نسخه قبل از انتشار

تأثیر سطوح مختلف آنزیم کمبو بر شاخص‌های رشد، ایمنی و آنزیم کبدی و ترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss)

شیوا قربانی[۱]، سکینه یگانه[۲*]، حسین اورجی[۳]، ایوب فرهادی[۴]

۱- دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشکده شیلات و علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: ghorbanishiva69@gmail.com

۲- نویسنده مسئول، استاد گروه شیلات، دانشکده شیلات و علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: skyeganeh@gmail.com

۳- استاد، گروه شیلات، دانشکده شیلات و علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: hoseinoraji@yahoo.com

۴- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده شیلات و علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: ayoub_farhadi@ymail.com

Shiva Ghorbani[1], Sakyneh Yeganeh[*2], Hosein Oraji[3] ,Ayoub Farhadi[4]

1. Ph.D. Student, Department of Fisheries and animal science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: ghorbanishiva69@gmail.com

2. Corresponding Author, Professor, Department of Fisheries and animal science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: skyeganeh@gmail.com

3. Professor, Department of Fisheries and animal science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: hoseinoraji@yahoo.com

4- Associate Professor, Department of Fisheries and animal science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran. E-mail: ayoub_farhadi@ymail.com

چکیده

سابقه و هدف: جایگزینی پودر ماهی با پروتئین‌های گیاهی مشکلاتی از قبیل کیفیت و میزان پروتئین در منابع گیاهی داشته و نسبت به پودر ماهی نامرغوب‌تر است، اما پروتئین‌های گیاهی به دلیل قیمت پایین و قابلیت تهیه آسان نسبت به پودر ماهی در اولویت است و قیمت مناسب آن‌ها اجازه پردازش غلات برای افزایش دادن ارزش غذایی در ماهیان را می‌دهد. آنزیم‌های تجاری به طور خاص ترکیبی از چندین آنزیم مختلف می‌باشد که بر روی انواع مختلف اجزا مواد غذایی مؤثر می‌باشند. هدف از انجام این تحقیق بررسی درصدهای مختلف آنزیم کمبو در جیره‌های حاوی مقادیر مختلف سویا و اثرات آن بر فاکتورهای رشد، ایمنی و آنتی اکسیدانی خون و ترکیبات شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل آلا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ماهیان با وزن اولیه تقریبی حدود ۰/۵۱ ± ۱۲/۸۷ گرم تهیه و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. این آزمایش که شامل ۸ تیمار و ۳ تکرار بود و برای هر تکرار ۱۶ قطعه ماهی در هر مخزن توزیع شد. از ۸ جیره آزمایشی شامل تیمار یک: جایگزینی ۲۲/۵ (درصد) + صفر (گرم)(22.5S) آنزیم؛ تیمار دو: جایگزینی ۲۲/۵ + ۱ گرم آنزیم (22.5S1E)؛ تیمار ۳: جایگزینی ۲۲/۵ + ۱/۵ گرم آنزیم (22.5S1.5E)؛ تیمار چهار: جایگزینی ۲۲/۵ + ۲ گرم آنزیم (22.5S2E)؛ تیمار پنج: جایگزینی ۴۵ + صفر آنزیم (45S)؛ تیمار شش: جایگزینی ۴۵ + ۱ گرم آنزیم (45S1E)؛ تیمار هفت: جایگزینی ۴۵ + ۱/۵ گرم آنزیم (45S1.5E) و تیمار هشت: جایگزینی ۴۵ + ۲ گرم آنزیم (45S2E) مولتی استفاده شد. ترکیبات شیمیایی لاشه، بررسی آنزیم‌های کبدی و اندازه‌گیری فاکتورهای ایمنی سرم خونی ماهیان قزل آلای رنگین کمان انجام شد.

یافته‌ها: پارامترهای وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن بدن، افزایش طول بدن، درصد افزایش وزن بدن و مقدار افزایش وزن روزانه در تیمار چهار بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها بصورت معنی‌دار از خود نشان داد ($P < ۰/۰۵$). میزان پروتئین لاشه در تیمار 22.5S2E و تیمار45S1.5E بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). بیشترین مقدار فعالیت کمپلمان در تیمار22.5S2E (با ۱۵۵/۶۱ میلی گرم بر دسی لیتر) و بالاترین مقدار آنزیم لیزوزیم در تیمارهای سه و تیمار22.5S2E (به ترتیب برابر با ۳۰/۹۴ و ۳۲/۲۶ میلی گرم بر میلی لیتر) بصورت معنی‌داری مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). بالاترین‌ترین مقدار فعالیت آنزیم ALT در تیمار سه، آنزیم ALP در تیمار22.5S2E ، آنزیم LDH در تیمار یک مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عملکرد بهینه رشد و بازده خوراک در جیره حاوی کمپلکس آنزیم کمبو در سطوح بالای پودر ماهی همراه با ۲ گرم مکمل آنزیم کمبو (تیمار22.5S2E) بدست آمد. بالاترین مقدار آنزیم لیزوزیم در مقادیر ۱/۵ و ۲ گرم در کیلوگرم آنزیم کمبو مشاهده شد. درصدهای مختلف مکمل آنزیم کمبو منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیائی (ALP)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) گردید. بنابراین استفاده از مولتی‌آنزیم کمبوبه میزان ۲ گرم جهت افزایش درصد جایگزینی سویا در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، شاخص‌های ایمنی، ترکیب لاشه، آنزیم‌های کبدی، *Oncorhynchus mykiss*

مقدمه

تقاضای رو به رشد برای مصرف ماهی و محدود بودن ذخایر طبیعی موجب توسعه آبزی‌پروری در جهان شده است، علت آن را می‌توان به کیفیت بالای پروتئین و اسیدهای‌آمینه و اسیدهای‌چرب مفید ماهی اشاره نمود (۱)، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با توجه به کیفیت گوشت و بازار پسندی به عنوان یک گونه ارزشمند در میان ماهیان پرورشی محسوب می‌شود (۲).

موفقیت و توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری بستگی به کاهش هزینه‌های پرورش دارد که در این بین هزینه خوراک ۵۰ تا ۶۰ درصد هزینه کل را در بر می‌گیرد و گران‌ترین ماده تشکیل‌دهنده غذای ماهی، پودر ماهی است (۲). آبزی پروری متراکم برای رشد گونه‌های آبزی در تمام مراحل زندگی نیاز به تغذیه ماهی بصورت مؤثر و اقتصادی دارد. توسعه و تکامل غذای ماهی که متشکل از تمام مواد مغذی ضروری که به رشد، بقا و تولید مثل بهینه کمک می‌کنند، مورد نیاز است (۳). در بسیاری از فرمولاسیون‌های خوراک ماهی، پروتئین و لیپیدها از منابع حیوانی یا گیاهی (اغلب محصولات جانبی صنایع غذایی) به جای پودر ماهی (FM) و روغن ماهی (FO) که در درصد کمتری در فرمولاسیون خوراک ماهی وجود دارد، استفاده می‌شود. حتی اگر برخی از خوراک ماهی‌های تجاری از مواد خام جایگزین با منشأء غیر دریایی استفاده کنند، دارای خواص تغذیه‌ای مطلوبی هستند، اما ارزش غذایی منحصر به فرد خوراک فرموله شده با پودر ماهی (FM) و روغن ماهی (FO) را برآورده نمی‌کنند. از این رو، بهبود در دسترس بودن و ارزش غذایی مواد خام جایگزین از طریق فناوری مهندسی زیستی و به طور خاص فناوری آنزیمی مهم است (۳).

یکی از راهکارهای کاهش قیمت غذا افزایش درصد جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره می‌باشد. پودر ماهی یکی از منابع پروتئینی مهم در تغذیه آبزیان به خصوص گونه‌های گوشتخوار است و حاوی بهترین منابع مواد غذایی ضروری از قبیل آمینواسیدهای ضروری، اسیدهای چرب آزاد ضروری، ویتامین‌ها، مواد معدنی، جاذب‌ها و فاکتورهای رشد ناشناخته است (۴). افزایش تقاضا و منابع ناپایدار و قیمت بالای پودر ماهی همراه با توسعه آبزی‌پروری ضرورت تحقیق برای یافتن منابع پروتئینی جایگزین را خاطر نشان می‌سازد (۵). جایگزینی پودر ماهی با پروتئین‌های گیاهی مشکلاتی از قبیل کیفیت و میزان پروتئین در منابع گیاهی داشته و نسبت به پودر ماهی نامرغوب‌تر است، اما پروتئین‌های گیاهی به دلیل قیمت پایین و قابلیت تهیه آسان نست به پودر ماهی در اولویت است و قیمت مناسب آن‌ها اجازه پردازش غلات برای افزایش دادن ارزش غذایی در ماهیان را می‌دهد (۶).

وجود عوامل ضد تغذیه‌ای در سویا علاوه بر تأثیر مستقیم بر کاهش هضم‌پذیری پروتئین این ماده باعث بروز التهابات دستگاه گوارش و به خصوص روده می‌شوند که منجر به بروز اختلال در فرآیند گوارش شده و به طور غیر مستقیم فرآیند هضم پروتئین را دچار اختلال می‌نمایند و در نهایت منجر به کاهش رشد خواهند شد (۷). در سویا موادی مانند آربینوزایلان وجود دارد که جز پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای هستند و وجود آن‌ها مانع هضم نشاسته می‌شود. این مواد نیز به واسطه

استفاده از آنزیم زایلاناز می‌تواند از بین برود و توان هضم نشاسته سویا را افزایش دهد، البته بخش نشاسته‌ای کنجاله سویا ترکیب یکنواختی ندارد و بخشی از آن غیر قابل هضم می‌باشد.

آنزیم‌ها کاتالیزورهای آلی هستند که می‌توانند سبب آغاز و یا تسریع واکنش‌های شیمیایی شده و یک یا چند نوع ترکیب آلی را به تولیدات آلی تبدیل نمایند، که در غیر این صورت این واکنش با سرعت قابل قبولی نمی‌توانست ادامه یابد (۸). تمام آنزیم‌های گوارشی متعلق به گروه هیدرولازها هستند. از سال ۱۹۲۰ محققین تأثیرات مفید آنزیم‌ها بر روی مواد غذایی طیور به ویژه غذاهایی که حاوی دانه‌های غلات با ترکیب بالایی از فیبر هستند را مشاهده نموده‌اند (۹). مکمل‌های آنزیمی خارجی (Exogenous enzymes) به عنوان یکی از افزودنی‌های مهم در جیره غذایی دام و طیور و آبزیان با هدف بهبود قابلیت هضم، افزایش میزان رشد و راندمان اقتصادی تولید محسوب می‌گردند. مکمل‌های آنزیمی (Enzyme supplamants) فرآورده‌هایی هستند که جهت افزایش استفاده از مواد مغذی در جیره و بهبود راندمان هضم و جذب به صورت متعارف به جیره اضافه شده تا باعث افزایش استفاده از مواد اولیه ارزان‌تر و با فرآوری کمتر، شده و به تبع آن منجر به بهبود عملکرد رشد و ترکیب لاشه در مقایسه با منابع غذایی گران قیمت می‌شوند (۱۰). آنزیم‌های تجاری به طور خاص ترکیبی از چندین آنزیم مختلف می‌باشد که بر روی انواع مختلف اجزا مواد غذایی مؤثر می‌باشند. آنزیم‌هایی که باعث تأثیرات آن‌ها در پرورش حیوانات شده شامل: زایلانازها (xylanase)، آرابینوکسی لانازها (arabinoxylanase)، بتا-گلوکاناز (B-Glucanase)، سلولاز (Cellulase)، فیتاز ((phytase، پروتئاز) protease) و فسفولیپاز (phospholipase) می‌باشند (۱۱). یکی از محدودیت‌های اصلی در استفاده از مواد گیاهی حضور پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای در گیاهان است. ماهی و دیگر حیوانات تک معده‌ای آنزیم‌هایی مانند: سلولاز، بتاگلوکاناز و بتا زایلاناز که بر هضم‌پذیری پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای مؤثرند را ندارند. مولتی آنزیم کمبو دارای عملکرد چندگانه است که دارای ۹ آنزیم متنوع شامل: سلولاز، آمیلاز، پروتئاز قارچی، پروتئاز خنثی، پروتئاز قلیایی، زایلاناز، بتا گلوکاناز، همی سلولاز و لیپاز می‌باشد (۱۲). با توجه به ساختار مولتی‌آنزیم کمبو، فرض بر آن است که همانند طیور، در آبزیان، بخصوص گوشتخواران مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان، می توان آن را در جیره غذایی استفاده نمود و قابلیت هضم جیره‌های غذایی حاوی آرد سویا را افزایش داد (۷). به این ترتیب که پروتئاز موجود در این آنزیم به عنوان آنزیم کمکی با افزایش سطح آنزیم‌های دستگاه گوارش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، بازدارندههای تریپسین، ساپونین، کیموتریپسین و لکتین موجود در سویا که جزو مواد ضد تغذیه‌ای هستند و با اتصال به آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، از هضم پروتئین جلوگیری می‌نمایند را غیر فعال کرده و با کمک سیستم گوارشی ماهی قابلیت هضم پروتئین سویا را افزایش

می‌دهد(۷). هدف از انجام این تحقیق بررسی درصدهای مختلف آنزیم کمبو در جیره‌های حاوی مقادیر مختلف سویا و اثرات آن بر فاکتورهای رشد، ایمنی و آنزیم‌های کبدی خون و ترکیبات شیمیایی لاشه بچه ماهی قزل آلا می‌باشد.

مواد و روش کار

این پژوهش در آبان ماه سال ۱۴۰۲ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گرفت. ماهیان با وزن اولیه تقریبی حدود ۰/۵۱ ± ۱۲/۸۷ گرم خریداری شده و به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. این آزمایش که شامل ۸ تیمار و ۳ تکرار بود و برای هر تکرار، ۱۶ قطعه ماهی در هر مخزن توزیع شد. ۸ جیره آزمایشی که حاوی سطوح مختلف کنجاله سویا و آنزیم کمبو بود، تنظیم شد که شامل جیره با درصد متداول کنجاله سویا: ۲۲/۵ درصد و جیره حاوی ۴۵ درصد جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویا بود و سپس جیره‌های مختلف با مقادیر صفر، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم آنزیم کمبو در کیلوگرم در جیره (۱۳) تهیه شدند، به طوری که تیمارهای آزمایش به صورت زیر در نظر گرفته شدند:

تیمار ۱: جیره ۲۲/۵ درصد کنجاله سویا + صفر آنزیم کمبو (22.5S)

تیمار ۲: جیره ۲۲/۵ درصد کنجاله سویا + ۱ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (22.5S1E)

تیمار ۳: جیره ۲۲/۵ درصد کنجاله سویا + ۱/۵ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (22.5S1.5E)

تیمار ۴: جیره ۲۲/۵ درصد کنجاله سویا + ۲ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (22.5S2E)

تیمار ۵: جیره ۴۵ درصد کنجاله سویا + صفر آنزیم کمبو (45S)

تیمار ۶: جیره ۴۵ درصد کنجاله سویا + ۱ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (45S1E)

تیمار ۷: جیره ۴۵ درصد کنجاله سویا + ۱/۵ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (45S1.5E)

تیمار ۸: جیره ۴۵ درصد کنجاله سویا + ۲ گرم در کیلوگرم در جیره آنزیم کمبو (45S2E)

جیره‌های آزمایشی (جدول ۱) با میزان پروتئین و انرژی یکسان (شامل ۸ تیمار) دارای دو سطح ۲۲/۵ و ۴۵ درصد کنجاله سویا تهیه شدند (نرم افزار PWUFFDA). به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، ابتدا مواد اولیه خشک شامل پودر ماهی، پودر سویا و آرد گندم و... کاملاً با هم مخلوط شده و بعد روغن به آن‌ها اضافه شد. سپس آب تا مقداری که مخلوط حالت خمیری

به خود بگیرد، اضافه گشت. خمیر حاصل از یک چرخ گوشت با قطر صفحه ۳ میلی‌متر عبور داده شد که به صورت رشته‌ای در آمده، پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی پلاستیک گسترده شد و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از فن کاملاً خشک شدند (مقدار رطوبت جیره ۹ درصد). در طول مدت خشک شدن، غذاهای پلت شده مرتب به هم‌زده شدند تا به صورت یکنواخت مخلوط شوند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره گذاری شده و تا زمان مصرف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- جیره‌های آزمایشی فرموله شده برای تغذیه لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان

Table 1- Experimental diets formulated for feeding rainbow trout larvae

سویا ۴۵ درصد (Soybean 45 %)	سویا ۲۲/۵ درصد (Soybean 22.5 %)	
درصد (Percentage)	درصد (Percentage)	اجزاء جیره (Diet components)
20	36	پودر ماهی (Fish meal)
45	22.5	کنجاله سویا (Soy meal)
18	12	گلوتن ذرت (Corn gluten)
5.5	18	آرد گندم (Wheat flour)
4.25	4.25	روغن ماهی (Fish oil)
4.25	4.25	روغن سویا (Soybean oil)
1.5	1.5	مکمل ویتامینی (Vitamin supplement)
1.5	1.5	مکمل معدنی (Mineral supplement)
41.26±0.42	42.65±0.50	پروتئین (٪) Protein (%)
31.29±0.67	30.92±0.13	چربی (٪) Lipid (%)
9.76±0.84	10.99±0.15	خاکستر (٪) Ash (%)
17.49±0.49	15.35±0.26	کربوهیدرات (٪) Carbohydrate (%)

مولتی آنزیم کمبو به عنوان مکمل آزمایشی از شرکت Zubin zarin, Inc تهیه شد و به منظور مخلوط کردن جیره با مکمل، مولتی آنزیم کمبو با آب مخلوط شد و بر روی خوراک به طور دستی اسپری و سپس با استفاده از روغن آفتابگردان پوشش دار شد (۱۴) تا گرمای حاصل از پلت زنی جیره‌ها باعث خراب شدن آنزیم نشود. لازم به ذکر است که جهت

یکنواخت شدن آزمایش، به تیمار شاهد نیز روغن آفتاب گردان به ازای هر کیلوگرم جیره بدون مکمل مولتی آنزیم اضافه گردید (۱۴).

اجزای ترکیب مولتی آنزیم کمبو شامل لیپاز (Flp units/kg75.000)، سلولاز (Cu units/kg75.000)، بتاگلوکوناز (BG units/kg20.000)، همی سلولاز (Hcu units/kg20.000)، آمیلاز قارچی (SKB units/kg30.000)، آلکالین پروتئاز (Anson units/kg1.2)، پروتئاز قارچی (Hut units/kg1.000.000) و پروتئاز طبیعی (PC units/kg100.000) می‌باشد (۱۵). این پژوهش به مدت ۸ هفته ادامه یافت. خوراک دهی در ۳ وعده (ساعات ۸،۱۳ و ۱۸) و در حد سیری ظاهری انجام گرفت. به منظور خارج کردن فضولات و پسماندهای غذایی روزانه عمل سیفون کردن وان‌های پرورشی انجام شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های زیستی

در انتهای دوره پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، بچه ماهیان موجود در هر تیمار، با استفاده از عصاره گل میخک (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) بیهوش شده (۱۶) و مورد سنجش وزنی و طولی قرار گرفتند. درصد زنده‌مانی و سایر شاخص‌های رشد شامل: فزایش وزن بدن (WG)، افزایش طول بدن (LG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، کارایی تبدیل پروتئین و رشد روزانه (GR) توسط روابط ذیل تعیین شدند.

درصد بازماندگی = (تعداد نهایی ماهی – تعداد اولیه ماهی)×۱۰۰

ضریب رشد ویژه= [Ln وزن انتهایی – Ln وزن اولیه]/ دوره پرورش به روز×۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = وزن خشک غذای داده شده/ وزن نهایی – وزن اولیه

افزایش وزن= وزن نهایی – وزن اولیه

افزایش طول= طول نهایی – طول اولیه

کارایی تبدیل پروتئین = (افزایش وزن ماهی(گرم) / پروتئین خام مصرف شده (گرم))× ۱۰۰

رشد روزانه= وزن نهایی ماهی – وزن اولیه ماهی / طول دوره آزمایش

اندازه‌گیری پارامترهای خونی-ایمنی

در انتهای دوره پس از ۲۴ ساعت گرسنگی از هر تکرار ۳ قطعه ماهی (هر تیمار ۹ ماهی) برای خونگیری استفاده شد. پس از بیهوش کردن در عصاره گل میخک (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) (۱۶)، خونگیری از طریق ساقه دمی صورت پذیرفت. اندازه گیری پروتئین محلول سرم بر اساس واکنش بایوره و جذب نوردرطول موج ۵۴۰ نانومتر صورت گرفت (۱۷). جهت اندازه گیری توتال ایمونوگلبولین از روش Siwicki و Anderson (۱۸) استفاده شد. از آزمایش همولیز در ژل آگار جهت اندازه گیری فعالیت کمپلمان استفاده خواهد شد (۱۹). سنجش لیزوزیم بوسیله روش کدورت سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد (۲۰).

بررسی آنزیم‌های کبدی

آنزیم‌های سرمی ALT (آلانین آمینوترانسفراز)، ALP (آلکالین فسفاتاز)، AST (آسپارتات آمینو ترانسفراز) و LDH (لاکتات دهیدروژناز) با استفاه از کیت تشخیصی نوند سلامت و دستگاه اتوآنالیزر اندازه‌گیری شدند (۲۱).

ترکیبات شیمیایی لاشه

برای نمونه‌برداری از لاشه ماهیان ۲۴ ساعت قبل از کشتار تغذیه ماهیان قطع شد. از هر تیمار تعداد ۶ قطعه ماهی به طور تصادفی صید و جهت بیهوش کردن در عصاره گل میخک (۳۰۰میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند (۱۶).

اندازه‌گیری رطوبت: با قرار دادن دردمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و توزین آن پس از خشک شدن و رسیدن به وزن ثابت به مدت ۲۴ ساعت ادامه یافت. پروتئین بر اساس میزان ازت کل با استفاده از روش کجلدال تعیین گردید و با اعمال ضریب ۶/۲۵ مقدار پروتئین محاسبه شد. چربی با استفاده از روش سوکسله و از طریق حل کردن چربی در اتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری خاکستر از طریق سوزاندن نمونه در دمای ۵۴۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و توزین آن، انجام شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات مقدار مشخصی از نمونه ابتدا با اسید HCl به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد هضم شد و سپس با استفاده از واکنشگر آنترون ۰/۲ درصد در طول موج ۶۳۰ نانومتر مقدار کربوهیدرات نمونه‌ها بدست آمد (برای محلول استاندارد از گلوکز با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استفاده شد) (۲۲).

آنالیز آماری

ابتدا داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف از نظر نرمال بودن بررسی شدند. اثرهای متقابل تغذیه آنزیم (در ۴ سطح) و سویا (در ۲ سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی و با آزمایش فاکتوریل ۴ × ۲ (۸ تیمار) با کمک آنالیز واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام گرفت. در صورت عدم معنی‌دار بودن اثرهای متقابل آنزیم و سویا در برخی از شاخص‌ها، از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و از آزمون دانکن (Duncan) در سطح ۵ درصد استفاده شد ($P < ۰/۰۵$). نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel (نسخه ۲۰۱۳) رسم شدند.

نتایج

آنالیز واریانس دو طرفه در بین فاکتورهای اندازه‌گیری شده نشان داد که اثر مستقل آرد سویا بر فاکتورهای وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن، افزایش طول، درصد افزایش وزن، افزایش وزن روزانه، نرخ رشد ویژه، ضریبت تبدیل غذایی، نرخ کارایی پروتئین، آنزیم‌های ALT، ALP، AST و LDH اثر معنی‌دار داشت ($P < ۰/۰۵$). اثر مستقل آنزیم بر فاکتورهای بازماندگی، وزن خشک، چربی، خاکستر، کربوهیدرات، پروتئین، کمپلمان، لیزوزیم و ایمنوگلوبین اثر معنی‌دار داشت ($P < ۰/۰۵$).

جدول ۲- آنالیز واریانس دوطرفه حاصل از تأثیر متقابل آرد سویا و آنزیم **بر شاخصه‌های رشد، بازماندگی، آنزیم کبدی و پارامترهای ایمنی در ماهی قزل آلای رنگین کمان**

Table 2- Two-way analysis of variance resulting from the intraction effect of soybean flour and enzyme on growth, survival, liver enzyme and immune parameters in rainbow trout

عوامل (parameters)	آرد سویا (Soybean flour)	آنزیم (**enzyme**)	اثر متقابل آرد سویا × آنزیم (The interaction effect of soybean flour × enzyme)
وزن نهایی (گرم) Final weight (g)	$P < 0.001^{*}$	$P > 0.124^{*}$	$P > 0.945^{*}$
طول نهایی (سانتی‌متر) Final length (cm)	$P < 0.007^{*}$	$P >0.154^{*}$	$P > 0.122^{*}$
افزایش وزن (گرم) Weight gain (g)	$P < 0.005^{*}$	$P > 0.179^{*}$	$P > 0.117^{*}$
افزایش طول (سانتی‌متر) Lengt h gai n (cm)	$P < 0.002^{*}$	$P > 0.581^{*}$	$P > 0.663^{*}$

$P > 0.136^{*}$	$P > 0.099^{*}$	$P < 0.004^{**}$	درصد افزایش وزن بدن Body weight gain (٪)
$P > 0.237^{*}$	$P > 0.364^{*}$	$P < 0.004^{**}$	افزایش وزن روزانه (گرم در روز) Daily body weight gain ($g\ day^{-1}$)
$P > 0.341^{*}$	$P > 0.224^{*}$	$P < 0.009^{**}$	نرخ رشد ویژه Specific growth rate
$P > 0.855^{*}$	$P > 0.008^{**}$	$P > 0.112^{*}$	بازماندگی (درصد) Survival (٪)
$P > 0.097^{*}$	$P > 0.625^{*}$	$P < 0.005^{**}$	ضریب تبدیل غذایی Food conversion ratio
$P > 0.166^{*}$	$P > 0.201^{*}$	$P < 0.006^{**}$	نرخ کارایی پروتئین Protein efficiency
$P > 0.163^{*}$	$P < 0.002^{**}$	$P > 0.624^{*}$	وزن خشک (درصد) Dry weight (%)
$P > 0.234^{*}$	$P < 0.004^{**}$	$P > 0.362^{*}$	چربی (درصد) Lipid (٪)
$P > 0.927^{*}$	$P < 0.008^{**}$	$P > 0.425^{*}$	پروتئین (درصد) Protein (٪)
$P > 0.164^{*}$	$P > 0.398^{*}$	$P > 0.222^{*}$	خاکستر (درصد) Ash (٪)
$P > 0.302^{*}$	$P > 0.793^{*}$	$P > 0.210^{*}$	کربوهیدرات (درصد) Carbohydrate (٪)
$P > 0.402^{*}$	$P < 0.004^{**}$	$P > 0.148^{*}$	ایمنوگلوبین (میلی گرم بر دسی لیتر) Immunoglobin ($mg\ dl^{-1}$)[1]
$P > 0.284^{*}$	$P < 0.001^{**}$	$P > 0.337^{*}$	کمپلمان (میلی گرم بر دسی لیتر) Complement ($mg\ dl^{-1}$)
$P > 0.793^{*}$	$P < 0.004^{**}$	$P > 0.425^{*}$	لیزوزیم (میلی گرم بر میلی لیتر) Lysozyme ($mg\ ml^{-1}$)
$P > 0.174^{*}$	$P > 0.099^{*}$	$P < 0.008^{**}$	ALT(Iu/L) (آلانین آمینو ترانسفراز)
$P > 0.562^{*}$	$P > 0.189^{*}$	$P < 0.004^{**}$	ALP(Iu/L) (فسفاتاز قلیائی)
$P > 0.529^{*}$	$P > 0.429^{*}$	$P < 0.004^{**}$	AST(Iu/L) (آسپارتات آمینو ترانسفراز)
$P > 0.298^{*}$	$P > 0.785^{*}$	$P < 0.001^{**}$	LDH(Iu/L) (لاکتات دهیدروژناز)

$^{**}P < ۰/۰۵$ (معنی‌دار) و $^{*}P > ۰/۰۵$ (عدم معنی‌دار).

میانگین (±انحراف معیار) پارامترهای رشد برای تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است که تفاوت معنی داری را بین تیمارهای گروه‌های مختلف نشان می‌دهد ($P < ۰/۰۵$). وزن اولیه و طول اولیه لارو ماهیان قزل آلا به ترتیب برابر با ۰/۵۱±۱۲/۸۷ گرم و ۰/۳۱±۱۰/۲۲ سانتی‌متر بود. کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی و بیشترین نرخ کارایی پروتئین در تیمار تیمار22.5S2E به دست آمد و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($P < ۰/۰۵$). درصد بقای لارو ماهی قزل آلا در تیمار45S کمترین مقدار و در تیمار تیمار22.5S2E بیشترین مقدار را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). پارامترهای وزن نهایی، طول نهایی، افزایش وزن بدن، افزایش طول بدن، درصد افزایش وزن بدن و مقدار افزایش وزن روزانه در تیمار22.5S2E بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها بصورت معنی‌دار از خود نشان داد ($P < ۰/۰۵$)، درحالیکه در تیمار45S2E نتایج مشابه و یا بهتراز تیمار22.5S1.5E بود که نشان دهنده عملکرد بالای آنزیم اضافه شده در سطح جایگزینی ۴۵ درصدی سویا در جیره لارو ماهی قزل آلا می باشد ($P < ۰/۰۵$). نرخ رشد ویژه در بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین (±انحراف معیار) قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و مولتی آنزیم کمبو در پایان آزمایش بر پارامترهای رشد و بازماندگی

Table 3- Mean (± standard deviation) of rainbow trout fed with different levels of soybean flour and combo multi-enzyme at the end of the experiment on growth and survival parameters

تیمارهای آزمایشی (Experimental Treatment)	وزن نهایی (گرم) Final weight (g)	طول نهایی (سانتی‌متر) Final length (cm)	افزایش وزن (گرم) Weight gain (g)	افزایش طول (سانتی‌متر) Length gain (cm)	درصد افزایش وزن بدن Body weight gain (%)	افزایش وزن روزانه (گرم در روز) Daily body weight gain ($g\ day^{-1}$)	نرخ رشد ویژه Specific growth rate	بازماندگی (درصد) Survival (%)	ضریب تبدیل غذایی Food conversion ratio	نرخ کارایی پروتئین Protein efficiency
تیمار 22.5S	31.91±0.07^{d}	26.42±0.02^{d}	19.03±0.07^{d}	16.19±0.02^{d}	147.92±0.57^{d}	0.31±0.00^{d}	4.20±0.00^{a}	79.16±0.21^{bc}	1.56±0.02^{c}	0.54±0.00^{d}
تیمار 22.5S1E	33.40±0.18^{e}	26.84±0.05^{e}	20.53±0.18^{e}	16.62±0.05^{e}	159.53±1.43^{e}	0.34±0.00^{e}	4.19±0.00^{a}	85.41±0.61^{bc}	1.32±0.08^{bc}	0.58±0.00^{e}
تیمار 22.5S1.5E	36.68±0.40^{f}	27.78±0.11^{f}	23.81±0.40^{f}	17.56±0.11^{f}	185.03±3.17^{f}	0.40±0.00^{f}	4.19±0.00^{a}	83.33±0.60^{bc}	1.22±0.06^{b}	0.68±0.01^{f}
تیمار 22.5S2E	44.57±0.68^{g}	30.03±0.19^{g}	31.70±0.68^{g}	19.81±0.19^{g}	246.33±5.30^{g}	0.53±0.01^{g}	4.19±0.00^{a}	87.5±0.00^{c}	0.97±0.02^{a}	0.91±0.01^{g}
تیمار 45S	29.73±0.22^{a}	25.79±0.06^{a}	16.85±0.22^{a}	15.57±0.06^{a}	130.98±1.74^{a}	0.28±0.00^{a}	4.20±0.00^{a}	68.75±0.25^{a}	1.82±0.05^{d}	0.48±0.00^{a}
تیمار 45S1E	30.26±0.08^{b}	25.95±0.02^{b}	17.39±0.08^{b}	15.73±0.02^{b}	135.16±0.65^{b}	0.29±0.00^{b}	4.20±0.00^{a}	79.16±0.61^{bc}	1.55±0.04^{c}	0.50±0.00^{b}
تیمار 45S1.5E	31.73±0.04^{c}	26.26±0.01^{c}	18.50±0.04^{c}	16.04±0.01^{c}	143.73±0.32^{c}	31.00±0.00^{c}	4.20±0.00^{a}	85.41±0.60^{bc}	1.36±0.07^{bc}	0.53±0.00^{c}
تیمار 45S2E	31.98±0.14^{d}	26.44±0.04^{d}	19.11±0.14^{d}	16.22±0.04^{d}	148.49±1.14^{d}	0.32±0.00^{d}	4.20±0.00^{a}	77.08±0.21^{ab}	1.57±0.08^{c}	0.55±0.00^{d}

داده‌ها در هر ستون با حروف مشابه عدم معنی داری را نشان می‌دهند ($P<$ ۰/۰۵). تیمار یک: 22.5S؛ تیمار دو: 22.5S1E؛ تیمار ۳: 22.5S1.5E؛ تیمار چهار: 22.5S2E؛ تیمار پنج: 45S؛ تیمار شش: 45S1E؛ تیمار هفت: 45S1.5E؛ تیمار هشت: 45S2E

جدول ۴ ترکیبات شیمیایی لاشه ماهی قزل آلا را در شرایط مختلف پرورشی نشان می‌دهد. بالاترین مقادیر مربوط به چربی، در تیمار22.5S، تیمار22.5S1E و تیمار22.5S1.5E بدست آمد ($P < ۰/۰۵$) که در این بین تیمار22.5S1.5E بالاترین مقدار چربی را در میان سایر تیمارها از خود نشان داد ($P < ۰/۰۵$). تفاوت معنی دار در مقادیر وزن خشک و خاکستر لاشه در تیمار45S2E مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$) که نسبت به تیمار22.5S (شاهد) مقدار بالاتری را نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). میزان پروتئین لاشه در تیمار22.5S2E و تیمار45S1.5E بیشترین مقدار را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند ($P < ۰/۰۵$) که نشان دهنده عملکرد بالای آنزیم اضافه شده به مقدار ۱/۵ گرم در سطح جایگزینی ۴۵ درصدی آرد سویا در جیره لارو ماهی قزل آلا بود. میزان کربوهیدرات در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی داری را از خود نشان نداد ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۴).

جدول ۴- ترکیبات لاشه قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و مولتی آنزیم کمبو در پایان آزمایش

Table 4- Compositions of rainbow trout carcasses fed with different levels of soybean meal and combo multi-enzyme at the end of the experiment

تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments	وزن خشک Dry (درصد) weight (%)	چربی Lipid (درصد) (%)	پروتئین (درصد) Protein)%(	خاکستر Ash (درصد) (%)	کربوهیدرات (درصد) Carbohydrate (%)
تیمار 22.5S	30.29±0.60^{a}	28.16±0.98^{d}	59.10±0.68 a	7.20±0.59 b	2.65±0.94^{ab}
تیمار 22.5S1E	30.77±0.16^{a} b	26.96±0.09^{c} d	60.98±0.24 b	6.77±0.70 b	2.39±0.09^{ab}
تیمار 22.5S1.5E	31.18±0.31^{b}	28.76±0.14^{d}	61.55±0.43 bc	4.86±0.70 a	1.92±0.13^{a}
تیمار 22.5S2E	31.99±0.39^{c}	25.56±0.14^{b} c	62.56±0.12 cd	6.71±0.63 b	2.28±0.64^{ab}
تیمار 45S	32.04±0.36^{c}	23.88±0.68^{a} b	61.16±0.18 b	7.31±0.60 b	4.87±0.98^{b}
تیمار 45S1E	32.66±0.04^{c} d	24.16±0.37^{a} b	61.11±0.18 b	8.06±0.83 b	3.64±0.37^{ab}
تیمار 45S1.5E	33.20±0.40^{d} e	23.56±1.50^{a} b	63.13±0.30 d	7.33±0.25 b	2.70±0.18^{ab}
تیمار 45S2E	33.61±0.30^{e}	22.81±1.24^{a}	61.33±0.86 bc	10.08±0.72^{c}	2.84±0.61^{ab}

داده‌ها در هر ستون با حروف مشابه عدم معنی داری را نشان می‌دهند ($P < ۰/۰۵$). تیمار یک: 22.5S؛ تیمار دو: 22.5S1E؛ تیمار ۳: 22.5S1.5E؛ تیمار چهار: 22.5S2E؛ تیمار پنج: 45S؛ تیمار شش: 45S1E؛ تیمار هفت: 45S1.5E؛ تیمار هشت: 45S2E

میزان فعالیت کمپلمان و آنزیم لیزوزیم در تیمار 45S و تیمار 45S1E کمترین مقدار را نشان دادند (جدول ۵)، در حالیکه بیشترین مقدار فعالیت کمپلمان در تیمار 22.5S2E و بالاترین مقدار آنزیم لیزوزیم در تیمار 22.5S1.5E و تیمار 22.5S2E بصورت معنی‌داری مشاهده شد ($P<$ ۰/۰۵) سطوح جایگزینی آرد سویا در سطح ۴۵ درصد همراه با ۲ گرم آنزیم کمبو نشان دهنده عملکردی برابر و یا بهتر نسبت به تیمار 22.5S (شاهد) بود. ایمنوگلوبین در تیمار 45S پایین‌ترین مقدار را نشان داد، درصورتی که در تیمار 22.5S2E بالاترین مقدار ایمنوگلوبین بصورت معنی‌داری مشاهده شد ($P <$ ۰/۰۵) و در تیمار 45S1.5E و تیمار 45S2E (سطوح جایگزینی ۴۵ درصدی از آرد سویا همراه با ۱/۵ و ۲ گرم آنزیم)، ایمنوگلوبین عملکردی بهتر از تیمار 22.5S (شاهد) داشت (جدول ۵).

جدول ۵- پارامترهای ایمنی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و مولتی آنزیم کمبو در پایان آزمایش

Table 5- Immune parameters of rainbow trout fed with different levels of soy flour and combo multi-enzyme at the end of the experiment

تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments	ایمنوگلوبین (میلی گرم بر دسی لیتر) Immunoglobin (mg dl^{-1})	کمپلمان (میلی گرم بر دسی لیتر) Complement (mg dl^{-1})	لیزوزیم (میلی گرم بر میلی لیتر) Lysozyme (mg ml^{-1})
تیمار 22.5S	19.05±0.84^{b}	110.09±0.78^{c}	19.46±0.55^{b}
تیمار 22.5S1E	23.91±0.27^{d}	139.01±1.08^{d}	26.08±0.56^{d}
تیمار 22.5S1.5E	37.34±1.13^{e}	142.06±2.26^{e}	30.94±0.55^{e}
تیمار 22.5S2E	40.35±1.03f	155.61±1.02f	32.26±0.29^{e}
تیمار 45S	15.05±0.24^{a}	96.10±0.67^{a}	16.14±0.36^{a}
تیمار 45S1E	18.52±0.64^{b}	97.89±0.34^{a}	17.00±0.05^{a}
تیمار 45S1.5E	21.03±1.02^{c}	100.93±0.21^{b}	22.47±1.72^{c}
تیمار 45S2E	22.01±0.77^{c}	108.74±1.25^{c}	22.79±0.09^{c}

داده‌ها در هر ستون با حروف مشابه عدم معنی داری را نشان می‌دهند ($P<$ ۰/۰۵). تیمار یک: 22.5S؛ تیمار دو: 22.5S1E؛ تیمار ۳: 22.5S1.5E؛ تیمار چهار: 22.5S2E؛ تیمار پنج: 45S؛ تیمار شش: 45S1E؛ تیمار هفت: 45S1.5E؛ تیمار هشت: 45S2E

آنزیم‌های کبدی ماهی قزل آلای رنگین کمان در جدول ۶ نشان داده شده است. به طور کلی افزایش سطح جایگزینی ۴۵ درصدی آرد سویا همراه با آنزیم کمبو (در مقادیر مختلف) کاهش مقدار آنزیم های کبدی را نسبت به تیمار22.5S (شاهد) و تیمارهای حاوی ۲۲/۵ درصد جایگزینی آرد سویا نشان داد. بالاترین‌ترین مقدار فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در تیمار22.5S1.5E بصورت معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). همچنین بیشترین مقدار آنزیم فسفاتاز قلیائی (ALP) در تیمار22.5S2E بصورت معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$). آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) در تیمار22.5S بالاترین مقدار را بصورت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داد ($P < ۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) در تیمار22.5S1E، تیمار22.5S1.5E و تیمار22.5S2E تفاوت معنی‌داری را نسبت به یکدیگر از خود نشان ندادند ($P < ۰/۰۵$) ولی نسبت به سایر تیمارها بالاترین مقدار را بصورت معنی‌دار از خود نشان دادند ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۶).

جدول ۶- آنزیم‌های کبدی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف آرد سویا و مولتی آنزیم کمبو در پایان آزمایش

Table 6- Liver enzymes of rainbow trout fed with different levels of soy flour and combo multi-enzyme at the end of the experiment

LDH(Iu/L) (لاکتات دهیدروژناز)	AST(Iu/L) (آسپارتات آمینو ترانسفراز)	ALP(Iu/L) (فسفاتاز قلیائی)	ALT(Iu/L) (آلانین آمینو ترانسفراز)	تیمارهای آزمایشی Experimental Treatments
523.87±3.18^{e}	325.35±5.87^{b}	670.30±2.59^{c}	19.06±0.57^{c}	تیمار 22.5S
511.42±2.25^{d}	330.03±5.88^{bc}	690.34±1.23^{d}	18.39±0.48^{c}	تیمار 22.5S1E
499.76±4.29^{c}	334.71±5.87^{bc}	701.48±1.46^{e}	24.25±0.84^{d}	تیمار 22.5S1.5E
488.89±3.04^{ab}	339.39±4.78^{c}	728.51±2.72f	19.59±0.77^{c}	تیمار 22.5S2E
498.55±2.71^{c}	303.61±2.93^{a}	632.53±4.08^{a}	13.26±0.55^{a}	تیمار 45S
484.00±1.92^{a}	305.66±1.78^{a}	644.96±2.65^{b}	13.60±0.07^{a}	تیمار 45S1E
495.24±2.17^{bc}	307.42±2.52^{a}	640.06±1.62^{b}	16.68±0.29^{b}	تیمار 45S1.5E
486.89±1.09^{a}	308.89±1.87^{a}	639.52±1.49^{b}	14.50±0.31^{a}	تیمار 45S2E

داده‌ها در هر ستون با حروف مشابه عدم معنی‌داری را نشان می‌دهند ($P < ۰/۰۵$). تیمار یک: 22.5S؛ تیمار دو: 22.5S1E؛ تیمار ۳: 22.5S1.5E؛ تیمار چهار: 22.5S2E؛ تیمار پنج: 45S؛ تیمار شش: 45S1E؛ تیمار هفت: 45S1.5E؛ تیمار هشت: 45S2E

بحث

عوامل مختلفی مانند نیازمندی به اسیدهای آمینه، ترکیبات جیره‌های غذایی، قابلیت هضم و انواع متفاوت از پروتئین‌های گیاهی می‌توانند در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی با پودر ماهی اثرگذار باشند (۲۳). همچنین عواملی مانند شرایط پرورش و اندازه ماهیان (وزن و طول) می‌تواند بر جایگزینی پروتئین‌های گیاهی با پور ماهی اثر بگذارد (۲۴) (تقی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه Zamini و همکاران (۲۵) میزان رشد در جیره غذایی آزاد ماهی دریای خزر (*Salmo trutta*

caspinus) حاوی ۰/۵ گرم ناتوزیم (مکمل آنزیمی) و ۰/۵ گرم همی سل (مکمل آنزیمی) بالاترین مقدار را نشان داد و همچنین پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی نیز در زمان استفاده از همین جیره مشاهده شد. افزایش رشد به‌ویژه در مقادیر ۱/۵ و ۲ گرم در کیلوگرم آنزیم کمبو در جیره، مشاهده شد که نشان می‌دهد استفاده از این مخلوط آنزیمی در رشد مؤثرتر عمل می کند که مطابق با مطالعه Ghobadi و همکاران است (۷). آن‌ها جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان را با Avizyme®، آنزیم حاوی پروتئاز، زایلاناز و آمیلاز مکمل‌سازی کردند و نشان دادند که استفاده از چند آنزیم می‌تواند پارامترهای رشد را با کاهش تأثیر منفی سویا در جیره افزایش دهد. بسته به مواد تشکیل‌دهنده جیره مورد استفاده، بهبود قابل توجهی در رشد، کارایی استفاده از خوراک و در دسترس بودن مواد مغذی گزارش شده است (۲۶). Yildirim و Turan (۲۷) نشان دادند که آنزیم اگزوژن Farmazyme (حاوی زایلاناز قارچی، بتا–گلوکوناز، پنتوسوناز، بتا–آمیلاز، بتا–گلوکناز قارچی، همی سلولاز، سلولز و پکتیناز) در گربه ماهی آفریقایی به طور قابل توجهی عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد. Boonyaratpalin و همکاران (۲۸) گزارش کردند که ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus* L) تغذیه شده با رژیم غذایی با پودر هسته خرما نسبت به ماهیانی که با پودر هسته خرما تیمار نشدند، تغذیه شده بودند، به طور قابل توجهی افزایش وزن و استفاده از پروتئین خالص را نشان دادند. Farhangi و Carter (۲۹) نشان دادند که استفاده از ۳۷/۹ درصد کنجاله سویا به همراه چند آنزیم حاوی کربوهیدراناز و پروتئاز باعث افزایش وزن و کاهش FCR ماهی قزل آلا اقیانوس اطلس در مقایسه با رژیم غذایی حاوی پودر ماهی شد. افزودن فیتاز در جیره گیاهی می‌تواند باعث افزایش وزن در ماهی قزل آلای رنگین کمان می شود (۳۰). Karimi و همکاران (۳۰) اثرات کاهشی را در غلظت ۰/۰۵ درصد مخلوط چند آنزیمی با کنجاله کانولا بر FCR مشاهده کردند ولی بهبود SGR در ماهی قزل آلای رنگین کمان مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عملکرد بهینه رشد و بازده خوراک در جیره حاوی کمپلکس آنزیم کمبو در سطوح بالای پودر ماهی همراه با ۱/۵ الی ۲ گرم مکمل آنزیم کمبو بدست آمد. این نتیجه با مطالعات قبلی بر روی گربه ماهی کانالی (۳۱)، *P. pangasius* (۳۲)، *C. batra-chus* × *C. gariepinus* (۳۳) *O. niloticus* × *O. aureus* (۳۴) و قزل آلای رنگین کمان (۲۹) مطابقت دارد که استفاده از آنزیم‌های خارجی در جیره را مؤثر در رشد و خوراک نشان دادند. آنزیم‌های غذایی را می‌توان برای تکمیل تولید آنزیم خود ماهی از جمله آمیلازها برای بهبود قابلیت هضم نشاسته، پروتئازها برای بهبود قابلیت هضم پروتئین و لیپازها برای بهبود قابلیت هضم چربی استفاده کرد (۳۴، ۳۵). Abo-State و همکاران (۳۶) پیشنهاد کرد که افزودن فیتاز (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در جیره‌های مبتنی بر DDGS می‌تواند به طور قابل‌توجهی پارامترهای رشد و استفاده از خوراک را در بچه‌های تیلاپیا نیل (*O. niloticus*) بهبود بخشد. تحقیقات اخیر با جوجه‌های گوشتی و ماهی نشان می‌دهد که نه تنها انواع آنزیم‌ها مهم هستند، بلکه تمرکز آن‌ها (نسبت به وزن بدن) و جهت (مثبت یا منفی) پاسخ حیوان به مکمل‌ها نیز مهم است (۳۴، ۳۷). در مطالعه حاضر ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین با افزایش مقدار آنزیم افزایش معنی داری را نشان داد بطوریکه در مطالعه پناهی صاحبی و همکاران (۳۸) مکمل آنزیمی ناتوزایم پلاس مورد استفاده در جیره بچه فیل ماهیان پرورشی سبب بهبود این عوامل شد و همسو با مطالعه حاضر بود. Ghobadi و همکاران (۷) افزایش میزان آرد سویا تا ۳۹ درصد در جیره قزل آلا و افزودن ۱۰۰۰ میلیگرم در گرم جیره مکمل آنزیمی آویزایم بدون تأثیر منفی در رشد و بازماندگی را گزارش دادند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

در مطالعه حاضر، مکمل غذایی آنزیم کمبو (تا سطح ۱/۵ گرم در کیلوگرم همراه با ۲۲/۵ درصد کنجاله سویا) به طور قابل توجهی محتوای پروتئین لاشه ماهی قزل آلای رنگین کمان را افزایش داد. بر این اساس، ماهی کپور معمولی تغذیه شده با رژیم غذایی Immunogen® دارای سطح بالاتری از پروتئین لاشه بودند (۳۹). از سوی دیگر، Yilmaz و همکاران (۴۰) و Genc و همکاران (۴۱) گزارش دادند که مکمل غذایی با MOS مقدار پروتئین بدن را به ترتیب در ماهی قزل آلای رنگین کمان و تیلاپیا هیبریدی (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) افزایش داد. با این حال، در مطالعه حاضر، مکمل آنزیمی کمبو تغییرات معنی داری را در مقدار کربوهیدرات لاشه ماهی قزل آلا نشان نداد. همچنین مکمل غذایی Immunogen® برخلاف آنچه توسط Ebrahimi و همکاران (۴۲) یافت شد، تأثیری بر میزان چربی و ماده خشک لاشه در ماهی کپور معمولی نداشت (۳۹). همچنین افزایش سطح مکمل آنزیمی ناتوزایم پلاس در جیره بچه فیل ماهیان تا ۲ درصد، سبب افزایش میزان پروتئین لاشه و کاهش چربی لاشه شد (۳۸). عابدی و همکاران (۴۳) گزارش دادند که استفاده از فیتاز تجاری به مقدار ۲۰۰۰ میلیگرم در لیتر همراه با ۲۰ درصد آرد سویا در جیره ماهی قزل آلای رنگین کمان سبب افزایش میزان پروتئین و چربی لاشه شد. افزایش سطح پروتئین لاشه ممکن است به سطح بالاتر فعالیت آنزیم گوارشی و اثر مفید آن بر هضم و جذب مواد پروتئینی در روده نسبت داده شود (۴۴). به طور کلی، تغییرات در اجزای بدن مانند محتوای پروتئین و چربی می‌تواند با تغییرات در ساخت آن‌ها، میزان ذخیره‌سازی در ماهیچه‌ها و/یا نرخ رشد متفاوت مرتبط باشد (۴۵).

ایمنی ارتباط تنگاتنگی با ساختار و عملکرد طبیعی اندام‌ها دارد که اغلب با وضعیت آنتی اکسیدانی آن‌ها مرتبط است (۴۶، ۴۷). اندام‌های ایمنی ماهی حاوی سلول‌های ایمنی مختلفی هستند (۴۸). جیره‌های حاوی آنزیم‌های خارجی (مولتی آنزیم‌ها) نه تنها تأمین مواد مغذی ضروری را انجام می‌دهند، بلکه یکی از راه کارهای کاربردی برای حفظ سلامت آبزیان و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشند (۴۹). مکمل‌های غذایی در افزایش میزان سیستم ایمنی نقش دارند و در مقاومت به استرس‌ها و عوامل بیماری‌زا مفید هستند (۵۰). لیزوزیم به عنوان یکی از اجزای اصلی در سیستم دفاعی ایمنی بی مهرگان و مهره‌داران، در دفاع علیه میکروارگانیسم‌های مهاجم شرکت می‌کند و میزان آنزیم نیز در سرم خون به شدت افزایش پیدا می‌کند (۵۱). در مطالعه حاضر مقدار آنزیم لیزوزیم با افزایش مقدار آنزیم کمبو افزایش معنی داری را نشان داد و در مقادیر ۱/۵ و ۲ گرم در کیلوگرم آنزیم کمبو، بالاترین مقدار آنزیم لیزوزیم مشاهده شد که با مطالعات Hu و همکاران (۵۱) و بازرگان پور و همکاران (۱۳) مطابقت دارد. افزودن پروبیوتیک در مطالعه McIntosh و Austin (۵۲) به جیره ماهی قزل آلا به مدت ۲ هفته سبب افزایش آنزیم لیزوزیم در بچه ماهیان قزل آلا شد. مهمترین Ig در ماهیان، IgM می‌باشد که قادر است ایمنی اختصاصی را در برابر آنتی ژن‌های خاص ایجاد کند (۵۳). آنزیم کمبو در بچه ماهیان سفید (۱۳) و بچه ماهیان استرلیاد (۵۴) سبب افزایش قابل توجه سیستم ایمنی شده و مقادیر ایمنوگلوبین (IgM) و لیزوزیم و کمپلمان را در سرم خون به طور قابل توجهی افزایش داد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

سطوح مختلف جایگزینی پروتئین سویا با پودر ماهی همراه با درصدهای مختلف مکمل آنزیم کمبو در مطالعه حاضر منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیائی (ALP)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) گردید، به طوریکه با افزایش مقدار سویا در جیره فاکتورهای یاد شده

کاهش معنی‌داری را نشان دادند که می‌تواند به دلیل تأثیر مطلوب سطوح بالای سویا در جیره بر عملکرد فعالیت کبد باشد چراکه فعالیت شاخص‌های کبدی جزء آنزیم‌های مهم در بررسی وضعیت سلامت ماهیان می‌باشند (۵۵). در مطالعه Ye و همکاران (۵۶) اثرات مختلف آرد سویا در جیره غذایی کفشک ماهی ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) بررسی نمودند و دریافتند که میزان آنزیم‌های ALT و AST تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند و با مطالعه حاضر مغایرت داشت در حالیکه در مطالعه حسینی فرد و همکاران (۵۷) این آنزیم‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان دادند و همسو با مطالعه حاضر بود. آنزیم‌های سرمی تحت تأثیر فاکتورهای فیزیولوژیک و محیطی قرار دارند. به عنوان مثال، سن ماهی، دمای آب، جیره‌های غذایی متفاوت و شوری آب در میزان آنزیم‌های سرمی و فعالیت آن‌ها مؤثر هستند (۵۸).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عملکرد بهینه رشد و بازده خوراک در جیره حاوی کمپلکس آنزیم کمبو در سطوح بالای پودر ماهی همراه با ۲ گرم مکمل آنزیم کمبو (تیمارS22.5E2) بدست آمد. بالاترین مقدار آنزیم لیزوزیم در مقادیر ۱/۵ و ۲ گرم در کیلوگرم آنزیم کمبو مشاهده شد. درصدهای مختلف مکمل آنزیم کمبو منجر به ایجاد تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیائی (ALP)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) گردید. بنابراین استفاده از مولتی‌آنزیم کمبوبه میزان ۲ گرم جهت افزایش درصد جایگزینی سویا در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود.

منابع

1- FAO. (2023). The state of world aquaculture. Updated 2023. Available from: www.fao.org.

2- Palmegiano, G.B., Daprà, F., Forneris, G., Gai, F., Gasco., L., Guo, K., eiretti, P.G., Sicuro, B., Zoccarato, I. (2006). Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*, 258, 357-367.

3- Sampath, W.W.H.A., Rathnayake, R.M.D.S., & Yang, M. (2020). Roles of dietary taurine in fish nutrition. *Marine Life Science Technology*, 2, 360–375.

4- Hardy, R.W., & Tacon, A.G.J. (2002). Fish meal–historical uses, production trends and future outlook for sustainable supplies. Pages 311-325 in Stickney R.R., and J.P.McVey, eds. Sustainable Aquaculture. CABI Publishing Co, Oxford, United Kingdom.

5- Esfandiari, M. (2011). Effects of phytase and alternative sources of vegetable protein (Pvdrsvya and corn gluten) instead of fish meal on growth, survival, carcass quality and blood biochemical parameters Kutum (*Rutilus frisii kutum*). M.Sc. Thesis. Gorgan University Of Agricultural Sciences & Natural Resources.12 13.

6- Mabahinzireki, G.B., Dabrowski, K., Lee, K.-J., El-Saidy, D., & Wisner, E.R. (2001). Growth, fed utilization and body composition of tilapia (Oreochromis) fed with cottonseed meal-based diets in a recirculating system, *Aquaculture Nutrition*, 7, 189–200.

7- Ghobadi, S.h.., Matinfar, A., Nezami, Sh.A., & Soltani, M. (2009). Influence of supplementary enzymes Avizyme on fish meal replacement by soy bean meal and its effects on growth performance and survival rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 3(2): 11-22. (In Persian).

8- Schaible, P.J. (1970). Anatomy and physiology. Pages: 71-90. In:Poultry: Feeds and Nutrition. P. J. Schaible, ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut. Science 13, 317-348.

9- Ritz, C.W., Hulet, R.M. Self, B.B., & Denbow, D.M. (1995). Growth and intestinal morphology of male turkeys as influenced by dietary supplementation of amylase and xylanase, *Poultury Sciences*, 74, 1329-1334.

10- Ravindran, V., & Son, J.H. (2011). Feed enzyme technology: present status and future developments, *Recent patents on food, nutrition and agriculture*, 3(2), 102-109.

11- Santos, J., Ferket, P.R., Grime, J.L., & Edens, F.W. (2004). Dietary supplementation of endoxylanase and phospholipase for turkeys fed wheat-based rations, *International Journal of Poultery*, 3, 20-32.

12- Nobakht, A., Mahini, F., & Khodaei, S. (2012). The Effects of Using Three Commercial Enzyme on Performance and Carcass Traits of Broiler Chickens Fed Wheat - Barley- Soy Based Diets, *Iranian Journal of Animal Science Research*, 4(1), 32-38 (In Persia).

13- Bazarganpour, K., Rahimi Bashar, M.R., & Zamini, A.A. (2017). Effect of different levels of multi-enzyme combo on blood parameters and immunity factors in fingerlings of Kutum (*Rutilus kutum*), *Marine biology*, 9 (3), 13-22 (In Persia).

14- Mortazavi Tabrizi, S.J., Nejati, M., Notash, S.H., & Mirzaii, H. (2012). Study of effect several levels of multi-enzyme on performance parameters and survival rate in rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*), *Veterinary Clinical Pathology*, 5(1), 1103-1110.

15- Bedford, M.R., & Classen, H.L. (1992). Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency of broiler chicks, *The Journal of nutrition*, 122(3), 560-569.

16- Safari, O. (2008). Study of effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Research and Constructiveness*, 79, 27-35. (In Persian).

17- Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. (1999). Proteins. In: Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., Editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B Saunders Company, 477-540.

18- Siwicki, A.K., & Anderson, D.P. (1993). Nonspecific defense mechanisms assay in fish:II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum, *Fish DiseaseDiagnosis and Prevention Methods Olsztyn*, 1993,105-12.

19- Brata, O. (1993). Veterinary Clinical Immunology laboratory, *Bar- Lab Inc*, 2(3), 24-25.

20- Ellis, A., Stolen, J., Fletcher, T., Anderson, D., Robertson, B., & Van Muiswinkel, W. (1990). Lysozyme assay in technigues in fish immunology, Technigue in fish Immunology.

21- Shahsavani, D., Mohri, M., & Kanani, H.G. (2010). Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. *Fish physiology and biochemistry*, 36, 39-43.

22- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1995). Official methods of analysis of the Association Official Analytical Chemists. 16th edition. AOAC, Inc., Arlington, Virginia, USA.

23- Shafaeipour, A., Yavari, V., Falahatkar, B., Maremmazi, J.GH., & Gorjipour, E. (2008). Effects of canola meal on physiological and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Nutrition*, 14, 110-119.

24- Taghizadeh, V., Imanpoor, M., Asadi, R., Chamanara, V., & Sharbati, S. (2011). Effects of plant proteins as food on growth performance, carcass quality and plasma biochemical parameters of Beluga juvenile (*Huso huso*), *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19(4), 33-42 (In Persia)

25- Zamini, A., Kanani, H.G., Azam Esmaeili, A., Ramezani, S., & Zoriezahra, S. J. (2014). Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and beta-mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*), *Comparative Clinical Pathology*, 23(1), 187-192.

26- Chen, G.F., Feng, L., Kuang, S.Y., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Jiang, W.D., Daşkıran, M., & Teeter, R.G. (2001). Effects of dietary L-carnitine (carniking®) supplementation on overall performance and carcass char-acteristics of seven-week-old broiler chickens, *Animal Science Research Report*. http://www.ansi.okstate.edu/research/2001rr/ 35/35.htm

28- Boonyaratpalin, M., Promkunthong, W., & Hunter, B. (2000). Effects of enzyme pre-treatment on in vitro glucose solubility of Asian plant by-products and growth and digestibility of oil palm expeller meal by *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia), *Proceedings of the Third European Symposium on Feed Enzymes*, 86–92.

29- Farhangi, M., & Carter, C.G. (2007). Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient di-gestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), *Aquaculture Research*, 38,1274–1282

30- Karimi, K., Beigi Nassiri, M.T., Mirzadeh, K., Ashayerizadeh, A., Rodehutscord, M., & Pfeffer, E. (1995). Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Water Science & Technology*, 31, 143–147.

31- Jackson, L.S., Li, M.H., & Robinson, E.H. (1996) Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus, *Journal of the World Aquaculture Society*, 27, 309–313.

32- Debnath, D., Pal, A.K., Sahu, N.P., Jain, K.K., Yengkokpam, S., & Mukherjee, S.C. (2005). Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings, *Aquaculture Research*, 36,180–187.

33- Giri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, A.K., & Meher, P.K. (2003). Effect of dietary protein level on growth, survival, feed utilisation and body com-position of hybrid Clarias catfish (*Clarias batrachus* × *Clarias gariepinus*), *Animal Feed Sciences Technology*, 104, 169–178.

34- Lin, S., Mai, K., & Tan, B. (2007). Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, *Aquaculture Research*, 38, 1645–1653.

35- Zhou, Y,, Jiang, L.V.D., & Wang, T. (2009). Improved energy-utilizing effi-ciency by enzyme preparation supplement in broiler diets with different metabolizable energy levels, *Poultry Science*, 88, 316–322.

36- Abo-State, H.A., Tahoun, A.M., & Hamouda, Y.A. (2009). Effect of adding commercial phytase to DDGS based diets on the performance and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings, *American-Eurasian Journal Agriculture & Environmental Science*, 5(4), 550–555.

37- Bedford, M.R., & Inborr, J. (1993). Effect of increasing the dietary concen-trations of two xylanases on the performance and intestinal vis-cosity of broiler chickens fed diets based on wheat and triticale, *Proceedings of the 9th European Symposium on Poultry Nutrition*, 5–9, 485–489.

38- Panahi Sahebi, H., Esmaeili Fereidouni, A., Oraji, H., & Keramat Amirkolaei, A. (2018). Influence of supplementary Natuzyme plus enzyme in the diet on growth performance, body biochemical composition and survival rate of beluga (*Huso huso*) juveniles, *Journal of Applied Ichthological Research*, 6(4), 85-96 (In Persia).

39- Khodadadi, M., Abbasi, N., Adorian, T.J., Ghafari Farsani, H., Hedayati, A., & Hoseini, S.M. (2018). Growth performance, survival, body composition, hematological parameters, intestinal histomorphology and digestive enzymes' activity of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed dietary Immunogen®, *Journal of Applied Aquaculture*, 30(2), 174-186.

40- Yilmaz, E., Genc, M.A., & Genc, E. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, and intestine and liver histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 59, 182e188.

41- Genc, M.A., Yilmaz, E., Genc, E., & Aktas, M. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharides (MOS) on growth, body composition, and intestine and liver histology of the hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus*× *O. aureus*), *Israel journal of aquaculture*, 59, 10-16.

42- Ebrahimi, G., Ouraji, H., Khalesi, M., Sudagar, M., Barari, A., Zarei Dangesaraki, M., Jani Khalili, K. (2012). Effects of a prebiotic, Immunogen®, on feed utilization, body composition, immunity and resistance to Aeromonas hydrophila infection in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus) fingerlings, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, 591-599.

43- Abedi, S.Z., Yeganeh, S., Moradian, F., & Oraji, H. (2019). Effect of commercial phytase (SMIZYME PHYTASE) in diets containing different levels of soybean meal on growth and carcass compositions of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *JAIR*, 7 (1), 85-100.

44- Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D., & Sun, Y.Z. (2011). Single or combined effects of fructo-and mannan oligosaccharide supplements and Bacillus clausii on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *Aquaculture Nutrition* 17, 902-911.

45- Abdel-Tawwab, M., Khattab, Y.A.E., Ahmad, M.H., & Shalaby, A.M.E. (2006). Compensatory growth, feed utilization, whole-body composition, and hematological changes in starved juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), *Journal of Applied Aquaculture*, 18, 17–36.

46- Tort, L., Balasch, J.C., & Mackenzie, S. (2003). Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses, *Inmunologia*, 22, 277–286

47- Kuang, S.Y., Xiao, W.W., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W.D., Hu, K., Li, S.H., Tang, L., & Zhou, X.Q. (2012). Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), *Fish Shellfish Immunology*, 32, 629–636.

48- Rauta, P.R., Nayak, B., & Das, S. (2012). Immune system and immune responses in fish and their role in comparative immunity study: a model for higher organisms, *Immunological Letters*, 148, 23–33.

49- Gatlin, D.M. (2002). Nutrition and fish health. In: Fish Nutrition, 3rd edn (ed. By J.E. Halver & R.W. Hardy), pp. 671–702. Academic Press, San Diego, CA.

50- Tukmechi, A., Morshedi, A., & Delirezh, N. (2007). Changes in intestinal microflora and humoral immune response following probiotic administration in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Journal of Animal Veterinary Advance*, 6(10), 1183–1189.

51- Hu, K., Zhang, J.X., Feng, L., Jiang, W.D., Wu, P., Liu, Y., & Zhou, X.Q. (2015). Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), *Fish physiology and biochemistry*, 41(3), 635-649.

52- McIntosh, D., Samocha, T.M., Jones, E.R., Lawrence, A.L., McKee, D.A., Horowitz, S., & Horowitz, A. (2000). The effect of a commercial bacterial supplement on the high-density culturing of *Litopenaeus vannamei* with a low-protein diet in an outdoor tank system and no water exchange, *Aquaculture Enginering*, 21, 215–227.

53- Kazemi, R., Pourdehghan, M., Yousefi Jourdehi, A., Yar Mohammadi, M., & Nasri Tajan, M. (2009). Physiology of aquatic circulatory system and applied techniques of fish hematology, *Bazargan Publications*, 194 pp.

54- Otofat Shamsi, P., Rahimibashar, M.R., & Tehranifard, A. (2021). Effects of different levels of combo multi-enzyme on growth performance, blood factors and immunity of juvenile Sterlet (*Acipenser ruthenus*), *Journal of Aquaculture Developments*, 15(1), 31-41 (In Persia).

55- Racicot, J.G., Gaudet, M. & leray, C. (1975). Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl4 toxicity and a case of Aeromonas infection, *Journal of Fish Biology*, 7, 825-835.

56- Ye, J., Liu, X., Wang, Z. & Wang, K. (2011). Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *Aquaculture International*, 19, 143-153.

57- Hosseinifard, S.M., Qobadi, S., Khodabakhsh, A., & Razaghi Mansour, M. (2012). The effect of diets containing different levels of soy flour along with avizyme enzyme supplement on hematological and biochemical indices of blood serum of rainbow trout, *Iranian Veterinary Journal*, 9(3), 43-53 (In Persia).

58- Mirzargar, S.S., Amoli, J.S., Bahonar, A., & Ebrahimzadeh Mousavi, H. (2007). Study of blood parameters and serum biochemistry of common carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to low concentration of cadmium, *Journal of Veterinary Research*, 65(1), 335-337 (In Persia).

The effect of different levels of Combo enzyme on growth, immunity and liver enzymes and chemical compositions of *Oncorhynchus mykiss*.

Abstract

Introduction: Replacing fish meal with vegetable proteins has problems such as the quality and amount of protein in vegetable sources and is inferior to fish meal, but vegetable proteins are preferred over fish meal due to their low price and easy preparation, and their reasonable price allows grain processing. To increase the nutritional value of fish. Commercial enzymes are specifically a combination of several different enzymes that are effective on different types of food components. The purpose of this research is to investigate the different percentages of combo enzyme in diets containing different amounts of soy and its effects on the growth, immune and antioxidant factors of blood and the chemical composition of salmon fry carcass.

Materials and Methods: Fish with an approximate initial weight of 12.87 ± 0.51 grams were prepared and adapted to the test conditions for 2 weeks. This experiment, which included 8 treatments and 3 repetitions, and for each repetition, 16 pieces of fish were distributed in each tank. From 8 experimental diets including treatment one: replacement of 22.5 (percent) + zero (g) (S22.5) enzyme; Treatment two: replacement of 22.5 + 1 gram of enzyme (S22.5E1); Treatment 3: replacing 22.5 + 1.5 grams of enzyme (S22.5E1.5); Treatment four: replacement of 5.22 + 2 grams of enzyme (S22.5E2); Treatment five: replacement of 45 + zero enzyme (S45); Sixth treatment: replacement of 45 + 1 gram of enzyme (S45E1); Seventh treatment: replacement of 45 + 1.5 grams of enzyme (S45E1.5) and eight treatment: replacement of 45 + 2 grams of enzyme (S45E2) were used. Carcass chemical composition, liver enzymes and blood serum immune factors of rainbow trout were measured.

Result: The parameters of final weight, final length, body weight gain, body length increase, body weight gain percentage and daily weight gain in treatment four showed the highest value compared to other treatments significantly ($P < 0.05$). The amount of carcass protein in S22.5E2 treatment and S45E1.5 treatment showed the highest amount compared to other treatments ($P < 0.05$). The highest amount of complement activity in S22.5E2 treatment (with 155.61 mg/dl) and the highest amount of lysozyme enzyme in three treatments and S22.5E2 treatment (30.94 and 32.26 mg/ml, respectively) as Significance was observed ($P < 0.05$). The highest activity of ALT enzyme was observed in treatment three, ALP enzyme in treatment S22.5E2, LDH enzyme in treatment one ($P < 0.05$).

Conclusion: The results of the present study showed that optimal growth performance and feed efficiency were obtained in the diet containing Combo enzyme complex at high levels of fish meal with 2 grams of Combo enzyme supplement (Treatment S22.52E). The highest amount of lysozyme enzyme was observed in amounts of 1.5 and 2 g/kg of Combo enzyme. Different percentages of combo enzyme supplements led to significant differences in the activity of serum alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) enzymes. Therefore, it is suggested to use 2 grams of Combo multi-enzyme to increase the percentage of soybean replacement in the diet of rainbow trout.

Key words: Enzyme, Immune indices, Carcass composition, Liver enzymes, *Oncorhynchus mykiss*