تاثیر سطوح پروتئین جیره بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهی (*Huso huso*)

المیرا سلحشوری[۱]، بهرام فلاحتکار*[۱و۲]، ایرج عفت‌پناه[۳]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، صندوق پستی: ۱۱۴۴

۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان، صندوق پستی: ۴۱۹۹۶

۳- مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسفپور، سیاهکل، گیلان

تاریخ دریافت: ۱۲ شهریور ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۲۹ دی ۱۳۹۵

چکیده

در یک آزمایش تغذیه‌ای تاثیر جیره غذایی با سه سطح پروتئین (۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد) به منظور تعیین تاثیر پروتئین مطلوب، کمتر و یا بیشتر از حد نیاز در جیره بر رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) بررسی شد. ۱۳۵ عدد ماهی با میانگین (± انحراف معیار) وزن اولیه ۱/۶۸±۱۳۱/۷۱ گرم به‌طور تصادفی در ۹ تانک بتنی مدور با ظرفیت ۸۰۰ لیتر توزیع و چهار بار در روز براساس اشتها به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. نتایج بدست آمده نشان داد شاخص‌های رشد مانند میانگین وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین نسبت به تیمار تغذیه شده با جیره حاوی پروتئین ۴۰ درصد دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<0/05$) اما با تیمار حاوی ۳۰ درصد پروتئین اختلافی مشاهده نشد ($P>0/05$). همچنین با افزایش پروتئین جیره تا ۴۰ درصد وزن ماهیان افزایش یافت و سپس به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. درصد افزایش وزن بدن با افزایش پروتئین جیره به ۴۰ درصد کاهش یافت. نتایج مربوط به آنالیزهای خونی نشان داد تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین دارای تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های گلبول سفید و نوتروفیل و لنفوسیت می‌باشد ($P<0/05$). نتایج این مطالعه حاکی از آن است که سطوح مختلف پروتئین جیره بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهی اثرگذار می‌باشد و سطح پروتئین ۳۵ درصد در جیره بچه فیل ماهیان اثرات مطلوبی در فاکتورهای خونی و رشد آن‌ها دارد.

کلمات کلیدی: پروتئین، رشد، هماتولوژی، ماهی خاویاری.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ماهیان خاویاری دارای قدمت زیادی می‌باشند که از دوران کرتاسه با پراکندگی گسترده در نیمکره شمالی زیست می‌کنند. این ماهیان به علت اهمیت بقا و حفظ نسل و جنبه اقتصادی تولید خاویار بسیار حائز اهمیت می‌باشند. از سال ۱۹۹۷ به دلیل صید بی رویه، کاهش زیستگاه و وجود بسترهای آلوده تخم‌ریزی، نام این ماهیان در فهرست کنوانسیون بین‌المللی نظارت بر تجارت گونه‌های در معرض خطر قرار گرفته‌اند. در میان ۵ گونه ماهی خاویاری موجود در منطقه خزر جنوبی، فیل ماهی به‌دلیل رشد نسبتاً سریع، امکان تولید مثل در شرایط اسارت، تامین لارو و بچه ماهی با هزینه کمتر در مقایسه با سایر گونه‌های ماهیان خاویاری کاندید مناسبی برای پرورش گوشتی به شمار می‌رود (Mohseni *et al*., 2013) و به‌عنوان گونه اصلی پرورش در نظر گرفته شده است. این ماهی به‌دلیل داشتن رژیم غذایی گوشتخواری به درصد بالایی پروتئین در جیره غذایی نیازمند می‌باشد (Nikzad Hassankiadeh *et al.*, 2013; Mohseni *et al*., 2007). غذا از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده در افزایش موفقیت آبزی‌پروری می‌باشد و بخش عمده‌ای از کل هزینه اجرایی مزارع پرورشی ماهی را دربر می‌گیرد.

استفاده از یک جیره غذایی متعادل و مناسب نقش بسزایی در تامین نیازهای غذایی آبزیان و موفقیت در پرورش آن‌ها دارد. ماهیان برای رشد، تولیدمثل و دیگر عملکردهای فیزیولوژیک خود نیاز به مصرف پروتئین، مواد معدنی، ویتامین و منابع انرژی دارند (Halver, 1989; Webster and Lim, 2002). از این رو نقص در یک یا چند ماده مغذی ضروری موجب کاهش میزان کارایی ماهی، بیماری یا حتی مرگ می‌گردد (Barrows *et al*., 2007).

پروتئین‌ها موادآلی هستند که از کربن، هیدروژن، اکسیژن و نیتروژن تشکیل شده‌اند و آمینواسیدها بخش اصلی و اساسی آن‌ها می‌باشند. پروتئین یکی از مهم‌ترین و گران‌ترین مواد مغذی موجود در جیره می‌باشد که بیشترین نقش در رشد را داشته و کیفیت گوشت تولید شده تا حد زیادی بستگی به پروتئین مصرفی توسط ماهی دارد. بنابراین برای تامین رشد مطلوب باید به اندازه کافی در جیره وجود داشته باشد. افزایش پروتئین جیره باعث بهبود عملکرد رشد شده ولی به همان نسبت موجب افزایش هزینه غذا می‌شود (Ahmad *et al*., 2008). در صورتی که جیره غذایی دارای مقدار کافی چربی و کربوهیدرات باشد، پروتئین اغلب برای رشد و تولید بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد، برعکس اگر منابع انرژی غیر پروتئینی به اندازه کافی در جیره وجود نداشته باشند، پروتئین صرف تامین انرژی می‌گردد که مقرون به صرفه نخواهد بود (Mohseni *et al*., 2013). در صورت مصرف زیاد پروتئین به جای این که آن‌ها صرف رشد و افزایش وزن ماهی گردند، صرف تولید انرژی می‌گردند که به‌علت بالا بودن قیمت منابع پروتئین از جمله پودر ماهی، موجب افزایش هزینه‌های تولید می‌گردند. از طرفی مواد دفعی نظیر آمونیوم افزایش یافته که خود سبب افزایش بار آلودگی محیط و کاهش کیفیت آب می‌گردد. افزایش منابع انرژی غیر پروتئینی جهت تامین نیاز ماهی، سبب کاهش اکسیداسیون آمینواسیدها و متعاقباً افزایش مصرف پروتئین جیره به جهت رشد و کاهش دفع ازت می‌گردد (De Silva *et al*., 1991).

استفاده بیش از حد پروتئین در جیره موجب بالا رفتن میزان آمونیاک در استخرهای پرورشی و در نتیجه، کاهش کیفیت آب و تنش در موجود زنده می‌شود (Abdel-Tawwab *et al*., 2010). میزان کمتر از حد پروتئین در جیره نیز مانع تولید بافت‌های جدید و در نتیجه موجب اختلال در رشد می‌گردد (Lee *et al*., 2001). ماهی در مدت محدودیت تغذیه، مواد مغذی لاشه خود را مصرف می‌کند، اما هنگامی که شرایط مهیا باشد در زمان تغذیه مجدد پدیده رشد جبرانی صورت می‌گیرد و نرخ رشد افزایش می‌یابد (Navarro and Gutiérrez, 1995).

امروزه پرورش‌دهندگان میزان غذادهی را به جهت بهبود کیفیت آب، کاهش اثرات دستکاری ماهیان، کاهش اثرات منفی شیوع بیماری و یا ناتوانی خود ماهی جهت تغذیه در شرایط آب و هوایی نامتعادل محدود می‌کنند (Davis and Gaylord, 2011) آگاهی از شرایط فیزیولوژیک و زیستی ماهیان و تعیین قدرت سازگاری آن‌ها با شرایط پرورشی و استراتژی های مختلف غذادهی می‌تواند به موفقیت آبزی پروری کمک شایانی کند. تعیین میزان پروتئین مورد نیاز برای ماهی در طول دوره به منظور بدست آوردن بهترین بازده غذایی، صرفه جویی در هزینه‌ها و کاهش ورود نیتروژن به داخل اکوسیستم‌های آبی از فاکتورهای اساسی مدیریت آبزی‌پروری می‌باشد (Abdel-Tawwab *et al*., 2009)، بنابراین احتیاجات پروتئینی اولین گام موثر در جهت تولید جیره غذایی کم هزینه همراه با کارایی بالا در رشد ماهیان محسوب می‌شود (Coutinho *et al*., 2012) چراکه کمبود یا اضافه بودن مقدار پروتئین غذا سبب کاهش رشد و یا آلودگی منابع آبی خواهد شد. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر جیره های حاوی سطوح مختلف پروتئین در تغذیه بچه فیل ماهیان با هدف مدیریت در غذادهی، افزایش رشد، بهبود کیفیت آب و کاهش هزینه‌های مربوط به غذا بر شاخص‌های خونی و عملکرد رشد آن‌ها طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

تحقیق حاضر در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی دکتر یوسفپور سیاهکل در ماه‌های مهر الی آذر به مدت ۸ هفته انجام گرفت. سیستم پرورشی شامل ۹ تانک بتونی با ظرفیت ۸۰۰ لیتر آب و گذر یکبار آب بود. آب مورد نیاز حوضچه‌ها به‌وسیله لوله‌های افقی با نرخ دبی ۵/۶۴±۰/۲۵ لیتر در دقیقه از رودخانه خرارود تامین و وارد مخزن می‌شد. رژیم نوری طبیعی در طول دوره پرورش اعمال شد. در طول دوره خصوصیات کیفی آب به صورت روزانه توسط دستگاه دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت گردید. در طول دوره دمای آب ۱۸/۲۰±۰/۲۸ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۸/۲۱±۰/۰۷ و میزان اکسیژن محلول ۷/۵۱±۰/۰۸ میلی‌گرم در لیتر در نوسان بود. پس از آماده سازی مخازن، ۱۳۵ عدد بچه فیل ماهی از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شادروان دکتر یوسف‌پور سیاهکل تهیه شد و با تراکم ۱۵ عدد بچه فیل ماهی در مخازن ذخیره سازی شدند. قبل از شروع آزمایش به‌منظور سازگاری با شرایط پرورش، ۱۴ روز دوره سازش پذیری برای ماهیان در نظر گرفته شد. در طول این مدت بچه ماهیان با جیره‌ی فرموله شده (حاوی ۴۰ درصد پروتئین و ۱۵ درصد چربی) براساس اشتها تغذیه شدند.

جیره آزمایشی و طراحی آزمایش

پس از تهیه اقلام جیره و آنالیز تقریبی ترکیب شیمیایی اجزای موجود در جیره، ساخت جیره‌های آزمایشی در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی واقع در استان گیلان انجام پذیرفت. به جهت ساخت جیره همگن ابتدا اقلام خشک پس از آسیاب شدن و عبور از الک ۵۰۰ میکرونی با یکدیگر ترکیب شده، سپس هریک از مواد اولیه پس از توزین با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم براساس فرمول محاسبه شده مربوط به هر جیره آزمایشی کاملاً مخلوط شدند (جدول ۱).

جدول ۱: ترکیب جیره‌های مختلف به کار برده شده برای تعیین تاثیر سطوح پروتئین جیره بچه فیل ماهی (*Huso huso*) در دوره ۵۶ روزه پرورش

اجزای غذایی	سطوح پروتئین (٪)		
	۳۰	۳۵	۴۰
آرد ماهی	۲۴/۰۰	۳۱/۰۰	۳۷/۰۰
آرد سویا	۱۸/۱۴	۱۵/۸۴	۱۵/۵۸
آرد گندم	۱۶/۰۰	۱۶/۰۰	۶/۰۶
سبوس گندم	۲۲/۰۰	۱۸/۰۰	۲۲/۰۰
روغن ماهی	۴/۱۸	۳/۸۳	۴/۱۸
روغن ذرت	۴/۱۸	۳/۸۳	۴/۱۸
ملاس چغندر قند	۵/۰۰	۵/۰۰	۵/۰۰
مکمل ویتامینی[۱]	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
مکمل معدنی[۲]	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰
مخمر	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۰۰
متیونین	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
لایزین	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
نمک	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
دی کلسیم فسفات[۳]	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰

[۱] شرکت لابراتورهای سیانس (قزوین، ایران). هر کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی ۱۶۰۰۰۰IU ویتامین A، IU ۴۰۰۰۰۰ ویتامین D_3، ۴۰۰۰۰ میلی گرم ویتامین E، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۶۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۸۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_5 ، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۲۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۸ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۲۴۰ میلی‌گرم ویتامین H_2، ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم Inositol و ۲۰۰ میلی‌گرم BHT می‌باشد.

[۲] شرکت لابراتورهای سیانس (قزوین، ایران). هر کیلوگرم مکمل معدنی حاوی ۶۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۰۰۰۰ میلی گرم روی، ۲۰ میلی‌گرم سلنیم، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۶۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۵۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۶۰۰ میلی‌گرم ید و ۶۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید می باشد.

[۳] شرکت جهان فسفات (رودسر، ایران).

مخلوط همگن تهیه شده پس از عبور از چرخ گوشت مخصوص ساخت غذای آبزیان (صبا تجهیز، تهران، ایران) بر روی توری‌های مخصوص قرار گرفته و به مدت ۱۲ ساعت درون خشک کن با دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از خشک و سرد شدن جیره‌ها به کیسه‌های نایلونی مخصوص منقل شده و درب آن‌ها بسته شده و درون فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در هنگام غذادهی جیره‌ها به قطعاتی متناسب با دهان آبزی شکسته و در اختیار بچه ماهی‌ها قرار گرفت. پس از ساخت جیره‌های آزمایشی، جیره‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. به جهت آنالیز جیره‌های ساخته شده، ابتدا آن‌ها با هاون کاملاً پودر شده و با مخلوط‌کن برقی به صورت همگن شدند و با استفاده از روش‌های مندرج در AOAC (۱۹۹۶) آنالیز شیمیایی جیره‌های آزمایشی در سه تکرار صورت گرفت که نتایج این آنالیزها در جدول ۲ نشان داده شده است. به منظور تعیین رطوبت از آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت، برای تعیین خاکستر از کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت، جهت تعیین میزان چربی خام پس از استخراج بوسیله اتر با استفاده از روش سوکسله و میزان پروتئین خام با استفاده از محاسبه نیتروژن (N×۶/۲۵) با روش کلدال استفاده شد.

جدول ۲: ترکیب شیمیایی جیره‌های مختلف به‌کار برده شده برای تاثیر سطوح پروتئین جیره بچه فیل ماهی (*Huso huso*) در دوره ۵۶ روزه پرورش (براساس وزن تر، n=۳)

آنالیز تقریبی (٪)	سطوح پروتئین (٪)		
	۳۰	۳۵	۴۰
پروتئین	۳۰/۵۴±۰/۱۹	۳۵/۸۲ ±۰/۱۴	۴۰/۵۸±۰/۲۰
چربی	۱۵/۱۶±۰/۱۱	۱۶/۶۶ ±۰/۲۲	۱۵/۸۶±۰/۱۲
رطوبت	۱۱/۸۷±۰/۲۳	۱۲/۲۱ ±۰/۱۵	۱۲/۴۵±۰/۱۰
خاکستر	۸/۲۴±۰/۱۱	۹/۱۸ ±۰/۱۵	۸/۴۱±۰/۱۷

نمونه‌برداری و آنالیز نمونه‌ها

در طول دوره آزمایش زیست سنجی هر دو هفته یکبار انجام و داده‌ها ثبت گردید. به جهت اطمینان از خالی شدن دستگاه گوارش ماهی، حدود ۲۴ ساعت قبل از بیومتری غذادهی به طور کامل متوقف گردید. در زمان زیست‌سنجی به منظور جلوگیری از استرس، بچه ماهیان به وسیله پودر گل میخک به میزان ۳۰۰ میلی گرم در لیتر بیهوش شدند. سپس وزن و طول کل ماهیان به صورت انفرادی به ترتیب با دقت ۰/۱ گرم و ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، طول کل، افزایش وزن، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، میانگین رشد روزانه، فاکتور وضعیت، کارایی غذا توسط فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Hung et al., 1997; Misra *et al*., 2004):

وزن اولیه (گرم) – وزن نهایی (گرم) = میزان افزایش وزن (گرم)

وزن اولیه (گرم) / [وزن اولیه (گرم) – وزن نهایی (گرم)] × ۱۰۰ = درصد افزایش وزن بدن

طول دوره پرورش / [لگاریتم وزن اولیه (گرم) – لگاریتم وزن نهایی (گرم)] × ۱۰۰ = نرخ رشد ویژه (درصد درروز)

[دوره پرورش × وزن اولیه (گرم)] / [وزن اولیه (گرم) – وزن نهایی (گرم)] × ۱۰۰ = افزایش وزن روزانه (درصد)

[^{3}(طول ماهی (سانتی متر))/ وزن ماهی (گرم)] × ۱۰۰ = شاخص وضعیت

افزایش وزن کل توده ماهی / مقدار کل غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی

[پروتئین مصرف شده غذا (گرم) / پروتئین ذخیره شده در بدن (گرم)] × ۱۰۰ = نرخ کارایی پروتئین

در پایان دوره آزمایش ۳ عدد (۹ عدد از هر تیمار) از هر تانک به طور کاملاً تصادفی جدا شدند. خونگیری از بچه ماهیان با استفاده از سرنگ هپارینه ۲ میلی‌لیتری از سیاهرگ دمی موجود در قسمت بالایی انتهای باله مخرجی صورت گرفت و حدود ۰/۵ تا ۱ میلی‌لیتر خون هپارینه درون میکروتیوپ ریخته و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور تعیین شاخص های هماتولوژیک نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند. تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار (Barcellos *et al*., 2004) میزان هموگلوبین با روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از کیت مخصوص، درصد هماتوکریت به‌روش سانتریفیوژ میکروهماتوکریت (Skov *et al*., 2011) اندازه‌گیری شدند.

برای محاسبه شاخص‌های گلبول قرمز شامل میانگین حجم گلبول‌های قرمز (Mean Corpuscular Volume)، میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (Mean Corpuscular Hemoglobin)، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)، از فرمول‌های زیر استفاده شد (Skov *et al*., 2011):

۱۰۰ × [تعداد گلبول قرمز (میلیون در mm^3) / مقدار هماتوکریت (درصد)] = (فمتولیتر) MCV

۱۰ × [تعداد گلبول قرمز (میلیون در mm^3) / مقدار هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)] = (پیکوگرم در سلول) MCH

۱۰ × [مقدار هماتوکریت (درصد) / مقدار هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)] = (گرم بر دسی لیتر) MCHC

برای اندازه‌گیری وزن کبد ماهیان، در پایان دوره ۳ قطعه از هر تیمار از هر تانک به طور کاملاً تصادفی جدا شد. ماهیان با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر عصاره گل میخک بیهوش شدند. سپس با کمک اسکالپل شکم ماهی‌ها شکافته و کبد برداشته و توزین شد و شاخص کبدی از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Misra *et al*., 2004):

۱۰۰× [وزن بدن (گرم) / وزن کبد (گرم)] = شاخص کبدی (درصد)

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌ها در نرم افزار Excel ثبت شدند. نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene کنترل شد. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از آنالیز واریانس یک طرفه One-Way ANOVA و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون Duncan در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم افزار SPSS (Version 16, Chicago, USA) صورت گرفت.

نتایج

نتایج مربوط به اثر سطوح پروتئین جیره بر رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهی در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است.

جدول ۳: شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای بچه فیل ماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف پروتئین پس از ۵۶ روز پرورش (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های رشد	پروتئین جیره (درصد)		
	۳۰	۳۵	۴۰
وزن ابتدایی (گرم)	۱۳۱/۸۶±۰/۵	۱۳۱/۶۴±۰/۴۵	۱۳۱/۴۲±۰/۴۰
وزن نهایی (گرم)	۳۱۶/۶۰±۷/۷۹^{ab}	۳۲۲/۲۸±۷/۸۶^{a}	۲۸۶/۷۷±۲۵/۱۱^{b}
طول ابتدایی (سانتی‌متر)	۳۵/۶۹±۰/۵۰	۳۵/۸۸±۰/۱۸	۳۶/۱۹±۰/۱۱
طول نهایی (سانتی‌متر)	۴۱/۵۶±۰/۸۵	۴۱/۹۸±۲/۸۹	۴۰/۶۲±۰/۶۳
افزایش وزن (گرم)	۱۸۴/۷۴±۷/۶۱^{ab}	۱۹۰/۶۴±۷/۴۹^{a}	۱۵۵/۳۵±۲۵/۱۱^{b}
افزایش وزن بدن (درصد)	۱۴۷/۶۸±۵/۵^{ab}	۱۵۲/۴±۵/۲۲^{a}	۱۱۸/۲±۱۹/۱۱^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۶۰±۰/۰۴^{ab}	۱/۶۴±۰/۰۴^{a}	۱/۳۸±۰/۱۶^{b}
میانگین رشد روزانه (درصد)	۲/۶۰±۰/۰۹^{ab}	۲/۷۰±۰/۷^{a}	۲/۱۰±۰/۳^{b}
فاکتور وضعیت	۰/۴۵±۰ /۰۱^{ab}	۰/۴۵±۰/۰۸^{a}	۰/۴۲±۰/۰۱^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۰۴±۰/۷۷^{a}	۱/۰۵±۰/۰۳^{a}	۱/۳۴±۰/۲^{b}
شاخص کبدی (درصد)	۳/۲۵±۰/۷۷	۲/۹۹±۰/۷۹	۲/۰۹±۰/۶۵
نرخ کارایی پروتئین	۰/۰۷±۰/۰۱^{a}	۰/۰۶±۰/۰۲^{ab}	۰/۰۴±۰/۰۱^{b}

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P<0/05$).

وزن نهایی در ماهیان به طور معنی‌داری تحت تاثیر سطح پروتئین جیره بود و با افزایش پروتئین جیره تا سطح ۳۵ درصد افزایش یافت و پس از آن روند نزولی را نشان داد. نتایج نشان داد با افزایش پروتئین جیره از ۳۵ به ۴۰ درصد اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای رشد مشاهده شد، به طوری که ماهیان تغذیه شده از جیره ۳۵ درصد پروتئین نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴۰ درصد پروتئین در شاخص‌های رشد شامل میانگین وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<0/05$)، اما با تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۰ درصد پروتئین اختلافی

مشاهده نشد (P>۰/۰۵؛ جدول ۳). تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین از لحاظ شاخص‌های گلبول سفید و نوتروفیل و لنفوسیت دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به دو گروه دیگر بوده است (P<۰/۰۵؛ جدول ۴).

جدول ۴: شاخص‌های هماتولوژیک بچه فیل ماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف پروتئین پس از ۵۶ روز پرورش (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های هماتولوژیک	پروتئین جیره (درصد)		
	۳۰	۳۵	۴۰
تعداد گلبول سفید (10^3 × در میکرولیتر)	۶/۴۷±۰/۱۳ [b]	۸/۵۱±۰/۱۳[a]	۶/۷۳±۰/۱۱[b]
تعداد گلبول قرمز (10^3× در میکرولیتر)	۵۷۵/۵۱±۰/۴۱	۶۲۷/۲۴±۵/۴۲	۶۲۲/۴۱±۵/۷۶
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	۶/۳۴±۰/۵۱	۶/۹۳±۰/۴۳	۶/۹۲±۰/۶۲
هماتوکریت (درصد)	۲۳/۲۲±۱/۷۴	۲۵/۵±۲/۲۱	۲۵/۲۲±۲/۵۶
MCV (فمتولیتر)	۳۹۴/۸±۱۵ /۳۲	۴۰۷/۲۲±۱۳/۴۸	۴۰۵/۱۱±۱۲/۰۵
MCH (پیکوگرم در سلول)	۱۰۹/۱۸±۱/۱۶	۱۱۰/۴±۳/۳۹	۱۱۰/۵۵±۲/۲۴
MCHC (گرم بر دسی‌لیتر)	۲۷/۲۲±۱/۰۹	۲۶/۷۷±۰/۶۶	۲۷/۱۱±۰/۷۸
لنفوسیت (درصد)	۷۰/۰۰±۲/۶۴[a]	۶۵/۷۷±۲/۴۳[b]	۶۹/۷۷±۲/۱۰[a]
نوتروفیل (درصد)	۲۶/۰۰±۲/۷۸[b]	۲۹/۸۸±۲/۴۲[a]	۲۶/۷۷±۱/۸۵[b]
مونوسیت (درصد)	۳/۱۱±۱/۲۶[a b]	۳/۸۸±۰/۷۸[a]	۲/۸۸±۰/۷۸[b]
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۸۸±۰/۶۰	۰/۶۶±۰/۷۰	۰/۵۵±۰/۷۲

اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد با اضافه کردن پروتئین جیره به میزان ۴۰ درصد شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذا به طور معناداری نسبت به گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین کاهش پیدا کرد. نتایج فوق با مطالعات Bredan و همکاران در سال ۱۹۸۸ در گونه تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) هم‌خوانی دارد. آن‌ها اذعان داشتند افزایش پروتئین جیره غذایی تا حد معینی (۴۰ تا ۴۲ درصد) منجر به افزایش کارایی غذا و رشد می‌گردد ولی اضافه کردن پروتئین بیش از این مقدار منجر به کاهش روند رشد در گونه مذکور می‌گردد. با افزایش پروتئین در جیره غذایی از سطح ۳۵ درصد به میزان بیش از حد نیاز ماهی، بدن را با مشکل تجزیه آمینواسیدهای آزاد ناشی از هضم پروتئین، مواجه می‌کند و با بالا رفتن سطح پروتئین در جیره، فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده آمینواسید در کبد ماهی افزایش می یابد تا بتواند آمینواسیدهای اضافی را اکسید کنند (Seyed Hassani *et al*., 2013). اکسیدکردن اسیدهای آمینه و دفع ازت ناشی از آمین‌زدایی مستلزم مصرف انرژی زیادی می‌باشد که موجب کاهش

کارایی پروتئین، انرژی و در نهایت کاهش روند رشد می‌گردد (Kaushik *et al*., 1994).

کارایی پروتئین معیاری است که نشان می‌دهد منابع پروتئینی موجود در جیره تا چه حدی قادر به تامین آمینواسیدهای مورد نیاز موجود می باشد و بیان کننده تعادل بین انرژی و پروتئین است (Lovell, 1988). در مطالعه حاضر بازده پروتئینی با افزایش پروتئین موجود در جیره کاهش پیدا کرد. مقدار بازده پروتئین در سطح ۴۰ درصد کاهش پیدا کرد که نشان می‌دهد وجود حجم بالای پروتئین در جیره حاوی ۴۰ درصد پروتئین موجب مصرف مقدار بیشتر انرژی برای آمین‌زدایی و حذف آمینواسیدهای اضافی می‌گردد و انرژی کمتری صرف رشد می‌گردد و بازده پروتئین کاهش می‌یابد.

شاخص‌های رشد شامل میانگین وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین در تحقیق حاضر به طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر بوده است. احتمالاً در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین، پروتئین بیشتری صرف رشد شده و در تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۴۰ درصد پروتئین، مقداری از پروتئین در مسیر تولید انرژی رفته و در نتیجه شاخص‌های رشد کاهش یافته است زیرا با افزایش سطح پروتئین جیره آمینواسیدهای اضافه موجود در غذا به طور مستقیم در بدن ذخیره نمی‌شوند و صرف تولید انرژی می‌گردند (Stone *et al*., 2003). فیل ماهی یک گونه گوشت‌خوار می‌باشد و ماهیان گوشت‌خوار جهت فعالیت‌های آنابولیک (تولید بافت و رشد) و فعالیت‌های کاتابولیک از پروتئین، چربی، کربوهیدرات استفاده می‌کنند. در واقع چرخه تولید انرژی از پروتئین از طریق آمین‌زدایی صورت می‌گیرد که این امر موجب افزایش ترکیبات آمونیاکی موجود در خون می‌شود و در نتیجه این امر موجب کاهش کارایی اکسیژن‌رسانی از طریق خون به بافت‌ها شده و روند سوخت و ساز و رشد را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Lemarie *et al*., 2004).

ارزیابی یک تغذیه متعادل در ماهیان با سنجش شاخص‌های خونی صورت می‌گیرد. شاخص‌های خونی ماهی به عوامل مختلف از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیک و شرایط تغذیه‌ای (کمیت و کیفیت غذا، ترکیب و بالانس ترکیبات موجود در جیره و مقدار پروتئین جیره) ماهی بستگی دارد. نقایص تغذیه‌ای و ناکافی بودن پروتئین و مواد معدنی موجود در جیره ممکن است موجب آنمی شدید در اثر کاهش هماتوکریت و هموگلوبین شود (Cheng *et al*., 2006). طبق نتایج به دست آمده از این تحقیق، تیمار تغذیه شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین از لحاظ تعداد گلبول‌های سفید، درصد نوتروفیل و لنفوسیت دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به دو گروه دیگر بوده است. از جمله عوامل موثر بر تعداد گلبول‌های سفید بیماری، التهاب، استرس، دما، وضعیت تغذیه‌ای، سن و جنس می‌باشد (Bullis *et al*., 1993). شرایط استرس‌زا بر تعداد لکوسیت‌ها اثرگذار است و تغذیه نامناسب می‌تواند یکی از عوامل تاثیرگذار بر کاهش تعداد لنفوسیت‌ها می‌باشد (Docan *et al*., 2012). در مطالعه حاضر با افزایش پروتئین جیره به ۴۰ درصد و کاهش پروتئین جیره به ۳۰ درصد میزان گلبول‌های سفید کاهش پیدا کرد.

در این پژوهش تعداد گلبول‌های قرمز بین تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین اختلاف

معنی‌دار نداشت و محدودیت پروتئینی موجب ایجاد نوسان در تعداد گلبول‌های قرمز نشد. همچنین به علت محدودیت غذایی، کاهش تغذیه، درجه حرارت و به طور کلی کاهش متابولیسم بدن ممکن است کاهش حجم سلولی و افزایش غلظت پلاسما مشاهده شود (Sattari *et al*., 2002).

مطالعات بسیاری در مورد تاثیر سطوح مختلف پروتئین بر ماهیان انجام شده است. (۱۹۹۷) Dabrowski بر روی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) و (۱۹۹۱) Santiago بر روی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) مشاهده کردند با افزایش پروتئین موجود در جیره وزن کاهش می یابد، دلیل این امر تجمع آمینواسید آزاد در مایعات بدن به علت سطح بالای پروتئین موجود در جیره می‌باشد که موجب مصرف انرژی بابت دفع نیتروژن و تولید سم شده و در نتیجه رشد کاهش می‌یابد (Vergara *et al*., 1996). تحقیقات Ghafleh Mamrazi (۲۰۱۱) بر روی هامور معمولی *Epinephelus coioides* نشان داد بازماندگی، شاخص کبدی و شاخص وضعیت تحت تاثیر سطوح مختلف پروتئین و انرژی قرار نمی‌گیرد، اما پارامترهای کارایی رشد، بازده غذایی و پروتئینی، ضریب تبدیل غذایی و دریافت غذای روزانه به طور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح مختلف پروتئین و انرژی قابل هضم قرار می‌گیرند.

نتایج این مطالعه نشان داد سطوح پروتئین بر روی شاخص‌های رشد و هماتولوژیک فیل ماهی اثر دارد و با افزایش سطح پروتئین تا میزان ۳۵ درصد شاخص‌های رشد بهبود می‌یابند. با توجه به طولانی بودن دوره رشد این گونه، غذا به عنوان یک فاکتور بسیار مهم در مدیریت پرورش آن محسوب می‌شود که نیاز به سرمایه گذاری کلان دارد. با توجه به این‌که در سیستم آبزی‌پروری هزینه غذا بیشترین هزینه جاری مزارع پرورشی را شامل می شود، وجود محرومیت غذایی و کاهش پروتئین موجود در غذا به‌علت کاهش رشد در ماهیان منجر به عدم موفقیت در پرورش می گردد، از طرفی وجود پروتئین بیش از حد در جیره غذایی علاوه بر اثرات نامطلوب بر رشد موجب بالارفتن هزینه‌های مربوط به ساخت غذا و کاهش کیفیت آب و آلودگی آب می‌گردد بنابراین مطالعه اثرات سطوح پروتئین جیره برای هرگونه ماهی ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه کارکنان مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی دکتر یوسف‌پور سیاهکل به‌ویژه مهندس بهمن مکنت‌خواه، مهندس مهدی رحمتی و آقای ابراهیم روشن صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی به‌عمل می‌آید.

منابع

1. Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., 2009. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research, 40, 1532-1537.
2. Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 298, 267-274.
3. Ahmad, M.H., 2008. Response of African catfish, *Clarias gariepinus*, to different dietary protein and lipid levels in practical diets. Journal of the World Aquaculture Society, 39, 541-548.

4. Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Souza, C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., Cericato, L., Soso, A.B., Fagundes, M., Conrad, J., Lacerda, L.A., Terra, S., 2004. Hematological changes in jundia, *Rhamdia quelen,* after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. Aquaculture, 237, 229-236.
5. Barrows, T.F., Gaylord, G.T., Stone, A.J.D., Smith, E.C., 2007. Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, Walbaum. Aquaculture Research, 38, 1747-1158.
6. Brendan, J., Hung, S.S.O., Mederano, J., 1988. Protein requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 71, 235-245.
7. Bullis, R.A, 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fish. Fish Medicine, 232-239.
8. Cheng, A., Chen, C., Chang, C., 2006. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters and superoxide anion production in the grouper, *Epinephelus coioides*. Zoological Studies, 45, 492-502.
9. Coutinho, F., Peres, H., Guerreiro, I., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2012. Dietary protein requirement of sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo*, juveniles. Aquaculture, 356, 391-397.
10. Dabrowski, K., 1977. Protein requirements of grass carp fry, *Ctenopharyngodon idella*. Aquaculture, 12, 63-73.
11. Davis, K.B., Gaylord, T.G., 2011. Effect of fasting on body composition and responses to stress in sunshine bass. Comparative Biochemistry and Physiology, 158A, 30-36.
12. De Silva, S.S., Gunasekera, R.M., Shim, K.F., 1991. Interactions of varying dietary protein white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, Richardson. Aquaculture Nutrition, 3, 281-286.
13. Docan, A., Dediu, L., Cristea, V., 2012. Effect of feeding with different dietary protein level on leukocytes population in juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, Brandt. Archiva Zootechnica, 15, 59-67.
14. Halver, J., 1989. Fish Nutrition. 2nd edition; Academic Press, London, 798 p.
15. Ghafleh Mamrazi, J., 2011. Effects of dietary energy and protein levels on the growth *Epinephelus coioides* fish fingerling. Institute of Aquaculture South of the country, 21 p.
16. Hung, S.S.O., Liu, W., Storebakken, T., Cui, Y., 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 151, 357-363.
17. Kaushik, S.J., Breque, J., Blanc, D., 1994. Apparent amino acid availability and plasma free amino acid levels in Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*. Comparative Biochemistry and Physiology, 107, 433-438.
18. Lemarie, G., Dosdat, A., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E., Person-Le Ruyet, J., 2004. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass, *Dicentrarchus labrax*, juveniles. Aquaculture, 229, 479-491.
19. Lee, S.M., Kim, K.D., Park, C.S., Kim, C.H., Hong, K.E., 2001. Protein requirement of juvenile Manchurian trout *Brachymystax lenok*. Fisheries Science, 67, 45–61.
20. Lovell, R.T., 1988. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York.
21. Nikzad Hassankiadeh, M., Khara, H., Yazdani Sadati, M. A., Parandavar, H. 2013. Effects of dietary fish oil substitution with mixed vegetable oils on growth and fillet fatty acid composition of juvenile Caspian great sturgeon (*Huso huso*). Aquaculture International. 21(1), 143-155.
22. Misra, C.K., Kumar, D.B., Mukherjee, S.C., Pattnaik, P., 2006. Effect of long term administration of dietary a-glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. Aquaculture, 255, 82-94.
23. Mohseni, M., Sajjadi, M., Pourkazemi, M., 2007. Growth performance and body composition of sub yearling Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fed different dietary protein and lipid levels. Journal of Applied Ichthyology, 23, 204-208.
24. Mohseni, M., Pourali, H.R., Kazemi, R., Bai, S.C., 2013. Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (*Huso huso* L. 1758). Aquaculture Research, 45, 1832-1841.
25. Navarro I., Gutiérrez, J., 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of Fishes, vol. 4. Elsevier, New York, 393-433.
26. Sattari, M., 2002. Ichthyology (1): Anatomy and Physiology. Haghshenass Publication. Rasht, Iran.
27. Santiago, C.B., Reyes, O.S., 1991. Optimum dietary protein level for growth of bighead carp, *Aristichthys nobilis*, fry in a static water system. Aquaculture, 93, 155-165.
28. Seyed Hasani, M.H., Mohseni, M., Poorali, H.R., Yazdani Sadati, M.A., 2013. The effect

of different levels of protein and carbohydrate to lipid ratio on growth rate and body composition of farmed juvenile *Huso huso*. Fisheries Science and Technology, 2, 55-70.
29. Skov, P.V., Larsen, B.K., Frisk, M., Jokumsen, A., 2011. Effects of rearing density and water current on the respiratory physiology and hematology in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, at high temperature. Aquaculture, 319, 446-452.
30. Stone, E.A. Allan, G.L., Anderson, A.J., 2003. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus*, the protein-sparing effect of wheat starch based carbohydrates. Aquaculture Research, 34, 123-134.
31. Vergara, J.M., Fernandez-Palacios, H., Robaina L., Jauncey, K., De La Higuera, M., Izquierdo, M., 1996. The effects of varying dietary protein level on the growth, fee efficiency, protein utilization and body composition of gilthead sea bream. Fisheries Science, 62, 620-623.
32. Webster, A.H., Lim, C.E., 2002. Introduction to fish nutrition. Nutrition Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing.