مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۱، ۴۶-۳۹
Original Article
Journal of Veterinary Research. 70,1:39-46, 2015

تأثیر تغذیه با آرد باقلا (*Vicia faba*) بر سطح سرمی لیپیدها و عملکرد کبد در فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*)

سمیه سلطان‌زاده* حسین اورجی ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی خسرو جانی خلیلی
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران

(دریافت مقاله: ۲۸ آبان ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱ بهمن ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: باقلا یک منبع غنی از پروتئین و کربوهیدرات می‌باشد که در بسیاری از کشورها به عنوان یک ترکیب گیاهی در جیره غذایی دام، طیور و آبزیان استفاده می‌شود. **هدف:** این پژوهش به منظور ارزیابی اثرات سطوح مختلف آرد باقلا بر سطح لیپیدهای سرم و عملکرد کبد فیل ماهی پرورشی انجام شد. **روش کار:** بدین منظور ۱۴۴ قطعه فیل ماهی جوان (*Huso huso*) با میانگین وزن اولیه ۸۲/۳۸±۰/۸۳g در ۱۸ حوضچه فایبرگلاس ۳۰۰L تقسیم شدند. جیره‌های غذایی در ۶ سطح جایگزینی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵٪ آرد باقلا ساخته شد و ماهی‌ها به مدت ۵۰ روز با جیره‌های آزمایشی مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای دوره از ۹ قطعه ماهی به ازای هر تیمار از مسیر ساقه دمی خونگیری شده و شاخص‌های بیوشیمیایی (کلسترول و تری‌گلیسرید) و آنزیم‌های کبدی فسفاتاز قلیایی (ALP)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) اندازه‌گیری شد. سپس از هر تیمار ۹ قطعه ماهی به منظور اندازه‌گیری شاخص کبدی و ترکیبات شیمیایی کبد نمونه برداری شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که با افزایش درصد باقلا در جیره، میزان آنزیم‌های ALP، AST و LDH به طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت ($p<0/01$) ولی کم‌ترین میزان آنزیم ALT، در تیمار تغذیه شده با جیره ۱۰٪ باقلا مشاهده شد ($p<0/05$). رطوبت و چربی کبد نیز تفاوت معنی‌داری را با افزایش درصد باقلا در جیره نشان داد ($p<0/05$). هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، شاخص کبدی، پروتئین کبد و خاکستر کبد در تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p>0/05$). همبستگی مثبت معنی‌داری ($p<0/01$) بین میزان کلسترول، AST، ALP، LDH و چربی کبد در همه تیمارها مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** به‌کارگیری سطوح پایین آرد باقلا (تا سطح ۲۵٪) در جیره فیل ماهی پرورشی تأثیر معنی‌داری بر میزان لیپیدهای سرم و هم‌چنین تأثیر ناخواسته بر عملکرد کبد نداشت.

واژه‌های کلیدی: آرد باقلا، فیل ماهی پرورشی، عملکرد کبد، لیپیدهای سرم

مقدمه

باقلا به عنوان یک منبع غنی از کربوهیدرات، پروتئین، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد (۱۶). ارزش غذایی باقلا بسیار قابل توجه بوده و کیفیت پروتئین آن بالاست و دانه آن حاوی ۳۵-۲۵٪ پروتئین می‌باشد (۱۲) و هم‌چنین منبع ارزشمندی از انرژی به سبب محتوای نشاسته می‌باشد. با این وصف، استفاده از این ماده غذایی در جیره ماهیان به سبب حضور عوامل ضد تغذیه‌ای مانند مواد فنلی، پلی‌ساکاریدهای نشاسته‌ای، فیبر، تانن و مهارکننده‌های پروتئازی که می‌توانند قابلیت هضم مواد مغذی و عملکرد رشد را کاهش دهند، محدود باقی مانده است (۵،۱۲). میزان کشت باقلا در ایران زیاد است، بنابراین همه ساله مقدار زیادی از این محصول به سبب برداشت غیر اصولی و آفات گیاهی به صورت ضایعات باقلا مورد استفاده انسان واقع نمی‌شود. این نوع باقلا که از قیمت پایینی برخوردار است، می‌تواند در جیره دام، طیور و آبزیان استفاده شود (۳۱). تحقیقات پیرامون استفاده از باقلا به عنوان یک ترکیب گیاهی در جیره‌های غذایی آبزیان محدود است. با این حال، مطالعات نشان داده که هضم‌پذیری و ارزش غذایی باقلا برای ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۱۴)، کپور (*Cyprinus carpio*) (۱۵) و تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (۵) مناسب می‌باشد. Gaber در سال ۲۰۰۶ گزارش کرد که آرد باقلا را می‌توان تا ۵۰٪ در جیره تیلاپیا (*O. niloticus*) بدون اثر منفی بر عملکرد ماهی جایگزین کرد (۱۲). باید توجه داشت که تغییر در اجزای جیره غذایی، وضعیت ایمنی را تحت تأثیر قرار داده و روی متابولیسم مواد مغذی، میزان فعالیت آنزیم‌ها و بافت خون تأثیر می‌گذارد. بنابراین برآورد اثرات اجزای غذایی به منظور جایگزینی در جیره‌های غذایی آبزی پروری ضروری است (۱۳).

کبد یکی از مهمترین اندام‌های متابولیزه کننده داروها و سایر مواد مغذی در ماهی است (۳۵) که دارای عملکرد بیوشیمیایی بسیاری نظیر متابولیسم مواد غذایی و تولید اسیدهای صفراوی می‌باشد. هم‌چنین نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی به عهده دارد (۱۷). به طور کلی تمامی این عملکردها در کبد توسط آنزیم‌ها صورت می‌گیرد. آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیایی (ALP) و نیز آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) از جمله آنزیم‌های مهمی هستند که در کبد وجود دارند و در شرایط مرضی در خون ماهی رها می‌شوند.

هر گاه کبد دچار آسیب شود، میزان این آنزیم‌ها نیز افزایش می‌یابد و

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۳۸۲۲۵۶۵-۰۱۵۱ نمابر: ۳۸۲۲۵۶۵-۰۱۵۱ Email: soltanzadeh.somayeh@yahoo.com

افزایش میزان این آنزیم‌ها در سرم خون ماهیان می‌تواند معیاری جهت نکروزه شدن سلول‌های کبدی باشد (۹). باید توجه داشت که اختلال در متابولیسم چربی و به دنبال آن افزایش میزان چربی در هپاتوسیت‌های کبد سبب ایجاد عارضه کبد چرب می‌شود (۲۹).

فیل‌ماهی (*Huso huso*) به سبب رشد سریع برای اهداف آبزی پروری بسیار ایده‌آل است (۲) و پرورش آن نسبت به سایر ماهیان پرورشی مقرون به صرفه است. این گونه، ذخیره منحصر به فرد ژنتیکی دریای خزر است که در تولید گوشت و خاویار نقش مهمی دارد. فیل‌ماهی یک گونه گوشتخوار بوده و پودر ماهی به عنوان یک منبع پروتئین برجسته برای این ماهی می‌باشد. در اکثر فرمولاسیون خوراک برای این گونه احتمال افزایش گنجاندن منابع پروتئین گیاهی با توجه به عرضه محدود و غیر قابل پیش بینی از پودر ماهی مورد توجه بوده است (۲۱) البته در صورتی که بر کیفیت رشد و تأمین مواد ضروری رشد ماهی تأثیر منفی نگذارد.

اگرچه نگرانی‌های عمده‌ای در اثر جایگزینی پروتئین‌های گیاهی متنوع بر عملکرد ماهی وجود دارد، ولی مطالعات کمی بسیاری در مورد تأثیر جیره بر شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی نظیر فعالیت آنزیمی (۳۴) و متابولیسم کبد (۲۹) متمرکز شده‌اند که می‌تواند یک شاخص آسیب پذیری به وسیله اجزای جیره غذایی در عملکرد متابولیسم و مصرف مواد مغذی در ماهی را فراهم کند. از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه استفاده از آرد باقلا و اثرات سطوح مختلف آن در جیره غذایی ماهیان خاویاری به ویژه فیل‌ماهی وجود ندارد، لذا این مطالعه با هدف مطرح کردن استفاده از آرد باقلا (به عنوان یک منبع پروتئینی گیاهی) به منظور کاهش احتمالی هزینه‌های غذا با تأکید بر تأثیر آن بر سطح سرمی لیپیدها و عملکرد کبد فیل‌ماهی پرورشی انجام شد.

مواد و روش کار

تیمارهای آزمایشی و شرایط پرورش: این تحقیق در سالن و نیرو گروه شیلات در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. با توجه به هدف مطالعه، ۲۰۰ قطعه بچه فیل‌ماهی با وزن متوسط ۵۰g از یک کارگاه خصوصی (شرکت قره برون) واقع در ساری تامین و به منظور سازگاری با شرایط جدید پرورشی به مدت ۲ هفته با غذای دستی تغذیه شدند. پس از طی دوره سازگاری، تعداد ۱۴۴ قطعه بچه فیل‌ماهی با میانگین وزنی ۸۲/۳۸±۰/۸۳g در ۱۸ عدد حوضچه مدور فایبرگلاس با حجم ۳۰۰L در قالب طرح آماری کاملا تصادفی به مدت ۵۰ روز با ۶ تیمار و ۳ تکرار برای هر تیمار در شرایط یکسان پرورشی مقایسه شدند. جهت تأمین آب مورد نیاز از یک حلقه چاه با دبی ۱/۵L در دقیقه استفاده شد. هم‌چنین به منظور خارج کردن فضولات و پسماندهای غذایی، عمل سیفون کردن حوضچه‌های پرورشی به صورت روزانه انجام شد. برخی از شاخص‌های کیفی شامل دمای آب، اکسیژن محلول، pH با دستگاه LYTIC-AL15, Germany AQUA و شوری با دستگاه Sencion5-Hach, USA به صورت روزانه ثبت گردید.

جیره‌های غذایی: به منظور تهیه جیره‌های غذایی، ضایعات آرد باقلا از فروشگاه خوراک دام و طیور تهیه شده و آرد شد. باقلای مورد استفاده شامل ۲۷/۱۳٪ پروتئین، ۲/۵٪ چربی و ۳/۵٪ خاکستر بود. شش جیره غذایی شامل پنج سطح آرد باقلا (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵٪) و یک جیره شاهد (فاقد باقلا) فرموله و تنظیم شدند (جدول۱). جهت ساخت جیره‌های غذایی، مواد اولیه به کار رفته در فرمولاسیون جیره‌های غذایی پس از وزن کردن در داخل تشت کاملا مخلوط شده و سپس با اضافه نمودن تدریجی آب مخلوط خمیری شکل به دست آمد و با استفاده از چرخ گوشت به صورت پلت‌هایی با قطر ۲mm شکل داده شد. پلت‌های حاصل روی پلاستیک گسترده و در دمای اتاق کاملاً خشک شدند. سپس جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی و تا زمان مصرف در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. تغذیه بچه ماهیان در طی دوره آزمایش، روزانه ۳ بار در روز و به میزان ۳-۲٪ وزن بدن انجام شد.

خونگیری و نمونه‌گیری: در انتهای آزمایش بعد از ۵۰ روز برای ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی در هر واحد آزمایشی ۳ ماهی به طور تصادفی صید و به وسیله سرنگ‌های استریل به آرامی از مسیر ساقه دمی ماهیان خونگیری شد. نمونه‌های خونی به مقدار cc ۳ از هر نمونه به منظور جداسازی سرم به لوله‌های فاقد هپارین ریخته شد. پس از لخته شدن خون، سرم موجود در لوله‌های فاقد هپارین با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (دور g×۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه و دمای ۴°C) (Eppendorf, 5810R, Germany) جمع‌آوری شده و به میکروتیوپ منتقل شد. میکروتیوپ‌های حاوی سرم خونی در دمای ۲۰°C- به منظور انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی نگهداری شدند. میزان کلسترول، تری‌گلیسرید و سطوح آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP و LDH) در سرم خون با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون (Pars Azmoon, Tehran, Iran) و با استفاده از دستگاه Auto analyzer (Eppendrof, EPOS,Germany) اندازه‌گیری شد (۳۳).

هم‌چنین به منظور بررسی شاخص کبدی و ترکیبات شیمیایی کبد، از ۹ قطعه ماهی در هر تیمار نمونه برداری شد. نمونه‌های کبد وزن شده و میزان شاخص کبدی (HSI) با استفاده از فرمول (HSI (g)=100×(liver weight(g)/body weight(g)) محاسبه شد که در آن liver weight و body weight به ترتیب وزن کبد و وزن نهایی ماهیان بر حسب گرم در انتهای آزمایش بود (۵). تجزیه تقریبی شیمیایی کبد شامل پروتئین خام، چربی خام، رطوبت و خاکستر کبد از طریق روش استاندارد (2000 AOAC) اندازه‌گیری و تعیین شدند (۳). رطوبت از طریق خشک کردن نمونه‌ها در دمای ۱۰۵°C در آون به مدت ۲۴h انجام شد. خاکستر از طریق قرار دادن نمونه‌ها در کوره الکتریکی به وسیله کوره در دمای ۵۵۰°C به مدت ۶h اندازه گیری شد. پروتئین خام از طریق نیتروژن کل به روش کجلدال تعیین شد. چربی خام از طریق حل کردن

چربی در اتر و تعیین مقدار آن به روش سوکسله انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده در ارتباط با میزان شاخص‌های سرمی، شاخص کبدی و ترکیبات شیمیایی کبد بچه ماهیان از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار Spss نگارش ۲۰ در سطح ۵٪ سانجام گرفت. جهت تعیین همبستگی بین پارامترهای اندازه گیری شده از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد و مقادیر $p<0/01$ معنی دار گزارش شد.

نتایج

میانگین دمای آب در طول دوره پرورش $17/18\pm2/8^{o}C$، pH ۷/۷±۰/۲۷، میزان اکسیژن محلول ppm۷/۴±۰/۶۱ و شوری mgL۰/۶±۰/۱ اندازه گیری شد.

بیش‌ترین میزان کلسترول در تیمار شاهد (mg/dL۴۸/۵±۵/۵) و کمترین میزان آن در تیمار ۲۵٪ باقلا (mg/dL۳۳/۶۶±۷/۷۶) مشاهده شد ($p>0/05$). نتایج حاصل از تغییرات شاخص های سرم نیز نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر تری‌گلیسرید سرم وجود ندارد ($p>0/05$). فعالیت آنزیم‌های اندازه گیری شده در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد ($p<0/05$)، به‌طوری که با افزایش درصد آرد باقلا در جیره، میزان آنزیم‌های ALP، AST و LDH کاهش یافت ($p<0/05$). هم‌چنین کم‌ترین میزان آنزیم ALT در تیمار ۱۰٪ باقلا (U/L۰/۷۶±۰/۲) و بیش‌ترین مقدار آن در تیمار ۲۵٪ باقلا (U/L ۱/۸۵±۰/۳۵) مشاهده شد ($p<0/05$)، اگرچه اختلاف معنی‌داری میان تیمار شاهد و تیمار ۲۵٪ باقلا از نظر میزان ALT وجود نداشت($p>0/05$)(جدول ۲). شاخص کبدی هیچ تفاوت معنی‌داری را در تیمارهای مختلف نشان نداد ($p>0/05$)، اگرچه با افزایش درصد آرد باقلا در جیره، شاخص کبدی کاهش یافت (نمودار۱). نمونه‌های کبد مورد بررسی از نظر ظاهری سالم بوده و هیچ علائم بیماری در آنها مشاهده نشد. آنالیز ترکیبات شیمیایی کبد فیل ماهیان در انتهای آزمایش حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار آماری در بین تیمارهای مختلف بود ($p<0/05$) (جدول ۳). میزان رطوبت و چربی کبد فیل ماهی پرورشی با افزایش درصد آرد باقلا در جیره به ترتیب افزایش و کاهش یافت ($p<0/05$)، اگرچه تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین و خاکستر بدن مشاهده نشد ($p>0/05$).

هم چنین بین فعالیت آنزیم‌های کلسترول، AST، LDH و ALP و چربی کبد همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری مشاهده شد ($p<0/01$). به این صورت که با کاهش یکی، میزان دیگری نیز کاهش می یابد و بالعکس (جدول ۴).

بحث

استفاده از پروتئین‌های گیاهی در جیره غذایی آبزیان سبب کاهش میزان کلسترول و تری‌گلیسرید می‌شود (۷). کاهش کلسترول و تری

جدول ۱. اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی.

ترکیبات	٪۰	٪۵	٪۱۰	٪۱۵	٪۲۰	٪۲۵
پودر ماهی	۴۷	۴۵	۴۳	۴۱	۳۹	۳۷
باقلا	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
آرد گندم	۲۳	۲۰	۱۷	۱۴	۱۱	۸
گلوتن گندم	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
روغن ماهی	۵	۵	۵	۵	۵	۵
روغن کانولا	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
ملاس	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل ویتامینی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل معدنی	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ترکیب شیمیایی جیره غذایی						
ماده خشک	۹۲/۵۶	۸۹/۹۵	۹۳	۸۷/۱۷	۸۳/۸۴	۹۱/۶
پروتئین خام	۴۱/۴۵	۴۰۸۴	۴۰/۲۳	۴۱/۲۲	۴۰/۷۳	۴۰/۵
چربی خام	۱۹/۱۱	۱۹/۴۸	۱۸/۷۵	۱۸/۴۵	۱۹/۱۲	۱۸/۱۷
خاکستر	۱۱/۹	۱۱/۵	۱۱/۴	۱۱/۲۵	۹/۵	۱۰

جدول ۲. ترکیب شیمیایی اجزای غذایی مورد استفاده در جیره‌های غذایی.

ترکیبات شیمیایی(٪)	پودر ماهی	آرد باقلا	آرد گندم	گلوتن گندم
پروتئین	۶۶	۲۷/۱۳	۱۱	۸۰
چربی	۸/۵	۲/۵	۲	۸

گلیسرید از بار اضافی کبد و هم‌چنین از مستعد شدن ماهی در برابر بیماری کبد چرب می‌کاهد، زیرا مهم‌ترین محل سوخت و ساز چربی در کبد می‌باشد (۱۸). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش آرد باقلا تا سطح ۲۵٪ در جیره غذایی فیل‌ماهی، میزان کلسترول و تری‌گلیسرید سرم کاهش یافت، اگرچه این تفاوت معنی‌دار نبود. Lim و Lee در سال ۲۰۰۸ در مطالعه خود گزارش کردند که جیره حاوی پنبه دانه به طور قابل توجهی میزان کلسترول و تری‌گلیسرید پلاسمای طوطی‌ماهی (*Oplegnthus fasciotus*) را کاهش داد (۲۴). Kaushik و همکاران نیز در سال ۱۹۹۵ تأثیر هیپوکلسترولمی استفاده از کنجاله سویا را در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) مشاهده کرده و گزارش کردند که با افزایش سویا در جیره این ماهی، میزان کلسترول سرم کاهش یافت (۲۰).

در این پژوهش با افزایش آرد باقلا در جیره غذایی فیل‌ماهی، میزان آنزیم‌های کبدی (ALT، AST، ALP و LDH) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاهش میزان آنزیم‌های کبدی در خون احتمالا به سبب کاهش تولید، افزایش دفع و یا تغییر در نیمه عمر آنها می‌باشد (۶). Lin و Luo در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که با افزایش جایگزینی سویا در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*O. niloticus*) تا سطح ۵۰٪، فعالیت آنزیم‌های GOT (همان آنزیم AST) و GPT (همان آنزیم ALT) در کبد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (۲۵). حسینی‌فر و همکاران نیز در سال ۱۳۹۲ گزارش کردند که با افزایش سطح آرد سویا در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان همراه با مکمل آنزیمی، میزان فعالیت آنزیم‌های ALT، AST، ALP و LDH کاهش یافت که علت این امر را تأثیر مطلوب سطوح بالاتر آرد سویا در جیره غذایی

جدول ۳. مقایسه میانگین کلسترول، تری‌گلیسرید و آنزیم‌های کبدی در فیل‌ماهیان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف باقلا. (Mean±S.D.)، اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند($p<۰/۰۵$).

شاخص / تیمار	انتهای آزمایش					
	شاهد	٪۵	٪۱۰	٪۱۵	٪۲۰	٪۲۵
کلسترول (mg/dL)	۴۸/۵±۵/۵^{a}	۴۷±۳^{a}	۴۰/۵±۱۵/۵^{a}	۳۶/۱۶±۱/۷۵^{a}	۳۵±۱^{a}	۳۳/۶۶±۷/۷۶^{a}
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۳۵۸±۴^{a}	۳۴۵/۳±۸/۵^{a}	۳۴۱±۳۵^{a}	۳۲۴/۳±۴/۰۴^{a}	۳۶۴/۶±۴/۷^{a}	۳۲۲±۳۹^{a}
ALP (U/l)	۴۷۹/۵±۱۹/۵^{a}	۴۷۹±۱۰^{a}	۵۰۲±۵۲/۵^{a}	۴۵۷±۴۲^{a}	۳۸۶±۱۴^{b}	۳۷۱/۵±۶/۵^{b}
ALT (U/l)	۱/۸۳±۰/۷^{a}	۱/۱۶±۰/۳۲^{ab}	۰/۷۶±۰/۲^{b}	۱/۳±۰/۶^{ab}	۱/۶۳±۰/۰۵^{a}	۱/۸۵±۰/۳۵^{a}
AST (U/l)	۷۸/۹۵±۸۷/۷^{a}	۷۷۱/۸±۶۲^{a}	۴۸۷/۱±۱۸/۳^{a}	۴۳۶/۵±۳۲/۶^{b}	۲۷۲/۷±۳۲^{c}	۲۶۳/۹±۹/۵^{c}
LDH (U/l)	۳۴۷۰±۲۳^{a}	۲۴۶۴±۵۶۹/۵^{b}	۲۱۷۸±۵۳۳/۵^{b}	۱۹۹۷±۴۳۰/۴۴^{b}	۹۳۷±۵۳^{c}	۹۰۱/۵±۱۰۴^{c}

جدول ۴. مقایسه میانگین ترکیبات شیمیایی کبد در فیل‌ماهیان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف باقلا. (Mean±S.D.)، اعداد با حروف غیرمشابه در هر ردیف، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند($p<۰/۰۵$).

شاخص / تیمار	انتهای آزمایش					
	شاهد	٪۵	٪۱۰	٪۱۵	٪۲۰	٪۲۵
رطوبت	۵۴/۷۴±۰/۷۴^{b}	۵۶/۱۲±۲/۷۷^{b}	۵۷/۴±۱/۷۳^{b}	۵۸/۹±۱/۹^{b}	۶۴/۳۳±۳/۰۵^{a}	۶۵±۵/۵۶^{a}
پروتئین	۱۲/۳۴±۲/۰۲^{a}	۱۲/۴۸±۰/۶۶^{a}	۱۲/۳۶±۰/۳۴^{a}	۱۰/۹۱±۰/۲۸^{a}	۱۰/۸±۱/۳۷^{a}	۱۰/۳۹±۱/۶۲^{a}
چربی	۲۶/۷۱±۰/۷۱^{a}	۲۴/۶۶±۳/۲^{a}	۱۹/۵۷±۲/۵۷^{b}	۱۹/۸۷±۱/۳۷^{b}	۱۷/۳۵±۰/۰۴^{b}	۱۶/۸۵±۰/۱۵^{b}
خاکستر	۱/۱۶±۰/۰۶^{a}	۱/۱۳±۰/۰۶^{a}	۱/۱۵±۰/۰۵^{a}	۱/۱۵±۰/۰۱^{a}	۱/۱۷±۰/۰۷^{a}	۱/۲±۰/۰۶^{a}

جدول ۵. مقادیر همبستگی و آزمون آماری میان کلسترول، تری‌گلیسرید، آنزیم‌های کبدی و چربی کبد در فیل‌ماهی پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف باقلا. (**)($p<۰/۰۱$).

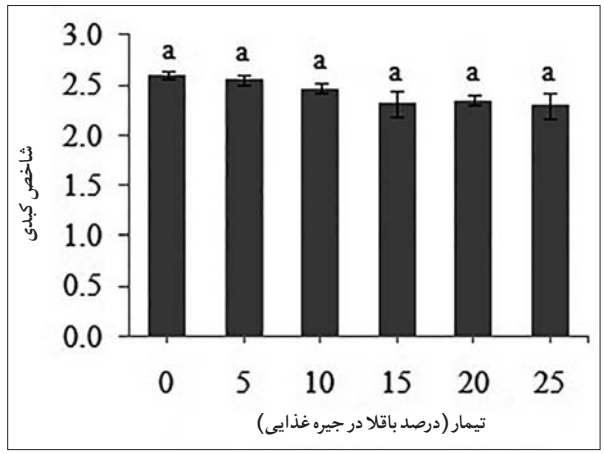
	پارامترهای سرمی					
	کلسترول	تری گلیسرید	ALP	ALT	LDH	AST
تری‌گلیسرید	۰/۳۸۸					
ALT	-۰/۱۴۱	-۰/۰۵۱				
AST	۰/۶۵۳(**)	۰/۲۱۱	-۰/۰۷۰			
LDH	۰/۶۹۶(**)	۰/۲۲۸	-۰/۱۰۶	۰/۸۶۱(**)		
ALP	۰/۶۳۸(**)	۰/۲۳۲	-۰/۴۰۲	۰/۷۱۸(**)	۰/۷۱۶(**)	
چربی‌کبد	۰/۷۴۳(**)	۰/۲۸۹	-۰/۰۱۴	۰/۸۹۷(**)	۰/۹۰۵(**)	۰/۶۵۴(**)

همراه با مکمل آنزیمی بر عملکرد کبد دانستند (۱۸). اگرچه Soltan و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردندکه با افزایش جایگزینی پنبه دانه در جیره تیلاپیا به جای پودر ماهی میزان ALT و AST تقریباً به طور معنی‌داری افزایش یافت (۳۴). هم‌چنین Ataalla در سال ۲۰۱۳ گزارش کرد که جایگزینی جزئی یا کامل پودر ماهی با گلوتن ذرت در جیره تیلاپیا تأثیر معنی‌داری بر میزان ALT و AST سرم خون نداشت (۴).

کبد یکی از مهم‌ترین ارگان‌های سوخت و ساز نیتروژن و متابولیت‌های دیگر است. ترانس آمینازها (ALT و AST) یکی از مسیرهای اصلی برای سنتز و دی آمیناسیون کردن اسیدهای آمینه می‌باشند که در ارزیابی وضعیت کبد و بعضی از اندام‌های درگیر می‌تواند در نظر گرفته شوند (۲۵). کاهش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST در ماهیان می‌تواند نشان دهنده غیرفعال شدن ترانس آمیناسیون و کاهش کاتابولیسم اسیدآمینه می‌باشد (۸،۳۰). این آنزیم‌ها اسید آمینه را کاتابولیسم کرده و گروه آمینو را به آلفاکتواسید منتقل می‌کند. اما زمانی که اسیدآمینه موجود کاهش یابد، کتواسیدها ممکن است کاهش یافته که سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود (۲۵). فعالیت ترانس آمینازها در برآورد وضعیت تغذیه‌ای بعضی از ماهیان مفید می‌باشد (۸). این نشان می‌دهد که متابولیسم حیوانات گوشتخوار به میزان بالای پروتئین جیره سازگار شده است و توانایی کمی در استفاده از کربوهیدرات در آنها گزارش شده است (۲۶). هم‌چنین احتمالاً موادی در لگوم‌ها وجود دارد که سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۱).

در این مطالعه با افزایش میزان باقلا در جیره، میزان شاخص کبدی کاهش یافت ولی این کاهش معنی‌دار نبود که این نتیجه مطابق با یافته‌های Azaza و همکاران در سال ۲۰۰۹ بود (۵). هم‌چنین Farhangi و Carter در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که افزایش سطوح مختلف لوپین (تا۵۰٪) در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر معنی‌داری بر میزان شاخص کبدی نداشت(۱۰). برخی از مطالعات گزارش کرده‌اند که مواد مغذی جیره به ویژه مواد مغذی اصلی نظیر پروتئین، کربوهیدرات و چربی به طور قابل توجهی بر میزان شاخص کبدی تأثیر دارند (۱۹،۲۲).

آنالیز تقریبی ترکیبات شیمیایی کبد نشان داد که سطوح مختلف باقلا در جیره غذایی، ترکیب شیمیایی کبد را تحت تأثیر قرار داده است. به طوری که با افزایش میزان باقلا در جیره، درصد چربی کبد کاهش یافت ولی



نمودار ۱. مقایسه میانگین شاخص کبدی فیل‌ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف باقلا.

تغییری در درصد پروتئین و خاکستر کبد مشاهده نشد. هم‌چنین میزان رطوبت کبد رابطه معکوسی با میزان چربی کبد نشان داد. Adamidou و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند با افزایش سطح باقلا در جیره باس دریایی (*D. labrax*) میزان چربی کبد کاهش می‌یابد (۱). در مطالعه Lanari و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش شده است که میزان چربی کبد در باس دریایی وابسته به میزان کربوهیدرات بالا در جیره غذایی است، اما این ارتباط در مطالعه Adamidou و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأیید نشد (۱،۲۳). به طوری که ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی سطوح بالای لگوم‌ها چربی کبد کمتری نسبت به ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی سطوح پایین لگوم‌ها داشتند. کبد ارگانی حساس بوده که میزان چربی در جیره می‌تواند میزان چربی در کبد را تحت تأثیر قرار دهد (۲۹). Azaza و همکاران در سال ۲۰۰۹ دریافتند که با افزایش سطح آرد باقلا در جیره تیلاپیا، میزان رطوبت لاشه ماهیان افزایش و میزان چربی لاشه کاهش یافت، اگرچه تفاوتی در میزان پروتئین لاشه و خاکستر میان تیمارها مشاهده نشد (۵). احتمالاً افزایش درصد آرد باقلا در جیره سبب کاهش پراکسیداسیون لیپید پلاسما می‌شود. هم‌چنین Francesco و همکاران در سال ۲۰۰۴ در جایگزینی پودر ماهی با ترکیبی از پروتئین‌های گیاهی در جیره ماهی قزل‌آلا نشان دادند که با افزودن پروتئین‌های گیاهی در جیره، میزان رطوبت و پروتئین خام کبد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد ولی میزان چربی و خاکستر کبد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (۱۱).

در این پژوهش مشاهده شد که میزان کلسترول سرم، آنزیم‌های کبدی و چربی کبد ارتباط مثبت معنی‌داری با یکدیگر دارند. مطالعات نشان داده است که ALT و AST با کلسترول ارتباط دارد و کاهش لیپیدهای سرمی منجر به کاهش این دو آنزیم می‌شود (۲۸). هم‌چنین کلسترول و تری‌گلیسیرید از اجزای عمده در سندرم متابولیک هستند و ممکن است به طور مستقیم با چربی کبد در ارتباط باشند (۳۲). در حقیقت افزایش آنزیم‌های کبدی به سبب آسیب نفوذپذیری غشای سلولی (۹) حتی در محدوده طبیعی با افزایش آسیب کبدی در ارتباط است (۳۶) که به نوبه خود با رسوب چربی احشایی مرتبط است (۲۷). احتمالاً سطح لیپیدهای سرم با عملکرد سلول‌های کبدی ارتباط دارد و از آنها می‌توان برای برآوردی سریع و ارزان از میزان آسیب کبد استفاده کرد.

به طور کلی، کبد مهم‌ترین محل متابولیسم پروتئین و چربی است (۹،۱۸،۲۵). افزایش آرد باقلا در جیره سبب کاهش کاتابولیسم آمینواسید در کبد می‌شود اگرچه تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین کبد نداشت. هم‌چنین به واسطه کاهش چربی در لیپید سرم و چربی کبد از مستعد شدن در برابر بیماریها (به ویژه بیماری کبد چرب) می‌کاهد و احتمالاً به درمان هیپرلیپیدمی کمک می‌کند. در حقیقت میزان شاخص‌های سرمی و ترکیبات شیمیایی کبد مورد بررسی در این پژوهش تحت تأثیر ترکیبات جیره قرار می‌گیرند که می‌توانند ابزاری در جهت سنجش غلظت مناسب اجزای غذایی در جیره غذایی ماهیان را فراهم کنند و هم‌چنین سطح آنزیم‌های دخیل در متابولیسم آمینواسید و نیتروژن می‌تواند شاخصی برای دسترسی به پروتئین جیره باشد (۸). در مطالعات بعدی لازم است که اثرات سطوح مختلف آرد باقلا در جیره فیل‌ماهی همراه با تأثیرات هیستوپاتوبیولوژی آنها بر کبد بررسی شود تا با قاطعیت بیشتری بتوان در مورد اثرات این پروتئین گیاهی بر عملکرد کبد اظهار نظر کرد.

به‌کارگیری سطوح پایین آرد باقلا (تا سطح ۲۵٪) در جیره فیل‌ماهی پرورشی تأثیر معنی‌داری بر میزان لیپیدهای سرم و هم‌چنین تأثیر ناخواسته بر عملکرد کبد نداشت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله تشکر صمیمانه خود از شرکت خصوصی قره‌برون و جناب آقای مهندس احمد نصرتی موفق کارشناس تکثیر و پرورش آبزیان به سبب کمک مؤثر در اجرای هرچه بهتر این پژوهش ابراز می‌دارند.

References

1. Adamidou, S., Nengas, I., Henry, M., Grigorakis, K., Rigos, G., Nikolopoulou, D. (2009) Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. Aquaculture. 293: 263-271.
2. Ahmadi Fackjouri, H., Falahatkar, B., Ershad Langroudi, H. (2011) The influence of different lipid sources and levels on growth, body composition and haematology of *Huso huso*. J Anim Physiol Anim Nutr. 95: 632-641.

3. AOAC (2000) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. (17th ed.) Gaithersburg, Maryland, USA.
4. Ataalla, A., Metwalli, A. (2013) Effects of partial and total substitution of fish meal with corn gluten meal on growth performance, nutrients utilization and some blood constituents of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Egypt J Aquat Biol Fish. 17: 91-100.
5. Azaza, M.S., Wassin, K., Abdelmouleh, A. (2009) Evaluation of Faba beans (*Vicia faba* L. var. minuta) as a replacement for soybean meal in practicale diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 287: 174-179.
6. Balistrei, W.F., Rej, R. (1994) Liver function. In: Fundamentals of Clinical Chemistry. Burtis, C.A., Ashwood, E., Tietz, R. (eds.). (4th ed.) W.B. Saunders. Toronto, Canada. p. 539-548.
7. Barrows, T.F., Stone, D.A.J., Hardy, R.W. (2007) The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 254: 466-475.
8. Bibiano Melo, J.F., Lundstedt, L.M., Metón, I., Baanante, I.V., Moraes, G. (2006) Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). Comp Biochem Physiol. A. 145: 181-187.
9. Ebrahimnezhadarabi, M., Saad, C.R., Harmin1, S.A., Kamal, M., Satar1, A., AbedianKenari, A. (2011) Effects of phospholipids in the diet on biochemical factors of sturgeon fish (*Huso huso*) juveniles. Afr J Biotechnol. 10: 8511-8516.
10. Farhangi, M., Carter, C.G. (2001) Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). Aquacult Res. 32: 329-340.
11. Francescoa, M., Parisia, G., Me´daleb, F., Lupia, P., Kaushikb, S.J., Polia, B.M. (2004) Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 236: 413-429.
12. Gaber, M.M. (2006) Partial and complete replacement of fishmeal by broad beam meal in feeds for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquacult Res. 37: 986-993.
13. Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L. (2007) A feed is only as good as its ingredients: A review of ingredient evaluation strategies foraquaculture feeds. Aquac Nutr. 13: 17-34.
14. Gomes, E.F., Rema, P., Kaushik, S. (1995) Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. Aquaculture. 130: 177-186.
15. Grabner, M., Hofer, R. (1985) The digestibility of the proteins of broad bean (*Vicia faba*) and soybean (Glycine max) under in vitro conditions stimulating the alimentary tracts of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture. 48: 111-122.
16. Grela, E.R., Gunter, K.D. (1995) Fatty acid composition and tocopherol content of some legume seeds. Anim Feed Sci Technol. 52: 325-331.
17. Hall, J.E. (2010) Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. (12th ed.) Saunders. New York, USA.
18. Hosseinifard, S.M., Ghobadi, Sh., Khodabakhsh, E., Razeghi Mansour, M. (2013) The effect of different levels of soybean meals and avizyme enzyme supplement on hematological and biochemical parameters of serum in rainbow trout. Iran Vet J. 9: 43-53.
19. Jover, M., Garcia-Gomez, A., Tomas, A., De la Dandara, Perez, L. (1999) Growth of mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*) fed extruded diets containing different levels of protein and lipid. Aquaculture. 179: 25-33.
20. Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalle`s, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M. (1995) Partial or total replacement of fish meal by soya protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow

trout. Aquaculture. 133: 257-274.

21. Khajepour, F., Hosseini, S.A. (2012) Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. Anim Feed Sci Technol. 171: 68-73.
22. Kim, J.D., Lall, S.P. (2001) Effects of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). Aquaculture. 195: 311-319.
23. Lanari, D., Poli, B.M., Ballestrazzi, R., Lupi, P., D'Agaro, E., Mecatti, M. (1999) The effects of dietary fat and NFE levels on growing European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. Aquaculture. 179: 351-364.
24. Lim S.J., Lee K.J. (2008) Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquacult Nutr. 14: 423-430.
25. Lin, S., Luo, L. (2011) Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O.aureus*. Anim Feed Sci Technol. 168: 80- 87.
26. Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G. (2004) Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. Comp Biochem Physiol. 137: 331-339.
27. Marchesini, G., Bugianesi, E., Forlani, G., Cerrelli, F., Lenzi, M., Manini, R., Natale, S., Vanni, E., Villanova, N., Melchionda, N., Rizzetto, M. (2003) Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. Hepatology. 37: 917 -923.
28. Mokhtari, M., Shariati, M., Gashmardi, N. (2007) Effect of lead on thyroid hormones and liver enzymes in adult male rats. Hormozgan Med J. 11: 115-120.
29. Peng, S., Chen, L., Qin, J.G., Hou, J., Yu, N., Long, Z. (2008) Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. Aquaculture. 276: 154-161.
30. Prasada, K.S., Ramana, R.K.V. (1985) Tissue specific alterations of aminotransferases and total ATPase in the fish tilapia mossambica under methyl parathion impact. Toxicol Leaflets. 20: 53-57.
31. Samie, A., Pour-Reza, J. (1998) Utilization of faba bean in broiler ration and means of reducing the effect of its trypsin inhibitor. Journal of Science and Technology. Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Sciences, Isfahan University of Technology. 2: 109-116.
32. Schindhelm, R.K., Diamant, M., Dekker, J.M., Tushuizen, M.E., Teerlink, T., Heine, R.J. (2006) Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. Diabetes Metab Res Rev. 22: 437-43.
33. Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani, H. (2010) Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish Physiol Biochem. 36: 39-43.
34. Soltan, M.A., Fath El-Bab, A.F., Saudy, A.N.M. (2011) Effect of replacing dietary fish meal by cottonseed meal on growth performance and feed utilization of the Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). Egypt J Aquat Biol Fish. 15: 17- 33.
35. Souba, W., Wilmore, D. (1983) Postoperative alteration of arteriovenous exchange of amino acids across the gastrointestinal tract. Surgery. 94: 342-350.
36. Tiikkainen, M., Bergholm, R., Vehkavaara, S., Rissanen, A., Hakkinen, A.M., Tamminen, M., Teramo, K., Yki-Järvinen, H. (2003) Effects of identical weight loss on body composition and features of insulin resistance in obese women with high and low liver fat content. Diabetes. 52: 701-707.

The effects of dietary inclusion faba bean (*Vicia faba*) on the serum lipid levels and liver function in farmed juvenile beluga (*Huso huso*)

Soltanzadeh, S.*, Ouraji, H., Esmaeili Fereidouni, A., Jani Khalili, Kh.

Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran

(Received 19 November 2014, Accepted 21 January 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Faba bean (*Vicia faba*) is a rich source of protein and carbohydrates that is used as a vegetable ingredient in diet of livestock, poultry and fish, in many countries. **OBJECTIVES:** This study was conducted to assess the effects of different levels of faba bean on the serum lipid levels and liver function of farmed beluga sturgeon (*Huso huso*). **METHODS:** 144 juvenile beluga (82.38 ± 0.83 g) were located into 18 oval tanks (300 L) and triplicate groups were fed by experimental diets inclusion 6 levels of faba bean (0, 5, 10, 15, 20 and 25%) for 50 days. At the end of the trial, blood samples were taken from the caudal vein of 54 beluga juveniles and some of biochemical parameters (cholesterol and triglycerides) and liver enzymes such as Alkaline Phosphatase (ALP), Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase (ALT) and Lactate Dehydrogenase (LDH) were investigated. Then nine fish per treatment were sampled to measure Hepatosomatic index (HSI) and liver composition per each treatment. **RESULTS:** The results showed that by increasing the levels of faba bean in diets ALP, AST and LDH contents were significantly decreased compared to the control treatment ($p<0.05$). However, the lowest level of ALT (0.76±0.2 U/l) was measured in fish fed with 10% faba bean meal ($p<0.05$). The moisture and fat contents of liver showed significant difference by increasing the levels of faba bean in diet ($p<0.05$). No significant differences were shown in cholesterol, triglyceride, HSI, liver protein and liver ash contents ($p>0.05$). Highly significant positive correlation were observed between total protein, cholesterol, AST, LDH, ALP and liver fat ($p<0.01$). **CONCLUSIONS:** Use of lower levels of faba bean (up to 25%) had no significant effect on serum lipids and no adverse effect on liver function of juvenile beluga.

Key words: faba bean, juvenile beluga, liver function, serum lipids

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Ingredients and proximate composition of experimental diets.

Table 2. The chemical composition of the ingredients used in the experimental diets.

Table 3. The mean of cholesterol, triglycerides and liver enzymes of beluga juvenile fed different levels of faba bean in diet.

Table 4. Correlation values and statistical analyses of cholesterol, triglycerides and liver enzymes of beluga juvenile fed diets contain different levels of faba bean in diet.

Table 5. Liver proximate composition of beluga juveniles fed with different levels of faba bean in diet.

Graph 1. Comparison of Hepatosomatic index (HSI) of beluga juveniles fed diets containing different levels of faba bean.

***Corresponding author's email: soltanzadeh.somayeh@yahoo.com, Tel: 0151-3822565, Fax: 0151-3822565**