شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۵، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۶۲-۴۹

تاثیر تورین بر بازده رشد و تغذیه، آنزیم‌های گوارشی و ایمنی فیل ماهی (*Huso huso*) در دمای پایین آب

محبوبه اسلامی[۱]، معصومه بحرکاظمی[۲*]

۱. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.
۲. استادیار گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۹

چکیده

فیل ماهی از گونه‌های مهم رو به انقراض دریای خزر و گونه اصلی پرورشی ماهیان خاویاری در ایران محسوب می‌شود. لذا ایده استفاده از محرک تغذیه و رشد در دمای پایین می‌تواند در بهبود بازده پرورش آن مفید باشد. در این پژوهش ۱۲۰ قطعه ماهی با وزن ۲۳ ± ۴۴۰/۱۵ گرم در دمای ۱ ± ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۶ روز با غذایی حاوی پروتئین حیوانی (درصد پروتئین: ۴۸ درصد)، و دارای صفر، ۵، ۱۰، و ۱۵گرم در کیلوگرم تورین تغذیه شدند (با احتساب تورین موجود در جیره پایه، مقدار تورین کل جیره‌ها به ترتیب: ۳/۱، ۸/۳، ۱۳/۰، و ۱۸/۱ گرم در کیلوگرم بود). نتایج مربوط به شاخص‌های رشد نشان دهنده اثر معنی‌دار مثبت تورین در مقایسه با گروه شاهد بود. در واقع هر سه غلظت اضافه شده توانستند بازده تغذیه و رشد را در ماهیان بهبود دهند و بیشترین درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۸/۳ گرم تورین (تیماری که ۵ گرم در کیلوگرم تورین اضافه دریافت کرد)، به‌دست آمد. در شاخص وضعیت و شاخص‌های کبدی و احشایی تفاوت معنی‌دار نبود ($p>0/05$). در هیچ یک از تیمارهای آزمایشی نیز تلفاتی مشاهده نشد. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز، و پروتئاز در تیمار ۸/۳ گرم تورین اندازه‌گیری شد. با افزایش غلظت تورین در جیره، درصد چربی و خاکستر لاشه کاهش و درصد پروتئین و رطوبت آن افزایش یافت که تنها تفاوت درصد پروتئین لاشه بین تیمارها معنی‌دار نبود ($p>0/05$). غلظت‌های متفاوت تورین تاثیر ناچیزی بر ایمنی غیر اختصاصی ماهی داشت. در حالی که در هیچ یک از شاخص‌های فعالیت آنزیم لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل و کمپلمان C3 تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0/05$)، بیشترین میزان کمپلمان C4 در تیمار ۸/۳ گرم تورین اندازه گیری شد که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p<0/05$). لذا افزودن تورین به‌عنوان محرک تغذیه و رشد به غذای فیل ماهی در دمای پایین آب می‌تواند بازده رشد را بهبود دهد و افزودن ۵ گرم تورین به هر کیلوگرم غذای دارای پروتئین حیوانی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: فیل ماهی، تورین، آنزیم گوارشی، درجه حرارت پایین، ایمنی.

* نویسنده مسئول: معصومه بحرکاظمی
Email: bahr.kazemi@gmail.com

Journal of Fisheries
Vol. 75, No. 1, Spring 2022
pp. 49-62

Effect of different dietary-taurine on growth, feeding performance, digestive enzymes and immunity of beluga, *Huso huso*, under the low water temperature

Mahboubeh Eslami[1], Masoumeh Bahrekazemi[2*]

1. Ph.D. Student, Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

Received: 01-Sep-2021 **Accepted: 11-Oct-2021**

Abstract
Beluga is one of the important endangered species in the Caspian Sea and the main farmed species of sturgeon in Iran. Therefore, the idea of using the growth stimulants through the feed under the low water temperature can be useful for improving its growing efficiency. In this study, 120 fish with the mean weight of 440.15 ± 23 g were fed different animal protein-based diets containing zero, 5, 10, and 15 grams of taurine/kg (Considering the amount of taurine in the basic diet, the amount of total taurine in the diets reached to 3.1, 8.3, 13.0, and 18.1 g / kg, respectively), and reared at 10 ± 1 °C for a 56 –day period. The results of growth indicated a significant and positive effect due to presence of taurine in diet comparing the control treatment. In fact, all the three doses were able to improve the feeding and growth of fish, and the highest percentages of weight gain, specific growth rate, and the lowest food conversion ratio were obtained in treatment containing 8.3 g taurine in diet (a treatment that received an additional 5 g / kg taurine). There were significant differences in condition factor, liver and visceral indices among the treatments ($p > 0.05$), and no mortality was observed among the experimental treatments as well. Also, the highest amylase, lipase and protease enzymes activities were measured in 8.3 g taurine treatment. While the concentration of taurine increased in the diet, the carcass lipid and ash percentages decreased and the protein and moisture percentages increased without any significant difference ($p > 0.05$). Different concentrations of taurine had little effect on nonspecific immunity of fish. Whereas, there were not significant differences in the lysozyme enzyme activities, total immunoglobulin and C3 complement ($p > 0.05$). The highest amount of C4 complement was measured in 8.3 g taurine treatment, which was significantly different compared to other treatments ($p < 0.05$). As a conclusion, the diet containing 5 gr/kg taurine could be the optimum growth stimulant diet, and it can improve the growth efficiency of Beluga fish at the low water temperature (10 ± 1 °C).

Keywords: Beluga, Taurine, Digestive enzymes, Low temperature, Immunity.

Corresponding author: Masoumeh Bahrekazemi Email: bahr.kazemi@gmail.com

۱. مقدمه

ماهیان خاویاری با ارزش ترین ماهیان موجود در کره زمین هستند. در حال حاضر فیل ماهی، در میان ۵ گونه ماهی خاویاری موجود در منطقه خزر جنوبی، به دلیل رشد نسبتاً سریع، امکان تولید مثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه ماهی با هزینه کمتر در مقایسه با سایر گونه‌های ماهیان خاویاری به‌عنوان گونه اصلی پرورش در نظر گرفته می‌شود و بیش از ۹۰ درصد تولید گوشت و خاویار تولید شده در مزارع پرورش در ایران را به خود اختصاص داده است (Bahrekazemi *et al*., 2020).

در بهترین شرایط پرورشی در ایران فیل ماهی در ۳ سالگی به وزن بازاری می‌رسد و در ۱۰ تا ۱۲ سالگی خاویار تولید می‌کند. این دوره طولانی رشد و رسیدگی جنسی در فیل ماهی در مقایسه با گونه‌های دیگر، می تواند مشکلاتی را در پرورش آن‌ها از قبیل احتمال ابتلا به بیماری‌ها، استرس حاصل از تغییرات ناگهانی شرایط محیطی و عدم تغذیه و کاهش وزن ماهیان در زمستان به دلیل کاهش درجه حرارت آب را به‌دنبال داشته باشد. دو مورد آخر به‌ویژه در پرورش فیل ماهی با استفاده از آب دریای خزر از دغدغه‌های اصلی پرورش دهندگان است.

فیل ماهی نیز مانند سایر گونه‌ها، تغذیه و رشد مناسب را در دامنه دمایی بهینه خود (۱۹-۲۱ درجه سانتی‌گراد) خواهد داشت (Chebanove and Galich, 2013) و در زمستان با سرد شدن دما به‌شدت از تغذیه آن کاسته شده و ضریب تبدیل غذایی در آن افزایش می‌یابد. ازآنجا که بیش از ۵۰ درصد هزینه‌های تولید مربوط به خوراک ماهیان است و این هزینه در مورد فیل ماهی که گونه‌ای گوشت خوار بوده و نیاز به درصد بالایی پودر ماهی در جیره دارد بیشتر باید باشد و ضرورت یافتن راهکارهایی برای کاهش هزینه‌های تولید را بیشتر می‌کند. یکی از این راهکارها استفاده از محرک‌های تغذیه و رشد در دمای پایین است که شرایط رشد در ماههای سرد سال را هم فراهم کند.

تورین یک شبهه اسید آمینه با ساختاری ساده است که به‌واسطه نقش‌های پیچیده بی‌شمارش، مورد توجه است. تورین (2-aminoethanesulfonic acid, CAS 107-35-7) یک ماده نیتروژنی مشابه اسیدهای آمینه است که در ساختار خود، به‌جای گروه کربوکسیل، سولفینیک اسید دارد و به‌میزان زیادی در بافت‌های جانوری از جمله در بدن ماهی‌ها یافت می‌شود ولی در ساختار پروتئین شرکت نمی‌کند (Salze and Davis, 2015). تورین دارای نقش‌های زیادی در ماهیان است که از آن جمله می‌توان به افزایش رشد، بهبود متابولیسم چربی، پایداری غشاء سلولی، افزایش ایمنی و بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی اشاره کرد (Abdel- Tawwab and Monier, 2018). تورین همچنین می‌تواند به‌عنوان یک محرک تغذیه در ماهی‌ها عمل کند. به‌عنوان مثال در گونه‌های آزاد ماهی مهاجر آلپ (*Salvelinus alpinus*)، ماهی بلند باله (*Thymallus thymallus*) (Doving *et al*., 1980)، و قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Hara *et al*., 1984)، تورین با تحریک سیستم بویایی به‌عنوان محرک رشد و تغذیه عمل می‌کند. با توجه به مطالعات انجام شده در رابطه با اثر تورین بر ماهی، مشخص شده است که هر چند افزودن تورین اثرات مثبتی بر ماهی دارد اما استفاده از مقادیر نامناسب و زیاد تورین بر رشد و سلامت ماهی اثری منفی دارد. در واقع اثر تورین بر ماهی وابسته به شرایط مختلف است و نوع گونه ماهی و ترکیب جیره غذایی باید مدنظر قرار گیرد (Hoseini *et al*., 2017).

همانطور که عنوان شد، تورین یک ماده غذایی ضروری در بسیاری از گونه‌های ماهی است و مطالعات مختلفی در رابطه با تاثیر تورین بر عملکرد رشد (Gaylord *et al*., 2007; Johnson *et al*., 2015; Hosseini *et al*., 2017)، تولید اسیدهای صفراوی و هضم چربی (Goto *et al*., 2001; Yun *et al*., 2012)، متابولیسم کربوهیدرات (Han *et al*., 2014; Lopez *et al*., 2015)، پایداری غشاء و جلوگیری از کم‌خونی (Takagi *et al*., 2006)، کارایی سیستم ایمنی (Maita *et al*., 2006; Abdel- Tawwab and Monier, 2018)، عملکرد کبد (Takagi *et al*., 2006; Hosseini *et al*., 2017) و استرس اکسیداتیو (Banuelos-Vargas *et al*., 2014)

در گونه‌های مختلفی از ماهیان انجام شده است. در مورد نقش تورین به‌عنوان محرک اشتها و تغذیه در دمای پایین نیز چند پژوهش انجام شده است. از آن جمله می‌توان به تحقیق Gunathilaka و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کرد که به بررسی اثر تورین بر ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) در فصل سرد سال پرداختند. همچنین Kim و همکاران (۲۰۱۷) تورین را به‌عنوان عاملی موثر در بهبود عملکرد رشد، مصرف غذا و ایمنی ذاتی در ماهی کفشک روغنی (*Paralichthys olivaceus*) در فصول سرد سال و دماهای پایین آب، معرفی نمودند. در راستای مطالعات فوق، در این تحقیق به بررسی نقش تورین در جیره غذایی فیل ماهی پرورشی به‌عنوان محرک تغذیه و رشد در درجه حرارت پایین پرداخته شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه ماهی و شرایط آزمایش

در این تحقیق تعداد ۲۰۰ عدد فیل ماهی در اولین زمستان دوره پرورشی خود، از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری قره برون (چپکرود- جویبار) تهیه و مدت دو هفته سازگاری با شرایط آزمایش را در این مرکز گذراندند. ۱۲ مخزن فایبر گلاس با حجم ۲۰۰۰ لیتر با سیستم گردش آب کامل برای ۴ تیمار آماده و مورد استفاده قرار گرفتند. ۴ سطح تورین (۰، ۵، ۱۰، و ۱۵ گرم در کیلوگرم) برای تهیه ۴ جیره غذایی با مقدار ۳/۱، ۸/۳، ۱۳/۰، و ۱۸/۱ گرم تورین در کیلوگرم غذا که به‌ترتیب تیمارهای ۱، ۲، ۳، و ۴ نامیده شدند، مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۱۲۰ فیل ماهی بعد از بیومتری کامل (میانگین وزن ۲۳ ± ۴۴۰/۱۵ گرم) به‌طور تصادفی در ۱۲ مخزن ذخیره‌سازی شدند و دوره ۵۶ روزه آزمایش را در دی ماه و بهمن ماه گذراندند. آب مورد استفاده در تحقیق، آب دریای خزر بود (شوری: ۱/۲ ± ۱۲ گرم در لیتر)، که پس از هوادهی وارد مخازن می‌شد. در طول آزمایش آب مخازن روزانه به میزان ۲۰ تا ۳۰ درصد از کف سیفون شد تا فضولات خارج گردد و آب تمیز جایگزین آن شود. پارامترهای کیفی آب در طول ۸ هفته دوره آزمایش به‌طور منظم اندازه گیری و کنترل می‌گردید. درجه حرارت آب (۱ ± ۱۰ درجه سانتی‌گراد) به‌وسیله دماسنج جیوه‌ای (زمرد آزما، ایران)، اکسیژن محلول (۰/۶ ± ۸/۷ میلی‌گرم در لیتر) به‌وسیله دستگاه Cyberscan Eutech (سنگاپور)، و pH (۷/۶±۰/۶) به‌وسیله pH متر (Hanna 129, 8314، آمریکا)، آمونیاک (۰/۰۸ ± ۰/۴۱ میلی گرم در لیتر)، نیتریت (۰/۰۰۳ ± ۰/۰۲۱ میلی گرم در لیتر)، و نیترات (۱/۹ ± ۲۲/۴ میلی گرم در لیتر) به‌وسیله دستگاه ASTM (D1426-08 و D3867-09، آمریکا) اندازه‌گیری شدند و در دامنه محیط آزمایش قرار داشتند (Chebanov and Galich, 2013).

۲.۲. تهیه جیره‌های آزمایشی

در ابتدا ۴ جیره غذایی هم انرژی و هم پروتئین به وسیله نرم افزار لیندو فرموله شد (جدول ۱). اجزای غذایی از شرکت خوراک غذای آبزیان مازندران (ساری، ایران) خریداری شدند. ۴ سطح تورین (مرک، آلمان)، (۰، ۵، ۱۰، و ۱۵ گرم در کیلوگرم) برای تهیه ۴ جیره غذایی با مقدار ۳/۱، ۸/۳، ۱۳/۰، و ۱۸/۱ گرم تورین در کیلوگرم غذا، در ۱۲ تکرار آزمایشی استفاده شد. دوزهای تعیین شده بر اساس تحقیقات قبلی انجام شده صورت گرفت (Hoseini e*t al*., 2017; Sampath *et al*., 2020). اجزای غذایی در ابتدا به‌طور کامل با هم مخلوط شدند، سپس اجزاء مایع مانند روغن ماهی به دقت وزن شدند و به‌آرامی به مخلوط غذا اضافه شدند. مخلوط حاصل به‌وسیله یک چرخ گوشت (Electrokar EC-1، ایران) چرخ شد تا حبه‌های غذایی یا پلت‌هایی به قطر۵ میلی‌متر حاصل شود. حبه‌های غذایی تولیدی در سینی پهن شدند و در داخل آون به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. پلت‌ها پس از خشک شدن در بسته‌های مناسب بسته بندی و تا زمان مصرف در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذادهی ۲ بار در روز تا حد سیر شدن ماهیان انجام می‌شد. آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی جیره‌های تولیدی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ - مواد اولیه و تجزیه شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در تحقیق

اجزای تشکیل دهنده (گرم/کیلوگرم)	سطح تورین (گرم/ کیلوگرم غذا)			
	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰	۱۸/۱
پودرماهی کیلکا (پروتئین۵۷/۳۵درصد)	۴۵۰	۴۵۰	۴۵۰	۴۵۰
پودر سویا	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰
گلوتن گندم	۱۱۲	۱۱۲۱	۱۱۲	۱۱۲
روغن ماهی	۸۰	۸۰	۸۰	۸۰
تورین	۰	۵	۱۰	۱۵
اجزاء دیگر*	۳۸	۳۸	۳۸	۳۸
سلولز	۲۰	۱۵	۱۰	۵
ارزش غذایی جیره				
تورین (گرم/کیلوگرم غذا)	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰۰	۱۸/۱
پروتئین خام(درصد)	۴۸	۴۸/۰۶	۴۷/۹۸	۴۸/۱
چربی خام (درصد)	۱۳/۵	۱۳/۲۴	۱۳/۳۰	۱۳/۰۰
خاکستر (درصد)	۱۲/۸	۱۲/۶	۱۱/۹۸	۱۲/۱
رطوبت (درصد)	۸/۵	۸/۷	۸/۲	۸/۴۲
انرژی ناخالص (کیلوژول/ گرم)	۱۹/۶۰	۱۹/۵۹	۱۹/۶۱	۱۹/۵۷

*اجزاء دیگر شامل: ۳ گرم/کیلوگرم دی کلسیم فسفات، ۱۰گرم/ کیلوگرم مکمل مواد معدنی، ۱۰ گرم/ کیلوگرم مکمل ویتامینه، ضد قارچ: ۱۰ گرم/ کیلوگرم پرمیکس تکسیبان (Toxiban)، آنتی اکسیدان، ۰/۲ گرم/ کیلوگرم بوتیل هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene)، و ۰/۲ گرم/کیلوگرم فیتاز.

۱ کیلوگرم مکمل مواد معدنی شامل: ۱۰۰میلی‌گرم کبالت، ۴۰۰ میلی‌گرم ید، ۲۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۶۰۰ میلی‌گرم مس، و ۵۰۰۰ میلی‌گرم منگنز.

۱ کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: ۱۶۰۰۰ واحد بین المللی/کیلوگرم ویتامین A، ۴۰۰ واحد بین المللی/کیلوگرم ویتامین D3، ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم ویتامین k، ۱۲ میلی‌گرم/کیلوگرم تیامین، ۱۲ میلی‌گرم/کیلوگرم ریبوفلاوین، ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم پیریدوکسین، ۳۰ میلی‌گرم/کیلوگرم پانتوتنیک اسید، ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیاسین، ۰/۴ میلی‌گرم/کیلوگرم بیوتین، ۴ میلی‌گرم/کیلوگرم اسید فولیک، ۰/۰۲ میلی‌گرم/کیلوگرم ویتامین B12، ۶۰ میلی‌گرم/کیلوگرم اینوزیتول، ۱۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم اسید آسکوربیک، ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کولین کلراید.

۳.۲. شاخص‌های رشد و تغذیه

در پایان آزمایش پس از قطع غذادهی به‌مدت ۲۴ ساعت، تمام ماهیان توسط روغن گل میخک (۵۰ تا ۷۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند (Bahrekazemi *et al.*, 2020)، و درصد بازماندگی و شاخص‌های رشد و تغذیه شامل درصد افزایش وزن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی تعیین شد. همچنین، تعداد ۵ ماهی از هر مخزن به‌طور تصادفی انتخاب و کبد و املاء و احشاء آن‌ها خارج گردید و وزن شدند. شاخص‌ها بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Bahrekazemi *et al.*, 2020):

$$\text{افزایش وزن (درصد)} = \frac{\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب رشد ویژه (درصد/ روز)} = \frac{\text{لگاریتم نپرن وزن ثانویه} - \text{لگاریتم نپرن وزن اولیه}}{\text{طول دوره آزمایش}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص وضعیت (درصد)} = \frac{\text{وزن ثانویه (گرم)}}{\text{طول نهایی۳ (سانتی‌متر)}} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{وزن غذای خورده شده (گرم)}}{\text{افزایش وزن (گرم)}}$$

$$\text{بازماندگی (درصد)} = \frac{\text{تعداد ماهی در انتهای دوره}}{\text{تعداد ماهی در ابتدای دوره}} \times ۱۰۰$$

$$\text{بازماندگی (درصد)} = \frac{\text{تعداد ماهی در انتهای دوره}}{\text{تعداد ماهی در ابتدای دوره}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص کبدی (درصد)} = \frac{\text{وزن کبد (گرم)}}{\text{وزن بدن (گرم)}} \times ۱۰۰$$

$$\text{شاخص املاء و احشاء (درصد)} = \frac{\text{وزن املاء و احشاء (گرم)}}{\text{وزن بدن (گرم)}} \times ۱۰۰$$

۴.۲. تجزیه بیوشیمیایی جیره‌ها و لاشه ماهی

آنالیز شیمیایی جیره‌های غذایی و فیله‌ی ماهیان با استفاده از روش‌های AOAC انجام شد (AOAC, 2000). به طور خلاصه، پروتئین خام با روش کجلدال با استفاده از سیستم کجلدال اتمی (Kjeltec Analyser unit 2300، سوئد)، و چربی خام با روش سوکسله (مدل Soxtec 2050 FOSS، سوئیس)، اندازه‌گیری شد. میزان رطوبت به‌وسیله خشک کردن نمونه ها در آون به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. از کوره الکتریکی (مدل k، آلمان) برای تعیین میزان خاکستر در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ ساعت استفاده شد. انرژی ناخالص جیره ها نیز توسط فرمول زیر محاسبه شد (NRC, 2011):

انرژی ناخالص (کیلو ژول/ گرم)= (پروتئین ×۲۳/۶ کیلوژول/گرم) + (چربی ×۳۹/۵ کیلوژول/گرم) + (کربوهیدرات ×۱۷/۲ کیلوژول/گرم)

۵.۲. فعالیت آنزیم‌های گوارشی

در انتهای دوره آزمایش بعد از ۲۴ ساعت قطع غذادهی، از هر تیمار آزمایشی ۵ عدد ماهی برداشته و پس از شستشو با آب مقطر و بیهوشی با روغن گل میخک، روی یخ قرار داده شدند. دستگاه گوارش به‌وسیله ابزار جراحی کاملا خارج شد و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. سپس لوله گوارش ماهیان در کیسه‌های بسته بندی مناسب به فریزر و دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پروتئین محلول نمونه های هموژن شده لوله گوارش توسط دستگاه اسپکتوفتومتری و با روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از آلبومین سرم گاوی (BSA) استفاده شد.

آنزیم پروتئاز بر اساس روشی که توسط Hidalgo و همکاران (۱۹۹۹) شرح داده شد، با استفاده از هیدرولیز کازئین در pH = ۸ اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش آنزیم شامل ۰/۱ درصد کازئین در ۰/۲۵ میلی‌لیتر آب، ۰/۲۵ میلی‌لیتر بافر، و ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه بود. تیروزین به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شد و یک واحد از فعالیت آنزیم به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز، به‌عنوان کاتالیزور، برای تشکیل ۱ میکروگرم تیروزین در هر دقیقه تعریف شد.

آنزیم لیپاز با استفاده از هیدرولیز ۰/۵۳ میلی مول p- nitrophenyl myristate به‌عنوان سوبسترا که در ۰/۲۵ میلی مول Tris- Hcl، ۰/۲۵میلی‌مول 2 – methoxy ethanol، و ۵ میلی‌مول بافر sodium cholate (pH= 9.0) حل شد، اندازه گیری شد. واکنش با افزودن ۰/۷ میلی لیتر استون متوقف شد. محلول حاصل به‌مدت ۳ دقیقه با سرعت ۶۰۸۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر ثبت شد (Iijima ***et al***., 1998).

برای تعیین فعالیت آنزیم آمیلاز از ۱ درصد نشاسته که در ۱۰۰ میلی لیتر بافر شامل ۲۰ میلی مول فسفات سدیم و ۶ میلی مول کلرید سدیم (pH = 6.9) حل شد، استفاده گردید. یک واحد فعالیت بر اساس مقدار آنزیمی که یک میکرومول مالتوز را در یک دقیقه آزاد کند، محاسبه شد (Bernfeld, 1955).

۶.۲. شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی

برای اندازه‌گیری شاخص‌های ایمنی، تعداد ۵ ماهی از هر مخزن نمونه برداری شد. برای جلوگیری از بروز استرس، ماهیان توسط روغن گل میخک (۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، بیهوش شدند و بلافاصله خونگیری از ورید ساقه دمی ماهیان توسط سرنگ استریل ۵ میلی‌لیتری انجام شد. در مرحله بعد، نمونه‌های خون برای لخته شدن به‌مدت ۲ ساعت در یخچال قرار داده شدند و پس از سانتریفوژ کردن با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای

۴ درجه سانتی‌گراد، سرم نمونه‌های خون جمع‌آوری شد (Bahrekazemi *et al*., 2020).

۷.۲. فعالیت آنزیم لیزوزیم

فعالیت آنزیم لیزوزیم بر اساس روش حساسیت باکتری گرم‌مثبت *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma، آمریکا) به این آنزیم اندازه‌گیری شد (Clerton *et al*., 2001). به‌طور خلاصه، آنزیم لیزوزیم سفیده تخم مرغ به‌عنوان استاندارد در نظر گرفته شد و به‌میزان ۰، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در فسفات بافر (۰/۱ مول و pH =۵/۸) حل شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه استاندارد و سرم تیمارهای مختلف به طور جداگانه در هر میکروپلیت ۹۶ چاهکی، هر کدام با ۳ تکرار ریخته شد. سپس ۱۷۵ میکرولیتر سوسپانسیون *M. lysodeikticus* در همان بافر (۷۵ میکروگرم/ میلی‌لیتر) به هر چاهک اضافه شد و بلافاصله با نمونه‌های سرم مخلوط شد و اجازه داده شد در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد واکنش دهد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر هر ۳۰ ثانیه یک بار تا ۵ دقیقه خوانده شد (Tukmechi *et al*., 2007). مقداری از نمونه که منجر به کاهش جذب برابر۰/۰۰۱ در دقیقه شد، به‌عنوان واحد فعالیت لیزوزیم در نظر گرفته شد.

۸.۲. ایمونوگلوبولین کل

میزان ایمونوگلوبولین کل بر اساس روشی که توسط Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) شرح داده شد، اندازه-گیری شد. به‌طور خلاصه، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۱۲ درصد پلی اتیلن گلیکول مخلوط شد و به‌مدت ۲ ساعت قرار داده شد تا مولکول‌های ایمونوگلوبولین تشکیل شوند. ایمونوگلوبین ته نشین شده توسط سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد خارج شد. پروتئین کل در محلول فوقانی به‌روش رنگ سنجی (Biuret) اندازه‌گیری شد (Tietz, 1986). مقدار ایمونوگلوبولین کل توسط فرمول زیر محاسبه شد:

ایمونوگلوبولین کل (میلی گرم/ میلی لیتر) = مقدار پروتئین کل در نمونه سرم – مقدار پروتئین در مخلوط پلی اتیلن گلیکول

۹.۲. میزان کمپلمان C3 و C4

میزان کمپلمان ها نیز به روش نفلومتری در طول موج محدوده ۴۵۰ نانومتر انجام شد. در این روش سرم با آنتی سرم رسوب می‌دهد و کدورتی ایجاد می‌کند که در ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. نفلومترهای سنجش ایمنی از پرتوهای نور در محدوده ۴۰۰ تا ۸۴۰ نانومتر استفاده می‌کنند و قطر کمپلکس‌های آنتی بادی تقریباً ۲۵۰ تا ۱۵۰۰ نانومتر است. براساس دستورالعمل کیت مربوط (Minineph, Binding Site، انگلستان)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های سرمی با بافر کیت به نسبت ۱ به ۱۱ رقیق گردید. سپس به میزان ۴۰ میکرولیتر از آنتی سرم اختصاصی به نمونه اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید. بلافاصله با استفاده از دستگاه نفلومتری (Minineph, Binding Site، انگلستان) میزان جذب نوری ثبت گردید. با کمک منحنی استاندارد، غلظت فاکتورهای مذکور اندازه‌گیری و بر اساس میلی‌گرم در دسی‌لیتر بیان شد (Davis *et al*., 1996).

۱۰.۲. تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملا تصادفی بود که در آن ۴ سطح تورین هر یک در ۳ تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (Version 20) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و هم واریانسی با آزمون لون (Leven) کنترل گردید. جهت مقایسه داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و آزمون تفکیکی دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

۳. نتایج

۱.۳. شاخص‌های رشد و تغذیه

نتایج این تحقیق نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل (تیمار ۱)، افزودن تورین به جیره باعث افزایش بازده رشد در تیمارهای دیگر شد، هرچند تفاوت بین گروه کنترل و تیمار ۴ (۱۸/۱ گرم تورین/ کیلوگرم غذا) معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$). بیشترین درصد افزایش وزن و ضریب رشد ویژه در تیمار ۲ (۸/۳ گرم تورین/ کیلوگرم غذا) بدست آمد که با سایر تیمارها نیز دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). در مورد سایر پارامترها شامل شاخص وضعیت و شاخص‌های کبدی و احشایی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$). کمترین و بیشترین ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب متعلق به تیمارهای ۲ (۸/۳ گرم تورین/ کیلوگرم غذا) و ۱ (۳/۱ گرم تورین/ کیلوگرم غذا) بود. البته بین تیمارهای ۲ و ۳ (۱۳ گرم تورین/ کیلوگرم غذا) از نظر ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$) (جدول ۲).

در مجموع در کل دوره پرورش تلفاتی در بین تیمارهای تحت بررسی مشاهده نشد و نرخ بقاء ۱۰۰ درصد بود.

جدول ۲- میانگین (Mean ± Sd) شاخص‌های رشد و تغذیه در فیل ماهی تغذیه شده با مقادیر متفاوت تورین در دمای پایین به‌مدت ۵۶ روز (n=۱۲۰).

شاخص	سطح تورین (گرم/ کیلو گرم غذا)			
	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰	۱۸/۱
افزایش وزن (درصد)	۱۹/۵۴ ± ۲/۹۵[a]	۳۳/۹۶ ± ۶/۴۱[c]	۲۷/۱۲ ± ۰/۶۸[b]	۲۴/۳۵ ± ۱/۴۸[ab]
ضریب رشد ویژه (درصد/ روز)	۰/۳۰ ± ۰/۰۴۳[a]	۰/۴۹ ± ۰/۰۸[c]	۰/۴۰ ± ۰/۰۵[b]	۰/۳۶ ± ۰/۰۱[ab]
شاخص وضعیت (درصد)	۰/۴۴ ± ۰/۰۲۱	۰/۴۵ ± ۰/۰۱۰	۰/۴۳ ± ۰/۰۱۵	۰/۴۴ ± ۰/۰۰۹
شاخص کبدی (درصد)	۲/۹۶ ± ۰/۲۰	۴/۲۶ ± ۰/۳۲	۳/۶۶ ± ۰/۵۹	۳/۷۵ ± ۰/۶۶
شاخص احشایی (درصد)	۹/۸۳ ± ۱/۱۴	۱۲/۴۲ ± ۰/۹۷	۱۰/۱۷ ± ۱/۱۶	۱۱/۴۷ ± ۱/۱۱
ضریب تبدیل غذایی	۱۴/۱۶ ± ۲/۴۶[a]	۸/۱۴ ± ۱/۳۸[c]	۹/۸۲ ± ۰/۶۱[c]	۱۱/۳۱ ± ۰/۹۳[b]

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند($p > ۰/۰۵$).

۲.۳. ترکیب شیمیایی بدن

نتایج آنالیز لاشه نشان داد که افزودن تورین به جیره سبب کاهش درصد چربی در تیمارهای ۲، ۳، و ۴ نسبت به تیمار ۱ شد، اگرچه تنها تیمار ۴ با تیمار ۱ تفاوت معنی‌دار داشت. بیشترین درصد رطوبت لاشه مربوط به تیمار ۴ بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت ($p < ۰/۰۵$). برخلاف میزان رطوبت و چربی لاشه، سایر شاخص‌های بیوشیمیایی بدن، بین سه تیمار۲، ۳، و۴ تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p > ۰/۰۵$). بیشترین درصد پروتئین لاشه متعلق به تیمار ۳ بود که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت. همچنین کمترین درصد وزن خشک و بیشترین درصد خاکستر متعلق به تیمار ۱ بود که تنها از نظر درصد خاکستر با تیمار ۳ تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول ۳).

۳.۳.آنزیم‌های گوارشی

با توجه به جدول ۴ بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز، و پروتئاز در تیمار ۲ اندازه گیری شد. بین سه تیمار ۱، ۳، و ۴ از نظر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، اما تفاوت بین تیمار ۲ و هر سه تیمار دیگر معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$) (جدول ۴).

جدول ۳- میانگین (Mean ± Sd) ترکیب بیوشیمیایی لاشه در فیل ماهی تغذیه شده با مقادیر متفاوت تورین در دمای پایین به‌مدت ۵۶ روز (n=۱۲۰).

شاخص (درصد)	سطح تورین (گرم/ کیلوگرم غذا)			
	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰	۱۸/۱
چربی خام	۳۹/۸۲ ± ۲/۹۶[a]	۳۷/۶۳ ± ۵/۵۷[a]	۳۲/۲۳ ± ۳/۹۹[a]	۲۳/۶۲ ± ۲/۳۱[b]
پروتئین خام	۵۵/۶۳ ± ۳/۸۱[a]	۵۷/۷۵ ± ۳/۰۳[a]	۵۹/۵۰ ± ۵/۲۵[a]	۵۶/۳۵ ± ۱/۲۶[a]
وزن خشک	۲۲/۵۴ ± ۱/۵۴[a]	۲۷/۰۰ ± ۲/۳۰[b]	۲۵/۶۹ ± ۱/۶۰[b]	۲۶/۲۶ ± ۰/۹۷[b]
رطوبت	۷۳/۷۳ ± ۰/۹۱[a]	۷۲/۹۹ ± ۲/۳۰[a]	۷۴/۳۱ ± ۱/۶۰[a]	۷۷/۴۵ ± ۱/۳۱[b]
خاکستر	۷/۴۲ ± ۰/۵۱[a]	۵/۲۶ ± ۱/۰۶[b]	۵/۸۶ ± ۱/۲۲[ab]	۵/۱۸ ± ۰/۵۷[b]

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند($p > ۰/۰۵$).

جدول ۴- میانگین (Mean ± Sd) آنزیم‌های گوارشی در فیل ماهی تغذیه شده با مقادیر متفاوت تورین در دمای پایین به‌مدت ۵۶ روز (n=۱۲۰).

شاخص (واحد/میلی‌گرم پروتئین)	سطح تورین (گرم/ کیلوگرم غذا)			
	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰	۱۸/۱
آمیلاز	۱۳/۱۳ ± ۰/۶۳[a]	۱۵/۲۳ ± ۱/۳۸[b]	۱۱/۸۲ ± ۰/۸۶[a]	۱۲/۳۸ ± ۰/۶۸[a]
لیپاز	۴/۲۹ ± ۰/۱۱[a]	۴/۹۳ ± ۰/۴۲[b]	۴/۰۱ ± ۰/۳۹[a]	۳/۸۸ ± ۰/۲۰[a]
پروتئاز	۶/۱۴ ± ۰/۶۸[a]	۶/۹۹ ± ۰/۴۸[b]	۵/۷۲ ± ۰/۲۲[a]	۵/۷۱ ± ۰/۵۱[a]

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند($p > ۰/۰۵$).

۴.۳. شاخص‌های ایمنی غیر اختصاصی

اگرچه بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم، مقدار ایمونوگلوبولین کل، و کمپلمان C3 در تیمار ۲ اندازه‌گیری شد، اما از نظر این ۳ شاخص تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$). تنها در مورد کمپلمان C4 تفاوت بین تیمار۲ و تیمارهای ۱ و ۴ معنی‌دار بود. بیشترین میزان کمپلمان C4 در تیمار ۲ اندازه‌گیری شد که با تیمار ۳ دارای تفاوت معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$) (جدول ۵).

جدول ۵- میانگین (Mean ± Sd) شاخص‌های ایمنی در فیل ماهی تغذیه شده با مقادیر متفاوت تورین در دمای پایین به‌مدت ۵۶ روز (n=۱۲۰).

شاخص	سطح تورین (گرم/ کیلو گرم غذا)			
	۳/۱	۸/۳	۱۳/۰	۱۸/۱
لیزوزیم(واحد/میلی‌لیتر/دقیقه)	۲۴/۰۰ ± ۵/۰۰	۲۵/۳۳ ± ۱/۵۳	۲۲/۳۳ ± ۰/۵۸	۲۰/۶۷ ± ۳/۰۵
ایمونوگلوبولین کل (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)	۱۱/۸۵ ± ۱/۲۳	۱۲/۸۹ ± ۰/۱۵	۱۱/۶۷ ± ۰/۲۴	۱۱/۲۶ ± ۰/۳۸
کمپلمان C3 (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۳۶/۰۰ ± ۴/۵۸	۴۵/۳۳ ± ۱/۵۳	۳۸/۶۷ ± ۴/۰۴	۳۲/۶۷ ± ۷/۳۹
کمپلمان C4 (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۵/۹۰ ± ۰/۴۰[a]	۶/۹۰ ± ۰/۴۵[b]	۶/۲ ± ۰/۲۹[ab]	۵/۴۴ ± ۰/۶۱[a]

اعدادی که در هر ردیف با حروف یکسان نشان داده شده‌اند تفاوت معنی‌دار ندارند($p > ۰/۰۵$).

۴. بحث و نتیجه گیری

نیاز به تورین یک موضوع نسبتاً جدید است و بدلیل نقش‌های فراوانی که در ماهیان دارد از سال ۲۰۰۰ مورد توجه قرار گرفته است. از آنجا که رژیم غذایی بر پایه پروتئین حیوانی و در واقع پودر ماهی از میزان مناسبی تورین برخوردار است، افزودن تورین به جیره ماهی عمدتا در زمان جایگزین سازی درصدی از پروتئین حیوانی (پودر ماهی) با پروتئین گیاهی (ذرت یا سویا) به منظور تهیه غذای ارزانتر مورد توجه قرار گرفته است (Gaylord *et al*., 2007; Hosseini *et al*., 2018). تنها تحقیقی که تاثیر افزودن تورین به جیره بر مبنای پودر ماهی را مورد آزمایش قرار داد، مطالعه Kim و همکاران (۲۰۱۷) بود که تاثیر مثبت تورین بر رشد کفشک روغنی (*Paralichthys olivaceus*) در دمای پایین را گزارش کردند. گزارش حاضر نیز اولین مطالعه در مورد تاثیر تورین بر پرورش فیل ماهی در زمستان است که نتایج آن نشان داد افزودن تورین به جیره بر مبنای پروتئین حیوانی در دمای پایین توانست بازده رشد را افزایش دهد و افزودن ۵ گرم تورین/ کیلوگرم غذا (۸/۳ گرم/کیلوگرم)، بیشترین میزان رشد را حاصل کرد و مقادیر بیشتر تاثیر منفی بر بازده رشد داشت. این درحالی است که در تنها مطالعه روی ماهیان خاویاری، محققان گزارش دادند که نیاز قره برون (*Acipenser persicus*) به تورین برای رشد و سلامتی حتی در جیره‌ای که میزان پودر ماهی آن تا ۱۹ درصد کاهش یافته، نزدیک به صفر است (Hoseini *et al*., 2017)، که برخلاف یافته‌های این تحقیق است. بر اساس گزارشات موجود تورین در غلظت مناسب می‌تواند ترشح فاکتور رشد بافت‌های پیوندی را تحریک کند (Yuan *et al*., 2007). این فاکتور رشد سرشار از سیستئین، میتوژن، و فیبروبلاست است که در رشد و توسعه بافت‌ها شرکت می‌کنند (Wang *et al*., 2015).

در این تحقیق درشاخص‌های وضعیت، کبدی، و احشایی تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، اما افزودن تورین بازده تغذیه را در فیل ماهی افزایش داد. لازم به ذکر است که کاهش درجه حرارت میزان ضریب تبدیل غذایی را افزایش می‌دهد و این امر در عدد ضریب تبدیل غذایی گروه کنترل کاملا مشهود است. اما افزودن تورین در هر سه تیمار دیگر توانست کاهش چشمگیری در ضریب تبدیل غذایی ایجاد کند و افزودن ۰/۵ تا ۱ درصد تورین به جیره توانست ۵ تا ۶ واحد ضریب تبدیل غذایی را کاهش دهد. هرچند نتایج این تحقیق مخالف نتایج Hoseini و همکاران (۲۰۱۷) در قره برون بود که با افزایش تورین در غذا بازده رشد کاهش و ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت، اما با نتایج Kim و همکاران (۲۰۱۷) در کفشک روغنی و Gunathilaka و همکاران (۲۰۱۹) در سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*)، که اولی تاثیر افزودن تورین به جیره بر مبنای پروتئین حیوانی در دمای پایین و دومی تاثیر افزودن تورین به جیره بر مبنای پروتئین گیاهی در دمای پایین را آزمون کردند، مطابقت داشت. بر اساس مطالعه Wei و همکاران (۲۰۱۹)، تورین به‌عنوان یک محرک جذب غذا در ماهیان شناخته شده است و می‌تواند گرفتن غذا در ماهیان را بهبود بخشد که موجب افزایش بازده تغذیه می‌شود.

همانند بسیاری از گزارشات موجود (Hoseini *et al*., 2017; Kim *et al*., 2017; Gunathilaka *et al*., 2019)، عدم تاثیر منفی تورین بر درصد بازماندگی در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد.

در این تحقیق بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیماری که ۵ گرم تورین در هر کیلوگرم جیره را دریافت کردند، اندازه‌گیری شد. افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی موجب افزایش رشد می‌شود (Blier *et al*., 1997) که این امر به دلیل افزایش پتانسیل هضم پذیری غذا حاصل می‌شود. رابطه مستقیم تورین جیره با فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز در کپور سیاه (*Mylopharyngodon piceus*) (Zhang *et al*., 2018)، ملوان ماهی (*Rachycentron canadum*) (Salze *et al*., 2012)، مار ماهی باتلاقی آسیایی (*Monopterus albus*) (Hu *et al*., 2018)، کفشک (*Scophthalmus maximus*) (Zhang *et al*., 2019)، و سیم دریایی معمولی (*Dentex*

(*dentex* (Chatzifotis *et al*., 2008) هم گزارش شده است. یکی از مهمترین نقش‌های تورین در ماهی ترشح اسیدهای صفراوی است (Xu *et al*., 2020). اسیدهای صفراوی برای فعال سازی لیپازها برای هضم و جذب چربی ضروری هستند. به این ترتیب، تورین و لیپاز نقش مهمی در متابولیسم چربی‌ها ایفا می‌کنند. متاسفانه در این تحقیق اسیدهای صفراوی اندازه‌گیری نشد تا بینش بیشتری در این مورد حاصل شود. افزایش فعالیت آنزیم لیپاز و کاهش چربی خام عضله در اثر افزودن تورین در مارماهی باتلاقی آسیایی و ماهی کفشک هم گزارش شده است (Hu *et al*., 2018; Zhang *et al*., 2019).

آنالیز لاشه فیل ماهی نشان دهنده رابطه معکوس بین تورین و درصد چربی عضله بود. البته کاهش چشمگیر چربی در تیمار ۴ مشاهده شد. همچنین افزایش تورین در جیره سبب افزایش رطوبت لاشه به‌ویژه در تیمار ۴ شد که مشابه نتایج حاصل در قره برون بود (Hoseini *et al*., 2017). مقادیر متفاوت تورین در جیره فیل ماهی بر سایر پارامترها شامل درصد پروتئین، وزن خشک، و خاکستر تاثیر قابل توجهی نداشت. کاهش چربی لاشه با افزایش تورین در گونه های قره برون (Hoseini *et al*., 2017)، کفشک (Zhang *et al*., 2019)، و ملوان ماهی (Salze *et al*., 2012)، نیز گزارش شده است. تورین برای افزایش هضم چربی معروف است و جذب این آمینو اسید برای تولید نمک‌های صفراوی لازم است. البته نتایج این تحقیق بر خلاف نتایج Kim و همکاران (۲۰۱۷) در ماهی کفشک روغنی، و Gunathilaka و همکاران (۲۰۱۹) در سیم دریایی قرمز، در دمای پایین بود که تاثیر معنی‌داری را از نظر آنالیز لاشه در این گونه‌ها گزارش نکردند.

در حیوانات دیگر، شواهد قوی نشان می‌دهد که تورین پاسخ پیش التهابی و ایمنی را تنظیم می‌کند (Schuller-Levis and Park, 2004; Marcinkiewicz and Kontny,2014). تورین این کار را با دو مکانیسم انجام می‌دهد: ۱) خنثی سازی اکسیداتیو و تعدیل بیان ژن لکوسیت‌ها (Schuller-Levis and Park, 2004)، و تعدیل پاسخ التهابی با مهار تولید واسطه‌های پیش التهابی TNF-α ، PGE2، نیتریک اکسید و اینترلوکین‌ها (Park *et al*., 2002). با این حال، مکانیسم دقیق تنظیم کنندگی ایمنی آن هنوز در ماهی مشخص نیست. سنجش ایمنی فیل ماهی نشان دهنده عدم تاثیر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم لیزوزیم، ایمونوگلوبولین کل و کمپلمان C3 بود و تنها مقدار C4 در تیمارهای تورینی به‌ویژه در تیمار ۲ افزایش قابل ملاحظه یافت. افزودن تورین به جیره سیم دریایی قرمز تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای ایمنی نداشت (Gunathilaka *et al*., 2019)، اما در گونه کفشک روغنی افزودن ۰/۲۵ تا ۱ درصد تورین پاسخ‌های ایمنی ذاتی را بهبود بخشید (Kim *et al*., 2017). افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم و ایمونوگلوبین در گربه ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraca*) (Li *et al*., 2016)، و همینطور افزایش فعالیت لیزوزیم در موکوس سیم دریایی زرد باله (*Acanthopagrus latus*) (Dehghani *et al*., 2020)، در تغذیه با ۱۲/۵ گرم در کیلوگرم تورین گزارش شده است. بر خلاف تحقیق حاضر، بهبود سطح IgM سرم در ماهی خاویاری چینی (*Acipenser sinensis*) (Qin *et al*., 2020)، و فعالیت لیزوزیم در سیم دریایی زرد باله و سوف دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) گزارش شده است (Mozanzadeh *et al*., 2020).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن ۵ گرم تورین در کیلوگرم غذای دارای پودر ماهی (۸/۳ گرم تورین در کیلوگرم جیره) توانست بازده رشد و تغذیه و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در فیل ماهی را در زمستان افزایش دهد. همچنین افزودن تورین توانست درصد چربی گوشت فیل ماهی را کاهش دهد که بازار پسندی آن را افزایش می‌دهد. البته ایمنی فیل ماهی چندان تحت تاثیر افزودن تورین به جیره قرار نگرفت. بنابراین، افزودن تورین به جیره به مقدار ۵ گرم/ کیلوگرم برای تغذیه فیل ماهی و زمستان گذرانی همراه با رشد توصیه می‌شود.

References

۵. منابع

Abdel-Tawwab, M., Monier, M.N., 2018. Stimulatory effect of dietary taurine on growth performance, digestive enzymes activity, antioxidant capacity, and tolerance of common carp, *Cyprinus carpio* L., fry to salinity stress. *Fish Physiology and Biochemistry* 44, 639-649.

AOAC., 2000. Official methods of analysis of the AOAC International (Vol. 18). The Association.

Bahrekazemi, M., Eslami, M., Nikbakhsh, J., 2020. The effect of dietary coriander supplementation on growth performance, biochemical responses, carcass proximate composition, and heavy metal accumulation in beluga, *Huso huso*. *Journal of Applied Aquaculture* 34(1),1-20.

Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A., Peres, H., 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology* Part B: *Biochemistry and Molecular Biology* 170, 18-25.

Bernfeld, P., 1955. Amylases, α and β. S.P. Colowick, N.O. Kaplan (Eds.), Methods in Enzymology, vol.1, Academic Press, New York, NY, pp. 149-158.

Blier, P., Pelletier, D., Dutil, J.D., 1997. Does aerobic capacity set a limit on fish growth rate? *Reviews in Fisheries Science* 5(4), 323-340.

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

Chatzifotis, S., Polemitou, I., Divanach, P., Antonopoulou, E., 2008. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. *Aquaculture* 275(1-4), 201-208.

Chebanov, M.S., Galich, E.V., 2013. Sturgeon Hatchery Manual. FAO Technical Paper. Ankara, Turkey: FAO Publishing, 297 p.

Clerton, P., Troutaud, D., Verlhac, V., Gabaudan, J., Deschaux, P., 2001. Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes. *Fish and Shellfish Immunology* 11, 1-13.

Davis, M.L., Austin, C., Messmer, B.L., 1996. IFCC-standardization pediatric reference intervals for 10 serum proteins using the Beckman Array 360 system. *Clinical Biochemistry* 29(5), 489-492.

Dehghani, R., Oujifard, A., Mozanzadeh, M.T., Morshedi, V., Bagheri, D., 2020. Effects of dietary taurine on growth performance, antioxidant status, digestive enzymes activities and skin mucosal immune responses in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. *Aquaculture* 517, 734795.

Doving, K.B., Selset, R., Thommesen, G., 1980. Olfactory sensitivity to bile acids in salmonid fishes. *Acta Physiologica* 108, 123–131.

Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Teague, A.M., Johansen, K.A., Overturf, K.E., Shepherd, B., 2007. Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 269, 514–24.

Goto, T., Takagi, S., Ichiki, T., Sakai, T., Endo, M., Yoshida, T., et al., 2001. Studies on the green liver in cultured red sea bream fed low level and non-fish meal diets: relationship between hepatic taurine and biliverdin levels. *Fisheries Science* 67, 58–63.

Gunathilaka, G.L.B.E., Kim, M.G., Lee, Ch., Shin, J., Lee, B.J., Lee, K.J., 2019. Effects of taurine supplementation in low fish meal diets for red seabream (*Pagrus major*) in low water temperature season. *Fisheries and Aquatic Science* 22, 23-33.

Han, Y., Koshio, S., Jiang, Z., Ren, T., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Gao, J., 2014. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 434, 348-354.

Hara, T.J., Macdonald, S., Evans, R.E., Marui, T., Arai, S., 1984. In: JD MC, Arnold G.P., Dodson J.J., Neill W.H., editors. Morpholine, bile acids and skin mucus as possible chemical cues in salmonid homing: electrophysiological re-evaluation. New York, pp. 363–378.

Hidalgo, M., Urea, E., Sanz, A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170(3), 267- 283.

Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., Eskandari, S., Amirahmadi, M., Soudagar, M., 2017. The effect of dietary taurine on growth performance and liver histopathology in Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) fed plant-based diet. *Aquaculture Research* 48, 4184-4196.

Hoseini, S., Hosseini, S., Eskandari, S., Amirahmadi, M., 2018. Effect of dietary taurine and methionine supplementation on growth performance, body composition, taurine retention and lipid status of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) fed with plant-based diet. *Aquaculture Nutrition* 24(1), 324-331.

Hu, Y., Yang, G., Li, Z., Hu, Y., Zhong, L., Zhou, Q., Peng, M., 2018. Effect of dietary taurine supplementation on growth, digestive enzyme, immunity and resistant to dry stress of rice field eel (*Monopterus albus*) fed low fish meal diets. *Aquaculture Research* 49, 2108-2118.

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y., 1998. Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Physiology and Biochemistry* 18(1), 59-69.

Johnson, R.B., Kim, S.K., Watson, A.M., Barrows, F.T., Kroege, E.L., Nicklason, P.M., Goetz, G.W., Place, A.R., 2015. Effects of dietary taurine supplementation on growth, feed efficiency, and nutrient composition of juvenile sablefish (*Anoplopoma fimbria*) fed plant based feeds. *Aquacultur* 445, 79-85.

Kim, J.M., Malintha, G.H.T., Gunathilaka, G.L.B.E., Lee, Ch., Kim, M.G., Lee, B.J., Kim, J.D., Lee, K.J., 2017. Taurine supplementation in diet for olive flounder at low water temperature. *Fisheries and Aquatic Science* 20, 20-28.

Li, M., Lai, H., Li, Q., Gong, S., Wang, R., 2016. Effects of dietary taurine on growth, immunity and hyperammonemia in juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* fed all-plant protein diets. *Aquaculture* 450, 349-355.

López, L.M., Flores-Ibarra, M., Bañuelos-Vargas, I., Galaviz, M.A., True, C.D., 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiology and Biochemistry* 41, 921-936.

Marcinkiewicz, J., Kontny, E., 2014. Taurine and inflammatory diseases. *Amino acids* 46, 7-20.

Mozanzadeh, M.T., Safari, O., Oosooli, R., Mehrjooyan, S., Najafabadi, M.Z., Hoseini, S.J., Saghavi, H., Monem, J., 2020. The effect of salinity on growth performance, digestive and antioxidant enzymes, humoral immunity and stress indices in two euryhaline fish species: Yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) and Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 534, 736329.

NRC., 2011. National Research Council, Nutrient requirements of fish and shrimp, The National Academies Press, Washington DC. National academies press.

Park, E., Jia, J., Quinn, M.R., Schuller-Levis, G., 2002. Taurine chloramine inhibits lymphocyte proliferation and decreases cytokine production in activated human leukocytes. *Clinical Immunology* 102, 179-184.

Qin, S., Leng, X., Luo, J., Du, H., Liu, Z., Qiao, X., Xiong, W., Wei, Q., 2020. Growth and physiological characteristics of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) during adaptation to seawater. *Aquaculture Research* 51, 3813-3821.

Salze, G., McLean, E., Craig, S.R., 2012. Dietary taurine enhances growth and digestive enzyme activities in larval cobia. *Aquaculture* 362, 44-49.

Salze, G.P., Davis, D.A., 2015. Taurine: a critical nutrient for future fish feeds. *Aquaculture* 437, 215-229.

Sampath, W., Rathnayake, R., Yang, M., Zhang, W., Mai, K., 2020. Roles of dietary taurine in fish nutrition. *Marine Life Science and Technology*, 1-16.

Schuller-Levis, G.B., Park, E., 2004. Taurine and its chloramine: modulators of immunity. *Neurochemical Research* 29, 117-126.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. In: Disease Diagnosis and Prevention Methods. FAO-project GCP/INT/JPA, IFI Olsztyn, Poland, pp.105–112.

Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Hayashi, M., Hatate, H., Endo, M., Yamashita, H., Ukawa, M., 2006. Hemolytic suppression roles of taurine in yellowtail Seriola quinqueradiata fed non-fishmeal diet based on soybean protein. *Fisheries Science* 72, 546-555.

Tietz, N.W., 1986. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia, PA: W.B. Saunders, pp. 583–584 and 888–889.

Tukmechi, A., Morshedi, A., Delirezh, N., 2007. Changes in intestinal microflora and humoral immune response following probiotic administration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6, 1183-1189.

Wang, Y., Li, F.G., Qin, B., Chen, J., Jiang, X.Y., Zou, S.M., 2015. Duplicated connective tissue growth factor genes in hypoxia-sensitive blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* and their in vivo expression. *Comparative Biochemistry and Physiology* 181, 42–49.

Wei, Y., Shen, H., Xu, W., Pan, Y., Chen, J., Zhang, W., Mai, K., 2019. Replacement of dietary fishmeal by Antarctic krill meal on growth performance, intestinal morphology, body composition and organoleptic quality of large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Aquaculture* 512, 734281.

Xu, H., Zhang, Q., Kim, S.K., Liao, Z., Wei, Y., Sun, B., Jia, L., Chi, S., Liang, M., 2020. Dietary taurine stimulates the hepatic biosynthesis of both bile acids and cholesterol in the marine teleost, tiger puffer (*Takifugu rubripes). British Journal of Nutrition* 123(12), 1345-1356.

Yuan, L.Q., Lu, Y., Luo, X.H., Xie, H., Wu, X.P., Liao, E.Y., 2007. Taurine promotes connective tissue growth factor (CTGF) expression in osteoblasts through the ERK signal pathway. *Amino Acids* 32(3), 425–430.

Yun, B., Ai, Q., Mai, K., Xu, W., Qi, G., Luo, Y., 2012. Synergistic effects of dietary cholesterol and taurine on growth performance and cholesterol metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed high plant protein diets. *Aquaculture* 324, 85-91.

Zhang, J., Hu, Y., Ai, Q., Mao, P., Tian, Q., Zhong, L., Xiao, T., Chu, W., 2018. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant status of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) fed with low fish meal diet. *Aquaculture Research* 49(9), 3187-3195.

Zhang, Y., Wei, Z., Liu, G., Deng, K., Yang, M., Pan, M., Gu, Z., Liu, D., Zhang, W., Mai, K., 2019. Synergistic effects of dietary carbohydrate and taurine on growth performance, digestive enzyme activities and glucose metabolism in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture* 499, 32-41.