

Original Article



Effect of Different Protein-To-Energy Levels On Growth Performance, Blood Parameters and Liver Enzymes of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*)

Mostafa Khezri¹ , Mehran Javaheri Baboli^{1*} , Mojdeh Chelemaal Dezfulezhad¹ , Aboalfazl Askary Sary¹ , Negar Ghotbeddin¹ 

1. Department of Fisheries Sciences, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

Article history:

Received: 26 June 2026
Revised: 5 July 2026
Accepted: 16 August 2026
ePublished: 16 August 2026

*Corresponding author: Mehran Javaheri Baboli, Department of Fisheries, Ahv. C., Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

E-mail: Mehran.Javaheri.Baboli@iau.ac.ir
& Mehranjavaheeri@gmail.com

Abstract

This study aimed to investigate the effect of different levels of dietary protein to energy, along with different stocking densities, on growth performance, feed efficiency, apparent digestibility, blood biochemical indices, and liver enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Fish with an average initial weight of 8.4 g were fed six experimental diets for 70 days, including three levels of crude protein of 30, 35, and 40% and two levels of digestible energy of 2700 and 3400 kcal/kg, and were stocked at three densities of 10, 20, and 40 fish per tank. At the end of the experimental period, growth and feed efficiency indices including weight gain (WG), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), and survival rate (SR) were calculated. Also, apparent digestibility, protein and energy reserves, blood biochemical indices including total protein, glucose, urea, total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL) and liver enzyme activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) were measured. The results showed that the diet composition containing 35% protein and 3400 kcal energy at a density of 20 fish per tank, compared to other treatments, improved growth performance, increased feed efficiency, reduced FCR by 1.19 and increased apparent digestibility, protein and energy reserves. In contrast, increasing the dietary protein level to 40%, especially at a density of 40 fish per tank, did not improve growth performance and was associated with a decrease in feed utilization efficiency ($P < 0.05$). Blood biochemical indices and liver enzyme activities were also affected by diet composition and stocking density, indicating changes in the metabolic and physiological status of fish in response to different nutritional and rearing conditions. Overall, the results of this study indicate that a diet containing 35% protein and 3400 kcal of energy, at an average stocking density of 20 fish per tank, can be a suitable option for improving growth performance and physiological status of grass carp. However, a detailed evaluation of the economic aspect of using different levels of dietary protein requires an analysis of feed cost and production efficiency in complementary studies.

Keywords: Feed use efficiency, Growth performance, *Ctenopharyngodon idella*, Protein to energy ratio.

Please cite this article as follows: Khezri M., Javaheri Baboli M., Chelemaal Dezfulezhad M., Askary Sary A., Ghotbeddin N. Effect of Different Protein-To-Energy Levels On Growth Performance, Blood Parameters and Liver Enzymes of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). J Mar Bio, 2026; 18(2): 30–44. DOI:



Copyright © 2026 Journal of Marin Biology. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

مقاله اصلی

تأثیر سطوح مختلف پروتئین به انرژی بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و آنزیم‌های کبدی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)

مصطفی خضری^۱، مهران جواهری بابلی^{۱*}، مژده چله‌مال دزفول‌نژاد^۱، ابوالفضل عسکری ساری^۱، نگار قطب‌الدین^۱

۱. گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر سطوح مختلف پروتئین به انرژی جیره غذایی، همراه با تراکم‌های متفاوت ذخیره‌سازی، بر عملکرد رشد، بهره‌وری خوراک، قابلیت هضم ظاهری، شاخص‌های بیوشیمیایی خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) انجام شد. ماهیان با میانگین وزن اولیه ۸/۴ گرم به مدت ۷۰ روز با شش جیره آزمایشی شامل سه سطح پروتئین خام ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد و دو سطح انرژی قابل هضم ۲۷۰۰ و ۳۴۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم تغذیه شدند و در سه سطح تراکم ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ماهی در هر تانک ذخیره‌سازی شدند. در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های رشد و بهره‌وری خوراک شامل افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل خوراک (FCR)، نسبت کارایی پروتئین (PER) و میزان بقا (SR) محاسبه شد. همچنین قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و انرژی، شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل پروتئین کل، گلوکز، اوره، کلسترول تام (TC)، تری‌گلیسرید (TG)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)، لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) و فعالیت آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که ترکیب جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰۰ کیلوکالری انرژی در تراکم ۲۰ ماهی در هر تانک، در مقایسه با سایر تیمارها، موجب بهبود عملکرد رشد، افزایش بهره‌وری خوراک، کاهش FCR به میزان ۱/۱۹ و افزایش هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و انرژی شد. در مقابل، افزایش سطح پروتئین جیره تا ۴۰ درصد، به‌ویژه در تراکم بالای ۴۰ ماهی در هر تانک، به بهبود عملکرد رشد منجر نشد و با کاهش کارایی استفاده از خوراک همراه بود ($P < 0.05$). شاخص‌های بیوشیمیایی خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی نیز تحت تأثیر ترکیب جیره و تراکم ذخیره‌سازی قرار گرفتند که نشان‌دهنده تغییر وضعیت متابولیکی و فیزیولوژیک ماهیان در پاسخ به شرایط تغذیه‌ای و پرورشی مختلف است. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰۰ کیلوکالری انرژی، در تراکم متوسط ۲۰ ماهی در هر تانک، می‌تواند گزینه‌ای مناسب برای بهبود عملکرد رشد و وضعیت فیزیولوژیک کپور علفخوار باشد. با این حال، ارزیابی دقیق جنبه اقتصادی استفاده از سطوح مختلف پروتئین جیره، نیازمند تحلیل هزینه خوراک و بازده تولید در مطالعات تکمیلی است.

واژگان کلیدی: راندمان مصرف خوراک، عملکرد رشد، کپور علفخوار، نسبت پروتئین به انرژی.

تاریخچه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۵/۴/۵

تاریخ ویرایش مقاله: ۱۴۰۵/۴/۱۴

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۵/۲۵

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۵/۵/۲۵

تمامی حقوق برای دانشگاه آزاد اهواز محفوظ است.

* نویسنده مسئول: مهران جواهری بابلی، گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

ایمیل:

Mehran.Javaheri
Baboli@iau.ac.ir &
Mehranjavaheri@gmail.com

استناد: خضری، مصطفی؛ جواهری بابلی، مهران؛ چله‌مال دزفول‌نژاد، مژده؛ عسکری ساری، ابوالفضل؛ قطب‌الدین، نگار. تأثیر سطوح مختلف پروتئین به انرژی بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و آنزیم‌های کبدی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). مجله زیست‌شناسی دریا، تابستان ۱۴۰۵، ۱۸(۲): ۳۰-۴۴

مقدمه

توسعه سریع آبزی‌پروری ناشی از افزایش تقاضای جهانی برای محصولات شیلاتی بوده است. خوراک آبزیان ۵۰ تا ۷۰ درصد از هزینه‌های آبزی‌پروری را تشکیل می‌دهد که عمدتاً به دلیل درصد بالایی از پروتئین موردنیاز برای رشد بافت، نگهداری و تولید مثل است. تولید آبزی‌پروری با گذشت زمان، در پاسخ به تقاضای روزافزون منابع پروتئینی حاصل از آبزیان، با دشواری‌های بیشتری مواجه شده است. حدود ۱۷ درصد از پروتئین حیوانی مصرفی در سراسر جهان و ۷ درصد از کل پروتئین مصرفی انسان از ماهی تأمین می‌شود و انتظار می‌رود آبزیان و فرآورده‌های آنها در آینده، به‌ویژه برای جمعیت‌های ساکن زیر خط فقر، نقش مهمی ایفا کنند (Prakash et al., 2025). حفظ پایداری تولید در آبزی‌پروری، به‌دلیل وجود چالش‌های متعددی از جمله کارایی تغذیه، تغذیه بیش از حد، هدررفت خوراک، اتلاف موادمغذی و ضرورت حفظ شرایط عاری از بیماری برای تضمین سلامت آبزیان، امری دشوار و پیچیده است. دستیابی به این هدف مستلزم تأمین مقدار کافی خوراک در قالب یک جیره غذایی کاملاً متعادل است (Aas et al., 2022). نیازهای تغذیه‌ای ماهیان تحت تأثیر عواملی نظیر گونه، جنس، مرحله رشد و شرایط محیطیست ماهی تغییر می‌کند. یکی از جنبه‌های مهم خوراک، توانایی آن در تأمین نیازهای تغذیه‌ای و برخورداری از قابلیت هضم مناسب به‌منظور بهبود رشد ماهی است. مصرف خوراک همچنین به ویژگی‌های طعم آن نیز وابسته است، زیرا طعم خوراک می‌تواند ماهی را به مصرف آن ترغیب کند و در عین حال قابلیت هضم را حفظ نماید. افزون بر این، ترکیبات تشکیل‌دهنده خوراک بر ویژگی‌های حسی و کیفی ماهی اثر می‌گذارند و از این طریق می‌توانند انتظارات مصرف‌کننده را برآورده سازند (Liao et al., 2025).

جیره‌های پروتئینی ماهی، به‌دلیل برخورداری از اسیدهای آمینه ضروری، ترکیب مناسب اسیدهای آمینه و پیکربندی ساختاری پروتئین، از بهترین گزینه‌ها برای آماده‌سازی خوراک با هدف دستیابی به رشد و تولیدمثل بهینه و نیز پشتیبانی از سایر فرآیندهای فیزیولوژیکی ماهی محسوب می‌شوند. موادمغذی موجود در جیره که از طریق مدفوع دفع می‌شوند، در بخش‌های هضم‌نشده خوراک قرار می‌گیرند و در تغذیه واقعی ماهی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. از این‌رو، یکی از ویژگی‌های مهم جیره غذایی، فراهم کردن سطح بالایی از قابلیت هضم است. همچنین، ضریب قابلیت هضم انرژی باید هنگام طراحی خوراک‌های کامل مورد توجه قرار گیرد (Ciavoni et al., 2024). در پرورش ماهی، تغذیه معمولاً یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در نظر گرفته می‌شود، زیرا ارتباط مستقیمی با عملکرد رشد، سلامت ماهی و هزینه‌های کل تولید دارد. برای جلوگیری از کاهش رشد، بهبود رشد، افزایش هزینه‌های تغذیه و در نهایت کاهش سود ناخالص، لازم است نیازهای تغذیه‌ای گونه‌های مهم تجاری ماهی در مراحل مختلف رشد، با توجه به محصول نهایی پرورش، به‌طور دقیق تعیین شود (Zhang et al., 2024). پروتئین‌ها از جمله مواد مغذی ضروری هستند و به‌دلیل نقش مهم آن‌ها در حفظ بدن، رشد و وضعیت سلامت ماهی، بخش جدایی‌ناپذیری از خوراک ماهی به‌شمار می‌روند. معمولاً سطوح بهینه پروتئین در خوراک ماهی با هدف دستیابی به حداکثر عملکرد در گونه‌های مختلف تعیین می‌شود. بیشتر منابع موجود، میزان پروتئین خام را گزارش کرده‌اند و توجه کمتری به بهبود کیفیت پروتئین جیره‌ای شده است. از سوی دیگر، پروتئین از اسیدهای آمینه تشکیل شده است که حضور آن‌ها در نسبت‌های مناسب، به‌ویژه اسیدهای آمینه ضروری، برای سنتز بهینه پروتئین بدن موردنیاز است (Aas et al., 2022). مقادیر اضافی یا اشکال نامتعادل پروتئین در خوراک به‌عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد که ممکن است به تجمع بیش از حد چربی یا دفع زیاد نیتروژن در آب منجر شود. در نتیجه، رشد و سلامت ماهی، هزینه‌های کل تولید و در نهایت سود خالص، به‌طور نامطلوبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Liao et al., 2025). افزون بر این، تغذیه روزانه ماهی با پروتئین، بدون توجه به نحوه فروش محصول برداشت‌شده، می‌تواند موجب کاهش قابل توجه سود خالص شود. فرمولاسیون و ترکیب خوراک بر وضعیت روده و هضم موادمغذی اثر می‌گذارد؛ عواملی که برای کارایی خوراک و رشد جانور حیاتی هستند (Ruiz et al., 2026).

مطالعه Routroy و همکاران (۲۰۲۵) اثرات سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی را بر عملکرد رشد و ترکیب کل بدن بچه‌ماهیان *Anabas testudineus* بررسی کرد. در این مطالعه، ماهیان به مدت ۶۰ روز با ۹ جیره غذایی نیمه‌خالص شامل سه سطح پروتئین ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درصد و سه سطح چربی ۶، ۸ و ۱۰ درصد تغذیه شدند. اگرچه میزان بقا تحت تأثیر تیمارهای غذایی قرار نگرفت، ماهیانی که با جیره غذایی حاوی

۴۰ درصد پروتئین و ۸ درصد چربی تغذیه شدند، در مقایسه با سایر گروه‌ها، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین و ارزش پروتئین تولیدی به‌طور معنی‌داری بالاتر و نسبت تبدیل غذایی کمتری نشان دادند. در مطالعه‌ای دیگر، یک دوره تغذیه‌ای ۵۶ روزه به‌منظور بررسی اثرات نسبت پروتئین به انرژی جیره غذایی (P/E) بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و وضعیت سلامت کپور علفخوار انجام شد (Liao et al., 2025). پس از پایان آزمایش تغذیه، بهترین عملکرد رشد در گروه دارای P/E برابر با ۲/۲۹ مشاهده شد که بالاترین میزان افزایش وزن را نشان داد. علاوه بر این، ماهیانی که با جیره غذایی دارای P/E بهینه تغذیه شده بودند، بر اساس بررسی‌های بافت‌شناسی و تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی سرم و کبد، وضعیت سلامت مطلوب‌تری داشتند. همچنین، تأثیر سطوح پروتئین و چربی جیره غذایی بر رشد، مصرف خوراک و ترکیب ماهیچه در ماهی *Siniperca scherzeri* بررسی شد (Sankian et al., 2017). افزایش سطح چربی جیره از ۷ به ۱۴ درصد، اثر معنی‌داری بر میزان رشد نداشت. در حالی که سطوح پروتئین و چربی جیره‌ها اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک نشان ندادند، سایر شاخص‌های کارایی استفاده از مواد مغذی، از جمله مصرف روزانه پروتئین، کارایی خوراک و نسبت کارایی پروتئین، روندی مشابه با میزان رشد داشتند و بیشترین مقادیر آن‌ها در جیره‌های حاوی ۵۵ درصد پروتئین به دست آمد. اثرات سطوح مختلف پروتئین و چربی جیره غذایی بر عملکرد رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهیان جوان کپور کاراس (Carassius carassius) توسط He و همکاران (۲۰۲۴) مطالعه گردید. نتایج نشان داد که کپور معمولی تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۴ درصد چربی و ۳۰ درصد پروتئین، رشد و مصرف بهینه خوراک را نشان داد و استفاده بیش از حد پروتئین و چربی در جیره برای رشد مضر بود و منجر به تشدید اختلالات متابولیکی گردید. اثرات سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بچه‌ماهیان (*Cyprinus carpio haematopterus*) مورد ارزیابی قرار گرفت (Jiang et al., 2025). نتایج نشان داد که میزان بهینه پروتئین غذایی برای کپورهای جوان با وزن ۵۱/۵۶ گرم به میزان ۳۳/۹۹-۳۵/۲۶ درصد است.

هدف از مطالعه حاضر، (۱)، ارزیابی اثرات P/E جیره غذایی بر عملکرد رشد و بقا در کپور علفخوار و (۲)، تجزیه و تحلیل پارامترهای بیوشیمیایی کبد و سرم خون به‌منظور ارزیابی اثرات P/E جیره غذایی بر وضعیت سلامت ماهی کپور علفخوار بود. انتظار می‌رود یافته‌های این مطالعه، بینش‌های جدیدی درباره الزامات P/E در جیره غذایی کپور علفخوار ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

در این مطالعه، جیره‌های آزمایشی در سه سطح پروتئین شامل ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد، دو سطح انرژی قابل هضم شامل ۲۷۰۰ و ۳۴۰۰ و سه سطح تراکم شامل ۱۰، ۲۰ و ۴۰ قطعه کپور علفخوار در هر تانک، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و به‌مدت ۷۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۱ میزان و ترکیب مواد تشکیل‌دهنده هر جیره آزمایشی را نشان می‌دهد.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی جیره غذایی ماهیان کپور علفخوار در گروه‌های آزمایشی مطالعه

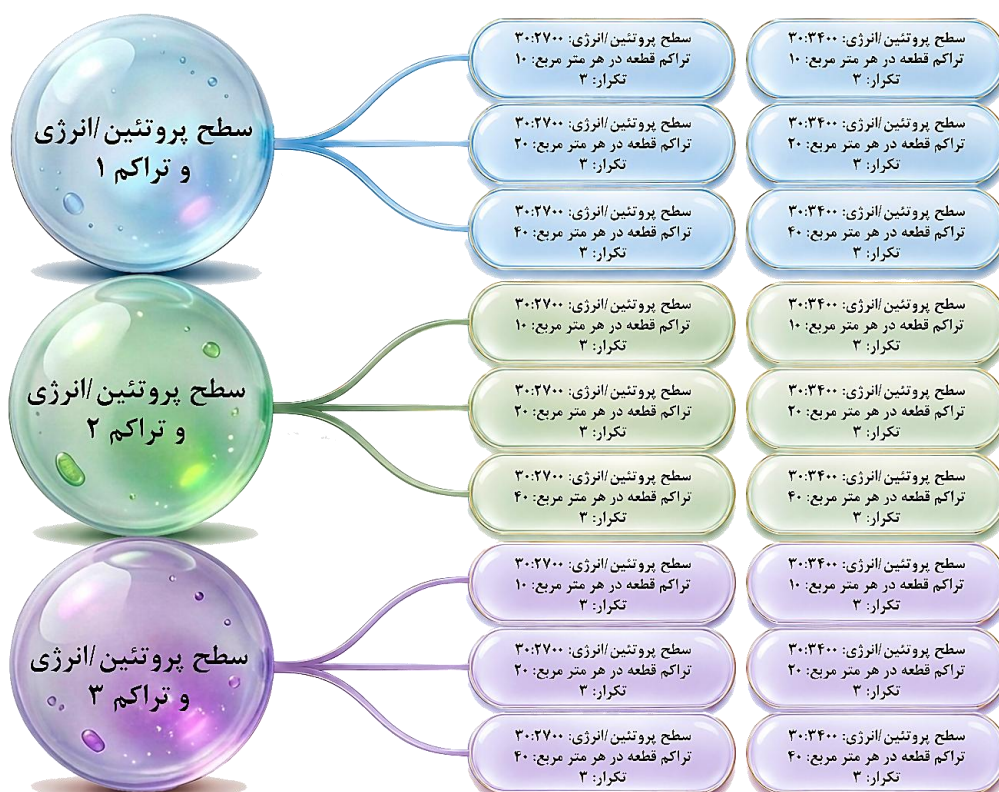
ترکیبات جیره	نسبت پروتئین به انرژی					
	۳۰/۲۷۰۰	۳۵/۲۷۰۰	۴۰/۲۷۰۰	۳۰/۳۴۰۰	۳۵/۳۴۰۰	۴۰/۳۴۰۰
گلوتن گندم	۱۵/۱	۲۰	۲۳/۶	۱۵/۷	۲۰/۰۷	۲۴/۴
آرد ماهی	۱۰/۹۳	۱۳	۱۴	۱۱	۱۲	۱۳
آرد گوشت	۷	۸	۸/۸	۷	۸	۸/۶
آرد سویا	۲۰	۲۱	۲۵/۲	۲۰	۲۱/۸	۲۶
آرد گندم	۱۵	۱۰	۴/۷	۲۶/۳	۱۸/۵	۱۰
سبوس برنج	۱۰/۰۷	۶	۳	۲	۲	۱/۸
روغن سویا	۷	۶	۵	۱۴	۱۳	۱۲/۲
پرکن	۱۰/۹	۱۲	۱۱	۰	۰	۰
بایندر	۲	۲	۲	۲	۲	۲

نسبت پروتئین به انرژی						ترکیبات جیره
۱	۱	۱	۱	۱	۱	پرمیکس ویتامین
۱	۱	۱	۱	۱	۱	پرمیکس مواد معدنی
۱۰۰	۱۰۰	۹۹/۳	۱۰۰	۹۹/۳۷	۱۰۰	کل
ترکیبات شیمیایی						پروتئین
۳۰/۰۶	۳۵/۰۵	۴۰	۳۰/۰۲	۳۵/۰۳	۴۰/۱	چربی
۱۰/۰۷	۹/۱۶	۸/۲	۱۶/۷۴	۱۵/۹۷	۱۵/۳۳	انرژی
۳۷۰۸/۰۹	۳۷۰۵/۶	۳۷۱۰/۳	۳۴۲۷/۹	۳۴۱۷/۱	۳۴۰۵/۹	NFE
۲۵/۹۶	۲۱/۷۹۲	۱۸/۲۱	۳۲/۱۸	۲۷/۵۶	۲۲/۷۵	نسبت پروتئین به انرژی
۰/۰۱۱۰۹۷	۰/۰۱۲۹۵۴	۰/۰۱۴۷۵۹	۰/۰۰۸۷۵۸	۰/۰۱۰۲۵۱	۰/۰۱۱۷۷۴	

جیره‌ها با استفاده از نرم‌افزار UFFDA و بر اساس نیازمندی‌های تغذیه‌ای ماهی فرموله شدند. جیره غذایی با نسبت پروتئین به انرژی (P/E) بالا به گونه‌ای فرموله شد که دارای نسبت معادل ۲۸۰۰ تا ۳۶۰۰ کالری باشد؛ دامنه‌ای که در محدوده پایین و حداکثر توصیه‌شده برای کپور علفخوار قرار دارد (Ding, 2017). نسبت P/E در این جیره غذایی، از نظر محتوای مواد مغذی، با جیره‌های تجاری رایج و مطابق با توصیه‌های NRC قابل مقایسه بود (NRC, 2011). جیره غذایی با نسبت P/E پایین نیز به گونه‌ای فرموله شد که بخشی از مواد پروتئینی شامل آرد سویا و آرد ماهی با مواد کربوهیدراتی شامل آرد گندم و سبوس برنج جایگزین شود. در نتیجه، جیره‌های غذایی با نسبت‌های P/E بالا و پایین، به ترتیب حاوی ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درصد پروتئین بر اساس ماده خشک بودند و کالری یکسانی داشتند. استفاده از سبوس برنج و سبوس گندم موجب افزایش محتوای پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای در جیره غذایی با نسبت P/E پایین، در مقایسه با جیره غذایی با نسبت P/E بالا شد. هر سه جیره از نظر محتوای انرژی یکسان بودند و این موضوع از طریق تجزیه و تحلیل شیمیایی خوراک نیز تأیید گردید.

شرایط آزمایش

تعداد ۶۵۰ قطعه کپور علفخوار با میانگین وزن 8.4 ± 0.2 گرم از مزرعه پرورش ماهیان گرمابی در استان خوزستان- اهواز، خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی اهواز (در کیسه‌های حاوی اکسیژن) منتقل شدند. سپس ماهیان به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه سازگار شدند. پس از دوره سازگاری، ماهیان در تانک‌های ۵۰۰۰ لیتری و به صورت تصادفی، بر اساس طرح آزمایش، توزیع شدند (شکل ۱). در مجموع، ۶۳۰ قطعه ماهی شامل ۹۰ قطعه در سطح P/E و تراکم ۱۰، ۱۸۰ قطعه در سطح P/E و تراکم ۲۰ و ۳۶۰ قطعه در سطح P/E و تراکم ۴۰، به طور تصادفی تقسیم شدند (شکل ۲). آزمایش تغذیه به مدت ۱۰ هفته ادامه یافت. در طول دوره تغذیه، ماهیان روزانه سه بار (در ساعات ۰۸:۳۰، ۱۲:۳۰ و ۱۶:۳۰) به میزان ۴ درصد وزن بدن تا حد سیری تغذیه شدند و مقدار غذای مصرفی ثبت گردید. شرایط محیطی آب به این شرح بود: دمای آب با استفاده از دماسنج، $26 \pm 2/3$ درجه سانتی‌گراد؛ غلظت اکسیژن محلول با استفاده از دستگاه DO متر دیجیتال (کمتر از ۶ میلی‌گرم در لیتر) و مقدار pH با استفاده از pH متر، $8 \pm 0/3$ اندازه‌گیری شد. پارامترهای کیفی آب به صورت روزانه پایش شدند تا از ثبات شرایط محیطی آب اطمینان حاصل شود. این آزمایش مطابق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات در تحقیقات علمی و بر اساس UNIOESTE (با پروتکل شماره ۰۵/۱۴) انجام شد.



شکل ۱. تیمارهای مطالعه حاضر



شکل ۲. ماهیان و تانک‌های تیمارهای آزمایشی مطالعه حاضر (مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان)

سنجش پارامترهای رشد

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و بقا طی ۷۰ روز دوره آزمایش انجام شد. معادلات مورد استفاده برای محاسبه عملکرد رشد و مصرف خوراک در

جدول ۲ ارائه شده است (Niazi et al., 2023).

جدول ۲. فرمول‌های مربوط به تجزیه و تحلیل عملکرد رشد، مصرف خوراک و بقا در ماهیان مورد آزمایش

پارامتر	اختصار	فرمول
افزایش وزن	WG	وزن نهایی بدن (گرم) - وزن اولیه بدن (گرم)
افزایش طول	LG	افزایش طول (میلی‌متر) / طول اولیه (میلی‌متر)
نرخ رشد ویژه	SGR	$100 \times \ln(\text{وزن نهایی}) - \ln(\text{وزن اولیه}) / \text{تعداد روز}$
شاخص وضعیت	CF	وزن نهایی بدن / طول نهایی $\times 100^3$
مصرف خوراک	FI	مقدار خوراک خشک مصرف شده (گرم) / تعداد ماهی
ضریب تبدیل خوراک	FCR	مقدار خوراک خشک مصرف شده (گرم) / افزایش وزن (گرم)
نسبت کارایی پروتئین	PER	افزایش وزن بدن (گرم) / پروتئین مصرف شده (گرم)
شاخص هیپاتوسوماتیک	HSI	وزن کبد (گرم) / وزن بدن (گرم) $\times 100$
درصد چربی احشایی (صفاقی)	IPFRs	چربی داخل صفاقی (گرم) / وزن بدن (گرم) $\times 100$
نرخ بقا	SUR	تعداد نهایی ماهی / تعداد اولیه ماهی $\times 100$

قابلیت هضم ظاهری غذا

برای تعیین قابلیت هضم ظاهری، از اکسیدکروم به عنوان نشانگر استفاده شد. به این منظور، ۰/۵ درصد اکسیدکروم به جیره‌ها اضافه شد و ماهیان در دو هفته پایانی آزمایش با جیره‌های حاوی اکسیدکروم تغذیه شدند. یک ساعت پس از آخرین وعده غذایی روزانه، خوراک مصرف‌نشده و بقایای خوراک به صورت دستی جمع‌آوری شد. همچنین، مدفوع ماهیان حدود یک ساعت پس از غذاهای، در قسمت ته‌نشینی موجود در هر مخزن جمع‌آوری گردید. نمونه‌های مدفوع در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند و تا زمان تجزیه و تحلیل از نظر پروتئین خام، سایر مواد مغذی و اکسید کروم، با روش انجماد خشک نگهداری شدند (Tibbetts et al., 2006). میزان اکسیدکروم در جیره‌های آزمایشی و نمونه‌های مدفوع، با استفاده از اسپکتروفتومتری جذب اتمی شعله‌ای و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی AAAnalyst 300 (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) تعیین شد. همچنین، برای آماده‌سازی نمونه‌ها از سیستم پلتفرم آماده‌سازی نمونه Multiwave (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA) و روش هضم اسیدی مایکروویو، مطابق با مطالعات پیشین، استفاده شد (Tibbetts et al., 2006). بدین منظور، ابتدا محلول هضم شامل ۲۰۰ میلی‌لیتر اسیدپرکلریک، ۱۵۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک، ۱۰ گرم مولیبدات سدیم و ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. سپس ۱۵ میلی‌لیتر از این محلول به نمونه‌ها اضافه شد و نمونه‌ها در مایکروویو با دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۴۰ نانومتر خوانده شد. سپس، برای محاسبه درصد هضم‌پذیری غذا، از معادله زیر استفاده گردید (Liu et al., 2018):

$$100 \times \left[\frac{\text{درصد کروم در غذا}}{\text{درصد کروم در مدفوع}} \times (\text{درصد مواد مغذی در مدفوع} / \text{درصد مواد مغذی در غذا}) - 1 \right] = \text{درصد هضم‌پذیری غذا}$$

ذخیره پروتئین و انرژی نیز با محاسبه تفاوت بین ترکیب ماکرونوترینت‌های اولیه و نهایی کل بدن، بر اساس فرمول مربوطه، محاسبه شد

(Phan et al., 2021).

نمونه‌گیری خون و اندازه‌گیری فاکتورهای خونی

تعداد ۳ ماهی از هر تیمار (کاملاً تصادفی)، با استفاده از پودر میخک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند و خون‌گیری از ساقه دمی آن‌ها با استفاده از سرنگ یک میلی‌لیتری انجام گردید (شکل ۳). سپس، نمونه‌های خون در لوله‌های فاقد هپارین ریخته شدند و به مدت دو ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا انعقاد انجام شود. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند تا سرم استخراج شود. برای انجام تجزیه و تحلیل‌های بعدی، نمونه‌های سرم در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.



شکل ۳. خونگیری از بچه‌ماهیان کپور علفخوار و آماده‌سازی نمونه‌های خون

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی خون

برای اندازه‌گیری پارامترهای کلسترول تام (CHO)، تری‌گلیسرید (TG)، گلوکز (GLU)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL)، لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) و اوره (Ur) از روش الایزا و کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون، کرج، ایران، مطابق با پروتکل‌های شرکت سازنده استفاده شد. سنجش مقدار پروتئین کل پلاسما (TP) بر اساس روش بردفورد انجام شد (Bradford et al., 1976).

اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی

برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی سرم ماهیان شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP)، از کیت اختصاصی هر آنزیم، تولید شرکت پارس آزمون، کرج، ایران، بر اساس روش ارائه‌شده IFCC3 و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر استفاده شد. اساس این روش اندازه‌گیری، نورسنجی در طول موج ۳۴۰ نانومتر است. میزان فعالیت ترانس آمینازها متناسب با محاسبه میزان مصرف NADH و تبدیل آن به NAD تعیین شد (Mirghaedi et al., 2017).

آنالیز آماری

نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد و همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه پارامترها در تیمارهای مختلف، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)، آنالیز واریانس چنددامنه و سپس توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و نتایج به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید. تمامی آنالیزها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۷ و Excel نسخه ۲۰۲۲ انجام شد.

نتایج

نتایج مربوط به پارامترهای رشد، کارایی خوراک و بقا در جدول ۳ ارائه شده است. مقایسه نتایج افزایش وزن در تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین افزایش وزن در گروه تغذیه‌شده با جیره دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه ماهی در هر تانک مشاهده شد ($11/0 \pm 65/31$). پس از آن، بیشترین افزایش وزن مربوط به گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۰:۲۷۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه بود ($9/41 \pm 56/56$). کمترین افزایش وزن نیز به‌ترتیب در گروه‌های دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه ($4/15 \pm 50/11$) و نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۳۴۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه ($5/02 \pm 18/18$) مشاهده گردید. در سطح پروتئین به انرژی و تراکم ۱۰ قطعه، تغییر معنی‌داری در افزایش طول ماهیان مشاهده نشد ($P > 0/05$). با این حال، بیشترین افزایش طول در سطح پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه به دست آمد ($2/0 \pm 85/09$), در حالی که کمترین افزایش طول مربوط به سطح پروتئین به انرژی ۴۰:۳۴۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه بود ($0/25 \pm 0/06$). بیشترین میزان رشد ویژه نیز در ماهیان تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه مشاهده شد ($2/0 \pm 15/03$), در حالی که کمترین میزان رشد ویژه در سطح پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه به دست آمد ($13/05 \pm 0/72$). تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی

۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه، بالاترین شاخص وضعیت را در میان گروه‌های آزمایشی نشان داد ($P < 0.05$; $16/71 \pm 0.12$). همچنین، کمترین شاخص وضعیت مربوط به تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه بود ($10/10 \pm 0.13$). مصرف خوراک نیز در تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه بیشترین مقدار را داشت ($30/05 \pm 0.13$)، در حالی که کمترین مقدار مصرف خوراک در تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه مشاهده شد ($22/10 \pm 0.12$; $P < 0.05$). کمترین ضریب تبدیل خوراک در تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه مشاهده شد ($10/3 \pm 0.19$)، در حالی که بیشترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۲۷۰۰ و تراکم ۴۰ قطعه بود ($10/0 \pm 0.168$). نسبت کارایی پروتئین نیز در گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه بیشترین مقدار را نشان داد ($3/96 \pm 0.01$).

جدول ۳. پارامترهای رشد و بقا در گروه‌های آزمایشی مورد مطالعه (میانگین $ER+$). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده

وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0.05$)

پارامترهای رشد و بقا										
نسبت	ترا	افزایش	افزایش	نرخ رشد	مصرف	ضریب	نسبت	هیاتوسوما	چربی	نرخ بقا
پروتئین	کم	وزن	طول	ویژه	خوراک	تبدیل	کارایی	تیک	احشایی	(%)
به		(گرم)	(سانتی-متر)	(درصد/روز)	(گرم/تعداد)	خوراک	پروتئین	(%)	(%)	
انرژی				(ز)	()					
۲۷۰۰	۱۰	$7/35 \pm 0.71$	$1/15 \pm 0.14$	$16/20 \pm 0.3$	$13/34 \pm 0.25$	$25/11 \pm 0.10$	$1/45 \pm 0.3$	$2/25 \pm 0.1$	$3/10 \pm 0.1$	$99/45 \pm 0.11$
۳۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a
۳۴۰۰	۱۰	$7/25 \pm 0.21$	$1/15 \pm 0.31$	$16/14 \pm 0.8$	$13/21 \pm 0.42$	$25/17 \pm 0.20$	$1/45 \pm 0.1$	$2/25 \pm 0.3$	$3/12 \pm 0.3$	$98/25 \pm 0.21$
۳۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a
۲۷۰۰	۲۰	$9/41 \pm 0.56$	$1/10 \pm 0.3$	$18/25 \pm 0.6$	$15/11 \pm 0.22$	$28/22 \pm 0.31$	$1/26 \pm 0.2$	$3/11 \pm 0.6$	$3/15 \pm 0.2$	$99/41 \pm 0.21$
۳۰		.b	.b	.b	.b	.b	.d	a	a	.a
۳۴۰۰	۲۰	$7/20 \pm 0.35$	$1/17 \pm 0.5$	$16/12 \pm 0.5$	$13/20 \pm 0.35$	$25/13 \pm 0.13$	$1/40 \pm 0.5$	$2/20 \pm 0.2$	$3/12 \pm 0.5$	$98/10 \pm 0.35$
۳۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a
۲۷۰۰	۴۰	$6/65 \pm 0.10$	$1/16 \pm 0.11$	$15/31 \pm 0.3$	$12/42 \pm 0.15$	$24/41 \pm 0.32$	$1/52 \pm 0.3$	$2/23 \pm 0.3$	$3/15 \pm 0.3$	$99/65 \pm 0.10$
۳۰		.cd	.b	.d	.c	.cd	.bc	a	.a	.a
۳۴۰۰	۴۰	$6/35 \pm 0.14$	$1/31 \pm 0.13$	$16/05 \pm 0.8$	$12/61 \pm 0.14$	$24/03 \pm 0.13$	$1/50 \pm 0.2$	$2/35 \pm 0.1$	$3/14 \pm 0.4$	$98/23 \pm 0.24$
۳۰		.d	.b	.c	.c	.d	.bc	a	.a	.a
۲۷۰۰	۱۰	$7/41 \pm 0.71$	$1/21 \pm 0.51$	$16/22 \pm 0.5$	$13/28 \pm 0.34$	$25/34 \pm 0.66$	$1/41 \pm 0.4$	$2/27 \pm 0.3$	$3/16 \pm 0.4$	$98/41 \pm 0.55$
۳۵		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a
۳۴۰۰	۱۰	$9/45 \pm 0.52$	$1/18 \pm 0.8$	$18/52 \pm 0.7$	$15/15 \pm 0.35$	$28/40 \pm 0.66$	$1/25 \pm 0.1$	$3/15 \pm 0.2$	$3/11 \pm 0.2$	$99/43 \pm 0.51$
۳۵		.b	.b	.b	.b	.b	.b	a	.b	.a
۲۷۰۰	۲۰	$7/32 \pm 0.25$	$1/31 \pm 0.6$	$16/13 \pm 0.8$	$13/22 \pm 0.13$	$25/30 \pm 0.19$	$1/45 \pm 0.5$	$2/26 \pm 0.5$	$3/14 \pm 0.5$	$98/39 \pm 0.45$
۳۵		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.c	.a
۳۴۰۰	۲۰	$11/65 \pm 0.31$	$2/85 \pm 0.9$	$20/01 \pm 0.3$	$16/71 \pm 0.12$	$30/05 \pm 0.13$	$1/19 \pm 0.3$	$3/96 \pm 0.1$	$3/15 \pm 0.1$	$99/65 \pm 0.48$
۳۵		.a	.a	.a	.a	.a	.e	a	.a	.a
۲۷۰۰	۴۰	$6/15 \pm 0.39$	$0/77 \pm 0.8$	$15/82 \pm 0.9$	$15/13 \pm 0.21$	$24/19 \pm 0.39$	$1/45 \pm 0.3$	$2/25 \pm 0.5$	$3/13 \pm 0.5$	$99/15 \pm 0.9$
۳۵		.d	.c	.d	.b	.d	.bc	a	.a	.a
۳۴۰۰	۴۰	$6/22 \pm 0.13$	$0/75 \pm 0.11$	$15/78 \pm 0.8$	$12/20 \pm 0.11$	$24/20 \pm 0.14$	$1/43 \pm 0.4$	$2/22 \pm 0.3$	$3/11 \pm 0.3$	$98/18 \pm 0.17$
۳۵		.d	.c	d	.d	.d	.bc	a	.a	.a
۲۷۰۰	۱۰	$7/45 \pm 0.70$	$1/25 \pm 0.6$	$16/11 \pm 0.5$	$13/28 \pm 0.23$	$25/15 \pm 0.32$	$1/31 \pm 0.2$	$2/25 \pm 0.0$	$3/15 \pm 0.5$	$98/47 \pm 0.30$
۴۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a
۳۴۰۰	۱۰	$7/33 \pm 0.28$	$1/31 \pm 0.6$	$16/21 \pm 0.8$	$13/42 \pm 0.26$	$25/28 \pm 0.29$	$1/33 \pm 0.2$	$2/23 \pm 0.3$	$3/13 \pm 0.4$	$98/33 \pm 0.11$
۴۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	$1/20 \pm 0.3^a$	.a	.a
۲۷۰۰	۲۰	$7/67 \pm 0.21$	$1/28 \pm 0.10$	$16/31 \pm 0.6$	$13/71 \pm 0.33$	$25/34 \pm 0.29$	$1/30 \pm 0.3$	$2/28 \pm 0.1$	$3/16 \pm 0.1$	$98/68 \pm 0.31$
۴۰		.c	.b	.c	.c	.c	.c	a	.a	.a

۳۴۰۰	۲۰	۶/۳۵±۷۱	۱/۳۶±۰۹	۱۵/۶۵±۰۳	۱۵/۳۱±۱۹	۲۴/۲۵±۴۳	۱/۴۵±۰۱	۲/۱۱±۰۱	۱/۱۷±۰/۰۱	۳/۱۵±۰۱	۹۸/۳۸±۷۰
۴۰		. d	. / b	. / d	. / b	. cd	. b	. / c	a	. / a	. / a
۲۷۰۰	۴۰	۴/۱۵±۱۱	۴/۴۵±۰۳	۱۳/۷۲±۰۱	۱۰/۱۰±۱۳	۲۲/۱۰±۱۲	۱/۶۸±۰/۰۱	۱/۷۵±۰۱	۱/۱۵±۰/۰۱	۳/۱۷±۰۵	۹۰/۱۱±۱۵
۴۰		. f	. d	. / f	. / f	. f	. a	. / e	a	. / a	. / b
۳۴۰۰	۴۰	۵/۰۲±۱۸	۰/۲۵±۰۶	۱۴/۲۵±۰۷	۱۲/۳۲±۱۷	۲۳/۰۱±۱۳	۱/۵۹±۰/۰۳	۱/۹۸±۰۱	۱/۲۳±۰/۰۸	۳/۱۹±۰۸	۹۰/۳۱±۱۹
۴۰		. e	. / e	e	. / e	. e	. b	. / d	a	. / a	. / b

قابلیت هضم ظاهری غذا و محاسبه ذخیره پروتئین و انرژی

نتایج مربوط به قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و ذخیره انرژی در **جدول ۴** نشان داده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش تراکم به ۴۰ قطعه در تیمارهای دارای سطوح مختلف پروتئین به انرژی، کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و ذخیره انرژی مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین میزان قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و ذخیره انرژی در تیمار دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه مشاهده شد. در مقابل، کمترین میزان قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین و ذخیره انرژی در تیمارهای دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۳۴۰۰ و ۴۰:۲۷۰۰ در تراکم ۲۰ قطعه مشاهده گردید.

جدول ۴. قابلیت هضم ظاهری، ذخیره پروتئین، ذخیره انرژی در تیمارهای آزمایشی مورد مطالعه. حروف متفاوت در هر ستون

نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$)

ذخیره انرژی (درصد)	ذخیره پروتئین (درصد)	قابلیت هضم ظاهری (درصد)	تراکم	نسبت پروتئین به انرژی
۸۳/۱۱±۰/۱۱ ^b	۷۴/۱۳±۰/۱۴ ^b	۸۷/۲۵±۰/۳۱ ^b	۱۰	۳۰/۲۷۰۰
۸۳/۱۵±۰/۱۸ ^b	۷۵/۱۲±۰/۱۸ ^b	۸۷/۳۱±۰/۲۰ ^b	۱۰	۳۰/۳۴۰۰
۸۳/۲۳±۰/۱۳ ^b	۷۳/۹۱±۰/۲۰ ^b	۸۷/۱۹±۰/۲۵ ^b	۲۰	۳۰/۲۷۰۰
۸۳/۱۷±۰/۱۵ ^b	۷۵/۱۱±۰/۱۳ ^b	۸۷/۳۱±۰/۲۵ ^b	۲۰	۳۰/۳۴۰۰
۸۱/۱۲±۰/۱۰ ^c	۷۲/۱۶±۰/۱۹ ^c	۸۵/۱۱±۰/۱۵ ^c	۴۰	۳۰/۲۷۰۰
۸۱/۱۱±۰/۱۳ ^c	۷۲/۳۱±۰/۱۱ ^c	۸۵/۱۵±۰/۲۱ ^c	۴۰	۳۰/۳۴۰۰
۸۳/۲۱±۰/۱۱ ^b	۷۵/۲۱±۰/۶۶ ^b	۸۷/۴۰±۰/۳۱ ^b	۱۰	۳۵/۲۷۰۰
۸۳/۱۷±۰/۰۸ ^b	۷۵/۱۷±۰/۱۲ ^b	۸۷/۳۹±۰/۱۲ ^b	۱۰	۳۵/۳۴۰۰
۸۳/۲۲±۰/۰۶ ^b	۷۵/۳۳±۰/۱۵ ^b	۸۷/۳۲±۰/۱۰ ^b	۲۰	۳۵/۲۷۰۰
۸۶/۱۵±۰/۱۴ ^a	۷۹/۶۵±۰/۰۹ ^a	۹۰/۱۵±۰/۱۱ ^a	۲۰	۳۵/۳۴۰۰
۸۱/۱۷±۰/۰۸ ^c	۷۲/۲۱±۰/۰۵ ^c	۸۵/۱۶±۰/۱۹ ^c	۴۰	۳۵/۲۷۰۰
۸۱/۱۵±۰/۱۱ ^c	۷۲/۲۵±۰/۱۱ ^c	۸۵/۱۲±۰/۱۰ ^c	۴۰	۳۵/۳۴۰۰
۸۳/۱۵±۰/۱۴ ^b	۷۴/۸۵±۰/۱۶ ^b	۸۷/۴۵±۰/۳۲ ^b	۱۰	۴۰/۲۷۰۰
۸۳/۱۱±۰/۱۶ ^b	۷۵/۳۱±۰/۲۳ ^b	۸۷/۳۱±۰/۲۳ ^b	۱۰	۴۰/۳۴۰۰
۸۳/۲۸±۰/۱۹ ^b	۷۵/۲۵±۰/۱۰ ^b	۸۷/۱۹±۰/۲۱ ^b	۲۰	۴۰/۲۷۰۰
۸۳/۱۶±۰/۰۹ ^b	۷۵/۳۲±۰/۰۹ ^b	۸۷/۲۹±۰/۰۹ ^b	۲۰	۴۰/۳۴۰۰
۷۹/۲۵±۰/۱۷ ^d	۷۰/۱۱±۰/۰۶ ^d	۸۰/۱۰±۰/۱۰ ^d	۴۰	۴۰/۲۷۰۰
۷۹/۱۵±۰/۱۱ ^e	۷۰/۰۵±۰/۱۱ ^e	۸۰/۰۲±۰/۱۹ ^d	۴۰	۴۰/۳۴۰۰

پارامترهای بیوشیمیایی خون

تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی خون در **جدول ۴** نشان داده شده است. بیشترین میزان پروتئین کل در گروه‌های دارای نسبت پروتئین به انرژی ۲۷۰۰ با تراکم ۲۰ قطعه ($2/85 \pm 0/07$) و ۳۵:۳۴۰۰ با تراکم ۲۰ قطعه ($2/84 \pm 0/11$) مشاهده شد. کمترین میزان پروتئین کل نیز در گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۰:۲۷۰۰ و تراکم ۱۰ قطعه به دست آمد ($1/93 \pm 0/10$). حداکثر میزان گلوکز خون در گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۲۷۰۰ و تراکم ۲۰ قطعه مشاهده گردید ($86/1 \pm 1/6$). بیشترین میزان اوره خون مربوط به گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۴۰:۳۴۰۰ و تراکم

۱۰ قطعه بود (۷/۲۳±۰/۱)، در حالی که کمترین میزان اوره خون در گروه دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۲۷۰۰ و تراکم ۱۰ قطعه ماهی مشاهده شد (۲/۲۷±۰/۱۹).

جدول ۵. پارامترهای بیوشیمیایی خون در تیمارهای آزمایشی. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$)

پارامترهای بیوشیمیایی خون											
نسبت پروتئین ن به انرژی	تراکم کم	پروتئین کل (g/dl)	گلوکز (mg/dl)	اوره (mg/dl)	کلسترول ل تام (mg/dl)	تری گلیسرید (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	ALT (U/l)	AST (U/l)	ALP (U/l)
۲۷۰۰/۳۰	۱۰	۱/۹۳±۰/۱۰ ^d	۵۱/۱±۱ ^d	۴/۳۸±۰/۴ ^d	۲۱۵±۴ ^c	۲۳۵±۴ ^b	۶۸/۷±۳ ^a	۸۱±۲/۳ ^a	۳۰/۲۷±۰/۶ ^a	۴۶/۴±۲/۴ ^e	۲۳۰±۱/۸ ^c
۳۴۰۰/۳۰	۱۰	۲/۱۳±۰/۱۱ ^{cd}	۵۱/۷۳±۱/۱ ^d	۶/۰۰±۰/۱ ^b	۲۱۵±۲ ^c	۲۱۵±۱ ^c	۶۴/۲±۰/۷ ^b	۷۴/۸±۱ ^c	۱۵/۶±۱/۵ ^e	۴۴/۲±۱/۷ ^f	۱۸۵/۳±۱/۱ ^{۳c}
۲۷۰۰/۳۰	۲۰	۲/۳۵±۰/۱۶ ^b	۶۲/۶±۱/۲ ^c	۵/۵۳±۰/۲ ^c	۲۲۵±۳ ^b	۲۲۲±۵ ^b	۶۴/۵±۰/۵ ^b	۷۸±۲/۸ ^b	۲۰/۷±۰/۱ ^d	۶۹/۶±۴/۱ ^b	۲۲۰/۳±۲/۵ ^d
۳۴۰۰/۳۰	۲۰	۲/۳۲±۰/۱۳ ^b	۷۱/۴۶±۰/۸ ^b	۵/۳±۰/۳ ^c	۲۲۵±۷ ^b	۲۴۵±۱۰ ^a	۶۴/۲±۰/۵ ^b	۷۸±۲/۹ ^b	۲۸/۴±۲/۵ ^b	۵۹/۵±۰/۵ ^{۴c}	۲۴۳/۶±۴/۳ ^b
۲۷۰۰/۳۰	۴۰	۲/۳۶±۰/۱۷ ^b	۷۵/۰۰±۰/۲ ^b	۵/۵۱±۰/۲۰ ^c	۱۳۳±۳ ^g	۱۸۰±۲ ^d	۵۶/۶±۰/۸ ^c	۸۲/۴±۳/۳۱ ^a	۱۶/۲±۱/۸ ^e	۴۸/۳±۱/۳ ^e	۲۸۶±۴/۳ ^a
۳۴۰۰/۳۰	۴۰	۲/۳۶±۰/۱۲ ^b	۶۲/۴۳±۰/۹ ^c	۶/۵۲±۰/۳ ^b	۱۹۶±۷ ^d	۲۴۲±۱۰ ^a	۵۶/۹±۰/۵ ^c	۷۵/۱±۰/۸ ^c	۲۲/۱±۰/۸ ^{cd}	۴۸/۶±۱/۶ ^e	۲۴۸±۵/۹ ^b
۲۷۰۰/۳۵	۱۰	۲/۸۵±۰/۰۷ ^a	۴۸/۲±۰/۰۹ ^e	۲/۲۷±۰/۱۹ ^c	۱۹۴±۳ ^d	۲۱۸±۳ ^b	۶۸/۳±۰/۵ ^a	۷۵/۸±۰/۰۷ ^c	۱۵±۰/۰۷ ^f	۴۶/۵±۱/۹ ^e	۲۲۵/۳±۲/۹ ^d
۳۴۰۰/۳۵	۱۰	۲/۸۴±۰/۱۱ ^a	۸۴/۶±۱/۱ ^a	۴/۰۳±۰/۰۵ ^d	۲۱۵±۷ ^c	۲۳۰±۶ ^b	۵۶±۲/۵ ^c	۷۹/۲۸±۰/۸۵ ^b	۱۵/۸±۰/۰۷ ^f	۴۱/۲±۲/۲ ^f	۲۲۰/۳±۰/۰۹ ^{۳d}
۲۷۰۰/۳۵	۲۰	۲/۳۴±۰/۱۹ ^b	۶۸/۴±۱/۱ ^c	۵/۲۲±۰/۰۴ ^c	۲۲۷±۲ ^b	۲۴۲±۴ ^a	۵۲/۱±۱ ^d	۶۶/۴±۱/۱۰ ^d	۱۳/۷±۰/۰۳ ^g	۳۶/۲±۰/۰۷ ^g	۱۸۴/۶±۴ ^e
۳۴۰۰/۳۵	۲۰	۲/۳۹±۰/۱۶ ^b	۶۳/۳±۱/۷ ^c	۶/۶۴±۰/۰۲ ^b	۱۲۶±۳ ^h	۲۲۱±۱۱ ^b	۶۳/۸±۰/۵ ^b	۷۵/۷۶±۰/۹۶ ^c	۱۴/۴±۱/۸ ^{fg}	۴۷/۸±۱/۸ ^e	۱۹۴/۳±۶ ^{de}
۲۷۰۰/۳۵	۴۰	۲/۳۳±۰/۱۴ ^b	۵۳/۹±۱ ^d	۴/۸۲±۰/۳ ^d	۱۶۵±۶ ^e	۱۹۶±۶ ^d	۶۳/۵±۰/۵ ^b	۷۴/۱±۰/۷ ^c	۲۰/۲۵±۰/۴ ^d	۷۰/۴±۱/۹ ^b	۱۸۸±۶/۲ ^c
۳۴۰۰/۳۵	۴۰	۲/۱۵±۰/۱۲ ^c	۵۲/۳۶±۲ ^d	۶/۲۱±۰/۱۵ ^{bc}	۱۶۷±۷ ^e	۱۸۸±۲ ^d	۶۳/۹±۰/۶ ^b	۷۶/۶±۳/۱۵ ^c	۲۰/۲±۰/۰۷ ^d	۸۵/۶±۱/۱ ^a	۱۷۷/۳±۴ ^f
۲۷۰۰/۴۰	۱۰	۲/۱۸±۰/۸۷ ^c	۴۹/۹±۰/۱ ^{ed}	۵/۶±۰/۰۳ ^c	۱۹۹±۳ ^d	۲۰۲±۳ ^c	۶۸/۳±۱۹ ^a	۷۵/۷۵±۰/۰۳ ^b	۳۰/۹±۰/۰۷ ^a	۴۵/۳±۱/۹ ^f	۲۲۱/۶±۴ ^d
۳۴۰۰/۴۰	۱۰	۲/۲۴±۰/۰۲ ^c	۴۷/۴±۱/۴ ^e	۷/۲۳±۰/۰۱ ^a	۲۲۶±۱ ^b	۲۳۹±۳ ^{ab}	۶۴/۱±۴۸ ^b	۷۵/۲۳±۰/۲۸ ^b	۳۱/۹±۱/۷ ^a	۴۲/۳±۰/۲۸ ^f	۲۲۱/۳±۲ ^d
۲۷۰۰/۴۰	۲۰	۲/۳۱±۰/۱ ^b	۷۰/۷۳±۰/۹ ^b	۵/۱±۰/۰۴ ^c	۱۷۸±۳ ^f	۲۲۰/۶±۳ ^b	۶۴/۶±۰/۷ ^b	۷۴/۸±۰/۹ ^b	۲۴/۷±۰/۲۱ ^c	۶۰/۳±۰/۲۱ ^c	۲۶۳/۳±۰/۲۱ ^b
۳۴۰۰/۴۰	۲۰	۲/۳۲±۰/۱۱ ^b	۶۹/۶±۰/۰۷ ^b	۴/۲±۰/۰۱ ^d	۱۷۶/۳±۵ ^f	۱۷۹±۵ ^d	۵۶/۶±۰/۶ ^c	۷۴/۲±۱/۹ ^b	۲۴/۹±۰/۰۵ ^c	۵۱/۹±۰/۰۸ ^d	۲۳۶±۱/۸ ^c
۲۷۰۰/۴۰	۴۰	۲/۳±۰/۰۱ ^b	۵۶/۴±۱/۴ ^d	۶/۸±۰/۰۱ ^b	۱۷۶±۲ ^f	۱۸۹±۷ ^d	۵۶/۱±۱۰ ^c	۷۵/۱۵±۰/۰۸ ^b	۱۶/۹±۲/۷ ^f	۴۵/۷±۰/۴۰ ^f	۱۸۵/۳±۱/۰ ^{۵c}
۳۴۰۰/۴۰	۴۰	۲/۱۹±۰/۰۴ ^c	۶۷/۴±۱/۹ ^b	۶/۲۴±۰/۰۱ ^b	۲۵۶±۳ ^a	۱۹۵±۳ ^c	۵۶/۶±۱۸ ^c	۷۱/۹±۰/۰۸ ^c	۱۸/۱±۱/۱۸ ^d	۴۶/۸±۱/۱۸ ^f	۱۸۵/۲۴±۱۸ ^{۱c}

بحث و نتیجه‌گیری

نسبت پروتئین به انرژی (P/E)، در مقایسه با تعیین سطح پروتئین خام به‌تنهایی، رویکردی منطقی‌تر برای برآورد نیازهای پروتئینی ماهیان فراهم می‌کند. شورای ملی تحقیقات، نسبت مناسب P/E را برای بیشتر گونه‌های ماهی در محدوده ۱۹ تا ۲۷ میلی‌گرم بر کیلوژول توصیه کرده است (National Research Council, 2011). در مطالعه حاضر، نسبت P/E جیره غذایی با افزایش محتوای پروتئین و کاهش محتوای نشاسته، از ۴/۲۱ به ۲/۳۱ تغییر یافت. پس از یک دوره آزمایش تغذیه‌ای ۷۰ روزه، افزایش وزن ابتدا روندی صعودی نشان داد و سپس با افزایش سطح پروتئین جیره کاهش یافت. روند مشابه در مطالعات مختلف روی گونه‌های *Konosirus punctatus* (Liu et al., 2023)، کپور علفخوار *Ctenopharyngodon idella* (Jin et al., 2015; Yu et al., 2022)، *Oreochromis niloticus* (Wu et al., 2021)، *Pseudoplatystoma reticulatum* (Silva et al., 2020) و *Channa punctatus* (Zahra and Khan, 2012) نیز گزارش شده است. کاهش رشد مشاهده‌شده در نسبت‌های بالای P/E ممکن است به اختلال در متابولیسم پروتئین، افزایش متابولیسم نیتروژن و ناکارآمدی انرژی نسبت داده شود (Kiron et al., 1995). در مقابل، ضریب تبدیل خوراک (FCR) روندی مخالف با نرخ افزایش وزن (WGR) نشان داد. نکته قابل توجه آن است که با افزایش نسبت P/E، میزان چربی کبد کاهش یافت. این نتایج با یافته‌های چندین مطالعه روی تیلاپای نیل *Epinephelus fuscoguttatus* × *Epinephelus lanceolatus* (Gaye-Siessegger et al., 2006)، کپور علفخوار (Jin et al., 2015) و *Epinephelus lanceolatus* (Jiang et al., 2016) مطابقت دارد. این مطالعات نشان دادند جیره‌های غذایی با پروتئین بالا و کربوهیدرات پایین، موجب افزایش قابل توجه چربی و مقادیر تبدیل ظاهری چربی می‌شوند. بهبود FCR در گروه تیمار حاوی ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰۰ کیلوکالری انرژی، نشان‌دهنده تبدیل کارآمدتر خوراک به توده بدن است. این مشاهده احتمالاً به استفاده بهتر از پروتئین در حضور انرژی کافی مربوط است، موضوعی که با توجه به سهم عمده هزینه‌های خوراک در آبرزی‌پروری، اهمیت ویژه‌ای دارد (Soliman et al., 2022). ترکیب بهینه ۳۵ درصد پروتئین با ۳۴۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی در تراکم ۲۰ ماهی در هر تانک و بهبود عملکرد رشد، بیانگر اثر هم‌افزایی میان ترکیب جیره غذایی و شرایط پرورش بر متابولیسم ماهی و استفاده از مواد مغذی است. افزایش عملکرد رشد مشاهده‌شده در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰۰ کیلوکالری در تراکم متوسط، یعنی ۲۰ قطعه، را می‌توان به بهبود کارایی استفاده از خوراک نسبت داد. نسبت P/E بهینه در این مطالعه در محدوده ۳ تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوکالری برای جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰۰ کیلوکالری قرار داشت که با مطالعه Ghazala و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد، مطالعه‌ای که نسبت‌های بهینه بین ۹ تا ۱۲ را برای رشد مطلوب کپورماهیان گزارش کرد. در سطح پایین‌تر پروتئین، یعنی ۳۰ درصد، این نسبت ناکافی بود و در سطح ۴۰ درصد نیز کارایی به‌دلیل افزایش میزان متابولیک کاهش یافت. سطوح بالای پروتئین در جیره‌ غذایی می‌تواند ترشح آنزیم‌های پروتئولیتیک در برخی گونه‌های ماهیان را تحریک کند (Bakke et al., 2011). افزون بر این، سطوح بالاتر فعالیت‌های آنزیمی با عملکرد رشد بهتر و مصرف بیشتر خوراک در ماهی ارتباط دارد. بیشترین فعالیت آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمارهایی مشاهده شد که نسبت پروتئین کمتری در تراکم‌های بالاتر داشتند. افزایش سطح ALT اغلب نشان‌دهنده آسیب یا استرس کبدی است، در حالی که آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) می‌تواند بازتاب‌دهنده آسیب عضلانی یا اختلالات متابولیکی باشد (Shahsavani et al., 2010). نتایج نشان می‌دهد که تراکم بالاتر ممکن است پاسخ‌های استرس را تشدید کند و بر سلامت کبد اثر منفی بگذارد. این مشاهدات با مطالعاتی همسو است که نشان داده‌اند عوامل استرس‌زای محیطی، از جمله تراکم بالا، می‌توانند موجب افزایش خروج آنزیم‌ها از بافت‌های آسیب‌دیده شوند (Jia et al., 2022). نتایج حاضر بر اهمیت فرمولاسیون جیره غذایی و مدیریت محیطی در شیوه‌های آبرزی‌پروری تأکید می‌کند. برقراری تعادل میان دریافت پروتئین و انرژی برای بهینه‌سازی رشد و در عین حال به حداقل رساندن استرس متابولیک، ضروری است. تراکم بالاتر ممکن است از طریق افزایش رقابت برای منابع، تشدید پاسخ‌های استرسی و اثرگذاری بر سلامت کلی ماهی، پیامدهای نامطلوبی ایجاد کند (Yarahmadi et al., 2015). مطالعات پیشین نیز روندهای مشابهی را نشان داده‌اند، به‌گونه‌ای که فرمولاسیون‌های غذایی بهینه می‌توانند عملکرد رشد را در عین حفظ هموستاز بیوشیمیایی افزایش دهند. برای نمونه، تحقیقات انجام‌شده روی ماهی کپور هندی (*Labeo*

(rohita) نشان داد که جیره‌های غذایی غنی از پروتئین و کربوهیدرات موجب بهبود میزان رشد، بدون ایجاد اثرات نامطلوب بر پارامترهای بیوشیمیایی خون، می‌شوند (Iqbal and Naeem, 2016). در مقابل، نشان داده شده است که اتکای بیش از حد به جیره‌های غذایی پرپروتئین، بدون وجود منابع انرژی کافی، می‌تواند متابولیسم چربی را به‌طور منفی تحت تأثیر قرار دهد و شاخص‌های استرس را افزایش دهد (Jiang et al., 2015) که با یافته‌های مشاهده‌شده در مطالعه حاضر همسو است. نتایج این مطالعه نشان داد که بالاترین سطح پروتئین کل در گروه‌هایی مشاهده شد که با نسبت ۳۵:۲۷۰۰ در تراکم ۲۰ ماهی و نسبت ۳۵:۳۴۰۰ در تراکم مشابه تغذیه شدند. پروتئین کل برای رشد، عملکرد سیستم ایمنی و فرآیندهای متابولیکی کلی ضروری است (Esmacili, 2021). سطوح بالای پروتئین کل می‌تواند نشان‌دهنده استفاده مؤثر از پروتئین جیره غذایی باشد. نتایج سایر مطالعات مبنی بر نقش افزایش پروتئین جیره‌ای در بهبود عملکرد رشد و سلامت متابولیکی گونه‌های ماهی نیز همین نتیجه را تایید کردند (Esmacili, 2021; Lall and Kaushik, 2021). به نظر می‌رسد متابولیسم پروتئین شامل جذب اسیدهای آمینه و استفاده از آن‌ها برای سنتز بافت باشد. فرآیندی که در مراحل رشد اهمیت زیادی دارد. در مطالعه حاضر، سطح گلوکز در همان تیمارهایی به اوج رسید که سطح پروتئین کل بالایی را نشان دادند. گلوکز به‌عنوان منبع اولیه انرژی برای متابولیسم سلولی عمل می‌کند. افزایش گلوکز را می‌توان به افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها نسبت داد که با دریافت کافی پروتئین در جیره غذایی تسهیل می‌شود. نشان داده شد که مصرف بهینه پروتئین می‌تواند از طریق افزایش حساسیت به انسولین و ذخیره گلیکوژن در کبد، هموستاز گلوکز را در ماهی بهبود بخشد (Mirghaedi et al., 2017). سطوح کلسترول در تیمارهای مختلف به‌طور قابل توجهی متفاوت بود و بالاترین غلظت آن در گروه دارای نسبت ۴۰:۳۴۰۰ و تراکم ۴۰ ماهی مشاهده شد. کلسترول برای ساختار غشایی و سنتز هورمون حیاتی است، اما افزایش آن می‌تواند نشان‌دهنده استرس متابولیکی باشد (Schade et al., 2020). افزایش کلسترول ممکن است با تغذیه بیش از حد یا استفاده ناکافی از انرژی در تراکم‌های بالاتر نیز مرتبط باشد که در نهایت به تجمع چربی منجر می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که انرژی بیش از حد جیره‌ غذایی می‌تواند موجب افزایش چربی خون در ماهی شود (Guo et al., 2019)، که این یافته‌ها را تأیید می‌کند. تجزیه و تحلیل لیپوپروتئین‌ها نیز تغییراتی را در سطوح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) نشان داد. تعادل میان لیپوپروتئین‌ها برای حفظ سلامت قلبی-عروقی در ماهی اهمیت دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که ترکیب جیره غذایی به‌طور قابل توجهی بر پروفایل لیپید اثر می‌گذارد و این موضوع نشان می‌دهد که بهینه‌سازی فرمولاسیون‌های غذایی می‌تواند به مدیریت مؤثر این پارامترها کمک کند (Phan et al., 2021). غلظت اوره در گروه دارای نسبت ۴۰:۳۴۰۰ در تراکم کمتر، بالاترین مقدار را داشت. اوره محصول جانبی متابولیسم پروتئین است و به‌عنوان شاخص دفع مواد زائد نیتروژنی عمل می‌کند. افزایش سطح اوره می‌تواند نشان‌دهنده کاتابولیسم بیش از حد پروتئین یا کمبود انرژی در دسترس از منابع کربوهیدراتی یا چربی باشد. این یافته نشان می‌دهد که جیره‌های غذایی با پروتئین بالا، در صورت نبود منابع انرژی کافی، ممکن است موجب افزایش ضایعات نیتروژنی شوند، که اهمیت نسبت‌های متعادل مواد مغذی برای متابولیسم بهینه نیتروژن در گونه‌های آبزی پروری را برجسته می‌کند (Khawar et al., 2024).

یافته‌های این مطالعه بینش قابل توجهی درباره نیازهای تغذیه‌ای و شرایط بهینه پرورش کپور علفخوار ارائه داد. نتایج نشان داد که جیره دارای نسبت پروتئین به انرژی ۳۵:۳۴۰۰ کالری در تراکم ۲۰ ماهی، بیشترین افزایش وزن و بازده خوراک را به همراه داشت. این یافته نشان می‌دهد که حفظ نسبت متعادل پروتئین به انرژی برای به حداکثر رساندن عملکرد رشد در کپور علفخوار ضروری است. در مقابل، تراکم ذخیره‌سازی بالاتر اثر منفی بر پارامترهای رشد داشت که احتمالاً ناشی از افزایش رقابت برای منابع و بروز استرس بالقوه در بین ماهی‌ها بود.

References

1. Aas, T.S., Åsgård, T., Ytrestøyl, T. 2022. Utilization of feed resources in the production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Norway in 2020. Aquaculture Reports. 26. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101317>
2. Bakke, A., Glover, C., Kroghdahl, A. 2011. Feeding, digestion and absorption of nutrients, in, The multifunctional gut of fish. Editors M. Grossel, A. Farrel, and C. Brauner (London: Academic Press Elsevier), 57–75.
3. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochem, 72, 248–254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3
4. Ciavoni, E., Schrama, J.W., Radhakrishnan, G., Sæle, Ø., Prabhu Philip, A.J. 2024. Salinity induced changes in the progression of water, ion and nutrient fluxes along the gastrointestinal tract of Atlantic salmon smolt (*Salmo salar*). Aquaculture, 580. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740331>
5. Ding, L. 2017. Grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, in: Handbook of Nutrient Requirements of Finfish (1991). CRC Press, pp. 89-96.
6. Esmaili, N. 2021. Blood performance: a new formula for fish growth and health. Biology, 10(12), 1236.
7. Gaye-Siessegger, J., Focken, U., Becker, K. 2006. Effect of dietary protein/carbohydrate ratio on activities of hepatic enzymes involved in the amino acid metabolism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Fish Physiology Biochem, 32, 275–282. doi:10.1007/s10695-006-9000-1
8. Ghazala, R., Tabinda, A., Yasar, A. 2011. Growth response of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed isocaloric diets with variable protein levels. J Anim Plant Sci, 21(4), 850-856.
9. Guo, J., Zhou, Y., Zhao, H., Chen, W.Y., Chen, Y.J., Lin, S.M. 2019. Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and oxidative status of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. Aquaculture, 506, 394-400.
10. He, Z., Tian, X., Li, J., Guo, J., Cheng, X., Wang, D. 2024. Effects of dietary protein and lipid levels on the growth performance and serum biochemical indices of juvenile Furong Crucian Carp. Fishes, 9, 466. <https://doi.org/10.3390/fishes9110466>
11. Iqbal, M.J., Naeem, M. 2016. Haematological indices study of juvenile *Labeo rohita* (Hamilton-1822) fed at varying protein: Energy ratios. Int. J. Fish. Aquat. Stud, 4(5), 632-641.
12. Jia, R., Wang, L., Hou, Y., Feng, W., Li, B., Zhu, J. 2022. Effects of stocking density on the growth performance, physiological parameters, redox status and lipid metabolism of *Micropterus salmoides* in integrated rice–fish farming systems. Antioxidants, 11(7), 1215
13. Jiang, S., Wu, X., Li, W., Wu, M., Luo, Y., Lu, S., Lin, H. 2015. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization, body and plasma biochemical compositions of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) juveniles. Aquaculture, 446, 148-155.
14. Jiang, S., Wu, X., Luo, Y., Wu, M., Lu, S., Jin, Z. 2016. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) juveniles. Aquaculture, 465, 28–36. doi:10.1016/j. Aquaculture.2016.08.030
15. Jiang, X., Qu, F., Ge, Y., Li, C., Shi, X., Hu, X., Cheng, L., Zhao, X., Jia, Z. 2025. Effects of dietary protein levels on the growth, physiological, and biochemical indices of juvenile yellow river carp (*Cyprinus carpio haematopterus*). Animals, 15, 1800. <https://doi.org/10.3390/ani15121800>
16. Jin, Y., Tian, L., Xie, S., Guo, D., Yang, H., Liang, G. 2015. Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture, 437, 75–83. doi:10.1016/j. Aquaculture. 2014.11.031
17. Khawar, A., Khan, N., Iqbal, K.J., Fatima, M., Rasool, F., Anjum, K.M., Azmat, H., Sherzada, S., Khalique, A., Nazir, S. 2024. Effect of urea treated sugarcane bagasse on growth, proximate composition, microbial flora and digestive enzymes activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Pakistan Journal of Zoology, 56.
18. Kiron, V., Watanabe, T., Fukuda, H., Okamoto, N., Takeuchi, T. 1995. Protein nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Comp. Biochem. Physiology A Physiology, 111, 351–359. doi:10.1016/0300-9629(95)00043-7
19. Lall, S.P., Kaushik, S.J. 2021. Nutrition and metabolism of minerals in fish. Animals, 11(09), 2711.

20. Liao, Z., Wang, L., Yun, B., Dong, X., Niu, F., Wang, J., Qian, X., Hua, X. 2025. Effects of the dietary protein-to-energy ratio on the growth performance, body composition, and health status of large-sized grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Front. Physiol. 16:1665511. doi: 10.3389/fphys.2025.1665511
21. Liu, L., Liang, X.F., Li, J., Yuan, X., Fang, J. 2018. Effects of supplemental phytic acid on the apparent digestibility and utilization of dietary amino acids and minerals in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Aquaculture, nutrition 24(2), 8:850-857.
22. Liu, T., Weng, X., Wang, J., Han, T., Wang, Y., and Chai, X. 2023. Dietary protein requirement of juvenile dotted gizzard shad *Konosirus punctatus* based on the variation of fish meal. Animals, 13, 788. doi:10.3390/ani13050788
23. Mirghaed, A.T., Ghelichpour, M., Hoseini, S.M., Amini, K.J.F.P. 2017. Hemolysis interference in measuring fish plasma biochemical indicators. Biochemistry, 43, 1143-1151.
24. Niazi, A., Mehrgan, M.S., Islami, H.R. 2023. Optimizing turmeric and green tea fermentation with *Lactobacillus brevis* to enhance growth performance, digestive enzymes, and immunity in rainbow trout. Aquaculture 577, 739962 .
25. National Research Council (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, WA, USA: National Academies Press.
26. Phan, L., Kals, J., Masagounder, K., Mas-Munoz, J., Schrama, J. 2021. Energy utilisation efficiencies of digested protein, fat and carbohydrates in striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*) for whole body and fillet growth. Aquaculture, 544, 737083.
27. Prakash, S., Maas, R.M., Yani, A., Kokou, F., Sæle, Q., Philip, A.J.P., Schrama, J.W. 2025. Nutrient digestibility and faecal characteristics in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* reared at different salinities and fed diets with varying protein to energy ratios. Aquaculture, 606, 742621. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742621>.
28. Routroy, S., Prakash, P., Kumar, R., Chandan, N.K., Sahu, B., Nanda, S., Pillai, B.R., Mohanta, M.N. 2025. Effect of varied levels of dietary protein and lipid on growth response, nutrient utilization, and whole body composition of climbing perch, *Anabas testudineus* (Bloch, 1792) fry. Aquaculture International, 33:29. <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01677-z>
29. Ruiz, A., Ciavoni, E., Nederlof, M.A.J., Prakash, S., Sæle, Q., Schrama, J.W., Kokou, F. 2026. Modulation of gut microbiota in rainbow trout by dietary protein-toenergy ratio and calcium carbonate through chyme and nutrient digestibility changes. Animal The international journal of animal biosciences. 20, 101754. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2026.101754>
30. Sankian, Z., Khosravi, S., Kim, Y., Lee, S.M. 2017. Effect of dietary protein and lipid level on growth, feed utilization, and muscle composition in golden mandarin fish *Siniperca scherzeri*. Fisheries and Aquatic Sciences, 20:7. DOI 10.1186/s41240-017-0053-0
31. Schade, D.S., Shey, L., Eaton, R.P., 2020. Cholesterol review: a metabolically important molecule. Endocrine Practice, 26(12), 1514-1.
32. Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani, H. 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish physiology and biochemistry, 36, 39-43.
33. Silva, T., Zanon, R., Mourão, G., Cyrino, J. 2020. Digestible energy, protein, and energy-protein ratio requirements of *Pseudoplatystoma reticulatum*. J. World Aquac. Soc, 51, 1402-1418. doi:10.1111/jwas.12701
34. Soliman, H.A., Mursy, E.E.-D.I., Soliman, F.M., Badrey, A.E., Osman, A.G. 2022. Fish growth performance, body composition and water quality in integrated system producing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in the Eastern Desert. Sohag Journal of Sciences, 7(2), 67-75.
35. Tibbetts, S.M., Milley, J.E., Lall, S.P. 2006. Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758). Aquaculture, 261(4), 1314-1327
36. Wu, L., Liang, H., Hamunjo, C., Ge, X., Ji, K., Yu, H. 2021. Culture salinity alters dietary protein requirement, whole body composition and nutrients metabolism related genes expression in juvenile genetically improved farmed tilapia (GIFT) (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 531, 735961. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735961

37. Yarahmadi, P., Miandare, H.K., Fayaz, S., Caipang, C.M.A. 2016. Increased stocking density causes changes in expression of selected stress-and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & shellfish immunology, 48, 43-53.
38. Yu, H., Liang, H., Ren, M., Ge, X., Ji, K., Huang, D. 2022. A study to explore the effects of low dietary protein levels on the growth performance and nutritional metabolism of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fry. Aquaculture, 546, 737324. doi:10.1016/j. Aquaculture.2021.737324
39. Zehra, S., Khan, M. 2012. Dietary protein requirement for fingerling *Channa punctatus* (bloch), based on growth, feed conversion, protein retention and biochemical composition. Aquaculture Int, 20, 383-395. doi:10.1007/s10499-011-9470-8
40. Zhang, Y., Maas, R.M., Horstmann, P., Prakash, S., Staessen, T.W.O., Kals, J., Kokou, F., Schrama, J.W. 2024. Effect of carbohydrate source, feeding level (restricted vs. satiation) and their combination on nutrient digestibility, bile acid balance, faecal waste production and characteristics of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). Aquaculture Reports, 36. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102179>.