13 (1) 347-362, Spring 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Replacement of dietary fishmeal for canola meal on the growth performance, digestibility, digestive enzyme activities and hemato immunological responses in pacu, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818)

Hossein Nazari [1], Alireza Salarzadeh*[1], Omid Safari [2], Mazyar Yahyavi [1]

[1] *Department of Fisheries and Natural Resources, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran*

[2] *Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*

Key Words

Pacu fish
Canola meal
Growth performance
Immunity
Digestibility
Digestive enzymes

Abstract

Introduction: Fish powder is one of the most important ingredients in aquatic diets.

Materials & Methods: A 63-day trial was conducted to examine the effect of different levels (10, 20, 30, 40, 50 and 100%) of fishmeal replacement for canola meal in the diet of pacu fish (*Piaractus brachypomus*, 45.12±1.36 g) on growth performance, survival rate, apparent digestibility coefficient of diets, activities of digestive and hepatic enzymes and hemato-immunological responses.

Result: The highest level of the final weight and specific growth rate and the lowest food conversion ratio were achieved in pacu fish fed with 40% canola meal. Significant decreasing trends were achieved in the serum levels of total cholesterol, triglyceride, and low-density lipoprotein of pacu fish fed with increasing the contents of canola meal ($p<0.05$). Based on the growth indices, the maximum tolerable contents of dietary glucosinolate and phytate in the pacu fish were 4.90-5.22 µmol g^{-1} and 6.12-6.52 g kg^{-1}, respectively. The activities of amylase, lipase, and trypsin in pacu fish increased according to enhance CM substitution levels ($p<0.05$).

Conclusion: According to the broken line technique, the highest specific growth rate (1.91% body weight day^{-1}) was observed in pacu fish fed with 40.2% CM.

* Corresponding Author's email: reza1375bandar@yahoo.com
Received: 30 November 2019; Reviewed: 5 March 2020; Revised: 31 March 2020; Accepted: 21 April 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.134028

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر جایگزینی کنجاله کانولا به‌جای پودر ماهی در جیره غذایی ماهی پاکو قرمز (*Piaractus brachypomus*) بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی و شاخص‌های خونی- ایمنی غیراختصاصی

حسین نظری[1]، علیرضا سالارزاده[1]، امید صفری[2]، مازیار یحیوی[1]*

[1] گروه شیلات و منابع طبیعی، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

[2] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

کلمات کلیدی

ماهی پاکو
کنجاله کانولا
عملکرد رشد
ایمنی
قابلیت هضم
آنزیم‌های گوارشی

چکیده

مقدمه: پودر ماهی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در جیره‌های غذایی آبزیان محسوب می‌شود.

مواد و روش‌ها: آزمایشی ۶۳ روزه جهت بررسی تاثیر سطوح مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) جایگزینی پروتئین کنجاله کانولا با پودر ماهی در جیره غذایی ماهی پاکو (*Piaractus brachypomus*، ۱/۳۶±۴۵/۱۲ گرم) بر شاخص‌های عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی، میزان بقا، میزان قابلیت هضم جیره، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی و شاخص‌های هماتوایمنولوژیکی انجام شد.

نتایج: بیشترین میزان معنی‌داری ($p<0/05$) وزن نهایی و میزان رشد ویژه و کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی در ماهیان پاکوی تغذیه شده با ۴۰ درصد کنجاله کانولا به‌دست آمد. با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا نسبت تری‌یدوتیرونین به تیروکسین در سرم خون ماهیان پاکوی تغذیه شده از ۲۰ تا ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$). روند کاهشی معنی‌داری در میزان کلسترول تام، تری گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین و بسیار پائین در سرم خون ماهیان پاکو با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا مشاهده شد ($p<0/05$). حداکثر مقدار قابل تحمل گلوکوسینولات و فیتات در جیره غذایی ماهی پاکو که منجر به بیش‌ترین میزان رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی می‌شود، به‌ترتیب در دامنه ۵/۲۲-۴/۹۰ میکرومول بر گرم ماده خشک و ۶/۵۲-۶/۱۲ گرم بر کیلوگرم قرار دارد. با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و تریپسین در روده ماهیان پاکوی آزمایشی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری و بحث: برحسب تکنیک خط شکسته، بیش‌ترین میزان رشد ویژه (۱/۹۱ درصد وزن بدن در روز) با استفاده از ۴۰/۲ درصد جایگزینی پودرماهی با کنجاله کانولا به‌دست آمد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: reza1375bandar@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹ آذر ۱۳۹۸؛ تاریخ داوری: ۱۵ اسفند ۱۳۹۸؛ تاریخ اصلاح: ۱۲ فروردین ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲ اردیبهشت ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.134028

مقدمه

مقدار تولید صنعت آبزی‌پروری برای مصارف انسانی در سال ۲۰۱۴، ۷۳/۸ میلیون تن برآورد شد، که در میان تمام قاره‌ها، آمریکا با ۴/۵ درصد بعد از آسیا، با تولید ۸۸/۹۱ درصدی مقام دوم تولید آبزیان را به خود اختصاص داد (FAO، ۲۰۱۶). غذا ۵۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه‌های پرورش آبزیان را تشکیل می‌دهد (Essa و همکاران، ۲۰۰۴). پودر ماهی مهم‌ترین ترکیب موجود در جیره‌های غذایی آبزیان با توجه به داشتن میزان پروتئین زیاد، توازن مناسب اسیدهای آمینه، طعم و خوشمزگی، قابلیت هضم بالا، مواد معدنی و ویتامین مناسب می‌باشد (Dawood و همکاران، ۲۰۱۵). هدف اصلی اکثر پرورش‌دهندگان ماهی تولید ماهی با کیفیت بالا با هزینه کم و با حداقل اثرات سوءزیست‌محیطی است.با این‌حال، افزایش تقاضا، عرضه ناپایدار و قیمت زیاد پودر ماهی با رشد صنعت آبزی‌پروری، موجب جستجوی منابع جایگزین پروتئینی شد (FAO، ۲۰۱۴؛ Gatlin III و همکاران، ۲۰۰۷؛ Glencross و همکاران، ۲۰۰۷؛ Hardy، ۲۰۱۰). علاقه به منابع پروتئینی جدید برای تغذیه آبزیان طی چند سال گذشته و پروتئین‌های حاصل از گیاهان، به‌ویژه باکتری‌ها و مخمرها به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (Dawood و همکاران، ۲۰۱۴؛ Gerzhoava و همکاران، ۲۰۱۵؛ Yan و همکاران، ۲۰۱۷). به‌طورکلی، جایگزینی منابع پروتئین جانوری با منابع پروتئین گیاهی دارای محدودیت‌هایی ازجمله کمبود یا عدم تعادل در اسیدهای آمینه ضروری، حضور ترکیبات ضد تغذیه‌ای، کربوهیدرات غیر قابل هضم و کاهش قابلیت خوش‌خوراکی می‌باشد (Cai و همکاران، ۲۰۱۳). از سوی دیگر در زمان جایگزینی با منابع پروتئینی جانوری با گیاهی باید به تاثیر آن بر تغذیه، مصرف مواد مغذی و عملکرد رشد در ماهی (Daniel و همکاران، ۲۰۱۶؛ Snyder و همکاران، ۲۰۱۲؛ Valente و همکاران، ۲۰۱۶)، تامین پروتئین مصرفی مورد نیاز در ماهی (Lie و همکاران، ۲۰۱۱؛ Rolland و همکاران، ۲۰۱۵؛ Sarker و همکاران، ۲۰۱۲)، قابلیت هضم مواد مغذی در ماهی (Da و همکاران، ۲۰۱۳؛ Jian و همکاران، ۲۰۱۴؛ Zhang و همکاران، ۲۰۱۶)، زیست فراهمی مواد مغذی در ماهی (Cheng و همکاران، ۲۰۱۶؛ Welker و همکاران، ۲۰۱۶)، ترکیب بیوشیمیایی خون ماهی (Espe و همکاران، ۲۰۱۰؛ Lund و همکاران، ۲۰۱۱)، کیفیت گوشت و فیله ماهی (Hisano و همکاران، ۲۰۱۶؛ Yangو همکاران، ۲۰۱۲)، پارامترهای ایمنی و مقاومت به استرس در ماهی (Hisano و همکاران، ۲۰۱۶؛ Nageswari و Daniel، ۲۰۱۵)، کارکرد سیستم ایمنی و سلامت ماهی تغذیه شده (Bransden و همکاران، ۲۰۰۱) نیز باید به‌صورت ویژه‌ای توجه نمود. در این رابطه استفاده از منابع پروتئینی موجود (با منشاء گیاهی و جانوری) و محصولات فرآوری حاصل از آن‌ها (کنسانتره و ایزوله پروتئینه) و هم‌چنین تولید محصولات نوین پروتئینی حاصل از تکنولوژی تخمیر و جوانه‌زنی و استفاده از اشعه‌های صنعتی در صنعت تولید غذای آبزیان با هدف افزایش کارایی استفاده از غذا و حرکت به سمت صنعت سبز در اولویت می‌باشد (Safari، ۲۰۱۱). اخیراً استفاده از دانه‌های روغنی هم‌چون پنبه دانه، گلرنگ، کنجد و کانولا به‌دلیل سهولت کشت و برداشت نسبت به دانه سویا مورد توجه قرار گرفته است (Galicia-Gonzláez و همکاران، ۲۰۱۰؛ Jahanbakhshi و همکاران، ۲۰۱۳؛ Jhansi و Ravindra، ۲۰۱۶؛ Shi و همکاران، ۲۰۱۷). بنا به تعریف، کانولا، کلزایی است که کم‌تر از ۲ درصد اسید اروسیک در روغن استخراج شده از دانه و نیز کم‌تر از ۳۰ میکرومول در گرم ماده خشک، گلوکوسینولات در کنجاله داشته باشد (Higgs، ۱۹۹۵؛ Shahidi، ۱۹۹۰). افزایش تولید و عرضه جهانی کلزا / کانولا (RM)، با تولید سالیانه ۴۰/۵۱ میلیون تن در سال ۲۰۱۷، این کنجاله را دومین ماده پروتئینی که بیش‌ترین میزان پروتئین را پس از کنجاله سویا به‌عنوان پروتئین جایگزین در جیره غذایی آبزیان به خود اختصاص می‌دهد، تبدیل کرده است (Bulbul و همکاران، ۲۰۱۳؛ Richard و همکاران، ۲۰۱۱؛ USDA، ۲۰۱۷). میزان تولید کلزا در ایران در سال زراعی ۹۵، ۶۸ هزار و ۲۸۰ تن و درسال ۹۶ بیش از ۱۸۲ هزار تن رسید که این امر بیانگر رشد ۳ برابری تولید است. هم‌چنین پیش‌بینی می‌گردد که سطح زیرکشت دانه‌های روغنی در سال زارعی ۹۶-۹۷، ۲/۵ برابر افزایش یابد (Ahmadi و همکاران، ۲۰۱۷). اخیراً تولید گونه‌های آبزی (خواجو، فیل ماهی، صبیتی و پاکو) در صنعت آبزی‌پروری با هدف افزایش تولید در کنار حفظ حداکثری شرایط سلامت ماهی مورد توجه می‌باشد(Nazari و همکاران، ۲۰۱۸؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۴؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۶؛ Taheri و همکاران، ۲۰۱۴). یکی از چالش‌های پیش روی اهلی‌سازی این گونه‌ها شناسایی بهترین منبع پروتئین گیاهی مورد استفاده و حداکثر سطح قابل استفاده در جیره غذایی می‌باشد. پاکوی قرمز (*Piaractus brachypomus*) بومی آمریکای جنوبی و آمازون بوده و جایگاه دوم پرورش را پس از ماهی تیلاپیا در کشورهای آمریکای لاتین به خود اختصاص داده است (Suplicy، ۲۰۰۷). این گونه همه‌چیزخوار، دارای سرعت رشد زیاد، مقاوم در برابر شرایط استرس‌زای محیطی و سازگار به‌غذای‌دستی می‌باشد (Lochmann و همکاران، ۲۰۰۹؛ Nascimento و همکاران۲۰۱۰). با توجه به رویکرد صنعت آبزی‌پروری ایران به افزایش تنوع‌گونه‌های پرورشی گرمابی و در راستای شناسایی پتانسیل گونه‌های سریع‌الرشد بومی و غیربومی، ماهی پاکو در کنار ماهی تیلاپیا به‌عنوان یک گونه منتخب مورد توجه قرار گرفته است. در رابطه با استفاده از کنجاله کانولا و محصولات حاصل از این دانه روغنی در جیره غذایی ماهی پاکو اطلاعاتی در منابع مشاهده نشد. استفاده

از ۲۵ تا۳۰ درصد کنجاله پنبه دانه در جیره غذایی ماهی پاکو (۱ گرمی) موجب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی گردید (Jhansi و Ravindra، ۲۰۱۶). در این رابطه جایگزینی ۵۰ درصدی پروتئین پودر ماهی با پروتئین کنجاله سویا در جیره غذایی ماهی پاکو (۱/۸ گرم) باعث بهبود وزن نهایی و میزان رشد ویژه بدون تاثیر بر ضریب تبدیل غذایی و مرفولوژی روده شد (Saedi و همکاران، ۲۰۱۲). استفاده از مخلوط کنجاله کانولا و پودر کلرلا (به نسبت ۵۰:۵۰)در جیره غذایی ماهی کاراس (۱/۸ گرم) (*Carassius auratus gibelio*) موجب بهبود عملکرد رشد، افزایش بازده کارایی پروتئین، چربی لاشه و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کاهش میزان ضریب تبدیل غذایی شد (Shi و همکاران، ۲۰۱۷). جایگزینی ۵۰ درصد پروتئین پودرماهی با پروتئین کنجاله‌کانولا در جیره غذایی ماهی ۱/۳ گرمی بریم دریایی (*Megalobrama amblycephala*) موجب افزایش میزان رشد ویژه، نسبت کارایی غذا و نسبت کارایی پروتئین شد (Zhou و همکاران، ۲۰۱۸). تخمیر کنجاله کانولا با مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) باعث افزایش سطح استفاده از این ترکیب تا حدود ۵۶/۲۵ درصدی در جیره غذایی ماهی بریم دریایی قرمز ۳/۵ گرمی (*Pagrus major*) بدون تاثیر بر عملکرد رشد، استفاده از مواد مغذی و هم‌چنین پاسخ های ایمنی- خونی گردید (Dossou و همکاران، ۲۰۱۸a). بسیاری از محققین تاثیرمثبت مصرف جیره‌های غذایی‌حاوی کنجاله کانولا را به پروفیل مشابه اسیدهای آمینه ضروری حاصل از پروتئین کنجاله کانولا با پودر ماهی بر حسب شاخص‌های اسیدآمینه ضروری و نمره شیمیایی و هم‌چنین وزن ملکولی کم پروتئین کنجاله کانولا نسبت به منابع پروتئین گیاهی دیگر نسبت داده‌اند (Higgs، ۱۹۹۵؛ Safari، ۲۰۰۱). توجه به نوع گونه پرورشی، نوع رژیم غالب(گیاه‌خوار، همه‌چیزخوار و گوشت‌خوار)،وزن‌اولیه، مدت زمان آزمایش، تاریخچه تغذیه‌ای، استراتژی غذادهی (برحسب درصد وزن بدن یا اشتها) و شرایط فیزیکوشیمیایی محیط پرورش به تفسیر بهتر نتایج مربوط به مطالعات جایگزینی منابع پروتئین حیوانی با گیاهی کمک می‌کند. در این ارتباط از جمله شاخص‌های مهم ارزیابی اقلام غذایی می‌توان به میزان خوش‌خوراکی، قابلیت هضم (قلم غذایی یا جیره)، عملکرد رشد و سرعت تثبیت ماده مغذی، بیوشیمی خون و مطالعات هیستوپاتولوژی‌اشاره کرد (Glencross و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین، دستیابی به تکنیک مناسب جهت تولید خوراک برای آبزیان و گسترش تکنولوژی‌های با قابلیت فراگیری عمومی برای این منظور ضرورتی انکارناپذیر است، در همین ارتباط تحقیقی جهت بررسی اثر جایگزینی پروتئین گیاهی کنجاله کانولا در سطح ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد به‌جای پودر ماهی به همراه یک جیره شاهد بر عملکرد رشد(وزن نهایی، میزان رشد ویژه و ضریب‌تبدیل غذایی)، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ایمنی غیر اختصاصی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی ماهی پاکو انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره‌های آزمایشی و فرمولاسیون: از کنجاله کانولا (حاوی ۱۲/۵ میکرومول گلوکوسینولات بر گرم ماده خشک) در ۵ سطح جایگزینی ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد به‌جای پودر ماهی به‌همراه یک جیره شاهد استفاده شد. تمام جیره‌ها محتوی انرژی و پروتئین یکسانی داشتند (جدول۱). سپس جیره‌های غذایی با کمک نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA فرموله شدند (Nazari و همکاران، ۲۰۱۸؛ Thiessen و همکاران، ۲۰۰۴؛ Webster و Lim، ۲۰۰۲). میزان پروتئین خام کنجاله کانولا جایگزین میزان پروتئین خام پودر ماهی جیره غذایی شاهد گردید. جهت بررسی نحوه تاثیر سازگاری ماهی با جیره‌های غذایی در طول دوره آزمایش به تمام جیره‌ها ۰/۰۱ درصد اکسید ایتریوم اضافه گردید. تمام اقلام غذایی تا اندازه ذره ۲۵۰ میکرون آسیاب شدند (Safari و همکاران، ۲۰۱۶). مخلوط حاصل از اقلام غذایی با استفاده از دستگاه اکستروژن پخت (شرکت فرادان ماشین شرق، خراسان رضوی، ایران) با اندازه چشمه ۵ میلی‌متر فراوری شد. سپس روغن ماهی روی پلت‌ها پوشش داده شد و پلت‌های غذایی در یک میکسر خنک شدند و پس از حصول دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در نایلون‌های ضد آب ۳ لایه بسته‌بندی و تا زمان استفاده تا دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند (Hardy و Barrows، ۲۰۰۲؛ Nazari و همکاران، ۲۰۱۸).

تهیه ماهی و شرایط انجام آزمایش: تعداد ۲۵۲ قطعه ماهی پاکو (۱/۳۶±۴۵/۱۲ گرم) از کشور اندونزی پس از اخذ مجوزهای لازم دامپزشکی تهیه و در۲۱ آکواریوم با ابعاد ۰/۵×۰/۳×۱ متر به حجم ۱۵۰ لیتر با تراکم ۱۲ قطعه در هر آکواریوم ذخیره‌سازی گردید. این آزمایش در آزمایشگاه آبزیان دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. پس از دو هفته سازگاری، غذادهی به‌مدت ۶۳ روز با جیره‌های آزمایشی تا حد اشتها دو بار در روز (در ساعات ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰، به‌مدت ۶۰ دقیقه با ۳ بار ارائه غذا) انجام شد. تغذیه ماهیان در دوره سازگاری با استفاده از جیره تجاری (FFT، شرکت بهپرور، کرج، ایران) صورت گرفت. شرایط روشنایی در این آزمایش به‌صورت مصنوعی‌و به نسبت ۱۲ ساعت‌روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب واحدهای آزمایشی در فاصله‌های زمانی ۳ روزه کنترل گردید. به‌طور متوسط، درجه حرارت آب ۰/۸۶±۲۸/۶ درجه‌سانتی‌گراد، pH آب ۰/۳±۰/۲ و اکسیژن محلول آب ۰/۴۰±۶/۱۵ میلی‌گرم در لیتر بود. مدفوع ماهیان در هفته هشتم

آزمایش (۵۶-۴۹ روزگی) به‌روش سیفون جمع‌آوری و پس از انجماد در شرایط خشک (۱۰۰- درجه سانتی‌گراد)، تا زمان انجام آنالیزهای شیمیایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. هم‌چنین زیست‌سنجی ماهیان پس از بی‌هوشی (با استفاده از گل میخک به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) در فواصل زمانی ۲۱ روزه انجام شد.

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

	شاهد	سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی (درصد) توسط کنجاله کانولا (CM)				
		CM۱۰	CM۲۰	CM۳۰	CM۴۰	CM۵۰	CM۱۰۰
پودر ماهی[۱]	۲۴,۲	۲۱,۷۸	۱۹,۳۶	۱۶,۹۴	۱۴,۵۲	۱۲,۱	۰
کنجاله کانولا[۲]	۰	۴,۱	۸,۲	۱۲,۲۹	۱۶,۳۹	۲۰,۴۹	۴۰,۹۸
گلوتن گندم[۱]	۲,۱	۲,۱	۲,۱	۲,۱	۲,۱	۲,۱	۲,۱
کنجاله سویا[۱]	۱۱,۵	۱۱,۵	۱۱,۵	۱۱,۵	۱۱,۵	۱۱,۵	۱۱,۵
آرد گندم[۱]	۲۴	۲۳/۱۶	۲۲/۳۲	۲۱,۴۹	۲۰/۶۵	۱۹/۸۱	۱۵/۶۱
آرد ذرت[۱]	۲۴/۳	۲۳/۴۶	۲۲/۶۲	۲۱/۷۸	۲۰/۹۴	۲۰/۱	۱۵/۹۱
روغن ماهی[۲]	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲
روغن سویا[۲]	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲	۳,۲
کولین کلراید[۴]	۰,۹۹	۰,۹۹	۰,۹۹	۰,۹۹	۰,۹۹	۰,۹۹	۰,۹۹
ویتامین C[۴]	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامین[۶،۴]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی[۵،۴]	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
کلسیم دی‌فسفات	۰,۵	۰,۵	۰,۵	۰,۵	۰,۵	۰,۵	۰,۵
نمک طعام	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
اکسید ایتربیوم[۳]	۰,۰۱	۰,۰۱	۰,۰۱	۰,۰۱	۰,۰۱	۰,۰۱	۰,۰۱
ترکیبات شیمیایی (درصد ماده خشک)							
ماده خشک	۹۵,۶	۹۵,۷	۹۵,۶	۹۵,۸	۹۵,۷	۹۵,۶	۹۵,۷
پروتئین خام (درصد)	۲۳,۰۶	۲۳,۴۱	۲۳,۴۵	۲۳,۵۵	۲۳,۵۴	۲۳,۵۸	۲۳,۵۹
چربی خام (درصد)	۹,۶۵	۱۰,۷	۱۱,۱۴	۱۱,۵۷	۱۲,۲۴	۱۲,۸۳	۱۴,۹۱
فیبر خام (درصد)	۳,۸۲	۴,۶۳	۵,۵۴	۶,۷۱	۷,۶۵	۸,۷۲	۱۳,۹۸
خاکستر (درصد)	۳,۲۳	۳,۲۵	۳,۴۵	۴,۱۵	۴,۹۵	۵,۴۷	۸,۱۵
عصاری عاری از نیتروژن (درصد)	۵۵,۸۴	۵۳,۷۱	۵۲,۰۲	۴۹,۸۲	۴۷,۳۲	۴۵	۳۵,۰۷
انرژی ناخالص (مگازول بر گرم)	۱۸,۹	۱۹,۱۶	۱۹,۲	۱۹,۲۱	۱۹,۲	۱۹,۲۲	۱۹,۲۳
پروتئین خام/ انرژی ناخالص (مگاژول بر گرم)	۱۲,۲	۱۲,۲۲	۱۲,۲۱	۱۲,۲۶	۱۲,۲۶	۱۲,۲۷	۱۲,۲۷
فیتات (گرم بر کیلوگرم)	۲,۵۳	۴,۴۴	۵,۱۷	۵,۸۹	۶,۶۲	۷,۳۴	۸,۰۷
گلوکوسینولات (میکرومول بر کیلوگرم)	-	۳,۳۷	۴,۰۵	۴,۷۲	۵,۴	۶,۰۷	۶,۷۵

[۱]شرکت غذای آبزیان بهپرور، ایران: [۲]شرکت دانه‌های روغنی و کنجاله بهپاک، ایران: [۳]سیگما، آلمانی: [۴] شرکت کیمیا رشد، ایران، *ترکیب مکمل معدنی (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Mg،۱۰۰: Zn،۶۰ Fe: ۴۰، Cu: ۵، Co: ۰,۱، I: ۰,۱، آنتی اکسیدانت (BHT)،۱۰۰، * ترکیب مکمل ویتامینی (میلی گرم بر کیلوگرم) E،۳۰: K، ۳: تیامین، ۲: ریبوفلاوین، ۷: پیریدوکسین، ۳: پانتوتنیک اسید، ۱۸: نیاسین، ۴۰: فولاسین، ۱/۵: کولین، ۶۰۰: بیوتین، ۰,۷ و سیانوکوبالامین، ۰,۰۲

شاخص‌های زیستی

عملکرد رشد و کارایی تثبیت مواد مغذی: در طول ۹ هفته آزمایش، به‌منظور سنجش میزان رشد، ماهیان تیمارهای مختلف سه هفته یک‌بار توزین می‌شدند و ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی، غذادهی به ماهیان انجام نمی‌گرفت. با استفاده از معیارهایی نظیر ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی، مقدار مصرف غذا، شاخص مصرف اختیاری غذا (VFI)، ضریب تبدیل غذایی، بازده و کارایی پروتئین (PER)، ارزش تولیدی پروتئین (PPV) جیره‌های غذایی آزمایشی مورد مطالعه قرار گرفتند (Farhangi و Carter، ۲۰۰۷؛ Glencross و همکاران، ۲۰۰۶).

$$\text{Specific growth rate (SGR; \% body weight (BW) day-1)} = [(\ln W_f - \ln W_i)/t] \times 100$$

Feed conversion ratio (FCR) = (Feed consumed / W_{gain})
Condition factor (CF; %) = 100 × BW/L3
Voluntary feed intake (VFI; % BW day-1) = [(Feed consumed (DM)) / (W_{mean} × t)
Survival rate (%) = 100 × (Final number)/Initial number
Protein efficiency ratio (PER)=(W gain/Crude protein consumed)
Protein productive value (PPV; %) = 100 × [(Protein retained / Protein consumed)

در معادلات فوق Wi، Wf، W_{mean}و W_{gain} به‌ترتیب حاکی از وزن اولیه و نهایی وزن متوسط و اضافه وزن به گرم دوره زمانی (به روز) و میزان مصرف غذا (به گرم) می‌باشد. همچنین مقدار مصرف غذا به صورت تجمعی در یک دوره زمانی مشخص گزارش شد.

نحوه تعیین میزان قابلیت هضم جیره: میزان ضرایب قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و انرژی ناخالص جیره‌های آزمایشی با کمک معادله ذیل اندازه‌گیری شد (Nazari و همکاران، ۲۰۱۸؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۴؛ safari و همکاران، ۲۰۱۶):

$$ADC_{test}(\%)=100\times(1-Marker_{test}\times Nutr_{feces}/Marker_{feces}\times Nutr_{test})$$

در معادله فوق $Marker_{test}$و $Marker_{feces}$ مقدار مارکر موجود در جیره غذایی آزمایشی و مدفوع، حاکی از قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی موجود در جیره غذایی آزمایشی (به درصد)، $Nutr_{test}$ و $Nutr_{feces}$ به ترتیب‌نشان‌دهنده مقدارماده‌مغذی موجود در جیره آزمایشی و مدفوع به درصد می باشند.

شاخص‌های بیوشیمیایی خون: میزان گلوکز پلاسما با استفاده از کیت هگزوکیناز گلوکز (Glucose GOD-PAP, GmbH, Germany)، کلسترول (Refstie و همکاران، ۱۹۹۹) با استفاده از کیت انسانی (شرکت زیست‌شیمی، ایران)، تری‌گلیسرید پس از انعقاد نمونه خون توسط ماده ضدانعقاد هپارین و انتقال به سانتریفیوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه و سرم خون با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون به‌روش کالریمتریک با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل- UV/VIS ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) با طول موج ۵۴۰ نانومتر، هورمون‌های تیروکسین(۴T) و تری‌یدوتیرونین (۳T) با کمک کیت انسانی (شرکت پیشتاز طب، ایران) و به‌روش الیزا (Squires، ۲۰۰۳) اندازه‌گیری شدند. برای تفکیک لیپوپروتئین‌های سرم خون از روش الکتروفورز روی ژل (ساخت شرکت سبیا – سویس Sebia) استفاده شد. این لیپوپروتئین‌ها شامل لیپوپروتئین با چگالی بالا (High density lipoprotein: HDL)، لیپوپروتئین با چگالی کم (Low density lipoprotein: LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (Very low density lipoprotein: VLDL) هستند (Folch و همکاران، ۱۹۵۷). در این روش بعد از آماده‌سازی محلول‌ها (محلول بافر باربیتال با pH= ۸/۲، محلول سودان بلاک، محلول رنگ‌زدایی و محلول شستشو (بارگذاری نمونه‌ها روی ژل، انتقال به تانک الکتروفورز pH = ۸/۲، ولتاژ ۵۰ ولت و شدت جریان ۲±۱۱ میلی‌آمپر به‌مدت ۹۰ دقیقه) صورت گرفت. سپس ژل از تانک خارج و به‌مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور (۷۵ درجه‌سانتی‌گراد) قرار گرفت و بعد از رنگ‌آمیزی، تثبیت رنگ انجام شد. در نهایت ژل خشک شده با استفاده از نرم‌افزار فتو ای پی و به‌کمک اسکنر و کامپیوتر مورد دانسیتومتری قرار گرفت و ضمن رسم منحنی الکتروفوروگرام لیپوپروتئین‌های سرم خون،درصد هریک از بخش‌های لیپوپروتئین به‌وسیله دستگاه تعیین و در فرم‌هایی که برای ثبت نتایج تهیه گردیده ثبت گردید.

شاخص‌های ایمنی: برای این کار تعداد ۳ قطعه ماهی از هر آکواریوم(۹ عدد به‌ازاء هر تیمار) به‌صورت تصادفی انتخاب و نمونه‌های خونی با استفاده از سرنگ‌های غیرهپارینه ۲ میلی‌لیتری و از ورید ساقه دمی ماهیان (یک به یک بدون مخلوط کردن گرفته شد. میزان فعالیت لیزوزیم سرم بر مبنای لیز باکتری گرم مثبت حساس *Micricoccus lysodeikticus* (Sigma, USA) و در حضور رقت‌های لیزوزیم سفیده تخم مرغ (Sigma, USA) در مبنای یک دوم به‌عنوان استانداردانداره‌گیری شد(Clerton و همکاران، ۲۰۰۱؛ Kim و Austin، ۲۰۰۶). فعالیت کمپلمان سرم نیز براساس همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش (RaRBC) و به‌کمک روش Waley and North (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان فعالیت کمپلمان با استفاده از کاغذ شطرنجی (Log-Log Graph) منحنی لیز رسم شد. طبق تعریف حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود. برای محاسبه فعالیت کمپلمان نمونه از رابطه زیر استفاده گردید:

$$ACH50\ (U\ ml\text{-}1) = k \times (\text{رقت فاکتور}) \times 0.5$$

در این رابطه k مقداری از سرم است برحسب میلی‌لیتر که موجب ۵۰ درصد همولیز می‌شود، ۰/۵ عدد ثابت بوده و فاکتور رقت در این تست ۰/۰۱ می‌باشد چون سرم ۱۰۰ مرتبه رقیق شده است.

سنجش میزان ایمونوگلوبولین‌های IgG، IgM و IgA در نمونه‌های سرم براساس روش کدورت‌سنجی (توربیدومتری) (Yamamoto و Yonemasu، ۱۹۹۹)بااستفاده از کیت‌سنجش‌ایمونوگلوبولین (ساخت شرکت Biosystems اسپانیا) صورت گرفت (Narayanan، ۱۹۸۲).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی: بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی، سه عدد ماهی از هر تکرار (۹ ماهی از هر تیمار) صید و پس از انجام بی‌هوشی عمیق و در مجاورت یخ قرار داده و کالبدگشایی شدند. زوائد پیلوریک و روده به‌سرعت با آب مقطر شسته، با حوله کاغذی خشک و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد. زوائد و روده (۲۵ گرم در هر

۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر) با استفاده از یک هموژنیزه کننده (DI ۱۸ Disperser) همگن و سپس به نسبت ۱ به ۹ (وزنی/ حجمی) با بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار مخلوط در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۵دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس جداسازی مایع رویی از سوسپانسیون حاصله جهت سنجش آنزیمی انجام گرفت (Pérez-Jiménez و همکاران، ۲۰۰۷). جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، روده ماهیان به‌روش Cahu و همکاران (۱۹۹۹) آماده‌سازی و بلافاصله در شرایط انجماد ۱۹۶- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگه‌داری شدند (Kuz'mina و همکاران، ۲۰۱۰). برای سنجش آنزیم‌های تریپسین، لیپاز و آمیلاز ابتدا نمونه‌های منجمد شده سریعاً، توزین گردیده و قبل از ذوب شدن کامل، به نسبت ۱ به ۹ (وزنی/ حجمی) با بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار مخلوط و در حضور یخ عمل یکنواخت‌سازی با هموژنایزر الکتریکی صورت گرفت (Cahu و همکاران، ۱۹۹۹؛ Rungruangsak-Torrissen و همکاران، ۲۰۰۶) استفاده گردید. در این روش از امولسیون روغن زیتون به‌عنوان سو بسترا استفاده شد. در نهایت جهت تعیین فعالیت آمیلاز از نشاسته به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید (Worthinton، ۱۹۹۱).

فعالیت آنزیم‌های کبدی: در این مطالعه سنجش آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، به‌وسیله دستگاه بیوشیمی آنالایزر (Auto Analyzer Technicon R.A) ساخت شرکت اپندورف آلمان طبق دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون مورد سنجش قرار گرفت.

آنالیزهای شیمیایی (ترکیب شیمیایی، مارکر، گلوکوسینولات): ماده خشک (خشک کن آون، ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد)، پروتئین خام (از طریق روش کجلدال)، چربی خام (به‌روش سوکسله)، انرژی ناخالص (بمب الکتریکی مدل پار)، فیبر خام، خاکستر (کوره الکتریکی در ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶ ساعت)، عصاره عاری از نیتروژن (به‌صورت محاسباتی) کنسانتره‌های پروتئینی کانولا، اقلام غذایی، غذایی آزمایشی و مدفوع ماهیان تحت تیمار (n=۳) به‌روش نمونه‌برداری تصادفی نقطه‌ای ساده (Lichon، ۱۹۹۶) پس از این‌که نمونه‌ها در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶ ساعت خشک و به وزن ثابت رسیدند، طبق روش‌های استاندارد تعیین شد (AOAC، ۲۰۰۵). ماده آلی با کسر ماده خشک از خاکستر محاسبه شد. گلوکوسینولات با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا و بر اساس اندازه‌گیری گلوکز حاصل از شکسته شدن گلوکوسینولات به وسیله آنزیم مایروزینا (Quinsac و همکاران، ۱۹۹۱) تعیین گردید. جیره‌های غذایی آزمایشی و مدفوع حاصل از تیمارها در شرایط خلا خشک (۱۰۰- درجه سانتی‌گراد) و در دمای ۵۰۰ سانتی‌گراد در مدت ۶ ساعت به خاکستر تبدیل و با اسیدهای پرکلریک و نیتریک هضم گردیدند. اکسیدایتربیوم موجود در جیره‌های غذایی آزمایشی و مدفوع حاصل از تیمارها توسط طیف‌سنج ICP (GBC Integra XL, Australia) اندازه‌گیری شد (McQuaker و همکاران، ۱۹۷۹).

آنالیز آماری: کلیه داده‌های درصدی به‌صورت $\arcsin\sqrt{x}$ تبدیل شدند. بعد از تحقق دو شرط اصلی تجزیه واریانس همگن‌بودن واریانس و نرمال‌بودن داده‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون‌های لیونز و کولموگروف اسیمرنوف (Zar، ۱۹۹۹) از آزمون تجزیه‌واریانس یک‌طرفه برای مقایسه واریانس بین تیمارها و از آزمون دانکن برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (در سطح اعتماد ۵ درصد) از طریق نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ استفاده به‌عمل آمد. تحلیل روابط رگرسیونی با استفاده از نرم‌افزار SigmaplotTM نسخه ۱۱ انجام شود.

نتایج

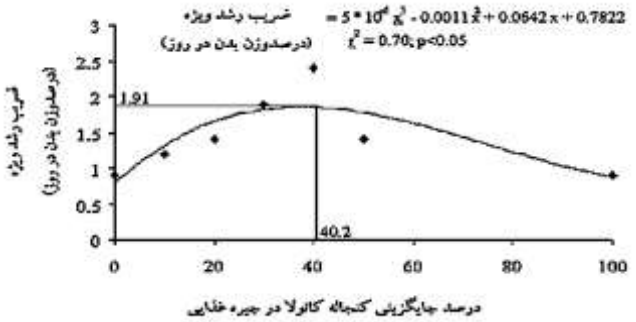
عملکرد رشد و کارائی تثبیت مواد مغذی: همان‌طورکه در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد تغذیه ماهی پاکو با سطوح مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) کنجاله کانولا در طی ۶۳ روز منجر به افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) وزن نهایی (۵۰/۷۷-۲۱۴/۹۸ گرم) نسبت به تیمار شاهد (۱۰۲/۵۹ گرم) و جیره‌غذایی حاوی ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا (۸۲/۷۳ گرم) شد. هم‌چنین بیش‌ترین میزان معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) وزن نهایی مربوط به ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۴۰ درصد کنجاله کانولا بود (جدول۲). بیش‌ترین میزان معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۴۰ درصد (۲/۴۷ درصد وزن بدن در روز) کنجاله کانولا مشاهده شد (جدول۲). هم‌چنین میزان رشد ویژه ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی‌حاوی ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت آماری معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (جدول۲). رابطه رگرسیون (r^2 =۰/۷) معنی‌داری بین میزان جایگزینی کنجاله کانولا در جیره غذایی و میزان رشد ویژه وجود داشت ($p<۰/۰۵$) (شکل۱). براساس تکنیک خط شکسته مقدار بهینه کنجاله کانولا ۴۰/۲ درصد به‌دست آمد (شکل۱). کم‌ترین (۱/۷۳) و بیش‌ترین (۲/۷۳) میزان معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی حاوی ۴۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا به‌دست آمد (جدول۲). فاکتور وضعیت در ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد کانولا (۴۱/۳-۲/۳ درصد) به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد (۱/۹ درصد) و جیره‌های غذایی حاوی ۵۰ و ۱۰۰(۱/۸۴-۱/۷۸ درصد) درصد کنجاله کانولا بود (جدول۲). استفاده از سطوح مختلف کنجاله کانولا (۱۰-۱۰۰ درصد) منجر به افزایش معنی‌دار مصرف اختیاری غذا (۹۵/۰۹-۱/۲ درصد وزن بدن در روز) در ماهی پاکو در مقایسه با مصرف تیمار شاهد (۱/۸۷ درصد وزن بدن در روز) شد (جدول۲). هم‌چنین با افزایش سطح جایگزینی کنجاله

کانولا از ۱۰ درصد به ۴۰ درصد در تیمارهای آزمایشی، مصرف اختیاری غذا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. هر چند که بین مصرف اختیاری غذا در جیره‌های غذایی حاوی ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا تفاوتی مشاهده نشد(جدول۲).میزان بقای ماهیان پاکوی آزمایشی در تمام تیمارها ۱۰۰ درصد به‌دست آمد (جدول۲). شاخص کبدی در ماهیان پاکوی تغذیه شده با کنجاله کانولا تا ۴۰ درصد (۲/۴۴-۲/۳۷ درصد) موجب ایجاد تفاوت آماری معنی‌داری با جیره شاهد (۲/۲۷ درصد) نشد ولی با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا، این شاخص در جیره‌های غذایی حاوی ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا به‌طور معنی‌داری نسبت به جیره شاهد افزایش یافت ($p<0/05$) (جدول۲). روابط رگرسیون معنی‌داری بین میزان گلوگو سینولات موجود در کنجاله کانولا تغذیه شده به ماهی پاکو با میزان رشد ویژه ($r^2=0/83$) و ضریب تبدیل غذایی ($r^2=0/94$) وجود داشت (شکل۲). حداکثر غلظت گلوکوسینولات قابل تحمل در ماهی پاکو بر حسب میزان رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب ۵/۲۲ و ۴/۹۰ میکرومول بر گرم به‌دست آمد (شکل۲). هم‌چنین روابط رگرسیون معنی‌داری($p<0/05$) بین میزان فیتات موجود در کنجاله کانولا تغذیه شده به ماهی پاکو با میزان رشد ویژه ($r^2=0/84$) و ضریب تبدیل غذایی ($r^2=0/94$) وجود داشت (شکل۳). حداکثر غلظت فیتات قابل تحمل در ماهی پاکو بر حسب میزان رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب ۶/۵۲ و ۶/۱۲ گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد(شکل۳). با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا از ۱۰ تا ۴۰ درصد شاخص کبدی تفاوت آماری معنی‌داری را با جیره شاهد نشان نداد هر چند که با افزایش سطح استفاده از ۵۰ به ۱۰۰ درصد شاخص کبدی به‌طور معنی‌داری ($p<0/05$) نسبت به جیره شاهد و تیمارهای دیگر افزایش یافت (جدول۲).

جدول ۲: میانگین ([1]±SD) شاخص‌های عملکرد رشد، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، فاکتور وضعیت (درصد;CF)، مصرف اختیاری غذا (درصد افزایش وزن بدن در روز; VFI)، ضریب بقا (درصد; SR) و شاخص‌های کبدی (درصد; HSI) در ماهی پاکو تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا (CM) به‌مدت ۶۳ روز با ۳ تکرار ([2]n=۳)

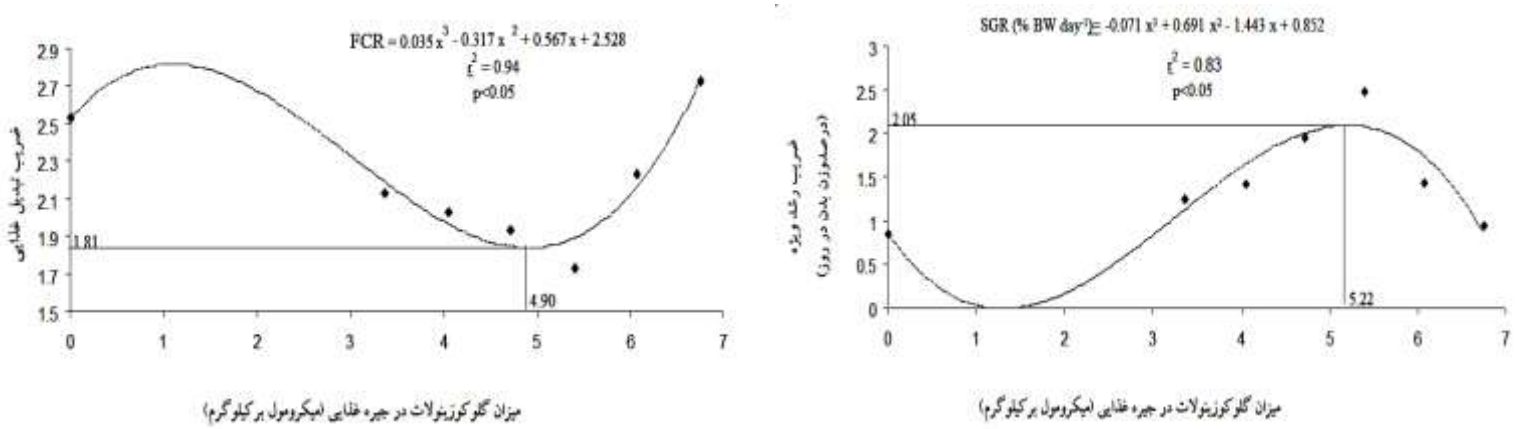
شاهد	سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی (درصد) توسط کنجاله کلزا (CM)					
	CM۱۰	CM۲۰	CM۳۰	CM۴۰	CM۵۰	CM۱۰۰
وزن اولیه (گرم)	۴۵,۱۸±۰,۲۸[a]	۴۴,۹۴±۰,۴۵[a]	۴۵,۳۵±۰,۱[a]	۴۵,۱۹±۰,۴۲[a]	۴۵,۲۵±۰,۱۴[a]	۴۵,۴۱±۰,۳۹[a]	۴۵,۴۷±۰,۱۲[a]
وزن نهایی (گرم)	۷۵,۷۴±۵,۹۶[a]	۹۸,۷۷±۹,۴۵[b]	۱۱۰,۹۴±۸/۶[c]	۱۵۵,۳۵±۸,۶[d]	۲۱۴,۵±۱۲/۳۳[e]	۱۱۱,۷۹±۶,۱[c]	۸۲,۷۳±۵,۹۶[a]
ضریب رشد ویژه (درصد وزن بدن در روز)	۰,۸۵±۰,۱[a]	۱,۲۵±۰,۱[b]	۱,۴۲±۰,۱[c]	۱,۹۶±۰,۱[d]	۲,۴۷±۰/۱[e]	۱,۴۳±۰,۱[c]	۰,۹۴±۰,۱[a]
ضریب تبدیل غذایی	۲,۵۳±۰/۱۵[e]	۲,۱۳±۰,۱[cd]	۲,۰۳±۰,۱[bc]	۱,۹۳±۰,۱[b]	۱,۷۳±۰,۱[a]	۲,۲۳±۰,۱[d]	۲,۷۳±۰,۱[f]
فاکتور وضعیت (درصد)	۱,۹±۰,۱[a]	۲,۴۱±۰,۲۷[b]	۲,۵۸±۰,۱۳[bc]	۲,۷۳±۰,۲۳[c]	۳,۳±۰,۱۲[d]	۱,۷۸±۰,۱۲[a]	۱,۸۴±۰,۱۱[a]
مصرف اختیاری غذا (درصد وزن بدن در روز)	۱,۸۷±۰,۱۱[a]	۱,۹۵±۰,۱۵[b]	۱,۹۶±۰,۲۱[b]	۲,۰۲±۰,۱۲[c]	۲,۰۶±۰,۰۱۶[d]	۱,۹۳±۰,۱۵[b]	۱,۹±۰,۲۲[b]
ضریب بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
شاخص‌های کبدی (درصد)	۲,۲۷±۰,۳۴[a]	۲,۳۷±۰,۰۶[a]	۲,۴±۰,۱[ab]	۲,۴۳±۰,۱۵[ab]	۲,۴۴±۰,۰۶[ab]	۲,۹۳±۰,۰۷[c]	۳,۲۳±۰,۱۵[d]

[1] انحراف معیار؛ [2] ردیف‌هایی (a-f) با حداقل یک حرف غیرمشترک در سطح آماری ۵ درصد، تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

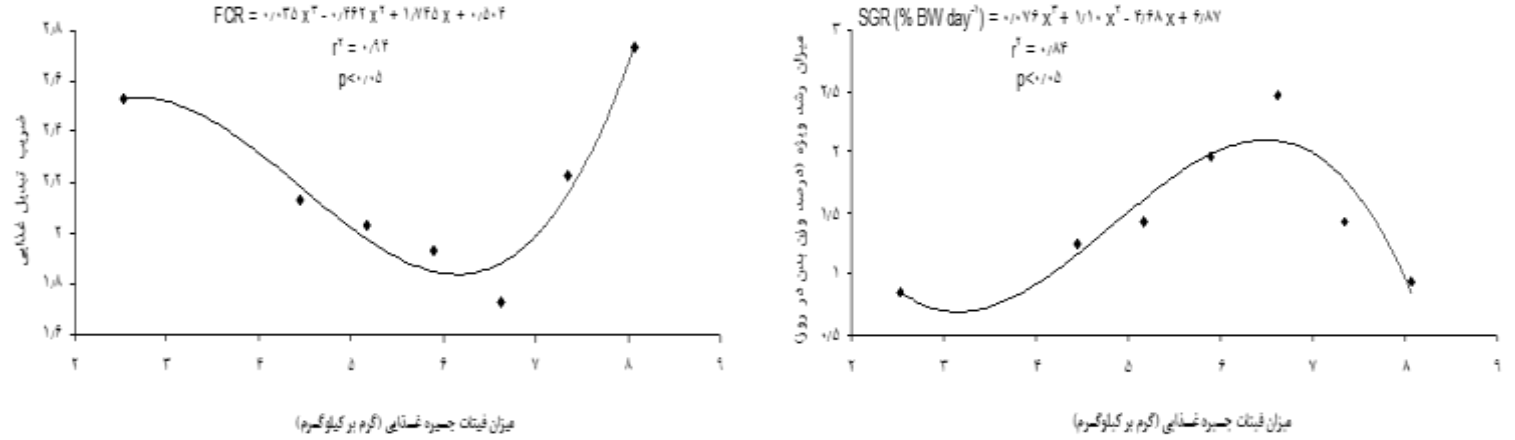


شکل۱: مدل‌های رگرسیون چند جمله‌ای بین درصد جایگزینی کنجاله کانولا در جیره غذایی و ضریب رشد ویژه (SGR؛ درصد وزن بدن در روز) در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا به‌مدت ۶۳ روز در ۳ تکرار ($p<0/05$)

میزان ضریب قابلیت هضم ظاهری *In vivo* جیره‌های آزمایشی: کم‌ترین و بیش‌ترین میزان ($p<0/05$) ضرایب قابلیت هضم ظاهری *In vivo* (ماده خشک، ماده آلی، چربی خام و انرژی ناخالص) به‌ترتیب در ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۰۰ درصد کنجاله کانولاو جیره شاهد به‌دست آمد (جدول۳). با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا (۱۰۰-۱۰ درصد)، میزان ضریب قابلیت هضم ظاهری پروتئین روند کاهشی(از ۸۵/۱۷ به ۴۲/۹۷ درصد)را نشان داد (جدول۳). در این رابطه روند مشابهی در مورد ضرایب قابلیت هضم ظاهری چربی خام و انرژی ناخالص به‌دست آمد (جدول۳). نسبت کارایی پروتئین در تیمارهای غذایی حاوی ۱۰ تا ۴۰ درصد کنجاله کانولا و جیره شاهد در دامنه ۱/۸۹ تا ۲/۰۵ قرار داشت که تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر نشان نداد هر چند که با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا (از ۵۰ درصد تا ۱۰۰ درصد) این نسبت روند کاهشی معنی‌داری (از ۱/۵۳ به ۱/۱۵) داشت. کم‌ترین و بیش‌ترین میزان ارزش تولیدی پروتئین به‌ترتیب در جیره‌های غذایی حاوی ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا (۳۷/۳۳ درصد) و شاهد (۵۲/۶۵ درصد) به‌دست آمد (جدول۳).



شکل۲: مدل‌های رگرسیون چندجمله‌ای بین محتوای گلوکوزینولات در جیره غذایی (میکرومول برکیلوگرم) و (راست) ضریب رشد ویژه (SGR؛ درصد وزن بدن در روز) و (چپ) ضریب تبدیل غذایی (FCR) در ماهی پاکو، تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کلزا به‌مدت ۶۳ روز در سه تکرار (p<۰/۰۵)



شکل۳: مدل‌های رگرسیون چندجمله‌ای بین محتوای فیتات در جیره غذایی (میکرومول برکیلوگرم) و (راست) ضریب رشد ویژه (SGR؛ درصد وزن بدن در روز) و (چپ) ضریب تبدیل غذایی (FCR) در ماهی پاکو، تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کلزا به‌مدت ۶۳ روز در سه تکرار (p<۰/۰۵)

جدول ۳: میانگین (±SD[1]) قابلیت هضم In vivo ماده خشک (درصد; ADCDM)، ماده آلی (درصد; ADCOM) پروتئین خام(درصد; ADCCP)، فیبر خام (درصد; ADCCF) و انرژی ناخالص (درصد; ADCGE) و بازده و کارایی پروتئین (درصد; PER) و ارزش تولیدی پروتئین (درصد; PPV) در ماهی پاکو تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا (CM) به‌مدت ۶۳ روز با ۳ تکرار[2] (n=۳)

	شاهد	سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی (درصد) توسط کنجاله کلزا (CM)					
		CM۱۰	CM۲۰	CM۳۰	CM۴۰	CM۵۰	CM۱۰۰
قابلیت هضم ماده خشک	۸۹,۱۷±۰/۱۵^{e}	۸۷,۶۳±۰,۳۲^{d}	۸۷,۲۳±۰,۲۱^{d}	۸۷,۲۳±۰,۲۱^{d}	۸۶,۱۷±۰,۲۱^{c}	۷۰,۲۳±۰,۲۵^{b}	۵۹,۲±۰,۲۶^{a}
قابلیت هضم ماده آلی	۸۵,۱۷±۰,۱۵^{g}	۸۴±۰,۱^{f}	۸۳,۱±۰/۲۶^{e}	۸۲,۲۳±۰,۲۱^{d}	۸۱,۳±۰,۲۶^{c}	۶۶,۵±۰,۴۴^{b}	۵۵,۱۷±۰,۲۱^{a}
قابلیت هضم پروتئین خام	۸۵,۱۷±۰,۲۱^{f}	۸۵,۲۳±۰,۲۱^{f}	۸۴,۱±۰/۱^{e}	۸۳,۲۳±۰,۲۱^{d}	۸۲,۳۳±۰,۴۹^{c}	۶۴,۳±۰,۵۲^{b}	۴۲,۹۷±۰,۹۵^{a}
قابلیت هضم فیبر خام	۸۸,۲۳±۰,۲۱^{f}	۸۷,۲±۰/۲۶^{e}	۸۷,۳±۰/۲۶^{e}	۸۶,۲۷±۰,۲۵^{d}	۸۵,۰۷±۰,۰۶^{c}	۷۲,۴±۰,۴۶^{b}	۵۴,۷۷±۰,۳۲^{a}
قابلیت هضم انرژی ناخالص	۹۱,۱±۰,۲۶^{f}	۹۰,۲±۰/۲۰^{e}	۹۰,۶۳±۰/۵۵^{ef}	۸۹,۲۳±۰,۲۵^{d}	۸۸,۲۳±۰,۲۱^{c}	۷۵,۴±۰,۴۶^{b}	۵۸,۲±۰,۲۶^{a}
کارایی پروتئین	۲,۰۵±۰,۰۳^{cd}	۱,۹۸±۰,۳۱^{c}	۱,۹۶±۰,۰۲^{c}	۱,۹۴±۰,۰۲^{c}	۱,۸۹±۰,۰۱^{c}	۱,۵۳±۰,۰۵^{b}	۱,۱۵±۰,۰۴^{a}
ارزش تولیدی پروتئین	۵۲,۶۵±۰,۴۹^{cd}	۵۲,۵۵±۰,۴^{cd}	۵۲,۴±۰,۳۶^{cd}	۵۱,۱۳±۰,۷۱^{c}	۵۱,۰۹±۰,۲۱^{c}	۴۲,۳±۰,۴۴^{b}	۳۷,۳۳±۰,۵^{a}

[1] انحراف معیار، [2] بالانویس های متفاوت (a-f) درون یک ردیف برای کلاس مواد غذایی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در p<۰/۰۵ می‌باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خونی: میزان گلوکز سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۰ تا ۱۰۰ درصد کنجاله کانولای روند افزایشی معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان نداد (جدول۴). میزان پروتئین محلول سرم خون ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۰ تا ۴۰ درصد کنجاله کانولا تفاوت معنی‌داری را با جیره شاهد نشان نداد هر چند که با افزایش سطح استفاده به ۵۰ تا ۱۰۰ درصد میزان پروتئین محلول سرم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت(جدول۴).میزان تیروکسین و تری‌یدوتیرونین پلاسمای خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیش‌تر از جیره‌های غذایی حاوی ۱۰تا ۳۰ درصد کنجاله کانولا و جیره شاهد بود. در این رابطه با افزایش سطح استفاده ازکنجاله کانولا از ۵۰ به ۱۰۰ درصد نسبت تری یدوتیرونین به تیروکسین به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نسبت به تیمار شاهد و جیره‌های غذایی حاوی ۱۰، ۲۰ و ۳۰درصد افزایش یافت(جدول۴).بیش‌ترین‌میزان($p<۰/۰۵$) کلسترول تام و تری گلیسرید سرم در ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره غذایی شاهد(به‌ترتیب ۵۲۳ و ۵۳۷/۶۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)بود (جدول۴). با افزایش سطح استفاده از ۱۰ به ۱۰۰ درصد در جیره غذایی، روند کاهشی معنی‌داری در مقدار کلسترول تام (از ۴۹۸/۶۷ به ۳۲۱/۳۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (از ۲۶۳/۳۳ به ۵۲ میلی‌گرم بردسی‌لیتر)و بسیارپایین (از ۱۰۵/۳۳به ۷۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) مشاهده شد (جدول۴). هر چند در رابطه با لیپوپروتئین با چگالی بالا روند معکوسی مشاهده شد و میزان آن از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در سرم خون ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱۰ درصد کنجاله کانولا به ۱۹۸/۳۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا رسید (جدول۴).

شاخص‌های ایمنی: میزان لیزوزیم و ایمنوگلوبولین کل سرم خون ماهیان پاکوی تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیش‌تر از جیره غذایی شاهد بود (جدول۴). تغذیه ماهی پاکو با جیره‌های غذایی حاوی ۴۰ و ۵۰ درصد کنجاله کانولا بیش‌ترین میزان معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) لیزوزیم (۴/۲۰-۴/۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ایمنوگلوبولین کل (۳/۰۹-۳/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمپلمان (۱۲/۰۹-۳/۳ واحد بر میلی‌لیتر) را موجب شد (جدول۴).

میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی: با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا از ۱۰ به ۱۰۰ درصد، میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی آمیلاز، لیپاز و تریپسین به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول۵). بیش‌ترین میزان ($p<۰/۰۵$) فعالیت آمیلاز، لیپاز و تریپسین در روده ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا مشاهده شد (جدول۵).

جدول ۴: میانگین (±SD[1]) شاخص‌های بیوشمیایی و ایمنی سرم در ماهی پاکو تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا (CM) به‌مدت ۶۳ روز با ۳ تکرار[2] (n=۳)

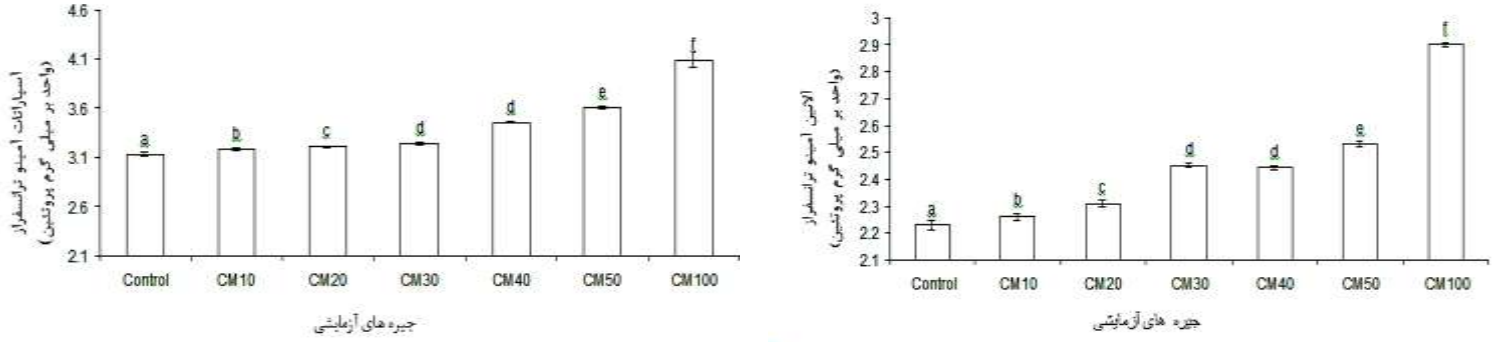
	شاهد	سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی (درصد) توسط کنجاله کلزا (CM)					
		CM۱۰	CM۲۰	CM۳۰	CM۴۰	CM۵۰	CM۱۰۰
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۷۱,۸۳±۰,۲۱^{a}	۷۱,۶۷±۰,۲۱^{a}	۷۱,۵۷±۰,۲۱^{a}	۷۱,۴±۰,۳۶^{a}	۷۱,۶±۰,۱^{a}	۷۱,۵±۰,۳۶^{a}	۷۱,۶۳±۰,۲۳^{a}
پروتئین محلول (گرم بر دسی‌لیتر)	۲,۲۵±۰,۲۱^{b}	۲,۲۴±۰,۱۸^{b}	۲,۲۳±۰,۱۲^{b}	۲,۲۲±۰,۱۵^{b}	۲,۱۸±۰,۱۲^{b}	۱,۹۷±۰,۱۲^{a}	۱,۹۵±۰,۱۸^{a}
تیروکسین (نانوگرم بر دسی‌لیتر)	۱,۱۸±۰,۰۲^{a}	۱,۱۹±۰,۰۴^{ab}	۱,۲۱±۰,۰۲^{ab}	۱,۲۳±۰,۰۲^{b}	۱,۲۷±۰,۰۲^{c}	۱,۲۸±۰,۰۲^{c}	۱,۲۷±۰,۰۲^{c}
تری یدوتیرونین (نانوگرم بر دسی لیتر)	۱,۴۷±۰,۰۲^{a}	۱,۵۵±۰,۰۱^{a}	۱,۸۸±۰,۰۱^{b}	۱,۹±۰,۰۲^{b}	۲,۰۳±۰,۰۸^{c}	۲,۱۲±۰,۱۱^{c}	۲,۱۳±۰,۱۲^{c}
تری یدوتیرونین /تیروکسین	۱,۲۵±۰,۰۰۳^{a}	۱,۳±۰,۰۳^{a}	۱,۵۵±۰,۰۲^{b}	۱,۵۵±۰,۰۲^{b}	۱,۶±۰,۰۵^{bc}	۱,۶۵±۰,۰۶^{c}	۱,۶۷±۰,۰۷^{c}
کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵۲۳,۳۵±۱,۱۱^{g}	۴۹۸,۶۷±۱,۵۳^{f}	۴۸۸,۱۳±۲/۶۵^{e}	۴۶۵,۲۳±۵,۱۴^{d}	۳۹۵,۶۷±۴,۰۴^{c}	۳۷۳,۱۳±۱,۲۵^{b}	۳۲۱,۳۳±۱,۵۳^{a}
تری گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۵۳۷,۶۷±۲,۵۲^{g}	۵۲۶,۶۷±۳,۵۱^{f}	۵۱۵,۶۷±۵/۱۳^{e}	۴۴۴±۷,۲۱^{d}	۳۹۷±۳,۶۱^{c}	۳۷۳,۶۷±۵,۵۱^{b}	۳۵۵±۴,۳۶^{a}
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۲۸,۳۳±۱,۵۳^{a}	۱۳۰,۱۲±۱,۱۴^{a}	۱۴۱,۶۷±۱,۵۳^{b}	۱۵۲,۳۳±۲,۰۸^{c}	۱۷۶,۱۵±۲,۱۳^{d}	۱۸۷,۶۷±۳/۲۱^{e}	۱۹۸,۳۳±۱,۵۳^{f}
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۸۷,۱۳±۱,۰۳^{g}	۲۶۳,۳۳±۰,۳۱^{f}	۲۴۳,۰۲±۲/۳۱^{e}	۲۲۳,۸۷±۵,۳۳^{d}	۱۴۰,۲۷±۱,۵^{c}	۱۱۰,۰۶±۳,۰۸^{b}	۵۲,۱۲±۰,۸۷^{a}
لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰۷,۵۳±۰,۵۱^{g}	۱۰۵,۳۳±۰,۷۱^{f}	۱۰۳,۱۳±۱/۱۳^{e}	۸۸,۸۵±۱,۴۴^{d}	۷۹,۴۲±۰,۷۲^{c}	۷۴,۷۳±۱,۱۸^{b}	۷۱,۱۳±۰,۸۷^{a}
لیزوزیم (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۳,۲۳±۰,۰۶^{a}	۳,۴۲±۰,۱۲^{b}	۳,۵۳±۰,۰۶^{c}	۳,۷۷±۰,۰۶^{d}	۳,۹۳±۰/۰۶^{e}	۴,۲۱±۰,۱۳^{f}	۴,۱۳±۰,۰۶^{f}
ایمونوگلوبولین (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	۱,۸۹±۰,۰۲^{a}	۲,۰۹±۰,۰۸^{b}	۲,۲۶±۰,۰۷^{c}	۲,۵±۰,۰۵^{d}	۲,۷۳±۰/۰۳^{e}	۳,۰۹±۰,۰۸^{f}	۳,۱۱±۰,۱۲^{f}
کمپلمان (واحد بر میلی‌لیتر)	۲,۱۳±۰,۰۲^{a}	۲,۱۸±۰,۰۱۲^{a}	۲,۳۲±۰,۰۱۴^{b}	۲,۴۲±۰,۰۲^{b}	۲,۹۴±۰,۰۴^{c}	۳,۰۹±۰,۰۸^{d}	۳,۱۲±۰,۱۱^{d}

[1] انحراف معیار؛ [2] بالانویس‌های متفاوت (a-g) درون یک ردیف برای کلاس مواد غذایی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در $p<۰/۰۵$ می‌باشد.

جدول ۵: میانگین (±SD[1]) فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی پاکو تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا (CM) به‌مدت ۶۳ روز با ۳ تکرار (n=۳)[2]

	شاهد	سطوح مختلف جایگزینی پودر ماهی (درصد) توسط کنجاله کلزا (CM)					
		CM۱۰	CM۲۰	CM۳۰	CM۴۰	CM۵۰	CM۱۰۰
آمبلاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۰,۵۵±۰,۰۵^{a}	۰,۶۲±۰,۰۲^{b}	۰,۶۴±۰,۰۴^{b}	۰,۷۴±۰,۰۴^{c}	۰,۸۴±۰,۰۳^{d}	۱,۰۶±۰/۰۵^{e}	۱,۱۳±۰,۰۳^{f}
لیپاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۱,۵۲±۰,۰۲^{a}	۱,۶۲±۰,۰۲^{b}	۱,۹۱±۰,۰۲^{c}	۱,۹۱±۰,۰۱^{c}	۲,۰۸±۰,۰۷^{d}	۲,۱۲±۰,۰۳^{d}	۲,۲۳±۰/۰۵^{e}
تریپسین (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	۲,۳۶±۰,۰۳^{a}	۲,۴۲±۰,۰۱^{b}	۲,۵±۰,۰۱^{c}	۲,۶۱±۰,۰۱^{d}	۲,۶۲±۰,۰۲^{d}	۲,۹±۰/۰۱^{e}	۳,۰۷±۰,۰۶^{f}

[1] انحراف معیار، [2] بالانویس‌های متفاوت (a-f) درون یک ردیف برای کلاس مواد غذایی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در $p<0/05$ می‌باشد.



شکل۴: میانگین (±SD) فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی (الف) آلانین آمینو ترانسفراز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و (ب) آسپاراتات آمینوترانسفراز در کبد ماهی پاکو تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا (CM) به‌مدت ۶۳ روز با ۳ تکرار ($p<0/05$) (انحراف معیار و جیره‌های آزمایشی از CM۱۰، CM۲۰، CM۳۰، CM۴۰، CM۵۰ و CM۱۰۰ که حاوی ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا)

میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی: کم‌ترین میزان معنی‌دار ($p<0/05$) فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (۲/۲۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (۳/۱۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره غذایی شاهد به‌دست آمد(شکل۴). با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا (۱۰ تا ۱۰۰ درصد)،میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (از ۲/۲۶ به ۲/۹۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (از ۳/۱۶ به ۴/۰۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین)به‌طورمعنی‌داری افزایش یافت (شکل۴).

بحث

عملکرد رشد، کارائی تثبیت مواد مغذی و قابلیت هضم: یکی از راه‌های نیل به آبزی‌پروری ارگانیک و همچنین کاهش تاثیرات زیست‌محیطی این صنعت، استفاده از فراورده‌های گیاهی می‌باشد. مطالعات متعددی در مورد جایگزینی بخش یا تمام پروتئین پودرماهی با منابع پروتئین گیاهی در منابع گزارش شده است (Safari، ۲۰۱۱؛ Zhang و همکاران، ؛ ۲۰۱۲ Lazzaroto و همکاران، ۲۰۱۸). در این ارتباط توجه به نوع گونه (گیاه‌خوار، همه‌چیزخوار و گوشت‌خوار)، وزن اولیه، مدت زمان انجام آزمایش، تاریخچه تغذیه‌ای، نوع و کیفیت فرآورده‌های گیاهی (کنجاله، کنسانتره و ایزوله پروتئینی) و روش استخراج روغن، ترکیب جیره پایه، استفاده از مکمل‌های اسیدآمینه سنتزی(متیونین،لیزین،تورین و...)،خوش‌خوراک کننده‌ها، مکمل‌های آنزیمی، روش ساخت جیره غذایی (پلت سرد، اکسپند و اکسترود)، نرخ غذادهی (بر حسب درصد وزن بدن یا در حد اشتها)، میزان روغن ماهی و نسبت پروتئین به انرژی جیره غذایی و مقدار ترکیبات ضد تغذیه‌ای جیره‌غذایی(Gatlin وهمکاران، ۲۰۰۷؛Glencross و همکاران، ۲۰۰۷؛ Safari، ۲۰۱۱) می‌تواند به تفسیر بهتر نتایج کمک نماید.

بر اساس اطلاعات نویسندگان، مطالعه حاضر اولین گزارش استفاده از کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکو می‌باشد. نتایج نشان داد تا حدود ۴۰/۲ درصد کنجاله کانولا را می‌توان در جیره ماهی پاکو (با وزن اولیه ۴۵/۱۲ به‌مدت ۶۳ روز) بدون تاثیر بر میزان رشد ویژه استفاده نمود.جایگزینی ۴۰ درصد پروتئین پودر ماهی با پروتئین کنجاله کانولا (با مکمل اسیدآمینه متیونین) به‌مدت ۹۰ روز در جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) با وزن اولیه ۱/۲۱ گرم (Yigit و Olmez، ۲۰۰۹)؛ ۳۳ درصد کنجاله کانولا (بدون مکمل اسیدآمینه) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) ۲۶/۷ گرمی به‌مدت ۵۶ روز (Slawski و همکاران، ۲۰۱۱)؛ حداقل ۵۰ درصد مخلوط کنجاله کانولا و پودر کلزا (بدون استفاده از مکمل) در جیره غذایی ماهی کاراس (*Carassius auratus* gibelio) ۱/۷۷

گرمی به‌مدت ۴۲ روز (Shi و همکاران، ۲۰۱۷) و ۵۰ درصد کنجاله کانولا (با مکمل اسید آمینه متیونین و لیزین) در جیره غذایی ماهی بریم پوزه باریک (*Megalobrama amblycephala*) ۱/۳ گرمی به‌مدت ۱۱۲ روز (Zhou و همکاران، ۲۰۱۸) تاثیری بر میزان رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی با نرخ بقا نداشت در این گزارش‌ها تولید پلت به روش سرد بود ولی در مطالعه حاضر پلت جیره‌های آزمایشی به‌روش اکسترود تک شافت تولید گردید. با توجه به اینکه گونه‌های فوق گیاه‌خوار تا همه‌چیزخوار بوده و لذا مشابه رژیم غذایی ماهی پاکوی مورد آزمایش(میوه‌خوار/همه‌چیزخوار) می‌باشد. از طرفی فرآیند تولید غذای اکسترود (با شرایط دما و رطوبت زیاد) موجب حذف یا کاهش ترکیبات ضدتغذیه‌ای (فیتات و گلوکوسینولات‌ها) می‌شود (Francis و همکاران، ۲۰۰۱). لذا به‌نظر می‌رسد که ماهی پاکو به ترکیبات فیتات و گلوکوسینولات موجود در جیره غذایی حساس‌تر باشد. بر حسب شاخص اسیدهای آمینه ضروری کیفیت پروتئین موجود در کنجاله کانولا (۹۵ درصد) برابر با پروتئین پودر ماهی هرینگ (۹۴ درصد) و بهتر از پروتئین کنجاله سویا (۹۱ درصد) می‌باشد. لذا محصولات پروتئینی کانولا دارای کیفیت عالی برای ماهیان می‌باشند به شرطی که اسیدهای امینه آن به‌طور کامل در دسترس بوده و هیچ عاملی برای استفاده از پروتئین ایجاد محدودیت نکند. عدم وجود تفاوت معنی‌دار در بقای ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله کانولا با جیره شاهد موید این مطلب می‌باشد هر چند که ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی ۱۰ تا ۴۰ درصد کنجاله کانولا شاخص وضعیت بهتری را نسبت به جیره شاهد و جیره‌های غذایی حاوی ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا نشان دادند که این امر می‌تواند به‌دلیل بهبود عملکرد رشد و نسبت کارایی استفاده از پروتئین باشد. استفاده‌ازحداکثر ۳۰ و ۲۰ درصدکنجاله‌کانولای به‌ترتیب عصاره‌گیری شده در حلال و تحت فشار (با دمای حداکثر ۶۰ درجه سانتی‌گراد) در جیره غذایی ماهی باس دریایی (*Lates calcarifer*) با وزن اولیه ۵۳/۴ گرمی با استفاده از مکمل اسیدآمینه (لیزین، متیونین و هیستیدین) و تولید شده به‌روش اکسترود دو شافت تاثیری بر رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان بقا نداشت (Ngo و همکاران، ۲۰۱۶). به‌نظر می‌رسد به‌دلیل تفاوت گونه‌ای بین ماهی باس دریایی با ماهی پاکوی مورد آزمایش موجب کاهش سطح پذیرش استفاده از کنجاله کانولای فرآوری شده علی‌رغم فرایند عصاره‌گیری و اکسترود شده است. در این ارتباط، تغذیه ماهی شانک دریایی قرمز(*Pagrus major*) با جیره‌های غذایی تولید شده به‌روش پلت سرد حاوی کنجاله کانولا تخمیر شده با مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*)و قارچ *Aspergilus oryzae* (به‌ترتیب به‌میزان ۵۶/۲۵ و ۵۰ درصد) غنی شده با مکمل اسیدآمینه (لیزین و متیونین) و خوش‌خوراک کننده (پودر کریل و اسکوئید) تاثیری بر میزان رشد ویژه و میزان بقا نداشت (Dossou و همکاران، b۲۰۱۸، a۲۰۱۸). نتایج این گزارش با مطالعه حاضر نیز تناقض دارد. علت افزایش سطح پذیرش کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی شانک دریایی قرمز علی‌رغم گوشت‌خوار بودن این ماهی نسبت به ماهی پاکوی مطالعه حاضر و ماهی باس دریایی را می‌توان به بهبود کیفیت شیمیایی کنجاله کانولا از طریق فن‌آوری تخمیر در شرایط جامد مرتبط دانست (Safari، ۲۰۱۱). به‌نظر می‌رسد این روش فرآوری با کاهش یا حذف ترکیبات ضدتغذیه‌ای و هم‌چنین کاهش وزن مولکولی پروتئین موجود در کنجاله موجب افزایش سطح پذیرش این ترکیب در جیره غذایی شده است. حذف ترکیبات ضد تغذیه‌ای، بهبود ساختار، طعم مزه غذاهای با منشاء گیاهی به کمک گونه‌های قارچی‌عمدتاً ازطریق‌مصرف‌ترکیبات کربوهیدراتی سوبسترا، ترشح آنزیم‌های موثر و تولید زی‌توده پروتئینی درشرایط تخمیر جامد کاربرد گسترده‌ای در صنعت تهیه مواد غذایی در انسان و ماهی دارد. در این رابطه فرایند تخمیر از طریق کاهش اندازه پپتیدهای منابع پروتئینی و افزایش قابلیت هضم ترکیبات مغذی ازجمله پروتئین (Hong و همکاران، ۲۰۰۴)، کاهش حساسیت غذایی (Amadou و همکاران، ۲۰۱۰؛ Frias و همکاران، ۲۰۰۸) و تولید عوامل محرک رشد (اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌های تولید شده توسط قارچ) وتولید مواد محرک ایمنی(Yamamoto و همکاران، ۲۰۰۷) چشم‌انداز خوبی را در آینده نزدیک با هدف تولید جیره‌های غذایی عاری از پودر ماهی‌و با هدف آبزی‌پروری ارگانیک‌ایجادمی‌نماید(Mente و همکاران، ۲۰۱۱). آستانه قابل تحمل ماهی پاکوی استفاده شده در این آزمایش به فیتات و گلوکوسینولات موجود در جیره‌های غذایی بر حسب شاخص‌های عملکرد رشد (میزان رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی) به‌ترتیب ۶/۵۲-۶/۱۲ گرم بر کیلوگرم و ۵/۲۲-۴/۹۰ میکرومول بر گرم به‌دست آمد. در این رابطه، آستانه قابل تحمل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به فیتات (۵ گرم بر کیلوگرم) و گلوکوسینولات (۱۱/۶ میکرومول بر گرم) موجود در جیره غذایی گزارش شده است (Francis و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعه حاضر با افزایش میزان استفاده از کنجاله کانولا تا ۴۰/۲ درصد به تبع میزان فیتات و گلوکوسینولات در جیره‌های آزمایشی افزایش یافت. این امر می‌تواند مرتبط با ماهیت رژیم غذایی این ماهی (میوه‌خواری تا همه‌چیزخواری) باشد (Nazari و همکاران، ۲۰۱۸). در این ارتباط، مقدار ضرایب قابل هضم *In vivo* ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام و انرژی ناخالص با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا روند کاهشی را نشان داد. این ضرایب در هفته نهم مطالعه به‌دست آمدتا حداکثر میزان قابل استفاده را بعد از ۹ هفته سازگاری نشان دهد. کاهش این ضرایب با افزایش سطح استفاده می‌تواند به‌دلیل وجود سلولز گیاهی و فیتات در جیره

غذایی این ماهی باشد. هم‌چنین علت افزایش پاسخ‌های رشدی با افزایش این ترکیبات ضدتغذیه‌ای با کمک مدل غلظت پاسخ Hormetic قابل توجیح باشد که غلظت‌های پایین ترکیبات ضدتغذیه‌ای می‌تواند به‌عنوان عامل محرک رشد و سیستم ایمنی در آبزیان عمل نماید. اطلاعات مربوط به مصرف اختیاری غذا در جیره‌های غذایی حاوی ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا موید این موضوع می‌باشد که با افزایش سطح استفاده علی‌رغم محتوای پروتئینی و انرژی برابر میزان خوش‌خوراکی به‌دلیل تجمع ترکیبات ضدتغذیه‌ای کاهش می‌یابد (Calabrese و Baldwin، ۲۰۰۳؛ Safari، ۲۰۱۱). هر چند در زمان بررسی بهترین سطح جایگزینی منابع پروتئین گیاهی در کنار مطالعه پاسخ‌های رشدی موجود هدف باید به ویژگی‌های ارگانولپتیک (رنگ، بو و مزه) محصول تولیدی (فیله یا استیک) نیز توجه ویژه نمود. با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکو (تا ۴۰ درصد) میزان نسبت کارایی پروتئین و ارزش تولیدی پروتئین تحت تاثیر قرار نگرفت. کاهش نسبت کارایی پروتئین در جیره‌های غذایی حاوی منابع پروتئین گیاهی را می‌توان به‌عدم تعادل در اسیدهای آمینه به‌خصوص متیونین و لیزین، کاهش قابلیت هضم پروتئین و یا حضور عوامل ضدمغذی (فیتات) نسبت داد که داده‌های پژوهش حاضر این شواهد را تایید می‌نماید. هم‌چنین جذب بالای نیتروژن به مفهوم آن است که اگر نیتروژن جهت تولید انرژی مصرف نشود، جهت رشد ماهی موردمصرف قرارمی‌گیرد (Azevedo و همکاران، ۲۰۰۴؛ Safari، ۲۰۱۱) در مطالعه حاضر جهت تعیین مقدار حداکثر سطح جایگزینی از هیچ مکمل اسید آمینه و یا خوش‌خوراک‌کننده‌ای استفاده نشد. به‌نظر می‌رسد در مطالعات جایگزینی منابع پروتئین جانوری با گیاهی باید به سمت استفاده از یک جیره استاندارد حرکت نمود.

شاخص‌های خونی و ایمنی: با افزایش سطح جایگزینی کنجاله کانولا در جیره غذایی، مقدار گلوکز سرم خون ماهیان تفاوت آماری معنی‌داری را با سرم خون ماهیان تیمار شاهد نشان نداد ولی مقدار پروتئین محلول سرم در جیره‌های غذایی حاوی ۵۰ و ۱۰۰ درصد کنجاله کانولا به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کم‌تر بود. عدم کاهش غلظت گلوکز و کاهش مقدار پروتئین سرم را می‌توان به فرایند گلوکونئوژنز نسبت داد (Hemre و همکاران، ۲۰۰۲). در این فرایند گلوکز از منابع غیرکربوهیدراتی تولید می‌گردد. لذا به‌نظر می‌رسد مقدار گلوکز کاهش یافته خون از مقدار پروتئین سرم تامین شده باشد (Hemre و همکاران، ۲۰۰۲؛ Safari، ۲۰۱۱). مقدار پروتئین محلول سرم تحت تاثیر جنس، نژاد، شرایط تغذیه‌ای و شرایط پرورشی می‌باشد (Řehulka و همکاران، ۲۰۰۵). در مطالعه حاضر مقدار تیروکسین و تری یدوتیرونین سرم خون ماهیان پاکو با افزایش سطح جایگزینی کنجاله کانولا در جیره‌های غذایی نسبت به جیره شاهد افزایش یافت. تغذیه ماهی قزل‌آلا با جیره‌های غذایی حاوی سطوح مختلف (۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) کنسانتره پروتئینی کانولای تخمیر شده تاثیری بر غلظت تری‌یدوتیرونین پلاسمای خون ماهیان مورد آزمایش نداشت ولی موجب کاهش معنی‌دار غلظت تیروکسین پلاسما گردید. آنزیم دیودیناز در تنظیم غلظت هورمون تری‌یدوتیرونین خون ماهیان مصرف‌کننده از جیره‌های غذایی حاوی کنجاله کانولا نقش دارد (Burel و همکاران، ۲۰۰۱؛ Eales و Brown، ۱۹۹۳). هرچند که کاهش غلظت تیروکسین و تری‌یدوتیرونین در خون ماهیان به غلظت تولیدات هیدرولیزی گلوکوسینولات در جیره وابسته بوده و تغییر در فعالیت آنزیم دیودیناز به جبران کمبود غلظت تری‌یدوتیرونین کمک می‌کند. گلوکوسینولات یکی از ترکیبات ضدتغذیه‌ای منابع پروتئینی گیاهی می‌باشد که بر هضم و جذب ید از دستگاه گوارش تاثیر می‌گذارد (Francis و همکاران، ۲۰۰۱؛ Safari، ۲۰۱۱).در مطالعه حاضر کم‌ترین غلظت تاثیرگذار بر هورمون‌های تیروئیدی ماهی پاکو (تری‌یدوتیرونین)، ۴/۰۵ میکرومول برگرم در جیره غذایی حاوی ۲۰ درصد کنجاله کانولا مشاهده شد. حداقل غلظت گلوکوسینولات که بر غلظت تیروکسین سرم خون ماهیان تاثیر می‌گذارد، ۱/۵ میکرومول بر گرم می‌باشد (Burel و همکاران، ۲۰۰۱؛ Francis و همکاران، ۲۰۰۱). با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا (از ۱۰ به ۱۰۰ درصد) میزان کلسترول تام سرم‌خون ماهیان پاکو به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در مطالعه‌ای تغذیه ماهی قزل‌آلا با استفاده از کنسانتره پروتئینی سویا (Kaushik و همکاران، ۱۹۹۵)و کنسانتره پروتئینی کانولای تخمیر شده (Safari، ۲۰۱۱) مقدار کلسترول تام کاهش معنی‌داری یافت. این محققین علت این امر را به‌وجود ترکیبات حاوی ایزوفلاون‌های گیاهی و هم‌چنین کاهش نسبت اسیدآمینه لیزین به اسیدامینه آرژنین مرتبط دانسته‌اند. ایزوفلاون‌ها با افزایش میزان تجزیه لیپوپروتئین با چگالی پایین توسط کبد، سطح کلسترول داخلی سلول را افزایش و در نتیجه باعث مهار آنزیم متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز می‌شود. این عمل مانع ساخت کلسترول از استیل کوآنزیم آ و در نتیجه کاهش میزان کلسترول می‌گردد (Potter، ۱۹۹۸). هم‌چنین فیتات به‌عنوان عامل کاهنده چربی خون در غلظت‌های زیاد مطرح می‌باشد (Kumar و همکاران، ۲۰۱۰). در این رابطه پپتیدها یا هیدرولیزات پروتئین‌های گیاهی نیز می‌تواند با تاثیر بر نسخه‌نویسی و ممانعت از ترشح آپولیپوپروتئین و هم‌چنین بیوسنتز استرول در هپاتوسیت‌ها بر متابولیسم چربی تاثیر بگذارد (Song و همکاران، ۲۰۱۴). تغذیه ماهی با تاثیر بر سیستم ایمنی غیراختصاصی به‌عنوان عامل ضروری در زمان مقابله با عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند. اثرات سودمند استفاده از کنجاله کانولای تخمیر شده با قارچ *A. oryzae* در جیره غذایی ماهی شانک دریایی قرمز بر شاخص‌های ایمنی گزارش شده است (Dossou و همکاران،

b۲۰۱۸). این محققین تاثیر جایگزینی سطوح متوسط و حداکثر تا ۵۰ درصد از محصول فوق را در بهبود فعالیت‌های لیزوزیم، آنتی باکتریال و پراکسیداز را بر وضعیت سلامت ماهی شانک دریایی قرمز مطلوب ارزیابی کردند. جایگزینی ۵۰ درصد پروتئین پودر ماهی با کنجاله کانولا در جیره غذایی بچه‌ماهیان کاراس (*Carassius auratus gibelio*×*Cyprinus carpio*) منجر به کاهش شاخص تکثیر لنفوسیت شد (Cai و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج متناقضی در رابطه با افزایش (Kim و همکاران، ۲۰۱۰، ۲۰۰۹؛ Lee و همکاران، ۲۰۱۶)، کاهش (Ding و همکاران، ۲۰۱۵) و بی‌تاثیر (Dossou و همکاران، a۲۰۱۸ ، b۲۰۱۸) بر میزان پاسخ‌های ایمنی در گونه‌های آبزی تغذیه شده با منابع پروتئین گیاهی در منابع گزارش شده است. این امر می‌تواند وابسته به نوع گونه، رژیم غذایی، شرایط محیط پرورش و زمینه‌های قبلی مواجهه گونه با عوامل استرس‌زای محیطی (فیزیکی، شیمیایی و زیستی) باشد. در مطالعه حاضرجایگزینی ۵۰ درصد کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکوی مورد آزمایش منجر به بهبود میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین کل و کمپلمان سرم ماهیان نسبت به جیره شاهد و سطوح کم‌تر (۱۰ تا ۴۰ درصد) شد. هرچند که با افزایش سطح استفاده (سطوح جایگزینی ۵۰ و ۱۰۰ درصد)، این شاخص‌ها فعالیت‌افزایشی‌ازخود نشان ندادند. اگرچه دلیل این افزایش پاسخ‌های ایمنی با افزایش سطح جایگزینی دقیقاً مشخص نیست ولی به‌نظر می‌رسد که افزایش میزان گلوکوسینولات و مشتقات آن در جیره غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت‌عمل‌نموده(Francis و همکاران، ۲۰۰۱؛ Safari، ۲۰۱۱) و منجر به بهبود فعالیت آنزیم‌های ایمنی شده است. لگوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) از منابع اصلی تولید لیزوزیم هستند. افزایش فعالیت اجزاء ایمنی نشان‌دهنده افزایش توان ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا مهاجم می‌باشد. محرک‌های ایمنی که باعث افزایش میزان لیزوزیم پلاسما می‌شوند در حقیقت باعث افزایش نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها در جریان خون می‌گردند که آن‌ها نیز با ترشح لیزوزیم باعث افزایش فعالیت آن در سرم می‌شوند. استرس باعث کاهش میزان آن می‌شود، ولی بیماری‌ها به‌دلیل تحریک سیستم ایمنی و افزایش میزان‌گلبول‌های‌سفیدباعث‌افزایش‌فعالیت‌لیزوزیم‌می‌شوند (Saurabh و Sahoo، ۲۰۰۸).مطالعات تکمیلی‌در آینده‌ای نزدیک‌در رابطه‌با تاثیر این‌ترکیبات ضدتغذیه‌ای‌بر‌میزان فعالیت‌آنزیم‌های ایمنی‌جهت تعیین مسیرهای‌فیزیولوژیکی‌و هم‌چنین مطالعات نوتریژنومیک نیاز می‌باشد.

فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی و شاخص کبدی: بررسی پروفیل آنزیم‌های گوارشی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در روده یکی از استراتژی‌های شناسایی اقلام و یا جیره‌های غذایی در صنعت غذای آبزیان می‌باشد. با افزایش سطح‌جایگزینی کنجاله‌کانولا در‌جیره غذایی ماهی پاکو میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و تریپسین) روند افزایشی را نشان داد (Nazari و همکاران، ۲۰۱۸؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۴؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۶). بهبود هم‌زمان ضرایب قابلیت هضم (ماده خشک و مواد مغذی) و میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی کاراس (به‌عنوان یک گونه همه‌چیزخوار) تغذیه شده با سطوح مختلف مخلوط کنجاله کانولا و پودر کلزا گزارش شده است (Shi و همکاران، ۲۰۱۷). در این رابطه استفاده از ۵ تا ۳۵ درصد کنجاله سویا در جیره‌غذایی ماهی آزاد اقیانوس‌اطلس منجر به افزایش ترشح آنزیم تریپسین و هم‌چنین هورمون انسولین شد (Krogdahl و همکاران، ۲۰۰۳). این محققین علت این امر را تولید هم‌زمان بخش برون‌ریزو درون‌ریز لوزالمعده بیان نمودند. در موش‌های جوان استفاده از کنجاله سویا منجر به بزرگ شدن معده و افزایش بیان mRNA انسولین در سلول‌های بتا شد (Grant و همکاران، ۲۰۰۰). با افزایش استفاده از کنسانتره پروتئینی کانولای تخمیر شده از ۴۰ به ۵۰ درصد در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا میزان رشد ویژه کاهش و در مقابل میزان فعالیت انسولین و آنزیم‌های تریپسین و لیپاز افزایش یافت (Safari، ۲۰۱۱). این نکته بیان‌گر این مطلب می‌باشد که افزایش میزان فعالیت انسولین جهت حفظ تعادل در مقدار گلوکز سیستم گردش خون (و بازخوردهای مناسب) و میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و لیپاز جهت حفظ حالت پایدار در فرایند هضم باشد (Krogdahl و همکاران، ۲۰۰۳؛ Safari، ۲۰۱۱). شاخص کبدی با افزایش روند استفاده از کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکو از ۱۰ به ۱۰۰ درصد به‌طور معنی‌داری‌افزایش‌یافت. این‌شاخص به‌نوعی‌نشان‌دهنده‌توانایی زیستی موجود در پالایش ترکیبات مضر غذایی می‌باشد. برخی محققین بیان نمودند‌که کاهش کارایی استفاده از غذا در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با منابع پروتئین گیاهی می‌تواند به‌دلیل سازگاری ضعیف متابولیکی‌ماهی‌مخصوصاً در‌کبدباشد‌که‌مرکز‌متابولیسم‌های حدواسط و تخصیص موادمغذی می‌باشد (Panserat و همکاران، ۲۰۰۹). تناقض بین نتیجه مطالعه حاضر و گزارش فوق می‌تواند مربوط به تفاوت گونه‌ای با رژیم‌های غذایی مختلف، فرمولاسیون جیره غذایی و شرایط پرورش باشد. این امر نیاز به تحقیقات بیش‌تر با تمرکز بر مطالعه پروفیل ژن‌های بیان‌کننده در کبد در ماهیان پاکوی تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی منابع پروتئین گیاهی دارد. آنزیم‌های ALT و AST به‌عنوان آنزیم‌های اختصاصی غیرپلاسمایی نه تنها در پلاسمای خون بلکه در بافت‌کبد، قلب، آبشش‌ها، کلیه، ماهیچه‌ها و سایر اندام‌ها یافت می‌شوند. جهت بررسی میزان فعالیت این آنزیم‌ها باید به نکات کلیدی هم‌چون گونه، سن، رژیم غذایی، شرایط زیستگاه، نوع بافت، شرایط‌تغذیه‌ای،تکنیک‌های‌خونگیری و روش‌های‌سنجش توجه نمود. هم‌چنین‌میزان فعالیت آن‌ها می‌تواناطلاعات‌ویژه‌ای در مورد عملکرد نارسایی این اندام‌ها ارائه‌دهد (Cech و همکاران، ۲۰۰۰؛ Yokoyama و

همکاران، ۲۰۰۳). میزان ALT و AST به‌عنوان شاخص فعالیت کبد درنظر گرفته می‌شوند و جزء آنزیم‌های با اهمیت در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (Racicot و همکاران، ۱۹۷۵). در مطالعه حاضر، با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا (از ۱۰ به ۱۰۰ درصد) در ماهیان پاکو، میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این امر می‌تواند به‌دلیل افزایش قابلیت نفوذ غشای سلولی و یا تخریب غشاء هپاتوسیت‌ها ناشی از تاثیر ترکیبات ضدتغذیه‌ای (گلوکوسینولات) و یا متابولیت‌های ثانویه آن‌ها باشد. به‌نظر می‌رسد جهت تعیین حداکثر مقدار مجاز استفاده از ترکیبات ضدتغذیه‌ای در جیره غذایی ماهی پاکو، مطالعات هیستوپاتولوژیکی و نوتریژنومیک نیاز می‌باشد. ضریب تبدیل غذایی ماهیان پاکوی تغذیه شده با ۴۰ درصد جایگزینی کنجاله کانولا (۱/۷۳) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمار شاهد (۲/۵۳) بود. بیش‌ترین میزان رشد ویژه ماهیان تغذیه شده با ۴۰ درصد جایگزینی کنجاله کانولا (۲/۴۷ درصد وزن بدن در روز) بود. با افزایش سطح استفاده از کنجاله کانولا از ۱۰ به ۱۰۰ درصد قابلیت هضم ماده خشک و مواد مغذی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. جایگزینی کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکو تا ۴۰ درصد، تاثیر کاهشی معنی‌داری بر نسبت کارایی پروتئین و ارزش تولیدی پروتئین نسبت به جیره شاهد نداشت. با توجه به شاخص‌های زیستی اندازه‌گیری شده، جایگزینی پروتئینی ۴۰ درصد پودر ماهی با کنجاله کانولا در جیره غذایی ماهی پاکو توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حمایت مالی و تجهیزاتی دانشگاه آزاد واحد بندرعباس و دانشگاه فردوسی مشهد تشکر می‌نمایند.

منابع

1. **Ahmadi, K.; Gholizadeh, H.A.; Ebadzadeh, H.R.; Hatami, F.; Fazli-Estabragh, M.; Hosseinpour, R.; Kazemian, A. and Rafiee, M., 2017.** Iranian agriculture statistics in 2015-2016, first. ed. Agriculture Department Publication. Tehran. Iran.
2. **Amadou, I.; Kamara, M.T.; Tidjani, A. and Foh, M.B.K., 2010.** Physicochemical and nutritional analysis of fermented soybean protein meal by lactobacillus plantarum Lp6. World J Dairy Food Sci. Vol. 5, pp: 114-118.
3. **AOAC. 2005.** Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. AOAC International, Maryland, USA.
4. **Azevedo, P.A.; Leeson, S.; Cho, C.Y. and Bureau, D.P., 2004.** Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: Diet, species and size effects. Aquaculture. Vol. 234, pp: 393-414.
5. **Bransden, M.P.; Carter, C.G. and Nowak, B.F., 2001.** Effects of dietary protein source on growth, immune function, blood chemistry and disease resistance of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. Anim. Sci. Vol. 73, pp: 105-113.
6. **Bulbul, M.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; Yokoyama, S. and Kader, M.A., 2013.** Performance of kuruma shrimp, fed diets replacing fish meal with a combination of plant meals. Aquaculture. Vol. 372, pp: 45-51.
7. **Burel, C.; Boujard, T.; Kaushik, S.J.; Boeuf, G.; Van Der Geyten, S.; Mol, K.A.; Kuhn, E.R.; Quinsac, A.; Krouti, M. and Ribailler, D., 2001.** Effects of rapeseed meal Glucosinolates on Thyroid metabolism and feed utilization in rainbow trout. Gen. Com. Endocrinol. Vol. 124, pp: 343-358.
8. **Cahu, C.; Zambonino Infante, J.; Quazuguel, P. and Le Gall, M., 1999.** Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass Dicentrarchus labrax larvae. Aquaculture. Vol. 171, pp: 109-119.
9. **Cai, C.; Song, L.; Wang, Y.; Wu, P.; Ye, Y.; Zhang, Z. and Yang, C., 2013.** Assessment of the feasibility of including high levels of rapeseed meal and peanut meal in diets of juvenile crucian carp (*Carassius auratus gibelio*♀ × *Cyprinus carpio* ♂) Growth immunity, intestinal morphology & microflora. Aquaculture. Vol. 410, pp: 203-215.
10. **Calabrese, E.J. and Baldwin, L.A., 2003.** Toxicology rethinks its central belief. Nature. Vol. 421, pp: 691-692.
11. **Cech, J.; McCormick, S. and McKinlay, D., 2000.** Energy reserves and nutritional status of juvenile Chinook salmon emigrating from the Snake River, Intern. Cong. Biol. Fish, Univ. Aberdeen, Scotl. pp: 23-27.
12. **Cheng, N.; Chen, P.; Lei, W.; Feng, M. and Wang, C., 2016.** The sparing effect of phytase in plant-protein-based diets with decreasing supplementation of dietary NaH2PO4 for juvenile yellow catfish Pelteobagrus fulvidraco. Aquac. Res. Vol. 47, No. 12, pp: 3952-3963.
13. **Clerton, P.; Troutaud, D.; Verlhac, V.; Gabaudan, J. and Deschaux, P., 2001.** Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes. Elsevier.
14. **Da, C.T.; Lundh, T. and Lindberg, J.E., 2013.** Digestibility of dietary components and amino acids in animal and plant protein feed ingredients in striped catfish fingerlings. Aquac. Nutr. Vol. 19, No. 5, pp: 741-750.
15. **Daniel, N.; Angela Mercy, A.; Nageswari, P. and Ezhilarasi, D.R., 2016.** Perspectives of genetically modified plants for the expansion of plant feedstuffs in aquaculture. Aquac. times. Vol. 2, No. 2, pp: 8-13.
16. **Dawood, M.A.; El-Dakar, A.; Mohsen, M.; Abdelraouf, E.; Koshio, S.; Ishikawa, M. and Yokoyama, S., 2014.** Effects of using exogenous digestive enzymes or natural enhancer mixture on growth, feed utilization, and body composition of rabbitfish, Siganus rivulatus. J. Agric. Sci. Technol. B. Vol. 4, No. 3B.
17. **Dawood, M.A.O.; Koshio, S.; Ishikawa, M. and Yokoyama, S., 2015.** Effects of partial substitution of fish meal by soybean meal with or without heat-killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of Amberjack, Seriola dumerili juveniles. BioMed Res. Int.
18. **Ding, Z.; Zhang, Y.; Ye, J.; Du, Z. and Kong, Y., 2015.** An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of Macrobrachium nipponense: Growth , nonspecific immunity , and resistance to Aeromonas hydrophila. Fish Shellfish Immunol. pp: 1-7.
19. **Dossou, S.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; Yokoyama, S.; Dawood, M.A.O.; El Basuini, M.F.; El-Hais, A.M. and Olivier, A., 2018a.** Effect of partial replacement of fish meal by fermented rapeseed meal on growth, immune response and oxidative condition of red sea bream juvenile, *Pagrus major*. Aquaculture. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.02.010
20. **Dossou, S.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; Yokoyama, S.; Dawood, M.A.O.; El Basuini, M.F.; Olivier, A. and Zaineldin, A.I., 2018b.** Growth performance, blood health, antioxidant status and immune response in red sea bream (*Pagrus major*) fed Aspergillus oryzae fermented rapeseed meal (RM-Koji). Fish shellfish immunol. Vol. 75, pp: 253-262.
21. **Eales, J.G. and Brown, S.B., 1993.** Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. Biol. Fish. Vol. 3, pp: 299-347.
22. **Espe, M.; Rathore, R.M.; Du, Z.Y.; Liaset, B. and El Mowafi, A., 2010.** Methionine limitation results in increased hepatic FAS activity, higher liver 18:1 to 18:0 fatty acid ratio and hepatic TAG accumulation in Atlantic salmon, *Salmo salar*. Amin. acids. Vol. 39, No. 2, pp: 449-460.
23. **Essa, A.M.; Mabrouk, A.H. and Zaki, A.M., 2004.** Growth performance of grass carp, Ctenopharyngodon idella and hybrid grass carp fingerlings fed on different types of aquatic plants and artificial diet in concrete basins. Egypt. J. Aquat. Res. Vol. 30, No. B, pp: 341-348.
24. **FAO. 2016.** The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
25. **FAO. 2014.** *Psetta maxima* (Linnaeus, 1758). Statistical information, global aquaculture production 1950-2012: Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy.
26. **Farhangi, M. and Carter, C.G., 2007.** Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin- based on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout. Aquac. Res. Vol. 38, pp: 1274-1282.
27. **Folch, J.; Lees, M. and Stanley, G.H.S., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem. doi:10.1007/s10858.011.9570.9.

olivaceus). Vol. 19, pp: 1605-1610.

49. **Krogdahl, Å.; Bakke McKellep, A.M. and 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*). Aquac. Nutr. pp: 361-371.

50. **Kumar, V.; Sinha, A.K.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2010.** Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition. A review. Food Chem. Vol. 120, pp: 945-959.

51. **Kuz'mina, V.; Shekovtsova, N. and Bolobonina, V., 2010.** Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. Biol. Bull. Vol. 37, pp: 605-611.

52. **Lazzarotto, V.; MeÅdale, F.; Larroquet. L. and Corraze. G., 2018.** Long-term dietary replacement of fishmeal and fish oil in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on growth, whole body fatty acids and intestinal and hepatic gene expression. PLoS ONE. Vol. 13, No. 1, pp: e0190730.

53. **Lee, S.M.; Azarm, H.M. and Chang, K.H., 2016.** Effects of dietary inclusion of fermented soybean meal on growth, body composition, antioxidant enzyme activity and disease resistance of rockfish. Aquaculture. Vol. 459, pp: 110-116.

54. **Lichon, M.J., 1996.** Sample preparation, in: Nollet, L.M.L., (Ed.), Handbook of Food Analysis. Marcel Dekker. New York. pp: 1-19.

55. **Lie, K.K.; Hansen, A.C.; Eroldogan, O.T.; Olsvik, P.A.; Rosenlund, G. and Hemre, G.I., 2011.** Expression of genes regulating protein metabolism in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) was altered when including high diet levels of plant proteins. Aquac. Nutr. Vol. 17, No. 1, pp: 33-43.

56. **Lochmann, R.; Chen, R.; Chu-Koo, F.W.; Camargo, W.N.; Kohler, C.C. and Kasper, C., 2009.** Effects of carbohydrate- rich alternative feedstuffs on growth, survival, body composition, hematology, and nonspecific immune response of black pacu, Colossoma macropomum, and red Pacu. J. World Aquacult. Soc. Vol. 40, pp: 33-44.

57. **Lund, I.; Dalsgaard, J.; Rasmussen, H.T.; Holm, J. and Jokumsen, A., 2011.** Replacement of fish meal with a matrix of organic plant proteins in organic trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed, and the effects on nutrient utilization and fish performance. Aquaculture. Vol. 321, No. 3, pp: 259-266.

58. **McQuaker, N.R.; Brown, D.F. and Kluckner, P.D., 1979.** Digestion of environmental materials for analysis by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. Anal. Chem. Vol. 51, pp: 1082-1084.

59. **Mente, E.; Karalazos, V.; Karapanagiotidis, I.T. and Pita, C., 2011.** Nutrition in organic aquaculture: An inquiry and a discourse. Aquac. Nutr. Vol. 17, pp: 798-817.

60. **Nageswari, P. and Daniel, N., 2015.** Dietary Roles of Nucleotides in Aquaculture. Aqua Int. Vol. 12, pp: 51-52.

61. **Narayanan, S., 1982.** Method-comparison studies on immunoglobulins. Clin. Chem. Vol. 28, pp: 1528-1531.

62. **Nascimento, A.F.; Maria, A.N.; Pessoa, N.O.; Carvalho, M.A.M. and Viveiros, A.T.M., 2010.** Out-of- season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). Anim. Reprod. Sci. Vol. 118, pp: 324-329.

63. **Nazari, H.; Salarzadeh, A.; Safari, O. and Yahyavi, M., 2018.** Screening of selected feedstuffs by juvenile pacu, *Piaractus brachypomus*. Aquac. Nutr. Vol. 10. pp: 1111.

64. **Ngo, D.T.; Wade, N.M.; Pirozzi, I. and Glencross, B.D., 2016.** Effects of canola meal on growth, feed utilisation, plasma biochemistry, histology of digestive organs and hepatic gene expression of barramundi (Asian seabass: *Lates calcarifer*). Aquaculture. Vol. 464, pp: 95-105.

65. **Panserat, S.; Hortopan, G.A.; Plagnes-Juan, E.; Kolditz, C.; Lansard, M.; Skiba-Cassy, S.; Esquerré, D.; Geurden, I.; Médale, F.; Kaushik, S. and Corraze, G., 2009.** Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout liver. Aquaculture. Vol. 294, pp: 123-131.

66. **Pérez-Jiménez, A.; Guedes, M.J.; Morales, A.E. and Oliva-Teles, A., 2007.** Metabolic responses to short starvation and refeeding in (*Dicentrarchus labrax*). Effect of dietary composition. Aquaculture. Vol. 265, pp: 325-335.

67. **Potter, S.M., 1998.** Soy protein and cardiovascular disease: the impact of bioactive components in soy. Nutr. Rev. Vol. 56,pp: 231-235.

68. **Quinsac, A.; Ribaillier, D.; Elfakir, C.; Lafosse, M. and Dreux, M., 1991.** A new approach to the study of glucosinolates by isocratic liquid chromatography. Rapid determination of desulfated derivatives of rapeseed glucosinolates. J. A. Off. Anal. Chem. Vol. 74, pp: 932-939.

69. **Racicot, J.G.; Gaudet, M. and Leray, C., 1975.** Blood and liver enzymes in rainbow trout with emphasis on their diagnostic use: study of CCl^4 toxicity and a case of Aeromonas infection. J. Fish Biol. Vol. 7, pp: 825-835.

70. **Refstie, S.; Svihus, B.; Shearer, K.D. and Storebakken, T., 1999.** Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products. Anim. Feed Sci. Technol. Vol. 79, pp: 331-345.

28. **Francis, G.; Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2001.** Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture. Vol. 199, pp: 197-227.

29. **Frias, J.; Song, Y.S. and Martínez-Villaluenga, C., 2008.** Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. J. Agric. Food Chem. Vol. 56, pp: 99-105.

30. **Galicia-González, A.; Goytortúa-Bores, E.; Palacios, E.; Civera-Cerecedo, R.; Moyano-López, F.J.; Cruz-Suárez, L.E. and Ricque-Marie, D., 2010.** Chemical Composition and Digestibility of Three Mexican Safflower Meals Used as Ingredients in Diets for Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. J. World Aquac. Soc. Vol. 41, pp: 191-202.

31. **Gatlin III, D.M.; Barrows, F.T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, T.G.; Hardy, R.W.; Herman, E.; Hu, G.; Krogdahl, A.; Nelson, R.; Overturf, K.; Rust, M.; Sealey, W.; Skonberg, D.; Souza, E.; Stone, D.; Wilson, R. and Wurtele, E., 2007.** Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds. Aquac. Res. pp: 551-579.

32. **Gerzhova, A.; Mondor, M.; Benali, M. and Aider, M., 2015.** A comparative study between the electro-activation technique & conventional extraction method on the extractability, composition & physicochemical properties of canola protein concentrates and isolates. Food Biosci. Vol. 11, pp: 56-71.

33. **Glencross, B.; Hawkins, W.; Evans, D.; Rutherford, N.; Dods, K.; Maas, R.; McCafferty, P. and Sipsas, S., 2006.** Evaluation of the nutritional value of prototype lupin protein concentrates when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 251, pp: 66-77.

34. **Glencross, B.D.; Booth, M. and Allan, G.L., 2007.** A feed is only as good as its ingredients-a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds: Aquac. Nutr. Vol. 13, pp: 17-34. doi:10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x

35. **Grant, G.; Alonso, R.; Edwards, J.E. and Murray, S., 2000.** Dietary soya beans & kidney beans stimulate secretion of cholecystokinin and pancreatic digestive enzymes in 400 day-old hooded-lister rats but only soya beans induce growth of the pancreas. Pancreas. Vol. 20, pp: 305-312.

36. **Hardy, R.W., 2010.** Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. J. Aquac. Res. Vol. 41, pp: 770-776.

37. **Hardy, R.W. and Barrows, F.T., 2002.** Diet formulation and manufacture. Fish Nutr. pp: 505-600. doi:10.1016/B978. 012319652-1/50010-0.

38. **Hemre, G.I.; Mommsen, T.P. and Krogodahl, A., 2002.** Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. Aquac. Nutr. Vol. 8, pp: 175-194. doi:10.1046/j.1365-2095.2002.00200.x

39. **Higgs, D.A., 1995.** Chapter II.Use of rapeseed / canola protein products in finfish diets .In : Sessa, D. and Lim, C., (eds). AOAC Monogr. entitled Nutr. Util. Technol. Aquac.

40. **Hisano, H.; Pilecco, J.L. and De, L., 2016.** Corn gluten meal in pacu Piaractus mesopotamicus: Aquac. Int. Vol. 24, No. 4, pp: 1049-1060.

41. **Hong, K.J.; Lee, C.H. and Kim, S.W., 2004.** Aspergillus oryzae GB-107 fermentation improves nutritional quality offood soybeans and feed soybean meals. J. Med. Food. Vol. 7, pp: 430-435. doi:10.1089/jmf.2004.7.430.

42. **Jahanbakhshi, A.; Imanpoor, M.R.; Taghizadeh, V. and Shabani, A., 2013.** Hematological and serum biochemical indices changes induced by replacing fish meal with plant protein (sesame oil cake & corn gluten) in the Great sturgeon (*Huso huso*). Comp. Clin. Path. Vol. 22, pp: 1087-1092.

43. **Jhansi LakshmiBai, T.C. and Ravindra Kumar Reddy, D., 2016.** Comparison of effects of cotton seed meal with fish meal on growth , feed conversion ratio and survival of red bellied Pacu (*Piaractus Brachypomus*). Int. J. Sci. Environ. Technol. Vol. 5, pp: 1092-1099.

44. **Jiang, T.T.; Feng, L.; Liu, Y.; Jiang, W.D.; Jiang, J. and Li, S.H., 2014.** Effects of exogenous xylanase supplementation in plant protein-enriched diets on growth performance, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp. Aquac. Nutr. Vol. 20, No. 6, pp: 632-645.

45. **Kaushik, S.J.; Cravedi, J.P.; Lalles, J.P.; Sumpter, J.; Fauconneau, B. and Laroche, M., 1995.** Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. Vol. 133, pp: 257-274.

46. **Kim, D.H. and Austin, B., 2006.** Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotics. Fish & shellfish immunol. Vol. 21, pp: 513-524.

47. **Kim, S.S.; Galaz, G.B.; Pham, M.A.; Jang, J.W.; Oh, D.H.; Yeo, I.K. and Lee, K.J., 2009.** Effects of dietary supplementation of a meju , fermented soybean meal , and Aspergillus oryzae for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Vol. 22, pp: 849-856.

48. **Kim, S.S.; Pham, M.A.; Kim, K.W.; Son, M.H. and Lee, K.J., 2010.** Effects of microbial fermentation of soybean on growth performances, phosphorus availability & antioxidant activity in diets for Juvenile olive flounder (*Paralichthys*

A.W. and Sim, R.B., eds.), Complement: A Pract. Approach, Univ. Press. Oxford, Gt. Britain. Vol. 1, pp: 19-47.

94. **Webster, C. and Lim, C., 2002.** Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture.

95. **Welker, T.; Barrows, F.; Overturf, K.; Gaylord, G. and Sealey, W., 2016.** Optimizing zinc supplementation levels of rainbow trout fed practical type fishmeal and plant based diets. Aquac. Nutr. Vol. 22, No. 1, pp: 91-108.

96. **Worthington, C.C., 1991.** Worthington enzyme manual related biochemical, 3rd edn. Worthingt. Biochem. Corp. Free. NJ pp: 212-215.

97. **Yamamoto, M.; Saleh, F.; Tahir, M.; Ohtsuka, A. and Hayashi, K., 2007.** The effect of Koji-feed (fermented distillery by-product) on the growth performance and nutrient metabolizability in broiler. J. Poult. Sci. Vol. 44, pp: 291-296.

98. **Yamamoto, T. and Yonemasu, K., 1999.** Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient withWaldenstro¨m's macroglobulinemia. Clin. Chim. Acta. Vol. 289, pp: 173-176.

99. **Yan, J.; Li, Y.; Liang, X.; Zhang, Y.; Dawood, M.A.O.; Matuli'c, D. and Gao, J., 2017.** Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant-related gene expressions in juvenile loach. Aquac. Res. Vol. 48, No. 10, pp: 5385-5393.

100. **Yang, S.D.; Liu, F.G. and Liou, C.H., 2012.** Effects of dietary L-carnitine, plant proteins and lipid levels on growth performance, body composition, blood traits and muscular carnitine status in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture. Vol. 342, pp: 48-55.

101. **Yigit, N.O. and Olmez, M., 2009.** Canola meal as an alternative protein source in diets for fry of tilapia. Isr. J. Aquac. Bamidgeh. Vol. 61, pp: 35-41.

102. **Yokoyama, Y.; Toth, B. and Ktchens, W., 2003.** Role of thromboxane in producing portal hypertension following trauma hemorrhage. Am J Physiol, Gastrointest. liver Physiol. pp: 1294-1299.

103. **Zar, J.H., 1999.** Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Inc. New Jersy, USA.

104. **Zhang, Y.; Øverland, M.; Shearer, K.D.; Sørensen, M.; Mydland, L.T. and Storebakken, T., 2012.** Optimizing plant protein combinations in fish meal-free diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by a mixture model. Aquaculture. Vol. 360-361, pp: 25-36.

105. **Zhang, H.; Yi, L.; Sun, R.; Zhou, H.; Xu, W. and Zhang, W., 2016.** Effects of dietary citric acid on growth performance, mineral status and intestinal digestive enzyme activities of large yellow croaker fed high plant protein diets. Aquaculture. Vol. 453, pp: 147-153.

106. **Zhou, Q.L.; Habte Tsion, H.M.; Ge, X.; Xie, J.; Ren, M.; Liu, B.; Miao, L. and Pan, L., 2018.** Graded replacing fishmeal with canola meal in diets affects growth and target of rapamycin pathway gene expression of juvenile blunt snout bream. Aquac. Nutr. Vol. 24, pp: 300-309.

71. **Řehulka, J.; Minařik, B.; Adamec, V. and Řehulkova, E., 2005.** Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquac. Res. Vol. 36, pp: 22-32.

72. **Richard, L.; Surget, A.; Rogolet, V.; Kaushik, S. and Geurden, I., 2011.** Availability of essential amino acids, nutrient utilization and growth in juvenile tiger shrimp, Penaeus monodon, following fishmeal replacement by plant protein. Aquaculture. Vol. 322-323, pp: 109-116.

73. **Rolland, M.; Larsen, B.K.; Holm, J.; Dalsgaard, J. and Skov, P.V, 2015.** Effect of plant proteins and crystalline amino acid supplementation on postprandial plasma amino acid profiles and metabolic response in rainbow trout. Aquac. Int. Vol. 23, No. 4, pp: 1071-1087.

74. **Rungruangsak-Torrissen, K.; Moss, R.; Andersen, L.; Berg, A. and Waagbo, R., 2006.** Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon. Fish Physiol. Biochem. Vol. 32, pp: 7-23.

75. **Saedi, M.; Sajjadi, M.; Hosseinzadeh, H. and Emadi, H., 2012.** Effect of replacing fish meal by soybean meal in diet of red Pacu (*Piaractus brachypomus*). J. Mar. Sci. Technol. pp: 47-55.

76. **Safari, O., 2011.** Study on the production of canola protein concentrate through different processing methods (physical, chemical and biological) with aim of using in the diet of rainbow trout (Oncorhynchus *mykiss*). University of Tehran.

77. **Safari, O,; Bagheri Doorbadam, J. and Naserizadeh, M., 2014.** Study of plasma sex steroid hormones in female snow trout within a year. J. Vet. Res. Vol. 69, pp: 423-430.

78. **Safari, O.; Naserizadeh, M. and Mohammadi Arani, M., 2016.** Digestibility of selected feedstuffs in subadult Caspian great sturgeon, *Huso huso* using settlement faecal collection and stripping methods. Aquac. Nutr. Vol. 22, pp: 293-303.

79. **Safari, O.; Shahsavani, D.; Paolucci, M. and Mehraban Sang Atash, M., 2014.** Screening of selected feedstuffs by sub-adult narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus*. Aquaculture. Vol. 420-421, pp: 211-218.

80. **Sarker, M.; Alam, S.; Satoh, S., Kamata, K.; Haga, Y. and Yamamoto, Y., 2012.** Supplementation effect (s) of organic acids and/or lipid to plant protein-based diets on juvenile yellowtail, *Seriola quinqueradiata* Temminck et Schlegel 1845, growth and, nitrogen and phosphorus excretion. Aquac. Res. Vol. 43, No. 4, pp: 538-545.

81. **Saurabh, S. and Sahoo, P.K., 2008.** Lysozyme: An important defence molecule of fish innate immune system. Aquac. Res. Vol. 39, pp: 223-239.

82. **Shahidi, F., 1990.** Canola and rapeseed: Production, Chemistry, Nutrition and Processing Technology. Van Nostrand Reinhold. 335 p.

83. **Shi, X.; Chen, F.; Chen, G.H.; Pan, Y.X.; Zhu, X.M.; Liu, X. and Luo, Z., 2017.** Fishmeal can be totally replaced by a mixture of rapeseed meal and Chlorella meal in diets for crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Aquac. Res. doi:10.1111/are.13364

84. **Slawski, H.; Adem, H.; Tressel, R.; Wysujack, K.; Koops, U. and Schulz, C., 2011.** Replacement of Fishmeal by Rapeseed Protein Concentrate in Diets for Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). Isr. J. Aquac. Vol. 63.

85. **Snyder, G.S.; Gaylord, T.G., Barrows, F.T.; Overturf, K.; Cain, K.D. and Hill, R.A., 2012.** Effects of carnosine supplementation to an all-plant protein diet for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 338, pp: 72-81.

86. **Song, Z.; Li, H.; Wang, J., Li, P.; Sun, Y. and Zhang, L., 2014.** Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder. Aquaculture Vol. 426-427, pp: 96-104.

87. **Squires, E., 2003.** Manipulation of growth and carcass composition. Appl. Anim. Endocrinol. pp: 66-123.

88. **Suplicy, F.M., 2007.** Freshwater fish seed resources in Brazil, in: Bondad-Reantaso, M.G., (Ed.), Assessment of Freshwater Fish Seed Resources for Sustainable. Aquaculture. pp: 129-143.

89. **Taheri Kondor, O.A.; Sajjadi, M.; Sourinejad, I.; Daryaei, A.; Khademi, F. and Mirzadeh, G., 2014.** The effect of dietary supplementation of L-carnitine on resistance to temperature and salinity stresses in Sobaity seabream *Sparidentex hasta*. J. Fish. Vol. 67, pp: 585-597.

90. **Thiessen, D.L.; Maenz, D.D.; Newkirk, R.W.; Classen, H.L. and Drew, M.D., 2004.** Replacement of fishmeal by canola protein concentrate in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquac. Nutr. Vol. 10, pp: 379-388.

91. **USDA. 2017.** Oilseeds:World Markets and Trade. US Department of agriculture. Foreign agricultural service, Washington, DC, USA.

92. **Valente, L.M.; Cabral, E.M.; Sousa, V.; Cunha, L.M. and Fernandes, J.M., 2016.** Plant protein blends in diets for Senegalese sole affect skeletal muscle growth, flesh texture and the expression of related genes. Aquaculture. Vol. 453, pp: 77-85.

93. **Waley, K. and North, J., 1997.** Haemolytic assays for whole complement activity and individual components. In: (Dodds,