



Effect of Replacement of Fish Oil by Grape Seed Oil on Growth Indices and Protease Enzymes Activity in *Oncorhynchus mykiss*

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Zamani A.* PhD,
Moafi A.¹ MD

How to cite this article

Zamani A, Moafi A. Effect of Replacement of Fish Oil by Grape Seed Oil on Growth Indices and Protease Enzymes Activity in *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(1):71-79.

ABSTRACT

Aims Increasing the aquatic consumption, developing aquaculture, and the need for aquatic food production will make unclear the availability to fish oil in the future. The aim of this study was to investigate the effect of replacement of fish oil by grape seed oil on growth indices and protease enzymes activity in Rainbow Trout.

Materials & Methods This study was conducted on 450 *Rainbow Trout* during a 60-day period. In this study, control diet (A) containing 100% fish oil and 25% (B), 50% (C), 75% (D), and 100% (E) grape seed oil were used instead of fish oil. The data were analyzed by Graph pad prism and SPSS 20 software, using one-way ANOVA test.

Findings The highest final weight and weight gain was in diet C and the lowest was in D, having a significant difference. Specific Growth Rate (SGR) and Protein Efficiency Ratio (PER) had no significant difference. The highest and lowest feed conversion ratio (FCR) was observed in diets E and C, respectively, with a significant difference. The highest fat efficiency was in diet C. The highest feed efficiency was in diets C and D and the lowest was in E, and the diets were not significantly different. The most activity of pepsin and trypsin was observed in pyloric additions in diet C and in intestine in C and D. The optimal amount of fish oil replacement was satisfied by grape seed oil 50% (diet C).

Conclusion The diet containing 50% fish oil and 50% grape seed oil is effective in improving the growth indices and activity of pepsin and trypsin enzymes in Rainbow Trout.

Keywords Fish Oil; Grape Seed Extract; Protease Enzyme; *Oncorhynchus mykiss*

CITATION LINKS

[1] Use of fish meal and fish oil in aquaculture ... [2] The influence of substitution of dietary fish ... [3] The state of world fisheries and aquaculture ... [4] Global overview on the use of fish ... [5] Fish oil replacement in finfish ... [6] Where do fishmeal and fish oil ... [7] Dietary lipid source modulates in vivo fatty acid metabolism ... [8] Resources for fish feed in future ... [9] Partial replacement of fish oil with ... [10] Thelipids [11] Effect of dietary canola oil level on the growth performance ... [12] Plant oils inclusion in high fish meal-substituted ... [13] The response of digestive enzyme activities and gut histology ... [14] Effects of fish oil replacement by vegetable ... [15] Replacement of fish oil by poultry oil and canola ... [16] Morphological aspects of ... [17] Fish oil substitution by vegetable oils ... [18] Impact of different dietary lipid sources on ... [19] Alternative protein sources in diets for Japanese ... [20] Effects of different soybean proteins on lipid digestion and ... [21] Evaluation of canola oils as alternative lipid resources ... [22] Dietary TAG source and level affect performance and lipase ... [23] Antinutritional ... [24] Comparative and identification of fatty acid composition of Iranian ... [25] Characteristics and composition of melon and ... [26] Quantitation of the main constituents ... [27] Optimization of replacing pork back ... [28] Drying kinetics of grape ... [29] Potential uses and applications ... [30] Total replacement of fish oil by soybean ... [31] Biological activities of polyphenols from ... [32] Green tea and grape seed extracts-Potential applications in ... [33] Grape seed extract and dried ... [34] Grape seed and clove bud extracts as natural ... [35] Annual ... [36] Nutrient Requirements of ... [37] Official methods of analysis of AOAC ... [38] Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities ... [39] Lipase activity in different tissues of four species ... [40] The estimation of Pepsin ... [41] The preparation and properties ... [42] Protein measurement with the ... [43] Substituting fish oil with crude ... [44] Effects of dietary fish oil replacement ... [45] Effects of dietary grape seed ... [46] Effects of replacing fish meal ... [47] Effects of dietary fish oil ... [48] Total replacement of fish oil by ... [49] Effects of dietary fish oil ... [50] Effects of replacing fish oil by ... [51] Effect of vegetable based diets ...

*Fishery Department, Natural Resources and Environment Faculty, Malayer University, Malayer, Iran

¹Malayer Office of Jihad-e-Agriculture, Malayer, Iran

Correspondence

Address: Fishery Department, Natural Resources and Environment Faculty, Malayer University, Malayer, Iran

Phone: -

Fax: -

a.zamani@malayeru.ac.ir

Article History

Received: January 29, 2017

Accepted: May 15, 2017

ePublished: March 20, 2018

تاثیر جایگزینی روغن ماهی با روغن هسته انگور بر شاخص‌های رشد و میزان فعالیت پروتئازی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان

عباس زمانی * PhD

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

ابوذر معافی MD

اداره جهاد کشاورزی ملایر، ملایر، ایران

چکیده

اهداف: افزایش مصرف آبزیان، توسعه صنعت آبزی پروری و نیاز به تولید خوراک آبزیان، دسترسی به روغن ماهی را در آینده نامعلوم می‌سازد. هدف پژوهش بررسی تاثیر جایگزینی روغن ماهی جیره غذایی با روغن هسته انگور بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های پپسین و تریپسین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر روی ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی یک دوره ۶۰ روزه انجام شد. در این مطالعه از جیره شاهد (A) حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی و جیره‌های حاوی ۲۵٪ (B)، ۵۰٪ (C)، ۷۵٪ (D) و ۱۰۰٪ (E) روغن هسته انگور به جای روغن ماهی استفاده شد. داده‌ها با نرم‌افزار Graph Pad Prism و SPSS 20 از طریق آزمون واریانس یک‌طرفه تحلیل شدند.

یافته‌ها: بیشترین وزن نهایی و افزایش وزن در جیره C و کمترین آنها در D بود که اختلاف معنی‌داری داشتند. اختلاف معنی‌داری در نرخ رشد ویژه و کارایی پروتئین جیره‌ها وجود نداشت. بیشترین ضریب تبدیل غذایی در جیره E و کمترین آن در C با اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین کارایی چربی در جیره C بود. بیشترین کارایی غذا در جیره‌های C و D و کمترین آن در E بود و جیره‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین فعالیت آنزیم پپسین و تریپسین در ضمایم پیلوریک در جیره C و در روده در C و D مشاهده شد. میزان بهینه جایگزینی روغن ماهی به‌وسیله روغن هسته انگور ۵۰٪ (جیره C) برآورد شد.

نتیجه‌گیری: جیره غذایی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور بر بهبود شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های پپسین و تریپسین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان موثر است.

کلیدواژه‌ها: روغن ماهی، روغن هسته انگور، آنزیم پروتئاز، قزل‌آلای رنگین‌کمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲۵

*نویسنده مسئول: a.zamani@malayeru.ac.ir

مقدمه

یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های موجود در صنعت آبزی پروری، وابستگی زیاد این صنعت به ترکیباتی مانند روغن ماهی است که از گونه‌هایی مانند ساردین و آنچوی تهیه و به‌عنوان منبع منحصربه‌فرد چربی در جیره غذایی ماهیان استفاده می‌شود^[1, 2]. صنعت آبزی پروری در سال‌های اخیر، رشد قابل ملاحظه‌ای داشته است، به‌طوری که میزان کل تولید جهانی آبزیان در سال ۲۰۱۴ در حدود ۱۶۷/۲ میلیون تن بوده است و سهم آبزی پروری تقریباً ۷۳/۸ میلیون است که ۴۷/۱٪ از تولید کل جهانی در سال ۲۰۱۴ را شامل می‌شود^[3]. با توجه به رشد این صنعت و تمایل پرورش‌دهندگان به پرورش متراکم آبزیان، میزان وابستگی پرورش آبزیان به غذای دستی افزایش یافته است. چربی‌ها از اجزای مهم جیره غذایی ماهیان هستند که به‌عنوان منبع تولید انرژی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌های محلول در چربی به شمار می‌روند^[4]. به‌دنبال افزایش مصرف انسانی آبزیان، ثابت‌ماندن صید جهانی آن، توسعه صنعت آبزی پروری و نیاز روزافزون به تولید خوراک آبزیان، دسترسی به روغن ماهی را در آینده، بسیار نامعلوم می‌سازد و توسعه پایدار صنعت آبزی پروری را با مشکل مواجه خواهد کرد^[2, 5, 6]. در حال حاضر صنعت خوراک آبزیان نیاز شدیدی به یافتن جایگزین‌های مناسب برای روغن ماهی دارد و در

سال‌های اخیر مطالعاتی در این‌باره انجام شده است. این بررسی‌ها نشان داده‌اند که روغن‌های گیاهی به‌دلیل داشتن ویژگی‌هایی از جمله سهولت دسترسی، قیمت پایین و پایداری بالا نسبت به روغن ماهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای آن در صنعت تولید خوراک آبزیان باشند^[7-9]. تنها جایگزین مناسب برای روغن ماهی در جیره غذایی آبزیان، روغن‌های گیاهی هستند که غنی از اسیدهای چرب چندغیراشباع (PUFA) مانند آلفالینولئیک‌اسید (C18:3ⁿ⁻³) و لینولئیک‌اسید (C18:2ⁿ⁻⁶)، اما بدون اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند (HUFAS) مانند ایکوزاپنتوئیک‌اسید (EPA)، دکوزاهگزانوئیک‌اسید (DHA) و اسیدآراشیدونیک هستند^[10]. با این‌حال روغن‌های گیاهی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع و حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب پیش‌ساز امگا-۳ و امگا-۶ هستند و بنابراین قابلیت هضم بالایی دارند^[11]. جایگزینی موفقیت‌آمیز روغن ماهی با منابع گیاهی، علاوه بر کاهش وابستگی کامل به روغن ماهی می‌تواند سبب کاهش احتمالی هزینه‌های مرتبط با تامین جیره‌های غذایی در صنعت آبزی پروری شود^[5]. جایگزینی منابع مختلف به‌جای روغن ماهی می‌تواند بر شاخص‌های فیزیولوژیک از جمله آنزیم‌های گوارشی تاثیرگذار باشد که در ماهیان همانند سایر جانوران نقش بسیار مهمی در گوارش غذا ایفا می‌کنند^[12-14]. مطالعات نشان داده‌اند که جایگزینی روغن ماهی با روغن‌های گیاهی در جیره غذایی ماهیان باعث بروز تغییراتی در ساختار بافت دستگاه گوارش می‌شود و بر فرآیند گوارش و جذب تاثیر می‌گذارد^[15]. علاوه بر این درجه غیراشباعیت چربی‌ها می‌تواند بر ترکیب غشای انتروسیت (Enterocytes) بافت ماهیان تاثیر گذاشته و باعث تجمع قطرات کوچک چربی در غشای انتروسیت ضمایم پیلوریک و روده شود^[16, 17].

مطالعه کابالرو و همکاران نشان داده است که استفاده از روغن‌های گیاهی (سویا، پالم، زیتون و کلزا) در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث تجمع قطرات کوچک چربی در سلول‌های روده شده و در نتیجه در فرآیند متابولیسم، انتقال چربی و به‌دنبال آن کاهش هضم چربی و پروتئین تغییراتی ایجاد می‌کند^[18]. همچنین، وجود عوامل ضدتغذیه‌ای (ANFs) معمولاً در منابع پروتئینی گیاهی مورد استفاده در جیره غذایی ماهیان گزارش شده است که بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاثیرگذار است^[19, 20]. با این حال حضور ANFs در روغن‌های گیاهی نیز از سوی برخی محققان و تاثیر آنها بر فرآیند گوارش در ماهیان گزارش شده است^[15, 21]. *سانتیگوسا* و همکاران کاهش در میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز در شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) را به حضور ANFs در روغن‌های گیاهی مورد استفاده در جیره غذایی این گونه مرتبط دانسته‌اند^[12]. مورایس و همکاران نشان داده‌اند که استفاده از سطوح بالای روغن سویا باعث کاهش فعالیت آنزیم تریپسین در لاروهای کفشک (*Solea senegalensis*) شده است^[22]. در گیاهان حضور بازدارنده تریپسین، نوعی مکانیزم دفاعی برای جلوگیری از هضم دانه بوده و این می‌تواند دلیلی بر حضور این بازدارنده در روغن دانه‌های گیاهی باشد^[23]. یکی از منابع روغن‌های گیاهی، روغن هسته انگور است، به‌طوری که هسته انگور به‌طور متوسط ۲/۵٪ از وزن انگور را تشکیل می‌دهد^[24]. این روغن حاوی ۸-۱۵٪ اسیدچرب غیراشباع است که عمدتاً شامل اسیداولئیک و اسیدلینولئیک بوده است^[25-27]. براساس مطالعه رابرتس و همکاران، این روغن کلسترول ندارد و از نسبت بالاتر اسیدهای چرب غیراشباع به اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با

تهیه جیره آزمایشی: در این تحقیق، روغن هسته انگور (مونینی؛ ایتالیا) از بازار تهیه شد و برای بررسی اثرهای جایگزینی آن در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، آزمایش در ۵ جیره غذایی شامل جیره شاهد یعنی گروه A (حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی و صفر درصد روغن هسته انگور)، جیره B (حاوی ۷۵٪ روغن ماهی و ۲۵٪ روغن هسته انگور)، جیره C (حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور)، جیره D (حاوی ۲۵٪ روغن ماهی و ۷۵٪ روغن هسته انگور) و جیره E (حاوی صفر درصد روغن ماهی و ۱۰۰٪ روغن هسته انگور) مطالعه شد. جیره آزمایشی طبق احتیاجات غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان^[36] و به کمک نرم‌افزار جیره‌نویسی AQUAFEED تهیه شد. اجزای جیره پس از غربال و آسیاب‌شدن با یکدیگر مخلوط شد و سپس به‌وسیله چرخ گوشت به‌صورت پلت‌هایی با قطر ۲/۵ میلی‌متر درآمدند. پلت‌ها با استفاده از آون در دمای ۴۵°C به مدت ۷ ساعت خشک و تا زمان مصرف در یخچال با ۴°C نگهداری شدند. غذادهی ماهیان براساس ۳٪ وزن بدن و در ۳ نوبت به‌صورت روزانه و به مدت ۶۰ روز انجام گرفت. اجزا و ترکیب تقریبی هر یک از جیره‌های آزمایشی محاسبه شد (جدول ۱).

روغن هسته انگور حاوی ۹۲ گرم چربی شامل ۱۲ گرم اسیدچرب اشباع، ۱۹ گرم اسیدچرب تک‌اشباع و ۶۱ گرم اسیدچرب چندغیراشباع و سایر ترکیبات شامل کربوهیدرات، فیبر، پروتئین و نمک صفر درصد و میزان انرژی ۸/۲۸ کیلوکالری بر گرم بود. مکمل معدنی (میلی‌گرم/کیلوگرم) نیز شامل ۲۰۰ میلی‌گرم KCl، ۶۰ میلی‌گرم KI، ۷ میلی‌گرم COCL₂. 6H₂O، ۱۴ میلی‌گرم CuSO₄.5H₂O، ۴۰۰ میلی‌گرم FeSO₄H₂O، ۶۵ میلی‌گرم ZnSO₄.H₂O، ۸۰ میلی‌گرم MnSO₄.H₂O، ۳۰۰۰ میلی‌گرم Na₂SeO₃.5H₂O، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم Ca (H₂PO₄).H₂O، ۱۳۶ میلی‌گرم NaCl و ۵۸۴۰ میلی‌گرم Zeolite و کریور تا ۱ کیلوگرم بود. مکمل ویتامینی حاوی تیامین (۱۲ میلی‌گرم)، ریبوفلاوین (۵ میلی‌گرم)، پیرودوکسین (۶ میلی‌گرم)،

چربی‌های جانوری برخوردار است^[28] و همچنین برای مخلوط‌شدن با اقلام غذایی جیره، قابلیت بالایی دارد^[29]. از دیگر مزایای روغن هسته انگور می‌توان به خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی و ضد سرطانی آن اشاره کرد^[30-34].

براساس گزارش سازمان خوار و بار و کشاورزی ملل متحد^[3]، ایران در کنار ایالات متحده و ایتالیا پنجمین کشور تولیدکننده انگور در جهان است که در صورت تجهیز مراکز فرآوری انگور می‌تواند یکی از تولیدکنندگان عمده روغن هسته انگور در جهان به‌شمار رود. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی ماهیان سردابی از خانواده آزادماهیان (Salmonidae) در ایران است که میزان تولید آن در سال ۱۳۹۲ حدود ۱۴۴۰۰۰ تن بوده است^[35]. بنابراین تامین غذای مورد نیاز به‌منظور پرورش این گونه نیاز به منابع روغن از جمله روغن ماهی داشته و استفاده از روغن‌های گیاهی به‌جای روغن ماهی می‌تواند تا حدودی پاسخگوی نیاز صنعت پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد، به‌طوری که جنبه‌های فیزیولوژیک آن مانند تاثیرگذاری بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی مد نظر قرار گیرد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر جایگزینی روغن ماهی جیره غذایی با روغن هسته انگور بر شاخص‌های رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های پپسین و تریپسین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر روی ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اجرا شد. ماهی‌ها به مدت ۶۰ روز در ۱۵ عدد حوضچه سیمانی با حجم تقریبی ۱۰۰۰ لیتر پرورش داده شدند، به‌طوری که در هر حوضچه تعداد ۳۰ عدد ماهی رهاسازی شد. پیش از شروع آزمایش به مدت ۲ هفته با غذای اکستروود تجاری (FFT) تغذیه شدند تا با شرایط تحت آزمایش سازگار شوند. طی دوره آزمایش شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب شامل دمای ۱۵°C±۰/۵، pH برابر با ۸/۲±۰/۱ و اکسیژن محلول ۹/۶±۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر اندازه‌گیری شد.

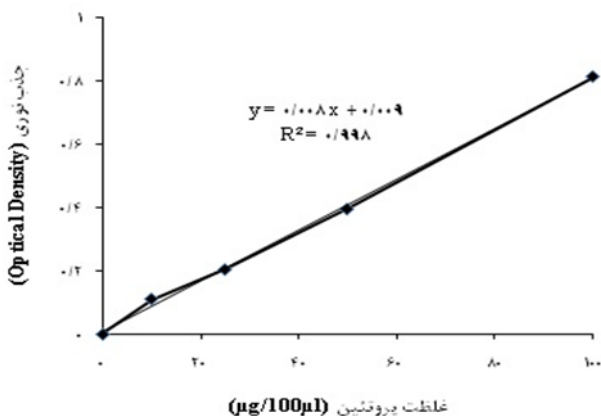
جدول ۱) اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی تهیه‌شده برای تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

جیره‌های آزمایشی	A (۱۰۰٪ روغن ماهی و صفر درصد روغن هسته انگور)	B (۷۵٪ روغن ماهی و ۲۵٪ روغن هسته انگور)	C (۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور)	D (۲۵٪ روغن ماهی و ۷۵٪ روغن هسته انگور)	E (صفر درصد روغن ماهی و ۱۰۰٪ روغن هسته انگور)
اجزای جیره (گرم در کیلوگرم غذا)					
پودر ماهی	۴۶۰	۴۶۰	۴۶۰	۴۶۰	۴۶۰
پودر سویا	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰	۱۴۰
آرد گندم	۸۹/۸	۸۹/۸	۸۹/۸	۸۹/۸	۸۹/۸
پودر گوشت و استخوان	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰	۱۳۰
روغن ماهی	۱۴۰	۱۰۵	۷۰	۳۵	۰
روغن هسته انگور	۰	۳۵	۷۰	۱۰۵	۱۴۰
مکمل معدنی	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
مکمل ویتامینی	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
آنتی‌اکسیدان	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
ضدقارچ	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی (درصد)					
رطوبت	۶/۶۹	۶/۱۱	۶/۲۸	۶/۲۵	۶/۱۶
پروتئین کل	۵۰/۴۵	۵۰/۲۵	۵۰/۴۱	۵۰/۴۵	۵۰/۳۶
چربی کل	۱۸/۰۸	۱۸/۵۳	۱۸/۱۱	۱۸/۵۰	۱۸/۴۱
خاکستر	۸/۰۵	۸/۸۴	۸/۵۱	۸/۵۱	۸/۵۶
کربوهیدرات	۱۶/۷۳	۱۶/۲۷	۱۶/۶۹	۱۶/۲۹	۱۶/۵۱
انرژی ناخالص (کیلوکالری بر گرم)	۴/۰۷	۴/۰۸	۴/۰۹	۴/۱۱	۴/۱۲

از روش آنسون^[40] و از هموگلوبین به عنوان سوبسترا استفاده شد. ابتدا ۱/۲۵ میلی‌لیتر از محلول سوبسترای هموگلوبین که قبلاً در دمای ۳۷°C قرار گرفته بود، با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده با اسیدکلریدریک ۰/۱٪ طبیعی مخلوط شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷°C قرار گرفت. پس از این مدت برای توقف واکنش ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ۵٪ اضافه شد. همچنین به نمونه شاهد ابتدا ۱/۲۵ میلی‌لیتر از محلول سوبسترای هموگلوبین و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ۵٪ و ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده با اسیدکلریدریک ۰/۱٪ طبیعی اضافه شد. سپس لوله‌های نمونه و شاهد برای ۵ دقیقه در دمای ۳۷°C قرار گرفتند. پس از این مدت محتویات لوله‌ها با استفاده از پشم شیشه فیلتر شد و عمل قرایت نوری لوله‌های شاهد و نمونه در طول موج ۲۸۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر انجام شد. یک واحد فعالیت آنزیم پپسین به صورت میکرومول تیروزین که در مدت یک دقیقه از سوبسترای هموگلوبین و به ازای میلی‌گرم پروتئین آزاد می‌شود، محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم تریپسین: برای تعیین فعالیت آنزیم تریپسین از روش *رلاتنگر* و همکاران^[41] و از آلفا-N- بنزوتیل-DL- آرژینین-P- نیتروآنیلید (BAPNA) به عنوان سوبسترا استفاده شد. ابتدا ۲۵ میکرولیتر از نمونه آنزیمی با ۱۲۵۰ میکرولیتر از محلول بافر- سوبسترا (شامل سوبسترای BAPNA در بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس-HCl، pH برابر با ۸، حاوی ۱۰ میلی‌مولار کلسیم کلرید مخلوط شد و برای ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوباسیون شد. سپس برای متوقف کردن واکنش، ۲۵۰ میکرولیتر اسیداستیک ۳۰٪ اضافه و قرایت نوری در ۴۱۰ نانومتر انجام شد. یک واحد فعالیت آنزیم تریپسین به صورت میکرومول پارانیتروانیلین که در مدت یک دقیقه از سوبسترای BAPNA و به ازای میلی‌گرم پروتئین آزاد می‌شود، محاسبه شد. در نمونه شاهد نیز از محلول بافر به جای آنزیم استفاده شد.

سنجش میزان پروتئین محلول: برای تعیین فعالیت اختصاصی آنزیم پپسین و تریپسین، میزان پروتئین محلول با روش *لوری* و همکاران^[42] سنجش شد. در این روش از آلومین سرم گاوی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان استاندارد استفاده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱) منحنی استاندارد BSA با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 20 از طریق آزمون کولموگروف- اسمیرنوف برای بررسی توزیع طبیعی داده‌ها، آزمون لون برای بررسی همگنی واریانس‌ها، آزمون واریانس یک طرفه برای مقایسه شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم پپسین و تریپسین بین

سیانوکوبالامین (۰/۵ میلی‌گرم)، نمک منادیون K₃ (۵ میلی‌گرم)، اینوزیتول (۱۰۰ میلی‌گرم)، پانتوتنیک اسید (۳۰ میلی‌گرم)، فولیک اسید (۲ میلی‌گرم)، بیوتین (۰/۰۶ میلی‌گرم)، ریتینول استات (۲۵ میلی‌گرم)، D3- کوله‌کلسی‌فرول (۵ میلی‌گرم)، آلفا- توکوفرول (۴۰ میلی‌گرم)، آسکوربیک اسید (۵۰۰ میلی‌گرم)، نیاسین (۳۵ میلی‌گرم)، اتوکسی کوئین (۱۵۰ میلی‌گرم) و کریر تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بود (جدول ۱).

میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت با روش AOAC^[37] اندازه‌گیری و بر حسب درصد ماده خشک بود و محاسبه کربوهیدرات بر حسب رابطه (پروتئین+چربی+خاکستر+رطوبت)- ۱۰۰ به دست آمد و محاسبه انرژی ناخالص بر حسب کیلوکالری بر گرم جیره از رابطه حاصل ضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۵/۶۵ کیلوکالری)، چربی (۹/۴۵ کیلوکالری) و کربوهیدرات (۴/۱۱ کیلوکالری) تعیین شد^[36].

شاخص‌های رشد: در پایان دوره آزمایش ماهیان برای تعیین شاخص‌های رشد، زیست‌سنجی شدند. برای این منظور ابتدا ماهیان به مدت ۲۴ ساعت پیش از نمونه برداری قطع غذاهای شدند و سپس با استفاده از عصاره گل میخک با غلظت ۱۰۰ ppm بیهوش شدند. سپس شاخص‌های افزایش وزن بدن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، نسبت کارایی پروتئین (PER)، نسبت کارایی چربی (LER) و نسبت کارایی غذا (FER) با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند^[38]:

$$SGR(\%) = \frac{WG = W_t - W_0}{LnW_t - LnW_0} \times 100$$

W₀: وزن اولیه (گرم)

W_t: وزن نهایی (گرم)

t: تعداد روزهای پرورش است.

$$FCR = \frac{\text{مقدار غذای مصرف شده (گرم)}}{\text{مقدار کلای خشک مصرف شده (گرم)}}$$

$$PER = \frac{\text{پروتئین خام مصرف شده (گرم)}}{\text{مقدار کلای خشک مصرف شده (گرم)}}$$

$$LER = \frac{\text{چربی خام مصرف شده (گرم)}}{\text{مقدار کلای خشک مصرف شده (گرم)}}$$

$$FER = \frac{\text{مقدار کلای خشک مصرف شده (گرم)}}{\text{مقدار کلای خشک مصرف شده (گرم)}}$$

آماده‌سازی نمونه برای سنجش فعالیت آنزیم: پس از اتمام دوره پرورش، ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک بیهوش شدند و روی ظرف حاوی یخ قرار گرفته شدند و کالبدشکافی برای جداسازی اندام‌های حاوی آنزیم صورت گرفت، به طوری که معده برای سنجش آنزیم پپسین و ضمائم پیلوریک و روده برای سنجش آنزیم تریپسین جداسازی شدند. پس از جداسازی، وزن نمونه معده، ضمائم پیلوریک و روده تعیین و به طور جداگانه با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس-HCl، برابر با ۸ (حاوی ۱۰ میلی‌مولار کلسیم کلرید و ۰/۵ میلی‌مولار سدیم کلرید) با نسبت ۱ به ۵۰ ترکیب شد و با استفاده از همزن‌نایزر Hand Held WT130 عمل همگن‌سازی به مدت ۱ دقیقه با ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه در یخ انجام شد. مخلوط حاصل شده برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴°C در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد و محلول رویی به عنوان نمونه حاوی عصاره آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم انتخاب شد^[39].

سنجش فعالیت آنزیم پپسین: برای تعیین فعالیت آنزیم پپسین

تاثیر جایگزینی روغن ماهی با روغن هسته انگور بر شاخص‌های رشد و میزان فعالیت پروتئازی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان ۷۵ سایر جیره‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$). بیشترین میزان نسبت کارآیی پروتئین در جیره C و کمترین آن در جیره E مشاهده شد، ولی بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). بیشترین میزان نسبت کارآیی غذا در جیره‌های C و D و کمترین آن در جیره E مشاهده شد، ولی بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p < 0.05$); جدول ۲).

میزان فعالیت آنزیم پپسین در ماهیان تغذیه‌شده با جیره غذایی C به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر جیره‌های غذایی بود ($p < 0.05$), در حالی که بین سایر جیره‌های غذایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$; نمودار ۲). میزان فعالیت آنزیم تریپسین در ضمایم پیلوریک بالاترین میزان خود را در ماهیان تغذیه‌شده با جیره غذایی C داشت که نسبت به سایر جیره‌های غذایی اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$), در حالی که بین سایر جیره‌های غذایی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$; نمودار ۳). بیشترین میزان فعالیت آنزیم تریپسین روده نیز در ماهیان تغذیه‌شده با جیره غذایی C مشاهده شد که نسبت به جیره غذایی D اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$), ولی میزان فعالیت آن در جیره غذایی C و D با سایر جیره‌های غذایی اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین بین جیره‌های غذایی A, B و E اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$; نمودار ۴). میزان بهینه جایگزینی روغن ماهی به‌وسیله روغن هسته انگور در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر مبنای نرخ رشد ویژه حدود ۵۰٪ (جیره C) برآورد شد (نمودار ۵).

جیره‌های آزمایشی و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها با ۳ تکرار صورت گرفت. همچنین با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism با روش نمودار خط شکسته (broken-line), میزان بهینه روغن هسته انگور در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر مبنای نرخ رشد ویژه تخمین زده شد.

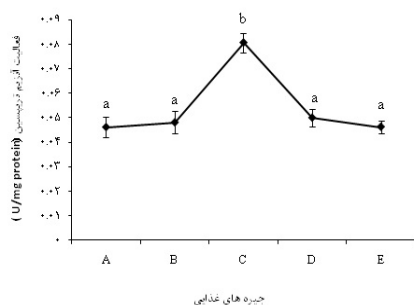
یافته‌ها

وزن متوسط ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در ابتدا 40.00 ± 2.00 گرم بود. بیشترین میزان شاخص‌های وزن نهایی و افزایش وزن بدن در جیره C (حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور) و کمترین آنها در جیره D (حاوی ۲۵٪ روغن ماهی و ۷۵٪ روغن هسته انگور) وجود داشت که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$) ولی بین جیره C با جیره A اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). با افزایش درصد جایگزینی روغن هسته انگور تا ۵۰٪ (جیره C) شاخص نرخ رشد ویژه افزایش یافت، ولی با افزایش جایگزینی تا سطوح ۷۵٪ و ۱۰۰٪ میزان آن کاهش یافت. اختلاف معنی‌داری بین جیره‌های آزمایشی از نظر میزان نرخ رشد ویژه مشاهده نشد ($p > 0.05$). بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی در جیره E (حاوی صفر درصد روغن ماهی و ۱۰۰٪ روغن هسته انگور) و کمترین آن در جیره C بود که اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$), در حالی که با سایر جیره‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). نسبت کارآیی چربی در جیره C بیشترین میزان را نسبت به سایر جیره‌ها نشان داد، به‌طوری که با جیره E اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$), ولی با

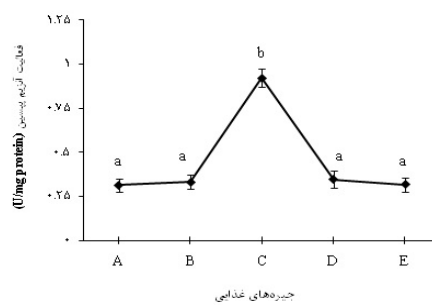
جدول ۲) مقایسه شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی

شاخص‌های رشد	A (۱۰۰٪ روغن ماهی و صفر درصد روغن هسته انگور)	B (۷۵٪ روغن ماهی و ۲۵٪ روغن هسته انگور)	C (۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور)	D (۲۵٪ روغن ماهی و ۷۵٪ روغن هسته انگور)	E (صفر درصد روغن ماهی و ۱۰۰٪ روغن هسته انگور)
وزن اولیه ماهیان (گرم)	40.0 ± 2.0^a	40.0 ± 2.0^a	40.0 ± 2.0^a	40.0 ± 2.0^a	40.0 ± 2.0^a
وزن نهایی ماهیان (گرم)	136.79 ± 7.0^ab	137.11 ± 6.0^ab	146.20 ± 8.0^b	131.00 ± 2.0^a	134.96 ± 5.0^ab
افزایش وزن بدن (گرم)	96.79 ± 7.0^b	97.11 ± 6.0^b	106.20 ± 8.0^c	91.00 ± 2.0^a	94.96 ± 5.0^a
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	2.05 ± 0.9^a	2.06 ± 0.9^a	2.15 ± 0.9^a	1.97 ± 0.3^a	2.02 ± 0.6^a
ضریب تبدیل غذایی	1.44 ± 0.10^ab	1.44 ± 0.17^ab	1.26 ± 0.09^a	1.47 ± 0.06^a	1.54 ± 0.08^b
نسبت کارآیی چربی	5.37 ± 0.41^ab	5.75 ± 0.89^ab	6.20 ± 0.55^b	5.20 ± 0.22^ab	5.13 ± 0.18^a
نسبت کارآیی پروتئین	1.76 ± 0.25^a	1.77 ± 0.18^a	1.91 ± 0.14^a	1.71 ± 0.04^a	1.64 ± 0.09^a
نسبت کارآیی غذا	0.69 ± 0.05^ab	0.69 ± 0.08^ab	0.78 ± 0.06^b	0.63 ± 0.02^a	0.67 ± 0.03^ab

حروف کوچک متفاوت و غیرمشترک در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار است ($p < 0.05$).



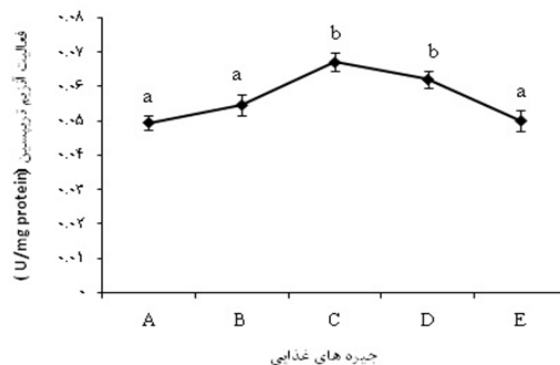
نمودار ۳) فعالیت آنزیم تریپسین در ضمایم پیلوریک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی (حروف کوچک غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم است).



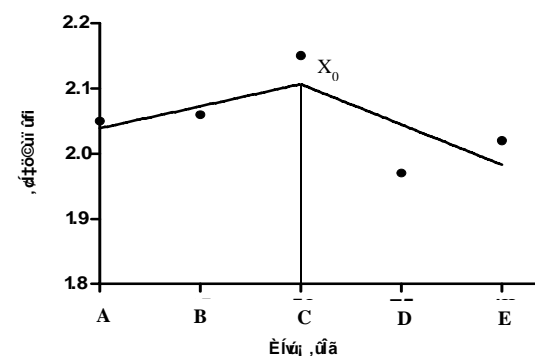
نمودار ۲) فعالیت آنزیم پپسین در معده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی (حروف کوچک غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم است).

رشد ویژه می‌شود [47]. نجدگراسی درباره تاثیر جایگزینی کامل روغن ماهی با روغن‌های گیاهی (روغن پنبه‌دانه، هسته انگور و سویا) در جیره غذایی ماهی انگشت‌قد آزاد دریای خزر [48] (*Salmo trutta caspius*) و گولر و بیلدیز در استفاده از روغن پنبه‌دانه در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان [44] نشان داده‌اند که نرخ رشد ویژه در هیچ‌کدام از جیره‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت، در حالی که بیشترین نرخ رشد ویژه در سطح ۵۰٪ روغن پنبه‌دانه مشاهده شد. در مطالعه لی و همکاران، استفاده از روغن هسته انگور به‌جای روغن ماهی در غذای صدف آبالون، میزان نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری را در سطح ۲۵٪ نشان داد [45]. نتایج مطالعه بویر و همکاران در جایگزینی روغن ماهی با روغن کانولا در جیره غذایی ماهی گیش دم‌زرد (*Seriola lalandi*) نشان داده است که میزان نرخ رشد ویژه بین جیره حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی با جیره حاوی ۵۰٪ روغن کانولا اختلاف معنی‌داری وجود نداشت [15]. بل و همکاران [43] و همچنین سینگ و همکاران [49]، جایگزینی روغن پالم را به‌جای روغن ماهی به ترتیب در جیره‌های غذایی ماهی سالمون (*Salmo salar*) و ماهی سیرینوس مریگال (*Cirrhinus mrigala*) بررسی کرده‌اند و نتایج نشان داده است که با کاربرد روغن پالم در جیره غذایی، میزان ضریب تبدیل غذایی کاهش یافت. استفاده از روغن سویا و روغن پالم به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی نشان داده است که میزان ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان نسبت کارایی غذا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت [47]. جیره حاوی ۵۰٪ روغن هسته انگور بیشترین میزان نسبت کارایی چربی، نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی غذا را نشان داد. جورجانی و همکاران جایگزینی کامل روغن‌های کلزا، سویا و آفتابگردان را با روغن ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه کرده‌اند و میزان نسبت کارایی چربی و غذا در جایگزینی ۱۰۰٪ با روغن سویا و آفتابگردان افزایش یافت ولی اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین میزان نسبت کارایی پروتئین در جایگزینی ۱۰۰٪ با روغن سویا مشاهده شده است، ولی با تیمار ۱۰۰٪ روغن ماهی اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند [50]. بویر و همکاران در مطالعه خود بر جایگزینی روغن ماهی با روغن کانولا در جیره غذایی ماهی گیش دم‌زرد نشان داده‌اند که نسبت کارایی پروتئین با جایگزینی کامل روغن ماهی با روغن کانولا کاهش یافت، ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد [15]. مطالعات نشان داده‌اند که شاخص‌های رشد در ماهیان با توجه به نوع گونه پرورشی، ترکیب جیره غذایی و شرایط محل پرورش تغییر می‌کند [15، 21]. برای مثال در مطالعه بویر و همکاران که جایگزینی روغن ماهی با روغن کانولا در جیره غذایی ماهی گیش دم‌زرد در دمای ۱۸°C و ۲۲°C انجام شده، نتایج نشان داده است که بیشترین نرخ رشد ویژه در دمای ۱۸°C در ماهیان تغذیه‌شده با ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن کانولا بود، در حالی که در دمای ۲۲°C بیشترین میزان نرخ رشد ویژه در جیره حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی گزارش شد [15].

مطالعات نشان داده‌اند در سطوح بالای جایگزینی روغن‌های گیاهی به‌جای روغن ماهی به‌دلیل رفتار تغذیه‌ای گونه پرورشی، عدم تعادل در میزان مواد مغذی و همچنین عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در اقلام غذایی گیاهی عملکرد رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک مانند کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و آنزیم‌های ناحیه نوار مسواکی روده (Brush border)، تغییرات در ریخت‌شناسی روده، ملتهب‌شدن روده و رسوب چربی در کبد و انتروسیت‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد [51]. تفاوت در ترکیب



نمودار ۴) فعالیت آنزیم تریپسین در روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی (حروف کوچک غیرمشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم است).



نمودار ۵) نمودار خط شکسته بین تاثیر جایگزینی روغن ماهی به‌وسیله روغن هسته انگور با نرخ رشد ویژه (X0 نقطه تلاقی دو خط است که حد بهینه جایگزینی جیره C) را نشان می‌دهد.

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر جایگزینی روغن ماهی جیره غذایی با روغن هسته انگور بر شاخص‌های رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های پپسین و تریپسین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. استفاده از روغن‌های گیاهی به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی آبزیان از سوی تعدادی از محققان گزارش شده است [13-15، 17، 43]. در مطالعه حاضر، میزان شاخص‌های وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه با جایگزینی روغن ماهی با روغن هسته انگور تا سطح ۵۰٪ در جیره غذایی ماهیان افزایش یافت. نتایج مطالعه گولر و بیلدیز در استفاده از روغن پنبه‌دانه تا سطح ۵۰٪ به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده است که میانگین وزن نهایی بدن ماهیان تغذیه‌شده با روغن ماهی به‌طور معنی‌داری کمتر از جیره حاوی روغن پنبه‌دانه بوده است [44]. لی و همکاران از روغن هسته انگور به‌جای روغن ماهی در تغذیه صدف آبالون (*Haliotis discus hannai*) استفاده کرده‌اند که براساس نتایج آنها سطوح ۲۵٪ و سپس ۵۰٪ جایگزینی، سبب افزایش معنی‌داری در وزن نهایی صدف شد [45]. استفاده از روغن کانولا (Rapeseed oil)، کتان و گلرنگ به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش معنی‌دار در شاخص افزایش وزن شده است [46]. دلاوریان و همکاران از روغن سویا و پالم به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی ماهی کپور معمولی استفاده کرده‌اند و نتایج نشان داده است که استفاده از روغن گیاهی باعث افزایش معنی‌داری در میزان نرخ

- 2- Murat A, Necdet S, Abdulkadir B, Harun A, Mevlut A. The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of Brown Trout (*Salmo trutta*). *Turk J Fish Aquat Sci*. 2012;12:575-83.
- 3- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). The state of world fisheries and aquaculture [Internet]. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations; 2016 [Cited 2017, 23 March]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>.
- 4- Tacon AGJ, Metian M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trend and future prospects. *Aquaculture*. 2008;285(1-4):146-58.
- 5- Turchini GM, Torstensen BE, Wing-keong Ng. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev Aquac*. 2009;1(1):10-57.
- 6- Peron G, Mittaine JF, Gallic BL. Where do fishmeal and fish oil products come from? An analysis of the conversion ratios in the global fishmeal industry. *Mar Policy*. 2010;34(4):815-20.
- 7- Francis DS, Turchini GM, Jones PL. Dietary lipid source modulates in vivo fatty acid metabolism in the freshwater fish, Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). *J Agric Food Chem*. 2007;55(4):1582-91.
- 8- Olsen Y. Resources for fish feed in future mariculture. *Aquac Environ Interact*. 2011;1:187-200.
- 9- Özşahinoğlu I, Eroldoğan T, Mumoğullarında P, Dike S, Engin K, Yılmaz HA, et al. Partial replacement of fish oil with vegetable oils in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*): Effects on growth performance and fatty acids profile. *Turk J Fish Aquat Sci*. 2013;13:819-25.
- 10- Sargent JR, Tocher DR, Bell JG. The lipids. In: Halver JE, Hardy RW, editors. San Diego: Academic Press; 2002. pp. 181-257.
- 11- Huang SSY, Higgs DA, Brauner CJ, Satoh S. Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*. 2007;271(1-4):420-31.
- 12- Santigosa E, García-Meilán I, Valentín JM, Navarro I, Pérez-Sánchez J, Gallardo MÁ. Plant oils inclusion in high fish meal-substituted diets: Effect on digestion and nutrient absorption in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquac Res*. 2011;42:962-74.
- 13- Bowyer JN, Qin JG, Adams LR, Thomson MJS, Stone DAJ. The response of digestive enzyme activities and gut histology in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) to dietary fish oil substitution at different temperatures. *Aquaculture*. 2012;368-369:19-28.
- 14- Castro C, Couto A, Pérez-Jiménez A, Serra CR, Díaz-Rosales P, Fernandes R, et al. Effects of fish oil replacement by vegetable oil blend on digestive enzymes and tissue histomorphology of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Fish Physiol Biochem*. 2016;42(1):203-17.
- 15- Bowyer JN, Qin JG, Smullen RP, Stone DAJ. Replacement of fish oil by poultry oil and canola oil in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) at optimal and suboptimal temperatures. *Aquaculture*. 2012;356-357:211-22.
- 16- Caballero MJ, Izquierdo MS, Kjørsvik E, Montero D, Socorro J, Fernández AJ, et al. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture*. 2003;225(1-3):325-40.
- 17- Fountoulaki E, Vasilaki A, Hurtado R, Grigorakis K,

اسیدچرب جیره غذایی ممکن است تغییراتی را در زمان حضور در دستگاه گوارش بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی القا کند و همچنین تغییرات در ترکیب اسیدچرب جیره می‌تواند در ترکیب اسیدچرب بدن ماهیان و دستگاه گوارش نیز تاثیرگذار باشد^[14]. مطالعات درباره اثر جایگزینی روغن ماهی با منابع گیاهی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان بسیار اندک است، به‌ویژه هیچ‌گونه اطلاعی در زمینه فعالیت آنزیم پپسین وجود ندارد. در مطالعه حاضر، جایگزینی روغن ماهی تا میزان ۵۰٪ با روغن هسته انگور با توجه به الگوی اسیدچرب متفاوت، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی پپسین و تریپسین شد که با مطالعات برخی محققان و همچنین شاخص‌های رشد اندازه‌گیری‌شده در این تحقیق همخوانی داشت. مطالعه بویور و همکاران نشان داده است که با افزایش جایگزینی روغن ماهی با روغن کانولا در جیره غذایی گیش دمرزد میزان فعالیت آنزیم تریپسین در ضمائم پیلوریک و روده کاهش یافت، ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد^[13]. در مطالعه ریبریو و همکاران در جایگزینی مخلوط روغن‌های کلزا، کتان و پالم تا ۶۰٪ به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی میش‌ماهی (*Argyrosomus regius*) مشخص شده است که میزان فعالیت آنزیم‌های آمینوپپتیداز و فسفاتاز قلیایی کاهش یافت، ولی اختلاف معنی‌داری را با جیره حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی نشان نداد^[51]. در مطالعه کاسترو و همکاران در جایگزینی ۷۰٪ روغن ماهی با مخلوط روغن‌های گیاهی (شامل روغن کلزا، پنبه‌دانه و پالم با نسبت ۳۰:۵۰:۲۰) در جیره غذایی ماهیان انگشت‌قد بس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) مشاهده کرده‌اند که میزان فعالیت آنزیم تریپسین تفاوت معنی‌داری نسبت به ۱۰۰٪ روغن ماهی نشان نداد^[14]. در مطالعه سانتیگوسا و همکاران در استفاده از مخلوط روغن‌های گیاهی (روغن کلزا، کتان و پالم) تا ۶۶٪ به‌جای روغن ماهی در جیره غذایی ماهی *شانک سرطالی*، فعالیت آنزیم پروتئاز قلیایی در ضمائم پیلوریک افزایش یافت. همچنین در الگوی زیموگرام انجام‌شده از سوی این محققان میزان فعالیت آنزیم تریپسین در ضمائم پیلوریک غلظت بالایی را نشان داده است^[12] که با یافته‌های این تحقیق همخوانی داشت. در ماهیان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و زمان عبور هضمی در طول دستگاه گوارش، تحت تاثیر ترکیب و اجزای جیره غذایی بوده و این شرایط می‌تواند بر فرآیند گوارش و جذب تاثیرگذار باشد^[14].

نتیجه‌گیری

جیره غذایی حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن هسته انگور بر بهبود شاخص‌های رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های پپسین و تریپسین ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان موثر است.

تشکر و قدردانی: نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پژوهشکده انگور و کشمش و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ملایر به‌دلیل حمایت مالی برای انجام بخشی از این پژوهش تشکر نمایند.
تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
سهم نویسندگان: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

- 1- Tacon AGJ. Use of fish meal and fish oil in aquaculture: A global perspective. *Aquat Resour Cult Dev*. 2004;1(1):3-14.

- Donovan at high water temperature. *Aquaculture*. 2014;433:348-60.
- 34- Shi C, Cui J, Yin X, Luo Y, Zhou Zh. Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) filets during chilled storage: Effect on lipid and protein oxidation. *J Food Control*. 2014;40:134-9.
- 35- Iranian Fisheries Organization. Annual Report [Internet]. Tehran: Iranian Fisheries Organization; 2013 [Cited 2017, 18 March]. Not Available. [Persian]
- 36- National Research Council, Subcommittee on Fish Nutrition. *Nutrient Requirements of Fish*. Washington, DC: National Academy Press; 1993.
- 37- AOAC, AOAC International. *Official methods of analysis of AOAC International*. 18th Edition. Horwitz W, Latimer G, editors. Gaithersburg: AOAC International; 2006.
- 38- Hamza N, Mhetli M, Ben Khemis I, Cahu Ch, Kestemont P. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture*. 2008;275(1-4):274-82.
- 39- Nayak J, Nair PGV, Ammu K, Mathew S. Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita* Hamilton), oil sardine (*Sardinella longiceps* Linnaeus), mullet (*Liza subviridis* Valenciennes) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagartha* Cuvier). *J Sci Food Agric*. 2003;83(11):1139-42.
- 40- Anson ML. The estimation of Pepsin, Rrypsin, Papain, and Cathepsin with Hemoglobin. *J Gen Physiol*. 1938;22(1):79-89.
- 41- Erlanger BF, Kokowsky N, Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch Biochem Biophys*. 1961;95(2):271-8.
- 42- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75.
- 43- Bell JG, Henderson RJ, Douglas TR, McGhee F, James DR, Porter A, et al. 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. *J Nutr*. 2002;132(2):222-30.
- 44- Güler M, Yildiz M. Effects of dietary fish oil replacement by cottonseed oil on growth performance and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk J Vet Anim Sci*. 2011;35(3):157-67.
- 45- Li M, Mai K, Ai Q, He G, Xu W, Zh W, et al. Effects of dietary grape seed oil and linseed oil on growth, muscle fatty acid composition and expression of putative $\Delta 5$ fatty acyl desaturase in abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture*. 2013;406-407:105-14.
- 46- Jalili R, Agh N, Noori F, Imani A. Effects of replacing fish meal and fish oil with plant sources in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fisheries (Iran J Nat Resour)*. 2013;66(2):119-31. [Persian]
- 47- Delavarian R, Aberoumand A, Ziaeejad S, Javaheri Baboli M. Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oil (soybean oil and palm) on growth performance and survive in the common carp (*Cyprinus carpio*). *J Aquac Dev*. 2014;8(3):43-51. [Persian]
- 48- Najdegerami EH. Total replacement of fish oil by vegetable oil with a return to fish oil in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*) 1: Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Iran Sci Fish J*. 2014;23(1):95-108. [Persian]
- Karacostas I, Nengas I, et al. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture*. 2009;289(3-4):317-26.
- 18- Caballero MJ, Obach A, Rosenlund G, Montero D, Gisvold M, Izquierdo MS. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 2002;214(1-4):253-71.
- 19- Deng J, Mai K, Ai Q, Zhang W, Tan B, Xu W, et al. Alternative protein sources in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel): II. Effects on nutrient digestibility and digestive enzyme activity. *Aquac Res*. 2010;41(6):861-70.
- 20- Nguyen H, Khaolian P, Fukada H, Nakamori T, Furuta H, Masumoto T. Effects of different soybean proteins on lipid digestion and growth of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fish Sci*. 2011;77(3):357-65.
- 21- Glencross B, Hawkins W, Curnow J. Evaluation of canola oils as alternative lipid resources in diets for juvenile red seabream, *Pagrus auratus*. *Aquac Nutr*. 2003;9(5):305-15.
- 22- Morais S, Cahu C, Zambonino-Infante J, Robin J, Rønnestad I, Dinis M, et al. Dietary TAG source and level affect performance and lipase expression in larval sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Lipids*. 2004;39(5):449-58.
- 23- Dong FM, Hardy RW, Higgs DA. Antinutritional factors. In: Stickney RR, editor. *Encyclopedia of aquaculture*. New York: Wiley; 2000. pp. 45-51.
- 24- Movahed S, Ghavami M. Comparative and identification of fatty acid composition of Iranian and importing grape seed oil. *Pajouhesh va Sazandegi*. 2007;20(2):8-16. [Persian]
- 25- Kamel BS, Dawson H, Kakuda Y. Characteristics and composition of melon and grape seeds oils and cakes. *J Am Oil Chem Soc*. 1985;62(5):881-3.
- 26- Crews C, Hough P, Godward J, Brereton P, Lees M, Guiet S, et al. Quantitation of the main constituents of some authentic grape-seed oils of different origin. *J Agric Food Chem*. 2006;54(17):6261-5.
- 27- Choi YS, Choi JH, Han DJ, Kim HY, Lee MA, Kim HW, et al. Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. *Meat Sci*. 2010;84(1):212-8.
- 28- Roberts JS, Kidd DR, Padilla-Zakour O. Drying kinetics of grape seeds. *J Food Eng*. 2008;89(4):460-5.
- 29- Arvanitoyannis IS, Ladas D, Mavromatis A. Potential uses and applications of treated wine waste: A review. *Int J Food Sci Technol*. 2005;41(5):475-87.
- 30- Regost C, Arzel J, Rosenlund G, Kaushik sj. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in Turbot (*Psetta maxima*): 2. Flesh quality properties. *Aquaculture*. 2003;220(1-4):737-47.
- 31- Xia EQ, Deng GF, Guo YJ, Li HB. Biological activities of polyphenols from grapes. *Int J Mol Sci*. 2010;11(2):622-46.
- 32- Perumalla AVS, Hettiarachchy NS. Green tea and grape seed extracts-Potential applications in food safety and quality. *Food Res Int*. 2011;44(4):827-39.
- 33- Lange B, Currie KL, Howarth GS, Stone DAJ. Grape seed extract and dried macroalgae, *Ulva lactuca* Linnaeus improve survival of greenlip abalone, *Haliotis laevigata*

efficiency and muscle fatty acid profile of Rainbow Trout. *J Aquac Dev.* 2014;8(3):13-30. [Persian]

51- Ribeiro L, Moura J, Santos M, Colen R, Rodrigues V, Bandarra N, et al. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture.* 2015;447:116-28.

49- Singh SK, Rather MA, Mandal SC, Das P, Pawar N, Singh YJ, et al. Effects of dietary fish oil substitution with palm oil on growth, survival and muscle proximate composition of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822). *Israeli J Aquac.* 2012;64:809-16.

50- Jorjani S, Ghelichi A, Baghdadi A. Effects of replacing fish oil by vegetable oil on growth performance, feed