



مقاله علمی - پژوهشی:

اثر پروتئین آبکافته امعاء و احساء ماهی قزلآلای رنگین کمان در جیره بر عملکرد رشد، ترکیب لашه، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی روده در تاس ماهی سیبری (Oncorhynchus mykiss) جوان

سکینه یگانه^{*}، میلاد عادل^{*}

*s.yeganeh@sanru.ac.ir;
skyeganeh@gmail.com

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: آبان ۱۴۰۱

چکیده

این مطالعه با هدف تعیین اثر سطوح مختلف پروتئین آبکافته امعاء و احساء ماهی قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در جیره بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی تاس‌ماهی سیبری جوان (*Acipenser baerii*) انجام شد. برای این منظور، عدد تاس‌ماهی سیبری جوان با وزن اولیه 57 ± 3 گرم در 12 مخزن با حجم 2000 لیتر توزیع شدند. در هر مخزن 25 ماهی معرفی و طی مدت 56 روز با سطوح مختلف پروتئین آبکافته (PH) در چهار تیمار شامل: سطوح صفر (شاهد)، 5 (5PH)، 10 (10PH) و 20 (20PH) گرم پروتئین آبکافته شده به ازاء هر کیلوگرم جیره غذاهی شدند. بر اساس نتایج، تمام شاخص‌های رشد در تیمارهای حاوی پروتئین آبکافته نسبت به شاهد بهبود یافت ($p < 0.05$). به طوری که بیشترین میزان نرخ رشد ویژه، وزن اکتسابی و درصد افزایش وزن در 10PH به دست آمد ($p < 0.05$). در این تحقیق، کمترین میزان ضربیت تبدیل غذایی در تیمار 10PH و بیشترین میزان آن در شاهد بود ($p < 0.05$). همچنین ماهیان تغذیه شده با 10PH بالاترین مقدار پروتئین خام (19.10 ± 1.10 درصد) و پایین‌ترین درصد چربی خام (15.05 ± 0.50) را در ترکیب لاشه نشان دادند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در تیمار 10PH به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). همچنین فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار 10PH به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و 5PH بود ($p < 0.05$). تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار 10PH ، بالاترین میزان را نشان داد ($p < 0.05$). در مجموع، تأثیر پروتئین آبکافته ضایعات ماهی قزلآلای رنگین کمان به ویژه در تیمار 10PH بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک روده در تاس‌ماهی سیبری جوان مثبت و معنی‌دار بوده است و تیمار 10 درصد پروتئین هیدرولیز شده برای بهبود شاخص‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌گردد.

لغات کلیدی: تاس‌ماهی سیبری، پروتئین آبکافته، شاخص‌های رشد، آنزیم‌های گوارشی، فلور روده

*نویسنده مسئول

مقدمه

می شود. ضایعات آبزیان، غنی از پروتئین و مواد مغذی هستند (Bhaskar *et al.*, 2008) به طوری که پودر آبکافت شده حاصل از اماع و احشاء قزلآلای رنگین کمان، حدود ۸۸ درصد پروتئین دارد (Taheri *et al.*, 2013) و در صورت بهره برداری صحیح، منجر به تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا می گردد (اویسی پور و قمی، ۱۳۸۷). از این ضایعات می توان در کارخانه های مخصوص، محصولاتی با ارزش افزوده بالا (آردماهی، روغن ماهی، سس ماهی، رنگدانه ها، کیتین، کیتوزان، کلاژن، ژلاتین، کلسیم، کنستانتره طعم) و آنزیم های مختلف تولید و استخراج کرد (ریحانی پول و همکاران، ۱۳۹۵).

آبکافت آنزیمی، یک فناوری ایده آل برای تبدیل محصولات فرعی کم ارزش فراوری ماهی، به محصولات زیست فعال کاربردی است. برای تبدیل ضایعات ماهی و بخش های کم مصرف آنها به پروتئین، از روش های شیمیایی و بیوشیمیایی استفاده می شود. در روش آبکافت بیوشیمیایی پروتئین ماهی، آنزیم های مناسب بسیاری از قبیل پاپائین، آلکالاز، پروتامکس، نئوتراز و ... توصیف شده اند (Aspmo *et al.*, 2005). به طور کلی، آنزیم آلکالاز به دلیل عملکرد در pH قلیایی، تولید پروتئین آبکافتی با درجه آبکافت بالاتر و طول زنجیره پیتیدی کوتاه تر بیشترین توجه را به خود اختصاص داده است (Javaherdoust *et al.*, 2020). پروتئین های آبکافت شده از پیتیدهایی به اندازه ۲-۲۰ آمینواسید تشکیل شده اند (Meisel and FitzGerald., 2003). این پیتیدها می توانند به عنوان ترکیبات غذایی عملکردی یا افزودنی های سالم برای بهبود سلامتی و پیشگیری از بیماری ها مورد استفاده قرار گیرند. پیتیدهای زیست فعال در طول توالی پروتئین های مادری غیر فعال هستند، اما طی فرایند آبکافت در دستگاه گوارشی یا به صورت مصنوعی با آنزیم های پروتئینی آزاد می شوند (جواهردوست و همکاران، ۱۳۹۸؛ Nasri *et al.*, 2013). پروتئین های آبکافت شده فعالیت های بیولوژیک از جمله Ktari *et al.*, 2012; Yeganeh *et al.*, 2022; Reyhani Poul and Yeganeh, 2022 توکانی کاهش کلسترول (Khaled *et al.*, 2012)

آبزی پروری نقش بسیار مهمی در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء می کند (Tacon and Metian, 2008). ماهی به عنوان یک آبزی به منابع غذایی دارای انرژی و سایر مواد غذایی برای رشد، تولید مثل و سلامت نیاز دارد (Lovell, 1998). تغذیه در آبزی پروری از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا نزدیک به ۶۰ درصد از هزینه های تولید آبزیان را هزینه غذا تشکیل می دهد (Sinha *et al.*, 2011). پرورش ماهیان در سیستم های متراکم و محیط های مصنوعی منجر به قرار گرفتن آنها در معرض عوامل استرس زای مختلف و بیماری ها می گردد که در شرایط طبیعی مشابه این حالت برای آنها ایجاد نمی شود (Adel *et al.*, 2021). بنابراین، برای کاهش ضرر های اقتصادی ناشی از این بیماری ها، بهبود و افزایش عملکرد سیستم ایمنی آبزیان اهمیت دارد (شیخ زاده و همکاران، ۱۳۸۸).

میزان تولید آبزیان جهان (صید و آبزی پروری) در سال ۲۰۲۰، ۱۷۸ میلیون تن (FAO, 2022) و در ایران ۱۲۶۸۷۱۹ تن در سال ۱۳۹۹ برآورد شده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۴-۹۹). این میزان تولید، دارای حجم بالایی از ضایعات شامل فلکس، پوست، اماع و احشاء، استخوان ها و ستون فقرات بود (Benjakul and Morrissey, 1997). مدیریت صحیح این ضایعات نه تنها می تواند از مشکلات جدی زیست محیطی ناشی از دور ریز شدن آنها جلوگیری کند بلکه می تواند سبب تولید محصولات با ارزش از آنها گردد. بر اساس گزارش سازمان شیلات ایران، در سال ۱۳۹۹ میزان تولید قزلآلای رنگین کمان در کشور ۱۹۰۲۸۷ تن بوده است (سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۴-۹۹). حدود ۲۰ درصد از وزن کل یک ماهی قزلآلای رنگین کمان ۶۰۰ گرمی را ضایعات ۱۵ درصد اماع و احشاء و ۵ درصد سایر ضایعات از جمله سر، تشکیل می دهد (ریحانی پول و همکاران، ۱۳۹۵). بنابراین، با توجه به میزان تولید، طی مصرف این ماهی، مقادیر زیادی ضایعات در خانه های مردم، رستوران ها و درصد بسیار کمی نیز در کارخانه های فراوری آبزیان تولید شده است. این رقم ضایعات با اندکی تغییر هر ساله تولید

خاویاری که در ایران پرورش داده می‌شود، تاسماهی سیبری است. آمار تولید پرورش ماهیان خاویاری در ایران به تفکیک گونه گزارش نمی‌شود و در سال ۱۳۹۹ میزان تولید ماهیان خاویاری ۳۵۰۳ تن بوده است (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۴-۹۹).

با توجه به علاقمندی محققان در معرفی جایگزین‌های پودر ماهی، اغلب مطالعات انجام شده در ارتباط با پروتئین آبکافته بر سطوح جایگزینی تمرکز داشته و تعداد خیلی اندکی، این گزینه را به عنوان افزودنی مورد بررسی قرار داده‌اند. از جمله این مطالعات می‌توان به بررسی پروتئین آبکافته به عنوان جایگزین منبع پروتئینی جیره در مورد ماهی شانک (*Pagrus major*) (Bui et al., 2014) باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (Kotzamanis et al., 2007) (*Pseudosciaena* (et al., 2007) (*Tang et al.*, 2008) (*crocea* R. Masuda et al., 2013) (*Anguilla japonica*) نمود. همچنین در مطالعات طاهری و همکاران (۱۳۹۰ و ۱۳۹۲) مصرف پروتئین آبکافته شده ساردين پهلو طلایی (*Sardinella gibossa*) در پرورش آلوین و لارو ماهی قزلآلای رنگین‌کمان اثرات مشتبی بر رشد، بقا، فلور باکتریایی روده و ترکیب آمینواسیدهای بدن و در مطالعه جواهردوست و همکاران (۱۳۹۸) و Javaherdoust و همکاران (۲۰۲۰) نیز تاثیر مثبت استفاده از پروتئین آبکافته ضایعات ماهی قزلآلای رنگین‌کمان در جیره این ماهی مشاهده شده، اما تاکنون مطالعه‌ای با هدف تعیین تاثیر استفاده از پروتئین آبکافته شده حاصل از امعاء و احشاء قزلآلای رنگین‌کمان به عنوان یک افزودنی در جیره تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) در بانک‌های اطلاعاتی در دسترس نویسنده‌گان گزارش نشده است. لذا، هدف از این تحقیق تعیین تاثیر پروتئین آبکافته شده حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزلآلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، آنزیمهای گوارشی و فلور باکتریایی تاسماهی سیبری جوان بوده است.

فعالیت ضد انعقادی (Nasri et al., 2012) ایفاء می‌کنند. بنابراین، می‌توانند به عنوان دارو مورد استفاده قرار گیرند (Erdmann et al., 2008). همچنین مطالعات نشان داده است، پیتیدهای حاصل از پروتئین آبکافته شده می‌تواند محرك فعالیت اینمی و محرك ماکروفازی باشد (Bøgwald et al., 1996; Bui et al., 2014) مزایای پروتئین‌های آبکافته می‌توان به افزایش قابلیت جذب آنها، افزایش میزان پیتون‌ها (پیتیدهای با وزن مولکولی کم که از قابلیت اتحلال در آب برخوردارند)، افزایش میزان اسیدهای آمینه آزاد که می‌توانند به عنوان اسیدهای آمینه طعمزا مطرح باشند، اشاره نمود (Aspmo et al., 2005). مطالعات نشان داده است، افزودن پودر پروتئین آبکافته شده می‌تواند بر هضم‌پذیری اثر مثبت داشته باشد و در نتیجه، سبب جذب بهتر می‌شود (Bui et al., 2014) همچنین در مطالعات Zheng و همکاران (۲۰۱۲) بر ماهی فلاندر (*Paralichthys olivaceus*), در سطح ۳۷ گرم پودر پروتئینی آبکافته شده بر کیلوگرم جیره بهبود هضم‌پذیری مشاهده شده است. پروتئین آبکافته مورد استفاده در جیره ماهی می‌تواند رشد و بقاء را افزایش دهد، باعث بلوغ زودرس لوله گوارش شود و بر جمعیت باکتریایی روده تأثیر داشته باشد (Kotzamanis et al., 2007). دلیل این بهبود تعادل اسیدهای آمینه آزاد، پیتیدها و پروتئین‌ها و تأثیر مثبت آن در هضم و جذب بیان شده است، اما بر اساس گزارش‌ها استفاده بیش از حد از این ماده در تغذیه ماهی می‌تواند تأثیرات منفی بر رشد و بقاء موجود داشته باشد (طاهری و همکاران، ۱۳۹۲؛ Espe et al., 1999).

TASماهی سیبری (*Acipenser baerii*) گونه بومی رودخانه‌های بزرگ سیبری و دریاچه‌های اروپا و به عنوان گونه پرورشی مطرح در اروپاست که از آن برای تولید گوشت و استحصال خاویار استفاده می‌شود (Jeney and Jeney, 2002). این گونه به لحاظ تحمل شرایط پرورشی، در خارج از محیط‌های طبیعی نظری دریاچه، رودخانه و ... به منظور تولید گوشت، پرورش می‌یابد و از نظر تولید خاویار حجم بالایی را به خود اختصاص می‌دهد (یزدانی ساداتی و رضایی، ۱۳۹۳). یکی از گونه‌های ماهیان

شرایط پرورش ماهی

برای انجام تحقیق، ۳۰۰ عدد تاس‌ماهی سیبری با وزن اولیه 67 ± 3 گرم از مرکز خصوصی در گیلان تهیه و در ۱۲ مخزن با حجم ۲۰۰۰ لیتر در مزرعه خصوصی در گیلان توزیع گردید. در هر مخزن ۲۵ ماهی قرار گرفت. ماهی‌ها پس از طی ۱۴ روز دوره سازگاری، به مدت ۵۶ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی شامل جیره‌های غذایی حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافت شده (Javaherdoust *et al.*, ۲۰۲۰) در یک کیلوگرم جیره بود و برای هر تیمار، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. جیره شاهد با توجه به جیره تاس‌ماهی سیبری (محتوی ۴۲ درصد پروتئین، ۱۰ درصد خاکستر، ۶ درصد چربی، ۹/۸ درصد رطوبت) و با افلام غذایی در دسترس ساخته شد. جیره‌های آزمایش بر اساس آنالیز تقریبی پودر پروتئین آبکافتی با جایگزینی با آرد ماهی ساخته شدند (جدول ۱). غذاهی با جیره‌های آزمایشی به مدت ۸ هفته و دفعات و میزان غذاده مشابه زمان سازگاری ماهی سه بار در روز و به میزان ۳ درصد وزن بدن انجام شد (هاشمی و همکاران، ۱۴۰۰). منبع آب مورد استفاده، آب چاه با دبی ۴۰ لیتر در ثانیه بود و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب مورد استفاده از قبیل دما ($18/4 \pm 0/6$) سانتی‌گراد، pH ($8/7 \pm 0/7$)، اکسیژن محلول ($6/9 \pm 0/2$ میلی‌گرم/لیتر) و هدایت الکتریکی ($5836/2 \pm 410/2$ میکروزیمنس/سانتیمتر) در طول دوره اندازه‌گیری شد.

آنالیز پودر پروتئین آبکافتی، ترکیب لашه و جیره‌های غذایی
آنالیز ترکیب لاشه، جیره و پودر پروتئین آبکافتی بر اساس روش AOAC (۲۰۰۵) انجام شد و نیز درصد ماده خشک، پروتئین، چربی، خاکستر لاشه و جیره مصرفی تعیین شد.

مواد و روش کار

تهیه پروتئین آبکافت شده از ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

آنزیم آلکالاز از نمایندگی شرکت Novozymes دانمارک تهیه شده و تا زمان شروع آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. شرایط بهینه (تعريف شده) برای این آنزیم pH: ۸/۵، غلظت آنزیم: ۱/۵ درصد و دما: ۵۷/۵ درجه سانتی‌گراد است (Oveissipour *et al.*, 2012).

به میزان ۶ کیلوگرم اماعه و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان ماده خام اولیه، از بازار ماهی‌فروشان بعثت تهران تهیه و در مجاورت يخ (با نسبت ۲:۱ وزنی/وزنی) به آزمایشگاه دانشگاه علوم و تحقیقات واحد تهران منتقل شد. به منظور جلوگیری از فساد، اماعه و احشاء در ظروف پلاستیکی و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد. برای تولید پودر پروتئین آبکافتی، ابتدا ۵۰ گرم از نمونه‌های اماعه و احشاء (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی و سپس هموزن شد)، در ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH: ۲:۱) به ارلن‌مایرها اضافه شد. به منظور غیر فعال سازی آنزیم‌های داخلی، نمونه‌ها، برای مدت ۲۰ دقیقه درون حمام آبی در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از خنک شدن نمونه‌ها، ظروف حاوی نمونه‌ها در دستگاه بن‌ماری و انکوباتور شیکردار قرار داده شد و آنزیم طی شرایط تعریف شده به نمونه‌ها اضافه گردید. پس از اتمام فرآیند آبکافت، به منظور قطع واکنش آنزیمی، نمونه‌ها در ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از خنک شدن تا دمای معمولی اتاق، با استفاده از سانتریفیوژ در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، برای مدت ۲۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰ g، سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت‌ها (مایع رویی) جمع‌آوری و با استفاده از آون تحت خلاء خشک شدند (Oveissipour *et al.*, 2012).

جدول ۱: اجزاء تشکیل دهنده و ترکیب تقریبی جیره مورد استفاده در تیمارهای مختلف پروتئین آبکافت شده امعاء و احشاء ماهی قزلآلای رنگین کمان

Table 1: Dietary ingredients and proximate composition of different visceral protein hydrolysate treatments

ترکیبات (درصد)	شاهد (صفر)	۵ گرم/کیلوگرم	۱۰ گرم/کیلوگرم	۲۰ گرم/کیلوگرم	پروتئین آبکافتی (%)
پودر ماهی کیلکا	۵۷	۵۶/۵	۵۶	۵۵	
آرد گندم	۱۳	۱۳	۱۳	۱۳	
پروتئین آبکافت شده	۰	۰/۵	۱	۲	
پودر گوشت	۶	۶	۶	۶	
کنجاله سویا	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲	
روغن ماهی	۳	۳	۳	۳	
روغن گیاهی	۳	۳	۳	۳	
ژلاتین	۲	۲	۲	۲	
روغن ماهی	۷/۸	۷/۸	۷/۸	۷/۸	
مکمل ویتامینی	۲	۲	۲	۲	
مکمل معدنی	۲	۲	۲	۲	
باپندر	۱	۱	۱	۱	

آنالیز شیمیایی (درصد در وزن خشک)

خاکستر	رطوبت	چربی	پروتئین	۷۷/۸	۴۲/۴۱	۴۲/۳۵	۴۲/۳۶	۴۲/۲۱
				۲/۲۰	۱۵/۱۲	۱۵/۰۶	۱۵/۰۸	۱۵/۱۰
				۱۳/۹۰	۹/۸۶	۹/۷۸	۹/۸۲	۹/۸۰
				۳/۴۰	۱۰/۸۷	۱۰/۹۲	۱۰/۸۲	۱۰/۸۰

هر کیلوگرم مخلوط مکمل ویتامینی شامل: ویتامین A IU ۱۶۰۰۰۰، ویتامین D_۳ ۴۰۰۰۰۰ میلی گرم، نیاسین ۴۰۰۰ میلی گرم، ریبوفالوین ۸۰۰۰ میلی گرم، پیریدوکسین ۴۰۰۰ میلی گرم، فولیک اسید ۲۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B_{۱۲} ۸۰۰۰ میلی گرم، بیوتین ۱ میلی گرم، اینوزیتول ۲۰۰۰۰ میلی گرم، ویتامین C ۶۰۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B_۲ ۸۰۰۰ میلی گرم، ویتامین K_۳ ۲۰۰۰ میلی گرم، ویتامین E ۴۰۰۰ میلی گرم یا IU در هر کیلوگرم غذا. مخلوط مکمل معدنی شامل آهن ۲۶ گرم، روی ۱۲/۵ گرم، سلنیوم ۲ گرم، کالت ۴۸۰ میلیگرم، مس ۴/۲، منگنز ۱۵/۸، ید ۱ گرم

رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بازماندگی بر اساس رابطه‌های ذیل محاسبه شدند:

تعیین شاخص‌های عملکرد رشد

در ابتدا و پایان دوره از ماهیان هر مخزن نمونه برداری و زیست‌سنجی به عمل آمده و افزایش وزن (WG)، ضریب

WG = وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)

SGR = $\frac{100 \times [\text{تعداد روزهای پورش} / (\text{lگاریتم طبیعی وزن اولیه} - \text{lگاریتم طبیعی وزن نهایی})]}{\text{تعداد روزهای پورش}}$

FCR = افزایش وزن (گرم) / غذای مصرف شده (گرم)

۱۰۰ × (تعداد ماهیان ابتدای آزمایش / تعداد ماهیان در پایان آزمایش) = درصد بازماندگی

وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = وزن اکتسابی (گرم)

آنژیم‌های گوارشی

در انتهای دوره، تعداد ۳ ماهی از هر تکرار، برای بررسی فعالیت آنژیم‌های گوارشی نمونه‌برداری شد. دستگاه گوارشی هر یک از ماهی در یک بافر ۵۰ میلی‌مولار-Tris-HCl با نسبت ۹ با دستگاه هموژنایزر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هموژنایز شد. با توجه محلول هموژنایز شده با سرعت ۲۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول رویی پس از جمی‌آوری به فریزر -۸۰- منتقل شد (Yanbo and Zirong, 2006) برای اندازه‌گیری پیپسین و تریپسین از روش توصیف شده Wang Hidalgo و همکاران (۱۹۹۹)، آمیلاز از روش Pavasovic (۲۰۱۱) و لیپاز از روش Hemicaran (۲۰۰۶) استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد و بازماندگی

تمام شاخص‌های رشد (به جز درصد بقاء) در تمام تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی نسبت به تیمار شاهد بهبود یافت (جدول ۲ <0.05) به طوری که بیشترین میزان نرخ رشد ویژه ($2/18 \pm 0.06$ درصد در روز)، وزن اکتسابی ($137/3 \pm 4/5$ گرم) و درصد افزایش وزن تیماری ($20.1/3 \pm 7/1$ درصد) در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک نسبت به سایر تیمارها بهویژه تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (<0.05). در این بررسی کمترین میزان ضربی تبدیل غذایی در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک ($1/32 \pm 0.06$) و بیشترین میزان آن ($1/69 \pm 0.08$) در تیمار شاهد مشاهده شد (<0.05). اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی با تیمار شاهد دیده نشد ($p > 0.05$).

ترکیب شیمیایی بدن

ماهیان تعذیه شده با سطح ۱۰ گرم پروتئین آبکافت شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک به طور معنی‌داری، بالاترین مقدار پروتئین خام ($19/1 \pm 0.04$ درصد) و پایین‌ترین درصد چربی خام ($5/6 \pm 0.05$ درصد) را نشان دادند (جدول ۳، <0.05) در حالی که در مقادیر این دو شاخص بین سایر تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی با تیمار شاهد

فلور باکتریایی روده

در پایان دوره پس از ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه، ۵ ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی صید گردید. پس از بیهوشی و انتقال ماهیان به آزمایشگاه در شرایط استریل کالبدگشایی صورت گرفت. نمونه‌های روده پس از تخلیه کامل محتويات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل شد. پس از هموژن کردن، نمونه‌های روده با استفاده از $0.8\% NaCl$ درصد وزنی/حجمی، رقت‌های $10^{-6} - 10^{-1}$ تهیه گردید. در ادامه، 0.5 میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده به محیط‌های کشت پلیت کانت آگار (PCA) به منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های موجود در میکروبیوتای روده و به محیط کشت MRS¹ یا (جهت تعیین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک) منتقل و به صورت سطحی در پلیت کشت داده شد (Mahious *et al.*, 2006). سپس پلیت‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوایی گرماخانه‌گذاری شد. در نهایت پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، تعداد باکتری‌های هر پلت، بر حسب واحد کلونی (Log CFU) در گرم وزن روده شمارش شد (Makridis *et al.*, 2001).

¹ DeMan Rogosa and sharpe (MRS)

آزمایشی نشان نداد ($p < 0.05$).

تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). درصد رطوبت و خاکستر اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف

جدول ۲: عملکرد رشد تاس ماهیان سiberian تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین آبکافته حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزلآلای رنگین کمان

Table 2: Growth performance of Siberian sturgeon fed with dietary visceral protein hydrolysate

پروتئین آبکافته شده (گرم/کیلوگرم خوراک)				شاخص
۲۰	۱۰	۵	صفر (شاهد)	شاخص
۶۸/۰۰±۱/۱۰ ^a	۶۸/۳۰±۱/۵۰ ^a	۶۸/۰۰±۱/۸۰ ^a	۶۷/۹۰±۱/۴۰ ^a	وزن اولیه (گرم)
۱۹۳/۹۰±۱/۴۰ ^b	۲۰۶/۱۰±۳/۵۰ ^a	۱۹۱/۶۰±۲/۸۰ ^b	۱۸۷/۴۰±۲/۴۰ ^c	وزن نهایی (گرم)
۱۸۳/۵۰±۳/۸۰ ^b	۲۰۱/۴۰±۷/۱۰ ^a	۱۸۱/۸۰±۴/۷۸ ^b	۱۷۵/۶۰±۴/۵۰ ^c	درصد افزایش وزن بدن (BWI)
۱۲۵/۱۱±۱/۷۰ ^b	۱۳۷/۳۰±۴/۵۰ ^a	۱۲۳/۸۰±۳/۸۰ ^b	۱۱۹/۵۰±۲/۶۰ ^c	وزن اکتسابی (گرم)
۲/۰۱±۰/۱۵ ^b	۲/۱۸±۰/۱۶ ^a	۱/۹۴±۰/۱۰ ^b	۱/۷۹±۰/۱۴ ^c	نرخ رشد ویژه (درصد/روز)
۱/۴۹±۰/۱۹ ^b	۱/۳۲±۰/۰۷ ^c	۱/۵۴±۰/۱۴ ^b	۱/۶۹±۰/۰۹ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱۰۰/۰۰±۰/۰۰ ^a	درصد بقاء

میانگین (\pm انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

جدول ۳: ترکیب شیمیایی بدن تاس ماهیان سiberian تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین آبکافته حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزلآلای رنگین کمان

Table 3: Chemical analysis of body composition of Siberian sturgeon fed with visceral protein hydrolysate

پروتئین آبکافته شده (گرم/کیلوگرم خوراک)				شاخص (درصد در وزن خشک)
۲۰	۱۰	۵	صفر (شاهد)	شاخص (درصد در وزن خشک)
۱۸/۲۰±۰/۱۶ ^b	۱۹/۱۰±۰/۱۴ ^a	۱۸/۱۰±۰/۱۷ ^b	۱۷/۹۰±۰/۱۹ ^b	پروتئین خام
۱/۱۹±۰/۱۰ ^a	۱/۱۲±۰/۴۰ ^a	۱/۲۴±۰/۳۰ ^a	۱/۱۶±۰/۱۰ ^a	خاکستر
۶/۴۰±۰/۱۴ ^b	۵/۶۰±۰/۱۵ ^a	۶/۴۰±۰/۱۶ ^b	۶/۵۰±۰/۱۷ ^b	چربی خام
۷۲/۸۰±۰/۲۰ ^a	۷۳/۱۰±۰/۳۰ ^a	۷۴/۰۰±۰/۴۰ ^a	۷۴/۴۰±۰/۵۰ ^a	رطوبت

میانگین (\pm انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

($p < 0.05$). میزان فعالیت آنزیم پیپسین بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری نداشت ($p > 0.05$).

فعالیت آنزیم های گوارشی

در تعداد کل باکتری های هوایی روده اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۵، $p > 0.05$). تعداد باکتری های اسیدلاکتیک در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافته شده در کیلوگرم خوراک، به طور معنی داری بالاترین میزان را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$ ، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای

میزان فعالیت آنزیم های آمیلاز و لیپاز در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافته شده در کیلوگرم خوراک به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴، $p < 0.05$). فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافته به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و ۵ گرم پروتئین آبکافته بود ($p < 0.05$ ، اما با تیمار ۲۰ گرم پروتئین آبکافته تفاوت معنی داری نشان نداد ($p > 0.05$). بین تیمارهای ۵ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافته نیز تفاوت معنی داری در آنزیم تریپسین مشاهده نشد

حاوی پروتئین آبکافتی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جدول ۴: فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با مقادیر مختلف پروتئین آبکافتی حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

Table 4: Intestinal enzyme activities of Siberian sturgeon fed with visceral protein hydrolysate

پروتئین آبکافتشده (گرم/کیلوگرم خوراک)	شاخص (واحد در میلی گرم پروتئین)		
۲۰ (خوراک)	۱۰	۵	صفر (شاهد)
۰/۶۸±۰/۰۴ ^b	۰/۸۷±۰/۰۵ ^a	۰/۶۹±۰/۰۲ ^b	۰/۶۷±۰/۰۱ ^b
۱/۲۶±۰/۱۷ ^b	۱/۵۲±۰/۱۵ ^a	۱/۱۴±۰/۲۴ ^b	۱/۱۶±۰/۱۰ ^b
۱/۴۷±۰/۰۸ ^{ab}	۱/۵۸±۰/۱۰ ^a	۱/۲۲±۰/۰۳ ^b	۱/۱۲±۰/۰۵ ^c
۰/۶۰±۰/۰۵ ^a	۰/۶۴±۰/۰۴ ^a	۰/۵۷±۰/۰۲ ^a	۰/۵۴±۰/۰۳ ^a

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

جدول ۵: فلور باکتریایی روده (بر حسب لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده) تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با مقادیر مختلف پروتئین آبکافتی حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

Table 5: Intestinal bacterial flora (CFU/g intestine) Siberian sturgeon fed with visceral protein hydrolysate

پروتئین آبکافتشده (گرم/کیلوگرم خوراک)	شاخص (لگاریتم واحد کلنی در گرم وزن روده)		
۲۰	۱۰	۵	صفر (شاهد)
۵/۲۰±۰/۱۵ ^a	۵/۲۰±۰/۱۸ ^a	۵/۱۰±۰/۱۲ ^a	۵/۱۰±۰/۱۱ ^a
۱/۴۶±۰/۰۷ ^b	۱/۸۸±۰/۰۵ ^a	۱/۵۶±۰/۰۴ ^b	۱/۴۰±۰/۰۶ ^b

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$).

آبکافتشده به روش آنزیمی در یک سطح میانه‌ای می‌تواند عملکرد رشد و استفاده از غذا در ماهیان را بهبود بخشد و سطوح کمتر و بیشتر از آن می‌تواند سبب اثرات منفی شود (Espe *et al.*, 1999; Hevrøy, 2005) و همکاران (۲۰۲۰) متعاقب مصرف سطح ۱۰ گرم پروتئین آبکافتشده در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش میزان وزن، نرخ رشد بالاتر و بهبود ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌داری همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که هنگام جایگزینی ۱۵-۱۰ درصد از پودر ماهی با پروتئین ماهی آبکافتشده در ماهی سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*), نرخ رشد سریع‌تری به دست آمد. همچنین Zheng و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که پروتئین ماهی آبکافتشده در جیره ماهی تا سطح ۳/۷ درصد می‌تواند باعث افزایش رشد و تغذیه کفشک ماهیان جوان ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) شود درحالی که Oliva-Teles و همکاران

بحث

اثرات مثبت پروتئین‌های آبکافتشده بر رشد ماهیان و تغذیه آنها گزارش شده است (Aksnes *et al.*, 2006b; Zheng *et al.*, 2012). وجود پروتئین آبکافت شده در جیره تاس‌ماهی سیبری باعث افزایش میزان وزن، نرخ رشد بالاتر و بهبود ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد شد و بیشترین مقدار در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافتشده به ازاء هر کیلوگرم خوراک مشاهده گردید. نتایج بررسی حاضر اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی با تیمار شاهد نشان نداد. ماده پروتئینی آبکافتشده، منبع آنزیم و شرایط آبکافت می‌تواند بر نتیجه حاصل از استفاده از این مکمل مؤثر باشد (Klompong *et al.*, 2009). در این مطالعه اختلافات درون هر تیمار کمتر از نیم واحد از مقدار واریانس‌ها مشاهده شد. با این حال، در مطالعات مختلف ذکر شده است که جیره‌های حاوی پروتئین

روبوت و خاکستر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی مشاهده نشد. نتایج این مطالعه با نتایج Bui و همکاران (۲۰۱۴) و Oliva-Teles و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت ندارد، ولی با نتایج Zheng و همکاران (۲۰۱۲) مبنی بر معنی‌دار بودن اثرات پروتئین‌های آبکافت‌شده بر ترکیب شیمیایی کل بدن، مطابقت دارد. در مطالعه Jawaherdoust و همکاران (۲۰۲۰) مقادیر ۱ و ۲ درصد پروتئین آبکافت‌شده در جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین، خاکستر و چربی لاشه ماهیان را نشان داد. ترکیب Bui *et al.*, (Oliva-Teles *et al.*, 1999) و کفشک (2014) تغذیه‌شده با پروتئین آبکافت‌شده (۴/۰۳ درصد، ۴/۲۳ درصد و ۴/۸۵ درصد) اثر معنی‌داری را نشان نداد، ولی آبکافت‌شده فیلترشده را بر ماهیان کفشك گزارش دادند. تفاوت‌های متأثر از پروتئین‌های آبکافت‌شده بر ترکیب شیمیایی کل بدن ماهیان، می‌تواند به دلیل تفاوت منابع آبکافتی و مقادیر مورد استفاده برای ماهیان باشد (Bui *et al.*, 2014). از سوی دیگر، ترکیب شیمیایی بدن همواره تحت تأثیر ترکیب جیره غذایی و حتی درصد و مقدار غذاده‌ی روزانه است (Gawlicka *et al.*, 2002). تفاوت معنی‌دار پروتئین در لاشه ماهیان تغذیه شده با پروتئین آبکافتی می‌تواند متأثر از جذب بهتر پروتئین بوده و کاهش چربی می‌تواند ناشی از خاصیت امولسیفایری پروتئین آبکافتی باشد (Sathivel *et al.*, 2005). به علاوه، وجود امولسیفایرها با تغییر در سرعت عبور غذا در دستگاه گوارش و مدت در معرض قرار گیری با آنزیم‌های گوارشی می‌توانند بر هضم و جذب پروتئین نیز موثر باشند (Lee *et al.*, 2004).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی به عنوان یک شاخص گوارشی و وضعیت تغذیه‌ای در لارو ماهیان مطرح است و هر گونه دستکاری در جیره ماهیان باعث تغییرات بهسزایی در فعالیت آنزیم‌های گوارشی موجود می‌شود (Mohapatra *et al.*, 2012). تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با

(۱۹۹۹) گزارش دادند که جایگزینی بخشی از پودر ماهی با پروتئین آبکافت‌شده ماهی رشد و تغذیه را در ماهیان نوجوان توربیوت (*Scophthalmus maximus*) بهبود نداد. سیلاظ پروتئین میگو در سطح ۱۵ درصد در جیره ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث بهبود Plascencia-Jatomea *et al.*, (Leal و همکاران ۲۰۰۲) در حالی که بر اساس گزارش Kolkovski و همکاران (۲۰۱۰) مقدار ۶ درصدی پروتئین آبکافت‌شده میگو در ماهی تیلاپیای نیل باعث بهبود عملکرد رشد شد. هنگام استفاده از پروتئین آبکافت‌شده در جیره لارو ماهیان و ماهیان نوجوان، رشد ارتقاء پیدا می‌کند. افزایش رشد ماهیان با استفاده از پروتئین‌های آبکافت‌شده احتمالاً می‌تواند به سبب جذب سریع پروتئین آبکافت‌شده باشد که منجر به عور سریع و جذب مواد مغذی از لایه غشاء Aksnes *et al.*, 2006a; Zheng (et al., 2012) به علاوه، افزایش رشد می‌تواند تحت تاثیر فعالیت آنزیم‌های گوارشی باشد که در مطالعه حاضر نیز تغییر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمارهای تغذیه شده با پروتئین آبکافتی مشاهده شده است. یکی از مشکلات پروتئین آبکافتی، تلخی آن است که با توجه به آبگریزی، درجه هیدرولیز، وزن مولکولی، باقیمانده پرولین، نوع آنزیم و توالی آمینواسید متغیر است و این تلخی، استفاده از آن را در جیره محدود می‌کند. استفاده از پروتئین آبکافتی در مقادیر بیشتر در صورتی امکان‌پذیر است که از روش‌هایی مانند استخراج با الکل، تیمار کربن فعال، واکنش میلارد و Idowu سایر روش‌ها جهت حذف تلخی آن استفاده شود (and Benjakul, 2019 برای بهتر بودن فاکتورهای رشد در تیمار ۱۰ گرم نسبت به تیمار ۲۰ گرم باشد).

آنالیز ترکیب شیمیایی بدن در تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین آبکافت‌شده در انتهای دوره نشان داد که ماهیان تغذیه شده با سطح ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک بالاترین مقدار پروتئین خام ($۱۹/۱\pm ۰/۰۴$) و پایین‌ترین درصد چربی خام ($۵/۶\pm ۰/۰۵$) را نشان دادند. در این تحقیق، در درصد

کاملاً مثبت و معنی دار ارزیابی شد. مقادیر بیشتر پروتئین آبکافتی احتمالاً به دلیل تlxی آن نتوانست موجب بهبود بیشتر در فاکتورهای مورد بررسی شود و شاید با استفاده از روش های برطرف نمودن تlxی پروتئین آبکافتی بتوان از اثرات سودمند این ترکیب به عنوان مکمل با مقادیر بیشتر در جیره بهره برد. بنابراین، طبق نتایج حاصل از تحقیق حاضر، با توجه به اینکه تاس ماهی سبیری به عنوان یکی از گونه های مهم خاویاری پرورشی در کشور و دنیا مطرح است، افزودن ۱۰ گرم پروتئین آبکافتی ضایعات ماهی قزلآلای رنگین کمان در کیلوگرم جیره غذایی جهت دستیابی به حداکثر عملکرد رشد پیشنهاد می شود. هر چند که انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین دوز بهینه پروتئین آبکافتی در تاس ماهی سبیری جوان، ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تحت قرارداد با شماره ۰۴-۱۳۹۹-۰۳ انجام شد که به این وسیله سپاسگزاری می شود.

منابع

اویسی پور، م. و قمی، ۱۳۸۷. بیوتکنولوژی در تولید فراورده های دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی تنکابن، ۱۹۲ صفحه.

جواهردoust، ش.، یگانه، س. و کرامت امیرکلایی، ع.، ۱۳۹۸. اثرات استفاده از پروتئین آبکافتی تهیه شده از اماء و احساء ماهی قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در جیره غذایی بر برخی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی بچه ماهی قزلآلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران. Doi: .۲۸(۲): ۷۱-۸۳. 10.22092/ISFJ.2019.118925

ربحانی پول، س.، جعفر پور، س.ع. و صفری، ر.، ۱۳۹۵. خواص کارکردی و آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولید شده از اندرونه ماهی قزلآلای

سطح مختلف پروتئین آبکافت شده نشان داد که میزان فعالیت آنزیم های آمیلاز و لیپاز در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت شده در کیلوگرم خوراک به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافتی به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و ۵ گرم پروتئین آبکافتی بود، اما با تیمار ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی تفاوت معنی داری نداشت. بین تیمارهای ۵ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی نیز تفاوت معنی داری در آنزیم تریپسین مشاهده نشد. پیشیدها نه تنها راحت جذب شده بلکه با تحریک ترشح آنزیم های گوارشی موجب هضم بیشتر و جذب بالاتر مواد غذایی در روده می شوند و عمل تحریک ترشح آنزیم های گوارشی در اثر اعمال مستقیم فعالیت های آنتی اکسیدانی در سلول های پذیرنده روده یا سلول های هدف در داخل بدن است (Anusha et al., 2011).

در بررسی تغییرات در فلور باکتریایی روده (واحد کلنی در گرم وزن روده) تاس ماهیان سبیری تغذیه شده با مقادیر مختلف پروتئین آبکافت شده، تعداد باکتری های اسیدلاکتیک در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت شده در کیلوگرم خوراک، دارای بالاترین میزان بود، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. نتایج مطالعه Yang و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که استفاده از پروتئین هیدرولیز شده در جیره ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) بر تعداد کلی باکتری های روده تأثیری ندارد، ولی در تغییر ترکیب میکروفلور روده و ایجاد تعادل در میکروفلور مفید روده مؤثر است. در مطالعه Siddik و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده شده است که پروتئین آبکافتی از طریق افزایش سطح جذب و ویلی روده باعث افزایش سطح جذب مواد مغذی از روده و بهبود شاخص های رشد ماهی *Lates calcarife* می گردد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، تأثیر پروتئین آبکافتی اماء و احساء ماهی قزلآلای رنگین کمان به ویژه در تیمار حاوی مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم جیره بر شاخص های رشد، ترکیب لاشه، آنزیم های گوارشی و تعداد باکتری های اسیدلاکتیک روده در تاس ماهی سبیری جوان

- Adel, M., Omidi, A.H., Dawood, M.A.O., Karimi, B. and Shekarabi, S.P.H., 2021.** Dietary *Gracilaria persica* mediated the growth performance, fillet colouration, and immune response of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture*, 530: 735950. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735950
- Aksnes, A., Hope, B., Høstmark, O. and Albrektsen, S., 2006a.** Inclusion of size fractionated fish hydrolysate in high plant protein diets for Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 261: 1102-1110. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.038
- Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B.T. and Albrektsen, S., 2006b.** Size-fractionated fish hydrolysate as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed high plant protein diets. I: Growth, growth regulation and feed utilization. *Aquaculture*, 261: 305-317. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.025
- Anusha, G., Samaranayaka, P., Eunice, C. and Li-Chan, Y., 2011,** Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*, 3: 229 – 254. Doi: 10.1016/j.jff.2011.05.006
- AOAC, 2005.** Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 18th Ed. Published by the AOAC, Washington, D. C., USA. AOAC International Gaithrsburg.
- رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش آنژیمی. علوم و فنون شیلات، ۵ (۴): ۲۸-۱۳. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۴-۱۳۹۹ معاونت برنامه‌ریزی و مدیریت منابع سازمان شیلات ایران، انتشارات شیلات ایران، ۶۴ صفحه. شیخزاده، ن.، سلطانی، م.، ابراهیم زاده موسوی، ح.، خسروی، ع.، باقری، ه.، فتحی، ع. و زرگر، ا. ۱۳۸۸. مطالعه اثر اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) معمولی دامپزشکی، ۱ (۶۴): ۴۷-۵۴
- طاهری، ع.. عابدیان کناری، ع. و حلاج، ر.. ۱۳۹۰. تاثیر پروتئین آبکافت شده حاصل از ماهی ساردین پهلو طلایی (*Sardinella gibossa*) ضایعات کشتارگاهی طیور بر ترکیب آمینواسید، رشد و بقا آلوینهای ماهی قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۰ (۴): ۸۱-۹۵
- طاهری، ع.. عابدیان کناری، ع.. معتمدزادگان، ع.. ۱۳۹۲. حبیبی رضایی، م. و اوچی فرد، ا.. تأثیر مکمل غلظت‌های مختلف پروتئین آبکافت شده ماهی ساردین و ضایعات کشتارگاهی طیور بر سطح باکتری‌های روده و بقاء در لاروهای ماهی قزلآلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با آئروموناس سالمونیسید. پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، ۱۰ (۱): ۸۷۳-۸۸۲
- هاشمی، س.م.ص..، محمدی‌زاده، ف..، بحری، ا.، حافظیه، م. و قربانی‌واقعی، ر.. ۱۴۰۰. تأثیر مکمل نوکلتوتید (آسکوژن) جیره غذایی بر شاخص‌های خونی و ترکیبات لاشه تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*). مجله علمی شیلات ایران، ۳۰ (۱): ۱۵۸-۱۴۹ Doi: 10.22092/isfj.2021.124067
- یزدانی ساداتی، م.ع. و رضایی، ا.. ۱۳۹۳. تأثیر جایگزینی پروتئین کنستانتنره سویا بجای یودر ماهی بر شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه تاس ماهی سیبری. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۴): ۷۳-۸۵

- Aspmo, S.I., Horn, S.J.H. and Eijsink, V.G., 2005.** Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera. *Process Biochemistry*, 40: 1957-1966. Doi: 10.1016/j.procbio.2004.07.011
- Benjakul, S. and Morrissey, M.T., 1997.** Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9): 3423-3430.
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C. and Lalitha, R.G., 2008.** Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Bioresource Technology*, 99(2): 335-343. Doi: 10.1016/j.biortech.2006.12.015
- Bøgwald, J., Dalmo, R., Leifson, R.M., Stenberg, E., Gildberg, A.J.F. and Immunology, S., 1996.** The stimulatory effect of a muscle protein hydrolysate from Atlantic cod, *Gadus morhua* L., on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., head kidney leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 6: 3-16. Doi: 10.1006/fsim.1996.0002
- Bui, H.T.D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M. and Lee, K.J., 2014.** Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture*, 418-419: 11-16. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.09.046
- Erdmann, K., Cheung, B.W. and Schröder, H., 2008.** The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(10): 643-654. Doi: 10.1016/j.jnutbio.2007.11.010
- Espe, M., Sveier, H., Høgøy, I. and Lied, E., 1999.** Nutrient absorption and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate. *Aquaculture*, 174: 119-137. Doi: 10.1016/S0044-8486(98)00502-X
- FAO, 2022.** The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Towards Blue Transformation. Rome, FAO. 266 P. Doi: 10.4060/cc0461en
- Gawlicka A., Herold M.A., Barrows F.T., De La Noue J. and Hung S.S.O., 2002.** Effects of dietary lipids on growth, fatty acid composition, intestinal absorption and hepatic storage in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* R.) larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 673-681. Doi: 10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x
- Hevrøy, E.M., 2005.** Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., Hemre, G.I. *Aquaculture Nutrition*, 11: 301-313. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2005.00357.x
- Hidalgo, M.C., Urea, E. and Sanz, A., 1999.** Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities.

- Aquaculture*, 170: 267-283. Doi: 10.1016/S0044-8486(98)00413-X
- Idowu, A.T. and Benjakul, S., 2019.** Bitterness of fish protein hydrolysate and its debittering prospects. *Journal of Food Biochemistry*, 43(9): e12978. Doi: 10.1111/jfbc.12978
- Javaherdoust, S., Yeganeh, S. and Amirkolaie, A.K., 2020.** Effects of dietary visceral protein hydrolysate of rainbow trout on growth performance, carcass composition, digestibility and antioxidant enzyme in juvenile *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 26: 134-144. Doi: 10.1111/anu.12975
- Jeney, G. and Jeney, Z.S., 2002.** Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* A. baerii. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 416-419. Doi: 10.1046/j.1439-0426.2002.00405.x
- Khaled, H.B., Ghlissi, Z., Chtourou, Y., Hakim, A., Ktari, N., Fatma, M.A., Barkia, A., Sahnoun, Z. and Nasri, M., 2012.** Effect of protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinella aurita*) on the oxidative status and blood lipid profile of cholesterol-fed rats. *Food Research International*, 45(1): 60-68. Doi: 10.1016/j.foodres.2011.10.003
- Klompong, V., Benjakul, S., Yachai, M., Visessanguan, W., Shahidi, F. and Hayes, K.D., 2009.** Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*). *Journal of Food Science*, 74: C126-C133. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01047.x
- Kolkovski, S., Czesny, S. and Dabrowski, K., 2000.** Use of krill hydrlylate as feed attractant for fish larvae and juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 31: 81-88. Doi: 10.1111/j.1749-7345.2000.tb00701.x
- Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J. and Cahu, C., 2007.** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147: 205-214. Doi: 10.1016/j.cbpa.2006.12.037
- Ktari, N., Jridi, M., Bkhairia, I., Sayari, N., Salah, R.B. and Nasri, M., 2012.** Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from muscle of zebra blenny (*Salarias basilisca*) obtained with different crude protease extracts. *Food Research International*, 49(2): 747-756. Doi: 10.1016/j.foodres.2012.09.024
- Leal, A.L.G., de Castro, P.F., de Lima, J.P.V., de Souza Correia, E. and de Souza Bezerra, R., 2010.** Use of shrimp protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) feeds. *Aquaculture International*, 18(4): 635-646. Doi: 10.1007/s10499-009-9284-0

- Lee, K., Everts, H., Kappert, H., Van der Kuilen, J., Lemmens, A., Frehner, M. and Beynen, A., 2004.** Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma cholesterol in broiler chickens fed a rye- containing diet without or with essential oil components. *International Journal of Poultry Science*, 3: 613–618. Doi: 10.3923/ijps.2004.613.618
- Lovell, R.T. (ed.), 1998.** Nutrition and feeding of fish. 2nd edition. Kluwer Academic publishers, Boston, London. 267 P.
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.J., Hervi, M., Metailler, R. and Ollevier, F., 2006.** Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Agricultural International*, 14(3): 219-229. Doi: 10.1007/s10499-005-9003-4
- Makridis, P., Bergh, Q., Skjermoj, J. and Vadstein, O., 2001.** Addition of bacteria bioencapsulated in Artemia metanauplii to a rearing system for halibut larvae. *Aquaculture International*, 9: 225-235. Doi: 10.1023/A:1016815929846
- Masuda, Y., Jinbo, T., Imaizumi, H., Furuita, H., Matsunari, H., Murashita, K., Fujimoto, H., Nagao, J. and Kawakami, Y., 2013.** A step forward in development of fish protein hydrolysate-based diets for larvae of Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Science*, 79: 681-688. Doi: 10.1007/s12562-013-0637-2
- Meisel, H. and FitzGerald, R.J., 2003.** Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16): 1289-1296. Doi: 10.2174/1381612033454847
- Mohapatra, S. Chakraborty, T. Prusty, A. Paniprasad, K. and Mohanta, K., 2012.** Use of different microbial probiotics in the diet of rohu (*Labeo rohita*) fingerlings: effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora. *Aquaculture Nutrition*, 18(1): 1-11. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00866.x
- Nasri, R., Amor, I.B., Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P., Gargouri, J., Châabouni, M.K. and Nasri, M., 2012.** Anticoagulant activities of goby muscle protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 133(3): 835-841. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.101
- Nasri, R., Younes, I., Jridi, M., Trigui, M., Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Dhulster, P., Nasri, M. and Karra-Châabouni, M., 2013.** ACE inhibitory and antioxidative activities of Goby (*Zosterisessor ophiocephalus*) fish protein hydrolysates: effect on meat lipid oxidation. *Food Research International*, 54(1): 552-561. Doi: 10.1016/j.foodres.2013.07.001
- Oliva-Teles, A., Cerqueira, A.L. and Gonçalves, P., 1999.** The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 179: 195-201. Doi: 10.1016/S0044-8486(99)00162-3

- Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B., 2012.** Chemical and biochemical hydrolysis of Persiansturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2): 460-465. Doi: 10.1007/s11947-009-0284-x
- Pavasovic, A., Richardson, N.A., Mather, P.B. and Anderson, A.J., 2006.** Influence of insoluble dietary cellulose on digestive enzyme activity, feed digestibility and survival in the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). *Aquaculture Research*, 37: 25-32. Doi: 10.1111/j.1365-2109.2005.01389.x
- Plascencia-Jatomea, M., Olvera-Nova, M.A., Arredondo-Figueroa, J.L., Hall, G.M. and Shirai, K., 2002.** Feasibility of fishmeal replacement by shrimp head silage protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 753-759. Doi: 10.1002/jsfa.1092
- Refstie, S., Olli, J.J. and Standal, H., 2004.** Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture*, 239: 331-349. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.06.015
- Reyhani Poul, S. and Yeganeh, S., 2022.** Physicochemical and antioxidant properties of chitosancoated nanoliposome loaded with bioactive peptides produced from shrimp wastes hydrolysis. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(4): 987-1003. Doi: 10.22092/ijfs.2022.126498
- Sathivel, S., Bechtel, P.J., Babbitt, J.K., Prinyawiwatkul, W. and Patterson, M., 2005.** Functional, nutritional, and rheological properties of protein powders from arrowtooth flounder and their application in mayonnaise. *Journal of Food Science*, 70(2): 1-12. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb07091.x
- Siddik, M.A.B., Howieson, J., Partridge, G.J., Fotedar, R. and Gholipourkanani, H., 2018.** Dietary tuna hydrolysate modulates growth performance, immune response, intestinal morphology and resistance to *Streptococcus iniae* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Scientific Reports*, 8: 1-13. Doi: 10.1038/s41598-018-34182-4
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P., De Boeck G. and Becker K., 2011.** Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127: 1409-1419. Doi: 10.1016/j.foodchem.2011.02.042
- Tacon, A.G. and Metian, M., 2008.** Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1): 146-158. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.08.015
- Taheri, A., Anvar, S., Ahari, H. and Fogliano, V., 2013.** Comparison the functional properties of protein hydrolysates from poultry by-products and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*)

- viscera. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12: 154-169.
- Tang, H.G., Wu, T.X., Zhao, Z.Y. and Pan, X.D., 2008.** Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Journal of Zhejiang University-Science B*, 9: 684-690. Doi: 10.1631/jzus.B0820088
- Wang, Y., 2011.** Use of probiotics *Bacillus coagulans*, *Rhodopseudomonas palustris* and *Lactobacillus acidophilus* as growth promoters in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 17: 372-378. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00771.x
- Yanbo, W. and Zirong, X., 2006.** Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal Feed Science and Technology*, 127(3-4): 283-292.
- Yang, C., Jiang, M., Lu, X. and Wen, H., 2021.** Effects of Dietary Protein Level on the Gut Microbiome and Nutrient Metabolism in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 11(4): 1024. 10.3390/ani11041024
- Yeganeh, S., Nosratimovafagh, A. and Javaherdoust, Sh., 2022.** The effect of using hydrolyzed protein prepared from the viscera of rainbow trout in the fish diet on its shelf life at ambient temperature. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 21(3): 798-815. Doi: 10.22092/ijfs.2022.127244
- Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J. and Chang, Q., 2012.** Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture Nutrition*, 18: 297-303. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00896.x

Effects of dietary rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) visceral protein hydrolysate on growth performance, carcass composition, digestive enzymes, and bacterial flora of juvenile Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*)

Yeganeh S.^{1*}; Adel M.²

^{*}s.yeganeh@sanru.ac.ir;
skyeganeh@gmail.com

1-Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

2-Iranian Fisheries Research Organization, Agriculture Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Abstract

This study was aimed to determine the effect of different levels of dietary rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) visceral protein hydrolysate on growth performance, carcass composition, digestive enzymes, and bacterial flora of juvenile Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*). For this purpose, 300 juvenile Siberian Sturgeon with an average initial weight of 67 ± 3 g were distributed in 12 tanks with a volume of 2000 L. 25 fish was introduced in each tank and were fed with different levels of protein hydrolysate (PH) in 4 treatments including 0 (control), 5 (5PH), 10 (10PH) and 20 (20PH) g of protein hydrolysate per kg of feed for 56 days. Based on the results, all growth indices improved in all treatments containing PH compared to the control ($p < 0.05$) and the highest specific growth rate, weight gain and weight gain percentage were in 10PH and showed a significant difference compared to others ($p < 0.05$). In this study, the lowest rate of feed conversion ratio was observed in 10PH and the highest rate was observed in the control. Fish fed with 10PH had also the highest amount of crude protein ($19.10 \pm 0.14\%$) and the lowest percentage of lipid ($5.60 \pm 0.15\%$). The results showed that the amylase and lipase enzyme activities in 10PH treatment was significantly higher than other treatments ($p < 0.05$). Also, trypsin enzyme activity in 10PH was significantly higher than the control and 5PH ($p < 0.05$). The number of lactic acid bacteria in the treatment 10PH showed the highest numbers ($p < 0.05$). In general, the effect of visceral protein hydrolysate, especially in treatment 10PH, on the growth indices, body composition, digestive enzymes, and the number of intestinal lactic acid bacteria of juvenile Siberian Sturgeon was positively and significantly evaluated and this treatment is recommended to improve the investigated parameters.

Keywords: Siberian Sturgeon, Protein hydrolysate, Growth indices, Digestive enzymes, Intestinal flora

*Corresponding author