Journal of Aquaculture Development
Vol. 19, No. 1, 2025, Pages: 113-132
DOI: 10.71901/jad-2025-1-884

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effects of recombinant fungal phytase enzyme PhyA derived from Pichia pastoris on growth factors and phosphate content in the feces of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Ghadirzadeh, S.K.[1], Nasr, E.[2], Sheikhzadeh, N.[3*], Heidarieh, M.[4]

1- Department of Animal Sciences, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2 - Fisheries Expert in Private sector, Ardabil, Iran
3- Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4- Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran

Received: 31 December 2024 **Accepted: 28 February 2025**

Abstract:

Introduction: This research examined the effects of lysed yeast supplemented with a recombinant phytase enzyme derived from *Pichia pastoris* on the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the resultant phosphorus concentrations in their fecal matter, utilizing acid-insoluble ash as a marker for phosphorus measurement.

Materials and Methods: The experiment was conducted with three replicates for each treatment group, utilizing a total of 30 fish (average weight 20±1.54 g) allocated randomly across 12 tanks. Three treatment groups received recombinant phytase at dosages of 1000, 2000, and 3000 IU/kg of feed, while a control group received no treatment; acid-insoluble ash was used as a marker for phosphorus measurement. Growth performance parameters, including final weight, weight gain, average daily growth, specific growth rate, food conversion ratio, and survival, were assessed. Additionally, phosphorus concentrations in fecal matter and phosphorus digestibility were also measured.

Results and Discussion: The group with 2000 IU/kg showed the best growth performance, achieving the highest final weight (81.98 g), weight gain (62.13 g), and average daily growth (5.59 g). The treatment achieved a significant specific growth rate of 4.61±0.12 and a food conversion ratio of 0.41±0.02, both of which were statistically distinct from the control and other treatments by the second week (p<0.05). Survival percentages in both the control and treatment groups showed no significant differences (p>0.05). Additionally, this group had the lowest acid-insoluble ash percentage at week eight and the highest phosphorus digestibility index (55.6%) at week six (p>0.05). The control group exhibited the highest

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

phosphate concentration (0.622 mg/l) during week six, while the phytase-treated group had a lower concentration (0.312 mg/l).

Conclusion: Overall, the findings suggest benefits of the 2000 IU/kg phytase treatment for rainbow trout growth and phosphorus utilization, although changes in phosphate levels reach statistical significance.

Keywords: recombinant phytase**,** rainbow trout, *Pichia pastoris,* acid-insoluble ash, digestibility

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

* *Corresponding Author: ns76032@gmail.com*

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

نشریه توسعه آبزی‌پروری، سال نوزدهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۴، صفحه های ۱۳۲-۱۱۳
DOI: 10.71901/jad-2025-1-884

"مقاله پژوهشی"

تاثیر آنزیم فیتاز قارچی مقاوم به اسید (PhyA) نوترکیب در مخمر *Pichia pastoris* بر فاکتورهای رشد و مقدار فسفات در فضولات قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سیدکامل قدیرزاده[۱]، احسان نصر[۲]، نجمه شیخ‌زاده[۳]*، مرضیه حیدریه[۴]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- کارشناس شیلات در بخش خصوصی، اردبیل، ایران
۳- گروه بهداشت مواد و غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۴- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۰

چکیده

در این تحقیق به ارزیابی تأثیر مخمر لیز شده *Pichia pastoris* حاوی آنزیم نوترکیب فیتاز بر فاکتورهای رشد، مقدار فسفات در فضولات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید پرداخته شد. این مطالعه بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳۶۰ قطعه بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با متوسط وزن ۱±۵۴/۲۰ گرم اجرا شد. بدین منظور یک گروه شاهد بدون افزودن مخمر لیز شده حاوی فیتاز نوترکیب و ۳ گروه جیره غذایی متفاوت از لحاظ سطوح مختلف فیتاز نوترکیب (۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا) با ۳ تکرار مورد استفاده قرارگرفت. بچه ماهیان به تعداد ۳۰ عدد در ۱۲ استخر رهاسازی و به مدت ۸ هفته و روزانه به میزان ۲ درصد وزن بدن تغذیه شدند. بالاترین وزن نهایی، افزایش وزن و میانگین رشد روزانه به ترتیب برابر ۴/۸±۸۱/۹۸ ، ۵/۳±۶۲/۱۳ و ۰/۳۵±۵/۵۹ گرم و در تیمار ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا در پایان هفته هشتم مشاهده شد. بالاترین نرخ رشد ویژه و پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی نیز به ترتیب با مقادیر ۰/۱۲±۴/۶۱ و ۰/۰±۴۱/۰۲ نیز با تفاوت معنی‌ادار با گروه شاهد و سایر تیمارها در تیمار ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا در هفته دوم مشاهده شد ($p<0/05$). فاکتور وضعیت نیز با بالاترین مقدار (۰/۲۰±۲/۰۵) در تیمار۳۰۰۰ واحد بین‌المللی در هفته دوم برکیلوگرم غذا گزارش شد. درصد بازماندگی نیز در گروه شاهد و تیمارهای مختلف مورد بررسی قرارگرفتند ($p>0/05$). بیشترین و کمترین میزان نشانگر خاکستر نامحلول در اسید به ترتیب در هفته ششم و هشتم، در گروه شاهد (۰/۴±۲/۱۲) و در تیمار حاوی غلظت (واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا) ۲۰۰۰ فیتاز نوترکیب (۰/۲±۱/۰۹) مشاهده شد. بین مقادیر این شاخص در گروه شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده شد. بیشترین میزان شاخص قابلیت هضم ظاهری فسفر (۱/۲±۵۵/۶ درصد) در هفته ششم و در تیمار حاوی غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا آنزیم فیتاز نوترکیب و کمترین میزان نیز در هفته ششم (۱/۸±۳۵/۵ درصد) در گروه شاهد بود ($p>0/05$). سنجش مقادیر یون فسفات در آب استخر مختلف نشان داد که بیشترین مقدار فسفات در استخر شاهد (۰/۶۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) در هفته ششم و کمترین مقادیر (۰/۳۱۲ میلی‌گرم بر لیتر) در استخر حاوی ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی فیتاز نوترکیب با غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر می توان بیان نمود که استفاده از آنزیم فیتاز نوترکیب در مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ویژه در غلظت ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم غذا، تأثیر مثبت معنی‌اداری بر پارامترهای رشد و قابلیت هضم فسفر جیره این ماهیان دارد.

کلمات کلیدی: فیتاز نوترکیب، قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Pichia pastoris*، خاکستر نامحلول در اسید، قابلیت هضم

* عهده‌دار مکاتبات: ns76032@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

مقدمه

پودر ماهی یکی از منابع اصلی پروتئین در خوراک دام است. با این حال، پروتئین‌های گیاهی به دلیل عرضه محدود و غیرقابل پیش‌بینی پودر ماهی به عنوان منابع پروتئینی جایگزین در غذاها استفاده می‌شود. مشکل اصلی استفاده از پروتئین‌های گیاهی وجود عوامل ضدتغذیه‌ای مانند فیتات است که شکل اصلی ذخیره فسفر (P) در گیاهان است (Baruah *et al*., 2004, 2007; Mullaney *et al.,* 2000; Yun *et al*., 2014; Dersjant-Li *et al*., 2021). ماهی‌ها ممکن است در استفاده از فسفر موجود در فیتات (فیتات–P) به دلیل عدم فعال بودن آنزیم فیتاز در بدن مشکل داشته باشند (González- Wang *et al*., 2009; Vega *et al*., 2015). یکی از راه‌حل‌های این مشکل، افزودن فسفر معدنی مانند دی‌کلسیم‌فسفات و مونوکلسیم‌فسفات $Ca(H_2PO_4)_2$ به خوراک است که میزان فسفر موجود در جیره را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد. اما، بیشتر فسفر غذایی در نهایت به منابع آب دفع می‌شود که بیانگر یک نگرانی زیست‌محیطی بزرگ از نظر سلامت آب برای مصرف انسان و حیوانات است (Liebert and Portz, 2005; Cao *et al*., 2007a,b; Sugiura, 2018). علاوه بر این، فراهمی زیستی مواد معدنی ضروری مانند کلسیم (Ca)، روی (Zn)، آهن (Fe) و منیزیم (Mg) نیز ممکن است به طور نامطلوبی تحت تأثیر تشکیل کمپلکس‌های کلات نامحلول با فیتات قرارگیرد (Cao *et al*., 2007). فیتاز، گروهی از آنزیم‌های معروف به میوینوزیتول هگزافسفات فسفوهیدرولاز، قادر به هیدرولیز فیتات به میوینوزیتول و فسفات اینوزیتول است، بنابراین یک رویکرد امیدوارکننده برای افزایش مقادیر فسفر زیستی قابل دسترس از نظر تغذیه‌ای و در عین حال کاهش دفع مقادیر فسفر به محیط‌زیست می‌باشد (Huang Lori *et al*., 2001; *et al*., 2009). تعداد فزاینده‌ای از مطالعات بر روی اثرات افزودن مکمل فیتاز و به ویژه فیتازهای میکروبی برای استفاده از فسفر موجود در مواد مغذی متمرکز شده است. بنابراین، مطالعات عملکرد رشد بر اساس رژیم غذایی حاوی فیتاز در برخی از گونه‌های آبزی‌پروری انجام شده‌اند (Cheng and Cao *et al*., 2007; Hardy, 2003a). اولین فیتاز تجاری تولید شده به وسیله ریزسازواره‌های اصلاح شده در اواسط سال ۱۹۹۱ وارد بازار شد (Greiner and Konietzny, 2006; Cao *et al*., 2007). در حال حاضر، تحقیقات عمدتاً بر روی اثرات فیتاز در حوزه مطالعات میزان پاسخ و کارآمدترین راه‌های مکمل، سیستم‌های غذایی در مراحل مختلف رشد ماهی و همچنین منبع و تنوع فیتاز برای ماهی تمرکز دارد (Debnath *et al*., 2005; Wang *et al*., 2009). برای تولید فیتاز نوترکیب می‌توان از طریق انتقال ژن فیتاز از سایر منابع میکروبی به سویه‌هایی از قبیل (*Pichia pastoris* و*Saccharomyces cervisia*) اقدام نمود (Lei & Porres, 2003). برای این منظور مخمر متیلوتروف *Pichia pastoris* با موفقیت به عنوان میزبان برای بیان ژن‌های هترولوگ و تولید سطوح بالای پروتئین‌های نوترکیب، از جمله فیتاز مورد استفاده قرار گرفت (Han and Lei, 1999; Ilgen *et al*., 2004; Rodriguez *et al*., 1999; Rodriguez *et al*., 2000). همانطور که توسط Marais (۲۰۰۰) و Andriarimalala و همکاران (۲۰۲۱) بررسی شده در دام‌های اهلی مانند گاو، مطمئناً استفاده از نشانگرها برای تعیین قابلیت هضم، که در آن مصرف خوراک و

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]
[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

مدفوع خروجی اندازه‌گیری می‌شود، سودمند خواهد بود. نشانگر داخلی که به طور گسترده در مطالعات هضم استفاده می‌شود، خاکستر نامحلول در اسید AIA (Acid Insoluble Ash) است. بنابراین اهداف آزمایش شامل دو بخش است. هدف ابتدایی این مطالعه بررسی اثرات مکمل فیتاز نوترکیب بیان شده در مخمر *Pichia pastoris* اضافه شده در پروتئین سویا - خوراک پایه بر عملکرد رشد (افزایش وزن، مصرف غذا) قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و در بخش دوم مطالعه اثر این مکمل غذایی بر قابلیت هضم فسفر از طریق سنجش خاکستر نامحلول در اسید مدفوع و همچنین اندازه‌گیری مقدار فسفر در پسآب خروجی استخرهای ماهی است.

مواد و روش‌ها

ماهیان و شرایط نگهداری

این مطالعه در مزرعه پرورش ماهی شرکت تعاونی سادات الهیارلو استان اردبیل – شهرستان مشکین‌شهر و در قالب ۴ تیمار (هر تیمار ۳ تکرار) به مدت ۸ هفته انجام شد. پس از خریداری ۳۶۰ قطعه بچه ماهیان قزل-آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۱/۵۴± ۲۰ گرم و طول متوسط ۰/۳±۱۲ سانتی‌متر، ماهیان در ۱۲ استخر پرورشی (۳۰ عدد در هر استخر) با طول ۴ متر، عرض ۸۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر به طور تصادفی تقسیم شدند. غذادهی با استفاده از غذای اکسترود شرکت فرادانه (۱۱- ۵ درصد رطوبت، ۴۴ – ۴۰ درصد پروتئین خام، ۱۶-۱۲ درصد چربی خام، ۴-۲ درصد فیبر خام، ۱۱-۷ درصد خاکستر و ۱/۵ -۱ درصد فسفر) براساس جدول استاندارد اعلامی از طرف شرکت تولید کننده غذادهی ۲ درصد وزن بدن آنها ۴ نوبت در روز انجام شد.

طراحی تیمارهای آزمایشی

پس از انتقال بچه ماهیان به مرکز، ابتدا به مدت ۷ روز سازگاری با محیط انجام گردید. سپس به مدت ۲۴ ساعت ماهیان قطع تغذیه شده و پس از آن با اندازه-گیری میانگین طول اولیه (میلی‌متر ۱/۸ ± ۱۸/۵۳) و میانگین وزن اولیه (گرم ۱/۱۷ ± ۲۰/۱۴) اقدام به منتقل کردن بچه ماهیان با در نظر گرفتن سایزبندی یکسان و انجام آنالیز آماری به استخر پیش‌ساخته فایبرگلاس شد، به هر استخرتعداد ۳۰ قطعه ماهی وارد شده (در مجموع تعداد ۳۶۰ عدد) و تا ۲۴ ساعت پس از انتقال نیز تغذیه صورت نگرفت. تیماربندی ماهیان به گونه‌ای بود که وزن متوسط تمامی ۱۲ استخر از نظر بیومس تقریباً برابر بود و هیچ یک اختلاف معنی‌دار آماری با یکدیگر نداشتند (p<۰/۰۵). در طول تحقیق نیز شرایط فیزیکوشیمیایی آب چاه با میانگین دمایی ۱۴ -۱۲ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول با میانگین ۹-۷ میلی‌گرم بر لیتر و pH ۸/۱۴ – ۷/۳۵) با دقت ۰/۰۱ و به وسیله دستگاه دیجیتال قابل حمل مارک (WTW) (ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد و میزان نوردهی نیز در تمامی تیمارها یکسان در نظر گرفته شد. شرایط دوره آزمایش از نظر پارامترهای فیزیکوشیمیایی یکسان بود.

آنزیم فیتاز نوترکیب phyA (پلازمید pPIC۹ مخمر متیلوتروف *Pichia pastoris* strain GS115 خریداری شده از شرکت Invitrogen) از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان تهیه شد. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، ابتدا جیره ابتدایی خشک با آب تا مقداری که مخلوط حال خمیری به خود بگیرد، مخلوط شدند. پس از اضافه

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

نمودن آنزیم به خمیر، خمیر از دستگاه چرخ گوشت با قطر صفحه ۳ میلی‌متر عبور داده شد. رشته‌های حاصل سایه و در دمای اتاق خشک گردیدند. در طول خشک شدن غذاهای پلت شده به طور مرتب به هم زده می‌شدند تا به صورت یکنواخت مخلوط شوند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره‌گذاری شدند. جیره‌های تهیه شده تا زمان مصرف در دمای ۳۰°C- نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه‌های ذیل بودند (Cozannet *et al*., 2023):

تیمار ۱- ماهیان تغذیه شده با جیره پایه (بدون ماده مؤثر تحقیق) به عنوان گروه شاهد

تیمار۲ – ماهیان تغذیه شده با جیره پایه + ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا آنزیم فیتاز نوترکیب

تیمار ۳- ماهیان تغذیه شده با جیره پایه + ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا آنزیم فیتاز نوترکیب

تیمار ۴- ماهیان تغذیه شده با جیره پایه + ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا آنزیم فیتاز نوترکیب

زیست‌سنجی ماهیان و محاسبه شاخص‌های رشد

در شروع تحقیق و پایان هر دوره دو هفته‌ای، اندازه‌گیری طول کل بدن ماهیان با کمک تخته زیست سنجی تا حد میلی‌متر و اندازه‌گیری وزن با کمک ترازوی دیجیتال با دقت دهم گرم انجام شد. قبل از نمونه‌برداری، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شده و پس از بیهوشی ماهیان با کمک پودر گل میخک به میزان ۵۰ میکرولیتر/لیتر (Keene *et al*., 2008) انجام شد . پس از زیست سنجی شاخص‌های رشد بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شدند:

- ضریب رشد ویژه (Specific Growth Value):

$$SGR\ (day) = (Ln\ Wt - Ln\ Wi) / T) \times 100$$

ضریب رشد ویژه = (Ln وزن نهایی هر تکرار - Ln وزن اولیه هر تکرار) / طول دوره پرورش (روز) ×۱۰۰

- میانگین رشد روزانه (Average Daily Growth)

$$ADG\ (g/fish/day) = (Wt - Wi / Wi \times T) \times 100$$

میانگین رشد روزانه = (وزن نهایی - وزن اولیه /وزن اولیه × طول دوره پرورش (روز)) ×۱۰۰

- ضریب تبدیل غذایی (Feed Conversion Rate)

$$FCR = F / ZWt - ZWi$$

ضریب تبدیل غذایی مصرفی = مقدار غذای خورده شده در طول دوره پرورش در هر تکرار / (مجموع وزن اولیه ماهیان هر تکرار - مجموع وزن اولیه ماهیان هر تکرار)

- درصد افزایش وزن یا شاخص افزایش وزن (Weigh Gain Percent or Body Weigh Index)

$$WGP\ (BWI) = [(Wt - Wi) / Wi] \times 100$$

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

- شاخص وضعیت (ضریب چاقی) (Condition Factor)

$$CF = (W/ TL^3) \times 100$$

شاخص وضعیت (ضریب چاقی) = (وزن نهایی ماهیان هر تکرار / میانگین طول ماهیان هر تکرار (سانتی‌متر)^3) ×۱۰۰

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

اندازه‌گیری درصد فسفر در مدفوع

هر دو هفته یک گرم از مدفوع با وزن تقریبی یک میلی‌گرم وزن شد و به بالن کجلدال منتقل شد و به آن ۲۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک اضافه و مخلوط شد تا نمونه کاملاً به اسید آغشته شده و از چسبیدن ذرات نمونه به جدار بالن پیشگیری شود. سپس نمونه به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شد و در محلی آرام قرار داده شد تا خنک شود، در ادامه ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک اضافه و به ملایمت حرارت داده شد و سپس سرد گردید. آنگاه مقدار بیشتری اسید نیتریک اضافه و حرارت داده شد تا به دمای جوش برسد. این عمل ادامه یافت تا محلول حاصل بی‌رنگ شود. پس از سرد شدن کمی آب مقطر به آن اضافه و همراه با آب‌های شست و شوی بالن کیلدال با آب مقطر داغ در یک بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته تا سرد شود. مقدار مشخصی از محلول صاف شده با آب مقطر رقیق شد تا غلظت فسفر در هر میلی‌لیتر از ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بیشتر تجاوز نکند. ۱۰ میلی‌لیتر معرف مولیبدو وانادات به آن اضافه و مخلوط شد. سپس ۱۰ دقیقه تحت حرارت ۲۰ °C قرار گرفت. جذب نوری محلول حاصل در اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از محلول استاندارد فسفر منحنی استاندارد رسم و درصد فسفر نمونه بدست آمد (Eaton *et al*., 2005).

اندازه‌گیری درصد قابلیت هضم فسفر با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید

بعد از هر دوره دو هفته‌ای از شروع آزمایش و دو ساعت بعد از آخرین تغذیه، مدفوعی که در کف استخر انباشته شده بود، کاملاً به وسیله سیفون جهت اندازه‌گیری درصد قابلیت هضم فسفر با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید جمع‌آوری گردید (Liu *et al*., 2008). نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک شدند. بعد از خنک شدن، بوته چینی حاوی نمونه به دقت وزن شد. ۶ گرم از نمونه آماده شده را در یک کپسول چینی یا پلاتینی خشک و تمیز که قبلاً به وزن ثابت رسیده، توزین کردیم. سپس به آرامی روی شعله حرارت دادیم تا نمونه کربونیزه شود. کپسول حاوی نمونه رادر داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم تا نمونه کاملاً به خاکستر سفید تبدیل شود. کپسول را در دسیکاتور سرد کرده و سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک رقیق ۵ نرمال به آن اضافه نمودیم. آن را روی شعله حرارت داده تا به جوش آید. پس از خنک شدن نمونه را با کاغذ صافی بدون خاکستر عبور داده، کاغذ صافی را با آب داغ شسته تا حاصل شستشو عاری از کلرور گردد. کاغذ صافی و باقی‌مانده روی آن را مجدداً به کپسول منتقل نموده و برای ۳ ساعت در گرم‌خانه ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و سپس آن را در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار دادیم. کپسول را به دسیکاتور منتقل کردیم، سپس سرد و توزین کردیم. درصد وزنی خاک‌ستر نامحلول در اسید را از فرمول زیر بدست آوردیم (Catacutan *et al*., 2003).

$$\text{مقدار خاکستر نامحلول در اسید در نمونه} = \frac{\text{وزن بوته و خاکستر} - \text{وزن بوته}}{\text{وزن نمونه بر گرم}} \times ۱۰۰$$

درصد قابلیت هضم فسفر با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید و بر اساس فرمول زیر محاسبه

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

گردید (Morales *et al*., 1999).

$$\text{مدفوع در فسفر هضم قابلیت درصد} = 100 \times [1 - \frac{\text{جیره اسید در نامحلول خاکستر} \times \text{مدفوع در فسفر درصد}}{\text{مدفوع اسید در نامحلول خاکستر} \times \text{جیره در فسفر درصد}}]$$

اندازه‌گیری فسفات در آب

هر دو هفته یک بار اندازه‌گیری فسفات در آب خروجی استخرها به روش اسپکتروفتومتری، با دستگاه اسپکتروفتومتر Hach مدل dr2800 انجام شد. ابتدا نمونه صاف شد و سپس به اندازه ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه را در سل‌های مربوط ریخته و تنظیمات دستگاه را روی اندازه‌گیری غلظت فسفات (PO_4) قرار داده شد. سپس نمونه شاهد یا بلنک را به دستگاه وارد کرده و دستگاه صفر شد. نمونه بلنک یا شاهد در اندازه‌گیری فسفات خود نمونه بود. که به صورت بلنک در دستگاه قرار داده شد. سپس به نمونه اصلی، روی ماده عامل (Agent) مورد نظر فسفات را که توسط کمپانی ارائه می‌شود اضافه شد و به صورت عمودی به همراه کلاهک سل تکان داده شد. رنگ نمونه آبی شد. هرچه غلظت فسفات نمونه بیشتر باشد رنگ نمونه تمایل بیشتری به آبی شدن دارد. پس از تکان دادن نمونه، نمونه به مدت ۲ دقیقه در حالت عادی قرار داده شد. غلظت فسفات در نمونه و در طول موج ۸۸۰ نانومتر قرائت شد. خروجی اندازه‌گیری غلظت فسفات بر حسب میلی‌گرم بر لیتر فسفات یا میلی‌گرم بر لیتر فسفر نشان داد (ISO, 1998).

تجزیه و تحلیل اطلاعات

نتایج حاصل از داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شد. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش Kolmogorov-Smirnov بررسی و اختلاف بین داده‌ها و مقایسه میانگین نمونه‌ها در تیمارهای مختلف با آزمون واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن و همگنی گروه‌ها با کمک آزمون Levene بررسی شدند. در صورت غیرهمگن بودن داده‌ها از آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد و معنی‌دار بودن تیمارهای آزمایشی با آزمون من – ویتنی محاسبه شد. آنالیز آماری از اختلاف در سطح اطمینان بالای ۹۵٪ ($p<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها در نرم‌افزار SPSS 23 و نمودارها در نرم‌افزار Excel 2013 رسم شدند.

نتایج

تأثیر فیتاز نوترکیب بر پارامترهای رشد در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان

در بررسی تأثیر فیتاز نوترکیب بر شاخص وزن؛ روند افزایشی قابل مشاهده در همه هفته‌های آزمایش ثبت شد. در همه هفته‌ها در غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا تغییرات افزایشی معنی‌داری در این شاخص نسبت به شاهد و غلظت ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، اما این دو غلظت تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$). بیشترین افزایش وزن (۸۱/۹۸ گرم) در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز در جیره غذایی در پایان هفته هشتم مشاهده شد. افزایش طول در هفته دوم و چهارم نیز معنی‌دار نبود ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

اما از هفته ششم به بعد تیمارهای با غلظت ۳۰۰۰ و۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا افزایش معنی‌داری با سایر تیمارها نشان دادند (p<۰/۰۵). بیشترین افزایش طول (۲۰/۰۳ سانتی‌متر) در غلظت ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب در جیره غذایی هفته هشتم مشاهده شد. شاخص نرخ رشد ویژه طی دوره آزمایش روندی کاهشی داشت اما در همه هفته‌ها به جز هفته دوم آزمایش در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین نرخ رشد ویژه (۲/۰۵) در هفته دوم و در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب مشاهده شد. با آزمون آماری نتایج حاصل از تأثیر فیتاز نوترکیب در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلا مشخص شد که علی‌رغم اینکه شاخص ضریب تبدیل غذایی طی دوره آزمایش روند افزایشی غیرمعنی‌داری داشته است (p>۰/۰۵)، اما بین تیمارها نمونه‌های غلظت ۲۰۰۰ اغلب ضریب تبدیل غذایی پایین‌تر و معنی‌داری از سایر غلظت‌ها داشت (p<۰/۰۵). کمترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۴۱) در هفته دوم و در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب مشاهده شد. بیشترین مقدار این پارامتر (۱/۹۴) نیز در تیمار با غلظت ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب در هفته هشتم مشاهده شد. شاخص فاکتور وضعیت طی دوره آزمایش در دیدگاه کلی روند کاهش داشت. در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب در جیره غذایی در هفته دوم، چهارم و ششم کاهش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). کمترین فاکتور وضعیت (۰/۸۵) در هفته چهارم و در غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب و بالاترین در همین تیمار (۲/۰۵) و در هفته دوم مشاهده شد. پارامتر درصد بازماندگی تا پایان هفته ششم در همه تیمارها بدون تلفات و صد در صد بود، اما در پایان هفته هشتم یک عدد تلفات در گروه شاهد مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای حاوی فیتاز نوترکیب نداشت (p>۰/۰۵).

جدول ۱: تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف مکمل آنزیمی فیتاز نوترکیب بر پارامترهای رشد بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان.

Table 1: Effects of diets containing different levels of recombinant phytase enzyme supplementation on growth parameters of rainbow trout fry.

(٪) Body Composition	Replacement Levels of Recombinant Phytase in Diet (IU/kg feed)			
	Control	1000	2000	3000
Initial Weight (g)	20.14± 1.77^{a}	19.95± 1.9^{a}	20.06± 1.2^{a}	20.86± 1.5^{a}
Final Weight (g)	68.66± 1.6^{c}	73.03± 1.6^{b}	81.98± 4.8^{a}	80.63± 0.7^{b}
Weight Gain (g)	48.92±1.15^{c}	52.98± 3.15^{b}	62.13± 4.8^{a}	54.70± 1.5^{b}
Length Increase (cm)	18.53± 1.8^{c}	18.80± 1.95^{b}	19.95± 1.2^{a}	20.05± 1.14^{b}
Average Daily Growth (g/day)	4.43± 0.22^{b}	4.74±0.42^{b}	5.59± 0.35^{a}	4.72± 0.64^{b}
Specific Growth Rate (SGR) (% per day)	2.17± 0.15^{b}	2.26± 0.17^{ab}	2.44± 0.12^{a}	2.23± 0.16^{b}
Food Conversion Ratio (FCR)	1.92± 0.07^{ab}	1.85± 0.15^{bc}	1.81± 0.01^{c}	1.94± 0.07^{a}
Condition Factor	1.08± 0.01^{a}	1.11±0.05^{a}	1.03± 0.06^{a}	0.94± 0.2^{a}
Survival Rate	95.54^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}	100 ^{a}

*Values in the same row with different superscript letters are significantly different (p<0.05).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

قابلیت هضم فسفر با استفاده از نشانگر خاکستر نامحلول در اسید

بیشترین میزان این شاخص در هفته ششم و در گروه شاهد (۰/۴±۲/۱۲) و کمترین میزان نیز در هفته هشتم و در تیمار حاوی غلظت (واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا)۲۰۰۰ فیتاز نوترکیب (۰/۲±۱/۰۹) مشاهده شد. بین مقادیر این شاخص در گروه شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده شد (p<۰/۰۵). در مقایسه تیمارهای حاوی فیتاز نیز در هفته‌های دوم و هشتم غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا تفاوت معنی‌داری با هم داشتند (p<۰/۰۵)، اما در هفته چهارم و ششم این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (p>۰/۰۵).کل مقادیر خاکستر نامحلول در اسید در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲: تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف مکمل آنزیمی فیتاز نوترکیب بر نشانگر خاکستر نامحلول در اسید

Table 2: Effects of diets containing different levels of recombinant phytase enzyme supplementation on acid-insoluble ash marker.

	Different levels of recombinant phytase enzyme supplementation in the diet of rainbow trout (IU/kg feed)			
	Control	1000	2000	3000
Week 2	2.1 ± 0.5^{c}	1.7 ± 0.4^{b}	1.1 ± 0.1^{c}	1.3 ± 0.2^{d}
Week 4	2.05 ± 0.2^{c}	1.65 ± 0.2^{b}	1.15 ± 0.2^{c}	1.23 ± 0.1^{c}
Week 6	2.12 ± 0.8^{c}	1.62 ± 0.1^{b}	1.23 ± 0.1^{c}	1.20 ± 0.1^{c}
Week 8	1.98 ± 0.4^{c}	1.59 ± 0.1^{b}	1.09 ± 0.1^{c}	1.35 ± 0.2^{d}

*Values are presented as mean ± standard deviation. Values with different letters within each column indicate a statistically significant difference (p< 0.05).

اما با استفاده از این نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید، قابلیت هضم فسفر در طی دوره آزمایش نیز محاسبه شد. مطابق محاسبات انجام شده و مقایسات آماری مشخص شد که بیشترین میزان این شاخص (۶/۲±۵۵/۱ درصد) در هفته ششم و در تیمار حاوی غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا فیتاز نوترکیب و کمترین میزان نیز در هفته ششم (۵/۸±۳۵/۱) در گروه شاهد قابل مشاهده است. بین مقادیر این شاخص در گروه شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنادار آماری مشاهده شد. در مقایسه تیمارهای حاوی فیتاز نیز غلظت‌های ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا تفاوت معنی‌داری در این شاخص نسبت به غلظت ۱۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا داشتند (p<۰/۰۵)، اما تفاوت بین این دو غلظت معنی‌دار نبود. کل مقادیر قابلیت هضم ظاهری فسفر در جدول ۳ آورده شده است.

مقادیر فسفات در پسآب استخر

بیشترین مقدار فسفات در پساب استخر شاهد (۰/۶۲۲ میلی‌گرم بر لیتر) در هفته ششم و کمترین مقادیر (۰/۳۱۲ میلی‌گرم بر لیتر) در پساب استخر حاوی ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی فیتاز نوترکیب مشاهده شد (جدول ۴). علی‌رغم روند کاهشی غلظت فسفات در پساب استخرهای حاوی ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی فیتاز نوترکیب با گروه شاهد، تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

جدول ۳: تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف مکمل آنزیمی فیتاز نوترکیب بر قابلیت هضم ظاهری فسفر.

Table 3: Effects of diets containing different levels of recombinant phytase enzyme supplementation on apparent phosphorus digestibility.

	Different levels of recombinant phytase enzyme supplementation in the diet of rainbow trout (IU/kg feed)			
	Control	1000	2000	3000
Week 2	39.48 ± 1.5^{c}	43.1 ± 2.6^{b}	52.2 ± 1.5^{c}	53.8 ± 1.6^{d}
Week 4	39.1 ± 2.2^{c}	42.5 ± 2.1^{b}	54.1 ± 3.2^{c}	53.5 ± 2.1^{c}
Week 6	35.7 ± 2.8^{c}	43.7 ± 1.9^{b}	55.6 ± 1.2^{c}	54.8 ± 2.2^{c}
Week 8	35.5 ± 1.4^{c}	44.2 ± 2.1^{b}	53.1 ± 2.4^{c}	55 ± 3.2^{d}

*Values are presented as mean ± standard deviation. Values with different letters within each column indicate a statistically significant difference ($p< 0.05$).

جدول ۴- تأثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف مکمل آنزیمی فیتاز نوترکیب بر مقدار فسفات در پساب استخر

Table 4- Effects of diets containing different levels of recombinant phytase enzyme supplementation on phosphate content in pond effluent

	Different replacement levels of recombinant phytase enzyme supplementation in the diet of rainbow trout (IU/kg feed)			
	Control	1000	2000	3000
Week 2	0.591 ± 0.02	0.586 ± 0.1	0.481 ± 0.02	0.462 ± 0.1
Week 4	0.582 ± 0.1	0.491 ± 0.1	0.522 ± 0.06	0.491 ± 0.06
Week 6	0.588 ± 0.09	0.476 ± 0.08	0.422 ± 0.07	0.393 ± 0.02
Week 8	0.622 ± 0.08	0.562 ± 0.02	0.312 ± 0.02	0.361 ± 0.08

Values are presented as mean ± standard deviation.

بحث

فسفر فیتاتی در دانه غلات و بقولات به ترتیب ۵۰ تا ۷۵ درصد کل فسفر موجود در دانه را به خود اختصاص می‌دهد. فیتات با تشکیل کمپلکس نامحلول با مواد معدنی همانند نیکل، کبالت، منگنز، آهن و روی در جذب آنها اختلال ایجاد نموده و موجب کمبود آنها در انسان و دام و افزایش دفع آنها در مدفوع و آلودگی آب می‌شود (Kumar *et al*., 2012). از جمله راه‌های کاهش دفع فسفر از راه مدفوع استفاده از آنزیم فیتاز (نوعی خاص از فسفاتاز) است (Afinah *et al*., 2010). آنزیم فیتاز از جمله آنزیم‌های پرکاربرد در صنایع است. فیتازها زیر خانواده‌ای از فسفاتازها هستند که اسید فیتیک را به اجزای کوچک‌تر مونو، دی، تترا و پنتا فسفات تجزیه می‌کنند. همچنین این آنزیم‌ها با خنثی کردن اثر منفی فیتات بر پروتئین و مواد مغذی موجود در جیره جانوران تک معده‌ای، میزان جذب فسفر را افزایش می‌دهند (Edwards *et al*., 2019). استفاده از فیتاز همچنین اشتها را تحریک می‌کند و رشد را به طور مستقیم از طریق بالا بردن مصرف غذا افزایش می‌دهد (Carter and Hauler *et al*., 2000). Liu و همکاران (۲۰۱۲) ثابت کردند آنزیم فیتاز در لوله گوارش آبزیان سبب افزایش بازجذب یون سدیم به داخل سلول می‌گردد که در نتیجه میزان جذب مونوساکاریدها و آمینواسیدها افزایش پیدا می‌کند. فیتاز قادر به آزاد

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

کردن مواد معدنی طی فرآیند هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش ماهیان است و از این رو عملکرد و فاکتورهای رشد را بهبود می‌بخشد (Wang *et al*., 2005; Karatas *et al*., 2023). از دیگر موارد اثرگذار فیتاز بر بهبود فاکتورهای رشد ماهیان تغذیه شده در این است که این آنزیم فاکتورهای ضدتغذیه‌ای را در جیره غذایی می‌شکند و همچنین کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم (فیبرها) را نیز طی فرآیند هیدرولیز قابل دسترس قرار می‌دهد. بنابراین استفاده از آنزیم فیتاز در جیره ماهیان موجب بهبود عملکرد تغذیه‌ای و رشد می‌شود (Dersjant-Li *et al*., 2014; Xu *et al*., 2022). در این مطالعه مشاهده شد که آنزیم فیتاز در نگاه کلی عملکرد فاکتورهای رشد را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش داد. پارامتر طول با بیشترین افزایش طول (۲۰/۰۳ سانتی‌متر) و وزن نهایی با بیشترین افزایش وزن (۸۱/۹۸ گرم) در طول دوره آزمایش در همه تیمارهای جیره حاوی آنزیم فیتاز نوترکیب و به طور مشخص تیمار ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم غذا به طور معناداری مشاهده شد.

از اثر مثبت فیتاز بر عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Lee *et al*., 2020; Morales *et al*., 2015) و اثر فیتاز بر رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Nwanna and Schwarz, 2007; Mohammadi *et al*., 2018; Rachmawati *et al*., 2023) می‌توان اشاره نمود. همچنین نتایج تحقیق حاضر در مطابقت با نتایجی گزارش شده توسط Yan و Waldroup (2006) با افزودن فیتاز میکروبی به جیره موجب بهبود ابقای فسفر و در نتیجه کاهش فسفر در مدفوع شد. بررسی‌های انجام شده توسط محققان مختلف در جانوران پرورشی نیز این نتایج را تائید کرده است (Rutherfurd *et al*., 2004; Zhang *et al*., 1999). در همین راستا نتایج سودبخش استفاده از مکمل فیتاز حاصل از منابع مختلفی میکروبی مانند قارچ آسپرژیلوس در گزارشات مختلف بیان شده است (Pragya *et al*., 2023). اثر استفاده از قارچ *آسپرژیلوس نایژر* (*Aspergillus niger*) که بر پلت‌های جیره اسپری شده بود، بر افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تائید شده است (Dalsgaard *et al*., 2009; Vielma *et al*., 2002). استفاده از قارچ *Trichoderma* spp. نیز در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت ۴۰ روز مصرف، منجر به بهبود فاکتورهای رشد با اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد شد که علت همان وجود آنزیم فسفاتاز (Andrzejak and Janowska, 2022) و استفاده بیشتر از فسفر منابع غذایی در جیره را می‌توان عنوان نمود (Zeraatpisheh *et al*., 2024). این مطالعات ثابت کرده که افزودن فیتاز در غلظت‌های از حداقل ۲۰۰ تا حداکثر ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا و اسپری شده روی پلت یا اضافه شده به ترکیب جیره‌های با منابع مختلف گیاهی و پروتئینی می‌تواند منجر به این افزایش ۱۷ تا ۱۰۰ درصدی ضریب قابلیت هضم فسفر در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گردند (Riche and Brown, 1996; Sugiura *et al*., 2001; Cheng *et al*., 2004; Greiling *et al*., 2019; Cheng and Hardy, 2003b; Vielma *et al*, 2004).

تأثیر آنزیم فیتاز بر جایگزینی پروتئین آرد ماهی با آرد سویا نیز بررسی و مشخص شد که تأثیر آنزیم فیتاز بر شاخص‌های رشد معنادار بوده و در این تحقیق نیز بهترین نتیجه در استفاده از ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا بدست آمد (Zargarian et al., 2007).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

در مطابقت با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که جیره‌های آزمایشی با میزان پروتئین و انرژی یکسان و شامل ۶ تیمار با سه سطح آنزیم فیتاز با فعالیت فیتازی (صفر، ۱۰۰۰و ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم غذا) مورد بررسی قرارگرفتند. نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد در گروه شاهد که بدون آنزیم فیتاز بود، شاخص‌های رشد از جمله افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه و رشد روزانه نسبت به سایر تیمارها که حاوی آنزیم فیتاز بودند، کمتر گزارش شد (Abedi *et al*., 2019). طبق گزارشات علمی منتشر شده افزودن آنزیم فیتاز موجب افزایش معنی‌داری در روند رشد و کارایی فاکتورهای رشدی و خونی در ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با جیره حاوی آرد سویا شد. بهترین نتیجه با استفاده از ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم غذا آنزیم فیتاز به دست آمد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق پیشنهاد شد که در جیره ماهی آزاد دریای خزر تا سطح ۴۰ درصد پروتئین پودر ماهی با آرد سویا با ۲۰۰۰ واحد بین‌المللل آنزیم فیتاز بر کیلوگرم غذا جایگزین شود (Imanpoor *et al*., 2019).

همچنین در راستای بهبود فاکتورهای رشدی در ماهی، گنجاندن آنزیم فیتاز در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی منابع پروتئینی گیاهی مانند پودر سویا، می‌تواند مورفولوژی روده را با تنظیم بیان mRNA ژن‌های مسئول سنتز اسیدهای چرب، لیپوژنز و جذب و انتقال مواد مغذی حفظ کند (Kaiza *et al*., 2023).

در مطالعه‌ای دیگر ضمن بیان بهبود برخی فاکتورهای رشدی، اما نرخ تبدیل خوراک، مقادیر خوراک دریافتی (FI) و میزان کارایی پروتئین (PER) تحت تأثیر تیمارهای جیره حاوی آنزیم فیتاز قرار نگرفت. که در این تحقیق ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با مکمل OptiPhos (فیتاز صنعتی تجاری) با دزهای ۵۰۰ و ۷۵۰ (واحد آنزیم فیتاز بر کیلوگرم خوراک – FTU/kg) افزایش قابل توجهی در وزن نهایی بدن و SGR در مقایسه با گروه کنترل داشته‌اند (Terrey *et al*., 2023).

"خاکستر نامحلول در اسید" بخشی از خاکستر کل است که پس از ترکیب با اسید معدنی قوی، مانند اسیدکلریدریک (۱۰ درصد) به صورت نامحلول باقی می‌ماند. معمولاً از این آزمایش برای تعیین میزان مواد معدنی نامحلول در مواد غذایی، دارویی و محصولات گیاهی استفاده می‌شود. وجود خاکستر نامحلول در اسید، نشان‌دهنده میزان ناخالصی‌های غیرقابل هضم مانند سیلیکا و شن و ماسه است. این روش در ارزیابی کیفیت محصولات غذایی، خوراک دام، داروها و برخی فرآورده‌های کشاورزی برای تعیین میزان آلودگی فیزیکی کاربرد دارد. در طی این دوره آزمایش، هر دو هفته یک بار بعد از اندازه‌گیری مقادیر فسفر در مدفوع و سپس محاسبه نشانگر خاکستر نامحلول در اسید گزارش شد، بیشترین میزان این شاخص در هفته ششم و در گروه شاهد (۰/۴±۲/۱۲) و کمترین میزان نیز در هفته هشتم و در تیمار حاوی غلظت ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی برکیلوگرم غذا آنزیم فیتاز نوترکیب (۰/۲±۱/۰۹) قابل مشاهده بود. نتایجی مشابه با تحقیق حاضر در مطالعه‌ای که به مقایسه روش‌های سنجش قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی مانند فسفر در قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از نمونه‌برداری از مدفوع و سه روش نشانگر هضم از جمله نشانگر خاکستر نامحلول در اسید پرداخته بدست آمده

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

است و مقادیر این شاخص در روش ترکیبی و تک گانه به ترتیب برابر ۰/۹± ۴۳/۳، ۱/۶±۴۳/۲ گزارش شد (Vandenberg and de la NoÏe, 2011). اولین بار از این نشانگر در مطالعه بررسی قابلیت هضم‌پذیری با گوسفند توسط Shrivastava و Talapatra (۱۹۶۲) استفاده و گزارش شده است. Behzad و همکاران (۲۰۲۴) در مطالعه‌ای بیان نمودند که با توجه به همبستگی ضعیف بین سه روش اندازه‌گیری قابلیت هضم و در نظر گرفتن محدودیت‌های موجود از جمله هزینه و امکانات زیاد به ویژه در دام‌های بزرگ در تعیین گوارش‌پذیری با روش‌های جمع‌آوری کل مدفوع و لیگنین نامحلول در اسید، می‌توان از روش خاکستر نامحلول در اسید برای تعیین گوارش‌پذیری در شتر استفاده کرد. همچنین به این مورد نیز اشاره نمودند که اگر درصد بازیافت نشانگر خاکستر نامحلول در اسید بیش از ۹۰ درصد باشد، میزان گوارش‌پذیری خاکستر نامحلول در اسید با مقدار گوارش‌پذیری جمع‌آوری کل مدفوع نزدیک می‌باشد. در مطالعه‌ای سه شاخص - خاکستر نامحلول در اسید غذایی، سلیت و اکسید کروم — با هدف اندازه‌گیری قابلیت هضم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مقایسه قرار گرفتند. قابلیت هضم ظاهری ماده خشک، پروتئین خام و انرژی ناخالص در همه شاخص‌ها مشابه بود. خاکستر نامحلول در اسید به دلیل وجود طبیعی در غذاهای ماهی و سهولت آنالیز به عنوان مناسب‌ترین شاخص شناخته شد. در حالی که افزودن سلیت می‌تواند دقت را در زمانی که محتوای خاکستر نامحلول در اسید کم است، افزایش دهد، بدون اینکه بر مقادیر مطلق ضرایب هضم تأثیر بگذارد (Atkinson *et al.*, 1984). به نظر می‌رسد منابع مختلف مورد استفاده برای محاسبه نشانگر خاکستر نامحلول در اسید در مطالعات ممکن است در ناسازگاری مشاهده شده نقش داشته باشد. Tacon و Rodrigues (۱۹۸۴) دریافتند که نشانگر خاکستر نامحلول در اسید به طور قابل توجهی قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی را نادیده می‌گیرد. De Silva و Perera (۱۹۸۳) گزارش کردند که نشانگر خاکستر نامحلول به طور قابل توجهی قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی را در مقایسه با روش Cr_2O_3 بیشتر از حد ارزیابی می‌کند. Bowen (۱۹۸۱) نشان داد که درصد قابل توجهی از خاکستر نامحلول در اسید جذب می‌شود، بنابراین کاربرد آن را به عنوان نشانگر هضم خارجی مناسب نمی‌داند. در همین راستا در مطالعه Morales و همکاران (۱۹۹۹) نیز خاکستر نامحلول در اسید به عنوان نشانگری برای قابلیت هضم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. نتایج نشان داد که ضرایب قابلیت هضم برای پروتئین خام، عصاره بدون نیتروژن، ماده خشک و انرژی ناخالص با خاکستر نامحلول در اسید بیشتر از نشانگر اکسید کروم (Cr_2O_3) بود. قابلیت هضم فیبر خام در برخی از جیره‌ها مشابه بود، اما به طور قابل توجهی در جیره‌های غذایی حاوی سویا و کنجاله آفتابگردان کمتر بود. در نتیجه براساس یافته‌های تحقیق بیان نمودند که خاکستر نامحلول در اسید نشانگر مناسبی در مقایسه با اکسید کروم برای مطالعات قابلیت هضم نیست. اما مطالعه Vandenberg و de la NoÏe (۲۰۱۱) استفاده از این روش برای محاسبه میزان فسفر در مدفوع ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را تا حدود بسیار بالایی (۹۸٪) درست ارزیابی کرد. در مطالعه Goddard و Mclean (۲۰۰۱) خاکستر نامحلول در اسید به عنوان یک ماده نشانگر در مطالعات قابلیت هضم در ماهی تیلاپیا نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر استفاده از آنزیم فیتاز نوترکیب در مخمر در جیره غذایی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به ویژه در غلظت‌های ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم غذا، تأثیر مثبت معناداری بر پارامترهای رشد این ماهیان دارد. در بررسی میزان فسفر مدفوع و نشانگر خاکستر نامحلول در اسید و قابلیت هضم ظاهری فسفر غلظت ۲۰۰۰ واحد در کیلوگرم اثر چشمگیری نشان داد. یافته‌های تحقیق حاضر تأیید کننده امکان استفاده از فیتاز نوترکیب در مخمر *Pichia pastoris* لیز شده در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان جهت ارتقای رشد، کاهش دهنده دفع فسفر به محیط‌های آبی و کسب صرفه اقتصادی بیشتر است و بنابراین این نتایج به افزایش بهره‌وری اقتصادی (افزایش رشد ماهیان در پروش تجاری ماهیان) و توسعه پایداری و حفظ محیط‌زیست کمک شایانی خواهند نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از همکاری امور پژوهشی دانشگاه تبریز اعلام می‌دارند.

منابع

1. Abedi, S. Z., Yeganeh, S., Moradian, F. and 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). *Journal of Applied Ichthyological Research*, *7*(1), pp.85-100. [In Persian]
2. Afinah, S., Yazid, A. M., Anis Shobirin, M.H. and Shuhaimi M., 2010. Phytase: application in food industry. *International Food Research Journal*, *17*(1), pp.13-21.
3. Andriarimalala, H.J., Dubeux Jr. J.C, Jaramillo, D.M., Rakotozandriny, J.N., Salgado, P., 2021. Using n-alkanes to estimate herbage intake and diet composition of cattle fed with natural 718 forages in Madagascar. *Animal Feed Science and Technology*, *273*, pp.114795. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2020.114795
4. Andrzejak, R. and Janowska, B., 2022. *Trichoderma* spp. Improves Flowering, Quality, and Nutritional Status of Ornamental Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*, pp.15662. DOI:10.3390/ijms232415662
5. Atkinson, J. L., Hilton, J. W. and Slinger, S. J., 1984. Evaluation of Acid-Insoluble Ash as an Indicator of Feed Digestibility in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *41*(9), pp.1384-1386. DOI: 10.1139/f84-170
6. Baruah, K., Sahu, N.P., Pal, A.K. and Debnath, D., 2004. Dietary phytase: An ideal approach for cost effective and low-polluting aquafeed. NAGA, World Fish Center Quarterly, 27, pp.15-19.
7. Baruah, K., Sahu, N.P., PAL, A.K. and Debnath, D., 2007. Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), Juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, *38*(2), pp.238-249. DOI:10.1111/j.1749-7345.2007.00095.x
8. Behzad, H., Ghoorchi, T., Hossein Abadi, M. and Bashtini, J., 2024. Comparison of total feces collection methods and internal markers in determining the digestibility of wheat straw with pomegranate pomace or chicken manure in camel. *Animal Production*, *26*(2), pp.137-149. DOI:10.52547/rap.26.2.137
9. Bowen, S.H., 1981. Digestion and assimilation of periphytic detrital aggregate by Tilapia mossambica. *Transactions of the American Fisheries Society*, *110*(2), pp.239-245. DOI: 10.1577/1548-8659(1981)110<239:DAAOPD>2.0.CO;2
10. Cao, C., Liu, Y. and Lehmann, M., 2007a. Fork head controls the timing and tissue

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

broilers fed diets with varying metabolizable energy, digestible amino acids, and available phosphorus concentration. *Poultry Science*, *102*(7), pp.102755. DOI: 10.1016/j.psj.2023.102755

18. Dalsgaard, J., Ekmann, K. S., Pedersen, P. B. and Verlhac, V., 2009. Effect of supplemented fungal phytase on performance and phosphorus availability by phosphorus-depleted juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and on the magnitude and composition of phosphorus waste output. *Aquaculture*, *286*(1), pp.105–112. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.10.046
19. De Silva, S.S. and Perera, M.K., 1983. Digestibility of an aquatic macrophyte by cichlid Etroplus suratensis (Bloch) with observations on the relative merits of three indigenous components as markers and daily changes in protein digestibility. *Journal of Fish Biology*, *23*(6), pp.675-684. DOI:10.1111/j.1095-8649.1983.tb02933.x
20. Debnath, D., Pal, A.K. and Sahu, N.P., 2005. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research*, *36*(2), pp.180-187. DOI:10.1111/j.1365-2109.2004.01193.x
21. Dersjant-Li, Y., Awati, A., Schulze, H. and Partridge, G., 2015. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(5), pp.878-96. DOI:10.1002/jsfa.6765
22. Dersjant-Li, Y., Belloa, A., Esteve-Garcia, E., Creus, C.R. and Marchal, L., 2021. A novel consensus bacterial 6-phytase variant totally replaced supplemental inorganic phosphate from one day of age in both male and female broilers. *British Poultry Science*, *62*(6), pp.166-171. DOI: 10.1080/00071668.2021.1929841
23. Eaton, A.D., Clesceri, L.S., Rice, E.W. and Greenberg, A.E., 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21th edition. American Public

selectivity of steroid-induced developmental cell death. *Journal of Cell Biology*, *176*(6), pp.843-852. DOI:10.1083/jcb.200609144
11. Cao, L., Wang, W., Yang, Ch., Yi, Y., Diana J., Yakupitiyage, A., Luo, Z. and Li, D., 2007b. Application of microbial phytase in fish feed. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), pp.497-507. DOI:10.1016/j.enzmictec.2007.01.007
12. Carter, C.G. and Hauler, R.C., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, *185*, pp.299–311. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00307-0
13. Catacutan, M.R., Eusebio, P.S. and Teshima, S.I., 2003. Apparent digestibility of selected feedstuffs by mud crab, Scylla serrate. *Aquaculture*, *216*(1), pp.253–261. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00436-6
14. Cheng, Z.J. and Hardy, R.W., 2003a. Effect of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, *9*(2), pp.77–83. DOI: 10.1046/j.1365-2095.2003.00230.x
15. Cheng, Z.J. and Hardy, R.W., 2003b. Effects of extrusion and expelling processing, and microbial phytase supplementation on apparent digestibility coefficients of nutrients in full-fat soybeans for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, *218*(1-4), pp.501-514. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00383-4
16. Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Verlhac, V. and Gabaudan, J., 2004. Effects of microbial phytase supplementation and dosage on apparent digestibility coefficients of nutrients and dry matter in soybean product-based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the World Aquaculture Society*, *35*(1), pp.1–15. DOI:10.1111/j.1749-7345.2004.tb00081.x
17. Cozannet, P., Jlali, M., Moore, D., Archibeque, M. and Preynat, A., 2023. Evaluation of phytase dose effect on performance, bone mineralization, and prececal phosphorus digestibility in

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

10.1007/s00253-008-1835-1

31. Imanpoor, M.R., Mohseni, M. and Karaminasab, M., 2019. Evaluation of phytase supplementation on the replacement of fish with soy flour on growth indices and some blood and biochemical parameters of serum free salmon (*Salmo trutta* caspius). *Journal of Animal Environment*, *11*(4), pp.177-186. [In Persian]
32. Ilgen, C., Cereghino, J.L. and Cregg, J.M., 2004. Pichia pastoris. Production of Recombinant Proteins: Microbial and Eukaryotic Expression Systems (Gellissen G, Ed), pp.143–162. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany. DOI:10.1002/3527600032.ch7
33. ISO, 1998. Animal Feeding Stuffs – Determination of Phosphorus Content – Spectrometric Method, ISO 6491:1998. International Organization for Standardization, Geneva.
34. Kaiza, V.E., Yildiz, M., Eldem, V., Golzaradabi, S. and Ofori-Mensah, S., 2023. The effects of dietary microbial 6-phytase on growth parameters, intestinal morphometric properties and selected intestinal genes expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1876). *Journal of Animal Physiology and* A*nimal Nutrition*, *107*(4), pp.1517-1529. DOI:10.1111/jpn.13858
35. Karatas, S., Turgay, E., Yıldız, M., E. Kaiza, V., Eda Yardımcı, R. and Marken Steinum, T., 2023. Mucosal bacteriomes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestines are modified in response to dietary phytase. *Aquaculture*, *574*, pp.739672. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739672
36. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D. and Soto, C.G., 2008. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, *29*(2), pp.89 – 101. DOI:10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x
37. Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S., DE Boeck, G. and Becker, K., 2012. Phytate and phytase in fish nutrition. *Animal Physiology and Animal Nutrition*, *96*(3), pp.335-364. DOI:10.1111/j.1439-

Health Association. Washington, DC. 1288 p.
24. Edwards, P.T., Hazel, S.J., Browne, M., Serpell, J.A. and McArthur, M.L., 2019. Investigating risk factors that predict a dog's fear during veterinary consultations. *PLOS ONE, 14*(7), pp.e0215416. DOI:10.1371/journal.pone.0215416
25. Goddard J.S. and McLean, E., 2001. Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, *194*(1–2), pp.93-98. 10.1016/S0044-8486(00)00499-3
26. González-Vega, J.C., Walk, C.L. and Stein, H.H., 2015. Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fishmeal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, *93*(10), pp. DOI: 10.2527/jas.2015-8992
27. Greiner, R. and Konietzny, U., 2006. Phytases: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. Enzymes in Farm Animal Nutrition, 2nd Edition (Eds M.R. Bedford and G.G. Partridge).
28. Greiling, A.M., Tschesche, C., Baardsen, G., Kröckel, S., Koppe, W. and Rodehutscord, M., 2019. Effects of phosphate and phytase supplementation on phytate degradation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 503, pp.467–474. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.01.035
29. Han, Y.M. and Lei, X.G., 1999. Role of glycosylation in the functional expression of an *Aspergillus Niger* phytase (phyA) in Pichia pastoris. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *364*, pp.83–90. DOI: 10.1006/abbi.1999.1115
30. Huang, H.Q., Shao, N. and Wang, Y.R., 2009. A novel betapropeller phytase from *Pedobacter nyackensis* MJ11CGMCC 2503 with potential as an aquatic feed additive. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *83*(2), pp.249-259. DOI:

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

of dietary phytase and wheat bran on some growth performances and phosphorus absorption function of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *27*(3), pp.78-83. [In Persian]

46. Morales, A.E., Cardenete, G., Sanz, A. and de la Higuera, M., 1999. Re-evaluation of crude ®bre and acid-insoluble ash as inert markers, alternative to chromic oxide, in digestibility studies with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, *179*(1), pp.71-79. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00153-2
47. Morales, G.A., Denstadli, V., Collins, S.A., Mydland, L.T., Moyano, F.J. and Overland, M., 2015. Phytase and sodium diformate supplementation in a plantbased diet improves protein and mineral utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 22, pp.1301-1311. DOI: 1 0.1111/anu.12340
48. Mullaney, E.J., Daly, C.B. and d Ullah, A.H., 2000. Advances in phytase research. *Advances in Applied Microbiology*, *47*, pp.157-99. DOI:10.1016/S0065-2164(00)47004-8
49. Nwanna, L.C. and Schwarz, F.J., 2007. Effect of supplemental phytase on growth, phosphorus digestibility and bone mineralization of common carp (*Cyprinus carpio* L). *Aquaculture Research*, *38*(10), pp.1037-1044. DOI:10.1111/j.1365-109.2007.01752.x
50. Pragya, B., Kant Sharma, K. and Singh, B., 2023. Phytase from Aspergillus oryzae SBS50: Biocatalytic reduction of anti-nutritional factor and exhibiting vanadium-dependent haloperoxidase activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *52*(4), pp.102840. DOI: 10.1016/j.bcab.2023.102840
51. Rachmawati, D., Har Riyadi, P., Samidjan1, I., Elfitasari1, T., Chilamawati1, D., Seto Windarto1, Amalia1, R., Nurhayati1, D., Yuniarti1, T. and Yunanto, Y., 2023. Phytase Enzyme Ameliorates Growth Performance, Mineral Digestibility, Amino Acid Digestibility and Body Chemical Composition of the Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) at 396.2011.01169.x
38. Lee, S.A., Lupatsch, I., Gomes, G.A. and Bedford, M.R., 2020. An advanced Escherichia coli phytase improves performance and retention of phosphorus and nitrogen in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low phosphorus plant-based diets, at 11 °C and 15 °C. *Aquaculture*, *516*, pp.734549. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734549
39. Lei, X. G. and Porres, J.M., 2003. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters*, *25*(21), pp.1787-1794. DOI:10.1023/A:1026224101580
40. Liebert, F. and Portz, L., 2005. Nutrient utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus)* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of neutral phytase. *Aquaculture*, *248*(1), pp.111-119. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.04.009
41. Liu, H., Wu, X., Zhao, W., Xue, M., Guo, L., Zheng, Y. and Yu, Y., 2008. Nutrients apparent digestibility coefficients of selected protein sources for juvenile Siberian sturgeon, *Acipenser baerii* Brandt, compared by two chromic oxide analyses methods. *Aquaculture Nutrition*, *15*(6), pp.650–656. DOI:10.1111/j.1365-2095.2008.00634.x
42. Liu, L.W., Su, J. and Luo, Y., 2012. Effect of partial replacement of dietary monocalcium phosphate with neutral phytase on growth performance and phosphorus digestibility in gibel carp, *Carassius auratus* gibelio (Bloch). *Aquaculture Research*, *43*(9), pp.1404-1413. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02944.x
43. Lori, O., Thava, V. and James, H.H., 2001. Phytic acid. Food Reviews International, 17(4), pp.419-431. DOI: 10.1081/FRI-100108531
44. Marais, J.P., 2000. Use of markers. In: J.P.F. Mello (Editor). Farm Animal Metabolism and 774 Nutrition. CABI International, Wallingford, Oxon (UK), pp.255-277.
45. Mohammadi, N., Hosseini Shekarabi, S. and Shamsaie Mehrgan, M., 2018. Effect

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. *Aquaculture*, *43*(4), pp.391-399. DOI:10.1016/0044-8486(84)90247-3

60. Terrey, D.E., Braidi, D.A. and Serwata, R., 2023. Effect of a microbial phytase on the growth performance, digestibility and retention in a high plant meal inclusion diet for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture International*, *32*(3), pp.1-16. DOI:10.1007/s10499-023-01295-1
61. Vandenberg, G. W., Scott, S. L., Sarker, P. K., Dallaire, V. and No€ue, J., 2011. Encapsulation of microbial phytase: effects on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology*, 169(3), pp.230–24. DOI:10.1016/j.anifeedsci.2011.07.001
62. Vielma, J., Ruohonen, K. and Peisker, M., 2002. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, *204*(1), pp.145–156. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00653-6
63. Vielma, J., Ruohonen, K., Gabaudan, J., Vogel, K., 2004. Top-spraying soybean meal-based diets with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, *35*(10), pp.955–964. DOI:10.1111/j.1365-2109.2004.01106.x
64. Wang, A.M., Yin, Y.G. and Liu, W.B., 2005. Research on the mechanism of phytase in aqua-animal and its application. *Journal of Yancheng Institute of Technology (natural science)*, 3, pp.52-55.
65. Wang, F., Yang, Y.H., Han, Z.Z., Dong, H.W., Yang, C.H. and Zou, Z.Y., 2009. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*O. mykiss* Walbaum). *Aquaculture International*, *17*, pp.143-157. DOI:10.1007/s10499-008-9187-5
66. Xu, S.D., Zheng, X., Dong, X.J., Ai, Q.H. and Mai, K.S., 2022. Beneficial effects of phytase and/or protease on growth performance, digestive ability, immune Rearing Stage. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, *27*(4), pp.1-14. DOI: 10.47836/pjtas.46.2.20
52. Riche, M. and Brown, P.B., 1996. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, *142*(3), pp.269–282. DOI: 10.1016/0044-8486(95)01218-4
53. Rodriguez, E., Porres, J.M., Han, Y. and Lei, X.G., 1999. Different sensitivity of recombinant Aspergillus Niger phytase (r-PhyA) and Escherichia coli pH 2.5 acid phosphatase (r-ppA) to trypsin and pepsin in vitro. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *365*(2), pp.262–267. DOI: 10.1006/abbi.1999.1184
54. Rodriguez, E., Mullaney, E. and Lei, X.G., 2000. Expression of the *Aspergillus fumigatus* gene in Pichiapastoris and characterization of the recombinant enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *268*(2), pp.373–378. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2121
55. Rutherfurd, S.M., Chung, T.K., Morel, P.C.H. and Moughan, P.J., 2004. Effect of Microbial Phytase on Ileal Digestibility of Phytate Phosphorus, Total Phosphorus, and Amino Acids in a Low-Phosphorus Diet for Broilers. *Poultry Science*, *83*(1), pp.61-68. DOI: 10.1093/ps/83.1.61
56. Shrivastava, V.S. and Talapatra. S.K., 1962. Pasture studies in Uttar Pradesh. II. Use of some natural indicators to determine the plane of nutrition of a grazing animal. *Indian Journal of Dairy Science*, *15*, pp.154.
57. Sugiura, S.H., Gabaudan, J., Dong, F.M. and Hardy, R.W., 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) fed soybean meal-based diets. *Aquaculture Research*, *32*(7), pp.583-592. DOI:10.1046/j.1365-109.2001.00581.x
58. Sugiura, S.H., 2018. Phosphorus in Fish Nutrition; Bookway Academic Publishing: Hyogo, Japan, 420 P.
59. Tacon, A.G.J. and Rodrigues, A.M., 1984. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]

response and muscle amino acid profile in low phosphorus and/or low fishmeal gibel carp (*Carassius auratus* gibelio) diets. *Aquaculture*, *555*(2), pp.738157. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.738157

67. Yan, F. and Waldroup. P.W., 2006. Nonphytate phosphorus equirement and phosphorus excretion of broiler chicks fed diets composed of normal or high available phosphate corn as influenced by phytase supplementation and vitamin D source. *International Journal of Poultry Science*, *5*(3), pp.219-228. DOI:10.3923/ijps.2006.219.228
68. Yun, B., Xue, M., Wang, J., Sheng, H., Zheng, Y. and Wu, X., 2014. Fishmeal can be totally replaced by plant protein blend at two protein levels in diets of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser Baerii*). *Aquaculture Nutrition*, *20*(1), pp.69-78. DOI:10.1111/anu.12053
69. Zargarian, P., Abedian, A. and Nazari, R., 2007. Influence of supplemental phytase on fish meal replacement by soybean and its effects on growth and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, *16*(2), pp. 75-84. [In Persian]
70. Zeraatpisheh, F., Farahmand, H., Mirvaghefi, A., Heidarieh, M. and Shahbazi, S., 2024. Evaluation of the physiological effects of Trichoderma spp. on growth factors, hematology and approximate analysis of carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fisheries*, *77*(1), pp. 93-105. [In Persian]
71. Zhang, X., Roland, D.A., McDaniel, G.R. and Rao, S.K., 1999. Effect of Natuphos phytase supplementation to feed on performance and ileal digestibility of protein and amino acids of broilers. *Poultry science*, *78*(11), pp.1567-72. DOI:10.1093/ps/78.11.1567

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-06]

[DOI: 10.71901/jad-2025-1-884]