



University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

Online ISSN: 2423-7809

Effects of different levels of bile acid supplementation in a high-fat diet on growth, lipid metabolism, carcass composition, and gastrointestinal function in Common Carp (*Cyprinus Carpio*) fingerlings

Fatemeh Hekmatpour¹ | Alireza Ghaedi^{2*} |
 Mohammad Yooneszadeh Fashalami³ | Samira Nazem Roaya⁴ |
 Mansour Torfi Mozanazadeh⁵ | Hamed Mousavi-Sabet⁶

1. South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension, Ahwaz, Iran. Email: hekmatpour@hotmail.com
2. Corresponding Author, Department of Animal Science and Aquaculture Research, Chaharmahal Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran. Email: aliangler@gmail.com
3. South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension, Ahwaz, Iran. Email: m_yooneszadeh@yahoo.com
4. South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension, Ahwaz, Iran. Email: samira.nazemroaya@gmail.com
5. South Iran Aquaculture Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension, Ahwaz, Iran. Email: momeni@hotmail.com
6. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran. Email: mosavii.h@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
 Research Article

Article History:
 Received: 27 April 2025
 Revised: 4 June 2025
 Accepted: 22 June 2025
 Published online: 23 September 2025

Keywords:
Bile acid,
Carcass biochemical composition,
Common carp,
High-fat diet.

ABSTRACT

A 60-day nutritional experiment was conducted to investigate the effects of dietary bile acids (70% Roneon) in feed containing 10% plant fat on growth performance, biochemical composition of the body, nutrient efficiency, and digestive enzyme activity of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). Five diets were formulated and produced with a constant protein level (32%) and fat level (10%) with varying bile acid levels. The dietary-bile acid levels of (A) 0, (B) 300, (C) 600, (D) 900, and (E) 1200 mg.kg⁻¹ consisted the experimental treatments, triplicates. The experimental unit was three 300-liters polyethylene fish tanks with flowing water, in which 30 common carps (initial body weight 0.63±12.44 g) introduced. The final weight in treatment B was significantly higher compared to A and E groups. The highest daily growth rate and condition factor were observed in treatment B. The feed conversion ratio in E group, was significantly higher among treatments. The fat retention efficiency in diet B, was significantly greater than D and E treatments. The activity of the digestive enzyme lipase in treatments C and D, and alkaline phosphatase activity in treatment A, were significantly higher compared to other treatments as well. The results of this study indicated that using diet containing 10%, fat and 300 mg.kg⁻¹ bile acids improve growth indices and feed efficiency during culture of juvenile common carp.

Cite this article: Hekmatpour, F., Ghaedi, A.R., Yooneszadeh Fashalami, M., Nazem Roaya, S., Torfi Mozanazadeh, M., Mousavi-Sabet, H. (2025). Effects of different levels of bile acid supplementation in a high-fat diet on growth, lipid metabolism, carcass composition, and gastrointestinal function in Common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Journal of Fisheries*, 78 (3), 215-229. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.394178.1458>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
 DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.394178.1458>



دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

سایت نشریه: <https://jfisheries.ut.ac.ir>

بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید صفراوی موجود در جیره غذایی کپور معمولی انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*) بر رشد، متابولیسم چربی، ترکیب شیمیایی لاشه و عملکرد دستگاه گوارش

فاطمه حکمت‌پور^۱ | علیرضا قاندي^{۲*} | محمد یونس‌زاده فشالمی^۳ | سمیرا ناظم‌رعایا^۴ | منصور طرفی مؤذن‌زاده^۵ | سید حامد موسوی ثابت^۶

۱. پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: hekmatpour@hotmail.com
۲. نویسنده مسئول، بخش تحقیقات علوم دامی و شیلات، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران. رایانامه: aliangler@gmail.com
۳. پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: m_yooneszadeh@yahoo.com
۴. پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: samira.nazemroaya@gmail.com
۵. پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: momeni@hotmail.com
۶. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران. رایانامه: mosavii.h@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: پژوهشی	یک آزمایش تغذیه‌ای ۶۰ روزه برای بررسی اثرات اسیدهای صفراوی جیره (رونئون ۷۰ درصد) در خوراک با میزان چربی گیاهی ۱۰ درصد بر عملکرد رشد، ترکیب بیوشیمیایی بدن، کارایی مواد مغذی و فعالیت آنزیم گوارشی ماهی کپور معمولی (<i>Cyprinus carpio</i>) انگشت‌قد انجام شد. پنج جیره غذایی با پروتئین (۳۲٪) و چربی یکسان (۱۰٪) و سطوح مختلف اسید صفراوی فرموله و تولید گردید. جیره‌ها به ترتیب حاوی (A) صفر، جیره (B) ۳۰۰، جیره غذایی (C) ۶۰۰، جیره غذایی (D) ۹۰۰ و جیره غذایی (E) حاوی ۱۲۰۰ میلی گرم اسید صفراوی بر کیلوگرم خوراک بودند. هر جیره غذایی به سه مخزن ۳۰۰ لیتری پلی‌اتیلنی، دارای آب جریان‌دار، حاوی ۳۰ ماهی کپور معمولی (وزن اولیه بدن ۶۳±۱۲/۴۴ گرم) به‌طور تصادفی اختصاص داده شد. وزن نهایی در تیمار B، به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای A و E بود. بیشترین نرخ رشد روزانه و فاکتور چاقی در تیمار B با اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. ضریب تبدیل خوراک در تیمار E به‌طور معنی‌دار بالاتر از سایر تیمارها بود. بازده تثبیت چربی در تیمار B به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمارهای D و E ثبت گردید. فعالیت آنزیم گوارشی لیپاز در تیمارهای C و D و فعالیت فسفاتاز قلیایی در تیمار A به‌طور معنی‌دار بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد در سطح چربی ۱۰٪ در خوراک ماهی انگشت‌قد کپور معمولی، سطح مکمل ۳۰۰ میلی گرم اسیدصفراوی بر کیلوگرم سبب بهبود شاخص‌های رشد و کارایی خوراک گردید.
تاریخ‌های مقاله: تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۷ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۱ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱	
کلیدواژه: جیره پر چرب، اسید صفراوی، عملکرد رشد، ترکیب بیوشیمیایی لاشه، کپور معمولی.	

استناد: حکمت‌پور، فاطمه، قاندي، علیرضا، یونس‌زاده فشالمی، محمد، ناظم‌رعایا، سمیرا، طرفی مؤذن‌زاده، منصور، موسوی ثابت، حامد (۱۴۰۴). بررسی تأثیر سطوح مختلف مکمل اسید صفراوی موجود در جیره غذایی کپور معمولی انگشت‌قد (*Cyprinus carpio*) بر رشد، متابولیسم چربی، ترکیب شیمیایی لاشه و عملکرد دستگاه گوارش.

نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۷۸ (۳)، ۲۲۹-۲۱۵. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.394178.1458>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfisheries.2025.394178.1458>



۱. مقدمه

در سال‌های اخیر با توسعه صنعت آبی‌پروری و افزایش تقاضای جهانی برای منابع پروتئینی سالم، نیاز به تولید خوراک باکیفیت برای انواع گونه‌های پرورشی از جمله ماهیان آب شیرین به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است. در این میان، یکی از مهم‌ترین چالش‌ها، طراحی و فرمولاسیون جیره‌هایی است که بتوانند نیازهای تغذیه‌ای آبزیان را به‌طور کامل برآورده کنند، از نظر اقتصادی نیز مقرون‌به‌صرفه بوده، آثار زیست‌محیطی کمتری بر جای بگذارند و با بهره‌گیری از منابع پروتئینی جایگزین مانند پروتئین‌های گیاهی و جانوری غیرممتداول، کیفیت نهایی محصول را حفظ یا ارتقاء دهند (Guo et al., 2011). در این راستا، استفاده از چربی به عنوان یک منبع انرژی ارزان‌تر نسبت به پروتئین در جیره‌های غذایی، یکی از راهکارهای مؤثر برای صرفه‌جویی در استفاده از پروتئین، کاهش هزینه خوراک، و کاهش دفع نیتروژن در آبی‌پروری به‌شمار می‌رود (Watanabe, 1982; NRC, 2011). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که در صورت تأمین چربی در سطوح مناسب، می‌توان نیاز به پروتئین خوراک را کاهش داد بدون آنکه بر رشد یا بازده غذا اثر منفی گذاشته شود (Huang et al., 2017; Wang et al., 2019). با این حال، تغذیه طولانی‌مدت ماهیان با جیره‌های پرچرب می‌تواند پیامدهای منفی متعددی به‌همراه داشته باشد که از جمله مهم‌ترین آنها تجمع بیش از حد چربی در بافت کبد است. این وضعیت می‌تواند به بروز اختلالات متابولیکی، کاهش عملکرد کبد، افت سنتز پروتئین، مسمومیت سلولی، کاهش رشد و ضریب تبدیل غذایی، تضعیف سیستم ایمنی و در نهایت افزایش حساسیت به بیماری‌ها و مرگ‌ومیر در ماهی منجر شود (Asaoka et al., 2013; Wang et al., 2005). بروز "کبد چرب" به‌عنوان یک بیماری رایج در پرورش آبزیان، تهدیدی جدی برای سلامت ماهیان و پایداری تولید اقتصادی محسوب می‌شود. برای پیشگیری یا کنترل این مشکل، استفاده از افزودنی‌های خوراکی محافظت‌کننده کبد مانند اسیدهای صفراوی، رسوراترول، بتائین، آلیسین و اینوزیتول مورد توجه قرار گرفته است (Zhang et al., 2022). اسیدهای صفراوی که به‌طور طبیعی در کبد از کلسترول سنتز می‌شوند، نقش کلیدی در هضم و جذب چربی، تنظیم کلسترول خون، و نیز حفظ تعادل انرژی، گلوکز و چربی در بدن ایفا می‌کنند (Hofmann and Hagey, 2008). این ترکیبات نه تنها در فرآیند هضم نقش دارند، بلکه به‌عنوان مولکول‌های سیگنالی نیز شناخته می‌شوند که بر متابولیسم عمومی بدن از جمله هموستاز تری‌گلیسیرید، کلسترول و گلوکز اثرگذارند (Houten et al., 2006).

مطالعات اخیر حاکی از آن است که افزودن مکمل اسیدهای صفراوی به جیره‌های غذایی حاوی سطوح بالای چربی یا پروتئین گیاهی، می‌تواند عملکرد رشد، بازده تغذیه و سلامت عمومی ماهی را بهبود بخشد. این ترکیبات با تقویت عملکرد کبد، کاهش آپوپتوز سلول‌های کبدی، اصلاح فلور میکروبی روده، بهبود ریخت‌شناسی دستگاه گوارش و افزایش کارایی استفاده از مواد مغذی، نقش حفاظتی و عملکردی مؤثری در تغذیه آبزیان ایفا می‌کنند (Jiang et al., 2018; Yin et al., 2021). با توجه به مزایای فیزیولوژیک اسیدهای صفراوی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات تغذیه‌ای مکمل رونتون II - حاوی اسیدهای صفراوی؛ در جیره غذایی فرموله‌شده با منابع پروتئینی گیاهی و حاوی چربی بالا برای ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طراحی گردید. در این پژوهش تلاش شد اثرات این مکمل بر شاخص‌های رشد، بازده تغذیه، عملکرد گوارشی و ترکیب شیمیایی بدن کپور انگشت‌قد مورد ارزیابی دقیق قرار گیرد تا بتواند به بهینه‌سازی فرمولاسیون خوراک در شرایط پرورشی متکی بر منابع گیاهی کمک کند.

۲. روش‌شناسی پژوهش

این پژوهش با حمایت مالی شرکت البرز دارو گستر در اهواز، پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور انجام شد. منابع پروتئین بکار رفته جهت ساخت غذا شامل پودر ماهی، پودر زائادات کشتارگاهی طیور و کنجاله سویا بود. منبع چربی جیره از روغن گیاهی آفتابگردان و کلزا تأمین شد. خوراک در شرکت کیمیاگران تغذیه تولید شد. جیره‌های غذایی جهت تعیین ارزش تغذیه‌ای طبق روش‌های استاندارد تعریف شده در دستورالعمل AOAC (۲۰۰۵) مورد تجزیه بیوشیمیایی قرار گرفتند.

در جدول ۱ فرمول خوراک ارائه شده است. به جیره پایه که حاوی ۳۲ درصد پروتئین و ۱۰ درصد چربی بود، به‌ترتیب سطوح ۰، ۳۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک اسید صفراوی (مکمل اسیدهای صفراوی Runeon II، ۷۰ درصد خلوص، تولید شرکت China, Lachan) افزوده شد.

جدول ۱- اجزاء، مقدار و ترکیب تقریبی بیوشیمیایی جیره پایه غذایی
(به ترتیب گرم در کیلوگرم و گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک، تعداد=۳؛ میانگین±اختلاف استاندارد)

میزان در جیره (kg)	اقلام
۸۵	آرد ماهی
۲۲۰	آرد ضایعات طیور
۳۶۰	کنجاله سویا
۲۰	ژلاتین
۱۴۰	آرد گندم
۶۰	ذرت
۶۵	آردک برنج
۴۰	روغن سویا
۵	مکمل ویتامین
۵	مکمل معدنی
۱۰۰۰	جمع کل
ترکیب تقریبی بیوشیمیایی جیره پایه	
۹۳/۴۸±۰/۲۲	ماده خشک
۳۲/۰۳±۰/۱۴	پروتئین خام
۱۰/۲۰±۰/۷۷	چربی خام
۸/۲ ± ۰/۳۲	خاکستر
۷/۵ ± ۰/۶۵	فیبر خام

پودر ماهی حاوی ۵۲ درصد پروتئین و ۱۸ درصد چربی، پودر زائدات کشتارگاهی طیور حاوی ۴۸ درصد پروتئین و ۱۹ درصد چربی، کنجاله سویا حاوی ۴۱ درصد پروتئین و ۱ درصد چربی

۲-۱. پرورش بچه ماهیان

این پروژه در پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور، اهواز انجام شد. ماهیان بعد از دو هفته سازگاری در سالن تکثیر و تغذیه دو بار در روز با جیره شاهد، با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و تعداد ۳۰ ماهی با متوسط وزن اولیه $12/44 \pm 0/63$ گرم در هر مخزن ذخیره سازی شد. ۱۸ مخزن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلن مدور با خروجی مرکزی، برای اجرای پروژه تحقیقاتی مورد استفاده قرار گرفت. هر سه مخزن به عنوان تکرار به صورت کاملاً تصادفی به یک تیمار آزمایشی اختصاص یافت. به منظور تأمین اکسیژن در حد اشباع (۷-۸ میلی گرم در لیتر)، هر مخزن مجهز به سنگ هوا بود. هر مخزن مجهز به بخاری جهت تنظیم دما در دامنه مطلوب و طول مدت روشنایی سالن ۱۲ ساعت در شبانه روز بود. سیستم آب جریان دار و سرعت جریان آب ۲ لیتر در دقیقه بود، به طوری که روزانه ۱۰ درصد آب از کف مخزن خارج می شد. ماهیان به مدت ۶۰ روز، دو بار در روز در ساعات ۹:۰۰ و ۱۴:۰۰ با جیره های غذایی آزمایشی به صورت دستی و تا سطح سیری ظاهری غذایی شدند.

۲-۲. نمونه برداری

در پایان دوره پرورش، ماهیان هر مخزن پس از ۲۴ ساعت قطع غذا، با استفاده از ماده بیهوشی ۲- فنوکسی اتانول (اتیلین گلیکول مونوفنیل اتر؛ Merck, Schucherd, Germany)، ۰/۵ میلی لیتر در یک لیتر آب بیهوش شدند. ماهیان هر مخزن از نظر طول کل با استفاده از تخته زیست سنجی با دقت ۰/۰۱ سانتی متر و وزن تر (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) به صورت مجزا مورد سنجش قرار گرفتند. ماهیان توسط میزان بالای ماده بیهوشی آسان کشی شدند. سپس محتویات احشایی ماهیان روی یخ خشک جداسازی گردید. در پی آن دستگاه گوارش با سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد سرد به خوبی شستشو داده شد. بخش ابتدایی روده جداسازی گردید و در میکروتیوپ ها با مخزن نیتروژن به فریزر -۸۰ درجه سانتی گراد تا زمان سنجش آنزیم های گوارشی انتقال داده شد. از باقی مانده لاشه ماهیان فیله جداسازی گردید. علاوه بر آن جهت انجام تجزیه ترکیب بیوشیمیایی کل بدن، تعداد ۳ ماهی از هر مخزن آزمایشی جداسازی و آسان کشی شد. فیله و کل بدن ماهیان به طور مجزا در کیسه های حاوی برچسب به فریزر -۸۰ درجه

سانتی گراد تا زمان انجام تعیین ترکیب بیوشیمیایی انتقال یافتند. جهت بررسی میزان عملکرد رشد و کارایی تغذیه‌ای جیره‌های غذایی آزمایشی در ماهیان جوان کپور معمولی (*C. carpio*) در انتهای دوره آزمایش، از فرمول‌های ذیل استفاده گردید: نرخ رشد روزانه (DGR)، درصد وزن گیری (WG%)، نرخ رشد ویژه (SGR)، میزان بقا (SR)، فاکتور چاقی (K)، غذاگیری (FI)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب بازده پروتئین (PER)، بازده تثبیت نیتروژن (NRE^۱)، بازده تثبیت چربی (FRE)

۲-۳. سنجش شاخص‌های رشد و بقا

نرخ رشد روزانه $DGR = (W_t - W_0) / t$

درصد وزن $WG (\%) = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$

نرخ رشد ویژه $SGR (\% \text{ fish}^{-1}) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$

شاخص چاقی $K (g \cdot cm^{-3}) = 100 \times W_s / L \cdot s^3$

میزان بقا $SR (\%) = 100 \times N_t / N_0$

۲-۴. سنجش شاخص‌های تغذیه

غذاگیری $FI (\% \text{ day}^{-1}) = 100 \times I / [(W_0 + W_t) / 2 \times t]$

ضریب تبدیل غذایی $FCR (\text{dry feed gain}^{-1}) = I / (W_t - W_0)$

ضریب بازده پروتئین $PER = (W_t - W_0) / (I \times CN_f)$

بازده تثبیت نیتروژن $NRE (\%) = 100 \times (W_t \times CN_f - W_0 \times CN_0) / (I \times CN_f)$

بازده تثبیت چربی $FRE (\%) = 100 \times (W_t \times CF_f - W_0 \times CF_0) / (I \times CF_f)$

I: میزان کل جیره آزمایشی داده شده براساس وزن خشک بر حسب گرم؛ W_0 : وزن اولیه لاشه ماهی بر حسب گرم؛ W_t : وزن نهایی لاشه ماهی بر حسب گرم؛ t: طول دوره آزمون تغذیه بر حسب روز؛ N_t : تعداد ماهیان در پایان دوره آزمون تغذیه، N_0 : تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش C_{Nf} و C_{Fi} به ترتیب محتوای پروتئین خام و چربی خام کل لاشه در پایان آزمون تغذیه بر حسب درصد؛ C_{N0} و C_{F0} به ترتیب میزان پروتئین خام و چربی لاشه اولیه بر حسب درصد؛ C_{Nf} و C_{Fi} : محتوای پروتئین خام و چربی خام جیره‌های آزمایشی بر حسب درصد و L_s : طول استاندارد بدن

۲-۵. روش تعیین ترکیب بیوشیمیایی

تعداد ۶ عدد ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی صید و ۳ عدد برای آنالیز کل بدن و ۳ عدد برای استحصال فیله مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب بیوشیمیایی کل بدن و فیله؛ با استفاده از روش AOAC (۲۰۰۵) سنجش شد. درصد ماده خشک از قرار دادن مقدار مشخصی از نمونه در داخل آون (ایران خودساز، تهران) با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت به دست آمد. با استفاده از روش کلدال و دستگاه (BÜCHI, Auto-Kjeldahl K-370, Switzerland)، میزان نیتروژن به دست آمده و در عدد ۶/۲۵ ضرب گردید و محتوای پروتئین محاسبه شد. اندازه گیری چربی کل به کمک دستگاه سوکسله (Barnstead/ Electrothermal, UK)، فیبر خام جیره‌های غذایی پس از هضم اسیدی و قلیایی نمونه در دستگاه (VELP® Scientifica, Italy) و قرار دادن نمونه خشک در کوره (Finetech, Shin Saeng Scientific, South Korea) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد و خاکستر کل بدن و فیله با استفاده از کوره الکتریکی (Finetech, Shin Saeng Scientific, South Korea) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۸ ساعت سنجش شد.

۲-۶. روش سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

محاسبه فعالیت‌های آنزیمی بیشتر براساس پروتئین محلول صورت می‌گیرد. بنابراین، فعالیت آنزیم براساس $U \text{ mg protein}$ یا $mU \text{ mg protein}$ به عنوان فعالیت اختصاصی یا فعالیت ویژه بیان می‌شود. بخش ابتدایی نمونه‌های روده توسط هموژنایزر دستی (مدل

¹Nitrogen retention efficiency

IKA®T18 basic ساخت کشور آمریکا) هموژن شد (Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2006). سپس به نسبت ۱ به ۹ (w/v) محلول بافر هموژن بر روی نمونه ریخته شد. پس از سانتیفریوژ نمونه‌های هموژن شده از مایع رویی به‌دست آمده برای سنجش آنزیمی استفاده شد. سنجش غلظت پروتئین کل با استفاده از کیت تشخیصی کمی پروتئین کل شرکت پارس آزمون (کرج، ایران)، (Thomas, 1998; Johnson *et al.*, 1999; Borges *et al.*, 2004) و توسط دستگاه اتوآنالایزر (Mindray BS-200, China) برحسب (g dL^{-1}) محاسبه و گزارش گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم تریپسین از روش Worthington (۱۹۹۱) استفاده گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم کیموتریپسین از روش Hummel (۱۹۵۹) استفاده گردید. فعالیت آنزیم لیپاز با استفاده از کیت تولیدی شرکت پارس آزمون سنجش گردید (Leybold and Junge, 1986; Tietz and Shuey, 1993). فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز براساس روش فنومتریک آنزیمی-کالریمتری با استفاده از کیت تشخیص کمی آلفا-آمیلاز ۲ شرکت پارس آزمون سنجیده شد (Kruse-Jarres *et al.*, 1989; Hohenwallner *et al.*, 1989). کلیه مراحل سنجش آنزیم فسفاتاز قلیایی به‌صورت خودکار توسط دستگاه اتوآنالایزر و با سنجش میزان جذب نور در نمونه در طول موج ۴۰۵ نانومتر انجام شد. جهت سنجش این آنزیم کیت تشخیص کمی فسفاتاز قلیایی شرکت پارس آزمون مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۷. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای انجام ANOVA، داده‌ها از نظر توزیع نرمال واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. نرمال بودن داده‌ها توسط تست Shapiro-Wilk بررسی شد. پس از مشاهده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون ANOVA از پس آزمون دانکن ۳ برای مقایسات چندگانه استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد گزارش شد. داده‌های حاصل از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۵ (Chicago, Illinois, USA) پردازش شدند. در نهایت برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (۲۰۱۰) استفاده شد.

۳. یافته‌های پژوهش

بیشترین وزن نهایی در تیمار ۳ ($33/27 \pm 2/77$ گرم) به‌طور معنی‌دار نسبت به تیمارهای ۲ و ۶ و در تیمار ۲ به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمار ۶ ($21/24 \pm 1/69$ گرم) بود ($P < 0/05$; جدول ۲). بیشترین نرخ رشد روزانه به‌طور معنی‌دار در تیمار ۳ ($0/36 \pm 0/01$) نسبت به تیمارهای ۲، ۵ و ۶ بود ($P < 0/05$). بیشترین درصد وزن‌گیری در تیمار ۳ ($211/84 \pm 9/47$) بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد و به‌طور معنی‌دار نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بود ($P < 0/05$). نرخ رشد ویژه مشابه وزن نهایی در تیمار ۳ ($2/05 \pm 0/18$) بدون اختلاف معنی‌دار با تیمار ۱ به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمار ۶ ($1/06 \pm 0/05$) بود ($P < 0/05$). فاکتور چاقی نیز در تیمار ۳ ($1/92 \pm 0/04$) به‌طور معنی‌دار از تیمارهای ۲، ۴ و ۶ بالاتر بود ($P < 0/05$). کمترین شاخص چاقی در تیمار ۲ با میزان $1/57 \pm 0/03$ ثبت گردید.

جدول ۲- شاخص رشد و بقا ماهیان کپور معمولی جوان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسید صفراوی (تعداد = ۲۰، میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

تیمار	A	B	C	D	E
شاخص رشد					
وزن اولیه (گرم)	$12/09 \pm 1/13$	$11/44 \pm 1/12$	$13/65 \pm 0/65$	$13/53 \pm 0/93$	$12/52 \pm 1/52$
وزن نهایی (گرم)	$27/07 \pm 0/48^b$	$33/27 \pm 2/77^a$	$28/64 \pm 1/68^{ab}$	$29/00 \pm 0/31^{ab}$	$21/24 \pm 1/69^c$
نرخ رشد روزانه (گرم)	$0/25 \pm 0/01^{bc}$	$0/36 \pm 0/01^a$	$0/28 \pm 0/01^{ab}$	$0/25 \pm 0/01^{bc}$	$0/17 \pm 0/01^c$
وزن‌گیری (%)	$125/61 \pm 4/03^b$	$211/84 \pm 9/47^a$	$121/56 \pm 4/01^b$	$120/52 \pm 4/11^b$	$84/02 \pm 2/73^c$
نرخ رشد ویژه %	$1/36 \pm 0/03^b$	$2/05 \pm 0/18^a$	$1/34 \pm 0/02^b$	$1/27 \pm 0/13^b$	$1/06 \pm 0/05^b$
طول کل (سانتی‌متر)	$11/59 \pm 0/17^{ab}$	$11/77 \pm 0/19^a$	$11/03 \pm 0/16^b$	$11/12 \pm 0/14^b$	$10/23 \pm 0/13^c$
شاخص چاقی	$1/57 \pm 0/03^c$	$1/92 \pm 0/04^a$	$1/75 \pm 0/05^b$	$1/81 \pm 0/04^{ab}$	$1/69 \pm 0/04^{bc}$
بقا (%)	$98/33 \pm 1/67$	$98/33 \pm 1/67$	$100/00 \pm 0/00$	$95/00 \pm 5/00$	$95/00 \pm 1/67$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

A:0%, B: 300 mg.kg⁻¹, C:600 mg.kg⁻¹, D:900 mg.kg⁻¹, E: 1200 mg.kg⁻¹

² α -Amylase

³Duncan

۳-۱. اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهیان

محتوای ترکیب بیوشیمیایی تقریبی خشک کل بدن از جمله پروتئین، چربی و خاکستر کپور ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی، در بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($P>0.05$; جدول ۳). پروتئین، چربی و خاکستر فیله ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت چربی و اسیدصفراوی پس از دوره ۶۰ روز اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($P>0.05$).

جدول ۳- ترکیب بیوشیمیایی کل بدن و فیله ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید صفراوی (تعداد=۳، میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

تیمار	A	B	C	D	E
ترکیب بیوشیمیایی کل بدن (در ۱۰۰ گرم وزن خشک)					
پروتئین خام*	۴۹/۸۶ $\pm$ ۰/۰۷	۴۷/۳۳ $\pm$ ۱/۰۵	۴۶/۲۸ $\pm$ ۱/۲۵	۴۶/۰۲ $\pm$ ۱/۹۳	۴۶/۲۸ $\pm$ ۱/۳۶
چربی خام*	۲۷/۲۱ $\pm$ ۰/۰۸	۲۸/۵۴ $\pm$ ۰/۲۳	۲۸/۱۸ $\pm$ ۱/۳۱	۲۷/۱۳ $\pm$ ۰/۶۸	۳۰/۳۰ $\pm$ ۰/۲۵
خاکستر*	۱۴/۷۳ $\pm$ ۰/۱۶	۱۵/۵۵ $\pm$ ۰/۲۶	۱۵/۲۲ $\pm$ ۰/۵۵	۱۵/۱۴ $\pm$ ۰/۲۳	۱۶/۰۱ $\pm$ ۱/۳۰
ترکیب بیوشیمیایی فیله (در ۱۰۰ گرم وزن خشک)					
پروتئین خام*	۷۴/۷۵ $\pm$ ۰/۷۰	۷۷/۶۰ $\pm$ ۰/۶۲	۷۲/۷۰ $\pm$ ۱/۲۰	۷۷/۰۲ $\pm$ ۱/۰۰	۷۴/۰۰ $\pm$ ۰/۵۰
چربی خام*	۱۷/۷۳ $\pm$ ۱/۴۴	۱۹/۲۱ $\pm$ ۲/۸۹	۱۷/۳۲ $\pm$ ۱/۵۰	۱۷/۲۸ $\pm$ ۰/۸۳	۱۸/۲۷ $\pm$ ۱/۲۱
خاکستر*	۵/۰۰ $\pm$ ۰/۳۳	۴/۰۱ $\pm$ ۰/۱۵	۴/۴۹ $\pm$ ۰/۱۳	۵/۰۳ $\pm$ ۰/۱۰	۴/۳۷ $\pm$ ۰/۳۵

A:0%, B: 300 mg.kg⁻¹, C:600 mg.kg⁻¹, D:900 mg.kg⁻¹, E: 1200 mg.kg⁻¹

۳-۲. اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر بازده تغذیه

میزان غذای کسب شده در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P>0.05$; جدول ۴). بیشترین ضریب تبدیل خوراک به طور معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها در تیمار ۶ ($2/29 \pm 0/47$) مشاهده شد ($P<0.05$). ضریب تبدیل خوراک در تیمار شاهد با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P>0.05$). به‌طور معکوس بیشترین ضریب بازده پروتئین به‌طور معنی‌دار در تیمار ۳ ($1/33 \pm 0/03$) و کمترین در تیمار ۶ ($2/87 \pm 0/35$) ثبت شد ($P<0.05$). بازده تثبیت نیتروژن در تیمار ۳ ($52/45 \pm 4/77$ درصد) به طور معنی‌دار بیشتر از تیمارهای ۲، ۴، ۵ و ۶ ($18/99 \pm 0/82$ درصد) بود ($P<0.05$). بازده تثبیت نیتروژن در تیمار شاهد با تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0.05$). بازده تثبیت چربی در تیمار ۳ ($96/24 \pm 0/34$) به‌طور معنی‌دار بیشتر از تیمارهای ۵ و ۶ ($73/85 \pm 3/08$) بود ($P<0.05$). بازده تثبیت چربی در تیمار شاهد با تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ اختلاف معنی‌دار نشان نداد ($P>0.05$).

جدول ۴- شاخص‌های بازده تغذیه ماهی کپور معمولی جوان تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی (تعداد=۳، میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

تیمار	A	B	C	D	E
شاخص تغذیه					
غذای مصرفی (day ⁻¹ %)	۱/۸۷ $\pm$ ۰/۱۵	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۰۸	۱/۸۳ $\pm$ ۰/۲۶	۱/۷۲ $\pm$ ۰/۱۳	۲/۱۰ $\pm$ ۰/۱۵
ضریب تبدیل خوراک	۱/۴۶ $\pm$ ۰/۰۹ ^b	۱/۰۱ $\pm$ ۰/۱۲ ^b	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۲۷ ^b	۱/۵۲ $\pm$ ۰/۱۶ ^b	۲/۲۹ $\pm$ ۰/۴۷ ^a
ضریب بازده پروتئین	۱/۹۷ $\pm$ ۰/۱۳ ^{ab}	۲/۸۷ $\pm$ ۰/۳۵ ^a	۱/۷۴ $\pm$ ۰/۵۹ ^{ab}	۲/۰۴ $\pm$ ۰/۳۴ ^{ab}	۱/۳۳ $\pm$ ۰/۰۳ ^b
بازده تثبیت نیتروژن	۳۴/۶۵ $\pm$ ۳/۱۵ ^{bc}	۵۲/۴۵ $\pm$ ۴/۷۷ ^a	۲۵/۲۵ $\pm$ ۲/۳۰ ^c	۲۳/۳۴ $\pm$ ۲/۱۲ ^c	۱۸/۹۹ $\pm$ ۰/۸۲ ^c
بازده تثبیت چربی	۹۰/۵۴ $\pm$ ۲/۳۰ ^{ab}	۹۶/۲۴ $\pm$ ۰/۳۴ ^a	۸۷/۰۱ $\pm$ ۰/۶۴ ^{ab}	۸۳/۵۷ $\pm$ ۲/۸۷ ^b	۷۳/۸۵ $\pm$ ۳/۰۸ ^c

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

A:0%, B: 300 mg.kg⁻¹, C:600 mg.kg⁻¹, D:900 mg.kg⁻¹, E: 1200 mg.kg⁻¹

۳-۳. اثر جیره‌های غذایی آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده

میزان فعالیت آنزیم تریپسین و کیموتریپسین بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار نشان ندادند ($P>0.05$; جدول ۵). آنزیم لیپاز بیشترین فعالیت را به‌طور معنی‌دار در تیمار ۴ ($5/95 \pm 0/37$) میلی واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) نسبت به تیمارهای ۲، ۳ و ۶ ($P<0.05$). بیشترین فعالیت در تیمار ۴ بدون اختلاف معنی‌دار با تیمارهای ۱ و ۵ و کمترین میزان فعالیت به‌طور معنی‌دار

در تیمار ۶ ($4/27 \pm 0/10$) میلی واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) بدون اختلاف معنی دار با تیمارهای ۲ و ۳ ثبت گردید. بالاترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به طور معنی دار نسبت به سایر تیمارها در تیمار ۱ ($21/85 \pm 1/38$) واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) مشاهده شد ($P < 0/05$). بالاترین فعالیت فسفاتاز قلیایی به طور معنی دار در تیمار ۱ ($10/44 \pm 325/83$) میلی واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) و کمترین فعالیت را به طور معنی دار در تیمار ۴ ($139/13 \pm 3/24$) میلی واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه؛ ($P < 0/05$) بدون اختلاف معنی دار با تیمارهای ۳ و ۶ نشان داد ($P > 0/05$).

جدول ۵- فعالیت آنزیمهای گوارشی روده (واحد بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) کپورماهیان تغذیه شده با جیره های غذایی آزمایشی (تعداد=۳، میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

آنزیم گوارشی	A	B	C	D	E
تریپسین*	$11/21 \pm 0/12$	$11/07 \pm 0/16$	$11/51 \pm 0/49$	$11/50 \pm 0/28$	$11/33 \pm 0/16$
کیموتریپسین*	$22/69 \pm 1/35$	$20/93 \pm 0/18$	$21/26 \pm 0/48$	$21/09 \pm 0/28$	$20/42 \pm 0/77$
لیپاز**	$4/82 \pm 0/08^{cb}$	$4/46 \pm 0/22^c$	$5/95 \pm 0/37^a$	$5/41 \pm 0/05^{ab}$	$4/27 \pm 0/10^c$
آلفا-آمیلاز*	$8/70 \pm 0/80^b$	$8/35 \pm 0/78^b$	$9/20 \pm 0/21^b$	$9/02 \pm 0/72^b$	$9/93 \pm 0/51^b$
فسفاتاز قلیایی**	$220/39 \pm 7/79^b$	$166/65 \pm 4/90^{cd}$	$139/13 \pm 3/24^d$	$181/89 \pm 5/49^c$	$153/86 \pm 8/47^{cd}$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

A:0%, B: 300 mg.kg⁻¹, C:600 mg.kg⁻¹, D:900 mg.kg⁻¹, E: 1200 mg.kg⁻¹

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

در این مطالعه، مشاهده شد که استفاده از مکمل اسید صفراوی در جیره های پرچرب منجر به بهبود شاخص های رشد و بازده تغذیه در کپور معمولی انگشت قد شد، در حالی که در تیمار فاقد مکمل، شاخص هایی مانند ضریب بازده پروتئین (PER)، بازده تثبیت نیتروژن (NRR)، خاکستر و فاکتور چاقی (CF) به طور معنی داری کمتر بودند. از دیدگاه فیزیولوژیک، این نتایج را می توان به نقش کلیدی اسیدهای صفراوی در هضم و جذب لیپیدها نسبت داد. اسیدهای صفراوی با افزایش امولسیون سازی چربی های خوراک، تشکیل میسل های مختلط و تسهیل دسترسی آنزیم لیپاز به تری گلیسیریدها، فرآیند هیدرولیز چربی را تسریع کرده و جذب مؤثرتر اسیدهای چرب و ویتامین های محلول در چربی را ممکن می سازند. در نبود این مکمل، ظرفیت هضم و جذب چربی کاهش یافته و بخشی از انرژی قابل دسترس خوراک به صورت غیر قابل استفاده باقی می ماند که می تواند منجر به کاهش سنتز پروتئین و نیتروژن گیری مؤثر، و در نتیجه افت شاخص های رشد شود. از سوی دیگر، افزایش غیر معنی دار میزان غذاگیری و FCR در تیمار فاقد مکمل ممکن است ناشی از تلاش ماهی برای جبران کمبود انرژی قابل استفاده از طریق مصرف بیشتر خوراک باشد، که باز هم به دلیل ضعف در جذب مؤثر لیپید، منجر به افزایش بازده نمی شود (Yang et al., 2023). بنابراین، نقش مکمل اسید صفراوی نه تنها در تسهیل متابولیسم چربی بلکه در بهبود کلی کارایی رشد و ترکیب بدنی از نظر فیزیولوژیک کاملاً توجیه پذیر است (Tang et al., 2019).

مشابه مطالعه حاضر تغذیه با جیره غذایی با چربی بالاتر از سطح مطلوب به طور قابل توجهی رشد شوریده بزرگ زرد (*Otolithes ruber*) (Ding et al., 2020)، کپور علفخوار، (*Ctenopharyngodon Idella*) (Zhou et al., 2018) و باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) (Yin et al., 2021) را بهبود بخشید. این نشان می دهد که صرفاً افزایش سطح چربی خوراک نمی تواند به هدف ارتقاء رشد دست یابد (Ding et al., 2020). برخی از مطالعات قبلی هیچ تغییر قابل توجهی یا حتی کاهش رشد را پس از تغذیه ماهی با جیره غذایی با چربی بالا نشان نداده اند.

حداکثر کارایی رشد از جمله وزن نهایی، نرخ رشد روزانه، درصد وزن گیری نرخ رشد ویژه، فاکتور چاقی در کپور ماهیان تغذیه شده با سطح ۳۰۰ میلی گرم مکمل اسید صفراوی رونئون ۷۰ درصد مشاهده شد؛ منطبق با تیماری که حداکثر بازده تثبیت نیتروژن، بازده تثبیت چربی، پروتئین خام بدن و فیله، چربی خام فیله و حداقل ضریب تبدیل خوراک در آن ثبت گردید. حداقل شاخص کارایی رشد و بازده تغذیه در تیمار پرچرب با ۱۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مکمل اسید صفراوی مشاهده شد. دلایل احتمالی این موضوع مربوط به اثر تخریبی سطوح بالای اسید صفراوی بر بافت گوارش است. این اثر به صورت التهاب روده و استرس اکسیداتیو در سلول ها بروز می کند (Yang et al., 2021). از سوی دیگر اسیدهای صفراوی بخشی از سیستم بازخورد تنظیمی متابولیسم چربی اند. در دوزهای بالا ممکن است گیرنده های هسته ای (Foresaid X Receptor) بیش از حد فعال شده و سنتز داخلی صفرا و حتی

آنزیم‌های گوارشی را سرکوب کند. از دلایل دیگر می‌توان به خاصیت ضد میکروبی اسید صفراوی اشاره کرد که در سطوح بالا فعالیت میکروبیوتای روده را مختل کرده و توازن میکروبی آن را بر هم می‌زند (Liu et al., 2024).

در مطالعه حاضر وزن نهایی و وزن گیری ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۳۰۰ میلی گرم مکمل اسید صفراوی نسبت به تیمار فاقد مکمل به ترتیب ۱/۳ و ۱/۷ برابر و نسبت به ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۲۰۰ مکمل ۱/۶ و ۲/۵ برابر بیشتر بود. این نتیجه نشان می‌دهد که جیره غذایی حاوی مکمل اسید صفراوی استفاده از چربی (هضم، جذب و ابقا به عنوان چربی) در ماهی را بهبود داده است (Yamamoto et al., 2007). مشابه مطالعه حاضر در مطالعه روی کپور علفخوار مکمل اسید صفراوی در سطح ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم در خوراک با چربی بالا (۷ درصد) توانست اثر منفی جیره غذایی با چربی بالا نسبت به جیره با چربی کمتر (۵ درصد) را معکوس کند. شاخص‌های کارایی رشد و بازده تغذیه در کپور علفخوار مشابه مطالعه حاضر به سطوح بهینه رسیدند و حتی از سطوح به دست آمده در جیره غذایی با چربی پایین نیز فراتر رفتند، که نشان می‌دهد مکمل اسید صفراوی در خوراک با چربی بالا می‌تواند عملکرد رشد را افزایش دهد (Zhou et al., 2018). در مطالعه Ruiz و همکاران (۲۰۲۳) سطح مطلوب مکمل براساس کارایی رشد و وزن نهایی لاشه شانک سرطلایی *Sparus aurata*، ۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک نمک صفراوی ثبت شد. نسبت به گروه شاهد بدون مکمل وزن نهایی ۲/۴ افزایش نشان داده بود. مشابه مطالعه حاضر در بررسی Jin و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه روی گونه *Acanthopagrus schlegelii* درجیره غذایی با ۱۷ درصد چربی با ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید صفراوی محتوای چربی در عضله افزایش و پاسخ‌های التهابی در کبد کاهش یافت.

محدوده مناسبی از اسید صفراوی جیره غذایی می‌تواند رشد را افزایش می‌دهد به طور معمول، سطوح بهینه اسید صفراوی جیره غذایی بسته به نوع اسید صفراوی، جیره غذایی پایه (سطح چربی/کربوهیدرات) و گونه ماهی متفاوت است (Sun et al., 2014; Yu et al., 2019). اثر مثبت اسیدهای صفراوی وابسته به دوز، گونه ماهی، ترکیب جیره و سلامت روده است. دوز بهینه موجب بهبود جذب چربی، تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی و ارتقاء سلامت روده می‌شود اما دوزهای فراتر از نیاز ممکن است واکنش‌های التهابی و تأثیر منفی بر رشد داشته باشد. گونه‌های گیاهخوار مانند کپور واکنش متفاوتی نسبت به گونه‌های گوشتخوار دارند به طوری که در جیره‌های با سطح چربی پائین افزودن اسید صفراوی ممکن است اثرات معنی داری نشان ندهد (Yuan et al., 2025).

چندین مطالعه سطوح بهینه اسید صفراوی جیره غذایی برخی گونه‌های ماهی را تخمین زده‌اند، از جمله ۶۰ میلی گرم اسید صفراوی بر کیلوگرم خوراک با چربی بالای کپور علفخوار *C. idella* عملکرد رشد و شاخص‌های بازده خوراک (Zhou et al., 2018)، ۶۰ میلی گرم مکمل بر کیلوگرم خوراک کپور معمولی براساس رشد ماهی و بازده خوراک (Fatou, 2019)، ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ماهی تیلاپیا براساس رشد (Jiang et al., 2018)، ۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم ماهی کپور علفخوار در جیره غذایی با سطح چربی بالا براساس رشد و تقویت عملکرد سیستم ایمنی روده (Peng et al., 2019)، ۲۷۰-۲۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم (*Schizothorax prenanti*) براساس وزن گیری و ضریب تبدیل خوراک (Zheng et al., 2016)، ۱۵۰ تا ۴۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم شوریده بزرگ زرد براساس رشد (Du et al., 2017; Ding et al., 2020)، ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در خوراک با نشاسته بالا (Yu et al., 2019)، ۹۰۰ در خوراک با چربی بالا (Yin et al., 2021) برای باس‌های دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) براساس افزایش وزن، ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید صفراوی مکمل در یک جیره غذایی معمولی کفشک زبان‌گاو (*Cynoglossus arel*) بر رشد و سلامت روده (Li et al., 2021)، ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم جیره غذایی با چربی بالای هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) براساس عملکرد رشد و کاهش تجمع چربی کبد (Xu et al., 2022)، ۹۰۰ میلی گرم اسیدهای صفراوی در کیلوگرم غذایی سوف چینی *Siniperca chuatsi* براساس عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک (Zhang et al., 2022) و باس دهان بزرگ تغذیه شده با ۳۵۰ میلی گرم اسید صفراوی بر کیلوگرم جیره غذایی با نشاسته بالا (Guo et al., 2020) می‌باشد. در شوریده زرد بزرگ، مکمل ۳۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در یک جیره غذایی با روغن سویا رشد ماهی را به طور قابل توجهی بهبود بخشید (Du et al., 2017)، در حالی که همان میزان روی رشد در جیره غذایی با چربی بالا تأثیری نداشت (Du et al., 2021). مقادیر بیش از حد مطلوب مکمل اسید صفراوی ممکن است باعث سمیت و مهار رشد ماهی شود که دلایل آن در بالا شرح داده شده است. سطوح بالاتر اسید صفراوی (بیش از ۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) که در یک جیره غذایی با نشاسته زیاد باعث رشد باس دهان بزرگ شد،

در حالی که سطوح نسبتاً پایین (۸۰ و ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر رشد تأثیری نداشت (Yu et al., 2019). مطالعه‌ای بر روی تیلاپیا؛ *Oreochromis niloticus*؛ نشان داد که افزایش وزن با افزایش سطح اسیدهای صفراوی جیره غذایی از ۰ به ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش یافته و به‌طور قابل توجهی از ۴۵۰ گرم بر کیلوگرم به ۱۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش یافته است (Jiang et al., 2018). به‌طور مشابه، سطح اسید صفراوی بهینه (۱۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم) رشد ماهی کپور علفخوار را بهبود بخشید، در حالی که ۳۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید صفراوی رشد را مهار کرد (Peng et al., 2019).

نیاز ماهی به چربی در جیره غذایی عامل حیاتی در تعیین سطح مطلوب مکمل اسیدصفراوی در خوراک است. نیاز ماهی به چربی در جیره غذایی، نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان اثربخشی مکمل‌های اسید صفراوی دارد، زیرا اصلی‌ترین وظیفه فیزیولوژیک اسیدهای صفراوی تسهیل هضم و جذب لیپیدهاست. اسیدهای صفراوی با امولسیفیه کردن چربی‌ها و تشکیل میسل، سطح تماس آنها با آنزیم‌های لیپولیتیک مانند لیپاز را افزایش داده و موجب هیدرولیز مؤثرتر تری‌گلیسریدها به اسیدهای چرب قابل جذب می‌شوند. در جیره‌هایی با محتوای چربی بالا، کارایی سیستم گوارشی بدون افزودن مکمل‌ها ممکن است محدود شود، به‌ویژه در گونه‌هایی که ترشح طبیعی صفرا یا فعالیت لیپاز پایین‌تری دارند. بنابراین، در چنین شرایطی، افزودن مکمل اسید صفراوی می‌تواند جذب چربی و در نتیجه انرژی قابل‌استفاده را افزایش دهد (Di Ciaula et al., 2018). اما در جیره‌هایی با سطح چربی پایین یا متعادل، غلظت بالای اسید صفراوی می‌تواند منجر به تحریک بیش از حد بافت‌های روده‌ای، اختلال در تعادل اسمزی، و حتی اثرات سمی شود که نه تنها مزیتی در جذب انرژی ایجاد نمی‌کند، بلکه عملکرد رشد را نیز مختل می‌سازد. از این‌رو، نیاز چربی گونه هدف و سطح چربی جیره باید مبنای تعیین دز بهینه اسید صفراوی باشد (Xie et al., 2021). به‌عنوان مثال، سطح بهینه اسیدهای صفراوی ۳۰۰-۴۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم برای برآوردن رشد و تنظیم متابولیسم چربی با محتوای چربی ۱۳/۶ درصد در جیره غذایی است (Yu et al., 2019). اما فقط ۶۰ میلی گرم مکمل بر کیلوگرم خوراک با چربی حدود ۶/۷۹ درصد در کپور علفخوار، و ۷/۵۰ درصد در کپور معمولی، (Zhou et al., 2018; Fatou, 2019) به این دلیل که آنها سطح چربی جیره غذایی نسبتاً کمی دارند. در مطالعه Yao و همکاران (۲۰۲۱)، ۶۰ تا ۶۰۰ میلی گرم اسیدهای صفراوی بر کیلوگرم خوراک کپور معمولی توانست عملکرد رشد، ساختار بافتی روده و پانکراس، التهاب ناشی از جیره‌های غذایی با منابع گیاهی بالا را با تنظیم مثبت متابولیسم گلوکز و چربی بهبود بخشد. اگرچه میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم حداکثر میزان توصیه شده در مطالعه قبلی بود نتایج کارایی رشد و بافت‌شناسی نشان داد که گنجاندن ۱۰ برابر (۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نیز برای کپور معمولی مفید و بی‌خطر است (Yao et al., 2021).

در مطالعه حاضر در تیمار ۳۰۰ میلی گرم اسید صفراوی، فعالیت لیپاز نسبت به تیمار فاقد مکمل افزایش نشان نداد. اما با افزایش سطح مکمل اسیدصفراوی در تیمارهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم فعالیت لیپاز بیشتر از سطح تیمار فاقد مکمل بود. بیش از سطح ۹۰۰، در سطح ۱۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم حداقل فعالیت لیپاز مشاهده شد. یافته مذکور نشان می‌دهد که پاسخ فعالیت آنزیم لیپاز به سطوح مختلف مکمل اسید صفراوی غیرخطی و وابسته به دوز است، که با مکانیسم‌های تنظیمی پیچیده در سیستم گوارشی ماهیان ارتباط دارد. در سطوح پایین مانند ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، احتمالاً غلظت اسید صفراوی هنوز به حد آستانه لازم برای تحریک گیرنده‌های FXR (Farnesoid X Receptor) و TGR5 در سلول‌های اپیتلیال روده نرسیده است، و بنابراین القای معنی‌داری در بیان ژن لیپاز یا ترشح آن اتفاق نمی‌افتد. با افزایش دوز به ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی گرم، غلظت صفراوی در روده به سطحی می‌رسد که گیرنده‌های صفراوی فعال شده و سیگنال‌دهی سلولی برای افزایش بیان آنزیم‌های گوارشی، از جمله لیپاز، تقویت می‌شود. با این حال، در سطح بسیار بالای ۱۲۰۰ میلی گرم، کاهش شدید فعالیت لیپاز ممکن است ناشی از اثرات سیتوتوکسیک اسید صفراوی مازاد بر سلول‌های پوششی روده باشد؛ زیرا دوزهای بالا می‌توانند باعث تخریب ساختارهای میکروویلی، آسیب به سلول‌های جذب‌کننده، و ایجاد التهاب موضعی شوند، که در نهایت موجب سرکوب فعالیت آنزیمی می‌گردد. بنابراین، تحریک یا مهار فعالیت لیپاز تحت تأثیر مستقیم دوز اسید صفراوی و وضعیت فیزیولوژیک بافت روده قرار دارد، و تنها در محدوده مشخصی از دوز، اثر مثبت آن نمایان می‌شود (Lin et al., 2025). داده‌های حاصل از مطالعه حاضر روی کپور معمولی مشابه مطالعات انجام‌شده؛ افزایش فعالیت لیپاز و بهبود هضم چربی توسط مکمل اسیدهای صفراوی در کفشک ژاپنی (مکمل اورسودوکسی کولیک اسید در یک جیره غذایی معمولی) (Alam et al., 2001) و *Paralichthys olivaceus* (Alam et al., 2015)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (مکمل اسید

کولیک در یک جیره غذایی معمولی (Adhami et al., 2017)، روده کپور علفخوار (مکمل عصاره صفرا خوک در جیره غذایی پرچرب) (Zeng et al., 2017; Zhou et al., 2018)، روده کفشک زبان گاوی (مکمل عصاره صفرا خوک در یک جیره غذایی تجاری) (Zhou et al., 2018)، کبد و روده تیلاپیا (مکمل عصاره صفرا خوک در یک جیره غذایی مبتنی بر پروتئین گیاهی) (Jiang et al., 2018) و کبد شوریده زرد بزرگ (مکمل چنودوکسی کولیک اسید در یک جیره غذایی با چربی بالا) (Ding et al., 2020) گزارش شد. بیشترین فعالیت لیپاز و تریپسین در تیمار فاقد مکمل و تیمار ۶۰۰ میلی گرم و حداقل فعالیت کیموتریپسین در تیمار حاوی ۱۲۰۰ مکمل منطبق با تیماری که حداقل کارایی رشد، بازده تثبیت نیتروژن و چربی را نشان داد. فعالیت کیموتریپسین همبستگی منفی و فعالیت آلفا آمیلاز همبستگی مثبت با افزایش سطح مکمل اسید صفراوی نشان داد. اسیدهای صفراوی می توانند فعالیت پروتئازی پانکراس را نیز افزایش دهند (Thirstrup et al., 1994; Romarheim et al., 2006; Robic et al., 2011). مکمل صفراوی افزایش فعالیت تریپسین روده در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo salar*) (Kortner et al., 2016) و افزایش قابلیت هضم پروتئین و خاکستر جیره ماهی قزل آلا رنگین کمان جوان، *Oncorhynchus mykiss* (Adhami et al., 2017)، بهبود فرآیندهای گوارشی و کارایی رشد ماهی قزل آلا رنگین کمان (Yamamoto et al., 2007; Iwashita et al., 2008) را در پی داشت.

از دیدگاه متابولیک، نقش اسیدهای صفراوی به فراتر از بهبود صرف هضم چربی ها گسترش می یابد و شامل تنظیم فعالیت ژن های مرتبط با لیپوژنز و اکسیداسیون چربی ها از طریق مسیرهای گیرنده های هسته ای نظیر FXR (Farnesoid X Receptor) و TGR5 می گردد. تحریک این گیرنده ها در کبد و روده نه تنها باعث بهبود هموستاز لیپیدی و کاهش لیپوژنز کبدی می شود، بلکه از تجمع غیرطبیعی چربی در کبد و بروز استئاتوز هپاتیک نیز جلوگیری می نماید. در نتیجه، مکمل یاری جیره با سطوح کنترل شده اسید صفراوی نه تنها موجب ارتقاء قابلیت استفاده از چربی های جیره ای و ویتامین های لیپوفیل می شود، بلکه از طریق اثرات پلیمورفیک در محور روده-کبد، به بهبود وضعیت متابولیک و فیزیولوژیک عمومی ماهی نیز کمک می کند (Chiang, 2002).

این یافته ها به ویژه در جیره هایی با چربی بالا، اهمیت مضاعفی یافته و نشان دهنده ظرفیت بالقوه اسیدهای صفراوی در تنظیم عملکرد تغذیه ای در آبزی پروری مدرن هستند. اسیدهای صفراوی با کاهش کشش سطحی و افزایش قطبیت محیط روده ای، به طور مستقیم موجب افزایش امولسیفیکاسیون تری گلیسریدها و فسفولیپیدهای رژیمی شده و در نتیجه امکان تشکیل میسل های مختلط را فراهم می سازند (Liu et al., 2024). این میسل ها ظرفیت انتقال لیپیدها را به سلول های انتروسیتی افزایش داده، و با فراهم آوردن بستری مناسب برای عملکرد آنزیم پانکراسی لیپاز، فرآیند هیدرولیز استری پیوندهای چربی را تسهیل می کنند (Yang et al., 2023). مکانیسم فیزیولوژیک اثر اسید صفراوی ممکن است تا حدی به دو صورت توضیح داده شود. اول، ممکن است به سوخت و ساز چربی مربوط باشد. اسید صفراوی می تواند هضم چربی ها را با عمل به عنوان عوامل امولسیون کننده بهبود دهد، میسل هایی را تشکیل دهد که سطح تماس لیپاز و چربی ها را برای کاتالیز هیدرولیز پیوندهای استری بهبود بخشد (Ding et al., 2020; Romano et al., 2020)، به انتقال به مرز پرزهای روده برای جذب کمک کند (Pasquier et al., 1996; Zhang et al., 2022) و جذب روده ای چربی یا ویتامین های محلول در چربی را افزایش دهد و همچنین با اسیدهای چرب گلیسرید ترکیب شود تا یک کمپلکس محلول در آب را برای افزایش استفاده از چربی تشکیل دهد (Einarsson et al., 1991)؛ در تسهیل هضم چربی ها عمل کنند (Maldonado-Valderrama, et al., 2011) و از کبد چرب (Jiang et al., 2018) جلوگیری کند.

۵. نتیجه گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان داد که اثر محرک رشد اسیدهای صفراوی در جیره های حاوی چربی بالا (۱۰٪) در سطح ۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم خوراک، به احتمال زیاد از طریق مکانیسم های چندگانه فیزیولوژیک از جمله بهبود فعالیت آنزیم های گوارشی، ارتقاء بازده تغذیه و بهبود قابلیت استفاده از چربی ها صورت می پذیرد. اسیدهای صفراوی در این سطح، با ایفای نقش به عنوان عوامل امولسیون کننده، سبب افزایش فراهمی زیستی لیپیدها و ویتامین های محلول در چربی شده و از طریق فعال سازی گیرنده های FXR و TGR5، تنظیم مطلوب تری در محور روده-کبد ایجاد می کنند که می تواند به بهبود فرآیندهای متابولیک و جلوگیری از تجمع چربی در کبد کمک کند. همچنین، افزایش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی در این سطح از مکمل یاری، می تواند موجب بهبود

نسبت‌های کارایی تغذیه‌ای نظیر ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بازده پروتئین (PER) گردد. در مقابل، سطح بالای مکمل اسید صفراوی (۱۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با وجود انتظار برای اثرات افزایشی، منجر به کاهش رشد گردید که احتمالاً به دلیل اثرات سمی و التهابی ناشی از انباشت اسیدهای صفراوی مازاد در مخاط روده و اختلال در تعادل اسمزی و ساختار پرزهای روده‌ای است. این دوز بالا ممکن است منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی نظیر لیپاز، تخریب سلول‌های جذب‌کننده و اختلال در جذب مؤثر مواد مغذی شود. بنابراین، با در نظر گرفتن شاخص‌های رشد، بازده تغذیه و سلامت گوارشی، می‌توان نتیجه گرفت که دوز ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از مکمل اسید صفراوی، سطح بهینه‌ای برای فرمولاسیون خوراک‌های پرچرب (۱۰٪ چربی و ۳۲٪ پروتئین) برای کپور معمولی جوان محسوب می‌شود و می‌تواند در بهینه‌سازی کارایی اقتصادی و فیزیولوژیک پرورش این گونه نقش مهمی ایفا کند.

تشکر و قدردانی

این پروژه یا حمایت مالی شرکت البرز گستر دارو و همکاری موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور در پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور اجرا گردید. نویسندگان این مقاله تشکر و قدردانی خود را از کلیه عوامل اجرایی این پروژه اعلام می‌دارند.

References

- Adhami, B., Amirkolaie, A.K., Orazi, H., Kenari, R.E., 2017. Growth performance, nutrient digestibility and lipase activity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed fat powder in diet containing emulsifiers (cholic acid and Tween- 80). *Aquaculture Nutrition* 23(5), 153-1159. DOI: 10.1111/anu.12484
- Alam, M.S. Teshima, S. Ishikawa, M., Koshio, S., 2015. Effects of ursodeoxycholic acid on growth and digestive enzyme activities of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). *Aquaculture Research*, 32, 235-243. DOI: 10.1046/j.1355-557x.2001.00020.x
- Alam, M.S., Teshima, S., Ishikawa, M., Koshio, S., 2001. Effects of ursodeoxycholic acid on growth and digestive enzyme activities of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). *Aquaculture Research* 32, 235-243. DOI: 10.1046/j.1355-557x.2001.00020.x
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis: Association of Official Analytical Chemists, 18th ed. Arlington, Virginia.
- Asaoka, Y., Terai, S., Sakaida, I., Nishina, H., 2013. The expanding role of fish models in understanding non-alcoholic fatty liver disease. *Disease Models & Mechanisms* 6(4), 905-914. DOI: 10.1242/dmm.011981
- Borges, S.A., Fischer da Silva, A.V., Majorka A., Hooge, D.M., Cummings, K.R., 2004. Physiological responses of broiler chickens to heat stress and dietary electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalents per kilogram). *Poultry Science* 83: 1551-1558. DOI: 10.1093/ps/83.9.1551
- Boujard, T., Gélinau, A., Covès, D., Corraze, G., Dutto, G., Gasset, E., Kaushik, S., 2004. Regulation of feed intake, growth, nutrient and energy utilisation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed high fat diets. *Aquaculture* 231(1-4), 529-545. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.11.010
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I., Mylonas, C.C., 2010. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. *Aquaculture* 307(1-2), 65-70. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2010.07.002
- Chiang, J Y (2002). Bile acid regulation of gene expression: roles of nuclear hormone receptors. *Endocrine reviews*, 23, 443-463.
- Cho, C.Y., Hynes, J.D., Wood, K.R., Yoshida, H.K., 1994. Development of high-nutrient-dense, low-pollution diets and prediction of aquaculture wastes using biological approaches. *Aquaculture* 124(1-4), 293-305. DOI: 10.1016/0044-8486(94)90403-0
- Chou, R.L., Su, M.S., Chen, H.Y., 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 193(1-2), 81-89. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00480-4

- Di Ciaula, A, Garruti, G, Baccetto, R L, Molina-Molina, E, Bonfrate, L, Portincasa, P, Wang, D Q (2018). Bile acid physiology. *Annals of hepatology*, 16, 4-14.
- Ding, T., Xu, N., Liu, Y., Du, J., Xiang, X., Xu, D., Liu, Q., Yin, Z., Li, J., Mai, K., Ai, Q., 2020. Effect of dietary bile acid (BA) on the growth performance, body composition, antioxidant responses and expression of lipid metabolism-related genes of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed high-lipid diets. *Aquaculture* 518, 734768. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734768
- Du, J., Xiang, X., Xu, D., Zhang, J., Fang, W., Xu, W., Mai, K., Ai, Q., 2021. FXR, a key regulator of lipid metabolism, is inhibited by ER stress-mediated activation of JNK and p38 MAPK in large yellow croakers (*Larimichthys crocea*) fed high fat diets. *Nutrients* 13(12), 4343. DOI: 10.3390/nu13124343
- Du, J., Xu, H., Li, S., Cai, Z., Mai, K., Ai, Q., 2017. Effects of dietary chenodeoxycholic acid on growth performance, body composition and related gene expression in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed diets with high replacement of fish oil with soybean oil. *Aquaculture* 479, 584-590. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.06.023
- Einarsson, K., Ericsson, S., Ewerth, S., Reihner, E., Rudling, M., Ståhlberg, D., Angelin, B., 1991. Bile acid sequestrants: mechanisms of action on bile acid and cholesterol metabolism. *European Journal of Clinical Pharmacology* 40(Suppl 1), S53-S58. DOI: 10.1007/BF03216291
- Fatou, N.F., 2019. Efficacy and tolerance evaluation of bile acids in diet of common carp. In: Thesis of master degree. Chinese Academy of Agriculture Science [Abstract Only].
- Guo, J.L., Kuang, W.M., Zhong, Y.F., Zhou, Y.L., Chen, Y.J., Lin, S.M., 2020. Effects of supplemental dietary bile acids on growth, liver function and immunity of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed high-starch diet. *Fish & Shellfish Immunology* 97, 602-607. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.12.087
- Guo, Y.X., Dong, X.H., Tan, B.P., Chi, S.Y., Yang, Q.H., Chen, G., Zhang, L., 2011. Partial replacement of soybean meal by sesame meal in diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 42(9), 1298-1307. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02718.x
- Hofmann, A.F., Hagey, L.R., 2008. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences* 65, 2461-2483. DOI: 10.1007/s00018-008-7568-6
- Hohenwallner, W., Stein, W., Hafkenschied, J.C., Kruse- Jarres, J.D., Kaiser, C., Hubbuch, A., 1989. Reference ranges for alpha-amylase in serum and urine with 4,6- ethylidene- (G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)- alpha, D-maltoheptaoside as substrate. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 27, 97-101.
- Houten, S.M., Watanabe, M., Auwerx, J., 2006. Endocrine functions of bile acids. *The EMBO Journal* 25(7), 1419-1425. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601049
- Huang, D., Wu, Y., Lin, Y., Chen, J., Karrow, N., Ren, X., Wang, Y., 2017. Dietary protein and lipid requirements for juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(5), 782-790. DOI: 10.1111/jwas.12417
- Iwashita, Y., Suzuki, N., Yamamoto, T., Shibata, J.I., Isokawa, K., Soon, A.H., Ikehata, Y., Furuita, H., Sugita, T., Goto, T., 2008. Supplemental effect of cholytaurine and soybean lecithin to a soybean meal-based fish meal-free diet on hepatic and intestinal morphology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science* 74, 1083-1095. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2008.01628.x
- Jiang, M., Wen, H., Gou, G.W., Liu, T.L., Lu, X., Deng, D.F., 2018. Preliminary study to evaluate the effects of dietary bile acids on growth performance and lipid metabolism of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed plant ingredient- based diets. *Aquaculture Nutrition* 24(4), 1175-1183. DOI: 10.1111/anu.12656
- Jiang, Y.D., Wang, J.T., Han, T., Li, X.Y., Hu, S.X., 2015. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition by juvenile red spotted grouper (*Epinephelus akaara*). *Aquaculture International* 23, 99-110. DOI: 10.1007/s10499-014-9801-7
- Jin, M., Pan, T., Cheng, X., Zhu, T.T., Sun, P., Zhou, F., Ding, X., Zhou, Q., 2019. Effects of supplemental dietary L-carnitine and bile acids on growth performance, antioxidant and immune ability, histopathological changes and inflammatory response in juvenile black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*) fed high-fat diet. *Aquaculture*, 504: 199-209. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.01.063
- Johnson, A. M., Rohlfs, E. M. and Silverman, L. M., 1999. Proteins. In: Burtis C. A., and Ashwood, E. R. (eds). *Tietz Textbook of Clinical Chemistry 3rd*. Philadelphia: W. B. Saunders Company. pp. 477-540.

- Kikuchi, K., Furuta, T., Iwata, N., Onuki, K., Noguchi, T., 2009. Effect of dietary lipid levels on the growth, feed utilization, body composition and blood characteristics of tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Aquaculture* 298(1-2), 111-117. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.10.026
- Kortner, T.M., Penn, M.H., Björkhem, I., Måsøval, K., Krogdahl, Å., 2016. Bile components and lecithin supplemented to plant-based diets do not diminish diet related intestinal inflammation in Atlantic salmon. *BMC veterinary Research* 12, 1-12. DOI: 10.1186/s12917-016-0819-0
- Kruse-Jarres, J.D., Kaiser, C., Hafkenscheid, J.C., Hohenwallner W., Stein, W., Böhner, J., 1989. Evaluation of a new alpha- amylase assay using 4,6-ethyliden (G7)-1-4- nitrophenyl-(G1)- alpha, D- maltoheptaoside as substrate. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry* 27, 103-113.
- Li, Y., Wang, S., Hu, Y., Cheng, J., Cheng, X., Cheng, P., Cui, Z., 2021. Dietary bile acid supplementation reveals beneficial effects on intestinal healthy status of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Fish & Shellfish Immunology* 116, 52-60. DOI: 10.1016/j.fsi.2021.06.020
- Lin, X, Xia, L, Zhou, Y, Xie, J, Tuo, Q, Lin, L , Liao, D (2025). Crosstalk Between Bile Acids and Intestinal Epithelium: Multidimensional Roles of Farnesoid X Receptor and Takeda G Protein Receptor 5. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 4240.
- Liu, Y, Li, X, Lin, J, Song, K, Li, X, Wang, L, Zhang, C , Lu, K (2024). Effects of Dietary Supplementation of Bile Acids on Growth, Glucose Metabolism, and Intestinal Health of Spotted Seabass (*Lateolabrax maculatus*). *Animals*, 14, 1299.
- Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., Macierzanka, A., Mackie, A., 2011. The role of bile salts in digestion. *Advances in Colloid and Interface Science* 165(1), 36-46. DOI: 10.1016/j.cis.2010.12.002
- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: National Academy Press (2011).
- Pasquier, B., Armand, M., Castelain, C., Guillon, F., Borel, P., Lafont, H., Lairon, D., 1996. Emulsification and lipolysis of triacylglycerols are altered by viscous soluble dietary fibres in acidic gastric medium in vitro. *Biochemical Journal* 314(1), 269-275. DOI: 10.1042/bj3140269
- Peng, X.R., Feng, L., Jiang, W.D., Wu, P., Liu, Y., Jiang, J., Kuang, S.Y., Tang, L., Zhou, X.Q., 2019. Supplementation exogenous bile acid improved growth and intestinal immune function associated with NF-κB and TOR signalling pathways in on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): enhancement the effect of protein-sparing by dietary lipid. *Fish & Shellfish Immunology* 92, 552-569. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.06.047
- Robic, S., Linscott, K.B., Aseem, M., Humphreys, E.A., McCartha, S.R., 2011. Bile acids as modulators of enzyme activity and stability. *The Protein Journal* 30, 539-545. DOI: 10.1007/s10930-011-9360-y
- Romano, N., Kumar, V., Yang, G., Kajbaf, K., Rubio, M.B., Overturf, K., Brezas, A., Hardy, R., 2020. Bile acid metabolism in fish: disturbances caused by fishmeal alternatives and some mitigating effects from dietary bile inclusions. *Reviews in Aquaculture* 12(3), 1792-1817. DOI: 10.1111/raq.12410
- Romarheim, O.H., Skrede, A., Gao, Y., Krogdahl, Å., Denstadli, V., Lilleeng, E., Storebakken, T., 2006. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 256(1-4), 354-364. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.02.006
- Ruiz, A., Andree, K.B., Sanahuja, I., Holhorea, P.G., Caldach-Giner, J.À., Morais, S., Pastor, J.J., Pérez-Sánchez, J., Gisbert, E., 2023. Bile salt dietary supplementation promotes growth and reduces body adiposity in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 566, 739203. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2022.739203
- Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andresen, L. H., Berg, A., Waagbø, R., 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish physiology and Biochemistry* 32, 7-23. DOI: 10.1007/s10695-005-0630-5
- Sagada, G., Chen, J., Shen, B., Huang, A., Sun, L., Jiang, J., Jin, C., 2017. Optimizing protein and lipid levels in practical diet for juvenile northern snakehead fish (*Channa argus*). *Animal Nutrition* 3(2), 156-163. DOI: 10.1016/j.aninu.2017.03.003
- Sun, J.Z., Wang, J.Y., Ma, J.J., Li, B.S., Hao, T.T., Sun, Y.Z., Zhang, L.M., 2014. Effects of dietary bile acids on growth, body composition and lipid metabolism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) at different lipid levels. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 45(3), 617-625.

- Tang, T, Hu, Y, Peng, M, Chu, W, Hu, Y, Zhong, L (2019). Effects of high-fat diet on growth performance, lipid accumulation and lipid metabolism-related MicroRNA/gene expression in the liver of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 234, 34-40.
- Thirstrup, K., Verger, R., Carriere, F., 1994. Evidence for a pancreatic lipase subfamily with new kinetic properties. *Biochemistry* 33(10), 2748-2756. DOI: 10.1021/bi00176a002
- Thomas, L. (ed.), 1998. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main. pp. 241-247.
- Tietz, N.W., Shuey, D.F., 1993. Lipase in serum-the elusive enzyme: an overview. *Clinical Chemistry* 39(5), 746-56.
- Wang, J.T., Liu, Y.J., Tian, L.X., Mai, K.S., Du, Z.Y., Wang, Y., Yang, H.J., 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 249(1-4), 439-447. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.038
- Xie, C., Huang, W., Young, R.L., Jones, K.L., Horowitz, M., Rayner, C.K., Wu, T., 2021. Role of bile acids in the regulation of food intake, and their dysregulation in metabolic disease. *Nutrients*, 13, 1104.
- Xu, J., Xie, S., Chi, S., Zhang, S., Cao, J. and Tan, B., 2022. Protective effects of taurocholic acid on excessive hepatic lipid accumulation via regulation of bile acid metabolism in grouper. *Food & Function*, 13(5), 3050-3062.
- Yamamoto, T., Suzuki, N., Furuita, H., Sugita, T., Tanaka, N., Goto, T., 2007. Supplemental effect of bile salts to soybean meal-based diet on growth and feed utilization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science* 73, 123-131. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2007.01310.x
- Yang, L., Liu, M., Zhao, M., Zhi, S., Zhang, W., Qu, L., Xiong, J., Yan, X., Qin, C., Nie, G., 2023. Dietary Bile Acid Supplementation Could Regulate the Glucose, Lipid Metabolism, and Microbiota of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Fed with a High- Lipid Diet. *Aquaculture Nutrition*, 2023, 9953927.
- Yang, M., Gu, Y., Li, L., Liu, T., Song, X., Sun, Y., Cao, X., Wang, B., Jiang, K., Cao, H., 2021. Bile acid-gut microbiota axis in inflammatory bowel disease: from bench to bedside. *Nutrients* 13, 3143.
- Yao, T., Gu, X., Liang, X., Fall, F.N., Cao, A., Zhang, S., Guan, Y., Sun, B., Xue, M., 2021. Tolerance assessment of dietary bile acids in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed a high plant protein diet. *Aquaculture* 543, 737012. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.737012
- Yin, P., Xie, S., Zhuang, Z., He, X., Tang, X., Tian, L., Liu, Y., Niu, J., 2021. Dietary supplementation of bile acid attenuates adverse effects of high-fat diet on growth performance, antioxidant ability, lipid accumulation and intestinal health in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 531, 735864. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735864
- Yu, H., Zhang, L., Chen, P., Liang, X., Cao, A., Han, J., Wu, X., Zheng, Y., Qin, Y., Xue, M., 2019. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*. *Frontiers in Physiology* 10, 1430. DOI: 10.3389/fphys.2019.01430
- Yuan, Y., Omar, A.A., Emam, W., Mohamed, R.A., 2025. Impact of dietary inclusion of bile acid and fat percent on growth, intestinal histomorphology, immune-physiological and transcriptomic responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Open Veterinary Journal*, 15, 222.
- Zeng, B.H., Liao, Z.Y., Xiang, X., He, W.X., Cen, M., He, S.C., 2017. Effects of bile acids on growth performance, muscle composition and digestive enzyme activities of *Ctenopharyngodon idellus*. *Progress in Fishery Sciences* 38(2), 99-106.
- Zhang, Y., Feng, H., Liang, X.F., He, S., Lan, J., Li, L., 2022. Dietary bile acids reduce liver lipid deposition via activating farnesoid X receptor, and improve gut health by regulating gut microbiota in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*). *Fish & Shellfish Immunology* 121, 265-275. DOI: 10.1016/j.fsi.2022.01.010
- Zhou, J.S., Chen, H.J., Ji, H., Shi, X.C., Li, X.X., Chen, L.Q., Du, Z.Y., Yu, H.B., 2018. Effect of dietary bile acids on growth, body composition, lipid metabolism and microbiota in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture Nutrition* 24(2), 802-813. DOI: 10.1111/anu.12609.