دو فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال سوم/ شماره هفتم/ پاییز و زمستان۹۴ / صفحات۱۸-۱۱

اثر فسفولیپید تجاری بر فراسنجه‌های خونی و سرمی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه‌شده با پودر چربی و مقایسه با جیره حاوی روغن ماهی

بتول ادهمی*[1] عبدالصمد کرامت[1]

چکیده

مطالعه‌ای به منظور بررسی اثر فسفولیپید بر برخی فراسنجه‌های خونی و سرمی در جیره‌ی حاوی پودر چربی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) انجام شد. بدین منظور جیره‌ای با ۲۰٪ چربی که نیمی از چربی آن از پودر چربی تأمین گردید ساخته شد. فسفولیپید در دو سطح ۰/۵ و ۱/۵ درصد به جیره اضافه شد، در تیمار شاهد سطح فسفولیپید صفر بود و در آن به جای پودر چربی از روغن ماهی استفاده شد. ۱۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلا با وزن اولیه ۱/۸۸±۲۷/۴۵ در ۹ تانک پلی‌اتیلن قرار گرفت و روزانه ۲ بار در حد سیری به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی غذادهی شد. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- فسفولیپید ۰/۵٪، ۲- فسفولیپید۱/۵٪ ۳- شاهد بود. نتایج مطالعه فراسنجه‌های خونی شامل هموگلوبین، گلبول قرمز، گلبول سفید، حجم متوسط گلبولی (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). بیشترین مقادیر هموگلوبین، گلبول سفید و MCH در گروه شاهد مشاهده شد درحالیکه بیشترین مقادیر گلبول قرمز و MCV به ترتیب در فسفولیپید ۰/۵ و فسفولیپید ۱/۵ بود. نتایج فراسنجه‌های سرمی از جمله گلوکز، پروتئین تام و آلبومین نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($P<0/05$). افزودن فسفولیپید سبب افزایش معنی‌داری در مقدار گلوکز شد و در فسفولیپید ۱/۵ بیشترین مقدار گلوکز مشاهده شد اما بیشترین مقادیر پروتئین تام و آلبومین مربوط به گروه شاهد بود. به طور کلی، با توجه به برخی فراسنجه‌های خونی افزودن فسفولیپید در سطح ۱/۵٪، توانست اثر منفی پودر چربی را در جیره‌ی قزل‌آلای رنگین‌کمان کاهش دهد.

کلید واژه‌ها: فسفولیپید، پودر چربی، روغن ماهی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، فراسنجه‌های خونی و سرمی.

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
Amine.adhami@yahoo.com

۱- مقدمه

لیپیدها به دلیل تامین انرژی (Pei et al., 2004)، اسیدهای چرب و افزایش کارایی پروتئین(Bell et al., 2003) از مهمترین اجزای جیره ماهیان محسوب می‌شوند. به طوریکه آزادماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhnchus mykiss*) توانایی زیادی در مصرف چربی دارد و میزان چربی در جیره آن در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد گزارش شده است (Wilson, 1989). در حال حاضر منبع اصلی تأمین‌کننده چربی جهت تغذیه ماهیان که روغن ماهی می‌باشد از طریق صید می‌باشد (Pike, 2005). با توجه به آمارها میزان صید طی چندین سال اخیر با کاهش مواجه شده و در چند سال آینده پاسخگوی آبزی‌پروری نخواهد بود (Tocher et al., 2008). از این‌رو محققین بخش تغذیه منابع مختلف روغن‌های گیاهی را جایگزین روغن ماهی کردند (Bell et al., 2002, Ng et al., 2007) و نتایج مختلفی بدست آمد. نتایج حاصل از این تحقیقات نشان داد که روغن‌های گیاهی می‌تواند تا حد زیادی جایگزین روغن ماهی شود بدون آنکه اثرات منفی روی رشد و کارایی غذا داشته باشد (Turchini et al., 2009). پودر چربی که از محصولات جانبی ایجادشده هنگام استخراج و پالایش روغن‌های گیاهی است می‌تواند به عنوان یکی از این منابع مورد استفاده قرار گیرد (Amirkolaie et al., 2014). تحقیقات حاکی از آن آست که روغن-های گیاهی دارای مقادیر ناچیزی از فسفولیپیدها می‌باشند (Sargent et al., 1999). برخی مطالعات نشان داده جایگزینی روغن ماهی با روغن گیاهی موجب کاهش ایمنی در ماهی می‌گردد (Brandsen et al., 2003; Montero et al., 2008).

فسفولیپید نوعی لیپید است که از یک مولکول گلیسرول، دو مولکول اسید چرب و یک مولکول فسفات تشکیل شده است و شامل دو سر آب‌دوست و آب‌گریز می‌باشد. از آنجایی که فسفولیپیدها در افزایش هضم چربیها (Kasper and Brown, 2003)، افزایش رشد، بقا، مقاومت در برابر استرس و تأمین انرژی به ویژه در دوران جنینی و مراحل اولیه تکامل نقش مهمی دارند (Tocher et al., 2008) از این‌رو در این تحقیق فسفولیپید تجاری به جیره حاوی پودر چربی اضافه گردید و اثر آن بر فراسنجه‌های خونی و سرمی با جیره‌ای که از منبع روغن ماهی استفاده گردید مقایسه شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- شرایط نگهداری و تیماربندی ماهی

این تحقیق در پاییز سال ۱۳۹۳ در سالن تکثیر و پرورش دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی واقع در شهر ساری انجام شد. ۱۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلا با وزن متوسط ۱/۸۸±۲۷/۴۵ خریداری شد و در تانک‌های ۳۰۰ لیتری ذخیره‌سازی شد. به منظور آماده‌سازی ماهی و سازگاری با محیط پرورشی، ماهیان به مدت ۲ هفته در این تانک‌ها نگهداری شدند و با غذای دستی (کارخانه‌ی بهدانه شمال، میرود، ایران) ۲ بار در روز

غذادهی شدند. سپس به هر تیمار ۳ تانک اختصاص داده شد که با توجه به تیمارهای آزمایشی مجموعاً ۹ تانک بدین منظور اختصاص یافت. تیمارها بر اساس سطوح مختلف فسفولیپید به میزان ۰، ۰/۵ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم غذا تقسیم‌بندی شدند. در این تحقیق به منظور بررسی اثر فسفولیپید بر هضم‌پذیری پودر چربی از روغن ماهی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد و تیمارها با آن مقایسه شدند که بدین جهت در تیمارهای آزمایشی (۰/۵ و ۱/۵ درصد فسفولیپید) بخش اعظم روغن ماهی با پودر چربی جایگزین شد درصورتیکه در شاهد (بدون فسفولیپید) تماماً از روغن ماهی و روغن مایع استفاده گردید. سیفون و تعویض ۱۰۰٪ آب نیز به صورت روزانه انجام گرفت. دمای آب روزانه با دماسنج جیوه ای معمولی اندازه‌گیری شد و اندازه گیری پارامترهای کیفی آب به صورت هفتگی انجام شد که به این صورت بود: دما ۱۴°C ، pH ۸/۴۴±۰/۱۷، اکسیژن محلول ۶/۳۴±۰/۲۴ میلی‌گرم در لیتر، نیتریت ۰/۱۵، هدایت الکتریکی ۵۹۸/۱۳±۱۲/۸، شوری ۰/۴ ppt و TDS ۳۸۱/۲±۴/۴۱ میلی‌گرم بر لیتر.

۲-۲- ساخت جیره‌های آزمایشی

برای ساختن جیره، فسفولیپید تجاری برگاپور (شرکت مهدامین، تهران، ایران) خریداری شد و به میزان مورد نظر به جیره اضافه شد. روغن گیاهی جایگزین که در این تحقیق استفاده شد پودر چربی بود. ۵۰٪ از روغن جیره با پودر چربی جایگزین شد و از غذای بدون پودر چربی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که سطح فسفولیپید آن صفر بود. به منظور ساخت جیره‌های غذایی ابتدا پودر ماهی به منظور یکدست‌شدن با الک ۱۰۰ میکرونی الک گردیده و سپس، تمامی اقلام جیره‌ی تنظیم‌شده با ترازو توزین شده و به خوبی باهم مخلوط گردیدند. مقداری آب به اندازه‌ای که مخلوط حالت خمیری بگیرد اضافه شد. سپس خمیر به دستگاه چرخ گوشت منتقل شد و از مش ۲/۵ میلیمتر برای ساخت غذا استفاده شد. رشته‌های ایجادشده بر روی سینی‌های خشک‌کن قرارگرفته و در دمای اتاق به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت خشک گردید. پس از خشک‌شدن رشته‌ها آنها را خردکرده تا به اندازه مورد نظر درآیند. جهت نگهداری، پلت تا زمان مصرف در فریزر با دمای ۱۸- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. غذادهی با غذای آزمایشی روزانه ۲ بار (ساعت ۱۰ و ۱۷) تا حد سیری به مدت ۸ هفته انجام گرفت.

۲-۳- اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی و سرمی

در پایان آزمایش از هر تکرار بطور تصادفی تعداد ۵ قطعه ماهی جهت خونگیری انتخاب، با پودر گل میخک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شده و خونگیری با استفاده از سرنگ انجام شد. ۲۴ ساعت قبل از خونگیری تغذیه ماهیان قطع گردید. فراسنجه‌های خونی مورد بررسی شامل گلبولهای قرمز (RBC) و سفید (WBC) بر اساس Hoston (1990)، غلظت هموگلوبین (Hb) و درصد هماتوکریت (Hct) بر

اساس Drobkin (1945) و میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) بر اساس روابط زیر محاسبه شد (Goldenfarb et al., 1971).

$$MCV = (Hct \div RBC) \times 10$$
$$MCH = (Hb \div RBC) \times 10$$
$$MCHC = (Hb \div Hct) \times 100$$

پس از سانتریفیوژ خون در ۴۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سرم خون استحصال شد و سنجش پروتئین تام، گلوکز و آلبومین با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) به روش (Olesen and Jorgensen, 1986) در طول موج ۵۴۶ نانومتر انجام گرفت.

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و پس از اطمینان از نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk، تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ و آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت و از نرم‌افزار Excel 2010 برای رسم نمودارها استفاده گردید.

۳- نتایج

طبق نتایج حاصل از آنالیز فراسنجه‌های خونی (جدول ۱) از جمله هموگلوبین، گلبول قرمز، گلبول سفید، حجم متوسط گلبولی (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) در حالیکه میزان هماتوکریت و تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) اختلاف معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان نداد ($P>۰/۰۵$). بیشترین مقادیر هموگلوبین، گلبول سفید و MCH در گروه شاهد مشاهده شد درحالیکه بیشترین مقادیر گلبول سفید و MCV به ترتیب در فسفولیپید ۰/۵ و فسفولیپید ۱/۵ بود. نتایج فراسنجه‌های سرمی از جمله گلوکز، پروتئین تام و آلبومین (طبق جدول ۲) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($P<$ ۰/۰۵). افزودن فسفولیپید سبب افزایش معنی‌داری در مقدار گلوکز شد و در فسفولیپید ۱/۵ بیشترین مقدار گلوکز مشاهده شد اما بیشترین مقادیر پروتئین تام و آلبومین مربوط به گروه شاهد بود.

جدول ۱. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فراسنجه‌های خونی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی ۸ هفته دوره پرورش

پارامترها / گروه	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	گلبول قرمز ($n\times 10^6/\mu L$)	گلبول سفید ($n\times 10^6/\mu L$)	MCV (فمتولیتر)	MCH (درصد)	MCHC (درصد)
فسفولیپید ۰/۵٪	۴۵/۴۳±۰/۵۵^{a}	۷/۱۷±۰/۱۲^{a}	۱۴۲۳۳۳۳/۳±۱۵۳۰۷۹^{b}	۸۸۰۰±۳۴۶/۴۱^{a}	۳۲۱/۸±۳۶/۲^{a}	۵۰/۸±۵/۴^{a}	۱۵/۷۹±۰/۲۸^{a}
فسفولیپید ۱/۵٪	۴۱/۸۳±۱/۷۶^{a}	۶/۸۰±۰/۵۷^{a}	۹۳۳۳۳۳/۳±۲۳۰۹۴^{a}	۱۱۰۰۰±۹۱۶/۵۲^{b}	۴۴۸/۲±۱۵/۷^{b}	۷۳/۰۳±۷/۶^{b}	۱۶/۳۲±۲/۰۹^{ab}
شاهد	۴۳/۳±۵/۵۳^{a}	۸/۶۳±۰/۰۷^{b}	۱۰۸۳۳۳۳/۳±۱۲۷۴۱۰^{a}	۱۱۶۰۰±۹۱۶/۵۲^{b}	۴۰۱/۵±۲۲/۲^{b}	۸۰/۴±۹/۳۱^{b}	۲۰/۱۷±۲/۹۵^{b}

جدول ۲. مقایسه میانگین ± انحراف معیار فراسنجه‌های سرمی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف فسفولیپید طی ۸ هفته دوره پرورش

پارامترها / گروه	گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)	پروتئین تام (میلی گرم بر دسی لیتر)	آلبومین (میلی گرم بر دسی لیتر)
فسفولیپید ۰/۵٪	۹۸/۲۳±۲/۵۶^{b}	۵/۱۸±۰/۰۹^{a}	۱/۶۹±۰/۱۱^{a}
فسفولیپید ۱/۵٪	۱۱۸/۰۳±۴/۵۶^{c}	۵/۸۸±۰/۲۰^{b}	۲/۱۷±۰/۲۳^{b}
شاهد	۹۰/۱۹±۲/۳۷^{a}	۶/۰۸±۰/۱۶^{b}	۲/۷۰±۰/۱۶^{c}

۴- بحث و نتیجه‌گیری

طبق تحقیقات انجام‌شده در رابطه با اثر استفاده از روغن‌های گیاهی بر فراسنجه‌های خونی، افزایش گلبول‌های سفید در برخی از تحقیقات جایگزینی روغن‌های گیاهی با روغن ماهی مشاهده شده است (Babalola et al., 2009). در تحقیق حاضر بیشترین میزان گلبول سفید مربوط به تیمار شاهد بود که حاوی روغن ماهی است. کاهش گلبول سفید در تیمارهای فسفولیپید می‌تواند به دلیل اثر منفی پودر چربی استفاده شده در این تیمارها باشد. به نظر می‌رسد بخشی از کاهش گلبول سفید در تیمار ۱/۵٪ فسفولیپید جبران شد .مقدار گلبول سفید در تیمار ۱/۵٪ فسفولیپید با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت درحالیکه تیمار ۰/۵٪ فسفولیپید کاهش معنی‌داری در مقدار گلبول سفید نشان داد ($P>0/05$). پودر چربی

به دلیل هضم‌پذیری پایین‌تر نسبت به روغن ماهی ممکن است باعث ایجاد اختلالات گوارشی شود و در نهایت اثر منفی بر سلول‌های روده و بافت کبد داشته باشد. گنجانیدن فسفولیپید در جیره ممکن است به دلیل خاصیت امولسیفایری منجر به افزایش هضم چربی شود (Kanazawa, 1983) و اثر منفی پودر چربی را تا حدی جبران کند. همچنین مطالعات نجفی‌پورمقدم و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که لسیتین با تحریک اریتروپویزیز موجب افزایش سطح هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول قرمز و سفید شد که با تحقیق حاضر مغایرت دارد. دلیل این مغایرت می‌تواند نوع فسفولیپید مورد استفاده و وجود پودر چربی در جیره باشد. زیرا عواملی مانند گونه ماهی، جنس، سن، تغذیه و سلامت بدن بر پارامترهای هماتولوژیکی موثر بوده و می‌تواند آن را تغییر دهد (Mc Carthy et al., 1973).

فسفولیپید تجاری استفاده شده در این تحقیق حاوی ترکیبات مختلفی از جمله کولین می‌باشد که مورد نیاز ماهی است و مقدار سنتز آن در بدن ماهی محدود می‌باشد (Wilson and Poe, 1988). در تحقیق یزدانی و همکاران (۱۳۹۳) افزودن کولین موجب افزایش پروتئین لاشه شد. در تحقیق حاضر پروتئین تام در تیمار ۱/۵٪ فسفولیپید بیشتر از ۰/۵٪ فسفولیپید بود و به تیمار شاهد رسید که می‌توان دلیل آن را، افزودن فسفولیپید دانست. مقدار آلبومین در تیمار ۱/۵٪ فسفولیپید بیشتر از ۰/۵٪ فسفولیپید بود ولی به تیمار شاهد نرسید. همچنین، با افزودن ۱/۵٪ فسفولیپید بیشترین مقدار گلوکز در سرم قزل‌آلا مشاهده شد. به طور کلی با توجه به اینکه افزودن فسفولیپید باعث بهبود برخی فراسنجه‌های خونی شد و در سطح ۱/۵٪ با گروه شاهد که دارای روغن ماهی بود در برخی پارامترها تفاوت معنی‌داری نداشت استفاده از آن در سطح ۱/۵٪ پیشنهاد می‌شود.

فهرست منابع

۱. **نجفی‌پورمقدم، ا.، فلاحتکار، ب. و کلباسی، م.، (۱۳۹۰).** اثر لسیتین جیره بر شاخصهای رشد و ویژگیهای خونی بچه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*). مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، صفحات ۱۵۴-۱۴۳.

۲. **یزدانی‌ساداتی، م.، سیدحسنی، ح.، بهمنی، م.، محسنی، م.، شکوریان، م.، پورعلی، ح. و پوراسدی، م.، (۱۳۹۳).** تأثیر سطوح مختلف کولین بر روند رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ترکیب لاشه تاس‌ماهی سیبری جوان (*Acipenser baeri*). مجله علوم و فنون شیلات، دوره ۳، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳، صفحه ۷۹-۶۹.

3.**Amirkolaie, A. K., Shahkolaie, M. D., Karimzadeh, S. & Khalesi, M., (2014).** The potential of soya oil industry products as oil alternatives in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet. Aquaculture International, 22, 1093-1103.

4.**Babalola, T., Adebayo, M., Apata, D., Omotosho, J., (2009).** Effect of dietary alternative lipid sources on haematological parameters and serum constituents of

Heterobranchus longifilis fingerlings. Tropical animal health and production 41, 371-377.

5.**Bell, J. G., Henderson, R. J., Tocher, D. R., Mcghee, F., Dick, J. R., Porter, A., Smullen, R. P. & Sargent, J. R., (2002).** Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. The Journal of nutrition, 132, 222-230.

6.**Bell, J. G., Tocher, D. R., Henderson, R. J., Dick, J. R. & Crampton, V. O., (2003).** Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. The Journal of nutrition, 133, 2793-2801.

7.**Drobkin, D. R., (1945).** Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: proposal for standardization of hemoglobin. American Journal of Science. 209, 268-270.

8.**Goldenfarb, P.B., F.P. Bowyer, T. Hall and E. Brosious., (1971).** Reproductibility in the hematology

laboratory: the microhematocrit determination. Am. J. Clin. Pathol. 56, 35–39.

9.**Hoston, A. H., 1990**. Blood and circulation. In: Shreck CB, Moyle PB. Methods in fish biology. Bethesda, Meryland: American Fisheries Society. P. 273-335.

10.**Kanazawa, A., 1983.** Effect of phospholipids on aquatic animals. Feed Oil Abstracts, 18: 1-5.

11.**Kasper, C. S. & Brown, P. B., (2003).** Growth improved in juvenile Nile tilapia fed phosphatidylcholine. North American journal of aquaculture, 65, 39-43.

12.**McCarthy D.H., Stevensom J.P. and Roberts M.S., (1973).** Some blood parameters of the rainbow trout (Salmo gairdneri Richar dson). I. The kamloops variety. Journal of Fish Biology, 5:1–8.

13.**Montero D, Grasso V, Izquierdo MS, Ganga R, Real F, Tort L, Caballero MJ, Acosta F., (2008).** Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. Fish Shellfish Immun. 24:147-155.

14.**Ng, W. K., Tocher, D. R. & Bell, J. G., (2007).** The use of palm oil in aquaculture feeds for salmonid species. European Journal of Lipid Science and Technology, 109, 394-399.

15.**Olesen, N. Jand Jorgensen, P. E. V., (1986).** Quantification of serum immunoglobulin in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) under various environmental conditions. Diseases of Aquatic organisms. vol. 1. pp: 183-189.

16.**Pei, Z., Xie, S., Lei, W., Zhu, X. & Yang, Y., (2004).** Comparative study on the effect of dietary lipid level on growth and feed utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese long snout catfish (*Leiocassis longirostris Günther*). Aquaculture nutrition, 10, 209-216.

17.**Pike, I., (2005).** Eco-efficiency in aquaculture: global catch of wild fish used in aquaculture. International Aquafeed, 8: 38–40.

18.**Sargent, J.R., J.G. Bell, L. McEvoy, D.R. Tocher and A. Estevez., (1999).** Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture, 177: 191–199.

19. **Tocher, D.R, E.A. Bendiksen, P.J. Campbell and J.G. Bell., (2008).** The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. Aquaculture, 280: 21-34.
20. **Turchini, G. M., Torstensen, B. E. & NG, W. K., (2009).** Fish oil replacement in finfish nutrition. Reviews in Aquaculture, 1, 10-57.
21. **Wilson, R. P., (1989).** In fish nutrition, " 2nd ed. (J. E. Halver, ed.), p. 111. Acade San Diego.
22. **Wilson, R. P. and Poe, W. E., (1988).** Choline nutrition of fingerling channel catfish. Aquaculture**.** 68: 65-71.