

**مقاله علمی - پژوهشی:**

## بررسی تأثیر مقداری مختلط پودر سویا (*Glycine max*) حاوی آنزیم فیزايم بر شاخص های خونی و فعالیت آنزیم های کبدی سرم ماهی آزاد دریایی خزر (*Salmo caspius* Kessler, 1877)

محمود محسنی<sup>\*</sup>، مریم آفتابگرد<sup>۱</sup>، مصطفی کرمی نسب<sup>۲</sup>، محمد اسماعیل راست روان<sup>۳</sup>، یونس گل علیپور<sup>۴</sup>

<sup>\*</sup>mahmoudmohseni73@gmail.com

- ۱- انسستیتو تحقیقات بین المللی 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 بهداشت شمال، مازندران، بابلسر، ایران
- ۴- مرکز تحقیقات ماهیان سرداری 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 مقداری مختلف پودر سویا و آنزیم فیزايم بر شاخص های هماتولوژی و آنزیم های کبدی سرم در ماهی آزاد دریایی 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 دریایی خزر در طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار آزمایشی شامل تیمار ۱ (جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیزايم در هر کیلوگرم غذا، تیمار ۲ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا)، تیمار ۳ (جیره پایه حاوی ۲۰ درصد پودر سویا + ۲۰۰۰ واحد بین المللی فیزايم 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 بین المللی فیزايم 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 مقدار گلوبول های قرمز خون و هماتوکریت به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شدند، که فقط نسبت به تیمار ۴ تفاوت های معنی داری را نشان دادند ( $p < 0.05$ ). بیشترین مقدار همو گلوبین در نمونه شاهد مشاهده شد که به استثنای تیمار ۱، نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی داری نشان داد ( $p < 0.05$ ). بیشترین تعداد گلوبول های سفید خون (WBC) در تیمار ۳ مشاهده شد که تفاوت معنی داری نسبت به سایر تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). کمترین مقدار سرمی آنزیم های کبدی شامل لاكتات دهیدروژنان و آلکالین فسفاتاز (ALP) به ترتیب در تیمار ۱ و نمونه شاهد ثبت شد که تفاوت معنی داری با تیمارهای ۲ و ۳ نشان نداد ( $p > 0.05$ ). از سویی، سطوح سرمی این آنزیم ها در تیمار ۵ تفاوت معنی داری با تیمارهای ۲ و ۳ نشان ندادند ( $p > 0.05$ ). لذا، با توجه به نتایج مطالعه حاضر و عدم تفاوت معنی دار مقداری اغلب پارامترهای مورد نظر بین نمونه شاهد و تیمار ۵، جایگزینی ۴۰ درصد پودر سویا، حاوی ۲۰۰۰ واحد بین المللی آنزیم فیزايم در هر کیلوگرم غذا به جای پودر ماهی، جهت دستیابی به یک جیره اقتصادی بدون تأثیر منفی بر سلامت ماهی آزاد دریایی خزر توصیه می گردد.

**لغات کلیدی:** پودر سویا (*Glycine max*), فیزايم, هماتولوژی, آنزیم های کبدی, ماهی آزاد دریایی خزر

\*نویسنده مسئول

**مقدمه**

از این طریق سبب افزایش اشتها و میزان جذب فسفر جیره می‌گردد (Xiong *et al.*, 2004; Vats *et al.*, 2009). با ارزیابی شاخص‌های هماتولوژی دستیابی به اطلاعات مفید در خصوص کمبودهای احتمالی، تعییرات متabolیک، روند سازگاری ماهی تحت شرایط استرس مزمن و تعییر شرایط پرورشی تسهیل می‌گردد (Maita, 2007). در این راستا، تعییر 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 صفراء و متabolیسم مواد غذایی نیز از جمله فرآیندهای بیوشیمیایی کبد محسوب می‌شود که نقش مهمی در وضعیت سلامت و عملکرد اینمی دارد (Hall, 2010). آنزیم‌های مهم موجود در کبد شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، لاکتانت دهیدروژناز (LDH) و نیز آمینوترانسферازها (آسپارتات آمینوترانسферاز<sup>۱</sup> (AST) و آلانین آمینوترانسферاز (ALT)<sup>۲</sup>) می‌باشند که تمامی فرآیندهای بیوشیمیایی کبد بهوسیله آنها صورت می‌گیرد و عموماً افزایش مقادیر سرمی این آنزیم‌ها تحت تأثیر عوامل خارجی را با اختلال در عملکرد کبد مرتبط می‌دانند (Rehulka, 2000; Shi *et al.*, 2006). با توجه به موارد مذکور، نکته حائز اهمیت این است که کاربرد منابع پروتئینی گیاهی جایگزین پودر 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 آبزی پروری را به ارزش تغذیه‌ای پودر سویا به عنوان یک گزینه مناسب جایگزین پودر ماهی معطوف نماید. فیزایم<sup>۳</sup> (Phyzyme<sup>®</sup> XP)<sup>۴</sup> یکی از انواع فیتازهای تجاری میکروبی با منشأ

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 آبزی پروری پایدار بهخصوص در گونه‌های گوشتخوار با ارزش اقتصادی بالا همچون Ogunkoya *et al.*, 2006; Gatlin *et al.*, 2007; Castillo and Gatlin, 2015 به دلیل دسترسی آسان و مقرون به صرفه بودن، دارا بودن ترکیب اسیدهای آمینه ضروری مشابه پودر ماهی و محتوای پروتئین‌های گیاهی جایگزین برای پودر ماهی بهشمار می‌رود (Bowyer *et al.*, 2013; Ehsani *et al.*, 2014). پودر سویا به دلیل دسترسی آسان و مقرون به صرفه بودن، دارا بودن ترکیب اسیدهای آمینه ضروری مشابه پودر ماهی و محتوای پروتئین‌های گیاهی جایگزین برای پودر ماهی بهشمار (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 کارآیی تولید می‌گردد (Ramachandran *et al.*, 2005). فیتازها عمدتاً منشأ میکروبی (قارچ‌ها، مخمرها، باکتری‌ها، آغازیان) یا غیر میکروبی (گیاهی و جانوری) دارند (ساریخانی و ملبوی، 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

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

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 (۸ 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 (پلی‌براizer-چین) در کارخانه خوراک آبزیان بهداشتی شمال-استان مازندران-بابلسر به قطر کمتر از ۲۰۰ میکرون شکسته شدند. مواد ریزمغذی از قبیل ویتامین‌ها، مواد معدنی و ال-کاربینیتین 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 خشک کن 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 خنک کننده، 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،

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 معيارهای اتحادیه جهاتی حفاظت از طبیعت یکی از گونه‌های در معرض خطر انقراض دریای خزر محسوب می‌شود. این گونه شاخص و منحصر به فرد دریای خزر، برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های آب شیرین منتهی به این دریا شامل آستارا چای، بابلرود، چشمکله تنکابن، سرداد‌آبرود، سفیدرود، شفارود و کرگان‌رود مهاجرت می‌کند (Kiabi et al., 1999). حفاظت و پرورش این ماهی از لحاظ کیفیت گوشت و کسب درآمد، اشتغال‌زایی به خصوص 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 تأمین کننده 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 تاثیر جایگزینی پودر سویا در سطوح ۲۰ و ۴۰ درصد به جای پودر ماهی و پتانسیل فیتاز تجاری (فیزایم) در افزایش احتمالی کارآیی 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 سردادی کشور (دوهزار، 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 ۹۰۰ لیتری مجهر به هوا و تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به صورت فواره‌ای) با دبی آب  $4/58$  لیتر در دقیقه (آب چشمکه) توزیع شدند. شش جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱۴/۳٪ چربی

با استفاده از ترازوی دیجیتال 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
آنژیمیت	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 پروتئینه 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	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲
روغن گیاهی	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲	۳/۲
آنٹی اکسیدان	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳
لایزین	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
میتیونین	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
آل-کارنتنین	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
آنژیم فیزایم	۰/۰۴	۰	۰/۰۴	۰	۰/۰۴	۰
سلولز	۴/۹۶	۵	۴/۹۶	۵	۴/۹۶	۵
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)

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

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

گلوبول‌های قرمز خون (RBC) و گلوبول‌های سفید خون (WBC)  $\text{۳ ماهی}$  پس از رقیق‌سازی با استفاده از محلول رقیق کننده Natt-Herrick به ترتیب به نسبت  $۲۰۰$  و  $۵۰$  برابر به روش دستی و با استفاده از لام هموسیتومتر نتیوار 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 اسپکتروفوتومتر در طول موج  $۵۴۶$  نانومتر از (Feldman *et al.*, 2000) و مقدار هماتوکریت (Hct)<sup>۴</sup> با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت  $۱۰$  دقیقه در  $۱۰۰۰۰$  دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ میکروهماتوکریت صورت پذیرفت (Svetina *et al.*, 2002). آنزیم‌های کبدی شامل لاکتات دهیدروژناز (LDH)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ‌سنگی 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 کولموجروف- 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): -  
ال - آلفا توکوفرول استات  $۶۰$  IU . یو، - ال -  
کولکلسيفرول IU  $۳۰۰۰$ . تیامین  $۱۵$  میلی‌گرم در کیلوگرم،  
ربیوفلاوین  $۳۰$  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

#### آنالیز اجزا، 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  $۱۰/۵$  درجه سانتی‌گراد و به مدت  $۲۴$  ساعت تا رسیدن به یک وزن ثابت، خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل ( $N \times ۶/۲۵$ ) از روش کجلدال، چربی با روش سوکسله و با استفاده از حلal کلروفروم با نقطه جوش  $۵۰-۶۰$  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  $۵۵$  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 غذاده‌ی 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 ( $۰/۰۱$  میلی‌لیتر به ازاء  $۵/۰$  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  $۱۰$  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 سنجش گر 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

<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 آرائه شده است. بیشترین و کمترین میانگین تعداد گلbulوهای قرمز خون (RBC) با تفاوت معنی‌داری بهترتبیب 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 هماتوکربیت (Hct) با تفاوت معنی‌داری بهترتبیب 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 پنتوئات ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، مکمل معدنی (بر حسب میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم): کربنات کلسیم ۴۰ درصد ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیوم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سیترات فریک ۲/۰ گرم در کیلوگرم، یدید پتانسیم ۰/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۰ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبات ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلرید پتانسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم، کلرید سدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم.

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

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
گلbul قرمز (تعداد $\times 10^6$ )	۱/۵۰ ± ۰/۰۰۵ <sup>ab</sup>	۱/۵۴ ± ۰/۰۸۱ <sup>a</sup>	۱/۴۳ ± ۰/۰۷۱ <sup>ab</sup>	۱/۴۹ ± ۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۱/۳۸ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۴۱ ± ۰/۰۷ <sup>ab</sup>
گلbul سفید (تعداد $\times 10^3$ )	۶/۰۳ ± ۰/۰۷۱ <sup>c</sup>	۷/۰۰ ± ۰/۰۷۶ <sup>bc</sup>	۷/۹۰ ± ۰/۱۰ <sup>b</sup>	۱۰/۱۰ ± ۰/۰۳۶ <sup>a</sup>	۷/۵۳ ± ۰/۰۷۲ <sup>b</sup>	۶/۲۰ ± ۰/۰۳۰ <sup>c</sup>
هماتوکربیت (درصد)	۵۲/۴ ± ۱/۰ <sup>ab</sup>	۵۲/۷ ± ۰/۱ <sup>ab</sup>	۵۰/۶ ± ۰/۲ <sup>ab</sup>	۴۸/۹ ± ۲/۱ <sup>b</sup>	۵۴/۶ ± ۰/۳ <sup>a</sup>	۵۰/۶ ± ۰/۳ <sup>ab</sup>
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۸/۴ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۸/۱ ± ۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۵ <sup>bc</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۵ <sup>bc</sup>	۶/۹ ± ۰/۰۶ <sup>c</sup>	۶/۴ ± ۰/۰۶ <sup>c</sup>
لنفوسیت (درصد)	۸/۰/۳ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۸/۱/۰ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۸/۰/۰ ± ۱/۰ <sup>a</sup>	۸/۲/۴ ± ۱/۰ <sup>a</sup>	۷/۷/۸ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۷/۷/۹ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>
نوتروفیل (درصد)	۱۷/۰/۲ ± ۰/۰ <sup>a</sup>	۱۷/۰/۰ ± ۱/۰ <sup>a</sup>	۱۷/۰/۰ ± ۰/۰ <sup>a</sup>	۱۹/۰/۰ ± ۰/۰ <sup>a</sup>	۷/۷/۰ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱۷/۰/۰ ± ۰/۰۱ <sup>a</sup>
مونوسیت (درصد)	۵/۰/۲ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۵/۰/۴ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۶/۰/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۴/۹/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۵/۰/۶ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۵/۰/۱ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>
اؤزینوفیل (درصد)	۰/۳/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۳/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۷/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۷/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۳/۰ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۷/۰ ± ۰/۰۶ <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 تعداد گلbul‌های سفید خون (WBC) با تفاوت معنی‌داری بهترتبیب 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 ( $p < 0.05$ ) درحالی‌که، از نظر میانگین درصد افتراقی گلbul‌های سفید خون (لنفوسیت، مونوسیت، نوتروفیل و

بیشترین و کمترین میانگین هموگلوبین (Hb) با تفاوت معنی‌داری بهترتبیب 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 ( $p < 0.05$ ).

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 آalkaline 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 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 ( $p > 0.05$ ).

اوزینوفیل) بین تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

### آنژیم‌های 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 لاكتات 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 حالی‌که، تفاوت معنی‌داری در مقادیر LDH سرم بین نمونه شاهد (جیره پایه) و سه

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

آنژیم کبدی (واحد در لیتر)	لاكتات دهیدروژناز (LDH)	آلکالین فسفاتاز (ALP)	آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)
شاهد (تیمار صفر)	۲۶۸۳±۳۸۴ <sup>b</sup>	۶۸۴/۳±۶۵/۶ <sup>bc</sup>	۱۵/۵±۲/۱ <sup>a</sup>	۴۱۱/۶۷±۱۷/۹۵ <sup>c</sup>
تیمار ۱	۲۶۷۰±۱۳۰ <sup>b</sup>	۶۴۵/۰±۱۱۴/۰ <sup>c</sup>	۱۶/۰±۲/۰ <sup>a</sup>	۴۱۳/۳۳±۱۲/۹۰ <sup>c</sup>
تیمار ۲	۲۸۷۷±۸۵ <sup>b</sup>	۷۰۹/۹±۲۴/۷ <sup>abc</sup>	۱۷/۵±۲/۰ <sup>a</sup>	۴۷۱/۳۳±۳۰/۶۶ <sup>bc</sup>
تیمار ۳	۲۸۸۱±۱۲۴ <sup>b</sup>	۷۰۵/۰±۹/۵ <sup>abc</sup>	۱۷/۱±۱/۹ <sup>a</sup>	۴۴۸/۸۷±۲۹/۷۷ <sup>bc</sup>
تیمار ۴	۳۳۸۸±۱۳۱ <sup>a</sup>	۸۱۳/۰±۱۵/۹ <sup>a</sup>	۱۸/۷±۳/۶ <sup>a</sup>	۵۷۲/۲۰±۱۵/۸۵ <sup>a</sup>
تیمار ۵	۳۴۱۹±۵۹ <sup>a</sup>	۷۹۹/۳±۶۸/۴ <sup>ab</sup>	۱۷/۸±۱/۴ <sup>a</sup>	۴۹۰/۰۰±۵۷/۷۷ <sup>b</sup>

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

### بحث

در زمینه تأثیر فیتاژها 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 محرك‌های 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

۱۲۳

مقایسه میانگین مقادیر ALT سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ( $p > 0.05$ ) در حالی‌که بیشترین و کمترین میانگین آسپارتات 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 حالی‌که 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 (Nikinmaa *et al.*, 1983; Nayak, 2010).

بالا رفتن میزان گلوبول‌های 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 گلوبول‌های سفید توأم با کاهش لنفوسیت‌ها (لنفوپنی) و افزایش نوتروفیل‌ها (نوروفیلیا) می‌باشد و ۲- معمولاً میزان لنفوسیت خون ماهیان در شرایط طبیعی و بدون استرس ۵۵-۸۵ 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 ( $77/82-8/4$  درصد) بود، افزایش معنی‌دار تعداد گلوبول‌های سفید خون در تیمار ۳ توأم با بیشترین (جدول ۲) میزان لنفوسیت در این تیمار ( $82/4 \pm 1/4$  درصد) را می‌توان با ارتقاء سیستم یافته‌های تحقیق حاضر، Baruah و همکاران (۲۰۰۹) تغییرات معنی‌داری در RBC و WBC بچه‌ماهیان انگشت‌قد کپور هندی (*Labeo rohita*) raho 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 Cyprinus و RBC در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌گردد. همچنین در تحقیقی مشابه از ایمانپور و همکاران (۱۳۹۸)، افروند 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 دریایی 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 دریایی خزر می‌گردد (Wells and Baldwin, 1990). نکته حائز اهمیت در نتایج این مطالعه، کاهش معنی‌دار هموگلوبین خون ماهی جوان آزاد دریایی خزر تحت تأثیر جیره جایگزین شده با هر دو سطح پودر سویا به جای پودر ماهی به تهایی 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 بهوژه آهن و گروههای آمینواسیدی پروتئین‌های جیره غذایی باشد که سبب کاهش دستررسی این مواد در بدن می‌گردد (Soltan *et al.*, 2008). از سویی، در مطالعات متعدد تأیید شده است که وجود پلی‌ساقاریدهای غیرنشاسته‌ای (NSP) در منابع پروتئین گیاهی نظیر پودر سویا (حاوی ۳۰٪ NSP) در جیره ماهیان منجر به تأخیر جذب روده‌ای گلوكز و در نتیجه کاهش سطح گلوكز خون آنها می‌گردد (Leenhouwers *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2011; Sinha *et al.*, 2011). بر این اساس، کاهش معنی‌دار هموگلوبین خون در ماهیان تیمار شده با جیره‌های حاوی پودر سویا به تهایی یا در ترکیب با آنزیم فیزایم در مطالعه کنونی را می‌توان با کاهش احتمالی نیاز ماهی جوان آزاد دریایی خزر به انتقال اکسیژن در خون به علت پتانسیل ممکن کاهشی پودر سویا بر سطح گلوكز خون و در نتیجه کاهش استرس و تقاضای انرژی

<sup>۱</sup> NSP: non-starch polysaccharides

آنژیم 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 آنژیم در بافت کبد معمولاً در سلولهای پوششی مجرای کیسه صفرا تولید می‌شود (Agrahari and Gopal, 2009). سنجش مقادیر این آنژیم به عنوان ابزاری مفید در تشخیص Hall and Cash, (2012) به طوری که اختلالات کبدی و انسداد مجرای صفراء، سطح سرمی این آنژیم را در ماهی افزایش می‌دهد (Agrahari and Gopal, 2009). به علاوه، فیتات موجود در پروتئین‌های گیاهی نظیر سویا از طریق کاهش فسفر قابل دسترس جیره منجر به افزایش سطح سرمی آنژیم 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 آنژیم ALP و در نتیجه ارتقاء عملکرد کبد ماهی جوان آزاد دریای خزر می‌باشد. با این حال، افزایش معنی‌دار فعالیت آنژیم 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 ۴ و نمونه شاهد نیز مؤید این مطلب است.

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

LDH به عنوان یک آنژیم گلیکولیتیک و متابولیک مهم در نظر گرفته می‌شود که از طریق تبدیل لاکتات به پیررووات 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 بی‌هوایی 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 آنژیم 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 منوفسفات (AMP) تحت متابولیسم بی‌هوایی Murray *et al.*, 2003; Gül *et al.*, 2003). در چنین شرایطی، فعالیت آنژیم فسفوفروکتوکیناز ارتقاء می‌یابد و گلوکز بی‌هوایی و نیز میزان فعالیت آنژیم LDH سرم افزایش می‌یابند (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 آنژیم فیزایم در جیره (تیمارهای ۲ و ۳) از آسیب وارد 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 کربوهیدرات‌جیره ناشی از ارتقاء فعالیت آنژیم‌های پروٹئاز 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 آنژیم فیزایم در هر کیلوگرم غذا مرتبط داشت.

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) به نظر می‌رسد جهت دستیابی به تأثیر مشهودتر آنژیم 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 آنژیم در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر نیاز باشد. به‌حال، 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 آنژیم 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 ۰۱۱-۹۷۰۶۰۰-۰۳۲-۱۲ 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 خرمالو (*Diospyros kaki*) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر بر برخی فراسنجه‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی. نشریه علوم آبزی پروری، ۷(۱): ۳۶-۲۷.

می‌کنند (Lin and Luo, 2011). رهاسازی مقادیر زیادی از آنژیم‌های آمینوترانسفراز (AST و ALT) در سرم نشانگر آسیب سلولی کبد می‌باشد (Xu et al., 2020). در این مطالعه، بیشترین مقادیر AST به ترتیب 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) در حالی که 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 تنها ی 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. به‌حال، 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 تنها ی یا در ترکیب با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیزایم تحت شرایط این آزمایش اذعان 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 آنژیم‌های کبدی شامل ALT و ALP 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 آنژیم‌های 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 hematological 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): ۱۷۷-۱۸۶.
- ساریخانی، م. ر، و ملبوبي، م. ع، ۱۳۸۹. فیتازها: از دیدگاه آنزیم‌شناسی، ویژگی‌های مولکولی، بیوشیمیایی و کاربردها. *محله 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-کاربینتین جیره غذایی بر روند رشد و تنش اکسیداتیو (Oxidative stress) فیل‌ماهی جوان پرورشی (*Huso huso*) و مقایسه آن با جیره وارداتی (بیومار). *محله علمی شیلات ایران*، ۶(۳): ۱۷۱-۱۸۳.
- 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*). *محله علمی شیلات ایران*، ۲۸(۲): ۱۶۵-۱۷۸.
- محسنی، م، نجارلشگری، س، گل‌علیپور، ی، اسماعیل‌نیا، ر، و مؤذن‌زاده، ک، ۱۳۹۸. تأثیر سطوح مختلف کولین کلرايد 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 carbohydrate 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., Krogdahl, 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-Kurutas, E., Yildiz, E., Saham, 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. Sounders 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 microbial phytase supplementation on growth performance, nutrient utilization, body compositions and haematobiochemical 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 Mourão, 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. Sounders company, USA, 882 P.
- Svetina, A., Matašin, Ž., Tofant, A., Vučemilo, 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