



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 8, No. 4, 2023, pages: 1-18
DOI: 10.22124/janb.2023.23378.1177



Effects of replacing different levels of fermented soybean meal in diet on some hematological and immunological indices of Beluga (*Huso huso*)

Ali Khodadoust¹, Majidreza Khoshkholgh^{1*}, Hamid Allaf Noveirian¹, Mahmoud Mohseni²,
Hossein Khara³

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

2- International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Guilan, Iran

3- Department of Fishery, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran

Received 2 October 2022

Revised 11 December 2022

Accepted 14 December 2022

KEYWORDS ABSTRACT

Sturgeon

Fish meal

Nutrition

Vegetable

protein

Blood

This study was conducted to evaluate the effects of replacing fishmeal with fermented soybean meal on some hematological and immunological indices of Beluga, *Huso huso*. For this purpose, 240 Beluga (394.6 ± 4.3 g) were distributed in eight treatments (with three replications). The experimental treatments included T₁: fish meal (FM), T₂: (FM + methionine and lysine), T₃: Fermented soybean 40% (FSBM40), T₄: (FSBM60), T₅: (FSBM80), T₆: (FSBM40 + methionine and lysine), T₇: (FSBM60 + methionine and lysine) and T₈: (FSBM80 + methionine and lysine). During the 56-day feeding period, the fish were fed to apparent satiation three times daily. The results showed that there was no significant difference in hemoglobin, hematocrit, MCHC, neutrophil, monocyte and eosinophil values ($p > 0.05$). However, the highest number of white and red blood cells was observed in the diets containing FM and FM + methionine and lysine, respectively ($p < 0.05$). Furthermore, higher amounts of MCV and lymphocytes in T₆ and higher amounts of MCH in T₅, T₆ and T₈ were observed than in the other treatments ($p < 0.05$). Also, the highest amounts of lysozyme were observed in T₄. In addition, T₄ and T₇ exhibited higher amounts of IgM and total immunoglobulin than the other treatments ($p < 0.05$). Based on the results, the best performance of hematological and immunological indices was observed in replacing 40-60% fishmeal with fermented soybean meal.

*Corresponding author: majidreza@guilan.ac.ir





تغذیه آبزیان

سال هشتم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۱، صفحات ۱۸-۱
DOI: 10.22124/janb.2023.23378.1177

"مقاله پژوهشی"

اثر جایگزینی سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیر شده در جیره غذایی بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی

علی خدادوست^۱، مجیدرضا خوش خلق^{۱*}، حمید علاف‌نویریان^۱، محمود محسنی^۲، حسین خارا^۳

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

۲- موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، گیلان

۳- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

کلمات کلیدی

چکیده

این تحقیق برای تعیین اثر جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره غذایی بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی در فیل ماهی (*Huso huso*) انجام شد. به این منظور، ۲۴۰ قطعه فیل ماهی (۴/۳ ± ۳۹۴/۶ گرم) در هشت تیمار با سه تکرار توزیع شدند. تیمارهای غذایی شامل تیمار ۱ (آرد ماهی)، ۲ (آرد ماهی + متیونین و لایزین)، ۳ (۴۰٪ کنجاله سویای تخمیری)، ۴ (۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری)، ۵ (۸۰٪ کنجاله سویای تخمیری)، ۶ (۴۰٪ کنجاله سویای تخمیری + متیونین و لایزین)، ۷ (۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری + متیونین و لایزین) و ۸ (۸۰٪ کنجاله سویای تخمیری + متیونین و لایزین) بود. غذاهای ماهیان براساس اشتها و روزانه در سه نوبت طی ۵۶ روز انجام شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل وجود ندارد ($P > 0.05$). با وجود این، بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار ۱، بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار ۲، بیشترین مقادیر MCV و لئوسیت در تیمار ۶ و بیشترین مقادیر MCH در تیمارهای ۵، ۶ و ۸ مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین، بیشترین مقادیر لیزوزیم در تیمار ۴ و بیشترین مقادیر IgM و ایمونوگلوبین کل در تیمارهای ۴ و ۷ مشاهده شد ($P < 0.05$). بر اساس نتایج، بهترین عملکرد شاخص‌های خونی و ایمنی در جایگزینی ۴۰ تا ۶۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری مشاهده شد.

مقدمه

افزایش جمعیت، سبب افزایش تقاضای روزافزون برای آبرزی‌پروری شده است (Mathisen, 2010). در این بین، پرورش ماهیان خاویاری با استفاده از غذاهای مصنوعی رواج یافته است (Hung, 2017). فیل‌ماهی به‌دلیل پتانسیل تولید گوشت و خاویار با کیفیت بالا گونه مناسبی در بین ماهیان خاویاری است (Falahatkar and Poursaeid, 2013). توانایی سازگاری با تغییر دما، شوری و غذاهای کنسانتره و توانایی هیبریدگیری با استرلیاد از دیگر ویژگی‌های این ماهی است. در ایران نیز، این ماهی به‌دلیل رشد سریع، تولید کافی بچه ماهی و قیمت مناسب گوشت و خاویار گونه اصلی پرورشی است (مومن‌نیا و همکاران، ۱۳۸۹).

با توجه به این‌که غذای ماهیان ۵۰ تا ۶۰٪ از هزینه تولید آبریان را شامل می‌شود (Cho et al. 2005) و کیفیت مواد پروتئینی موجود در جیره غذایی نقش اساسی در تنظیم رشد ماهیان و غذای مصرفی دارد (Tacon and Metian, 2008)، گسترش سریع آبرزی‌پروری می‌تواند سبب بروز مشکلاتی در تهیه غذای دام و آبریان پرورشی شود (FAO, 2014). آرد ماهی مدت‌هاست که به‌عنوان منبع پروتئین با کیفیت بالا برای فرمولاسیون غذای آبریان استفاده می‌شود. با وجود این، اتکا به آرد ماهی به‌دلیل افزایش مداوم قیمت (Rahimnejad et al. 2018)، به‌عنوان محدودیتی در توسعه صنعت آبرزی‌پروری است (Tacon and Metian, 2008). همچنین، بهره‌برداری غیرپایدار ذخایر وحشی ماهیان برای تأمین آرد ماهی نیز سبب نگرانی است (Naylor et al. 2009)؛ بنابراین، با توسعه آبرزی‌پروری، افزایش تقاضا و قیمت آرد ماهی اجتناب‌ناپذیر است (Tacon and Metian, 2015). از این‌رو، منابع محدود آرد ماهی نمی‌تواند از صنعت غذای آبریان حمایت کند (Yao et al. 2020) اما هنوز توان بالقوه قابل توجهی برای جایگزین‌های مقرون به‌صرفه آرد ماهی وجود دارد (Suarez et al. 2013).

در نتیجه، اقداماتی برای جایگزینی آرد ماهی و یا کاهش گنجاندن آن در جیره غذایی ماهیان انجام شده است. پروتئین‌های گیاهی به‌دلیل هزینه کمتر و دسترسی فراوان، کاندیدای اصلی جایگزینی هستند (Gatlin et al. 2007). در این میان، کنجاله سویا به‌عنوان بهترین ماده غذایی جایگزین (Ilham and Fotedar, 2017) به‌دلیل سطح

بالای پروتئین، قیمت پایین، پروفایل اسید آمینه نسبتاً متعادل، تأمین پایدار و قابلیت هضم نسبتاً زیاد بسیار استفاده می‌شود (Gatlin et al. 2007). با این حال، به دلیل اشکالاتی نظیر کمبود برخی اسیدهای آمینه ضروری، خوش طعم نبودن و بروز عوامل ضد تغذیه‌ای، استفاده از سطوح بالای آن با اثرات نامطلوبی همراه است (Cheng et al. 2013). ارزش غذایی کنجاله سویا توسط عوامل ضد تغذیه‌ای مانند فیتات، گلایسینین، β -کن گلایسینین، مهارکننده‌های تریپسین، رافینوز و استاکیوز کاهش می‌یابد (Li et al. 2017). بنابراین، برای افزایش سطح اختلاط کنجاله سویا در غذای آبریان، حذف یا غیرفعال‌سازی محتوای ضد تغذیه‌ای ضروری است (Sales, 2009).

روش‌های فرآوری برای کاهش محتوای ضدتغذیه‌ای و بهبود ارزش غذایی کنجاله سویا شامل روش‌های حرارتی و مکانیکی، خیساندن، جوانه‌زنی، مالت زدن و تخمیر است (Hotz and Gibson, 2007). در این بین، تخمیر راهبرد مؤثر برای غیرفعال کردن مواد ضد تغذیه‌ای است (Dawood and Koshio, 2020) که میکروارگانیسم‌ها مولکول‌های پروتئینی بزرگ را به مقادیر بیشتری از ترکیبات محلول در آب با وزن مولکولی کم (Kiers et al. 2000) و فیتات را به فسفات‌های اینوزیتول کوچک‌تر تجزیه می‌کنند (Hotz and Gibson, 2007). ریزموجوداتی مانند *Aspergillus* و *Bacillus Lactobacillus* در تخمیر استفاده شده و کارایی حذف مواد ضد تغذیه‌ای با توجه به نوع آن‌ها متفاوت است (Teng et al. 2012). میکروارگانیسم‌ها کربوهیدرات بستر را مصرف و آنزیم‌ها و اجزای پروتئینی را تولید می‌کنند (Chi and Cho, 2016). تخمیر چند سویه و چند مرحله‌ای نسبت به تخمیر تک سویه و تک مرحله‌ای کارایی بهتری در حذف مواد ضد تغذیه‌ای دارد (Hu et al. 2013). *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus plantarum* از گونه‌های پر کاربرد در تخمیر هستند. *Bacillus subtilis* سبب کاهش مواد ضد تغذیه‌ای شده و با تولید پروتئاز، پروتئین‌ها را تجزیه می‌کند (Wongputtisin et al. 2014). *Lactobacillus plantarum* از باکتری‌های اسید لاکتیک، توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک سبب تخریب زنجیره‌های پلی‌پپتیدی شده (Hong et al. 2004) و با ترشح اسیدهای آلی سبب تشکیل کمپلکس‌های محلول از

محل و طراحی آزمایش

این مطالعه در پاییز ۱۴۰۰ و در موسسه تحقیقات بین-المللی ماهیان خاویاری دریای خزر (ایستگاه چابکسر) روی ۲۴۰ قطعه فیل ماهی ($4/3 \pm 394/6$ گرم) طی ۵۶ روز انجام شد. قبل از شروع آزمایش تغذیه، وضعیت سلامتی ماهیان با مشاهده بصری بررسی شد و به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شدند. همچنین، به مدت دو هفته با شرایط آزمایش سازگار شدند. طی این مدت، ماهیان با یک جیره غذایی پایه (مبتنی بر آرد ماهی) تغذیه شدند تا به جیره غذایی مصنوعی و شرایط آزمایش عادت کنند. پس از سازگاری، ماهیان به طور تصادفی در ۲۴ مخزن ۲۰۰۰ لیتری (ده ماهی در هر مخزن با سه تکرار در ۸ تیمار) توزیع شدند. آب مورد نیاز ماهیان به صورت جاری تامین شد و از یک دوره نوری (۱۱ ساعت روشنایی: ۱۳ ساعت تاریکی) استفاده شد. آب ورودی با شیرهای مخصوص تنظیم شد و به صورت چرخشی و ملایم وارد شده و از مرکز به بیرون انتقال یافت. ماهیان بر اساس سیری و سه بار در روز در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ تغذیه شدند. هر روز قبل از غذای، فیلتراسیون از کف مخارن انجام شد تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج شود. پس از پخش غذا نیز به منظور پیشگیری از بروز آلودگی‌های احتمالی، غذای خورده نشده با استفاده از سیفون برداشته شد تا فضولات و باقیمانده غذاها تخلیه شود. میانگین دما ($16/47 \pm 0/9$ °C) و اکسیژن ($7/9 \pm 0/3$ mg/L) با استفاده از دستگاه مولتی متر (Hach HQ40d) به صورت روزانه و میزان pH ($6/9 \pm 0/2$) هر دو هفته یکبار اندازه‌گیری شد.

سویه‌های باکتریایی، تلقیح و تخمیر کنجاله سویا
دو باکتری *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus plantarum* به صورت ویال‌های لئوفیلیزه از مرکز کلکسیون ریزموجودات سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. برای فعال‌سازی، ویال‌های لئوفیلیزه حاوی دو باکتری در شرایط استریل شکسته و در محیط‌های کشت تلقیح شدند و پس از رشد، در محیط کشت مربوطه کشت داده شدند. فعال‌سازی باکتری (*Bacillus subtilis* 1795 (DSM 3256) و (*Lactobacillus plantarum* 1745 (20174) در محیط کشت ام آر اس آگار (مرک-۱۱۰۶۶۰) انجام شد و

کمپلکس‌های نامحلول فیتات و افزایش جذب مواد معدنی می‌شود (Gibson et al. 1998).

جایگزینی منابع پروتئین گیاهی با آرد ماهی در غذای آبزیان می‌تواند به صورت جزئی یا کامل انجام شود، به شرط آن که نیاز اسیدهای آمینه گونه مورد نظر تأمین شود (Francis et al. 2001). پروتئین سویا منبع مناسب آرژنین، گلایسین و تریپتوفان بوده اما لایزین و متیونین آن کمتر از حد مطلوب است (NRC, 2011). بنابراین، جیره حاوی سویا نیازمند لایزین و متیونین به منظور افزایش رشد و کارایی غذایی ماهیان است (Kitagima and Fracalossi, 2011). افزودن لایزین و متیونین به جیره حاوی پروتئین گیاهی سبب کاهش استفاده از پروتئین غذایی می‌شود (Mai et al. 2006).

تاکنون مطالعات زیادی درباره جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره ماهیانی مانند شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) (احسانی و همکاران، ۱۳۹۶)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Barnes et al. 2012)، سیم دریایی سیاه (*Acanthopagrus schlegelii*) (Mohammadi Azarm and Lee, 2014)، تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Hassaan et al. 2015)، ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Catalán et al. 2018)، میگوی سفید اقیانوس آرام (*Litopenaeus vannamei*) (Yao et al. 2020) و کپور (*Cyprinus carpio*) (Yigit et al. 2020) انجام شده است. از آنجا که مشکل اصلی صنایع تولید غذای آبزیان یافتن منابع پروتئینی پایدار، ارزان‌تر، واجد تمام مواد مغذی و با کمترین عوارض است، این تحقیق برای تعیین سطح مناسب کنجاله سویای تخمیری در جیره غذایی و تأثیر آن بر برخی شاخص‌های خونی و ایمنی فیل‌ماهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

بیانیه اخلاق

کلیه مراحل این آزمایش توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه گیلان بررسی و با شناسه اخلاق IR.GUILAN.REC.1400.051 به تصویب رسیده است.

۴۸ ساعت انجام شد. پس از تخمیر، مخلوط در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت خشک شد تا رشد میکروبی متوقف شود. سپس، مواد تخمیر شده خرد و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Lim et al. 2016).

تهیه جیره‌های آزمایشی

آماده‌سازی جیره‌های غذایی به‌منظور تامین نیازهای پروتئینی و انرژی فیلماهی با استفاده از آرد ماهی و کنجاله تخمیری سویا به‌عنوان منابع پروتئینی و روغن ماهی به‌عنوان منابع چربی انجام شد. دو جیره غذایی پایه، جیره ۱ (شامل آرد ماهی و فاقد اسید آمینه مکمل) و جیره ۲ (شامل آرد ماهی و اسید آمینه مکمل) طراحی و سپس، ۴۰، ۶۰ و ۸۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره‌های ۳، ۴ و ۵ بدون افزودن اسید آمینه مکمل جایگزین شد. در ادامه، به‌منظور بهینه‌سازی جیره‌های ۶، ۷ و ۸، پس از جایگزینی ۴۰، ۶۰ و ۸۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری اسید آمینه مکمل نیز افزوده شد. علت انتخاب این سطوح این است که با توجه به این که در ماهیان خاویاری جایگزینی ۴۰ تا ۵۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویا انجام شده و انتظار می‌رود کنجاله سویای تخمیری اثر بهتری نیز داشته باشد، اثربخشی جایگزینی کنجاله سویای تخمیری تا سطح ۸۰٪ با استفاده از این سطوح سنجیده شد. بنابراین، جیره‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل موارد ذکر شده در جدول ۱ است.

باکتری‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه رشد کردند. سپس، یک کلنی از *Bacillus subtilis* در محیط کشت نوترینت برات (مرک-۱۰۵۴۴۳) در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و یک پرگنه از *Lactobacillus plantarum* در محیط کشت ام آراس برات (مرک-۱۰۶۶۱۱) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تلقیح شد. پس از انکوبه کردن، سلول‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (با سرعت ۴۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه) برداشت شدند (Sun et al. 2011). تعداد سلول‌های هر دو باکتری CFU/mL^۷ ۱۰ تعیین شد.

برای انجام تخمیر، کنجاله سویا از بازارهای محلی تهیه و توسط *Bacillus subtilis* و *Lactobacillus plantarum* به‌صورت دو مرحله‌ای همانند مطالعات Yao و همکاران (۲۰۲۰) و He و همکاران (۲۰۲۰) تخمیر شد. ابتدا، کنجاله سویا توسط الک ۰/۵ میلی‌متری آرد و الک شد. سپس، کنجاله سویا با آب مقطر (۵۰ درصد) مخلوط شده و مخلوط تا ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو گرم شد. پس از خنک شدن تا دمای اتاق، کنجاله سویا به‌طور همگن در سینی‌های استیل از قبل استریل شده پخش شد. تخمیر با استفاده از دو باکتری و به‌صورت جداگانه توسط دو باکتری انجام شد. در ابتدا، باکتری *Bacillus subtilis* به بستر اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط هوازی انکوبه شد. در ادامه، باکتری *Lactobacillus plantarum* نیز در کل بستر مخلوط و فرآیند تخمیر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط بی‌هوازی در عرض

جدول ۱ جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری مورد استفاده در فیلماهی (*Huso huso*).

جیره ۱ (فاقد اسید آمینه مکمل)	جیره ۲ (دارای اسید آمینه مکمل)
جیره حاوی آرد ماهی (FM)	جیره حاوی آرد ماهی+متیونین و لایزین (FM+ML)
جیره ۳	جیره حاوی ۴۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری (FSBM ₄₀)
جیره ۴	جیره حاوی ۶۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری (FSBM ₆₀)
جیره ۵	جیره حاوی ۸۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری (FSBM ₈₀)
جیره ۶	جیره حاوی ۴۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری+متیونین و لایزین (FSBM ₄₀ +ML)
جیره ۷	جیره حاوی ۶۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری+متیونین و لایزین (FSBM ₆₀ +ML)
جیره ۸	جیره حاوی ۸۰٪ جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری+متیونین و لایزین (FSBM ₈₀ +ML)

اتاق به مدت تقریبی ۴۸ ساعت خشک شد. پس از خشک شدن، پلت‌ها خرد و به اندازه ذرات مناسب برای ماهیان خاویاری غربال شدند (Shcherbina et al. 1985) تا خاکه آن گرفته شود. سپس، تا زمان استفاده در آزمایش تغذیه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین، ارزیابی ترکیبات جیره‌های غذایی نیز با توجه به روش‌های استاندارد انجام شد. فرمول خوراک و محتویات تقریبی ترکیب در جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است.

مواد مورد نیاز جیره از مراکز معتبر تهیه و در ساخت جیره استفاده شد و با استفاده از نرم‌افزار لیندو جیره‌نویسی انجام شد. روش‌های تهیه و نگهداری جیره غذایی همان‌طور که قبلاً توسط Bai و Kim (۱۹۹۷) ذکر شده انجام شد. به طور خلاصه، هنگام تهیه جیره‌های غذایی، مواد تشکیل دهنده خشک آسیاب و سپس، توسط الک غربال شد. پس از آن، تمام مواد غذایی جامد توزین شده و توسط یک همزن برقی با هم مخلوط شدند. سپس، روغن ماهی و آب به تعلیق اضافه، و خمیر یکنواختی ایجاد شد. پس از آن، خمیر با استفاده از دستگاه پلت‌زنی به شکل پلت در آمد و در دمای

جدول ۲ فرمول و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری مورد استفاده در فیل ماهی (*Huso huso*).

جیره‌های غذایی								اجزای جیره (%)
FSBM ₈₀ +ML	FSBM ₆₀ +ML	FSBM ₄₀ +ML	FSBM ₈₀	FSBM ₆₀	FSBM ₄₀	FM+ML	FM	
۸/۹	۱۸/۳	۲۸/۷	۸/۹	۱۸/۳	۲۸/۷	۴۹/۳	۴۹/۳	آرد ماهی ^۱ کنجاله
۳۵/۶	۲۷/۴	۱۹/۷	۳۵/۶	۲۷/۴	۱۹/۱	۰	۰	تخمیری سویا
۱۲/۳	۱۱	۸/۵	۱۲/۴	۱۱/۲	۸/۵	۳/۳	۳/۳	گلوتن گندم
۹/۹	۱۰	۱۰/۱	۹/۹	۱۰/۱	۱۰/۴	۱۱	۱۱	آرد گندم
۷/۳	۷/۳	۷/۷	۸/۳	۸/۳	۸/۳	۸/۳	۸/۳	آرد گوشت
۱/۵	۲	۱/۵	۲/۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲	۲/۲	آرد خون
۱۴/۱	۱۳/۵	۱۳/۳	۱۳/۷	۱۳/۵	۱۳/۳	۱۲/۷	۱۲/۶	روغن ماهی
۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	لسیتین سویا
۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	مکمل ویتامینه ^۲
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	مکمل معدنی ^۳
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	ویتامین E
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	ویتامین C
۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	۱/۱	مونوکلسیم فسفات
۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	ال کارنیتین
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰	۰	۰	۰/۵	۰	متیونین
۱	۱	۱	۰	۰	۰	۱	۰	لازین

کولین	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
کلراید	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷
اکسید کروم	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
سلولز	۴/۳	۲/۷	۰/۵	۰	۰	۰	۰	۰/۱۶
آنالیز تقریبی								
ماده خشک (%)	۹۳/۹۴	۹۴/۱۱	۹۴/۱۱	۹۴/۰۲	۹۴/۱۱	۹۴/۱۱	۹۳/۲۲	۹۳/۲۲
پروتئین خام (%)	۴۵/۲۴	۴۶/۲۷	۴۳/۲۶	۴۱/۷۰	۴۰/۸۲	۴۴/۲۶	۴۱/۰۲	۴۲/۴۸
چربی خام (%)	۱۵/۵۰	۱۵/۳۵	۱۳/۸۱	۱۳/۵۹	۱۳/۳۸	۱۳/۷۶	۱۳/۰۹	۱۳/۲۷
خاکستر (%)	۱۰/۵۱	۱۰/۱۸	۹/۶۶	۸/۹۲	۸/۵۶	۹/۴۴	۸/۳۶	۸/۶۷
انرژی ناخالص (MJ/kg)	۲۰/۷۰	۲۰/۸۲	۲۰/۳۷	۲۰/۳۳	۲۰/۳۰	۲۰/۴۱	۲۰/۱۴	۲۰/۲۷

۱. شرکت آرد ماهی خزر (کیاشهر، ایران).

۲. شرکت لابراتورهای دارویی سیانس (قزوین، ایران). مکمل ویتامینه (برحسب IU یا میلی‌گرم در کیلوگرم): دی-آل - آلفا توکوفرول استات ۶۰ IU، دی-آل - کوله کلسیفرول ۳۰۰۰ IU، تیامین ۱۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین ۳۰ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین ۱۵ میلی‌گرم، ویتامین B₁₂ ۰/۰۵ میلی‌گرم، اسید نیکوتینیک ۱۷۵ میلی‌گرم، اسید فولیک ۵ میلی‌گرم، اسید اسکوربیک ۵۰۰ میلی‌گرم، اینوزیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم، بیوتین ۲/۵ میلی‌گرم، دی-کلسیم پانتوتنات ۵۰ میلی‌گرم.

۳. شرکت لابراتورهای دارویی سیانس (قزوین، ایران). مکمل معدنی (میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم): کربنات کلسیم ۲/۱۵ گرم، اکسید منیزیم ۱/۲۴ گرم، سترات آهن ۰/۲ گرم، یدید پتاسیم ۰/۴ میلی‌گرم؛ سولفات روی ۰/۴ میلی‌گرم، سولفات مس ۰/۳ میلی‌گرم، سولفات منگنز ۰/۳ میلی‌گرم، فسفات کلسیم ۵ گرم، سولفات کبالت ۲ میلی‌گرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم، کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم، کلرید سدیم ۰/۴ گرم.

شاخص‌های خونی

در پایان آزمایش، سه ماهی در هر مخزن به‌طور تصادفی صید شد و برای جلوگیری از استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری غذاهای ماهیان قطع شد. ماهیان با پودر گل میخک (دوز ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند و نمونه‌های خون با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری (Raida et al. 2003) از انتهای باله منجمدی و در زیر ساقه دمی ماهیان جمع‌آوری و به دو قسمت تقسیم شد. پس از گرفتن تمام

خون، بخشی از آن (بخش اول) در ویال‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین ریخته شد. میزان هماتوکریت (Hct) با روش استاندارد میکروههماتوکریت (Řehulka, 2000) و میزان هموگلوبین (Hb) با روش سیان مت‌هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Avecilla et al. 2016). تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و تعداد کل گلبول‌های سفید خون (WBC) با استفاده از لام نفوبار و مطابق با روش استاندارد توصیف شده توسط Rawling و همکاران (۲۰۰۹) تعیین شد.

$10000 \times (\text{تعداد گلبول قرمز در } 5 \text{ مربع کوچک}) = (\times 10^3 / \text{mm}^3)$ تعداد گلبول‌های قرمز

$50 \times (\text{تعداد گلبول سفید در } 4 \text{ مربع کوچک}) = (\times 10^3 / \text{mm}^3)$ تعداد گلبول‌های سفید

غلظت هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Houston, 1990):

همچنین، میانگین حجم گلبول‌های قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و میانگین

MCV (fL) = تعداد گلبول‌های قرمز / هماتوکریت) × ۱۰

MCH (pg/cell) = تعداد گلبول‌های قرمز / هموگلوبین) × ۱۰

MCHC (%) = هماتوکریت / هموگلوبین) × ۱۰۰

پس از تهیه گسترش خونی، برای رنگ‌آمیزی گلبول‌های سفید از متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰٪ گیمنسا (ساخت شرکت Merck آلمان) استفاده شد و شمارش انواع گلبول‌های سفید نظیر نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل به روش زیگزاک انجام شد (Klontz, 1994).

شاخص‌های ایمنی خون

به قسمت دوم نمونه خون اجازه داده شد که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد لخته شود و سپس، در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Panigrahi et al. 2005). سرم غیر همولیز جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده ذخیره شد (Pottinger and Carrik, 2001). فعالیت لیزوزیم سرم با توجه به روش‌های توصیف شده توسط Ellis (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۵۰ میلی‌لیتر سرم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری، و جذب نوری آن در ۵۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر پروتئین کل تیمار شده با پلی‌اتیلن گلیکول - پروتئین کل در نمونه سرم = (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) ایمونوگلوبولین کل

۳ نشان داده شده است. اگرچه نتایج این بررسی نشان داد که سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری اثری بر مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل ندارد ($p > 0.05$)، اما تعداد گلبول سفید در جیره حاوی آرد ماهی بیشترین مقدار را نشان داد ($p < 0.05$). علاوه بر این، بیشترین تعداد گلبول قرمز در جیره حاوی آرد ماهی به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین مشاهده شد ($p < 0.05$). به‌علاوه، مقادیر MCV و لنفوسیت در جیره حاوی ۴۰٪ کنجاله سویای تخمیری به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین و مقادیر MCH در جیره‌های حاوی ۸۰٪ کنجاله سویای تخمیری، ۴۰ و ۸۰٪ کنجاله سویای تخمیری به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین بیشترین مقدار را نشان داد ($p < 0.05$).

نتایج حاصل از تأثیر جایگزینی سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری بر شاخص‌های ایمنی فیل‌ماهی در جدول

پس از تهیه گسترش خونی، برای رنگ‌آمیزی گلبول‌های سفید از متانول ۹۶٪ و محلول ۱۰٪ گیمنسا (ساخت شرکت Merck آلمان) استفاده شد و شمارش انواع گلبول‌های سفید نظیر نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل به روش زیگزاک انجام شد (Klontz, 1994).

شاخص‌های ایمنی خون

به قسمت دوم نمونه خون اجازه داده شد که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد لخته شود و سپس، در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Panigrahi et al. 2005). سرم غیر همولیز جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده ذخیره شد (Pottinger and Carrik, 2001). فعالیت لیزوزیم سرم با توجه به روش‌های توصیف شده توسط Ellis (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۵۰ میلی‌لیتر سرم در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری، و جذب نوری آن در ۵۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر پروتئین کل تیمار شده با پلی‌اتیلن گلیکول - پروتئین کل در نمونه سرم = (میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر) ایمونوگلوبولین کل

تجزیه و تحلیل آماری

در ابتدا، نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگن بودن واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. سپس، داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) ارزیابی شد. در زمان مشاهده اختلاف معنی‌دار، بررسی مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای Tukey در سطح اطمینان ۹۵٪ ($p < 0.05$) انجام شد. تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (Version 16, Chicago, IL, USA) تجزیه و تحلیل شدند. همچنین، داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) ارائه شدند.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر جایگزینی سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری بر شاخص‌های خونی فیل‌ماهی در جدول

($p < 0.05$). همچنین، بیشترین مقادیر IgM و ایمنوگلوبولین کل در جیره‌های حاوی ۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری و ۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین مشاهده شد ($p < 0.05$).

۴ نشان داده شده است. بررسی آماری حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در مقادیر لیزوزیم، IgM و ایمنوگلوبولین کل است، به طوری که مقادیر لیزوزیم در جیره حاوی ۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری بیشترین مقدار را نشان داد

جدول ۳ شاخص‌های خونی در فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری (میانگین \pm انحراف معیار).

جیره‌های غذایی								شاخص‌های خونی
FSBM ₈₀ +ML	FSBM ₆₀ +ML	FSBM ₄₀ +ML	FSBM ₈₀	FSBM ₆₀	FSBM ₄₀	FM+ML	FM	
۹/۵ \pm ۰/۱ ^e	۱۰/۷ \pm ۰/۱ ^d	۱۰/۸ \pm ۰/۱ ^d	۱۰/۷ \pm ۰/۱ ^d	۱۲/۵ \pm ۰/۱ ^c	۱۲/۵ \pm ۰/۳ ^c	۱۲/۸ \pm ۰/۱ ^b	۱۳/۵ \pm ۰/۱ ^a	تعداد گلبول سفید ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
۵۳۱/۲ \pm ۱۰/۳ ^{de}	۵۷۶/۲ \pm ۸/۹ ^{abc}	۵۲۰/۴ \pm ۸/۷ ^e	۵۳۵/۸ \pm ۷/۶ ^d	۵۸۶/۱ \pm ۱۰/۳ ^{ab}	۵۷۳/۵ \pm ۹/۲ ^{bc}	۵۸۹/۰ \pm ۱۱/۱ ^a	۵۶۹/۳ \pm ۱۰/۰ ^c	تعداد گلبول قرمز ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۱ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	۵/۲ \pm ۰/۱	هموگلوبین (g/dL)
۲۶/۵ \pm ۰/۸	۲۶/۳ \pm ۰/۷	۲۷/۱ \pm ۰/۶	۲۶/۱ \pm ۰/۷	۲۷/۲ \pm ۰/۹	۲۶/۲ \pm ۰/۸	۲۶/۱ \pm ۰/۷	۲۶/۱ \pm ۰/۷	هماتوکریت (%)
۴۹۹/۹ \pm ۱۷/۰ ^{ab}	۴۵۷/۰ \pm ۱۲/۱ ^d	۵۲۱/۰ \pm ۱۳/۶ ^a	۴۸۷/۴ \pm ۱۹/۸ ^{bc}	۴۶۴/۵ \pm ۱۷/۴ ^{cd}	۴۵۷/۲ \pm ۱۵/۷ ^d	۴۴۳/۵ \pm ۱۸/۵ ^d	۴۵۸/۶ \pm ۱۳/۳ ^d	(fL) MCV
۹۸/۹ \pm ۳/۴ ^a	۹۱/۱ \pm ۲/۵ ^b	۱۰۰/۹ \pm ۲/۶ ^a	۹۸/۱ \pm ۲/۰ ^a	۸۹/۵ \pm ۲/۶ ^b	۹۰/۳ \pm ۲/۲ ^b	۸۸/۸ \pm ۱/۸ ^b	۹۲/۶ \pm ۳/۱ ^b	(pg/cell) MCH
۱۹/۷ \pm ۰/۸	۱۹/۹ \pm ۰/۸	۱۹/۳ \pm ۰/۴	۲۰/۱ \pm ۰/۷	۱۹/۲ \pm ۰/۸	۱۹/۷ \pm ۰/۸	۲۰/۰ \pm ۰/۶	۲۰/۲ \pm ۰/۷	(%) MCHC
۸۷/۰ \pm ۱/۳ ^b	۸۸/۱ \pm ۱/۳ ^{ab}	۸۹/۱ \pm ۱/۴ ^a	۸۶/۷ \pm ۱/۴ ^b	۸۶/۴ \pm ۱/۳ ^b	۸۸/۳ \pm ۱/۶ ^{ab}	۸۷/۸ \pm ۱/۴ ^{ab}	۸۷/۶ \pm ۱/۴ ^{ab}	لنفوسیت (%)
۷/۵ \pm ۱/۲	۷/۶ \pm ۱/۱	۶/۷ \pm ۰/۹	۷/۶ \pm ۱/۲	۸/۴ \pm ۱/۱	۶/۷ \pm ۱/۶	۷/۵ \pm ۱/۵	۷/۲ \pm ۱/۶	نوتروفیل (%)
۴/۲ \pm ۰/۴	۳/۵ \pm ۰/۵	۳/۵ \pm ۰/۵	۴/۲ \pm ۰/۴	۴/۲ \pm ۰/۴	۴/۲ \pm ۰/۴	۳/۶ \pm ۰/۷	۴/۱ \pm ۰/۳	مونوسیت (%)
۱/۰ \pm ۰/۰	۱/۰ \pm ۰/۵	۱/۱ \pm ۰/۳	۱/۰ \pm ۰/۰	۱/۲ \pm ۰/۴	۱/۱ \pm ۰/۳	۱/۲ \pm ۰/۴	۱/۳ \pm ۰/۵	ائوزینوفیل (%)

جدول ۴ شاخص‌های ایمنی در فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری (میانگین \pm انحراف معیار).

جیره‌های غذایی								شاخص‌های ایمنی
FSBM ₈₀ +ML	FSBM ₆₀ +ML	FSBM ₄₀ +ML	FSBM ₈₀	FSBM ₆₀	FSBM ₄₀	FM+ML	FM	
۲۹/۴ \pm ۱/۹ ^{ab}	۲۸/۵ \pm ۲/۲ ^b	۳۰/۲ \pm ۲/۱ ^{ab}	۲۹/۵ \pm ۲/۴ ^{ab}	۳۲/۵ \pm ۲/۷ ^a	۲۸/۵ \pm ۱/۷ ^b	۲۳/۵ \pm ۲/۰ ^c	۲۴/۲ \pm ۲/۱ ^c	لیزوزیم (u/ml/min)
۳۸/۷ \pm ۱/۴ ^{bc}	۴۲/۵ \pm ۱/۲ ^a	۴۰/۶ \pm ۱/۳ ^b	۳۶/۷ \pm ۱/۳ ^{cd}	۴۱/۵ \pm ۱/۹ ^a	۳۸/۵ \pm ۱/۴ ^{bc}	۳۶/۷ \pm ۱/۳ ^{cd}	۳۵/۲ \pm ۱/۱ ^d	(mg/dL) IgM
۱۵/۴ \pm ۱/۲ ^{ab}	۱۶/۷ \pm ۱/۳ ^a	۱۵/۹ \pm ۱/۱ ^{ab}	۱۵/۷ \pm ۱/۴ ^{ab}	۱۶/۵ \pm ۱/۴ ^a	۱۵/۲ \pm ۱/۳ ^{ab}	۱۴/۱ \pm ۱/۱ ^b	۱۴/۵ \pm ۱/۳ ^b	ایمنوگلوبولین کل (mg/mL)

بحث

در جیره غذایی فیلماهی بیان کردند که پروبیوتیک و تخمیر می‌توانند شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی را بهبود بخشند. همچنین، اثرات مثبت پروبیوتیک روی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی خون در فیلماهی به خوبی گزارش شده است (Akrami et al. 2013; Akrami et al. 2015; Hoseinifar et al. 2016; Gharaei et al. 2018; Adel et al. 2017; Ghiasi et al. 2016). Liu و همکاران (۲۰۱۶) با استفاده از جیره‌های حاوی کنجاله پنبه دانه در کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) گزارش کردند که شاخص‌های خونی ماهیان وابسته به گونه خاص است. Ilham و Fotedar (۲۰۱۷) با مطالعه ماهیان جوان باراموندی (*Lates calcarifer*) تغذیه شده با کنجاله سویای تخمیری گزارش کردند که کنجاله سویای تخمیر شده نقش اساسی در تنظیم فعالیت ضداکسایش آنزیمی و وضعیت خونی و بیوشیمیایی خون دارد. ترکیب جیره غذایی می‌تواند مستقیماً بر دستگاه ایمنی ذاتی ماهیان تأثیر بگذارد (Kiron, 2012). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جیره‌های حاوی ۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری و ۶۰٪ کنجاله سویای تخمیری به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین بهترین عملکرد را از نظر شاخص‌های ایمنی در مقایسه با دیگر جیره‌ها داشتند. بررسی لیزوزیم یکی از رایج‌ترین روش‌ها برای بررسی ایمنی ماهیان در نظر گرفته شده است زیرا روشی قابل اعتماد و آسان برای سنجش است. لیزوزیم شاخصی ضروری است که در طیف وسیعی از مکانیسم‌های محافظتی از جمله باکتریولیز، فعالیت‌های بیگانه خواری و ضد باکتری دخیل است (Ellis, 2001) و به‌عنوان یک شاخص ایمنی غیراختصاصی عاملی حیاتی در دستگاه دفاعی ماهیان است که با ایجاد اختلال در دیواره یاخته‌ای از تولید بیوفیلیم جلوگیری می‌کند (Adel et al. 2020). Moniruzzaman و همکاران (۲۰۱۸) با بررسی انواع کنسانتره‌های پروتئینی تخمیر شده در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش کردند که مقادیر بالاتری از لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۳۰٪ کنسانتره تخمیری در مقایسه با جیره‌های حاوی ۵۰٪ مشاهده شده است که نتایج آن ممکن است به عملکرد بهتر یا وضعیت ایمنی ماهیان در جیره‌های با جایگزینی ۳۰٪ آرد ماهی با کنسانتره تخمیری در مقایسه با سطح جایگزینی

ارزبایی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی خون برای تعیین وضعیت سلامت بسیاری از مهره‌داران از جمله ماهیان مهم است. شاخص‌های بیوشیمیایی خون برای طیف وسیعی از اهداف استفاده شده و تفاوت مشاهده شده در این شاخص‌ها به عوامل مختلفی بستگی دارد (Khodadoust, 2015). Alyakrinskyaya و Dolgova (۱۹۸۴) نشان دادند که مطالعات خون‌شناسی روی ماهیان خاویاری در درک تکامل آن‌ها و همچنین کنترل وضعیت فیزیولوژیک ماهی در شرایط پرورشی مهم است. به نظر می‌رسد که اطلاعات زیادی درباره اثر جایگزینی کنجاله سویای تخمیری بر شاخص‌های خونی ماهیان به‌خصوص ماهیان خاویاری وجود ندارد. در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه سطوح مختلف کنجاله سویای تخمیری اثری بر مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، نوتروفیل، مونوسیت و ائوزینوفیل ندارد و بیشترین تعداد گلبول سفید و قرمز در جیره‌های حاوی آرد ماهی مشاهده شد، اما ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۴۰٪ کنجاله سویای تخمیری به همراه اسید آمینه لایزین و متیونین بهترین عملکرد را از نظر شاخص‌های خونی در مقایسه با دیگر جیره‌ها داشتند. دلیل احتمالی عملکرد بهتر این جیره می‌تواند غیرفعال شدن مواد ضدتغذیه‌ای و افزایش ارزش غذایی در کنار افزودن اسیدهای آمینه ضروری باشد. تخمیر کنجاله سویا می‌تواند سبب بهبود شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی خون شود (Abdul Kader et al. 2012; Yamamoto et al. 2012) یا حداقل هیچ تأثیر منفی روی آن نداشته باشد (Dossou et al. 2018; Novriadi et al. 2018). این بدان معناست که فرآیند تخمیر احتمالاً با کاهش واکنش ایمنی آلرژیک به سویا و مواد ضد مغذی و افزایش فراهمی زیستی اجزای مغذی سبب این نتایج مثبت شده است (Seo and Cho, 2016). با وجود این، Hosseini Shekarabi و همکاران (۲۰۲۱) با مطالعه قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی کنسانتره پروتئین ذرت که با لایزین مکمل‌سازی شده بود، گزارش کردند که جایگزینی آرد ماهی با کنسانتره پروتئین ذرت هیچ اثر نامطلوبی بر ویژگی‌های خونی نداشت، اما در سطوح بالا نمی‌تواند نیاز اسید آمینه لایزین در جیره را برآورده کند. Montazeri Parchikolaei و همکاران (۲۰۲۱) با استفاده از پروبیوتیک و انجام فرآیند تخمیر

برسانند. در مطالعه حاضر نیز به نظر می‌رسد که پیوند مواد ضد مغذی با عناصر معدنی و مغذی نه تنها متأثر از افزودن اسیدهای آمینه کاهش می‌یابد، بلکه خود فرایند تخمیر نیز هم باعث کاهش مواد ضد مغذی و هم سبب افزایش اسیدهای آمینه شده است. با این حال، به نظر می‌رسد که در سطوح بالای تغذیه‌ای فرآیند تخمیر حتی همراه با اسیدهای آمینه حداقل توان تامین نیازهای تغذیه‌ای فیل-ماهی را ندارد. Montazeri Parchikolaei و همکاران (۲۰۲۱) با استفاده از پروبیوتیک و انجام فرآیند تخمیر در جیره غذایی فیل‌ماهی بیان کردند که جیره‌ای که در آن فقط از کنجاله سویا (بدون فرآوری) استفاده شده بود در مقایسه با دیگر جیره‌ها از سطوح پایین‌تری از پارامترهای ایمنی برخوردار بود. در نتیجه، پروبیوتیک‌های *B. subtilis* و *B. licheniformis* در تمام اشکال مصرفی می‌توانند ایمنی فیل‌ماهی را بهبود بخشند. تخریب فعال پروتئین‌های سویا توسط تخمیر را می‌توان به تولید آنزیم‌های خارج یاخته‌ای مانند پروتئاز نسبت داد. این توضیح توسط بسیاری از مطالعات قبلی تأیید شده است که بهبود در پروتئین محلول کل، حذف پروتئین‌های آلرژی‌زا و کاهش مواد ضد مغذی در پروتئین‌های تخمیر شده سویا را نشان می‌دهد (Frias et al. 2008; Ying et al. 2009; Wongputtisin et al. 2014).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، جایگزینی آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره غذایی فیل‌ماهی اختلاف معنی‌داری بر شاخص‌های خونی و ایمنی دارد. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، استفاده از کنجاله سویای تخمیری در سطح ۴۰ تا ۶۰٪ بهترین تاثیر را بر عملکرد شاخص‌های خونی و ایمنی داشت. بنابراین، با توجه به مشکلات مرتبط با آرد ماهی، ارزش غذایی کنجاله سویای تخمیری و عملکرد مناسب شاخص‌های خونی و ایمنی، جایگزینی ۴۰ تا ۶۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره غذایی فیل‌ماهی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

به این وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین و کلیه کارکنان موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری به‌ویژه دکتر میرحامد سیدحسینی و مهندس جواد صیادفر که در به ثمر نشستن این تحقیق تلاش کرده‌اند، ابراز می‌دارند.

۵۰٪ آرد ماهی نسبت داده شود. در راستای مطالعه ما، Abdul Kader و همکاران (۲۰۱۲)، Kokou و همکاران (۲۰۱۵) بهبود پاسخ‌های ایمنی غیراختصاصی را در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های مبتنی بر کنجاله سویای فرآوری شده، کنجاله سویای تخمیر شده و کنسانتره پروتئین سویا گزارش کردند. Hosseini Shekarabi و همکاران (۲۰۲۱) با مطالعه قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی کنسانتره پروتئین ذرت که با لایزین مکمل‌سازی شده بود بیان کردند که استفاده بیش از ۹۰ گرم بر کیلوگرم کنسانتره پروتئین ذرت سبب کاهش برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون می‌شود. Bu و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که فعالیت لیزوزیم به‌طور قابل‌توجهی در گونه *Pseudobagrus ussuriensis* تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح بالای آرد گلوتن گندم کاهش یافت. Moniruzzaman و همکاران (۲۰۱۸) در توجیه اثر مثبت سویای تخمیری بر مقادیر لیزوزیم گزارش کردند که پروتئین‌های سویا و ذرت پس از تخمیر به پپتیدهای کوچک‌تر تجزیه شده که مطابق با نتایج ارائه شده توسط Wu و همکاران (۱۹۹۸)، Barac و همکاران (۲۰۰۶) و Zhang و همکاران (۲۰۱۴) است. در واقع، به نظر می‌رسد در سطوح میانه، فرآیند تخمیر بهترین کارایی را از خود نشان داده است که نسبت به سطوح بالاتر و پایین‌تر مشهودتر است. Igm اولین نوع ایمونوگلوبولین است که در ماهی یافت شده و محتوای آن می‌تواند نشان‌دهنده قدرت ایمنی در برابر عوامل بیماری‌زا باشد (Zhang et al. 2019). نتایج مطالعه روی *Carassius auratus* تغذیه شده با جیره غذایی حاوی کنجاله سویای تخمیری نشان داد که جایگزینی ۴۰٪ آرد ماهی با کنجاله سویای تخمیری در جیره به‌طور قابل‌توجهی سطوح Igm را بهبود بخشید، که نشان می‌دهد استفاده از این ترکیب می‌تواند ظرفیت ایمنی در این ماهی را افزایش دهد (Xu et al. 2022). در مطالعه حاضر نیز سطوحی که دارای حد میانه‌ای از سویای تخمیری هستند بیشترین کارایی را نشان دادند. Dabrowski و همکاران (۲۰۰۰) با تغذیه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان بالغ با جیره‌های حاوی کنجاله پنبه دانه بیان کردند که استفاده از اسیدهای آمینه لایزین و متیونین ممکن است سبب پیوند با گوسیپول آزاد شده و به‌طور موثر تشکیل کمپلکس گوسیپول-آهن را به حداقل

گوارشی در شانک زردباله (*Acanthopagrus*)

latus). مجله علوم و فنون دریایی ۱۶: ۸-۱۷.

مومن‌نیا، م.، آری‌نژاد، غ.ر.، مینوفر، ک.، بهشتی سرشت، ن.، برادران طهوری، ه.، متین‌فر، م. ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، معرفی زمین‌های سرمایه-گذاری در زیربخش شیلات. سازمان شیلات ایران. ۷۳ صفحه.

منابع

احسانی، ج.، منیعات، م.، محمدی‌آذر، ح.، قبطانی، ع. ۱۳۹۶. اثرات جایگزینی آرد ماهی با آرد سویای تخمیر شده بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و فعالیت آنزیم‌های

- Abdul Kader, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Nguyen, B.T., Gao, J., Laining, A. 2012. Can fermented soybean meal and squid by-product blend be used as fishmeal replacements for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)? *Aquaculture Research* 43: 1427-1438.
- Adel, M., Safari, R., Yeganeh, S., Binaii, M., Ghiasi, M., Ahmadvand, S. 2017. Effect of dietary GroBiotic®-A supplementation as a prebiotic on the intestinal microflora, growth performance, haemato-serological parameters, survival rate and body composition in juvenile beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754). *Aquaculture Nutrition* 23: 492-499.
- Adel, M., Dawood, M.A., Shafiei, S., Sakhaie, F., Hosseini Shekarabi, S.P. 2020. Dietary *Polygonum minus* extract ameliorated the growth performance, humoral immune parameters, immune-related gene expression and resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 519: 734738.
- Akrami, R., Gharaei, A., Karami, R. 2013. Age and sex specific variation in hematological and serum biochemical parameters of Beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1758). *International Journal of Aquatic Biology* 1: 132-137.
- Akrami, R., Nasri-Tajan, M., Jahedi, A., Jahedi, M., Razeghi Mansour, M., Jafarpour, S. 2015. Effects of dietary synbiotic on growth, survival, *lactobacillus* bacterial count, blood indices and immunity of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. *Aquaculture Nutrition* 21: 952-959.
- Alyakrinskyaya, I.O., Dolgova, S.N. 1984. Hematological features of young sturgeons. *Voprosy Ichtiologii* 4: 135-139.
- Amar, E.C., Kiron, V., Satoh, S., Okamoto, N., Watanabe, T. 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fisheries Sciences* 66: 1068-1075.
- Avecilla, S.T., Marionneaux, S.M., Leiva, T.D., Tonon, J.A., Chan, V.T., Mung, C., Meagher, R.C., Maslak, P. 2016. Comparison of manual haematocrit determinations versus automated methods for hematopoietic progenitor cell apheresis products. *Transfusion* 56: 528-532.
- Bai, S.C., Kim, K.W. 1997. Effects of dietary animal protein sources on growth and body composition in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Journal of Aquaculture* 10: 77-85.
- Barac, M.B., Jovanovic, S.T., Stanojevic, S.P., Pesic, M.B. 2006. Effect of limited hydrolysis on traditional soy protein concentrate. *Sensors* 6: 1087-1101.
- Barnes, M.E., Brown, M.L., Rosentrater, K.A., Sewell, J.R. 2012. An initial investigation replacing fish meal with a commercial fermented soybean meal product in the diets of juvenile rainbow trout. *Open Journal of Animal Sciences* 2: 234-243.
- Bu, X., Lian, X., Zhang, Y., Chen, F., Tang, B., Ge, X., Yang, Y. 2018. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion and

- IGF-I gene expression of juvenile *Pseudobagrus ussuriensis*. *Aquaculture Research* 49: 977-987.
- Catalán, N., Villasante, A., Wacyk, J., Ramírez, C., Romero, J. 2018. Fermented soybean meal increases lactic acid bacteria in gut microbiota of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 10: 566-576.
- Cheng, W., Chiu, C.S., Guu, Y.K., Tsai, S.T., Liu, C.H. 2013. Expression of recombinant phytase of *Bacillus subtilis* E20 in *Escherichia coli* HMS 174 and improving the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, juveniles by using phytase-pretreated soybean meal-containing diet. *Aquaculture Nutrition* 19: 117-127.
- Chi, C.H., Cho, S.J. 2016. Improvement of bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation with *Bacillus amyloliquefaciens* versus *Lactobacillus* spp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT-Food Science and Technology* 68: 619-625.
- Cho, S.M., Gu, Y.S., Kim, S.B. 2005. Extraction optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids* 19: 221-229.
- Dabrowski, K., Rinchar, J., Lee, K.-J., Blom, J.H., Ciereszko, A., Ottobre, J. 2000. Effects of diets containing gossypol on reproductive capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology of Reproduction* 62: 227-234.
- Dawood, M.A., Koshio, S. 2020. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 12: 987-1002.
- Dossou, S., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Dawood, M.A., El Basuini, M.F., Olivier, A., Zaineldin, A.I. 2018. Growth performance, blood health, antioxidant status and immune response in red sea bream (*Pagrus major*) fed *Aspergillus oryzae* fermented rapeseed meal (RM-Koji). *Fish and Shellfish Immunology* 75: 253-262.
- Ellis, A.E. 1977. The Leucocytes of fish: a review. *Journal of Fish Biology* 11: 453-491.
- Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assay. In: Stolen, J.S. Fletcher, T.C. Anderson, D.P. Robertson, B.S., van Muiswinkel, W.B. (Eds.). *Techniques in fish immunology*. SOS Publication, Fair Haven, NJ, USA, 101-103.
- Ellis, A. 2001. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Developmental and Comparative Immunology* 25: 827-839.
- Falahatkar, B., Poursaeid, S. 2013. Stress responses of great sturgeon *Huso huso* subjected to husbandry stressors. *Aquaculture International* 21: 947-959.
- FAO. 2014. FAOSTAT. <<http://faostat.fao.org>>. Retrieved Feb 2014.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
- Frias, J., Song, Y.S., Martínez-Villaluenga, C., De Mejia, E.G., Vidal-Valverde, C. 2008. Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 56: 99-105.
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38: 551-579.
- Gharaei, A., Rayeni, M.F., Ghaffari, M., Akrami, R., Ahmadifar, E. 2016. Influence of dietary prebiotic mixture (α -mune) on growth performance, hematology and innate immunity of Beluga sturgeon (*Huso huso*) juvenile.

- International Journal of Aquatic Biology 4: 277-284.
- Ghiasi, M., Binaii, M., Naghavi, A., Rostami, H.K., Nori, H., Amerizadeh, A. 2018. Inclusion of *Pediococcus acidilactici* as probiotic candidate in diets for beluga (*Huso huso*) modifies biochemical parameters and improves immune functions. Fish Physiology and Biochemistry 44: 1099-1107.
- Gibson, R., Yeudall, F., Drost, N., Callinan, T. 1998. Dietary intervention to prevent zinc deficiency. The American Journal of Clinical Nutrition 4: 484-487.
- Hassaan, M.S., Soltan, M.A., Abdel-Moez, A.M. 2015. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Animal Feed Science and Technology 201: 89-98.
- He, M., Li, X., Poolsawat, L., Guo, Z., Yao, W., Zhang, C., Leng, X. 2020. Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquaculture Nutrition 26: 1058-1071.
- Hong, K.J., Lee, C.H., Kim, S.W. 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. Journal of Medicinal Food 7: 430-435.
- Hoseinifar, S.H., Ringø, E., Shenavar Masouleh, A., Esteban, M.Á. 2016. Probiotic, prebiotic and synbiotic supplements in sturgeon aquaculture: A review. Reviews in Aquaculture 8: 89-102.
- Hosseini Shekarabi, S.P., Shamsaie Mehrgan, M., Banavreh, A., Foroudi, F. 2021. Partial replacement of fishmeal with corn protein concentrate in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on growth performance, physiometabolic responses, and fillet quality. Aquaculture Research 52: 249-259.
- Hotz, C., Gibson, R.S. 2007. Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. The Journal of Nutrition 137: 1097-1100.
- Houston, A.H. 1990. Blood and circulation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.). Methods in fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 335 p.
- Hu, R., Chen, Y., Wang, Z., Zhou, A., Cai, J., Kang, K., Jiang, J., Jiang, N. 2013. Optimization of process parameters of probiotics-fermented soybean meal and effects of coordination action between compound probiotics and enzyme on fermentation quality. Chinese Journal of Animal Nutrition 25: 1896-1903.
- Hung, S.S. 2017. Recent advances in sturgeon nutrition. Animal Nutrition 3: 191-204.
- Ilham, I., Fotedar, R. 2017. Growth, enzymatic glutathione peroxidase activity and biochemical status of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) fed dietary fermented soybean meal and organic selenium. Fish Physiology and Biochemistry 43: 775-790.
- Khodadoust, A. 2015. Study on some blood biochemical parameters of pike (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) in Anzali Wetland. Middle-East Journal of Scientific Research 23: 155-159.
- Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee, C.R., Bui, H.T.D., Jeong, J.B., Lee, K.J. 2015. Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. Fish and Shellfish Immunology 45: 858-868.
- Kiers, J.L., Van Laeken, A.E., Rombouts, F.M., Nout, M.J. 2000. In vitro digestibility of *bacillus* fermented soya bean. International Journal of Food Microbiology 60: 163-169.
- Kiron, V. 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Animal Feed Science and Technology 173: 111-133.

- Kitagima, R.E., Fracalossi, D.M. 2011. Digestibility of alternative protein-rich feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 306-312.
- Klontz, G.W., 1994. Fish hematology. In: *Techniques in fish immunology*. Stolen, J.S. Fletcher, T.C. Rowley, A.F. Kelikoff, T.C. Kaattari, S.L., Smith, S.A. (Eds.). SOS Publications, 121-132.
- Kokou, F., Rigos, G., Henry, M., Kentouri, M., Alexis, M. 2012. Growth performance, feed utilization and non-specific immune response of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed graded levels of a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture* 364: 74-81.
- Li, Y., Yang, P., Zhang, Y., Ai, Q., Xu, W., Zhang, W., Zhang, Y., Hu, H., Liu, J., Mai, K. 2017. Effects of dietary glycinin on the growth performance, digestion, intestinal morphology and bacterial community of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*. *Aquaculture* 479: 125-133.
- Lim, J.S., Garcia, C.V., Lee, S.P. 2016. Optimized production of GABA and γ -PGA in a turmeric and roasted soybean mixture co-fermented by *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Science and Technology Research* 22: 209-217.
- Liu, H., Yan, Q., Han, D., Jin, J., Zhu, X., Yang, Y., Xie, S. 2016. Effect of dietary cottonseed meal on growth performance, physiological response, and gossypol accumulation in pre-adult grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 34: 992-1003.
- Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., Wan, J., Liufu, Z. 2006. Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 258: 535-542.
- Mathisen, A.M. 2010. *World aquaculture*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 105 p.
- Mohammadi Azarm, H., Lee, S.M. 2014. Effects of partial substitution of dietary fish meal by fermented soybean meal on growth performance, amino acid and biochemical parameters of juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquaculture Research* 45: 994-1003.
- Moniruzzaman, M., Bae, J.H., Won, S.H., Cho, S.J., Chang, K.H., Bai, S.C. 2018. Evaluation of solid-state fermented protein concentrates as a fish meal replacer in the diets of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition* 24: 1198-1212.
- Montazeri Parchikolaei, H., Abedian Kenari, A., Esmaeili, M. 2021. Soya bean-based diets plus probiotics improve the profile of fatty acids, digestibility, intestinal microflora, growth performance and the innate immunity of beluga (*Huso huso*). *Aquaculture Research* 52: 152-166.
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliot, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldberg, R.J., Hua, K., Nichols, P.D. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 15103-15110.
- Novriadi, R., Rhodes, M., Powell, M., Hanson, T., Davis, D. 2018. Effects of soybean meal replacement with fermented soybean meal on growth, serum biochemistry and morphological condition of liver and distal intestine of Florida pompano *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture Nutrition* 24: 1066-1075.
- NRC (National Research Council). 2011. *Nutrient requirements of fish and shrimp*. National Academies Press, Washington, D.C., USA, 392 p.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Statoh, S., Sugita, H. 2005. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 243: 241-254.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R. 2001. A comparison of plasma glucose and

- plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture Research* 175: 351-363.
- Rahimnejad, S., Yuan, X., Wang, L., Lu, K., Song, K., Zhang, C. 2018. Chitooligosaccharide supplementation in low-fish meal diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): effects on growth, innate immunity, gut histology, and immune-related genes expression. *Fish and Shellfish Immunology* 80: 405-415.
- Raida, M.K., Larsen, J.L., Nielsen, M.E., Buchmann, K. 2003. Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B). *Journal of Fish Diseases* 26: 495-498.
- Rawling, M.D., Merrifield, D.L., Davies, S.J. 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture* 294: 118-122.
- Řehulka, J. 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition, and some blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 190: 27-47.
- Sales, J. 2009. The effect of fish meal replacement by soyabean products on fish growth: a meta-analysis. *British Journal of Nutrition* 102: 1709-1722.
- Seo, S.H., Cho, S.J. 2016. Changes in allergenic and antinutritional protein profiles of soybean meal during solid-state fermentation with *Bacillus subtilis*. *LWT-Food Science and Technology* 70: 208-212.
- Shcherbina, M.A., Abrosimova, N.A., Abrosimova, N.T. 1985. Feeds and intensive fish production technology. AzNIRKh, Rostov, Russia. (in Russian).
- Suarez, J.A., Tudela, C., Davis, D., Daugherty, Z., Taynor, M., Glass, L., Hoenig, R., Buentello, A., Benetti, D.D. 2013. Replacement of fish meal by a novel non-GM variety of soybean meal in cobia, *Rachycentron canadum*: ingredient nutrient digestibility and growth performance. *Aquaculture* 416-417: 328-333.
- Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K., Lin, W.Y. 2011. Molecular analysis of autochthonous microbiota along the digestive tract of juvenile grouper *Epinephelus coioides* following probiotic *Bacillus pumilus* administration. *Journal of Applied Microbiology* 110: 1093-1103.
- Tacon, A.G.J., Metian, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146-158.
- Tacon, A.G., Metian, M. 2015. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 23: 1-10.
- Teng, D., Gao, M., Yang, Y., Liu, B., Tian, Z., Wang, J. 2012. Biomodification of soybean meal with *Bacillus subtilis* or *Aspergillus oryzae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 1: 32-38.
- Wongputtisin, P., Khanongnuch, C., Kongbuntad, W., Niamsup, P., Lumyong, S., Sarkar, P. 2014. Use of *Bacillus subtilis* isolates from Tuanao towards nutritional improvement of soya bean hull for monogastric feed application. *Letters in Applied Microbiology* 59: 328-333.
- Wu, W., Hettiarachchy, N., Qi, M. 1998. Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of soy protein peptides prepared by papain modification and ultrafiltration. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75: 845-850.
- Xu, Q., Yang, Z., Chen, S., Zhu, W., Xiao, S., Liu, J., Wang, H., Lan, S. 2022. Effects of replacing dietary fish meal by soybean meal co-fermented using *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* on serum antioxidant indices

- and gut microbiota of crucian carp *Carassius auratus*. *Fishes* 7: 1-15.
- Yamamoto, T., Matsunari, H., Sugita, T., Furuita, H., Masumoto, T., Iwashita, Y., Amano, S., Suzuki, N. 2012. Optimization of the supplemental essential amino acids to a fish meal-free diet based on fermented soybean meal for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Science* 78: 359-366.
- Yao, W., Zhang, C., Li, X., He, M., Wang, J., Leng, X. 2020. The replacement of fish meal with fermented soya bean meal or soya bean meal in the diet of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research* 51: 2400-2409.
- Ying, W., Zhu, R., Lu, W., Gong, L. 2009. A new strategy to apply *Bacillus subtilis* MA139 for the production of solid-state fermentation feed. *Letters in Applied Microbiology* 49: 229-234.
- Zhang, Y., Wu, Y., Jiang, D., Qin, J., Wang, Y. 2014. Gamma-irradiated soybean meal replaced more fish meal in the diets of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *Animal Feed Science and Technology* 197: 155-163.
- Zhang, P., Lin, H., Chen, G. 2019. Research progress on the effects of oral immunoglobulin in animal health. *China Feed* 22: 20-23.
- Yigit, N.Ö., Arafatoglu, E., Yasar, S. 2020. Effect of partial replacement of fish meal with fermented soybean meal on growth, feed efficiency, body composition, amount of lactic acid bacteria in diet and intestine in carp (*Cyprinus carpio* L. 1758). *Acta Aquatica Turcica* 16: 416-422.