

اثر آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری ۴ نوع ماده گیاهی در جیره غذایی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مهدی رحمتی لیشی^(۱)؛ عبدالمحمد عابدیان^(۲)* و رجب محمد نظری^(۳)

aabedian@modares.ac.ir

۱ و ۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس،

نور صندوق پستی: ۱۴۱۱۵-۲۵۶

۳- مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی، ساری صندوق پستی: ۸۳۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۵

چکیده

در این تحقیق اثر آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری چهار نوع ماده گیاهی (آرد گندم، آرد ذرت، سبوس گندم و سبوس برنج) در جیره غذایی ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان با وزن ابتدایی $(126 \pm 6/4)$ گرم) مورد بررسی قرار گرفت. پنج نوع جیره غذایی با سطوح انرژی یکسان، شامل یک جیره پایه براساس آرد ماهی، آرد گوشت و آرد سویا تهیه گردید. چهار جیره دیگر دارای مواد گیاهی مورد آزمایش، با جایگزینی سبوس گندم و سبوس برنج به میزان ۱۵ درصد و آرد گندم و آرد ذرت به میزان ۲۵ درصد در جیره پایه ساخته شدند. اکسید کرم بعنوان شاخص غیرقابل هضم به میزان ۰/۵ درصد از غذا در نظر گرفته شد. محلول فیتاز پس از تهیه غذاها روی آنها پخش گردید تا در نهایت غذاها دارای حداقل ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز به ازاء هر کیلوگرم باشند. ماهیان با جیره‌های دارای فیتاز و فاقد آن به مدت ۳۰ روز تا ۲ درصد وزن بدن تغذیه شدند. آزمایش درون مخازن ۲ مترمکعبی که با ۵۰۰ لیتر آب پر می‌شد، انجام گرفت. حداکثر و حداقل دما بترتیب ۱۸/۵ و ۱۵ درجه سانتیگراد، اکسیژن ۸ و ۶/۷ میلیگرم بر لیتر و pH برابر ۷/۷ و ۷/۵ تعیین گردید.

افزودن فیتاز بر فسفر موجود در اسکلت داخلی و قابلیت‌های هضم ظاهری فسفر و پروتئین اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). اما باعث افزایش معنی دار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک گردید ($P \leq 0.05$). جیره حاوی آرد گندم دارای بیشترین میزان قابلیت هضم ظاهری ماده خشک بود ($P \leq 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن فیتاز هرچند اثر معنی‌داری نداشت اما باعث بهبود جذب فسفر و قابلیت‌های هضم فسفر، پروتئین و ماده خشک مواد گیاهی گردید. همچنین از بین مواد اولیه گیاهی آرد گندم، آرد ذرت، سبوس گندم و سبوس برنج بترتیب قابلیت هضم بالاتری از نظر مجموعه مواد مغذی داشتند که برحسب دسترسی به هر یک از آنها می‌توان در جیره غذایی ماهی قزل آلا استفاده نمود.

لغات کلیدی: تغذیه، قزل آلا، *Oncorhynchus mykiss*، فیتاز

مقدمه

بمنظور کاهش قیمت ترکیبات پروتئینی بکار گرفته شده در غذای ماهیان یکی از راه‌ها جایگزینی منابع ارزان قیمت پروتئینی (منابع پروتئینی گیاهی) به جای آرد ماهی می‌باشد (Forster *et al.*, 1999)، بنابراین استفاده از منابع گیاهی بطور فزاینده‌ای در غذای ماهیان کاربرد پیدا کرده است (Cheng & Hardy, 2003c).

فسفر اضافی و غیرقابل دسترس جیره غذایی توسط ماهی ذخیره نمی‌شود (Cheng & Hardy, 2003b) و از آنجا که فسفر، همانند نیتروژن منبع غذایی اصلی محدودکننده رشد جلبکهاست (Oliva-Teles *et al.*, 1998) لذا فسفر اضافی وارد آبها شده و موجب یوتریفیکاسیون در آبهای شیرین می‌گردد (Cheng & Hardy, 2003b). منابع گیاهی، همانند محصولات سویا، ذرت و گندم دارای حداکثر یک سوم فسفر موجود در آرد ماهی می‌باشند (Vielma *et al.*, 1998). از آنجا که بخش اعظم فسفر جیره را منابع پروتئینی جانوری همانند پروتئین آرد ماهی تامین می‌نماید، لذا فرموله کردن جیره‌های غذایی که میزان فسفر دفعی ماهی و در نتیجه یوتریفیکاسیون آبها را کاهش دهد، محسوس است. بنابراین نیاز به جایگزینی آرد ماهی با استفاده از منابع پروتئینی با فسفر کمتر ضروری می‌باشد (Vielma *et al.*, 2000).

از طرف دیگر منابع گیاهی همانند غالب دانه‌های روغنی و غلات دارای ۱ تا ۲ درصد اسید فیتیک هستند که بعنوان عامل ضد تغذیه‌ای در غذای جانوران محسوب می‌شود. فیتات یا اسید فیتیک یک ترکیب اینوزیتولی حلقوی است که دارای شش گروه فسفات است (سحری، ۱۳۸۱ و Forster *et al.*, 1999) که نسبتاً در مقابل حرارت پایدار بوده و بطور مؤثر توسط آنزیم خارج می‌گردد (NRC, 1993).

غلات، لگومها و دانه‌های روغنی گیاهان، دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای فسفر به شکل اسید فیتیک (میواینوزیتول هگزاکیس دی هیدروژن فسفات) می‌باشند. حدود ۷۰ درصد از کل فسفر در منابع پروتئین گیاهی به شکل فیتات است، که دارای قابلیت دسترسی خیلی پائین یا عدم دسترسی در حیوانات غیرنشخوارکننده مانند ماهی می‌باشد، چرا که آنها فاقد آنزیم هضمی فیتاز هستند (Riche & Brown, 1996). همچنین، فیتات بطور غیرانتخابی با پروتئین‌ها واکنش می‌دهد و نشان داده شده که از فعالیت آنزیمهایی مانند پپسین، تریپسین (Vielma *et al.*, 2002) و آلفا آمیلاز (Liener, 1994) جلوگیری

می‌کند. عبارت دیگر سطوح بالای اسید فیتیک در جیره غذایی می‌تواند در درجه اول با پروتئین‌ها در pH اسیدی ترکیب و تولید فرمهای غیرطبیعی نماید یا با کاتیون‌های دوزفیتتی در pH روده واکنش داده و در نتیجه دسترسی زیستی آنها را برای ماهیان و جانوران خونگرم کاهش دهد (Forster *et al.*, 1999). بنابراین، هر چند که ضرورت جایگزینی آرد ماهی با مواد گیاهی محرز گشته ولی از دیدگاه تغذیه‌ای دسترسی فسفر منابع گیاهی برای این جانوران کم می‌باشد. بیشتر فسفر آرد ماهی که بعنوان اولین منبع پروتئینی مورد تغذیه در جیره آزاد ماهیان مطرح است، با هیدروکسی آپاتیت استخوان در ارتباط می‌باشد (Riche & Brown, 1996).

این توضیحات روشن می‌سازد که مشارکت منابع گیاهی ممکن است موجب بروز عوارض کمبود فسفر همانند تغییر شکل اسکلت و کاهش رشد شود. یکی از روشهای افزایش دسترسی به فسفر افزودن آنزیم فیتاز به جیره می‌باشد که اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته است. فیتاز آنزیمی است که مشخص شده فیتات را هیدرولیز می‌نماید (Cheng & Hardy, 2003b) و می‌تواند قابلیت دسترسی آنرا افزایش دهد. با توجه به موارد فوق این پروژه با هدف بررسی اثر آنزیم فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری ۴ نوع ماده گیاهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

جهت انجام آزمایش از حوضچه‌های فایبرگلاس ۲ مترمکعبی استفاده شد. برای اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب محیط پرورش از دماسنج جیوه‌ای، pH متر WTW ساخت آلمان، اکسیژن متر WTW ساخت شرکت Multiline P4، وسایل زیست‌سنجی شامل خط‌کش و ترازوی با دقت ۱۰ گرم استفاده شد. دستگاههایی که برای تجزیه شیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند عبارت بودند از: دستگاه سنجش پروتئین 2300 Kjeltec Unit Foss Tecator، دستگاه سنجش چربی مدل Extraction System, (Buchi B-11)، دستگاه سنجش لیپاف (Fibertec System HT, 1043 Tecator)، کوره الکتریکی (Muffle Furnances)، آون، دستگاه سنجش انرژی (بمب کالریمتر مدل PARR1261)، ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، ترازوی دیجیتالی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم و دستگاه اسپکتروفوتومتر برای اندازه‌گیری فسفر و اکسید کرم.

جهت تخلیه شکمی ماهیان هر سه روز یکبار اقدام به صید ۵ تا ۱۰ عدد ماهی شد. ابتدا بوسیله پودر گل میخک بیهوش شدند (جیت ساز، ۱۳۸۰) و سپس محتویات محوطه شکمی با مالش قسمت شکمی ماهیان تخلیه شد (Papatryphon & Soares, 2001). نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری و برای انجام آنالیزهای شیمیایی به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

دمای آب بطور شبانه‌روزی در دو نوبت ۱۲ در ساعات ظهر و ۱۲ شب بوسیله دماسنج حیوه‌ای اندازه‌گیری شد که حداکثر و حداقل آن بترتیب ۱۵ و ۱۸/۵ درجه سانتیگراد تعیین گردید. حداکثر و حداقل اکسیژن اندازه‌گیری شده بترتیب ۸ و ۶/۷ میلیگرم بر لیتر بود و این مقادیر برای pH بترتیب برابر ۷/۵ و ۷/۷ تعیین گردید.

در پایان دوره پرورش ۲ عدد ماهی بطور تصادفی از هر مخزن که بیانگر یک تکرار بود، جهت بررسی وضعیت و آنالیز لاشه صید و در یخچال با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. از لاشه ماهیان بافت‌های عضلانی کناری بدن جدا و نمونه‌های بدست آمده در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خشک و با هاون پودر شدند تا جهت آزمایشات دیگر آماده شوند. علاوه بر این، ستون فقرات این ماهیان نیز با جوشاندن آنها در آب جدا گردید تا میزان فسفر آن تعیین گردد.

پروتئین، چربی، رطوبت، فسفر و اکسید کرم به روش استاندارد (AOAC ۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد و انرژی کل با استفاده از دستگاه بمب کالریمتر و میزان فیبر توسط دستگاه Fibertech اندازه‌گیری شدند. میزان آنزیم فیتاز براساس روش (Engelen et al., 1994) اندازه‌گیری شد. فرمول قابلیت هضم ظاهری مواد در رابطه زیر مشخص گردیده است (Halver, 1989):

$$100 - (100 \times (A/B) \times (C/D)) = \text{قابلیت هضم ظاهری ماده مغذی (درصد)}$$

A = اکسید کرم در غذا، B = اکسید کرم در مدفوع، C = درصد ماده مغذی مدفوع و D = درصد ماده مغذی در غذا

تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل تحت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور جیره غذایی (جیره پایه (شاهد) + ۴ نوع ماده اولیه گیاهی) و دو سطح آنزیم فیتاز (صفر و ۱۰۰۰ FTU) انجام شد. نرم افزار SPSS و روش آنالیز واریانس دو طرفه نیز جهت انجام تجزیه و تحلیل بکار گرفته شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و در سطح ۵ درصد ($P \leq 0.05$) انجام شد.

پس از تهیه مواد اولیه مورد نیاز جهت ساخت غذا، موادی که نیاز به آرد کردن داشتند، ابتدا آسیاب گردیدند و سپس آنالیزهای شیمیایی انجام شد. با توجه به آنکه طی این تحقیق اثر مواد گیاهی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت، جیره‌هایی براساس یک جیره پایه (جیره شاهد) که مواد اصلی آن آرد ماهی، آرد سویا و آرد گوشت بود تهیه و جیره‌های گیاهی با جایگزینی ۱۵ درصد برای سبوسها و ۲۵ درصد برای آردها ساخته شدند (جدول ۱).

جیره‌ها در نرم افزار لیندو (Lindo, 1994) براساس سطوح انرژی یکسان تنظیم گردیدند. اکسید کرم بعنوان شاخص قابلیت هضم مواد غذایی به میزان ۰/۵ درصد از کل وزن غذا به غذای مورد نظر اضافه گردید. سپس آنزیم فیتاز به میزان ۱۰۰۰ واحد بازا، هر کیلوگرم غذا^۱ (FTU) اندازه‌گیری و به کمک ۴۰ تا ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده و بر روی پلت‌ها پخش گردید (Papatryphon & Soares, 2001). در این آزمایش از شکل مایع آنزیم فیتاز استفاده شد. پس از تهیه غذاها، مقادیر پروتئین، چربی، انرژی، خاکستر، رطوبت، آنزیم فیتاز، اکسید کرم و فسفر آنها تعیین گردید که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است.

بعد از تهیه تمامی جیره‌ها و آماده‌سازی مخازن، ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن $126 \pm 6/4$ گرم از یک مرکز پرورش ماهی واقع در جاده هراز خریداری و به مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید رجایی ساری انتقال داده شدند. ماهیان ابتدا توزین و سپس با وزن یکسان در گروه‌های ۵ تایی در مخازن تقسیم شدند. در هر مخزن ۲ مترمکعبی که تا ۵۰۰ لیتر آبگیری شده بود ۱۶ عدد ماهی قرار داده شد. تعداد مخازن با توجه به تعداد تکرار (۳ تکرار)، تعداد تیمارهای غذایی (۵ نوع جیره شامل جیره پایه و ۴ نوع جیره حاوی مواد گیاهی) و سطوح فیتاز (۲ سطح) ۳۰ مخزن در نظر گرفته شد.

میزان غذای مورد نیاز با توجه به وزن ماهی و دمای آب، ۲ درصد وزن زیتوده کل تعیین شد (Zaccorrate et al., 1996). تغذیه ماهیان در طول دوره پرورش (۳۰ روز) سه بار در روز انجام و تنها در زمان تخلیه شکمی و زیست‌سنجی، تغذیه آنها قطع شد.

۱- یک FTU مقدار آنزیمی است که ۱ میکرومول فسفر غیرآلی را در یک دقیقه از ۰/۰۵۱ مول بر لیتر فیتات سدیم در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و pH برابر ۵/۵ جدا می‌کند (Forster et al., 1999).

جدول ۱: مقادیر به کار گرفته شده مواد گیاهی در جیره های مختلف

میزان ماده (درصد)						نوع جیره
جمع	جیره پایه (شاهد)	سبوس برنج	سبوس گندم	آرد ذرت	آرد گندم	
۱۰۰	۷۵	۰	۰	۰	۲۵	جیره حاوی آرد گندم
۱۰۰	۷۵	۰	۰	۲۵	۰	جیره حاوی آرد ذرت
۱۰۰	۸۵	۰	۱۵	۰	۰	جیره حاوی سبوس گندم
۱۰۰	۸۵	۱۵	۰	۰	۰	جیره حاوی سبوس برنج
۱۰۰	۱۰۰	۰	۰	۰	۰	جیره پایه (شاهد)

جدول ۲: مقادیر تجزیه تقریبی جیره های غذایی ساخته شده

نوع جیره	فسفر (درصد)	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	انرژی کل (کالری در گرم)	خاکستر (درصد)	رطوبت (درصد)	اکسید کرم (درصد)	میزان آنزیم فیتاز (FTU/kg)
دارای آرد گندم	۰/۹۵	۳۲/۲۷	۱۲/۰۴	۴۰۳۲/۹۷	۲۰/۵۵	۰/۰۸	۰/۲۸	۱۰۳۷
دارای آرد ذرت	۱/۵	۳۰/۸۹	۱۲/۳۱	۴۱۱۷/۷۷	۲۰/۹۳	۰/۰۸	۰/۲۹	۱۲۵۵
دارای سبوس گندم	۰/۸۴	۳۳/۸۵	۱۰	۳۹۷۴/۷۲	۲۳/۷۴	۰/۰۹	۰/۲۹	۱۱۴۶
دارای سبوس برنج	۰/۵۲	۳۳	۱۹	۴۰۷۶/۱۳	۲۵/۹۰	۰/۰۸	۰/۲۷	۱۱۰۸
پایه (شاهد)	۱/۶	۳۸/۵۶	۲۸/۵	۴۲۳۶/۲۶	۲۵/۹۴	۰/۰۸	۰/۲۷	۱۰۳۲

نتایج

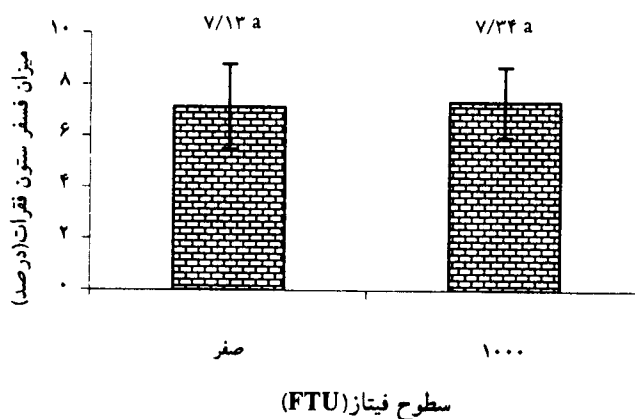
طبق جدول ۴ که بیانگر تاثیر سطوح فیتاز و نوع جیره و اثر متقابل آنها بر قابلیت هضم ظاهری فسفر جیره می باشد، فقط نوع جیره توانسته اثر معنی داری بر قابلیت هضم ظاهری فسفر داشته باشد ($P \leq 0.05$). نمودار ۳ نشان دهنده آن است که افزودن آنزیم فیتاز باعث بهبود قابلیت هضم ظاهری فسفر شده که البته این افزایش قابل ملاحظه نمی باشد ($P > 0.05$). نمودار ۴ نشان می دهد که در بین تیمارهای غذایی ماهیان تغذیه شده از جیره دارای آرد ذرت و همچنین جیره سبوس برنج بترتیب بیشترین و کمترین میزان قابلیت هضم فسفر را دارا می باشند.

جدول ۳ بیانگر تاثیر سطوح فیتاز و نوع جیره و اثر متقابل آنها بر میزان فسفر اسکلت داخلی می باشد. براساس این جدول هیچکدام از عوامل مذکور تاثیر معنی داری بر میزان فسفر اسکلت داخلی نداشته اند ($P > 0.05$). در نمودار ۱ فسفر اسکلت داخلی ماهیان تغذیه شده از غذاهای دارای فیتاز بیشتر از ماهیان تغذیه شده از غذای فاقد فیتاز بوده ولی این اختلاف معنی دار نبوده است ($P > 0.05$). نمودار ۲ نشان می دهد که ماهیان تغذیه شده با جیره های پایه (شاهد) و حاوی سبوس گندم بترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان فسفر اسکلت داخلی بودند.

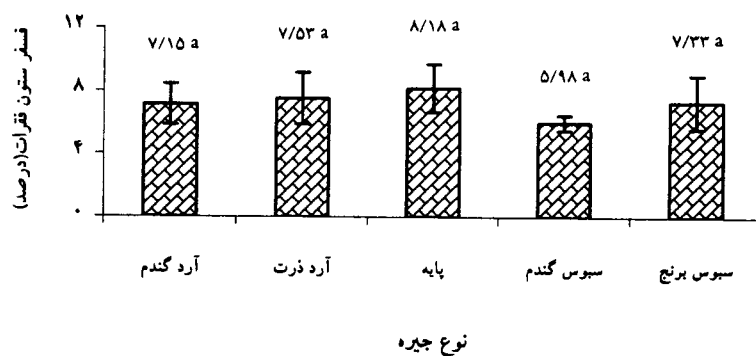
جدول ۳: تجزیه واریانس فسفر ستون فقرات برای سطوح فیتاز و نوع جیره

F	میانگین مربعات (M.S)	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات (S.S)	منبع تغییرات (S.O.V)
n.s/۱۷۴	۰/۳۳۳	۱	۰/۳۳۳	سطوح فیتاز
n.s۲/۰۲۳	۳/۸۶۱	۴	۱۵/۴۴۴	نوع جیره
n.s۱/۴۰۸	۲/۶۸۸	۴	۱۰/۷۴۵	اثر متقابل

n.s: عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد



نمودار ۱: تاثیر فیتاز بر میزان فسفر ستون فقرات



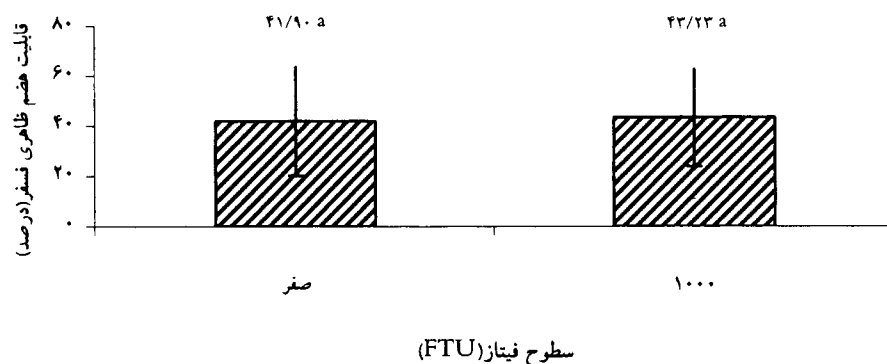
نمودار ۲: تاثیر نوع جیره بر میزان فسفر ستون فقرات

جدول ۴: تجزیه واریانس قابلیت هضم ظاهری فسفر برای سطوح فیتاز و نوع جیره

F	میانگین مربعات (M.S)	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات (S.S)	منبع تغییرات (S.O.V)
n.s.۰/۲۵۶	۸/۷۲۳	۱	۸/۷۲۳	سطوح فیتاز
**۵۰/۷۴۵	۱۷۲۶/۲۹۶	۴	۶۹۰۵/۷۸۵	نوع جیره
n.s.۲/۸۸۶	۹۸/۱۸۴	۴	۳۹۲/۷۳۵	اثر متقابل

n.s: عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد.

*: وجود اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد.



نمودار ۳: تاثیر فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری فسفر



نمودار ۴: تاثیر نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری فسفر

فیتاز و نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک نیز قابل ملاحظه بود ($P \leq 0.01$) (جدول ۶).

افزودن فیتاز تا حداقل ۱۰۰۰ واحد به غذاها باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک گردید ($P \leq 0.01$) (نمودار ۷). قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در ماهیان تغذیه شده از جیره‌های پایه (شاهد) و حاوی آرد گندم بترتیب کمترین و بیشترین میزان را دارا بودند (نمودار ۸).

بیشترین و کمترین میزان قابلیت هضم ظاهری ماده خشک بترتیب مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره دارای آرد گندم حاوی فیتاز و جیره پایه (شاهد) فاقد فیتاز بود (نمودار ۹).

تأثیر سطوح فیتاز و نوع جیره‌های غذایی و تأثیر متقابل آنها بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین در جدول ۵ آورده شده است که طبق این اطلاعات هیچ یک از آنها تأثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین نداشته‌اند هر چند که عملکرد جیره‌های دارای فیتاز بهتر از جیره‌های فاقد فیتاز بود (نمودار ۵).

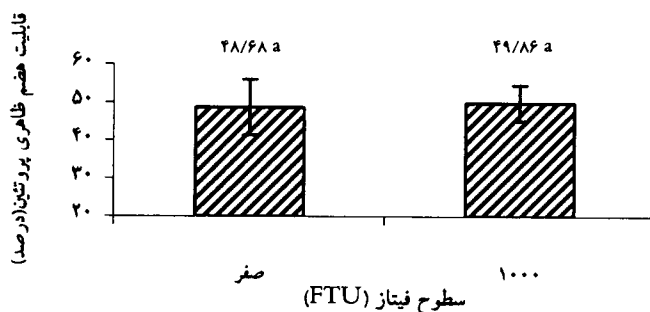
ماهیان تغذیه شده با جیره پایه (شاهد) دارای بیشترین ماهیان تغذیه شده با جیره دارای سبوس گندم دارای کمترین میزان قابلیت هضم پروتئین بودند اگر چه این تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند (نمودار ۶).

سطوح فیتاز و نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک تأثیر معنی‌داری داشتند ($P \leq 0.01$). تأثیر متقابل دو عامل سطوح

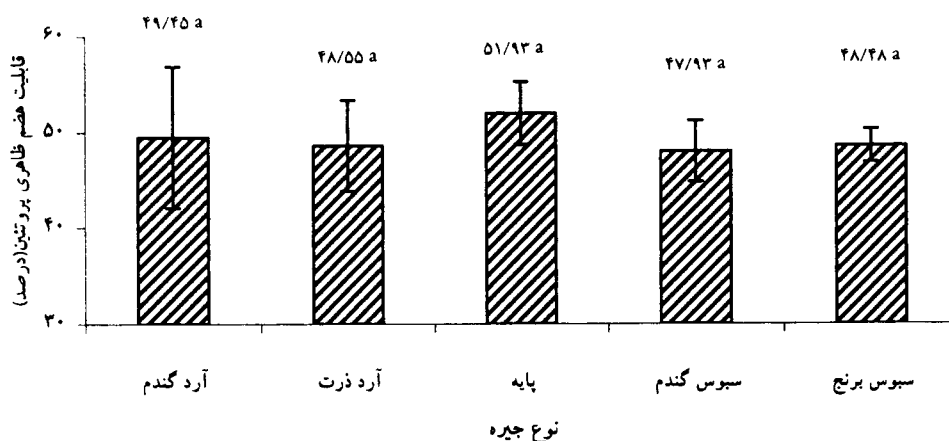
جدول ۵: تجزیه واریانس قابلیت هضم پروتئین برای سطوح فیتاز و نوع جیره

F	میانگین مربعات (M.S)	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات (S.S)	منبع تغییرات (S.O.V)
n.s/۲۹۱	۶/۹۶۲	۱	۶/۹۶۲	سطوح فیتاز
n.s/۴۱۹	۱۰/۰۴۶	۴	۴۰/۱۸۵	نوع جیره
n.s/۵۸۸	۱۴/۰۸۸	۴	۵۶/۳۵۱	اثر متقابل

n.s: عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد.



نمودار ۵: تأثیر سطوح فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین

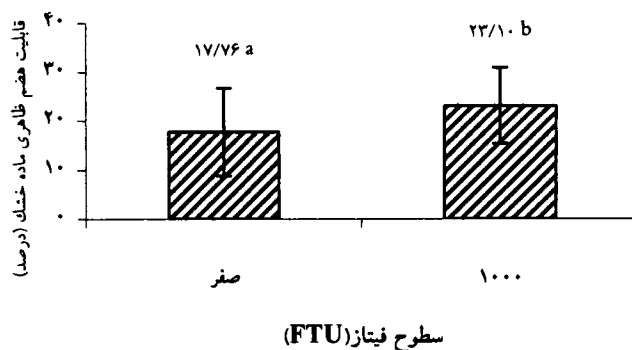


نمودار ۶: تاثیر نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین

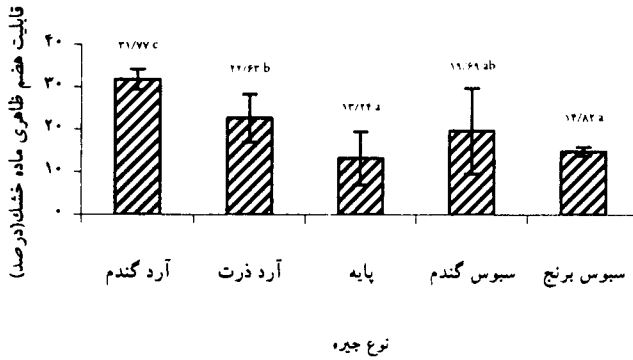
جدول ۶: تجزیه واریانس قابلیت هضم ماده خشک برای سطوح فیتاز و نوع جیره

F	میانگین مربعات (M.S)	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات (S.S)	منبع تغییرات (S.O.V)
**۱۴/۳۹۱	۱۴۲/۹۱۳	۱	۱۴۲/۹۱۳	سطوح فیتاز
**۲۱/۸۶۹	۲۱۷/۱۸۷	۴	۸۶۸/۷۴۶	نوع جیره
**۷/۴۰۰	۷۳/۴۹۲	۴	۲۹۳/۹۶۹	اثر متقابل

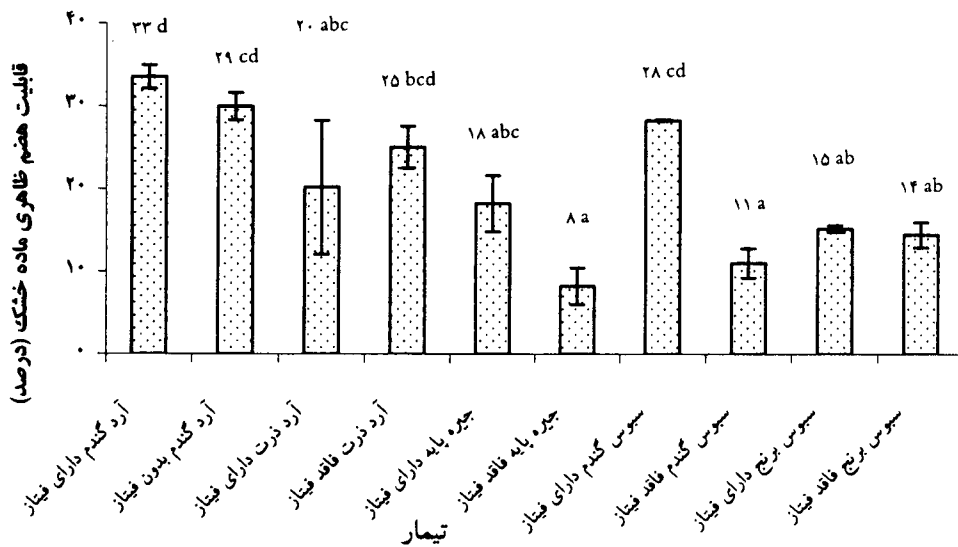
** وجود اختلاف معنی دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد.



نمودار ۷: تاثیر سطوح فیتاز بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک



نمودار ۸: تأثیر نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهر ماده خشک



نمودار ۹: اثر متقابل نوع جیره و سطوح فیتاز بر قابلیت هضم ظاهر ماده خشک

بحث

در رابطه با اثر نوع جیره بر میزان فسفر ستون فقرات نتایج این تحقیق نشان داد میزان فسفر ستون فقرات در تیمارهای پایه (شاهد) و سبوس گندم بترتیب بیشترین و کمترین مقدار بوده است. حال آن که Vielma و همکاران (۲۰۰۰) بیان داشتند که جیره حاوی پروتئین ماهی نسبت به جیره حاوی آرد سویا دارای میانگین فسفر بدن بالاتری بوده ولی اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد اطمینان نداشتند ($P > 0.05$).

افزودن آنزیم فیتاز به میزان حداقل ۱۰۰۰ واحد باعث افزایش میزان فسفر اسکلت داخلی گردید اما این افزایش معنی دار نبود ($P > 0.05$). Vielma و همکاران در سال ۲۰۰۰ بیان داشتند که افزودن فیتاز باعث بهبود ذخایر فسفر بدن می‌شود که البته این شامل فسفر ستون فقرات نیز است. باید اظهار نمود که شاید سطوح بالاتر فیتاز و افزایش مدت پرورش بتواند افزایش معنی دار میزان فسفر ستون فقرات را نشان دهند.

جیره دارای آرد سویا تغذیه شدند بطور قابل ملاحظه‌ای قابلیت هضم فسفر کمتری نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره آرد ماهی داشتند.

Sugiura و همکاران (۱۹۹۹) نتیجه گرفتند زمانیکه میزان جیره کازئین ۷۰ درصد و میزان استفاده از آرد ذرت یا آرد جو دوسر ۳۰ درصد باشد، میزان دسترسی فسفر جیره آرد ذرت بیشتر است.

افزودن آنزیم فیتاز به میزان حداقل ۱۰۰۰ واحد باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری پروتئین گردید اما این افزایش معنی‌داری نبود ($P > 0.05$). عدم تاثیر آنزیم فیتاز شاید به دلیل کم بودن میزان آنزیم در جیره باشد که برخی از متخصصین مانند Cheng & Hardy, 2003c; Lanari et al., 1998 با تحقیق خود این موضوع را تایید می‌نمایند.

آنزیم فیتاز باعث بهبود میزان قابلیت هضم ظاهری پروتئین گردید که نتایج Papatryphon, 2001 و Soares در باس مخطط و Hardy (2003b) و Cheng در قزل‌آلای رنگین کمان آن را تایید می‌نمایند. علت این مسئله را می‌توان آزاد شدن پیوندهای برقرار شده بین اسید فیتیک و پروتئین‌ها در pH اسیدی عنوان کرد که البته همانطور که اشاره گردید نتایج در این زمینه یکسان نمی‌باشد.

نتایج این تحقیق بیان داشت که نوع جیره اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین نداشته است ($P > 0.05$) و جیره دارای آرد گندم بیشترین و جیره دارای سبوس گندم دارای کمترین قابلیت هضم ظاهری پروتئین بین جیره های گیاهی بوده است. دلیل این امر شاید تفاوت ساختار پروتئینی در انواع مواد گیاهی باشد.

در تحقیقی که Cheng و Hardy (2003c) انجام دادند، نتیجه گرفتند که قابلیت هضم ظاهری پروتئین جیره دارای سویا تمام چرب بطور قابل ملاحظه‌ای بیشتر از جیره دارای سویا خام می‌باشد ($P < 0.05$).

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۱ صورت گرفت Papatryphon و Soares بیان داشتند که قابلیت هضم ظاهری پروتئین جیره حاوی پروتئین سویا دارای بیشترین مقدار بوده و با جیره حاوی آرد سویا اختلاف معنی‌داری دارد ($P < 0.05$).

قابلیت هضم ظاهری فسفر با افزودن آنزیم فیتاز افزایش یافته ولی این افزایش معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). مطابق این تحقیق قابلیت هضم ظاهری فسفر با افزودن فیتاز بهبود یافته که محققین دیگر با بررسی ماهیان مختلفی مانند باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (Oliva-Teles, 1998) باس مخطط (*Morone saxatilis*) (Papatryphon & Soares, 2001)؛ آزاد ماهی (Cain & Garling, 1995)؛ قزل‌آلای رنگین کمان (Rodehutsord & Pfeffer, 1995)، Lanari و همکاران (۱۹۹۸)، Storebakken و همکاران (۱۹۹۸) و Vielma و همکاران (۱۹۹۸) و ماهی کپور معمولی توسط Schafer و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان کردند، افزودن فیتاز باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری فسفر می‌شود. آنزیم فیتاز باعث شکسته شدن و آزاد شدن فسفر اسید فیتیک می‌گردد که این مسئله موجب در دسترس قرار گرفتن بیشتر فسفر می‌شود. طی تحقیقی که Cheng و Hardy (2003a) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که افزایش فیتاز تا ۳۰۰ واحد اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری فسفر فیتاتی نمی‌گذارد ($P > 0.05$) ولی بیشتر از آن باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری فسفر فیتاتی می‌گردد ($P < 0.05$).

نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری فسفر اثر معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) و تیمار تغذیه شده با جیره دارای آرد ذرت بیشترین میزان قابلیت هضم ظاهری فسفر را دارا بود. علت آن شاید وجود میزان کمتر فسفر فیتاتی در آرد ذرت نسبت به سایر مواد گیاهی باشد که معمولاً در پوسته غلات مشاهده می‌شود. Riche و Brown (۱۹۹۶) به بررسی دسترسی فسفر مواد مختلف گیاهی و جانوری در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین کمان پرداختند که طی آن دسترسی ظاهری فسفر آرد گلوتن ذرت را، بالا و برابر ۳۰/۷ درصد بیان کردند.

Papatryphon و Soares (۲۰۰۱) بیان داشتند که جیره دارای سبوس گندم نسبت به جیره‌های دیگر (دارای پروتئین جدا شده سویا، آرد سویا و آرد گلوتن ذرت) بکار گرفته شده جهت تغذیه ماهی باس مخطط (*Morone saxatilis*) قابلیت هضم فسفر پایین‌تری داشت.

طی تحقیقی Oliva-Teles و همکاران (۱۹۹۸) نتیجه گرفتند که ماهیان جوان باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) که با

(mykiss). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دریایی و منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس. تهران. ۷۴ صفحه.

سحری، م.ع.، ۱۳۸۱. ترکیبات ضد مغذی (در خوراک انسان، دام، طیور و آبزیان)، انتشارات اندیشمند. تهران. ۲۰۸ صفحه.

AOAC, 1990. Official methods of analysis AOAC, Washington DC. USA. 1263P.

Cain, K.D. and Garling, D.L., 1995. Pre-treatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. Prog. Fish-Cult., Vol. 57, pp.114-119.

Cheng, Z.J. and Hardy, R.W., 2003a. Effect of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. Vol. 218, pp.501-514.

Cheng, Z.J. and Hardy, R.W., 2003b. Effect of microbial phytase supplementation in corn distiller's dried grain with solubles on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In press.

Cheng, Z.J. and Hardy, R.W., 2003c. Effects of microbial phytase supplementation and dosage on apparent digestibility coefficients of nutrients and dry matter in soybean product-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In press.

Engelen, A.J.; Van der Heef, F.C.; Randsdorp, P.H.G. and Smit, E.L.C., 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. Journal of AOAC Int. Vol. 77, pp.760-764.

در سال ۱۹۹۸، Oliva-Teles و همکاران بیان داشتند که نوع جیره در تغذیه ماهیان جوان باس دریایی اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری پروتئین نداشته است ($P > 0.05$) ولی این عامل در مورد جیره دارای آرد سویا بیشتر بود.

افزودن فیتاز باعث افزایش معنی‌دار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک در حد ۹۹ درصد اطمینان گردید ($P < 0.01$)، نتایج این تحقیق در زمینه قابلیت هضم ظاهری ماده خشک نتایج Rodehutsord و Pfeffer در سال ۱۹۹۵ و Cheng و Hardy (2003a) در قزل‌آلای رنگین کمان را تأیید می‌نماید و می‌توان افزود که افزایش قابلیت هضم مواد غذایی مختلف که در مجموع ماده خشک را تشکیل می‌دهند، باعث افزایش قابلیت هضم ظاهری ماده خشک می‌گردد.

نوع جیره بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک تأثیر معنی‌داری دارد و بین جیره‌های ساخته شده، جیره حاوی آرد گندم دارای بیشترین مقدار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک می‌باشد و تیمار دارای آرد گندم حاوی فیتاز بیشترین مقدار قابلیت هضم ظاهری ماده خشک را دارا است.

Oliva-Teles و همکاران (۱۹۹۸) نتیجه گرفتند که ماهیان جوان باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) که با جیره دارای آرد سویا تغذیه شدند، بطور قابل ملاحظه‌ای قابلیت هضم ماده خشک کمتری نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره آرد ماهی داشتند.

در سال ۲۰۰۱، Papatryphon و Soares بیان داشتند که قابلیت هضم ظاهری ماده خشک جیره حاوی پروتئین سویا بیشترین میزان بوده و نوع جیره اثر معنی‌داری بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک داشته است ($P < 0.01$).

طی تحقیقی که توسط Cheng و Hardy (2003c) انجام پذیرفت، نتایج نشان داد که قابلیت هضم ظاهری ماده خشک جیره دارای آرد سویای تمام چرب، تفاوت معنی‌داری با جیره حاوی آرد سویای خام نداشت.

منابع

چیت ساز، ح.، ۱۳۸۰. مطالعه اثرات بیهوشی اسانس و عصاره گل میخک بر قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus*)

- Forster, I.; Higgs, D.A.; Bakhshish, S.D.; Rowshandeli, M. and Parr, J. , 1999.** Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus out put in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. *Aquaculture*. Vol. 179, pp.109-125.
- Halver, J.E. , 1989.** Fish nutrition. Academic Press Inc. 798P.
- Lanari, D.; D'Agaro, E. and Turri, C. , 1998.** Use of non linear regression to evaluate enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 161, pp.345-356.
- Liener, I.E. , 1994.** Implications of anti-nutritional components in soybean foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* Vol. 34, pp.31-67.
- National Research Council , 1993.** Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, USA. 114P.
- Oliva-Teles, A.; Pereira, J.; Gouveia, A. and Gomes, E. , 1998.** Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resource*. Vol. 11, No. 4, pp. 255-259.
- Papatryphon, E. and Soares Jr, J.H. , 2001.** The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass, *Morone saxatilis*. *Aquaculture*. Vol. 14, pp.120-129.
- Riche, M. and Brown, P.B. , 1996.** Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. Vol. 142, pp.269-282.
- Rodehutschord, M. and Pfeffer, E. , 1995.** Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Science Technology*. Vol. 31, No. 10, pp.143-147.
- Schafer, A.; Koppe, W.M.; Meyer-Burgdorff, K.H. and Gunther, K.D. , 1995.** Effect of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Water Science Technology*. Vol. 31, No. 10, pp.149-155.
- Storebakken, T.; Shearer, K.D. and Roem, A.J. , 1998.** Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic Salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*. Vol. 161, pp.365-379.
- Sugiura, S.H.; Raboy, V.; Young, K.A.; Dong, F.M. and Hardy, R.W. , 1999.** Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 170, pp.285-296.
- Vielma, J.; Lall, S.P.; Koskela, J.; Schoner, F.J. and Mattila, P. , 1998.** Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 163, pp.309-323.
- Vielma, J.; Mäkinen, T.; Ekholm, P. and Koskela, J. , 2000.** Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load., *Aquaculture*. Vol. 183, pp.349-362.

Vielma, J.; Ruohonen, K. and Peisker, M. , 2002.
Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. Vol. 204, pp.145-156.

Zaccorrate, I.; Gasco, L.; Sicuro, B.; Palmegiano, G.B. and Luzzana, U. , 1996. Use of by-product from poultry slaughtering in rainbow trout feeding. Rivista Italiana diaquacoltura. Vol. 31, pp.127-134.

The effect of Phytase enzyme on apparent digestibility of four vegetative food in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Rahmati Leeshei M.⁽¹⁾ ; Abedian A.M.⁽²⁾ * and Nazari R.M.⁽³⁾

aabedian@modares.ac.ir

1,2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resource and Marine Sciences, University of Tarbiat Modares, P.O.Box: 46414 Noor, Iran

3- Shahid Rajaei Aquaculture Center, P.O.Box: 961 Sari, Iran

Received: May 2005

Accepted: September 2006

Keywords: Nutrition, Rainbow trout, Phytase

Abstract

We investigated the effect of Phytase enzyme on phosphorus, protein, fat, dry matter and energy digestibility of four vegetative food comprised of wheat meal (WM), corn meal (CM), wheat bran (WB), rice bran (RB) in rainbow trout feeding. A base diet including fish, soybean and meat flour, was prepared. Four diets were prepared using a mixture of 75% base diet and 25% WM or CM and 85% base diet and 15% WB or RB with similar gross energies. Chromic oxide was added as 0.5% of the diet and used as an indigestibility marker. A phytase solution was sprayed on all diets at a minimum concentration of 1000 phytase units per Kg (FTU/Kg) of dry diets. Experiments were carried out in two cubic meter tanks that were filled with 500 liters of water. Maximum and minimum of temperature, oxygen and pH were 18 and 15°C; 8 and 6.8mg/l and 7.7 and 7.5 respectively.

Results showed no significant effect of Phytase on the amount of bone phosphorus and protein digestibility ($P>0.05$), while there was an increase in these indexes with Phytase supplementation. Moreover, Phytase significantly improved digestibility of dry matter. Results also showed that kind of diets had different effects on the nutritional digestibility. The diet containing of WM was the best with those containing CM, WB and RB gradually losing their suitability in terms of the nutritional digestibility. Due to their availability and suitability, we suggest that these diets, especially that containing WM be used in Rainbow trout culture.

* Corresponding author