اثرات جایگزینی پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

- **رضا جلیلی***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۶۵-۵۷۱۵۳
- **ناصر آق**: پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۶۵-۵۷۱۵۳
- **فرزانه نوری**: پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۱۶۵-۵۷۱۵۳

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۱

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی در سطوح بالا بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی (پروتئاز کل، لیپاز و آلفا- آمیلاز) در زوائد پیلوریک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. تعداد ۷۰۰ قطعه ماهی با وزن متوسط ۲±۱۵ گرم انتخاب و در داخل ۱۲ تانک (۳۰۰ لیتری) با تراکم ۵۰ قطعه در هر تانک نگهداری و به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. از منابع پروتئین گیاهی در ۳ سطح ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزین پودر ماهی به‌همراه یک گروه شاهد، استفاده شد. نتایج نشان داد که جایگزینی۴۰ درصد پودر ماهی جیره با منابع گیاهی اثرات منفی معنی‌داری بر شاخص‌های رشد (وزن نهایی ۰/۲±۶۹/۰ گرم)، کارایی تغذیه‌ای ماهیان و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در مقایسه با گروه شاهد (وزن نهایی ۰/۲±۷۱/۱ گرم) را نداشت (P >۰/۰۵). جایگزینی ۷۰ و ۱۰۰ درصد پودر ماهی جیره با منابع پروتئین گیاهی باعث کاهش معنی‌دار شاخص وزن نهایی (به‌ترتیب ۱/۰±۵۶/۹ گرم و ۰/۳±۴۷/۹گرم) و میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل در ماهیان گردید (P <۰/۰۵). ولی میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آلفا- آمیلاز اختلاف معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نداشت (P >۰/۰۵).

کلمات کلیدی: پودر ماهی، پروتئین گیاهی، رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Re.Jalili@gmail.com

مقدمه

پودر ماهی از اجزای اصلی در جیره آبزیان محسوب می‌گردد و با توجه به رشد قابل ملاحظه صنعت آبزی پروری در سال‌های اخیر و افزایش متراکم‌سازی مزارع پرورشی، میزان وابستگی تولید آبزیان به غذای دستی افزایش یافته است که خود باعث ایجاد رقابت شدید در منابع محدود پودر ماهی و روغن ماهی گردیده است. با توجه به این‌که در سال‌های اخیر میزان برداشت از منابع دریایی روند ثابت و تقریباً نزولی داشته است، یافتن جایگزین مناسب جهت ادامه رشد و توسعه صنعت آبزی پروری در سال‌های آینده و هم‌چنین حفظ منابع دریایی برای آیندگان امری اجتناب ناپذیر است علاوه بر این تقاضای زیاد برای منابع قابل دسترس پودر ماهی، فشار قابل ملاحظه‌ای بر بازار جهانی و پیرو آن بر قیمت غذا خواهد داشت (۹). در مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، غذا تقریباً نصف هزینه‌های تولید را شامل می‌شود و هم‌چنین ۶۷٪ از هزینه غذا مربوط به منابع پروتئینی است (۱۲). از آن‌جا که منابع پروتئین گیاهی ارزان‌تر و قابل دسترس‌تر می‌باشند، می‌توان با جایگزینی بخشی از منابع پروتئینی در جیره غذایی آبزیان هزینه‌های غذا و وابستگی صنعت آبزی‌پروری کشور به وپودرات پودر ماهی را کاهش داد. بنابراین در سال‌های اخیر جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی از جنبه‌های اقتصادی و اکولوژیک به‌عنوان ضرورتی برای توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری تبدیل شده است (۳۲). منابع پروتئین گیاهی می‌تواند به‌صورت نسبی یا کامل جایگزین پودر ماهی در جیره آبزیان شود به شرطی که نیاز اسیدهای آمینه گونه آبزی مورد نظر را تامین نموده و سبب کاهش طعم و خوش خوراکی غذا نگردد، هم‌چنین بایستی میزان عناصر ضدغذایی منابع گیاهی کاهش یابد (۹). گلوتن گندم و ذرّت با داشتن پروتئین بالا، فیبر و مواد ضد غذایی و نشاسته پایین محدودیت استفاده کم‌تری را برای ماهیان گوشتخوار دارند و بنابراین می‌توان از آن‌ها در نسبت‌های بالاتری از جیره غذایی این ماهیان استفاده کرد (۲۶). گلوتن گندم می‌تواند تا ۴۰-۲۵ درصد بدون اثرات منفی بر رشد و ضریب تبدیل غذایی در ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar* L.) جایگزین پودر ماهی جیره گردد (۲۹). یکی از عوامل محدودکننده در استفاده از منابع پروتئین گیاهی وجود عناصر ضدتغذیه‌ای می‌باشد که باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان می‌گردد (۲۷). عموماً میزان فعالیت آنزیم‌ها در دستگاه گوارشی وابسته به نوع، عادت تغذیه‌ای و ریخت‌شناسی دستگاه گوارشی موجودات دارد. بنابراین ایجاد تغییر در نوع غذا می‌تواند باعث ایجاد تغییراتی در میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی گردد (۳۱). با توجه به این‌که مطالعات زیادی در خصوص جایگزینی منابع پروتئینی گلوتن در سطوح بالا به‌جای پودر ماهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات جایگزینی سطوح بالای پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی بر شاخص‌های رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در زوائد پیلوریک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، تعداد ۷۰۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۲±۱۵ گرم انتخاب و پس از دو هفته سازگاری داخل ۱۲ تانک پلی اتیلنی (۳۰۰ لیتری) با تراکم ۵۰ عدد در هر تانک نگهداری شدند. میانگین pH آب ورودی تانک‌های پرورشی ۰/۲±۷/۵، دما ۱±۱۴ (درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول ۰/۵±۸/۵ (میلی‌گرم در لیتر) و میزان آب ورودی تانک‌ها ۰/۵±۷/۵ (لیتر در دقیقه) در طول دوره پرورش بود. از منابع پروتئین گیاهی ترکیب گلوتن گندم، گلوتن ذرّت و کنجاله سویا در ۳ سطح ۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزین پودر ماهی گردید و به همراه یک جیره شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار استفاده شد. ترکیب اجزای غذایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱- ترکیب اجزای غذایی جیره‌های آزمایشی (بر حسب درصد)

اجزای جیره	گروه شاهد	میزان جایگزینی پودر ماهی جیره (درصد)		
		۴۰ درصد	۷۰ درصد	۱۰۰ درصد
پودر ماهی	۵۸/۲۵	۳۵	۱۸/۲۵	-
گلوتن گندم	-	۱۵/۵	۲۶	۴۲
گلوتن ذرت	-	۵	۱۱	۱۰
کنجاله سویا	-	۱۵	۱۵	۱۵
روغن ماهی	۱۲/۸۹	۱۴/۰۶	۱۶/۱۳	۱۸/۵۷
پودر خون	۴	۴	۴	۴
آرد گندم	۱۴/۵	-	-	-
نشاسته	۵/۲۵	۲/۹۴	۰/۸	-
مکمل ویتامینی[۱]	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
مکمل معدنی[۲]	۱	۱	۱	۱
ال- میتیونین	۱/۲	۱/۲	۱/۲	۱/۲
ال- لیزین	-	۰/۸	۰/۸	۱/۵
سایر مکمل‌ها[۳]	۱/۵	۴	۴/۳۲	۵/۲۳

۱. ترکیب مکمل ویتامینی (IU/ کیلوگرم غذا): ویتامین A ۱۶۰۰۰۰۰، ویتامین D۳ ۴۰۰۰۰۰، کولین کلراید ۱۲۰۰۰، نیاسین ۴۰۰۰، ریبوفلاوین ۸۰۰۰، پیریدوکسین ۴۰۰۰، فولیک اسید ۲۰۰۰، ویتامین B۱۲ ۸۰۰۰، اینوزیتول ۲۰۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰۰، ویتامین B۲ ۸۰۰۰، ویتامین K۳ ۲۰۰۰، ویتامین E ۴۰۰۰۰.

۲. ترکیب مکمل معدنی (گرم/کیلوگرم غذا): روی ۱۲/۵، آهن ۲۶، منگنز ۱۵/۸، مس ۴/۲، کبالت ۰/۴۸، سلنیوم ۲، ید ۱.

۳. سایر مکمل‌ها: شامل دی‌کلسیم‌فسفات، کربنات‌کلسیم و آنزیمیت به میزان ۵ گرم در هر کیلو غذا از هر کدام و ترکیب فیبر خام و پوسته صدف به عنوان پرکننده می‌باشد.

پس از آنالیز شیمیایی اجزای جیره‌ها، جیره‌های آزمایشی طبق احتیاجات غذایی ماهی با کمک نرم افزار WUFFDA نوشته شدند. تمامی جیره‌ها از میزان پروتئین، چربی و انرژی یکسانی برخودار بودند (جدول ۲). اجزای جیره پس از آسیاب شدن، با یکدیگر مخلوط و سپس به‌وسیله چرخ‌گوشت به‌صورت پلت‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر در آمدند (۱۳). پلت‌ها پس از خشک‌شدن در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد، تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شدند. میزان غذادهی ماهیان نیز ۳ درصد وزن بدن و روزانه در سه نوبت و به‌مدت ۶۰ روز انجام شد. زیست‌سنجی ماهیان جهت محاسبه شاخص‌های رشد در ابتدا و انتهای دوره پرورشی و به تعداد ۹ عدد ماهی از هر تکرار صورت گرفت. هم‌چنین تعیین وزن توده زنده ماهیان هر تانک جهت تعیین میزان غذای روزانه با فواصل هر ۱۰ روز انجام گردید. تجزیه شیمیایی اجزای غذایی و جیره‌های آزمایشی (۳ نمونه از هر جیره) و ترکیب شیمیایی بافت عضله در شروع (۵ نمونه از کل جمعیّت) و پایان آزمایش (۴ نمونه ماهی از هر تکرار) طبق روش AOAC (۱۹۹۰) صورت گرفت. اجزای غذایی و جیره‌های آزمایشی، آسیاب شده و توزین گردیدند. در نهایت جیره‌ها و نمونه بافت عضله ماهیان در آون با ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت جهت رسیدن به وزن ثابت، خشک گردیدند. سپس درصد رطوبت و ماده خشک محاسبه شد (۲). درصد پروتئین خام (N×۶/۲۵) به روش کلدال و با استفاده از دستگاه (Behrotest WD۴۰, Germany) انجام شد. استخراج چربی کل با استفاده حلال اتر صورت پذیرفت و میزان خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی با حرارت ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶ ساعت، میزان فیبر بعد از استخراج چربی و رقیق سازی در اسید (اسید سولفوریک ۰/۲ نرمال) و جوشاندن در باز (سود ۰/۳ نرمال) تعیین گردید. سرانجام میزان کربوهیدرات از تفاضل صد از مجموع میزان پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر محاسبه گردید و میزان انرژی با استفاده از ضرایب بر حسب میزان پروتئین، چربی و کربوهیدرات (به‌ترتیب ۵/۶۴، ۹/۴۳ و ۴/۱۱) در وزن خشک نمونه‌ها با واحد کیلوکالری در هر گرم نمونه، تعیین شد (۲). ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌های جیره‌های آزمایشی (۳ نمونه از هر جیره) در ابتدای مطالعه پس از استخراج چربی با حلال اتر و متیل استر شدن بر اساس روش Lepage و Roy (۱۹۸۴) با استفاده از دستگاه (Agilent ۷۸۹۰A GC System, USA) با مقایسه زمان‌های تثبیت استاندارد متیل استرهای اسیدچرب تعیین شد (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه شیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی

گروه شاهد	میزان جایگزینی پودر ماهی جیره (درصد)		
	۴۰ درصد	۷۰ درصد	۱۰۰ درصد
۸/۱	۷/۶	۸/۲	۸/۱
۴۵/۳	۴۴/۵	۴۵/۱	۴۵/۵
۸۹/۳	۴۵/۸	۲۳/۲	-
۲/۵	۵۰/۰	۷۰/۰	۹۲/۲
۱۹/۹	۱۹/۸	۲۰/۱	۱۹/۸
۱۴/۹	۱۵/۰	۱۴/۹	۱۵/۴
۵/۰۴	۵/۰۳	۵/۰۵	۵/۰۴
۹/۱۳	۱۰/۷۵	۱۱/۸۹	۱۵/۷۴
۲/۵۱	۲/۷۷	۲/۸۹	۳/۱۳
۰/۷۳	۰/۶۷	۰/۶	۰/۵۱
۵/۴۲	۵/۱	۴/۶۲	۴/۱۳
۱۱/۱۸	۱۰/۱۸	۹/۹	۹/۱۷

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی ابتدا عصاره آنزیمی تهیه گردید. برای تهیه عصاره آنزیمی یک گرم بافت از زواید پیلوریک در ۹ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، Triton X-۱۰۰ ۰/۱ درصد در pH ۷/۸ توسط هموژنایزر (مدل D ۵۰۰) هموژن شده و سپس به‌مدت ۳۰ ثانیه در سانتریفوژ یخچال‌دار (مدل Z۳۶HK) در ۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت حاصله در ویال اپندورف تقسیم شده و تا زمان سنجش در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۴). میزان پروتئین محلول نمونه‌های هموژن شده ماهیان قزل‌آلا به روش Bradford (۱۹۷۶) سنجیده شد.

جهت تعیین فعالیت آنزیم پروتئاز کل ابتدا ۲۰ میکرولیتر از نمونه عصاره آنزیمی با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر Tris/Hcl در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مخلوط شده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول TCA (Trichloroacetic acide) به آن اضافه گردید. نمونه‌ها پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت g × ۶۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس میزان فعالیت آنزیمی با تعیین میزان جذب نوری در طول موج ۴۴۰ نانومتر به‌ازای مدت انکوباسیون و میزان پروتئین عصاره آنزیمی (میلی‌گرم) اندازه‌گیری و محاسبه گردید (۱۰). جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم لیپاز ۵ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترا اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند سپس واکنش با افزودن ۰/۷ میلی‌لیتر از محلول استون و ان- هپتان با نسبت ۵:۲ متوقف گردید. مخلوط واکنش بعد از هم زدن کامل به‌مدت ۲ دقیقه در ۶۰۸۰g و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شده و سپس میزان فعالیت آنزیمی با تعیین میزان جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر به‌ازای مدت انکوباسیون و میزان پروتئین عصاره آنزیمی (میلی‌گرم) اندازه‌گیری و محاسبه گردید (۱۴).

جهت تعیین فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز ابتدا ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی رقیق شده با آب مقطر سرد به همراه ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته ۱ درصد به داخل میکروتیوب ریخته و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف رنگی دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید به لوله‌ها اضافه گردید و به‌مدت ۵ دقیقه میکروتیوب‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد داخل بنماری قرار گرفتند. سپس ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌ها اضافه گردید و بعد محتویات لوله‌ها به خوبی مخلوط شده و قرائت نوری در ۵۴۰ نانومتر انجام گرفت واحد فعالیت آلفا- آمیلاز، بر حسب میکرو مول مالتوز آزاد شده تحت اثر آنزیم در دقیقه به‌ازای میلی‌گرم پروتئین از طریق فرمول ارائه شده توسط Worthington در سال ۱۹۹۱ محاسبه گردید (۳۳).

فرمول‌های محاسباتی (۷)

ضریب رشد روزانه = ۱۰۰×[(وزن اولیه)$^{1/3}$-(وزن ثانویه)$^{1/3}$]/طول دوره پرورشی(روز)

میزان رشد ویژه (درصد در روز) = ۱۰۰×[(لگاریتم وزن اولیه(گرم)- لگاریتم وزن ثانویه (گرم)]/طول دوره پرورشی(روز)

ضریب تبدیل غذایی = غذای مصرفی (گرم)/وزن زنده بدست آمده (گرم)
شاخص کبدی (٪) = ۱۰۰×(وزن بدن/وزن کبد)
شاخص توده احشایی(٪) = ۱۰۰×[وزن توده احشایی(گرم)/(وزن بدن (گرم)]
نرخ کارایی پروتئین = گرم وزن بدست آمده/گرم پروتئین مصرفی
ارزش تولیدی پروتئین = گرم پروتئین ابقا شده/گرم پروتئین مصرفی
نرخ کارایی چربی = گرم وزن بدست آمده/گرم چربی مصرفی
ارزش تولیدی چربی = گرم چربی ابقا شده/گرم چربی مصرفی

در پایان آزمایش، نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن (Duncan) در سطح ۹۵ درصد انجام شد (P<۰/۰۵).

نتایج

نتایج تجزیه شیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ آمده است. طی نتایج حاصله میزان پروتئین (۰±۴۷/۳ درصد)، چربی (۰±۲۰/۵ درصد) و انرژی (۵±۰/۱ کیلوکالری در گرم) جیره‌ها در بین گروه‌های آزمایشی یکسان بود (۵). نتایج حاصل از شاخص‌های رشد ماهیان در جدول ۳ گزارش شده است.

جدول ۳- شاخص‌های رشد ماهیان گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش (انحراف از معیار ± میانگین)

	گروه شاهد	میزان جایگزینی پودر ماهی جیره (درصد)		
		۴۰ درصد	۷۰ درصد	۱۰۰ درصد
وزن نهایی ماهیان (گرم)	۷۱/۱±۲/۰ a	۶۹/۰±۲/۰ a	۵۶/۹±۱/۰ b	۴۷/۹±۳/۰ c
طول کل (سانتی‌متر)	۱۸/۴±۰/۲ a	۱۸/۲±۰/۳ a	۱۶/۸±۰/۳ b	۱۶/۵±۰/۴ b
افزایش وزن (گرم/ ماهی)	۵۵/۵±۲/۰ a	۵۳/۵±۱/۰ a	۴۱/۷±۱/۰ b	۳۲/۴±۳/۰ c
غذای مصرفی (گرم/ ماهی)	۵۴/۰±۲/۶ ab	۵۶/۰±۱/۵ a	۴۹/۰±۰/۵ bcd	۴۶/۰±۲/۰ cd
ضریب رشد روزانه (گرم / ماهی)	۲/۸۲±۰/۰۷ a	۲/۷۷±۰/۰۵ a	۲/۳۶±۰/۰۴ b	۱/۹۶±۰/۱۳ c
میزان رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۱۳±۰/۰۲ a	۱/۱۱±۰/۰۱ a	۰/۹۹±۰/۰۱ b	۰/۸۴±۰/۰۵ cd
شاخص کبدی	۱/۴۹±۰/۰۴ a	۱/۴۲±۰/۰۳ a	۱/۲۹±۰/۱۱ ab	۱/۴۶±۰/۰۸ a
شاخص احشایی	۱۴/۰±۰/۳ ab	۱۴/۲±۰/۵ a	۱۴/۵±۰/۶ a	۱۴/۴±۰/۲ a
ضریب چاقی	۱/۱۴±۰/۰۱ ab	۱/۱۴±۰/۰۵ ab	۱/۱۸±۰/۰۴ a	۱/۰۶±۰/۵ bc

اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

نتایج نشان می‌دهند که شاخص وزن نهایی ماهیان در گروه ۴۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی (۰±۶۹/۲) اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد (۱±۷۱/۲) نداشت (P>۰/۰۵). ولی با افزایش میزان جایگزینی پودر ماهی جیره از ۴۰ درصد، شاخص وزن نهایی ماهیان در گروه‌های ۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی (به‌ترتیب ۱±۵۶/۹ و ۳±۴۷/۹) در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند (P<۰/۰۵). ضریب رشد روزانه و میزان رشد ویژه نیز در گروه‌های ۷۰ و ۱۰۰٪ جایگزینی نسبت به گروه شاهد و گروه ۴۰ درصد جایگزینی نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین بود، با این وجود بین گروه شاهد و گروه ۴۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر شاخص‌های کبدی و احشایی مشاهده نگردید (جدول ۳). میانگین ضریب چاقی در گروه آزمایشی ۱۰۰ درصد جایگزینی پودر ماهی، پایین بود ولی همانند سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (P>۰/۰۵).

نتایج ضریب تبدیل غذایی و کارایی تغذیه‌ای پروتئین و چربی ماهیان در انتهای دوره پرورشی در جدول ۴ آمده است. شاخص ضریب تبدیل غذایی در گروه ۴۰ درصد جایگزینی پودر ماهی (۱/۰±۰۴/۰۳) اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد (۰/۹۷±۰/۰۷) نداشت، ولی در گروه‌های ۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی (به‌ترتیب ۱/۱۷±۰/۰۳ و ۱/۳۳±۰/۰۴) در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالا بود (P<۰/۰۵). شاخص‌های ارزش تولیدی پروتئین، ضریب کارایی پروتئین و ارزش تولیدی چربی با افزایش منابع درصد پروتئین گیاهی در جیره کاهش یافت، میزان این شاخص‌ها در گروه ۴۰ درصد جایگزینی پودر ماهی اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت اما در گروه‌های

۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد پایین بود (P<۰/۰۵). شاخص ارزش تولیدی چربی در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۴- ضریب تبدیل غذایی و کارایی تغذیه‌ای ماهیان گروه‌های آزمایشی در انتهای دوره پرورش (انحراف از معیار ± میانگین)

	گروه شاهد	میزان جایگزینی پودر ماهی جیره (٪)		
		٪ ۴۰	٪ ۷۰	٪ ۱۰۰
ضریب تبدیل غذایی	۰/۹۷±۰/۰۷ c	۱/۰۴±۰/۰۳ c	۱/۱۷±۰/۰۳ b	۱/۳۳±۰/۰۴ a
ارزش تولیدی پروتئین	۰/۳۸±۰/۰۲a	۰/۳۵±۰/۱ab	۰/۳۱±۰/۰۱b	۰/۲۲±۰/۰۳d
میزان کارایی پروتئین	۲/۲۵±۰/۱۲a	۲/۱۲±۰/۰۶ab	۱/۸۹±۰/۰۳bc	۱/۵۵±۰/۱۸e
ارزش تولیدی چربی	۰/۱۸±۰/۰۲a	۰/۱۵±۰/۰۱a	۰/۱۶±۰/۰۱a	۰/۱۶±۰/۰۲a
میزان کارایی چربی	۵/۱۵±۰/۴a	۴/۷±۰/۱a	۴/۳±۰/۱b	۳/۵±۰/۴c

اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز کل، لیپاز و آمیلاز در ابتدای دوره پرورش به‌ترتیب ۰/۱۸±۰/۰۵، ۲/۳±۰/۱۸ و ۲/۳۲±۰/۱۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین بود.

جدول ۵- میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در زوائد پیلوریک ماهیان در روزهای ۳۰ و ۶۰ دوره پرورش (انحراف از معیار ± میانگین)

	گروه شاهد	میزان جایگزینی پودر ماهی جیره (٪)		
		٪ ۴۰	٪ ۷۰	٪ ۱۰۰
فعالیت آنزیم پروتئاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین)				
روز ۳۰	۰/۴۳±۰/۰۸a	۰/۳۵±۰/۰۸a	۰/۱۳±۰/۰۷b	۰/۰۸±۰/۰۴c
روز ۶۰	۰/۵۷±۰/۰۶a	۰/۴۹±۰/۰۵a	۰/۲۷±۰/۰۸b	۰/۱۵±۰/۰۲c
فعالیت آنزیم لیپاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین)				
روز ۳۰	۲/۶۹±۰/۳ a	۲/۸۲±۰/۱۶a	۲/۵۶±۰/۳a	۲/۱۹±۰/۴۵a
روز ۶۰	۳/۷۳±۰/۲۵a	۳/۶۷±۰/۱۲a	۳/۴±۰/۳ a	۳/۱۸±۰/۱۴ a
فعالیت آنزیم آمیلاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین)				
روز ۳۰	۱/۹۱±۰/۴۱ a	۱/۸۹±۰/۳۴ a	۱/۷۳±۰/۲۸ a	۱/۷۲±۰/۱۹ a
روز ۶۰	۱/۲۱±۰/۱۲a	۱/۳۳±۰/۲۱a	۱/۴۴±۰/۲۸a	۱/۰۱±۰/۱۶a

اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در طول دوره پروش در جدول ۵ گزارش شده است. میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل در زوائد پیلوریک ماهیان در گروه ۴۰ درصد جایگزینی پودر ماهی در روزهای ۳۰ و ۶۰ (به‌ترتیب ۰/۳۵±۰/۰۸ و ۰/۴۹±۰/۰۵ واحد در میلی‌گرم پروتئین) اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد (به‌ترتیب ۰/۴۳±۰/۰۸ و ۰/۵۷±۰/۰۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین) نداشت، ولی در گروه‌های ۷۰ و ۱۰۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های لیپاز و آمیلاز در روزهای ۳۰ و ۶۰ با جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی با منابع گیاهی مشاهده نشد.

بحث

نتایج حاصل از جایگزینی ۴۰ درصد پودر ماهی (۵۰ درصد کل پروتئین جیره) با منابع گیاهی سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار

در شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگردید. که این با نتایج حاصل از جایگزینی ۳۵ درصد از کل پروتئین جیره با گلوتن گندم در جیره ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar* L.) (۲۹)، جایگزینی ۳۰ درصد گلوتن گندم در جیره ماهی کفشک اقیانوس اطلس (*Hippoglossus hippoglossus* L.) (۱۱) و جایگزینی ۵۰ درصد گلوتن ذر ّت در جیره ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar* L.) (۱۹) مطابقت دارد. هم‌چنین با افزایش میزان جایگزینی منابع پروتئین گیاهی از ۴۰ درصد به ۷۰ و ۱۰۰ درصد شاخص‌های رشد ماهیان کاهش یافت. مطالعات زیادی حاکی از اثرات منفی سطوح بالای منابع گیاهی در جیره غذایی آزاد ماهیان وجود دارد (۵، ۸، ۲۲ و ۲۷). دلایل مختلفی می‌تواند سبب بروز اثرات منفی استفاده از سطوح بالای منابع پروتئین گیاهی در جیره غذایی این خانواده از ماهیان باشد. یکی از مشکلات کاربرد منابع پروتئین گیاهی در جیره غذایی آزاد ماهیان سطوح بالای کربوهیدرات می‌باشد چرا که توانایی هضم کربوهیدرات و متابولیسم گلوکز در این ماهیان پایین می‌باشد (۲۸). با توجه به این‌که میزان کربوهیدرات جیره‌ها در مطالعه حاضر یکسان بود، بنابراین تفاوت در میزان کربوهیدرات منابع گیاهی در مقایسه با پودر ماهی نمی‌تواند دلیل کاهش شاخص‌های یاد شده در سطوح بالای وجود پروتئین‌های گیاهی در جیره‌های آزمایشی باشد. منابع مختلف پروتئین گیاهی می‌توانند اثرات مختلفی در کارایی ماهیان داشته باشند. بسیاری از منابع پروتئین گیاهی سطح پروتئین و میزان اسیدهای آمینه ضروری کم‌تری در مقایسه با پودر ماهی دارند. منابع پروتئینی گلوتن از سطح پروتئین بالایی برخوردارند ولی میزان برخی اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین و متیونین آن‌ها کم یا ناکافی می‌باشد، و به تنهایی نمی‌تواند جوابگوی نیازهای اسیدهای آمینه آبزیان باشند (۱۷).

Ketola (۱۹۸۳) اظهار کرد که میزان نیاز ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به اسید آمینه لیزین ۲/۹٪ وزن خشک جیره می‌باشد که این میزان در جیره حاوی ۳۰ درصد گلوتن گندم تا حد ۳ درصد وزن خشک جیره تأمین می‌شود. Pfeffer و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که اسیدهای آمینه ترئونین یا آرژنین در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که تنها منبع پروتئینی آن گلوتن گندم باشد تامین‌کننده نیازهای تغذیه‌ای ماهی می‌باشد. در این بررسی مکمل اسیدهای آمینه متیونین و لیزین جهت جبران این کمبودها به جیره‌های آزمایشی اضافه گردید. اما به‌نظر می‌رسد که احتمالا ً تفاوت در ترکیب اسیدهای آمینه در گروه‌های آزمایشی می‌تواند به‌عنوان یکی از دلایل کاهش شاخص‌های رشد ماهیان در گروه‌های تغذیه شده با سطوح بالای پروتئین گیاهی باشد. هم‌چنین پروتئین‌های گیاهی دارای فاکتورهای ضد تغذیه‌ای هستند که می‌توانند باعث کاهش فعالیّت آنزیم‌های گوارشی (۱)، کاهش زیست فراهمی مواد معدنی از طریق کلاته کردن آن‌ها (۲۶) یا کاهش زیست فرآهمی پروتئین (۲۰) و یا ایجاد آسیب‌های بافتی در روده ماهیان (۱۶) باعث محدودیّت مراحل هضم مواد غذایی و در نهایت کاهش شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه‌ای ماهیان شوند (۲۱).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که افزایش میزان جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم پروتئاز کل در زوائد پیلوریک ماهیان گردید. که این نتایج مطابق با برخی مطالعات پیشین می‌باشد (۶، ۲۳). Santigosa و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی میزان فعالیّت آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در سطوح مختلف در جیره غذایی این ماهی پرداختند. مطالعات آن‌ها نشان داد که میزان فعالیّت آنزیم پروتئاز کل در گروه تغذیه کرده از جیره حاوی پودر ماهی (به‌عنوان تنها منبع پروتئینی) بعد از ۳ ساعت به اوج خود رسید، ولی در گروه ۵۰ و ۷۰ درصد جایگزینی میزان فعالیّت آنزیم پروتئاز کل به آرامی افزایش یافت و در گروه ۱۰۰٪ جایگزینی میزان فعالیّت آنزیم پروتئاز کل هیچ‌گاه به اوج خود نرسید. این محققین اظهار داشتند که کاهش میزان فعالیّت آنزیم‌های گوارشی با افزایش سطوح جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی می‌تواند به‌عنوان دلیل اصلی کاهش میزان رشد ماهیان در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ درصد جایگزینی پودر ماهی با منابع گیاهی باشد. طی نتایج مطالعه حاضر جایگزینی سطوح مختلف پودر ماهی با منابع پروتئین گیاهی تفاوت معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز در زوائد پیلوریک ماهیان نداشت که این نتایج با مطالعات López-López و همکاران در سال ۲۰۰۵ مطابقت دپودر. Drew و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که با جایگزینی منابع گیاهی در جیره تفاوت معنی‌داری در شاخص کبدی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نشد، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. جایگزینی ۴۰ درصد پودر ماهی جیره با منابع گیاهی در میزان کارایی تغذیه‌ای پروتئین و میزان پروتئین بافت عضله ماهیان اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد نداشت. ولی جایگزینی ۷۰ و ۱۰۰ درصد

پودر ماهی باعث کاهش معنی‌دار میزان کارایی تغذیه‌ای پروتئین و میزان پروتئین بافت عضله ماهیان در مقایسه با گروه شاهد شد. این نتایج مطابق با گزارشات Pfeffer و همکاران (۱۹۹۲) و Palmegiano و همکاران (۲۰۰۶) در ارتباط با جایگزینی منابع مختلف پروتئین گیاهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

نتایج این تحقیق حاکی از امکان استفاده ۴۰ درصد ازمنابع گیاهی به‌جای پودر ماهی در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. امید است با مطالعات آتی در ادامه نتایج مطالعه حاضر در راستای کاهش میزان مواد ضدتغذیه‌ای منابع گیاهی که باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌گردند، امکان استفاده هر چه بیش‌تر منابع گیاهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان فراهم گردد. چرا که استفاده هر چه بیش‌تر منابع گیاهی در جیره آبزیان به‌عنوان ابزاری اساسی در راستای کاهش هزینه‌های تولیدی غذا، کاهش وابستگی صنعت آبزی پروری به پودر ماهی و نیز حفظ ذخایر اکولوژیک ماهیان می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از ریاست، کارشناسان و کارکنان مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه به‌خاطر همکاری‌های صمیمانه ایشان در انجام این تحقیق کمال تقدیر و تشکر را دارند.

منابع

۱. **Alarcon, F.J.; Moyano, F.J. and Diaz, M., ۱۹۹۹.** Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream (*Sparusaurata*). Aquat. Living Resour ۱۲:۲۳۳–۲۳۸.

۲. **AOAC. , ۱۹۹۰**. Official Methods of Analysis of the Association official Analytical Chemists, ۱۵th edn. Association of official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

۳. **Bradford, M.M., ۱۹۷۶.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the protein-dye binding. Analytical Biochemistry ۷۲:۲۴۸-۲۵۴.

٤. **Chong A.; Hashim R.; Lee L.C. and Ali A., ۲۰۰۲**. Characterization of protease activity in developing discus Symphysodon aequifasciata larva. Aquaculture Research ۳۳:۶۶۳-۶۷۲.

٥. **Drew, M.D.; Ogunkoya, A.E.; Janz, D.M. and Van Kessel, A.G., ۲۰۰۷.** Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). Aquaculture ۲۶۷:۲۶۰–۲۶۸.

٦. **Escaffre, A.M.; Zambonino Infante, J.L.; Cahu, C.L.; Mambrini, M.; Bergot, P. and Kaushik, S.J., ۱۹۹۷.** Nutritional value of soy protein concentrate for larvae of common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture ۱۵۳: ۸۰–۸۶.

۷. **Espe, M.; Hevrøy, E.H.; Liaset, B.; Lemme, A. and El-Mowafi, A., ۲۰۰۸.** Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmosalar*. Aquaculture ۲۷۴: ۱۳۲–۱٤۱.

۸. **Francesco, M.; Parisi, G.; Medale, F.; Kaushik, S.J. and Poli, B.M., ۲۰۰۴**. 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*). Aquaculture ۲۶۳:۴۱۳–۴۲۹.

۹. **Francis, G.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., ۲۰۰۱.** Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture ۱۹۹:۱۹۷–۲۲۷.

۱۰. **García-Carreño, F.L. and Haard, N.F., ۱۹۹۳.** Characterization of proteinase classes in Langostilla Pleuroncodes planipes and Crayfish *Pacifastacus astacus* extracts. Journal of Food Biochemistry ۱۷:۹۷-۱۱۳.

۱۱. **Helland, S.J. and Grisdale-helland, B., ۲۰۰۶.** Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): Effect on whole-body amino acid concentrations. Aquaculture ۲۶۱:۱۳۶۳ - ۱۳۷۰.

۱۲. **Higgs, D.A.; Dosanj, B.S.; Prendergast, A.F.; Beams, R.M.; Hardy, R.W.; Riley, W. and Deacon, G., ۱۹۹۵.** Use of rapeseed/ canolaprotein products in finfish diets. Nutrition and Utilization technology in Aquaculture. AOAC Press. PP: ۱۳۰-۱۵٦.

۱۳. **Hosseini, S.V.; Kenari, A.A.; Regenstein, J.M. and Grant, A.A., ۲۰۱۰.** Effects of alternative dietary lipid sources on growth

protein concentrates meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). Aquaculture ۲۵۸:۳۵۷–۳٦۷.

۲۳. **Pavasovic, M.; Richardson, N.A.; Anderson, A.J.; Mann, D. and Mather, P.B., ۲۰۰۴.** Effect of pH, temperature and diet on digestive enzyme profiles in the mud crab, *Scylla serrata*. Aquaculture ۲۴۲:۶۴۱–۶۵۴.

۲٤. **Pfeffer, E.; Al-Sabty, H. and Haverkamp, R., ۱۹۹۲.** Studies on lysine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*) fed wheat gluten as only source of dietary protein. Animal Nutrition ۶۷:۷۴–۸۲.

۲۵. **Regost, C.; Arzel, J. and Kaushik, S. J., ۱۹۹۹.** Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture ۱۸۰:۹۹-۱۱۷.

۲٦. **Robaina, L.; Moyano, F.J.; Izquierdo, M.S.; Socorro, J.; Vergara, J.M. and Montero, D., ۱۹۹۷.** Corn gluten meal and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. Aquaculture ۱۵۷: ۳٤۷–۳۵۹.

۲۷. **Santigosa, E.; Sánchez, J.; Médale, F.; Kaushik, S.; Pérez-Sánchez, J. and Gallardo, M.A., ۲۰۰۸.** Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. Aquaculture ۲۸۲:۶۸-۷۴.

۲۸. **Singh, R.P. and Nose, T., ۱۹۶۷.** Digestibility of carbohydrates in young rainbow trout. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab ۱۷:۲۱–۲۵.

۲۹. **Storebakken, T.; Shearer, K.D.; Baeverfjord, G.; Nielsen, B.G.; Asgard, T.; Scott, T.M. and De Laporte, A., ۲۰۰۰.** 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 ۱۸۴:۱۱۵–۱۳۲.

۳۰. **Sugiura, S.H.; Dong, F.M.; Rathbone, C.K. & Hardy, R.W., ۱۹۹۸.** Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. Aquaculture ۱۵۹:۱۷۷–۲۰۲.

۳۱. **Tengjaroenkul, B.; Smith, B.J.; Caceci, T. and Smith, S.A., ۲۰۰۰.** Distribution of performance and fatty acid composition of Beluga Sturgeon, *Huso huso*, juveniles. Journal of the World Aquaculture Society, ۴۱(۴):۴۷۱-٤۸۹.

۱٤. **Iijima, N.; Tanaka, S. and Ota, Y., ۱۹۹۸.** Purification and characterization of bile salt-activated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiol. Biochem. ۱۸:۵۹–۶۹.

۱۵. **Ketola, H.G., ۱۹۸۳.** Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. J. Anim. Sci. ۵۶:۱۰۱–۱۰۷.

۱٦. **Krogdahl, A.; Nordrum, S.; Sorensen, M.; Brudeseth, L. and Rosjo, C., ۱۹۹۹.** Effects of diet composition on apparent nutrient absorption along the intestinal tract and of subsequent fasting on mucosal disaccharidase activities and plasma nutrient concentration in Atlantic salmon *Salmo salar L*. Aquac. Nutr. ۵: ۱۲۱–۱۳۳.

۱۷. **Lepage, G. and Roy, C.C., ۱۹۸۴.** Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J. Lipid Research ۲۵:۱۳۹۱–۱۳۹٦.

۱۸. **López-López, S.; Nolasco, H.; Villarreal-Colmenares, H. and Civera-Cerecedo, R., ۲۰۰۵.** Digestive enzyme response to supplemental ingredients in practical diets for juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. Aquac. Nutr. ۱۱:۷۹–۸۵.

۱۹. **Mente, E.; Deguara, S.; Santos, M.B. and Houlihan, D.F., ۲۰۰۳.** White muscle free amino acid concentrations following feeding a maize gluten dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Aquaculture ۲۲۵:۱۳۳–۱٤۷.

۲۰. **Moyano, F.J.; Martinez, I.; Diaz, M. and Alarcon, F.J., ۱۹۹۹.** Inhibition of digestive proteases by vegetable meals in three fish species; seabream (*Sparus aurata*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sole (*Solea senegalensis*). Comp. Biochem. Physiol., B ۱۲۲:۳۲۷–۳۳۲.

۲۱. **Olvera-Novoa M.A.; Olivera-Castillo L. and Martınez-Palacios C.A., ۲۰۰۲.** Sunflower seed meal as a protein source in diets for Tilapia *rendalli* (Bounlanger, ۱۸۹۶) fingerlings. Aquaculture Research ۲۳:۲۲۳–۲۲۹.

۲۲. **Palmegiano, G.B.; Dapra, F.; Forneris, G.; Gai, F.; Gasco, L.; Guo, K.; Peiretti, P.G.; Sicuro, B. and Zoccarato, I., ۲۰۰۶.** Rice

intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture ۱۸۲:۳۱۷–۳۲۷.

۳۲. **Tidwell, J.H. and Allan, G.L., ۲۰۰۲.** Fish as food: aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. World Aquaculture, ۳۳:۴۴-۴۸.

۳۳. **Worthington, C.C., ۱۹۹۱.** Worthington enzyme manual related Biochemical, ۳th edn, pp, ۲۱۲-۲۱۵. Freehold, New Jersey.