



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی"

دوره هفتم، شماره اول، بهار ۹۸

<http://jair.gonbad.ac.ir>

بررسی اثر فیتاز تجاری (SMIZYME PHYTASE) در جیره حاوی سطوح

مختلف آرد سویا بر رشد و ترکیبات لاشه ماهی قزل‌آلای

رنکین کمان (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

سیده زینب عابدی^۱، سکینه یگانه^{۲*}، فاطمه مرادیان^۳، حسین اورجی^۲

^۱ دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^۲ دانشیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^۳ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ ارسال: ۹۶/۴/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۶

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف فیتاز تجاری (SMIZYME PHYTASE) در دو سطح ۲۰ و ۴۰ درصد سویا جایگزین پودر ماهی جیره غذایی بر رشد و ترکیبات لاشه ماهی قزل‌آلای رنکین کمان (*O. mykiss*) صورت گرفته است. جهت انجام آزمایش ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنکین کمان با میانگین وزن اولیه $6/5 \pm 0/43$ گرم به‌طور تصادفی در ۱۸ آکواریوم (۱۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم) قرار گرفتند. به ازای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان به مدت هشت هفته به میزان ۳٪ وزن بدن تغذیه شدند. جهت آنالیز لاشه تعدادی ماهی به‌طور تصادفی انتخاب گردید و جهت بررسی شاخص‌های رشد تمام ماهیان هر مخزن در ابتدا و انتهای آزمایش استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از آنزیم فیتاز افزایش معنی‌داری در برخی شاخص‌های رشد (رشد روزانه، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه) داشت. همچنین در هر سطح از سویا افزودن ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد فیتاز توانست میزان پروتئین را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. اضافه نمودن فیتاز تجاری به جیره حاوی سطوح بالاتر پروتئین گیاهی با سطح جایگزینی ۴۰٪ سویا موجب افزایش فسفر، کلسیم و منیزیم لاشه گردید. با افزایش آنزیم فیتاز نتایج حاصل از سطوح جایگزینی بهتر بوده و در نهایت استفاده از ۲۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز به ازاء هر کیلوگرم غذا و جایگزینی ۴۰٪ سویا توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *O. mykiss*، فیتاز تجاری، رشد، ترکیبات لاشه

*نویسنده مسئول: skyeganeh@gmail.com

مقدمه

پودر ماهی یکی از منابع پروتئینی مهم در تغذیه آبزیان به خصوص گونه‌های ماهیان گوشتخوار بوده و حاوی بهترین منابع مواد غذایی ضروری از قبیل آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب آزاد ضروری، ویتامین‌ها، موادمعدنی، جاذب‌ها و فاکتورهای رشد ناشناخته است (Hardy and Tacon, 2002). افزایش تقاضا و منابع ناپایدار و قیمت بالای پودر ماهی همراه با توسعه آبی‌پروری ضرورت تحقیق برای یافتن منابع پروتئینی جایگزین را خاطر نشان می‌سازد (Esfandiari, 2011). در میان عواملی که پتانسیل جایگزینی دارند، اجزاء گیاهی بهترین کاندید می‌باشند (Fontainhas-Fernandes *et al.*, 1999). استفاده از پروتئین‌های گیاهی (مثل پودر سویا، کنسانتره پروتئینی سویا) به‌منظور جایگزینی پودر ماهی در جیره آبزیان یکی از مباحث مهم در آبی‌پروری است (Mabahinzireki *et al.*, 2001). جایگزینی پودر ماهی با پروتئین‌های گیاهی مشکلاتی از قبیل کیفیت و میزان پروتئین در منابع گیاهی داشته و نسبت به پودر ماهی نامرغوب‌تر است. اما قیمت پایین و قابلیت آسان تهیه و جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در مقایسه با پودر ماهی در اولویت است و قیمت مناسب آنها اجازه پردازش غلات برای افزایش دادن ارزش غذایی در غذای ماهیان را می‌دهد (Mabahinzireki *et al.*, 2001). دانه‌های غلات و سایر مواد و پروتئین‌های گیاهی که بخش عمده خوراک دام و طیور را تشکیل می‌دهد به‌طور کامل توسط جامعه هدف قابل استفاده نمی‌باشد (Vielma *et al.*, 2004). تمام مواد گیاهی که برای تغذیه حیوانات به کار می‌روند حاوی فسفر به شکل اسیدفیتیک یا فیتات هستند که برای حیوانات تک‌معدده‌ای قابل استفاده نمی‌باشد (Storcksdieck *et al.*, 2007).

فسفر یکی از مواد معدنی مهم برای ماهی و از ترکیبات اصلی نوکلئیک اسید، غشای سلول و استخوان می‌باشد. محتوای کم فسفر در آبهای طبیعی موجب جذب کمتر فسفر از آب توسط ماهی می‌شود. بنابراین ماهی فسفر را عمدتاً از غذا تأمین می‌کند (Wu and Shi, 2011). فیتات به عنوان منبع فسفر به مقدار زیاد در حیوانات تک‌معدده‌ای وجود دارد ولی به علت کمبود آنزیم‌های تجزیه‌کننده، این ماده به عنوان منبع فسفر مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. از سوی دیگر فسفر هضم‌نشده با عبور از دستگاه گوارش حیوانات، مشکلات آلودگی زیست‌محیطی در آب‌های سطحی ایجاد می‌کند. تک‌معدده‌ای‌ها مانند ماکیان، ماهی و انسان به دلیل فقدان یا مقدار ناکافی آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیتات در دستگاه گوارش قادر به استفاده از این شکل آلی فسفر نیستند (Mittal *et al.*, 2011). فیتات یا فیتیک اسید که یکی از منابع فسفر گیاهی به شمار می‌رود، در اصل یک فاکتور ضد تغذیه‌ای است چرا که دارای اثرات منفی بر قابلیت هضم پروتئین به خصوص در حیوانات تک‌معدده‌ای می‌باشد (Hossain and Jauncey, 1991). فیتیک‌اسید (میواینوزیتول هگزاکای فسفات)^۱ یکی از ترکیبات اصلی همه دانه‌های

1. Myo-inositol-hexakiphosphate

گیاهی بوده به طوری که این ترکیب محتوای ۶۰-۷۰ درصد کل فسفر گیاه را شامل می شود (Graf, 2005; Torres *et al.*, 2003; Raboy, 2000; Loewus and Murthy, 1999). ساختار فضایی فیتیک اسید به جهت حضور شش گروه فسفات که دوازده بار منفی را حمل می کند، به شکل مؤثری می تواند با کاتیون ها، باندهای یگانه، دوگانه و یا سه گانه ایجاد کند (Reddy *et al.*, 1989). کمپلکس های تشکیل شده در pH فیزیولوژیکی نامحلول بوده و این مسئله مهم ترین دلیل عدم جذب مواد معدنی در روده است.

فیتاز از جمله آنزیم های پر کاربرد در صنایع می باشد. فیتازها^۱ زیر خانواده ای از فسفاتازها هستند که فیتیک اسید را به اجزا کوچکتر مونو، دی، تترا و پنتا فسفات تجزیه می کنند. همچنین این آنزیم ها با خنثی کردن اثر منفی فیتات بر پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره حیوانات تکمعه ای، میزان جذب فسفر را افزایش می دهند (Edward *et al.*, 2004; Xiong *et al.*, 2009; Vats *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2000). استفاده از فیتاز همچنین اشتها را تحریک می کند و رشد را به طور مستقیم از طریق بالابردن مصرف غذا افزایش می دهد (Hauler and Carter, 1997).

فیتازها به شکل طبیعی در گیاهان و میکروارگانیسم ها و بعضی از حیوانات یافت می شوند (Craxton *et al.*, 1997). گونه های مختلفی از میکروارگانیسم ها از جمله باکتری، مخمر و قارچ ها دارای توانایی تولید آنزیم فیتاز می باشند (Jorquera *et al.*, 2008; Nouredini and Dang, 2008; Rodehutsord and Pfeffer, 1995).

به طور کلی برای تأمین منبع فسفر جیره از مکمل های معدنی استفاده می شود. از جمله مطالعات صورت گرفته می توان به مطالعه بررسی اثر فیتاز در جیره حاوی پروتئین سویا (سطوح ۲۵ و ۳۳ درصد) بر مصرف غذا و میزان اشتها در آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) توسط هاولر و کارتر (Hauler and Carter, 1997) و اثرات جایگزینی تدریجی پودر ماهی با پودر سویا و مکمل آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم و ترکیبات عناصر لاشه فیل ماهی جوان (*Huso huso*) توسط اسدی و همکاران (Asadi *et al.*, 2011) و استفاده از شکل خالص فیتات به جای اجزای گیاهی و بررسی اثر فیتاز بر مصرف غذا، رشد و فعالیت تریپسین در قزل آلا ی رنگین کمان توسط صفری (Safari, 2008) اشاره نمود.

مطالعه حاضر با هدف بهره گیری از آنزیم سنتتیک فیتاز با نام تجاری SMIZYME PHYTASE جهت بررسی رشد، ترکیب لاشه ماهی قزل آلا ی رنگین کمان انجام شده است. اهمیت این آزمایش بهبود رشد ماهی با کاهش قیمت تمام شده جیره با سطح جایگزینی بیشتر پروتئین گیاهی سویا به عنوان اجزای ارزان قیمت جیره به همراه فیتاز تجاری می باشد.

2. Myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن $6/5 \pm 0/43$ گرم از منابع فروش خریداری شد. سپس ماهیان به سالن آکواریوم گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال داده شد. پس از اضافه کردن ماهی‌ها به مخازن و سازگار شدن آنها به محیط جدید (دو هفته)، ماهیان از مخزن نگهداری ماهی توسط تور دستی با احتیاط صید و پس از توزین، به هر مخزن ۱۵ قطعه ماهی در سه تکرار افزوده شد. هر مخزن یا آکواریوم به هواده مجهز و در طول آزمایش، تعویض آب و سیفون به صورت روزانه انجام گرفت.

جیره‌های آزمایشی (جدول ۱) با میزان پروتئین و انرژی یکسان که شامل ۶ تیمار با دو سطح ۲۰ و ۴۰ درصد آرد سویا که هر کدام از این دو سطح آرد سویا دارای سه سطح فیتاز با فعالیت فیتازی (صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم غذا) بوده است با استفاده از نرم‌افزار UFFDA فرموله شد و به ماهیان به میزان ۳٪ وزن بدن و با دفعات غذادهی ۳ بار در روز داده شد. فیتاز مورد استفاده با نام تجاری SMIXYME PT granular phytase از شرکت BELJING SMILE FEED SCI. TECH, CO., LTD. چین تهیه شد که دارای فعالیت فیتازی ۵۰۰۰ U/g (واحد در هر گرم) بود.

جدول ۱- ترکیبات مختلف تیمارهای غذایی و نتایج آنالیز تقریبی تیمارهای بررسی اثر سطوح مختلف فیتاز تجاری در دو سطح ۲۰ و ۴۰ درصد سویا جایگزین پودر ماهی جیره غذایی بر رشد و ترکیبات لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

اجزای جیره (درصد)	جیره ۲۰٪ سویا	جیره ۴۰٪ سویا
آرد سویا	۲۰	۴۰
گلوتن ذرت	۱۵	۱۵
آرد گندم	۱۰	۵
پودر ماهی	۴۳	۲۶
روغن ماهی	۴/۵	۵/۵
روغن سویا	۴/۵	۵/۵
مکمل‌های ویتامینی و معدنی	۳	۳
ترکیب جیره (درصد)		
پروتئین	۴۲/۷۵	۴۱/۱
چربی	۱۹/۳۳	۲۰/۰۶
خاکستر	۱۲	۱۰
رطوبت	۲/۵	۳/۴۹

فسفر	۱/۰۷	۰/۹۶
کلسیم	۰/۲۳	۰/۲۱
منیزیم	۰/۲۵۵	۰/۲۶

کیفیت آب شامل درجه حرارت، pH و اکسیژن محلول به صورت روزانه اندازه گیری شد. میزان سختی کل و هدایت الکتریکی (EC: Electerical conductivity) به صورت هفتگی اندازه گیری شد (Mohebbi *et al.*, 2013).

در پایان آزمایش، پس از ۲۴ ساعت گرسنگی بچه ماهیان موجود در هر تکرار بیهوش شده و به منظور سنجش شاخص های رشد طول و وزن آن ها برای محاسبه افزایش وزن (BWI)، ضریب رشد ویژه (SGR)، رشد روزانه (GR) ضریب تبدیل غذایی (FCR)، درصد بقا طبق رابطه های زیر اندازه گیری شد.

(Tacon, 1990) گرم وزن اولیه ماهی - گرم وزن نهایی ماهی = افزایش وزن بدن

[طول دوره آزمایش / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی - لگاریتم طبیعی نهایی ماهی)] = نرخ رشد ویژه (درصد در روز) × ۱۰۰ (Hevroy *et al.*, 2005).

(De Silva and Anderson, 1995) طول دوره آزمایش / گرم وزن اولیه ماهی - گرم وزن نهایی ماهی = رشد روزانه (گرم در روز)

(Hevroy *et al.*, 2005) افزایش وزن / مقدار غذای داده شده = ضریب تبدیل غذایی

(Ai and Xie, 2006) × ۱۰۰ (تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش - تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش) = درصد بقاء

برای نمونه برداری از لاشه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از کشتار تغذیه ماهیان قطع شد. از هر تکرار ۳ قطعه ماهی (هر تیمار ۹ ماهی) برای نمونه برداری به صورت تصادفی انتخاب و جهت بیهوش کردن در عصاره گل میخک (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) قرار گرفت (Safari, 2008). آنالیز ترکیبات لاشه و غذا به روش های زیر و طبق روش AOAC انجام شد (AOAC, 1995). پس از خارج کردن دستگاه گوارش ماهیان، لاشه آنها خرد و یکنواخت شده و برای اندازه گیری فسفر، کلسیم و منیزیم مورد استفاده قرار گرفت. رطوبت از طریق قراردادن نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت و توزین آن پس از خنک شدن در دسیکاتور انجام شد. اندازه گیری پروتئین با روش کلدال و چربی با روش سوکسله و حلال اتر صورت گرفت. خاکستر نمونه ها از طریق سوزاندن نمونه در کوره با دمای ۵۴۶ درجه سانتی گراد به مدت ۶ ساعت و توزین آن صورت پذیرفت. فسفر کل با استفاده از روش وانادیوم مولیبدات، کلسیم با استفاده از جذب فتومتری با دستگاه فلیم اتمی و منیزیم با استفاده از دستگاه جذب اتمیک اندازه گیری شد (AOAC, 1995).

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده ها در نرم افزار SPSS-17 (Inc, Chicago, IL, USA) با استفاده از آزمون های فاکتوریل (برای شاخص های رشد) و آزمون آنالیز واریانس

یکطرفه One-way Anova (برای فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵٪ صورت گرفت. نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند.

نتایج

نتایج مربوط به فراسنجه‌های فیزیکی شیمیایی آب در جدول ۲ نشان داده شده است. این فراسنجه‌ها در نمونه آب آکواریوم تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P>0.05$).

جدول ۲- ویژگی‌های کیفی آب در آکواریوم‌های بررسی اثر سطوح مختلف فیتاز تجاری در دو سطح ۲۰ و ۴۰ درصد سویا جایگزین پودر ماهی جیره غذایی بر رشد و ترکیبات لاشه قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

تیمارها	سختی کل (میلی‌گرم در لیتر)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	دما (°C)	pH	اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)	تناوب نوری (ساعت روشنایی: تاریکی)
سویا ۲۰٪ فیتاز تجاری ۲۰۰۰	۵۰۹±۲۶/۸۷	۰/۷۹۵±۰/۰۴	۱۵±۱	۷±۰/۲۵	۶±۰/۵	۱۲:۱۲
سویا ۴۰٪ فیتاز تجاری ۲۰۰۰	۴۷۹±۴۵/۸۲	۰/۷۴۸±۰/۰۷	۱۵±۱	۷±۰/۲۵ ^a	۶±۰/۵	۱۲:۱۲
سویا ۲۰٪ فیتاز تجاری ۱۰۰۰	۵۳۶/۶±۳۴/۰۱	۰/۸۳±۰/۰۵	۱۵±۱	۷±۰/۲۵ ^a	۶±۰/۵	۱۲:۱۲
سویا ۴۰٪ فیتاز تجاری ۱۰۰۰	۵۴۵±۳۶/۵	۰/۸۵±۰/۰۵	۱۵±۱	۷±۰/۲۵ ^a	۶±۰/۵	۱۲:۱۲
شاهد ۲۰٪ سویا	۵۲۸±۴۲/۵	۰/۸۲±۰/۰۶	۱۵±۱	۷±۰/۲۵ ^a	۶±۰/۵	۱۲:۱۲
شاهد ۴۰٪ سویا	۵۱۰/۳±۳/۷۸	۰/۷۹۷±۰/۰۵	۱۵±۱	۷±۰/۲۵ ^a	۶±۰/۵	۱۲:۱۲

ترکیب شیمیایی بدن ماهیان تغذیه‌شده از تیمارهای مختلف در جدول ۳ ارائه شده است. میزان رطوبت و ماده خشک بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0.05$) ولی کلیه تیمارها نسبت به ابتدای دوره اختلاف معنی‌داری نشان دادند ($P<0.05$). میزان پروتئین لاشه نیز با اضافه‌نمودن فیتاز تجاری به جیره با سطح جایگزینی ۴۰٪ سویا افزایش یافته است ($P<0.05$)، میزان چربی لاشه در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۲۰٪ سویا کمتر از لاشه ماهیان تغذیه‌شده از جیره ۴۰٪ سویا بوده است ($P<0.05$). همچنین اضافه‌نمودن فیتاز تجاری تا سطح ۲۰۰۰ واحد به جیره حاوی ۲۰٪ سویا افزایش معنی‌داری در میزان چربی لاشه نشان داد ($P<0.05$). در هر سطح از سویا افزودن ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد فیتاز توانست میزان پروتئین را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد ($P<0.05$). لاشه ماهیان

تغذیه شده با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا و ۲۰۰۰ واحد فیتاز تجاری بیشترین میزان پروتئین و چربی را داشته است ($P<0.05$).

جدول ۳- تجزیه لاشه ماهی قزل آلا رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده از تیمارهای مختلف بر اساس درصد از ماده خشک

فاکتور (درصد)	لاشه اول	سویا ۲۰٪ فیتاز تجاری ۲۰۰۰	سویا ۴۰٪ فیتاز تجاری ۲۰۰۰	سویا ۲۰٪ فیتاز تجاری ۱۰۰۰	سویا ۴۰٪ فیتاز تجاری ۱۰۰۰	شاهد ۲۰٪ سویا	شاهد ۴۰٪ سویا
رطوبت	۵۴/۸۹±۲/۵ ^a	۷۳/۲±۰/۶ ^b	۷۳/۱۵±۰/۷ ^a	۷۳/۵۴±۰/۲ ^b	۷۲/۹۳±۰/۳ ^b	۷۴/۹±۰/۳ ^b	۷۳/۴۸±۰/۱ ^b
ماده خشک	۴۵/۱۱±۲/۵ ^a	۲۶/۸±۰/۶ ^b	۲۶/۸۴±۰/۷ ^a	۲۶/۴۵±۰/۲ ^b	۲۷/۰۶±۰/۳ ^b	۲۵/۰۸±۰/۳ ^b	۲۶/۵۱±۰/۱ ^b
چربی	۴۵/۱۱±۲/۵ ^b	۳۰/۲۷±۰/۸ ^b	۳۰/۱±۰/۸ ^b	۲۶/۵۶±۲/۷ ^a	۳۱/۴±۰/۴ ^b	۲۶/۴۲±۰/۳ ^a	۳۰/۵۴±۰/۴ ^b
پروتئین	۵۳/۶±۰/۵ ^b	۷۱/۵±۰/۵ ^c	۶۰/۰۶±۱ ^d	۵۷/۱±۰/۷ ^c	۵۶/۶±۰/۱ ^c	۶۰/۵±۰/۳ ^d	۴۹±۰/۹ ^a
خاکستر	۶±۳ ^a	۹/۷±۰/۱ ^{bc}	۹/۴۸±۰/۴ ^{bc}	۱۲/۹۹±۱/۰ ^d	۹/۱۳±۱/۰ ^b	۱۱/۲±۰/۶ ^c	۸/۲۲±۰/۶ ^b
فسفر	۰/۸±۰/۰ ^b	۰/۹۹±۰/۰۵ ^c	۰/۹۶±۰/۰۰۳ ^d	۰/۹۴±۰/۰۰۵ ^c	۰/۹۶±۰/۰۰۱ ^d	۰/۹۹±۰/۰۰۵ ^c	۰/۷۲±۰/۰ ^a
کلسیم	۰/۲±۰/۰۰۶ ^a	۰/۲۴±۰/۰۰۷ ^c	۰/۲۳±۰/۰۰۵ ^c	۰/۲۴±۰/۰۰۵ ^c	۰/۲۴±۰/۰۰۴ ^c	۰/۲۳±۰/۰۰۷ ^c	۰/۲۱±۰/۰۰۵ ^b
منیزیم	۰/۱۳±۰/۰۰۵ ^a	۰/۱۴۹±۰/۰۰۴ ^c	۰/۱۴۹±۰/۰۰۴ ^c	۰/۱۶±۰/۰۰۵ ^d	۰/۱۴۰±۰/۰۰۳ ^b	۰/۱۴۹±۰/۰۰۴ ^c	۰/۱۳±۰/۰۰۵ ^a

*حروف متفاوت در هر سطر نشان گر وجود اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد ($P<0.05$).

با اضافه نمودن فیتاز تجاری به جیره شاهد حاوی ۴۰ درصد سویا، میزان فسفر لاشه بیشتر گردید ($P<0.05$). کلسیم و منیزیم نیز در تیمار شاهد با سطح جایگزینی ۴۰ درصد سویا نسبت به سایر تیمارها کمتر بوده است ($P<0.05$).

نتایج بررسی جیره های آزمایشی بر شاخص های رشد و تغذیه در جدول ۴ ارائه شده است. به طور کلی ماهیانی که با جیره با سطح جایگزینی ۲۰ درصد سویا و سطح فیتاز تجاری ۲۰۰۰ تغذیه شده بودند از درصد افزایش وزن، رشد روزانه بالاتری در مقایسه با سایر تیمارهای غذایی برخوردار بوده اند.

جدول ۴- مقایسه (میانگین $\pm$ انحراف معیار) شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*)

شاخص‌ها	سطوح فیتاز			P value		
	فیتاز صفر	فیتاز ۱۰۰۰	فیتاز ۲۰۰۰	سطوح سویا	سطوح فیتاز	سطوح سویا $\times$ سطوح فیتاز
درصد بقا	۹۷/۷۳ $\pm$ ۲/۲۵ ^{ab}	۱۰۰ $\pm$ ۰/۰ ^b	۹۹/۲۳ $\pm$ ۱/۳۲ ^b	۰/۰۲	۰/۴۰۵	۰/۱۰۷
	۹۶/۲۳ $\pm$ ۱/۲۷ ^a	۹۹/۲۳ $\pm$ ۱/۳۲ ^b	۹۹/۲۳ $\pm$ ۱/۳۲ ^b	۰/۰۴	۰/۰۰۰	۰/۲۶۳
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۲/۷۶ $\pm$ ۰/۱ ^a	۳/۲۴ $\pm$ ۰/۱۳ ^b	۳/۴۹ $\pm$ ۰/۰۵ ^b	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۴
	۲/۶۵ $\pm$ ۰/۳ ^a	۲/۷۳ $\pm$ ۰/۱۶ ^a	۳/۲۷ $\pm$ ۰/۳۲ ^b	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
رشد روزانه (گرم در روز)	۰/۴۶۳ $\pm$ ۰/۰۰۸ ^b	۰/۵۶۹ $\pm$ ۰/۰۲ ^c	۰/۶۵۴ $\pm$ ۰/۰۲ ^d	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
	۰/۴۰۴ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۴۵۲ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۰/۵۸۹ $\pm$ ۰/۰۱ ^c	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۲۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^c	۰/۸۳۲ $\pm$ ۰/۰۲ ^b	۰/۷۲۳ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
	۱/۱۷ $\pm$ ۰/۱ ^d	۱/۰۴ $\pm$ ۰/۰۲ ^c	۰/۸ $\pm$ ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
افزایش وزن	۲۵/۹۵ $\pm$ ۰/۴۷ ^b	۳۱/۸۶ $\pm$ ۱/۱۵ ^c	۳۶/۶ $\pm$ ۱/۴۷ ^d	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳
	۲۲/۶۵ $\pm$ ۲/۰ ^a	۲۵/۳۲ $\pm$ ۰/۷۱ ^b	۳۲/۹ $\pm$ ۰/۸۹ ^c	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۸۳

*حروف متفاوت در هر شاخص نشان گر وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد با افزایش میزان آنزیم فیتاز هم در سطح جایگزینی ۲۰٪ و هم ۴۰٪ سویا میزان وزن بدن افزایش نشان داد ($P<0.05$). میزان افزایش وزن بدن در تیمار شاهد با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا نسبت به ۴۰٪ افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$). هم‌چنین میزان افزایش وزن بدن بین سطوح مختلف فیتاز نیز اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$).

در نرخ رشد ویژه (SGR) بین تیمارهای شاهد (سطوح مختلف جایگزینی) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$). در سایر تیمارها نسبت به شاهد نرخ رشد ویژه بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$) و در تیمار با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا و ۲۰۰۰ واحد فیتاز نرخ رشد ویژه حداکثر بود.

رشد روزانه در تیمار با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا و ۲۰۰۰ واحد فیتاز بیشتر بوده ($P<0.05$) و کلیه تیمارها نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P<0.05$). رشد روزانه در تیمار شاهد با سطح جایگزینی ۴۰٪ نسبت به ۲۰٪ کمتر بود ($P<0.05$). به‌طور کلی رشد روزانه بین سطوح مختلف فیتاز و سطوح مختلف سویا معنی‌دار بود ($P<0.05$).

درصد بقا نیز در سطوح مختلف فیتاز اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$) ولی بین سطوح مختلف سویا اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0.05$). تیمار با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا و ۲۰۰۰ واحد فیتاز حداکثر رشد را در تمامی شاخص‌ها نشان داد ($P<0.05$) و میزان رشد ماهیان در تیمار با

سطح جایگزینی ۴۰٪ سویا و ۲۰۰۰ واحد فیتاز رشدی مشابه تیمار با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا و ۱۰۰۰ واحد فیتاز داشت ($P>0.05$). به‌طور کلی اضافه نمودن آنزیم فیتاز در سطوح مختلف جایگزینی میزان رشد بیشتری را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P<0.05$). همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف سویا و فیتاز در کلیه شاخص‌های رشد مورد بررسی در جدول ۴ معنی‌دار نبود ($P>0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با بررسی اثر دو سطح جایگزینی سویا و اضافه‌نمودن فیتاز تجاری به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص شد که با اضافه‌نمودن فیتاز تجاری می‌توان درصد جایگزینی سویا را به عنوان یک منبع پروتئینی گیاهی ارزان‌قیمت در جیره غذایی افزایش داد. جایگزینی سطح بالاتر به همراه ۲۰۰۰ واحد فیتاز تجاری تأثیر مثبتی بر بازماندگی، وزن، میزان چربی و میزان پروتئین بدن در پی داشته است. آنالیز جیره نشان داد در غذای تیمار شاهد با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا میزان فسفر بیشتر از غذای تیمار ۴۰٪ سویا بوده و با تغذیه ماهیان طی ۵۶ روز میزان فسفر لاشه در تیمار شاهد ۲۰٪ بیشتر از تیمار ۴۰٪ گردیده است. مطالعه حاضر نشان داد با اضافه نمودن فیتاز به جیره حاوی پروتئین گیاهی بیشتر (جیره شاهد با سطح جایگزینی ۴۰٪) میزان فسفر لاشه افزایش معنی‌داری نشان داد، ولی اضافه‌نمودن فیتاز به جیره حاوی پروتئین گیاهی کمتر (جیره شاهد با سطح جایگزینی ۲۰٪) اختلاف معنی‌داری نشان نداده و حتی در تیمار حاوی ۲۰٪ سویا و ۱۰۰۰ واحد فیتاز کاهش معنی‌داری را نشان داد. تفاوت ترکیب شیمیایی بدن یک گونه ماهی به عواملی از جمله تفاوت در سن، جنس، شرایط محیطی و حتی فصول مختلف سال بستگی دارد. اما بدون شک اختلاف اصلی در ترکیب شیمیایی ماهی را باید در ارتباط با غذای دریافتی با تغذیه ماهی و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه دانست (Razavi Shirazi, 2001).

در مطالعه حاضر نیز با در نظر گرفتن شرایط یکسان دوره پرورش برای همه تیمارها، نشان داده شد سطوح مختلف جایگزینی سویا و سطوح مختلف فیتاز تجاری عوامل مؤثر بر تغییرات ترکیب شیمیایی بدن می‌باشد. در پژوهشی که اثرات جایگزینی تدریجی پودر ماهی با پودر سویا و مکمل آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم و ترکیبات عناصر لاشه فیل‌ماهی جوان (*Huso huso*) (Asadi et al., 2011) را مورد مطالعه قرار داد، نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین و انرژی و همچنین کاهش میزان فسفر و کلسیم در لاشه فیل‌ماهیان جوان می‌شود. از طرف دیگر افزودن مکمل آنزیم فیتاز سبب بهبود قابلیت هضم پروتئین و افزایش میزان فسفر و کلسیم لاشه می‌شود. در این مطالعه نیز با اضافه نمودن فیتاز به جیره شاهد با سطح جایگزینی ۴۰٪ سویا میزان فسفر، کلسیم و

منیزیم لاشه افزایش معنی‌داری را نشان داده است. مطالعات انجام شده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Vielma *et al.*, 2004) و در ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Biswas *et al.*, 2007) نشان داد که جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا موجب کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین شد، اگرچه افزودن فیتاز تا سطح ۲۰۰۰ به‌طور معنی‌داری قابلیت هضم پروتئین را افزایش داد. در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد میزان پروتئین لاشه در تیمار حاوی سطوح بیشتر پودر ماهی یعنی با سطح جایگزینی ۲۰٪ سویا میزان پروتئین لاشه بیشتر بوده و در تیمار با سطح جایگزینی ۴۰٪ میزان پروتئین لاشه کمتر بوده و با اضافه‌نمودن فیتاز به این جیره درصد پروتئین لاشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. که این می‌تواند احتمالاً به علت اثر آنزیم فیتاز بوده که با خنثی نمودن اثر منفی فیتات بر پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره حیوانات تک‌معدده‌ای، در میزان جذب فسفر و پروتئین لاشه افزایش نشان داده است (Vats *et al.*, 2009; Xiong *et al.*, 2004).

گزارشات حاکی از آن است که جایگزینی با سطح ۳۴٪ آرد سویا بدون فیتاز در ماهی *Saddled Bream* عملکرد رشد پایین‌تری نشان داده است (Valter *et al.*, 2012; Rumsey *et al.*, 1994; Stickney *et al.*, 1996; Yoo *et al.*, 2005). در مطالعه حاضر نیز نشان داده شد در تیمار شاهد که بدون فیتاز بوده، شاخص‌های رشد از جمله افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و رشد روزانه نسبت به سایر تیمارها که حاوی فیتاز بوده کمتر بوده است. مطالعات انجام شده نشان داد که در هر دو ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) (Fontainhas-Fernandes *et al.*, 1999) و کپور ماهیان هندی (Rumsey *et al.*, 1994)، جایگزینی ۳۰ تا ۵۰ درصد پودر ماهی با پروتئین‌های گیاهی در رژیم غذایی گونه‌های ماهی باعث کاهش چشمگیر در تولید ماهی می‌گردد. مطالعه حاضر نشان داد جایگزینی ۴۰٪ سویا نسبت به ۲۰٪، میزان افزایش وزن بدن کاهش یافته اما استفاده از فیتاز تجاری با ۲۰۰۰ واحد، میزان رشد و تولید ماهی را افزایش داده است. مطالعه انجام شده نشان داد بین تیمار حاوی ۲۰ و ۴۰ درصد سویا در شاخص‌های افزایش وزن بدن و رشد روزانه اختلاف معنی‌داری وجود داشته، با توجه به اینکه جیره حاوی ۴۰٪ سویا میزان پروتئین گیاهی آن بیشتر بوده، به دنبال آن فسفر فیتاته آن هم بیشتر می‌باشد در این آزمایش اضافه نمودن فیتاز به جیره موجب تجزیه فیتیک‌اسید به اجزا کوچکتر مونو، دی، تترا و پنتا فسفات می‌شود که فسفر قابل دسترس را افزایش می‌دهد (Edward *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 1998).

در مطالعه‌ای سیدی نوقابی (Saidi Noghabi, 2014) با هدف بررسی و مقایسه اثرات آنزیم فیتاز تجاری ایرانی و خارجی (۵۰۰ و ۷۵۰ واحد در هر کیلوگرم جیره) بر عملکرد، صفات لاشه و فراسنجه‌های خون جوجه‌های گوشتی نشان داد که با افزایش سطح آنزیم فیتاز میزان مصرف خوراک در هر یک از دوره‌های پرورش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. از طرفی دیگر کاهش سطح فسفر جیره

در دوره پایانی (۴۵-۲۵ روز) پرورش، باعث کاهش معنی‌دار مصرف خوراک شد. وزن زنده جوجه‌ها با کاهش سطح فسفر جیره، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. استفاده از آنزیم باعث افزایش معنی‌دار میانگین افزایش وزن روزانه در طول دوره پرورش شد. همچنین در مطالعه دیگری با بررسی اثر مکمل سیتریک‌اسید و فیتاز بر رشد و ترکیب بدن ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشان دادند ضریب‌تبدیل غذایی (۲/۲۵)، سرعت رشد روزانه (۰/۷۷)، درصد اضافه وزن بدن (۵۴/۳٪) به‌طور معنی‌داری با مکمل فیتاز بهبود یافت (Shirmohamad *et al.*, 2003) که با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد.

مطالعه انجام شده روی آزاد ماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Hauler and Carter, 1997) نشان داد که فیتاز در جیره حاوی پروتئین سویا (سطوح ۲۵ و ۳۳ درصد) مصرف غذا را با افزایش اشتها افزایش داد و نهایتاً موجب رشد بیشتر گردید. مطالعه دیگری نشان داد استفاده از فیتاز منجر به افزایش میزان رشد در سالمون (Cain and Garling, 1995) و کپور معمولی (Schafer *et al.*, 1995) تغذیه شده از جیره‌های محدود، می‌شود. در این مطالعه نیز تغذیه ماهی با ۲۰۰۰ واحد فیتاز، میزان رشد ماهی افزایش یافت. در پژوهشی دیگر که به بررسی اثر فیتاز بر مصرف غذا، رشد و فعالیت تریپسین در قزل‌آلای رنگین‌کمان با بکارگیری شکل خالص فیتات به جای اجزای گیاهی پرداخته شد (Safari, 2008)، نشان داد فیتاز هیچ اثری بر مصرف غذا نداشت، اما به‌طور معنی‌داری رشد را در جیره‌های با یا بدون فیتات افزایش داد. برخی شواهد وجود دارد که نشان می‌دهد که فیتاز مصرف غذای ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی فسفر در زیر حد مطلوب و یا به میزان نیاز ماهی را افزایش می‌دهد (Mohebbi *et al.*, 2013).

به‌طور کلی اضافه‌نمودن فیتاز به جیره حاوی پروتئین گیاهی بیشتر اثر معنی‌دار بهتری نسبت به جیره حاوی پروتئین گیاهی کمتر نشان داده است. بنابراین باتوجه به این‌که به منابع پروتئینی گیاهی به‌عنوان نیاز ضروری در جهت توسعه مداوم آبی‌پروری به‌خاطر هزینه کم و در دسترس بودن آنها نگریسته می‌شود، پیشنهاد می‌گردد با افزایش سطح جایگزینی سویا به ۴۰٪ و به دنبال آن کاهش پودر ماهی به‌عنوان اجزای گران‌قیمت جیره و اضافه‌نمودن فیتاز با نام تجاری SMIZYME PHYTASE به جیره، غذای با قیمت پایین‌تر تولید خواهد شد.

منابع

- Ai Q.H., Xie X.J. 2006. Effects of dietary soybean protein levels on metabolic response of the southern catfish, *Silurus meridionalis*. Comparative Biochemistry and Physiology, 144: 41-47.

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists. 16th edition. AOAC, Inc., Arlington, Virginia, USA.
- Asadi R., Imanipour M.R., Asghari M., Enayat gholampour T. 2011. The gradual replacement of fishmeal with soybean powder and supplemental phytase on the digestibility and carcass composition of young beluga (*Huso huso*), Iranian Veterinary Journal, 1: 5-14. (In Persian).
- Biswas A.K., Seoka M., Takii K., Kumai H. 2007. Comparison of apparent digestibility coefficient among replicates and different stocking density in red sea bream *Pagrus major*. Fisheries Science, 73(1): 19-26.
- Cain K.D., Garling D.L. 1995. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. The Progressive Fish-Culturist, 57: 114-119.
- Craxton A., Caffrey J.J., Burkhart W., Safrany S.T., Shears S.B. 1997. Molecular cloning and expression of a rat hepatic multiple inositol polyphosphate phosphatase. Biochemical Journal, 328: 75-81.
- De Silva S.S., Anderson T.A. 1995. Fish Nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, London, United Kingdom. 319 P.
- Edward J., Mullaney Catherine B., Daly A.H.J. 2000. Advances in phytase research. Advances in Applied Microbiology, 47: 157-199.
- Esfandiari M. 2011. Effects of phytase and alternative sources of vegetable protein (Pvdrsvya and corn gluten) instead of fish meal on growth, survival, carcass quality and blood biochemical parameters Kutum (*Rutilus frisii kutum*). M.Sc. Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran. (In Persian).
- Fontainhas-Fernandes A., Gomes E., Reis-Henriques M.A., Coimbra J. 1999. Replacement of fish meal by plant protein in the diet of *Nile tilapia*: digestibility and growth performance. Aquaculture International, 7: 57-67.
- Graf E. 1999. Applications of phytic acid. Journal of the American Oil Chemists' Society, 60: 1861-1867.
- Hardy R.W., Tacon A.G.J. 2002. Fish meal—historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. In: Stickney RR, McVey JP (Eds.). Sustainable Aquaculture. CABI Publishing Co, Oxford, United Kingdom, pp: 311-325.
- Hauler R.C., Carter C.G. 1997. Phytase stimulates appetite in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr fed soybean meal. Proceedings of the Nutrition Society of Australia, 21: 139-145.
- Hevroy E.M., Espe M., Waagbo R., Sandnes K., Ruud M., Hemre G.I. 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11: 301-313.

- Hossain MA, Jauncey K. 1991. The effects of varying dietary phytic acid, calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp (*Cyprinus carpio*). In: Kaushik SJ, Luquet P (Eds.). Fish Nutrition in Practice (Les colloques, no. 61). Institute National de la Recherche Agronomique (INRA), Paris, France. pp: 705-715.
- Jorquera M., Martinez O., Maruyama F., Marschiner P., Mora M.D.L.L. 2008. Current and future biotechnology applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes and Environments*, 23: 182-191.
- Liu B.L., Rafiq A., Tzeng Y.M., Rob A. 1998. The induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme and Microbial Technology*, 22: 415-424.
- Loewus F.A., Murthy P.P.N. 2000. Myo-inositol metabolism in plants. *Plant Science*, 150: 1-19.
- Mabahinzireki G.B., Dabrowski K., Lee K.J., El-Saidy D., 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.
- Mittal A., Singh G., Goyal V., Yadav A., Rai Aneja K., KumarGautam S. 2011. Isolation and biochemical characterization of acido-thermophilic extracellular phytase producing bacterial strain for potential application in poultry feed. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 4(4): 273-282.
- Mohebbi A., Nematollahi A., Gholamhoseini A., Tahmasebi-Kohyani A., Keyvanshokoo S. 2013. Effects of dietary nucleotides on the antioxidant status and serum lipids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 19: 506-514.
- Noureddini H., Dang J. 2008. Degradation of phytase in Distiller's grains and gluten feed by *Aspergillus niger* phytase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 8: 362-5.
- Raboy V. 2003. Myo-Inositol -1, 2, 3, 4, 5, 6-hexakisphosphate. *Phytochemistry*, 64: 1033-1043.
- Razavi Shirazi H. 2001. Marine Technology Products. Mehr publisher, Tehran, Iran. 292 P. (In Persian).
- Reddy N.R., Pierson M.D., Sathe S.K., Salunkhe D.K. 1989. Phytates in Cereals and Legumes. Boca Raton, Handbook of Natural Toxins: Food Poisoning. CRC Press, Incorporation. Boca Raton, Florida, USA. 160 P.
- Rodehutscord M., Pfeffer E. 1995. Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Science & Technology*, 31: 143-147.
- Rumsey G.L., Siwicki A.K., Anderson D.P., Bowser P.R. 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth and protein utilization in rainbow trout. *Veterinary Immunopathology*, 41: 323-339.

- Safari O. 2008. Study of effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Research and Constructiveness, 79: 27-35. (In Persian).
- Saidi Noghabi k. 2014. Evaluate Iran's trade and foreign phytase on performance, carcass traits and blood metabolites of broiler chickens. M.Sc. thesis, Ferdowsi University, Mashhad, Iran. (In Persian).
- Schafer A., Koppe W., 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 Science & Technology, 31: 149-155.
- Shirmohamad F., Pourreza J., Mahboobi N. 2003. Effect of Supplemental citric acid and phytase on growth performance and body composition of common carp. Iran Agricultural Research, 22: 138-152. (In Persian).
- Stickney R.R., Hardy R.W., Koch K., Harrold R., Seawright D., Massee K.C. 1996. The effects of substituting selected oil seed protein concentrates for fish meal in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* diets. Journal of the World Aquaculture Society, 27: 57-63.
- Storcksdieck S., Bonsmann G., Hurrell R.F. 2007. Iron-binding properties, amino acid composition, and structure of muscle tissue peptides from in vitro digestion of different meat sources. Journal of Food Science, 72: 19-29.
- Tacon A.G. 1990. Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Nutrients Sources and Composition. Argent Laboratories Press, Washington, USA. 129 P.
- Torres J., Dominguez S., Cerda M.F. 2005. Solution behavior of myo-inositol hexakisphosphate in the presence of multivalent cations. Prediction of a neutral pentamagnesium species under cytosolic/nuclear conditions. Journal of Inorganic Biochemistry, 99: 828-840.
- Valter K., Antolović M., Bolotin J. 2012. Effects of Partial Replacement of Fish Meal by Soybean Meal on Growth of Juvenile Saddled Bream (*Sparidae*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 12: 247-252.
- Vats P., Bhushan B., Banerjee U.C. 2009. Studies on the dephosphorylation of phytic acid in livestock feed using phytase from *Aspergillus niger* van Teighem. Bioresource Technology, 100: 287-291.
- Vielma J., Ruohonen K., Gabaudan J., Vogel K. 2004. Top spraying soybean mealbased diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 35: 955-964.
- Wu G.B., Shi X.G. 2011. Phytase application in feed of channel catfish and tilapia. Feed Industry, 32: 47-50.
- Xiong A.S., Yao Q.H., Peng R.H., Li X., Fan H.Q., Guo M.J., Zhang S.L. 2004. Isolation, Characterization, and Molecular Cloning of the cDNA Encoding a

- Novel Phytase from *Aspergillus niger* 113 and High Expression in *Pichia pastoris*. Journal Biochemistry and Molecular Biology, 37: 282-291.
- Yoo G.Y., Wang X., Choi S., Han K., Kang J.C., Bai S.C. 2005. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal. Aquaculture, 243: 315-322.

