

عملکرد مکمل فیتاز بر جایگزینی پودر ماهی با آرد سویا بر شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

- **محمد رضا ایمانپور:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- **محمود محسنی:** مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران
- **مصطفی کریمی نسب*:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷

چکیده

جهت تعیین اثر آنزیم فیتاز و جایگزینی پودر ماهی با آرد سویا بر روند رشد، و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی آزاد دریای خزر با میانگین وزن $140/6 \pm 13/7$ گرم، هفت جیره با نیتروژن و انرژی یکسان، حاوی سطوح مختلف آرد سویا (۴۰ و ۸۰ درصد) برای جایگزینی تدریجی با پودر ماهی (جیره شاهد بدون آنزیم فیتاز)، هریک با سه سطح آنزیم فیتاز (صفر و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم) تهیه و مورد تغذیه ماهیان در شرایط یکسان پرورشی قرار گرفت. در پایان دوره ۱۲ هفته‌ای تغذیه با جیره‌های آزمایشی، جایگزینی تدریجی پودر ماهی با آرد سویا موجب کاهش معنی‌داری در روند رشد و کارایی غذا ماهیان گردید ($P < 0/05$). در صورتی که افزودن آنزیم فیتاز موجب افزایش معنی‌داری در روند رشد و کارایی غذا شد و بهترین نتیجه در استفاده از ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم غذا، به دست آمد. از طرف دیگر شاخص‌های خونی و سرم‌شناسی ماهیان نیز تحت تاثیر جیره‌های غذایی قرار گرفت. مقادیر آنزیم‌های کبدی با مقادیر متوسط کنجاله سویای جیره غذایی ارتباط مستقیم داشت، به طوری که بالاترین مقادیر آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارات آمینوترانسفراز در ماهیان تغذیه شده با جیره بالای درصد آرد سویا مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌شود که در جیره ماهی آزاد دریای خزر تا سطح ۴۰ درصد پروتئین پودر ماهی با آرد سویا با ۲۰۰۰ واحد بین الملل آنزیم فیتاز بر کیلوگرم غذا جایگزین شود.

کلمات کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، آنزیم فیتاز، شاخص‌های خونی، کارایی غذا، شاخص‌های رشد



مقدمه

و سطح آمینو ترانسفرازها ارتباط ضعیفی وجود دارد. آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز در انواع مختلف بافت‌ها مثل کبد، قلب، ماهیچه، کلیه، مغز و گلبول‌های قرمز خون قرار دارد. از این رو بالا رفتن آن منحصراً وجود عارضه نمی‌باشد، ولی چون در مطالعه حاضر کلیه شرایط به جز غذا یکسان بود بنابراین افزایش آنزیم کبدی به‌عنوان شاخص ناهنجاری در مطالعه حاضر می‌توان اشاره نمود. آنزیم فیتاز سبب افزایش کارایی جذب فسفر موجود در جیره می‌شود. در مورد عنصر فسفر دو بحث گران بودن و آلودگی محیط زیست مطرح است که افزودن آنزیم فیتاز در هر دو موضوع مفید می‌باشد. هم‌چنین فیتاز اثرات مهمی بر پروتئین و اسیدآمینه و انرژی جیره دارد. فیتاز با افزایش ضریب جذب نشاسته پروتئین و چربی نقش به‌سزایی در افزایش انرژی جیره و اثرات مثبتی در بهبود رشد ماهی دارد. بسیاری از مواد موجود در جیره به علت ترکیب با فیتات برای آبزیان غیرقابل استفاده می‌شوند که آنزیم فیتاز با اثر بر آن‌ها و جلوگیری از دفع آن‌ها عملکردی بارزی در افزایش بهبود کارایی ماهی دارد (Papatripybon و Soares, 2001). فیتاز یک آنزیم ویژه برای هیدرولیز کردن فیتات است. این آنزیم در دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات وجود دارد، اما میزان آن به‌طور طبیعی پایین است و یا در حیوانات تک معدای وجود ندارد در نتیجه قابلیت هضم فیتات کاهش می‌یابد و پس از آن دسترسی به مواد معدنی، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه در جیره‌های غذایی بر پایه پروتئین‌های گیاهی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (Papatripybon و Soares, 2001). با استفاده از فیتاز در جیره‌ها می‌توان دسترسی به مواد معدنی و اسیدهای آمینه را افزایش داد. هم‌چنین با این کار فسفر آزاد شده در داخل آب که موجب آلودگی و شکوفایی پلانکتون‌ها می‌شود، کاهش می‌یابد. بنابراین جایگزین کردن پودر ماهی با آرد سویا به همراه افزودن مکمل فیتاز یکی از اهداف اقتصادی در صنعت آبی پروری است. به اثبات رسیده که افزودن فیتاز در جیره‌های غذایی که بر پایه پروتئین‌های گیاهی هستند قابلیت هضم مواد مغذی و مواد معدنی را افزایش می‌دهد (Papatripybon و Soares, 2001). ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) از جمله ماهیان مهاجر رود کوچ دریای خزر بوده و یکی از ۹ زیرگونه قزل‌آلای قهوه‌ای جهان محسوب می‌شود. این ماهی از گونه‌های مهم اقتصادی و در معرض خطر انقراض دریای خزر است که اهمیت ویژه‌ای دارد و حفاظت و پرورش این ماهی از لحاظ کیفیت گوشت، ارزش اقتصادی و هم‌چنین حفظ ذخیره ژنتیکی برای کشور ارزشمند است. از نکات مهم در پرورش این ماهی اعمال مدیریت صحیح تغذیه و تامین مواد مغذی ضروری برای بالا بردن میزان رشد، درصد بقا و هم‌چنین افزایش ایمنی است. در گذشته هدف از پرورش ماهیان آزاد پرورشی تولید بچه‌ماهی به‌منظور رهاسازی در دریا و بازسازی ذخایر این گونه

مطابق با برآورد سازمان خوار و بار جهانی، میزان تقاضای ماهی برای مصارف انسانی از ۹۰ میلیون تن در سال ۲۰۰۵ به ۱۱۰ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ افزایش یافته است (FAO, 2010). با توجه به متراکم سازی مزارع پرورش ماهی در آسیا، خصوصاً در چین، رقابت شدیدی در مورد منابع جهانی محدود پودر و روغن ماهی به‌وجود آمده است. تقاضای زیاد قابل پیش‌بینی در آسیا، فشاری قابل ملاحظه را بر بازار جهانی و به تبع آن بر قیمت غذا خواهد داشت (Francis و همکاران, 2001). صنعت آبی‌پروری حدود ۶۸٪ و ۸۸٪ از تولیدات به‌ترتیب پودر ماهی و روغن ماهی را مصرف می‌کند (FAO, 2008). پودر ماهی به‌علت دارا بودن تعادل اسیدهای آمینه مناسب به‌میزان زیاد صنعت غذای آبزیان را به خود وابسته ساخته است. در عین حال، قیمت بالای پودر ماهی به‌علت افزایش تقاضای جهانی (Dalsgaard و همکاران, 2009) وارد آمدن فشار زیاد بر ذخایر ماهیان و اکوسیستم دریا برای تامین پودر ماهی و افزایش میزان فسفر و نیتروژن در پساب‌های حاصل از واحدهای پرورش ماهی و به‌دنبال آن آلودگی منابع آبی (Hardy, 2002) از دیگر معضلات استفاده از پودر ماهی محسوب می‌شوند. مجموعه این مسائل، لزوم استفاده از جایگزین‌های پروتئینی ارزان قیمت تر، با قابلیت دسترسی ساده‌تر و سازگاری بیش‌تر با محیط‌زیست را در تهیه غذای آبزیان مطرح کرد. بنابراین استفاده از پروتئین‌های گیاهی مانند آرد سویا جهت توسعه تولید غذای ماهی با قیمت پایین‌گسترش پیدا خواهد کرد (Burr و همکاران, 2011). آرد سویا با تولید سالیانه حدود ۳۰ میلیون تن یکی از مناسب‌ترین و ثابت‌ترین منابع جایگزینی به‌جای پودر ماهی در جیره غذایی ماهیان تجاری می‌باشد (Zhou و همکاران, 2011). به‌علت میزان پروتئین بالا، قابلیت هضم زیاد، بالانس مناسب پروفیل اسیدهای آمینه، قیمت مناسب و سهولت دستیابی به منابع آن، سویا به‌صورت گسترده‌ای به جیره غذایی آبزیان استفاده می‌شود که به‌طور موثری هزینه تمام شده جیره‌های غذایی را نیز کاهش می‌دهد (Storebakken و همکاران, 2000). ولی از سوی دیگر کنگاله سویا حاوی بعضی از مواد سمی، تحریک‌کننده و بازدارنده از جمله آلرژیک‌ها، گواترزا و عوامل ضدانعقاد نیز می‌باشد. از این‌رو، و به‌علت افزایش قابلیت هضم و از بین بردن مواد ضدتغذیه‌ای در کنگاله سویا، امروزه انواع فرآوری شده و حرارت دیده آن به بازار عرضه شده‌اند که عموماً فاقد مشکلات فوق می‌باشند. آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) و آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) از حساس‌ترین آنزیم‌های ساخته شده توسط کبد هستند که در زمان آسیب به کبد توسط سلول‌های کبدی وارد خون می‌شوند، اما آزاد شدن این آنزیم‌ها الزاماً به‌نکروز سلول‌های کبدی ارتباط ندارد و بین آسیب دیدگی هپاتوسیت‌ها



استفاده دستگاه پلتن با توجه به اندازه دهان ماهی به قطر ۴ میلی‌متر پلت شدند. سپس پلت‌ها در خشک‌کن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد تا جایی که رطوبت آن‌ها به کم‌تر از ۱۰ درصد برسد، خشک شدند تا پلت‌های شناور تشکیل شود. جیره‌ها پس از خشک‌شدن شماره‌گذاری شده و در محفظه‌های عاری از هوا بسته‌بندی و تا زمان مصرف در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها خارج و پس از متعادل شدن با دمای اتاق با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهیان قرار گرفت (Mohseni و همکاران، ۲۰۱۱). پودر ماهی و روغن ماهی مورد استفاده در جیره‌ها، از ماهی کیلکای دریای خزر تهیه شده از شرکت خوراک آبزیان به‌دانه شمال در استان مازندران شهرستان بابلرس تهیه شد. برای متعادل کردن جیره‌ها با منابع غذایی استفاده شده در این پژوهش از نرم‌افزار WUFFDA نسخه ۱/۰ استفاده شد.

آنالیز اجزا، جیره غذایی و ترکیب بدن ماهی: آنالیز تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و جیره‌های آزمایشی براساس روش‌های استاندارد جیره AOAC انجام شد. نمونه جیره‌ها و ماهی در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، برای اندازه‌گیری رطوبت خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل ($N \times 6.25$) با استفاده از روش کج‌دلال استخراج، چربی با روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت استخراج، میزان انرژی موجود در ترکیبات غذایی به وسیله بمب کالری متر و خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹ ساعت اندازه‌گیری شدند. از ۳۰ درصد جمعیت ماهیان پس از گذشت ۱۸ ساعت از زمان قطع تغذیه با استفاده از سرنگ‌های ۲ سی‌سی از باله‌دمی ماهیان به منظور بررسی شاخص‌های خونی (CBC)، بیوشیمیایی (پروتئین کل و آلبومین) و آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) خونگیری به عمل آمد. بعد از گرفتن ۲ سی‌سی خون توسط سرنگ از ورید ساقه دمی این ماهیان، ۰/۵ سی‌سی خون به‌داخل تیوب‌های اپندروف آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و ۱/۵ سی‌سی باقی‌مانده به‌داخل تیوب‌های اپندروف غیرهپارینه شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای ایمنی، نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به‌دور از تکان‌های شدید به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال گردید. در این مطالعه تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC)، میزان هماتوکریت (PCV) و هموگلوبین (Hb) با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی متداول اندازه‌گیری شد (Feldman و همکاران، ۲۰۰۰). جهت انجام مطالعات سرولوژی، خون وجود در لوله‌های اپندروف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین توسط سانتریفیوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت

ارزشمند شیلاتی بوده است، اما به تازگی و طی دهه گذشته علاقه فزاینده‌ای برای پرورش این ماهیان جهت تولید گوشت در قفس به‌وجود آمده است. بر این اساس چنین انتظار می‌رود که استفاده از آرد سویا و آنزیم فیتاز می‌تواند به‌عنوان راه‌کاری جهت افزایش ایمنی و مقاومت در برابر شرایط نامناسب و بهبود فراسنجه‌های فیزیولوژیک ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) مطرح باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهیان و نحوه پرورش: تعداد ۳۱۵ عدد بچه ماهی آزاد پرورشی با وزن متوسط $13/56 \pm 14/06$ گرم به‌طور تصادفی در ۲۱ وان فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری (۲۰۰ سانتی‌متر ارتفاع و حجم مفید آب ۱۷۰۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به‌صورت فواره‌ای) با دبی آب ۴/۲۸ لیتر در دقیقه (آب چاه عمیق) به مدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. هر جیره به ۳ وان فایبرگلاس داده شد. ماهیان ۳ بار در روز در ساعات ۸-۱۶ و ۲۴ شب تا حد سیرایی به‌صورت دستی غذادهی شدند. منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی ماهیان قطع می‌گردید. جهت زیست‌سنجی، ماهیان توسط محلول ۲۰۰ پی‌پی‌ام پودر گل میخک بی‌هوش می‌شدند (Mohseni و همکاران، ۲۰۱۴).

جیره‌های غذایی و نحوه تهیه آن: به‌منظور تهیه جیره‌های غذایی، ابتدا ترکیبات غذایی مورد نیاز جهت آنالیز به آزمایشگاه (آنالیز غذایی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور) منتقل گردید تا براساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام گردد (جدول ۱). با استفاده از پودر ماهی عمل‌آوری شده در دمای پائین (به‌عنوان طعم‌دهنده غذا) با میزان پروتئین ۵۰ درصد و آرد سویا با میزان پروتئین ۵۰ درصد به‌عنوان منبع پروتئینی، روغن سویا و روغن ماهی کیلکا به‌عنوان منبع چربی و آرد گندم به‌عنوان منبع کربوهیدرات، هفت جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱/۱۶٪ چربی خام) و با پروتئین خام یکسان میانگین (۲/۴۰ درصد پروتئین، انرژی ۳۸۰۵ کیلوکالری به‌ازای هر کیلوگرم) محتوی سطوح مختلف آرد سویا (۴۰ و ۸۰ درصد) و سه سطح آنزیم فیتاز (۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم جیره) فرموله و استفاده گردید. مواد خشک قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (Damico (Damico Co, Tehran, Iran mill به سایز کم‌تر از ۸۰۰ میکرون تبدیل شدند. مواد ریز مغذی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ال-کارنتین با پودر گندم به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه هم‌زن کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. سپس مجدداً مخلوط حاصل به سایر ترکیبات اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر مخلوط‌کن صنعتی مخلوط شدند. محصول نهایی با

آلبومین به‌روش بروموکرزول سبز و پروتئین تام به‌روش بیوره (Biuret)، اندازه‌گیری گردید. سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) به‌روش رنگ‌سنجی کینتیک صورت گرفت (Borges و همکاران، ۲۰۰۴).

Heraeus sepatch (آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتی‌فوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در اپندورف‌های تازه ریخته و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری این شاخص‌ها با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) صورت گرفت.

جدول ۱: اجزای غذایی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی مورد استفاده برای بچه‌ماهی آزاد پرورشی

جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

ترکیبات غذایی	شاهد	۴۰٪ آرد سویا + ۲٪ فیتاز	۴۰٪ آرد سویا + ۱٪ فیتاز	۴۰٪ آرد سویا	۸۰٪ آرد سویا + ۲٪ فیتاز	۸۰٪ آرد سویا + ۱٪ فیتاز	۸۰٪ آرد سویا
پودر ماهی	۶۰	۳۶	۳۶	۳۶	۱۲	۱۲	۱۲
آرد سویا	۰	۲۴	۲۴	۲۴	۴۸	۴۸	۴۸
پودر گوشت	۵	۵	۵	۵	۵	۵	۵
آرد گندم	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
آنزیمیت	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲
منوکلسیم فسفات	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲
پودر پروتئینه حیوانی	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷
مکمل معدنی	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴
مکمل ویتامینه	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴	۰٫۴
روغن ماهی	۵٫۸	۵٫۸	۵٫۸	۵٫۸	۵٫۸	۵٫۸	۵٫۸
روغن گیاهی	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲
آنتی‌اکسیدان	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳
لیزین	۰٫۳	۰٫۳	۰٫۳	۰٫۳	۰٫۳	۰٫۳	۰٫۳
میتوینین	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲	۰٫۲
الکارنتین	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳	۰٫۰۳
ویتامین C	۰٫۰۲	۰٫۰۲	۰٫۰۲	۰٫۰۲	۰٫۰۲	۰٫۰۲	۰٫۰۲
ضدقارچ	۰٫۲۲	۰٫۲۲	۰٫۲۲	۰٫۲۲	۰٫۲۲	۰٫۲۲	۰٫۲۲
جمع کل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

شاخص	شاهد	۴۰٪ آرد سویا + ۲٪ فیتاز	۴۰٪ آرد سویا + ۱٪ فیتاز	۴۰٪ آرد سویا	۸۰٪ آرد سویا + ۲٪ فیتاز	۸۰٪ آرد سویا + ۱٪ فیتاز	۸۰٪ آرد سویا
رطوبت	۹٫۸	۹٫۸	۹٫۸	۹٫۸	۹٫۸	۹٫۸	۹٫۸
پروتئین خام	۴۰٫۳	۴۰٫۲	۴۰٫۲	۴۰٫۲	۴۰٫۱	۴۰٫۱	۴۰٫۱
چربی خام	۱۶٫۱	۱۶	۱۶	۱۶	۱۵٫۹	۱۵٫۹	۱۵٫۹
انرژی خام (کیلوکالری در کیلوگرم)	۳۸۰۵	۳۸۰۰	۳۸۰۰	۳۸۰۰	۳۷۹۳	۳۷۹۳	۳۷۹۳
فیبر	۲٫۴	۲٫۴	۲٫۴	۲٫۴	۲٫۴	۲٫۴	۲٫۴

مکمل ویتامینی (برحسب IU یا میلی‌گرم در کیلوگرم): د-آل-آلفا توکوفرول استتات ۶۰ IU، یو-ا-ال - کولکلسیفرول ۳۰۰۰ IU، تیامین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ربیوفلاوین ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، پیرودوکسین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین B12 ۰/۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اینوسیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیوتین ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتات ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم. مکمل معدنی (بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم): کرنات کلسیم ۴۰ در صد ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سیترات فریک ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدید پتاسیم ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبالت ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم، کلرید سدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم.



آب هیچ گونه اختلاف معنی داری را در طول دوره پرورش نسبت به یکدیگر نشان نداد ($P \geq 0/05$). در طول دوره پرورش، هیچ گونه مرگ و میری مشاهده نشد. تاثیر سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز در پایان ۱۲ هفته پرورش بر شاخص های وزن نهایی، وزن کسب شده (WG)، شاخص رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جدول ۲ آورده شده است. وزن نهایی بدن (گرم)، شاخص های وزن نهایی، وزن کسب شده (WG)، شاخص رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد و تیمار محتوی ۴۰ درصد آرد سویا و ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره به طور معنی داری ($P \leq 0/05$) از ماهیان تغذیه شده با سایر جیره های غذایی بالاتر بود. کمترین میزان مقادیر شاخص فوق الذکر در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۸۰ درصد آرد سویا ملاحظه گردید، که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی دار آماری بود. با افزایش مقادیر متوسط آرد سویا، متوسط ضریب تبدیل غذایی ماهیان به طور معنی دار نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، در صورتی که با افزودن فیتاز مقادیر عددی ضریب تبدیل غذایی به صورت چشمگیری از روند کاهشی برخوردار بود. کمترین مقادیر ضریب تبدیل غذایی در مطالعه حاضر را ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد و به فاصله کمی از آن، ماهیان تغذیه شده با تیمار محتوی ۴۰ درصد آرد سویا با ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره به خود اختصاص داده بودند.

تعیین شاخص های رشد و کبدی: استفاده از اطلاعات زیست سنجی هر وان، فاکتورهای محاسباتی شامل وزن کسب شده (WG %)، شاخص رشد ویژه (SGR %/day)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، نسبت بازده پروتئین (PER) و شاخص کبدی (HSI) محاسبه شد.

وزن ابتدایی - وزن انتهایی = میزان افزایش وزن (WG)
 $100 \times$ دوره پرورش / (لگاریتم وزن ابتدایی - لگاریتم وزن انتهایی) = نرخ رشد ویژه (SGR)
 $100 \times$ (طول) / وزن = شاخص وضعیت (CF)
 وزن تر تولید شده / وزن غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی (FCR)
 $100 \times$ وزن بدن / وزن کبد = شاخص کبدی (HSI)
 $100 \times$ پروتئین مصرف شده / وزن تر تولید شده = نرخ بازده پروتئین (PER)

آنالیز آماری: تحقیق حاضر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل در سه تکرار روی بچه ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. پس از کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده ها به وسیله آزمون Kolmogorov Smirnov، نتایج به وسیله آزمون چنددامنه دانکن با سطح اطمینان ۹۵٪ بررسی شد. اختلاف معنی دار آماری با سطح $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد. داده های این مطالعه به صورت $Mean \pm SD$ نشان داده شده است.

نتایج

تاثیر سطوح مختلف کنجاله سویا و فیتاز بر برخی از فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب و شاخص های رشد: نتایج پارامترهای کیفی

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص های رشد و کارایی تغذیه بچه ماهیان آزاد پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله سویا و آنزیم فیتاز در پایان دوره پرورش

تیمار	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	بوماس نهایی (سانتی متر)	وزن کسب شده (درصد)	شاخص رشد ویژه (درصد/روز)	ضریب تبدیل غذایی	کارایی پروتئین
شاهد	۱۶۸/۰۵±۰/۱۸	۴۳۴/۸۲±۷/۸۹ ^a	۴۰/۷۶/۹۵±۴۷/۲۵ ^a	۱۹۳/۶۹±۴۴/۹۸ ^a	۱/۵۴±۰/۰۲ ^a	۱/۳۴±۰/۰۰۷ ^a	۲/۲۱±۰/۱۴ ^a
تیمار ۱ (۴٪ Soy + ۲٪ Fizim)	۱۴۶/۴۳±۱/۴۳	۴۲۲/۸۵±۲/۸۱ ^a	۳۸۵/۱۰±۱۷/۳۰ ^a	۱۹۵/۶۵±۵۵/۳۵ ^a	۱/۵۴±۰/۰۳ ^a	۱/۴۵±۰/۰۰۱ ^a	۲/۲۰±۰/۰۹ ^a
تیمار ۲ (۴٪ Soy + ۱٪ Fizim)	۱۴۴/۵۲±۱/۶۹	۳۸۳/۱۶±۱۱/۴۳ ^{bc}	۳۹۲۳/۶۵±۲۲/۴۵ ^{bc}	۱۶۵/۲۵±۱۱/۰۱ ^b	۱/۳۹±۰/۰۶ ^b	۱/۵۱±۰/۰۰۷ ^b	۱/۳۴±۰/۲۴ ^b
تیمار ۳ (۴٪ Soy)	۱۴۷/۸۷±۲/۷۱	۳۵۹/۰۹±۹/۳۳ ^{cd}	۳۵۰/۸/۹۰±۶۷/۶۰ ^{cd}	۱۴۲/۸۳±۰/۵۱ ^c	۱/۲۷±۰/۰۰۳ ^c	۱/۷۱±۰/۰۰۲ ^c	۰/۸۴±۰/۰۰۸ ^c
تیمار ۴ (۸٪ Soy + ۲٪ Fizim)	۱۴۵/۷۳±۰/۰۴	۳۸۷/۴۱±۹/۴۰ ^b	۳۷۵۶/۱۰±۵۰/۱۰ ^b	۱۶۵/۸۴±۶/۳۸ ^b	۱/۳۹±۰/۰۳ ^b	۱/۷۶±۰/۰۰۷ ^{cd}	۱/۳۹±۰/۱۷ ^b
تیمار ۵ (۸٪ Soy + ۱٪ Fizim)	۱۴۷/۲۵±۰/۵۳	۳۴۷/۷۹±۰/۵۹ ^d	۳۷۸۲/۹۴±۳۱/۲۴ ^d	۱۳۶/۱۹±۰/۴۴ ^c	۱/۲۳±۰/۰۰۳ ^c	۱/۸۴±۰/۰۰۳ ^d	۰/۶۴±۰/۰۰۱ ^c
تیمار ۶ (۸٪ Soy)	۱۴۵/۰۲±۰/۰۱	۲۹۲/۵۸±۱۰/۰۶ ^e	۲۸۹۹/۱۰±۶۸/۹۰ ^e	۱۰۷/۴۸±۷/۶۷ ^d	۱/۰۴±۰/۰۰۵ ^d	۱/۸۵±۰/۰۰۶ ^d	۰/۳۶±۰/۱۹ ^d

میانگین±SD، اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند ($P \leq 0/05$).

تاثیر سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز بر برخی از شاخص های خونی و سرم شناسی: نتایج حاصل از تاثیر جیره غذایی حاوی سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز روی برخی پارامترهای خونی در جدول ۳ ارائه شده است. میانگین تعداد گلبول قرمز خون ماهیانی که از جیره محتوی ۴۰ درصد آرد سویا با ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره ($P \leq 0/05$) تغذیه کرده بودند به طور معنی داری بالاتر از ماهیان

تغذیه شده با جیره حاوی ۸۰ درصد آرد سویا بود. میانگین تعداد گلبول های سفید خون ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی ۴۰ درصد آرد سویا با ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره به طور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۸۰ درصد آرد سویا با سطوح مختلف فیتاز بود (جدول ۳). نتایج حاصل نشان داد که افزودن آرد سویا و فیتاز منجر به تفاوت معنی داری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مقایسه با تیمار شاهد گردید. هیچ گونه

میزان نوتروفیل در شاهد مشاهده گردید. میانگین لمفوسیت خون بچه‌ماهیان بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. براساس آزمون دانکن میانگین لمفوسیت خون بچه‌ماهیان در کلیه تیمارها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین میزان لمفوسیت در خون بچه‌ماهیان شاهد و کم‌ترین میزان لمفوسیت در خون بچه‌ماهیان تغذیه شده با ۸۰ درصد آرد سویا مشاهده شد. میزان درصد مونوسیت و میزان اتوزینوفیل خون ماهیان و براساس آزمون دانکن به‌منظور مقایسه گروه‌ها با شاهد و با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. مقایسه خون ماهیان و براساس آزمون چندوجهی دانکن به‌منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد.

اختلاف معنی‌دار آماری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز مشاهده نشد. میزان MCHC، MCH، MCV خون ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز براساس آزمون چندوجهی دانکن (Duncan) به‌منظور مقایسه دو به دو گروه‌ها با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. براساس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (Oneway Anova) به‌منظور مقایسه میانگین نوتروفیل خون بچه‌ماهیان بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. براساس آزمون دانکن میانگین نوتروفیل خون بچه‌ماهیان جیره محتوی ۸۰ درصد آرد سویا با ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره و جیره محتوی ۸۰ درصد آرد سویا به‌شکل معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود، کم‌ترین

جدول ۳: میانگین مقادیر شاخص‌های خون شناختی (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله سویا و فیتاز در پایان دوره پرورش

تیمار	تعداد گلبول‌های سفید (میلی متر مکعب)	تعداد گلبول‌های قرمز (میلی متر مکعب)	هموگلوبین	هماتوکریت (%)	MCV (FL)	MCH (PG)	MCHC
شاهد	۶۸۵۰ ± ۴۹۴/۹۷ ^{ab}	۱۰۱۰۰۰ ± ۴۰۰۰ ^{ab}	۹/۶۵ ± ۰/۱۵ ^a	۶۱ ± ۱ ^a	۴۸۳ ± ۵	۷۶/۵ ± ۲/۵	۱۵/۸۰ ± ۰
تیمار ۱ (۴۰٪ Soy + ۲٪ FİZİM)	۵۹۵۰ ± ۲۵۲/۵۳ ^b	۱۲۶۵۰۰ ± ۶۵۰۰ ^a	۸/۵ ± ۰/۲ ^{ab}	۵۷ ± ۱ ^{ab}	۴۷۶ ± ۵	۷۶ ± ۱	۱۵/۹۵ ± ۰/۰۵
تیمار ۲ (۴۰٪ Soy + ۱٪ FİZİM)	۷۲۰۰ ± ۴۲۴/۲۶ ^{ab}	۹۶۸۵۰۰ ± ۲۶۵۰۰ ^{ab}	۷/۶ ± ۰/۱ ^b	۴۷ ± ۱ ^b	۵۶۵/۵ ± ۲۳/۵	۷۵ ± ۲	۱۶/۱۵ ± ۰/۱۵
تیمار ۳ (۴۰٪ Soy)	۷۰۰۰ ± ۱۴۱/۴۲ ^{ab}	۹۴۷۵۰۰ ± ۳۷۵۰۰ ^{ab}	۷/۳ ± ۰/۲ ^b	۴۵/۵ ± ۱/۵ ^b	۴۷۴ ± ۲	۷۵ ± ۰	۱۶ ± ۰/۱
تیمار ۴ (۸۰٪ Soy + ۲٪ FİZİM)	۷۸۰۰ ± ۸۴۸/۵۲ ^a	۹۸۶۵۰۰ ± ۱۱۵۰۰ ^{ab}	۶/۹۵ ± ۰/۱۵ ^b	۴۳/۵۰ ± ۱/۵ ^b	۴۶۸ ± ۳	۷۵ ± ۱	۱۵/۸۵ ± ۰/۱۵
تیمار ۵ (۸۰٪ Soy + ۱٪ FİZİM)	۷۹۰۰ ± ۱۴۱/۴۲ ^a	۹۷۹۰۰۰ ± ۱۴۰۰۰ ^{ab}	۷/۴ ± ۰/۱ ^b	۴۶/۵ ± ۰/۵ ^b	۴۷۰/۵ ± ۱/۵	۷۵ ± ۱	۱۵/۷۵ ± ۰/۳۵
تیمار ۶ (۸۰٪ Soy)	۷۹۵۰ ± ۶۳۵/۳۹ ^a	۵۱۹۰۰۰ ± ۲۳۰۰۰ ^b	۶/۸ ± ۰/۶ ^b	۴۴/۵۰ ± ۱/۵ ^b	۴۶۹/۵ ± ۲/۵۰	۷۵/۵ ± ۰/۵۰	۱۶ ± ۰

میانگین ± SD، اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P ≤ ۰/۰۵).

۴۰ درصد آرد سویا با ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند. مقادیر آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز، با مقادیر متوسط آرد سویای جیره غذایی ارتباط مستقیم داشتند. بالاترین آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز در ماهیان تغذیه شده با جیره ۸۰ درصد آرد سویا مشاهده شد، که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود (جدول ۴).

فعالیت آنزیم‌های کبدی: نتایج حاصله، اختلاف معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی خون (آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) در تیمارهای آزمایشی که با سطوح متفاوت آرد سویا و فیتاز تغذیه نموده بودند در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند. هیچ تفاوت معنی‌داری در مقادیر متوسط آنزیم آلکالین فسفاتاز ماهیان تغذیه شده با تیمارهای تغذیه شده با ۸۰ درصد آرد سویا با سطوح مختلف فیتاز مشاهده نشد، در صورتی‌که این تیمارها با ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد، ماهیان تغذیه شده با

جدول ۴: میانگین مقادیر شاخص‌های کبدی خون (میانگین ± انحراف معیار) ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و فیتاز در پایان دوره پرورش

تیمار	آلکالین فسفاتاز (ALP; U/L)	آلانین آمینوترانسفراز (ALT; U/L)	آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST; U/L)
شاهد	۱۰۵/۵ ± ۳/۵ ^c	۴/۳ ± ۰/۵ ^d	۲۸۳ ± ۱۸ ^c
تیمار ۱ (۴۰٪ Soy + ۲ FİZİM)	۱۰۳/۵ ± ۰/۵ ^c	۳/۵ ± ۰/۲۹ ^d	۳۰۲ ± ۱۳ ^c
تیمار ۲ (۴۰٪ Soy + ۱ FİZİM)	۱۰۴ ± ۴ ^c	۴/۵ ± ۱/۴ ^{cd}	۲۹۹ ± ۱۱ ^c
تیمار ۳ (۴۰٪ Soy)	۱۰۲/۵ ± ۰/۵ ^c	۷/۴ ± ۱/۳ ^{bc}	۲۷۸/۵ ± ۱۹/۵ ^c
تیمار ۴ (۸۰٪ Soy + ۲ FİZİM)	۱۱۸ ± ۱ ^b	۸/۷ ± ۰/۵ ^{bc}	۳۱۵ ± ۱۳ ^c
تیمار ۵ (۸۰٪ Soy + ۱ FİZİM)	۱۱۳/۹ ± ۱/۴ ^b	۹/۵ ± ۲/۴ ^b	۵۱۱/۵ ± ۱۰/۵ ^b
تیمار ۶ (۸۰٪ Soy)	۱۳۱ ± ۴ ^a	۱۳/۵ ± ۳/۵ ^a	۵۸۴ ± ۲۱ ^a

میانگین ± SD، اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P ≤ ۰/۰۵).



بحث

در مطالعه حاضر، جایگزینی آرد سویا به میزان تا ۴۰ درصد به عنوان منبع پروتئین گیاهی با پودر ماهی در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر با ۲۰۰۰ واحد بین الملل فیتاز هیچ گونه اختلاف معنی دار آماری در شاخص های رشد و تغذیه از جمله وزن نهایی بدن (WF)، وزن کسب شده (WG)، شاخص رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذا (FCR) و میزان کارایی پروتئین (PER) نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد، این خود بیانگر استفاده بیش تر از پروتئین جیره غذایی بر روند رشد است. در صورتی که جایگزینی بیش از ۴۰ درصد آرد سویا حتی با اضافه نمودن سطوح مختلف فیتاز، میزان غذای مصرفی به دلیل محدودیت های ناشی از وجود عوامل مختلف ضد تغذیه ای و احتمالاً کاهش خوش خوراکی جیره، روند رشد و کارایی غذا کاهش یافت. تاکنون در پژوهش های زیادی سطح قابل جایگزینی پودر ماهی جیره با منابع پروتئین گیاهی در گونه های مختلف ماهی بررسی شده است، چنان که Hardy (۲۰۰۲)، جایگزینی آرد سویا را فقط تا سطح ۲۰ درصدی جیره قزل آلائی رنگین کمان توصیه کرد. گزارش هایی مبنی بر جایگزینی کنجاله سویا تا سطح کم تر از ۲۵ (بین ۱۰ تا ۱۵) درصد منابع پروتئینی جیره قزل آلا، بدون تاثیر منفی در کارایی رشد ماهی در دسترس است (Barrows و همکاران، ۲۰۰۷). طبق گزارش Kraugerud و همکاران (۲۰۰۷) جیره غذایی حاوی ۴۲ درصد کنجاله سویا باعث کاهش رشد چشمگیر در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) شد. مطالعه Jalili و همکاران (۲۰۱۲) نیز یافته های پژوهش حاضر را تایید می کند. طبق نتایج آنان امکان جایگزینی منابع پروتئین گیاهی در جیره غذایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان تا سطح ۳۰ درصد پودر ماهی جیره امکان پذیر بود. جیره حاوی ۳۰ درصد پودر ماهی و ۷۰ درصد پروتئین گیاهی (مخلوط آرد سویا، گلوتن ذرت و آرد گندم) و جیره عاری از آرد ماهی کاهش معنی داری را در عملکرد FCR، SGR و افزایش رشد ماهی ها نسبت به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد پودر ماهی) نشان دادند. محققان دیگری نیز چنین کاهش معنی داری در نرخ رشد گونه های مختلف ماهیان در سطوح جایگزینی ۷۰ و ۱۰۰ درصدی پودر ماهی جیره با منابع پروتئین گیاهی را گزارش کرده اند (Palmelegiano و همکاران، ۲۰۰۷). البته برخی از مطالعات اخیر نشان دادند که امکان جایگزینی ۱۰۰ درصدی پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی، در جیره غذایی قزل آلائی رنگین کمان بدون تاثیر منفی یا تاثیر بسیار ناچیز در عملکرد رشد ماهی وجود دارد (Hernandez و همکاران، ۲۰۱۲) که با نتایج مطالعه اخیر مغایرت دارند. به علاوه Barnes و همکاران (۲۰۱۲) افزایش میزان FCR و کاهش معنی دار رشد در سطح جایگزینی بیش از ۳۰ درصد پودر ماهی جیره با کنجاله سویای تخمیر شده را گزارش کردند.

نسبت بازده پروتئین معیاری است که نشان می دهد منبع پروتئینی موجود در جیره تا چه حد قادر بوده است اسیدهای آمینه مورد نیاز حیوان را تأمین نماید، هم چنین نشان دهنده چگونگی تعادل انرژی و پروتئین است (Lovell, ۱۹۸۸). Day و همکاران (۲۰۰۶) کاهش نسبت بازده پروتئین در کفشک ماهی *Scopthalmus maximus* را در سطوح بالای ۲۵ درصد جایگزینی کنسانتره پروتئین سویا به جای پودر ماهی به کاهش رشد ماهی و افزایش نسبت جذب پروتئین جهت فعالیت های حیاتی ماهی نسبت به جذب پروتئین برای رشد می دانند و معتقدند که افزودن متیونین و لایزین منجر به افزایش کاتابولیسم پروتئین در ماهی و افزایش میزان نسبت بازده پروتئین خواهد شد. در این آزمایش به دلیل استفاده از فیتاز در جیره محتوی ۴۰ درصد آرد سویا به جای پودر ماهی، ملاحظه گردید که ماهی آزاد دریای خزر به خوبی می تواند از ۴۰ درصد آرد سویا به جای پودر ماهی جهت تأمین پروتئین مورد نیاز، رشد و فعالیت های کاتابولیک خود همانند پودر ماهی در صورت مکمل نمودن با ۲۰۰۰ واحد بین الملل فیتاز بهره برداری نماید. در مطالعه حاضر، کم ترین میزان مقادیر روند رشد و کارایی غذا در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۸۰ درصد آرد سویا ملاحظه گردید، که با سایر تیمارها نیز دارای اختلاف معنی دار آماری بود. میزان متعادل اسیدهای آمینه ضروری در جیره غذایی برای نرخ رشد بهینه و عملکرد بهتر آبزیان ضروری است (García و Haard، ۱۹۹۳). در مطالعه حاضر، مشخص گردید جیره محتوی ۴۰ درصد آرد سویا به جای پودر ماهی، اسیدهای آمینه ضروری همانند متیونین برای پاسخ گویی به نیازهای تغذیه ای ماهی قزل آلا کافی نیستند. برخی مشکلات در زمینه استفاده از پروتئین های گیاهی نامتنامب بودن پروفیل آمینواسیدی آن ها و برخی فاکتورهای ضد تغذیه ای نظیر فیبر (Storebakken و همکاران، ۲۰۰۷؛ Gatelin و همکاران، ۲۰۰۷) است که میزان هضم پذیری غذا و رشد ماهی را کاهش می دهد (Krogdahl و همکاران، ۲۰۱۰؛ Gatelin و همکاران، ۲۰۰۷) است که میزان هضم پذیری غذا و رشد ماهی را کاهش می دهد.

در بررسی اثر سطوح آنزیم فیتاز بر شاخص های رشد مشخص گردید که بین شاخص های رشد در سطوح صفر و ۱۰۰۰ هیچ تفاوت معنی داری وجود نداشت اما با افزایش میزان آنزیم فیتاز تا ۲۰۰۰ واحد بین المللی بر کیلو گرم غذا به جز شاخص های افزایش طول، مقدار خوراک مصرفی و میزان ذخیره پروتئین در بقیه شاخص ها وضعیت رشد بهبود می یابد بنابراین به طور کلی اثر آنزیم فیتاز بر شاخص های رشد مثبت بوده و در سطح ۲۰۰۰ واحد بهترین نتیجه حاصل شد. در مقایسه با نتایج فوق، Sajjadi و همکاران (۲۰۰۴) اعلام کردند که پروتئین سویای فیتین زدایی شده با ۵۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز در ماهی قزل آلائی رنگین کمان راندمان غذایی و رشد بهتری نسبت به جیره بدون فیتاز داشت. هم چنین Iwashita و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که جیره حاوی

آمینواسیدی پروتئین‌ها باشد که افزایش میزان لیز شدن گلبول‌های قرمز شده است (Soltan, 2008). به‌اثبات رسیده که کیفیت غذا به‌طور موثری بر پارامترهای خون‌شناسی، کیفیت و کمیت فاکتورهای خونی ماهی تاثیرگذار است (Domezain و همکاران، 2002).

این نتایج را می‌توان به‌وسیله تاثیرات زیان بار مواد ضدتغذیه‌ای موجود در منابع پروتئین گیاهی توجیه نمود. به‌رحال نتایج کلی، حاصل از تحقیقات محققین اثر مثبت آنزیم فیتاز را در افزایش عملکرد پروتئین‌های گیاهی به‌خصوص سویا نشان می‌دهد که با تحقیق حاضر مشابه بوده است. اختلافات جزئی موجود هم می‌تواند به‌دلیل سطوح مختلف به‌کارگیری آنزیم فیتاز، نوع گونه و نوع مواد اولیه به‌کار گرفته شده باشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان اذعان نمود، گونه ماهی آزاد دریای خزر به‌دلیل رژیم غذایی گوشت‌خواری و نیاز بالا به منابع پروتئین حیوانی در مراحل ابتدایی زندگی خود، توانایی پذیرش منابع پروتئین گیاهی را در سطوح بالای ۸۰ درصد جیره ندارد.

به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد می‌شود که در جیره ماهی قزل‌آلا تا سطح ۴۰ درصد پروتئین پودر ماهی با آرد سویا جایگزین شود، به‌منظور کمبود شاخص‌های رشد و افزایش قابلیت هضم ماده خشک، آنزیم فیتاز به‌میزان ۲۰۰۰ واحد بر کیلوگرم غذا استفاده شود.

منابع

1. Barnes, E.; Michael, B.L.; Michael, K.A. and Rosentrater, J.R.S., 2012. An initial investigation replacing fish meal with a commercial fermented soybean meal product in the diets of juvenile rainbow trout. Open Journal of Animal Sciences. Vol. 2, No. 4, pp: 234-243.
2. Burr, G.S.; William, R.W.; Frederic, T.B. and Ronald, W.H., 2012. Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of aquaculture. Vol. 334, pp: 110-116.
3. Barrows, F.T.; Gaylord, T.G.; Sealey, W.M.; Haas, M.J. and Stroup, R.L., 2008. Processing soybean meal for biodiesel production: effect of a new processing method on growth performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. Vol. 283, pp: 141-147. doi:10.1016/j.aquaculture.2008.06.041.
4. Biswas, M.D.; Borgeson, T.L. and Thiessen, D.L., 2007. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. Animal Feed Science Technology. Vol. 138, pp: 118-136.
5. Cheryan, M., 1980. Phytic acid interactions in food systems. Critical Reviews on Food Science and Nutrition. Vol. 13, pp: 297-335.

۳۳ درصد آرد سویا با ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز نسبت به جیره بدون فیتاز باعث افزایش وزن و بهبود FCR در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده است.

Jackson و Robinson (۱۹۹۶) بیان کردند که استفاده از آنزیم فیتاز همراه با آرد سویا منجر به بهبود عملکرد روند رشد و کارایی غذا گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) خواهد شد. مطالعات Biswas و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی سیم دریا (قرمز *Pagrus major*) و Jidan و همکاران (۲۰۱۱) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با آرد سویا موجب کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین شد، اگرچه افزودن فیتاز تا سطح ۲۰۰۰ به‌طور معنی‌داری قابلیت هضم پروتئین را افزایش داد، هم‌چنین آن‌ها گزارش نمودند که افزودن آنزیم فیتاز تاثیری در قابلیت هضم انرژی ندارد. میزان متعادل اسیدهای آمینه ضروری در جیره غذایی برای نرخ رشد بهینه و عملکرد بهتر آبزیان ضروری است (García و haard, ۱۹۹۳).

برخی اسیدهای آمینه ضروری سویا همانند متیونین برای پاسخ‌گویی به نیازهای تغذیه‌ای ماهی قزل‌آلا کافی نیستند (Storebakken و همکاران، ۲۰۰۰؛ Gatelin و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین کاهش عملکرد رشد ماهیان در سطوح بالای ۴۰ درصد را می‌توان به کمبود این آمینو اسید در جیره نسبت داد. واضح است که رشد ماهی به‌میزان هضم‌پذیری غذا، به‌ویژه تجزیه پروتئین‌ها به واحدهای سازنده‌شان نیز وابسته است (Cruz و همکاران، ۲۰۱۱). این در حالی است که فیتیک اسید در سویا، با کاهش میزان دسترسی زیستی به پروتئین‌ها، منجر به دفع پروتئین از طریق ادرار و مدفوع ماهی می‌شود (Coloso و همکاران، ۲۰۰۳). از سوی دیگر، فیتیک اسید با اتصال به تریپسن یا تشکیل کمپلکس فیتات پروتئین و فیتات-مواد معدنی-پروتئین مانع از تجزیه پروتئین‌های ماهی می‌شود (Cheryan, ۱۹۸۰).

بنابراین، محققان برای رفع این مشکل از آنزیم فیتاز در جیره غذایی ماهیان استفاده کردند و کاهش میزان فیتات و در نتیجه عملکرد بهتر رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را گزارش کردند (Hard و همکاران، ۲۰۰۹؛ Wang و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه حاضر، ارزیابی شاخص‌های ایمنی نشان‌گر این بود که فاکتورهای هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و ... در بین تیمارهای مورد آزمایش دارای اختلاف معنی‌دار بودند. ماهیان تغذیه شده با میزان بالای ۴۰ درصد آرد سویا با سطوح ۰ و ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز بر کیلوگرم جیره موجب ایجاد تأثیرات منفی بر سیستم ایمنی بدن ماهی آزاد دریای خزر گردید.

کاهش میزان هموگلوبین و هماتوکریت می‌تواند به‌دلیل اتصال فیتیک اسید و مواد ضدتغذیه‌ای سویا به مواد معدنی (آهن) و گروه‌های

۱۶. **Hard, B.F.; Zinkl, J.G. and Jane, N.C., 2009.** Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins. pp: 1120-1124.
۱۷. **Hernandez, A.; Alex, H.G. and Bari, R.W., 2012.** Rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). In: Webster, C.D. & C. E. Lim (Eds.). Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture. CABI Publishing, New York, New York, USA. pp: 184-202.
۱۸. **Iwashita, Y.; Yamamoto, T.; Furuita, H., Sugita, T. and Suzuki, N., 2008.** Influence of certain soybean anti nutritional factors supplemented to a casein-based semi purified diet on intestinal and liver morphology in fingerling rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fisheries Science. Vol. 74, pp: 1075-1082. doi:10.1111/j.1444-2906.2008. x 01627.
۱۹. **Jalili, R.; Noori, F. and Agh, N., 2012.** Effects of Dietary Protein Source on Growth Performance, Feed Utilization and Digestive Enzyme Activity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). Journal of Applied Biological Sciences. Vol. 6, No. 3, pp: 61-68.
۲۰. **Jidan, Y.; Xianghe, L.; Zijia, W. and Kun, W., 2011.** Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Vol. 1, pp: 143-153.
۲۱. **Krogdahl, Å.; Penn, M.; Thorsen, J.; Refstie, S. and Bakke, A.M., 2010.** Important anti-nutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 333-344.
۲۲. **Kraugerud, O.F.; Penn, M.; Storebakken, T.; Refstie, S.; Krogdahl, Å. and Svihus, B., 2007.** Nutrient digestibilities and gut function in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with cellulose or non-starch polysaccharides from soy. Aquaculture. Vol. 273, pp: 96-107.
۲۳. **Lovell, R.T., 1988.** Use of soybean products in diets for aquaculture species: revised. Soybean Utilisation Alternatives, February 16±18. The Centre for Alternative Crops and Products, University of 14 Minnesota. pp: 335-361.
۲۴. **Mohseni, M.; Hassani, M.H.; Pourali, M.; Pourkazemi, M. and Bai, S.C., 2011.** The optimum dietary carbohydrate lipid ratio can spare protein in growing beluga, *Huso huso*. Applied Ichthyology. Vol. 27, pp: 775-780.
۲۵. **Mohseni, M.; Pourali, H.R., Kazemi, R. and Bai, S.C., 2014.** Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (*Huso huso* L. 1758). Aquaculture Research. Vol. 45, pp: 1832-1841.
۲۶. **Palmelegiano, G.B.; Dapra, F.; Forneris, G., Gai, F.; Gasco, L.; Guo, K.; Peiretti, P.G.; Sicuro, B. and Zoccarato, I., 2006.** Rice proteins concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 258, pp: 357-367.
۶. **Coloso, R.M.K.; King, J.W.; Fletcher, M.A.; Hendrix, M.; Subramanyam, P.W. and Ferraris, R.P., 2003.** Phosphorus utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed practical diets and its consequences on effluent phosphorus levels. Aquaculture. Vol. 220, pp: 801-820.
۷. **Cruz Castro, C.A.; Hernández, L.H.; Fernández Araiza, M.A.; Ramírez Pérez, T. and Ángeles López, O., 2011.** Effects of diets with soybean meal on the growth, digestibility, Phosphorus and Nitrogen excretion of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Hidrobiológica. Vol. 21, No. 2, pp: 118-125.
۸. **Day, O.J. and Plasencia Gonzales, H.G., 2006.** Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture Nutrition 2000. Vol. 6, pp: 221-228.
۹. **Dalsgaard, J.; Ekman K.S.; Pedersen, P.B. and Verhac, V., 2009.** Effect of supplemented fungal phytase on performance and phosphorus availability by phosphorus-depleted juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and on the magnitude and composition of phosphorus waste output. Aquaculture. Vol. 286, pp: 105-112.
۱۰. **Domezain, A.E.; Martínez-Álvarez, R.M.; Hidalgo, M.C.; Morales, A.; García Gallego, M. and Sanz, A., 2002.** Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity. J Exp Biol. Vol. 205, pp: 3699-3706.
۱۱. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2008.** Cultured Aquatic Species Information Programmed. *Oncorhynchus mykiss*. Cultured Aquatic Species Information Programmed. Text by Cowx, I. G. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. Updated 15 June 2005. [Cited 1 August 2013]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oncorhynchus_mykiss/en.
۱۲. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2010.** World Agriculture Towards 2030/2050: The 2012 revision. ESA E Working Paper No. 12-03. <http://www.fao.org/economic/esa/esag/en/>.
۱۳. **Francis, H.; Adem, H.; Tressel, R.P.; Wysujack, K., Koops, U. and Schulz, C., 2001.** Replacement of fish meal with rapeseed protein concentrate in diets fed to common carp (*Cyprinus carpio* L.). Israeli Journal Aquaculture Bamidgah. Vol. 63, No. 6. IIC: 63.2011.605.
۱۴. **García-Carreño, F.L., Haard NF., 1993.** Characterization of proteinase classes in Langostilla Pleuroncodes planipes and Crayfish Pacifastacus astacus extracts. Journal of Food Biochemistry 17, 97-113.
۱۵. **Gatlin, D.M.; Barrows, F.T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, T.G.; Hardy, R.W.; Herman, E., Hu, G.; Krogdahl, Å.; Nelson, R.; Overturf, K.; Rust, M.; Sealey, W.; Skonberg, D.; Souza, E.J.; Stone, D., Wilson, R. and Wurtele, E., 2007.** Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research. Vol. 38, pp: 551-579.

۲۷. **Papatryphon, E. and Soares Jr, J.H., 2001.** The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to stripped bass, *Marone sexatilis*. *Aquaculture*. Vol. 14, pp: 120-129.
۲۸. **Sajjadi, M. and 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*. Vol. 10, pp: 135-142.
۲۹. **Soltan, M.A.; Hanafy, M.A. and Wafa, M.I.A., 2008.** Effect of Replacing Fish Meal by a Mixture of Different Plant Protein Sources in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Diets. *Global Veterinaria*. Vol. 2, No. 4, pp: 157-164.
۳۰. **Storebakken, T.; Shearer, K.D.; Baeverfjord, G.; Nielsen, B.G.; Asgard, T.; Scott, T.M. and De Laporte, A., 2000.** Digestibility of macronutrients, energy and amino acids, absorption of elements and absence of intestinal enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with wheat gluten. *Aquaculture*. Vol. 184, pp: 115-132.
۳۱. **Wang, F.; Yang, Y.H.; Han, Z.Z.; Dong, H.W.; yang, C.H. and Zou, Z.Y., 2011.** Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). *Aquaculture International*. Vol. 17, pp: 143-157.
۳۲. **Zhou, F.; Song, W.; Shao, Q.; Peng, X.; Xiao, J.; Hua, Y. and Owari, B.N., 2011.** Partial replacement of fish meal by fermented soybean meal in diets for Black Sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juveniles. *Journal of World Aquaculture Society*. Vol. 42, pp: 184-197.

