شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۴، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰
صفحات ۱۵-۱

اثر پروتئین هیدرولیز شده، ویتامین E و روغن اکسید شده بر عملکرد رشد، شاخص‌های خون شناسی و کیفیت لاشه‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

اسفندیار نجفی حاجیپور[1*]، سید ولی حسینی[2]، حمید فرحمند[3]، باقر مجازی امیری[3]، مهدی سلطانی[4]

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴. استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸

چکیده

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در قالب طرح کاملاً تصادفی (شش تیمار و سه تکرار) توسط خوراک حاوی روغن تازه‌ی ماهی کیلکا و ۵۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم ۱)بدون (تیمار شاهدA ، FO50یا ۲)با پروتئین هیدرولیز (۴ درصد جایگزین پودر ماهی) (تیمارB ، FO50HP، ۵۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم و روغن اکسید شده ۳)بدون (تیمارC ، OO50و ۴)با پروتئین هیدرولیز (تیمارD ، OO50HP، ۲۵۰ میلی گرم ویتامین Eدر کیلوگرم و روغن اکسید شده ۵)بدون (تیمارE ، OO250یا ۶)با پروتئین هیدرولیز (تیمارF ، OO250HPبه مدت هشت هفته تغذیه شدند. پایین ترین و بالاترین FCR در تیمارهای B و E حاصل شد (P< ۰/۰۵). مقادیر دیگر شاخص‌های رشد در تیمارهای A و B بیش از دیگر تیمارها بودند (P< ۰/۰۵). بالا ترین و پایین ترین میزان آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) به ترتیب در تیمار C و تیمارهای A و(P< 05/0) B ، بالاترین و پایین‌ترین میزان آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) به ترتیب در تیمارهای C و D و تیمار (P< 05/0) B مشاهده شد. بیشترین درصد نوتروفیل‌ها (Nut)و کمترین درصد لنفوسیت‌ها (Lym) در تیمار E و عکس آن در تیمار C حاصل شد (P< ۰/۰۵). بالاترین میزان فاگوسیتوز در تیمارهای C و Dو پایین ترین آن در تیمار A ایجاد شد (P< ۰/۰۵). بیشترین مقدارا سید چرب غیر ا شباع ۹ -5) 14: 1n1- سیس- ا سید تتراد سنوئیک) فیله در تیمار F و کمترین مقدار در تیمار B بود (P< ۰/۰۵). بالاترین میزان ۱۸:۰ (اسید استئاریک) فیله در تیمار A و پایین ترین میزان در تیمار D بود(P< ۰/۰۵). بیشترین مقدار ۶ 20: 4n-فیله (اسید آراشیدونیک) در تیمار D و کمترین مقدار در تیمار F بود (P< ۰/۰۵). طبق نتایج این پژوهش، ویتامین E) 50 میلی گرم در کیلوگرم) همراه با پروتئین هیدرولیز (۴ در صد جایگزین پودر ماهی) می‌تواند از آسیب‌های ا سترس اکسیداتیو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرواری جلوگیری نماید.

واژگان کلیدی: ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، ویتامینE ، پروتئین هیدرولیز، روغن اکسید شده، استرس اکسیداتیو

* نویسنده مسئول: اسفندیار نجفی حاجیپور
Email: esfandyar.najafi@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 74, No. 1, Spring 2021
pp. 1-15

The effect of hydrolyzed protein, vitamin E and oxidized oil on growth performance, hematology and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Esfandiar Najafi Hajipour[1*], Seyed Vali Hosseini[2], Hamid Farahmand[3], Bagher Mojazi Amiri[3], Mahdi Soltani[4]

1. Ph.D student,Department of Fisheries Science, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty 0f Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
3. professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
4. Professor, Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 10-Jan-2020 **Accepted: 06-Feb-2020**

Abstract

Rainbow trout fish fed one of the diets containing fresh kilka oil with 50 mg kg-1 of vitamin E 1)without (control A, FO50) or 2)with hydrolyzed protein (4% replacement for fishmeal) (treatment B, FO50HP), 50 mg kg-1 vitamin E with oxidized oil 3)without (treatment C, OO50) or 4)with hydrolyzed protein (treatment D, OO50Hp), 250 mg kg-1 vitamin E with oxidized oil 5)without (treatment E, OO250) or 6)with hydrolyzed protein (treatment F, OO250HP) in a completely randomized design (six treatments and three replications) for eight weeks. The lowest FCR was in treatment B and the highest was in treatment E ($P< 0.05$). The amount of other growth indices were higher ($P< 0.05$) in treatments A and B than other treatments. The highest and lowest concentrations of alanin amino transferase (ALT) occurred respectively in treatment C and treatments A and B ($P< 0.05$), the highest and lowest concentrations of aspartate amino transferase (AST) occurred in treatments C and D and treatment B ($P< 0.05$), respectively. The highest neutrophil (Nut) and the lowest lymphosit (Lym) percentages were in treatment E while the vise versa were observed in treatment C ($P< 0.05$). The phagocytosis amount was highest in treatments C and D while it was the lowest in treatment A ($P< 0.05$). The fillet 14: 1n-9 concentration was the highest in treatment F while it was the lowest in treatment B ($P< 0.05$). The fillet 18: 0 content was the highest in treatment A and the lowest in treatment D ($P< 0.05$). Treatment D showed the highest fillet 20: 4n- 6 content while treatment F had the lowest content ($P< 0.05$). Accordingly, vitamin E (50 mg kg-1 diet) with hydrolyzed protein (as a substitute for fish meal by 4%) would be able to prohibit the damages resulting from oxidative stress in growing rainbow trout.

Key words: Rainbow trout, vitamin E, hydrolyzed protein, oxidized oil, oxidative stress.

Corresponding author: Esfandiar Najafi Hajipour Email: esfandyar.najafi@gmail.com

esfandyar.najafi@gmail.com

۱. مقدمه

ایران یکی از کشـــورهای مهم تولید کننده‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان محسوب می شود. سازمان شیلات ایران در ســالنامه‌ی آماری که منتشــر نموده میزان تولید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کشــور در ســال ۱۳۹۸ را ۱۶۷۰۰۰ تن اعلام کرده اســت که به طور تقریبی حدود ۲۱ درصد تولید دنیا را شامل می شود. بر اساس گزارش منتشر شده از فائو ایران در سال ۱۳۹۸ رتبه‌ی یک تولید این ماهی را در جهان به خود اختصاص داده است.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یک ماهی گوشـــت خـــوارســـت (Klontz, 1991; Smith, 1991; Behnke, 1992; Delaney, 2005; Van Hulle, 2005) و جیره‌های غذایی این ماهی نیز دارای پروتئین بالا ست که این پروتئین عمدتا از منابع پروتئینی جانوران دریایی بخصوص پودر ماهی تامین می شود. طبق گزارش انجمن سویای آمریکا میزان پروتئین موجود در خوراک این ماهی طی ســال‌های ۱۹۷۰ الی ۲۰۰۰ حدود ۸ درصــد و چربی بالغ بر ۱۴ درصد افزایش داشته است، که این امر نشان از مصــرف بیشــتر منابع پروتئینی و به خصــوص پودر ماهی توســط صــنعت پرورش قزل آلا دارد. همچنین، در این گزارش عنوان شده است که جیره‌های استاندارد معرفی شده برای ماهی قزل آلا معمولا دارای ۲۵-۲۲ درصد پودر ماهی است، که به طور تقریبی می‌توان گفت این صنعت در سال ۲۰۱۶ حدود ۴/۵ درصد از کل پودر ماهی تولیدی در دنیا را به خود اختصــاص داده اســت. این میزان حجم بسیار زیادی بوده و با توجه به گسترش روز افزون صنعت آبزی پروری وابســته به خوراک، یکی از چالش‌های جدی پرورش ماهی قزل آلا تأمین منابع پروتئینی جیره و به خصوص پودر ماهی می‌باشد.

یکی از موضوعاتی که همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است، اثر اکسیداسیون چربی جیره بر سیستم آنتی اکســیدانی ماهیان، راهکارهای کاهش آســیب های اکســیداتیو ایجاد شــده در اثر اکســیداســیون چربی‌ها و شــناخت دقیق تر مکانیســم‌های درگیر در این خصــوص اســت. به خصــوص برای ماهیان گوشــت خوار که مقادیر بالایی از روغن ماهی دریافت نموده و این روغن به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر در معرض اکسیداسیون است. اکسیداسیون چربی جیره یکی از نگرانی‌های کارخانه‌های تولید کننده‌ی خوراک و تولید کنندگان ماهی اســت. بافت ماهی نیز به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از اســیدهای چرب غیر اشــباع PUFA سری n-3، نسبت به پستانداران بیشتر در معرض مشکلات پراکسیداسیون است.

اسیدهای چرب PUFA وقتی که در معرض اکسیژن، یون‌های فلزات انتقالی (عناصر واسطه به خصوص مس و آهن)، آنزیم‌های لیپوکســیژناز، نور و هموپروتئین‌ها قرار می‌گیرند، تمایل به اکســید شــدن دارند. اســیدهای چرب غیراشــباع بلند زنجیره نســبت به پراکســیداســیون بســیار حساس اند (Howell *et al.*, 1988) واین امر سبب بوی نامطبوع روغن ها می‌گردد (Hamre, 2011). به علاوه، محصولات اکسیداسیون و پراکسیداسیون چربی‌ها برای ارزش تغذیه ای جیره و ســلامت ماهیان مخرب بوده و نتیجه‌ی آن آسیب‌های اکسیداتیو است.

به منظور کاهش یا متوقف کردن اکســیداســیون چربی‌ها در نهاده‌های اولیه‌ی غذایی، خوراک‌ها و نیز بافت ماهی از آنتی اکسیدان‌ها به صورت گسترده در صنعت خوراک آبزیان اســتفاده می‌شــود. اســتفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی، کارآمد و مقرون به صرفه به منظور جایگزین کردن با آنتی اکســیدان‌های مصــنوعی و کاهش اثرات اســترس اکســیداتیو فعالیت‌های پرورشــی مباحث جدید صــنعت آبزی پروری بوده که بایســتی مورد توجه قرار گیرند. تلاش‌های بســیاری برای ارزیابی توانایی آنتی اکســیدان‌های مختلف از قبیل ویتامین E، ویتامین C، پپتیدها و پروتئین های هیدرولیز شــده، مشــتقات کیتوالیگوســاکاریدها، آســتاگزانتین، کاروتنوئیدها، پلی ســاکاریدهای ســولفاته، فلوروتانن‌ها، ترکیبات فنولی و فلاون‌ها صورت گرفته است. این ترکیبات قابلیت فراوانی جهت اســتفاده در تنظیم خوراک دام و آبزیان به عنوان

افزودنی‌های با خاصیت آنتی اکسیدانی جهت حفظ کیفیت خوراک و افزایش مدت زمان نگهداری و کاهش اثرات استرس اکسیداتیو گونه‌ی هدف دارند (Barrow andShahidi, 2008; Brewer, 2011; Al-Salif *et al.*, 2014).

در تحقیق حاضر، تأثیر پروتئین هیدرولیز شده و آلفا-توکوفرول استات (ویتامین E) به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی خوراکی و روغن اکسید شده‌ی ماهی بر سیستم آنتی اکسیدانی، رشد و کیفیت لاشه‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. آماده سازی جیره‌های غذایی

خوراک های آزمایشی این طرح با همکاری واحد تحقیق و توسعه‌ی شرکت فرادانه شهرکرد (تولید کننده‌ی تخصصی خوراک آبزیان) تهیه گردید. تمامی جیره‌های فرموله شده دارای مقادیر یکسان پروتئین (نیتروژن)، چربی و انرژی بود ند. تیمار A (FO50) به عنوان تیمار شاهد، فاقد پروتئین هیدرولیز بود و حاوی روغن تازه ماهی کیلکا (پر اکسید یک میلی اکی والان بر کیلوگرم) و ۵۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم بود. در تیمار B (FO50HP) نیز از روغن تازه و ویتامین E به میزان ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم ا ستفاده شد، اما در این تیمار پروتئین هیدرولیز شده (Actipal HP2) به میزان ۴ درصد جایگزین پودر ماهی جیره شده بود. تیمار C (OO50) نیز دارای ۵۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم اما فاقد پروتئین هیدرولیز بوده و از روغن اکسید شده‌ی ماهی در این تیمار استفاده شده بود. در تیمار D (OO50HP) نیز همانند تیمار C از روغن اکسید شده و ویتامین E به میزان ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم استفاده شد، اما با این تفاوت که این تیمار نیز همانند تیمار B از پروتئین هیدرولیز شده به میزان ۴ در صد جیره ا ستفاده گرد ید. تیمار های E (OO250) و F (OO250HP) نیز حاوی روغن اکسید شده بودند اما در این تیمارها ویتامین E به میزان ۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم استفاده شد، با این تفاوت که تیمار E فاقد پروتئین هیدرولیز ولی تیمار F دارای پروتئین هیدرولیز بود.

پس از تعیین ترکیب بیو شیمیایی مواد اولیه و تهیه‌ی فرمولا سیون تیمارهای آزمایشی (جدول ۱)، مواد اولیه‌ی مربوط به هر تیمار (بجز روغن و ویتامین E) بصورت کاملاً دقیق توزین و مخلوط شدند و تهیه‌ی خوراک‌ها با روش اکستروژن در خط تولید شرکت فیدارپاتیرا شهرکرد صورت پذیرفت. خوراک‌های کلیه‌ی تیمارها دارای قطر ۰±۶/۵ میلی متر)، طول، میزان شناوری و بافت فیزیکی یکسانی بودند. به منظور تهیه‌ی روغن اکسید شده به میزان کافی روغن تازه در یک ظرف ریخته شده و در شرایط نور دائمی، دمای آن با ا ستفاده از المنت تا حدود ۶۰ درجه سانتی گراد بالا برده شد و درون آن با ا ستفاده از دو عدد سنگ هوا، هوادهی ایجاد و میزان پراکسید آن هر ۸ ساعت یکبار با روش پیشنهادی Egan و همکاران (۱۹۹۷) اندازه گیری شد. بعد از حدود ۹۰ ساعت پراکسید روغن به عدد ۱۰۰ میلی اکی والان در کیلوگرم رسید که به منظور جلوگیری از پیشرفت فرآیند اکسیدا سیون روغن مذکور به آن آنتی اکسیدان اتوکسی کوئین به میزان ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ا ضافه گردید (Kubiriza *et al.*, 2016).

ترکیب شیمیایی خوراک‌ها بر اساس روش‌های استاندارد (AOAC, 1993) اندازه گیری شد (جدول ۱). خوراک‌های آماده شده به محل پرورش منتقل شد و تا اتمام زمان پرورش در دمای ۸-۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

۲,۲. تأمین، پرورش و غذادهی ماهیان

ماهیان مرحله‌ی پرواری سالم از مزرعه دشت آبی استان چهارمحال و بختیاری تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. مرحله‌ی پرورش ماهیان در پایلوت تحقیقاتی شرکت فرادانه صورت پذیرفت. ماهیان تهیه شده به مخازن گرد ۳۰۰ لیتری با خروجی مرکزی دارای جریان دائمی آب (اکسیژن بالای ۹ میلی گرم در لیتر،

آمونیاک کمتر از ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر، نیتریت کمتر از ۰/۱ میلی گرم در لیتر، نیترات کمتر از ۱ میلی گرم در لیتر و دمای ۱۲ درجه سانتی گراد) منتقل شدند. ماهیان به مدت ۱۴ روز با شرایط جدید سازگار شدند.

جدول ۱- فرمول و آنالیز خوراک‌های آزمایشی

نام تیمار	مقدار مواد اولیه‌ی مورد استفاده در هر تیمار (درصد)					
	A	B	C	D	E	F
	FO50	FO-50-HP	OO50	OO-50-HP	OO250	OO-250-HP
پودر ماهی ساردین	۱۰	۷	۱۰	۷	۱۰	۷
پودر ماهی کیلکا	۴/۵	۲	۴/۵	۲	۴/۵	۲
پودر ضایعات کنسرو تن ماهیان	۱۱/۵	۱۳	۱۱/۵	۱۳	۱۱/۵	۱۳
پروتئین هیدرولیز (Actipal HP2)[1]	۴	۰	۴	۰	۴	۰
پودر ضایعات کشتارگاهی طیور	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵	۷/۵
کنجاله سویا	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸
آرد گندم	۲۰/۲۴	۲۰/۲۴	۲۰/۲۴	۲۰/۲۴	۲۰/۲۰	۲۰/۲۰
گلوتن گندم	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
گلوتن ذرت	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵
روغن ماهی تازه	۰	۰	۰	۰	۱۰	۱۰
روغن ماهی اکسید شده	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۰	۰
ویتامین E (۵۰ ٪)[2]	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۵
مکمل معدنی (فرادانه)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
مکمل ویتامینه (فرادانه) (بدون ویتامین E)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
نمک	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
اسید آلی (ضد قارچ و کپک)	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
رطوبت	۶/۳۶	۶/۳۰	۶/۳۰۵۲	۶/۳۶	۶/۲۷	۶/۳۰
چربی	۱۴/۶۸	۱۴/۹۱	۱۴/۰۴	۱۴/۹۱	۱۴/۵۱	۱۴/۶۴
خاکستر	۸/۴۹	۷/۹۵	۸/۵۳	۷/۹۶	۸/۵۷	۸/۰۲
پروتئین	۴۱/۹۱	۴۱/۵۶	۴۱/۶۹	۴۱/۲۵	۴۱/۰۴	۴۱/۱۶

۱ حاصل از ضایعات عمل آوری ماهی تیلاپیا، تهیه شده از شرکت‌های اقماری Dianagroup به نام Aquativ

۲ آلفا- توکوفرول استات با غلظت ۵۰ درصد، تهیه شده از شرکت DSM سوئیس

پس از دوره‌ی سازگاری، ۴۳۲ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۱۰±۱۳۲ گرم به وسیله‌ی عصاره‌ی گل میخک (۱۵۰ میلی گرم در لیتر) بی هوش شد و به صورت انفرادی توزین و به ۱۸ عدد مخزن پرورشی (هر تانک ۲۴ قطعه ماهی) منتقل شدند. ماهیان برای مدت هشت هفته روزانه در دو نوبت با جیره‌های مذکور با توجه به اشتها تغذیه شدند. بررسی‌های روزانه مانند بررسی وضعیت کیفی و کمی آب ورودی به مخازن و تنظیم و یکسان کردن آن ها، جمع آوری و توزین تلفات احتمالی، تمیز کردن و فیلتراسیون فضولات و سایر مواد به صورت منظم صورت پذیرفت و کلیه‌ی اطلاعات روزانه شامل مقدار خوراک مصرفی، تعداد و وزن تلفات و پارامترهای کیفی آب (دما و اکسیژن) در فرم‌های مخصوص ثبت گردید.

۲.۳. زیست سنجی

عملیات وزن کشی ماهیان در طول دوره به صورت تجمعی هر دو هفته یکبار و پس از بی هو شی با ا سانس گل میخک انجام شد. در انتهای آزمایش طول چنگالی و وزن ماهیان پس از بی هوشی بصورت انفرادی اندازه‌گیری شد و شاخص‌های مربوط به عملکرد ر شد شامل میزان میانگین وزن اولیه و نهایی، درصد بازماندگی، میانگین افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی محاسبه گردید (Chen *et al.*, 2012).

درصد بازماندگی (SR) = (تعداد ماهی باقیمانده در انتهای آزمایش / تعداد ماهی اول آزمایش) ×۱۰۰

افزایش وزن (گرم) (WG) = میانگین وزن اولیه (گرم)- میانگین وزن نهایی (گرم)

نرخ رشد ویژه (SGR) = (ln وزن نهایی - ln وزن اولیه) / کل روزهای پرورش ×۱۰۰

ضریب چاقی (CF) = وزن بدن (گرم) / (طول کل بدن (سانتی متر))^{3} ×۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = غذای مصرف شده (گرم) / افزایش وزن (گرم)

۲.۴. نمونه برداری

به منظور بررسی اثر تیمارهای مختلف بر سیستم آنتی اکسیدانی و شاخص‌های سلامت ماهی، در پایان دوره یعنی پس از هفته‌ی هشتم پرورش، خون گیری و نمونه برداری از بافت کبد و فیله‌ی ماهیان صورت پذیرفت. قبل از نمونه برداری ابتدا به مدت یک روز غذادهی متوقف گرد ید و از هر مخزن (تکرار) دو عدد ماهی برای خون گیری و نمونه برداری بصورت تصادفی انتخاب شد و پس از بی هوشی با عصاره‌ی گل میخک و وزن کشی، عملیات خون گیری از محل ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های پی ستون دار انجام شد. خون بد ست آمده به دو ق سمت تقسیم شد که قسمت اول وارد لوله‌های هپارینه شد و در مجاورت یخ جهت اندازه گیری شاخص‌های خون شناسی به آزمایشگاه منتقل گردید و قسمت دیگر برای تهیه سرم به منظور اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینو تراز سفراز (AST) و آلانین آمینو تراز سفراز (ALT) وارد میکروتیوب‌های غیر هپارینه شد و بلافا صله روی یخ به آزمای شگاه منتقل گردید. سرم نمونه‌ها بعد از ت شکیل لخته، با سانتریفیوژ کردن به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰g جدا شد و در کرایوتیوب ریخته و داخل ازت مایع تا زمان انجام آنالیز نگهداری شدند. شمارش گلبول‌های سفید (WBC) و قرمز (RBC) با ا ستفاده از ا سلاید نئوبار ان جام شد (Rawling *et al.*, 2009). ت مایز سازی لوکوسی یت ها نیز صورت گر فت (Klontz, 1994) و هماتوکر یت (PCV) نیز با استفاده از لو له های میکرو هماتوکریت و دستگاه میکرو هماتوکریت تعیین گردید. تخمین غل ظت هموگلوبین (Hb) به روش سیانو مت هموگلوبین (Collier, 1944) انجام گرفت.

ماهی خون‌گیری شده برای آزمایش‌های بیشتر، کالبد شکافی شد و ابتدا کبد آن جدا و برای محا سبه شاخص کبدی (HSI) در ظرف تمیز و با استفاده ترازوی دقیق وزن گردید.

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

جهت محاسبه‌ی راندمان لاشه و شاخص احشایی، امعا و احشا ماهیان نمونه برداری شده برداشته شده و لاشه ماهی بطور کامل تمیز و با آب تازه و سرد شسته و وزن کشی شد. سپس از لاشه‌ی مورد نظر، فیله تهیه شده و فیله‌ها در کیسه‌های پلاستیکی تمیز و علامت گذاری شد و به همراه یخ جهت آزمایش‌های تجزیه شیمیایی لاشه، تیوباربیتوریک اسید (TBARS) و اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب به فریزر ۲۰- درجه در آزمایشگاه شرکت فرادانه منتقل شدند.

$$\text{شاخص احشایی (VSI)} = \frac{\text{وزن احشاء (گرم)}}{\text{وزن کل بدن (گرم)}} \times ۱۰۰$$

۲.۵. اندازه گیری‌ها

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی مواد اولیه، خوراک‌های آزمایشی و فیله‌ی ماهیان (شامل رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر) بر اساس روش‌های استاندارد AOAC (AOAC, 1993) صورت پذیرفت.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم های AST و ALT، سرم‌های تهیه شده که در نیتروژن مایع نگهداری شده بودند، به آزمایشگاه رویان پژوه شهرکرد منتقل شد و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر و کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون سنجش شدند. به منظور حصول اطمینان از فرآیند سنجش از محلول کنترل و کالیبراتور TRULAB-N استفاده شد.

به منظور اندازه گیری شاخص TBARS مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله چرخ شده مورد استفاده قرار گرفت. سنجش این شاخص به صورت اسپکتروفتومتری طبق روش Pikul و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد.

برای تعیین پروفایل اسیدهای چرب، ابتدا چربی فیله با استفاده از مخلوط کلروفرم: متانول (نسبت حجمی ۲: ۱) استخراج گردید، با استفاده از هیدروکسید پتاسیم صابونی شد و توسط تری فلوراید بورون متانولی مطابق با روش‌های AOAC (AOAC, 2007) استریفیه گردید. پس از آن، جدا سازی و اندازه گیری مقادیر متیل استر اسیدهای چرب (FAMEs) با استفاده از یک ستون باریک سیلیسی (طول ۳۰ متر، عرض ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۰ میکرو متر) در یک کروماتوگراف گازی (Agilent 7890 N) مجهز به تزریق گر اسپلیت/ اسپلیت لس و دتکتور یونیزاسیون شعله ای صورت گرفت. گاز نیتروژن با خلوص بالا به عنوان گاز حامل استفاده گردید. اسیدهای چرب با مقایسه‌ی زمان ابقای پیک FAME با استانداردهای سیگما تشخیص داده شد و به صورت درصد ناحیه‌ی مربوط به FAMEها بیان گردید.

۲.۶. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها با استفاده از روش تجزیه واریانس یک طرف (ANOVA) ارزیابی شدند. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان مقادیر میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم افزار SPSS 26 ویندوز با سطح معنی‌داری $P< ۰/۰۵$ انجام شد.

۳. نتایج

شاخص‌های مربوط به عملکرد رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین وزن نهایی، WG، رشد روزانه، CF، SGR و درصد وزن اضافه شده در تیمارهای A و B به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیش از دیگر تیمارها بود. پایین‌ترین مقدار FCR در تیمار B مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) که اختلاف معنی‌داری با تیمار A نداشت ($P>۰/۰۵$) و بالاترین مقدار آن در تیمار E مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای C، D و F نشان نداد ($P >۰/۰۵$). HSI دارای بیشترین میزان در تیمار D و کمترین میزان در تیمار B بود ($P<۰/۰۵$). مقدار راندمان لاشه اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای آزمایشی مختلف نشان نداد ($P>۰/۰۵$). در مورد مقدار VSI نیز فاقد اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای مختلف ($P>۰/۰۵$) بود.

همان گونه که در جدول ۳ مشاهده می شود، بالاترین فعالیت ALT در تیمار C و پایین ترین آن در تیمارهای A و B مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). به علاوه، بالاترین فعالیت AST در تیمارهای C و D و پایین‌ترین آن در تیمار B حاصل گردید ($P<۰/۰۵$). هرچند، میزان TBARS در تیمارهای مختلف فاقد اختلاف معنی‌داری بود ($P>۰/۰۵$).

جدول ۴ مقادیر شاخص‌های خون شناسی شامل حجم کل توده‌ی خون (PCV)، گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb)، گلبول‌های سفید (WBC)، نوتروفیل‌ها

(Nut)، لنفوسیت ها (Lym)، مونوسیت ها (Mon)، ائوینوفیل‌ها (Eos)، بازوفیل‌ها (Baso)، در صد فاگوسیتوز و تعداد سلول های بنیادی را در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی را نشان می‌دهد. همان گونه که از جدول بر می‌آید، بیشترین درصد نوتروفیل‌ها در تیمار E و کمترین آن در تیمار C قابل مشاهده است (P<۰/۰۵). هرچند، بالاترین درصد لنفوسیت‌ها در C و پایین ترین آن در تیمار E یافت شد (P<۰/۰۵). بالاترین درصد فاگوسیتوز نیز در تیمارهای C و D و پایین‌ترین آن در تیمار A مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

جدول ۵ بیان گر مقادیر ماده‌ی خشک، رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در فیله‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی است. همان گونه که مشاهده می‌شود، تیمارهای D و E بیشترین میزان خاکستر و تیمار A کمترین میزان خاکستر را نشان دادند (P<۰/۰۵).

جدول ۲- شاخص‌های رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف به مدت ۸ هفته*

پارامتر مد نظر	A	B	C	D	E	F
میانگین وزن اولیه (گرم)	۱۳۱/۹۰ ± ۱/۷۱	۱۳۲/۸۳ ± ۱/۵۲	۱۳۳/۳۲ ± ۱/۲۲	۱۳۲/۷۱ ± ۱/۱۶	۱۳۳/۶۰ ± ۱/۲۷	۱۳۳/۵۷ ± ۱/۵۸
میانگین وزن نهایی (گرم)	۲۷۰/۷۳ ± ۱۴/۷۹b	۲۷۹/۳۷ ± ۴/۷۲b	۲۲۸/۴۸ ± ۷/۶۸a	۲۳۳/۵۵ ± ۱۰/۳۸a	۲۲۲/۴۴ ± ۱۱/۸۰a	۲۳۱/۵۵ ± ۳/۱۲a
میانگین وزن اضافه شده WG (گرم)	۱۳۸/۸۳ ± ۱۵/۵۴b	۱۴۶/۵۳ ± ۳/۶۴b	۹۵/۱۶ ± ۷/۶۱a	۱۰۰/۸۴ ± ۱۰/۵۴a	۸۸/۸۴ ± ۱۱/۲۰a	۹۷/۹۸ ± ۲/۷۴a
ضریب تبدیل غذایی FCR	۱/۱۰ ± ۰/۱۳ab	۱/۰۳ ± ۰/۰۳a	۱/۲۴ ± ۰/۰۶ bc	۱/۲۶ ± ۰/۰۸ bc	۱/۳۲ ± ۰/۱۳ c	۱/۲۳ ± ۰/۰۵ bc
درصد تلفات	۸/۳۳ ± ۴/۱۷	۶/۹۵ ± ۴/۸۱	۴/۱۷ ± ۴/۱۷	۱۱/۱۱ ± ۹/۶۲	۹/۷۲ ± ۲/۴۱	۵/۵۵ ± ۴/۸۱
رشد روزانه (گرم)	۲/۴۸ ± ۰/۲۸b	۲/۶۲ ± ۰/۰۶b	۱/۷۰ ± ۰/۱۴a	۱/۸۰ ± ۰/۱۹a	۱/۵۸ ± ۰/۲۰a	۱/۷۵ ± ۰/۰۵a
ضریب چاقی CF	۱/۳۲ ± ۰/۰۴b	۱/۳۴ ± ۰/۰۱b	۱/۱۹ ± ۰/۰۳a	۱/۲۲ ± ۰/۰۷a	۱/۱۸ ± ۰/۰۵a	۱/۱۷ ± ۰/۰۲a
نرخ رشد ویژه SGR (درصد در روز)	۱/۳۳ ± ۰/۱۱b	۱/۳۸ ± ۰/۰۲b	۱/۰۰ ± ۰/۰۷a	۱/۰۵ ± ۰/۰۹a	۰/۹۴ ± ۰/۰۹a	۱/۰۲ ± ۰/۰۳a
درصد وزن اضافه شده	۱۰۵/۳۱ ± ۱۲/۵۸b	۱۱۰/۳۱ ± ۲/۱۸b	۷۱/۳۸ ± ۵/۷۴a	۷۶/۰۰ ± ۸/۱۴a	۶۶/۴۸ ± ۸/۱۸a	۷۳/۳۶ ± ۲/۲۵a
شاخص کبدی (HSI)	۲/۰۷ ± ۰/۵۱ab	۱/۹۱ ± ۰/۲۹a	۲/۲۶ ± ۰/۳۷ab	۲/۳۹ ± ۰/۲۳b	۲/۲۸ ± ۰/۲۵ab	۲/۰۹ ± ۰/۲۸ab
راندمان لاشه	۸۵/۷۵ ± ۱/۷۵	۸۶/۲۵ ± ۲/۲۲	۸۴/۸۵ ± ۲/۱۱	۸۴/۶۴ ± ۱/۹۷	۸۵/۶۳ ± ۱/۵۹	۸۶/۱۸ ± ۱/۷۸
شاخص احشایی (VSI)	۱۴/۲۵ ± ۱/۷۵	۱۳/۷۵ ± ۲/۲۲	۱۵/۱۵ ± ۲/۱۱	۱۵/۳۶ ± ۱/۹۷	۱۴/۳۷ ± ۱/۵۹	۱۳/۸۲ ± ۱/۷۸

*اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ هستند.

جدول ۳- فعالیت آنزیم‌های کبدی در خون و میزان TBARS در عضله ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف به مدت ۸ هفته*

نام آنزیم	A	B	C	D	E	F
ALT (IU/dL)	۲/۶۶ ± ۲/۰۸a	۲/۳۳ ± ۲/۳a	۱۶/۰۰ ± ۹/۱۶b	۹/۶۶ ± ۵/۵ab	۷/۶۶ ± ۴/۱ab	۸ ± ۱۰ab
AST (IU/dL)	۵۷۸ ± ۱۳۵/۱۶ab	۴۹۵ ± ۹۴/۶۹a	۸۳۷/۵ ± ۱۹۸/۳۸b	۸۴۰ ± ۳۰۱b	۵۷۵ ± ۱۸۳/۷۵ab	۵۴۲ ± ۲۱۷/۸۷ab
(TBARS) (mg/Kg)	۱/۳۱ ± ۰/۲۱	۲/۰۳ ± ۱/۳۹	۱/۱۱ ± ۰/۱۸	۰/۹۲ ± ۰/۲۰	۱/۳۲ ± ۰/۵۶	۱/۷۱ ± ۰/۶۸

*اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ هستند.

جدول ۴- شاخص های خون شناسی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره های غذایی مختلف به مدت ۸ هفته*

شاخص	A	B	C	D	E	F
حجم کل توده‌ی خون PCV (درصد)	۴۸/۶۷ ± ۷/۸۷	۴۱/۰۰ ± ۴/۳۸	۴۰/۰۰ ± ۲/۶۱	۴۷/۶۷ ± ۴/۹۷	۴۶/۱۷ ± ۱۱/۵۱	۴۵/۱۷ ± ۸/۹۳
گلبول‌های قرمز RBC (۱۰^{۶} × میلی متر مکعب)	۴/۲۰ ± ۰/۷۰	۳/۵۳ ± ۰/۵۳	۳/۴۲ ± ۰/۲۳	۴/۲۷ ± ۰/۵۶	۴/۱۵ ± ۱/۳۲	۳/۹۷ ± ۰/۹۸
هموگلوبین Hb (گرم در ۱۰ میلی لیتر)	۱۵/۷۰ ± ۲/۰۹	۱۳/۷۰ ± ۱/۴۸	۱۳/۳۳ ± ۰/۸۵	۱۵/۸۸ ± ۱/۶۶	۱۵/۴۳ ± ۳/۸۹	۱۵/۰۸ ± ۳/۰۰
گلبول‌های سفید WBC (تعداد در میکرو لیتر)	۱۷۰۶۶/۶۷ ± ۴۵۴۰/۸۹	۲۰۵۰۸/۳۳ ± ۴۸۰۳/۳۸	۱۹۷۴۱/۶۷ ± ۲۰۳۷/۰۱	۱۹۰۰۸/۳۳ ± ۴۲۱۲/۰۶	۲۱۸۹۱/۶۷ ± ۷۲۱۰/۹۲	۱۹۱۵۰/۰۰ ± ۳۱۹۹/۰۶
نوتروفیل ها Nut (درصد از کل لوکوسیت‌ها)	۱۷/۸۳ ± ۰/۰۵ ab	۱۶/۶۷ ± ۱/۰۰ ab	۱۵/۸۳ ± ۱/۰۶ a	۱۷/۸۳ ± ۰/۰۳ ab	۱۸/۰۰ ± ۰/۰۱ b	۱۶/۶۷ ± ۱/۰۴ ab
لنفوسیت‌ها Lym (درصد از کل لوکوسیت‌ها)	۸۱/۶۷ ± ۶/۸۶ ab	۸۵/۳۳ ± ۵/۵۴ ab	۸۸/۸۳ ± ۱/۹۹ b	۸۱/۳۳ ± ۵/۵۷ ab	۸۰/۰۰ ± ۰/۰۱ a	۸۷/۲۷ ± ۲/۵۵ ab
مونوسیت ها Mon (درصد از کل لوکوسیت‌ها)	۰/۵۰ ± ۰/۰۷	۰/۵۴ ± ۰/۰۴	۰/۵۲ ± ۰/۰۵	۰/۵۱ ± ۰/۰۳	۰/۵۳ ± ۰/۰۱	۰/۵۱ ± ۰/۰۲
ائوزینوفیل ها Eos (درصد از کل لوکوسیت‌ها)	۰/۲۹ ± ۰/۰۷	۰/۲۵ ± ۰/۰۵	۰/۳۱ ± ۰/۰۲	۰/۳۳ ± ۰/۰۷	۰/۲۷ ± ۰/۰۸	۰/۲۷ ± ۰/۱۰
بازوفیل ها Baso (درصد از کل لوکوسیت‌ها)	۰/۰۸ ± ۰/۰۲	۰/۰۶ ± ۰/۰۱	۰/۱۰ ± ۰/۰۱	۰/۰۹ ± ۰/۰۲	۰/۰۹ ± ۰/۰۱	۰/۰۶ ± ۰/۰۲
فاگوسیتوز (درصد)	۱۰/۵۰ ± ۴/۱۴ a	۱۳/۵۰ ± ۲/۵۹ ab	۱۶/۳۳ ± ۴/۷۲ b	۱۷/۱۷ ± ۴/۴۹ b	۱۱/۸۳ ± ۳/۱۹ ab	۱۵/۸۳ ± ۵/۴۶ ab

*اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ هستند.

جدول ۵- ترکیب شیمیایی (درصد در وزن خشک) در فیله‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف به مدت ۸ هفته*

پارامتر	A	B	C	D	E	F
ماده‌ی خشک	۲۷/۵۶ ± ۱/۹۸	۲۶/۴۴ ± ۰/۸۱	۲۵/۵۱ ± ۰/۷۳	۲۵/۴۸ ± ۱/۲۱	۲۶/۱۴ ± ۲/۲۰	۲۵/۶۳ ± ۰/۳۳
رطوبت	۷۲/۴۴ ± ۱/۹۸	۷۳/۵۶ ± ۰/۸۱	۷۴/۴۹ ± ۰/۷۳	۷۴/۵۲ ± ۱/۲۱	۷۳/۸۶ ± ۲/۲۰	۷۴/۳۷ ± ۰/۳۳
پروتئین	۶۵/۶۰ ± ۴/۳۸	۶۸/۶۰ ± ۲/۹۶	۷۱/۰۸ ± ۱/۴۷	۶۷/۹۳ ± ۳/۳۶	۶۵/۶۸ ± ۳/۱۶	۶۸/۱۵ ± ۵/۳۳
چربی	۲۶/۴۶ ± ۴/۹۰	۲۵/۳۱ ± ۱/۸۸	۲۱/۶۷ ± ۱/۳۸	۲۲/۷۲ ± ۲/۴۱	۲۳/۴۰ ± ۲/۴۹	۲۷/۵۳ ± ۵/۰۵
خاکستر	۵/۱۸ ± ۰/۲۱ a	۶/۲۱ ± ۰/۵۹ ab	۵/۹۸ ± ۰/۱۸ ab	۷/۰۵ ± ۰/۸۵ b	۷/۲۲ ± ۱/۸۶ b	۶/۶۵ ± ۰/۴۵ ab

*اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح P < ۰/۰۵ هستند.

جدول ۶ ترکیب اسـید های چرب فیله‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی مختلف را نشـان می‌دهد. طبق جدول، تیمار F بیشـترین مقدار ۹-۱n :۱۴ (۵- سیس- اسید تترادسنوئیک) و تیمار B کمترین مقدار آن را نشـان داد (P<۰/۰۵). بالاترین میزان ۱۸:۰ (اسـید اسـتئاریک) در تیمار A و پایین ترین میزان آن در تیمار D مشاهده شد (P>۰/۰۵). بیشترین مقدار ۶-۴n :۲۰ (اسـید آراشـیدونیک) نیز در تیمار D و کمترین مقدار آن در تیمار F مشاهده گردید (P<۰/۰۵).

جدول ۶- ترکیب اسیدهای چرب (درصد از کل اسیدهای چرب) در فیله‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های غذایی مختلف به مدت ۸ هفته*

اسید چرب	A	B	C	D	E	F
۱۴:۰	۲/۰۷ ± ۰/۰۶	۱/۸۶ ± ۰/۲۴	۲/۰۲ ± ۰/۱۴	۲/۱۱ ± ۰/۱۹	۲/۰۸ ± ۰/۲۰	۲/۱۶ ± ۰/۰۵
۱۴: ۱n-۹	۰/۳۰ ± ۰/۰۲ ab	۰/۲۶ ± ۰/۰۳ a	۰/۳۰ ± ۰/۰۴ ab	۰/۳۱ ± ۰/۰۴ ab	۰/۳۰ ± ۰/۰۲ ab	۰/۳۲ ± ۰/۰۱ b
۱۶:۰	۱۹/۱۰ ± ۰/۷۶	۱۷/۷۱ ± ۱/۹۸	۱۸/۹۶ ± ۰/۲۷	۱۸/۹۵ ± ۰/۷۷	۱۹/۴۱ ± ۰/۹۲	۱۹/۶۱ ± ۰/۳۵
۱۶: ۱n-۷	۵/۶۴ ± ۰/۵۶	۵/۰۶ ± ۱/۳۰	۵/۶۴ ± ۰/۵۱	۵/۹۳ ± ۰/۱۵	۵/۹۵ ± ۰/۶۸	۵/۶۲ ± ۰/۴۲
۱۸:۰	۵/۳۲ ± ۰/۱۶ b	۵/۰۰ ± ۰/۲۳ ab	۴/۹۴ ± ۰/۰۱ ab	۴/۷۸ ± ۰/۳۲ a	۵/۱۱ ± ۰/۳۷ ab	۵/۰۰ ± ۰/۱۵ ab
۱۸: ۱n-۹	۳۵/۱۵ ± ۰/۷۲	۳۴/۹۴ ± ۰/۴۴	۳۶/۱۲ ± ۱/۹۲	۳۴/۷۵ ± ۱/۱۲	۳۵/۸۲ ± ۱/۶۴	۳۵/۱۹ ± ۰/۹۴
۱۸: ۱n-۱۱	۲/۵۱ ± ۰/۱۲	۲/۴۵ ± ۰/۱۷	۲/۵۶ ± ۰/۰۵	۲/۵۶ ± ۰/۰۶	۲/۵۹ ± ۰/۱۱	۲/۶۷ ± ۰/۲۸
۱۸: ۲n-۶	۱۶/۵۸ ± ۳/۰۸	۱۹/۴۹ ± ۵/۲۴	۱۶/۰۲ ± ۲/۱۳	۱۵/۳۷ ± ۱/۱۳	۱۶/۱۷ ± ۱/۷۳	۱۸/۱۰ ± ۰/۱۹
۲۰:۰	۰/۶۴ ± ۰/۱۲	۰/۸۱ ± ۰/۲۳	۰/۶۶ ± ۰/۲۲	۰/۵۶ ± ۰/۰۹	۰/۶۶ ± ۰/۱۸	۰/۸۸ ± ۰/۳۱
۱۸: ۳n-۶	۳/۰۹ ± ۰/۶۱	۳/۳۲ ± ۰/۷۷	۲/۷۵ ± ۰/۲۰	۲/۸۸ ± ۰/۴۹	۲/۵۸ ± ۰/۳۱	۲/۸۹ ± ۰/۰۹
۲۰: ۱n-۱۱	۰/۹۱ ± ۰/۱۲	۱/۱۷ ± ۰/۵۱	۰/۸۴ ± ۰/۰۹	۰/۸۹ ± ۰/۱۱	۰/۷۹ ± ۰/۰۴	۰/۸۸ ± ۰/۲۲
۱۸: ۳n-۳	۰/۷۹ ± ۰/۰۷	۰/۸۴ ± ۰/۰۵	۰/۷۶ ± ۰/۱۰	۰/۷۵ ± ۰/۰۸	۰/۷۵ ± ۰/۰۸	۰/۸۴ ± ۰/۱۲
۲۱:۰	۰/۷۵ ± ۰/۰۸	۰/۸۱ ± ۰/۱۶	۰/۶۸ ± ۰/۰۵	۰/۷۳ ± ۰/۰۸	۰/۶۵ ± ۰/۰۴	۰/۷۸ ± ۰/۱۶
۲۰: ۲n-۶	۰/۶۴ ± ۰/۱۲	۰/۷۱ ± ۰/۲۰	۰/۵۵ ± ۰/۱۲	۰/۵۶ ± ۰/۰۳	۰/۵۸ ± ۰/۰۴	۰/۶۳ ± ۰/۰۶
۲۲: ۱n-۹	۰/۶۹ ± ۰/۰۴	۰/۷۳ ± ۰/۱۱	۰/۷۳ ± ۰/۰۱	۰/۷۷ ± ۰/۰۵	۰/۷۱ ± ۰/۰۴	۰/۷۳ ± ۰/۲۱
۲۰: ۴n-۶	۰/۲۸ ± ۰/۱۰ ab	۰/۳۰ ± ۰/۱۲ ab	۰/۲۸ ± ۰/۱۰ ab	۰/۴۲ ± ۰/۱۱ b	۰/۲۸ ± ۰/۱۱ ab	۰/۲۱ ± ۰/۰۴ a
۲۰: ۵n-۳	۰/۹۰ ± ۰/۶۶	۰/۴۹ ± ۰/۰۱	۰/۹۶ ± ۰/۵۹	۱/۲۳ ± ۰/۶۳	۰/۵۵ ± ۰/۰۲	۰/۴۸ ± ۰/۱۱
۲۴: ۱n-۹	۰/۲۷ ± ۰/۰۵	۰/۲۲ ± ۰/۰۳	۰/۳۰ ± ۰/۰۶	۰/۳۲ ± ۰/۰۴	۰/۲۳ ± ۰/۰۷	۰/۲۲ ± ۰/۰۷
۲۲: ۶n-۳	۴/۳۳ ± ۲/۳۱	۳/۶۴ ± ۲/۰۹	۳/۳۰ ± ۰/۰۵	۵/۹۵ ± ۲/۰۸	۴/۲۹ ± ۲/۸۷	۲/۶۸ ± ۰/۴۰
SFA	۲۷/۸۸ ± ۰/۷۷	۲۶/۱۹ ± ۱/۹۴	۲۷/۲۶ ± ۰/۲۱	۲۷/۱۲ ± ۱/۲۰	۲۷/۹۱ ± ۱/۴۵	۲۸/۴۴ ± ۰/۲۲
MUFA	۴۵/۴۶ ± ۱/۱۷	۴۴/۸۳ ± ۱/۲۷	۴۶/۴۹ ± ۲/۰۳	۴۵/۵۲ ± ۱/۲۷	۴۶/۳۸ ± ۲/۳۰	۴۵/۶۳ ± ۰/۹۱
n-۹ MUFA	۳۶/۴۰ ± ۰/۷۳	۳۶/۱۵ ± ۰/۳۶	۳۷/۴۵ ± ۱/۸۴	۳۶/۱۴ ± ۱/۰۵	۳۷/۰۵ ± ۱/۵۶	۳۶/۴۷ ± ۰/۷۵
PUFA	۲۶/۶۱ ± ۱/۸۱	۲۸/۷۸ ± ۴/۰۸	۲۴/۶۲ ± ۲/۰۹	۲۷/۱۷ ± ۱/۸۴	۲۵/۲۱ ± ۳/۱۶	۲۵/۸۲ ± ۰/۷۰
n-۳ PUFA	۶/۰۱ ± ۲/۹۷	۴/۹۷ ± ۲/۰۸	۵/۰۲ ± ۰/۶۲	۷/۹۳ ± ۲/۷۹	۵/۵۹ ± ۲/۹۴	۴/۰۰ ± ۰/۴۸
n-۶ PUFA	۲۰/۶۰ ± ۳/۶۹	۲۳/۸۱ ± ۶/۰۷	۱۹/۶۰ ± ۲/۳۲	۱۹/۲۳ ± ۱/۶۱	۱۹/۶۲ ± ۱/۴۸	۲۱/۸۲ ± ۰/۳۱
n-۳/ n-۶	۰/۳۱ ± ۰/۲۱	۰/۲۴ ± ۰/۱۷	۰/۲۶ ± ۰/۰۶	۰/۴۲ ± ۰/۱۸	۰/۲۹ ± ۰/۱۵	۰/۱۸ ± ۰/۰۲
LC PUFA	۶/۱۵ ± ۲/۹۵	۵/۱۴ ± ۲/۰۳	۵/۰۹ ± ۰/۶۱	۸/۱۶ ± ۲/۷۷	۵/۶۰ ± ۲/۹۱	۴/۰۰ ± ۰/۴۷
n-۳ LC PUFA	۵/۲۳ ± ۲/۹۷	۴/۱۳ ± ۲/۰۹	۴/۲۶ ± ۰/۶۰	۷/۱۸ ± ۲/۷۱	۴/۸۴ ± ۲/۸۷	۳/۱۶ ± ۰/۴۷
۱۸: ۲n-۶/ ۱۸: ۳n-۳	۲۱/۲۸ ± ۵/۱۹	۲۳/۰۶ ± ۵/۷۸	۲۱/۱۹ ± ۲/۶۹	۲۰/۶۶ ± ۳/۵۹	۲۱/۶۲ ± ۳/۲۷	۲۱/۸۶ ± ۳/۳۳
(۲۰: ۵n-۳ + ۲۲: ۶n-۳)/ ۲۰: ۴n-۶	۱۷/۶۱ ± ۳/۶۲	۱۳/۵۶ ± ۱/۷۸	۱۶/۳۲ ± ۴/۳۲	۱۷/۰۱ ± ۴/۱۵	۱۷/۴۲ ± ۶/۵۱	۱۵/۵۴ ± ۳/۳۵
PUFA/ SFA	۰/۹۶ ± ۰/۰۹	۱/۱۱ ± ۰/۲۳	۰/۹۰ ± ۰/۰۸	۱/۰۰ ± ۰/۱۱	۰/۹۱ ± ۰/۱۶	۰/۹۱ ± ۰/۰۲

*اعداد (میانگین ± انحراف معیار) در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ هستند.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

از آن جا که عملکرد رشد در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های حامل روغن ماهی تازه یعنی تیمارهای A و B بهتر از ماهیان تغذیه شده با خوراک‌های حامل روغن اکسید شده بود، به نظر می‌رسد که نتایج مربوط به پارامترهای رشد تأیید کننده‌ی نتایج تحقیقات دیگر است. در ماهیان، عدم تعادل بین عوامل اکسید کننده و آنتی اکسیدان‌ها موجب کاهش رشد و بقا می‌گردد (Sargent *et al.*, 2002). Dong و همکاران (۲۰۰۸) نیز کاهش رشد با افزایش اکسیداسیون چربی خوراک را در ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) گزارش نموده اند. هرچند، اختلاف معنی‌داری از نظر میزان تلفات میان تیمارها مشاهده نشد که این موضوع می‌تواند بیان گر عملکرد مناسب ویتامین E و پروتئین هیدرولیز شده‌ی موجود در خوراک به عنوان عوامل آنتی اکسیدان در جلوگیری از اثرات روغن اکسید شده‌ی خوراک بر میزان تلفات ماهیان باشد. گفته شده که گنجانیدن ویتامین E در مقادیر بیشتر از حد مطلوب در خوراک، به خصوص در غیاب آنتی اکسیدان‌ها، می‌تواند برای سلامتی ماهی مضر باشد (Gatta *et al.*, 2000; Tocher *et al.*, 2002; Hamre, 2011; Lozano *et al.*, 2017). این موضوع می‌تواند دلیل بالاتر بودن میزان FCR در ماهیان تغذیه شده با خوراک E باشد. حداقل مقدار مورد نیاز ویتامین E برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برابر با ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم خوراک تخمین زده شده است (Cowey *et al.*, 1983).

درجه‌ی حفاظت از سلول‌های کبدی به وسیله‌ی میزان فعالیت آنزیم‌های ALT و AST سنجیده می‌شود (Cui *et al.*, 2014)، به طوری که میزان فعالیت بالاتر این آنزیم‌ها بیان‌گر تضعیف یا نابود سازی عملکرد کبد است (Pan *et al.*, 2003). از آن جا که در مطالعه‌ی حاضر میزان فعالیت بیشتر این آنزیم‌ها در تیمارهای تغذیه شده با روغن ماهی اکسید شده با مقدار کمتر ویتامین E و به ویژه در تیمار تغذیه شده با خوراک دارای روغن ماهی اکسید شده و مقدار کمتر ویتامین E بدون پروتئین هیدرولیز شده مشاهده گردید، می‌توان چنین نتیجه گیری نمود که ویتامین E و پروتئین هیدرولیز شده در خوراک عملکرد مطلوبی جهت حفاظت از سلول های کبدی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در نتیجه‌ی تغذیه از خوراک‌های حامل روغن اکسید شده نشان داده اند.

اسید تیوباربیتوریک (TBA) بیان گر مقدار محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون است. مقدار TBA به ویژه غلظت مالون آلدهید (MDA) را تعیین می‌کند که یک محصول ثانویه‌ی ناشی از واکنش‌های فرآیند اکسیداسیون بوده و نیز یک آلدهید واکنش گر است. از آن جا که عدد TBARS در تمامی تیمارها پایین تر از ۲ میکرو مول MDA- اکی والان در هر گرم چربی به دست آمد (Connel, 1975)، این موضوع می‌تواند بیان کننده‌ی عملکرد مناسب ویتامین E به تنهایی یا همراه با پروتئین هیدرولیز شده به عنوان عوامل آنتی اکسیدان در جلوگیری از ایجاد طعم نامطلوب فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حتی در صورت تغذیه با خوراک حاوی روغن اکسید شده باشد.

در مورد شاخص‌های خونی نیز درصدهای نوتروفیل Nut و لنفوسیت Lym رابطه‌ی معکوسی را با یکدیگر نشان دادند، به طوری که Nut در تیمار C کمترین و در تیمار E بیشترین درصد را داشت و بر عکس، Lym در تیمار C بیشترین و در تیمار E کمترین درصد را نشان داد. این موضوع می‌تواند مربوط به تداخل ایجاد شده در سیستم ایمنی در نتیجه‌ی واکنش میان ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها با ویتامین E و روغن اکسید شده مورد استفاده در تهیه‌ی خوراک باشد (Aftabgard *et al.*, 2019). این موضوع در حالیست که به نظر می‌رسد ویتامین E با کمک پروتئین هیدرولیز شده‌ی مورد استفاده در خوراک درصدهای این سلول‌های خونی را تعدیل نموده به طوری که تفاوت معنی‌داری از نظر در صدهای آن‌ها در ماهیان تغذیه شده با خوراک‌های حامل روغن اکسید شده به همراه ترکیب ویتامین E و پروتئین هیدرولیز شده و ماهیان تغذیه شده

با خوراک‌های حامل روغن تازه مشاهده نشد. در تحقیق دیگری (Rahimi *et al.*, 2015) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با خوراک‌های حامل ویتامین E در مقادیر ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم تغذیه شدند. افزایش درصد لنفوسیت‌ها در صورت تغذیه‌ی ماهی با خوراک‌های حامل ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم و کاهش درصد نوتروفیل‌ها در صورت تغذیه‌ی ماهی با خوراک حامل ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم مشاهده شد. این محققان بروز چنین تغییراتی را در تعداد سلول‌های خونی علاوه بر گونه‌ی ماهی به شرایط محیطی نسبت دادند.

سلول‌های عمده‌ی فاگوسیتوز کننده در ماهیان شامل نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها هستند. این سلول‌ها عمدتاً از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در حین تنفس مداوم سبب از بین رفتن باکتری‌ها می‌شوند. علاوه بر آن، نوتروفیل‌ها دارای میلو پراکسیداز در دانه‌های سیتوپلاسمی خود بوده که در حضور هالید و هیدروژن پر اکسیداز با استفاده از هالوژنه کردن دیواره‌ی سلولی باکتری‌ها آن‌ها را از بین می‌برند. این سلول‌ها همچنین حامل لیزوزیم‌ها و دیگر آنزیم‌های هیدرولیتیک در لیزوزوم‌های خود می‌باشند (Uribe *et al.*, 2011). ماکروفاژها نیز قادر به تولید اکسید نیتریک در پستانداران بوده و می‌توانند به صورت بالقوه به عنوان عوامل ضد باکتری، پراکسی نیترات‌ها و گروه‌های هیدروکسیل عمل نمایند (Secombes, 1996). در تحقیق حاضر، درصد فاگوسیتوز در تیمارهای C و D بالاتر از دیگر تیمارها بود که این موضوع می‌تواند به سیستم ایمنی ماهیان جهت آمادگی برای مقابله با عوامل عفونت‌زا کمک کند.

ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی مختلف دارای ترکیب شیمیایی مشابه بودند که نشان دهنده‌ی عدم تأثیر سوء روغن اکسید شده‌ی موجود در خوراک بر ترکیب شیمیایی لاشه‌اند. این موضوع می‌تواند نمایان‌گر عملکرد مطلوب آنتی اکسیدان‌های اضافه شده به خوراک جهت جلوگیری از ایجاد آثار منفی روغن اکسید شده‌ی خوراک بر ترکیب شیمیایی لاشه باشد.

اسیدهای چرب اشباع غالب در ماهیچه شامل ۱۶:۰ (اسید پالمیتیک) و ۱۸:۰ و اسیدهای چرب غیر اشباع عمده شامل ۱n-۷ :۱۶ (اسید پالمیتولئیک)، ۱n-۹ :۱۸ (اسید اولئیک)، ۲n-۶ :۱۸ (اسید لینولئیک) و ۶n-۳ :۲۲ (اسید دوکوساهگزانوئیک) بودند. در تحقیق دیگری (Akhtar *et al.*, 1999) ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ۲۰۰ گرمی به مدت ۲۸ هفته با استفاده از خوراک‌های حامل ۵۰۰ میلی گرم آلفا- توکوفریل استات و ۱۵ میلی گرم کانتاگزانتین در کیلوگرم، ۵۰۰ میلی گرم آلفا- توکوفریل استات و ۱۷۵ میلی گرم اولئورزین پاپریکا در کیلوگرم یا ۵۰۰ میلی گرم آلفا- توکوفریل استات همراه با ۳۵۰ میلی گرم اولئورزین پاپریکا در کیلوگرم غذادهی شدند. یک خوراک تجاری نیز به عنوان خوراک شاهد در نظر گرفته شد. هیچ گونه تأثیر خوراک بر ترکیب اسیدهای چرب ماهیچه گزارش نشد. گزارش‌های دیگر (Boggio *et al.*, 1985; Frigg *et al.*, 1990; Waagbø *et al.*, 1991; Sigurgisladottir *et al.*, 1994) نیز حاکی از عدم تأثیر حضور یا فقدان آلفا- توکوفرول در مقادیر مختلف در خوراک بر ترکیب اسیدهای چرب آزاد ماهیان است. Watanabe و همکاران (۱۹۸۱) نیز اختلاف فاحشی از نظر توزیع اسیدهای چرب در کبد یا ماهیچه‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های حامل مقادیر مختلف آلفا- توکوفرول مشاهده ننمودند. Boggio و همکاران (۱۹۸۵) گزارش نموده اند که ترکیب اسیدهای چرب ماهیچه و به خصوص انواع n-۳ و n-۶ تحت تأثیر چربی خوراک قرار می‌گیرند.

اسید چرب ۱۸:۰ قابلیت هضم و جذب پایین در پستانداران دارد (Kritchevsky, 1994). بنابراین، پایین تر بودن میزان آن در فیله‌ی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک D می‌تواند به عنوان یک مزیت برای انسان به عنوان مصرف کننده‌ی ماهی به حساب آید. هرچند، اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها به جز تیمار A نداشت. بالاترین میزان ۴n-۶ :۲۰ نیز در ماهیان تغذیه شده با خوراک D مشاهده شد. به طور کلی، اسیدهای

چرب PUFA بـا ۲۰ اتم کربن در زنجیره‌ی خود نقش مهمی در تولید ایکوزانوئیدها دارند. ایکوزانوئیدها ترکیبات خطی یا حلقه ای با فعالیت‌های بسـیار حیاتی زیسـتی هستند (Sargent *et al.*, 2002; Tapiero *et al.*, 2002). بنابراین، تهیه‌ی خوراکی که بتواند از اکسـیداسـیون این گونه اسـیدهای چرب جلوگیری نماید، برای ماهی امری حیاتی است. البته به دلیل تأثیر آنتاگونیستی n-۶ ۴ :۲۰ بر فواید اسـیدهای چرب n-۳ PUFA در سـلامتی قلبی-عروقی انسـان (Tapiero *et al.*, 2002) مقادیر پایین این اسـید چرب در ماهیان به نفع انسـان به عنوان مصـرف کننده محسـوب می‌شـود. در این مورد می‌توان برای خوراک F ارجحیت قایل شد. لازم به ذکر است که ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با خوراک‌های آزمایشی مختلف در تحقیق حاضـر حامل نسـبت‌های n-۶ /n-۳ بیش از ۰/۲ -۰/۱ در ماهیچه های خود بودند که این نسبت توسط سازمان بهداشت جهانی توصیه شده است (Tanamati *et al.*, 2009). بر اسـاس اسـتاندارد ملی خوراک آبزیان پرورشی (استاندارد ۵۶۶۱)حد مجاز و قابل قبول پیشـنهادی عدد پر اکسـید نیز ۱۰ میلی اکی والان گرم پر اکسید بر کیلو گرم چربی تعیین شده است که این عدد در مورد روغن ماهی تازه و اکسید شده مورد استفاده در این تحقیق به ترتیب برابر با ۱ و ۱۰۰ میلی اکی والان گرم پر اکسید بر کیلوگرم بود.

با توجه به نتایج به دسـت آمده از مطالعه‌ی حاضـر مبنی بر داده های مربوط به عملکرد رشـد، آنزیم های کبدی، TBARS، خون شناسی و اسیدهای چرب به نظر می‌رسـد که حضـور ویتامین E به میزان ۵۰ میلی گرم همراه با پروتئین هیدرولیز شـده با جایگزینی ۴ درصـد جای پودر ماهی در خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرواری به نحو مطلوبی قادر به جلوگیری از آسـیب‌های استرس اکسیداتیو در ماهی است.

۵. تقدیر و تشکر

بدین ترتیب از شـرکت فرادانه (بزرگترین تولید کننده تخصصی خوراک آبزیان خاورمیانه) و صندوق حمایت از پژوهشـگران و فناوران کشـور برای حمایت از انجام طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

۶. منابع

References

Aftabgard, M., Salarzadeh, A., Mohsen, M., Bahri-ShabaniPour, A.H., Zorriehzahra, M.E.J., 2019. The conbined efficiency of dietary isomaltooligosaccharides and *Bacillus* spp. on the growth, hemato-serological, and intestinal microbiota indices of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* kessler, 1877). *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 11, 198-206.

Akhtar, P., Ian-Gray, J., Cooper, T.H., Garling, D.L., Booren, A.M., 1999. Dietary pigmentation and deposition of α-tocopherol and carotenoids in rainbow trout muscle and liver tissue. *Journal of Food Science* 64, 234-239.

Al-Salif, S.S.A., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H.A., Aref, I.A., 2014. Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red Sea, Saudi Arabia. Saudi *Journal of Biological Sciences* 21, 57-64.

AOAC, 1993. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, p.

AOAC, 2007. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC International, Arlington, p.

Barrow, C., Shahidi, F., 2008. Marine Nutraceuticals and Functional Foods. CRC Press, United States, 196 p.

Behnke, R.J., 1992. Native Trout of Western North America. American Fisheries Society, Monograph 6, 275 p.

Boggio, S.M., Hardy, R.W., Babbitt, J.K., Brannon, E.L., 1985. The influence of dietary lipid source and α-tocopherol acetate level on product quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 51, 13-24.

Brewer, M.S., 2011 .Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10, 221-247.

Chen, C.C., Wu, J.K., Lin, H.W., Pai, T.P., Fu, T.F., Wu, C.L., Tully, T., Chiang, A.S., 2012 .Visualizing long-term memory formation in two neurons of the Drosophila brain. *Science* 335, 678-685.

Collier, H.B., 1944. The standardizations of blood hemoglobin determinations. Canadian *Medical Association Journal* 50, 550-552.

Connel, J.J., 1975. Control of Fish Quality. Fishing News Books, London, 223 p.

Cowey, C.B., Adron, J.W., Youngson, A., 1983. The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. Aquaculture 30(8), 93-95.

Cui, Y., Ye, O., Wang, H., Li, Y., Yao, W., Qian, H., 2014. Hepatoprotective potential of *Aloe vera* polysaccharides against chronic alcohol-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 1764-1771.

Dong, S., Zeng, M., Wang, D., Liu, Z., Zhao, Y., Yang, H., 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry* 107, 1485-1493.

Egan, H., Hirk, R.S., Sawyer, R., 1997. Pearson's Chemical Analysis of Food. Longman Scientific and Technical, p.

Frigg, M., Prabucki, A.L., Ruhdel, E.U., 1990. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets. *Aquaculture* 84, 145-158.

Gatta, P.P., Prini, M., Testi, S., Vignola, G., Monetti, P.G., 2000. The influence of diffrenet levels of vitamin E on sea bass *Dicentrarchus labrax* flesh quality. *Aquaculture Nutrition* 6, 47-52.

Ghomi, M.R., Nikoo, M., Heshamatipour, Z., Jannati, A., Ovissipour, M., Benjakul, S., Hashemi, M ,. Faghanilangroudi, H., Hasandoost, M., Jadiddikhani, D., 2011. Effect of sodium acetate and nicin on microbial and chemical change of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refigrated storage. *Journal of Food Safety* 31, 169-175.

Hamre, 2011 .Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition* 17, 98-115.

Howell, E.E., Foster, P.G., Foster, L.M., 1988. Construction of a dihydrofolate reductase-deficient mutant of *Escherichia coli* by gene replacement. *Journal of Bacteriology* 170, 3040-3045.

Klontz, G.W., 1994. Fish Hematology. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaattari, S.L., Smith, S.A. (Eds.), Techniques in fish immunology. SOS PublicationsFair Haven, New Jersy, pp . 121-132.

Klontz, W.G., 1991. A Manual for Rainbow Trout Production on the Family-Owned Farm. Nelson and Sons, Inc., Utah, 113 p.

Kritchevsky, D., 1994. Stearic acid metabolism and atherogenesis: History. *The American Journal of Clinical Nutrition* 60,997-1001.

Kubiriza, G., Ámason, J., Sigurgeirsson, Ó.I., Hamaguchi, P., Snorrason, S., Tomasson, T., Thorarensen, H., 2016. Dietary lipid oxidation tolerance of juvenile Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*……

Lozano, A.R., Borges, P., Robaina, L., Betancor, M., Hernández-Cruz, C.M., Romero-García, J., Vergara, J.M., Izquierdo, M., 2017. Effect of different dietary vitamin E levels on growth, fish composition, fillet quality and liver histology of meagre) *Argyrosomus regius Aquaculture* 468, 175-183.

Pan, C.H., Chien, Y.H., Hunter, B., 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricus juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. Journal of Experimental *Marine Biology and Ecology* 29 (7),107-118..

Pikul, J., Leszczynski, D.E., Kummerow, F.A., 1989. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 37, 1309-13013.

Rahimi, M., Ahmadvand, S., Eagderi, S., Shamohammadi, S., 2015. Effects of vitamin C and E administration on leukocyte counts in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Nutrition and Health* 1, 1-5.

Rawling, M.D., Merrifield, D.L., Davis, S.J., 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of sangrovit of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture* 294, 118-122.

Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition. Academic Press*, San Diego, pp. 182-246.

Sargent, J.R., Tocher, D.R., Bell, J.G., 2002. The lipids. In: Halver, J.E., Hardy, R.w. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, London, pp. 181-257.

Secombes, C.J., 1996. The non-specific immune system: cellular defense. In: Iwama, G ,.Nakanishi, T. (Eds.), The Fish Immune System: Organism, Pathogens and Environment. *CA Academic Press*, San Diego, pp. 63-103.

Sigurgisladottir, S., Parrish, C.C., Ackman, R.G., Lall, S.P., 1994. Tocopherol deposition in the muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science* 59, 256-259.

Smith, R.H., 1991. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: Stolz, J., Schnell, J. (Eds.), Trout. The Wildlife Series, Stackpole Books, Harrisburg, pp. 304-322.

Tanamati, A., Stevanato, F.B., Visentainer ,J.E.L., Matsushita, M., De Souza, N.E., Visentainer, J.V., 2009. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. *European Journal of Lipid Science and Technology* 111, 183-187.

Tapiero, H., Nguyen Ba, G., Couvreur, P., Tew, K.D., 2002. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine and Pahrmacotherapy* 56, 215-222.

Tocher, D.R., Mourente, G., Van-Der-Eecken, A., Evjemo, J.O., Diaz, E., Bell, J.G., Geurden, I., Lavens, P., Olsen, Y., 20 .۰۲Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*sparus aurata* L.). *Aquaculture Nutrition* 8, 195-207.

Uribe, C., Folch, H., Enriquez, R ,.Moran, G., 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinarni Medicina* 10, 486-503.

Waagbø, R., Sandnes, K., Sandvin, A., Lie, Ø., 1991. Feeding three levels of n-3 polyunsaturated fatty acids at two levels of vitamin E to Atlantic salmon (*Salmo salar*) growth and chemical composition. Fisk. Dir. Skr. Ser. *Ernaring* 4, 51-63.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Wada, M., Uehara, R., 1981. The relationship between dietary lipid levels and a-tocopherol requirement of rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47, 1463-1471.