اثرات جایگزینی تدریجی پودر ماهی با پودر سویا و مکمل آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم و ترکیبات عناصر لاشه فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*)

رضا اسعدی[۱]، محمدرضا ایمان‌پور[۲]، مسعود اصغری[۳] و طیبه عنایت‌غلام‌پور[۱]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۲۵

خلاصه

جهت تعیین اثرات افزایش سطوح پودر سویا و مکمل آنزیم فیتاز در جیره بر قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک و همچنین ترکیبات عناصر لاشه فیل‌ماهیان جوان، هفت جیره با نیتروژن و انرژی یکسان، حاوی سطوح مختلف پودر سویا (۴۰٪ و ۷۰٪) برای جایگزینی تدریجی با پودر ماهی (جیره شاهد) و سه سطح آنزیم فیتاز: صفر و ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم (از فیتاز در جیره شاهد استفاده نشد) آماده شد و ماهیان با سه تکرار و در هر تکرار ۱۰ قطعه ماهی (میانگین وزن ۲/۱۶±۸۰/۶۵ گرم) با این جیره-های غذایی مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره ۸ هفته‌ای تغذیه با جیره‌های آزمایشی، تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) در قابلیت هضم و ترکیبات عناصر معدنی لاشه در بین ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مشاهده شد. جایگزینی تدریجی پودر ماهی با پودر سویا موجب کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین و انرژی و همچنین میزان فسفر وکلسیم لاشه شد ($P<0/05$). از طرف دیگر قابلیت هضم ماده خشک و میزان منیزیم لاشه تحت تاثیر جیره‌های غذایی قرار نگرفت ($P>0/05$). علاوه بر این افزودن آنزیم فیتاز موجب افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین و میزان فسفر و کلسیم لاشه شد ($P<0/05$). تفاوت معنی‌داری بین اثر جایگزینی، اثر آنزیم فیتاز و اثر متقابل در قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک و همچنین میزان منیزیم لاشه مشاهده نگردید ($P>0/05$). اگر چه اثر جایگزینی و اثر آنزیم فیتاز تفاوت معنی‌داری را در میزان فسفر و کلسیم لاشه نشان دادند ($P<0/05$). نتایج حاصل بیانگر آن است که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین و انرژی و همچنین کاهش میزان فسفر و کلسیم در لاشه فیل ماهیان جوان می‌شود. از طرف دیگر افزودن مکمل آنزیم فیتاز سبب بهبود قابلیت هضم پروتئین و افزایش میزان فسفر و کلسیم لاشه می‌شود.

کلمات کلیدی: فیل‌ماهی، پودرسویا، آنزیم فیتاز، قابلیت هضم، عناصر لاشه

مقدمه

صنعت آبزی پروری حدود ۶۸/۲٪ و ۸۸/۵٪ از تولیدات به ترتیب پودر ماهی و روغن ماهی را مصرف می‌کند (۸). بنا به اتفاق نظری که وجود دارد منابع پروتئین و روغن در غذای ماهیان احتیاج به جایگزینی دارد، تا بتوان به تولیدات پایدار صنعت آبزی‌پروری کمک نمود (۱۱). پودر ماهی به علت دارا بودن تعادل اسیدهای آمینه مناسب به میزان زیاد صنعت غذای آبزیان را به خود وابسته ساخته است. اما به علت کاهش صید ماهی از دریا، به تدریج پودر ماهی به منبع گران قیمتی تبدیل شده است. بنابراین استفاده از پروتئین‌های گیاهی مانند پودر سویا جهت توسعه تولید غذای ماهی با قیمت پایین گسترش پیدا خواهد کرد. غذاهای آبزیانی که بر پایه پروتئین‌های گیاهی هستند غنی از فسفر هستند (۷). اما ۷۰ درصد فسفر در گیاهان به صورت فیتات است که

[۱] دانش‌آموخته دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان E-mail: ri.asadi@gmail.com (نویسنده مسئول)

[۲] دانشیار دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۳] دانشجوی دکترای دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

برای ماهیان قابل جذب نیست (۲۳). در نتیجه فسفر غیرآلی قابل حل و فسفر سلولی (فسفر باند شده در نوکلئیک اسید، پروتئین‌های فسفری، فسفولیپیدها و فسفر باند شده با قندها) ۳۰ درصد باقی مانده میزان فسفر هستند. به دلیل غلظت بالای گروه‌های فسفات با بار منفی، پیوندهای فیتات با یون‌های معدنی مثبت شبیه پتاسیم (k)، کلسیم (ca)، روی (zn)، آهن (fe)، مس (cu)، منگنز (mg) کمپلکس با قابلیت جذب پایین تشکیل داده است (۲۶). جدا از مواد معدنی ذکر شده، فیتات همچنین با پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه نیز پیوند (کمپلکس) برقرار می‌کند. آمین‌های موجود در کناره زنجیره آمینواسید موجب بوجود آمدن پیوند پروتئین- فیتات و موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین‌ها می‌شود. فیتاز یک آنزیم ویژه برای هیدرولیز کردن فیتات است. این آنزیم در دستگاه گوارش بسیاری از حیوانات وجود دارد، اما میزان آن به طور طبیعی پایین است و یا در حیوانات تک معده‌ای وجود ندارد در نتیجه قابلیت هضم فیتات کاهش می‌یابد و پس از آن دسترسی به مواد معدنی، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه‌ها در جیره‌های غذایی بر پایه پروتئین‌های گیاهی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (۳۲).

ترکیب فیتات- فسفر دفع شده در آب شیرین می‌تواند توسط میکروارگانیسم تجزیه شده و فسفر آن آزاد شود و موجب شکوفایی بعضی از جلبک‌ها شود (۲۲).

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 پودرماهی با پودر سویا به همراه افزودن مکمل فیتاز یکی از اهداف اقتصادی در صنعت آبزی پروری است. به اثبات رسیده که افزودن فیتاز در جیرهای غذایی که بر پایه پروتئین‌های گیاهی هستند قابلیت هضم مواد مغذی و مواد معدنی را افزایش می‌دهد (۷).

در گذشته هدف از پرورش ماهیان خاویاری تولید خاویار بوده است، اما به تازگی و طی دهه گذشته علاقه فزاینده‌ای برای پرورش این ماهیان جهت تولید گوشت به وجود آمده است. اطلاعات زیادی در مورد جیره غذایی مناسب برای ماهیان خاویاری وجود ندارد و تا به حال جیره غذایی استانداردی که کاملاً مناسب و مخصوص این ماهیان باشد ساخته نشده است. بیشتر پرورش دهندگان ماهیان خاویاری از جیره‌های تجاری موجود خصوصاً جیره‌های غذایی آزاد ماهیان استفاده می‌کنند (۲۰). این جیره‌های غذایی هزینه بالایی دارند و خیلی برای ماهیان خاویاری مناسب نیستند (۳۳).

اطلاعات پایه در مورد قابلیت هضم منابع پروتئینی برای ماهیان یک پیش فرض ضروری نه فقط برای طراحی و فرموله کردن یک جیره غذایی مناسب بلکه همچنین برای تنظیم کردن و کنترل ضایعات آبزی پروری ضروری است (۲ و ۳۴). روش‌هایی که برای تعیین قابلیت هضم به کار می‌روند غالباً از طرق استفاده از یک نشانگر بی‌اثر در جیره غذایی (۹، ۲۳ و ۳۲) و جمع‌آوری مدفوع ماهی (۱۰ و ۳۰) صورت می‌گیرد. اکسید کروم (Cr_2O_3) یک نشانگر بی‌اثر است که به طور معمول در تعیین قابلیت هضم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹).

با توجه به اهمیت‌های ذکر شده در ارتباط با استفاده از پودر سویا و آنزیم فیتاز در جیره غذایی ماهیان، هدف از تحقیق حاضر بررسی تاثیر جایگزین کردن پودر ماهی با پودر سویا بر قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک و همچنین برخی از عناصر لاشه فیل ماهیان جوان و بررسی اثر افزودن آنزیم فیتاز در جیره غذایی بر پارامترهای مورد اندازه‌گیری بوده است.

مواد و روش کار

این آزمایش به مدت ۸ هفته در مرکز تحقیقات آبزی-پروری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان انجام شد. فیل ماهیان جوان از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی تهیه شده و ابتدا با استفاده از جیره تجاری مورد تغذیه قرار گرفتند. پس از سازگاری ماهیان با شرایط آزمایشگاهی و

جیره‌های آزمایشی، تعداد ۲۱۰ قطعه فیل ماهی با میانگین وزن اولیه ۲/۱۶±۸۰/۶۵ گرم در هفت تیمار آزمایشی با سه تکرار توزیع شدند. از حوضچه‌های پرورشی فایبرگلاس فشرده با ابعاد ۱×۱ متر با عمق ۵۰ سانتی‌متر به منظور سازگار نمودن و پرورش ماهیان استفاده گردید. حوضچه‌های مذکور به میزان ۴۰۰ لیتر آبگیری شدند و روزانه ۸۰ درصد آب آنها تعویض می‌شد. برای تامین اکسیژن مناسب در حوضچه‌ها از پمپ‌های هوادهی و سنگ هوا استفاده شد.

۷ جیره آزمایشی با میزان پروتئین و انرژی یکسان که حاوی سطوح مختلف پودر سویا و آنزیم فیتاز بودند، تنظیم گردید (جدول ۱). که شامل یک جیره شاهد که حاوی پودر ماهی بود، بدون جایگزینی پودر سویا و آنزیم فیتاز و شش جیره دیگر، حاوی دو سطح جایگزینی ۴۰ و ۷۰ درصد پودر سویا به جای پودر ماهی که هر کدام از این دو سطح جایگزینی شامل سه سطح ۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیتاز بودند.

جدول ۱: فرمولاسیون (درصد) و ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) جیره‌های آزمایشی

جیره غذایی / ترکیبات جیره	شاهد	سویا ۴۰و فیتاز صفر	سویا ۴۰و فیتاز۱۰۰۰	سویا ۴۰و فیتاز ۲۰۰۰	سویا ۷۰و فیتاز صفر	سویا ۷۰و فیتاز ۱۰۰۰	سویا ۷۰و فیتاز۲۰۰۰
پودر ماهی	۵۵	۳۳	۳۳	۳۳	۱۶	۱۶	۱۶
پودر سویا	۰	۲۸	۲۸	۲۸	۴۹	۴۹	۴۹
شیر خشک	۱۰	۱۱	۱۰/۹۸	۱۰/۹۶	۱۲	۱۱/۹۸	۱۱/۹۶
آرد گندم	۱۸	۸	۸	۸	۰	۰	۰
روغن سویا	۱۰	۱۲	۱۲	۱۲	۱۴	۱۴	۱۴
روغن ماهی	۲	۳	۳	۳	۴	۴	۴
فیتاز	۰	۰	۰/۰۲	۰/۰۴	۰	۰/۰۲	۰/۰۴
مکمل (معدنی[1] و ویتامینه[2])	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۷۵	۱/۷۵
لیزین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
متیونین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	.۱/۵	۱/۵	۱/۵
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ترکیب شیمیایی جیره (برحسب درصد)							
پروتئین	۳۹/۶	۳۸/۸	۳۸/۸	۳۸/۶	۳۸/۱	۳۸	۳۷/۹
چربی	۱۷/۴	۱۸/۳	۱۸/۱	۱۸۲/۵	۱۹/۹	۱۹/۶	۱۹/۵
خاکستر	۴/۲	۴/۹	۴/۸	۴/۸	۵/۱	۴/۹	۵/۳
فسفر	۱/۱۹	۰/۸۲	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۶۳	۰/۶۵	۰/۶۵
کلسیم	۲/۲۸	۱/۳۲	۱/۲۸	۱/۳۰	۰/۷۰	۰/۶۸	۰/۷۰
منیزیم	۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۲۴
انرژی خام (کالری بر گرم)	۴/۸	۴/۸	۴/۸	۴/۸	۴/۸	۴/۸	۴/۸

۱- هر کیلوگرم مکمل معدنی شامل: ۱۸ میلی‌گرم روی؛ ۰/۶ میلی‌گرم ید، ۷/۸ میلی‌گرم منگنز؛ ۰/۵ میلی‌گرم کبالت؛ ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم؛ ۱/۸ میلی‌گرم مس؛ ۱۲ میلی‌گرم آهن.

۲- هر کیلوگرم مکمل ویتامینه شامل: ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A ؛۱۲۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 ؛۱۲۰ میلی‌گرم ویتامین E ؛ ۲۴ میلی‌گرم ویتامین B12؛ ۱۵ میلی‌گرم ریبوفلاوین؛ ۹۰ میلی‌گرم نیاسین؛ ۲۷ میلی‌گرم اسیدپانتوتنیک؛ ۳ میلی‌گرم منادیون؛ ۴/۸ میلی‌گرم اسیدفولیک؛ ۹ میلی‌گرم پیردوکسین؛ ۹ میلی‌گرم تیامین؛ ۰/۴۸ میلی‌گرم بیوتین؛ ۳۶۰ میلی‌گرم کولین کلراید؛ ۲۴ میلی‌گرم کوبالامین؛ ۱۵۶ میلی‌گرم اسیداسکوربیک، ۹۰ میلی‌گرم اسیدنیکوتینیک؛ ۷۲ میلی‌گرم اینوزیتول؛ ۱۵ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدانت.

به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، ابتدا مواد اولیه خشک کاملاً با هم مخلوط شدند و بعد روغن به آنها اضافه شد. سپس آب تا مقداری که مخلوط حالت خمیری به خود بگیرد، اضافه گردید. خمیر حاصل از یک چرخ گوشت با قطر صفحه ۴ میلی‌متر عبور داده شده که به صورت رشته‌ای در آمدند، پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی پلاستیک گسترده شدند و در دمای اتاق کاملاً خشک شدند. در طول مدت خشک شدن، غذاهای پلت شده مرتب به هم زده می‌شدند تا به صورت یکنواخت مخلوط شوند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره‌گذاری شدند و تا زمان مصرف در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری اطمینان از ترکیب شیمیایی جیره‌های ساخته شده نمونه‌ای از هر یک از آنها در آزمایشگاه مورد تجزیه قرار گرفت. جیره‌ها تا حد سیری ظاهری در دو نوبت به ماهیان خورانده شد. زمان انجام آزمایش از تاریخ ۸۹/۲/۱۵ الی ۸۹/۴/۱۱ بوده است و دوره نوری به طور طبیعی برقرار گردید (به طور میانگین ۱۳/۵ ساعت روشنایی و ۱۰/۵ تاریکی).

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی مانند درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول به صورت روزانه با استفاده از دستگاه (HURIBA, Japan) اندازه‌گیری می‌شد. در طول دوره آزمایش، میانگین دما، اکسیژن و pH به ترتیب ۱/۴±۲۳/۱۲ درجه سانتی‌گراد، ۰/۵±۶ لیتر/میلی‌گرم و ۰/۱±۸/۷۳ بود.

برای تعیین قابلیت هضم در ابتدای هفته هفتم مقدار ۵ گرم در کیلوگرم اکسیدکروم به جیره اضافه شد و برای سازگاری ماهیان پرورشی با جیره جدید به مدت ۱ هفته ماهیان با این جیره مورد تغذیه قرار گرفتند و در آغاز هفته هشتم به مدت ۱ هفته مدفوع تازه ماهیان ۰/۵ ساعت بعد از غذادهی از کف حوضچه‌ها به خارج سیفون و جمع‌آوری شد (۲۵). به علت اینکه ماهیان خاویاری غذای خود را از کف می‌گیرند نمی‌توان از حوضچه‌هایی با کف شیب‌دار و مجهز به مخزن جمع‌آوری مدفوع استفاده کرد و بهتر است از حوضچه‌هایی با کف مسطح برای این کار استفاده شود و مدفوع کف حوضچه‌ها با سیفون کردن به خارج انتقال یابد (۲۰). در هنگام غذادهی دقت کامل به عمل آمد که غذای مصرف نشده‌ای در کف حوضچه‌ها باقی نمانده باشد. مدفوع جمع‌آوری شده بلافاصله در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات بعدی منجمد شد.

برای نمونه‌برداری از لاشه فیل ماهیان جوان ۲۴ ساعت قبل از کشتار به ماهیان غذا داده نشد. از هر تکرار ۳ ماهی (هر تیمار ۹ ماهی) برای نمونه‌برداری به صورت تصادفی انتخاب و جهت بیهوش کردن در عصاره گل میخک (۳۰۰ لیتر/میلی‌گرم) قرار گرفتند. آنالیز ترکیبات لاشه و غذا به روش‌های زیر و بر طبق AOAC (۱۹۹۵) انجام شد (۳). پس از خارج کردن دستگاه گوارش ماهیان، لاشه آنها پس از خرد کردن و یکنواخت شدن برای اندازه‌گیری فسفر، کلسیم و منیزیم مورد استفاده قرار گرفت. مقداری از لاشه را در پلیت‌های شیشه‌ای قرار داده و در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید، برای گرفتن خاکستر از نمونه‌های خشک شده استفاده شد این نمونه‌ها را در بوته چینی قرار داده و به مدت ۸ ساعت در کوره الکتریکی (Nabertherm, Germany) در دمای ۵۴۶ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شد. پروتئین با استفاده از کلدال (Gerhardt, Type:VAP 40, Germany) اندازه‌گیری شد. انرژی کل به وسیله بمب کالریمتر (PARR-1356, USA) اندازه‌گیری شد. فسفر کل با استفاده از روش وانادیوم مولیبدات و کلسیم و منیزیم با استفاده از جذب فتومتری با دستگاه فلیم اتمی (TAS-990, China) اندازه‌گیری شد. غلظت اکسیدکروم پس از هضم خاکستر نمونه و تبدیل اکسید کروم به اسید کرومیک با استفاده از جذب فتومتری با دستگاه فلیم اتمی اندازه‌گیری شد (۳).

تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه و اثر متقابل (اثر متقابل سطوح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا و سطوح آنزیم

فیتاز)، اثر جایگزینی (اثر جایگزینی سطوح پودر ماهی با پودر سویا) و اثر آنزیم فیتاز (اثر سطوح آنزیم فیتاز) در جیره‌های آزمایشی (به غیر از جیره شاهد) با استفاده از روش آنالیز واریانس دو طرفه و بر اساس آزمون دانکن در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار ۱۴ SPSS در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام پذیرفت و بررسی شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین± انحراف از معیار بیان شدند.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مختلف در جدول ۲ آورده شده است. قابلیت هضم پروتئین به طور معنی‌داری در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$) و افزودن مکمل فیتاز در سطح جایگزینی ۴۰ درصد موجب افزایش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین تا سطح تیمار شاهد شد ($P<0/05$)، که البته سطح ۱۰۰۰ با ۲۰۰۰ آنزیم فیتاز تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P>0/05$). قابلیت هضم انرژی در تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را با جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۷۰ درصد نشان داد ($P<0/05$) اما افزودن مکمل فیتاز تاثیر معنی‌داری در تیمارهای آزمایشی ایجاد نکرد ($P>0/05$). با افزایش جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا قابلیت هضم ماده خشک در بین تیمارهای آزمایشی به طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت ($P>0/05$). اما تفاوت معنی‌داری در بین تیمار سویا ۷۰-فیتاز ۱۰۰۰ با تیمارهای سویا ۴۰-فیتاز۱۰۰۰ و تیمار شاهد مشاهده شد ($P<0/05$).

تفاوت معنی‌داری در اثرجایگزینی، اثرآنزیم فیتاز و اثر متقابل در پارامترهای آزمایشی در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۳) ($P>0/05$).

جدول ۲: قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک در فیل ماهیان جوان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مختلف

جیره غذایی / پارامترها (درصد)	شاهد	سویا ۴۰ و فیتاز صفر	سویا ۴۰ و فیتاز۱۰۰۰	سویا ۴۰ و فیتاز ۲۰۰۰	سویا ۷۰ و فیتاز صفر	سویا ۷۰ و فیتاز ۱۰۰۰	سویا ۷۰ و فیتاز۲۰۰۰
پروتئین	^{b}۹۲/۸۸±۲/۳۱	^{a}۸۵/۸۳±۱/۱۵	^{ab}۸۷/۲۹±۱/۸۳	^{ab}۸۸/۱۱±۲/۸۹	^{a}۸۲/۵۹±۱/۲۶	^{a}۸۴/۲۷±۲/۲۳	^{a}۸۶/۳۱±۱/۹۰
انرژی	^{b}۹۱/۳۶±۱/۶۰	^{ab}۸۷/۳۹±۲/۳۱	^{ab}۸۸/۰۵±۱/۱۴	^{ab}۸۶/۶۸±۱/۵۹	^{a}۸۵/۴۲±۲/۴۳	^{a}۸۵/۷۲±۱/۲۱	^{a}۸۴/۷۷±۰/۶۰
ماده خشک	^{b}۸۱/۱۶±۰/۷۵	^{ab}۷۷/۹۰±۲/۰۲	^{a}۷۹/۴۲±۲/۸۹	^{ab}۷۷/۶۵±۲/۰۰	^{ab}۷۵/۳۱±۱/۹۱	^{a}۷۳/۷۰±۲/۲۴	^{ab}۷۵/۶۵±۱/۳۹

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف از معیار بیان شده‌اند (n=۹)

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف افقی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P\leq0/05$).

٪ADC قابلیت هضم مواد مغذی= (مواد مغذی جیره / مواد مغذی مدفوع) × (درصد نشانگر مدفوع/ درصد نشانگر جیره × ۱۰۰)-۱۰۰

جدول ۳: اثرجایگزینی، اثرآنزیم فیتاز و اثرمتقابل بین تیمارهای آزمایشی در قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک فیل ماهیان جوان

پارامترها (درصد)	اثر جایگزینی*	اثر آنزیم فیتاز*	اثر متقابل*
پروتئین	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵
انرژی	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵
ماده خشک	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵

*اثر جایگزینی، اثر آنزیم فیتاز و اثر متقابل برای تیمار شاهد محاسبه نشده است.

میزان فسفر و کلسیم لاشه در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵)، اما میزان منیزیم لاشه فیل‌ماهیان جوان تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف نشان نداد (جدول ۴) (P>۰/۰۵). میزان فسفر و کلسیم با افزایش میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا کاهش یافت و افزودن آنزیم فیتاز به خصوص در سطح ۲۰۰۰ موجب افزایش معنی‌داری در میزان این دو عنصر در لاشه فیل ماهیان جوان شد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: برخی از عناصر معدنی (براساس ماده خشک) لاشه فیل ماهیان جوان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی مختلف

جیره غذایی / پارامترها (درصد)	شاهد	سویا ۴۰ و فیتاز صفر	سویا ۴۰ و فیتاز ۱۰۰۰	سویا ۴۰ و فیتاز ۲۰۰۰	سویا ۷۰ و فیتاز صفر	سویا ۷۰ و فیتاز ۱۰۰۰	سویا ۷۰ و فیتاز ۲۰۰۰
فسفر	^{e}۰/۹۹±۰/۰۵	^{bc}۰/۷۱±۰/۰۲	^{cd}۰/۷۶±۰/۰۳	^{d}۰/۸۲±۰/۰۱	^{a}۰/۵۶±۰/۰۲	^{ab}۰/۶۳±۰/۰۳	^{bc}۰/۷۲±۰/۰۳
کلسیم	^{d}۰/۸۶±۰/۰۶	^{c}۰/۶۷±۲/۰۶	^{c}۰/۶۵±۰/۰۵	^{cd}۰/۷۴±۰/۰۵	^{a}۰/۳۳±۰/۰۲	^{ab}۰/۴۰±۰/۰۳	^{b}۰/۵۱±۰/۰۳
منیزیم	^{a}۰/۱۶±۰/۰۳	^{a}۰/۱۹±۰/۰۲	^{a}۰/۱۸±۰/۰۵	^{a}۰/۲۲±۰/۰۲	^{a}۰/۱۹±۰/۰۲	^{a}۰/۲۰±۰/۰۳	^{a}۰/۲۵±۰/۴۰

داده‌ها به صورت میانگین± انحراف از معیار بیان شده‌اند (n=۹)

حروف لاتین غیر مشترک در هر ردیف افقی اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P≤۰/۰۵).

اثرجایگزینی، اثرآنزیم فیتاز و اثر متقابل در بین تیمارهای آزمایشی در جدول شماره ۵ آورده شده است. اثر جایگزینی و اثر آنزیم فیتاز در فسفر و کلسیم معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). از طرف دیگر اثر متقابل در بین هیچکدام از عناصر اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۵: اثرجایگزینی، اثرآنزیم فیتاز و اثرمتقابل بین تیمارهای آزمایشی در برخی از عناصر معدنی (براساس ماده خشک) در لاشه فیل ماهیان جوان

پارامترها (درصد)	اثر جایگزینی*	اثر آنزیم فیتاز*	اثر متقابل*
فسفر	P<۰/۰۵	P<۰/۰۵	P>۰/۰۵
کلسیم	P<۰/۰۵	P<۰/۰۵	P>۰/۰۵
منیزیم	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵	P>۰/۰۵

*اثر جایگزینی، اثر آنزیم فیتاز، اثر متقابل، برای تیمار شاهد محاسبه نشده است.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان دهنده این است که قابلیت هضم پروتئین، انرژی و ماده خشک با جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا کاهش می‌یابد که این کاهش در قابلیت هضم پروتئین در تیمار شاهد با تیمارهای سطح جایگزینی ۴۰ درصد و ۷۰ درصد و در قابلیت هضم انرژی تیمار شاهد با تیمار سطح جایگزینی ۷۰ درصد معنی‌دار بود. در مطالعه‌ای در رابطه با قابلیت هضم پودر ماهی و پودر سویا در جیره غذایی گربه ماهی چینی *Leiocassis longirostris* به این نتیجه رسیدند که قابلیت هضم پروتئین و انرژی کیک سویا کمتر از پودر ماهی است (۱۸). همچنین Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کرده‌اند که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا تا سطح ۳۰

درصد جیره پایه موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین و انرژی و ماده خشک در تاس ماهی سیبری *Acipenser baeri* می‌شود که این کاهش در مورد قابلیت هضم انرژی معنی‌دار است (۲۰).

دلیل این نتیجه می‌تواند تفاوت در محتوای مواد مغذی و ترکیبات پودر سویا و پودر ماهی باشد که ممکن است در فعالیت‌های هضم اختلال ایجاد کرده باشند. محققان اعلام کرده‌اند که قابلیت هضم پروتئین و دسترسی اسیدهای آمینه در آزاد ماهیان با فعالیت‌های ضدتریپسین کاهش می‌یابد (۱۷).

آنزیم فیتاز در دو سطح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی موجب افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین در فیل ماهیان جوان شد. مطالعات Biswas و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی سیم دریایی قرمز *Pagrus major* و Vielma و همکاران (۲۰۰۴) در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا موجب کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین شد، اگرچه افزودن فیتاز تا سطح ۲۰۰۰ به طور معنی‌داری قابلیت هضم پروتئین را افزایش داد (۵ و ۳۲). همچنین گزارش شده که افزودن آنزیم فیتاز تاثیری در قابلیت هضم انرژی ندارد (۱ و ۵).

میزان فسفر و کلسیم لاشه با افزایش میزان پودر سویا در جیره‌ها، کاهش یافت که با آنچه که توسط Storebakken و همکاران (۲۰۰۰) برای ماهی آزاد آتلانتیک *Salmo salar* ، Vielma و همکاران (۲۰۰۰) برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* ، Mbahinzireki و همکاران (۲۰۰۱) برای تیلاپیای نیل *Oreochromis* sp. ، Imorou Toko و همکاران (۲۰۰۸a) برای گربه ماهی واندا *Heterobranchus longifilis* تغذیه شده با پروتئین‌های گیاهی گزارش شده، مشابه است (۱۵، ۲۲، ۲۹ و ۳۱). درحقیقت فسفر و کلسیم ترکیبات غیرآلی غالب در کل ماهیان هستند و حدود ۹۰ درصد کلسیم و هشتاد درصد فسفر در استخوان ماهیان یافت می‌شوند (۱۳). در حالی که جذب کلسیم از آب بالاست و ماهی را کمتر وابسته به کلسیم غذا می‌سازد (۱۲)، از طرف دیگر جذب فسفر از آب بسیار کم است (۱۳). زیرا مقدار فسفر آب کم است (۶)، علاوه بر این جذب کلسیم از آب با در دسترس بودن فسفر ارتباط دارد (۱۲)، به هر حال در ماهی تیلاپیا و آزادماهیان به اثبات رسیده است که افزایش میزان غلظت کلسیم و فسفر کل بدن پاسخی است به افزایش سطوح آنها در غذا (۲۲ و ۲۸) برای مثال Mbahinzireki و همکاران (۲۰۰۱) در ماهی تیلاپیای نیل گزارش کرد که هنگامی که سطوح پودر کلزا در جیره افزایش یافته، میزان کلسیم، فسفر، منیزیم و آهن در لاشه به طور معنی‌داری کاهش یافته است (۲۲). این محققان این نتایج را با جذب پایین این عناصر از غذا ارتباط داده‌اند. شاید بتوان دلیل اصلی این موضوع را اثرات معکوس اسیدفیتیک که در جیره‌های غذایی گیاهی وجود دارد مرتبط دانست، که پیوند غیر محلولی را با عناصر معدنی تشکیل می‌دهد (۱۲ و ۲۴).

میزان منیزیم با افزایش میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا تغییر معنی‌داری نشان نداد. این نتیجه مشابه نتیجه Imorou Toko و همکاران (۲۰۰۸a) برای گربه ماهی واندا است (۱۵). اگرچه در چندین گزارش دیگر میزان منیزیم لاشه با افزایش پروتئین‌های گیاهی در جیره غذایی ماهی کاهش معنی‌داری یافته است (۱۴ و ۲۴). این ممکن است به دلیل ویژگی‌ها و تفاوت‌های مختص به هر گونه یا سطوح پایین اسیدفیتیک در جیره‌های آزمایشی باشد (۱۵ و ۱۶).

در مطالعه حاضر با افزایش میزان آنزیم فیتاز میزان فسفر و کلسیم لاشه به طور معنی‌دار و میزان منیزیم به طور غیرمعنی‌داری افزیش یافت. در چندین مطالعه که توسط محققین مختلف صورت گرفته است، نشان داده شده که افزودن مکمل فیتاز به جیره غذایی سبب بهبود قابلیت هضم فیتات و افزایش مقدار مواد معدنی در ماهیان می‌شود (۱۹و ۲۵). بنابراین می‌توان روش‌ها و تکنیک‌های استفاده از فیتاز را جهت افزایش مصرف فسفر غیر قابل هضم (به دلیل وجود فیتات) تایید کرد. همچنین

گزارش شده کـه افـزودن فیتـاز در غـذای آبزیـان میـزان دسترسی موجود زنده به فسفر را افزایش می‌دهد (۴).

Madsen and Bern (۱۹۹۲) مشاهده نمودند که فیتات زدایی می‌تواند میزان جـذب کلـسیم و منیـزیم را توسـط ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که از پروتئین‌هـای گیـاهی در جیره غذایی آن استفاده شده است را افزایش دهد (۲۱).

البته لازم است به این نکته اشاره شود که چندین عامل متفاوت از قبیل نوع گونـه ماهیـان، ترکیبـات جیـره‌هـای غذایی و واریته‌های مختلف پروتئین‌های گیاهی می‌توانـد در نتایج حاصل از جایگزینی پروتئین‌های گیاهی با پـودر ماهی تاثیرگذار باشند (۲۷).

در مجموع می‌توان با اسـتفاده از نتـایج حاضـر نتیجـه گرفت که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۴۰ و ۷۰ درصد موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین و انرژی و همچنین کاهش میـزان فـسفر و کلـسیم در لاشـه فیـل ماهیان جوان می‌شود اما از طرف دیگر با استفاده از مکمل آنزیم فیتاز می‌توان تا حدودی این نقیصه را جبران کـرد و قابلیت هـضم و جـذب مـواد مغـذی و عناصـر را بهبـود بخشید.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی و دانـشگاه علـوم کـشاورزی و منـابع طبیعـی گرگان نهایت تشکر و قدردانی را می‌نماییم. همچنین از تمامی دوستانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

۱- زرگریان پگاه (۱۳۸۶). اثر آنـزیم فیتـاز و جـایگزینی پروتئین پودر ماهی با آرد سویا بر رشد، ترکیبـات بـدن و قابلیـت هـضم مـاده خـشک در قـزل‌آلای رنگـین کمـان (*Onchorhynchus mykiss*). پایان‌نامه کارشناسـی ارشـد. دانشگاه تربیت مدرس نور، صفحه ۴۲.

2- Allan G.L., Parkinson S., Booth M.A., Stone D.A.J., Rowland S.J., Frances J. and et al. (2000). Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. Aquaculture, 186: 293-310.

3- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1995). Official Methods of Analysis 16th edition. AOAC, Arlington, Virginia. P: 532.

4- Baruah K., Sahu N.P., Pal A.k. and Debnath D. (2004). Dietary phytase: an ideal approach for a cost e¡ective and lowpolluting aquafeed. NAGA,World Fish Center Quarterly, 27: 15-19.

5- Biswas A.K., Seoka M., Takii K. and Kumai H. (2007). Comparison of apparent digestibility coefficient among replicates and different stocking density in red sea bream *Pagrus major*. Fishery Science, 73: 19–26.

6- Boyd C.E. (1990). Water Quality in Ponds for Aquaculture. Alabama Agriculture Experiment Station, Auburn University. pp: 482.

7- Cheng Z.J.J., Hardy R.W. and Usry J.L. (2003). Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. Aquaculture, 218: 553-565.

8- FAO (Food and Agriculture Organization) (2008). FAO Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. Fishstat Plus: Universal software for fishery statistical time series. Aquaculture production: quantities 1950–2006, Aquaculture production: values 1984–2006; Capture production: 1950–2006; Commodities production and trade: 1950–2006; Vers. 2.30.

9- Glencross B.D., Booth M. and Allan G.L. (2007). A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquaculture Nutrition, 13; 17-34.

10- Hardy R.W. (1997). Understanding and using apparent digestibility coefficients in fish nutrition. Aquaculture Management, 23: 84–89.

11- Hardy R.W. (2008). Utilization of plant proteins in fish diets; effects of global demand and supplies of grains and oilseeds. Proceedings of the Aquaculture Europe, Krakow, Poland, pp: 5–8.

12- Hepher B. (1988). Nutrition of Pond Fishes. Cambridge Univ. Press, New York, USA. pp: 388.

13- Hertrampf J.W. and Piedad-Pascual F. (2000). Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers, The Netherland. pp: 573.

14- Hossain M.A. and Jauncey K. (1991). The effects of varying dietary phytic acid, calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp, *Cyprinus carpio*. In: Kaushik, S.J., Luquet, P. (Eds.), Fish Nutrition in Practice. INRA, Paris, pp: 705-715.

15- Imorou Toko I., Fiogbe E.D. and Kestemont P. (2008a). Growth, feed efficiency and body mineral composition of juvenile vundu catfish (*Heterobranchus longifilis*, Valenciennes 1840) in relation to various dietary levels of soybean or cottonseed meals. Aquaculture Nutrition, 13: 1–11.

16- Imorou Toko I., Fiogbe E.D. and Kestemont P. (2008b). Mineral status of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets containing graded levels of soybean or cottonseed meals. Aquaculture, 257: 298-305.

17- Krogdahl A., Lea T.B. and Olli J.L. (1994). Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemical Physiology, 107A: 215–219.

18- Lei W., Yang Y. and He X. (1996). Apparent digestibility coefficient of crude protein and energy for commercial six feed ingredients for Chinese long snout catfish (*Leiocassis longirostris Gunther*). Acta Hydrobiolgy Sinence, 20: 113–118. (In Chinese with English abstract).

19- Li M.H. and Robinson E.H. (1997). Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets. Journal of World Aquaculture Society, 28: 402-406.

20- Liu H., Wu X., Zhao W., Xue M., Guo L., Zheng Y. and et al. (2009). Nutrients apparent digestibility coefficients of selected protein sources for juvenile Siberian (*Acipenser baerii* Brandt), compared by two chromic oxide analyses methods. Aquaculture Nutrition, 15: 650-656.

21- Madsen S.S. and Bern H.A. (1992). A selective survey of the endocrine system of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with emphasis on the hormonal regulation of ion balance. Aquaculture, 100: 237–262.

22- Mbahinzireki G.B., Dabrowski K., Lee K.J., El-Saidy D. and Wisner E.R. (2001). Growth, feed utilization and body composition of tilapia (*Oreochromis sp.*) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system. Aquaculture Nutrition, 7: 189-200.

23- NRC (National Research Council) (1993) Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, DC. P: 182.

24- Porn-Ngam N., Satoh S., Takeuchi T. and Watanabe T. (1993). Effect of the ratio of phosphorus to calcium on zinc availability to rainbow trout in high phosphorus diet. Nippon Suisan Gakkaishi, 59: 2065–70.

25- Rodehutscord M. and Pfeffer E. (1995). Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal Of Water Science Technology, 31: 141-147.

26- Sardar P., Randhawa H.S., Abid M. and Prabhakar S.K. (2007). Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haemato-biochemical profiles of *Cyprinus carpio* (L.) fingerlings fed soyprotein-based diet. Aquaculture Nutrition, 13: 444-456.

27- Shafaepour A., Yavari V., Falahatkar B., Maremmazi J.G.H. and Gorjipour E. (2008). Effects of canola meal on physiological and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 14: 110-119.

28- Skonberg D.I., Yogev L., Hardy R.W. and Dong F.M. (1997). Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 157: 11–24.

29- Storebakken T., Shearer K.D., Baeverfjord G., Nielsen B.G., Asgard T., Scott T. and et al. (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, 184: 115–132.

30- Sugiura S.H., Raboy V., Young K.A., Dong F.M. and Hardy R.W. (1999). Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 170: 285–296.

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

32- Vielma J., Ruohonen K., Gabaudan J. and Vogel K. (2004). Top spraying soybean meal-based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 35: 955-964.

33- Wei Q., He J., Yang D., Zheng W. and Li L. (2004). Status of sturgeon aquaculture and sturgeon trade in China: a review based on two recent nationwide surveys. Journal of Applied Ichthyology, 20: 321–332.

34- Zhou Q.C., Tan B.P., Mai K.S. and Liu Y.J. (2004). Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Aquaculture, 241: 441–451.