

پژوهش و سازندگی

شماره ۶۸، پاییز ۱۳۸۴

در امور دام و آبزیان

بررسی مقایسه‌ای قابلیت هضم پروتئین پودر آرتミا و پودر ماهی تحت شرایط *in vivo* و *in vitro*

- ابوالفضل زارعی، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
- محمود شبوازد، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران - کرج
- سیداحمد میرهادی، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات علوم دامی ایران، کرج
- عباس گرامی، عضو هیأت علمی دانشگاه تهران - پردیس علوم - دانشکده ریاضی، آمار و علوم کامپیوتر
- محمود حافظیه، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۳

Email: a-zarei@KIAU.AC.IR

چکیده

به منظور تعیین قابلیت هضم پروتئین پودر آرتミا در شرایط *in vivo* و *in vitro*، از سه منطقه دریاچه ارومیه، استخرهای خاکی حاشیه دریاچه ارومیه و دریاچه نمک قم توده زنده آرتミا جمع آوری و پس از آب گیری توسط خشک کن در دمای ۵۰-۶۰ درجه سانتی گراد خشک و به صورت ورقه درآمدند. قبل از استفاده در آزمایشات توسط آسیاب چکشی آسیاب شدند. در آزمایشگاه تغذیه از هر یک از سه نوع پودر آرتミا همراه با نمونه‌ای از پودر ماهی پرو آنالیز شیمیائی از نظر مواد مغذی، مطابق دستور العمل روش استاندارد^(۶) صورت گرفت. در مرحله بعد قابلیت هضم پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش قابلیت هضم در آنزیم پیپسین مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بین تیمار آرتیمیای دریاچه ارومیه با سایر تیمارها از نظر این صفت اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). بیشترین درصد قابلیت هضم پیپسین مربوط به تیمار آرتیمیای دریاچه قم (۷۴/۹۲ درصد) و کمترین درصد مربوط به تیمار آرتیمیای دریاچه ارومیه (۴۷/۹۰ درصد) بود. در آزمایشی دیگر قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پروتئین سه نوع پودر آرتیمیا و همچنین پودر ماهی پرو با استفاده از روش نمونه برداری از محتویات ایلئومی پس از کشتار، بر روی ۱۰۹/۱۰۹ اقطعه جوجه نر گوشتی از سویه راس ۳۰۸ انجام شد. نتایج بدست آمده از این آزمایش با داده‌های حاصل از آزمایش قابلیت هضم در آنزیم پیپسین مطابقت داشت. در این آزمایش نیز بین تیمار آرتیمیای دریاچه ارومیه با سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین درصد قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پیپسین در تیمار پودر ماهی (به ترتیب ۸۸/۰۲ و ۸۲/۰۲ و ۸۷/۰۶ درصد) و کمترین درصد مربوط به تیمار آرتیمیای دریاچه ارومیه (به ترتیب ۸۶/۹۶ و ۸۲/۹۶ درصد) بود. نتایج این تحقیق نشان داد، با توجه به بالا بودن میزان پروتئین پودر آرتیمیا و قابلیت هضم بالای آن، می‌توان این ماده خوارکی را در جیوه غذائی طیور به عنوان مکمل پروتئینی مورد استفاده قرار داد.

کلمات کلیدی: پودر آرتیمیا، قابلیت هضم پروتئین، ایلئوم، آنزیم پیپسین

Comparative study of protein digestibility of artemia meal and fish meal under condition of *in vitro* and *in vivo*

By: Zarei. A. Islamic Azad University - Karaj Branch - College of Agriculture - Department of Animal Science.

Shivazad. M. Tehran University - College of Agriculture - Department of Animal Science.

Mirhad. A. Iranian Animal Science Research Institute, Karaj.

Gerami. A. Tehran University, Faculty of Mathematic, Statistic and Computer Sciences.

Hafezieh. M. Iranian Fisheries Research Organization.

For determination of nutritive value and protein digestibility of artemia meal by *in vitro* and *in vivo* methods , artemia biomass were harvested from three regions including Urmia Lake , earth ponds in border of Urmia Lake and Ghom Salt Lake. The samples were dried at 50-60°C and homogenized before experiment. Chemical analysis of three samples of artemia meal and one sample of fish meal were performed for nutrients by standard procedure (AOAC 1995). In another experiment protein apparent digestibility of samples evaluated using pepsin digestibility method. Results from this experiment showed that there is significant difference between Urmia Lake artemia treatment and other treatments. The highest digestibility percent belong to Ghom Salt Lake artemia (%92.74) and the lowest digestibility percent belong to Urmia Lake sample (%90.47). Apparent and true digestibility of artemia meal and fish meal (from Peru) were evaluated *in vivo* using 109 male broiler chicks (308 Ross strain). Ileum samples were collected from the sacrificed birds. Results obtained from this experiment were compared with the data obtained from pepsin digestibility test. In this experiment also there was significant difference between Urmia Lake ,s artemia treatment and other treatments ($p<0.05$). The highest percent of apparent and true protein digestibility belong to fish meal (%88.02,%92.12 respectively). It was concluded that artemia meal can be used as a feedstuff in poultry diets because it has high level of protein and high protein digestibility.

Key words :Artemia meal , Protein digestibility, Ileum, Pepsin enzyme

مقدمه

آق و حسینی(۱) طی تحقیقی نشان دادند که *Artemia urmiana* در کلیه مراحل رشد خود دارای مقادیر بالای پروتئین و چربی و اسیدهای چرب اولئیک و لینولنیک است.

برای تعیین قابلیت هضم پروتئین می توان از روش های آنزیمی استفاده نمود. در این روش از آنزیم هایی نظری پیپسین، تریپسین، کاموتریپسین و پپتیداز استفاده می شود. استفاده از هضم آنزیمی در شرایط آزمایشگاهی بر این اساس استوار است که هضم همانند آنچه در داخل دستگاه گوارش صورت می گیرد باشد (۵).

روش قابلیت هضم ازت در آنزیم پیپسین یک روش سریع ، آسان و مرسوم برای تعیین کیفیت پروتئین خوارک های با منشاء حیوانی نظری پودر ماهی ، پودر گوشت و استخوان و می باشد (۱۷، ۱۵، ۸).

قابلیت هضم ازت به وسیله روش هیدرولیز آنزیمی پیپسین سال ها است که برای ارزیابی خوارک های پروتئینی با منشاء حیوانی که ممکن است طی فرآوری آنها آسیب حرارتی رخ داده باشد مورد استفاده قرار می گیرد. این روش به طور گستره ای مورد قبول صنایع تولیدی خوارک دام و طیور قرار گرفته است زیرا نسبتاً ساده است ، گران نیست ، سریع می باشد و نمونه های زیادی را می توان در يك زمان با يكديگر مقایسه نمود (۲۰).

غلظت آنزیم در این آزمایش عامل حیاتی است. آزمایشات نشان داده اند که کاهش میزان آنزیم پیپسین از ۰/۲ به ۰/۰۲ یا ۰/۰۰۲٪ تاثیر مثبتی بر روی قابلیت هضم پروتئین دارد.

با توجه به اینکه قابلیت هضم در آنزیم پیپسین تحت شرایط اسیدی

تا کنون حضور آرتمیا یا میگوی آب شور (Brine Shrimp Artemia) از ۵ قاره جهان و در ۵۰۰ منطقه جغرافیائی گزارش و به اثبات رسیده است(۴). کشور ایران به دلیل داشتن شرایط اقلیمی گرم و خشک و مناطق کویری و آبگیرهای نمکی فراوان و همچنین حضور یکی از بزرگترین دریاچه های نمکی جهان (دریاچه ارومیه)، پتانسیل بسیار خوبی از نظر پرورش و تکثیر آرتمیا داری می باشد. در حال حاضر در کشور ما از تخم آرتمیا پس از تخم گشائی آن و تولید لارو به عنوان یک منبع غذائی با ارزش در تقدیمه بچه میگو و بچه ماهیان خاویاری استفاده می شود، اما برداشت و تولید توده زنده آرتمیا به طور گستره ای صورت نمی گیرد.

خیامی و حیدری (۲) در تحقیق خود نمونه های آرتمیا را از دریاچه ارومیه از دو منطقه رشکان و زنبیل جمع آوری کردند. این نمونه ها از نظر میزان چربی و پروتئین مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این آزمایش نشان داد که آرتمیا بالغ دریاچه ارومیه حاوی ۴/۹۳ درصد چربی و ۵۲/۲۵ درصد پروتئین خام است که در مقایسه با نمونه آرتمیا ایتالیا و خلیج سانفرانسیسکو از درصد بالای پروتئین برخوردار است.

و همکاران طی مطالعه جامعی که بروی ترکیب شیمیایی نژادهای مختلف آرتمیا انجام دادند نتایج زیرا به دست آورده اند (۱۳) . برای ناپلیوس ۷۱-۳۷ درصد پروتئین، ۳۰-۱۲ درصد چربی، ۱۱-۲۳ کربوهیدرات و ۴-۲۱ درصد خاکستر و برای آرتمیا بالغ ۶۹-۵۰ درصد پروتئین ، ۲۹-۲ درصد چربی ، ۹-۱۷ درصد کربوهیدرات و ۹-۲۹ درصد خاکستر (اعداد بر حسب ماده خشک نمونه می باشد).

استخراها متغیر بود. برای نمونه‌های قم نیز دما متغیر و شوری نیز بین ۱۰۰-۵۰ ppt بود.

پس از جمع آوری و برداشت توده زنده آرتمیا از این مناطق، نمونه‌های جمع آوری شده، ابتدا آب‌گیری و سپس توسط خشک کن، در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی گراد خشک و به صورت ورقه درآمدند و قبل از استفاده در جیره غذایی طیور توسط آسیاب چکشی آسیاب شدند.

قبل از شروع آزمایش‌ها، به منظور تجزیه تقریبی و آنالیز شیمیایی، از هر نوع آرتمیا نمونه‌ای به آزمایشگاه تغذیه موسسه تحقیقات علوم دامی کشور ارسال گردید و در آنجا میزان ماده خشک، پروتئین خام، انرژی خام، چربی خام، الیاف خام، ADF، خاکستر، مواد معدنی شامل کلسیم، فسفر، منزیزیم، پتاسیم، آهن، منگنز، مس، روی و سدیم، مطابق دستورالعمل روش استاندارد (۶) تعیین گردیدند.

روش *in vivo*

این آزمایش در شهریور ماه سال ۱۳۸۲ در سالن شماره یک واحد طیور جنوبی بخش تحقیقات طیور موسسه تحقیقات علوم دامی کشور انجام شد. برای این آزمایش تعداد ۶ قفسن ۴ طبقه باطری سرد انتخاب و هم زمان با شستشو و ضد عفونی سالن، این قفس‌ها نیز شستشو و ضد عفونی شدند. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ از شرکت مرغک خریداری و به این سالن منتقل شدند و بر روی بستر پوشال تا سن ۲۱ روزگی پرورش یافتند.

در سن ۲۱ روزگی تعداد ۱۰۹ قطعه جوجه از بین ۵۰۰ قطعه جوجه نر، به صورت انفرادی توزین و در بین واحدهای آزمایشی (طبقات باطری) توزیع شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد و به هر تکرار ۵ قطعه جوجه (با میانگین وزنی $2/8 \pm 0/2$ کیلوگرم برای هر تکرار) اختصاص یافت به استثناء تیمار دریاچه قم که بهدلیل کمبود نمونه در زمان آزمایش، از ۳ تکرار و در هر تکرار از ۳ قطعه جوجه (با میانگین وزنی $1/7 \pm 0/1$ کیلوگرم برای هر تکرار) استفاده گردید.

جوچه‌ها به مدت یک هفته جهت عادت دهی از جیره متداول دریافت کردند. در سن ۲۷ روزگی جیره‌های مورد آزمایش به جوچه‌ها داده شدند. در طی این مدت آب و خوراک به طور آزاد در دسترس آنها قرار گرفت.

جیره‌های آزمایشی

یک جیره پایه بر اساس ذرت و کنجاله سویا و ۴ جیره دیگر برای سه نوع پودر آرتمیا و یک نوع پودر ماهی (پرو) تهیه شد به طوری که در هر یک از آنها ماده خوراکی موردنظر تنها منبع پروتئین جیره بود. سپس هر یک از این جیره‌ها با جیره پایه به نسبت ۱:۱ مخلوط شدند که در نتیجه ۴ جیره آزمایشی با ترکیب ۵۰ درصد از جیره پایه و ۵۰ درصد از جیره مربوط به هر یک از مواد خوراکی آزمایشی تهیه گردید. یک جیره فاقد ازت حاوی ساکاروز و نشاسته ذرت نیز تهیه گردید. با توجه به اثر الیاف خام جیره بر روی میزان دفع آندوزنوس، به برخی از جیره‌ها سلولز افزوده شد تاثیر الیاف خام در بین جیره‌های آزمایشی تا حدودی یکسان شود.

به تمام این جیره‌ها اکسید کروم به میزان ۰/۳ درصد به عنوان نشانگر غیر قابل هضم افزوده شد. اجزاء جیره به طور کاملاً یکنواخت مخلوط

صورت می‌گیرد لذا به نظر می‌رسد خرد و ریز کردن نمونه‌ها تاثیر زیادی بر روی قابلیت هضم پروتئین دارد بهطوری که با ذرات کمتر از ۴۰۰ میکرون بالاترین نتایج حاصل شده است (۵).

Ravindran و همکاران مقادیر قابلیت هضم ازت در آنزیم پپسین را برای پودر گوشت و استخوان $84/3 - ۹۴/۴$ درصد با ضریب تغییرات $۳/۲\%$ بدست اورددن (۲). یکی از بهترین و دقیق ترین روش *in vivo* روش قابلیت هضم ایلئومی است. برای نخستین بار Payne و همکاران اظهار داشتند که اندازه گیری محتویات ایلئومی در مقایسه با روش جمع آوری فضولات تکنیک قابل اطمینانی برای تعیین قابلیت هضم پروتئین و آمینو اسیدها در طیور می‌باشد (۱۸). سایر محققین نیز این نظریه را تائید نموده‌اند (۹، ۱۰، ۱۶، ۲۰).

بهدلیل کاتابولیسم و سنتز آمینو اسیدها در روده‌های کور همراه با عدم توانایی مرغ در جذب ازت در این ناحیه، قابلیت هضم ایلئومی اندازه گیری دقیقی نسبت به روش جمع آوری فضولات می‌باشد (۲۰).

از فوائد روش هضم ایلئومی حذف آلودگی‌های نظیر مواد دفعی، شوره و پر موجود در روش جمع آوری فضولات می‌باشد. ثانیاً مشکل اثر میکروارگانیسم‌های انتهای روده بر ترکیب پروتئین دفعی بر طرف می‌شود. همچنین دفع ادراری اسیدهای آمینه در نظر گرفته نمی‌شود. روش قابلیت هضم ایلئومی به دو صورت انجام می‌شود: ۱- جمع آوری محتویات ایلئومی پس از کشتار مرغ- ۲- برداشت محتویات ایلئوم با استفاده از کانولا. نتایج حاصله در این رابطه نشان داده است که چهار ساعت پس از خوردن غذا توسط جوچه‌های گوشتی، زمان مناسبی برای نمونه‌برداری از ناحیه ایلئوم است. همچنین ۱۵ سانتی‌متر انتهای ایلئوم محل مناسبی برای نمونه‌برداری گزارش شده است (۹، ۱۰).

Moughan و Kadim آزمایش به عنوان تنها منبع پروتئینی مورد استفاده قرار گیرد، قابلیت هضم ظاهری ازت ایلئومی بیشتر از زمانی است که این جیره به نسبت $50:50$ با یک جیره پایه مخلوط شود. این امر به دلیل اثرات متقابل مواد خوراکی بر قابلیت هضم پروتئین است که ناشی از دفع داخلی ازت در جیره مخلوط می‌باشد.

هدف از انجام این تحقیق تعیین قابلیت هضم پروتئین نمونه‌های پودر آرتمیا تحت شرایط *in vivo* و *in vitro* به وسیله قابلیت هضم در آنزیم پپسین و همچنین با استفاده از تکنیک نمونه‌برداری از ایلئوم پرندگان و مقایسه آنها با پودر ماهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

انواع پودر آرتمیا مورد استفاده در این تحقیق طی فصول بهار و تابستان از منطقه دریاچه ارومیه (دو نوع پودر آرتمیا) و دریاچه نمک قم (یک نوع پودر آرتمیا) تهیه شدند. دو نوع پودر آرتمیا منطقه ارومیه عبارت بودند از: آرتمیا دریاچه ارومیه و آرتمیا پرورشی در استخراها خاکی موجود در حاشیه دریاچه ارومیه.

در زمان نمونه‌برداری میزان شوری دریاچه ارومیه 190 ppt با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و شوری استخراها خاکی به طور میانگین حدود 120 ppt بود اما به دلیل برداشت در زمان‌های مختلف، دمای

شدند. پس از جمع آوری مدفع و محاسبه خوراک مصرفی، حیوانات مجدداً از خوراک‌های آزمایشی به مدت دو روز استفاده کردند و به دنبال آن ۲۴ ساعت از غذا محروم شدند(۲). بعد از این مدت حیوانات به طور آزادانه به مدت یک ساعت از جیره‌های آزمایشی تغذیه نمودند و ۴ ساعت پس از خاتمه تغذیه با گاز CO_2 کشته شدند. میزان دان مصرفی هر واحد در زمان تغذیه یک ساعته محاسبه گردید.

پس از کشتار سریعاً محوطه شکمی جوجه‌ها باز شد و از پائین تراز زائد مکل ۲ تا ۴ سانتی متر قبل از تقاطع ایلئوسکال، برش برداری صورت گرفت و محتويات آن به آرامی به داخل ظروف پلاستیکی تخلیه گردید. نمونه‌های ایلئومی جمع آوری شده توزین و به آزمایشگاه تغذیه

شدند. شش جیره تهیه شده شامل جیره پایه، پودر ماهی، پودر آرتیمیای استخر، پودر آرتیمیای دریاچه ارومیه، پودر آرتیمیای دریاچه قم و جیره فاقد ازت در سن ۲۸ روزگی به گروه‌های آزمایشی اختصاص یافتند. جوجه‌ها این جیره‌ها را تا سن ۳۳ روزگی به طور آزاد دریافت نمودند. مشخصات جیره‌های آزمایشی مورد استفاده جهت تعیین قابلیت هضم پروتئین در جدول ۲ نشان داده شده است.

در سن ۳۳ روزگی، جوجه‌ها به مدت ۲۴ ساعت محرومیت غذایی کشیدند و پس از آن از جیره‌های آزمایشی به مدت یک ساعت به صورت اختیاری تغذیه شدند و طی ۱۳ ساعت بعد فضولات آنها جمع آوری گردید.

جدول ۱- آنالیز تقریبی سه نوع پودر آرتیمیای دریاچه ارومیه، پرورشی در استخر و دریاچه قم و پودر ماهی پرو (بر حسب درصد، کیلوکالری در کیلوگرم و میلی گرم در کیلو گرم ماده خشک)

نوع پودر آرتیما ترکیب شیمیایی	آرتیمیای دریاچه ارومیه	آرتیمیای پرورشی در استخر	آرتیمیای دریاچه قم	پودر ماهی (پرو)
ماده خشک (%)	۹۲/۸	۹۳/۴	۹۳/۸	۹۲/۶
پروتئین خام (%)	۴۰/۱۹	۳۹/۰۸	۴۲/۳۵	۶۷/۹
انرژی خام (کیلوکالری در کیلو گرم)	۴۰۲۶/۱۹	۳۸۹۸/۷۵	۳۵۷۹/۰۱	۳۲۴۶
چربی خام (%)	۱۳/۵	۸/۵۵	۲۰/۶۵	۱۰/۸
الیاف خام (%)	۳/۶	۱/۸	۲/۸	۰/۹
ADF (%)	۶	۶/۴	۷/۴	-
خاکستر (%)	۲۴	۲۸/۷	۲۸/۴	۱۵/۷
کلسیم (%)	۲/۳۴	۲۰/۰	۲/۶۱	۴
فسفر (%)	۱/۱۱	۰/۸۶	۱/۴۲	۱/۸۱
سدیم (%)	۱/۱۲	۰/۹۶	۱/۶۴	۰/۷
منیزیم (%)	۰/۳۳	۰/۴۱	۰/۲۱	۰/۲۵
پتاسیم (%)	۱/۶۵	۲/۰۹	۱/۳۹	۰/۸۲
آهن (میلی گرم در کیلوگرم)	۱۱۴۷/۲۵	۱۶۴۲/۷۵	۴۳۷/۷۵	۲۳۲
منگنز (میلی گرم در کیلوگرم)	۵۳/۷۸	۱۲۲/۴۵	۸۴/۰۸	۱۰/۶
مس (میلی گرم در کیلوگرم)	۳/۵	۳/۵۵	۵/۰۵	۹/۵۲
روی (میلی گرم در کیلوگرم)	۵۲/۷۵	۴۶/۷۵	۵۹	۱۰/۹

مؤسسه منتقل و در دمای ۲۰- تا زمان شروع آنالیز آزمایشگاهی نگهداری شدند.

در آزمایشگاه، درصد ماده خشک، پروتئین خام، ازت و میزان کروم نمونه‌های جیره، فضولات و محتويات ایلئومی اندازه‌گیری شدند (جدول شماره ۳).

برای تعیین قابلیت هضم ظاهری و حقیقی ازت و همچنین پروتئین جیره‌ها با استفاده از روابط ۱ تا ۳ محاسبات انجام شد(۱۱) : سپس قابلیت هضم ظاهری و حقیقی ازت و پروتئین موادخوراکی با استفاده از رابطه ۴ بدست آمد(۱۱).

نحوه جمع آوری فضولات به این صورت بود که پس از محرومیت غذایی بر روی سینی‌های زیر قفس‌ها پلاستیک توزین و نصب گردید و به دنبال تغذیه یک ساعته و سپری شدن زمان ۱۳ ساعته فضولات همراه با پلاستیک جمع آوری و مجدداً وزن کشی گردیدند. تفاوت وزن اولیه و وزن ثانویه بیانگر میزان فضولات هر تکرار آزمایشی بود. علاوه بر فضولات، میزان خوراک مصرفی طی مدت یکساعت تغذیه نیز برای هر تکرار بدقت اندازه‌گیری شد. فضولات جمع آوری شده، پس از جدا کردن پرهای و سایر مواد خارجی، در ظروف پلاستیکی درب دار ریخته شده و به آزمایشگاه تغذیه مؤسسه منتقل و تا زمان آنالیزهای شیمیایی در دمای ۲۰- نگهداری

جدول ۲- درصد ترکیب جیره‌های مورد استفاده در آزمایش تعیین قابلیت هضم پروتئین

فاقد ازت	پودر آرتمیای دریاچه قم	پودر آرتمیای دریاچه ارومیه	پودر آرتمیای استخر	٪	٪	اجزاء جیره (%)
-	-	-	-	۳۱/۶۲	-	پودر ماهی
-	-	-	۵۵/۶۲	-	-	پودر آرتمیای استخر
-	-	۵۴/۴۲	-	-	-	پودر آرتمیای دریاچه ارومیه
-	۵۱	-	-	-	-	پور آرتمیای دریاچه قم
-	-	-	-	-	۳۵	کنجالله سویا
-	-	-	-	-	۵۷/۹۰	ذرت
۵/۵۰	۳	۳	۳	۳	۳	روغن ذرت
۶۸/۸۰	۳۳/۵۰	۳۱/۰۵	۲۸/۰۸	۵۰/۴۰	-	نشاسته ذرت
۱۸	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	-	سوکروز
۳/۵۰	۰/۷۰	-	۱/۵۰	۳	-	سلولز
۰/۴۰	-	-	-	-	۰/۳۰	نمک طعام
۲	-	-	-	۱	۲	دی کلسیم فسفات
۱	۱	۱	۱	۰/۱۸	۱	صفد
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی
۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	اکسید کروم

رابطه ۱

 D_A : قابلیت هضم ازت در ماده خوراکی مورد آزمون (بر حسب درصد) D_D : قابلیت هضم ایلکومی ازت در جیره مخلوط (بر حسب درصد) D_B : قابلیت هضم ایلکومی ازت در جیره پایه (بر حسب درصد)

رابطه ۲

نسبتی از ازت جیره مخلوط که توسط جیره پایه تأمین شده است.

$$S_B = 1 - S_A$$

$$\frac{\text{درصد ازت در جیره}}{\text{درصد ازت در محتویات ایلکوم}} \times \frac{\text{درصد ازت در محتویات ایلکوم}}{\text{درصد ازت در جیره}} = \frac{\text{مقدار ازت دفعی در ایلکوم}}{\text{مقدار ازت دفعی در جیره}}$$

(بر حسب درصد) (بر حسب درصد)

رابطه ۳

نسبتی از ازت جیره مخلوط که توسط جیره آزمایشی تأمین شده است.

$$\frac{\text{درصد ازت با پروتئین در محتویات ایلکوم} - \text{درصد ازت با پروتئین در جیره}}{\text{درصد ازت با پروتئین در جیره}} \times 100 = \frac{\text{قابلیت هضم ظاهری ازت}}{\text{قابلیت هضم حقیقی ازت}} \quad (\text{بر حسب درصد})$$

رابطه ۴

مدل آماری تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به قابلیت هضم پروتئین نمونه‌ها، مدل طرح کاملاً تصادفی (CRD) با تکرارهای نا مساوی شامل ۴ تیمار (پودر ماهی، آرتمیای استخر، آرتمیای دریاچه ارومیه و آرتمیای دریاچه قم) با ۴ تکرار بود به استثناء تیمار آرتمیای دریاچه قم که ۳ تکرار داشت. برای قابلیت هضم

$$\frac{\text{درصد ازت دفعی داخلی}}{\text{درصد ازت با پروتئین در جیره}} + \frac{\text{قابلیت هضم ظاهری ازت با پروتئین در جیره}}{\text{قابلیت هضم ظاهری ازت با پروتئین در جیره}} = \frac{\text{قابلیت هضم حقیقی ازت}}{\text{قابلیت هضم حقیقی ازت با پروتئین در جیره}} \quad (\text{بر حسب درصد})$$

$$D_A = \frac{D_D - D_B \times S_B}{S_A}$$

برای اطمینان از صحت نتایج حاصله آزمایش مجدداً تکرار شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مدل آماری تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به قابلیت هضم در آنزیم پیسین، مدل طرح کاملاً تصادفی (CRD) شامل ۴ تیمار (آرتمیای استخر، آرتمیای دریاچه ارومیه، آرتمیای دریاچه قم و پودر ماهی پرو) و ۳ تکرار بود(۲۲). این مدل عبارتست از:

$$y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{رابطه ۹}$$

مشاهده تکرار آام تیمار آام مربوط به صفت مورد بررسی:

اثر تیمار آام

$i: ۱, ۲, ۳, ۴$ و

$j: ۱, ۲, ۳$

$\mu:$ میانگین

$\varepsilon_{ij}:$ خطای مدل

تجزیه و تحلیل آماری این طرح با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پروتئین خام سه نوع پودر آرتمیای دریاچه ارومیه، استخر، دریاچه قم و پودر ماهی (پرو) نشان می‌دهد که بین قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پروتئین آرتمیای دریاچه ارومیه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$) (جدول ۴).

همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، بین تیمارهای پودر آرتمیای استخر، آرتمیای دریاچه قم و پودر ماهی تفاوت معنی‌داری از نظر قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پروتئین وجود ندارد. کمترین میزان قابلیت هضم ظاهری و حقیقی مربوط به تیمار آرتمیای دریاچه ارومیه (به ترتیب $16\% / ۸۷\% / ۸۲\% / ۹۶\%$) و بیشترین میزان مربوط به تیمار پودر ماهی (به ترتیب $20\% / ۸۸\% / ۹۲\% / ۱۲\%$) می‌باشد.

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به قابلیت هضم پروتئین نمونه‌های مورد آزمایش در آنزیم پیسین با روش بیولوژیکی نمونه برداری ایلئومی مطابقت داشت. در این روش نیز فقط بین قابلیت هضم آرتمیای دریاچه ارومیه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید($p < 0.05$).

بین تیمارهای پودر آرتمیای استخر، آرتمیای دریاچه قم و پودر ماهی تفاوت معنی‌داری از نظر قابلیت هضم پروتئین در آنزیم پیسین وجود ندارد.

ظاهری و حقیقی به طور جداگانه تجزیه و تحلیل آماری انجام گرفت. برای این منظور از مدل زیر استفاده شد(۲۲).

$$y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} \quad \text{رابطه ۵}$$

مشاهده تکرار آام تیمار آام مربوط به صفت مورد بررسی:

اثر تیمار آام

$i: ۱, ۲, ۳, ۴$ و

$j: ۱, ۲, ۳, ۴$

$\mu:$ میانگین

$\varepsilon_{ij}:$ خطای مدل

تجزیه و تحلیل آماری این طرح با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

روش *in vitro*

در این مرحله قابلیت هضم نمونه‌ها با استفاده از روش هضم در آنزیم پیسین به شرح زیر صورت گرفت:

۲ گرم نمونه (از انواع پودر آرتمیا یا پودر ماهی پرو) با دقت 0.01% ۴۵۰ میلی لیتر از محلول پیسین - اسید کلریدریک (این محلول از حل شدن $0.2\% / ۰.075\%$ مولار اسید کلریدریک حاصل گردیده بود) که قبل از دمای 40°C سانتی گراد گرم شده بود به ارلن مایر ذکر شده اضافه گردید. محلول نمونه و محلول پیسین اسید کلریدریک به مدت 48 ساعت در انکوباتور در دمای $1 \pm 40^\circ\text{C}$ درجه سانتیگراد قرار گرفت. بعد از این مدت 15 میلی لیتر از اسید کلریدریک با وزن مخصوص $1/125\text{ g}$ در میلی لیتر به آن اضافه شد و تا دمای 20°C درجه سانتی گراد خنک گردید. سپس به وسیله یک کاغذ صافی، محلول فوق صاف گردید و میزان پروتئین خام موجود در بقایای هضم نشده با استفاده از روش کلدار تعیین شد. درصد قابلیت هضم در پیسین پروتئین خام نمونه‌ها بواسیله روابط زیر محاسبه گردید(۳). برای اطمینان از نتایج بدست آمده، این آزمایش دو مرتبه تکرار شد.

رابطه ۶

پروتئین خام موجود در بقایای هضم نشده - پروتئین خام موجود در نمونه اولیه = پروتئین خام هضم شده

$$\frac{\text{پروتئین خام هضم شده}}{\text{وزن نمونه}} \times 100 = \% \text{ پروتئین قابل هضم نمونه}$$

$$\frac{\text{درصد پروتئین قابل هضم نمونه}}{\text{درصد پروتئین خام نمونه}} \times 100 = \% \text{ قابلیت هضم پروتئین خام}$$

جدول ۳- میزان مواد مغذی و کروم نمونه‌های جیره غذایی (بر حسب درصد ماده خشک)

الیاف خام	کلسیم	فسفر	سدیم	کروم	پروتئین خام	ازت	ماده خشک	نوع جیره	
								ماده مورد آزمایش	
۳/۷۲	۰/۴۰	۰/۵۰	۰/۲۲	۰/۲۷	۲۳/۶۳	۳/۷۸	۹۲/۲۸	پایه	
۲/۷۸	۱/۲۶	۰/۵۷	۰/۲۲	۰/۳۳	۲۲/۹۴	۳/۶۷	۹۳/۰۳	پودر ماهی	
۲/۸۰	۱/۴۰	۰/۶۰	۰/۵۰	۰/۳۰	۲۰/۴۰	۳/۲۶	۹۲/۹۰	پودر آرتیمیا استخر	
۳/۰۰	۱/۵۰	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۳۱	۲۵/۱۳	۴/۰۲	۹۳/۵۹	پودر آرتیمیا دریاچه ارومیه	
۲/۶۰	۱/۲۰	۰/۷۱	۰/۶۵	۰/۲۹	۲۰/۶۳	۳/۳۰	۹۴/۰۵	پور آرتیمیا دریاچه قم	
۳/۰۰	۰/۸۲	۰/۳۷	۰/۱۸	۰/۳۶	۰/۶۰	۰/۱۰	۹۴/۲۹	جیره فاقد پروتئین	

استخر و دریاچه قم قابلیت هضم پائین تری را نیز از خود نشان داده است. نتایج این آزمایش با نتایج Parsons (۱۵) مطابقت دارد اما با نتایج Ravindran و همکاران (۲۱) مغایرت دارد.

Parsons (۱۵) در آزمایشی که بر روی خوراک‌های حیوانی شامل پودر گوشت و استخوان و پودر ضایعات طیور انجام داد نتیجه‌گیری نمود که میزان خاکستر هیچگونه تاثیر منفی بر روی قابلیت هضم پروتئین و آمینو اسیدهای این دو پروتئین حیوانی ایجاد نکرده است.

Ravindran و همکاران (۲۱) نشان دادند که قابلیت هضم آمینو اسیدها همبستگی منفی با میزان خاکستر دارد و نمونه‌های حاوی سطوح بالای خاکستر قابلیت هضم پائینی دارند.

نتایج این تحقیق با یافته‌های Kadim و همکاران (۱۱) مطابقت دارد. ایشان قابلیت هضم حقیقی پروتئین و آمینو اسیدهای ایلثومی و فضولات را در چند پروتئین گیاهی و حیوانی محاسبه کردند. نتایج بدست آمده نشان داد که قابلیت هضم پروتئین‌های سور‌گوم، گندم، کنجاله سویا و پودر ماهی بالاتر، اما قابلیت هضم پروتئین‌های پودر گوشت استخوان و پودر خون به طور قابل توجهی پائین تر است. در این آزمایش آنها نتیجه‌گیری کردند که داده‌های قابلیت هضم ایلثومی از اعتبار بیشتری نسبت به نتایج قابلیت هضم فضولات برخوردار است.

اختلاف مشاهده شده در قابلیت هضم پروتئین انواع آرتیمیا در این آزمایش نظرات Watanabe (۲۵) را که اظهار داشت ارزش غذایی آرتیمیا در حیوانات دریایی از سویه ای به سویه دیگر بسته به موقعیت جغرافیایی متفاوت است را مورد تائید قرار می‌دهد.

همچنین این نتایج با نتایج Lavens و Sargeloos (۱۲) که ارزش تغذیه‌ای آرتیمیا را به عنوان منبع غذایی برای ماهیان دریایی، متغیر اعلام کرده بود، مطابقت دارد. در این رابطه Kadim و Moughan (۱۰) اشاره نمودند که زمان پس از شروع تغذیه برای نمونه‌برداری از محتویات تاثیر معنی‌داری بر روی قابلیت هضم ظاهری ایلثومی ازت برای کنجاله سویا، پودر ماهی، گندم و ذرت نداشته

کمترین میزان قابلیت هضم در آنزیم پیپسین مربوط به تیمار آرتیمیا دریاچه ارومیه (۹۰/۴۷٪) و بیشترین میزان مربوط به تیمار آرتیمیا دریاچه قم (۹۲/۷۴٪) می‌باشد (جدول ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

علت معنی‌دار شدن قابلیت هضم ظاهری و حقیقی پروتئین پودر آرتیمیا دریاچه ارومیه نسبت به سایر تیمارها احتمالاً به دلیل بیشتر بودن پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای در این ماده خوراکی می‌باشد. پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای در Anisson و Choct نیز در تحقیق خود به این نتیجه رسیدند که توانایی جوجه‌های گوشتی در استفاده از پروتئین و آمینو اسیدها اساساً به دلیل تنوع در وجود پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای می‌باشد (۷). بالا بودن قابلیت هضم پروتئین پودر ماهی نیز نسبت به سایر تیمارها به دلیل مقدار پائین الیاف خام و خاکستر آن در مقایسه با تیمارهای حاوی پودر آرتیمیا می‌باشد.

نیز در آزمایشی که بر روی چند پروتئین حیوانی انجام داد قابلیت هضم پروتئین پودر ماهی را بالاتر از سایر پروتئین‌های حیوانی اعلام نمود (۱۴).

در این آزمایش میزان خاکستر نمونه‌های حاوی پودر آرتیمیا تاثیر معنی‌داری را بر روی قابلیت هضم پروتئین آنها نداشته است و علی‌رغم پایین بودن میزان خاکستر آرتیمیا دریاچه ارومیه نسبت به آرتیمیا

جدول ۴- مقایسه میانگین قابلیت هضم پروتئین خام با استفاده از روش نمونه برداری ایلثومی (ظاهری و حقیقی) و آنزیم پیپسین (بر حسب درصد) سه نوع پودر آرتیمیا و یک نوع پودر ماهی (پرو)

تیمار	قابلیت هضم ظاهری	قابلیت هضم حقیقی	قابلیت هضم در آنزیم پیپسین
آرتیمیا استخر	۸۶/۹۲a	۹۱/۳۲a	۹۱/۸۶a
آرتیمیا دریاچه ارومیه	۸۲/۹۶b	۸۶/۸۷b	۹۰/۴۷b
آرتیمیا دریاچه قم	۸۵/۸۱a	۹۰/۱۶a	۹۲/۷۴a
پودر ماهی (پرو)	۸۸/۰۲a	۹۲/۱۲a	۹۲/۰۹a

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$).

پیشنهادات

نتایج این تحقیق نشان داد که پودر آرتیمیا^۱ را می‌توان به عنوان یک مکمل پروتئین حیوانی جدید به فهرست مواد خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور اضافه کرد. از جمله مزایای پودر آرتیمیا در مقایسه با سایر پروتئین‌های حیوانی می‌توان به عدم وجود استخوان، مو، پر و محتویات دستگاه گوارشی در آن اشاره نمود. همچنین برای فرآوری و تهیه آن نیاز به دمای بالا و فشار مخصوص نیست و با درجه حرارت های پائین (۶۰-۵۰ درجه سانتیگراد) و حتی در آفتاب می‌توان آنرا خشک نمود. از این رو مسئله حفظ کیفیت پروتئین‌های حیوانی در هنگام تهیه آن که امروزه تحقیقات زیادی در این زمینه در حال انجام است برای تهیه پودر آرتیمیا از اهمیت کمتری برخوردار است.

با توجه به شرایط موجود در کشور ایران و داشتن مناطق گسترده کویری، از آنجایی که این مساحت را به راحتی می‌توان در آب‌های شور و مناطق کویری و در گودال‌ها و آبگیرهای این مناطق پرورش داد لذا پتانسیل بسیار خوبی علاوه بر دریاچه‌های طبیعی موجود در ایران برای توسعه کشت و پرورش و تولید انبوه آرتیمیا به صورت مصنوعی در کشور وجود دارد. به این ترتیب علاوه بر افزایش تولید آرتیمیا فشار کمتری به اکوسیستم طبیعی وارد می‌شود و از صدها هزار هکتار زمین‌رعای در حاشیه دریاها جهت فعالیت تولیدی-اقتصادی فوق العاده سودآور استفاده می‌شود و باعث اشتغال زایی می‌گردد. نتایج این تحقیق نیز همانطور که نشان داده شد، قابلیت هضم پروتئین آرتیمیا در برخی از نمونه‌ها بسیار خوب و هم ردیف پودر ماهی است. توصیه می‌شود با توجه به اهمیت بالانس اسیدهای آمینه در جیره غذایی طیور توسط تکنیک‌های مرسوم نظری نمونه برداری از ایلئوم، قابلیت هضم اسیدهای آمینه موجود در پودر آرتیمیا نیز اندازه‌گیری شود.

سپاسگزاری

از ریاست محترم، مسئولین و همکاران گرامی بخشنده تغذیه و بررسی‌های طیور موسسه تحقیقات علوم دامی موسسه تحقیقات شیلات، مرکز تحقیقات آرتیمیا، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم که در اجرای این تحقیق همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

پاورقی‌ها

1- Part Per Thousand

2 - Artemia meal

منابع مورد استفاده

- ۱ - آق‌ن، حسینی فطره، ۱۳۸۱؛ بررسی میزان پروتئین، چربی و پروفیل اسیدهای چرب آرتیمیا دریاچه ارومیه در مراحل مختلف رشد. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۵۴، ص ۸۹-۸۵.
- ۲ - خیامی، م، حیدری، ر، ۱۳۷۴؛ تعیین میزان چربی، پروتئین و ترکیب کل اسیدهای آمینه در آرتیمیا دریاچه ارومیه. مجله پژوهش و سازندگی شماره ۲۷، ص ۱۲۰-۱۱۸.
- ۳ - جان محمدی، ح، ۱۳۷۴؛ ارزشیابی کیفیت پروتئین پودر ماهی کیلکای ایران

است اما برای پودر گوشت و استخوان و کنجاله تخم پنبه این تاثیر مشاهده شده است. ایشان زمان مناسب جهت نمونه برداری از محتویات ایلئومی را برای پودر گوشت و استخوان و پودر ماهی ۴ ساعت پس از شروع تغذیه اعلام نمودند.

این احتمال وجود دارد که پائین بودن قابلیت هضم پروتئین آرتیمیا دریاچه ارومیه نسبت به پودر ماهی بهدلیل تاثیر مدت زمان نمونه برداری از محتویات ایلئومی پس از شروع تغذیه باشد.

نتایج بدست آمده از روش آزمایشگاهی اندازه‌گیری قابلیت هضم پروتئین نمونه‌ها در آنزیم پیپسین با نتایج حاصل از اندازه‌گیری قابلیت هضم ظاهری و حقیقی در شرایط *In vivo* مطابقت دارد. در این آزمایش نیز تیمارهای حاوی پودر آرتیمیا استخر، آرتیمیا دریاچه قم و پودر ماهی تفاوت معنی داری را از نظر قابلیت هضم پروتئین از خود نشان ندادند. علی‌رغم این موضوع اما ملاحظه می‌شود که قابلیت هضم پروتئین آرتیمیا دریاچه قم حتی از قابلیت هضم پروتئین پودر ماهی نیز از نظر عددی بیشتر شده است که این نشان از برتری کیفی پروتئین این ماده خوارکی می‌باشد.

در این آزمایش همانند آزمایش اندازه‌گیری قابلیت هضم پروتئین بر روی جوجه‌های گوشتی، پروتئین آرتیمیا دریاچه ارومیه قابلیت هضم پائین تری را نسبت به سایر تیمارها از خود نشان داده و اختلاف معنی داری را بوجود آورده است ($P < 0.05$).

نتایج این آزمایش با نتایج Ravindran (۲۱) و جان محمدی (۳) مطابقت دارد، اما با یافته‌های Parsons و همکاران (۱۷) مغایرت دارد. Ravindran و همکاران (۲۱) قابلیت هضم ظاهری ایلئومی و پیپسین آمینو اسیدهای ۱۹ نمونه پودر گوشت و استخوان از کارخانجات مختلف در نیوزیلند را بر روی جوجه‌های گوشتی مورد ارزیابی قرار دادند. قابلیت هضم پیپسین بین $\frac{۹۴}{۴} / \frac{۹۴}{۳} - \frac{۸۴}{۳}$ درصد بود. نتایج آزمایش ایشان نشان داد که قابلیت هضم پیپسین تفاوت زیادی با قابلیت هضم در شرایط *In vivo* جان محمدی (۳) در تحقیق خود نتیجه‌گیری کرد که در اغلب پودرهای ماهی، درصد قابلیت هضم پروتئین با روش آنزیم پیپسین بالای ۹۰ درصد بوده و در مورد پودر ماهی پرو این میزان $\frac{۹۳}{۷} / \frac{۷۴}{۳}$ بدست آمده است.

نتایج بدست آمده در این آزمایش نشان داد که ماهیت ماده خوارکی و کیفیت پروتئین آن باعث افزایش قابلیت هضم آرتیمیا دریاچه قم نسبت به سایر تیمارها شده است. در این رابطه Parsons و همکاران (۱۷) اعلام نمودند که بدليل ماهیت مواد خام و روش‌های عمل‌آوری و تهیه، کیفیت پروتئین‌های حیوانی به طور قابل توجهی متفاوت می‌باشد.

عامل دیگر میزان چربی بالای پودر آرتیمیا دریاچه قم است که می‌تواند کیفیت پروتئین را در برابر اثرات مخرب حرارت محافظت نماید. Shirley و Parsons (۲۳) در تحقیق خود اظهار داشتند که میزان چربی و رطوبت زیاد مواد خام ممکن است پروتئین را از اثرات مخرب عمل‌آوری محافظت نماید. Ras و همکاران (۱۹) در یک آزمایش تغذیه‌ای به مدت ۹ هفته، پودر آرتیمیا آفتاب خشک را جایگزین پودر ماهی در تغذیه جوجه‌های یک روزه گوشتی نمودند. ایشان اظهار داشتند که آرتیمیا یا میگوی آب شور را می‌توان به عنوان یک ماده خوارکی با انرژی و پروتئین بالا در تغذیه طیور مورد استفاده قرار داد.

به وسیله روش‌های شیمیائی و بیولوژیکی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

4-Abatzopoulos, TH.J., J.A. Beardmore., J.S. Clegg. and P.Sorgeloos.2002; Artemia:Basic and Applied Biology.Kluwer Academic Publishers.255-285

5- Ammerman, C.B.,D.H.Baker., A. J. Lewis. 1995; Statistical evaluation of bioavailability assays.in Bioavailability of Nutrients for Animals-amino acids,minerals and vitamins.Academic press. pp: 5-33.

6- Association of official Analytical chemist (A. O. A. C). 1994; Official method of Analysis, 16th edition. Washington. D. C. U.S.A.

7-Choct,M.,and G.Anisson.1990; Anti nutritive activity of wheat pentosans in poultry diets.Poultry Science.31:809-819.

8-Han,Y.,C.M.Parsons.1991; Protein and amino acid quality of feather meals. Poultry Science.70:812-822.

9-Kadim,I.T.,P.J.Moughan.1997a; Development of an ileal amino acid digestibility assay for the growing chicken-Effects of time after feeding and site of sampling.British Poultry Science.38:89-95.

10-Kadim,I.T.,P.J.Moughan.1997b; Ileal amino acid digestibility assay for the growing meat chicken-Effects of the imposition of a fasting period and the nature of the test diet.British poultry science.38:285-290.

11-Kadim,I.T.,P.J.Moughan.,V.Ravindran.2002; Ileal amino acid digestibility assay for the growing meat chicken – comparison of ileal and excreta amino acid digestibility in the chicken.British Poultry Science.44:588-597.

12- Lavens,P.and P.Sorgeloos.1996.Manual on the production and use of live food for aquaculture.Food and agriculture organization of the united nations.186-199.

13-Leger,P.,E.Naessens, and P.Sorgeloos.1987; International study on artemia .Techniques to manipulate the fatty acid profile in *Artemia naupliai* and the effect on its nutritional effectiveness for marine crustacean mysidopsis bahia.Artemia research and its

applications,vol.3,Universa press,Wetteren.Belgium,p.411-424.

14-Parsons,C.M.1991; Current status of amino acid digestibility work reviewed. Feedstuffs.13-14.

15-Parsons,C.M.1999; Protein quality and amino acid digestibility.Multi-state poultry meeting,May 25-27.

16-Parsons,C.M.2002; Digestibility and bioavailability of protein and amino acids.In.Poultry feedstuffs.chapter 8.115-135.

17-Parsons,C.M.,F.Castanon, and Y.Han.1997; Protein and amino acid quality of meat and bone meal.Poultry Science.76: 361-368.

18- Payne, W.L., G. F. Combs., R. R. Kifer, and D.G.Snider. 1968; Investigation of protein quality-ileal recovery of amino acids.Federation proceedings, 27:1199-1203.

19-Ras,M.B.B.,N.Agh.,M.Y.Yahyazadeh.,J.Sahebkalam.,M.Hojjati.2002; Chemical composition and nutritive value of *Artemia urmiana* in broiler ration.World Aquaculture.April 23-27.Beijing,China.

20-Ravindran,V.,W.L.Bryden.1999; Amino acid availability in poultry-*in vitro* and *in vivo* measurements.Aust.J.Agric.Res.50: 889-908.

21-Ravindran,V.,W.H.Hendriks.,B.J.Camden.,D.V.Thomas.,P.C. Morel, and C.A.Butts.2002; Amino acid digestibility of meat and bone meals for broiler Chickens.Aust.J.Agric.Res.53:1257-1264.

22-SAS Institue,1992; A software system for data analysis,Inc.North Carolina.USA.

23-Shirley,R.B. and C.M.Parsons.2000; Effect of pressure processing on amino acid digestibility of meat and bone meal for poultry.Poultry Science.79:1775-1581.

24-Summers,D.J.,A.R.Robblee.1985; Comparison of apparent amino acid digestibilities in anesthetized versus sacrificed chickens using diets containing soybean meal and canola meal.Poultry Science.64:536-541.

25-Watanabe,T.1987; The use of artemia in fish and crustacean farming in Japan.Artemia research and its applications.vol 3:373-393.

