Archive of SID

در
امور دام و آبزیان شماره ۷۹ تابستان ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

بررسی اثر فیتات و فیتاز بر مصرف غذا، رشد، قابلیت هضم و فعالیت تریپسین در قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

● امید صفری
دانشجوی دکتری شیلات دانشگاه تهران و عضو هیأت علمی گروه محیطزیست و منابع طبیعی دانشگاه فردوسی مشهد
تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۶
Email:omid_safary@yahoo.com

چکیده

در اکثر آزمایشات اثر فیتات (با یا بدون فیتاز) از اثر افزایشی فیتات موجود در کنجاله های گیاهی جدا نشده است. یک آزمایش ۱۲ هفته ای بر روی قزل آلای رنگین کمان (با وزن متوسط ۲۸/۹ گرم) برای تعیین اثرات جداگانه و ترکیبی فیتات و فیتاز بر روی مصرف غذا، فعالیت تریپسین، قابلیت هضم و رشد انجام شد. جیره های بدون فیتات و فیتاز، با ۲۰۰۰ واحد فیتاز در هر کیلوگرم جیره، با ۱۰ گرم فیتات در هر کیلوگرم جیره و با ۱۰ گرم فیتات و ۲۰۰۰ واحد در هر کیلوگرم جیره تهیه شد. جیره پایه حاوی فسفر کافی و دیگر مواد معدنی بود تا نیازهای قزل آلای رنگین کمان تامین شود. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس دو طرفه و برای مقایسه میانگین، آزمون دانکن از برنامه اس ای اس در سطح ۰/۰۵ درصد استفاده شد. افزودن فیتات هیچ تاثیر آماری معنی داری ($p>0/05$) بر مصرف غذا یا وزن کسب شده نداشت ولی قابلیت هضم پروتئین را به طور معنی داری ($p<0/05$) کاهش داد اگرچه هیچ کاهشی در فعالیت تریپسین وجود نداشت. فیتاز اثر فیتات را بر قابلیت هضم پروتئین خنثی کرد. فیتاز هیچ اثری بر مصرف غذا نداشت اما به طور معنی داری ($p>0/05$) رشد را در جیره های با یا بدون فیتات افزایش داد. راندمان مصرف غذا به طور معنی داری ($p<0/05$) در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی فیتاز و فیتات و نه در جیره های حاوی هر یک بهبود یافت. اهمیت این آزمایش جداسازی اثر مستقیم فیتاز و فیتات افزوده شده به شکل خالص از اثرات فیتات موجود در دیگر اجزای جیره حاوی فیتات بود.

کلمات کلیدی: قزل آلا، مصرف غذا، فیتات، فیتاز، قابلیت هضم پروتئین، فعالیت تریپسین

www.SID.ir

Archive of SID

Pajouhesh & Sazandegi No 79 pp: 27-35

Study of effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

By: O.Safari, Ph.D Student of Fishery, The University of Tehran & Faculty Member of Environmental Sciences & Natural Resources, The University of Mashhad.

In the majority of experiments, the effects of phytic acid (with or without phytase) are not separated from the effects of adding plant meals containing phytic acid. A 12-week experiment was conducted with rainbow trout (with average weight: 28.9 g) to determine the separate and combined effects of phytic acid and phytase on feed intake, trypsin activity, digestibility and growth. Diets were prepared without phytic acid and phytase; with 2000 U phytase kg^{-1} diet; with 10 g sodium phytate kg^{-1} diet; and with 10 g sodium phytate and 2000 U phytase kg^{-1} diet. The basal diet contained sufficient phosphorus and other minerals to meet rainbow trout requirements. Two-way anova was used for data analyse and Duncan multiple range test was used for mean comparison by SAS software at level of 0.05. The addition of phytic acid had no significant effect ($p>0.05$)on feed intake or weight gain, it significantly ($p<0.05$) reduced protein digestibility although there was no reduction in trypsin activity. Phytase inclusion neutralized the effect of phytic acid on protein digestibility. Phytase had no effect on feed intake but significantly ($p<0.05$) enhanced growth whether included with or without phytic acid. Feed efficiency ratio was significantly ($p<0.05$) improved for fish fed the diet containing both phytase and phytic acid but not separately. The significance of this experiment was to separate the direct effects of phytase and the direct effects of phytic acid,added in a pure form, from effects due to other components in ingredients containing phytic acid.

Keywords: Rainbow trout, Feed intake, Phytase, Phytic acid, Protein digestibility, Trypsin activity

مقدمه

فیتـات یـک فاکتـور ضد تغذیـه ای می باشـد که در بسـیاری از کنجاله‌های گیاهی یافت می شود و توسط ماهی هضم نمی شود (۲۱، ۳۰) و اثرات منفی بر قابلیت هضم پروتئین (۳۷) و قابلیت دسترسی برخی مواد معدنـی (۱۴،۱۲، ۴۰) دارد. فیتاز ترکیبات حاصل از تجزیه فیتات (اسـید فایتیک یـا میواینوزیتول هگزا فسـفات) برای تولید پنتا، تتـرا، تری، دی و مونوفسـفات میواینوزیتول را تسـریع می کند. فیتاز اثرات منفی فیتات بر پروتئیـن و مواد مغذی دیگر موجود در جیره موجودات تک معده ای را خنثی می کند (۳). اسـتفاده از فیتاز همچنین اشـتها را تحریک می کند و بنابراین رشـد را به طور مستقیم از طریق افزایش مصرف غذا افزایش می دهد (۱۵،۱۳، ۱۷). فیتاز افزوده شـده به کنجاله سـویا در جیره قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) مصـرف غذا و وزن کسـب شـده را افزایش داد (۳۰). در این مورد، عملکرد رشد بالاتر مربوط به افزایش قابلیت دسترسی به فسـفر جیره در یک جیره حاوی میزان فسفر زیر حد مطلوب بود (۲۹). Hauler وCarter(۱۳) آزاد ماهـی اقیانـوس اطلـس (*Salmo salar*) را با جیره ای بر اسـاس کنجاله سـویای حاوی فیتاز به میزان ۲۰۰۰ واحد در هر کیلوگرم تغذیه کردند و نشان دادند که فیتاز اشتها را تحریک می کند. آنها از یک جیره‌ای استفاده کردند که به میزان اندکی در میزان فسفر قابل دسترس کمبود داشت.

اکثـر مطالعات کارایی فیتاز بر روی یک منبع طبیعی فیتات را مورد مطالعه قرار دادند (۴،۵،۱۳،۱۵،۱۷،۲۱،۳۰،۳۴، ۴۶). لذا در مطالعه حاضر، از شـکل خالص فیتات به جای اجزای گیاهی اسـتفاده شد و مقدار آن به حدی تنظیم شـد که برابر با مقدار آن در جیره هایی باشـد که در اجزای گیاهی موجود اسـت. همچنین فرض مطالعه حاضر بررسی اثرات مستقل فیتات و فیتاز بر مصرف غذا و رشـد می باشد. برای انجام این منظور، چهار جیره با فیتاز یا فیتات، با هر دو و یا با هیچکدام مورد مقایسـه قرار گرفت. میزان فسفر و مواد معدنی ضروری دیگر به میزان بیشتر از مقدار احتیاجات غذایی قزل آلا تنظیم شـد تا اثر فیتات و یا فیتاز بر عملکرد رشـد ارزیابی شـود. این آزمایش طوری طراحی شد تا اثر فیتات و فیتاز بر مصرف غذا و قابلیت هضم پروتئین و متعاقب آن عملکرد رشد قابل اندازه‌گیری باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در کارگاه خصوصی پرورش قزل آلا واقع در شهرسـتان ابهر از توابع اسـتان زنجان به اجرا در آمد. تعداد ۱۵۰ عدد ماهی قزل آلا با وزن متوسط ۳/۶ ± ۲۸/۹ گرم انتخاب و در ۱۲ تانک فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری (هر تانک ۱۵عدد) قرار گرفتند. پس از دو هفته سازگاری به مدت ۸۴ روز با جیره های آزمایشی تغذیه شدند. وزن ماهیان بعد از بیهوشی در فواصل زمانی ۲۱ روزه با استفاده از عصاره گل میخک به غلظت ppm ۱۰۰ با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شد (۱).

جیـره پایه (جیره ۱) حـاوی ۴۸ درصد پروتئین خام، ۲۲/۵ مگاژول در کیلوگرم انرژی خام و ۰/۷ درصد فسفر بود (جدول۱). تمام احتیاجات غذایی قزل آلا بر اساس مقادیر پیشنهادی تنظیم شد (۱۹). غلظت فسفر به

www.SID.ir

Archive of SID

میزان احتیاج (۰/۷ درصد) و غلظت بقیه مواد معدنی ضروری (حاوی هیچ فیتات) به میزان بیش از احتیاج تنظیم شد (۳۱). منابع پروتئینی شامل آرد ماهی، آرد خون و کازئین بود. دو فاکتوری که در این آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تنظیم شدند به شرح ذیل بود: میزان فیتاز (در دو سطح صفر و ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم؛ که یک واحد بنا به تعریف مقدار فیتازی می باشد که فسفر معدنی را از یک محلول فیتات سدیم ۰/۰۰۱۵ مولار به میزان یک میکرومول بر دقیقه در اسیدیته ۵/۵ و حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد آزاد کند) و میزان فیتات سدیم (در دو سطح صفر و ۱ درصد). لذا چهار جیره فاقد فیتات سدیم یا فیتاز (جیره پایه)، فیتات سدیم (جیره ۲)، فیتاز به میزان ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم (جیره ۳) و یا شامل فیتاز به میزان ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم و فیتات سدیم به میزان ۱ درصد(جیره ۴) بودند. از فیتاز ۱۰۰۰۰ واحد بر کیلوگرم (شرکت باسف،استرالیا) و اسید فایتیک (شرکت باسف، استرالیا) استفاده شد. اجزای جیره با استفاده از مخلوط کن با یکدیگر مخلوط، پلت ها در حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک و جیره ها در یخچال در درجه حرارت ۴ درجه سانتی گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند و ماهیان تا حد اشباع مورد تغذیه قرار گرفتند (۳۱).

بعد از فرموله کردن طبق احتیاجات غذایی ماهی (۱۹)، تجزیه تقریبی مواد مغذی جیره ها (۳ نمونه از هر جیره)، ترکیب شیمیایی لاشه در شروع (۳ نمونه از ۸ عدد ماهی از جمعیت) و پایان آزمایش (۳ عدد ماهی از هر تکرار) طبق روش AOAC (۳) صورت گرفت (جدول۱).

از هر ۹ جیره آزمایشی و لاشه ماهیان در شروع و پایان دوره آزمایش بطور تصادفی نمونه برداری شد و پس از آسیاب بوسیله مولینکس مدلSGDG ، توزین و سپس جیره ها با الک با شماره چشمه mm ۱ غربال و سپس جیره ها و لاشه ها در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت جهت رسیدن به وزن ثابت قرار داده شد. بعد از خشک کردن درصد رطوبت و ماده خشک محاسبه شد (۳).

درصد پروتئین خام(N×۶/۲۵) به روش کلدال و با استفاده از دستگاه Elementary Analyser NA۲۰۰۰، چربی به روش سوکسله، انرژی خام با استفاده از بمب کالریمتر مدل Parr، خاکستر با سوزاندن در حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت در کوره الکتریکی، کل فسفر به روش اسپکتروفتومتری ترکیب فسفو وانامولیبدات بعد از جمع آوری مواد معدنی و هضم اسیدی و عصاره بدون نیتروژن از تفاضل ماده خشک از مجموع خاکستر، پروتئین خام، چربی خام تعیین شد (۳).

برای تعیین مقدار قابلیت هضم ظاهری از اکسید کروم (به میزان ۱ درصد) به جیره ها افزوده شد (۳۹) و مقدار آن به روش Vandeca steele و (۴۵) Block در جیره ها و مدفوع ماهیان تحت آزمایش اندازه گیری شد. بدین منظور، ماهیان از جیره های حاوی اکسید کروم در ۲۰ روز آخر آزمایش تغذیه نمودند و در روزهای ۱۷،۱۶،۱۵ و ۱۸ نمونه های مدفوع با استفاده از یک سیستم جمع کننده مدفوع از نوع گوالف (۶) جمع آوری شد. یک ساعت بعد از غذادهی در ساعت ۱۶ جمع کننده ها از غذاهای خورده نشده تمیز می شدند و مدفوع از آن زمان تا ۱ ساعت قبل از غذادهی بعدی (ساعت ۹ صبح) جمع آوری شد (۳۱). مدفوع در شرایط خلا منجمد و برای تعیین میزان مواد مغذی و اکسید کروم آن نگهداری شدند. نمونه های منجمد جمع آوری شده در دوره ۴ روزه با یکدیگر مخلوط و از هر تکرار ۳ نمونه تهیه شد.

در انتهای دوره آزمایش، ۵ ماهی به ازای هر تانک کشته شدند تا فعالیت تریپسین (بعد از ۲۴ ساعت غذادهی) اندازه گیری شود. ماهیان مذکور کالبد شکافی و کل ضمایم پیلوریک جدا شد. چربی اطراف ضمایم پیلوریک جدا شد و نمونه ها توزین، برچسب دار، در کاغذ آلومینیومی پیچیده، در نیتروژن مایع منجمد و سپس در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۳۱). فعالیت تریپسین طبق روش Preiser و همکاران (۲۴) و Pringle و همکاران (۲۵) اندازه گیری شد.

میانگین معیارهای فیزیکی و شیمیایی آب ورودی به استخرها در طول مدت آزمایش از این قرار تعیین گردید: pH ۷/۵-۸، mg/lit ۶-۷/۵: اکسیژن محلول، ۱۴-۱۲/۱درجه سانتی‌گراد دمای آب.

مقادیر متوسط همراه با انحراف معیار ذکر گردید. بعد از تائید نرمال و یکنواختی واریانس، اطلاعات با کمک رویه آنالیز واریانس دو طرفه با استفاده از غلظت های فیتاز و فیتات به عنوان دو فاکتور به کمک نرم افزار SAS (۳۲) انجام گردید. مقایسه میانگین ها به کمک آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد انجام شد.

نتایج

خوشبختانه هیچ مرگ و میری در آزمایش ۱۲ هفته ای مشاهده نشد. هیچ تفاوت آماری معنی داری ($p>0/05$) در کل دوره مصرف غذا و بین مصرف غذای صبح و بعدازظهر مشاهده نشد (جدول۲). استفاده از فیتاز در جیره ها رشد قزل آلا در دوره آزمایش را به شکل وزن نهایی و هم وزن کسب شده افزایش داد و در مقابل فیتات هیچ اثری بر رشد نداشت (جدول۲). راندمان معنی دار ($p<0/05$) بالاتر استفاده از غذا نشان داد که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی فیتاز و فیتات، این جیره را با کارایی بالاتری نسبت به بقیه جیره ها استفاده می کنند (جدول۲).

نه فیتاز و نه فیتات هیچ اثر معنی داری ($p>0/05$) بر ماده خشک لاشه و یا پروتئین نداشتند (جدول۳). فیتات و هم فیتاز اثرات مستقلی بر چربی خام لاشه داشتند و فیتات به طور معنی داری ($p<0/05$) میزان خاکستر لاشه را افزایش داد (جدول۳).

تفاوت آماری معنی داری در میزان انرژی قابل هضم مشاهده نشد اما یک اثر متقابل بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین وجود داشت و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی فیتات مقادیر معنی دار ($p<0/05$) کمتری نسبت به بقیه جیره ها داشتند (جدول۴).

هیچ تفاوت آماری معنی داری ($p>0/05$) در فعالیت تریپسین بین ماهیان تغذیه شده با جیره های مختلف وجود نداشت و مقدار متوسط فعالیت تریپسین ۰/۳۳ میکرومول پی- نیتروآلانین بر گرم در دقیقه بود (جدول۴).

بحث

در مطالعه حاضر اثر فیتات و فیتاز (مستقل از میزان فسفر جیره) بر مصرف غذا، عملکرد رشد و قابلیت هضم مورد بررسی قرار گرفت. فیتاز رشد ماهی را افزایش داد بدون اینکه تحت تاثیر حضور فیتات باشد و یا اثری بر مصرف غذا داشته باشد. فیتات قابلیت هضم ظاهری پروتئین را بدون اثر بر مصرف غذا و رشد کاهش داد. نکته قابل توجه این بود که

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی

اجزای جیره (درصد)	جیره پایه	جیره های آزمایشی حاوی		
		فیتاز	فیتات	فیتات و فیتاز
کازئین	۲۷/۲	۲۷/۲	۲۷/۲	۲۷/۲
آرد ماهی	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
پودر خون	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱
نشاسته ژلاتینه شده	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
روغن ماهی	۱۶/۵	۱۶/۵	۱۶/۵	۱۶/۵
سلولز	۶	۶	۶	۶
بتائین	۳/۲	۳/۱۸	۲/۲	۲/۱۸
مکمل معدنی۱	۳	۳	۳	۳
مکمل ویتامینی۲	۳	۳	۳	۳
کولین کلراید (۷۰٪)	۱	۱	۱	۱
ویتامین C	۳	۳	۳	۳
اکسید کروم	۱	۱	۱	۱
فیتات سدیم۳	-	-	۱	۱
فیتاز	-	۰/۰۲	-	۰/۰۲
ترکیب شیمیایی جیره ها (درصد)				
ماده خشک	۹۵/۵	۹۵/۸	۹۵/۵	۹۵/۱
پروتئین خام	۴۸	۴۸/۴	۴۸/۲	۴۸
چربی خام	۲۱/۶	۲۱/۳	۲۱/۱	۲۱/۷
خاکستر	۷/۳	۷/۳	۷/۳	۷/۳
کل فسفر	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۹۱	۰/۹۹
عصاره عاری از ازت۴	۱۲/۶	۱۲/۸	۱۲/۹	۱۲/۱
انرژی خام (مگا ژول بر کیلوگرم ماده خشک)	۲۲/۴۲	۲۲/۶۷	۲۲/۵۰	۲۲/۷۳

۱ ترکیب مواد معدنی محتوی مواد ذیل (بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم جیره) بود: بی سولفات کلسیم، ۰/۹۸؛ لاکتات کلسیم، ۳/۷۹؛ کلرید سدیم،۰/۲۶؛ سولفات پتاسیم، ۱/۳۱؛ کلرید پتاسیم، ۰/۵۳؛ سولفات آهن۰/۵۳ ،III، سیترات آهن۰/۳۱،II؛ سولفات منیزیم، ۰/۳۵؛ سولفات روی، ۰/۰۰۴؛ سولفات منگنز، ۰/۰۰۳؛ سولفات مس، ۰/۰۰۲؛ کلرید کبالت، ۰/۰۰۳؛ یدید پتاسیم، ۰/۰۰۰۲(تهیه شده از شرکت باسف، استرالیا).

۲ ترکیب ویتامینی محتوی مواد ذیل (بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم جیره) بود : تیامین،۵؛ ریبوفلاوین،۵؛ ویتامین A،IU۲۵۰۰ و ویتامین E، ۴۰ ؛ ویتامین D3 ۲۴۰۰IU؛ منادیون، ۴؛ پیرودوکسین، ۴؛ سیانوکوبالامین، ۰/۰۱؛ بیوتین، ۰/۶؛ پانتوتنات کلسیم، ۱۰؛ اسید فولیک، ۱/۵؛ نیاسین، ۲۰؛ اینوزیتول، ۲۰۰ (تهیه شده از شرکت باسف، استرالیا).

۳ حاوی ۰/۸۲ درصد اسید فایتیک (فیتات) می باشد.

۴ به صورت محاسباتی می باشد (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- عملکرد رشد قزل آلای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

پارامتر	جیره پایه	جیره های آزمایشی حاوی			سطح معنی دار آماری (P)		
		فیتاز	فیتات	فیتات و فیتاز	فیتاز	فیتات	فیتات x فیتاز
وزن اولیه(گرم)	۲۸/۹ ± ۰/۲	۲۹/۱ ± ۰/۲	۲۸/۸ ± ۰/۲	۲۸/۹ ± ۰/۱	ns	ns	ns
وزن نهایی(گرم)	۸۲/۶ ± ۲/۲	۸۸/۴ ± ۰/۷	۸۲/۸ ± ۳/۴	۹۰/۳ ± ۲/۵	۰/۰۳۶	ns	ns
وزن کسب شده(گرم)	۵۳/۸ ± ۲/۰	۵۸/۳ ± ۰/۵	۵۴/۰ ± ۳/۴	۶۱/۴ ± ۲/۶	۰/۰۳۶	ns	ns
کل مصرف غذا (کیلوگرم ماده خشک)	۱/۱۲ ± ۰/۰۴	۱/۲۰ ± ۰/۰۱	۱/۱۱ ± ۰/۰۵	۱/۲۲ ± ۰/۰۵	ns	ns	ns
کل مصرف غذا در صبح (کیلوگرم ماده خشک)	۰/۵۷ ± ۰/۰۱۳	۰/۶۲ ± ۰/۰۰۷	۰/۵۷ ± ۰/۰۲۹	۰/۶۱ ± ۰/۰۲۷	ns	ns	ns
کل مصرف غذا در بعدازظهر (کیلوگرم ماده خشک)	۰/۵۵ ± ۰/۰۰۷	۰/۵۸ ± ۰/۰۱۰	۰/۵۴ ± ۰/۰۱۹	۰/۶۱ ± ۰/۰۱۹	ns	ns	ns
راندمان استفاده از غذا۱	a۰۱/۰ ± ۲۲/۱	a۰۱/۰ ± ۲۱/۱	a۰۲/۰ ± ۲۰/۱	b۰۱/۰ ± ۲۸/۱	۰/۰۳۶	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵
تثبیت پروتئین۲	۴۳/۲۲ ± ۰/۸۹	۴۳/۰۷ ± ۲/۸۵	۴۲/۰۵ ± ۱/۴۰	۴۵/۲۵ ± ۱/۵۹	ns	ns	ns
شاخص وضعیت۳	۱/۳۵ ± ۰/۰۰۶	۱/۳۵ ± ۰/۰۱۱	۱/۳۵ ± ۰/۰۱۳	۱/۳۶ ± ۰/۰۱۸	ns	ns	ns
بقا	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	ns	ns	ns

اعداد حداقل با یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوتی در سطح ۰/۰۵ درصد با هم ندارند.

مقدار غذای خشک مصرف شده (گرم) / (تفاضل وزن نهایی از وزن اولیه (گرم)) = راندمان استفاده از غذا۱

کل مقدار پروتئین مصرف شده (گرم) / (کل مقدار پروتئین کسب شده (گرم))*۱۰۰ = (درصد) تثبیت پروتئین۲

(طول ماهی(سانتی متر)۳)/ (وزن ماهی (گرم))*۱۰۰ = (درصد) شاخص وضعیت۳

راندمان استفاده از غذا به طور معنی داری بالاتر در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی فیتاز و فیتات بود.

اثر فیتات بر رشد در ابتدا بستگی به مقدار آن در جیره و حضور یا عدم حضور معده مشخص دارد. استفاده از ۰/۵ یا ۱ درصد فیتات در جیره های خالص در کپور معمولی بی معده (*Cyprinus carpio*) باعث کاهش آماری معنی دار در رشد و راندمان استفاده از غذا شد (۱۴). رشد گربه ماهی (*Ictalurus punctatus*) کاهش یافت تنها هنگامی که جیره های تغذیه شده حاوی ۲/۲ درصد فیتات و یا بیشتر بودند (۳۳) اما جیره های تا حدود ۱/۵ درصد فیتات هیچ اثری بر رشد نداشتند (۱۲، ۳۳). در مقایسه با مقادیر اندک (۰/۱۶ درصد) و یا متوسط (۰/۶۵ درصد) فیتات، آزاد ماهیان جوان چینوک (*Oncorhynchus tshawytscha*) وزن کسب شده اندکی را نشان داد هنگامی که از جیره ای حاوی ۲/۶ درصد فیتات استفاده کردند (۲۸). در مطالعه حاضر، از ۰/۸ درصد فیتات در جیره استفاده شد و به نظر می رسد که مقدار اندکی باشد که رشد قزل آلای رنگین کمان را کاهش دهد.

برخی شواهد وجود دارند که نشان می دهند که فیتاز مصرف غذای ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی فسفر در زیر حد مطلوب و یا به میزان نیاز ماهی را افزایش می دهد. Rodehutscord و Pfeffer (۳۰) افزایش مصرف غذا در ماهیان قزل آلای تغذیه شده با جیره حاوی فیتاز و با مقدار فسفر در زیر حد مطلوب را گزارش کردند. این محققین نتیجه گرفتند که قابلیت دسترسی افزایش یافته فسفر، ناشی از فیتاز به دلیل افزایش مصرف غذا می باشد که منجر به افزایش عملکرد رشد شده است. مصرف غذای بالاتر در گربه ماهی تغذیه شده با جیره حاوی ۲۵۰ واحد فیتاز در کیلوگرم جیره (۱۷) و حداقل ۵۰۰ واحد فیتاز در کیلوگرم جیره (۱۵) مشاهده شد. Carter, Hauler (۱۳) نشان دادند که فیتاز در جیره ای بر اساس پروتئین گیاهی با مقدار اندکی کمبود در فسفر قابل دسترس (۵ درصد) مصرف غذا را در آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) افزایش داد. در این تحقیق، میزان فسفر در جیره به طور هدفمند به گونه‌ای تنظیم شد که نیاز قزل آلای رنگین کمان را تامین کند و لذا هیچ تفاوتی در مصرف غذای جیره حاوی فیتاز مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- ترکیب شیمیایی لاشه (درصد) قزل آلای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

پارامتر(درصد)	جیره پایه	جیره های آزمایشی حاوی			سطح معنی دار آماری (P)		
		فیتاز	فیتات	فیتات و فیتاز	فیتاز	فیتات	فیتات x فیتاز
ماده خشک	۳۲/۶۴ ± ۳/۶	۳۲/۷۲ ± ۱/۴	۳۱/۸۵ ± ۳/۳	۳۲/۵۷ ± ۱/۳	ns	ns	ns
پروتئین خام	۱۷/۳۶ ± ۱/۱	۱۷/۱۴ ± ۱/۴	۱۶/۹۸ ± ۳/۲	۱۷/۱۳ ± ۰/۹	ns	ns	ns
چربی خام	۱۲/۶۲ ± ۲/۰	۱۲/۸۹ ± ۱/۳	۱۱/۸۵ ± ۲/۱	۱۲/۴۲ ± ۰/۶	۰/۰۳۳	۰/۰۰۵	ns
خاکستر	۱/۸۷ ± ۰/۳	۱/۸۵ ± ۰/۳	۲/۰ ± ۰/۲	۲/۰۴ ± ۰/۳	ns	۰/۰۰۱	ns

 اعداد حداقل با یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوتی در سطح ۰/۰۵ درصد با هم ندارند.

جدول۴- قابلیت هضم ظاهری پروتئین، انرژی و فسفر و میزان فعالیت تریپسین ضمایم پیلوریک در قزل آلای تغذیه شده با جیره های آزمایشی

پارامتر	جیره پایه	جیره های آزمایشی حاوی			سطح معنی دار آماری (P)		
		فیتاز	فیتات	فیتات و فیتاز	فیتاز	فیتات	فیتات x فیتاز
قابلیت هضم ظاهری (درصد)							
پروتئین	a۰۳/۰ ± ۹۸/۹۵	a۱۶/۰ ± ۳۶/۹۶	b۱۲/۰ ± ۹۸/۹۴	a۰۸/۰ ± ۰۱/۹۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۲۳
انرژی	۹۱/۳۵ ± ۰/۰۶	۹۱/۳۰ ± ۰/۳۹	۹۰/۷۳ ± ۰/۲۲	۹۱/۶۱ ± ۰/۱۸	ns	ns	ns
فسفر	۷۴/۳۴ ± ۰/۷۵	۷۴/۷۱ ± ۰/۴۶	۶۸/۸۳ ± ۱/۵۹	۷۴/۰۴ ± ۱/۶۹	ns	۰/۰۴۱	ns
فعالیت تریپسین (میکرومول بر گرم در دقیقه)	۰/۳۰۴ ± ۰/۰۳۲	۰/۳۳۱ ± ۰/۰۴۳	۰/۳۱۸ ± ۰/۰۴۰	۰/۳۵۰ ± ۰/۰۳۲	ns	ns	ns

 اعداد حداقل با یک حرف مشترک از نظر آماری تفاوتی در سطح ۰/۰۵ درصد با هم ندارند.

حداقل مقدار وزن کسب شده بهبود یافته در برخی مطالعات می‌تواند مربوط به افزایش مصرف غذا در ماهی باشد. اگرچه استفاده از فیتاز منجر به افزایش میزان رشـد در قزل آلا (۵) و کپور معمولی (۳۴) تغذیه شده از جیره های محدود می باشـد. در مقابل، اسـتفاده از فیتاز با کاهش میزان فیتات جیره ها هیچ اثری بر میزان رشد و راندمان استفاده از غذا در ماهی باس دریایی (۲۱) (*Dicentrarchus labrax*) و قزل آلای رنگین کمان (۴۶) نداشت. استفاده از کنسانتره پروتئینی کلزای فیتات زدایی شده در قزل آلا هیچ اثر معنی داری بر مصرف غذا، میزان رشـد، استفاده از غذا و پروتئین، سـلامت و یا بقا نداشـت (۴۱). آنها فرض کردند که فیتات موجود در این کنسـانتره یک اثر قابل اغماض بر قابلیت دسترسی پروتئین در ماهیان آزاد دارد زیـرا ضریب قابلیت هضـم پروتئین در این کنسـانتره در قزل آلا بالا (۹۸-۸۹ درصد) بود. در مطالعه حاضر، ماهیان تغذیه شـده با جیره حاوی فیتاز بدون توجه به مقدار فیتات رشد بهتری داشتند و ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی فیتاز و فیتات سدیم راندمان استفاده از غذای بهتری را نشان دادند. راندمان استفاده از غذا در ماهیان تغذیه شده از جیره هایی براساس پروتئین گیاهی حاوی فیتاز بهتر بود (۱۷).

فیتات ترکیب شیمیایی کل بدن را تحت تاثیر قرار داد. ماهیان تغذیه شـده با جیره های حاوی فیتات در مقایسـه با ماهیان تغذیه شده با فیتاز چربی کمتر و میزان خاکسـتر بیشتری داشـتند و این روند مطابق با نتایج Usmani و Jafri (۴۳) می باشـد. آنها مشـاهده نمودند که بیـش از ۰/۵ درصـد فیتات منجر به کاهش چربی و بیـش از ۱/۵ درصد فیتات منجر به افزایش خاکسـتر لاشه می شـود. همچنین آزاد ماهی چینوک تغذیه شده بـا مقدار بالایی فیتات رطوبت، پروتئین و خاکسـتر بالاتر و میزان کمتری چربی در لاشه داشتند (۲۸).

www.SID.ir

Archive of SID

مصـرف اختیـاری غذا افزایش یافت هنگامی که مقدار فسـفر جیره از زیر حد مطلوب به سـطح مطلوب افزایش یافت (۲۳، ۲۹). هنگامی که ماهـی با جیره هایی تغذیه شـود که در یک ماده غذایی کمبـود دارند، دو پاسـخ متفاوت محتمل اسـت: هنگامی که کمبود اندک باشـد، با افزایش مصرف غذا و افزایش مصرف بیشـتر ماده غذایی کمبود جبران خواهد شـد اما هنگامی که کمبود شـدید باشد، یک پاسخ ممانعت کننده مشاهده می شود (۹). کاهش مصرف غذا در ماهیان تغذیه شده با جیره هایی که از نظر یک ماده غذایی کمبود شدید دارند ممکن است از شروع اختلال متابولیکی جلوگیری کند و یا به تاخیر بیاندازد (۹). Rodehutscord و Pfeffer (۳۰) استنتاج نمودند که استفاده از فیتاز در جیره هایی با فسفر زیر حد مطلوب منجر به افزایش مصرف غذا در قزل آلا می شـود. کل فسـفر ۰/۴۸ درصد در جیره های آزمایشـی این محققین بود اما میزان فسفر قابل دسترس در جیره شـاهد ۰/۱۲ درصد بود و فیتاز فسفر قابل دسترس را تا ۰/۲۷ درصد افزایـش داد. مطابق بـا Rodehutscord (۲۹)، ۰/۲۵ و ۰/۴ درصد فسـفر جیـره به ترتیب ۹۰ و ۹۸ درصد حداکثر مصرف غذا را در قزل آلا تحریک کرد. بنابراین افزایش فسـفر قابل دسـترس ناشی از فیتاز منجر به افزایش بیشتری در مصرف غذا و در نتیجه افزایش رشد شد.

اگرچه کاهش عملکرد رشد ماهیان تغذیه شده از جیره هایی با فیتات ممکن اسـت همچنین مربوط به دامنه ای از فاکتورهای دیگر مانند کاهش در قابلیت دسترسـی به مواد معدنی، قابلیت هضـم پروتئین یا جذب ماده مغـذی به دلیل عمل تخریبی فیتات بـر منطقه پیلوریکی روده (۱۱) یا اثر مجموع برخی یا تمام این فاکتورها باشـد. به عنوان مثال، کاهش رشـد به دلیـل کاهش قابلیت هضم پروتئین در قزل آلا (۳۷) و یا بخشـی به دلیل کاهش در قابلیت دسترسـی به عنصر روی در آزاد ماهی چینوک (۲۸) می باشد.

اثـرات فیتاز بـر قابلیت هضم به دامنه ای از عوامل جیره مانند منبع و غلظـت فیتات در جیره، منبع و غلظت پروتئیـن در جیره، قابلیت هضم پروتئین، میزان مواد معدنی، مقدار کلسـیم و فسـفر و مقدار فیتاز مصرفی بسـتگی دارد (۳۵، ۴۰). اجزای جیره ای که به میزان کمتری هضم شوند بیشـتر به فیتاز پاسـخ می دهند (۳۵). از این گذشته، روش‌های بکاررفته بـرای افزودن فیتاز در طی سـاخت در کارخانه مانند پیش تیمـار اجزا یا استفاده مستقیم از فیتاز در جیره همچنین ممکن است دارای اثراتی باشد (۳۱).

در مطالعـه حاضـر، کازئیـن، آرد خون و آرد ماهی بـه عنوان منابع پروتئینی بکار برده شدند و قابلیت هضم بالایی دارند (۱۹). ظرفیت فیتات در ترکیـب بـا منابع پروتئینی بسـته به نوع پروتئین متفاوت اسـت (۲۶، ۴۱) و مقادیـر قابلیت هضم نشـان داد که قابلیت هضـم پروتئین به طور آمـاری معنی داری در جیره حـاوی فیتات کمتر بود اما این مورد در جیره حاوی فیتاز مشاهده نشـد. استفاده از ۱ درصد فیتات سدیم قابلیت هضم پروتئینـی در قـزل آلا را کاهش داد و با مطالعات قبلی در یک راسـتا بود (۳۷). فیتات و پروتئین در pH خنثی به سـمت اسـیدی (۲، ۸) با یکدیگر ترکیـب و حداکثر کنش بین فیتات و پروتئیـن در pH پایین مانند محیط اسیدی سیستم گوارش آزادماهیان می باشد (۲۰).

Wise (۴۷) پیشنهاد کرد که درpH پایین، فیتات اساسا با پروتئین‌ها بهتر از مواد معدنی ترکیب می شـود. پیش تیمار کنسـانتره سویا با فیتاز در جیره ماهی آزاد اقیانوس اطلس قابلیت هضم پروتئین را بهبود بخشـید (۳۸). بهبـود قابلیت هضم پروتئین با پیش تیمار کنجاله سـویا با فیتاز و جیره ای بر اساس فیتاز افزوده شده به کنجاله سویا مشاهده شد (۴۰).

Papatryphon و Soares (۲۲) نشـان داد کـه قابلیت هضم پروتئین برخـی اجزای گیاهی در باس دریایی مخطـط (*Morone saxatilis*) تحت تاثیـر فیتاز قرار نگرفت. در مطالعه حاضر، اثر منفی فیتات بر قابلیت هضم پروتئین با افزودن ۲۰۰۰ واحد بر کیلوگرم فیتاز بی اثر شـد. اسـتفاده از فیتاز در جیره هایی بر اساس پروتئین گیاهی، قابلیت هضم فسفر در ماهی را افزایـش می دهد (۱۰، ۳۸) و در مطالعه حاضر، قابلیت هضم فسـفر در ماهیـان تغذیه شـده با جیره های حاوی فیتات به طـور معنی داری کمتر بود.

در آزمایش حاضر فعالیت تریپسـین بین ۰/۳۰۴ تا ۰/۳۵۰ میکرومول پی- نیتروآلانین بر گرم در دقیقه و در مقایسه با مطالعات دیگر آزادماهیان بالاتر بود. فعالیت تریپسـین آزاد ماهیان تغذیه شده در دامنه بین ۰/۰۷۵ تـا ۰/۱۳۵ میکرومول پی- نیتروآلانین بر گرم در دقیقه قرار دارد (۷، ۲۵). وزن نهایـی قـزل آلا در مطالعه حاضر بین ۸۲ تا ۹۰ گرم بود اما وزن ها در مطالعـات قبلی بیش از ۲۰۰ گرم بود. وزن ماهی فاکتور مهمی می باشـد که فعالیت تریپسـین در آزاد ماهیان را تحت تاثیر قرار می دهد و فعالیت تریپسـین در ماهی ۱۰۰ گرمی ۵ برابر بیشـتر از ماهی ۴۰۰ گرمی اسـت (۴۲). شـواهدی در دسـت می باشـد که فیتات یک اثر منفی بر فعالیت پروتئاز دارد. فعالیت تریپسـین در محیط آزمایشگاه تا حدود ۴۶ درصد در حضور فیتات کاهش یافت (۳۶). فیتاز قابلیت هضم روده ای نیتروژن را تا حدود ۳/۷ درصد و فعالیت تریپسین را تا حدود ۱۰/۹ درصد در یک مطالعه بافت زنده در مـاده خوک های جوان افزایش داد (۱۸). در تحقیق حاضر، هیچ تفاوت آماری معنی داری در فعالیت تریپسـین در ماهیان تغذیه شده با جیره های متفاوت وجود نداشت. اگرچه، اکثر مطالعات بر روی حیوانات خشـکی برای مشاهده اثر فیتات بر فعالیت پروتئازها با شکست مواجه شده اسـت (۲۷،۱۶، ۴۴). تاکنـون ایـن احتمال مهم وجود دارد کـه فیتات از فعالیت تریپسـین و آنزیم‌های گوارشی دیگر ممانعت می کند اما موضوعی ثابت نشده است (۳۵). در مجموع، استفاده از ۱ درصد فیتات هیچ اثری بر مصرف غذا، رشد یا فعالیت تریپسین (روی موجود زنده) نداشت اما قابلیت هضم پروتئین در قزل آلا را کاهش داد. استفاده از فیتاز مستقیماً هیچ اثری بر مصرف غذا نداشـت اما رشـد را افزایش و فیتات را تجزیه و بنابراین اثر منفی فیتات بر قابلیت هضم پروتئین را بی اثر نمود.

سپاسگزاری

بدین وسـیله از مسـئول فنی کارگاه که امکان اجرای این طرح را فراهم نمودند و پرسـنل محترم کارگاه مربوطه تقدیر و تشـکر به عمل می آید. نویسـندگان مقاله در اینجا از همکاری ارزشـمند جناب مهندس سل مسئول محترم شـرکت باسف استرالیا برای ارسـال فیتاز، فیتات و مکمل های ویتامینی تشکر به عمل می آورد.

منابع مورد استفاده

۱ - مهرابـی، ی. ۱۳۷۸؛ مطالعه مقدماتی اثر بیهوشـی گل درخت میخک بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی. شماره ۴۰.

www.SID.ir

Archive of SID

2- Anderson,P.A.1985; Interaction between proteins and constituents that affect protein quality.In: Digestibility and Amino Acid Availability in Cereals and Oilseeds (Finely,J.W. & Hopkins,D.T. eds), pp.31-46.Americans Association of Cereal Chemists,St Paul,MN.

3- Association of Official Analytical Chemists.1990; Official Methods of Analysis.15th ed.Washington DC.

4- Bransden,M.P. & Carter,C.G.1999; Effect of processing soybean meal on the apparent digestibility of practical diets for the green-Back flounder (*Rhombosolea tapirina*).Aquacult.Res.,30:719-723.

5- Cain,K.D. & Garling,D.L.1995; Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents.Prog.Fish-Cult.,57:114-119.

6- Carter,C.G. & Hauler,R.C.2000; Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 185: 299-311.

7- Carter,C.G.,Houlihan,D.F.,Buchanan,B. & Mitchell,A.I.1994; Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a diet containing supplementary enzyme s.Aquacult.Fish.Manage., 25:37-46.

8- Cosgrove,D.J.1966; The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. Rev.Pure Appl.Chem.,16:209-224.

9- De la Higuera,M. 2001; Effects of nutritional factors and feed characteristics on feed intake. In: Feed Intake in fish (Houlihan,D., Boujard,T.& Jobling,M.eds) , Chapter11, pp.250-268. Blackwell Science , Oxford.

10- Forster,I., Higgs,D.A., Dosanjh,B.S., Rowshandeli,M. & Parr,J. 1999; Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water.Aquaculture,179: 109-125.

11- Francis,G., Makkar,H.P.S., Becker,k., 2001; Antinutritional factors present in plant-derived alternative fish feed ingredient and their effects in fish.Aquaculture,199:197-227.

12- Gatlin,D.M.,III & Phillips,H.F.1989; Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish.Aquaculture,79:259-266.

13- Hauler,R.C. & Carter,C.G.1997; Phytase stimulates appetite in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr fed soybean meal.Proc.Nutr.So c.Aust., 21:139-145.

14- Hossain,M.A. & Jauncey,K.1993; The effects of varying dietary phytic acid,calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp (*Cyprinus carpio*).In: Fish Nutrition in Practice (Kaushik,S.J. & Luquet,P.eds),pp.705-715. Proceedings of the Fourth International Symposium in Fish Nutrition and Feeding (Les colloques,no.61). Institute National de la Recherche Agronomique (INRA),Paris.

15- Jackson,J.S.,Li,M.H. & Robinson,E.H.1996; Use of microbial phytase in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets to improve utilization of phytate phosphorus.J.World Aquacult.Soc.,27:309-313.

16- Knuckles, B. E., Kuzmicky, D. D., Gumbmann, M. R. & Betschart, A. A. 1989; Effects of myo-inositol phosphate esters on in vitro and *in vivo* digestion of protein. J. Food Sci., 54:1348-1350.

17- Li,M.H. & Robinson,E.H.1997; Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets. J.World Aquacult.Soc.,28:402-406.

18- Morz,Z.,Krasuki,W. & Grela,E.1995; Physiological responses of lactating sows to feeding rapeseed 00 and microbial phytase.In: Manipulating Pig Production (Hennessy,D.P. & Cranwell,P.D. eds) Vol.5,p.185. Werribee,Australasian Pig Science Association.

19- NRC(National Research Council,USA).1993; Nutrient Requirements of fish.National Academy of Sciences,Washington.

20- Okubo,K.,Myers,D.V. & Iacobucci,G.A.1976; Binding of phytic acid to glycinin.Cereal Chem.,53:513-524.

21- Olivia-Teles,A.,Pereira,J.P.,Gouveia,A. & Gomes,E.1998; Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles.Aquat.Living Resour.,11: 255-259.

22- Papatryphon,E. & Soares,J.H.Jr.2001; The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass (*Morone saxatilis*).Aquacult.Nutr.,7:161-167.

23- Pimentel-Rodrigues,A.M. & Olivia - Teles,A. 2001; Phosphorus requirements of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. Aquacult.Res.,32(Suppl.1),157-161.

24- Preiser, H., Schmitz, J., Maestracci, D. & Crane, R. K. 1975; Modification of an assay for trypsin and its application for the estimation of enteropeptidase. Clin. Chem.Acta, 59:169-175.

25- Pringle,G.M.,Houlihan,G.H.1992; Digestive enzyme levels and histopathology of pancrease disease in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*).Comp.Biochem.Physiol.,102A,759-768.

26- Ravindran,V.,Cabahung,S.,Ravindran,G. & Bryden,W.L.1999; Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility in feedstuffs for broilers.Poul.Sci.,,78:699-706.

27- Reddy, N. R., Sathe,S.K. & Pierson, M.D. 1988; Removal of phytate from great northern beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J.Food Sci., 53 :107-147.

28- Richardson, N. L., Higgs, D. A., Beames, R. M. & McBride, J. R. 1985; Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence,growth and histopathology in

www.SID.ir

Archive of SID

juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*).J.Nutr.,115: 553-567.

29- Rodehutscord, M. 1996; Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200 g to supplements of diabasic sodium phosphate in a semipurified. J. Nutr., 126:324-331.

30- Rodehutscord,M. & Pfeffer,E.1995; Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss).Water Sci.Tech., 31:143-147.

31- Sajjadi,M. & Carter,C.G.2004; Effect of phytic acid and phytase on feed intake,growth,digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*).Aquaculture Nutrition,10:135-142.

32- SAS,Institute.1993; SAS user'guide: Statistic.SAS ins,Inc Cary,NC.

33- Satoh,S.,Poe,W.E. & Wilson,R.P.1989; Effect of supplemental phytate and/ or tricalcium phosphate weight gain,feed efficiency and zinc content in vertebrae of channel catfish.Aquaculture,80: 155-161.

34-Schafer,A.,Koppe,W.M.,Meyer-Burgdorff,K.H.& Gunther,K.D.1995; Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal.Water Sci.Tech.,31:149-155.

35- Selle,P.H.,Ravindran,V.,Caldwell,R.A. & Bryden,W.L.2000; Phytate and phytase: Consequences for protein utilization.Nutr.Res.Rev., 13:255-278.

36- Singh,M. & Krikorian,A.D.1982; Inhibition of trypsin activity *in vitro* by phytate.J.Agric.Food Chem.,30:799-800.

37- Spinelli,J.,Houle,C.R. & Wekell,J.C.1983; The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed purified diets containing varying quantities of calium and magnesium.Aquaculture, 30:71-83.

38-Storbakken,T.,Shearer,K.D. & Roem,A.J.1998; Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein-concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture,161:365-379.

39-Sugiura,S.H.,Dong,F.M. & Hardy,R.W.1998; Effects of dietary supplements on the availability of minerals in fish meal; preliminary observations. Aquaculture,160:283-303.

40-Sugiura,S.H.,Gabaudan,J.,Dong,F.M. & Hardy,R.W.2001; Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed soybean meal-based diets.Aquacult.Res.,32:583-592.

41-Teskeredzic,Z.,Higgs,D.A.,Dosanjh,B.S. et al. 1995; Assessment of undephytinized and dephytinized rapeseed protein concentrate as sources of dietary protein for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture,131:261-277.

42-Torrisen,K.R.,Lied,E. & Espe,M.1994; Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (Salmo salar) with genetically different trypsin isozymes.J.Fish Biol.,45:1087-1104.

43-Usmani,N. & Jafri,A.K.2002; Influence of dietary phytic acid on the growth, conversion efficiency and carcass composition of Mrigal (*Cirrhinus mrigala*) fry.J.World Aquacult.Soc.,33:199-204.

44-Vaintraub,I.A. & Bulmaga,V.P.1991; Effect of phytate on the in vitro activity of digestive proteinases.J.Agric.Food Chem.,39: 859-861.

45-Vandecasteele,C. & Block,C.B.1993; Modern Methods for Trace Elements Determination.John Willey & Sons,Brisbane,Australia.

46-Vielma,J.,Makinen,T., Ekholm, P. & Koskela,J. 2000; Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and lgal availability of phosphorus load,Aquaculture,183:349-362.

47-Wise,A.1983; Dietary factors determining the biological activity of phytases.Nutr.Abstr.Rev.,53:791-806.

www.SID.ir