



اثر جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف کنجاله سویا و مولتی آنزیم کمین بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و باکتری‌های

اسیدلاکتیک روده فیل ماهیان جوان (*Huso huso* (Linnaeus, 1758)

مهدی سهراب‌نژاد^۱، محمد سوداگر^{۲*}، محمدرضا قمی^۳، محمد مازندرانی^۲

^۱ دانش‌آموخته دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۲ دانشیار، گروه تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۳ دانشیار، گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

چکیده

در مطالعه حاضر، تأثیر جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و باکتری‌های اسید لاکتیک روده فیل ماهی (*H. huso*) جوان مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان با ۹ جیره (۴۰٪ پروتئین خام) که در آن سطح جایگزینی کنجاله سویا با آرد ماهی ۰٪ (کنترل)، ۴۰٪ و ۸۰٪ سطح مولتی آنزیم افزوده شده ۰، ۰/۰۱ و ۰/۰۲٪ بود، به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. افزودن پودر سویا در جیره منجر به کاهش رشد گردید به طوری که ماهیان در تیمار با سطح جایگزینی ۸۰٪ کنجاله سویا با آرد ماهی دارای کم‌ترین وزن نهایی و بالاترین ضریب تبدیل غذایی بودند، در تیمارهای بدون کنجاله سویا غلظت بالاتر آنزیم (۲ گرم در کیلوگرم) منجر به متوسط وزن نهایی بالاتر و ضریب تبدیل بهتری گردید. نتیجه مشابه زمانی که کنجاله سویا به میزان ۴۰٪ جایگزین پودر ماهی شد، ایجاد گردید که نشان‌دهنده تأثیر مثبت آنزیم در سطح بالاتر بر عملکرد رشد بوده است. با این وجود، تفاوت بین وزن نهایی ماهیان در جیره‌های مختلف با یکدیگر معنی‌دار نبود. ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های افزوده شده با ۰ و ۴۰ درصد پودر سویا حاوی ۲ گرم در کیلوگرم آنزیم دارای بیشترین درصد پروتئین لاشه بوده‌اند. مقدار چربی لاشه ماهیان بین ۱۱/۰۸ درصد تا ۱۱/۷۴ درصد بوده و تفاوت بین تیمارها مشاهده گردید. پروفیل اسیدهای چرب لاشه تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار گرفت. ماهیان تغذیه‌شده با جیره کنترل و تیمارهای حاوی آنزیم (بدون افزودن سویا) و همچنین تیمارهای شماره ۴ و ۵ (حاوی ۰ و ۱ گرم در کیلوگرم آنزیم و ۴۰٪ سویا) دارای بیشترین میزان اسیدهای چرب امگا-۳ و ایکوزاپنتانویک اسید بود. جیره حاوی ۸۰٪ سویا بدون افزودن آنزیم دارای کم‌ترین میزان اسیدهای چرب امگا-۳، اکوزا پنتانویک اسید و دکوزا هگزانویک اسید بود. جیره‌های آزمایشی سبب افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس، لاکتوباسیلوس کارواتوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، پدیکوکوس پنتاساٹوس، مجموع باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی شد. بالاترین مقدار باکتری‌های بادشده در تیمار حاوی ۸۰٪ پودر سویا جایگزین پودر ماهی و ۲ گرم آنزیم در کیلوگرم اتفاق افتاد. نتیجه این مطالعه نشان داد که کنجاله سویا به همراه مکمل آنزیمی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم می‌تواند تا ۴۰٪ جایگزین پودر ماهی در جیره غذایی فیل ماهیان پرورشی گردد.

واژه‌های کلیدی:

H. huso، کنجاله سویا، عملکرد رشد، اسیدهای چرب، باکتری‌های اسیدلاکتیک روده

نوع مقاله:

پژوهشی اصیل

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۸/۱۹

پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۰

نویسنده مسئول مکاتبه:

محمد سوداگر، دانشیار، گروه تکثیر و پرورش آبزیان
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
گرگان، ایران.

ایمیل: sudagar_m@yahoo.com

۱ | مقدمه

امروزه اولویت فعالیت‌های آبی پروری خصوصاً در گونه‌های باارزش اقتصادی بالا مستلزم جایگزینی پودر ماهی با ترکیبات جایگزین ارزان‌تر از جمله پروتئین‌های گیاهی در جیره غذایی است. موفقیت در این امر موجب پایداری صنعت آبی‌پروری خواهد شد (Gatlin *et al.*, 2007; Castillo and Gatlin, 2015). جایگزینی پودر ماهی با منابع پروتئینی جایگزین یکی از راه‌های کاهش قیمت غذا و بهینه‌سازی

آبی‌پروری پایدار و اقتصادی بوده و موضوع تحقیقات برای حداقل ۳ دهه را به خود اختصاص داد (Ogunkoya *et al.*, 2006). رایج‌ترین جایگزین برای پودر ماهی، پروتئین‌های گیاهی بوده که در سطح منطقه‌ای و فرمانطقه‌ای قابل دسترسی می‌باشد (Mazurkiewicz *et al.*, 2009). فرانسیسکو و همکاران (Francesco *et al.*, 2004) گزارش نمودند که جایگزینی درصدی از پودر ماهی با منابع پروتئینی

آبزیان از جمله استرلت (Ustaoglu and Rennert, 2002)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Heikkinen et al., 2006)، سیم دریایی سیاه (Zhou et al., 2011)، فلاندر ژاپنی (Ye et al., 2011)، تیلایپا (Lin and Li, 2011)، اسپر رز خالدار (Silva-Carrillo et al., 2012) و کپور گیل (Shi et al., 2016) نیز گزارش گردیده است.

فیل‌ماهی یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی ماهیان خاویاری در ایران است. تولید مؤثر و اقتصادی فیل‌ماهی که متضمن حفظ سلامت نیز باشد مستلزم تأمین مواد مغذی ضروری در کنار توجه به کاهش هزینه خوراک از طریق کاربرد پروتئین‌های ارزان قیمت گیاهی خصوصاً کنجاله سویا می‌باشد. از این‌رو جهت تأمین مطمئن و اقتصادی فیل‌ماهی، فرمولاسیون جیره‌های موجود با استفاده از کنجاله سویا و مکمل‌های آنزیمی جهت برطرف نمودن اثرات نامطلوب پروتئین‌های گیاهی ضروریست. در این مطالعه، تأثیر جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، تغییرات هیستوپاتولوژیک و باکتری‌های اسید لاکتیک روده فیل‌ماهیان مورد بررسی قرار گرفت.

۲ | مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۹ جیره ایزونیتر ونوس (۴۰٪ پروتئین خام) و ایزو فت (۱۳٪ چربی) و همچنین ایزو انرژتیک (۴۱۵۰ کیلوکالری در کیلوگرم) که در آن سطح جایگزینی کنجاله سویا با آرد ماهی ۰٪، ۴۰٪ و ۸۰٪ و سطح مولتی آنزیم افزوده شده ۰، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ بود، با استفاده از نرم‌افزار UFFDA تنظیم گردید (جدول ۱). بعد از ترکیب مواد اولیه پرمقدار با یکدیگر مکمل معدنی و ویتامینه (سیانس)، متیونین (دگوسا)، لیزین (پی‌تی شلدانگ) و کولین (شاندانگ) ضد قارچ و آنتی-اکسیدان (نوتری ادد)، بایندر (زرین بایندر)، دی‌کلسیم فسفات (پوپا صدف) به‌صورت پرمیکس به داخل میکسر اضافه و پلت‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر با استفاده از دستگاه پلت زن (شرکت گرما الکتریک، آمل، ایران) ساخته شد. پلت‌های تولید شده بعد از عبور از غربال و حذف خرده و خاکه، کیسه‌گیری شدند و در دمای محیط تا زمان مصرف نگهداری شدند (Sohrabnezhad et al., 2017).

از تعداد ۱۳۵ قطعه فیل‌ماهی ۱۵ ماهه (۸۲/۰۲±۲۳/۶ گرم) شرکت آبی گستران ساعی، ساری) استفاده شد. از تعداد ۱۴ تانک پرورشی پلی‌اتیلنی به ابعاد ۱/۸×۲ و حجم مفید ۱/۲ مترمکعب و دبی آب ورودی ۵ لیتر در دقیقه که با قاب توری (اندازه چشمه ۲۰ میلی‌متر) به دو قسمت تقسیم شده بودند، استفاده شد. ماهیان به تراکم ۵ قطعه در هر تکرار درون تانک‌های پرورشی قرار داده‌شده و در دوره آدپتاسیون به‌مدت ۱۰ روز با جیره تجاری کوپنز (۴۶٪ پروتئین و ۱۵٪ چربی) روزی دو وعده تغذیه شدند. بعد از دوره آدپتاسیون، تغذیه با جیره‌های آزمایشی به‌مدت ۱۲ هفته و به‌صورت دستی ۴ بار در شبانه‌روز (ساعت‌های ۶-۱۲-۱۸-۲۴) به میزان ۱٪ وزن بدن تغذیه شدند (Sohrabnezhad et al., 2017). در کل دوره پرورش، میزان پی‌اچ آب حدود ۷/۶، دما ۲۱-۱۷ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول بیش‌تر از ۶ میلی‌گرم در لیتر و دوره نوری به‌صورت ۱۲ ساعت

گیاهی می‌تواند به لحاظ تغذیه‌ای مورد قبول ماهی واقع شود و از این‌رو در حال حاضر در بسیاری از جیره‌های تجاری ماهی تا ۳۰٪ جایگزینی پودر ماهی با پروتئین گیاهی صورت می‌گیرد. تحت این شرایط، ماهیان دارای عملکرد مناسب رشد بوده و تأثیر حداقل بر متابولیسم گونه‌های ماهی داشته است.

در بین مواد گیاهی، سویا (گلایسین ماکس، لینه اوس) دارای قابلیت خوبی جهت جایگزینی با پودر ماهی است. کیفیت مرغوب پروتئین سویا آن را بر سایر مواد پروتئینی گیاهی ممتاز کرده است به نحوی که به‌عنوان بارزترین منبع پروتئین با منشأ گیاهی محسوب می‌گردد (Silva-Carrillo et al., 2012). با این وجود، وجود مواد ضد تغذیه‌ای مثل بازدارنده‌های پروتئاز، فیتاز و پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در پروتئین‌های گیاهی (Francis et al., 2001) و کمبود برخی اسیدهای آمینه ضروری که در نهایت هضم و جذب را به تأخیر انداخته و پتانسیل آن در جایگزینی با پودر ماهی را کم می‌کند (Lee, 2002). در کنجاله سویا نیز مهارکننده‌های تریپسین و لکتین‌ها سبب آسیب سطوح جذبی در دستگاه گوارش و کاهش هضم مواد مغذی می‌گردد و از سویی دیگر دستگاه گوارش تکامل نیافته بچه-ماهیان قادر به استفاده بهینه از پروتئین ذخیره شده در سویا (مانند گلیسینین و بتانگلیسینین) نیست.

نتیجه برخی مطالعات نشان داد که افزودن آنزیم به شکل مکمل علاوه بر تجزیه بخش عمده‌ای از مولکول‌های بزرگ پروتئین ذخیره‌ای به بخش‌های کوچک‌تر و قابل جذب، می‌تواند به خنثی کردن اثرات منفی عوامل ضد مغذی کمک نماید. از این‌رو، طی سال‌های اخیر مطالعات زیادی به امکان استفاده از پروتئین گیاهی در گونه‌های مختلف ماهی پرداخته و در کنار آن تأثیر آنزیم‌های خارجی به‌عنوان افزودنی غذایی جهت بهبود قابلیت هضم پروتئین‌های گیاهی از جمله پروتئین سویا بررسی گردید (Qinghui et al., 2007; Farhangi and Carter, 2007; Yildirim and Turan, 2010). قمی و همکاران (Ghomi et al., 2012) اثر مولتی آنزیم کمین را جیره فیل‌ماهی مورد بررسی قرار دادند. بهترین ضریب رشد ویژه و کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی در سطح ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ثبت شد. کالکوسکی و همکاران (Kolkovski et al., 1993) اثر استفاده از مولتی آنزیم حاوی پروتئاز و آمیلاز را در ماهی سی‌بریم (*Sparus aurata*) در جیره‌های میکروکپسوله مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که افزودن این مولتی آنزیم، موجب افزایش دو برابری وزن در یک دوره ۲۲ روزه شد که ۶۰٪ بالاتر از گروه شاهد صفر بود. یعقوبی و همکاران (Yaghoubi et al., 2016) تأثیر جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا و پروتئین ایزوله سویا در بچه‌ماهیان پورجی نقره‌ای-سیاه (*Sparidentex hasta*) را مورد بررسی قرار دادند. با افزایش پودر سویا مصرف خوراک، عملکرد رشد و قابلیت هضم مواد خام، چربی و پروتئین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. حداکثر جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در تغذیه بچه‌ماهیان این گونه بین ۱۶/۵ و ۲۷/۳ درصد برآورد گردید. تأثیر جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در جیره غذایی گونه‌های دیگر

ساعت تعیین شد (AOAC, 1990).

اسیدها به روش ترانس‌متیلاسیون مستقیم با واسطه اسیدی (direct acid-catalyzed transmethylation) با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Agilent 7890 با دتکتور FID و ستون Agilent J&W DB-225MS (طول ۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت ۰/۲۵ میکرون استفاده شد (Miquel and Brwose, 1992). ۵۰ میلی‌گرم نمونه با ۱ میلی‌لیتر محلول تازه تهیه شده اسید سولفوریک ۲/۵٪ (در متانول، ۷/۷) هم زده شده و مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد گرما داده و در دمای اتاق سرد شد. ۵۰۰ میکرولیتر پنتان به مخلوط فوق اضافه و بعد از آن ۵/۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۹٪ کلرید سدیم اضافه شد تا متیل استرهای اسیدهای چرب استخراج گردد. اسیدهای چرب برحسب میلی‌گرم در گرم متیل‌استر اسیدهای چرب ارائه شد (Miquel and Brwose, 1992).

روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. در تانک‌های پرورشی ماهیان هر چهار هفته وزن می‌شدند تا بیوماس ماهی در هر تانک مشخص گردد. در انتهای دوره پرورش، ماهیان را از تانک‌ها خارج نموده و توسط پودر گل میخک به مقدار ۰/۸ گرم در لیتر (Hallajian et al., 2011) بی‌هوش شدند. وزن هر ماهی با استفاده از ترازوی دیجیتالی (دقت ۰/۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. عملکرد رشد ماهیان از طریق اندازه‌گیری وزن نهایی و ضریب تبدیل غذایی تعیین گردید. آنالیز شیمیایی جیره‌های غذایی و گوشت ماهی به روش استاندارد (AOAC, 1990) انجام شد. پروتئین به روش کج‌دال (نیتروژن $\times 6/25$) با استفاده از دستگاه کج‌دال اتوماتیک اندازه‌گیری شد. چربی به روش استخراج اتر (بدون هیدرولیز اسیدی) با استفاده از سوکسله اندازه گرفته شد. رطوبت با حرارت‌دهی در داخل آون با دمای 103 ± 2 درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. خاکستر با حرارت‌دهی ۵ گرم نمونه در کوره الکتریکی با حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۲

جدول ۱- ترکیب عناصر و آنالیز شیمیایی جیره‌های آزمایشی بررسی جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه و باکتری‌های اسید لاکتیک روده فیل ماهی (*H. huso*) جوان

جیره های آزمایشی									
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	اقلام مصرفی(٪)
۵۰	۵۰	۵۰	۳۰	۳۰	۳۰	۱۰	۱۰	۱۰	پودر ماهی
۰	۰	۰	۲۰	۲۰	۲۰	۴۰	۴۰	۴۰	آرد سویا
۲/۵۱	۲/۵۱	۲/۵۱	۱۲/۱۶	۱۲/۱۶	۱۲/۱۶	۲۲/۰۳	۲۲/۰۳	۲۲/۰۳	گلو تن گندم
۲۴/۹۳	۲۴/۹۳	۲۴/۹۳	۱۵/۱۳	۱۵/۱۳	۱۵/۱۳	۳/۹	۳/۹	۳/۹	آرد گندم
۴/۱۴	۴/۱۴	۴/۱۴	۴/۶۷	۴/۶۷	۴/۶۷	۵/۳۵	۵/۳۵	۵/۳۵	روغن سویا
۴/۱۴	۴/۱۴	۴/۱۴	۴/۶۷	۴/۶۷	۴/۶۷	۵/۳۵	۵/۳۵	۵/۳۵	روغن ماهی
۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	ملاس
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	مکمل معدنی
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	مکمل ویتامینه
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	دی کلسیم فسفات
۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	آنتی اکسیدان
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	ضد قارچ
۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۹۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	فیلر
۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	بایندر
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	متیونین
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	لیزین
۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	کولین کلراید
۰	۰/۱	۰/۲	۰	۰/۱	۰/۲	۰	۰/۱	۰/۲	مولتی آنزیم کمین
۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	پروتئین(٪)
۱۳/۲۷	۱۳/۲۷	۱۳/۲۷	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	چربی(٪)
۱۸/۵	۱۸/۵	۱۸/۵	۱۹/۹۳	۱۹/۹۳	۱۹/۹۳	۲۰/۳۶	۲۰/۳۶	۲۰/۳۶	کربو هیدرات(٪)
۴۱۵۰	۴۱۵۰	۴۱۵۰	۴۱۷۴	۴۱۷۴	۴۱۷۴	۴۱۷۹	۴۱۷۹	۴۱۷۹	انرژی کل (کیلوکالری/کیلوگرم)

گردید به‌طوری‌که ماهیان تیمار ۹ بیشترین چربی را در لاشه داشته‌اند. افزودن پودر سویا و مکمل آنزیمی به جیره تأثیری بر مقدار رطوبت (بین ۶۴/۸۱٪ تا ۶۶/۱۱٪) و خاکستر (بین ۲/۰۹٪ تا ۲/۲۱٪) نداشته است.

ماهیان تغذیه‌شده با تیمارهای کنترل و تیمارهای حاوی ۱ و ۲ درصد آنزیم و همچنین تیمارهای شماره ۴ و ۵ دارای بیشترین میزان اسیدهای چرب ۳-امگا و ایکوزاپنتانوئیک اسید بودند. تیمارهای ۱، ۳ و ۴ دارای بیشترین مقدار اسید چرب دیکوزاهگزانوئیک اسید در مقایسه با سایر تیمارهای بوده‌اند. با افزودن آنزیم در سطوح ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم یعنی تیمارهای ۸ و ۹ سطوح اسیدهای چرب ۳-امگا، ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید افزایش اندکی یافته، ولی با این وجود مقادیرشان کمتر از تیمارهای حاوی مقادیر کمتر سویا (۰ و ۴۰ درصد) بوده است. در جیره حاوی ۴۰٪ سویا، مقادیر اسیدهای چرب اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید، دوکوزاهگزانوئیک اسید، اسیدهای چرب چند غیراشباع و مجموع اسیدهای چرب ۳-امگا با افزایش غلظت آنزیم از ۱ به ۲ گرم در کیلوگرم کاهش یافت. در ماهیان تغذیه‌شده با سطح جایگزینی ۸۰٪ پودر ماهی مقدار لینولئیک اسید بالاتری در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با پودر ماهی وجود داشت (جدول ۴).

تغییرات مربوط به باکتری‌های اسیدلاکتیک روده فیل‌ماهیان در پاسخ به جایگزینی پودر سویا با پودر ماهی در دو سطح ۴۰ و ۸۰ درصد بعد از ۱۲ هفته تغذیه در جدول ۵ نشان داده شده است. افزودن پودر سویا به جیره در هر دو سطح ۴۰ و ۸۰ درصد جایگزینی سبب افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های لاکتوکوکوس (*Lactococcus lactis*) شد ($p \leq 0.05$).

افزودن پودر سویا در سطح جایگزینی ۴۰٪ پودر ماهی به جیره سبب افزایش معنی‌دار تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus curvatus*) گردید ($p \leq 0.05$). بالاترین مقدار باکتری‌های *Lactococcus lactis* در ماهیان تغذیه‌شده با جیره غذایی شماره ۹ مشاهده گردید، ولی تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارهای حاوی پودر سویا (جیره‌های ۴ تا ۸) نداشت ($p > 0.05$).

تعداد باکتری‌های *Pediococcus pentosaceus* و *Lactobacillus plantarum* نیز با افزایش درصد پودر سویا در جیره روند افزایشی داشته است. مجموع باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی نیز در پاسخ به جیره غذایی تحت تأثیر قرار گرفتند به‌طوری‌که با افزودن آنزیم در دو سطح ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم به جیره‌های فاقد پودر سویا (جیره‌های ۲ و ۳) تأثیری بر تعداد باکتری‌ها در مقایسه با گروه کنترل نداشت ($p > 0.05$). برعکس افزودن پودر سویا به جیره جدای از غلظت آنزیم، سبب افزایش این دسته از باکتری‌ها شد.

جهت شناسایی باکتری‌های اسیدلاکتیک، ۴۸ ساعت بعد از صرف آخرین وعده غذایی، ۲ قطعه ماهی از هر واحد آزمایشی با پودر گل میخک به مقدار ۰/۸ گرم در لیتر بی‌هوش و بعد ضدعفونی کردن قسمت شکمی با الکل ۷۰٪، روده جداسازی شده و مخاط و مواد داخل آن با آب استریل شسته و با اضافه نمودن سرم فیزیولوژی ابتدا سوسپانسیون هموژنی از آن تهیه شده و سپس رقت‌های سریالی تهیه گردید. جهت شمارش کلی باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری و بی‌هوازی اجباری از محیط کشت تریپتیک سوی آگار استفاده شد. برای کشت و شمارش باکتری‌های لاکتیکی، از محیط ام.آراس و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۴۸ ساعت و جهت فراهم آوردن شرایط میکرو آتروفیلیک از جار بی‌هوازی و گازپک نوع C استفاده شد. پس از پایان انکوباسیون کلونی‌های رشد کرده براساس رنگ، شفافیت، اندازه و ظاهر مورد ارزیابی قرار گرفتند و تعداد کلونی‌ها در هر گرم روده محاسبه شد (Esmaili et al., 2010).

در این تحقیق برای ۹ تیمار آزمایشی، ۳ تکرار و در مجموع ۲۷ واحد آزمایش وجود داشته که داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل ۳×۳ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. داده‌ها با استفاده از روش General Linear Model (GLM) و آزمون فاکتوریل ۲ فاکتوره ۳×۳ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 در سطح ۰/۰۵ ≤ p، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

۳ | نتایج

عملکرد رشد فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی در جدول ۲ نشان داده شده است. ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی به‌طور معمول از رشد کمتری برخوردار بوده به‌طوری‌که ماهیان در تیمار شماره ۹ (جیره حاوی ۸۰٪ پودر سویا و ۲ گرم در کیلوگرم مکمل آنزیمی) دارای کم‌ترین وزن نهایی بوده‌اند (۱۰۲۸ گرم). در جیره‌های شماره ۱، ۲ و ۳ بدون پودر سویا در شرایطی که غلظت آنزیم بالاتر بود (۲ گرم در کیلوگرم)، متوسط وزن نهایی بالاتر بوده است. این حالت زمانی که پودر سویا به میزان ۴۰٪ جایگزین پودر ماهی شد نیز مشاهده گردید ضریب تبدیل غذایی بین ۱/۷۳ تا ۲/۷۹ بوده است. بالاترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه‌شده با جیره شماره ۹ (جیره حاوی ۸۰٪ پودر سویا و ۲ گرم در کیلوگرم مکمل آنزیمی) مشاهده گردید ($p \leq 0.05$). در جیره‌های فاقد پودر سویا، افزایش غلظت آنزیم منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی گردید (جیره شماره ۳). بازماندگی ماهیان بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد بوده است.

تأثیر تغذیه با جیره‌های مختلف حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی بر ترکیب شیمیایی لاشه در جدول ۳ نشان داده شده است. ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های شماره ۳ و ۶ دارای بیشترین درصد پروتئین لاشه بوده‌اند (به ترتیب ۲۰/۰۸ و ۱۹/۷۶ درصد). مقدار چربی لاشه ماهیان بین ۱۱/۰۸٪ تا ۱۱/۷۴٪ بوده و تفاوت بین تیمارها مشاهده

جدول ۲- رشد و راندمان غذایی فیل ماهی (*H. huso*) جوان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی به مدت ۱۲ هفته

جیره های آزمایشی								
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
وزن اولیه	87.0 ± 1.4^b	81.2 ± 1.7	81.5 ± 1.7^b	84.2 ± 4.2	80.4 ± 1.1	90.2 ± 3.1	71.4 ± 3	79.2 ± 1.7
وزن نهایی	101.3 ± 1.5^a	102.0 ± 1.2^a	104.15 ± 1.28^a	103.2 ± 1.11^a	103.8 ± 1.7^a	104.7 ± 3.57^a	103.3 ± 9.6^{ab}	102.8 ± 2.3^b
ضریب تبدیل غذایی	2.4 ± 0.3^b	2.16 ± 0.5^a	1.89 ± 0.2^b	1.73 ± 0.2^b	2.06 ± 0.1^a	1.81 ± 0.1^b	2.22 ± 0.3^{ab}	2.79 ± 0.4^a

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است ($p < 0.05$).جدول ۳- ترکیب شیمیایی (درصد) لاشه فیل ماهی (*H. huso*) جوان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی به مدت ۱۲ هفته

جیره های آزمایشی								
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
پروتئین	18.6 ± 0.16^{cd}	19.2 ± 0.26^b	20.8 ± 0.23^a	18.96 ± 0.4^{bc}	17.76 ± 0.6^c	19.76 ± 0.6^a	19.01 ± 0.14^{bc}	18.43 ± 0.5^d
چربی	11.66 ± 0.7^{abc}	11.34 ± 0.1^{cd}	11.08 ± 0.7^d	11.40 ± 0.4^{bcd}	11.71 ± 0.13^{ab}	11.39 ± 0.4^{cd}	11.29 ± 0.6^d	11.74 ± 0.1
رطوبت	65.58 ± 0.48	65.46 ± 0.41	65.12 ± 0.01	64.81 ± 0.73	66.11 ± 0.99	65.62 ± 0.48	65.50 ± 0.55	65.52 ± 0.3
خاکستر	2.09 ± 0.8	2.16 ± 0.07	2.21 ± 0.02	2.16 ± 0.01	2.18 ± 0.03	2.11 ± 0.09	2.13 ± 0.07	2.14 ± 0.02

حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی است ($p < 0.05$).جدول ۴- پروفیل اسیدهای چرب (میلی گرم در گرم متیل استر اسیدهای چرب) لاشه فیل ماهی (*H. huso*) جوان تغذیه شده با جیره‌های مختلف حاوی پودر سویا و مکمل آنزیمی

جیره های آزمایشی								
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
اسید های چرب								
مریستیک اسید (C14:0)	1/36	1/74	1/25	1/08	1/71	1/26	1/80	1/40
مریستولئیک اسید (C14:1n-5)	1/57	1/52	1/25	0/68	5/21	0/22	0/25	0/18
پالمیتیک اسید (C16:0)	15/32	16/72	17/60	17/15	16/39	16/94	17/31	16/61
پالمیتولئیک اسید (C16:1n-7)	2/71	3/13	2/51	2/36	2/65	2/96	3/02	2/83
استئاریک اسید (C18:0)	3/85	3/45	4/55	4/60	3/75	6/75	5/04	4/54
واکسنیک اسید (C18:1n-7)	31/76	32/66	31/18	29/16	29/70	32/14	32/22	33/76
اولئیک اسید (C18:1n-9)	2/73	2/72	2/91	2/66	2/74	3/52	2/87	3/00
لینولئیک اسید (C18:2n-6Cis)	17/01	17/33	15/59	14/42	16/36	13/13	18/21	18/37
لینولئیک اسید (C13:3n-3)	2/76	3/02	2/30	2/35	2/55	1/75	2/63	2/92
آراشیدیک اسید (C20:0)	0/23	0/04	0/10	0/11	0/09	0/17	0/09	0/11
ایکوزنئوئیک اسید (C20:1n-9)	1/28	1/08	1/13	1/14	1/16	1/62	1/13	1/12
ایکوزا دی انوئیک اسید (C20:2n-6)	0/56	0/47	0/60	0/85	0/43	1/13	1/00	0/64
آراشیدونئیک اسید (C20:4n-6)	1/20	1/03	1/56	1/70	0/79	1/97	1/78	1/46
ایکوزا ترینوئیک اسید (C20:3n-3)	0/14	0/23	0/13	0/16	0/11	0/09	0/13	0/23
ایکوزاپنتانوئیک اسید (C20:5n-3)	3/52	3/25	3/62	3/99	3/39	2/29	2/07	3/22
دوکوزانوئیک اسید (C22:0)	2/40	1/38	0/83	1/11	2/98	1/01	0/31	0/35
دوکوزاهگزانوئیک اسید (C20:6n-3)	11/04	9/54	11/17	11/93	9/88	9/46	8/80	8/60
مجموع اسید های چرب اشباع	23/16	23/33	24/33	24/05	24/92	26/13	24/55	23/01
مجموع اسید های چرب تک غیر اشباع	40/05	40/61	39/61	36/00	41/46	40/46	39/49	40/89
مجموع اسید های چرب چند غیر اشباع	26/23	34/87	34/97	34/40	33/51	29/82	33/62	35/44
مجموع اسید های چرب امگا-۳	17/46	16/04	17/22	18/43	15/93	13/59	11/63	14/97
مجموع اسید های چرب امگا-۶	18/77	18/83	17/75	16/97	17/58	16/23	20/99	20/47
اسید های چرب امگا-۳/اسیدهای چرب امگا-۶	0/93	0/85	0/97	1/08	0/90	0/83	0/55	0/73

جدول ۵- تغییر جوامع میکروبی روده (واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم) فیل ماهی (*H. huso*) جوان در پاسخ به جایگزینی پودر سویا با پودر ماهی بعد از ۱۲ هفته تغذیه

جیره های آزمایشی								
۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
$5/19 \pm 0/11$	$5/23 \pm 0/12$	$5/37 \pm 0/04$	$5/87 \pm 0/10$	$5/88 \pm 0/06$	$5/87 \pm 0/09$	$5/93 \pm 0/04$	$5/88 \pm 0/00$	$5/91 \pm 0/01$
لاکتوکوکوس لاکتیس (<i>Lactococcus lactis</i>)								
$5/64 \pm 0/04$	$5/63 \pm 0/09$	$5/65 \pm 0/13$	$6/93 \pm 0/01$	$6/87 \pm 0/00$	$6/90 \pm 0/01$	$7/23 \pm 0/06$	$6/88 \pm 0/06$	$7/40 \pm 0/11$
لاکتوباسیلوس کارواتوس (<i>Lactobacillus curvatus</i>)								
$5/64 \pm 0/20$	$5/74 \pm 0/00$	$5/96 \pm 0/01$	$5/94 \pm 0/03$	$5/88 \pm 0/04$	$5/84 \pm 0/03$	$5/82 \pm 0/04$	$5/83 \pm 0/06$	$5/86 \pm 0/04$
پدیکوکوکوس پنتاسائوس (<i>Pediococcus pentosaceus</i>)								
$5/69 \pm 0/05$	$5/73 \pm 0/02$	$5/72 \pm 0/08$	$6/84 \pm 0/03$	$6/88 \pm 0/00$	$6/81 \pm 0/06$	$6/97 \pm 0/15$	$6/85 \pm 0/02$	$7/01 \pm 0/14$
لاکتوباسیلوس پلانتاروم (<i>Lactobacillus plantarum</i>)								
$6/44 \pm 0/83$	$6/38 \pm 0/02$	$6/56 \pm 0/08$	$7/90 \pm 0/70$	$7/89 \pm 0/03$	$7/43 \pm 0/66$	$8/21 \pm 0/18$	$8/31 \pm 0/13$	$8/52 \pm 0/02$
$6/85 \pm 0/10$	$6/79 \pm 0/25$	$6/88 \pm 0/13$	$8/29 \pm 0/27$	$8/48 \pm 0/04$	$8/33 \pm 0/09$	$8/44 \pm 0/11$	$8/79 \pm 0/10$	$8/89 \pm 0/04$
مجموع باکتری‌های هوازی								
مجموع باکتری‌های بی‌هوازی								

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، با افزودن آنزیم به میزان ۲ گرم در کیلوگرم به جیره حاوی ۴۰٪ پودر سویا رشد بهبود یافت. افزایش بیشتر کنجاله سویا تا ۸۰٪ جایگزین پودر ماهی سبب کاهش رشد و وزن نهایی شد. کاهش مصرف غذا یکی از دلایل کاهش رشد در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی پروتئین گیاهی از جمله پروتئین سویا (Espe et al., 2006) گزارش شده است. با این وجود در برخی مطالعات، افزودن پودر سویا به جیره سبب کاهش مصرف غذا نشد (Lin and Li, 2011; Gomes et al., 1993). کاهش رشد و وزن نهایی در تغذیه با پودر سویا به دلایلی چون وجود عوامل ضد تغذیه‌ای، قابلیت هضم کم پروتئین، کمبود اسیدهای آمینه ضروری مانند میتیونین و تغییر در خوش‌خوراکی جیره به دلیل کاهش درصد پودر ماهی نسبت داده شده است (Zhou et al., 2012; Silva-Carrillo et al., 2011). فعالیت آنزیم‌های هضمی به‌عنوان شاخص در پیش‌بینی مصرف غذا و تفاوت رشد در ماهیان پیشنهاد گردید (Rungruangsak-Torrissen, 2001). استفاده از پودر سویا در جیره با تأثیر بر کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و روده و هپاتوپانکراس، سبب کاهش ضریب رشد ویژه و افزایش ضریب تبدیل غذایی در گونه‌هایی چون سالمون اقیانوس اطلس و تیلپیا گردید (Lin and Li, 2011; Krogdahl et al., 2003). این کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز به‌وجود عوامل ضد تغذیه‌ای در پودر سویا نسبت داده شد (Pavasovic et al., 2004). در تغذیه آبزیان، مقدار جایگزینی با پودر سویا بسیار حائز اهمیت است. در ماهی تیلپیا، لین و لی (Lin and Li, 2011) نشان دادند که رابطه معکوسی بین سطوح پودر سویا و رشد وجود داشته است به‌طوری‌که جایگزینی کامل پودر ماهی با پودر سویا (سطح ۳۰۰ گرم در کیلوگرم) در جیره غذایی تیلپیا سبب کاهش عملکرد رشد شد، ولی وقتی درصد جایگزینی برابر یا کمتر از ۷۵٪ بود تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد. در ماهی اسنپر خال‌رزی (*Lutjanus guttatus*)، افزودن پودر سویا تا ۲۰٪ پودر ماهی تغییری در وزن نهایی در مقایسه با گروه کنترل ایجاد

نکرد (Silva-Carrillo et al., 2012). لین و همکاران (Lim et al., 2011) گزارش نمودند که حداقل ۳۰٪ پودر ماهی در جیره غذایی ماهی بادکنکی ببری (*Takifugu rubripes*) می‌تواند با پودر سویا جایگزین شود ولی مقادیر بیشتر (۴۵ و ۶۰ درصد) تأثیر نامطلوب بر عملکرد رشد و راندمان غذایی داشت. به‌طور کلی، تفاوت در میزان جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا و مقدار اپتیمم پودر سویا در جیره به عواملی چون گونه، سن، ترکیب جیره غذایی، استراتژی تغذیه‌ای و مقدار عوامل ضد تغذیه‌ای بستگی دارد (Lin and Li, 2011).

در مطالعه حاضر، در جیره‌های فاقد پودر سویا یعنی جیره‌های شماره ۱، ۲، ۳ افزایش غلظت آنزیم منجر به بهبود ضریب تبدیل غذایی شد. وضعیت مشابه در جیره‌های ۴، ۵ و ۶ که کنجاله سویا ۴۰٪ جایگزین پودر ماهی شده بود نیز مشاهده شد به‌طوری‌که ضریب تبدیل غذایی در جیره شماره ۶ پایین‌تر از مقدار آن در جیره شماره ۵ بود. نتایج مشابه توسط شای و همکاران (Shi et al., 2016) نیز گزارش شد به‌طوری‌که بچه‌ماهیان کپور گیل (*Carassius auratus*) که با دو نوع جیره حاوی مقادیر زیاد و کم پودر ماهی و سه سطح آنزیم‌خارجی تغذیه شدند، آنزیم در مقادیر ۱۵۰ و ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره با مقدار کم پودر ماهی سبب افزایش وزن گرفته‌شده و کاهش ضریب تبدیل غذایی در مقایسه با گروه کنترل گردید. همچنین افزودن ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم پروتئاز خارجی در جیره غذایی تیلپیا به‌طور معنی‌داری منجر به بهبود رشد و ضریب تبدیل غذایی گردید (Li et al., 2015). دریو و همکاران (Drew et al., 2005) در قزل‌آلای رنگین‌کمان و کارتر و همکاران (Carter et al., 1994) در سالمون اطلس نیز نتایج مشابهی گزارش نمودند. به‌طوری‌که استفاده از آنزیم در جیره‌های با درصد کم پودر ماهی سبب افزایش عملکرد رشد و بهبود راندمان غذایی شد. نتایج پیشنهاد نمود که کاهش مقدار پودر ماهی در جیره می‌تواند از طریق افزودن پروتئاز خارجی جبران گردد و دلیل آن نیز این است که فعالیت بالای آنزیمی مکمل‌های پروتئاز سبب

سبب افزایش قابلیت استفاده از پروتئین سویا در ماهی می‌گردد (Shi et al., 2016). با این وجود، افزودن بیشتر پودر سویا به جیره فیل‌ماهیان در مطالعه حاضر تا ۸۰٪ جایگزین پودر ماهی سبب کاهش عملکرد آنزیم و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد به‌طوری‌که جیره شماره ۹ دارای بالاترین ضریب تبدیل غذایی (۲/۷۹) در بین تمامی تیمارها بود. لیمینوکس و همکاران (Lemieux et al., 1999) بیان کردند که پروتئین سویا به‌طور معمول دارای بازدارنده‌های پروتئاز می‌باشد که غالباً از نوع بازدارنده تریپسین بوده و تریپسین خود شاخص نرخ رشد، راندمان غذایی و ظرفیت هضمی است. زمانی که بازدارنده پروتئاز با آنزیم اتصال برقرار می‌نماید، پانکراس آنزیم بیشتری جهت غلبه بر بازدارنده و افزایش هضم پروتئین ترشح می‌نماید (Haard et al., 1996). چون پانکراس مهم‌ترین غده ترشحی در ماهی است، هیپرتروفی و هیپرپلازی پانکراس منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌هایی مانند پروتئاز، آمیلاز و لیپاز گردیده که این کاهش فعالیت در نهایت منجر به کاهش رشد و راندمان غذایی خواهد شد (Xu et al., 2009). نتایج مشابه در تاس‌ماهی‌های آمور نیز مشاهده شد (Xu et al., 2012) به‌طوری‌که وقتی درصد جایگزینی پودر سویا ۷۵٪ یا بیشتر بود، ضریب تبدیل غذایی و رشد در مقایسه با گروه کنترل و یا ماهیان تغذیه‌شده با سطوح جایگزینی کمتر سویا در جیره (بین ۲۵ تا ۶۲/۵ درصد) به‌دلیل کاهش قابلیت هضم خوراک کاهش معنی‌دار یافت. از طرفی در سطوح بالای پودر سویا در جیره (۷۵٪ سطح جایگزینی با پودر ماهی)، به‌دلیل حضور مقادیر بالای عوامل ضد تغذیه‌ای و وجود بازدارنده‌های آلفا-آمیلاز، منجر به کاهش ترشح آنزیم به‌دلیل پاسخ سازشی فیزیولوژیک به کیفیت پایین پودر سویا و عوامل ضد تغذیه‌ای جیره خواهد شد که نهایتاً تأثیر منفی بر راندمان غذایی و افزایش ضریب تبدیل غذایی خواهد گذاشت (Cabrera-Orozco et al., 2013; Yaghoubi et al., 2016) که با بالاترین ضریب تبدیل غذایی (۲/۷۹) در جیره حاوی ۸۰٪ سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در تغذیه فیل‌ماهی یعنی تیمار شماره ۹ در این مطالعه مطابقت دارد. ضریب تبدیل غذایی بالا در این تیمار بیانگر نامناسب بودن جیره برای کاربرد در تغذیه فیل‌ماهی می‌باشد.

مقدار چربی گوشت فیل‌ماهی تحت تأثیر جیره‌های غذایی قرار گرفت. ماهیان تغذیه شده با ۸۰٪ سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا دارای بالاترین میزان چربی در گوشت بودند. نتیجه مشابه توسط یعقوبی و همکاران (Yaghoubi et al., 2016) در تغذیه بچه‌ماهیان پورجی نقره‌ای-سیاه (*Sparidentex hasta*) با جیره حاوی ۷۵٪ سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا گزارش گردید. افزایش چربی گوشت ماهی در تغذیه با مقادیر بالای پودر سویا در جیره ممکن است به‌دلیل هیپرلیپیدمیا در این گروه از ماهیان باشد که سبب افزایش ذخیره چربی کبدی گردیده و منجر به افزایش شاخص هپاتوسوماتیک خواهد شد (Yaghoubi et al., 2016). افزودن پودر سویا و مکمل آنزیمی به جیره تأثیری بر مقدار رطوبت و خاکستر لاشه ماهیان نداشته است. در گوشت فیل‌ماهیان، اسیدهای چرب تک‌غیراشباع بیشترین مقدار اسیدهای چرب را به‌خود اختصاص داده و بعد از آن اسیدهای چرب

چند غیراشباع و اسیدهای چرب اشباع قرار داشته‌اند. این الگوی اسیدهای چرب در گوشت سایر گونه‌های ماهیان خاویاری از جمله تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) در مطالعه بادپانی و همکاران (Badiani et al., 1997)، هیبرید بین تاس‌ماهی ناکاری و تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser naccarii* × *Acipenser baerii*) به‌وسیله واکارو و همکاران (Vaccaro et al., 2005) و هیبرید تاس‌ماهی سبیری با تاس‌ماهی سبز (*Acipenser medirostris* × *Acipenser baerii*) توسط جانکوسکا و همکاران (Jankowska et al., 2005) نیز گزارش شد. در رابطه با اسیدهای چرب گوشت فیل‌ماهی، افزودن پودر سویا تا ۸۰٪ جایگزین پودر ماهی و بدون افزودن آنزیم خارجی (تیمار شماره ۷) بر میزان اسیدهای چرب امگا-۳ گوشت بسیار مخرب بوده است. به‌طوری‌که منجر به کمترین میزان اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک اسید، دوکوزاهگزانویک اسید و اسیدهای چرب امگا-۳ و بالاترین مقدار اسیدهای چرب امگا-۶ (۲۰/۹۹٪ از کل اسیدهای چرب) در گوشت ماهیان شد. نتایج مشابه در تغذیه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره حاوی پروتئین گیاهی گزارش شد به‌طوری‌که مقدار اسیدهای چرب امگا-۶ در قزل‌آلای تغذیه شده با پروتئین گیاهی (۹/۹۲٪ از کل اسیدهای چرب) به‌طور معنی‌داری بالاتر از ماهیان تغذیه‌شده با پودر ماهی (۳/۴۶٪ از کل اسیدهای چرب) بود (Francesco et al., 2004). در مطالعه حاضر، نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ گوشت فیل‌ماهی تحت‌تأثیر پودر سویا قرار گرفت به‌طوری‌که در جیره‌های با ۸۰٪ جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا این نسبت بین ۵۵/۰ تا ۷۳/۰ بوده که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل (۹۳/۰) نشان می‌دهد. ترکیب اسیدهای چرب جیره غذایی بر ترکیب این اسیدها در گوشت ماهی تأثیر می‌گذارد (Sargent et al., 2002). ماهیانی که از جیره‌های حاوی پروتئین گیاهی از جمله پروتئین سویا استفاده می‌کنند درصد اسیدهای چرب امگا-۶ و به‌خصوص اسیدچرب لینولئیک اسید گوشت در آنها بالاتر بوده است. در ماهیان تغذیه‌شده با سطح جایگزینی ۸۰٪ پودر ماهی مقدار لینولئیک اسید بالاتری (۲۰/۱۸ تا ۳۷/۱۸ درصد از کل اسیدهای چرب) در مقایسه با ماهیان تغذیه‌شده با پودر ماهی (۰/۱۷ درصد از کل اسیدهای چرب) وجود داشت. این نتیجه با نتایج به‌دست آمده توسط فرانسسکو و همکاران (Francesco et al., 2004) در تغذیه قزل‌آلا با جیره‌های حاوی پروتئین گیاهی مطابقت دارد. تأثیر ترکیبات جیره غذایی بر جمعیت میکروبی روده مهم است چرا که روده یکی از مهم‌ترین مسیرهای بروز بیماری در ماهی است (Ringø et al., 2004). برخی مطالعات نشان دادند که جمعیت میکروبی روده ماهیان در برابر تغییر در ترکیب جیره‌غذایی آسیب‌پذیر است (Mazurkiewicz et al., 2009). در فلور باکتریایی روده آبزیان، برخی از باکتری‌ها جزء فلور دائم دستگاه گوارش ماهی و سایر آبزیان بوده و برخی نیز جزء فلور گذرا می‌باشند. به‌طور معمول، باکتری‌های جزء فلور دائم، در شرایط نامناسب محیطی و تغذیه‌ای از روده جدا خواهند شد. البته هر چند که ممکن است جمعیت این نوع باکتری‌ها کاهش یابد، ولی به‌لحاظ کلونیزه شده در پرزهای روده همیشه وجود خواهند داشت. در خصوص باکتری‌های لاکتیک برخی از

mazandarani@gmail.com

محمد مازندرانی:

REFERENCES

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC. Vol.1, 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Badiani A., Stipa S., Nanni N., Gatta P.P., Manfredini M. 1997. Physical indices, processing yields, compositional parameters and fatty acid profile of three species of cultured sturgeon (Genus *Acipenser*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 257-264.
- Cabrera-Orozco A., Jiménez-Martínez C. Dávila-Ortiz G. 2013. Soybean: Non-Nutritional Factors and Their Biological Functionality. In: El-Shemy HA (Eds.). *Soybean Bio Active Compounds*, Intech Open Access Publisher, pp: 387-410.
- Carter C.G., Houlihan D.F., Buchanan B., Mitchell A.I. 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed a diet containing supplementary enzymes. *Journal of Aquaculture and Fisheries Management*, 25: 37-46.
- Castillo S., Gatlin D.M. 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrate enzymes in fish nutrition: A review. *Journal of Aquaculture*, 435: 286-292.
- Drew M.D., Racz V.J., Gauthier R., Thiessen D.L. 2005. Effect of adding protease to coextruded flax: pea or canola: pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 119: 117-128.
- Esmaili P., Mozaffari N., Masoleh A. 2010. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Journal of Biological Science*, 3: 13-18.
- Espe M., Lemme A., Petri A., El-Mowafi A. 2006. Can Atlantic salmon grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture*, 255: 255-262.
- Farhangi M., Carter C.G. 2007. Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*(Walbaum). *Journal of Aquaculture Research*, 38: 1274-1282.
- Francesco M., Parisi G., Medale F., Lupi P., Kaushik S.J., Poli B.M. 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture*, 236: 413-429.
- Francis G., Makkar H.P.S., Becker K. 2001. Anti-nutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Journal of Aquaculture*, 199: 197-227.
- Gatlin D.M., Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G.S., Kroghdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R., Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aqua feeds, a review. *Aqua-*
- منابع از آنها به‌عنوان فلور دائم و اکثر منابع نیز از آنها به‌عنوان فلور گذرا یاد می‌کنند (Refstie *et al.*, 2006). این باکتری‌ها به‌همراه سایر باکتری‌ها در ارتباط مستقیم با مواد غذایی دریافتی و ترکیبات آن قرار می‌گیرند (Merrifield *et al.*, 2011). پودر سویا دارای پروفایل مختلفی از اسیدهای آمینه بوده که منبع مناسبی برای باکتری‌های گروه لاکتیک خواهد بود. چون باکتری‌های اسیدلاکتیک جزء باکتری‌های پرنیاز بوده از این‌رو به لحاظ فراهم بودن شرایط مذکور بر جمعیت آنها افزوده شده و به نوعی جزء باکتری‌های غالب بوده و به لحاظ تولید متابولیت‌های مختلف نظیر باکتریوسین‌ها و اسیدهای آلی، در رقابت غذایی با سایر باکتری‌ها موفق‌تر عمل کرده و با مهیا شدن شرایط، در پرزهای روده جایگزین یا کلونیزه می‌شوند. مطالعات نشان داده که باکتری‌های اسیدلاکتیک و همچنین متابولیت‌های آنها از جمله باکتریوسین‌ها نقش مهمی در عملکرد هضمی میزبان، مقاومت لایه مخاطی، ایمنی و مقاومت به بیماری‌ها بازی می‌کنند (Merrifield *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر بدون در نظر گرفتن غلظت آنزیم، افزودن پودر سویا به جیره غذایی فیل ماهیان در هر دو سطح جایگزینی ۴۰ و ۸۰ درصد با پودر ماهی سبب افزایش تعداد باکتری‌های *Pediococcus* *Lactococcus lactis*، *Lactococcus lactis*، *pentosaceus* و *Lactobacillus plantarum* شد. از سوی دیگر، آنزیم‌های خارجی به شکل مکمل با تجزیه اجزای جیره سبب تبدیل آن به ترکیبات ساده‌تر شده که قابل استفاده برای باکتری‌های گروه لاکتیک و سایر باکتری‌هایی که قدرت آنزیمی بالا را دارا باشند، می‌باشد (Merrifield *et al.*, 2011). بالاترین تعداد این باکتری‌ها در روده مربوط به ماهیان تغذیه‌شده با ۸۰٪ پودر سویا جایگزین پودر ماهی و ۲ گرم آنزیم در کیلوگرم یعنی تیمار ۹ اتفاق افتاد.
- نتایج مطالعه حاضر در مجموع نشان داد که کنجاله سویا به‌همراه مکمل آنزیمی در سطح ۲ گرم در کیلوگرم می‌تواند تا ۴۰٪ جایگزین پودر ماهی در جیره غذایی فیل ماهیان پرورشی گردد. از این‌رو، در فرمولاسیون خوراک مخصوص فیل ماهی بر پایه پودر ماهی، امکان جایگزینی آن تا ۴۰٪ با پودر سویا در جیره برای تولیدکنندگان به‌شرط استفاده از مکمل آنزیمی وجود خواهد داشت.

۵ | تشکر و قدردانی

نگارنده صمیمانه از مدیر عامل و پرسنل محترم شرکت آبزی گستران ساعی جهت تأمین ماهی و فضای پرورشی، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری جهت انجام آنالیز اسیدهای چرب و مهندس صفری کارشناس محترم میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر کمال تشکر و امتنان را دارد.

پست الکترونیک نویسندگان

msohrabnezhad@yahoo.com

مهدی سهراب‌نژاد:

sudagar_m@yahoo.com

محمد سوداگر:

mrghomi@gmail.com

محمد رضا قمی:

- culture Research, 38: 551-579.
- Ghomi M.R., Shahriyari R., Faghani Langroudi H., Nikoo M., Von Elert E. 2012. Effects of exogenous dietary enzyme on growth, body composition, and fatty acid profiles of cultured great sturgeon *Huso huso* fingerlings. Journal of International Aquaculture, 20: 249-254.
- Gomes E.F., Corraze G., Kaushik S.J. 1993. Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (rapeseed and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture, 113: 339-353.
- Haard N.F., Dimes L.E., Arndt R.E., Dong F.M. 1996. Estimation of protein digestibility. IV. Digestive proteinases from the pyloric caeca of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets containing soybean meal. Journal of Comparative Biochemistry and Physiology B, 115(4): 533-540.
- Hallajian A., Kazemi R., Yosefi Jourdehi A. 2011. Effect of clove (*Caryophyllium aromaticus*) powder on anesthesia and recovery of farmed 4 years Beluga (*Huso huso*). Journal of Fisheries, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 5: 133-141. (In Persian).
- Heikkinen J., Vielma J., Kemilainen O., Tirola M., Eskelinen P., Kiuru T., Navia-paldanius D., Wright A.V. 2006. Effect of soybean meal based diet on growth performance, gut histology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture, 261: 259-268.
- Jankowska B., Kolman R., Szczepkowski M., Zmijewski T. 2005. Production value, chemical composition and color of fillets of the reciprocal hybrid of Siberian sturgeon with green sturgeon (*Acipenser baerii* Br×*Acipenser medirostris* Ayres). Journal of Animal Science, 50: 220-225.
- Kolkovski S., Tandler A., Kissil G. W., Gerteler A. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*,) larvae. Journal of Fish Physiology and Biochemistry, 12: 203-209.
- Kroghdahl A., Bakke-McKellep A.M., Baeverfjord G. 2003. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Journal of Aquaculture Nutrition, 9: 361-371.
- Lee S.M. 2002. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower roach fish (*Sebastess chlegeli*). Journal of Aquaculture, 207: 79-95.
- Lemieux H., Blier P.U., Dutil J.D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). Journal of Fish Physiology and Biochemistry, 20: 293-303.
- Li X.Q., Chai X.Q., Liu D.Y., Chowdhury M.A.K., Leng X.J. 2015. Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture Nutrition, 22(6): 1283-1292.
- Lim S.J., Kim S.S., Ko G.Y., Song J.W., Oh D.H., Kim J.D., Kim J.U., Lee K.J. 2011. Fish meal replacement by soybean meal in diets for Tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Journal of Aquaculture, 313: 165-170.
- Lin S., Li L. 2011. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Journal of Animal Feed Science and Technology, 168: 80-87.
- Mazurkiewicz J., Przybyl A., Golski J. 2009. Usability of some plant protein ingredients in the diets of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brannndt. Archives of Polish Fisheries, 17:45-52.
- Merrifield D.L., Olsen R.E., Myklebust R., Ringø E. 2011. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and micro biota of fish. In: El-Shemy HA (Eds.). Soybean Bio Active Compounds, Intech Open Access Publisher, pp: 232-250.
- Miquel M., Browse J. 1992. Arabidopsis mutants deficient in polyunsaturated fatty acid synthesis. The Journal of Biological Chemistry, 267: 1502-1509.
- Ogunkoya A.E., Page G.I., Adewolu M.A., Bureau D.P. 2006. Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of fecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture, 254: 466-475.
- Pavasovic M., Richardson N.A., Anderson A.J., Mann D., Mather P.B. 2004. Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. Journal of Aquaculture, 242: 641-654.
- Qinghui A., Kangsen M., Wenbing Z., Wei X., Beiping T., Chunxiao Z., Huitao L. 2007. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicas*. Journal of Comparative Biochemistry and Physiology, 147: 502-508.
- Refstie S., Landsverk T., Ringø E., Sundby A., Shearer K.D., Kroghdahl Å. 2006. Digestive responses of 1- and 2-year-old Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed standard or bioprocessed soybean meal. Aquaculture, 261: 269-284.
- Ringø E., Jutfelt F., Kanapathipillai P., Bakken Y., Sundell K., Glette J., Mayhew T.M., Myklebust R., Olsen R.E. 2004. Damaging effect of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* on intestinal enterocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Cell and Tissue Research, 318: 305-311.
- Rungruangsak-Torrissen K. 2001. Important parameters for growth study. In: The 2nd International Symposium on Cultivation of Salmon II, Bergen, Norway, pp: 7-10.
- Sargent J.R., Tocher D.R., Bell G.J. 2002. The lipids. In: Halver JE, Hardy R (Eds.). Fish Nutrition, 3rd Edition, Academic Press, San Diego, CA, USA, pp: 181-257.
- Shi Z., Li X.Q., Kabir Chowdhuryb M.A., Chen J.N., Leng

- X.J. 2016. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. Journal of Aquaculture, 460: 37-44.
- Silva-Carrillo Y., Hernández C., Hardy R.W., González-Rodríguez B. Castillo-Vargasmachuca S. 2012. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Journal of Aquaculture, 364: 180-185.
- Sohrabnezhad M., Sudagar M., Mazandarani M. 2017. Effect of dietary soybean meal and multienzyme on intestine histology of beluga sturgeon (*Huso huso*). International Aquatic Research, 9: 271-280.
- Ustaoglu S., Rennert B. 2002. The apparent nutrient digestibility of diets containing fish meal or isolated soy protein in sterlet (*Acipenser ruthenus*). International Reviews in Hydrobiology, 87: 577-584.
- Vaccaro A.M., Buffa G., Messina C.M., Santulli A., Mazzola A. 2005. Fatty acid composition of a cultured sturgeon hybrid (*Acipenser naccari*×*A.baerii*). Journal of Food Chemistry, 93: 627-631.
- Xu B.H., Wang, Y.B., Li J.R., Lin Q. 2009. Effect of prebiotic xylooligosaccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Physiology and Biochemistry, 35: 351-357.
- Xu Q.Y., Wang C.A., Zhao Z.G., Luo L. 2012. Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). Asian-Australian Journal of Animal Science, 25: 1588-1594.
- Yaghoubi M., Torfi Mozanzadeh M., Marammazi J.G., Safari O., Gisbert E. 2016. Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). Journal of Aquaculture, 464: 50-59.
- Ye J., Liu X., Wang Z., Wang K. 2011. Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Journal of Aquaculture International, 19: 143-153.
- Yildirim Y.B., Turan F. 2010. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in African cat fish. *Clarias gariepinus*. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2920: 327-331.
- Zhou F., Song W., Shao Q., Peng X., Xiao J., Hua Y., Owari B.N., Zhang T., Ng W.K. 2011. Partial replacement of fish meal by fermented soybean meal in diets for black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, juveniles. Journal of World Aquaculture Society, 42: 184-197.

نحوه استناد به این مقاله:

سهراب‌نژاد م.، سوداگر م.، قمی م.ر.، مازندرانی م. اثر جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف کنجاله سویا و مولتی‌آنزیم کمین بر عملکرد رشد، ترکیب‌لاشه و باکتری‌های اسیدلاکتیک روده فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso* (Linnaeus, 1758)). مجله ماهی‌شناسی کاربردی دانشگاه گنبدکاووس. ۱۳۹۹: ۵۸-۶۹ (۲).

Sohrabnezhad M., Sudagar M., Ghomi M.R., Mazandarani M. The effect of dietary diets containing different levels of soybean meal and ambushes multi-enzyme on growth function, carcass composition and lactic acid bacteria of young elephant intestine *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad

Effect of different levels of soybean meal and Kemin multi-enzyme on growth performance, body composition, and gut lactic acid bacteria of juvenile Beluga *Huso huso* (Linnaeus, 1758)

Sohrabnezhad M¹., Sudagar M^{*2}., Ghomi M.R³., Mazandarani M⁴.

¹ PhD student in aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Associate Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

³ Assistant Prof., Dept. of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

⁴ Associate Prof., Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Tonekabon, Mazandaran, Iran

Type:

Original Research Paper

Paper History:

Received: 9- 11- 2016

Accepted: 28- 2- 2017

Corresponding author:

Sudagar M. Associate Professor, Department of Aquaculture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Email: sudagar_m@yahoo.com

Abstract

The present study aimed to investigate the effects of replacing fish meal with soybean meal and different levels of Kemin multi-enzyme on growth performance, feed efficiency, body composition, fatty acid profile, and gut lactic acid bacteria of beluga sturgeon (*H. huso*). Fish were fed with nine different diets (40% crude protein) including three different replacement levels of fish meal with soybean meal 0 (as control), 40, and 80% and three different levels of Kemin multi-enzyme 0, 1, and 2 g/kg. Fish were fed with the experimental diets for 12 weeks at a rate of 1% of body weight per day. The replacement of fish meal with soybean meal resulted in a reduction in growth performance and the lowest weight gain and the highest feed conversion ratio was observed in the diet with 80% replacement. The highest weight gain, higher level of enzyme (2 g/kg), and lower feed conversion ratio were observed in the diet without soybean meal. Similar results were recorded in treatment with 40% of soybean meal, indicated the positive effect of utilization of enzyme on growth performance. However, no significant difference was observed in final weight gain among different diets. Use of soybean meal (0 and 40%) and Kemin multi-enzyme (2 g/kg) showed a higher percentage of protein in fish. Fatty acid profiles and lipid content (ranged from 11.08 to 11.74%) had significant differences among different treatments. Fish fed with the control group and diets with enzyme supplements (without soybean meal) and diets 4 and 5 (0 and 1 g/kg enzyme and 40% soybean meal) showed the highest level of n-3 fatty acids and eicosapentaenoic acid. In contrast, diet containing 80% soybean meal without enzymes (treatment 7) had the least n-3 fatty acids, eicosapentaenoic acid, and docosahexaenoic acid. An increment was observed in the number of *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus carvatus*, *Pediococcus pentaseceous*, *Lactobacillus plantarum*, and totally aerobic and anaerobic bacteria in all treatments. The highest number of bacterial was recorded in the diet containing 80% soybean meal and 2 g/kg enzyme (treatment 9). The results of this study indicated that the replacement of fish meal with soybean meal (up to 40%) in diet with enzyme at 2 g/kg can be suitable as a commercial diet for Beluga *Huso huso*.

Key words: *H. huso*, Soybean meal, Growth performance, Fatty acids, Gut lactic acid bacteria