جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة المثنى / كلية الزراعة

قسم الإنتاج الحيواني

استعمال بذور الهرطمان *Lathyrus sativus* L. المعامل بأنزيم الفايتيز في علائق اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. المرباة في اقفاص عائمة في نهر الفرات عند محافظة ذي قار

رسالة تقدمَّ بها

حيدر فاضل صكبان

إلى مجلس كلية الزراعة في جامعة المثنى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم الزراعية / الإنتاج الحيواني

بإشراف

أ.د علي حسين سلمان

ر.ب.د مهند حباس الأشعب

1442 هـ

2020 م

بِسْمِ اللَّـهِ الرَّحْمَـٰنِ الرَّحِيمِ

وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَـٰذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ سَائِغٌ شَرَابُهُ وَهَـٰذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ ۖ وَمِنْ كُلٍّ تَأْكُلُونَ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا ۖ وَتَرَى الْفُلْكَ فِيهِ مَوَاخِرَ لِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ}

صدق الله العظيم

سورة فاطر آية {12}

الإهداء

إلى . . من علَّمتني الصبر والجدَّ والاجتهاد في كافة مناحي الحياة . . . أُمِّي الحبيبة .

إلى . . من أرسى لديَّ قواعد الخلق الكريم ، وكيفية كبح زمام النفس . . . أبي المُوقَّر .

إلى . . من بهم اشدد ظهري . . اخواني واخواتي .

إلى . . من أهدى حياتهِ فداءً للوطن . . أخي الشهيد ألحبيب الملازم عباس فاضل صكبان

إلى . . من كانت نعم السَّند في رحلتي العلمية والبحثية ، ولم تدَّخر جُهداً في مُساعدتي . . . زوجتي الغالية .

إلى . . شعلة حياتي وقلبي النابض أبنتي روان

إلى . . أساتذتي الكرام أعضاء الهيئة التدريسية في قسم الانتاج الحيواني فمنكم تعلَّمت كيف أنطق الكلمات ، وأصوغ العبارات ، وأحتكم إلى القواعد في مجال تخصصي .

إلى . . من استقيت منهم العلم والمعرفة أساتذتي المشرفين على رسالتي أ . د على حسين سلمان و رئيس الباحثين العلميين د . مهند حباس الاشعب .

إلى . . الزملاء والزميلات ، الذين لم يدَّخروا جهداً في مدِّي بالمعلومات والبيانات أخص منهم بالذكر اخي العزيز قاسم محسن سلطان .

أهديكم جهدي المتواضع مع الحب والتقدير .

حيدر

شكر وتقدير

بعد حمد الله وشكره على عظيم فضله وكرمه والصلاة والسلام على من لا نبي بعده .

أتقدم بأسمى آيات الشكر والتقدير إلى الاستاذ الدكتور علي حسين سلمان والدكتور مهند حباس الاشعب لإشرافهم على رسالتي ولما أبدوه من متابعة ودعم علمي طيلة مدة البحث إذ كانت لتوجيهاتهم القيمة الاثر الكبير في اخراج هذه الرسالة على أتم وجه.

وكذلك أتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة كلية الزراعة / جامعة المثنى متمثلة بـ أ.م.د حيدر حميد بلاو عميد الكلية، و أ.م.د علي عبد الله زعيري معاون العميد للشؤون العلمية الذي كان بمثابة الاخ والموجه خلال مدة الدراسة.

اتقدم بالشكر الجزيل إلى أعضاء ومنتسبي قسم الانتاج الحيواني / كلية الزراعة / جامعة المثنى كافة وأخص بالذكر أساتذتي الكرام أ.م.د هادي عواد رئيس قسم الانتاج الحيواني و أ.م.د أحمد جواد الياسري و أ.م.د مريم جاسم و أ.د علي حسين الهلالي و أ.د جاسم قاسم مناتي لما قدّموه من النصح الرائع طوال مدة الدراسة، والشكر موصول إلى أعضاء الهيئة التدريسية في قسم الانتاج الحيواني كافة.

كذلك أقدم شكري وتقديري واعتزازي إلى أ.د طه ياسين فرحان لما أبداه من رعاية أبوية ولما قدّمه من دعم علمي ومعنوي لا محدود طوال مدة الدراسة والشكر موصول إلى أ.م.د مهدي صالح لدعمهُ المعنوي لي في فترة الدراسة. وأقدم شكري وأمتناني واعتزازي الى د. خلود عبدالاله الخفاجي من مركز التقانات الاحيائية – دائرة البحوث الزراعية – وزارة العلوم والتكنولوجيا لمساعدتها لي في تحضير إنزيم الفايتيز المايكروبي، وأتقدم بشكري إلى زملائي في الدارسة جميعاً وأخص منهم الاخ الرائع وزميل الدراسة قاسم محسن سلطان لماّ قدمه من مساعدة كبيرة طيلة مدة الدراسة والبحث والذي آثر على نفسه لمساعدتي لإخراج هذه الرسالة. كذلك اتقدم بخالص شكري وامتناني إلى عمي الغالي علي صكبان والاخ حسين والاخ سجاد باسم وابن العم مرتضى علي لمساعدتهم في مد يد العون طيل مدة التجربة.

وأتقدم بالشكر والعرفان لوالدي الذي كان قدوة لي في هذه الحياة وكان سبباً في دخولي لدراسة الماجستير وله الفضل الأكبر في كل هذا العمل. ولوالدتي ودعائها الذي كان سبباً في توفيقي وسعادتي والشكر موصول لإخوتي محمد ومصطفى وأخواتي العزيزات لمدهم يد العون والمساعدة. كذلك شكري ومحبتي إلى زوجتي ام روان لما تحملته وقدمته لي خلال دراستي وبحثي وإلى ابنتي ونظر عيني روان وفي الختام اود ان اقدم شكري وتقديري إلى كل من غفل قلمي عن ذكر اسمه وكان له الفضل أو مد يد العون لإنجاز هذا العمل والله ولي التوفيق.

حيدر

المستخلص

أجريت التجربة في مقاطعة الدكمانية التابعة إلى ناحية أور قرب محطة ضخ المصب العام جنوب شرق مدينة الناصرية بموقع 12 كم عن مركز محافظة ذي قار. لمدة 92 يوم من 2019/8/24 ولغاية 2019/11/23 بضمنها مدة الاقلمة التي بلغت 8 ايام لمعرفة تأثير استعمال بذور نبات الهرطمان *Lathyrus sativus* L. المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي والتجاري في علائق أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. المرباة في أقفاص عائمة. جلبت 120 سمكة نوع كارب شائع بمتوسط وزن 250±3 غم، وزعت عشوائياً على اربع معاملات بواقع ثلاثة مكررات كل مكرر10 سمكة. استخدمت أربع معاملات في التجربة، المعاملة الأولى: السيطرة (T1) خالية من مسحوق بذور نبات الهرطمان، المعاملة الثانية (T2) حاوية على مسحوق بذور نبات الهرطمان الغير معامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي او التجاري بنسبة 15% من العليقة، المعاملة الثالثة (T3) حاوية على مسحوق بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري بنسبة 15% من العليقة، المعاملة الرابعة (T4) حاوية على مسحوق بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً بنسبة 15% من العليقة. غُذيت الأسماك على العلائق التجريبية بنسبة 3% من الوزن الحي، وقسمت على وجبتين في اليوم، استمرت التجربة لمدة 92 يوم بضمنها 8 أيام مدة الأقلمة.

بينت النتائج لبعض الفحوصات البيئية لمياه نهر الفرات في محافظة ذي قار في موقع التجربة خلال مدة التجربة إذ تراوحت درجة حرارة الماء بين 21مْ–30مْ، بينما تراوح تركيز الأوكسجين المذاب 7.3–8.5 ملغم.لتر$^{-1}$، فيما كانت ملوحة الماء بين 1.76–1.89 غم.لتر$^{-1}$، أمّا قيمة الأس الهيدروجيني pH فقد تراوحت بين 7.9–8.2، فيما تراوحت سرعة جريان الماء 17–20سم.ثانية$^{-1}$. وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي فروق معنوية بين المعاملات ($p\leq0.05$) في معايير النمو

المدروسة، ففي الوزن النهائي تفوقت المعاملة الرابعة (T4) على بقية المعاملات إذ سجلت أعلى معدل وزن نهائي بلغ 489.3غم، كذلك سجلت أعلى معدل زيادة وزنية بلغ 239غم، وكذلك سجلت أعلى معدل نمو يومي بلغ 2.83غم/يوم، وسجلت أيضا أعلى معدل نمو نسبي بلغ 95.5%، فيما سجلت أعلى معدل نمو نوعي بلغ 0.80 % / يوم، وتفوقت المعاملة الرابعة (T4) على بقية المعاملات أيضاً في معيار معامل التحويل الغذائي بلغ 2.97 غم علف/غم زيادة وزنية، وأعلى معدل كفاءة تحويل غذائي بلغ 33.91%، فيما سجلت المعاملة الرابعة أعلى نسبة كفاءة البروتين بلغت 1.10 غم زيادة وزنية/غم بروتين متناول. كذلك تفوقت المعاملة الرابعة على بقية المعاملات في معيار القيمة الانتاجية للبروتين إذ سجلت أعلى معدل بلغ 34.13، وحققت أعلى معدل في معاملي الهضم الظاهري للعليقة والبروتين إذ سجلت على التوالي 66.43%، 72.40%. واظهرت نتائج معايير الدم المناعية فروقاً معنوية ($p\leq0.05$) بين المعاملات، إذ سجلت المعاملات الرابعة (T4) والثالثة (T3) اعلى معدل بروتين كلي Total protein (TP) بلغ على التوالي 3.9 و 3.7 ملغم/100 مل، فيما سجلتا المعاملة الرابعة (T4) والثالثة (T3) انخفاضا معنويا ($p>0.05$) في معدل تركيز إنزيم ناقل اللينين (Alanine amino Transferase) (ALT) إذ بلغ على التوالي 91.33 و 92.33 وحدة دولية/ لتر، كما سجلتا المعاملة الرابعة والثالثة انخفاضاً معنوياً ($p>0.05$) في معدل تركيز إنزيم ناقل السبارتيز (Aspartate amino Transferase) (AST) إذ بلغ على التوالي 8.67 و 9.33 وحدة دولية/ لتر.

نستنتج من هذه الدراسة أنَّ استخدام مسحوق بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً بنسبة 15% في علائق أسماك الكارب الشائع قد عزز معايير النمو وبعض معايير الدم المناعية.

قائمة المحتويات

الفقرة	العنوان	الصفحة
	الفصل الاول	
1	المقدمة	1
	الفصل الثاني	
2	مراجعة المصادر	4
1.2	أهمية الأسماك في غذاء الإنسان	4
2.2	أسماك الكارب الشائع	5
3.2	الأقفاص العائمة	6
4.2	معايير الدم المناعية	8
5.2	نبات الهرطمان	9
6.2	العوامل المضادة للتغذية	11
7.2	حامض الفايتيك	12
8.2	طرائق اختزال المثبطات التغذوية	14
9.2	إنزيم الفايتيز	15
1.9.2	مصادر إنزيم الفايتيز الطبيعية	17
2.9.2	الأس الهيدروجيني وإنزيم الفايتيز	19
3.9.2	تأثير الفايتيز على التوافر الحيوي للفسفور	19
4.9.2	تأثير الفايتيز على التوافر الحيوي للعناصر الغذائية الأخرى	21
5.9.2	تأثير الفايتيز في التوافر الحيوي للبروتينات	22
6.9.2	تأثير الفايتيز على معايير النمو في الأسماك	24
7.9.2	تأثير الفايتيز على جودة المياه	25
	الفصل الثالث	
3	المواد وطرائق العمل Material and Methods	27
1.3	موقع وأسماك التجربة	27
2.3	نظام تربية الأسماك في التجربة	28

3.3	تعقيم وأقلمة أسماك التجربة	28
4.3	معاملة مسحوق الهرطمان بإنزيم الفايتيز التجاري	30
5.3	إنتاج واستخلاص إنزيم الفايتيز مختبرياً	30
6.3	معاملة مسحوق الهرطمان مع إنزيم الفايتيز المايكروبي المستخلص مختبرياً	31
7.3	تصنيع العلائق	32
8.3	تجربة الهضم	34
9.3	تقدير الأحماض الامينية	35
1.9.3	المرحلة الأولى (هضم النموذج)	36
2.9.3	المرحلة الثانية (المشتقة Derivatives)	36
3.9.3	المرحلة الثالثة (الحقن)	37
10.3	التحليلات الكيميائية	38
11.3	القياسات الحقلية	40
1.11.3	قياس بعض الصفات الفيزياوية والكيمياوية للماء في موقع التجربة (الفحوصات البيئية)	40
12.3	المعايير الدمية	41
1.12.3	جمع عينات الدم	41
2.12.3	قياس البروتين الكلي Total protein	41
3.12.3	قياس تركيز إنزيم ناقل الالنين Alanine amino Transferase	42
4.12.3	قياس تركيز إنزيم ناقل السبارتيز Aspartate amino Transferase	42
13.3	الصفات المدروسة	42
1.13.3	الزيادة الوزنية الكلية Weight Gain (WG)	42
2.13.3	معدل النمو اليومي Daily Growth Rate (DGR)	42
3.13.3	معدل النمو النسبي%Relative Growth Rate (RGR)	42
4.13.3	معدل النمو النوعي %Specific Growth Ratio (RGR)	43
5.13.3	معامل التحويل الغذائي Food Conversion Ratio (FCR)	43
6.13.3	كفاءة التحويل الغذائي Food Conversion Efficiency (FCE)	43
7.13.3	نسبة كفاءة البروتين Protein Efficiency Ratio (PER)	43

8.13.3	القيمة الإنتاجية للبروتين Protein Productive Value (PPV)%	43
9.13.3	معامل الهضم الظاهري Apparent Digestibility Coefficient	44
10.13.3	معامل الهضم الظاهري للبروتين Apparent Protein Coefficient Digestibility	44
14-3	التحليل الإحصائي Statistical Analysis	44
الفصل الرابع		
4	النتائج والمناقشة	45
1.4	فحوصات العوامل البيئية	45
2.4	الصفات المدروسة	46
1.2.4	معدل الزيادة الوزنية WG ومعدل النمو اليومي DGR	46
2.2.4	معدل النمو النسبي RGR	47
3.2.4	معدل النمو النوعي SGR	48
4.2.4	معامل التحويل الغذائي FCR	56
5.2.4	كفاءة التحويل الغذائي% FCE	56
6.2.4	نسبة كفاءة البروتين PER	60
7.2.4	القيمة الإنتاجية للبروتين PPV	61
8.2.4	معامل الهضم الظاهري للعليقة والبروتين ADC & APDC	61
3.4	معايير الدم	67
1.3.4	تركيز البروتين الكلي في مصل الدم	67
2.3.4	تركيز إنزيم ناقل اللنين (ALT) وإنزيم ناقل الاسبارتيز (AST) في مصل الدم	67
الفصل الخامس		
5	الاستنتاجات والتوصيات	72
1.5	الاستنتاجات	72
2.5	التوصيات	73
الفصل السادس		
6	المصادر	74
1.6	المصادر العربية	74
2.6	المصادر الاجنبية	77

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	رقم الصفحة
1	النسب المئوية لمكونات العلائق التجريبية المختبرية	34
2	التحليل الكيميائي ونسبة العناصر الغذائية في العلائق التجريبية % محسوبة على المادة الجافة	38
3	نسبة العناصر الغذائية في بذور نبات الهرطمان الخام والمعامل إنزيمياً محسوبة على المادة الجافة	39
4	تحليل جسم الأسماك Body Composition محسوبة على اساس المادة الرطبة % علائق بذور الهرطمان	39
5	الفحوصات البيئية في موقع التجربة	46
6	الوزن النهائي والزيادة الوزنية ومعدلات النمو اليومي والنسبي والنوعي (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة	49
7	محتوى الأحماض الأمينية الأساسية في بذور الهرطمان وعليقة المقارنة	53
8	العلف الجاف المتناول ومعامل التحويل الغذائي وكفاءة التحويل الغذائي (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة	57
9	نسبة كفاءة البروتين والقيمة الإنتاجية للبروتين ومعاملي الهضم الظاهري للعليقة والبروتين (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على مسحوق بذور الهرطمان	62
10	المعايير الدمّية المناعية (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة	68

قائمة الاشكال والمخططات

رقم الشكل او المخطط	العنوان	رقم الصفحة
1	نبات الهرطمان وبذوره	11
1	مخطط يوضح التركيب الكيميائي وآلية عمل إنزيم الفايتيز	16
2	موقع التجربة * Google Maps	27
3	الأقفاص المستخدمة لتربية الأسماك	28
2	مخطط يوضح معاملات التجربة والصفات المدروسة على اسماك الكارب الشائع	29
4	سحب الدم من الأسماك	41
5	الوزن النهائي لأسماك التجربة	50
6	معدل الزيادة الوزنية	50
7	معدل النمو اليومي	51
8	معدل النمو النسبي	51
9	معدل النمو النوعي	51
10	معامل التحويل الغذائي	58
11	كفاءة التحويل الغذائي	58
12	نسبة كفاءة البروتين	63

الفصل الأول

1. المقدمة Introduction

تسعى معظم بلدان العالم إلى تحقيق الأمن الغذائي لشعوبها بعد زيادة عدد الاشخاص الذين يعانون من الجوع في السنوات الثلاثة الاخيرة من خلال وضع الخطط المستقبلية لتطوير القطاعات المنتجة للأغذية التي تؤثر على الواقع الاجتماعي والاقتصادي لتلك البلدان (FAO، 2019). وهنالك توجه كبير لتربية الأحياء المائية كونها المسؤولة عن رفد كميات الأسماك المخصصة للاستهلاك البشري، فقد أزداد استهلاك الأسماك العالمي من حوالي 9 كغم عام 1961 إلى حوالي 20.2 كغم عام 2015 للفرد الواحد سنوياً (FAO، 2018)، وبلغت حصة الفرد العراقي سنويا معدل 3كغم سنوياً (AOAD، 2017)، مما يتطلب الاهتمام بقطاع الاستزراع السمكي وتطويره من خلال توفير التغذية المناسبة للأسماك للوصول إلى وزن التسويق المناسب الذي يعد الهدف الرئيس من هذه المشاريع (Nekoubin و Sudagar، 2012).

إنَّ النمو المتوقع لقطاع تربية الأحياء المائية يدفع العاملين في هذا المجال إلى إيجاد مواد علفية أكثر توافراً للاستخدام في تغذية الأحياء المائية (Currie، 2000). كذلك فإن استخدام مصادر البروتين الحيواني يعدُّ الامثل كمصدر في غذاء الأسماك، إلاَّ أن ارتفاع اسعارها وتذبذب نوعيتها وقلة توافرها في الأسواق المحلية دفعت إلى استبدال مسحوق السمك والمركزات البروتينية الحيوانية بمصادر بروتينية نباتية أو حبوب متوافرة على نطاق واسع وذات تكلفة منخفضة لصناعة أعلاف الأسماك (Carterو Hauler، 2000)، ومن البدائل المستخدمة هي كسبة زهرة الشمس المحسنة (سلمان، 1998)، والباقلاء العلفية بعد اختزال بعض المضادات التغذوية ومثبط إنزيم التربسين وحامض الفايتك، في الباقلاء بطريقة الانبات واستخدامها في علائق أسماك الكارب الشائع *Cyprinus*

.*carpio* L (كاظم، 2001)، واستخدام الشعير المحلي المدعم بكسبة زهرة الشمس مصدراً بروتينياً مع إضافة إنزيم البيتاكلوكانيز β-Glucanase في علائق أسماك الكارب الشائع (محمد وآخرون ، 2002)، وأستخدم مسحوق بذور نبات الهرطمان .*Lathyrus sativus* L المعامل بطرائق مختلفة في علائق أسماك الكارب الشائع .*Cyprinus Carpio* L (Al-asha'ab وآخرون، 2017).

إنَّ احد المشاكل المتعلقة باستخدام البروتينات النباتية المنخفضة التكلفة كبدائل لمسحوق السمك والمركزات البروتينية الحيوانية هو احتوائها على عوامل مضادة التغذية Anti-nutritional Factors (ANF's) (Usmani و Jafri، 2002) التي تؤثر على عمليات هضم وامتصاص العناصر الغذائية وعليه فإنها تؤثر على النمو وكفاءة التغذية (Francis وآخرون، 2001)، ومن هذه العوامل حامض الفايتيك الذي يمثل المخزون الرئيس للفسفور العضوي ولهُ القدرة على الارتباط وحجز العديد من العناصر الغذائية (Tamim و Angel، 2003)، إذ يرتبط مع العناصر المعدنية كالحديد والكالسيوم والفسفور والمغنيسيوم والزنك (Kaya وآخرون، 2009). فضلاً عن ارتباطه مع الأحماض الأمينية مكوناً معقدات مع البروتين تكون صعبة الهضم (Ravindran وآخرون، 2006) لذا لجأ الباحثون إلى تقليل تركيزه في الحبوب بوسائل متعددة منها الطهي والإنبات والتخمير والنقع والتعريض إلى حرارة (التحميص والطبخ) (Coulibaly وآخرون، 2011 ؛ Al-asha'ab وآخرون، 2017)، وكذلك توجد إنزيمات تحلل حامض الفايتيك مائياً هي إنزيمات الفايتيز التي توجد في النباتات نفسها وبكميات قليلة يتحلل بعضها خلال أطوار النمو، وكذلك توجد في الحيوانات ذات الهضم الميكروبي التي تتمكن من انتاجها بوساطة الأحياء المجهرية الموجودة في معدتها مما يقلل من مشكلة وجوده في أعلاف هذه الحيوانات، ولقلة وجود الاحياء المجهرية في أمعاء الحيوانات وحيدة المعدة يجعل تركيز إنزيم الفايتيز قليل جداً، وعليه يؤثر على عدم قدرتها على تحليل حامض الفايتيك الا بنسب قليلة جداً (Gonzalez-Vega وآخرون، 2015). استخدم إنزيم الفايتيز على نحو كبير في تغذية الحيوانات

أحادية المعدة كالأسماك (Van Weerd وآخرون، 1999) بسبب قدرته على تحليل حامض الفايتيك إلى جزيئات الفوسفات الأحادية اللاعضوية وإلى فوسفات المايوانوسيتول بدرجة أقل وأحياناً إلى المايوانوسيتول الحر ومن ثَمةَ تحرير الفسفور والمعادن المرتبطة به وتقليل طرحه مع الفضلات (Gromwell، 1994)، فضلاً الى تقليل كلفة الاعلاف من خلال تقليل الحاجة لإضافة الفسفور إلى العلائق وتقليل طرحه مع الفضلات مسبباً تلوث البيئة المائية، وعليهِ وصف الفايتيز أنهَّ منتج صديق للبيئة (Kies وآخرون، 2001). مما دعى إلى إضافة الفايتيز إلى علائق الأسماك للاستفادة من البروتين والعناصر المعدنية والدهون والكربوهيدرات والتقليل من إضافة الفسفور إلى هذه العلائق مع زيادة قابلية امتصاص الكالسيوم وبعض العناصر النادرة (Yu و Chung، 2004).

تهدف الدراسة إلى معرفة تأثير استخدام بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المحضر مختبرياً وإنزيم الفايتيز التجاري في علائق أسماك الكارب الشائع *C. carpio* المرباة في الأقفاص العائمة على معايير النمو وبعض معايير الدم المناعية.

الفصل الثاني

2. مراجعة المصادر Literature Review

1.2: أهمية الأسماك في غذاء الإنسان

تعدُّ لحوم الأسماك مصدراً أساسياً للبروتين الحيواني، وهي من اللحوم المفيدة والصحية لجسم الإنسان، إذ تحتوي على الكثير من العناصر الغذائية المهمة (محسن، 1988). ويختلف التركيب الكيميائي للحوم الأسماك من حيث الماء والبروتين والدهن والكربوهيدرات تبعاً لتباين ظروف البيئة، إذ يعد الماء المكون الرئيس للجزء اللحمي في الأسماك وتتراوح نسبته بين 60%–80% من الوزن الرطب وترجع اليه طراوة الأسماك، بينما تتراوح نسبة الدهون 0.2%–2.5% من الوزن الرطب، والكربوهيدرات تتراوح نسبتها بين 0.1%–1% (الطائي، 1986)، وكذلك تتراوح نسبة البروتين في أجسامها 60%–70% من الوزن الجاف (الجبوري، 2017).

يتميز البروتين السمكي بسهولة هضمه وامتصاصه واحتوائه على الأحماض الامينية الاساسية Essential Amino Acids الضرورية لنمو الإنسان مما يزيد من قيمة لحوم الأسماك كغذاء (حسن، 2003). فضلاً عن أنَّ تكاليف الحصول على البروتين السمكي تكون أقل مقارنة بتكاليف الحصول على البروتين الحيواني من لحوم الحيوانات الأخرى (خانجي، 1991). كذلك تمتاز دهون الأسماك وكبدها باحتوائهما على كميات كبيرة من فيتامين A وD والعديد من المعادن مثل الفسفور واليود والكالسيوم والحديد (حديد، 1986)، فضلاً عن أحتواء لحوم الأسماك على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير مشبعة مثل أوميكا–3 التي تعمل على خفض المستويات العالية من الكوليسترول في دم الإنسان وعليه فإنهّا تقلل الاصابة بأمراض القلب وتصلب الشرايين (AHA،

2002) وتحسن من كفاءة الجهاز المناعي لدى الإنسان (Lee، 2006) والوقاية من مرض الزهايمر (Walter وآخرون، 2005). وكذلك تمتاز الأسماك بكفاءة تحويل غذائي عالية تبلغ 1- 1.5 كغم علف/1 كغم لحم مقارنة ببقية حيوانات المزرعة الأخرى (السلمان، 2000). أما بالنسبة للجانب الاقتصادي فالسوق العالمية للأسماك ومنتجاتها تتوسع وتنمو بسرعة في مجال انتاج الأسماك وتجارتها، اذ بلغ الإنتاج العالمي ذروته بحوالي 110 مليون طن عام 2016، منها 80 مليون طن (مقدرة بـ 231.6 مليار دولار امريكي) من الاسماك المعدة للاستهلاك و50 مليون طن (مقدرة بـ 11.7 مليار دولار أمريكي) من تربية النباتات المائية، وكانت تربية الأحياء المائية هي المسؤولة عن استمرار النمو في إمدادات الأسماك المخصصة للاستهلاك البشري (FAO، 2019).

2.2: أسماك الكارب الشائع

تنتمي أسماك الكارب الشائع.*Cyprinus carpio* L إلى عائلة الشبوطيات Cyprindae وهي واحدة من افضل انواع الأسماك المستزرعة في العالم (احمد، 1987) وتنتشر بشكل واسع في أوروبا وآسيا ، ومن العوامل التي ساعدت على إنتشارها سهولة أقلمتها وتحملها للظروف البيئية المختلفة (خانجي، 1991). كما تمتاز بالنضج المبكر والخصوبة العالية ونموها السريع وتغذيتها على عناصر متنوعه نباتية وحيوانية المصدر (محيسن وآخرون، 1994). يرتبط النضج الجنسي بشكل رئيسي بدرجات الحرارة التي يتلقاها لتنضج المناسل خلال 3-12 شهر في المناطق المدارية كالهند وكوبا، و 2-5 سنوات في المناطق الباردة كألمانيا وسيبيريا، إذ يمكن لإناث أسماك الكارب الشائع أن تعطي 100 ألف بيضة لكل واحد كغم وزن حي (Peteri، 2012)، ولها القدرة على تحمل الظروف الصعبة خلال مراحل حياتها التي تبدأ من البيضة لغاية النضج الجنسي (Jene، 1995) لذا قام الانسان باستزراعها للحصول على مردود اقتصادي جيد وسريع (Huet، 1972)، أما العراق يشهد

اهتماماً كبيراً بمشاريع تربية الاسماك وذلك لسد حاجة البلد لمصادر البروتين المتنوع وتوفير فرص عمل كثيرة للعديد من السكان (رحيم، 1999).

تعد اسماك الكارب من الحيوانات ذوات الدم البارد Poikilothermic animals إي إنّ درجة حرارتها تتغير تبعاً للمكان الذي تعيش فيه (السلمان، 2000). وهي من اسماك المياه الدافئة قليلة الجريان ودرجة الحرارة المثلى للنمو وتناول الغذاء هي بين 23- 25 درجة مئوية (Schreckenbach، 2002).

أظهرت العديد من الدراسات ان الكارب يتوقف نموه وتناوله للغذاء في درجات الحرارة المنخفضة التي تصل 4 م° في فصل الشتاء ، ويقوم بالتجمع خلال مجموعات كبيرة ويتجة الى القاع ليمضي فصل الشتاء هناك دون حركة او تغذية (Schmeller، 1988)، كما تستطيع الأسماك تحمل درجات ملوحة حتى 5 جزء فى الألف (Peteri، 2009) ، وتتحمل نقص الاوكسجين بمقدار يصل الى 3 ملغم.لتر$^{-1}$ (السلمان، 2000)، أمّا الحد الادنى والمميت لها من الأوكسجين المذاب في الماء فيتراوح من 0.2 – 0.8 ملغم.لتر$^{-1}$ (الخشالي، 2009)، وتصنف اسماك الكارب ضمن الاسماك القارتة Omnivorous تتغذى بشكل رئيسي على الحشرات المائية و القشريات و الديدان الحلقية و الرخويات و الأعشاب والبذور والنباتات المائية و الطحالب (Adamek وآخرون، 2004).

3.2: الأقفاص العائمة

نالت الأقفاص العائمة الكثير من الاهتمام من قبل الباحثين والمزارعين بسبب عدد من العوامل، منها النقصان الواضح في مخزونات الأسماك، وزيادة الإقبال على شراء الأسماك بسبب تحسن الوضع المادي والاقتصادي (Braveen وآخرون، 2008)، إذ تعد طرائق مناسبة لانتاج الأسماك بكميات كبيرة في وحدة الحجم، وكذلك فإنها لا تؤثر على الحصة المائية ولا تدخل في تنافس على الأراضي

المخصصة للزراعة وتنصب في المناطق التي يصعب فيها استخدام أساليب الاستزراع السمكي التقليدية مثل البحار والبحيرات والأنهار والجداول (Saleh، 2010).

أنتشرت مشاريع الأقفاص العائمة في كلٍ من أوروبا وآسيا وأفريقيا وأمريكا بسبب فوائده الكبيرة وأصبح نظامًا مفضلاً على أنظمة الاستزراع الأخرى لإنتاج الأسماك (Gopakumar، 2009)، أدخلت تعديلات عدة على التصاميم والمواد المستخدمة في إنشاء وتشغيل هذه الأقفاص فضلاً عن التقدم المحرز في تطوير طرائق تقديم الأغذية الاصطناعية المناسبة ولاسيما تطوير الأغذية الطافية والغاطسة، كل هذه أدت إلى استخدام هذه التقنيات في العالم (البهادلي، 2011)، إذ بدأ الاستزراع السمكي في العراق عام 1955 بإنشاء أول مزرعة سمكية في منطقة الزعفرانية جنوب شرق بغداد عن طريق تربية أسماك الكارب الشائع *C. carpio* L. وبعض الأنواع المحلية من عائلة Cyprinidae، لكنه لم يحصل على الاهتمام الكافي إلا في نطاق ضيق من قبل المزارعين حتى أوائل السبعينيات، إذ اهتم القطاع الحكومي والخاص اهتماماً أكبر للاستزراع السمكي لاسيما في وسط العراق وجنوبه (Al-Hamed، 1984). تركزت معظم مشاريع الاستزراع السمكي في المنطقة الوسطى والمناطق المحيطة بها في بغداد، إذ وصلت المساحة المزروعة إلى 7500 هكتار (Al-Mukhtar، 2005). أمَّا في المناطق الجنوبية من العراق فكانت توجد إمكانية كبيرة لتوسيع الاستزراع المائي، لكن هذه المشاريع محدودة نسبياً وليست بالمستويات المتوقعة لأسباب عدة منها: قلة الخبرة وضعف الإمكانيات والقوانين التي تقيد العمل وتعرقله على هكذا مشاريع، إلا أن السنوات الأخيرة في مناطق جنوب العراق أولى المزارعون الكثير من الاهتمام بهذه المشاريع إذ أقاموا العشرات من المزارع معظمها صغيرة الحجم، لذلك أجريت العديد من الدراسات حول استزراع الأسماك في البصرة وذي قار وميسان (Jabir وآخرون، 2008 ; Al-Mukhtar وآخرون، 2005 ; Salman، 1994). الدراسات التي أجريت على استزراع الأسماك في الأقفاص تميزت بقيودها، بما في ذلك دراسة (Saleh و Salman،

1988) حول إمكانية استغلال مياه المبازل لتربية أسماك الكارب الشائع. أشار جبر (2012) الى تفوق استزراع الأسماك في الأقفاص العائمة على الأحواض الترابية بأكثر من 8 مرات، كما بين قلة الايدي العاملة المستخدمة في الاقفاص الى الاكثر من النصف، إذ كانت نسبة الخسائر في الأقفاص العائمة أقل بكثير من الأحواض الترابية.

4.2: معايير الدم المناعية

تعد معايير الدم المناعية للأسماك أحد المعايير التي تنعكس ايجاباً أو سلباً على معايير النمو في الاسماك، وهي من المعايير المهمة لتحديد صحة الاسماك عندما تعطى اضافات في غذائها (Gharaei وآخرون، 2016). وتعتبر وسائل مهمة لفحص صحة الاسماك والاستجابات الفسلجية واستفادتها من المغذيات وامتصاصها وايضا لمعرفة الظروف الخارجية التي تحيط بالسمكة (Hoseinifar وآخرون، 2011).

إن فحص البروتينات الكلية في مصل دم الاسماك هو واحد من اهم المعايير الدمية المناعية التي تؤشر صحتها، إذ يعتبر الكبد المصدر الرئيسي في افراز 90% من البروتين في مصل الدم المتمثلة بالالبومين والكلوبيولين وإن اي خلل في وظائف الكبد يؤثر وبشكل كبير على تركيز البروتين، لذا فإن تركيز البروتين يحافظ على التوازن القاعدي والحامضي وبالتالي المحافظة على الضغط الازموزي في مصل الدم فضلاً عن قيامه بنقل بعض المواد الغذائية المهمة، وأن فحص الالبومين والكلوبيولين من اهم الفحوصات التي تعبر عن قابلية الكبد التصنيعية للبروتين (Watts وآخرون، 2001). ان زيادة مستوى البروتين الكلي في مصل الدم يشير الى زيادة تصنيع البروتين في الجسم وانخفاض هدمة لأنه يمثل حالة التوازن بين البروتين المتكون والبروتين المتهدم (Singh وآخرون، 2017).

تعد الانزيمات محفزات بروتينية للتفاعلات الخلوية التي تحدث داخل الجسم لذا يعتبر أي خلل في عملها مؤشرا على حدوث حالات مرضية في الاسماك، وان الانزيم الناقل للالنين (ALT) Alanine amino Transferase والانزيم الناقل للسبارتيز (AST) Aspartate amino Transferase مهمان في تمثيل الاحماض الامينية في عمليات ايض المواد البروتينية (Dorcas و Solomon، 2014)، وزيادتهما في مصل الدم مؤشر على حصول اذى في الخلية الكبدية وحصول انسداد في قناة الصفراء ونتيجة لذلك ينقلان الى الدم ويزداد تركيزهما في مصل الدم كما يعد قياسهما ايضا دليل على وجود حالة مرضية معينة (Yousafzai و Shakoori، 2011).

أشار Shalaby (2005) ان فعالية انزيمات ALT و AST تختلف بالاعتماد على نوع السمكة المرباة. لذا فان فحص الانزيمات في الاسماك يمكن ان يستخدم لمعرفة الحالة الصحية للاسماك وكذلك لمعرفة التغيرات التي تحدث في المياه وتلوثها وتأثيرها على صحة الاسماك (Shahsavanil وآخرون، 2010).

5.2: نبات الهرطمان

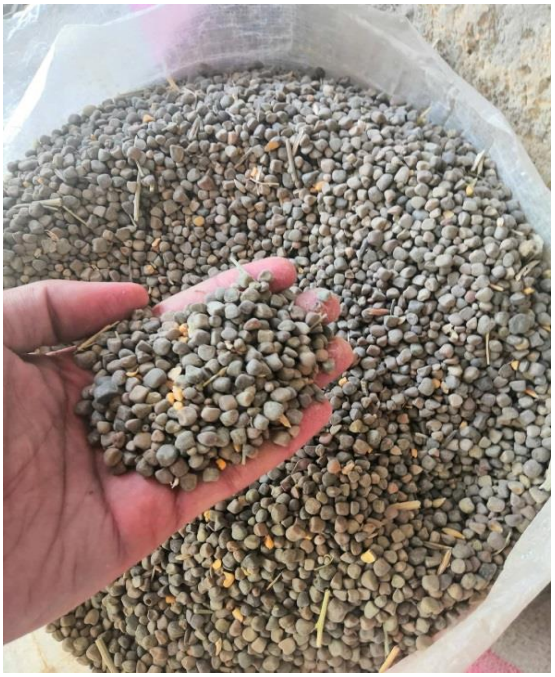
الهرطمان .*Lathyrus sativus* L محصول علفي بقولي شتوي حولي يزرع في شرق آسيا وأفريقيا (Yigzaw وآخرون، 2001). يتمتع بالعديد من الخصائص الجيدة لتجعله محصولاً غذائياً جذاباً في المناطق التي تعاني من الجفاف والمطر، إذ تكون جودة التربة رديئة والظروف البيئية القاسية وتكون جذوره قوية وشديدة الاختراق للتربة، وعليه فإنه يمكن زراعته في أنواع مختلفة من التربة (Palmer وآخرون، 1989)، بما في ذلك التربة السيئة للغاية والطين الثقيل إلى جانب قدرته على تثبيت النيتروجين الجوي كل هذا يجعله محصولاً جيداً للنمو في ظل ظروف معاكسة (Campbell وآخرون، 1994). وتعد بذور الهرطمان من المحاصيل المهمة اقتصاديا في تغذية

الإنسان والحيوان، ومن النباتات ذات التكلفة القليلة التي تتكيف مع بيئات هطول الأمطار القاسية والمعتدلة وهو مصدر بروتين جيد النوعية (Ramachandran وآخرون، 2005 ; Tadelle وآخرون، 2003). تستخدم بذوره عادة للاستهلاك البشري وكذلك في تغذية الحيوان فهي غنية بالبروتين ويصل حوالي 32% (Castell وآخرون، 1994 ; Grela و Günter، 1995)، وهذه هي أعلى من محتويات البروتين في البازلاء *Pisum sativum* 23% والباقلاء العلفية *Vicia faba* 24% ولكنها أقل من في الترمس *Lupinus* 32% (Petterson وآخرون، 1997) أو كسبة فول الصويا *Glycine max* 43% (Ravindran و Blair، 1992).

ووجد Chandna و Matta (1994) أنَّ تكوين بروتين بذور الهرطمان هو ألبومين (Albumin) 14%، غلوبيولين (Globulin) 66%، غلوتيلينات (Glutelin) 15% والغليادين Gliadin 5% إذ تتشابه الكثير من الاحماض الامينية في الهرطمان مع الاحماض التي توجد في البقوليات الأخرى. إنَّ بذور البقوليات ومنها الهرطمان تحتوي على مجموعة من المواد المضادة للتغذية التي تعيق استخدامها في تغذية الحيوانات بسيطة المعدة (Hanbury وآخرون، 1999) والإنسان (Grela وWiniarska، 1998). وإنَّ أكثر المواد المضادة للتغذية تواجداً في هذه البقوليات هي مثبطات التانين والبروتيز والأميليز والصابونين والقلويات والسكريات غير النشوية والفيسين والفايتيت (Riepe وآخرون، 1995).

إنَّ تناول بذور الهرطمان بكميات كبيرة قد يمثل خطراً على الصحة بسبب احتوائه على عامل مرضي وهو 3-N-oxalyl-L-2,3-diaminopropionic acid or â-ODAP الذي يسبب السمية العصبية وشلل الاطراف السفلية في الانسان والحيوان (Grela وآخرون، 2001). ويمكن أن تتأثر كلٌّ من المجترات والأنواع بسيطة المعدة بهذه السمية، وتشير بعض الدراسات إلى أن الحيوانات

بسيطة المعدة يمكن أن تتأثر أكثر إذ لم يتعرف على هذا التأثير إلا في النصف الأخير من القرن العشرين (Murti وآخرون، 1964).



شكل (1) نبات الهرطمان وبذوره

6.2: العوامل المضادة للتغذية

العوامل المضادة للتغذية Anti-nutritional factors (ANFs) هي مُركبات طبيعية أو اصطناعية تتداخل مع المواد الغذائية مكونة معها مركبات معقدة غير قابلة للتحلل وتثبط عمل الإنزيمات، وتعد واحدة من القيود الرئيسة التي تحد من استخدام البروتينات النباتية في علف الحيوان وهناك العديد منها مثل مثبطات إنزيمات البروتيز والتانينات ,السابونين أو الصابونيات والجوسيبول والهيموكيوتلين والكلوكوسينولات وحامض الفايتيك (Delbertmiii و آخرون، 2007).

7.2: حامض الفايتيك

يعد حامض الفايتيك واحداً من اهم العوامل المضادة للتغذية التي توجد في بذور النباتات، وهو سداسي الفوسفات الإينوسيتول (IP6) وجزيء polyanionic مع ست مجموعات من الفوسفات التي يمكن أن تكون معقدات قوية مع الكاتيونات مثل الكالسيوم والمغنيسيوم والزنك والحديد والبوتاسيوم لتشكيل أملاح غير قابلة للذوبان، ويؤثر سلباً على امتصاص هذه المعادن وهضمها في الأسماك (Papatryphon وآخرون، 1999). وكشفت بحوث عدة أنه في علف الحيوانات بسيطة المعدة يعد الفايتيت أو حامض الفايتيك أهم العوامل المضادة للتغذية التي لها تأثير كبير في تقليل الاستفادة من الغذاء لأن الحيوانات ذات المعدة البسيطة تعاني من نقص إنزيم يحلل الفايتيت الموجود في الغذاء وغير قادرة على الاستفادة من جزء الفوسفور الموجود في الفايتيت (Selle و Ravindran، 2008). ويعمل الفايتيت في مجال واسع من الأس الهيدروجيني بسبب وجود أيونات سالبة الشحنة وتقارب عالٍ للمكونات الغذائية ذات الطبيعة الكاتيونية مثل المعادن والبروتينات وتأثير العناصر الغذائية المهمة (Konietzny و Greiner، 2003). يوجد حامض الفايتيك بصورة رئيسة كأملاح الكاتيونات أحادية التكافؤ (مثل ملح الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم في فول الصويا وملح البوتاسيوم والمغنيسيوم في الأرز) في أجزاء مميزة من البقوليات والحبوب، إلى جانب مواد التخزين الأخرى مثل الدهون والنشا، فإنه يتراكم في الحبوب والبذور أثناء النضج، أمّا في حالة البقوليات والحبوب فقد ترسبت في بلورات كروية وجزيئات aleuronic، على التوالي (Ravindran وآخرون، 1995 ؛ Tyagi و Verma، 1998).

يتجمع الفايتيت في البذور والحبوب أثناء النضج إذ يكون في بداية تصنيعه كأملاح كايتونية أحادية مثل أملاح البوتاسيوم وثنائية التكافؤ مثل المغنسيوم والكالسيوم ترافقه مواد تخزين أخرى مثل

النشا والدهون وغيرها (Zhao وآخرون، 2014). والفايتيت هو الصورة التخزينية للفسفور المرتبط بـ inositol في ألياف الحبوب الكاملة الخام والبذور الزيتية والمكسرات (Walk وآخرون، 2016). كذلك يمثل الفايتيت أيضاً معقدات مع البروتينات والأحماض الأمينية غير قابلة للذوبان تحد من كفاءة استخدامها وهضمها (Sugiura وآخرون، 2001). حامض الفايتيك المعزول من النبات ينتمي إلى مجموعة الفوسفات العضوية وهو خليط من ملح الكالسيوم والمغنيسيوم من الأينوسيتول سداسي الفسفور، المعروف أيضاً باسم الفايتيت، تُعرف أملاح حامض الفايتيك باسم الفايتيت، كذلك فإن توافرها وهضمها للحيوانات أحادية المعدة بما في ذلك الأسماك محدود جدًا بسبب نقص إنزيم الفايتيز في الأمعاء (Pointillart وآخرون، 1987).

أكد Walk وآخرون (2016) على احتواء البذور الناضجة لمعظم أنواع النباتات على فوسفات الأينوسيتول السداسي (IP6) بنسبة حوالي 90–95%، وذلك لحاجة النبات إلى هذا المركب كمخزن للطاقة ومصدر لمولدات مايواينوسيتول (Myo–inositol) جدار الخلية ولبدء طور السكون للنبات. وذكر Kumar وآخرون (2014) بان الفايتيت هو صورة الفسفور المخزون المرتبط مع اينوسيتول في ألياف الحبوب الخام وكلّ من البذور الزيتية والمكسرات، ووصف بأنه عامل مضاد للتغذية وعامل غذائي غير قابل للهضم. يوجد الفايتيك في المكونات النباتية التي تستخدم في أعلاف الأسماك مثل كسبة فول الصويا والأرز والقمح والشعير والذرة الصفراء والفول السوداني وبذور اللفت والهرطمان (Riepe وآخرون، 1995 ؛ Makkar و Becker، 2009) ويتفاوت تركيز الفايتيت في المواد الغذائية تفاوتاً كبيراً ويمثل ما بين 0.7% و2% من معظم الحبوب والبذور الزيتية (Adeola و Sands، 2003). تحتوي مكونات علف الأسماك ذات المصادر النباتية بصورة عامة، مثل فول الصويا، كسبة اللفت ، وكسبة السمسم على 1.0–1.5% ، 5.0–7.5% و 2.4% من الفايتيت على التوالي (Francis وآخرون، 2001). حامض الفايتيك يكون ثابتاً حرارياً في أثناء عمليات تصنيع

العلائق لا يتفكك أو يتكسر بالتعريض للحرارة على عكس المثبطات الأخرى مثل مثبط إنزيم التربسين (Trypsin inhibitors) التي تتكسر عند تعرضها للحرارة (Storebakken وآخرون، 2000). وذكر Ravindran وآخرون (1995) أنَّ 50% إلى 80% من إجمالي محتوى الفسفور في بذور النباتات تخزن في صورة فايتيت. الفوسفور في هذ البذور يكون غير متاح بصورة عامة للحيوانات بسيطة المعدة لذلك لا يمكن الاستفادة منهُ إلا بوجود إنزيم يحلل الفايتيت (Jackson وآخرون، 1996)، لذلك فإن معظم هذا الفسفور ونتيجة لانخفاض هضم الفيتات بوساطة الأسماك، يطرح مع البراز إلى الماء وقد تتسبب في تلوث المياه (Baruah وآخرون، 2004).

8.2: طرائق اختزال المثبطات التغذوية

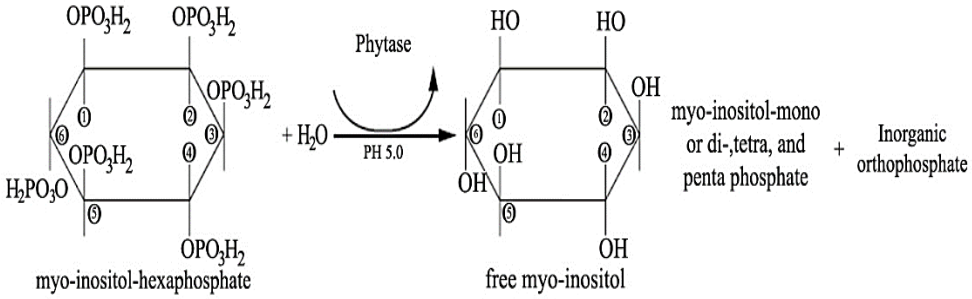
- الحرارة الجافة : التحميص والموصدة (تعقيم وحرارة 115 مْ وضغط 1.5 بار لمدة 15 دقيقة Roasting & Autoclave
- الحرارة الرطبة : الطبخ Cooking
- نقع في الماء Soaking
- الإنبات Germination
- التخمير Fermentation
- الغسل Washing
- استخدام الإنزيمات Use of Enzymes
- إزالة القشور Dehulling
- المعاملات الكيميائية Chemical Treatment
- التشعيع Irradiation (Francis وآخرون، 2001).

9.2: إنزيم الفايتيز

إنزيم الفايتيز هو إنزيم يعمل على تحليل حامض الفايتيك وتحرير الفوسفور بصورة رئيسية، ينتج عن تحليله كذلك بعض المعادن الأخرى, يوجد هذا الإنزيم في الحبوب والنباتات أو يصنع من قبل بعض أنواع البكتريا والفطريات والخمائر، الفوسفور عنصر مهم في تغذية الأسماك والدواجن، إذ يدخل في تركيب العظام وتركيب الخلية والبروتين والدهون وتمثيل الطاقة وحدوث أي نقص في الفوسفور يؤدي الى فقدان الشهية وضعف الحيوان، وقد يؤدي نقصه إلى عدم قدرة الحيوان على النمو بصورة طبيعية، يوجد الفوسفور في العلف على صورتين، صورة عضوية معقدة وأخرى غير عضوية سهلة الامتصاص وتلثي الفوسفور على الصورة العضوية هو حامض الفايتيك إذ يخزن في النباتات، مما يجعل الفوسفور غير قابل للامتصاص إلا عن طريق تحليله بوساطة إنزيم الفايتيز (Sorour، 2002).

ويعرف الإنزيم كيميائياً باسم myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolase ينتج إما عن طريق الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في الحيوانات أو موجود في بعض المكونات النباتية، لا يمكن للحيوانات وحيدة المعدة إفراز إنزيم الفايتيز بكميات كافية أثناء عملية الهضم على عكس المجترات التي يمكن أن تنتج الإنزيم من قبل الأحياء المجهرية في الكرش (NRC، 1993). الفايتيز هو الإنزيم القادر على تحرير الفسفور من حامض الفايتيك، إذ يتحلل الفايتيت بصورة إنزيم إلى مشتقات ميو-إينوزيتول والذي يؤدي إلى توافر الفوسفور للحيوانات وعدم إدراج الفوسفور/الفوسفات في نظامهم الغذائي، كذلك فإنه سيساعد في مكافحة التلوث المرتبط بالفوسفور (Common، 1989). يجب أن يحتوي الفايتيز المثالي المطلوب لتحضير الأعلاف الحيوانية التجارية على بعض المواصفات التقنية لكونها قابلة للتحمل الحراري بحيث لا تتأثر أثناء تحضير علف الحيوانات أثناء

التكوير بالبخار (Selle و Ravindran، 2007). وهناك أنواع عديدة من إنزيم الفايتيز تُعرفَ عليها من النباتات والأحياء المجهرية بما في ذلك البكتيريا والخميرة والفطريات، وعلى الأرجح أنَّ أفضل أنواع الفايتيز هو المنتج من *Aspergillus niger* Phytase الذي رُمِزَ بوساطة جزء DNA 1.4 كيلو بايت ولهُ كتلة جزيئية قدرها 80 كيلو دالتون، مع 10 مواقع جليكوزيل (Lei وآخرون، 1993)، نشاط الفايتيز الميكروبي الأمثل يحدث في اثنين من قيم الأس الهيدروجيني أعلى نشاط يكون عند الأس الهيدروجيني 5.0–5.5 والآخر الأعلى في الأس الهيدروجيني 2.5 (Simons وآخرون، 1990). يتم تعريف وحدة واحدة من الفايتيز (FTU) باعتبارها كمية من الإنزيم الذي يحرر 1 مايكرومول من الفسفور غير العضوي في الدقيقة الواحدة من $10x15^{-4}$ مول/لتر فايتيت الصوديوم في درجة الحموضة 5.5 و 37 درجة مئوية (Von Sheuermann وآخرون، 1988).



مخطط (1) يوضح التركيب الكيميائي وآلية عمل إنزيم الفايتيز (Liu، 1998).

ويوُقف نشاط إنزيم الفايتيز من المصادر النباتية عند درجات حرارة تزيد عن 70مْ في غضون دقائق، في حين تحتفظ معظم الإنزيمات الميكروبية المقابلة بنشاط كبير حتى بعد أوقات طويلة من تعرضها لمثل هذه الحرارة (Pointillart، 1988).

أشار Vohra و Satyanarayana (2003) إلى أنَّ في حالة التغذية على العلائق ذات المصدر النباتي، هناك عاملان مهمان في حامض الفايتيك، وهما اولاً، الحيوانات بسيطة المعدة مثل

الأسماك والدواجن لا يمكن أن تستهلك فسفور حامض الفايتيك نظرًا لأن نشاط إنزيم الفايتيز في معدتها يكون منخفضاً لذلك لا يمكن إعادة امتصاص حامض الفايتيك، وعليه فإنه تزاد علائق الأسماك وأعلاف الدواجن بالفوسفات غير العضوي. ثانيا، حامض الفايتيك هو عامل مضاد للتغذية، وهو تطور معقدات غير قابلة للذوبان مع المعادن الأساسية الغذائية مثل الزنك والكالسيوم والمغنيسيوم والحديد مما يقلل من التوافر الحيوي وعليه، فإن التحلل الإنزيمي لحامض الفايتيك إلى مشتقات ميو إينوسيتول يكون هو المطلوب.

1.9.2: مصادر إنزيم الفايتيز الطبيعية

أن من افضل التقنيات المتبعة في إزالة الفايتيت أو خفضها هي الطرائق الحيوية باستخدام إنزيمات الفايتيز، التي تنتج من العديد من الكائنات الحية منها النباتات والحيوانات والفطريات والبكتريا، إذ كانت أولى المحاولات لإنتاج الفايتيز لأغراض تحسين الأعلاف وتغذية حيوانات المزرعة في عام 1960 لتوفير عناصر الكالسيوم والفسفور تُطرح من خلال الارتباط المخلبي مع الفايتات الموجودة في النباتات المكونة للعليقة (Portz و Liebert، 2004)، لذلك قُبل وسُجِلَ استخدام الفايتيز الخارجي (من مصادر ميكروبية) في تصنيع علائق حيوانات المزرعة لخفض الفوسفات الكلي المطروح الى البيئة (Francis وآخرون، 2001).

تعمل الفايتات المتوفرة في بيئة عزل الكائن المجهري على حث ايض الاحياء المجهرية لإنتاج الفايتيز (Vohra و Satyanarayana، 2003). ويفضل العديد من الباحثين انتاج إنزيمات الفايتيز من مجموعة الفطريات، وقد وجد ان الفطر *Asperigillus* من أفضل الفطريات انتاجاً وقد استطاع من تحديد انتاج إنزيمات الفايتيز من قبل ثلاث عشرة عزلة من الفطريات المحلية بعد فحصه ست وعشرين عزلة فطرية واختار الفطر *Asperigillus tubingensis* في انتاج إنزيم الفايتيز بتخمرات

الحالة الصلبة والسائلة بينما ينتج معظم الإنزيم التجاري من الفطر *Asperigillus niger* (Accensi وآخرون، 1999). ويعد العديد من الباحثين أنَّ انتاج إنزيم الفايتيز من مصادر بكتيرية تعد من التقنيات الواعدة في مجال التقنيات الحيوية وذلك للعديد من المميزات التي تميزها عن إنزيمات فايتيز النبات من جهة وعن إنزيمات فايتيز الفطريات من جانب اخر، إذ يمكن انتاج إنزيمات ذات الأصل البكتيري بكميات كبيرة وفي اوقات السنة جميعها دون تحديد موسم أو التقييد بظروف الزراعة والظروف البيئية، كذلك فإن إنزيم الفايتيز النباتي يكون عرضة للتحطيم من قبل إنزيمات الهضم في الجهاز الهضمي والرقم الهيدروجيني المنخفض وتؤدي الحرارة العالية التي تتولد خلال تصنيع الاعلاف الحيوانية الى تفسخ الإنزيم حرارياً، إذ وجد أنَّ إنزيمات الفايتيز النباتية النقية تكون حساسة لدرجة 70مْ وبأقل من دقيقة واحدة (Greiner وآخرون، 2002). فضلاً عن ذلك وجدت تقنيات الهندسة الوراثية في البكتريا وسيلة مناسبة لتحسين انتاج البكتريا لإنزيم الفايتيز من ناحية الكميات المنتجة (Vohra و Satyanarayana، 2003). وحددت بعض الصفات الريادية للمنتج البكتيري مقارنةً مع المنتج الفطري وذلك لتخصصها العالي تجاه المادة الأساس(الفايتات) ومقاومتها للتحلل بإنزيمات البروتييز الخارجية التي تعمل على خفض الفعالية في المنتجات الإنزيمية الخام, كذلك يمتاز إنزيم الفايتيز البكتيري بكفائته الإنزيمية العالية، ولوحظ أنَّ هناك مقدرة عالية لإنتاج انزيم الفايتيز من أنواع الجنس *Bacillus* المختلفة وبكتريا *Eschericia coli* فضلاً عن امكانية تحسين الانتاج بتقنيات الهندسة الوراثية، وكذلك وجدت العديد من الأنواع البكتيرية ذات القابلية على الانتاج منها بكتريا *Pseudomonas* و *Enterobacter* و*Azotobacter* و*Azosperillum* و *Gleobacter* (Sayeda وآخرون، 2011).

ذكر Gonzalez-Salgado وآخرون (2005) أن الفرق في استخدام إنزيم الفايتيز الفطري Fungal phytase والبكتيري Bacteria phytase وتأثيرهما على أداء الطيور قد لا يذكر

في معدلات التأثير على النمو على الرغم من أنَّ هذا الفرق يظهر جلياً في زيادة إنتاج الفسفور المتاح في حالة استخدام الفايتيز البكتيري في علائق ناقصة في محتواها من الفسفور فقط، أي تقل نسبة الفسفور المتاح عن 30% من احتياج الطيور ولكن لا يظهر ذلك في حالة زيادة هذا الفسفور المتاح في علائق الدواجن إلى 70% من احتياج الطيور، ولقد ثبت علمياً أيضاً أن الفايتيز ذات الأصل البكتيري هو أكثر مقاومة لدرجات تصنع العلف المحبب نسبياً من الفايتيز الفطري وهذا يحافظ على النسبة المضافة من الفايتيز على العلائق لكي لا يحدث فقد في هذه الكمية المضافة.

2.9.2: الأس الهيدروجيني وإنزيم الفايتيز

معظم الإنزيمات المحطمة للفايتيت تنتمي إلى المجموعة الحامضية باستثناء الإنزيمات التي تُفرز من بكتريا الـ *Bacillus*، تنتمي إلى الفايتيز القلوي، إذ أظهرت دراسات سابقة أنَّ النشاط الأمثل لإنزيم الفايتيز في درجة حموضة حوالي 5.0 (Selle وآخرون،2007). واشار Wodzinski وآخرون (1996) الى أن إنزيم فايتيز معظم مصادر النباتات يميل لأن يكون أسه الهيدروجيني الأمثل 5. في حين ذكر Onyango وآخرون (2005) اختلاف الفعالية الحيوية للإنزيمات الميكروبية اعتماداً على درجة الحموضة. اما Greiner و Konietzny (2006) فقد وجد أن استقرارية إنزيمات الفايتيز النباتي انخفضت بصورة كبيرة عند قيم أس هيدروجيني أقل من 4 وأعلى من 7.5.

3.9.2: تأثير الفايتيز على التوافر الحيوي للفسفور

يبقى الفسفور عادة في النبات مع جزيئي يسمى حامض الفايتيك الذي يتكون من سكر مشابه للكلوكوز يسمى Myoinositol تربط به مجموعات الفوسفيت PO^{-4} تساهمياً covalently linked، ويطلق الفايتيز هذه الفوسفات من حلقة الاينوزيتول inositol ring (Baruah وآخرون، 2004)، وهو أهم المعادن التي تتطلبها الأسماك، إذ أن متطلباتها أعلى من العناصر المعدنية الأخرى

(Rocha وآخرون، 2014) . ويشارك بصورة مباشرة في التفاعلات الخلوية المنتجة للطاقة جميعها (NRC، 1993). وعليه، فهو عنصر غذائي أساس لنمو الهيكل العظمي وتطوره وتكاثر الأسماك (Asgard و Shearer، 1997).

يمكن لإنزيم الفايتيز توفير موارد الفسفور عن طريق تحويل الفايتيت إلى فسفور متاح واستبدال الفسفور غير العضوي في تغذية الأسماك (Yoo وآخرون، 2005). لذلك كان الدافع وراء إدراج إنزيم الفايتيز في علائق الأسماك لتعزيز التوافر الحيوي للفسفور ومن ثُمَّ تقليل تصريفه للبيئة المائية مما يسبب تلوثها (Debnath وآخرون، 2005). أدت إضافة إنزيم الفايتيز في النظام الغذائي للأسماك إلى تحسين التوافر الحيوي للفسفور، إذ أثبتت العديد من الدراسات أن مكملات الفايتيز تجعل phytate–P المعقد وغير قابل للامتصاص متاحاً للأسماك (Lemos و Tacon، 2017)، إذ يمكن للنظام الغذائي أن يعتمد على كسبة فول الصويا مضافًا إليه 500 و 1000 FTU/كغم أن يحرر 20% و 40% من الفسفور في أسماك الكارب الشائع، وعليه فإنه يحل محل 1.9 غم من فوسفات ثنائي الكالسيوم $CaHPO_4$ (Schafer وآخرون، 1995)، كذلك أدت إضافة 8000 FTU/ كغم من إنزيم الفايتيز الميكروبي إلى زيادة التوافر الحيوي للفسفور في أسماك سلور القناة *Silurus glanis* (Yan و وآخرون، 2002). واشارت العديد من البحوث أيضاً إلى زيادة كبيرة في توافر الفسفور في أسماك التراوت القزحي *Oncorhynchus mykiss* عند تربيتها باستخدام إنزيم فايتيز غذائي (Riche و Brown، 1996). في النوع نفسه أدى إدراج الفايتيز بمعدل 1500 FTU/ كغم إلى تحسين توافر الفسفور، كذلك اثبت Sugiura وآخرون (2001) أن للفايتيز القدرة على زيادة هضم الفسفور، إذ إنَّ إضافة إنزيم الفايتيز الميكروبي الى كسبة فول الصويا في علائق أسماك التراوت القزحي *O. mykiss* أدت إلى تحسين معامل الهضم الظاهري للفسفور. وكذلك أفاد Sajjadi

وCarter (2004) أن إضافة 2000 FTU/كغم في علائق أسماك السلمون الأطلسي *Salmo Salar* زادت بدرجة كبيرة هضم الفسفور وقابلية الاحتفاظ به.

في أسماك البلطي النيلي *Oreochromis niloticus*، إنَّ أستخدام الفايتيز بمستوى 1000 FTU/كغم أدى ذلك إلى زيادةَ كبيرة في مستويات معامل الهضم الظاهري للفسفور (Cao وآخرون، 2008).

في أسماك الكارب الشائع *C. carpio* أدت إضافة الفايتيز في النظام الغذائي إلى زيادة تركيز الفسفور في بلازما الدم مقارنة مع نظام غذائي خالٍ من الفايتيز (Nwanna وSchwarz، 2007).

4.9.2: تأثير الفايتيز على التوافر الحيوي للعناصر الغذائية الأخرى

إن إضافة إنزيم الفايتيز الى العلائق تعمل على التوافر الحيوي لبعض المعادن عن طريق تحطيم الروابط بين المعادن والفايتيت وزيادة امتصاص المعادن ويزيد من تركيز هذه المعادن في بلازما الدم والعظام والجسم كله(Papatryphon و Soares، 2001)، لذا فإن فقدان المعادن في العلائق يقلل من جودة الغذاء ويمكن أن تؤثر على نمو الأسماك، إذ إنَّ الأنظمة الغذائية للأسماك عادة ما تستكمل بمصادر المعادن المختلفة مثل الحديد والزنك غير العضوية لتلبية المتطلبات الغذائية لها(Do Carmo وآخرون، 2005).

أشارت عدد من الدراسات إلى أن إضافة إنزيم الفايتيز الى علائق الأسماك حسن من قابلية احتفاظ العليقة بالمعادن في كل من أسماك الكارب الشائع (Schaefer وآخرون، 1995) وأسماك البلطي النيلي (Liebert و Portz، 2005). وذكر Cheng وHardy (2004) أن إنزيم الفايتيز

المضاف لعلائق أسماك التراوت القزحي قد حسن من معامل الهضم الظاهري للمعادن باستثناء النحاس والحديد. كذلك كانت إضافة الفايتيز عند مستوى 1000 FTU/كغم من النظام الغذائي كافية لزيادة محتوى Ca و Mg و Mn للعظم بصورة كبيرة في أسماك السلور، وإضافة الفايتيز عند مستوى 8000 FTU/كغم زاد بصورة كبيرة من التوافر الحيوي للزنك المتواجد بصورة طبيعية من الأعلاف (Yan و وآخرون، 2002).

درس Nwanna وآخرون (2005) إضافة إنزيم الفايتيز في علائق أسماك السلور الأفريقي *Clarias gariepinus* بمستوى 8000 FTU/كغم (النظام الغذائي فول الصويا الخام) ليس له تأثير على أداء النمو وتوافر المغنيسيوم والزنك، ولكنه أدى إلى تحسين معامل التحويل الغذائي وتوازن العناصر المعدنية P و Ca و Mn في الجسم. ذكر Oliva-Teles وآخرون (1998) أن الأسماك التي تتغذى على علائق تحتوي على إنزيم الفايتيز يكون تركيز الرماد والكالسيوم والفوسفور والمغنيسيوم في عظامهم أعلى من العلائق التي لم يضفْ لها، وكذلك حددوا أن إضافة إنزيم الفايتيز بمستوى 500 وحدة/كغم من النظام الغذائي كانت كافية لتحسين الاحتفاظ بـ Ca و P و Mg بصورة كبيرة من قبل أسماك السلور *Silurus glanis* التي تتغذى على نظام غذائي من البروتين النباتي. ووجد Vielma وآخرون (1998) أيضًا زيادة في تركيز المعادن مثل Mg و P و Ca و Mn و Zn في كل من بلازما الدم والعظام والجسم كله عند إضافة إنزيم الفايتيز لعلائق أسماك التراوت القزحي *O. mykiss*.

5.9.2: تأثير الفايتيز في التوافر الحيوي للبروتينات

حامض الفايتيك من مضادات التغذية التي تعمل على تكوين معقدات مع البروتين في البذور أثناء النضوج وتقاوم الهضم البروتيني، إذ يرتبط مع إنزيم التربسين وعليه فإنه يقلل من قابلية هضم

البروتين (Singh و Krikorian ، 1982). اثبتت العديد من الدراسات استفادة الجسم من البروتين عند إضافة إنزيم الفايتيز الى علائق التغذية، إذ حُسِنَ هضم البروتين والاستفادة منه والاحتفاظ به (Storebakken وآخرون، 1998). ذكر Debnath وآخرون (2005) أَنَّ إضافة إنزيم الفايتيز للنظم الغذائية لأسماك سلور القرش *Pangasius pangasius* بمعدل 500 FTU/كغم يزيد من استخدام البروتين الخام في الجسم، وبيَّن أن قابلية هضم البروتين للوجبات الغذائية قد تحسن معنوياً ($p\leq0.01$) مقارنة مع معاملة السيطرة التي أظهرت قابلية هضم منخفضة. إذ اثبتت ذلك دراسات أخرى حصلت على نتائج مماثلة أيضاً لأنواع الأسماك مثل الكارب الشائع *C. carpio* L. (Bai وآخرون، 2004) أسماك التراوت القزحي *O. mykiss* (Forster وآخرون، 1999؛ Sugiura وآخرون، 2001). ذكر Yan وآخرون (2002) أن إضافة إنزيم الفايتيز عند مستوى 8000 FTU/كغم في نظام غذائي كامل من البروتين النباتي لم تحصل زيادة الوزن أو تحسين استخدام البروتين الغذائي لسمك السلور *S. glanis*. أماّ أسماك البلطي *O. niloticus* غُذيت على علائق تعتمد على البروتين النباتي (كسبة فول الصويا وكسبة الكانولا) كمصدر وحيد للبروتين مع إضافة إنزيم الفايتيز فقد زاد هضم البروتين من 89.6٪ في معاملة السيطرة إلى 93٪ في المعاملات المضاف لها الإنزيم، هذا يدل على أن إنزيم الفايتيز كان له تأثير إيجابي على هضم البروتين (Heindl، 2002). وقام كلٍ منCheng و Hardy (2002) بإضافة إنزيم الفايتيز المايكروبي في الشعير وكسبة الكانولا والحنطة بمستوى FTU500/كغم لاختبار تأثير فعالية الإنزيم على هضم البروتين الخام والطاقة الإجمالية والمعادن في أسماك التراوت القزحي *O. mykiss* وتوصلا الى حصول استجابة من إضافة إنزيم الفايتيز المايكروبي إلى الشعير وكسبة الكانولا والحنطة من خلال تحسن في معامل الهضم.

6.9.2: تأثير الفايتيز على معايير النمو في الأسماك

يعمل إنزيم الفايتيز على تحليل حامض الفايتيك ويزيد من نمو الأسماك من خلال الاستفادة القصوى توافر العناصر المعدنية والبروتين وزيادة شهية الأسماك للغذاء (Cao وآخرون، 2007). إذ أشار Li و Robinson (1997) إلى أن الأسماك التي تغذت على علائق تحتوي على إنزيم الفايتيز بمستوى 250 FTU/ كغم استهلكت أعلاف أكثر واكتسبت المزيد من الوزن مقارنة بالأسماك التي تغذت على علائق خالية من الإنزيم الميكروبي. كذلك أظهرت الدراسات التي أجريت على إصبعيات أسماك الروهو *Labeo rohita* أن استخدام الفايتيز المايكروبي في النظم الغذائية (الوجبات الغذائية القائمة على كسبة فول الصويا) أدى الى تحسين الأداء الكلي (Baruah وآخرون، 2007)، وأشار Liu وآخرون (2014) إلى أن إضافة الفايتيز بمستويات 500, 1000 و1500FTU /كغم إلى علائق أسماك الكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella* وبطرائق تطبيق مختلفة أدت جميعها إلى تحسين الوزن وزيادة معدل النمو ونسبة كفاءة البروتين زيادة محتوى الرماد والمعادن (P، Ca، Mg و Zn) في الجسم كله. ولاحظ Xin-zheng وآخرون (2017) أن هناك تأثيراً لإنزيم الفايتيز على أداء النمو واستخدام الفوسفور عند استخدامه بمستويات مختلفة 200 و300 و500 FTU/كغم في علائق أسماك الكريسين *Carassius auratus*، وقد حسنت من وزن الجسم النهائي ومعدل النمو اليومي وكفاءة التحويل الغذائي، واستخدام الفوسفور، ونسبة كفاءة البروتين، وكذلك لاحظوا إنَّ إضافة إنزيم الفايتيز قد زاد من نشاط إنزيمي الـ Trypsin والـ Chymotrypsin. ذكر Liebert و Portz (2005) أن النمو الأمثل لأسماك البلطي النيلي *O. niloticus* يمكن أن يتحقق بإضافة إنزيم الفايتيز بمستوى 750-1250 FTU/كغم في النظم الغذائية النباتية. وأشار Syed وآخرون (2017) في دراسة اجراها على إصبعيات أسماك الروهو *Labeo rohita* عندما استخدم مستويات مختلفة من

إنزيم الفايتيز 0 ،250 ،500 ،750 ،1000 ،1250 وFTU1500 /كغم، أن مستوى الإضافة 750 FTU /كغم أدى الى زيادة بصورة فعالة وتحسين في معايير معامل الهضم الظاهري للبروتين 64% والدهون الخام 76% والطاقة الإجمالية 68% وتحسين في إداء النمو بالمقارنة مع عليقة المقارنة والمعاملات التجريبية الاخرى. ولاحظ Hassaan وآخرون (2013) عند إضافة إنزيم الفايتيز إلى عليقة أسماك البلطي *O. niloticus* وبثلاث مستويات 0 و 500 و 1000 FTU/كغم، إنَّ المعاملات التي أضيف الفايتيز لها كان لديها معدل نمو والبروتين الخام ورماد والفوسفور أعلى من معاملة السيطرة. في حين لاحظ Cao وآخرون (2008) أن إضافة 1000 FTU /كغم يعطي أداء نمو ومعامل تحويل غذائي أفضل في أسماك البلطي. واثبت Vielma وآخرون (2000) أنَّ إضافة إنزيم الفايتيز أدى الى تحسين معدلات النمو بصورة كبيرة عندما غُذيت أسماك السلمون المرقط *Oncorhynchus clarkii* بنظام غذائي مضاف له الإنزيم بمستوى 2000 FTU / كغم.

7.9.2: تأثير الفايتيز على جودة المياه

إن سرعة مشاريع تربية الأحياء المائية وتطورها أدى إلى ظهور حالات من التلوث في البيئة المائية التي من الممكن أن تؤدي إلى حصول هلاكات كبيرة في أسماك التربية، لذا اتجهت الأنظار نحو تحسين البيئة المائية والحد من تلوثها كونها مصدر قلق كبير للمزارعين والباحثين والحكومات على حد سواء (Cao وآخرون، 2007). وتعد مشاريع تربية الأحياء المائية عموماً والأسماك على وجه الخصوص مصدراً لمغذيات البيئة المائية مثلها مثل بقية الأنشطة الزراعية الأخرى (Verdegem، 2013). فقد بلغ تجهيز الفسفور إلى البيئة نتيجة لاستزراع الأحياء المائية حوالي 0.46 مليون طن متري وهو ما يمثل حوالي 2.3% من إمدادات العالم من الفسفور كأسمدة، إذ يعد الفسفور مادة غذائية محددة لإنتاج الهائمات النباتية والطحالب في معظم نظم البيئة المائية، لذا فإن

تصريفها إلى الماء بصورة مباشرة يسبب الإفراط في نمو وتكاثر الطحالب المؤدية بصورة مباشرة أو غير مباشرة إلى استنفاذ الأوكسجين وعليه فإنه يؤدي الى تدهور المسطحات المائية الطبيعية (Bali و Satyanarayana، 2001). وأُستخِدم إنزيم الفايتيز خلال العقود الماضية، للحد من تأثير الفسفور على البيئة وتقليل أحمال النفايات السائلة الزراعية، إذ يمكن أن تتغلب مكملات الفايتيز على هذه المشاكل وتزيد من توافر الفسفور في العلائق وعليه ستكون هناك إفراز أقل في البراز، مما يقلل التلوث البيئي (Nwanna وآخرون، 2005).

ذكر Li و Robinson (1997) أن إضافة إنزيم الفايتيز الميكروبي في عليقة أسماك السلور قلل من إفراز الفسفور في الفضلات بنحو60%. وكذلك تشير العديد من الدراسات إلى أنَّ إضافة إنزيم الفايتيز له فوائد بيئية من خلال تقليل نسبة الفسفور الذي يفرز في الفضلات إلى 30-40% (Omogbenigum وآخرون، 2003) فضلاً عن رفع كفاءة الاستفادة من المغذيات (الفيتامينات والمعادن وغيرها) ومن ثمَّ خفض تكاليف التغذية، إذ إنهَّا تجعل من الفسفور الموجود في حامض الفايتيك متاحاً للأسماك، وهذا يعني ان هناك إفراز أقل للفسفور في الفضلات وعليه فإنه يقلل من التلوث البيئي (Liebert و Portz، 2005). فقد اهتم الباحثون والشركات في السنوات الأخيرة اهتمامًا متزايدًا لاستخدام إنزيم الفايتيز بجرعات مناسبة كانت او حتى عالية لرفع كفاءة الاستفادة من الفسفور ومن ثم بقية العناصر الغذائية الموجودة في العليقة مما يعني رفع أداء النمو في الأسماك وزيادته (Walk وآخرون، 2016).

الفصل الثالث

3. المواد وطرائق العمل Material and Methods

1.3 موقع وأسماك التجربة

أجريت التجربة في مقاطعة الدكمانية التابعة إلى ناحية أور قرب محطة ضخ المصب العام جنوب شرق مدينة الناصرية بموقع 12 كم عن مركز محافظة ذي قار الشكل (2). لمدة 92 يوم من 2019/8/24 ولغاية 2019/11/23 بضمنها مدة الاقلمة التي بلغت 8 ايام، جلبت 160 سمكة من أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. متجانسة في الوزن وبمعدل 3±250 غم من مفقس الفجر أهلي الذي يقع شمال مدينة الناصرية، ونقلت الأسماك بوساطة عجلة حمل نوع كيا تحمل مضخة مياه لمداورة المياه، وعند وصول الأسماك إلى موقع التجربة وضعت داخل الأقفاص البلاستيكية لغرض اقلمتها واختيار الأسماك الجيدة منها واستبعاد الضعيفة لغرض بدء التجربة.

شكل (2) موقع التجربة * Google Maps

2.3 نظام تربية الأسماك في التجربة

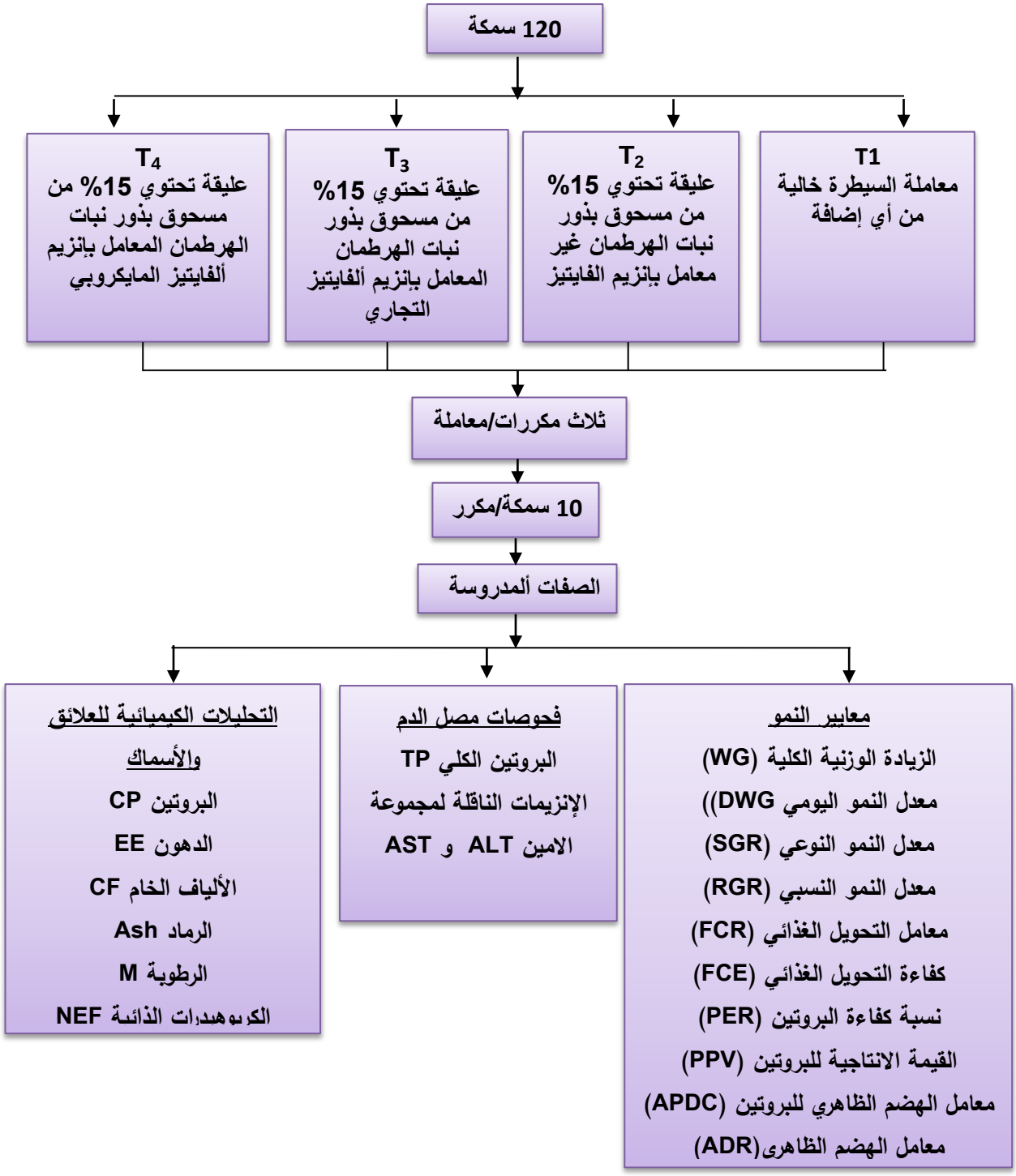
أجريت تجربة تربية الأسماك بوساطة نظام تربية الأقفاص العائمة في نهر الفرات ذات ابعاد 3×3×2 متر مغلفة بمشبك بلاستيكي قوي ومزودة بطوافات من الفلين، وتبعد الأقفاص بحدود 6م عن حافة النهر، وضعت داخلها أقفاص صغيرة صنعت من أنابيب بلاستيكية، وغلفت الأقفاص بمشبك حديدي مغلف بالبلاستك ذي فتحات يبلغ قطرها 7ملم، وصممت هذه الأقفاص البلاستيكية بأبعاد بلغت 1×1×1م وثبت عليها غطاء المشبك بصورة جيدة على الأقفاص لمنع هروب الأسماك (شكل 3).

شكل (3) الأقفاص المستخدمة لتربية الأسماك

3.3 تعقيم وأقلمة أسماك التجربة

وضعت الأسماك في محلول ملحي بتركيز 3% ولمدة 3–5 دقائق لحين ظهور علامات الاجهاد عليها لغرض القضاء على الطفيليات الخارجية إن وجدتْ، اختيرت 120 سمكة ووزعت عشوائيا بالتساوي على أربع معاملات لكل معاملة 30سمكة ، وبواقع ثلاثة مكررات بواقع ثلاثة

مكررات وضعت 10 سمكات لكل مكرر، استمرت الأقلمة لمدة 8 ايام قبل بدء التجربة وقدم لها الغذاء بنسبة 3% من وزن الكتلة الحية. غذيت الأسماك بنسبة 3% من وزنها وبواقع وجبتين يومياً صباحاً ومساءً، عدلت النسبة كل أسبوعين بعد وزن الأسماك لمراقبة النمو وكفاءة الأداء (مخطط 2).



مخطط (2) يوضح معاملات التجربة والصفات المدروسة على اسماك الكارب الشائع

4.3 معاملة مسحوق الهرطمان بإنزيم الفايتيز التجاري

تم شراء إنزيم الفايتيز (إنزيم علفي جاف نوع FARMAVET PHYTASE 2400 تركي المنشأ) من الاسواق المحلية في محافظة بغداد وطُحِنَتْ بذور نبات الهرطمان بوساطة مطحنة أهلية في محافظة الناصرية وأضيفَ 2غم من إنزيم الفايتيز لكل كغم من بذور نبات الهرطمان المطحونة ما يعادل 2400 FTU (1غم من إنزيم الفايتيز التجاري يساوي 1200 FTU)، ومزجه لكي يتجانس بصورة جيدة لحين استخدامه مع مكونات العلف لأعداد العليقة الخاصة به.

5.3 إنتاج واستخلاص إنزيم الفايتيز مختبرياً

أجريت عملية انتاج إنزيم الفايتيز واستخلاصه مختبرياً في مختبرات مركز التقانات الإحيائية– دائرة البحوث الزراعية–وزارة العلوم والتكنولوجيا، إذ نُقيت البكتريا المنتجة لإنزيم الفايتيز والعائدة لجنس *Bacillus* على الوسط الخاص بالانتاج Phytate Solubilizing Medium (PSM) (المتكون من 15 غم كلوكوز، 0.5غم من $(NH4)_2$ So4 و0.05غم من Mg So4 و NaCl و $CaCl_2$ و0.001غم من Fe So4 وMn So4 و15مل من الفايتيت المحضر مختبرياً من بذور الهرطمان (وحضر الفايتيت مختبرياً من خلال استخلاص فايتيت الصوديوم من بذور الهرطمان اعتماداً على الطرائق التي ذكرهما Kwanyuen و Burton (2005)، إذ يؤخذ 1غم من بذور الهرطمان وأضيف إليهِ 6مل من حامض الكبريتيك المركز وحضن مع الرج لمدة ساعتين، ثم يترك 18 ساعة بدرجة 8مْ ثم ينقل إلى الهزاز تحت درجة حرارة المختبر لمدة ساعتين، ورشح بواسطة ورقة ترشيح ويؤخذ الرائق ويعدل الآس الهيدروجيني إلى 6.5 بواسطة الماء المقطر ليتم إضافته إلى وسط الـ PSM وعقمت بالموصدة، وزعت 250مل من الوسط الزرعي السائل في دوارق سعة 500مل وعقمت بجهاز الموصدة (تعقيم وحرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة) ثم بردت ولقحت بالبكتريا المعنية وحضنت بدرجة 30مْ

لمدة 72 ساعة بالحاضنة الهزازة بسرعة 120د/د (Sasirekha وآخرون، 2012)، استخلص إنزيم الفايتيز بترسيب المزروع البكتيري بسرعة 7000 د/د بجهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة، جمع الراشح الخالي من الخلايا البكتيرية بعد انتهاء مدة الترسيب ليكون المستخلص الخام للإنزيم. قدرت الفعالية الإنزيمية للمستخلص الخام بمزج 0.1مل من راشح المزرعة الخالي من الخلايا مع 0.9مل من 2 ملي مولاري من فايتيت الصوديوم والمذاب في محلول داريء الترس Tris Buffer ذي الرقم الهيدروجيني 7، حضن التفاعل بدرجة 30 مْ لمدة نصف ساعة (Powar و Jagannathan، 1982)، ثم قدر الفسفور المتحرر بطريقة المولبيديوم حامض الأسكوربك (Molybdenum ascorbic acid method) من خلال مزج 1مل من مزيج التفاعل السابق مع 3مل من H_2So_4 تركيز 1.5 مولاري مع 0.4مل من الـ Molybdenum تركيز 10% و 0.4 من Ascorbic Acid تركيز 0.5% وأكمل الحجم إلى 15مل بالماء المقطر وترك المزيج لمدة 20دقيقة بدرجة حرارة 25مْ. بعد ظهور اللون الازرق دليل على وجود الفسفور والذي حُدِدَ تركيزه باستخدام منحني قياسي لتراكيز مشابه من $KN_2\ PO_4$ وأخذت القراءات عند طول موجي 660 نانومتر (Kwanyuen و Burton، 2005). وعرفت الوحدة الإنزيمية بأنها كمية الإنزيم المطلوبة لتحرير 1مايكرومول من الفوسفيت بالدقيقة الواحدة تحت ظروف التفاعل (Zhu وآخرون، 2011).

6.3 معاملة مسحوق الهرطمان مع إنزيم الفايتيز المايكروبي المستخلص مختبرياً

عُومل مسحوق بذور الهرطمان بإضافة 80 مل (كل 100مل يعادل بحدود 2–3 غم كمادة جافة) (اتصال شخصي مع د. خلود عبدالاله الخفاجي من مركز التقانات الاحيائية – دائرة البحوث الزراعية – وزارة العلوم والتكنولوجيا) من راشح مستخلص إنزيم الفايتيز/كغم من مسحوق بذور الهرطمان مع إضافة 100 مل من الماء الدافئ لزيادة كفاءة إنزيم الفايتيز، يتم الفرك والمزج بصورة

جيدة لضمان عملية تجانس راشح الإنزيم مع مسحوق بذور الهرطمان، ويُغطى المخلوط أعلاه لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة المختبر، ويْجفف المخلوط بوساطة أشعة الشمس لغرض إيقاف نشاط إنزيم الفايتيز (Reddy وآخرون، 1982).

7.3 تصنيع العلائق

جُلبت المواد العلفية من الأسواق المحلية لعمل العلائق التجريبية، وتم الحصول على بذور نبات الهرطمان من الاسواق المحلية في مدينة الناصرية مركز محافظة ذي قار، جُرشت وطُحنت بذور نبات الهرطمان على صورة مسحوق بوساطة مطحنة أهلية، وهي تعدُّ من العمليات الفيزياوية التي تعمل على زيادة المساحة السطحية لمسحوق بذور نبات الهرطمان المعرضة لفعل تأثير إنزيم الفايتيز، أجريت معاملتان حيويتان لمسحوق بذور نبات الهرطمان، الأولى أضيف 2غم من إنزيم الفايتيز المايكروبي التجاري لكل كغم من مسحوق الهرطمان (إنزيم علفي جاف نوع FARMAVET PHYTASE 2400 تركي المنشأ)، والمعاملة الأخرى لمسحوق بذور الهرطمان، أضيف 80 مل من إنزيم الفايتيز المايكروبي المستخلص من بكتريا العائدة لجنس *Bacillus* spp/كغم من مسحوق الهرطمان. وزنت المواد العلفية بحسب النسب المؤية لكل مادة، وخلط مقدار 10 كغم من المواد الجافة، وأضيف مسحوق الهرطمان الخام والهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري والهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المستخلص مختبريا كلٌّ على حده وحسب المعاملة ومزجها يدوياً وبصورة جيدة لمجانسة مكونات العليقة مع بعضها، أضيف لها الماء بنسبة 10% وتعجن بصورة جيدة لحين الحصول على عجينة شبه ناشفة، كُبس خليط العليقة بكابسة محلية الصنع وصنعت الأعلاف (الغاطسة) بشكل أقراص بقطر 6 ملم، وتركت مكشوفة ومعرضة للهواء لمدة 24 ساعة لكي تجف، بعد ذلك عُبئت في أكياس بلاستيكية سعة 50 كغم لحين الاستخدام، غذيت الأسماك عند بداية

التجربة بنسبة 3% من وزن الكتلة الحية وبواقع مرتين في اليوم ويعدل وزن الأعلاف من خلال وزن الأسماك كل أسبوعين، استخدمت طريقة التغذية بوساطة الأواني الغاطسة (الصواني). وصنعت أربع علائق تجريبية جدول (1) كما يأتي:

المعاملة الأولى (T1): عليقة اعتيادية بدون إضافة مسحوق بذور نبات الهرطمان (للمقارنة).

المعاملة الثانية (T2): عليقة أضيف اليها 15% مسحوق بذور نبات الهرطمان الخام غير المعامل بإنزيم الفايتيز.

المعاملة الثالثة (T3): عليقة أضيف اليها 15% مسحوق بذور نبات الهرطمان المعامل بـ 2غم فايتيز تجاري/كغم مسحوق بذور نبات الهرطمان (2400 FTU فايتيز/كغم هرطمان).

المعاملة الرابعة (T4): عليقة أضيف اليها 15% مسحوق بذور نبات الهرطمان المعامل بـ 80مل من إنزيم الفايتيز المايكروبي.

جدول (1) النسب المئوية لمكونات العلائق التجريبية المختبرية

مكونات العليقة	T1 السيطرة	T2 عليقة الهرطمان الخام غير معامل	T3 عليقة الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري	T4 عليقة الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي
كسبة فول الصويا*	35	28	28	28
مركز بروتين حيواني**	15	15	15	15
مسحوق بذور نبات الهرطمان	0	15	15	15
ذرة صفراء	17	17	17	17
شعير علفي	10	10	10	10
نخالة الحنطة	10	5	5	5
حنطة علفية	10	7	7	7
زيت زهرة الشمس	1	1	1	1
ملح	1	1	1	1
فيتامينات ومعادن***	1	1	1	1
المجموع	100	100	100	100

*** كسبة فول الصويا مستوردة ذات منشأ أرجنتيني تحتوي على نسبة بروتين 48%**

**** بروتين حيواني مستورد يحتوي على نسبة بروتين 40% أرجنتيني ألمنشأ**

***** فيتامينات ومعادن تركية المنشأ**

8.3 تجربة الهضم

أجريت تجربة الهضم على أسماك التجربة معدل وزنها 300غم في مختبر الاسماك التابع لكلية الزراعة / جامعة المثنى باستخدام الأحواض البلاستيكية بإضافة 1% من ثاني أوكسيد الكروم Cr_2O_3 إلى العلائق التجريبية بوصفه دليل هضم (Digestion Indicator)، ويتميز هذا الدليل بكونه خاملاً

لا يتفاعل داخل الجهاز الهضمي للأسماك وغير قابل للهضم وليس له أي تأثيرات جانبية عند استخدامه، غذيت الأسماك على العلائق لمدة 15 يوما، تعطى العليقة للأسماك ويُنظف الحوض من بقايا العلف ثم تراقب الأسماك كل ساعة لجمع الفضلات منها قدر الامكان (Windell وآخرون، 1978) أجريت عملية تقدير أوكسيد الكروم في مختبرات مركز الثروة الحيوانية والسمكية/دائرة البحوث الزراعية/وزارة العلوم وبالتكنولوجيا اعتماداً على الطرائق القياسية الذي ذكرها Erwin و Victor (2004) باستخدام خليط الحوامض المحضرة مسبقاً، إذ يُوزن 1غم من النموذج بميزان حساس لغاية ثلاث مراتب بعد الفارزة ويوضع في دورق الهضم المقاوم للحرارة والحوامض، أضيف 20 مل من خليط الحوامض المحضرة الممزوجة جيداً وهي: 400 مل من حامض النتريك المركز (HNO_3) تركيز 65%، 40 مل من حامض البيركلوريك المركز ($HClO_4$ Perchloric acid) تركيز 70% و10مل من حامض الكبريتيك المركز (H_2So_4) تركيز 96%، يوضع الدورق على هيتر حراري بوجود الرمل وعلى درجة حرارة 100مْ لمدة 2 ساعة تقريباً مع الرج بين مدة وأخرى لحين الحصول على محلول رائق عديم اللون، ينقل إلى دورق حجمي سعة 100مل على أن يكون النقل كمياً ويكمل إلى العلامة بالماء المقطر اللآيوني ويقدم بعدها إلى جهاز الامتصاص الذري Atomic Absorption موديل NOVA400 من انتاج شركة Analytikjene الألمانية.

9.3 تقدير الأحماض الامينية

قدرت الأحماض الأمينية لعليقة المقارنة وبذور الهرطمان (جدول 2) في مختبرات دائرة بحوث المواد/وزارة العلوم والتكنولوجيا وفق الطرائق المتبعة من (McClnug و Frankenberger، 1988) باستخدام تقانة الكروموتوكراف السائل عالي الكفاءة (HPLC) High Performance Liquid Chromatograph وكما يأتي:

1.9.3 المرحلة الأولى (هضم الأنموذج)

هضم الأنموذج بإضافة 5 مل من حامض الهيدروكلوريك (6 عياري) إلى 0.5 غم من الأنموذج في أنبوب زجاجي حجم صغير مغلف بصورة جيدة، وسحب الهواء من الأنبوب بوساطة محقنة طبية (سرنجة) تربط بمضخة سحب الهواء Vacuum pump لمدة 5 دقائق ويكبس الغطاء بوساطة كابسة الأغطية، ثم يوضع في فرن لمدة 24 ساعة. رشح المحلول بوساطة ورقة ترشيح ويؤخذ الرائق.

2.9.3 المرحلة الثانية (المشتقة Derivatives)

حضرت المشتقة المتكونة من الفنيل ثايوكاربامیل Phinylthiocarbamyl derivatives وذلك بسحب 10 مايكروليتر من المحلول الرائق بوساطة المبخر الدوار وبدرجة حرارة 50مْ حتى الجفاف. أُذِيَبتْ المادة الجافة في 100 مايكروليتر المتكون من دارئ الربط Coupling buffer المتكون من 10 مل الأسيتونايترل Acetonitrille و5 مل بيردين Pyridine و2 مل من مركب الأمين ثلاثي الأثيل Tryethylamine و 3 مل ماء مقطر، ويبخر باستخدام المبخر الدوار وبدرجة حرارة 50مْ حتى الجفاف وذلك للتخلص من أثار حامض الهيدروكلوريك. أضيف 100 مايكرولتر مرة أخرى من دارئ الربط المذكور أعلاه مع 5 مل من مادة Phenylisothiocyanate ومزج الخليط وتركه لمدة 5 دقائق وبدرجة حرارة الغرفة. جفف الأنموذج ثانية بصورة جيدة بوساطة المبخر الدوار وأضيف 150 مايكروليتر من دارئ الربط المتكون من اسيتونايثرل : ماء وبالنسب 7:2 على التتالي.

3.9.3 المرحلة الثالثة (الحقن)

استخدم جهاز الكروموتوغرافي السائل عالي الكفاءة(HPLC) High Performance Liquid Chromotography طراز LC-6A من انتاج شركة Shimaadzy اليابانية والحاوي على وحدة سيطرة S11-6A لغرض التحكم بتنظيم التدرج في تركيز الأطوار المتحركة A ، B وحقنت النماذج باستخدام جهاز الحقن طراز 7125 Rheodyne، وكان حجم الأنموذج المحقون 10 مايكرولتر. وكشف عن مشتقات الأحماض الأمينية باستخدام كاشف الأشعة فوق البنفسجية – الأشعة المرئية طراز SPD-6VA وعلى طول موجي مقداره 254 نانومتر وعلى وفق زمن الاحتجاز ومساحة الحزم باستخدام حاسبة طراز CR4-A. استخدام عمود الطور المعكوس Ultrasphere-ODS (C-18) ذي الأبعاد 4.6×250 ملم وبحجم جزيئات 5 مايكروميتر في عملية الفصل وكما يأتي:

يُهيء المذيب A من خلات الأمونيا (0.115 مولاري) ذو حامضية 6 والمذيب B من خلات الأمونيا (0.23 مولاري) ذي حامضية 6 ومزج 44 مل من الاستونايتدل و10مل ميثانول و46مل ماء مقطر وأس هيدروجيني 6 للمُذيبين A و B باستخدام حامض الفسفوريك المركز. وشخصت الأحماض الأمينية عن طريق حساب زمن الاحتجاز لكل حامض أميني باستخدام أحماض أمينية قياسية مجهزة من شركة BDH الانكليزية وشركة LKB السويدية. وأجريت عملية الفصل في درجة حرارة الغرفة وبسرعة جريان مقدارها 1 مل/دقيقة .

10.3 التحليلات الكيميائية

أجريت التحليلات الكيميائية للعلائق الغذائية (جدول 2)، ولبذور نبات الهرطمان الخام والمعامل إنزيمياً (جدول 3)، ولحوم الأسماك (جدول 4) من العناصر الغذائية (البروتين الخام، مستخلص الإيثر، الألياف الخام، الرماد) في مختبرات دائرة البحوث الزراعية–وزارة العلوم والتكنولوجيا بالاعتماد على الطرائق القياسية المعتمدة (Association of official analytical chemists) AOAC (2000)، أمّا الكربوهيدرات الذائبة فقد حسبت رياضياً بطريقة الفرق حسب المعادلة التي ذكرها Weeو Shy (1989)، حسبت الطاقة الايضية وفق المعادلة التي أشارا اليها كلٌّ من Hepher و Pruginin (1981) = (بروتين×5.56)+(الكربوهيدرات الذائبة×4.45)+(مستخلص الايثر×9.2).

جدول (2) التحليل الكيميائي ونسبة العناصر الغذائية في العلائق التجريبية % محسوبة على المادة الجافة

العناصر الغذائية	T1 السيطرة	T2 علبقة بذور نبات ألهرطمان الخام الغير معامل بإنزيم	T3 علبقة بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري	T4 علبقة بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي
بروتين خام	30.61	29.42	29.72	29.38
مستخلص الايثر	5.78	5.11	5.09	5.21
ألالياف	6.81	6.24	6.38	6.24
الرماد	7.09	7.42	7.81	7.72
*المستخلص الخالي من النتروجين Nitrogen Free Extract (NFE) (الكربوهيدرات الذائبة)	50.29	51.81	51.00	51.45
**ألطاقة ألايضية (كيلو سعرة / 100 غم)	447.15	441.13	436.02	440.23

جدول (3) نسبة العناصر الغذائية في بذور نبات الهرطمان الخام والمعامل إنزيمياً محسوبة على المادة الجافة

العناصر الغذائية	عليقة بذور نبات الهرطمان الخام الغير معامل بإنزيم	عليقة بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري	عليقة بذور نبات الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي
بروتين خام	28.24	28.52	29.38
مستخلص الايثر	4.24	4.08	4.11
الألياف	7.22	6.91	7.34
الرماد	7.36	7.58	6.92
*المستخلص الخالي من النتروجين (الكربوهيدرات الذائبة)	52.94	52.91	52.25
**الطاقة الأيضية (كيلو سعرة / 100 غم)	432.60	431.54	433.67

*حسبت الكربوهيدرات الذائبة (NFE) = 100 – (البروتين% + مستخلص الإيثر% + الرماد% + الألياف%)

**الطاقة ألايضية = (بروتين×5.56)+(الكربوهيدرات الذائبة×4.45)+(مستخلص الايثر×9.2).

جدول (4) تحليل جسم الأسماك Body Composition محسوبة على اساس المادة الرطبة% في علائق بذور نبات الهرطمان

المعاملات	الرطوبة%	البروتين%	الدهن%	الرماد%
T1 المقارنة	77.21	16.28	5.12	1.02
T2 هرطمان خام غير معامل	76.81	14.18	6.05	1.12
T3 هرطمان معامل بإنزيم الفايتيز التجاري	76.46	16.05	6.21	1.05
T4 هرطمان معامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي	74.81	17.43	6.21	1.13

11.3 القياسات الحقلية

قيسَ متوسط وزن الأسماك كل أسبوعين بواسطة ميزان الكتروني لتحديد كمية العلف اليومي على أساس 3% من وزنها.

1.11.3 قياس بعض الصفات الفيزياوية والكيمياوية للماء في موقع التجربة (الفحوصات البيئية)

أخذت عينات من ماء نهر الفرات من وسط الاقفاص صباحاً مرة في كل شهر، وقيست بعض الصفات الفيزياوية والكيمياوية للماء في مختبرات مديرية البيئة في محافظة ذي قار بوساطة الاجهزة الآتية :

1- محرار الكتروني نوع KT300 لقياس درجة حرارة الماء.

2- جهاز Dissolved OxyMeter نوع HANNA اوربي المنشأ لقياس الأوكسجين المذاب في الماء.

3- جهاز نوع Inolab أوربي المنشأ لقياس التوصيلية الكهربائية للماء وحسبت الملوحة حسب المعادلة:

$$\text{الملوحة} = \left(\frac{\text{التوصيلية الكهربائية}}{1000}\right) \times 0.64$$

(Mackereth وآخرون، 1978)

4- جهاز نوع Inolab أوربي المنشأ لقياس درجة حموضة الماء pH .

5- استخدمت قطعة من الفلين لقياس سرعة جريان الماء.

12-3 المعايير الدمية

1.12.3 جمع عينات الدم

سحب الدم من مجاميع مختلفة من الأسماك في كل معاملة من الوريد الذنبي Caudal Vein بوساطة محقنة بلاستيكية سعة 5مل كما في الشكل (4)، ووضعت عينات الدم في أنابيب لا تحتوي على مانع تخثر لفصل المصل (Serum) عن الدم، وبعدها فُصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي Centrifuge نوع MSE موديل HJ-488A وسرعة 1500 دورة في الدقيقة الواحدة ولمدة دقيقتين (Yang و Chen، 2003)، إذْ أجريت عملية سحب المصل بوساطة حقن الانسولين وحفظت في درجة حرارة تحت الصفر مئوي إلى حين قياس معايير الدم المطلوبة.

شكل (4) سحب الدم من الأسماك

2.12.3 قياس البروتين الكلي Total protein

قُيسَ البروتين الكلي (TP) في مصل الدم بوساطة عدة مختبرية (Kit) بجهاز Chem 7 ألماني المنشأ. وكان التركيز مقدر بوحدة (ملغم/100 مل).

3.12.3 قياس تركيز إنزيم ناقل الالنين Alanine amino Transferase

قدرت فعالية إنزيم ناقل الالنين (ALT) في مصل الدم بوساطة عدة جاهزة (Kit) بجهاز Erba Chem 7 ألماني المنشأ. ويكون هذا التركيز مقدر بـ (الوحدة الدولية/لتر) (U\L).

4.12.3 قياس تركيز إنزيم ناقل السبارتيز Aspartate amino Transferase

قدرت فعالية إنزيم ناقل السبارتيز(AST) في مصل الدم بوساطة عدة جاهزة (Kit) بجهاز Erba Chem 7 ألماني المنشأ. ويكون هذا التركيز مقدر بـ (الوحدة الدولية/لتر) (U\L).

13.3 الصفات المدروسة

1.13.3 الزيادة الوزنية الكلية (WG) Weight Gain

الزيادة الوزنية الكلية =الوزن النهائي (F.W)–الوزن الابتدائي (I.W).

(Schmalhousen، 1926)

2.13.3 معدل النمو اليومي Daily Growth Rate (DGR)

$$\text{معدل النمو اليومي} = \frac{\text{الوزن النهائي} - \text{الوزن الإبتدائي}}{\text{مدة التجربة}}$$

(Schmalhousen، 1926)

3.13.3 معدل النمو النسبي(RGR) Relative Growth Rate

$$\text{معدل النمو النسبي} = \frac{\text{الوزن النهائي}-\text{الوزن الأبتدائي}}{\text{الوزن الإبتدائي}} \times 100\%$$

(Uten، 1978)

4.13.3 معدل النمو النوعي %Specific Growth Ratio (SGR)

$$\text{معدل النمو النوعي} = \frac{\text{اللوغاريتم الطبيعي للوزن النهائي} - \text{اللوغاريتم الطبيعي للوزن الأبتدائي}}{\text{مدة التجربة}} \times 100\%$$

(Brown، 1957)

5.13.3 معامل التحويل الغذائي Food Conversion Ratio (FCR)

$$\text{معامل التحويل الغذائي} = \frac{\text{كمية العلف المتناول}}{\text{مقدار الزيادة الوزنية للأسماك}}$$

(Uten، 1978)

6.13.3 كفاءة التحويل الغذائي Food Conversion Efficiency (FCE)

$$\text{كفاءة التحويل الغذائي}\% = \frac{\text{مقدار الزيادة الوزنية للأسماك}}{\text{كمية الغذاء المتناول}} \times 100$$

(Uten، 1978)

7.13.3 نسبة كفاءة البروتين Protein Efficiency Ratio (PER)

$$\text{نسبة كفاءة البروتين} = \frac{\text{الزيادة الوزنية الكلية}}{\text{البروتين المتناول}}$$

(Gerking، 1971)

8.13.3 القيمة الإنتاجية للبروتين %Protein Productive Value (PPV)

$$\text{القيمة الإنتاجية للبروتين} = \frac{\text{بروتين الجسم في نهاية التجربة\%} - \text{بروتين الجسم في بداية التجربة\%}}{\text{البروتين المتناول خلال مدة التجربة}} \times 100\%$$

(Gerking، 1971)

9.13.3 معامل الهضم الظاهري Apparent Digestibility Coefficient

$$\text{معامل الهضم الظاهري\%} = 100 - \left(\frac{\text{تركيز ثاني اوكسيد الكروم في الغذاء}}{\text{تركيز ثاني اوكسيد الكروم في الفضلات}} \times 100\right)$$

(Furnkawa و Tsukahara، 1966)

10.13.3 معامل الهضم الظاهري للبروتين Apparent Protein Coefficient Digestibility

$$\text{معامل الهضم الظاهري للبروتين} = 100 - \left(\frac{\text{تركيز ثاني اوكسيد الكروم في الغذاء}}{\text{تركيز ثاني اوكسيد الكروم في الفضلات}} \times \frac{\text{البروتين الغذائي في الفضلات \%}}{\text{البروتين الغذائي في الغذاء \%}} \times 100\right)$$

(Maynard و آخرون، 1979)

14-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

صممت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) واختبرت الفروق بين متوسطات المعاملات باستخدام اختبار Duncan متعدد الحدود على وفق مستوى معنوية 0.05 (Duncan، 1955). وأستخدم لهذا الغرض البرنامج الإحصائي الجاهز Statistical package for social sciences (SPSS) النسخة (20).

الفصل الرابع

4. النتائج والمناقشة Results and Discussion

1.4 فحوصات العوامل البيئية

يبيّن جدول (5) نتائج بعض الفحوصات البيئية لمياه نهر الفرات في موقع التجربة، سجل اعلى معدل لدرجة حرارة الماء في شهر أيلول إذ بلغ 30مْ فيما سجل أدنى معدل لها 21مْ حيث تعد درجات الحرارة هذه ملائِمة لنمو أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. إذ ذكر Al-asha'ab و Al-Shawi(2011) أن درجة الحرارة الملائِمة لمعيشة أسماك المياه الدافئة تتراوح بين 20-30مْ وعند مستويات تغذوية مختلفة، وأشارَ Hepher (1988) إلى أنَّ درجة الحرارة الملائمة لأسماك المياه الدافئة تتراوح بين 25-30مْ. بينما سجل تركيز الأوكسجين المذاب في الماء أعلى معدل لهُ في شهر تشرين الثاني إذ بلغ 8.5 ملغم.لتر$^{-1}$، فيما بلغ أدنى معدل له في شهر ايلول 7.3 ملغم.لتر$^{-1}$، وسجلت ملوحة المياه أعلى معدل لها في شهر ايلول إذ بلغت 1.89غم.لتر$^{-1}$، اما ادنى معدل سجل في شهر تشرين الثاني بمعدل 1.76 غم.لتر$^{-1}$، وتطابقت النتائج أعلاه مع نتائج دراسة (Abbas وآخرون 2017). وكانت قيم الأس الهيدروجيني pH بين 7.9-8.2 أي ضمن الحدود الملائمة لتربية أسماك الكارب الشائع التي تتراوح بين 6.0- 8.5 (FAO، 1981)، وسجلت سرعة جريان تيار الماء أعلى معدل لها في شهر تشرين الثاني اذ بلغت 20سم/ثانية وادنى معدل لها سجل في شهر ايلول بمعدل 17 سم/ثانية ، وتعد هذه التراكيز ملائمة لتربية أسماك الكارب الشائع ونموها *C. carpio* L. (peteri، 2009).

من خلال النتائج اعلاه نلاحظ تباين في درجات حرارة المياه قد يعزى السبب الى التغييرات في شدة سطوع الشمس والتغيرات في طول فترة الإضاءة اليومية (Talling، 1980). ولوحظ ايضاً ارتفاع

تدريجي في تراكيز الاوكسجين المذاب في الماء خلال مدة التجربة قد يعود ذلك الى قابلية ذوبان الاوكسجين في الماء تتناسب طردياً مع سرعة الجريان وعكسياً مع درجة الحرارة وكذلك تأثرها بنسب الاستهلاك نتيجة تنفس الاحياء المائية (Weiner، 2000).وأظهرت قيم الملوحة ارتفاعاً في شهر ايلول وانخفاضها في شهر تشرين الثاني، قد يعود السبب الى انخفاض مناسيب المياه وارتفاع درجات الحرارة في الاشهر الحارة زاد من معدل التبخر واتفقت هذه النتائج مع نتائج دراسة علكم وآخرون (2011). اما فيما يخص قيم الاس الهيدروجيني فقد سجلت انسجامها مع ما مسجل في طبيعة المياه العراقية (سلمان وآخرون، 2008).

جدول (5) الفحوصات البيئية في موقع التجربة

الاشهر	نوع الفحوصات البيئية				
	الاوكسجين المذاب ($ملغم.لتر^{-1}$)	درجة الحرارة/ مئوية	الملوحة ($غم.لتر^{-1}$)	pH	سرعة التيار (سم/ثانية)
أيلول	7.3	30	1.89	7.9	17
تشرين الاول	7.8	28	1.86	8.2	18
تشرين الثاني	8.5	21	1.76	8.1	20

2.4 الصفات المدروسة

1.2.4 معدل الزيادة الوزنية WG ومعدل النمو اليومي DGR

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لمعاملات التجربة (جدول 6) هناك ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) في معدل الزيادة الوزنية في المعاملة الرابعة T4 عن بقية المعاملات وكانت 239غم ، كذلك لوحظ ارتفاع معنوي للمعاملة الثالثة T3 ($p\leq0.05$) عن المعاملتين الثانية T2 والأولى T1 (السيطرة) وكانت على التوالي 207.67 و195 و184غم، في حين لم تظهر فروق معنوية بين المعاملة الأولى

T1 والمعاملة الثانية T2، وأظهر معيار معدل النمو اليومي ارتفاعاً معنوياً ($p\leq0.05$) للمعاملة الرابعة عن معاملات التجربة جميعها وكانت 2.83غم.يوم$^{-1}$، وسجلت المعاملة الثالثة ارتفاع معنوي ($p\leq0.05$) عن المعاملة الأولى فقط وكانتا على التوالي 2.47 و2.23غم يوم$^{-1}$، فيما لم تظهر فروق معنوية بين المعاملتين الأولى والثانية.

يلحظ من الشكل (6) وجود تباين للزيادة الوزنية خلال الأسابيع الأولى من التجربة، إذْ سُجلت أعلى قيمة للأسبوع الثاني في المعاملة الرابعة وبلغت 23.33 غم، في حين سجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى وبلغت 20.67 غم. وسجلت أعلى قيمة للأسبوع الثاني عشر للمعاملة الرابعة، إذ بلغت 50.67غم، في حين سجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى إذ بلغت 37.67 غم. وسُجلت أعلى قيمة لمعدل النمو اليومي (شكل 7) للأسبوع الثاني للمعاملة الرابعة إذ بلغت 1.67غم، في حين سجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى، إذ بلغت 1.48غم، وسُجل في الأسبوع الثاني عشر أعلى قيمة نمو يومي للمعاملة الرابعة حيث بلغت 3.62غم، بينما سُجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى إذ بلغت 2.69غم.

2.2.4 معدل النمو النسبي RGR

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمعيار معدل النمو النسبي ارتفاعاً معنوياً ($p\leq0.05$) للمعاملتين الرابعة والثالثة وكانتا على التوالي 95.5% و82.9% على المعاملتين الأولى والثانية وسجلتا 73.3% و77.7% على التوالي، فيما تفوقت معنوياً المعاملة الرابعة على المعاملة الثالثة، كذلك لم تظهر فروق معنوية بين المعاملتين الأولى والثانية (جدول 6).

ويتبيّن من الشكل (8) أن الأسابيع الأولى من التجربة أظهرت تفوق المعاملة الرابعة، فقد بلغت في أول أسبوعين 9.32%، بينما بلغت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى (السيطرة) وسجلت 8.28%.

وسجلت تفوق المعاملة الرابعة في الأسبوع الثاني عشر من التجربة، إذْ سجلت أعلى قيمة 11.54%، بينما كانت أوطأ قيمة سجلت لمعاملة الأولى 9.49%.

3.2.4 معدل النمو النوعي SGR

تُظهِر نتائج التحليل الاحصائي جدول (6) لمعدلات النمو النوعي تفوق معنوي ($p\leq0.05$) للمعاملة الرابعة على معاملات التجربة جميعها وكانت 0.80%/يوم، بينما تفوقت المعاملة الثالثة معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثانية والأولى واللتان لم تختلفا معنوياً فيما بينهما، إذ سجلت المعاملة الثالثة 0.72 %/يوم في حين سجّلت المعاملتان الثانية والأولى قيماً بلغت 0.68 و 0.66 %/يوم على التوالي.

يلحظ من الشكل (9) تفوق المعاملة الرابعة خلال الاسابيع الأولى من التجربة اذ بلغت افضل قيمة خلال الأسبوع الثاني 0.64%، بينما بلغت أقل قيمة لمعاملة السيطرة، إذ سجلت 0.57%. في حين سجلت المعاملة الرابعة في الأسبوع الثاني عشر من التجربة تفوق للمعاملة الرابعة وسجلت أعلى قيمة وكانت 0.80%، بينما أوطأ قيمة سجلت للمعاملة الأولى وبلغت 0.65%.

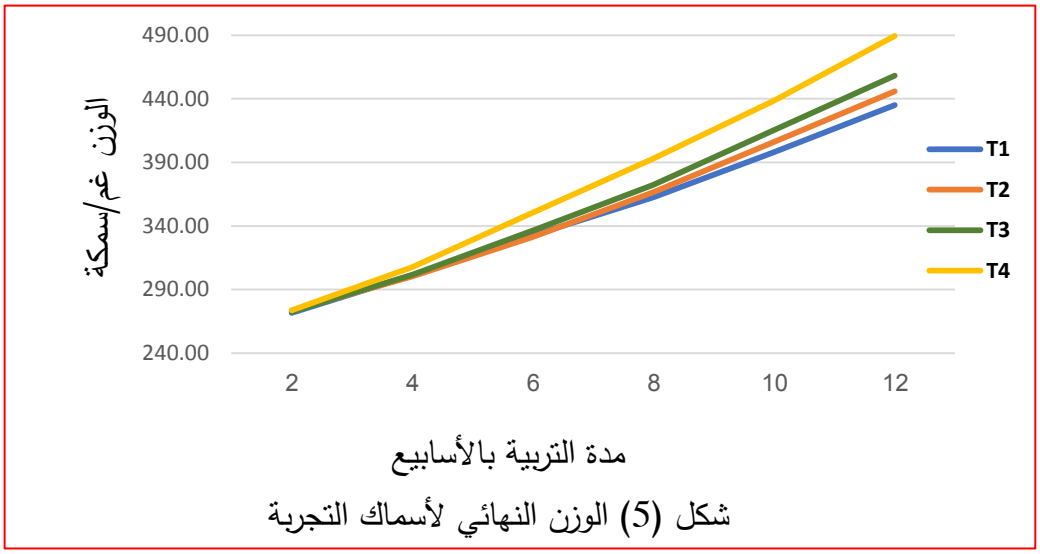
جدول (6) الوزن النهائي والزيادة الوزنية ومعدلات النمو اليومي والنسبي والنوعي (المتوسط ± الخطأ القياسي)

لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة

المعايير المدروسة	المعاملات التجريبية				مستوى المعنوية
	T1	T2	T3	T4	
الوزن الابتدائي (IW) (غم/سمكة)	0.58±251	0.58±251	0.67±250.67	0.33±250.33	N.S
الوزن النهائي (FW) (غم/سمكة)	3.06±435 c	3.21±446 bc	2.33±458.3 b	5.81±489.3 a	p≤0.05
الزيادة الوزنية (WG) (غم/سمكة)	2.52±184 c	3.06 ± 195 c	2.96±207.67 b	5.51±239 a	p≤0.05
معدل النمو اليومي (DGR)(غم/يوم)	0.033±2.23 c	0.033 ±2.33 bc	0.033±2.47 b	0.088±2.83 a	p≤0.05
معدل النمو النسبي% (RGR)	0.9±73.3 c	1.2±77.7 c	1.4±82.9 b	2.1±95.5 a	p≤0.05
معدل النمو النوعي (SGR) % / يوم	0.007±0.66 c	0.007±0.68 c	0.009±0.72 b	0.012±0.80 a	p≤0.05

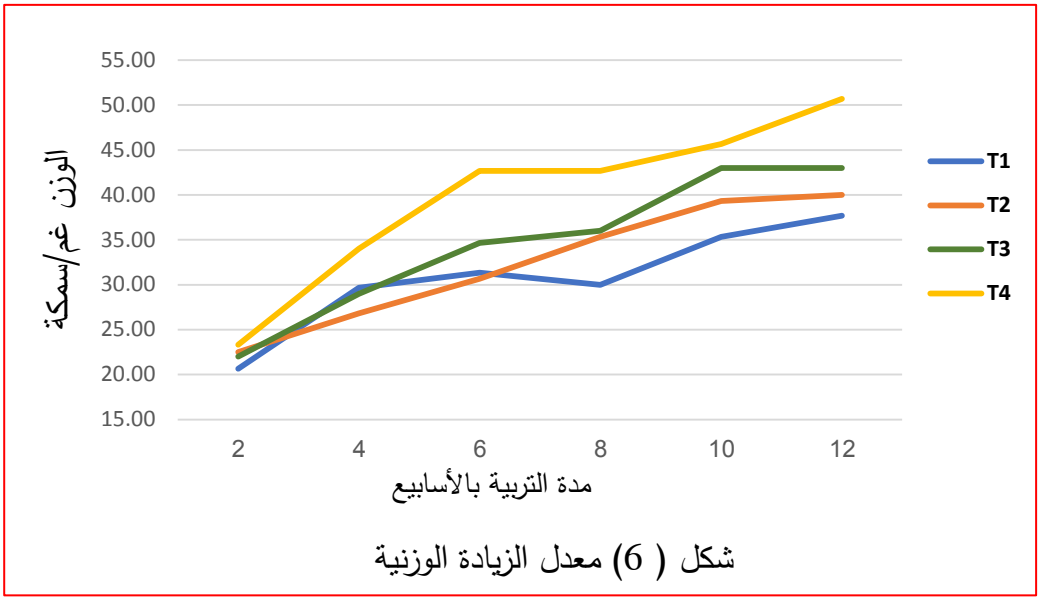
***الحروف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية ضمن الصف الواحد عند مستوى معنوية (p≤0.05)**

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.



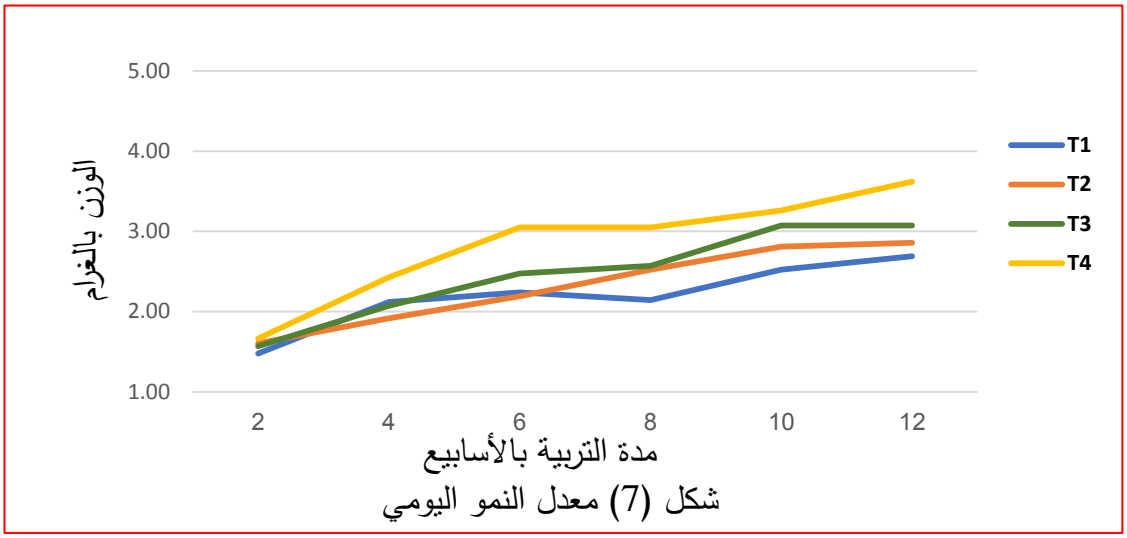
شكل (5) الوزن النهائي لأسماك التجربة

يبيّن الشكل (5) وجود فروق معنوية في أوزان الأسماك خلال مدة التجربة، إذ سُجلت أعلى قيمة خلال أول أسبوعين للمعاملة الرابعة بقيمة 273.67 غم، بينما سُجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى (السيطرة) بقيمة 271.67غم. بلغت أعلى قيمة في الأسبوع الثاني عشر من التجربة للمعاملة الرابعة، إذ سجلت 489.33 غم، بينما سُجلت أوطأ قيمة للمعاملة الأولى بقيمة 435 غم.

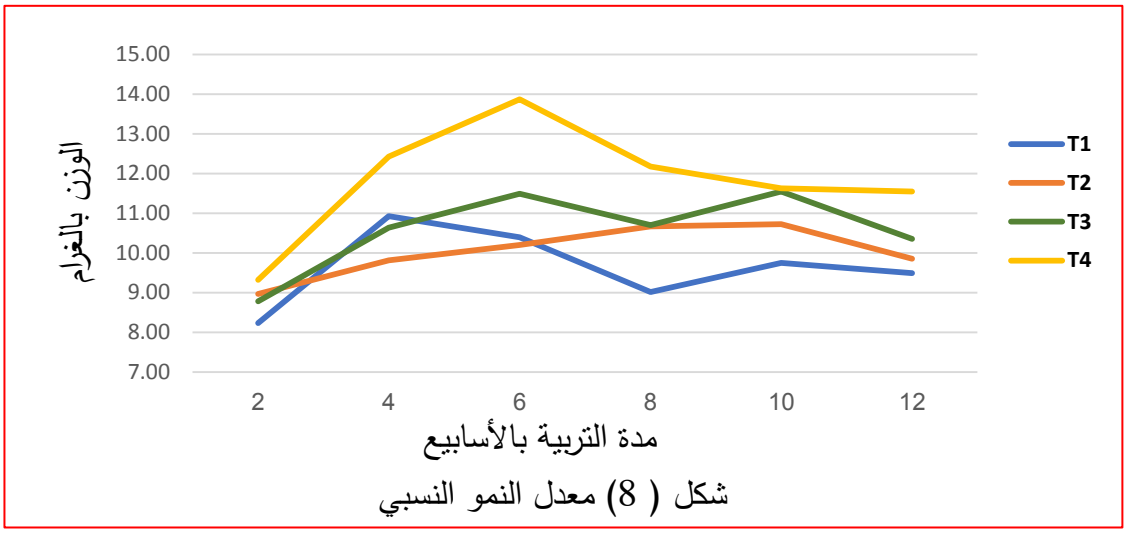


شكل (6) معدل الزيادة الوزنية

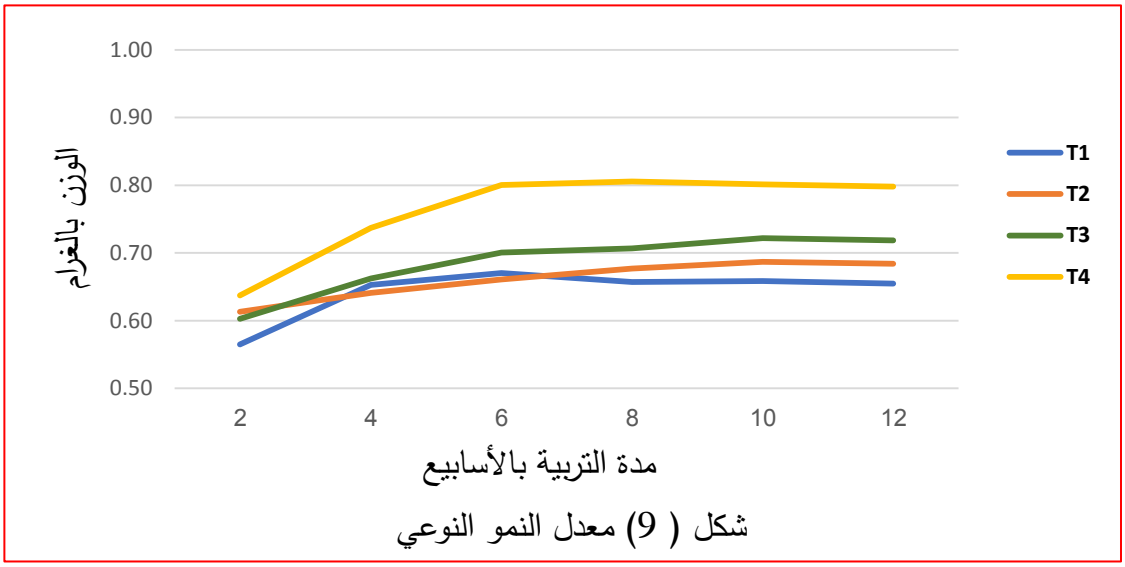
T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.



شكل (7) معدل النمو اليومي



شكل (8) معدل النمو النسبي



شكل (9) معدل النمو النوعي

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.

من خلال النتائج أعلاه نلحظ تفوق المعاملتين الرابعة والثالثة في معايير دلائل نمو الأسماك المتمثلة بالزيادة الوزنية ومعدل النمو اليومي ومعدلي النمو النسبي والنوعي، ولعل السبب في ذلك تأثير إضافة إنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع مختبرياً والتجاري إلى مسحوق بذور الهرطمان المضاف في المعاملتين الثالثة والرابعة والذي حسن من قيمته الغذائية وعزز من قابلية الهضم من خلال زيادة توافر العناصر الغذائية والمعدنية التي تعمل على تزايد نمو الأسماك المستزرعة اشار Orisasona و Ajani (2015) إن إضافة إنزيم الفايتيز قد منع تكوين معقد حامض الفايتيك في مسحوق بذور الهرطمان، الذي يمثل المخزون الرئيس للفسفور العضوي فيهِ والموجود بصورة مرتبطة غير قابل للامتصاص، كون حامض الفايتيك يمتلك القابلية على الارتباط وحجز العديد من العناصر الغذائية والأحماض الأمينية والعناصر المعدنية من الكالسيوم ووالمغنيسيوم والحديد والزنك فضلاً عن أثره في تثبيط فعالية بعض الإنزيمات الهاضمة داخل الجسم مثل التربسين والاميليز، إنَّ إنزيم الفايتيز التجاري والمايكروبي اللذان تم إضافتهما أدى إلى تحليل حامض الفايتيك في مسحوق بذور الهرطمان مما يسبب زيادة في قيمتها الغذائية من خلال فك ارتباطه بتلك العناصر الغذائية والمعادن، فضلاً عدم حصول تثبيط فعالية الإنزيمات الهاضمة داخل الجسم من التربسين والاميليز (Lemos و Tacon، 2017)، إنَّ هذه النتائج تعدّ ايجابية في الدراسة كونها قد استفادت أسماك المعاملتين الثالثة والرابعة من الفسفور غير المتاح وعلاقته بالعديد من العناصر الغذائية والمعدنية المرتبطة به وانعكاسهِ على الصفات الانتاجية المتمثلة بالزيادة الوزنية الكلية واليومية، ولعل السبب في ذلك الفعل التحللي لإنزيم الفايتيز على حامض الفايتيك وفك ارتباطه وتحرير العناصر الغذائية المرتبطة به، ويعمل إنزيم الفايتيز على رفع مستوى الفسفور وجاهزيته ومن ثمَّ زيادة في إدائه من الوظائف الحيوية، ولما لهُ أثر في تمثيل الكربوهيدرات والأحماض الأمينية والدهون ودخوله في تركيب الأحماض النووية (Vielma وآخرون، 2000)، ويعمل إنزيم الفايتيز على تحرير عنصر الكالسيوم

الذي يدخل في العديد من العمليات والمسارات الايضية وعمله في زيادة نفاذية أغشية الخلايا مما يساعد على حدوث الامتصاص المناسب للعناصر الغذائية في الامعاء (Storebakken وآخرون، 1998)، أماّ سبب تفوق المعاملة الثانية على المعاملة الأولى فقد يعود السبب إلى تعدد مصادر البروتين في المعاملة الثانية وحصول توليفة مناسبة من الأحماض الأمينية مصدرها كسبة فول الصويا ومسحوق بذور نبات الهرطمان يمكن أن تسهم في تعزيز دلائل نمو الأسماك، إذْ يتميز مسحوق بذور الهرطمان باحتوائه على عدد من الأحماض الأمينية تجعلهُ مصدراً من البروتين النباتي، إذ يظهر الجدول (7) (محتوى الأحماض الأمينية الأساسية في بذور الهرطمان)، احتواء مسحوق بذور الهرطمان على 2.12ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Histidine، 4.77ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Threonine، 3.214 ملغم/كغم Tryptophan، 2.96 ملغم/كغم، 4.14ملغم/كغم Lysine، 3.82ملغم/كغم Lucien و2.99ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Isoleucine

جدول(7) محتوى الأحماض الأمينية الأساسية في بذور الهرطمان وعليقة المقارنة

ألحامض ألاميني	عليقة ألمقارنة ppm	كسبة فول الصويا ppm	ألهرطمان ppm
Arginine	9.193	3.14	0.094
Methionine	8.788	2.62	0.901
Histidine	17.733	1.17	2.121
Threonine	23.302	4.72	4.774
Tryptophan	31.871	3.74	3.214
Valine	62.501	2.07	1.557
Phenylalanine	2.176	2.16	0.391
Lysine	7.653	2.69	4.14
Lucien	16.219	3.39	3.827
Isoleucine	12.093	1.96	2.994

كذلك فإن عملية الطحن التي أجريت لبذور الهرطمان تولد حرارة قد اسهمت على نحو قد يكون قليلاً من تقليل تأثير حامض الفايتيك، إذ أنَّ الحرارة قد تسبب تغييرات من صفات حامض الفايتيك تقلل من ارتباطه بالعناصر الغذائية والمعدنية، ولكن تأثير الحرارة ليس كتأثير إنزيم الفايتيز الذي يكون أكثر كفاءة وفعالية (Almas و Bender، 1980).

واتفقت هذه الدراسة مع Abo Norag وآخرون (2018) الذين وجدوا أنَّ إضافة إنزيم الفايتيز بمستوى 500 و1000 FTU/كغم إلى علائق أسماك البلطي *Oreochromis niloticus* المكملة بـ50% من الفسفور أدى إلى زيادة معنوية في وزن الجسم النهائي والزيادة الوزنية ومعدل النمو اليومي مقارنة مع عليقة السيطرة الخالية من إنزيم الفايتيز. وكذلك اتفقت هذه الدراسة مع Nie وآخرون (2017) الذين قاموا بإضافة إنزيم الفايتيز بمستويات 200 و300 و500 FTU/كغم إلى علائق السمكة الذهبية *Carassius auratus* وأدى إلى تحسين وزن الجسم النهائي ومعدل النمو اليومي عند مستوى 500 FTU/كغم، كذلك تتوافق نتائج الدراسة مع ما حصل عليه Yoo وآخرون (2005) الذين قاموا بمعاملة كسبة فول الصويا مع إنزيم الفايتيز عند مستوى 1000 FTU/ كغم أدت إلى تحسن في الزيادة الوزنية الكلية واليومية في أسماك الصخر الكورية *Sebastes schlegeli* مقارنة بعليقة السيطرة. كذلك تتوافق مع ما حصلوا عليهِ Vielma وآخرون (2002) عند معاملة بروتين فول الصويا مع إنزيم الفايتيز الذي عزز معايير النمو في أسماك التراوت القزحي *Oncorhynchus mykiss*. ولم تتفق نتائج الدراسة مع Yan و وآخرون (2002) اللذين اوضحا أن معدل الوزن والزيادة الوزنية واحتجاز البروتين الغذائي لم تختلف معنوياً ($P \geq 0.05$) بين المعاملات عند إضافة إنزيم الفايتيز في علائق أسماك سلور القناة *Ictalurus punctatus* وقد يعود السبب إلى اختلاف نوعية الأسماك وعدم تقبل أسماك سلور القناة إضافات إنزيم الفايتيز.

كذلك يلحظ من خلال استعراض النتائج تفوق المعاملتين الرابعة والثالثة في معياري النمو النسبي والنوعي على باقي المعاملات وكانت متوافقة مع نتائج الزيادة الوزنية ومعدل النمو اليومي، وقد يعزى إلى إضافة إنزيم الفايتيز إلى النظم الغذائية القائمة على البروتين النباتي الغنية بحامض الفايتيك يزيد من هضم المغذيات واستخدامها بسبب عدم تكون المركبات المعقدة وتحرير عنصر الفسفور، إذ يعد الفسفور المتحرر مكوناً مهماً للأحماض النووية وأغشية الخلايا، وهو مكون رئيس للمكونات الهيكلية للأنسجة الهيكلية، ويشارك بصورة مباشرة في التفاعلات الخلوية المنتجة للطاقة جميعها مما قد يؤثر إيجاباً على أداء النمو والاستفادة من المغذيات (Von Danwitz وآخرون، 2016). اتفقت هذه الدراسة مع Rachmawati وآخرون (2017) في دراسته تأثير إنزيم الفايتيز على أداء معايير نمو إصبعيات أسماك اللبن *Chanos chanos*، إذ إن إضافة إنزيم الفايتيز أعطت ارتفاع معنوي في معدلا النمو النسبي والنوعي قياساً بالسيطرة عند مستوى FTU1000/كغم. وكانت نتائج الدراسة متوافقة مع Zhu وآخرون (2014) في دراسة التأثيرات المشتركة لإنزيم الفايتيز الغذائي والحامض العضوي على دلائل نمو أسماك السلور الأصفر *Pelteobagrus fulvidraco* وكانت أفضل نتيجة عند مستوى 1000 و1200 FTU/كغم. وذكر Debnath وآخرون (2005) إنَّ إضافة مستويات مختلفة من إنزيم الفايتيز حقق نتائج مشجعة عند مستويات 500 و750 و1000FTU/كغم والحصول أعلى زيادة في الوزن ومعدلي النمو النسبي والنوعي في علائق أسماك البنغاسيوس *Pangasius pangasius*. ولم تتفق هذه الدراسة مع ما حصل عليهِ Ai وآخرون (2007) الذي أوضح بأن إضافة إنزيم الفايتيز إلى علائق أسماك القاروص الياباني *Lateolabrax japonicus* لم تشهد تحسن كبير في معدلي النمو النوعي والنسبي، في حين حصلا Liebert و Portz (2005) على زيادة ملحوظة في الفوسفور الفقري بسبب تحسن توافر الفوسفور في العلف، وكذلك زاد تركيز المعادن وبصورة كبيرة في النظام الغذائي الذي أُضيف إليه إنزيم الفايتيز مقارنة بالنظام الغذائي بدون

إنزيم الفايتيز في علائق أسماك البلطي الازرق *Oreochromis aureus* مما سلط الضوء على فعالية الفايتيز في التحلل المائي للفايتيت وتحرير المعادن والعناصر الغذائية المرتبطة معه مما عزز معدلات النمو النسبي والنوعي.

4.2.4 معامل التحويل الغذائي FCR

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لمعيار معامل التحويل الغذائي وجود فروق معنوية ($p\leq0.05$) ما بين معاملات التجربة جميعها، إذ سجّلت المعاملة الرابعة T4 تفوقاً معنوياً ($p\leq0.05$) على معاملات التجربة جميعها وبلغت 2.97غم علف/غم زيادة وزنية، تلتها المعاملة الثالثة التي تفوقت معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثانية والأولى وكانت 3.3 و3.47 و3.67غم علف/غم زيادة وزنية على التوالي (جدول 8).

يلحظ من الشكل (10) وجود تفوق للمعاملة الرابعة خلال الأسابيع الأولى من التجربة إذ سجلت أعلى قيمة خلال الأسبوع الثاني بقيمة 3.8غم علف/غم زيادة وزنية، بينما بلغت أقل قيمة للمعاملة الأولى 4.3 غم علف/غم زيادة وزنية. سجلت المعاملة الرابعة تفوق في الأسبوع الثاني عشر من التجربة إذ سجلت أعلى قيمة 3.04 غم علف/غم زيادة وزنية، بينما أوطأ قيمة سجلت للمعاملة الأولى 3.71 غم علف/غم زيادة وزنية.

5.2.4 كفاءة التحويل الغذائي% FCE

أما نتائج كفاءة التحويل الغذاء فكانت متوافقة مع نتائج معامل التحويل الغذائي، إذ أظهرت النتائج إحصائياً تفوقاً معنوياً ($p\leq0.05$) للمعاملة الرابعة T4 على معاملات التجربة جميعها وبلغت

33.91%، تلتها المعاملة الثالثة T3 التي تفوقت معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثانية T2 والأولى T1 وسجّلت 30.77% و28.88% و27.42% على التوالي (جدول 8).

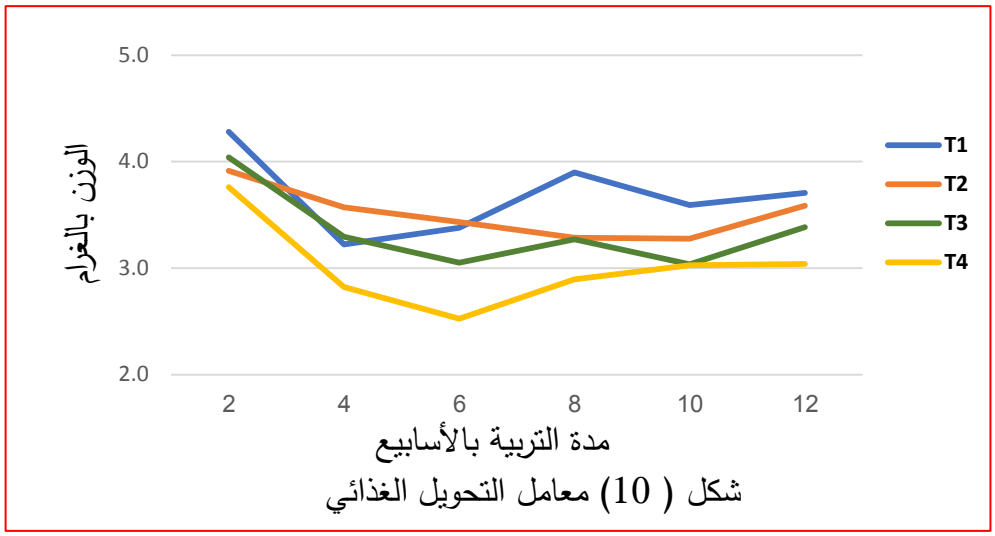
يلحظ من الشكل (11) وجود تفوق للمعاملة الرابعة T4 خلال الأسابيع الأولى من التجربة وسجلت أعلى قيمة خلال الأسبوع الثاني وكانت 26.63%، بينما بلغت أقل قيمة للمعاملة الأولى 23.53%. وسجلت المعاملة الرابعة تفوق في الأسبوع الثاني عشر من التجربة وبلغت أعلى قيمة 32.98%، بينما أوطأ قيمة سجلت للمعاملة الأولى 27.11%.

جدول (8) العلف الجاف المتناول ومعامل التحويل الغذائي وكفاءة التحويل الغذائي (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة

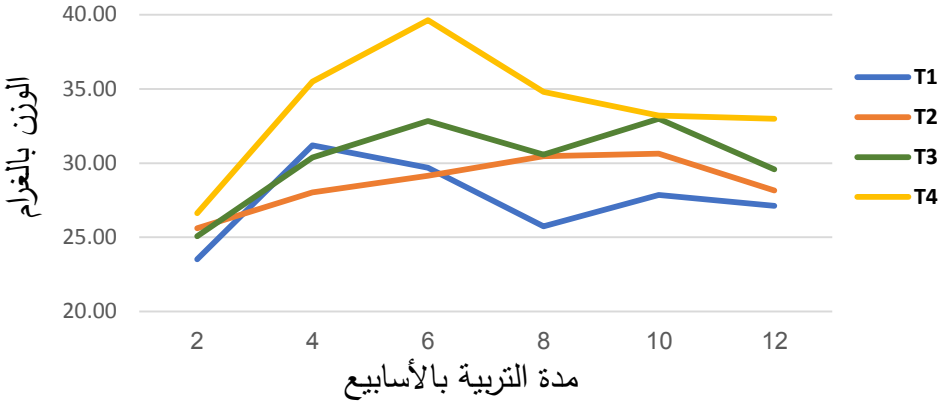
المعايير المدروسة	المعاملات				مستوى المعنوية
	T1	T2	T3	T4	
كمية العلف المتناول (FI) غم / سمكة	4.64±670.83	0.88±675.21	2.32±682.13	3.27±704.73	N.S
معامل التحويل الغذائي (FCR) (غم علف/غم زيادة وزنية)	0.03±3.67 d	0.07±3.47 c	0.06±3.30 b	0.03±2.97 a	**p≤0.05**
كفاءة التحويل الغذائي (FCE) (%)	0.19 ±27.42 d	0.44±28.88 c	0.38 ±30.44 b	0.75±33.91 a	**p≤0.05**

***الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ضمن الصف الواحد عند مستوى معنوية ($p\leq0.05$)**

T1=معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق بذور الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق بذور الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق بذور الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.



شكل (10) معامل التحويل الغذائي



شكل (11) كفاءة التحويل الغذائي

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.

يتضح من النتائج أعلاه تفوق المعاملتين الرابعة والثالثة معنوياً ($p\leq0.05$) لمعياري معامل التحويل الغذائي وكفاءة التحويل الغذائي على المعاملتين الأولى والثانية، ربما يعود سبب إلى أنَّ إنزيم الفايتيز عمل على تحليل حامض الفايتيك إلى مستويات تقل عن المستويات التي تكون ضارة للأسماك التي تبلغ 0.24 و0.34غم/كغم وعدم تكون المعقدات مع العناصر الغذائية والمعدنية (Vielma وآخرون، 2002)، مما يعني تحرر الفسفور في العلف وتوافره الذي أصبح أكثر استساغة وقبولاً مما يؤدي إلى زيادة استهلاك العلف، ورفع كفاءة العلف مؤدياً إلى نمو أفضل للأسماك

(Rodehutscord وPfeffer، 1995). كذلك زيادة كميات البروتين القابل للهضم بسبب تحلل معقدات الفايتيت عند معاملته بإنزيم الفايتيز (Von Danwitz وآخرون، 2016). وذكر Baruah وآخرون (2004) إنَّ الفسفور يبقى في النباتات عادة بصورة مرتبطة بجزيء يسمى حامض الفايتيك الذي يتكون من سكر (مشابه للكلوكوز) يسمى ميوينوزيتول Myoinositol، ترتبط به تساهمياً مجموعات الفوسفات (PO_4^{-3})، يطلق ويحرر إنزيم الفايتيز هذه الفوسفات من حلقة الإينوزيتول Inositol، ويعتمد إطلاق الفوسفور على درجة الحموضة في الأمعاء، إن إنزيم الفايتيز الميكروبي فعال في تعزيز التوافر البيولوجي للفوسفور إلى حد كبير، ومن ثُمَّ تقليل إخراج الفوسفور Phosphorus output، وكذلك فإنه يحسن الامتصاص للعناصر الغذائية المغنيسيوم والزنك والنحاس والحديد في البلازما والعظام وجسم الأسماك كله مما يحسن معامل تحويل وكفاءة الغذاء. اتفقت هذه الدراسة مع كلٍ من Orisasona و Ajani (2015) عند دراسته تأثير إضافة إنزيم الفايتيز إلى علائق أسماك السلور الافريقي *Clarias gariepinus*، إذْ تفوقت المعاملات جميعها المضاف لها إنزيم الفايتيز بمعامل التحويل الغذائي واستهلاك العلف قياساً بمعاملة السيطرة. كذلك اتفقت مع دراسة Hussain وآخرون (2011) الذين حصلوا على قيم في تحسين معامل التحويل الغذائي وكفاءة التحويل الغذائي بصورة ملحوظة في العلائق القائمة على 30% من كلوتين الذرة مع مستويات مختلفة من إنزيم الفايتيز مقارنة بالسيطرة في أسماك الروهو *Labeo rohita*. في حين لم تتفق هذه الدراسة مع دراسة Sajjadi و Carter (2004) اللذين لم يجدا أي فروق ذات دلالة إحصائية في تناول العلف ومعامل تحويل الغذاء في أعلاف أسماك السلمون الأطلسي *Salmo Salar* المضاف لها إنزيم الفايتيز عند مستوى 250 و500 و750 FTU/كغم أو بدونه، وقد يعود السبب إلى أن مستويات إنزيم الفايتيز كانت غير كافية، كذلك لم تتفق مع Robinson وآخرون (2002) الذين لم يجدوا أي فروق معنوية بين المعاملات المضاف اليها إنزيم الفايتيز قياساً بالسيطرة.

أما سبب تفوق المعاملة الثانية على المعاملة الأولى فقد يعود إلى تعدد مصادر البروتين وحصول توليفة مناسبة من الأحماض الأمينية مصدرها كسبة فول الصويا ومسحوق بذور الهرطمان يمكن أن تسهم في تعزيز دلائل نمو الأسماك، إذْ يتميز مسحوق بذور الهرطمان باحتوائه على عدد من الأحماض الأمينية تجعلهُ مصدراً من البروتين النباتي، إذ يظهر الجدول (2) احتواء مسحوق بذور الهرطمان على 2.12ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Histidine، 4.77ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Threonine، 3.214 ملغم/كغم Tryptophan، 2.96 ملغم/كغم، 4.14ملغم/كغم Lysine، 3.82ملغم/كغم Lucien و 2.99 ملغم/كغم من الحامض الأميني الـ Isoleucine، كذلك فإن عملية الطحن التي أجريت لبذور الهرطمان تولد حرارة قد تسهم على نحو قد يكون قليلاً من تقليل تأثير حامض الفايتيك، إذ إنَّ الحرارة قد تسبب تغييرات من صفات حامض الفايتيك تقلل من ارتباطه بالعناصر الغذائية والمعدنية، ولكن تأثير الحرارة ليس كتأثير إنزيم الفايتيز الذي يكون اكثر كفاءة وفعالية (Almas وBender، 1980).

6.2.4 نسبة كفاءة البروتين PER

يتضح من خلال الجدول (9) أن المعاملة الرابعة أظهرت ارتفاعاً معنوياً عن بقية معاملات التجربة في معيار نسبة كفاءة البروتين، إذ سجّلت 1.10 غم زيادة وزنية/غم بروتين متناول. كذلك تفوقت المعاملة الثالثة معنوياً التي سجلت 0.99على كل من المعاملتين الثانية والأولى وبلغتا على التوالي 0.94 و0.90 غم زيادة وزنية/غم بروتين متناول، كذلك تفوقت المعاملة الثانية على المعاملة الأولى.

يبيّن الشكل (12) وجود تفوق للمعاملة الرابعة خلال الأسابيع الأولى من التجربة، إذ سجلت أعلى قيمة خلال الأسبوع الثاني وكانت 0.91%، بينما بلغت أقل قيمة للمعاملة الأولى فقد بلغت

0.77%. وسجلت المعاملة الرابعة تفوقاً في الأسبوع الثاني عشر من التجربة، إذ سجلت أعلى قيمة 1.12%، بينما اوطأ قيمة سجلت للمعاملة الأولى 0.89%.

7.2.4 القيمة الإنتاجية للبروتين PPV

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمعيار القيمة المنتجة للبروتين تفوق المعاملة الرابعة معنوياً ($p\leq0.05$) على معاملات التجربة جميعها، إذ سجلت 34.13%، وكذلك تفوقت للمعاملة الثالثة معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثانية والأولى واللتين لم تختلفا معنوياً فيما بينهما. إذ سجلت المعاملة الثالثة 33.10% بينما سجلت المعاملتان الأولى والثانية 32.03% و31.46% على التوالي (جدول9).

8.2.4 معامل الهضم الظاهري للعليقة والبروتين ADC & APDC

سجلت نتائج التحليل الإحصائي لمعيار معامل الهضم الظاهري للعليقة تفوق المعاملتين الثالثة والرابعة معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الأولى والثانية، وكانت المعاملة الرابعة قد تفوقت معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملة الثالثة وسجلتا 64.10% و66.43% على التوالي. كذلك لم تظهر فروق معنية بين المعاملتين الأولى والثانية وكانتا 62.16% و62.40% على التوالي (جدول 9). أما نتائج التحليل الإحصائي لمعيار معامل الهضم الظاهري للبروتين فأظهرت توافقاً أحصائياً مع معامل الهضم الظاهري للعليقة، إذ أظهرت تفوق المعاملتين الثالثة والرابعة معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الأولى والثانية، وكانت المعاملة الرابعة قد تفوقت معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملة الثالثة وسجلتا 68.63% و72.40% على التوالي. كذلك لم تظهر فروق معنية بين المعاملتين الأولى والثانية وكانتا 66.56% و66.13% على التوالي (جدول 9).

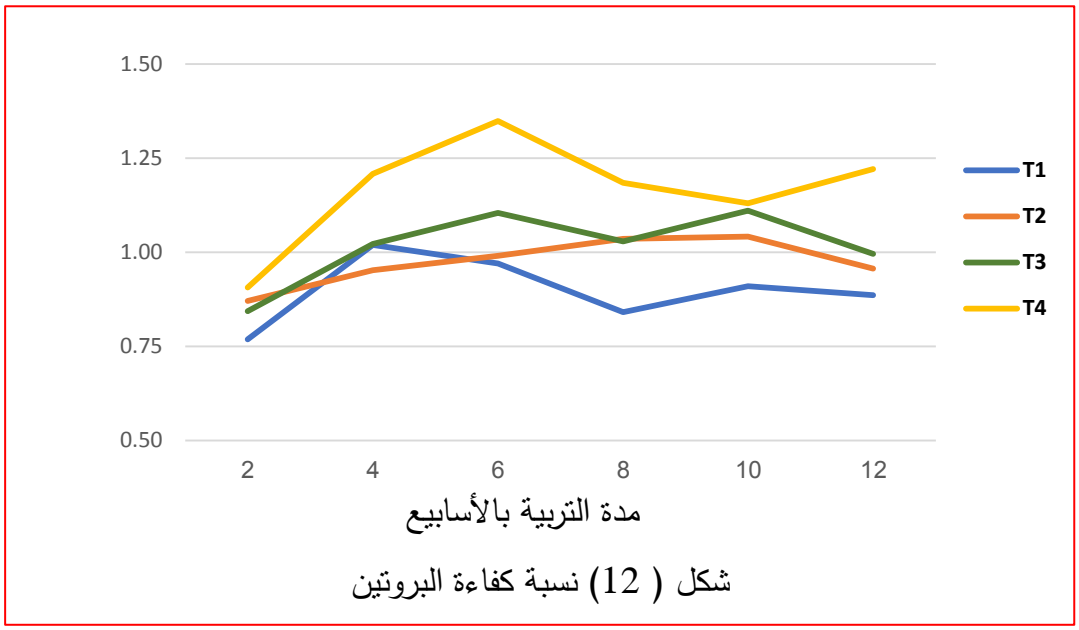
جدول (9) نسبة كفاءة البروتين والقيمة الإنتاجية للبروتين ومعاملي الهضم الظاهري للعليقة والبروتين

(المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على مسحوق بذور الهرطمان

المعايير المدروسة	المعاملات				
	T1	T2	T3	T4	مستوى المعنوية
نسبة كفاءة البروتين PER غم زيادة وزنية/غم بروتين متناول	0.007±0.90 d	0.012±0.94 c	0.015±0.99 b	0.020±1.10 a	0.05
القيمة الانتاجية للبروتين PPV %	0.46±32.03 c	0.33±31.46 c	0.11±33.10 b	0.17±34.13 a	0.05
معامل الهضم الظاهري للعليقة ADC %	0.18±62.16 c	0.40±62 c	0.43±64.10 b	0.29±66.43 a	0.05
معامل الهضم الظاهري للبروتين APDC %	0.33±66.56 c	0.23±66.13 c	0.38±68.63 b	0.26±72.40 a	0.05

***الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ضمن الصف الواحد عند مستوى معنوية ($p \leq 0.05$).**

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.



شكل (12) نسبة كفاءة البروتين

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.

من خلال النتائج الموضحة أعلاه وجد تفوق معنوي ($p\leq0.05$) للمعاملتين الرابعة T4 والثالثة T3 التي عوملت بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً والتجاري على المعاملتين الأولى (السيطرة) والثانية في معيار نسبة كفاءة البروتين، وقد يعلل سبب ذلك إلى أن إنزيم الفايتيز قلل من تأثير حامض الفايتيك على تثبيط عمل إنزيمات الهضم الكيموتربسين *Chymotrypsin* والتربسين *Trypsin* والاميليز Amylase من خلال تحليل حامض الفايتيك وفك ارتباطه مع العناصر الغذائية في الجهاز الهضمي للأسماك مما أدى إلى الاستفادة من البروتين والسكريات المتحررة (Vielma وآخرون، 2004). اتفقت هذه الدراسة مع Nie وآخرون (2017) التي أظهرت نتائجه أن إضافة إنزيم الفايتيز إلى علائق السمكة الذهبية *Carassius auratus* وبمستويات 200 و300 و500FTU /كغم قد حسن من نسبة كفاءة البروتين وارتفع نشاط إنزيمات التربسين والكيموتريبسين قياساً بالمعاملات الخالية من هذا الإنزيم. وكذلك اتفقت مع دراسة Wang وآخرون (2008) الذين أضافوا إنزيم الفايتيز بمستويات 250 و500 و750 و1000 FTU/كغم إلى علائق أسماك التراوت

قوس قزح *Oncorhynchus mykiss* إذ حسنت مستويات الإضافة عند مستوى 750 و1000 FTU/كغم من نسبة كفاءة البروتين في المعاملات التي أضيف إليها إنزيم الفايتيز مقارنة بالسيطرة.

أما معيار القيمة الإنتاجية للبروتين فقد لوحظ تفوقاً معنوياً للمعاملة الرابعة، تلتها المعاملة الثالثة على المعاملتين الأولى والثانية، ربما يعود سبب تفوق هاتين المعاملتين إلى أن إنزيم الفايتيز الذي يحيد من التأثير السلبي لحامض الفايتيك على هضم البروتين (Sajjadi و Carter, 2004)، ويعمل على التحلل المائي للفايتيت لتحرير الفسفور غير العضوي والمغذيات الأخرى المرتبطة معه مثل المعادن والبروتينات ومن ثُمَّ تعزيز استخدام هذه المغذيات (Cheng و Hardy، 2002). واتفقت هذه الدراسة مع Schafer وآخرون (1995) عند استخدامه إنزيم الفايتيز على علائق أسماك الكارب الشائع في نظام غذائي يعتمد على كسبة فول الصويا، إذ حسن إنزيم الفايتيز عند مستوى 1250 FTU/كغم من القيمة المنتجة للبروتين مقارنة بعليقة السيطرة. كذلك اتفقت هذه الدراسة مع Storebakken وآخرون (1998) الذين حصلوا على نتائج جيدة في تحسين القيمة المنتجة للبروتين بصورة ملحوظة في العلائق القائمة على 50% من فول الصويا مع مستوى 5000 FTU/كغم من إنزيم الفايتيز مقارنة بالعلائق الاخرى التي أضيف الفايتيز إليها في أسماك السلمون الاطلسي *Salmo salar*.

من خلال النتائج السابقة لمعياري الهضم الظاهري للعليقة والبروتين لوحظ هناك فروق معنوية ($p\leq0.05$) بين معاملات التجربة لمصلحة المعاملات التي أضيف لها إنزيم الفايتيز، إذ كان التفوق المعنوي فيها من نصيب المعاملة الرابعة، تلتها المعاملة الثالثة على بقية المعاملات، ربما يعزى سبب ذلك إلى أن مستوى إنزيم الفايتيز المستخدم في المعاملتين الثالثة والرابعة كان لهما تأثير بصورة كبيرة على استخدام البروتين والعناصر المعدنية في الأسماك مما زاد من القيمة الغذائية لمسحوق بذور

الهرطمان انعكس ذلك إيجاباً على قيم معامل الهضم (Cain و Garling، 1995؛ Papatryphon وآخرون، 1999)، إذ يعمل إنزيم الفايتيز على تحسين استخدام البروتين والأحماض الأمينية من خلال تكسير معقدات الفايتيت والبروتين ويحسن الاستفادة من العناصر الغذائية والمعدنية مما يزيد من معامل الهضم الظاهري للعليقة والبروتين (Kornegay و Qian، 1996)، فضلاً عن تحرير الفسفور الذي يسهم في زيادة كفاءة عمليات الأيض المختلفة التي قد تنعكس على معامل الهضم الظاهري للعليقة والبروتين (Mitchell وآخرون، 1997). اتفقت هذه الدراسة مع ما جاء به Rachmawati وآخرون (2017) في دراسة حول تأثير إضافة إنزيم الفايتيز إلى علائق أسماك الحليب *Chanos chanos* Milkfish، إذ تم أُضيف الإنزيم بنسب 500 و1000 و1500 FTU/كغم إلى علائق هذه الأسماك وحسنت من معامل الهضم الظاهري للبروتين والفسفور قياساً بمعاملة السيطرة التي كانت خالية من الإنزيم. كذلك اتفقت هذه الدراسة مع Vandenberg وآخرون (2011) عند إضافة إنزيم الفايتيز وبمستوى 2000 FTU/كغم إلى علائق أسماك التراوت القزحي *O. mykiss* أثر معنوياً على معامل الهضم الظاهري للبروتين والعليقة. كذلك اتفقت هذه الدراسة مع ما جاء به Vielma وآخرون (2004) عند اضافتهم الفايتيز وبمستويات مختلفة 500 ، 1000 ، 2000 ، 4000 FTU/كغم إلى علائق أسماك تراوت قوس قزح *Oncorhynchus mykiss* إذ حسن إنزيم الفايتيز من معامل الهضم الظاهري للبروتين والعليقة. لم تتفق هذه الدراسة مع كلٍ من Lanari وآخرون (1998) عند إضافتهم الفايتيز بمستوى 1000 FTU/كغم إلى علائق أسماك تراوت قوس قزح *Oncorhynchus mykiss* اذ لم تكن لإضافة إنزيم الفايتيز اي تأثير معنوي على معامل الهضم الظاهري للبروتين والعليقة. وقد يكون التناقض بين الدراسات في قابلية الهضم الظاهري للبروتين والعليقة مرتبطاً بالاختلافات في بعض العوامل الأخرى مثل نوعية الخامات العلفية وجودتها

ومحتوى البروتين والعناصر المعدنية فيه وإجراءات التجفيف ودرجة الآس الهيدروجيني المعدية المعوية للأسماك (Wang وآخرون، 2008).

يتضح لنا من خلال النتائج أعلاه أن معاملة إنزيم الفايتيز الميكروبي في المعاملة الرابعة تفوقت معنوياً عن معاملة إنزيم الفايتيز التجاري في المعاملة الثالثة، ولعل السبب في ذلك أن الإنزيمات العلفية التجارية قد تكون أقل كفاءةً وفعاليةً مقارنةً بالإنزيم الفايتيز الميكروبي، إذ أشارت الدراسات بأنه من الصعب استخلاص استنتاجات بشأن التقنيات العامة للإنزيمات العلفية التجارية مقابل التقدم الذي تحرزه التقنيات الحياتية Biotechnology في المجالات الزراعية، ربما يعزى السبب إلى أن المعالجات الحرارية والميكانيكية والإضافات الكيمياوية المختلفة التي تمر بها الخطوات التصنيعية للإنزيمات العلفية التجارية الجافة تكون تحت شروط من الحرارة والاس الهيدروجيني دقيقة جداً مما يجعلها أقل كفاءةً وفعالية من إنزيمات الاحياء المجهرية الحية، وطالما أن الإنزيمات العلفية الجافة جزيئات بروتينية ذات وظيفة تحفيزية تمتلك نشاطاً واستقرارية مصدرها الأعفان أو البكتريا أو الخمائر، وأن المعالجات الحرارية والميكانيكية والإضافات الكيمياوية المختلفة قد تؤثر على كفاءتها وصفاتها وتأثيراتها مقارنةً بإنزيمات الأحياء المجهرية الحية، ولكنها تتميز بإمكانية خزنها لفترة طويلة (Baruah وآخرون، 2007). وأشارت الدراسات إلى أن الإنزيمات العلفية التجارية الجافة عبارة عن محفزات بيولوجية مكونة من أحماض أمينية تتأثر بالمعالجات الحرارية والإضافات الكيمياوية عليها قد يكون لها تأثير على كفاءتها الحيوية. مع ذلك إن استخدام الإنزيمات العلفية الميكروبية والجافة المتمثلة بإنزيم الفايتيز التجاري الجاف في هذه الدراسة كانت أداة مفيدة جدًا في دراسة آليات التمثيل الغذائي وستعزز فهمنا فيما يتعلق بأثر الإنزيمات الغذائية في تحسين القيمة الغذائية في علائق الأسماك، المعلومات المقدمة عملت على توضيح الامكانات الكبيرة من استخدام إنزيمات الأحياء

المجهرية الحية والإنزيمات العلفية التجارية كمعالجات للمثبطات التغذوية في علائق الأسماك (Khattak وآخرون، 2006)

3.4 معايير الدم

1.3.4 تركيز البروتين الكلي في مصل الدم

أظهرت نتائج تراكيز البروتين الكلي في مصل دم أسماك التجربة عدم وجود فروق معنوية بين المعاملتين الثالثة والرابعة وكانتا على التوالي 3.7 و3.9 ملغم/100مل واللتين تفوقتا معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الأولى والثالثة وبلغت 3.1 و3.1 ملغم/100مل على التوالي (جدول 10).

2.3.4 تركيز إنزيم ناقل اللنين (ALT) وإنزيم ناقل الاسبارتيز (AST) في مصل الدم

أظهرت نتائج تراكيز إنزيم ناقل الألنين (ALT) في مصل دم أسماك جدول (10) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملتين الأولى والثانية واللتين بلغتا 108.33 و107 وحدة دولية/لتر على التوالي واللتين تفوقتا معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثالثة والرابعة وكانتا على التوالي 92.33 و91.33 وحدة دولية/لتر ولم تختلفا معنوياً فيما بينهما. أماّ بالنسبة نتائج تركيز إنزيم ناقل الاسبارتيز (AST) جدول (10) فقد كانت متوافقة مع نتائج تراكيز إنزيم ناقل الألنين (ALT)، إذ أظهرت عدم وجود فروق معنوية بين المعاملتين الأولى والثانية وكانتا على التوالي 15.33 و13.67 وحدة دولية/لتر واللتين تفوقتا معنوياً ($p\leq0.05$) على المعاملتين الثالثة والرابعة وكانتا على التوالي 9.33 و8.67 وحدة دولية/لتر ولم تختلفا معنوياً فيما بينهما.

جدول رقم (10) المعايير الدمّية المناعية (المتوسط ± الخطأ القياسي) لأسماك الكارب الشائع المغذاة على العلائق الحاوية على بذور الهرطمان خلال مدة التجربة

المعايير المدروسة	المعاملات				مستوى المعنوية
	T1	T2	T3	T4	
البروتين الكلي (TP) ملغم/100 مل	0.05±3.1 b	0.05±3.1 b	0.11±3.7 a	0.14±3.9 a	0.05
إنزيم ALT U/L	2.02±108.33 a	4.5±107 a	0.88±92.33 b	1.7±91.33 b	0.05
إنزيم AST U/L	1.2±15.33 a	0.88±13.67 a	0.33±9.33 b	0.33±8.67 b	0.05

***الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية ضمن الصف الواحد عند مستوى معنوية ($p\leq0.05$).**

T1= معاملة السيطرة، T2= 15% مسحوق الهرطمان غير المعامل بإنزيم، T3= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز التجاري، T4= 15% مسحوق الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي.

من خلال استعراض نتائج تركيز البروتين الكلي لوحظ تفوق المعاملتين الثالثة والرابعة اللتين أضيف لهما إنزيم الفايتيز التجاري والميكروبي على التوالي على المعاملتين الثانية والأولى، وقد يُعزى السبب إلى إنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع مختبريا وإنزيم الفايتيز التجاري كان لهما أثر في تحسين كفاءة الاحتفاظ بالبروتين في مصل الدم وكونه يحسن من توافر البروتين من خلال تفكك معقدات بروتين– فايتيت في الأمعاء، ويحيد التأثير السلبي للفايتيت على البروتين في النظام الغذائي للحيوانات أحادية المعدة (Mitchell وآخرون، 1997؛ Liebert وPortz ، 2005). إذ يتحكم تركيز البروتين الكلي لمصل الدم في تحديد الضغط الازموزي Colloidal Osmotic Pressure للبلازما، ويتأثر هذا التركيز بالحالة الغذائية ووظيفة الكبد، إذ إنَها تعتمد على قدرة الكبد التصنيعية للبروتين الكلي والالبيومين (Tocher وآخرون، 2003). إنَ بروتينات الدم لها حجم جزيئي كبير، لذلك فهيَ تحافظ

على الضغط الازموزي وتسهم في لزوجة الدم وتوازن الحموضة والقاعدية، إذ يُعَد بروتين مصل الدم جزءاً مهماً من خزين الأحماض الأمينية لجسم الأسماك، إذ يتحلل البروتين عند الحاجة إلى أحماض أمينية يمكن للجسم استخدامها في بناء بروتينات أساسية على وفقَ احتياج الجسم أو تتحول إلى مركبات كربوهيدراتية. وللبروتين أثر مهم في التوازن الطبيعي للجسم ويعد ناقلا للعديد من المركبات الغذائية التي تنتقل معه (Huang وآخرون، 2008).

تطابقت جزء من هذه الدراسة مع دراسة Goda وآخرون (2020) الذين قاموا بإضافة إنزيم الفايتيز بنسبة مختلفة إلى الحبوب المجففة المقطرة عالية البروتين (HP-DDG) في علائق أسماك القاروس البحري الأوربي *Dicentrarchus labrax*، إذ دلت النتائج إلى تفوق معاملات الفايتيز المضاف في مستوى البروتين الكلي. كذلك اتفقت مع دراسة Biswas وآخرون (2019) إذْ زاد تركيز البروتين الكلي في مصل الدم عند إضافة الفايتيز إلى علائق أسماك الدنيس الأحمر *Pagrus major* وبتراكيز مختلفة مقارنة مع معاملة السيطرة الخالية من إنزيم الفايتيز.

بالرغم من وجود فروق معنوية في قيم (ALT) و(AST) ولكنها كانت ضمن المديات التي أشار إليها Tripathi وآخرون (2004) والتي كانت 75-115 و 14.3-15.5 وحدة دولية/لتر لتراكيز (ALT) و (AST) على التوالي، هذا ما أكدهُ Rastiannasab وآخرون (2016) عند دراستهم التغيرات في النشاطات الإنزيمية للـ (ALT) و (AST) لأسماك الكارب الشائع .*C. carpio* L والتي تتراوح بين 45-110 لتركيز الـ (ALT)، و8-16 لتركيز الـ (AST) وحدة دولية/لتر. تُعَد هذه الإنزيمات مؤشرات حيوية للحالات المرضية في الأسماك التي قد تحصل نتيجة عدم سلامة الخامات العلفية في العلائق وحالات الاجهاد، فضلاً عن التغيرات البيئية التي تحصل، وتعد هذهِ الإنزيمات محفزات بروتينية للتفاعلات الحيوية وهي تكون مهمة في تمثيل الأحماض الأمينية في عمليات أيض

للبروتين (Dorcas و Solomon، 2014). وهي مؤشر على عدم حدوث أمراض أو تلف وتكسير في خلايا الكبد وفي الخلايا الأُخرى من جراء استخدام مسحوق بذور الهرطمان الخام في المعاملة الثانية والمعامل إنزيمياً في المعاملتين الثالثة والرابعة، وذكرَ Lehninger (1982) ارتفاع الـ AST الذي يوجد في السايتوبلازم في الحالات الحادة ثم يليهِ الـ ALT الذي يوجد في المايتوكوندريا والسايتوبلازم، ولذلك يكون أكثر ارتفاعاً في الحالات المزمنة واحتشاء عضلة القلب، وترتفع نسبة الـ (AST) كذلك في حالات الإجهاد وضمور العضلات والتهابها. ويحدث تحطم طبيعي لخلايا الجسم بسبب العمليات الأيضية المستمرة فتكون هناكَ تراكيز طبيعية من الـ (ALT) و(AST) لتعويض الخلايا التي تعرضت للتلف، ولكن عندما يحدث تلف كبير أو ضرر بنسب كبيرة في الخلايا ولاسيما خلايا الكبد لأنهُ مركز أيض العناصر الغذائية فتكون تراكيز الـ (ALT) و (AST) غير طبيعية بسبب أثرها في عملية تكوين الأحماض الأمينية غير الأساسية التي يحتاجها الجسم لتعويض الخلايا التي أصابها الضرر من جراء الإجهاد أو الإفراط في تناول مواد غذائية قد تُجهد عمل الكبد، إذ تحدث عملية تكوين الأحماض الأمينية غير الأساسية من خِلال عملية التبادل الأميني Transamination لحامض الـ Pyruvic لتكوين حامض الـ Alanine (Das وآخرون، 2004)، وعليهِ فإنَّ أية زيادة لهذه الإنزيمات عن الحد الطبيعي في مصل الدم هي نتيجة لتحطم هذه الأنسجة بسبب حالات فسلجية أو مرضية أو تكون تغذوية. وأُكِدَ من قبل Mohamed وآخرون (2019) إلى أنَ أي زيادة لهذه الإنزيمات عن الحد الطبيعي في مصل الدم هي نتيجة لتحطم هذه الأنسجة بسبب حالات فسلجية أو مرضية أو تغذوية عند دراستهم نشاط إنزيمات الكبد لأسماك *Tilapia zillii* و*Mugil capito* .

اتفقت هذه الدراسة مع Goda وآخرون (2020) الذين أضافوا إنزيم الفايتيز بنسب مختلفة في علائق أسماك القاروس *Dicentrarchus labrax* القائمة على وجبات الحبوب المجففة المقطرة عالية البروتين (HP-DDG)، إذ انخفضت نسب تراكيز إنزيم (ALT) و(AST) مقارنة بعليقة

السيطرة. كذلك اتفقت مع دراسة Peatman و Beck (2016) اللذين وجدا أن إضافة إنزيم الفايتيز قد حسن من معايير المناعة في أسماك السلور *Ictalurus punctatus* إذ انخفضت أنشطة الـ ALT وAST مع زيادة تضمين الإنزيم في علائق هذه الأسماك قياساً بمعاملة السيطرة. من خلال ما أُستعرِضَ عن النسب الطبيعية للمعايير الدمية للأسماك، يلحظ أن المعايير الخاصة بمصل الدم وخلال مدة الدراسة كانت ضمن المديات الطبيعية للأسماك، وهذا يدل على أن إضافة إنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً وإنزيم الفايتيز التجاري في علائق أسماك الكارب الشائع كانت مناسبة، إذ لم يلحظ أية تأثيرات جانبية على الأسماك أو على تقبل الأسماك للغذاء، كذلك ومن خلال المتابعة اليومية للأسماك لوحظ الصحة العالية التي تمتعت بها أسماك التجربة للمعاملات كافة ، إذ لم تسجل اية إصابة خلال مدة التجربة.

الفصل الخامس

5. الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1.5 الاستنتاجات Conclusions

1- من خلال نتائج هذه التجربة يمكن عدّ بذور الهرطمان من المصادر غير التقليدية للبروتين النباتي في علائق أسماك الكارب الشائع .إذ يمكن إضافتها بنسبة 15 % مع إضافة الإنزيم دون وجود تأثيرات سلبية على الأداء الانتاجي.

2- إنَّ الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع مختبرياً أثر وبصورة ايجابية في معايير النمو في أسماك الكارب الشائع.

3- ان الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع مختبرياً أثر بصورة ايجابية في بعض معايير الدم المناعية TP , AST , ALT في أسماك الكارب الشائع.

4- تفوق معاملة الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المصنع مختبرياً على معاملات التجربة جميعها.

2.5 التوصيات Recommendations

1- نوصى بإضافة بذور الهرطمان المعامل بإنزيم الفايتيز المصنع محلياً كمصدر للبروتين النباتى بنسبة 15% وتجربة زيادة هذه النسبة إلى 20% او 25% لبيان الاستفادة منها في علائق أسماك الكارب الشائع.

2- نوصي بمعاملة مصادر نباتية أخرى للبروتين النباتي بإنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً وكذلك التجاري وايهما يحقق إيرادات أفضل بعد دراسة الجدوى الاقتصادية.

3- نوصي باستخدام إنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع مختبرياً كأحد الطرق المستخدمة في تثبيط العوامل المضادة للتغذية الموجودة في بعض المصادر النباتية المستخدمة كمصادر للبروتين في علائق اسماك الكارب الشائع .

4- نوصي باستخدام إنزيم الفايتيز المايكروبي المصنع محلياً في علائق الاسماك العراقية الاخرى.

5- نوصي بإجراء المزيد من الدراسات حول أهمية إنزيم الفايتيز في البيئة المائية العراقية.

الفصل السادس

6. المصادر References

1.6 المصادر العربية

احمد، هاشم عبد الرزاق. (1987). بايلوجية الاسماك. مطبعة جامعة البصرة. 279 صفحة.

البهادلي، رحمن حسين ثجيل. (2011). استزراع كثافات مختلفة لسمك الكارب الشائع *Cyprinu* 1758 . L *carpio* في الأقفاص العائمة في اهوار محافظة ميسان. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 59 ص.

جبر، مأمون أحمد. (2012). التقييم الاقتصادي لمشاريع تربية الأسماك في الأقفاص والأحواض الترابية في محافظة بابل. مجلة الفرات للعلوم الزراعية – 4(1): 188-200.

الجبوري، أحمد راضي جبار. (2017). استعمال أوراق نبات الرغل الملحي .L *Atriplex halimus* ونبات زهرة النيل *Eichhornia crassipes* في علائق أسماك الكارب الشائع *Cyprinus* .L *carpio*، رسالة ماجستير، كلية الزراعة / جامعة المثنى، 76 ص.

حديد، أياد أسماعيل. (1986). أثر تربية الاسماك على زيادة الانتاج في العراق. مجلة المهندس الزراعي. العدد الاول. مارس 40-41.

حسن، أبراهيم مجيد. (2003). تكنولوجيا الاسماك. مطبعة دار الفجر والتوزيع. القاهرة. 363 صفحة.

خانجي، محمد جميل. (1991). تربية أسماك المياه العذبة. دار الشرق العربي، بيروت، 125 ص.

الخشالي ، محمد شاكر. (2009). كن مربياً ناجحاً للأسماك، كراس عملي يبحث في أسس تربية أسماك الكارب وسبل إنشاء وإدارة المزارع السمكية. كلية الزراعة، جامعة بغداد، 56 ص.

رحيم، محمد فرج. (1990). تربية الاسماك. منظمة الاغذية الزراعية التابعة للأمم المتحدة ممثلية الأغذية الزراعية في العراق. المكتب التنفيذي في المحافظات الشمالية. مطبعة زبان- اربيل. 47 صفحة.

سلمان، جاسم محمد وكاظم صادق لفته وحسن جميل جواد (2008). دراسة لمنولوجية على نهر العباسية .العراق. مجلة القادسية، 13(1):48-58.

سلمان، علي حسين (1998). استبدال كسبة فول الصويا بكسبة زهرة الشمس المحسنة في علائق أسماك الكارب الشائع .L *Cyprinus carpio*. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. 53 صفحة. العراق.

السلمان، محفوظ حسين محمد علي. (2000). أساسيات تربية وإنتاج الأسماك، الطبعة الثانية، ص396.

الطائي، منير عبود. (1986). تكنولوجيا اللحوم والاسماك – وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – البصرة – العراق.

علكم، فؤاد منحر وابتهال عقيل عبد المنعم.(2011). تأثير مياه المبزل الشرقي الرئيس على بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمياه نهر الفرات في مدينة السماوة. العراق. مجلة اوروك للأبحاث العلمية. 4(1): 67-76.

كاظم، محمد جعفر .(2001). أختزال بعض المضادات التغذوية (مثبط أنزيم التربسين وحامض الفايتك) في الباقلاء بطريقة الإنبات وأستخدامها في علائق الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L. . رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة بغداد،81ص.

محسن، كاظم عبد الامير. (1988). تربية الاسماك. جامعة البصرة. 329 صفحة.

محمد، محمود أحمد، مهدي ضمد محيسن، محمد جعفر كاظم، عبد الرضا رحيم عبد الحسين (2002). إستخدام الشعير المحلي المدعم بكسبة زهرة الشمس المحسنة وانزيم البيتاكلوكانيز β- glucanase في علائق أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* L.. المؤتمر العلمي الثامن لهيئة التعليم التقني - اذار 2002- البحوث الزراعية : 89-101.

محيسن، فرحان ضمد والكناني وصلاح مهدي. (1994). ملائمة اهوار جنوب العراق لتربية اسماك الكارب الاعتيادي. منشورات مركز علوم البحار. جامعة البصرة. رقم 18: 251-259.

2.6 المصادر الاجنبية

A H A. (American heart association). (2002). Fissoil lower your bad cholesterol,diabetic care, 25:1704.1708.

A.O.A.C.(Association of official analytical chemists). (2000). 17 th V11, Gaithersburg, MD, USA.

Abbas, L. M.; Abu-Elhine, A. J.; Radhy A. G. and Hassan H. A. (2017). Evaluating the Fish Structure Community at Euphrates River near Al-Hindyah Barrier, Babylon Province/ Iraq. Journal Tikrit Univ. for Agri. Sci., Vol.(17) No.(Special).

Abo Norag, M. A.; El-Shenawy, A. M.; Fadl, S. E.; Abdo, W. S.; Gad, D. M.; Rashed, M. A. and Prince, A. M. (2018). Effect of phytase enzyme on growth performance, serum biochemical alteration, immune response and gene expression in Nile tilapia. Fish & Shellfish Immunology, 80, 97–108.

Accensi, F.; Cano, J. ; Figuera, L.; Abarca, M. L. and Cabanes, F.J. (1999). New PCR method to differentiate species in the *Aspergillus niger* aggregate. FEMS. Microbiol. Lett, 180: 191-196.

Adamek, Z.; Musil, J.; and Sukop, I. (2004). Diet composition and selectivity in O+ Perch *Perca fluviatilis* L. and its competition with adult

fish and carp *Cyprinus carpio* L. stock in pond culture. Agriculturae Conspectus Scientificus, 69: 21-27.

Adeola, O. and Sands, J. S. (2003). Does supplemental dietary microbial phytase improve amino acid utilization? A perspective that it does not. Journal of Animal Science, 81(14_suppl_2), E78-E85.

Ai, Q.; Mai, K.; Zhang, W.; Xu, W.; Tan, B.; Zhang, C.; and Li, H. (2007). Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 147(2): 502-508.

Al-asha'ab, M. H. ; Ali A. F. ; Al-mashhadany, A. J. Adnan M. M. ; Sadiq, J. J. and Soliman, D. M. (2017). Total and Partial Substitution of the Local Grass Pea Seed *Lathyrus sativa* Processed by Different Methods by Soy Bean Meal Glycine max in Small Common Carp *Cyprinus carpio* L. Diets. Journal of Al-Nahrain University Vol. 20 (3), September, pp.105-114.

Al-asha'ab, M. H.; and Al-Shawi, S. A. S. (2011). Effect Of Addition Different Levels And Sources Of Omega-6 (Pufa) Enriched Diets On

The Growth Indices For Fingerling Common Carp *Cyprinus carpio* L. Iraq.College of Engi- neering, University of Baghdad, 2(16): 29-30.

Al-Hamed, I.M. (1984). The reality and types of fish stocks in the Arab world are the future strategy for its development. Journal of Fish Wealth, 8 & 9: 40-49.

Almas, K. and Bender, A. E. (1980). Effect of heat treatment of legumes on avialable lysine. J. Sci. Food Agric. 31: 448-452.

Al-Mukhtar, M.A. (2005). Methods of fish farming in the Iraqi Marshlands. First Scientific Conference, Marine Sciences Center, 11-12 April, 2005.

Al-Mukhtar, M.A.; Nader, A.S.; Hassouni, K.H.; and Janabi, A.H. (2005). The Reality of Fish Culture in Basrah Governorate. Iraqi Journal of Aquaculture, 2: 155-164.

AOAD. "**Arab Organization For Agricultural Development** "**(2017)** A study on fish diseases in the Arab world:1-201.

Asgard, T. and Shearer, K.D. (1997). The dietary phosphorus requirement of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* and its relationship to the phosphorus requirements reported for other fishes. Aquacult Nutr;3:17–23.

Bai, D.Q, Qiao, X.T.; Wei, D.; Guo, L. and Qi, H.L. (2004). Effects of phyase on the performance of protein hydrolysis enzyme in the intestine and liver of common carp. J Chin Feed;2:34–38 [in Chinese].

Bali, A. and Satyanarayana, T. (2001). Microbial phytases in nutrition and combating phosphorus pollution. Everyman's Sci. 4:207–209.

Baruah, K.; Pal, K.A. ; Narottam, P.S. and Debnath, D. (2007). Microbial phytase supplementation in rohu, *Labeo rohita*, diets enhances growth performance and nutrient digestibility. J World Aqua Soc. 38:129–137.

Baruah, K.; Sahu, N. P.; Pal, A. K. and Debnath, D. (2004). Dietary phytase: an ideal approach for a cost effective and low polluting aqua feed. NAGA World Fish centre Quarterly, 27, 15–19.

Baruah, K.; Sahu, N. P.; Pal, A. K.; Jain, K. K.; Debnath, D. and Mukherjee, S. C. (2007). Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level. Aquaculture Research, 38(2), 109–120.

Baruah, K.; Sahu, N. P.; Pal, A. K.; Jain, K. K.; Debnath, D.; Sona, Y. and Mukherjee, S. C. (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, 238–249

Biswas, A.; Araki, H.; Sakata, T.; Nakamori, T. and Takii, K. (2019). Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diets of red seabream, *Pagrus major*. Aquaculture. PP. 51–59.

Braveen, T.; Rajeev, M. and Som, D. (2008). Water Quality Monitoring of Halali Reservoir with Reference to Cage Aquaculture as a Modern Tool for Obtaining Enhanced Fish Production. The 12th world Lake Conference, 318–324.

Brown, M.E. (1957). Experimental studies on growth .In: Fish physiology, M.E. Brown (ed.) New York, N.Y. Academic press, 1: 361–400.

Cain, K.D. and Garling, D.L. (1995). Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. Prog. Fish Cult. 5757, 114–119.

Campbell, C.G.; Mehra, R.B.; Agrawal, S.K.; Chen, Y.Z.; Abd EL Moneim, A.M.; Kawaja, H.I.T.; Yadav, C.R.; Tay, J.U. and Araya, W.A. (1994). Current status and future strategy in breeding grasspea Lathyrus sativus. Euphytica 73:167-175.

Cao, L.; Wang, W.; Yang, C.; Yang, Y.; Diana, J.; Yakupitiyage, A. and Li, D. (2007). Application of microbial phytase in fish feed. Enzyme and Microbial Technology, 40(4), 497-507.

Cao, L.; Yang, Y.; Wang, W. M.; Yakupitiyage, A.; Yuan, D. R.; Diana, J. S. (2008). Effect of pretreatment with microbial phytase on phosphorus utilization and growth performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Nutrition 14, 99–109.

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, 299–311.

Castell, A.G.; Cliplef, R.L.; Briggs, C.J.; Campbell, C.G. and Bruni, J.E. (1994). Evaluation of lathyrus *Lathyrus sativus* L. as in ingredient in pig starter and grower diets. Can. J. Anim. Sci. 74, 529-539.

Chandna, M. and Matta, N.K. (1994). Studies on changing protein levels in developing and germinating seeds of *Lathyrus sativus* L. J. Plant Biochem. Biotechnol. 3: 59-61.

Cheng, Z. J. and Hardy, R. W. (2002). Effect of microbial phytase on apparent nutrient digestibility of barley, canola meal, wheat and wheat middlings, measured in vivo using rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture Nutrition, 8(4): 271-277.

Cheng, Z. J. and Hardy, R. W. (2004). Effects of microbial phytase supplementation in corn distiller's dried grain with soluble on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Applied Aquaculture 15, 83-100.

Common, F. H. (1989). Biological availability of phosphorus for pigs. Nature, 43: 370-380.

Coulibaly, A.; Kouakou, B. and Chen, J.(2011). Phytic acid in cereal grains: structure, healthy or harmful ways to reduce phytic acid in cereal grains and their effects on nutritional quality. American J. plant nutrition and fertilization technology, 1: 1-22.

Currie, D.J. (2000). Aquaculture: opportunity to benefit man-kind. World Aquaculture 3:44-49.

Das, P.C.; Ayappan, S.J.; Jena, J.K. and Das, B.K. (2004). Acute toxicities of ammonia and sub lethal effects on marigal *Cirrhinus mrigala* Hamilton, Aquate. Res., 35: 134 – 143.

Debnath, D., Sahu, N. P., Pal, A. K., Baruah, K., Yengkokpam, S., and Mukherjee, S. C. (2005). Present scenario and future prospects of phytase in aquafeed. Asian-Aust. J. Anim. Sci, 18(12), 1800-1812

Debnath, D.; Pal, A. K.; Sahu, N. P.; Jain, K. K.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S. C. (2005). Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. Aquaculture Research, 36(2): 180–187.

Delbertmiii, G.; Frederict, B.; Paul, B.; Konrad, D.; Tgibson, G.; Ronaldw, H. and Richard, N. (2007). Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture Research, 38(6): 551–579.

Do Carmo, E.S.A.; Pezzato, M.V.; Barros, E.L.; De Magalhães, M.M. and Padilha, P. (2005). Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia Oreochromis niloticus fingerlings. Aquacult. Nutr. 11, 273–281.

Dorcas, I.K. and Solomon, R.J. (2014). Calculation of liver function test in *Clarias gariepinus* collected from three commercial fish ponds. Nat. Sci., 12(10): 107-123.

Dorcas, I.K. and Solomon, R.J. (2014). Calculation of liver function test in *Clarias gariepinus* collected from three commercial fish ponds. Nat. Sci., 12(10): 107-123.

Duncan , D.B. (1955). Multiple rang and multiple F test . Biometrics 11-19.

Erwin, E. J. and Victor, J. G. (2004). Plant Analysis Procedures, Second Edition. Published by Kluwer Academic Publishers, Kluwer Academic Publishers. Pp 187.

FAO, Food and Agriculture Organization Rome. (2019). The State of Fisheries and Aquaculture Report in ending hunger, securing food supplies and promoting good health and nutritional practices. Part I The Global Review of Fisheries and Aquaculture. 23-27 July 2019 / 6 Rev1.

FAO. (1981). Report of the symposium on new development in the utilization of heated effluent and of recirculation system for intensive aquaculture , Stavanger. 29-30. May 1980. Rome. EIFAC - / T39.

FAO. **(2018)**. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 -Meeting the sustainable development goals. AqTHE STATE OF THE WORLD series of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. uaculture (Vol. 35).

Forster, I.; Higgs, D. A.; Dosanjh, B. S.; Rowshandeli, M. and Parr, J. (1999). Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* held in 11°C fresh water. *Aquaculture* 179: 109–125.

Francis, G.; Makkar, H.P.S. and Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture 99: 197–227.

Furnkawa, H.; and Tsukahara, H. (1966). On the acid digestion method for determination of chromic oxide an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull Japan Society Science Fisheries, 32 (6): 502-506.

Gerking, S.D. (1971). Influence rate of feeding and body weight on protein metabolism of bluegill sunfish. Physiology Zool, 44: 9-19.

Gharaei, A.; Rayeni; M.F.; Ghaffari, M.; Akrami, R. and Ahmadifar, E. (2016). Influence of dietary prebiotic mixture (α − mune) on growth performance, haematology and innate immunity of beluga sturgeon (*Huso huso*) juvenile. Int. J. Aquat. Biol., 4(4): 277-284.

Goda, A. M. A.; Ahmed, S. R.; Nazmi, H. M.; Abo seif, A. M.; Taha, M. K. S.; Fadda, S. H. and Davies, S. (2020). Assessment of a high protein distillers dried grain (HP-DDG) augmented with phytase in diets for European sea bass, Dicentrarchus labrax fingerlings on growth performance, haematological status, immune response and related gut and liver histology. Aquaculture, 735617. Number of Article.

Gonzalez-Salgado, A.; Patino, B.; Vazquez, C. & Gonzalez-Jaen, M.T. (2005). Discrimination of *Aspergillus niger* and other Aspergillus species belonging to section Nigri by PCR assays. FEMS. Microbiol. Lett, 245: 353-361.

Gonzalez-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 fish meal fed to growing pigs.J. Anim. Sci., 93(10):4808-4818.

Gopakumar, G. (2009). History of cage culture, cage culture operations, advantages and disadvantages of cages and current global status of cage farming. National Training on 'Cage Culture of Seabass' held at CMFRI, Kochi. From 14-23 December 2009. Central marine Fisheries Research Institute, 8-12 page.

Greiner, R. and Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. Food Technology and Biotechnology, 44(2) :125-40.

Greiner, R.; Larsson Alminger, M.; Carlsson, N.; Muzquiz, M.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; Pedrosa, M. and Goyoaga, C. (2002). Pathway of dephosphorylation of myo-inositol hexakisphosphate by phytases of legume seeds. J. Agric. Food Chem. 50: 6865-6870.

Grela, E.R. and Günter, K.D. (1995). Fatty acid composition and tocopherol content of some legume seeds. Anim. Feed Sci. Technol. 52: 325-331.

Grela, E.R. and Winiarska, A. (1998). Influence of different conditions of extrusion on the antinutritional factors content in grass pea *Lathyrus sativus* L. seeds – Third European Conference on Grain Legumes, September 1998, Valladolid, 14-19.

Grela, E.R.; Studziñski, T. and Matras, J. (2001). Antinutritional factors in seeds of *Lathyrus sativus* cultivated in Poland – Lathyrus Lathyrism Newslett. 2: 101-104.

Gromwell, G. L. (1994). Diet formation to reduce the nitrogen and phosphours in poultry manure. Nutrient management symposium proceeding, Chesapeake Bay commission. Harrisburg, P A. pages 1-22.

Hanbury, C.D., Siddique, K.H.M., Galwey, N.W., Cocks, P.S., (1999). Genotype±environment interaction for seed yield and ODAP concentration of *Lathyrus sativus* L. and *cicera* L. in Mediterranean-type environments. Euphotic 110: 45-60.

Hassaan, M.S.; Soltan, M.A.; Agouz, H.M.; Badr, A.M. (2013). Influences of calcium/phosphorus ratio on supplemental microbial phytase efficiency for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Egypt. J. Aquat. Res. 39, 205–213.

Heindl, U. (2002). Phytase: How does the enzyme work in fish nutrition. Asian Aqua. Mag. 3(4):22-24.

Hepher, B. (1988). Nutrition of Pond Fishes. Cambridge University Press, Cambridge., 27pp.

Hepher, B. and Pruginin, Y. (1981). Commercial Fish Farming: With Special Reference to Fish Culture in Israel.Wiley-Interscience.261.

Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A. and Merrifield, D.L. (2011). The effects of dietary inactive brewer's yeast Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus on the growth, physiological responses and gut microbiota of juvenile beluga (*Huso huso*). Aquaculture, 318: 90-94.

Huang, S.Y.; Fu, C.H.; Higgs, D.A.; Balfry, S.K.; Schulte, P.M. and Brauner, C.J. (2008). Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ion regulatory development of spring Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Aquaculture, 274: 109–117.

Huet, M. (1972). Textbook of fish culture: breeding and Cultivation of fish. Fishing News (Books) Ltd., England: 436 PP.

Hussain, S.M.; Afzal, M.; Rana, S.A.; Javid A. and Iqbal, M. (2011). Effect of phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of *Labeo rohita* fingerlings fed on corn gluten meal-based diets. Int. J. Agric. Biol., 13: 916–922.

Jabir, A.A.; Yones, K.H. and Al Moussawi, M.H. (2008). The reality of fish culture in Maysan Governorate. Iraqi Journal of Aquaculture, 5(2): 51-64.

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

Jeney, zs. & Jeney, G. (1995). Recent achievements in studies on diseases of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture, 129:397–420.

Kaya, M.; Küçükyumuk, Z. and Erdal, I. (2009). Phytase activity, phytic acid, zinc, phosphorus and protein contents in different chickpea genotypes in relation to nitrogen and zinc fertilization. Afr. J. Biotechnol. 8(18): 4508–4513.

Khattak, F. ; Pasha, T. ; Hayat Z. and Mahmud, A. (2006). Enzymes in Poultry Nutrition, J. Anim. Pl. Sci. 16:1–8.

Kies, A. K.; Van Hemert, K. H. F. and Sauer, W. C. (2001). Effect of phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. World's Poultry Sci. J. 57: 109 – 126.

Konietzny, U. and Greiner, R. (2003). Phytic acid: nutritional impact. In: Caballero, B.; Trugo, L.; Finglas, P. (eds.). Encyclopedia of food science and nutrition. Elsevier, London, pp. 4555–4563.

Kornegay, E.T. and Qian, H. (1996). Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize soyabean-meal diet. Br. J. Nutr. 76, 563–578.

Kumar, V.; Barman, D.; Tech, H.; Development, B.; View, M. and Barman, D. (2014). Anti-nutritional Factors in Plant Feedstuffs Used in Aquafeeds. World Aquaculture, (May 2012).PP.1-5.

Kwanyuen, P. and Burton, J. W. (2005). A simple and rapid procedure for phytate determination in soybeans and soy products. JAOCS. 82(2): 81- 85.

Lanari, D.; D'Agaro, E. and Turri, C. (1998). Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 161, 345–356.

Lee, H. (2006). "Risks and benefits of omega 3 for mortality, cardiovascular diseas, and cancer: systematic review". BMJ332 (7544): 752-760.

Lehninger, L.A. (1982). Principles of Biochemistry. Worth Publishers Inc. P: 607.

Lei, X.; Pao, K.; Elwyn, R. M.; Ulrey, D. E. and Yokoyama, M. T. (1993). Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weanling pigs. J. Nutr. 1117–1123.

Lemos, D. and Tacon, A.G.J. (2017). Use of phytases in fish and shrimp feeds: a review. Rev. Aquacult. 9: 266–282.

Li, M. H. and Robinson, E. H. (1997). Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets. Journal of the World Aquaculture Society 28, 402–426.

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 microbial phytase. Aquaculture. 248: 111–119.

Liu, J. S., and Chen, R. (1998). Sequential Monte Carlo methods for dynamic systems. Journal of the American statistical association, 93(443), 1032–1044.

Liu, L.; Zhou, Y.; Wu, J.; Zhang, W.; Abbas, K.; Xu-Fang, L. and Luo, Y. (2014). Supplemental graded levels of neutral phytase using pretreatment and spraying methods in the diet of grass carp, Ctenopharyngodon idellus. Aquac. Res. 45(12):1932–1941.

Mackereth, J. H.; Heron, J.; and Talling, J. F. (1978). Water analysis: Somerevised methods limnologisis, Scientific Publication Freshwater Biological Association (England), 36: 1-120.

Makkar, H. P. S. and Becker, K. (2009). *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. European Journal of Lipid Science and Technology 111, 773–787.

Maynard, L.A.; Loosli, J.K.; Hintz, H.F.; and Warner, R.G. (1979). Animal nutrition, 7th ed., McGraw Hill, New York: 420 pp.

McClung, G. and Frankenberger, W.T. (1988). Comparison of Reverse-Phase High Performance Liquid Chromotographic methods for Precolumn-Derivatived amino acid. Journal of Liquid Chromatography, 11 (3): 613-646.

Mitchell, D.B.; Vogel, K.; Weimann, B.J.; Pasamontes, L.; van Loon, A.P. (1997). The phytase subfamily of histidine acid phosphatases: isolation of genes for two novel phytases from the fungi *Aspergillus terreus* and *Myceliophthora thermophila*. Microbiology 143:245–252.

Mohamed, A.S.; Gad, N.S. and El Desoky, M.A. (2019). Liver Enzyme Activity of *Tilapia zillii* and *Mugil capito* Collected Seasonally from Qarun Lake, Egypt. Fish Aqua. J. 10: 265.

Murti, V.V.S.; Seshadri, T.R. and Venkitsubramanian, T.A. (1964). Neurotoxic compounds of the seeds of *Lathyrus sativus*. Phytochemistry. 3: 73-78.

Nekoubin, H. and Sudagar, M. (2012). Assessment of the effects of synbiotic Biominimbo via supplementation with artificial diet (With different Protein Levels) on growth performance and survival rate in grass carp *Ctenopharyngodon idella*. World J. of Zool., 7 (3): 236-240.

Nie, X.; Chen, S.; Zhang, X.; Dai, B. and Qian, L. (2017). Effects of neutral phytase on growth performance and phosphorus utilization in crucian carp *Carassius auratus*. Journal of Zhejiang University, SCIENCE B, 18(10): 886–896.

NRC (National Research Council). (1993). Nutrient requirements of fish. Washington,DC: National Academy Press;, 114 pp. nutrition. Animal Feed Science and Technology, 135(1-2), 1-41.

Nwanna, L. C. and Schwarz, F. (2007). Effect of supplementa- tion phytase on growth, phosphorus digestibility and bone mineralization of common carp *Cyprinus carpio* L. Aquaculture Research 38: 1037–1044.

Nwanna, L. C.; Fagbenro, O. A. and Adeyo, A. O. (2005). Effect of different treatments of dietary soybean meal and phytase on the growth and mineral deposition in African catfish, *Clarias gariepinus*. Journal of Animal and veterinary Advances 4: 980–987.

Oliva-Teles, A.; Periera, J. P.; Gouveia, A. and Gomes, E., (1998). Utilization of diets supplemented with microbial phytase by sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. Aquatic Living Resources 11: 255–259.

Omogbenigun, F. O.; Nyachoti, C. M. and Slominski, B. A. (2003). The effect of supplementing microbial phytase and organic acids to a corn-soybean based diet fed to early-weaned pigs. J. Anim. Sci. 81:1806-1813.

Onyango, E. M.; Bedford, M. R., and Adeola, O. (2005). Efficacy of an evolved *Escherichia coli* phytase in diets of broiler chicks. Poultry Science, 84(2): 248-255.

Orisasona, O. and Ajani, E.K. (2015). The Growth and Mineral Utilization of *Clarias Gariepinus* Fingerlings Fed Phytase-Supplemented Toasted Lima Bean *Phaseolus lunatus* Diets. Department of Aquaculture and Fisheries Management, University of Ibadan, Nigeria. 6-9

Palmer, V.S.; Kaul, A.K. and Spencer, P.S. (1989). International Network for the Improvementof Lathyrus sativus and the Eradication of Lathyrism (INILSEL): A TWMRF initiative. Pp.219-223 in The Grass Pea: Threat and Promise. Proc. of the International Network forthe Improvement of *Lathyrus sativus* L. and the Eradication of Lathyrism (P. Spencer, ed.).Third World Medical Research Foundation, New York.

Papatryphon, E. and Soares, J. H. (2001). The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass *Morone saxatilis*. Aquaculture Nutrition 7: 161-167.

Papatryphon, E.; Howell, R.A. and Soares, J.H. (1999). Growth and mineral absorption by striped bass Morone saxatilis fed a plant feedstuff based diet supplemented with phytase. J. World Aquacult. Soc. 30: 161-173.

Peatman, E.; Beck, B.H. (2016). floor sweepings to fish flesh – phytase super dosing in the US catfish industry. From Phytate destruction–consequences for precision animal nutrition, Walk, C.L.; Kuhn, I.; Stien,H.H.; Kidd, M.T. and Redehutscord, M. (eds.). Wageningen Acadmic publishers, Chapter 16. p. 237-250.

Peteri, A. (2009). Cultured aquatic species information programme *Cyprinus carpio*. FAO fisheries and aquaculture department. www.fao.org /fishery/culturedspecies/ *Cyprinus carpio* /en.

Peteri, A., (2012). Cultured aquatic species information programme: *Cyprinus carpio*. FAO fisheries and aquaculture department. www.fao.org/fishery/culturedspecies/ *Cyprinus carpio*/en.

Petterson, D.S.; Sipsas, S. and Mackintosh, J.B. (1997). The chemical composition and nutritive value of Australian pulses. Grains Research and Development Corporation, Canberra. pp. 65.

Pointillart, A. (1988). Phytate phosphorus utilisation in growing pigs. In: L. Buraczewska, S. Buraczewska, T. Zebrowska (eds.), *Digestive Physiology in the Pig. Proceedings of the Fourth International Seminar*. Polish Academy of Science, Jablonna, Poland, pp. 192–196.

Pointillart, A.; Fourdin, A. and Fontaine, N. (1987). Importance of cereal phytase activity for phytate phosphorus utilization by growing pigs fed diets containing triticale or corn. J. Nutr. 29:907-912.

Portz, L. and Liebert, F. (2004). Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia, *Orechromis niloticus*

fed plant based diets with graded levels of microbial phytase. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 88:311–320.

Powar, V. K. and Jagannathan, V. (1982). Purification and properities of phytate specific phosphatase from *Bacillus subtilis*. J. Bac. 151(3): 1102-1108.

Rachmawatia D.; Istiyanto S. and Maizirwan M. (2017). Effect of Phytase on Growth Performance, Diet Utilization Efficiency and Nutrient Digestibility in Fingerlings of *Chanos chanos* (Forsskal 1775). Philippine Journal of Science, 146 (3):237-245.

Ramachandran, S.; Bairagi, A. and Ray, A. K. (2005). Improvement of nutritive value of *Lathyrus sativus* seed meal in the formulated diets for rohu *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings after fermentation with fish gut bacterium". Bioresour Technol, 96 (31) : 1465 – 1472. SAS, Institute."SAS Users Guide: Statistics (1996) ed. SAS Inst. Inc.Cary, NC.

Rastiannasab, A., Afsharmanesh, S., Rahimi, R., & Sharifian, I. (2016). Alternations in the liver enzymatic activity of Common carp, Cyprinus carpio in response to parasites, Dactylogyrus spp. and Gyrodactylus spp. Journal of Parasitic Diseases, 40(4), 1146-1149.

Ravindran, V. and Blair, R. (1992). Feed resources for poultry production in Asia and the Pacirc. II. Plant protein sources. World Poult. Sci. J. 48, 205-231.

Ravindran, V.; Bryden, W. L. and Kornegay, E.T. (1995). Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. Poult. Avian Biol. Rev. 6:125-143.

Ravindran, V.; Morel, P. C.; Partridge, G. G.; Hruby, M. and Sands, J. S. (2006). Influence of an Escherichia coli-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. Poultry Sci. 85: 82-89.

Reddy, N.R.; Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K. (1982). Phytates in legumes and cereals. Adv. Food Res. 28: 1-92.

Riche, M. and Brown, P. B. (1996). Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 142: 269–282.

Riepe, M.; Spencer, P.S.; Lambein, F.; Ludolph, A.C. and Allen, C.N. (1995). In vitro toxicological investigation of isoxazolinone amino acids of *Lathyrus sativus* – Nat. Toxins 11: 58-64.

Robinson, E.H.; Li, M.H. and Manning, B.B. (2002). Comparison of microbial phytase and dicalcium phosphate for growth and

bonemineralization of pond-raised channel catfish, Ictalurus punctatus. J Appl Aquacult. 12:81–88.

Rocha, C.B.; Portelinha, M.K.; Fernandes, J.M.; Pfaff de Britto, A.C., Noguez Piedras, S.R., Fernandes Pouey, J.J.O., (2014). Dietary phosphorus requirement of pejerrey fingerlings *Odontesthes bonariensis*. R. Bras. Zootec. 43: 55–59.

Rodehutscord, M., Pfeffer, E., (1995). Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss.* Water Sci. Technol. 31: 143-147.

Sajjadi, M. and Carter, C. G. (2004). Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon *Salmo salar* L. Aquaculture Nutrition 10, 135–142.

Sajjadi, M.; Carter, C. G., (2004). Dietary phytase supplementation and the utilisation of phosphorus by Atlantic salmon, *Salmo salar*, L. fed a canola-meal based diet. Aquaculture. 240: 417–431.

Saleh, K.I. and Salman, N.A. (1988). The exploitation of drainage water by breeding carp fish *Cyprinus carpio* L. in the cages to find the best intensity of breeding. Proceedings of the First Scientific Conference of Technical Education, September 21-22, 1988, Baghdad, Agricultural Research, pp: 667-686.

Saleh, M.A. (2010). Fish Diseases. General Authority for Fisheries Development, Egypt, Bulletin.pp. 23-25.

Salman, N.A. (1994). Possibility of using the marshes of southern Iraq as culture area for fishes and crustaceans, difficulties and solution. In: A. Hussain (ed) Ahwar of Iraq Environment Approach. Mar. Sci. Cent. Pub., No. 18.299.

Sasirekha, B.; Beedashree, T. and Champa, K. L. (2012). Optimization and purification of extracellular phytase from *Pseudomonas aeruginosa* P6. European J. experimental Biology, 2(1): 95-104.

Sayeda, M. A.; Mohamed, I.W. and Wafaa, T. A. (2011). Evaluation of Azotobacter and Azospirillum Biofertilizers as a Probiotics in *Oreochromis niloticus* Aquaculture, Journal of Fisheries and Aquatic Science 6(5):535-544.

Schafer, A.; Koppe, W. M.; Meyer-Burgdorff, K. H.; Gu¨ nter, K. D. (1995). Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. In: C. B. Cowey (ed), *Nutritional Strategies and Management of Aquaculture Waste. Water Science and Technology* 31, 149-155.

Schmalhousen, L. (1926). Studien uber washtum and differenzierung III. Die embryonale wachsturmskurve des huhnchens. Wilhem roux. Arch

entwic klungsmech. Ukrainische Akademie der Wissenschaf, pp: 322-387.

Schmeller, H.B. (1988). Die U¨ Berwinterung Des Karpfens. Fischer Teichwirt, Vol. 39, 66- 75.

Schreckenbach, K. (2002). Einfluss von Umweltbedingungen auf Karpfen. Fischer Teichwirt, Vol. 53 , 207-208.

Selle, P. H. and Ravindran, V. (2007). Microbial phytase in poultry nutrition. Anim. Feed Sci. Technol., 135, 1-41.

Selle, P. H.; Gill, R. J. and Scott, T. A. (2007). Effects of pre-pelleted wheat and phytase supplementation on broiler growth performance and nutrient utilization. Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium 19, 182-185.

Selle, P.H. and Ravindran, V. (2008). Phytate degrading enzymes in pig nutrition. Livest Sci 113:99-122.

Shahsavani, D.; Mohri, M. and Gholipour, K.H. (2010). Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish Physiol. Biochem., 36: 39-43.

Shalaby, A. (2005). The opposing effect of ascorbic acid (Vitamin C) on ochratoxin toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. 6th Internat. Symp., Tilapia in Aquaculture, Philippines, pp. 150-157.

Simons, P.C.M.; Versteegh, H.A.J.; Jongbloed, A.W.; Kemme, P.A.; Slump, P.; Bos, K.D.; Wolters, W.G.E.; Beudeker, R.F.; and Verschoor, G.J. (1990). Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. Br. J. Nutr.64:525-540.

Singh, A.; Lehari, K.; Bharadwaj, N. and Bhatnagar, S.K. (2017). Assessment of antifungal activity of aqueous and alcoholic extracts of Onion (*Allium cepa* L.) and Garlic (*Allium sativum* L.) on Fusarium solani and Pythium ultimum. Int. J. Plant Res., 30(1): 4-6.

Singh, M. and Krikorian, A.D. (1982). Inhibition of trypsin activity *in vitro* by phytate. J. Agric. Food Chem. 30: 799-800.

Sorour, M.A.H. (2002). Anti nutritional factors and protein digestibility of some common legumes as affected by processing and microwave treatment. Mansoura University J of Agricultural Science. 1-3 October 2002: 209-218.

Storebakken, T.; Refstie, S. and Ruyter, B. (2000). Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: J. K. Drackley (ed), Soy in Animal Nutrition. Federation of Animal Science Societies, IL, USA, pp. 127-170.

Storebakken, T.; Shearer, K.D. and Roem, A.J. (1998). Availability of protein, phosphorus and other elements in fishmeal, soy-protein

concentrate and phytase-treated soy-protein concentrate- based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture. 161:365-379.

Sugiura, S.H.; Gabaudan, J.; Dong, F.M.; 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. Aquacult. Res.; 32:583–92.

Syed, M. H. ; Muhammad, A. ; Shabab, N.; Arshad, J. ; Hamda, A.; Syeda, M. ; Syed, Z. H. ; Shah, M. H. ; Irfan, M. and Munawar, I. (2017). Role of phytase supplementation in improving nutrient digestibility and growth performance for *Labeo rohita* fingerlings fed on canola meal-based diet. Journal of Applied Animal Research, 45:1, 15-21.

Tadelle D., Alemu H., Nigusie D., Peters K.J. (2003). Evaluation of processing methods on the feeding value of grass pea to broilers – Int. J. Poultry Sci. 2: 120-127.

Talling, J.F. (1980). Water characteristics in Euphrates and Tigris.In: J. RZOSKA (ed.), Mesopotamia ecology and destiny. 38.. Biol. London.

Tamim, N. M. and Angel, R. (2003). Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro-mineral source in broiler diets. J. Agric. Food Chem. 51: 4687-4693.

Tocher, D.R. ; Bell, J.G. ; Dick, J.R. and Crampton, V.O. (2003). Effects of dietary vegetable oil on Atlantic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid compositions. Lipids, 38: 723 –732.

Tripathi, N.K.; Latimers, K.S. and Burnley, V.V. (2004). Hematological reference intervals for koi *Cyprinus carpio* L. including blood cell morphology, cytochmistery and ultrastructure. Vet. Clin. Pathol. 33:74-83.

Tyagi, P. K.; Verma, S. V. S. (1998). Phytate phosphorus content of some common poultry feed stuffs. Indian Journal of Poultry Science 33, 86–88.

Usmani, N. and A.K. Jafri. (2002). Influence of dietary phytic acid on the growth, conversion efficiency and carcass composition of *Cirrhinus mrigala* (H) fry. J. World Aquacult. *Soc.*, 33: 199–204.

Uten, F. (1978). Standard methods and terminology in finfish nutritions from: proc. World symp on finfish nutrition and fish feed technology. Hamburg, 20-23 June. Vol. II Berlin.

Van Weerd, J.H.; Khalaf, K.H.A.; Aartsen, F.J. and Tijssen, P.A.T. (1999). Balance trials with African catfish *Clarias gariepinus* fed phytase-treated soybean mealbased diets. Aqua. Nutr. 5:135-142.

Vandenberg, G.W.; Scott, S.L. and De LaNoüe, J. (2011). Factors affecting nutrient digestibility in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed a plant protein-based diet supplemented with microbial phytase. Aquacult. Nutr. 18, 369–379.

Verdegem, M. C. J. (2013). Nutrient discharge from aquaculture operations in function of system design and production environment. Reviews in Aquaculture, 5(3), 158–171 .

Vielma, J., Ma¨kinen, T., Ekholm, P., Koskela, J., (2000). Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and algal availability of phosphorus load. Aquaculture 183: 349–362.

Vielma, J.; Lall, S. P. and Koskela, J. (1998). Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 163, 309–323.

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: 145–156.

Vielma, J.; Ruohonen, K.; Gabaudan, J.; Vogel, K. (2004). Top-spraying soybean meal-based diets with phytase improves protein and mineral digestibility's but not lysine utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac Res 35:955–964.

Vohra, A. and Satyanarayana, T. (2003). Phytases: microbial sources, production , purification, and potential biotechnological applications. Crit Rev Biotechnol 23:29–60.

Von Danwitz, A.; van Bussel, C. G. J.; Klatt, S. F. and Schulz, C. (2016). Dietary phytase supplementation in rapeseed protein based diets influences growth performance, digestibility and nutrient utilisation in turbot *Psetta maxima* L. Aquaculture, 450, 405–411.

Von Sheuermann, S.E.; Lantzoch, H.J. and Marke, K.H. (1988). In vitro and in vivo experiments on the hydrolysis of phytate. Activity of plant phytase. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 60:64-75.

Walk, C. L.; Kühn, I.; Stein, H. H.; Kidd, M. T. and Rodehutscord, M. (2016). Phytate destruction-consequences for precision animal nutrition. Wageningen Academic Publishers. pp. 105

Walter, J.; Cui, J.G.; Marcheselli, V.L.; Bodker, M.; Gotlinger, K.; Serhan, C.N. and Bazan, N. G. (2005). A role for docosahexaenoic

acid-derived neuro protectin DI in neural cell survival and Alzheimer disease. J. Clin. Invest 115 (10): 2774-83.

Wang, F.; Yang, Y.H.; Han, Z.Z.; Dong, H.W.; Yang, C. H.; and Zou, Z.Y. (2008). Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. Aquaculture International, 17(2): 143-157.

Watts, M.; Munday, B.I. and Burke, C.M. (2001). Immune responses of teleost fish. Aust. Vet. J., 79: 570-574.

Wee, K. L. and Shy, S.W. (1989). The nutritive value of boiled full-fat Sobean meal in pelleted feed for nile tilapia, Aquacullcuve, 81: 303-314.

Weiner, E.R. (2000). Application of Environmental Chemistry. Lewis Publishers, London.

Windell, J.T.; Foltz, J.W. and Sarokon, J.A. (1978). Effect of fish size , temperature and amount fed on nutrient digestibility of a appellate diet by rainbow trout *salmo gairdneri*. Trans. Am. Fish Soc., 107 : 16-613.

Wodzinski, R. J. and Ullah, A. H. J. (1996). Phytase. In Advances in applied microbiology. Academic Press. Vol. 42, pp. 263-302.

Xin-zheng, N. ; Sha, C. ; Xiao-Xu, Z. ; Bin-yang, D. and Li-chun, Q. (2017). Effects of neutral phytase on growth performance and phosphorus utilization in Ccian Carp *Carassius auratus*. J Zhejiang Univ Sci B. 2017 Oct; 18(10): 886-896.

Yan, W.; Reigh, R. C. and Xu, Z. (2002). Effects of fungal phytase on utilization of dietary protein and minerals, and dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish *Ictalurus punctarus* fed an all-plant-protein diet. J. World Aqua. Soc. 33:10-22.

Yang, J. and Chen, H. (2003). Serum metabolic enzyme activities and hepatocyte ultra-structure of common carp after gallium exposure. Zool. Stud., 42(3): 455-461.

Yigzaw, Y.; Gorton, L.; Akalu G. and Solomon, T. (2001). Fermentation of teff *Eragrostis tef* grass pea *Lathyrus sativus*, and their mixtures: Aspects of nutrition and food safety. Lathyrus Lathyrism Newsletter 2: 8-10.

Yoo, G.; Wang, X.; Choi, S.; Han, K.; Kang, J. and Bai, S. C. (2005). Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish Sebastes schlegeli fed diets containing soybean meal. Aquaculture 243: 315–322.

Yousafzai, A. M. and Shakoori, A. R. (2011). Hepatic responses of a freshwater fish against aquatic pollution. Pakistan J. Zool., 43(2): 209-221.

Yu, B. and Chung, T. K. (2004). Effects of Multiple-Enzyme Mixtures on Growth Performance of Broilers Fed Corn-Soybean Meal Diets. J. of Appl. Poultry Res. 13: 178 – 182.

Zhao, F. J.; Moore, K. L.; Lombi, E. and Zhu, Y. G. (2014). Imaging element distribution and speciation in plant cells. Trends in Plant Science, 19(3), 183–192.

Zhu, M. J.; Wang, H. X. and Ng, T. B. (2011). Purification and identification of a phytase from fruity bodies of the winter mushroom, *Flammulina velutipes* . African Journal of Biotechnology. 10(77): 17845-17852.

Zhu, Y.; Qiu, X.; Ding, Q.; Duan, M. and Wang, C. (2014). Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus

utilization of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquaculture, 430: 1–8.

Abstract

The experiment was conducted in the Dakmaniyah district of Ur district, near the general downstream pumping station, southeast of Nasiriyah, at a location 12 km away from Dhi Qar governorate. For a period of 92 days from 08/24/2019 to 11/23/2019, including an acclimatization period of 8 days, to find out the effect of using the seeds of *Lathyrus sativus* L.treated with the enzyme microbial phytase in diets of *Cyprinus carpio* L. raised in floating cages. 120 fish were brought in a common carp with an average weight of 250± 3 g, and were randomly assigned to four treatments with three replications, each of 10 fish replicated. Four treatments were used in the experiment, the first group was control (T1) free of *Lathyrus sativus*, the second treatment (T2) containing untreated *Lathyrus sativus* seeds with 15% of the diet, the third treatment (T3) contains the *Lathyrus sativus* seeds of the commercial phytase enzyme treated with 15% of the diet. The fourth treatment (T4) contains the *Lathyrus sativus* seeds treated with the microbial phytase enzyme locally produced by 15% of the diet. The fish were fed experimental diets at a rate of 3% of weight, divided into two meals per day.

The results showed some environmental tests of the water of the Euphrates at the site of the experiment during the period of the experiment, as the water temperature ranged between 21 ° C-30 ° C, while the concentration of dissolved oxygen ranged 7.3-8.5 mg / liter, while the salinity of the water ranged 1.76-1.89 g / liter, the pH value ranged 7.9-8.2, while the water flow rate ranged 17-20 cm / s. The results of the statistical analysis showed significant differences between the parameters ($p \leq 0.05$) in the studied growth criteria, in the final weight, the fourth treatment (T4) outperformed the rest of the treatments, as it recorded the highest final weight rate of 489.3 g. The highest rate of weight gain was 239 g, the highest daily growth rate was 2.83 g per day, and the highest relative growth rate was 95.5%. While the highest specific growth ratio was recorded at 0.80% / day, and the fourth treatment (T4) also outperformed the rest of the treatments in the food conversion ratio standard, amounting to 2.97 gm feed / gm weight gain, and the highest rate of food conversion efficiency was 33.91%.While the fourth treatment recorded the highest protein efficacy ratio of 1.10 g / g protein gain. The fourth treatment outperformed the rest of the treatments in the criterion of the production value of protein, as it recorded the highest rate of 34.13. It also achieved the highest

rate in the factors of apparent digestion of diet and protein, recording 66.43% and 72.40%, respectively.

The results of the immune blood parameters also showed significant differences ($p \leq 0.05$) between the treatments, as the fourth (T4) and third (T3) treatments recorded the highest total protein (TP) rate, which was 3.9 and 3.7 mg / 100 ml, respectively. While the fourth treatment (T4) and the third (T3) recorded a significant decrease ($p > 0.05$) in the concentration rate of the enzyme linin transporter (Alanine amino transferase) (ALT), reaching 91.33 and 92.33 international units / liter, respectively. The fourth and third treatments also recorded a significant decrease ($p > 0.05$) in the average concentration of Aspartate amino Transferase (AST), reaching 8.67 and 9.33 IU / liter.

We conclude from this study that the use of 15% *Lathyrus sativus* seed powder locally produced microbial phytase in the diets of common carp enhanced growth parameters and some immune blood parameters.

Iraq Republic
Ministry of Higher Education and Scientific Research
Al-Muthanna University/ College of Agriculture
Animal Production Department

Use Lathyrus sativus L.seeds treated by phytase enzyme in the diets of common carp fish *Cyprinus carpio* L. reared in floating cages in the Euphrates River in Dhi Qar province

A Thesis Submitted

To the Council of the Agriculture College/ for Al-Muthanna University in Partial Fulfillment of the Requirements the Degree of Master in Agriculturist Science/Animal Production

BY

Hayder Fadhil Sagban

Supervised by

Prof.Dr. **Ali Hussein Salman**

H.R.Dr **Mohannad Habas Al-asha'ab**

2020 A.D **1442 H**