University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 10, No. 2, 2024, pages: 37-48
DOI: 10.22124/janb.2024.27397.1242

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of dietary lecithin on antioxidant defense of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* broodstock and offspring

Fatemeh Jafary[1], Naser Agh[1], Farzaneh Noori[1], Abdoljabar Irani[1], Rayhaneh Ravanbakhsh Gavgani[1], Mehdi Imani[2]

1- Department of Biology and Aquaculture, Artemia and Aquaculture Research Institute, Urmia University, Urmia, West Azerbaijan, Iran

2- Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, West Azerbaijan, Iran

Received 03 April 2024 Revised 13 June 2024 Accepted 14 June 2024

KEYWORDS

Soybean lecithin

Oncorhynchus mykiss

broodstock

Antioxidative enzymes

Offspring

ABSTRACT

Introduction: Soybean lecithin (SBL) is usually added to aquafeed as a phospholipids source because aquatic animals including crustaceans and fish cannot synthesize phospholipids. Hence, this study aimed to evaluate the effects of different levels of dietary soybean lecithin (a source of phospholipid) on the antioxidant defense system of female and male broodstock, ovum, eggs and the first stage swimming larvae of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.

Materials and methods: For this purpose, fish were fed four isoproteic and isolipidic diets containing graded levels of soybean lecithin (SBL) as a source of phospholipid (including 0, 2, 4 and 6%) for 190 days. At the end of the experiment, the samples of serum, ovum, egg and larvae were collected for antioxidant activity of CAT, SOD and MDA analyses.

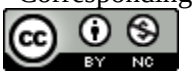
Results and discussion: The results obtained showed that 4-6% dietary SBL supplementation significantly increased the antioxidant enzymes activity, including catalase and superoxide dismutase in the fish blood serum, eggs, and larvae compared to the control. On the other hand, MDA level in the control group was higher than in the other treatments ($p<0.05$). Thus, considering the data on improved the activity of antioxidant enzymes, it is recommended to include SBL at 4-6% in rainbow trout broodstock diet.

Conclusion: It is concluded that an optimal lecithin content in the diet of rainbow trout broodstock can lead to improving quality of ova and larval immune system.

Funding: This work was supported by the Office of Vice-Chancellor for Research and the Artemia and Aquaculture Research Institute of Urmia

University in the framework of the postdoctoral research of Dr. Fatemeh Jafari (grant number 98/A/007).

*Corresponding author: f.noori@urmia.ac.ir



دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال دهم، شماره دوم، تیر ۱۴۰۳، صفحات ۴۸-۳۷

DOI: 10.22124/janb.2024.27397.1242

"مقاله پژوهشی"

تأثیر سطوح مختلف لسیتین سویای جیره بر دفاع ضد اکسایشی ماهیان مولد قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و نتاج

فاطمه جعفری[۱]، ناصر آق[۱]، فرزانه نوری[۱*]، عبدالجبار ایرانی[۱]، ریحانه روانبخش گاوگانی[۱]، مهدی ایمانی[۲]

۱- پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی

۲- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۵ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۵

چکیده

آبزیان از جمله سخت پوستان و ماهیان قادر به ساخت فسفولیپید به میزان کافی نیستند. از این رو لسیتین به عنوان منبع فسفولیپید باید به جیره آنها اضافه شود. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی سطوح مختلف لسیتین جیره (فسفولیپید) بر دفاع ضد اکسایشی در مولد ماده قزل آلای رنگین کمان و تخمک، تخم لقاح یافته و لارو در مرحله شنا بود. برای این منظور مولدهای قزل آلا با ۴ تیمار غذایی حاوی پروتئین و چربی یکسان و سطوح مختلف لسیتین سویا به عنوان منبع فسفولیپید (شامل صفر، ۲، ۴ و ۶٪) به مدت ۱۹۰ روز تغذیه شدند. در پایان آزمایش از سرم مولدهای ماده و نر، همچنین، از تخمک، تخم لقاح یافته و آلوین مرحله اول شنا نمونه‌برداری و آنزیم‌های ضد اکسایشی شامل کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و همچنین مالون دی آلدئید در نمونه ها اندازه گیری شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که مقادیر کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در سرم، تخم و لارو ماهیان تغذیه شده با لسیتین ۴ و ۶٪ افزایش یافت و تفاوت معنی دار با گروه شاهد داشتند. در مقابل، مقدار مالون دی‌آلدئید در گروه شاهد نسبت به گروه های دیگر بالاتر بود ($p<0/05$). نتایج این مطالعه نشان داد میزان بهینه لسیتین در جیره مولدین ماده قزل آلا در محدوده ۶-۴٪ می‌تواند باعث بهبود کیفی تخمک و افزایش دستگاه ایمنی در آلوین‌ها شود.

کلمات کلیدی

لسیتین سویا

مولدین قزل آلای رنگین کمان

آنزیم های ضد اکسایشی

نتاج

نویسنده مسئول: f.noori@urmia.ac.ir

مقدمه

لارو ماهیان همانند دیگر مهره داران وابسته به ایمنی مادری هستند. ایمنی مادری در مراحل اولیه زندگی اهمیت زیادی دارد زیرا لاروهای ماهیان کوچکاند و توانایی محدودی برای تکامل و ساخت پادتن‌های ویژه تا هفته‌ها بعد از تخم‌گشایی دارند (Lovoll et al. 2006). همچنین، تغذیه مولدها در عملکرد تولیدمثل و کیفیت لارو ماهیان تأثیر می‌گذارد. در طی تکامل تخمدان، مواد غذایی اندوخته شده مادرانه به اووسیت ها انتقال پیدا می کند. اووسیت ها نیازهای تغذیه‌ای برای رشد و تکامل جنین تا مرحله لارو حامل کیسه زرده را تا زمان شروع تغذیه خارجی فراهم می‌کنند. این مراحل در قزل‌آلای رنگین کمان حائز اهمیت است، چون گونه‌ای با تخم‌های بزرگ و دوره انکوباسیون طولانی است. بنابراین، محتوای زرده نقش مهمی را در تعیین این قابلیت‌ها ایفا می‌کند (Fontagne-Dichrry et al. 2014).

در بین ترکیبات غذایی شناخته شده مؤثر بر تولیدمثل، تکامل، ایمنی و سلامت مولد و لارو ماهیان، لیپیدها فواید خاصی دارند، زیرا منبع انرژی برای سوخت وساز بدن ماهیان هستند (Sargent et al. 2002). محدود بودن منابع روغن ماهی باعث شده است که روغن های گیاهی در رژیم غذایی ماهیان تجاری استفاده شوند. یکی از جایگزین‌شونده‌ها لسیتین سویاست. همچنین، آبزیان از جمله سخت پوستان و ماهیان قادر به ساخت فسفولیپید به میزان کافی نیستند. از این رو، لسیتین به عنوان منبع فسفولیپید باید به جیره آنها اضافه شود (Amer et al. 2023). لسیتین حاوی اسیدهای چرب، فسفات و کولین است که سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها و چربی را تسهیل می‌کند (Cahu et al. 2014). مطالعات نشان داده است که فسفولیپیدها باعث کاهش از دست رفتن مواد مغذی محلول در آب، ایجاد خاصیت ضد اکسایشی، افزایش هضم چربی ها در بچه ماهیان به‌دلیل عدم تکامل دستگاه گوارش، انتقال چربی‌ها از یاخته‌های روده با دخالت در تشکیل لیپوپروتئین‌ها و کاهش ناهنجاری‌های اسکلتی می‌شوند (Tocher et al. 2008). همچنین، جیره حاوی فسفولیپید، مقاومت در برابر استرس را افزایش داده و واکنش‌های ضد اکسایشی را تحریک کرده و از اندام‌ها در برابر صدمات اکسیداتیو حفاظت می‌کند (Gao et al. 2014). بر اساس تحقیقات انجام شده، اضافه کردن فسفاتیدیل‌کولین در جیره ماهی مولد عملکرد تولیدمثلی را افزایش می‌دهد (Koven et al. 1998). اهمیت فسفاتیدیل کولین خاصیت ضد اکسایشی آن است و اکسایش لیپیدها را کاهش می‌دهد (Koven et al. 1998). Wu و همکاران (۲۰۰۷) اثرات سطوح مختلف فسفولیپید و اسیدهای چرب HUFA را بر عملکرد تولیدمثل و کیفیت تخم مولد خرچنگ چینی مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که جیره مولدهایی که واجد HUFA بیشتر و فسفولیپید کمتر بود، نسبت به جیره‌ای که میزان HUFA کمتر و فسفولیپید بیشتر بود، تخم آنها میزان HUFA کمتر و فسفولیپید بیشتری داشت. بنابراین، این افراد پیشنهاد دادند که فسفولیپیدها باعث فرایند انتقال چربی‌ها و افزایش کارایی جذب HUFA می‌شوند. ترکیبات ضد اکسایشی با وزن مولکولی پایین در مراحل اولیه رشد و تکامل لاروی از جنین محافظت می‌کنند؛ تا زمانی که بیان ژن آنزیم‌های ضداکسایش افزایش یابد (Nelis et al. 1997). طبق گزارش Ciji و همکاران (۲۰۲۱)، افزودن لسیتین سویا به خوراک ماهی چانای طلایی (*Tor putitora*) باعث بهبود دفاع ضد اکسایشی شده ولی تأثیری بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های ایمنی نداشت. با وجود این، نتایج تحقیقات محققان چینی نشان داد که افزودن لسیتین سویا به خوراک ماهی جوان باس دهان بزرگ (*Micropterus salmonids*) باعث افزایش رشد، فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی و دستگاه ایمنی می‌شود (Wu et al. 2023). اطلاع از میزان بیان ژن آنزیم‌های ضد اکسایشی در مراحل اولیه جنینی ماهی و همچنین، دانستن مکانیسم‌های حفاظتی در طی چرخه زندگی موجودات زنده بسیار با اهمیت است، زیرا می‌تواند به تکامل و بقای نتاج در پرورش کمک کند و بعضی مکانیسم‌های ذاتی را برای غالب آمدن بر این تغییرات نشان دهد. از طرف دیگر، دفاع ضد اکسایشی در موقعیت‌های تنش‌زای شدید و در طی پیشرفت جنینی ممکن است برای تأمین حفاظت یاخته ای تقویت شود (Dandapat et al. 2003; Rueda-Jasso et al. 2004).

آنزیم‌های ضد اکسایشی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان ضد اکسایش اصلی در طی دوره جنینی ماهی در نظر گرفته می‌شوند و نقش حفاظتی را در برابر

رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کنند؛ چون ماهی در این مرحله به شدت تحت تأثیر استرس‌های محیطی مانند تغییرات دما، کمبود اکسیژن و آلودگی قرار داشته و به شدت آسیب پذیر است (Aceto et al. 1994). لذا اطلاع از فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در این مرحله ضروری است. از سوی دیگر، اطلاعات اندکی درباره تأثیر لسیتین در جیره مولد و تأثیر بر روی فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و همچنین مالون دی‌آلدئید در مراحل جنینی و اولیه وجود دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تأثیر سطوح مختلف لسیتین در جیره مولدین قزل آلای رنگین کمان بر تکامل دفاع ضد اکسایشی در مولد ماده و نتاج است.

مواد و روش ها

روش پرورش

برای انجام آزمایش ماهیان پیش مولد قزل آلای رنگین کمان با میانگین سنی ۲ سال از یک مرکز تکثیر قزل آلا در آذربایجان غربی خریداری و به سالن تکثیر و پرورش پژوهشکده آرتمیا، دانشگاه ارومیه منتقل شدند و پس از یک هفته سازگاری به طور تصادفی در ۸ حوضچه پلی‌اتیلن ۱۰۰۰ لیتری در فضای سرپوشیده مجهز به دستگاه هوادهی توزیع شدند. برای انجام این آزمایش، چهار تیمار مختلف غذایی با دو تکرار در نظر گرفته شد که هر تکرار شامل ۸ قطعه مولد نر و ماده بود. آب ورودی به میزان ۱ لیتر در دقیقه، دما، اکسیژن محلول و pH به ترتیب در محدوده ۰/۵°C ± ۱۷/۹، ۰/۵ ± ۸/۴ میلی گرم در لیتر و ۰/۱۱ ± ۸/۰۲ تنظیم شد.

فرموله کردن جیره‌های آزمایشی

در این تحقیق ۴ جیره آزمایشی طراحی شد (جدول ۱). پودر ماهی چربی زدایی شده و گلوتن گندم منبع اصلی تأمین پروتئین جیره و منبع چربی شامل لسیتین سویا، روغن ماهی و روغن ذرت بود. از لسیتین سویا به عنوان منبع فسفولیپید در سطوح (صفر، ۲، ۴ و ۶٪) و برای بالانس چربی جیره از روغن ذرت استفاده شد. پس از تنظیم جیره‌ها اجزای غذایی با هم ترکیب و با کمک چرخ گوشت صنعتی پلت‌های با قطر ۵ میلی‌متر تهیه شد. رشته‌های ایجاد شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده (Agh et al. 2019) و به صورت دستی متناسب با دهان ماهی پلت شدند و در ظرف‌های پلاستیکی درب‌دار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Agh et al. 2019). غذادهی هم بر اساس ۱٪ وزن بدن و دو بار در روز صبح و عصر انجام شد. تعیین ترکیب شیمیایی اجزای غذایی به روش (AOAC, 2005) و همکاران ۱۹۷۵ و ترکیب اسیدهای چرب خوراک به روش Lepage و Roy (۱۹۸۴) انجام شد.

جدول ۱ ترکیب اجزای جیره غذایی آزمایشی (٪)

Table 1 Composition of experimental diet components (%)

	Different levels of lecithin (%)			
Gradients	0	2	4	6
Lean fish powder (kilka)[a]	30	30	30	30
Wheat gluten	15	15	15	15
Wheat flour	21	21	21	21
Corn gluten	5	5	5	5
Soy lecithin[b]	0	2	4	6
Corn oil	13.5	11.5	9.5	7.5
Fish oil (Kilka)[a]	25	25	25	25
Methionine	2	2	2	2
Lysine	2	2	2	2
Betaine	1	1	1	1
Vitamin supplement[a]	2	2	2	2
Mineral supplement[a]	2	2	2	2
Yeast	2	2	2	2
Phosphate dicalcium	2	2	2	2
Vitamin E	0.06	0.06	0.06	0.06
Protein (%)	46.76	46.54	46.91	46.64

Lipid (%)	16.82	16.76	16.39	16.78
Ash (%)	9.14	9.23	9.81	9.59
Energy (J/kg)	2129.11	2119.77	2100.52	2109.43

a Pars Daneh Savadkooh Company, Savadkooh, Mazandaran, Iran
b Saba Company, Tehran, Iran a Vitamin supplement composition: Vitamin A 800,000, Vitamin D3 300,000, Vitamin E 2500, Vitamin K 1000, Vitamin B1 1200, Vitamin B2 1200, Vitamin B3 2400, Vitamin B5 3500, Vitamin B6 1300, Vitamin B9 600, Vitamin B12 750 micrograms, Vitamin C 35,000 and Vitamin H2 600 (mg or IU/kg food)
a Mineral supplement composition: Magnesium 6400, Copper 2000, Iron 11000, Zinc 7000, Selenium 100, Iodine 300, Cobalt 50 (mg/kg of food)

جدول ۲ پروفیل اسیدهای چرب جیره آزمایشی مولدین قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف لسیتین(٪)

Table 2 Fatty acid composition (mg/g total fatty acid) of experimental rainbow trout broodstock diet with different levels of supplemented soy lecithin (SBL; n=3)

Fatty acid	Experimental diets containing different levels of SBL (%)			
	Control (0)	2	4	6
C14:0	0.96	0.93	0.98	1.16
C16:0	17.99	19.12	26.17	26.25
C18:0	3.46	3.66	5.07	5.36
C20: 0	0.46	0.41	0.64	0.51
C24:0	0.35	0.36	0.31	0.35
C22:0	0.19	0.29	0.33	0.33
SFA	22.46	24.78	33.51	33.97
C16:1n7	1.75	1.90	2.05	1.36
C18:1n9	42.01	40.48	51.94	47.29
C18: 1n7	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:1n9	0.28	0.29	0.36	0.39
C22:1n9	0.09	0.00	0.03	0.06
C24:1n9	0.33	0.34	0.48	0.57
MUFA	44.46	43.01	54.86	49.67
C18:2n6	60.84	62.04	75.69	71.93
C20:2n6	0.09	0.19	0.13	0.18
C20: 4n6	0.27	0.27	0.25	0.87
n-6 PUFA	61.21	62.49	76.08	72.98
C18:3n3	2.50	2.45	3.53	3.80
C20:5n3	2.09	2.26	2.34	2.86
C22:6n3	4.84	5.91	6.12	8.72
n-3 PUFA	9.43	10.61	12.00	15.37

تکثیر ماهیان و استحصال تخمک

ماهیان مولد بعد از شش ماه تغذیه هر ۷ روز یکبار به لحاظ رسیدگی تخمک و اسپرم ارزیابی شدند. ماهیان آماده تکثیر از بقیه جدا شده و قطع غذا دهی انجام شد و به فاصله ۲-۳ روز تکثیر شدند. به این منظور ماهیان در درون محلول عصاره گل میخک ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بیهوش و به روش دستی و خشک اقدام به تخمکشی و اسپرم‌گیری کرده و لقاح اسپرم و تخمک در درون ظروف کوچک پلاستیکی تمیز انجام شد. سپس، تخم‌های لقاح یافته پس از جذب کامل آب و سفت شدن به داخل تراف‌ها انتقال یافت. نمونه برداری در زمان های صفر (تخم لقاح نیافته)، ۴۸ ساعت بعد از لقاح، تخم چشم زده، و آلوین قبل از شروع اولین تغذیه فعال انجام شد. در هر زمان نمونه برداری تعداد ۱۰ تخم از هر تکرار (۳۰ تخم از هر تیمار) به طور تصادفی انتخاب و برداشت شد. نمونه ها در ازت مایع فریز و تا زمان سنجش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش آنزیم‌های ضد

اکسایشی در سرم مولدهای ماده بعد از بیهوشی اقدام به خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان شد. نمونه خون ماهیان بدون هپارین به مدت ۲ ساعت در دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و مایع رویی که همان سرم بود، جدا و درون میکروتیوب ریخته، و تا زمان سنجش درون فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Siwicki et al. 1994).

آماده‌سازی تخم و لارو جهت سنجش آنزیم‌های ضد اکسایشی و مالون دی آلدهید (MDA)

یک گرم از نمونه های تخم و لارو در بافر فسفات نمکی (PBS) ۵۰ میلی مولار حاوی EDTA (اتیلن دی آمین ترا استیک اسید) ۱ میلی مولار (pH = 7.5) به نسبت ۱ به ۵ در مجاورت یخ هموژن و با دور rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی حاصله توسط سمپلر جدا، و برای سنجش شاخص های ضد اکسایشی استفاده شد. آنزیم کاتالاز (CAT) با روش Aebi (۱۹۸۴)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) با روش (Kono, 1978) و مالون دی آلدهید هم به روش (Heath and Packer, 1968) سنجیده شد.

سنجش‌های آماری

نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون آماری توکی در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

فعالیت شاخص‌های ضد اکسایشی و MDA در سرم مولدهای (ماده و نر) قزل آلای رنگین کمان

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در هر دو گروه (ماده و نر) تیمار ۴ و ۶٪ لسیتین بالا بود که با گروه شاهد و ۲٪ لسیتین اختلاف معنی‌دار داشت. همچنین میزان کاتالاز در تیمار ۶٪ نسبت به گروه شاهد و دیگر سطوح افزایش داشت. در مقابل، میزان مالون دی آلدهید با افزایش سطوح مختلف لسیتین کاهش یافت که بیشترین مقدار در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۶٪ مشاهده شد ($p<0/05$؛ جدول ۳).

جدول ۳ شاخص‌های ضداکسایشی و MDA در سرم مولدین ماده قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف لسیتین

Table 3 Serum antioxidant and MDA levels in broodstock fed diets with different levels of soybean lecithin

		Dietary soybean lecithin levels (%)			
		Control (0)	2	4	6
Female	SOD (U/mg protein)	0.15 ± 0.01^{a}	0.21 ± 0.02^{ab}	0.26 ± 0.01^{c}	0.23 ± 0.02^{bc}
	CAT (U/mg protein)	40.77 ± 3.89^{a}	44.53 ± 3.32^{a}	54.00 ± 5.15^{b}	92.53 ± 6.07^{c}
	MDA (nmol/g)	5.33 ± 0.22^{b}	4.42 ± 0.27^{ab}	3.57 ± 0.34^{a}	3.71 ± 0.11^{a}
Male	SOD (U/mg protein)	1.14 ± 0.01^{a}	1.8 ± 0.02^{a}	2.24 ± 0.02^{b}	2.54 ± 0.01^{b}
	CAT (U/mg protein)	9.31 ± 1.13^{a}	15.38 ± 1.7^{b}	17.60 ± 2.19^{b}	23.94 ± 0.97^{c}
	MDA (nmol/g)	2.9 ± 0.14^{b}	2.42 ± 0.17^{ab}	1.53 ± 0.14^{a}	1.71 ± 0.11^{a}

Values are means ± SEM from triplicate groups. Means in each row with different letters are significantly different (ANOVA, $p<0.05$). Absence of letters indicates no significant difference between treatments.

فعالیت شاخص‌های ضد اکسایشی و MDA در زمان‌های مختلف تخم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

طبق جدول ۴ بیشترین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در زمان های مختلف (تخم لقاح نیافته، ۴۸ ساعت بعد از لقاح، تخم چشم زده و لارو) در تیمارهای تغذیه شده با لسیتین سویا مشاهد شد که با گروه شاهد اختلاف معنی دار داشت ($p<0/05$). همچنین، میزان فعالیت کاتالاز نیز در زمان‌های مختلف در تیمار ۶٪ بیشترین مقدار را نشان داد که با گروه شاهد و تیمار ۲٪ اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) داشت. میزان کاتالاز در تیمار۴ و ۶٪ نسبت به گروه شاهد و ۲٪ افزایش یافت و

اختلاف بین تیمارهای مذکور معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). در مقابل میزان MDA با افزایش سطوح مختلف لسیتین در زمان‌های مختلف کاهش یافت که بیشترین مقدار در تیمار ۲٪ و شاهد وکمترین مقدار آن در تیمار ۴٪ مشاهده شد (p<۰/۰۵).

جدول ۴ شاخص‌های ضد اکسایشی در تخم لقاح نیافته، ۴۸ ساعت بعد از لقاح، تخم چشم زده و لارو قبل از تغذیه خارجی در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

Table 4 Antioxidant parameters and MDA levels in unfertilized, fertilized, eyed eggs after feeding broodstock with different levels of soybean lecithin

		Dietary soybean lecithin levels (%)			
		Control (0)	2	4	6
Unfertilized eggs	SOD (U/mg protein)	0.17 ± 0.02^{a}	0.21 ± 0.01^{ab}	0.23 ± 0.01 ^{b}	0.21± 0.02^{ab}
	CAT (U/mg protein)	38.22 ± 4.41^{a}	36.29 ± 3.29^{a}	46.07 ± 4.65^{ab}	80.69 ± 13.59^{b}
	MDA (nmol/g)	13.38 ± 0.83^{b}	10.83 ± 0.45^{a}	10. 80 ±0.44 ^{a}	11.13± 0.35^{a}
48 h fertilized eggs	SOD (U/mg protein)	0.14 ± 0.01^{a}	0.16± 0.02^{a}	0.24 ± 0.03 ^{b}	0.22 ± 0.02^{b}
	CAT (U/mg protein)	8.49 ± 1.23^{a}	9.15 ± 0.81^{a}	21.39 ± 3.64 ^{b}	19.47 ± 1.11^{b}
	MDA (nmol/g)	19.54 ± 0.65^{b}	19.51 ± 1.39^{ab}	12.01 ± 1.24 ^{a}	10.93 ± 0.36^{a}
Eyed eggs	SOD (U/mg protein)	0.23 ± 0.05^{a}	0.25 ± 0.01^{a}	0.38 ± 0.02 ^{b}	0.35 ± 0.04^{b}
	CAT (U/mg protein)	12.45 ± 1.23^{a}	15.46 ± 0.73^{a}	28.16 ± 5.42 ^{b}	40.92 ± 5.07^{b}
	MDA (nmol/g)	13.22 ± 0.69^{b}	10.77 ± 1.22^{ab}	7.37 ± 0.61 ^{a}	8.73 ± 0.65^{a}
Whole fry	SOD (U/mg protein)	0.85 ± 0.11^{a}	1.16 ± 0.03^{b}	1.27 ± 0.17 ^{b}	1.25 ± 0.11^{b}
	CAT (U/mg protein)	78.15 ± 9.45^{a}	93.44± 10.01^{ab}	100.75 ± 7.51^{bc}	120.62 ± 4.49^{c}
	MDA (nmol/g)	11.19 ± 0.33^{b}	7.96 ± 1.09^{ab}	5. 41 ± 0.89^{a}	6.41 ± 0.67^{a}

Values are mean ± SEM from triplicate groups. Means in each row with different letters are significantly different (p<0.05).

بحث

تغذیه نقش مهمی در رشد، تولیدمثل، ایمنی و وضعیت کلی سلامت هر موجودی دارد. تغذیه مولد قبل از لقاح برای اطمینان از تولد لارو زنده و سالم در یک دوره کامل ضروری است. تغذیه مولدها اغلب روی تکامل گنادی، باروری، تخم و کیفیت تخم تأثیر می‌گذارد. در این مطالعه، تأثیر سطوح مختلف لسیتین به عنوان منبع فسفولیپید در جیره مولدهای قزل آلای رنگین کمان مطالعه شد و یافته‌های کلیدی در مورد فعالیت ضد اکسایشی مولد ماده، تخم لقاح نیافته، ۴۸ ساعت بعد از لقاح، تخم چشم زده و مرحله لاروی (شنای آزاد قبل از شروع تغذیه فعال) ارائه شده است.

در موجودات زنده دستگاه دفاعی ضداکسایشی با ماهیت آنزیمی (مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و غیر آنزیمی (مانند ویتامین‌های E و C) گسترش یافته تا از آنها در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از عوامل متابولیک و محیطی محافظت کند (Ighodaro and Akinloye, 2018). در مطالعه حاضر، میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در سرم مولدهایی که از سطوح مختلف لسیتین تغذیه شده بودند، بالاتر از میزان آن در گروه شاهد بود. همچنین، در این مطالعه نسبت میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تخم و لاروهایی که مولدهای آنها از جیره حاوی لسیتین تغذیه کرده بودند، بیشتر بود. نتایج حاصل از این تحقیق به خوبی نقش تغذیه مادر و انتقال آن به فرزندان را تأیید می‌کند. در همین راستا، Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر جلبک هماتوکوکوس را بر عملکرد تولیدمثلی و کیفیت تخم ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی، و بیان کردند که تغذیه مولد ماده بر کیفیت تخم تأثیر مثبت داشته و باعث بهبود کیفیت تخم می‌شود. همچنین بیان داشتند که دستگاه ضد اکسایشی که در کبد و اندام های دیگر ماهیان بالغ وجود دارند، در دوره جنینی و لاروی ماهیان تکامل یافته نیستند و دستگاه دفاعی ضد اکسایشی در این دوره وابسته به دستگاه دفاعی مادر است. مطالعات نشان داد که در قزل آلای رنگین کمان مواد مغذی ذخیره شده در تخمک کاملاً تحت تأثیر جیره غذایی مولدها قرار می‌گیرد (Fontagne-Dichary et al. 2017; Cleveland et al. 2020). معمولاً سطوح بالای فعالیت کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بیانگر افزایش دستگاه دفاعی ضد اکسایشی در ماهی است (Yang et

al. 2010). همچنین بیان شده که لسیتین با ضد اکسیدان‌های دیگر مانند ویتامین E عمل هم‌افزایی داشته و نقش مهمی را در حفاظت از اندام‌ها در برابر پراکسیده شدن چربی‌ها و رادیکال‌های آزاد ایفا می‌کند (Meng et al. 2018). در بررسی حاضر میزان فعالیت کاتالاز و سوپر اکسیددیسموتاز با افزایش لسیتین در جیره تا ۴٪ افزایش پیدا کرد. نتایج مشابه با این مطالعه توسط افراد دیگر گزارش شده است (Li et al. 2015; Chen et al. 2015; Cai et al. 2016; Lin et al. 2018; Jafari et al. 2021). طبق گزارش Ciji و همکاران(۲۰۲۱)، افزودن لسیتین سویا به میزان ۱ و ۲٪ به خوراک ماهی طلایی انگشت قد شاخص‌های دفاع ضداکسایشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، ولی تأثیری بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های ایمنی نداشت، در حالی‌که در تحقیق حاضر ۲٪ لسیتین تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. لذا به نظر می‌رسد غلظت مؤثر لسیتین در مراحل مختلف رشد و در گونه‌های مختلف ماهی می‌تواند متفاوت باشد. نتایج تحقیقات محققان چینی (Wu et al. 2023) نشان داد که افزودن ۴٪ لسیتین سویا به خوراک ماهی جوان باس دهان بزرگ باعث افزایش رشد، فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی و دستگاه ایمنی می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. بنابراین، افزودن فسفولیپید به جیره می‌تواند مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو را افزایش داده و از اندام‌ها در برابر صدمات اکسیداتیو محافظت کند (Zhao et al. 2013; Gao et al. 2014).

مالون‌دی‌آلدئید یکی از متابولیت‌های مشتق شده از پراکسیده شدن چربی و به عنوان یک شاخص زیستی اصلی صدمات استرس اکسیداتیو شناخته شده است (Del Rio et al. 2005) که غلظت آن رابطه مستقیم با صدمات وارده به یاخته در طی القای استرس اکسیداتیو داشته و می تواند در ارزیابی این آسیب‌ها کمک شایانی کند (Doba et al. 1985). در مطالعه حاضر، با افزایش سطوح لسیتین (۴ و ۶٪) میزان مالون‌دی‌آلدئید به طور معنی‌دار کاهش یافت. بنابراین، می‌توان گفت که میزان صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو در ماهیانی که از جیره بدون فسفولیپید تغذیه شده بودند، بیشتر بود و این یافته‌ها با یافته‌های Li و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. این افراد گزارش کردند که میزان مالون دی آلدئید در تاس ماهی روسی (*Acipenser gueldenstaedtii*) که از جیره حاوی روغن ماهی تغذیه شده بودند، نسبت به ماهیانی که از منابع روغن گیاهی مانند سویا تغذیه شده بودند، بالاتر بود و بیان داشتند که تجمع مالون‌دی‌آلدئید با ترکیبات اسید چرب در ارتباط است.

به طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از لسیتین سویا در سطوح ۴ تا ۶٪ در جیره مولدهای قزل‌آلا صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش داده و از تخم ها و جنین در طی دوره انکوباسیون محافظت می‌کند. همچنین افزایش کیفیت غذایی تخمک برای رشد بهینه جنین و افزایش دستگاه دفاع ضداکسایشی در لاروها می‌تواند به طور بالقوه از طریق راهبردهای تغذیه‌ای مولد حاصل شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه و پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری برای اجرای این پروژه که در قالب برنامه پسادکترای دکتر فاطمه جعفری (شماره A/۰۰۷/۹۸) انجام شد قدردانی می کنند. همچنین، از زحمات جناب آقای مهندس سعید حاجی‌نژاد در طی پرورش ماهیان نیز تشکر می شود.

منابع

Aebi, H. 1974. Catalase. In: *Bergmayer*, H.U. Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York, 1248 p.

Agh, N., Jafari, F., Jalili, R., Noori, F., Mozanzadeh, M.T. 2019. Replacing dietary fish oil with vegetable oil blends in female rainbow trout brood stock does not affect breeding quality.

Aceto, A., Amicarelli, F., Sacchetta, P., Dragani, B., Bucciarelli, T., Masciocco, L., Ilio, C.D. 1994. Developmental aspects of detoxifying enzymes in fish (*Salmo iridaeus*). Free Radical Research 21: 285-294. doi: 10.3109/10715769409056581.

Lipids 54: 149-161. doi: 10.1002/lipd.12138.

Amer, A.R., Eweedah, N.M., Amer, A.A., Gewaily, M.S., Younis, N.A., Ahmed, H.A., Dawood, M.A. 2023. Dietary effect of soybean lecithin on the growth performance, digestive enzyme activity, blood biomarkers, and antioxidative status of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. Plos one 18: e0291954. doi: 10.1371/journal.pone.0291954.

AOAC. 2005. Official Method 950.89. Hurwitz, W., Latimer, G. (Eds). Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.

Cai, Z., Feng, S., Xiang, X., Mai, K., Ai, Q. 2016. Effects of dietary phospholipid on lipase activity, antioxidant capacity and lipid metabolism-related gene expression in large yellow croaker larvae (*Larimichthys crocea*). Comparative Biochemistry and Physiology 201B: 46-52. doi: 10.1016/j.cbpb.2016.06.007.

Chen, Y.P., Jiang, W.D., Liu, Y., Jiang, J., Wu, P., Zhao, J., Kuang, S.Y., Tang, L., Tang, W.N., Zhang, Y.A. 2015. Exogenous phospholipids supplementation improves growth and modulates immune response and physical barrier referring to NF-κB, TOR, MLCK and Nrf2 signaling factors in the intestine of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Fish & Shellfish Immunology 47: 46-62. doi: 10.1016/j.fsi.2015.08.024.

Ciji, A., Akhtar, M.S., Tripathi, P.H., Pandey, A., Rajesh, M., Kamalam, B.S. 2021. Dietary soy lecithin augments antioxidative defense and thermal tolerance but fails to modulate non-specific immune genes on endangered golden mahseer (*Tor putitora*) fry. Fish & Shellfish Immunology 109: 34-40. doi: 10.1016/j.fsi.2020.11.031.

Cleveland, B.M., Leeds, T.D., Picklo, M. J., Brentesen, C., Frost, J. Biga, P.R. 2020. Supplementing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock diets with choline and methionine improves growth in offspring. Journal of the World Aquaculture Society 51: 266-281. doi: 10.1111/jwas.12634.

Dandapat, J., Chainy, G.B., Rao, K.J., 2003. Lipid peroxidation and antioxidant defense status during larval development and metamorphosis of giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Comparative Biochemistry and Physiology 135C: 221-233. doi: 10.1016/s1532-0456(03)00080-2.

Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 15: 316-328. doi: 10.1016/j.numecd.2005.05.003.

Doba, T., Burton, G.W., Ingold, K.U. 1985. Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C, either alone or in the presence of vitamin E or a water-soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. Biochimica Biophysica 835: 298-303. doi: 10.1016/0005-2760(85)90285-1.

Fontagné-Dicharry, S., Lataillade, E., Surget, A., Larroquet, L., Cluzeaud, M., Kaushik, S. 2014. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 424: 220-227. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.01.009.

Gao, J., Koshio, S., Wang, W., Li, Y., Huang, S., Cao, X. 2014. Effects of dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant responses of Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae. Aquaculture 426: 304-309. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.02.022.

Heath, R.L., Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated

chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198. doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1.

Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A. 2018. First line defense antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defense grid. Alexandria Journal of Medicine 54: 287-293. doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001.

Ito, T., Murata, H., Tsuda, T., Yamada, T., Yamada, T., Yamada, T., Yamauchi, K., Ukawa, M., Sakai, T. 1999. Effects of α-tocopherol levels in extrusion pellets on in vivo lipid peroxidation levels and antioxidant activities in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* injected with the causative bacteria of fish jaundice. Fisheries Science 65: 679-683. doi: 10.2331/fishsci.65.679.

Jafari, F., Noori, F., Agh, N., Estevez, A., Ghasemi, A., Alcaraz, C., Gisbert, E. 2021. Phospholipids improve the performance, physiological, antioxidative responses and, *lpl* and *igf-1* gene expressions in juvenile stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). Aquaculture 541: 736-809. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.736809.

Kono, Y. 1978. Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. Archives of Biochemistry and Biophysics 186: 189-195. doi: 10.1016/0003-9861(78)90479-4.

Lepage, G., Roy, C.C. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research 25: 1391-1396. doi: 10.1016/S0022-2275(20)34457-6.

Li, Y., Gao, J., Huang, S. 2015b. Effects of different dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition, PPAR gene expressions and antioxidant responses of blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry 41: 423-436. doi: 10.1007/s10695-014-9994-8.

Lin, S.M., Li, F.J., Yuangsoi, B., Doolgindachbaporn, S. 2018. Effect of dietary phospholipid levels on growth, lipid metabolism, and antioxidative status of juvenile hybrid snakehead (*Channa argu* × *Channa maculata*). Fish Physiology and Biochemistry 44: 401-410. doi: 10.1007/s10695-017-0443-3.

Lovell, M., Kilvik, T., Boshra, H., Bøgwald, J., Sunyer, J.O., Dalmo, R.A. 2006. Maternal transfer of complement components C3-1, C3-3, C3-4, C4, C5, C7, Bf, and Df to offspring in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Immunogenetics 58: 168-179. doi: 10.1007/s00251-006-0096-3.

Meng, Q., Sun, S., Sun, Y., Li, J., Wu, D., Shan, A., Shi, B., Cheng, B. 2018. Effects of dietary lecithin and l-carnitine on fatty acid composition and lipid-metabolic genes expression in subcutaneous fat and *longissimus thoracis* of growing-finishing pigs. Meat Science 136: 68-78. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.10.012.

Nelis, H.C.F, Lavens, P., Van Steenberge, M.M.Z., Sorgeloos, P., Criel, G.R., De Leenheer, A.P. 1988. Qualitative and quantitative changes in the carotenoids during development of the brine shrimp Artemia. Journal of Lipid Research 29: 491-499. doi: 10.1016/S0022-2275(20)38522-9.

Rueda-Jasso, R., Conceiçao, L.E., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Rees, J. F., Sorgeloos, P. 2004. Effect of dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. Aquaculture 231: 417-433. doi: 10.1016/S0044-8486(03)00537-4.

Sargent, J., Tocher, D., Bell, J. 2002. The Lipids in Fish Nutrition. 3rd edition, (eds Halver JE & Hardy RW) Ch. 4: 181-257. Elsevier Science.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P. Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology 41: 125-139. doi: 10.1016/0165-2427(94)90062-0.

Sheikhzadeh, N., Panchah, I. K., Asadpour, R., Tayefi-Nasrabadi, H., Mahmoudi, H. 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* in maternal diet on reproductive performance and egg quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Animal Reproduction Science 130: 119-123. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.12.010.

Tocher, D.R., Bendiksen, E.A., Campbell, P.J., Bell, J.G. 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. Aquaculture 280: 21-34. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.04.034.

Wu, J., Yang, W., Song, S., Li, Z., Jia, X., Zhang, H., Zhang, P., Xue, X., Li, S., Xie, Y., Zhang, R., Ye, J., Zhou, Z., Wu, C. 2023. Dietary soybean lecithin improves growth, immunity, antioxidant capacity and intestinal barrier functions in Largemouth Bass *Micropterus salmonids* juveniles. Metabolites 13: 1-19. doi: 10.3390/metabo13040512.

Wu, X., Cheng, Y., Sui, L., Zeng, C., Southgate, P.C., Yang, X. 2007. Effect of dietary supplementation of phospholipids and highly unsaturated fatty acids on reproductive performance and offspring quality of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* (H. Milne-Edwards), female broodstock. Aquaculture 273: 602-613. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.09.030.

Yang, X., Wang, J., Fan, P., Zhao, L., Cheng, Y., Wu, X., Zeng, C. 2010. Survival, growth, sexual maturity and tissue histamine accumulation of the Mysis, *Neomysis awatschensis* and *N. japonica Nakazawa*, fed histamine supplemented diets. Aquaculture 302: 256-260. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.02.006.

Zhao, J., Ai, Q., Mai, K., Zuo, R., Luo, Y. 2013. Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker (*Larmichthys crocea*) larvae. Aquaculture 410: 122-128. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.05.018.