University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 6, No. 2, 2020, pages: 27-38

A survey on growth indices and intestinal enzymes activity affected by feeding Beluga juveniles (*Huso huso*) subjected to a diet containing different levels of dietary -sodium chloride (NaCl)

Sommayeh Hasanpour[1*], Mohammad Pourdehghani[2], Habib Vahabzadeh[3], Mahmoud Mohseni[2], Amin Zarabi[4]

1- Golden Caviar Breeding Farm, Sangar Dam, Rasht, Guilan, Iran

2- International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Guilan, Iran

3- Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Guilan, Iran

4- Shohaday-e-Kheibar Abkenar Sturgeon Rearing and Propagation Complex, Guilan, Iran

Received 02 April 2020 Accepted 21 June 2020

KEYWORDS

Beluga (*Huso huso*)

Diet

Sodium chloride (NaCl)

Growth indices

Intestinal enzymes

ABSTRACT

The current study carried out to investigate the effects of adding salt (NaCl) in the diet of beluga, *Huso huso* and its impacts both on the function of intestinal enzymes and growth indices and food efficiency. In this regard, 480 species of Huso huso with a mean weight of 173.8 ± 0.49 g stocked in 12 fiberglasses 2000-liter tanks for 12 weeks. They fed a diet containing different levels of NaCl including 0, 3, 6 and 9 percent. Growth indices including final weight, SGR and daily growth showed significant differences in fishes of all treatments, except the fishes fed the diet containing comparing control group ($p<0.05$) Weight gain percentage of fed fish at 6% sodium chloride level was significantly higher than fish fed control but no statistically significant difference was observed between other treatments. The mean FCR in fishes of control group was significantly higher than other treatments ($p<0.05$). The mean rates ofrate of intestinal enzymes including Alkaline phosphatase, protease, lipase and amylase in the fishes fed by different levels of NaCl were significantly more than control group ($p<0.05$). It is suggested to achieve a higher growth rate, improve food efficiency, reduction of production costs and enhancement of intestinal enzymes function. appropriate percentage of added NaCl is to be 3-6% per kilogram of diet for farmed beluga of at 150 to 700 g.

*Corresponding author: somayehhasanpoor1982@yahoo.com

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال ششم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۹، صفحات ۳۸-۲۷

"مقاله پژوهشی"

بررسی شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های روده‌ای بچه فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره محتوی درصدهای مختلف مکمل کلرید سدیم (NaCl)

سمیه حسن‌پور[1*]، محمد پوردهقانی[2]، حبیب وهابزاده رودسری[3]، محمود محسنی[2]، امین ضرابی[4]

۱- مزرعه تکثیر و پرورش خاویار طلایی. جوار سد سنگر، رشت، گیلان، ایران

۲- موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، گیلان، ایران

۳- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، گیلان، ایران

۴- مجتمع آبزی پروری شهدای خیبر آبکنار، گیلان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۰۱

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر افزودن سطوح مختلف نمک (کلرید سدیم) به جیره غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی (*Huso huso*) و تاثیر آن بر میزان عملکرد آنزیم‌های روده‌ای و نیز شاخص رشد و کارایی غذا طراحی و انجام شد. بدین منظور تعداد ۴۸۰ قطعه بچه فیل ماهی با میانگین وزنی ۰/۴۹ ± ۱۷۳/۸۰ گرم در ۱۲ وان فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری به مدت ۱۲ هفته با چهار جیره غذایی محتوی سطوح مختلف کلرید سدیم شامل سطح صفر، ۳، ۶ و ۹ درصد تغذیه شدند. شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، شاخص رشد ویژه و رشد روزانه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کلرید سدیم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ($p<0/05$). درصد افزایش وزن ماهیان تغذیه شده در سطح ۶ درصد کلرید سدیم به طور معنی داری نسبت به ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد بالاتر بود امااختلاف معنی‌دار آماری بین سایر تیمارها مشاهده نشد. میانگین ضریب تبدیل غذایی ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد بطور معنی داری نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود ($p<0/05$). میانگین میزان آنزیم‌های روده‌ای آلکالین فسفاتاز، آمیلاز و لیپاز ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کلرید سدیم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود ($p<0/05$). به منظور دستیابی به افزایش رشد، بهبود کارایی غذا، کاهش هزینه تولید، تقویت عملکرد آنزیم‌های روده‌ای، مناسب‌ترین مقدار کلرید سدیم به میزان ۳ تا ۶ درصد در کیلوگرم در جیره غذایی فیل‌ماهی پرورشی اوزان ۱۵۰ تا ۷۰۰ گرم توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی

فیل‌ماهی

تغذیه

کلرید سدیم

شاخص‌های رشد

آنزیم‌های روده‌ای

نویسنده مسئول: somayehhasanpoor1982@yahoo.com

مقدمه

فیل ماهی (*Huso huso*) به دلیل بومی بودن، رشد نسبتا سریع، امکان تولیدمثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه ماهی و هزینه کمتر نسبت به سایر گونه‌های تاسماهیان، ماهی مناسبی جهت پرواربندی و تولید خاویار در مزارع پرورش به شمار می‌رود (محسنی و همکاران، ۱۳۸۴). موفقیت‌های اقتصادی فرآیند آبزی‌پروری وابسته به درک عمیق از زیست شناسی و رفتار تغذیه ای گونه مورد پرورش و مدیریت شرایط زیست‌محیطی چرخه تولید است. تولید تجاری موثر و کارآمد تاسماهیان نیازمند غذادهی با بهترین جیره و ترکیب ارزان‌تر، در عین حال موثر و با رشد مناسب و کمترین مقدار ضریب تبدیل غذایی ضروری به نظر می‌رسد. تغییر در کیفیت مواد غذایی موجب تغییرات در روند رشد و ترکیب بدن ماهی شده که این امر از نقطه نظر اقتصادی دارای اهمیت زیادی است. بنابراین، به منظور افزایش بازده تولید و فراهم آوردن سوددهی بیشتر، ارزیابی اقتصادی تغذیه و تعیین نیازهای غذایی ماهیان بسیار ضروری می باشد (Deng, 2000).

استفاده از مکمل کلرید سدیم (نمک) در جیره غذایی آبزیان از دیرباز مورد توجه صنعت آبزی پروری بوده است و همچنین مطالعات متعددی تاثیر چشم گیر این مکمل را در تغذیه آبزیان نشان داده است، نمک یکی از عناصر معدنی ضروری بدن حیوانات و گیاهان می‌باشد تا شرایط مطلوب‌تری داشته باشند. مشخص گردیده یون‌های موجود (کلر و سدیم) در نمک به عنوان نیروی محرک در جذب اجزای خوراک از طریق پمپ‌ها، انتقال‌دهنده‌ها و کانال‌های پروتئینی هستند (Thwaites et al. 2002; Bakke et al. 2010). سدیم نقش مهمی در جذب بسیاری از مواد مغذی جیره غذایی از روده را به واسطه چندین آنزیم که دارای فعالیت وابسته به سدیم هستند را دارد (Bakke et al. 2010). تحقیقات Nandeesha و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد، افزودنی‌هایی همچون کلرید سدیم (NaCl)، در صورتی که در جیره غذایی مصنوعی به صورت مکمل‌ها به کار روند، رشد ماهی را افزایش می‌دهند. نتایج مطالعات Hallali و همکاران (۲۰۱۸) حاکی از آن بود که قابلیت هضم ظاهری (ADC) در گونه تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) از ماده خشک، خاکستر، لیپید و پروتئین به طور قابل توجهی تحت تأثیر رژیم غذایی دارای مکمل نمک می‌باشد. نتایج دستاورد Krumschnabel (۱۹۹۳) در لارو ماهی قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) در شوری‌های مختلف و Tsintsadze (۱۹۹۱) در ماهی قزل‌آلا این فرضیه را اثبات کرد که ماهیان یوری هالین در آبهایی با شوری بالاتر نسبت به ماهیان آب شیرین از روند رشد مطلوب‌تری برخوردار هستند، این اثر به دلیل نیاز ذاتی ماهیان یوری هالین به نمک می‌باشد تا کارکرد نرمال داشته باشند.

تحقیقاتی که توسط Gatlin et al. 1992)، Eroldoğan et al. 2004; Salman و Eddy (۱۹۹۸) و همچنین، Arockiaraj, Appelbaum (۲۰۰۸ و ۲۰۰۹) تاثیر مثبت استفاده از نمک در جیره غذای ماهیان مورد مطالعه خود را تایید کردند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که افزودن نمک به خوراک ماهی تأثیر قابل توجهی در رشد، میزان مصرف خوراک و پارامترهای فیزیولوژیک در روده و خون دارد (Fontainhas-Fernandes et al. 2000; Harpaz, 2005; Cnaani et al. 2010, 2012; Nakajima and Sugiura, 2016). در تحقیقی دیگر اثرات خاص ناشی از استفاده مکمل نمک در جیره غذایی را بر فعالیت‌های اساسی آنزیمی روده و همچنین بر روی جمعیت باکتریایی روده نشان داده شد (Harpaz, 2005).

میزان کارایی غذا به ظرفیت فیزیولوژیک ماهی در هضم و جذب مواد غذایی بستگی دارد. اندام‌های گوارشی طی مرحله اولیه زندگی به طور عمده تکامل یافته و فعالیت می‌کنند و توسعه آنتوژنیکی و عملکردی آنها به طور مستقیم رشد، بقا و شرایط تغذیه‌ای آنها را تعیین می‌کند. همچنین، فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخص خوبی از ظرفیت گوارشی است و مستقیماً تکامل لوله‌های گوارشی و وضعیت تغذیه‌ای، ماهی را نشان می‌دهد. آنزیم‌های گوارشی در روده علاوه بر نقش بارز آن در هضم خوراک و جذب مواد مغذی، نقش مهمی در حفظ تعادل یونی، تعادل اسید-باز و انتشار دی اکسید کربن دارد (Grosell et al. 2009). تحقیقات در مورد باس دریایی آسیا (*Lates calcarifer*) نشان داد که افزودن نمک به خوراک باعث افزایش فعالیت آنزیم پروتئولیتیک لوسین آمینوپپتیداز در روده ماهی شده است (Harpaz et al. 2005). در مطالعه دیگری روی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) مشخص گردید که تغذیه ماهی با مکمل نمک جیره غذایی باعث افزایش رشد و مصرف خوراک می شود (Cnaani

et al. 2010). نتایج مطالعه نمک در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان تأثیر کلرید سدیم را بر جذب پروتئین جیره غذایی نشان داد (Nakajima and Sugiura, 2016).

در حال حاضر دغدغه های عمده آبزی پروری تجاری، بهبود جیره غذایی فرموله شده برای بهینه‌سازی رشد و ارتقاء سلامت ماهیان می‌باشد. با توجه به گزارشاتی محققینی که در متن مقدمه آمده به نظر می‌رسد که افزودنی‌هایی همچون کلرید سدیم، در صورتی که در جیره غذایی مصنوعی به صورت مکمل‌ها به کار روند به دلیل هضم و جذب بالاتر غذا رشد را افزایش می‌دهند، بنابراین، مطالعه حاضر نیز به منظور بررسی اثر افزودن سطوح مختلف نمک (کلرید سدیم) به جیره غذایی بچه فیل ماهیان پرورشی و تاثیر آن بر میزان عملکرد آنزیم‌های روده‌ای و ارتباط آن با شاخص رشد و کارایی غذا طراحی و انجام شد.

مواد و روش ها

طرح آزمایش و تیمارها

در این تحقیق که در مزرعه خاویار طلایی مجاور سد سنگر گیلان انجام گرفت، تعداد۴۸۰ عدد بچه فیل‌ماهی پس از سه بار رقم‌بندی و جدا کردن ماهی‌های هم اندازه با میانگین وزن ۰/۴۹ ± ۱۷۳/۸ گرم، در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۲ متر مکعبی (قطر ۲ متر و ارتفاع آب ۶۵ سانتی متر) با ورودی آب حدود ۰/۲ لیتر در ثانیه با آب چاه سطحی که توسط هواده مرکزی هوادهی می‌شدند، به صورت تصادفی توزیع شدند. میزان دمـای آب (۰/۵ ± ۱۹/۵۰ درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (۰/۵ ± ۶/۵۷ میلی‌گرم در میلی‌گـرم لیتر)، pH (۰/۴ ± ۷/۹۰)، به وسیله دستگاه مولتی متر مدل HQ40d آمریکایی اندازه‌گیری شد. تیمارها با چهار شرایط غذایی با درصدهای مختلف نمک بر اساس پیش آزمون و منابع موجود برای سایر گونه-ها (Cnaani et al. 2010 and 2012; Nakajima and Sugiura, 2016; Appelbaum and Arockiaraj, 2008 and 2009; Harpaz, 2005)، به طوری که جیره در تیمار ۱ دارای ۳ درصد کلرید سدیم، تیمار ۲ دارای ۶ درصد کلرید سدیم، تیمار ۳ دارای ۹ درصد کلرید سدیم و گروه شاهد بدون کلرید سدیم در نظر گرفته شد. تمامی گروه‌های آزمایشی در ۶ نوبت با جیره‌های غذایی تعیین شده تغذیه شدند. برای هر یک از تیمارها، سه تکرار در نظر گرفته شد.

آماده سازی جیره های غذایی

برای اضافه کردن کلرید سدیم به غذا، از جیره GFSI مخصوص مرحله رشد ماهیان خاویاری حاوی ۴۵٪ پروتئین، ۱۶٪ چربی، ۱۴٪ کربوهیدرات و ۵/۳٪ فیبر ساخته شده توسط شرکت فردانه مطابق با نیازمندی‌های غذایی ماهیان خاویاری در مرحله رشد و پیش پرواری استفاده شد. در راستای تهیه غذا در آسیاب مدل (Damicar Co, Tehran, Iran) به مدت ۱۰ دقیقه آسیاب شد تا کاملاً به شکل پودر درآید و سپس به ازای هر یک کیلوگرم غذا، کلرید سدیم (با توجه به درصدهای تعیین شده کلرید سدیم و با توجه به قابلیت حلالیت حداکثر درصد کلرید سدیم تعیین شده) در ۲۸۰ میلی لیتر آب حل و به غذای پودر شده اضافه گردید. برای گروه شاهد، ۲۸۰ میلی لیتر آب بدون کلرید سدیم به غذای پودر شده جهت یکسان سازی رطوبت جیره تمام تیمارها اضافه شد محلول آب و کلرید سدیم در نسبت‌های ذکر شده در یک کیلوگرم غذا مخلوط و سپس با استفاده از مخلوط کن (Pooya Notash Machinery Co, Iran) مخلوط شدند. پس از آن غذای مخلوط شده وارد چرخ گوشت گردید و به صورت رشته‌های نودل خارج و توسط تیغه برش به قطعه‌های متناسب با اندازه دهان ماهی (پلت‌ها) تبدیل شد و در دستگاه خشک کن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت (Mohseni et al. 2008). سپس غذا از خشک کن خارج و قبل از استفاده در بسته‌های پلاستیکی ذخیره و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. جیره غذایی مورد نظر، هر ۱۵ روز یکبار در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، واقع در سد سنگر گیلان، آماده و در یخچال نگهداری شد. این عملیات طی مدت ۱۲هفته انجام گرفت.

اندازه‌گیری شاخص های رشد

اندازه‌گیری طول کل و وزن کل بدن اولین بار در ابتدای دوره و پس از آن هر دو هفته یک بار با ۱۰۰ درصد ماهیان در هر تکرار انجام، سپس شاخص‌های رشد بر اساس روابط زیر محاسبه گردید.

رابطه ۱ میانگین رشد روزانه (Average Daily Growth)

$$ADG(g\ /\ fish/day)=\left[\frac{Wt-Wi}{Wi\times T}\right]\times 100$$

رابطه ۲ درصد افزایش وزن بدن (Body Weight Increase)

$$BWI=\left[\frac{Wt-Wi}{Wi}\right]\times 100$$

رابطه ۳ شاخص رشد ویژه (Specific Growth Rate)

$$SGR(day)=\left[\frac{LnWt-LnWi}{T}\right]\times 100$$

رابطه ۴ ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio)

$$FCR=\frac{Food}{Wt-Wi}$$

رابطه ۵ ضریب چاقی (Condition Factor)

$$K=\frac{Wt}{L^3}\times 100$$

رابطه ۶ شاخص کبدی (Hepatosomatic Index)

$$HSI=\frac{WL}{WT}\times 100$$

در فرمول‌های فوق Wi وزن اولیه، Wt وزن نهایی، L طول کل بدن، WL وزن کبد و T طول مدت پرورش است.

نمونه برداری و سنجش آنزیمی

سه عدد ماهی از هر تکرار (۹ عدد از هر تیمار) با استفاده از روش آسان کشی قطع نخاع شده و سریعا در مجاورت یخ قرار داده شدند تا با حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی، کالبدگشایی آنها صورت گیرد. جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، روده ماهیان به روش Cahu و همکاران (Cahu et al. 1999) آماده‌سازی و بلافاصله شرایط انجماد ۱۹۶- درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند (Kuz'mina et al. 2010). به منظور هموژن شدن روده، ماهی‌ها به طور تصادفی انتخاب و جداسازی روده از ماهی انجام شد و پس از آن روده با ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (شامل 0.1 100mM EDTA and 0.1% Triton X-100, pH 7.8) مخلوط و سپس با هموژنایزر (Polytron PT D-1300, Kinematica, Swiss) سه بار و هر بار به مدت ۳۰ ثانیه همگن شد. مخلوط آماده شده با سانتریفیوژ (Sigma 2-16k Laboratory centrifuge, Sigma CO., USA) ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و نمونه‌های سوپرناتانت تا زمان اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی در دمای ۸۰ - درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، لیپاز، آمیلاز از روش (Worthington, 1991) و آلکالین فسفاتاز دستگاه گوارش به روش Cahu و همکاران (Cahu et al. 1999) با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر (Mindry BS-200, China) مورد سنجش قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمار ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و پس از بررسی همگنی داده ها در گروه‌ها با آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

شاخص رشد

نتایج شاخص‌های رشد در جدول (۱) ارائه شده است. بر اساس آزمون Shapiro-Wilk داده های وزنی در تیمارها در بیومتری اول از توزیع نرمال برخوردار بودند (p>۰/۰۵). همچنین، طبق آزمون چند وجهی دانکن و به منظور مقایسه میانگین وزن بچه ماهیان در ۳ مرحله بیومتری در شاهد و تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (p<۰/۰۵). افزایش وزن نهایی بچه ماهیان در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به شکل معنی‌داری بیشتر از شاهد بوده است (p<۰/۰۵). میانگین ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به صورت معنی داری کمتر از شاهد بوده‌اند (عملکرد بهتر) (p<۰/۰۵) و در تیمارهای ۱ و ۳ بهترین ضریب تبدیل مشاهده شد. در میانگین نرخ رشد ویژه، برای مقایسه میانگین درصد افزایش وزن بدن و به منظور مقایسه میانگین رشد روزانه بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج حاصل از آزمون چند وجهی دانکن به منظور مقایسه دو به دو گروها با یکدیگر میانگین موارد فوق در تیمار ها و شاهد در بچه فیل ماهیان، در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به شکل معنی‌داری بیشتر از شاهد بوده‌اند (p<۰/۰۵).

آنزیم‌های گوارشی روده

در مقایسه میزان آنزیم‌های گوارشی مورد آزمایش خون ماهیان بین گروه‌ها با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (p<۰/۰۵). به طوری که مقدار آن برای ALP به صورت (P=0.007, df=3, F=20.846)، آنزیم آمیلاز (P=0.002, df=3, F=37.955)، آنزیم لیپاز (P=0.042, df=3, F=7.314) و همچنین، برای آنزیم پروتئاز (P=0.033, df=3, F=8.424) در جدول ۲ نشان داده شد. در این ارتباط میزان تمام آنزیم‌های گوارشی سرم خون ماهیان مورد آزمایش در این تحقیق در تیمارهای ۲ و۱ افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد و تیمار ۳ داشته است و بیشترین میزان این فاکتور در تیمار ۲ و کمترین میزان این آنزیم‌ها در شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱ عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی فیل ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف نمک طی ۱۲ هفته دوره پرورش

پارامترها / گروه	وزن اولیه (g)	وزن نهایی (g)	افزایش وزن بدن (٪)	نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	ضریب تبدیل غذایی	شاخص کبدی	رشدروزانه (روز/گرم)
شاهد	۱۷۲/۱۴ ± ۰/۹۷	۵۴۷/۵۶ ± ۰/۲۶ ^{b}	۶۸/۶۸ ± ۱/۷۱^{b}	۱/۴۱ ± ۰/۰۰۵^{b}	۱/۲۷ ± ۰/۰۰۲^{a}	۳/۱۶ ± ۰/۱۱	۲/۶۶ ± ۰/۰۲^{b}
تیمار ۱	۱۷۳/۸۰ ± ۰/۴۹	۶۴۰/۳۶ ± ۲۷/۱ ^{a}	۹۱/۱۶ ± ۱۱^{ab}	۱/۵۸ ± ۰/۰۰۴^{a}	۱/۱۴ ± ۰/۰۵^{b}	۳/۷۶ ± ۰/۳۱	۳/۲۷ ± ۰/۱۴^{a}
تیمار ۲	۱۷۳/۸۷ ± ۰/۰۳	۶۳۳/۶۳ ± ۳۰/۲ ^{a}	۹۸/۶۲ ± ۲/۳۶^{a}	۱/۵۸ ± ۰/۰۰۴^{a}	۱/۱۷ ± ۰/۰۵^{b}	۴/۳۷ ± ۰/۴۰	۳/۲۲ ± ۰/۱۴^{a}
تیمار ۳	۱۷۵/۳۱ ± ۴/۱۵	۶۳۰/۱۲ ± ۰/۴۹ ^{a}	۸۹/۳۵ ± ۱/۹۸^{ab}	۱/۵۶ ± ۰/۰۲^{a}	۱/۱۴ ± ۰/۰۰۱^{b}	۳/۲۴ ± ۰/۸۹	۳/۱۶ ± ۰/۰۷^{a}

حروف غیرهمنام کوچک در ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۲ مقایسه میانگین میزان آنزیم‌های گوارشی بین تیمارها و گروه شاهد بچه فیل ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف نمک

فاکتور	۰٪ نمک	۳٪ نمک	۶٪ نمک	۹٪ نمک
آلکالین فسفاتاز (u/kg)	۳۳۸۰ ± ۴۰۵^{c}	۷۹۳۹ ± ۱۸۷^{b}	۱۲۱۱۷/۵۰ ± ۱۶۶۷/۵^{a}	۴۳۶۲ ± ۱۸۶^{c}
آمیلاز (u/kg)	۹۰/۵۰ ± ۱/۵^{c}	۱۴۵ ± ۶۰^{b}	۱۷۶ ± ۹^{a}	۱۰۳/۵ ± ۶/۵^{c}
لیپاز (u/kg)	۲۷۸/۵۰ ± ۲۷/۵^{c}	۳۸۲/۵ ± ۲۸/۵^{b}	۵۳۶/۵ ± ۶۱/۵^{a}	۳۵۸ ± ۳۲^{c}
پروتئاز (u/kg)	۳۸/۵۰ ± ۲/۵^{c}	۵۴/۰۵ ± ۳/۵^{ab}	۷۳/۵۰ ± ۸/۵^{a}	۴۸/۵۰ ± ۳/۵^{c}

حروف غیرهمنام کوچک در ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری می باشد ($p<۰/۰۵$).

بحث

در مطالعه حاضر مقادیر درصد شاخص رشد ویژه و درصد افزایش روند رشد در ماهیان تغذیه شده با سطوح بهینه کلرید سدیم به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد از روند افزایشی برخوردار بود. بررسی‌ها اختلاف معنی‌دار میزان ضریب تبدیل غذایی را نشان داد به طوری که در گروه شاهد از مقدار۱/۲ به مقدار ۱/۱ در تیمارها کاهش یافته است (جدول ۱). این مطلب نشـــان می‌دهد که رشد ماهیان تغذیه شده با جیره نمک از رونـــد مطلوب‌تری برخوردار بوده است. در مطالعه دیگری روی تیلاپیا مشخص گردید که تغذیه ماهی با مکمل کلرید سدیم جیره غذایی باعث افزایش رشد و مصرف خوراک می شود (Cnaani et al. 2010). نتایج مطالعه کلرید سدیم در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان تأثیر کلرید سدیم را بر جذب پروتئین جیره غذایی نشان داد (Nakajima et al. 2016). مشخص گردید کلرید سدیم در بسیاری از موارد قادر به تاثیرگذاری بسیار بالایی برفاکتورهای رشد در ماهیان بوده و این تاثیر ازطریق فعالیت های متابولیکی آن در بدن میزبان می باشد (Gatlin et al. 1992). با مقایسه نتایج تحقیقات و مطالعات محققین فوق الذکر بنظر می رسد که کلرید سدیم به عنوان یک مکمل غذایی می‌تواند موثر بر فعالیت آنزیم‌های روده ای، جذب مواد غذایی و در نتیجه رشـــد ســـریع ماهیان بدلیل فعل و انفعالات متابولیکی در شـــرایط جدید تغذیه‌ای باشد. در نتیجه آگاهی از عملکرد دستگاه گوارشی و آنزیم های مترشحه از آن می‌تواند به تامین مواد مغذی با قابلیت هضم و جذب بالاتر در جیره غذایی و در نهایت به رشد ماهی کمک کند، همچنین آنزیم‌های گوارشی می‌تواند به عنوان الگویی مناسب جهت مشخص نمودن عادت غذایی ماهی باشد (Hidalgo et al. 1999; Hofer and Kock, 1989). دستاورد Arockiaraj و Appelbaum (۲۰۰۸) و (۲۰۰۹) نشان داد، روند رشد در گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان با جیره غذایی محتوی ۱۲٪ کلرید سدیم بهبود یافت. همچنین اذعان نمودند مقادیر بهینه کلرید سدیم درصد زنده مانی را افزایش و مقادیر ضریب تبدیل غذایی را بهبود دادند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

بنابر نتایج مثبت شاخص‌های رشد و افزایش آنزیم‌های گوارشی مورد بررسی در تحقیق حاضر، می توان به ارتباط بین سرعت رشد و بهبود عملکرد آنزیم‌های گوارشی روده پی برد، بطوریکه در نتایج مشخص شد اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی در میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز مشاهده شد. در این ارتباط میزان ALP سرم خون ماهیان در تیمار های ۲ و۱ افزایش معنی داری نسبت به شاهد و تیمار ۳ داشته است و بیشترین میزان این فاکتور در تیمار ۲ و کمترین میزان ALP در شاهد مشاهده شد. آلکالین فسفاتاز در غشای سلولی که در آن انتقال فعال صورت می‌گیرد، فعالیت دارد و به عنوان یک نشانگر عمده جذب مواد غذایی در نظر گرفته شده است. فعالیت آلکالین فسفاتاز اغلب برای ارزیابی عملکرد غشای روده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wahnon et al. 1992). این آنزیم توسط سلول های انتروسیت بالغ روده ترشح می شود که شاخص عملکرد سلول های انتروسیت روده است. این سلول ها دارای آنزیم های گوارشی (Krogdahl and Marie Bakke-McKellep, 2005) برای هضم مواد غذایی و پروتئین های حامل برای جذب مواد غذایی هضم شده هستند که در نهایت افزایش عملکرد این سلول ها و ترشح بیشتر آنزیم ها به خصوص آنزیم آلکالین فسفاتاز سبب رشد بیشتر موجود می‌شود (Nya and Austin, 2011). با توجه به وجود آنزیم فسفاتاز قلیایی در روده و عملکرد آن درآخرین مراحل هضم و گوارش، تصور بر این است که این آنزیم علامتی برای جذب مواد مغذی باشد (Senger et al. 1994). با توجه به نتایج می توان چنین استنباط نمود که استفاده از کلرید سدیم در جیره غذایی ضمن تاثیر بر آنزیم های روده از جمله فسفاتاز موجب افزایش جذب مواد مغذی می شود و در نتیجه باعث بهبود رشد ماهیان مورد تحقیق شده است Cnaani et al. 2010 and 2012; Nakajima and Sugiura, 2016; Appelbaum and Arockiaraj, 2008 and 2009; Harpaz, 2005)، در تحقیق حاضر بالاترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در جیره غذایی حاوی ۶ درصد کلرید سدیم نشان داده شد. با توجه به گزارش فوق و تاثیر مثبت کلرید سدیم در جیره غذایی بر آنزیم آلکالین فسفاتاز، میتوان چنین عنوان کرد که کلرید سدیم به عنوان یک ماده معدنی ضروری بدن جانداران و بخصوص ماهیان یوری هالین می‌تواند کارکرد و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز را بهبود بخشیده و جذب مواد مغذی جیره غذایی را افزایش دهد و سبب رشد بیشر در ماهیان شود. از سوی دیگر، در مطالعه Arockiaraj و Appelbaum در

سال‌های ۲۰۰۸ و ۲۰۰۹ گزارش گردید که ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی با سطوح بالای نمک عملکرد رشد بهتری را نسبت به گروه تغذیه شده با جیره غذایی شاهد داشتند. این موضوع بیانگر وجود رابطه مثبت خطی بین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و شاخص‌های رشد است (Yeganeh et al. 2014؛ Taheri et al. 2011؛ Nya and Austin, 2011). میزان فعالیت این آنزیم در روده بیانگر وضعیت فعالیت روده است و نقش مهمی در فرآیند معدنی سازی اسکلت موجودات آبزی، فرآیندهای متابولیکی مختلف به ویژه در رشد و نمو موجودات زنده دارد (Taheri et al. 2011). بنابراین، می‌توان آنزیم آلکالین فسفاتاز را بهترین نشانگر آنزیمی شاخص‌های رشد، در پاسخ فیزیولوژیک بدن بچه فیل ماهی مورد آزمایش به تغییر در محتوای جیره غذایی در نظرگرفت.

آنزیم‌های گوارشی در روده نقش بارزی در هضم خوراک و جذب مواد دارد (Grosell, 2010). در مطالعه حاضر بیشترین آنزیم‌های گوارشی در تیمار ۲ و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج یافته های علمی پروتئازها را از عوامل مهم هضم پروتئین در سیستم گوارش آبزیان عنوان کردند (Yúfera et al. 2007; Wu et al. 2013, García and Meilán, 2013). مقدار و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در گونه های مختلف و جیره های غذایی با ترکیب مواد مغذی مختلف، متفاوت است (Buddington et al. 2004; García and Meilán, 2013). همچنین، نتایج مطالعه حاضر، افزودن کلرید سدیم اثر معنی‌داری را روی فعالیت اختصاصی آنزیم‌های پروتئازی نشان داد. نتایج تحقیق حاضر با تحقیق Nandeeshaو همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد که عنوان کردند کلرید سدیم یکی از عناصر معدنی ضروری بدن حیوانات و گیاهان می‌باشد تا کارکرد طبیعی داشته باشند و طعم و مزه غذا را بهتر کرده، فشار اسمزی بدن را تنظیم کرده، اسید را در غشاء مخاطی معده تولید می‌کند، فعال‌سازی پپسین و آنزیم‌های غدد بزاقی حلق و گلو و فرایند گوارش را طبیعی می‌سازد (Nandeesha et al. 2000).

Ghomi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که استفاده از مولتی آنزیم کمین (حاوی پروتئاز) در جیره غذایی، افزایش روند رشد را در گونه فیل ماهی نشان داد، به طوریکه میزان ۲۵۰ میلی‌گرم آنزیم در هر کیلوگرم غذا بیشترین رشد را نشان داد، همچنین بیشترین میزان شاخص رشد ویژه و پایین ترین ضریب تبدیل غذایی در این غلظت گزارش شد. با توجه به تحقیقات فوق در اثبات عملکرد پروتئاز بر افزایش رشد که ممکن است در پی هضم و جذب بالاتر مواد غذایی توسط این آنزیم باشد بیان نمود، تغییر در جیره غذایی مستقیا بر روی آنزیم‌های گوارشی تاثیر گذار بوده و می‌تواند با افزایش مقدار پروتئاز، آمیلاز و سایر پارامترهای مورد آزمایش در تجزیه و جذب مواد مغذی نظیر پروتئین موثر باشد که در نهایت منجر به افزایش رشد در ماهی خواهد شد.

از اینرو می‌توان اذعان نمود افزودن کلرید سدیم در جیره غذایی فیل‌ماهی میزان ترشح و فعالیت آنزیم گوارشی را افزایش داده و عملکرد بالای این آنزیم‌ها می‌تواند باعث بهبود روند رشد و کارایی در گونه مورد آزمایش شود. در مجموع با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان بیان نمود، به منظور دستیابی به افزایش روند رشد، بهبود کارایی غذا، کاهش هزینه تولید، تقویت عملکرد آنزیم‌های روده‌ای، مناسب‌ترین مقدار کلرید سدیم بر اساس داده های شاخص های رشد و آنزیمهای گوارشی روده به میزان ۳ تا ۶ درصد در کیلوگرم در جیره غذایی فیل‌ماهی پرورشی اوزان ۱۵۰ تا ۷۰۰ گرم توصیه می‌شود.

منابع

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، صالح پور، م.، پورعلی، ح. و کاظمی، ر.، ۱۳۸۴. بررسی اثر دفعات غذادهی بر ویژگیهای رشد بچه فیل‌ماهیان (*Huso huso*) پرورشی. مجله علمی شیلات ایران ۱۴: ۱۵۹-۱۴۵.

Appelbaum, S., Arockiaraj, A.J. 2008. Israeli researchers test viability of using brackish inland waters for rearing gilthead sea bream. Hatchery International 9: 22-23.

Appelbaum, S., Arockiaraj, A.J. 2009. Cultivation of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) in low salinity inland brackish geothermal water. Journal of aquaculture, aquarium, Conservation and legislation Bioflux 2: 197-203.

Bakke, A.M., Glover, C., Krogdahl, A. 2010. Feeding, Digestion and Absorption of Nutrients. In: Grosell M, Farrell AP, Brauner CJ, editors. Fish Physiology The Multifunctional Gut of Fish, Academic Press; pp. 57-110.

Buddington, R.K., Krogdahl, A. 2004. Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. Comparative Biochemistry and Physiology 38A: 555-561.

Cahu, C., Zambonino Infante, J., Quazuguel, P., Le Gall, M. 1999. Protein hydrolysate *vs.* fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171: 109-119.

Cnaani, A., Barki, A., Slosman, T., Scharcanski, A., Milstein, A., Harpaz, S. 2010. Dietary salt supplement increases the growth rate in freshwater cultured tilapia hybrids. Aquaculture Research 41: 1545-1548.

Cnaani, A., Stavi, A., Smirnov, M., Harpaz, S. 2012. Rearing white grouper (*Epinephelus aeneus*) in low salinity water: Effects of dietary salt supplementation. Israel Journal Aquaculture, Bamidgeh. 64: 755-760.

Fontainhas-Fernandes, A., Russell-Pinto, F., Gomes, E., Reis-Henriques, M.A., Coimbra, J. 2000. The effect of dietary sodium chloride on some osmoregulatory parameters of the teleost, Oreochromis niloticus, after transfer from freshwater to seawater. Fish Physiology and Biochemistry 23: 307-316.

Deng, K., 2000. Artificial reproduction and early life stages of the green sturgeon (*Acipenser* medirostris). MS thesis. University of California, Davis. 63P.

Eroldoğan, O.T., Kumlu, M., Aktaş, M. 2004. Optimum feeding rate for European sea bass reared in seawater and freshwater. Aquaculture 231: 501-515.

Gatlin, D. M., Mackenzie, D. S., Craig, S. R., Naill, W. H. 1992. Effects of dietary sodium chloride on red drum juveniles in waters of various salinities. Progressive Fish Culturist 54: 220-227.

García-Meilán, I., Valentín, J., Fontanillas, R., Gallardo, M. 2013. Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus* aurata): Effects on digestive and absorptive processes. Aquaculture 412: 1-7.

Ghomi, M.R., Shahriari, R., Langroudi, H.F., Nikoo, M., Von Elert, E. 2012. Effects of exogenous dietary enzyme on growth, body composition, and fatty acid profiles of cultured great sturgeon *Huso huso* fingerlings. Aquaculture International 20: 249-254.

Grosell, M., Mager, E.M., Williams, C., Taylor, J.R. 2009. High rates of HCO3- secretion and Cl- absorption against adverse gradients in the marine teleost intestine: the involvement of an electrogenic anion exchanger and H+ pump metabolon? Journal of Experimental Biology 212: 1684-1696.

Hallali, E., Kokou, F., Chourasia, T.K., Nitzan, T., Con, P., Harpaz S. 2018. Dietary salt levels affect digestibility, intestinal gene expression, and the microbiome, in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). PLoS ONE 13: e0202351.

Harpaz, S. 2005. L-Carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition –A review. Aquaculture 249: 3-21.

Hidalgo, M.C., Urea, E. Sanz, A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture 170: 267-283.

Hofer, R., Kock, G. 1989. Method for quantitative determination of digestive enzymes in fish larvae. Polish Arch Hydrobiology 36: 439-441.

Krumschnabel, G., Lackner, R. 1993. Stress response in rainbow trout

(*O.mykiss*) alevins. Journal of Comparative Biochemistry and Physiology 104: 777-783.

Krogdahl, A., Marie Bakke-McKellep, A. 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comparative Biochemistry and Physiology 141A: 450-460.

Kuz'mina, V., Shekovtsova, N., Bolobonina V. 2010. Activity dynamics of proteinases and glycosidases of fish chyme with exposure in fresh and brackish water. Biology Bulletin 37: 605-611.

Mohseni, M., Ozorio R.O.A., Pourkazemi, M., Bai, S.C. 2008. Effects of dietary L-carnitine supplements on growth and body in beluga sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Journal of Applied Ichthyology 24: 646-649.

Nya, E.J., Austin, B. 2011. Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed additives to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum. Aquaculture Nutrition 17: 459-466.

Nakajima, M., Sugiura, S. 2016. Effects of dietary NaCl on the in vivo apparent absorption of dietary nutrients determined in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 460: 1-7.

Nandeesha, M.C., Gangadhar, B., Keshavanath, P., Varghese, T.J. 2000. Effect of dietary sodium chloride supplementation on growth, biochemical composition and digestive enzyme activity of young *Cyprinus carpio* (Linn.) and *Cirrhinus mrigala* (Ham.). Journal of Aquaculture in the Tropics 15: 135-144.

Senger, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., Hanke, W. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximum*. Marine Biology 119: 471-486.

Salman, N.A., Eddy. F.B. 1988. Effects of dietary sodium chloride, on growth, food intake and conversion efficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Aquaculture 70: 131-144.

Taheri, A., Abedian Kenari, A., Hallaj, R., Habibi Rezaei, M., Motamed Zadegan, A.S., Owji Fard, U. 2011. Effect of different levels of hydrolysis protein on digestive enzymes of rainbow trout alevins (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Pathobiology, Scientific-Proceedings 8: 674-665.

Thwaites, D.T, Kennedy, D.J., Raldu´a, D., Anderson, C.M.H., Mendoza, M.E., Bladen, C.L. 2002. H/dipeptide absorption across the human intestinal epithelium is controlled indirectly via a functional Na/H exchanger. Gastroenterology 122: 1322-1333.

Tsintsadze, Z.A. 1991. Adaptational capabilities of various size age groups of rainbow trout in relation to gradual changes of salinity. Journal of Ichthyology 31: 179-188.

Ugolev, A.M., Kuz'mina, V.V. 1994. Fish enterocyte hydrolases. Nutrition adaptations. Comparative Biochemistry and physiology 107A: 187-193.

Wahnon R., Coogan V., and Mokady S. 1992. Dietary fish oil modulates the alkaline phosphatase activity and not the fluidity of rat intestinal microvillus membrane. Journal of Nutrition 122: 1077-1084.

Worthington, C.C. 1991. Worthington enzyme manual related Biochemical. 3th Edition. Freehold, New Jersey, 212-215.

Yufera, M., Darias, M.J. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. Aquaculture 268: 53-63.

Wu, T., Sun, L. C., Du, C. H., Cai, Q. F., Zhang, Q. B., Su, W. J. Cao, M. J. 2009. Identification of pepsinogens and pepsins from the stomach of European eel (*Anguilla anguilla*). Food Chemistry 115: 137-142.

Yeganeh, S., Ramezanzadeh, F., Jani Khalili, Kh. and Babaei S.S. 1393. Investigating the effects of light period on the activity of some gastrointestinal and intestinal digestive enzymes in larvae and juveniles rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Fisheries Science 23: 1-14.