0.05$). آنالیز دو طرفه ANOVA نشان داد که مِیانگِین وزن نهایی بچه ماهیان نورس به طور معنی‌داری تحت تاثیر میزان ویتامین E و HUFA قرار گرفته (F=?, d.f.=?, $P\leq0.05$) ولی تحت تاثیر اثر متقابل این دو ماده قرار نمی‌گیرد (F=?, d.f.=?, $P\leq0.05$).

. میزان بازماندگی ماهیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفت و در همه تیمارها بازماندگی ۱۰۰ درصد بود. ضریب رشد ویژه (SGR) نیز روند مشابه‌ای را نسبت به وزن نهایی نشان داده و کمترین میزان رشد ویژه در تیمار LL دیده شد. آنالیز دو طرفه ANOVA برای نتایج ضریب رشد ویژه نشان داد که سطوح ویتامین E و اسیدهای چرب HUFA به طور معنی‌داری SGR را تحت تاثیر قرار می‌دهند (P<۰/۰۵) ولی اثر متقابل این دو نیز تاثیر معنی داری بر SGR ندارد (F=?, d.f.=?, $P\leq0.05$)

. شاخص کبدی (HSI) در تیمار LL نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود و نتایج آنالیز دوطرفه نشان داد این شاخص بطور معنی‌داری تحت تاثیر سطح HUFA قرار می‌گیرد، اما میزان ویتامین E و اثر متقابل این دو بر HSI اثر معنی‌داری ندارد (F=?, d.f.=?, $P\leq0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳. میانگین (±SD) وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، شاخص کبدی و شاخص دستگاه گوارش بچه ماهیان نورس آزاد دریای خزر.

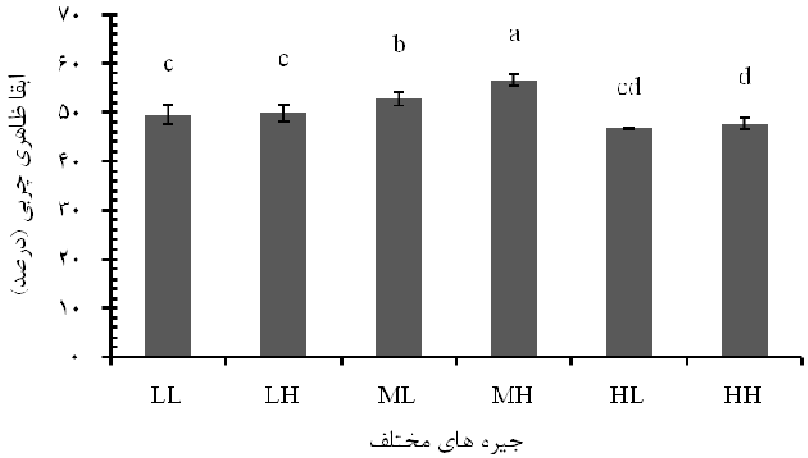
شاخص های رشد[1]	تیمارهای غذایی مختلف									
	LL	LH	ML	MH	HL	HH	HUFA	ویتامین E	HUFA× ویتامین E
وزن (گرم)	۵/۶±۰/۱۶^{b}	۶/۰۴±۰/۲۳^{b}	۶/۴±۰/۰۴^{ab}	۷/۰۷±۰/۳^{a}	۶/۲۴±۰/۱۳^{ab}	۷/۰۳±۰/۵^{a}	۰/۰۳	۰/۰۰۸	NS
SGR (روز/٪)	۲/۱۸±۰/۰۴^{b}	۲/۲۹±۰/۰۵^{b}	۲/۳۳±۰/۱^{ab}	۲/۵±۰/۰۶^{a}	۲/۲۹±۰/۰۸^{b}	۲/۵±۰/۱^{a}	۰/۰۱	۰/۰۰۵	NS
HSI (٪)	۱/۴۴±۰/۱۷	۱/۳۸±۰/۲۳	۱/۱۵±۰/۰۲	۱/۲±۰/۱۳	۰/۹۷±۰/۰۲	۰/۹۲±۰/۰۹	۰/۰۳	NS	NS
VSI (٪)	۹/۷±۰/۲۷	۹/۴۸±۰/۲۲	۹/۵۶±۰/۲۱	۹/۴۷±۰/۳۲	۹/۲۵±۰/۰۷	۹/۲۱±۰/۲۵	NS	NS	NS

عدم وجود حروف یکسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p\leq ۰/۰۵$). علامت S (significant) بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار و NS (not significant) بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار است.

ضریب رشد ویژه SGR= [(Ln وزن نهایی –Ln وزن اولیه) / دوره پرورش به روز] ×۱۰۰

شاخص کبدی (HSI) = (وزن کبد (گرم)/ وزن بدن (گرم) × ۱۰۰

شاخص دستگاه گوارش (VSI) = (وزن دستگاه گوارش (گرم)/ وزن بدن (گرم) × ۱۰۰



نمودار ۱. ابقاء ظاهری چربی کل بدن بچه ماهیان آزاد دریای خزر تغذیه شده با مقادیر مختلف اسیدهای چرب HUFA و ویتامین E. بارها نمایانگر انحراف معیار میباشند.

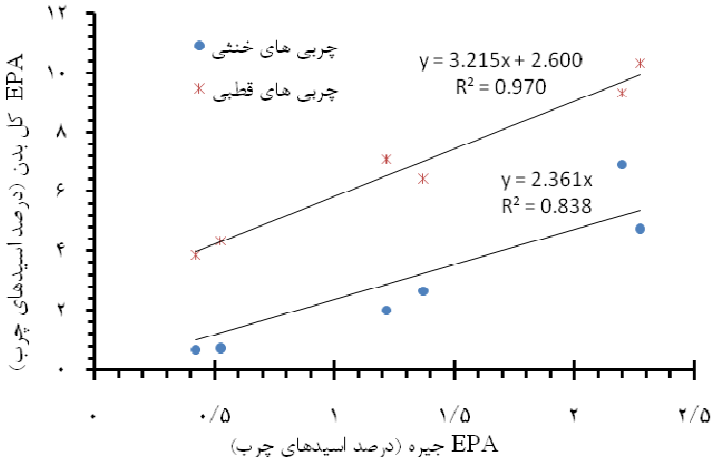
در جدول ۴ اثرات جیره‌های آزمایشی بر روی قابلیت هضم ظاهری چربی کل و اسیدهای چرب نشان داده شده است. قابلیت هضم چربی کل بین ۸۶ تا ۹۳ درصد و در بین تیمارها متفاوت و ارتباط مستقیمی با افزایش میزان HUFA جیره را نشان داد. بطوریکه تیمارهای HL،MH و HH بالاترین قابلیت هضم را داشتند. همچنین اثر متقابل اسیدهای چرب و ویتامین E قابلیت هضم چربی را تحت تاثیر قرار داد ($F=?, d.f.=?, P\leq0.05$) . در مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFA) قابلیت هضم کمتری نسبت به اسیدهای چرب غیر اشباع داشتند. قابلیت هضم اسیدهای چرب C20:5n-3 و C22:6n-3 و مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ به طور معنی‌داری تحت تاثیر افزایش میزان آنها در جیره قرار گرفت ($F=?, d.f.=?, P\leq0.05$). با این حال اثر متقابل HUFA × ویتامین E فقط قابلیت هضم اسید چرب C22:6n-3 را تحت تاثیر قرار داد ($F=?, d.f.=?, P\leq0.05$) .

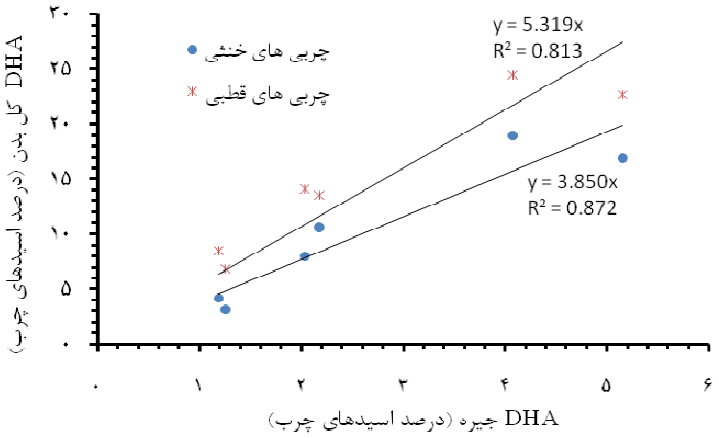
جدول ۴. قابلیت هضم چربی و اسیدهای چرب در ماهی نورس آزاد دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدهای چرب HUFA و ویتامین E.

	جیره های مختلف							آنالیز دو طرفه ANOVA		
	LL	LH	ML	MH	HL	HH	HUFA	ویتامین E	HUFA× ویتامین E
چربی کل	۸۷/۳±۲/۰۷	۸۶/۷±۱/۲۱	۸۸/۷±۲/۷	۹۰/۹±۱/۹	۹۳/۴±۱/۱	۹۰/۳±۱/۳	S	NS	S
	اسیدهای چرب (بر مبنای درصد کل اسیدهای چرب)								
C16:0	۷۷/۶±۰/۷	۷۹/۹±۱/۶	۸۲/۳±۰/۹	۸۴/۰±۰/۹	۸۳/۶±۱/۰۶	۸۴/۱±۱/۴	S	S	NS
C18:0	۷۰/۲±۲/۲	۷۴/۶±۰/۸	۷۶/۴±۰/۳	۷۲/۲±۴/۲	۷۱/۸±۳/۷	۷۶/۶±۱/۲	NS	NS	NS
C20:0	۸۶/۱±۱/۷	۸۴/۸±۰/۷	۸۸/۰±۳/۷	۸۶/۵±۱/۹	۸۷/۲±۲/۳	۸۵/۰±۱/۴	NS	NS	NS
C16:1n-7	۹۲/۶±۰/۸	۹۳/۲±۰/۴	۹۶/۳±۰/۸	۹۴/۵±۰/۴	۹۳/۲±۰/۵	۹۵/۴±۰/۳	S	NS	NS
C18:1n-9	۹۲/۶±۰/۵	۹۳/۵±۲/۵	۹۰/۲±۱/۷	۸۹/۸±۰/۴	۸۷/۷±۰/۶	۸۵/۳±۱/۳	S	NS	NS
C18:2n-6	۹۲/۱±۳/۲	۹۱/۰±۲/۴	۹۶/۴±۱/۵	۹۴/۷±۱/۳	۹۲/۸±۱/۷	۹۳/۷±۰/۸	S	NS	NS
C18:3n-3	۹۰/۲±۰/۸	۹۲/۹±۲/۸	۹۲/۰±۴/۱	۹۴/۵±۳/۲	۹۵/۴±۰/۶	۹۶/۶±۱/۷	S	NS	NS
C20:1n-9	۸۴/۳±۱/۴	۸۲/۴±۰/۶	۸۱/۰±۵/۱	۸۴/۴±۳/۱	۸۵/۲±۱/۱	۸۲/۳±۱/۴	NS	NS	NS
C20:4n-6	۹۶/۴±۴/۲	۹۴/۷±۳/۵	۹۴/۹±۵/۵	۹۶/۲±۱/۲	۹۵/۴±۰/۸	۹۶/۴±۱/۶	NS	NS	NS
C20:3n-3	۹۰/۰±۱/۲	۸۸/۷±۲/۳	۸۹/۱±۰/۸	۹۲/۰±۰/۴	۹۲/۹±۲/۲	۹۳/۲±۰/۹	S	NS	NS
C20:5n-3	۸۹/۰±۱/۴	۹۱/۳±۱/۶	۹۱/۰±۱/۷	۹۴/۶±۰/۸	۹۶/۲±۳/۷	۹۳/۲±۲/۴	S	NS	NS
C22:6n-3	۹۰/۷±۱/۶	۹۲/۰±۱/۷	۹۵/۶±۲/۱	۹۶/۲±۰/۹	۹۵/۶±۱/۸	۹۲±۱/۰۵	S	NS	S
[1]∑ SFA	۸۲/۰۱±۲/۱	۸۱/۰۱±۰/۸	۸۳/۳۸±۱/۴	۸۲/۹۳±۱/۶	۸۲/۳±۰/۴	۸۲/۱۸±۰/۷	NS	NS	NS
∑ MUFA	۸۹/۱۷±۱/۵	۸۸/۴±۲/۳	۸۹/۴۵±۰/۸	۸۹/۲۲±۱/۴	۸۷/۵۲±۳/۳	۸۶/۹۲±۱/۳	NS	NS	NS
n-3	۹۰/۲۲±۰/۷	۹۱/۴۷±۱/۳	۹۲/۱۷±۱	۹۴/۵۷±۱/۴	۹۵/۳۵±۰/۶	۹۶/۵±۰/۸	S	S	NS
n-6	۹۳/۳±۲/۴	۹۲/۴۵±۲/۷	۹۳/۶±۱/۶	۹۳/۲۷±۱/۷	۹۲/۷۲±۳/۲	۹۳/۱۵±۲/۴	NS	NS	NS

[1]SFA: اسیدهای چرب اشباع و MUFA: اسیدهای چرب تک غیر اشباع

میزان اسیدهای چرب C20:5n-3 و C22:6n-3 موجود در چربی‌های قطبی و خنثی کل بدن در نمودار ۱ نشان داده شده است. بطوریکه تیمارهای HL و HH بیشترین میزان C20:5n-3 و C22:6n-3 را نشان دادند.





نمودار ۲. همبستگی بین اسیدهای چرب EPA و DHA جیره و میزان آنها در چربی‌های قطبی و خنثی بدن بچه ماهیان آزاد دریای خزر.

قابلیت ابقا چربی کل بین ۴۶ تا ۵۶ درصد متفاوت بود و این شاخص در تیمارهای تغذیه شده با مقادیر بالای HUFA نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت (نمودار ۱). بچه ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی میزان متوسط HUFA و میزان بالای ویتامین E (MH) بالاترین درصد ابقا چربی و گروه تغذیه شده با جیره HL کمترین درصد ابقا چربی را در بدنشان داشتند. آنالیز دو طرفه نتایج نشان داد اثر متقابل اسیدهای چرب HUFA× ویتامین E اثر معنی داری بر درصد ابقاء چربی کل ندارد ($F=?, d.f.=?, P\leq0.05$)

.

بحث

همانطور که در جدول ۳ آورده شده است سطوح بالاتر اسیدهای چرب HUFA تاثیر معنی داری بر رشد بچه ماهیان نورس آزاد دریای خزر نشان داد. اثرات مثبت اسیدهای چرب ضروری امگا ۳ در افزایش رشد در مطالعات بسیاری به اثبات رسیده است (Izquierdo 1996). این اثرات مثبت می تواند به دلیل نقش عملکردی ساختاری آنها در غشای دو لایه فسفولیپیدی سلولی و تاثیر آن بر روی سیالیت غشای سلولی (Koven *et al.*, 1993) و ابقای انتخابی این اسیدهای چرب به ویژه DHA در بافت‌های عصبی (Mourente & Tocher 1992) باشد. به تازگی مشخص شده است اسیدهای چرب EPA، DHA و ARA از طریق مشتقات پروستاگلاندینی با تاثیر بر سلول های اینتررنال موجب تنظیم تولید کورتیزول و درنتیجه تعدیل استرس در ماهی سیم دریائی می گردد (Ganga *et al.*, 2011). همچنین نوع اسیدهای چرب بلند زنجیره جیره می تواند عملکرد سیستم ایمنی را تغییر دهد. Montero و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ تکامل سیستم ایمنی سیم دریایی (*Sparus aurata*) را تحت تاثیر قرار می دهد.

در بین تیمارهای تغذیه شده با مقادیر متوسط و بالای HUFA (MH و HH)، این تیمارها بالاترین میانگین وزن نهایی و SGR را به خود اختصاص دادند. این موضوع نشان می دهد مقادیر بالاتر ویتامین E (۱۰۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم) در سطح متوسط و بالاتر HUFA اهمیت بیشتری پیدا می کند. این نتایج نشان دهنده اثر آنتی اکسیدانی ویتامین E موجود در غشای سلول است که برای اهدای اتم هیدروژن به رادیکال پروکسیل چربی با اسیدهای چرب HUFA فسفولیپیدی رقابت کرده و موجب شکستن زنجیره واکنش های درگیر در اکسیداسیون چربی می گردند می‌باشد. برای مثال، گزارش گردیده که در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) افزایش میزان ویتامین E جیره از ۳۰۰ به ۱۵۰۰ میلی گرم به کیلوگرم باعث کاهش اکسیداسیون چربی در عضله ماهی گردیده است (Chaiyapechara *et al.,* 2003). این موضوع موید نتایج حاصله از تحقیق حاضر می‌باشد. تغذیه لارو ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) با جیره-های حاوی نسبت‌های مختلف DHA و ویتامین E نشان داد که افزایش سطح DHA موجب بروز تحلیل عضلانی و مقدار بیشتر ویتامین E موجب جلوگیری از آسیب عضلانی در سطوح بالای DHA می گردد (Betancor *et al*., 2008). با این حال، اثر مثبت ویتامین E بر روی رشد ماهی فقط به خواص آنتی اکسیدانی آن مربوط می شود بلکه این ویتامین در عملکردهای دیگری مانند دخالت در سوخت و ساز سلولی، انتقال سیگنال های سلولی (Traber & Packer, 1995) و سنتز ایکوزانوئیدها نیز دخالت می کند (Cornwell & Panganamala, 1993).

در این بررسی گروه تغذیه شده با سطوح پایین HUFA و گروه تغذیه شده با بالاترین سطح HUFA، به ترتیب بالاترین و کمترین میزان شاخص HSI را نشان دادند. بطور نسبتاً مشابهی درصد ابقاء ظاهری چربی کل بدن بچه ماهیان نیز در بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح بالای اسید چرب HUFA کاهش یافت. این کاهش می تواند با تغییرات ایجاد شده در متابولیسم چربی ها مرتبط باشد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA می توانند از طریق تنظیم بیان ژن های آنزیم های کلیدی دخیل در سنتز و مصرف چربی ها متابولیسم چربی را تغییر دهد. درماهی قزل آلای رنگین کمان، اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ مانند EPA، DHA و سطوح بالای آلفا لینولنیک اسید جیره موجب بازدارندگی

فعالیت آنزیم های سنتز چربی مانند fatty acid synthetase و Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) کبدی می شود (Alvarez *et al.,* 2000). همچنین جیره های حاوی این اسیدهای چرب موجب کاهش فعالیت آنزیم های لیپوژنزیز مانند malic enzyme و G6PD در کپور معمولی و ماهی آزاد اقیانوس اطلس گردیده اند (Shikata & Shimeno, 1994; Menoyo et al., 2003). علاوه بر این اسیدهای چرب HUFA از طریق افزایش بیان ژن آسیل-COA اکسیداز موجب افزایش بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری و پراکسیزوم‌ها می‌گردد (Ide, 2000). بنابراین کاهش شاخص HSI و میزان ابقای چربی در تیمارهای تغذیه شده با مقادیر بالای HUFA می تواند با کاهش سنتز چربی و یا افزایش مصرف چربی ها در ارتباط باشد.

نتایج کلی قابلیت هضم ظاهری آزمایش ما با نتایج سایر مطالعات انجام شده همخوانی دارد. در این بررسی قابلیت هضم اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA (بین ۸۹ تا ۹۶ درصد) نسبت به سایر اسیدهای چرب بالاتر بود و میزان این دو اسید چرب در بدن بچه ماهیان همبستگی نزدیکی با میزان آنها در جیره‌های آزمایشی نشان داد. تحقیقات انجام شده بر روی گونه های مختلف نشان می‌دهد قابلیت هضم اسیدهای چرب به ترتیب: HUFA > اسیدهای چرب ۱۸ کربنه بلند زنجیره PUFA > SFA > MUFA است (Sigurgisladottir *et al.*, 1992; Olsen *et al.,* 1998; Francis *et al.,* 2007). بطوریکه اسیدهای چرب EPA و DHA اغلب به آسانی هضم و جذب می شوند. علاوه بر این، در حالت غیر اشباعی یکسان اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تر راحت تر از اسیدهای چرب بلند زنجیره هضم می شود. افزایش محتوی HUFA جیره ها با افزایش قابلیت هضم اسیدهای چرب اشباع C16:0 و C18:0 و همچنین C16:1n-7 و C18:3n-3 همراه بود. این مسئله می-تواند به دلیل افزایش این اسیدهای چرب در جیره‌ها باشد. قابلیت بالای هضم اسیدهای چرب HUFA در قزل‌آلای رنگین کمان (Austren g *et al.*, 1979) و برخی از گونه‌ها به اثبات رسیده است (Ringo & Olsen, 1991; Sigurgisladottir *et al.,* 1992). علاوه بر این ترکیب اسیدهای چرب موجود در چربی می‌تواند قابلیت هضم سایر اسیدهای چرب را نیز تغییر دهد. این تاثیرات می‌تواند بخاطر افزایش کارایی فعالیت تجزیه چربی توسط لیپاز گوارشی باشد، چرا که بررسی‌ها نشان می-دهد لیپاز گوارشی ماهی تمایل بسیاز زیادی یرای اسیدهای چرب HUFA دارد (Lie *et al.,* 1987; Koven *et al.,* 1994)، در نتیجه افزایش فعالیت لیپاز در دستگاه گوارش موجب افزایش هضم و جذب سایر اسیدهای چرب می گردد.

میزان اسیدهای چرب EPA و DHA موجود در چربی‌های قطبی و خنثی همبستگی مثبتی با میزان این اسیدهای چرب در جیره ها داشتند. همبستگی مثبت بین ترکیب اسید چرب جیره و بدن در بسیاری از گونه های ماهی گزارش شده است (Xu *et al.*, 1993; Ng *et al.,* 2003; Sotoudeh *et al.*, 2011). علاوه بر این عوامل دیگری مانند قابلیت هضم (Sigurgisladottir *et al.*, 1992; Torstensen *et al.,* 2000)، جذب و انتقال، فرایندهای غیر اشباع‌سازی و طویل سازی (Bell *et al.*, 2002) و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب (Frøyland *et al.*, 2000; Torstensen *et al.,* 2000) نیز می‌تواند ترکیب اسیدهای چرب بدن را تحت تاثیر قرار دهد. میزان این دو اسید چرب در چربی‌های قطبی نسبت به چربی-های خنثی بالاتر بود که می‌تواند نشان دهنده اهمیت این اسیدهای چرب به عنوان اسیدهای چرب ضروری در این گونه باشد. گنجانیده شدن بالای اسیدهای چرب HUFA در چربی-های قطبی گونه هایی مانند قزل آلای رنگین کمان (Leray & Pelle tier, 1985)، سیم دریایی (Kalogeropoulos *et al.,* 1992) و کفشک (Lee *et al.,* 2003) به اثبات رسیده است.

تحقیق حاضر نشان می دهد که، میزان متوسطی از اسیدهای چرب امگا ۳ HUFA (با نسبت ۲ به ۱؛ DHA به EPA) به همراه میزان بالایی از ویتامین E جیره (۱۰۰۰ میلیگرم در کیلوگرم) می‌تواند اثر مثبتی بر عملکرد رشد، بهره‌وری و متابولیسم چربی‌ها بر ماهی آزاد دریای خزر در این مرحله داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از خانم مهندس سیده فاطمه هاشمی و آقای مهندس مهدی نادری کوشک به دلیل کمک در نمونه‌برداری و انجام بخشی از آزمایشات به عمل می‌آورد. همچنین از ریاست محترم کارخانه

خوراک دام و طیور آبزیان ساری جناب آقای مهندس کابلی، سرکار خانم گیلدا نماینده شرکت CRODA در ایران و مدیریت محترم شرکت ارس بازار به دلیل فراهم کردن بخشی از ترکیبات مورد نیاز جیره، همچنین از مدیریت بازسازی ذخایر سازمان شیلات ایران و مدیریت محترم کارگاه تکثیر و پرورش شهید باهنر کلاردشت به دلیل همکاری و در اختیار گذاشتن بچه ماهی سپاسگزاریم.

منابع

Alvarez M.J., Diez A., Lopez-Bote C., Gallego M., Bautista J.M., 2000. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. British Journal of Nutrition, 84: 619–628.

Austreng E., Skrede A., Eldegard A., 1979. Effect of dietary fat source on the digestibility of fat and fatty acids in rainbow trout and mink. Acta Agriculturae Scandinavica, 29: 119 – 126.

Bell J.G., Henderson R.J., Tocher D.R., Mc Ghee F., Dick J.R., Porter A., 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.

Betancor M.B., Izquierdo M.J., Benitez-Santana T., Quesada O., Atalah E., Montero D., Izquierdo M.S., 2008. Dystrophic alterations in skeletal muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae in relation to the dietary DHA/vitamin E ratio. XIII International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, June 1 – 5, Florianopolis, Brazil.

Betancor M.B., Atalah E., Caballero M.J.., Benitez-Santana T., Roo J., Montero D., Bransden M.P., Carter C.G., Nichols P.D., 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. Comparative Biochemistry and Physiology, 135: 611-625.

Bransden M.P., Battaglene S.C., Morehead D.T., Dunstan G.A., Nichols P.D., 2005. Effect of dietary 22:6n -3 on growth, survival and tissue fatty acid profi le of striped trumpeter (*Latris lineata*), Food Australia, 57: 295-301.

Chaiyapechara S., Casten M.T., Hardy R.W., Dong F.M., 2003. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. Aquaculture, 219: 715–738.

Cornwell D.G., Panganamala R.V., 1993. Vitamin E action in modulation the arachidonic acid cascade. *In:* Packer L, Fuchs J (eds) Vitamin E in health and disease Marcel Dekker, New York, USA. pp. 385–410.

Frankel S., 1998. The more distantly related of the actin-related proteins. *In:* Vale R, Kreis T (eds) Guidebook to the Cytoskeletal and motor proteins. Oxford University Press, Oxford, pp. 49–51.

Turchini G.M., Ng W.K., Tocher D.R., 2010. Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds. CRC Press, 551 P.

Glencross B.D., Booth M., Allan G.L., 2007. A feed is only as good as its ingredients - a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquaculture Nutrition, 13: 17-34.

Gonzalez M.M., Izquierdo M.S., Salhi M., Hernandez-Cruz C.M., Fernandez-Palacios H., 1995. Dietary vitamin E for *Sparus aurata* larvae. European Aquaculture Society, 24: 239-242.

Blazer V.S., 1982. The effect of marginal deficiencies of ascorbic acid and a-tocopherol on the natural resistance and immune response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Ph.D dissertation. University of Rhode Island, USA.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1996. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. *In:* Halliwell B, Gutteridge JMC (eds) Free radicals in biology and medicine , Clarendon Press, Oxford. pp. 188–266.

Hamre K., Lie Ø., 1995. Minimum requirement of vitamin E for Atlantic salmon, *Salmo salar*, at first feeding. Aquaculture Research, 26: 175–184.

Hamre K., Hjeltnes B., Kryvi H., Sandberg S., Lorentzen M., Lie O., 1994. Decreased concentration of hemoglobin, accumulation of lipid oxidation products and unchanged skeletal muscle in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed low dietary vitamin E. Fish Physiology and Biochemistry, 12: 421–429.

Folch J., Lees M., Sloan-Stanley G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. The Journal of Biological Chemistry, 226: 497–509.

Frøyland L., 2000. Proliferation of mitochondria and gene expression of carnitine palmitoyl transferase and fatty acyl-CoA oxidase in rat skeletal muscle, heart and liver by hypolipidemic fatty acids. Biology of the Cell, 92: 1–13.

Francis D.S, Turchini G.M., Jones P.L., De Silva S.S., 2007. Effects of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, Maccullochella peelii peelii. Aquaculture, 269: 447–455.

Ganga R., Bell J.G., Montero D., Robaina L., Caballero M.J., Izquierdo M.S., 2005. Effect of feeding gilthead seabream (*Sparus aurata*) with vegetable lipid sources on two potential immunomodulator products: prostanoids and leptins. Comparative Biochemistry and Physiology, 142: 410–418.

Ganga R., Tort L., Acerete L., Montero D., Izquierdo M.S., 2006. Modulation of ACTH-induced cortisol release by polyunsaturated fatty acids in interrenal cells from gilthead seabream, *Sparus aurata*. Journal of Endocrinology, 190: 39–45.

Ganga J.G. Bell D., Montero E., Atalah Y., Vraskou L., Tort Fernandez A., Izquierdo M.S., 2011. Adrenocorticotrophic hormone-stimulated cortisol release by the head kidney inter-renal tissue from sea bream (*Sparus aurata*) fed with linseed oil and soyabean oil. British Journal of Nutrition, 105: 238-247.

caused by excess dietary DHA contents. Aquaculture Nutrition, 17: 112-122.

Kalogeropoulos N., Alexis M.N., Henderson J.J., 1992. Effect of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 104: 293 – 308.

Koven W.M., Henderson R.J., Sargent J.R., 1994. Lipid digestion in turbot (*Scophtalmus maximus*): I. Lipid class and fat ty acid composition of digesta from different segments of the digestive tract. **Fish Physiology** and **Biochemistry**, 13: 69- 79.

Koven W.M., Tandler A., Sklan D., Kissil G.W., 1993. The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different age *Sparus aurata* larvae with growth. Aquaculture, 116: 71-82.

Lee M.S., Lee J.H., 2003. Kyoung-Duck Kim Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). Aquaculture, 225: 269-281.

Leray C., Pelletier X., 1985. Fatty acid composition of trout phospholipids: effect of (n-3) essential fatty acid deficiency. Aquaculture, 50: 51-59.

Lie O., Lied E., Lambertsen G., 1987. Lipid digestion in cod (*Gadus morhua*). **Comparative Biochemistry** and**Physiology,** 88B: 697 – 700.

Madsen L., Rustan-Arild C., Vaagenes H., Berge K., Dyroy E., Berge R.K., 1999. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid

Hamre K., Waagbø R., Berge R.K., Lie Ø., 1997. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). **Free Radical Biology** and **Medicine,** 22: 137–149.

Holt G.J., 2011. Larval fish nutrition, Holt GH (ed). John Wiley & Sons publication, 448 P.

Huanga C.H., Huang S.L., 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*, fed oxidized oil. Aquaculture, 237: 381–389.

Ide T., Kobayashi H., Ashakumary L., Rouyer I.A., Taka-hashi Y., Aoyama T., Hashimoto T., Mizugaki M., 2000. Comparative effects of perilla and fish oils on the activity and gene expression of fatty acid oxidation enzymes in rat liver. Biochimica et Biophysica **Acta,** , 1485: 23–35.

Izquierdo M.S., 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. Aquaculture Nutrition, 2: 183–191.

Izquierdo M.S., Fernandez-Palacios H., Tacon A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture, 197: 25–42.

Izquierdo M.S., 2005. Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. Cahiers Options Mediterraneennes, 63: 91-102.

Izquirdo M., 2011. α-Tocopherol in weaning diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) improves survival and reduces tissue damage

2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. Aquaculture, 225: 353–370.

National Research Council (NRC), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press. 360 P.

Ng W.K., Lim P.K., Boey P.L., 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle α-tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture, 215: 229-243.

Olsen R.E., Henderson R.J., Ringø E., 1998. The digestion and selective absorption of dietary fatty acids in Artic charr, *Salvelinus alpinus*. Aquaculture Nutrition, 4: 13 – 21.

Pennell W., Barton B.A., 1999. Principles of Salmonid Culture. Elsevier press, 1039 P.

Ringo E., Olsen R.E., 1991. Do Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), have selective absortion of dietary fatty acids? **Fiskeridir Skr Ser Ernaer,** 4: 65 – 72.

Salhi M., Izquierdo M.S., Hernandez-Cruz C.M., Socorro J., Fernandez-Palacios H., 1997. The improved incorporation of polyunsaturated fatty acids and changes in liver structure in larval gilthead seabream fed on microdiets. Journal of Fish Biology, 51: 869-879.

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

Shikata T., Shimeno S., 1994. Metabolic response to dietary stearic acid, linoleic, and highly affect mitochondrial and peroxisomal fatty acid oxidation in relation to substrate preference. Lipid, 34(9): 951-963.

Masuda R., Takeuchi T., Tsukamoto K., Sato H., Shimizu K., Imaizumi K., 1999. Incorporation of dietary docosahexaenoic acid into the central nervous system of the yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Brain, Behavior and Evolution, 53: 173-179.

Menoyo D., Lopez-Bote C.J.J., Bautista M., Obach A., 2003. Growth, digestibility, and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. Aquaculture, 225: 295–307.

Metcalfe L.D., Schmitz A.A., Pelka J.R., 1996. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. Annals of Chemistry, 38(3): 524–535.

Montero D., Tort L., Robaina L., Vergara, J.M., Izquierdo, M.S., 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 11: 473–490.

Montero, D., Kalinowski, T., Obach, A., Robaina L., Tort L., Caballero M.J., Izquierdo M.S., 2003. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health. Aquaculture, 225: 353-370.

Mourente G., Tocher D.R., 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexae-noic acid (22:6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture, 105: 363-377.

Montero D., Kalinowski T., Obach A., Robaina L., Tort L., Caballero M.J., Izquierdo M.S.,

(*Salmo trutta Caspius*) juvenile fed diets containing different levels of soybean phosphatidylcholine. Aquaculture International, 19: 611–623.

Tocher D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Reviews in Fisheries Science, 11: 107-184.

Torstensen B.E., Lie Ø., Frøyland L., 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L) – effects of capelin oil, and Schlegel). Aquaculture Research, 37: 681–692.

Watanabe T., Izquierdo M.S., Takeuchi T., Satoh S., Kitajima C., 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi, 55: 1635-1640.

Watanabe T., Kiron V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. Aquaculture, 124: 223-251.

Xu R., Hung S.S.O., German J.B., 1993. White sturgeon tissue fatty acid compositions are affected by dietary lipids. **Journal of Nutrition,** 123: 1685-1692.

unsaturated fatty acid in carp. **Fisheries Science**, 60: 735– 739.

Sigurgisladottir S., Lall S.P., Parrish C.C., Ackamn R.G., 1992. Cholestane as a digestibility marker in the absorption of polyunsaturated fatty acid ethyl esters in Atlantic salmon. Lipids, 27: 418 – 424.

Sotoudeh E., Abedian Kenari A., Habibi Rezaei M., 2011. Growth response, body composition and fatty acid profile of Caspian brown trout

palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. Lipids, 35: 653–664.

Traber M.G., Packer L., 1995. Vitamin E: Beyond antioxidant function. American Journal of Clinical Nutrition, 62: 1501–1509.

Turchini G.M., Torstensen B.E., Ng W.K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. Reviews in Aquaculture, 1: 10–57.

Wang Z., Mai K., Liufu Z., Ma H., Xu W., Ai Q., Zhang W., Tan B., Wang X., 2006. Effect of high dietary intakes of vitamin E and n-3 HUFA on immune responses and resistance to *Edwardsiella tarda* challenge in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck

Apparent lipid and fatty acid digestion, retention of lipid and growth performance in Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*) fry fed dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E

Sotoudeh, E. [(1)], Abedian kenari, A. [(2)]*, Khodabande, S.[(3)]

1.2,3. University Tarbiat Modarres, Mzandaran, Nor

Received: May 2013 Accepted: October 2013

Keywords: Caspian salmon, Highly unsaturated fatty acids, Lipid digestibility, Vitamin E

Abstract

A 10-week feeding experiment was conducted to investigate the effect of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA) and vitamin E interaction on growth, apparent digestibility, apparent retention and utilization of lipid in Caspian salmon fry. Six experimental diets combining three different dietary levels of n-3 HUFAs (L: low: 1+0.5, DHA+EPA, M: medium 2+1, DHA+EPA, H: high 4+2 DHA +EPA g/100g diet) with two different levels of vitamin E (L: low 300 and H: high 1000 mg/kg diet): LL, LH, ML, MH, HL and HH (HUFA/vitamin E) were investigated. Fry with initial mean (±SD) body weight of 600 ± 25 (mg) were randomly distributed in tanks and fed to apparent satiation. Increase in dietary HUFA and vitamin E markedly improved larval growth. The results showed that the survival of Caspian salmon fry was not affected by dietary omega-3 HUFA and vitamin E. C20:5n-3 and C22:6n-3 fatty acids content of polar and neutral lipids positively correlated with their concentration on diets. Apparent digestibility and apparent retention of total lipid was significantly affected by dietary HUFA. The results showed that n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E had positive effects on growth performance, lipid metabolism and apparent digestibility of Caspian salmon fry.

*Corresponding author