

## مقاله علمی - پژوهشی:

## بررسی تأثیر مقادیر مختلف پودر سویا (*Glycine max*) حاوی آنزیم فیزایم بر شاخص‌های خونی و فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius* Kessler, 1877)

محمود محسنی<sup>۱\*</sup>، مریم آفتابگرد<sup>۲</sup>، مصطفی کرمی نسب<sup>۳</sup>، محمداسماعیل راست‌روان<sup>۴</sup>، یونس گل علیپور<sup>۴</sup>

\*mahmoudmohseni73@gmail.com

- ۱- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
- ۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
- ۳- کارخانه خوراک آبزیان بهدانه شمال، مازندران، بابلسر، ایران
- ۴- مرکز تحقیقات ماهیان سردابی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۹

### چکیده

بررسی حاضر به منظور تأثیر جیره غذایی محتوی مقادیر مختلف پودر سویا و آنزیم فیزایم بر شاخص‌های هماتولوژی و آنزیم‌های کبدی سرم در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) با وزن متوسط  $148/1 \pm 1/98$  گرم، به مدت ۸۵ روز انجام شد. بدین منظور، ۲۴۰ عدد ماهی جوان آزاد دریای خزر در طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار آزمایشی شامل تیمار ۱ (جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا، تیمار ۲ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا)، تیمار ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۴ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا) و تیمار ۵ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) با دو تکرار در هر تیمار (۲۰ عدد ماهی در هر تکرار) و نمونه شاهد (تیمار صفر) (جیره پایه) توزیع شدند. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر گلبول‌های قرمز خون و هماتوکریت به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شدند، که فقط نسبت به تیمار ۴ تفاوت‌های معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0/05$ ). بیشترین مقدار هموگلوبین در نمونه شاهد مشاهده شد که به استثنای تیمار ۱، نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). بیشترین تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC) در تیمار ۳ مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ( $p < 0/05$ ). کمترین مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی شامل لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز (ALP) به ترتیب در تیمار ۱ و نمونه شاهد ثبت شد که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۲ و ۳ نشان نداد ( $p > 0/05$ ). از سویی، سطوح سرمی این آنزیم‌ها در تیمار ۵ تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۲ و ۳ نشان ندادند ( $p > 0/05$ ). لذا، با توجه به نتایج مطالعه حاضر و عدم تفاوت معنی‌دار مقادیر اغلب پارامترهای مورد نظر بین نمونه شاهد و تیمار ۵، جایگزینی ۴۰ درصد پودر سویا، حاوی ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا به جای پودر ماهی، جهت دستیابی به یک جیره اقتصادی بدون تأثیر منفی بر سلامت ماهی آزاد دریای خزر توصیه می‌گردد.

**لغات کلیدی:** پودر سویا (*Glycine max*)، فیزایم، هماتولوژی، آنزیم‌های کبدی، ماهی آزاد دریای خزر

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

امروزه، جایگزینی پروتئین‌های جانوری نظیر پودر ماهی با پروتئین‌های گیاهی در دسترس و ارزان‌تر یکی از اولویت‌های اصلی تحقیقاتی جهت دستیابی به کاهش قیمت غذای مصرفی و بهینه‌سازی آبی‌پروری پایدار به‌خصوص در گونه‌های گوشت‌خوار با ارزش اقتصادی بالا همچون آزادماهیان می‌باشد (Ogunkoya *et al.*, 2006; Gatlin *et al.*, 2007; Castillo and Gatlin, 2015). پودر سویا به دلیل دسترسی آسان و مقرون به صرفه بودن، دارا بودن ترکیب اسیدهای آمینه ضروری مشابه پودر ماهی و محتوای پروتئینی بالا (حداقل ۶۵ درصد)، یکی از مهم‌ترین انواع پروتئین‌های گیاهی جایگزین برای پودر ماهی به‌شمار می‌رود (Bowyer *et al.*, 2013; Ehsani *et al.*, 2014). پودر سویا همچون سایر پروتئین‌های گیاهی حاوی مواد ضد تغذیه‌ای نظیر فیتات (فیتیک اسید) می‌باشد (Francis *et al.*, 2001). حدود ۷۰ درصد از فسفر موجود در منابع پروتئینی گیاهی، نظیر سویا به صورت فیتات است که در اغلب جانوران تک معده‌ای همچون ماهی‌ها، هضم ناچیزی دارد یا غیرقابل هضم می‌باشد که به دلیل فقدان آنزیم تجزیه‌کننده فیتات (فیتاز) در سیستم گوارشی این جانوران است (Oliva-Teles *et al.*, 1998). یکی از معایب اصلی منابع پروتئینی گیاهی نظیر سویا، وجود فیتات است که از طریق عدم دسترسی ماهی به مواد معدنی جیره و اثرات منفی بر خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و عملکرد آنزیم‌های گوارشی منجر به اختلال در هضم مواد مغذی جیره و کارایی تولید می‌گردد (Ramachandran *et al.*, 2005). فیتازها عمدتاً منشأ میکروبی (قارچ‌ها، مخمرها، باکتری‌ها، آغازیان) یا غیر میکروبی (گیاهی و جانوری) دارند (ساریخانی و ملبوبی، ۱۳۸۹). فیتازها زیر خانواده فسفاتازها می‌باشند که منجر به تجزیه فیتات (فیتیک اسید) به اجزاء کوچک‌تر مونو، دی، تترا و پنتا فسفات می‌شوند و اثرات منفی فیتات موجود در منابع پروتئین گیاهی بر پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره جانوران تک معده‌ای مانند ماهی‌ها را خنثی می‌کنند یا به حداقل ممکن می‌رسانند و

از این طریق سبب افزایش اشتها و میزان جذب فسفر جیره می‌گردند (Xiong *et al.*, 2004; Vats *et al.*, 2009). با ارزیابی شاخص‌های هماتولوژی دستیابی به اطلاعات مفید در خصوص کمبودهای احتمالی، تغییرات متابولیک، روند سازگاری ماهی تحت شرایط استرس مزمن و تغییر شرایط پرورشی تسهیل می‌گردد (Maita, 2007). در این راستا، تغییر در رژیم غذایی ماهی از جمله استرس‌های غیر زیستی است که دارای تأثیرات قابل توجهی بر شاخص‌های هماتولوژی می‌باشد (Svobodova *et al.*, 2008). تولید اسیدهای صفراوی و متابولیسم مواد غذایی نیز از جمله فرآیندهای بیوشیمیایی کبد محسوب می‌شود که نقش مهمی در وضعیت سلامت و عملکرد ایمنی دارد (Hall, 2010). آنزیم‌های مهم موجود در کبد شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتات دهیدروژناز (LDH) و نیز آمینوترانسفرازها (آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT)) می‌باشند که تمامی فرآیندهای بیوشیمیایی کبد به‌وسیله آنها صورت می‌گیرد و معمولاً افزایش مقادیر سرمی این آنزیم‌ها تحت تأثیر عوامل خارجی را با اختلال در عملکرد کبد مرتبط می‌دانند (Řehulka, 2000; Shi *et al.*, 2006). با توجه به موارد مذکور، نکته حائز اهمیت این است که کاربرد منابع پروتئینی گیاهی جایگزین پودر ماهی ممکن است اثر منفی بر وضعیت سلامت ماهی داشته باشد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد برای تأمین سلامت ماهی پرورشی، از طریق ارزیابی عملکرد هماتولوژی و سطوح فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم بتوان به سطح بهینه و ایمن کاربرد پروتئین‌های گیاهی نظیر پودر سویا در جیره غذایی ماهیان پرورشی دست یافت. بدین‌منظور، استفاده از فیتازهای تجاری در جیره غذایی جهت غیرفعال شدن فاکتورهای ضد تغذیه‌ای به‌ویژه فیتات موجود در پودر سویا می‌تواند توجه صنعت آبی‌پروری را به ارزش تغذیه‌ای پودر سویا به عنوان یک گزینه مناسب جایگزین پودر ماهی معطوف نماید. فیزایم (Phyzyme® XP)<sup>۵</sup> یکی از انواع فیتازهای تجاری میکروبی با منشأ

<sup>۴</sup> ALT: Alanine Aminotransferase<sup>۵</sup> Phyzyme® XP<sup>۱</sup> ALP: Alkaline Phosphatase<sup>۲</sup> LDH: Lactate Dehydrogenase<sup>۳</sup> AST: Aspartate Aminotransferase

باکتری اشیرشیاکلی (*E. coli*) و محصول شرکت بیوشم آلمان می‌باشد که در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت. ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius* Kessler, 1877) به دلیل صید بی‌رویه و تخریب زیستگاه‌های طبیعی تخم‌ریزی طبق معیارهای اتحادیه جهانی حفاظت از طبیعت یکی از گونه‌های در معرض خطر انقراض دریای خزر محسوب می‌شود. این گونه شاخص و منحصربه‌فرد دریای خزر، برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های آب شیرین منتهی به این دریا شامل آستارا چای، بابل‌رود، چشمه‌کیله تنکابن، سردآبرود، سفیدرود، سفارود و کرگان‌رود مهاجرت می‌کند (Kiabi et al., 1999). حفاظت و پرورش این ماهی از لحاظ کیفیت گوشت و کسب درآمد، اشتغال‌زایی به‌خصوص پرورش در قفس در دریای خزر از سویی و حفظ ذخیره ژنتیکی برای ایران از سوی دیگر، نیاز مبرم انجام مطالعات بنیادی و کاربردی را بیش از پیش نمایان می‌سازد (محسنی و همکاران، ۱۳۹۸).

پرورش موفق ماهی آزاد دریای خزر منوط به تأمین جیره‌های حاوی میزان بالای پودر ماهی می‌باشد و پژوهش حاضر با توجه به افزایش سالانه قیمت و منابع محدود تأمین‌کننده این فرآورده و نیز سهولت دسترسی به پودر سویا، با هدف بررسی وضعیت سلامت با تأکید بر شاخص‌های هماتولوژی و فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی تحت تأثیر جایگزینی پودر سویا در سطوح ۲۰ و ۴۰ درصد به جای پودر ماهی و پتانسیل فیتاز تجاری (فیزایم) در افزایش احتمالی کارایی جایگزینی سطوح مورد مطالعه پودر سویا در جیره غذایی ماهی جوان آزاد دریای خزر طراحی گردید.

## مواد و روش کار

این مطالعه در مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور (دوهازار، تنکابن، مازندران) انجام شد. تعداد ۲۴۰ عدد ماهی جوان آزاد پرورشی (پس از سازگاری شرایط پرورشی) با میانگین وزنی  $148/1 \pm 2/98$  گرم در شش تیمار و هر تیمار با دو تکرار در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۹۰۰۰ لیتری مجهز به هواده و تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به صورت فواره‌ای) با دبی آب ۴/۵۸ لیتر در دقیقه (آب چشمه) توزیع شدند. شش جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱۴/۳٪ چربی

خام)، با پروتئین خام یکسان (۴۳/۲٪ پروتئین) و انرژی ۳۵۸۸ کیلوکالری به ازای هر کیلوگرم (محسنی و همکاران، ۱۳۹۷)، محتوی سطوح مختلف پودر سویا (۲۰ و ۴۰ درصد) و آنزیم فیزایم (۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر کیلوگرم جیره) بودند، تنظیم گردید (جدول ۱). تیمارها شامل: تیمار ۱ (جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۲ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا)، تیمار ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا)، تیمار ۴ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا) و تیمار ۵ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) و نمونه شاهد (تیمار صفر) (جیره پایه) بودند. ماهیان جوان آزاد دریای خزر به مدت ۸۵ روز و براساس حداکثر ۲ درصد وزن توده زنده در ۳ نوبت (صبح، ۱۴ عصر و ۲۰ شب) تغذیه شدند.

مواد خشک (آرد ماهی، کنجاله سویا، آرد گندم و ...) قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (پلی‌برایزر-چین) در کارخانه خوراک آبزیان بهدانه شمال- استان مازندران- بابل‌سر به قطر کمتر از ۲۰۰ میکرون شکسته شدند. مواد ریزمغذی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ال-کارنیتین به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه هم‌زن (میکسر) دو زبانه (ری بونی، شرکت گرما الکتریک - آمل)، کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. محصول حاصل با استفاده از دستگاه پلت‌زن (ساخت کشور چین، نمایندگی شرکت گرما الکتریک) به قطر ۴ میلی‌متر تولید شدند (محسنی و همکاران، ۱۳۹۶). پلت‌ها با استفاده از دستگاه خشک‌کن طبقاتی (ساخت کشور چین، نمایندگی شرکت گرما الکتریک) در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت تا رطوبت تقریبی ۱۰ درصد، خشک شدند. بعد از قرار گرفتن به مدت ۲۰ دقیقه در داخل دستگاه خنک‌کننده، از الک (به قطر ۴ میلی‌متر)، جهت جدا سازی پلت‌های شکسته و نامناسب عبور داده شدند. در نهایت جیره‌ها شماره‌گذاری و در محفظه‌های عاری از هوا بسته‌بندی و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها از فریزر خارج و پس از متعادل شدن با دمای اتاق،

با استفاده از ترازوی دیجیتالی توزین و در اختیار ماهی قرار گرفت (Mohseni et al., 2011).

جدول ۱: ترکیب غذایی جیره‌های آزمایشی برای تغذیه ماهی آزاد دریای خزر در مدت ۸۵ روز

Table 1: Ingredients of experimental diets for feeding of *Salmo caspius* during 85 days

| ترکیبات جیره (درصد) | نمونه شاهد | تیمار ۱ | تیمار ۲ | تیمار ۳ | تیمار ۴ | تیمار ۵ |
|---------------------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| پودر ماهی           | ۵۵         | ۵۵      | ۴۳      | ۴۳      | ۳۱      | ۳۱      |
| آرد سویا            | ۰          | ۰       | ۱۱      | ۱۱      | ۲۲      | ۲۲      |
| پودر گوشت           | ۶          | ۶       | ۶       | ۶       | ۶       | ۶       |
| آرد گندم            | ۱۵         | ۱۵      | ۱۶      | ۱۶      | ۱۶      | ۱۶      |
| آنزیمیت             | ۰/۲        | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     |
| منو کلسیم فسفات     | ۰/۲        | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     | ۰/۲     |
| پودر پروتئین حیوانی | ۷/۴۲       | ۷/۴۲    | ۷/۴۲    | ۷/۴۲    | ۷/۴۲    | ۷/۴۲    |
| مکمل معدنی          | ۱          | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       | ۱       |
| مکمل ویتامینه       | ۱/۵        | ۱/۵     | ۱/۵     | ۱/۵     | ۱/۵     | ۱/۵     |
| روغن ماهی           | ۳/۵        | ۳/۵     | ۳/۲     | ۳/۲     | ۳/۲     | ۳/۲     |
| روغن گیاهی          | ۳/۵        | ۳/۵     | ۳/۲     | ۳/۲     | ۳/۲     | ۳/۲     |
| آنتی اکسیدان        | ۰/۰۳       | ۰/۰۳    | ۰/۰۳    | ۰/۰۳    | ۰/۰۳    | ۰/۰۳    |
| لازین               | ۰/۳        | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     |
| میتوئین             | ۰/۳        | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     | ۰/۳     |
| کولین کلراید        | ۰/۷۵       | ۰/۷۵    | ۰/۷۵    | ۰/۷۵    | ۰/۷۵    | ۰/۷۵    |
| ال- کارنتین         | ۰/۰۶       | ۰/۰۶    | ۰/۰۶    | ۰/۰۶    | ۰/۰۶    | ۰/۰۶    |
| ویتامین C           | ۰/۰۲       | ۰/۰۲    | ۰/۰۲    | ۰/۰۲    | ۰/۰۲    | ۰/۰۲    |
| آنزیم فیزیایم       | ۰          | ۰/۰۴    | ۰       | ۰/۰۴    | ۰       | ۰/۰۴    |
| سلولز               | ۵          | ۴/۹۶    | ۵       | ۴/۹۶    | ۵       | ۴/۹۶    |
| ضد قارچ             | ۰/۲۲       | ۰/۲۲    | ۰/۲۲    | ۰/۲۲    | ۰/۲۲    | ۰/۲۲    |
| جمع کل              | ۱۰۰        | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     | ۱۰۰     |

آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک، میانگین سه تکرار)

|                                 |      |      |      |      |      |      |
|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| پروتئین (درصد)                  | ۴۲/۹ | ۴۲/۶ | ۴۲/۴ | ۴۳/۱ | ۴۲/۲ | ۴۲/۵ |
| چربی (درصد)                     | ۱۴/۲ | ۱۴/۲ | ۱۴/۵ | ۱۴/۴ | ۱۴/۲ | ۱۴/۴ |
| فیبر (درصد)                     | ۲/۴  | ۲/۵  | ۲/۵  | ۲/۵  | ۲/۴  | ۲/۶  |
| رطوبت (درصد)                    | ۹/۶  | ۹/۸  | ۹/۶  | ۹/۸  | ۹/۶  | ۹/۵  |
| انرژی خام (کیلوکالری / کیلوگرم) | ۳۸۵۰ | ۳۸۵۳ | ۳۸۵۲ | ۳۸۵۵ | ۳۸۴۵ | ۳۸۴۸ |

جیره پایه (نمونه شاهد)، جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزیایم در هر کیلوگرم غذا (تیمار ۱)، جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا (تیمار ۲)، جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزیایم در هر کیلوگرم غذا (تیمار ۳)، جیره پایه حاوی ۴۰٪ پودر سویا (تیمار ۴) و جیره پایه حاوی ۴۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزیایم در هر کیلوگرم غذا (تیمار ۵).

## آنالیز اجزاء، جیره غذایی

آنالیز تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و جیره‌های آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد جیره (AOAC, 1995) انجام شد. جهت اندازه‌گیری رطوبت جیره، نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل ( $N \times 6.25$ ) از روش کج‌دال، چربی با روش سوکسله و با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴-۶ ساعت، میزان انرژی موجود در ترکیبات غذایی با استفاده از بمب کالریمتر و خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۹ ساعت اندازه‌گیری شدند.

## تعیین مقادیر شاخص‌های هماتولوژی و آنزیم‌های کبدی سرم

به منظور بررسی شاخص‌های هماتولوژی و آنزیم‌های کبدی، ۱۸ ساعت پس از قطع غذاهای از هر تیمار ۶ عدد ماهی (۳ عدد ماهی از هر تکرار، مجموعاً ۳۶ نمونه) به صورت تصادفی صید و از ساقه دمی با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی خون‌گیری به عمل آمد. سپس ۰/۵ سی‌سی خون به داخل تیوب‌های اپندورف آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین (۰/۱ میلی‌لیتر به ازاء ۰/۵ سی‌سی خون) (احمدی‌فر و همکاران، ۱۳۹۸) و ۱/۵ سی‌سی باقیمانده به داخل تیوب‌های اپندورف غیرهپارینه شماره‌گذاری شده جهت انجام مطالعات سرولوژی منتقل گردید. برای انجام مطالعات سرولوژی، خون موجود در اپندورف فاقد هپارین به مدت یک ساعت ثابت باقی ماند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جدا شد (احمدی‌فر و همکاران، ۱۳۹۸). سپس سرم خون با سمپلر از روی نمونه‌ها برداشته شد. نمونه‌های سرم با دستگاه سنجش‌گر خودکار شاخص‌های بیوشیمیایی (شرکت هیتاچی، ساخت کشور ژاپن) و کیت‌های ضمیمه‌ای (شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) در آزمایشگاه تخصصی ویرومد (رشت-ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. شمارش کلی تعداد

گلبول‌های قرمز خون (RBC) و گلبول‌های سفید خون (WBC) ماهی پس از رقیق‌سازی با استفاده از محلول رقیق‌کننده Natt-Herrick به ترتیب به نسبت ۲۰۰ و ۵۰ برابر به روش دستی و با استفاده از لام هموسیستمتر نئوبار صورت گرفت (Feldman et al., 2000). مقدار هموگلوبین (Hb)<sup>۳</sup> به روش استاندارد با استفاده از کیت سنجش هموگلوبین ساخت شرکت زیست شیمی، تهران و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر (Feldman et al., 2000) و مقدار هماتوکریت (Hct)<sup>۴</sup> با استفاده از لوله‌های میکروههماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ میکروههماتوکریت صورت پذیرفت (Svetina et al., 2002). آنزیم‌های کبدی شامل لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک سنجش شدند (Borges et al., 2004).

## روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون همگنی گروه‌ها با آزمون Levene انجام پذیرفت. در صورت همگن بودن داده‌ها، برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه‌ای از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار برده شد. مکمل ویتامینی (بر حسب IU یا میلی‌گرم در کیلوگرم): د-ال-آلفا توکوفرول استات ۶۰ IU. یو، د-ال-کولکلسیفرول ۳۰۰ IU. تیامین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ریبوفلاوین ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، پیرودوکسین ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، ویتامین B12 ۰/۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، نیکوتینیک اسید ۱۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیدفولیک ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، اسیداسکوربیک ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، اینوسیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در

<sup>۳</sup> Hb: Hemoglobin<sup>۴</sup> Hct: Hematocrit<sup>۱</sup> RBC: Red Blood Cell<sup>۲</sup> WBC: White Blood Cell

## نتایج

## شاخص‌های هماتولوژی

مقایسه میانگین مقادیر شاخص‌های هماتولوژی در تیمارها پس از ۸۵ روز پرورش در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین و کمترین میانگین تعداد گلبول‌های قرمز خون (RBC) با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در تیمار ۱ (جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۴ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا) بدست آمد ( $p < 0.05$ ) در حالی‌که، به استثنای تیمار ۴، افزایش RBC در تیمار ۱ نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). بیشترین و کمترین میانگین هماتوکریت (Hct) با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در تیمار ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۴ مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). به استثناء تیمار ۴، افزایش Hct در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نبود.

کیلوگرم، بیوتین ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتئات ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم. مکمل معدنی (بر حسب میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم): کربنات کلسیم ۴۰ درصد ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدید پتاسیم ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبالت ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم، کلرید سدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم.

جدول ۲: مقادیر شاخص‌های هماتولوژی در تیمارهای آزمایشی پس از ۸۵ روز غذایی

Table 2: Values of hematological indicators in experimental treatments after 85 days of feeding

| شاخص‌های هماتولوژی                   | نمونه شاهد                    | تیمار ۱                       | تیمار ۲                       | تیمار ۳                       | تیمار ۴                      | تیمار ۵                       |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| گلبول قرمز<br>(تعداد $\times 10^6$ ) | ۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>ab</sup> | ۱/۵۴ $\pm$ ۰/۸۱ <sup>a</sup>  | ۱/۴۳ $\pm$ ۰/۷۱ <sup>ab</sup> | ۱/۴۹ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>ab</sup> | ۱/۳۸ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>b</sup> | ۱/۴۱ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>ab</sup> |
| گلبول سفید<br>(تعداد $\times 10^3$ ) | ۶/۰۳ $\pm$ ۰/۷۱ <sup>c</sup>  | ۷/۰۰ $\pm$ ۰/۷۶ <sup>bc</sup> | ۷/۹۰ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>b</sup>  | ۱۰/۱۰ $\pm$ ۰/۳۶ <sup>a</sup> | ۷/۵۳ $\pm$ ۰/۷۲ <sup>b</sup> | ۶/۲۰ $\pm$ ۰/۳۰ <sup>c</sup>  |
| هماتوکریت (درصد)                     | ۵۲/۴ $\pm$ ۱/۷ <sup>ab</sup>  | ۵۲/۷ $\pm$ ۳/۱ <sup>ab</sup>  | ۵۰/۶ $\pm$ ۲/۳ <sup>ab</sup>  | ۵۴/۶ $\pm$ ۳/۷ <sup>a</sup>   | ۴۸/۹ $\pm$ ۲/۱ <sup>b</sup>  | ۵۰/۶ $\pm$ ۳/۵ <sup>ab</sup>  |
| هموگلوبین<br>(گرم در دسی‌لیتر)       | ۸/۴ $\pm$ ۰/۳ <sup>a</sup>    | ۸/۱ $\pm$ ۰/۸ <sup>ab</sup>   | ۷/۲ $\pm$ ۰/۵ <sup>bc</sup>   | ۷/۲ $\pm$ ۰/۵ <sup>bc</sup>   | ۶/۹ $\pm$ ۰/۶ <sup>c</sup>   | ۶/۴ $\pm$ ۰/۶ <sup>c</sup>    |
| لنفوسیت (درصد)                       | ۸۰/۳ $\pm$ ۴/۲ <sup>a</sup>   | ۸۱/۰ $\pm$ ۲/۰ <sup>a</sup>   | ۸۰/۰ $\pm$ ۱/۰ <sup>a</sup>   | ۸۲/۴ $\pm$ ۱/۴ <sup>a</sup>   | ۷۷/۸ $\pm$ ۳/۴ <sup>a</sup>  | ۷۷/۹ $\pm$ ۱/۸ <sup>a</sup>   |
| نوتروفیل (درصد)                      | ۱۷/۲ $\pm$ ۰/۵ <sup>a</sup>   | ۱۷/۰ $\pm$ ۱/۰ <sup>a</sup>   | ۱۷/۳ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>   | ۱۷/۰ $\pm$ ۱/۰ <sup>a</sup>   | ۱۹/۰ $\pm$ ۲/۰ <sup>a</sup>  | ۱۷/۰ $\pm$ ۲/۰ <sup>a</sup>   |
| مونوسیت (درصد)                       | ۵/۲ $\pm$ ۰/۷ <sup>a</sup>    | ۵/۴ $\pm$ ۰/۹ <sup>a</sup>    | ۶/۰ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    | ۴/۹ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    | ۵/۶ $\pm$ ۰/۳ <sup>a</sup>   | ۶/۱ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    |
| ائوزینوفیل (درصد)                    | ۰/۳ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    | ۰/۳ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    | ۰/۷ $\pm$ ۱/۲ <sup>a</sup>    | ۰/۷ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    | ۰/۳ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>   | ۰/۷ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>    |

مقادیر (میانگین  $\pm$  SD) در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $p < 0.05$ ) (تعداد نمونه = ۶ عدد ماهی در هر تیمار).

بیشترین و کمترین میانگین هموگلوبین (Hb) با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در نمونه شاهد (جیره پایه) و تیمار ۵ (جیره پایه حاوی ۴۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) بدست آمد ( $p < 0.05$ ). به استثنای تیمار ۱، افزایش Hb در نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

بیشترین و کمترین میانگین تعداد گلبول‌های سفید خون (WBC) با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در تیمار ۳ و نمونه شاهد مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). مقادیر WBC در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارها نیز افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.05$ ) در حالی‌که، از نظر میانگین درصد افتراقی گلبول‌های سفید خون (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و

آنزیم‌های کبدی (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا) و ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) مشاهده نشد ( $p>0.05$ ).

### آنزیم‌های کبدی سرم

مقایسه میانگین مقادیر آنزیم‌های کبدی سرم در تیمارها پس از ۸۵ روز پرورش در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین و کمترین میانگین لاکتات دهیدروژناز (LDH) سرم با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در تیمار ۵ (جیره پایه حاوی ۴۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) و تیمار ۱ (جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) مشاهده شد ( $p<0.05$ ). مقادیر LDH سرم در هر دو تیمار ۴ و ۵ نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد در حالی که، تفاوت معنی‌داری در مقادیر LDH سرم بین نمونه شاهد (جیره پایه) و سه

تیمار ۱، ۲ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا) و ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) مشاهده نشد ( $p>0.05$ ). بیشترین و کمترین میانگین آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم به ترتیب در تیمار ۴ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا) و تیمار ۱ بدست آمد. سطح سرمی ALP در تیمار ۴ افزایش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱ نشان داد ( $p<0.05$ ). میانگین ALP سرم در تیمار ۵ افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار ۱ داشت ( $p<0.05$ ). مقادیر ALP سرم تفاوت معنی‌داری بین نمونه شاهد و تیمار ۱ نشان نداد ( $p>0.05$ ). همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱ با کمترین سطح سرمی ALP و تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده نشد ( $p>0.05$ ).

جدول ۳: فعالیت آنزیم‌های کبدی سرم در تیمارهای آزمایشی پس از ۸۵ روز غذادهی

Table 3: Activity of serum liver enzymes in experimental treatments after 85 days of feeding

| آسپاراتات<br>(AST)         | آلانین آمینوترانسفراز<br>(ALT) | آلکالین فسفاتاز<br>(ALP)  | لاکتات دهیدروژناز<br>(LDH) | آنزیم کبدی<br>(واحد در لیتر) |
|----------------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| ۴۱۱/۶۷±۱۷/۹۵ <sup>c</sup>  | ۱۵/۵±۲/۱ <sup>a</sup>          | ۶۸۴/۳±۶۵/۶ <sup>bc</sup>  | ۲۶۸۳±۳۸۴ <sup>b</sup>      | شاهد (تیمار صفر)             |
| ۴۱۳/۳۳±۱۲/۹۰ <sup>c</sup>  | ۱۶/۰±۲/۰ <sup>a</sup>          | ۶۴۵/۰±۱۱۴/۰ <sup>c</sup>  | ۲۶۷۰±۱۳۰ <sup>b</sup>      | تیمار ۱                      |
| ۴۷۱/۳۳±۳۰/۶۶ <sup>bc</sup> | ۱۷/۵±۲/۰ <sup>a</sup>          | ۷۰۹/۹±۲۴/۷ <sup>abc</sup> | ۲۸۷۷±۸۵ <sup>b</sup>       | تیمار ۲                      |
| ۴۴۸/۶۷±۲۹/۷۷ <sup>bc</sup> | ۱۷/۱±۱/۹ <sup>a</sup>          | ۷۰۵/۰±۹/۵ <sup>abc</sup>  | ۲۸۸۱±۱۲۴ <sup>b</sup>      | تیمار ۳                      |
| ۵۷۲/۲۰±۱۵/۸۵ <sup>a</sup>  | ۱۸/۷±۳/۶ <sup>a</sup>          | ۸۱۳/۰±۱۵/۹ <sup>a</sup>   | ۳۳۸۸±۱۳۱ <sup>a</sup>      | تیمار ۴                      |
| ۴۹۰/۰±۵۷/۷۱ <sup>b</sup>   | ۱۷/۸±۱/۴ <sup>a</sup>          | ۷۹۹/۳±۶۸/۴ <sup>ab</sup>  | ۳۴۱۹±۵۹ <sup>a</sup>       | تیمار ۵                      |

مقادیر (میانگین  $\pm$  SD) در هر ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $p<0.05$ ) (تعداد نمونه = ۶ عدد ماهی در هر تیمار).

### بحث

در زمینه تأثیر فیتازها در جیره‌های غذایی مبتنی بر منابع پروتئینی گیاهی نظیر پودر سویا بر نحوه عملکرد پارامترهای هماتولوژی و به‌ویژه مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی، مطالعات بسیار اندکی صورت گرفته است. شاخص‌های خونی از خصوصیات رژیم غذایی که شامل: کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد هستند، تأثیر می‌پذیرند (Lim et al., 2000). در مطالعه حاضر، به استثناء تیمار ۴، روند کاهشی مقادیر RBC و Hct به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای غذایی حاوی پودر سویا

مقایسه میانگین مقادیر ALT سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ( $p>0.05$ ) در حالی که بیشترین و کمترین میانگین آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) سرم با تفاوت معنی‌داری به ترتیب در تیمار ۴ و نمونه شاهد مشاهده شد ( $p<0.05$ ). افزایش سطح سرمی AST در تیمار ۴ نسبت به سایر تیمارها نیز معنی‌دار بود ( $p<0.05$ ). همچنین میانگین AST سرم در تیمار ۵ نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱ افزایش معنی‌داری داشت ( $p<0.05$ ) در حالی که سطوح کاهشی AST سرم در نمونه شاهد و تیمار ۱ تفاوت معنی‌داری با دو تیمار ۲ و ۳ نشان نداد ( $p>0.05$ ).

ماهی مرتبط دانست (Nayak, Nikinmaa *et al.*, 1983; 2010).

بالا رفتن میزان گلبول‌های سفید خون می‌تواند ناشی از القاء شرایط استرس، عفونت یا تحریک سیستم ایمنی باشد (Silva *et al.*, 2009). در این خصوص، دو نکته را باید مدنظر قرار داد: ۱- تحت شرایط استرس یا عفونت‌های باکتریایی، افزایش تعداد گلبول‌های سفید توأم با کاهش لنفوسیت‌ها (لنفوپنی) و افزایش نوتروفیل‌ها (نوروفیلیا) می‌باشد و ۲- معمولاً میزان لنفوسیت خون ماهیان در شرایط طبیعی و بدون استرس ۸۵-۵۵ درصد می‌باشد (Stoskopfe, 1993). در مطالعه حاضر با توجه به اینکه عامل استرس یا عفونت وجود نداشت و میزان لنفوسیت خون تیمارهای غذایی نیز در محدوده نرمال (۸۲/۸۲-۷۷/۸۲ درصد) بود، افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمار ۳ توأم با بیشترین (جدول ۲) میزان لنفوسیت در این تیمار (۸۲/۴±۱/۴ درصد) را می‌توان با ارتقاء سیستم ایمنی ماهی جوان آزاد دریای خزر مرتبط دانست. برخلاف یافته‌های تحقیق حاضر، Baruah و همکاران (۲۰۰۹) تغییرات معنی‌داری در RBC و WBC بچه‌ماهیان انگشت‌قد کپور هندی (*Labeo rohita*) را در تغذیه شده با جیره مبتنی بر پروتئین گیاهی سویا حاوی ۵۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز در هر کیلوگرم غذا مشاهده نکردند درحالی‌که نتایج مطالعه Sardar و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که جیره حاوی پروتئین سویا با مکمل نمودن ۵۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز در هر کیلوگرم جیره منجر به افزایش RBC و WBC در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌گردد. همچنین در تحقیقی مشابه از ایمانپور و همکاران (۱۳۹۸)، افزودن آنزیم فیزایم در دو سطح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر کیلوگرم غذا به جیره‌های جایگزین شده با پودر سویا در دو سطح ۴۰ و ۸۰ درصد، مقادیر RBC، Hb و Hct را بین تیمارهایی از ماهی آزاد دریای خزر که از جیره‌های مبتنی بر هر دو سطح پودر سویا و آنزیم فیزایم تغذیه شده بودند، به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نداد.

قرار نگرفت که می‌تواند حاکی از عدم تأثیر منفی جایگزینی بخشی از پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۲۰٪ به تنهایی و در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا یا حتی جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا تا سطح ۴۰٪ در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا بر این دو پارامتر خونی باشد. در این مطالعه، بیشترین مقدار هماتوکریت در تیمار ۳ مشاهده شد که هرچند فقط با تیمار ۴ تفاوت معنی‌دار داشت. اما بیانگر این مطلب می‌باشد که جایگزینی بخشی از پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۲۰٪ در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا، احتمالاً منجر به افزایش متابولیسم و در نتیجه افزایش نیاز اکسیژنی و هماتوکریت خون ماهی جوان آزاد دریای خزر می‌گردد (Wells and Baldwin, 1990). نکته حائز اهمیت در نتایج این مطالعه، کاهش معنی‌دار هموگلوبین خون ماهی جوان آزاد دریای خزر تحت تأثیر جیره جایگزین شده با هر دو سطح پودر سویا به جای پودر ماهی به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا نسبت به نمونه شاهد بود که این کاهش می‌تواند احتمالاً به دلیل اتصال فیتات و مواد ضد تغذیه‌ای سویا به مواد معدنی به‌ویژه آهن و گروه‌های آمینواسیدی پروتئین‌های جیره غذایی باشد که سبب کاهش دسترسی این مواد در بدن می‌گردد (Soltan *et al.*, 2008). از سویی، در مطالعات متعدد تأیید شده است که وجود پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای (NSP) در منابع پروتئین گیاهی نظیر پودر سویا (حاوی ۳۰٪ NSP) در جیره ماهیان منجر به تأخیر جذب روده‌ای گلوکز و در نتیجه کاهش سطح گلوکز خون آنها می‌گردد (Leenhouders *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011; Sinha *et al.*, 2011). این اساس، کاهش معنی‌دار هموگلوبین خون در ماهیان تیمار شده با جیره‌های حاوی پودر سویا به تنهایی یا در ترکیب با آنزیم فیزایم در مطالعه کنونی را می‌توان با کاهش احتمالی نیاز ماهی جوان آزاد دریای خزر به انتقال اکسیژن در خون به علت پتانسیل ممکن کاهشی پودر سویا بر سطح گلوکز خون و در نتیجه کاهش استرس و تقاضای انرژی

<sup>1</sup> NSP: non-starch polysaccharides

LDH به عنوان یک آنزیم گلیکولیتیک و متابولیک مهم در نظر گرفته می‌شود که از طریق تبدیل لاکتات به پیرووات منجر به تولید انرژی در اغلب سلول‌ها می‌گردد (Abhijith *et al.*, 2016). در این مطالعه، افزایش معنی‌دار فعالیت LDH سرم ماهی در هر دو تیمار ۴ و ۵ نسبت به سایر تیمارها بیانگر فعال‌سازی فرآیند گلیکولیز و متابولیسم بی‌هوازی جهت دستیابی به مقدار انرژی مورد نیاز ماهی جوان آزاد دریای خزر با جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۴۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در جیره غذایی است (Sancho *et al.*, 2017) که منجر به ممانعت از فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری‌ها می‌شود و زمینه برای هیپوکسی سلولی، کاهش سطح تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) و مرگ سلول‌ها فراهم می‌گردد و در نتیجه سطح آدنوزین مونوفسفات (AMP) تحت متابولیسم بی‌هوازی افزایش می‌یابد (Murray *et al.*, 2003; Gül *et al.*, 2003). در چنین شرایطی، فعالیت آنزیم فسفوفروکتوکیناز ارتقاء می‌یابد و گلوکز بی‌هوازی و نیز میزان فعالیت آنزیم LDH سرم افزایش می‌یابد (Xu *et al.*, 2020). این مکانیزم می‌تواند مبین چگونگی روند افزایش معنی‌دار سطوح LDH سرم در دو تیمار ۴ و ۵ در مطالعه حاضر باشد. بر این اساس، نتایج این مطالعه نشان‌دهنده این است که جایگزین نمودن پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۲۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در جیره (تیمارهای ۲ و ۳) از آسیب وارده به غشاء سلولی ممانعت می‌کند و منجر به تأثیر منفی بر فعالیت LDH سرم ماهی جوان آزاد دریای خزر نمی‌گردد. از سویی، باید این نکته را مدنظر قرار داد که افزایش فعالیت LDH سرم در دو تیمار ۴ و ۵ به طور قطع ناشی از تأثیر منفی این دو تیمار بر LDH سرم نمی‌باشد که بر اساس مطالعه Aftabgard و همکاران (۲۰۱۹) این افزایش را می‌توان با افزایش احتمالی متابولیسم پروتئین و کربوهیدرات جیره ناشی از ارتقاء فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز هضمی تحت تأثیر افزایش سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا از ۲۰ به ۴۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا مرتبط دانست.

آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) در تمامی بافت‌های بدن ماهی یافت می‌شود، اما کبد ALP بیشتری نسبت به سایر بافت‌ها تولید می‌کند (Hall and Cash, 2012). این آنزیم در بافت کبد معمولاً در سلولهای پوششی مجرای کیسه صفرا تولید می‌شود (Agrahari and Gopal, 2009). سنجش مقادیر این آنزیم به عنوان ابزاری مفید در تشخیص بیماریهای کبدی محسوب می‌گردد (Hall and Cash, 2012) به‌طوری‌که اختلالات کبدی و انسداد مجرای صفرا، سطح سرمی این آنزیم را در ماهی افزایش می‌دهد (Agrahari and Gopal, 2009). به‌علاوه، فیتات موجود در پروتئین‌های گیاهی نظیر سویا از طریق کاهش فسفر قابل دسترس جیره منجر به افزایش سطح سرمی آنزیم ALP می‌گردد (Brenes *et al.*, 2003; Lemos and Tacon, 2017). بدین‌منظور، نتایج مطالعه حاضر مبین تأثیر مثبت جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در سطح ۲۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز میکروبی تجاری (فیزایم) بر مقدار فسفر قابل دسترس در جیره، تعدیل سطح سرمی آنزیم ALP و در نتیجه ارتقاء عملکرد کبد ماهی جوان آزاد دریای خزر می‌باشد. با این‌حال، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم ALP سرم در تیمار ۴ نسبت به نمونه شاهد نیز نشان‌دهنده این است که افزایش سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا از ۲۰ به ۴۰٪ احتمالاً منجر به کاهش قابل توجه فسفر قابل دسترس جیره و افزایش ALP سرم و در نتیجه آسیب کبدی در ماهی جوان آزاد دریای خزر می‌گردد. از سویی، به نظر می‌رسد که برای تبدیل تا حدی مؤثر فسفر فیتاته موجود در ۴۰٪ پودر سویا به فسفر قابل دسترس جیره و تعدیل مقادیر سرمی ALP در ماهی جوان آزاد دریای خزر، می‌توان جیره حاوی ۴۰٪ پودر سویا را با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم ترکیب نمود که نتایج مطالعه حاضر و عدم تفاوت معنی‌دار مقادیر ALP سرم بین تیمار ۵ و نمونه شاهد نیز مؤید این مطلب است.

آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) جزء آنزیم‌های ترانسفراز در کبد محسوب می‌شوند که تحت فرایند کاتابولیسم اسید آمینه، گروه آمینو را از آلفا-آمینواسید به آلفا-کتواسید منتقل

مورد مطالعه بین تیمارهای ۲ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا) و ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) و نیز بین تیمارهای ۴ (جیره پایه حاوی ۴۰ درصد پودر سویا) و ۵ (جیره پایه حاوی ۴۰٪ پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا) به‌نظر می‌رسد جهت دستیابی به تأثیر مشهودتر آنزیم فیزایم، در صورت جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا در سطوح ۲۰ یا ۴۰ درصد، به مقادیر بیش از ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر کیلوگرم غذا از این آنزیم در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر نیاز باشد. به‌هرحال، با مدنظر قرار دادن نتایج مطالعه کنونی به‌منظور کاهش میزان مصرف آرد ماهی در جیره غذایی و به تبع آن کاهش قیمت جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر و در نتیجه کاهش هزینه تولید، کنجاله سویا می‌تواند به عنوان منبع پروتئینی ارزان قیمت و در دسترس تا میزان ۴۰ درصد آرد ماهی با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی آنزیم فیزایم، بدون تأثیر منفی بر فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی پلاسمای خون، جایگزین آرد ماهی در فرمولاسیون جیره غذایی این ماهی با ارزش شیلاتی شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور در قالب پروژه "بهینه سازی و تولید غذای ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*)" با کد ۹۷۰۶۰۰-۹۷-۰۱۱-۱۲-۳۲-۰۰ در مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی کشور طراحی و اجرا گردید. نگارندگان از کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه با کمک‌های بی‌دریغ آنها پشتیبان ما بودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### منابع

احمدی‌فر، ا.، شهریاری مقدم، م. و شیخ‌زاده، ن.، ۱۳۹۸. بررسی افزودن عصاره برگ درخت خرما (*Diospyros kaki*) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر بر برخی فراسنجه‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی. نشریه علوم آبی‌پروزی، ۷(۱): ۳۶-۲۷.

می‌کنند (Lin and Luo, 2011). رهاسازی مقادیر زیادی از آنزیم‌های آمینوترانسفراز (AST و ALT) در سرم نشانگر آسیب سلولی کبد می‌باشد (Xu et al., 2020). در این مطالعه، بیشترین مقادیر AST به‌ترتیب در دو تیمار ۴ و ۵ مشاهده شد، که هر دو تیمار تفاوت معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱ نشان دادند که احتمالاً ناشی از فاکتورهای ضد تغذیه‌ای و سمی موجود در پروتئین‌های گیاهی نظیر سویا بوده است و می‌تواند سبب آسیب کبدی در ماهی گردد (Soltan et al., 2008) درحالی‌که افزایش غیرمعنی‌دار مقادیر AST سرم در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱ نشان می‌دهد که کاهش سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا از ۴۰ به ۲۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم در هر کیلوگرم غذا می‌تواند تأثیر منفی و معنی‌دار جایگزینی بخشی از پودر ماهی جیره با پودر سویا را بر روند افزایشی AST سرم در ماهی جوان آزاد دریای خزر کاهش یا خنثی نماید. به‌هرحال، با توجه به اینکه سطح ALT سرم در مطالعه حاضر دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نبود (جدول ۲). لذا، افزایش معنی‌دار AST سرم در دو تیمار ۴ و ۵ غذایی نسبت به ماهیان شاهد و تیمار ۱ غذایی به حد کافی قانع‌کننده نیست که با توجه به آن بتوان با قطعیت به اختلال عملکرد کبد ماهی جوان آزاد دریای خزر تحت تأثیر افزایش سطح جایگزینی پودر ماهی با پودر سویا از ۲۰ به ۴۰٪ به تنهایی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم تحت شرایط این آزمایش ادعان نمود. در یافته‌ای مشابه، ایمانپور و همکاران (۱۳۹۸) بیان نمودند که جایگزین نمودن پودر ماهی با پودر سویا در سطوح بالا (۸۰ درصد) منجر به افزایش مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی شامل ALT، ALP و AST در ماهی آزاد دریای خزر می‌گردد. در پژوهش حاضر افزودن فیتاز میکروبی تجاری (فیزایم) در سطح ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی به جیره جایگزین شده با ۲۰ درصد پودر سویا به جای پودر ماهی کارآیی بهتری در خنثی نمودن تأثیر منفی مواد ضد تغذیه‌ای نظیر فیتات موجود در پودر سویا بر شاخص‌های هماتولوژی و فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی ماهی جوان آزاد دریای خزر نشان داد. از طرفی، با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار اغلب پارامترهای

- of galacto-oligosaccharides and *Bacillus* strains in Caspian salmon, *Salmo trutta caspius* fingerlings. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4): 1300-1308. DOI: 10.1007/s12602-018-9498-4.
- Agrahari, S. and Gopal, K., 2009.** Retracted: Fluctuations of certain biochemical constituents and markers enzymes as a consequence of monocrotophos toxicity in the edible freshwater fish, *channa punctatus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94(1): 5-9.
- AOAC, 1995.** Official methods of analysis (16th edition). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA.
- Baruah, K., Pal, A.K., Sahu, N.P., Debnath, D., Yengkokpam, S., Norouzitallab, P. and Sorgeloos, P., 2009.** Dietary crude protein, citric acid and microbial phytase interacts to influence the hemato-immunological parameters of rohu, *Labeo rohita*, juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6), pp.824-831. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2009.00304.x.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F., 2004.** Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30(1): 21-25. DOI: 10.1007/s10695-004-5000-1
- Bowyer, J.N., Qin, J.G., Smullen, R.P., Adams, L.R., Thomson, M.J. and Stone, D.A., 2013.** The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410-411:
- ایمانپور، م.ر.، محسنی، م.، و کرمی نسب، م.، ۱۳۹۸. عملکرد مکمل فیتاز بر جایگزینی پودر ماهی با آرد سویا بر شاخص‌های رشد و برخی پارامترهای خونی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*). فصلنامه محیط زیست جانوری، ۱۱(۴): ۱۸۶-۱۷۷.
- ساریخانی، م.، ر.، و ملبویی، م.، ع.، ۱۳۸۹.** فیتازها: از دیدگاه آنزیم‌شناسی، ویژگی‌های مولکولی، بیوشیمیایی و کاربردها. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲(۲): ۱۳-۴۰. DOI: 10.22103/jab.2012.367.
- محسنی، م.، پورکاظمی، م.، کاظمی، ر.ا. و طاعتی، ر.، ۱۳۹۶.** اثر سطوح مختلف ال-کارنیتین جیره غذایی بر روند رشد و تنش اکسیداتیو (Oxidative stress) فیلماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) و مقایسه آن با جیره وارداتی (بیومار). مجله علمی شیلات ایران، ۶(۳): ۱۸۳-۱۷۱. DOI: 10.22092/ISFJ.2017.113558
- محسنی، م.، پورکاظمی، م.، کرمی نسب، م. و راست روان، م.ا.، ۱۳۹۷.** بررسی اثرات سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی بر میزان رشد، ترکیب شیمیایی بدن و قابلیت هضم مواد مغذی در بچه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۲): ۱۶۵-۱۷۸.
- محسنی، م.، نجارلشگری، س.، گل‌علیپور، ی.، اسماعیل‌نیا، ر.، و مؤذن‌زاده، ک.، ۱۳۹۸.** تأثیر سطوح مختلف کولین کلراید بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و آنزیم‌های کبدی خون ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*). فصلنامه علوم و فنون شیلات، ۸(۴): ۱۹۲-۱۸۳.
- Abhijith, B.D., Ramesh, M. and Poopal, R.K., 2016.** Responses of metabolic and antioxidant enzymatic activities in gill, liver and plasma of *Catla catla* during methyl parathion exposure. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 77: 31-40. DOI: 10.1016/j.jobaz.2015.11.002.
- Aftabgard, M., Salarzadeh, A. and Mohseni, M., 2019.** The Effects of a synbiotic mixture

- 1-10. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.06.001
- Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M. and Bravo, C., 2003.** The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 110(1-4): 201-219. DOI: 10.1016/S0377-8401(03)00207-4
- Castillo, S. and Gatlin III, D.M., 2015.** Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. *Aquaculture*, 435: 286-292. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.10.011
- Ehsani, J., Mohammadi Azarm, H., Maniat, M., Ghabtani, A. and Eskandarnia, H., 2014.** Effects of partial substitution of dietary fish meal by fermented soybean meal on growth performance, body composition and activity of digestive enzymes of juvenile yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*). *International Journal of Biosciences*, 5(4): 99-107. DOI: 10.12692/ijb/5.4.99-107
- Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jian, N.C., 2000.** Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 32P.
- Francis, G., Makkar, H.P. and Becker, K., 2001.** Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3-4): 197-227. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00526-9
- Gatlin, III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, Å., Nelson, R. and Overturf, K., 2007.** Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6): 551-579. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x
- Gül, S., Belge-Kurutaş, E., Yildiz, E., Sahan, A. and Doran, F., 2003.** Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30: 605-609. DOI: 10.1016/S0160-4120(03)00059-X
- Hall, J.E., 2010.** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. (12<sup>th</sup> ed.) W.B. Saunders company, New York, USA.
- Hall, P. and Cash, J., 2012.** What is the real function of the liver 'function' tests? *Ulster Medical Journal*, 81(1): 30-36.
- Kiabi, B.H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999.** Status of the fish fauna in the South Caspian Basin of Iran. *Zoology in the Middle East*, 18(1): 57-65. DOI: 10.1080/09397140.1999.10637782
- Kumar, V., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2011.** Nutritional, physiological and haematological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. *Aquaculture Nutrition*, 17(4): 451-467. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2010.00825.x
- Leenhouwers, J.I., ter Veld, M., Verreth, J.A. and Schrama, J.W., 2007.** Digesta characteristics and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed cereal grains that differ in viscosity. *Aquaculture*, 264(1-4): 330-341. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2007.01.003

- Lemos, D. and Tacon, A.G.J., 2017.** Use of phytases in fish and shrimp feeds: a review. Reviews in *Aquaculture*, 9(3): 266-282. DOI: 10.1111/raq.12138
- Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, 185(3-4): 313-327. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00352-X
- Lin, S. and Luo, L., 2011.** Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O.aureus*. *Animal Feed Science and Technology*, 168(1-2): 80-87. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.03.012.
- Maita, M., 2007.** Fish health assessment. In: Nakagawa, H., Sato, M. and Gatlin III, D.M., (eds.) Dietary supplements for the health and quality of cultured fish. CAB International, Washington, USA, pp. 10-34.
- Mohseni, M., Hassani, M.H.S., Pourali, F.H., Pourkazemi, M. and Bai, S.C., 2011.** The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 775-780. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01706.x
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. 2003.** Harper's illustrated biochemistry. (26<sup>th</sup> ed.) Lange Medical Books/McGraw-Hill (Medical Publishing Division), New York, 402p.
- Nayak, S.K., 2010.** Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(1): 2-14. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.02.017
- Nikinmaa, M., Soivio, A., Nakari, T. and Lindgren, S., 1983.** Hauling stress in brown trout (*Salmo trutta*): physiological responses to transport in fresh water or salt water, and recovery in natural brackish water. *Aquaculture*, 34(1-2): 93-99. DOI: 10.1016/0044-8486(83)90294-6
- Ogunkoya, A.E., Page, G.I., Adewolu, M.A. and Bureau, D.P., 2006.** Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of faecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 254(1-4): 466-475. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.10.032
- Oliva-Teles, A., Pereira, J.P., Gouveia, A. and Gomes, E., 1998.** Utilisation of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources*, 11(4): 255-259. DOI: 10.1016/S0990-7440(98)80008-9
- Ramachandran, S., Bairagi, A. and Ray, A.K., 2005.** Improvement of nutritive value of grass pea (*Lathyrus sativus*) seed meal in the formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings after fermentation with a fish gut bacterium. *Bioresource Technology*, 96(13): 1465-1472. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.12.002

- Řehulka, J., 2000.** Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 190(1-2): 27-47. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00383-5
- Sancho, E., Andreau, Ó., Villarroel, M.J., Fernández-Vega, C., Tecles, F., Martínez-Subiela, S., Cerón, J.J. and Ferrando, M.D., 2017.** European eel (*Anguilla anguilla*) plasma biochemistry alerts about propanil stress. *Journal of Pesticide Science*, 42(1): 7-15. DOI: 10.1584/jpestics.D16-062
- Sardar, P., Randhawa, H.S., Abid, M. and Prabhakar, S.K., 2007.** Effect of dietary microbialphytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, bodycompositions and haemato-biochemical profiles of Cyprinus carpio (L.) fingerlings fed soyprotein-based diet. *Aquaculture Nutrition*, 13 (6): 444-456. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00497.x
- Shi, X., Li, D., Zhuang, P., Nie, F. and Long, L., 2006.** Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) and Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(1): 63-66. DOI: 10.1007/s10695-006-7134-9
- Silva, B.C., Martins, M.L., Jatobá, A., Buglione Neto, C.C., Vieira, F.N., Pereira, G.V., Jerônimo, G.T., Seiffert, W.Q. and Mourinho, J.L.P., 2009.** Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29(11): 874-880. DOI: 10.1590/S0100-736X2009001100002
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P., De Boeck, G. and Becker, K., 2011.** Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127(4): 1409-1426. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.02.042
- Soltan, M.A., Hanafy, M.A. and Wafa, M.I.A., 2008.** Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Global Veterinaria*, 2(4): 157-164.
- Stoskopfe, M.A., 1993.** Fish medicine. W.B. Saunders company, USA, 882 P.
- Svetina, A., Matašin, Ž., Tofant, A., Vucemilo, M. and Fijan, N., 2002.** Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50(4): 459-467. DOI: 10.1556/avet.50.2002.4.8
- Svobodová, Z., Kroupová, H., Modrá, H., Flajšhans, M., Randák, T., Savina, L.V. and Gela, D., 2008.** Haematological profile of common carp spawners of various breeds. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(1): 55-59. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2007.01019.x
- Vats, P., Bhushan, B. and Banerjee, U.C., 2009.** Studies on the dephosphorylation of phytic acid in livestock feed using phytase from *Aspergillus niger* van Teighem. *Bioresource Technology*, 100(1): 287-291. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.06.021
- Wells, R.M.G. and Baldwin, J., 1990.** Oxygen transport potential in tropical reef fish with special reference to blood viscosity and

haematocrit. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 141(2-3): 131-143. DOI: 10.1016/0022-0981(90)90219-3

**Xiong, A.S., Yao, Q.H., Peng, R.H., Li, X., Fan, H.Q., Guo, M.J. and Zhang, S.L., 2004.** Isolation, characterization, and molecular cloning of the cDNA encoding a novel phytase from *Aspergillus niger* 113 and high expression in *Pichia pastoris*. *BMB Reports*, 37(3): 282-291. DOI: 10.5483/bmbrep.2004.37.3.282

**Xu, G.-L., Xing, W., Li, T.-L., Ma, Z.-H., Jiang, N., Xu, S.-D., Xue, M., Yu, H.-H. and Luo, L., 2020.** The effects of different fishmeal level diets with or without phytase supplementation on growth performance, body composition, digestibility, immunological and biochemical parameters of juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt ♀ × *A. schrenckii* Brandt ♂). *Aquaculture Nutrition*, 26(2): 261-274. DOI: 10.1111/anu.12987

**Investigating the effect of different amounts of soybean meal (*Glycine max*) containing Phyzyme® XP enzyme on the hematological indicators and activity of serum liver enzymes of Caspian trout (*Salmo caspius* Kessler, 1877)**

Mohseni, M.<sup>1\*</sup>; Aftabgard, M.<sup>2</sup>; Karaminasab, M.<sup>3</sup>; Rastravan, M.E.<sup>4</sup>; Golalipour, Y.<sup>4</sup>

\*mahmoudmohseni73@gmail.com

1-International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), P.O.Box: 41635-3464, Rasht, Iran.

2-Young Researchers and Elite Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3-Aquatics food factory of Bahdaneh Shomal, Mazandaran, Babolsar, Iran.

4-Cold-water Fishes Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tonekabon- Iran.

**Abstract**

This study was conducted to examine the effect of diets containing various amounts of soybean meal and Phyzyme® XP on hematological indicators and serum liver enzymes in Caspian trout (*Salmo caspius*) with the average weight of  $148.1 \pm 1.98$  g for 85 days. For this purpose, 240 pieces of juvenile Caspian trout were randomly distributed in six treatments, including control treatment (basic diet) and five experimental treatments including treatment I (basic diet + 2000 IU/kg diet of Phyzyme® XP), treatment II (basic diet containing 20% soybean meal), treatment III (basic diet containing 20% soybean meal + 2000 IU/kg diet of Phyzyme® XP), treatment IV (basic diet containing 40% soybean meal), and treatment V (basic diet containing 40% soybean meal + 2000 IU/kg diet of Phyzyme® XP) with two repetitions per treatment (20 pieces of fish per repetition). The largest amounts of red blood cells and hematocrit were observed in treatments I and III, respectively, which was significantly different only from treatment IV ( $p < 0.05$ ). The largest amount of hemoglobin was observed in the control treatment, which was significantly different from other treatments, except treatment I ( $p < 0.05$ ). The highest number of white blood cells was observed in treatment III, which was significantly different from other treatments ( $p < 0.05$ ). The lowest serum levels of the liver enzymes, including lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase, were recorded in treatment I and control treatment, respectively, which showed no significant difference from treatments II and III ( $p > 0.05$ ). Besides, serum levels of these enzymes in treatment V showed no significant difference from treatments II and III ( $p > 0.05$ ). Therefore, according to the results of the present study and no significant differences in the values of most of the parameters between the control treatment and treatment V, it is recommended to replace 40% soybean meal containing 2000 IU/kg diet of Phyzyme® XP, instead of fish meal, in order to achieve an affordable diet without any negative impact on health parameters in the Caspian trout.

**Keywords:** Soybean meal (*Glycine max*), Phyzyme® XP, Hematology, Liver enzymes, Caspian trout

---

\*Corresponding author