

مقاله علمی - پژوهشی:

تأثیر مخلوطی از پروتئین‌های گیاهی و جانوری بر پایه گلوتن ذرت بر شاخص‌های رشد و بافت دستگاه گوارش فیل ماهی (*Huso huso*)

میرحامد سید حسنی^{۱*}، میر مسعود سجادی^{۲*}، بهرام فلاحتکار^۲، محمود محسنی^۱، علی حلاجیان^۱، ایوب یوسفی^۱، مریم منصف شکری^۱

*mirhamedhassani@yahoo.com; mmsajjadi@hotmail.com

۱-انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران

تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۳

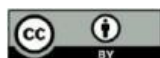
تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۳

چکیده

به منظور کاهش سهم آرد ماهی در جیره غذایی فیل ماهی جیره پایه‌ای مبتنی بر ۵۴ درصد آرد ماهی ساخته شد. مخلوطی از پروتئین‌های جانوری و گیاهی (گلوتن ذرت: ۳۵ درصد، گلوتن گندم: ۱۹/۳۴ درصد، آرد سویای فرآوری شده: ۳ درصد، پودر ضایعات مرغ: ۲۰ درصد، پودر گوشت و استخوان: ۸ درصد، پودر خون: ۴/۳ درصد)، در سطوح ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد جایگزین آرد ماهی (FM) شد (به ترتیب CGM_{20} ، CGM_{40} ، CGM_{60} و CGM_{80}) و در نهایت ۵ جیره با سطوح یکسان نیتروژن (۴۴ درصد پروتئین خام) و انرژی (۱۸ مگاژول/کیلوگرم) تولید گردید. فیل ماهیان با میانگین وزن $6/5 \pm 167$ گرم تا حد سیری بر اساس تجربیات کارگاهی به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره تغذیه جهت مطالعات بافت‌شناسی، ۳۰ درصد جمعیت ماهیان از هر مخزن برداشت گردید. سه قسمت از روده (بافت‌های قدامی، میانی و خلفی) برداشت شد. تثبیت و رنگ‌آمیزی شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور، مطالعات بافت‌شناسی انجام شد. بافت روده ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM_{80} دچار نکروز و رکود صفراوی بود. اما مطالعات بافت‌شناسی در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های FM، CGM_{20} ، CGM_{40} و CGM_{60} نشان داد که فضای لامینا پروپریا در حد مناسب، نکروزه شدن انتروسیت‌ها در حد ناچیز و تعداد سلول‌های جامی روده قدامی، میانی و انتهایی در حد متعادل قرار دارد. نتایج نهایی بر این نکته اذعان داشت که جیره CGM_{80} تأثیر منفی بر رشد ماهیان ندارد، ولی موجب آسیب به دستگاه گوارش گردید. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که در جیره غذایی فیل ماهی در مرحله پروراندی مخلوطی از پروتئین‌های جانوری و گیاهی در سطوح ۲۰ و ۴۰ درصد جایگزین آرد ماهی در نظر گرفته شود.

لغات کلیدی: فیل ماهی، *Huso huso*، جایگزینی آرد ماهی، شاخص‌های رشد، بافت‌شناسی

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

تاسماهیان، ماهیانی گوشتخوار هستند، حد مطلوب پروتئین در تاسماهی سفید (*Acipenser transmontanus*) ۱۴۵ گرمی (۴۰/۵ درصد) (Moore et al., 1988)، تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) ۲۰-۴۰ گرمی (۴۰ درصد) (Medale et al., 1995)، تاسماهی چینی (*Acipenser sinesis*) ۸-۳۴ گرمی (۴۵-۴۰ درصد)، تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) ۱۴۵ گرمی، ۴۰ درصد (Mohseni et al., 2013) و گونه فیل ماهی (*Huso huso*) در دوره پرواربندی (۴۰۰-۱۵۰ گرم) (۴۰-۳۶ درصد) (Mohseni et al., 2007) اعلام شده است، اما فرمولاسیون جیره و منبع عمده پروتئین به کار رفته در تحقیقات مذکور بر اساس آرد ماهی و کازئین (Hung, 2017) و در تحقیقات محسنی و همکاران (۲۰۱۳) در گونه‌های تاسماهی ایرانی و فیل ماهی بر پایه آرد ماهی با کیفیت بالا و ماهی کیلکای چرخ شده بود (Mohseni et al., 2013). این در حالی است که هر ساله قیمت آرد ماهی رو به افزایش بوده است و افزایش هزینه تولید با توجه به طولانی بودن دوره پرواربندی ماهیان خاویاری، نمود بیشتری می‌یابد. برای حل این مشکل، محققین تغذیه جایگزین نمودن منابع در دسترس محلی با هزینه پایین‌تر را به جای آرد ماهی در جیره غذایی آبزیان به عنوان یک استراتژی بلندمدت توصیه (Yun et al., 2014) و پیش‌بینی می‌کنند که در آینده جیره ماهیان دارای دامنه گسترده‌تری از اجزاء غذایی جایگزین آرد ماهی نظیر منابع گیاهی، منابع پروتئینی میکروبی، ضایعات حاصل از صید و ضایعات پروتئین حیوانی خواهد بود (Glencross et al., 2007). همچنین در خصوص نحوه و استراتژی جایگزین نمودن پروتئین‌های گیاهی و جانوری به جای آرد ماهی در گونه‌های مختلف مشکلاتی نیز وجود دارد. پروتئین‌های گیاهی تا حدودی می‌توانند جایگزین پودر ماهی شوند و در سطوح بالا تأثیر منفی بر رشد آبزیان دارند. بنابراین، استفاده از آنها به خصوص در ماهیان گوشتخوار به دلیل کمبود اسیدهای آمینه ضروری، دارابودن شاخص‌های ضدتغذیه‌ای، بدطعم بودن و پایین بودن مصرف مواد مغذی محدود است (Francis et al., 2001). اگرچه پروتئین‌های جانوری پروتئین بیشتر و پروفایل اسیدآمینه مناسب‌تری

نسبت به پروتئین‌های گیاهی دارند (Davis and Arnold, 2000)، اما کمبود اسیدآمینه‌های ضروری یکی از عوامل محدودکننده استفاده از این منابع از نظر اقتصادی به جای آرد ماهی در جیره غذایی آبزیان به شمار می‌آید (Glencross et al., 2007). ولی مطالعات زیادی نشان داده است که مخلوطی از پروتئین‌های گیاهی می‌توانند پروفایل اسیدآمینه را در مقایسه با الحاق یک پروتئین گیاهی جانشین شده به جای آرد ماهی در جیره بهبود بخشند (Amaya et al., 2007) و با این روش سطوح بالای جایگزینی با مخلوطی از پروتئین‌های گیاهی در جیره غذایی آبزیان گزارش شده است (Hansen et al., 2007). بنابراین، تشکیل بانک اطلاعاتی شامل پروفایل اسیدهای آمینه اجزاء غذایی جایگزین و فرمولاسیون صحیح می‌تواند به تولید جیره‌ای بیانجامد که با نیازمندی ماهی مطابقت داشته باشد. همچنین بررسی تأثیر شاخص‌های ضدتغذیه‌ای (عمدتاً منابع پروتئین گیاهی) (Francis et al., 2001) و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی و بافت روده (Silva et al., 2009) که بر میزان جذب غذا (Gomes et al., 1995) و ضریب تبدیل غذا (Rumsey et al., 1994) و تمامیت دستگاه گوارش اثرگذار خواهد بود، از اهمیت خاصی برخوردار است. التهاب روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا حد زیادی وابسته به میزان جایگزینی منابع گیاهی به جای آرد ماهی بود (Krogdahl et al., 2003). جایگزین نمودن آرد سویا به جای پودر ماهی در جیره غذایی قزل‌آلای رنگین‌کمان در حد ۳۰ درصد و فراتر از آن جهت فرایند هضم خطرناک قلمداد شد و نتایج نشان داد که بعد از گذشت دو یا سه روز (Baeverfjord and Krogdahl, 1996; Urán et al., 2008) پس از تغذیه ماهی با سطوح بالای آرد سویا اولین نشانه‌های التهاب روده در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) آشکار می‌گردد که موجب افزایش ضریب تبدیل غذا، کاهش جذب غذا و مرگ و میر در ماهیان گردید. در حال حاضر، فیل ماهی سنگ بنای پرورش ماهیان خاویاری در کشور است (Abdulhai and Karmi-Rad, 2018) و دوره پرواربندی آن در محیط پرورشی جهت تولید گوشت حداقل ۳ سال برآورد شده است (Yazdani et al., 2014) که در این دوره به ۴۵-۴۰ درصد پروتئین نیاز دارند

و قسمت عمده (۶۵-۶۰ درصد) آن از آرد ماهی تأمین می‌گردد (Mohseni et al., 2005). اما هضم و جذب پروتئین‌های جایگزین به طور مستقیم وابسته به آنزیم‌های گوارشی مترشح از لایه لبه مسواکی روده و لوزالمعده است که مسئول مراحل نهایی تجزیه و جذب مواد مغذی هستند (Fountoulaki et al., 2005). افزایش فیبر، افزایش کربوهیدرات، مقادیر نامناسب اسیدآمینه و ترکیبات جدید در جیره‌های غذایی مبتنی بر پروتئین‌های حیوانی و گیاهی می‌تواند تأثیر منفی بر دستگاه گوارش ماهیان داشته باشد که منجر به کاهش رشد، تضعیف سیستم ایمنی، کاهش کیفیت گوشت و حتی مرگ و میر در یک دوره طولانی مدت تغذیه شود (Raskovic et al., 2011). با توجه به موارد مذکور در مطالعه حاضر، تأثیر مخلوطی از پروتئین‌های جانوری و گیاهی جایگزین آرد ماهی (سطوح ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد) بر شاخص‌های رشد و بافت دستگاه گوارش فیل ماهی (*Huso huso*) مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

اجزاء غذایی و فرمولاسیون جیره

ترکیب بیوشیمیایی جیره براساس نتایج تحقیقات Mohseni و همکاران (۲۰۰۵) در زمینه تعیین احتیاجات غذایی فیله‌ماهی در اوزان ۶۵۰-۱۷۰ گرم در نظر گرفته شد (ماده خشک ۹۱/۶ درصد، پروتئین ۴۵ درصد، چربی ۱۵/۸۷ و انرژی ۱۶/۶۹ مگاژول بر کیلوگرم). از آنجایی که نیازهای اسیدآمینه در گونه فیله‌ماهی تعیین نشده بود، در طراحی جیره مبادرت به افزودن بیشترین مقدار حد آرد ماهی (حدود ۵۴ درصد) (Shefchenko, 1995) گردید. برای استفاده بهینه از پروتئین موجود در آرد ماهی، از منابع کربوهیدرات (آرد گندم، کنجاله سویا، گلوتن ذرت و گندم) استفاده شد. مقادیر ناچیزی پودر گوشت و استخوان و پودرخون، کولین ۰/۷ درصد جیره (Yazdani et al., 2014)، لسیتین سویا (۳ درصد) (Najafi et al., 2016)، پرمیکس ویتامینه و معدنی به ترتیب ۲ و ۱ درصد (Mohseni et al., 2011) و ویتامین C و E به میزان ۰/۵ درصد (Safarpour et al., 2006) به جیره اضافه شد. منابع گیاهی (گلوتن ذرت، گلوتن گندم، سویای

فرآوری شده) و از میان منابع پروتئین حیوانی (پودر ضایعات مرغ، پودر گوشت و استخوان و پودر خون)، به عنوان منابع جایگزین در نظر گرفته شد و بر این اساس مخلوط غذایی مبتنی بر گلوتن ذرت شامل (گلوتن ذرت: ۳۵ درصد، گلوتن گندم: ۱۹/۳۴ درصد، آرد سویای فرآوری شده: ۳ درصد، پودر ضایعات مرغ: ۲۰ درصد، پودر گوشت و استخوان: ۸ درصد، پودر خون: ۴/۳ درصد)، ساخته شد.

فرمولاسیون و درصد اجزاء غذایی مخلوط‌های مورد نظر به نحوی طراحی شد که مخلوط‌های مورد نظر تا حد امکان از لحاظ ترکیب شیمیایی (پروتئین، چربی کربوهیدرات و ماده خشک) و پروفایل اسیدآمینه به پودر ماهی کیلکا نزدیک باشد و کمبود اسیدهای آمینه ضروری و فسفر با استفاده از مکمل‌های تجاری و دی‌کلسیم فسفات جبران شد (Jirsa et al., 2015) (جدول ۱)، سپس مبادرت به فرمولاسیون ۵ جیره غذایی شد. جیره اول جیره مبتنی بر آرد ماهی (جیره شاهد) بود و ۴ جیره بعدی، جیره‌هایی بودند که در آنها مخلوط مبتنی بر گلوتن ذرت در سطوح ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد جایگزین پودر ماهی شده بود و به نام جیره‌های مبتنی بر آرد گلوتن ذرت در سطوح جایگزینی ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد (CGM₂₀، CGM₄₀، CGM₆₀ و CGM₈₀) نام‌گذاری شدند. جیره‌های غذایی جهت تعیین ترکیب بیوشیمیایی، پروفایل اسیدآمینه و فسفر به آزمایشگاه ارسال شدند و با اطلاعات حاصله، کمبود اسیدآمینه و فسفر در هر جیره جایگزین سنجیده شده و معادل آن به جیره، اسیدآمینه سنتتیک (با تأکید بر متیونین و لایزین) و دی‌کلسیم فسفات (Yun et al., 2014) اضافه شد (جدول ۲ و ۳).

ساخت جیره

جهت ساخت غذا ابتدا ترکیبات درشت با استفاده از دستگاه آسیاب به صورت کاملاً پودر درآمد و با استفاده از دستگاه مخلوط‌کن با یکدیگر مخلوط شدند. به مخلوط حاصل، نمک، ویتامین پرمیکس، مکمل معدنی، ویتامین C، کولین، کربوکسی متیل سلولز و دی‌کلسیم فسفات اضافه شد. در مرحله بعد با استفاده از یک مخلوط‌کن آزمایشگاهی اسیدهای آمینه سنتتیک اضافه شد. در نهایت به مجموعه روغن ماهی اضافه گردید (Mohseni et al., 2007). خمیر حاصل از چرخ گوشت صنعتی (Pars Esfahan, GM₃₂)

گرم (میانگین $\pm$ انحراف معیار) در ۲۷ مخزن فایبرگلاس نیم‌تنی (قطر ۸۰ سانتی‌متر و حجم ۲۵۰ متر مکعب) به‌تعداد ۱۰ عدد ماهی در هر مخزن تقسیم و از جیره‌های آزمایشی تا حد سیری در ساعات ۹:۰۰، ۱۵:۰۰، ۲۱:۰۰ تغذیه شدند. بیومتری در فواصل یک ماهه انجام گرفت. شاخص‌های فیزیوشیمیایی آب (اکسیژن، درجه حرارت و pH)، سه بار در روز و آمونیاک هر هفته مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. دوره نوری محیط پرورش ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود (Bani et al., 2009).

محاسبه شاخص‌های رشد

با انجام زیست‌سنجی‌های یک ماهه و با توجه به اطلاعات حاصله از طول و وزن ماهیان و تشکیل بانک اطلاعاتی، محاسبات آماری شاخص‌های رشد، غذا، شاخص هپاتوسوماتیک و شاخص احشایی بر اساس فرمول‌های ذیل محاسبه گردید:

شاخص وضعیت (CF) = $100 \times (\text{وزن ماهی}) / (\text{طول کل یا چنگالی})$
 افزایش وزن (WG) (گرم) = $(\text{وزن نهایی (گرم)} - \text{وزن اولیه (گرم)})$
 افزایش وزن بدن (BWI) (درصد) = $((\text{افزایش وزن (گرم)} / \text{وزن ابتدایی (گرم)}) \times 100)$
 ضریب رشد ویژه (SGR) (%) در روز = $100 \times [(\text{لگاریتم وزن نهایی} - \text{لگاریتم وزن اولیه}) / (\text{تعداد روز (زمان)})]$
 نرخ تبدیل غذایی (FCR) = $(\text{غذای خشک مصرفی شده (گرم)} / \text{افزایش وزن (گرم)})$
 نرخ کارایی پروتئین (PER) = $(\text{وزن تر اضافه شده (افزایش بیوماس)} / \text{گرم})$ به گرم / مقدار پروتئین مصرفی (گرم)

بافت‌شناسی

جهت مطالعات بافت‌شناسی، ۳۰ درصد جمعیت ماهیان از هر مخزن برداشت گردید، برش‌هایی از کبد تهیه شده و سه قسمت از روده (بافت‌های قدامی، میانی و خلفی) ماهی با تیغ تیز بریده و به طور جداگانه در محلول بوئن به مدت نیم ساعت تثبیت شد.

(Esfahan, Iran) با قطر صفحه ۴ میلی‌متر عبور و پلت‌های خارج شده روی سینی‌های توری گسترده و با یک فن با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک (Hardy and Barrows, 2002)، بسته‌بندی، شماره‌گذاری و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف، نگهداری شد.

جدول ۱: ترکیب بیوشیمیایی و پروفایل اسیدآمین جیره تولیدی بر اساس ارد ماهی و مخلوط تولیدی بر اساس گلوتن ذرت

Table 1: Biochemical composition and amino acid profile of the diet produced based on fish meal and produced mixture based on corn gluten

Ingredient	Mixture produced	
	based on corn gluten (%)	Fishmeal
Corn gluten	35	
Wheat gluten	19.33	
Aquapro Soybean meal	3	
Poultry by product meat meal	20	
Blood meal	8	
Di calcium phosphate	4.33	
Histidine	2.12	
Arginine	0.85	
Methionine	1.2	
Lysine	1	
Tyrosine	3.4	
Valine	1.2	
Tryptophan	0.3	
Total	0.27	
Dry matter	100	94.48
Protein	92.89	72.11
Lipid	61.97	9.9
Fiber	7.84	0.11
Carbohydrate	0.67	0.8
Ash	1.26	11.38
Di calcium phosphate	3.2	2.15
Histidine	1.1*	1.96
Arginine	1.4	4.5
threonine	4.55	2.14
Tyrosine	2.5	3.4
Valine	2.4	2.85
Methionine	2.8	1.93
cysteine	1.92	0.43
Isoleucine	0.47	2.56
Lysine	2.7	5.35
Tryptophan	5.7	5.35
	7.52	

جدول ۲: ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های ساخته شده بر پایه گلوتن ذرت

Table 2: Biochemical composition of diets based on corn gluten

Ingredient (%)	Control (FM)	(CGM ₂₀)	(CGM ₂₀)	(CGM ₆₀)	(CGM ₈₀)
Kilka fishmeal	54	43.2	34.2	21.6	13.5
Mixture designed based on corn gluten	0	12.49	25.15	37.05	46.81
Aquapro Soybean meal	1	1	1	1	1
Corn gluten	1	1	1	1	1
Wheat gluten	14	12.51	11.28	12	9.99
Corn gluten	0	0	0	0	0
Poultry by product	0	0	0	0	0
meat meal	1	1	1	1	1
Blood meal	1	1	1	0.5	0.5
Yeast	3	3	3	3	3
Kilka oil	14	14.5	14	14	14
Choline	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Soy Lecithin	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Premix vitamin	2	2	2	2	2
Premix Mineral	1	1	1	1	1
Vitamin E	0.5	0.5	0.5	0.5	1
Vitamin C	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Chromic Oxide	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Carboxymethyl Cellulose	3.3	2.6	0.67	0.67	0
Methionine	0	0	0	0	0
Lysine	0	0	0	0	0
Di calcium phosphate	0	0	0	0.48	1
Total	100	100	100	100	100
Biochemical composition based on dry matter (percent)					
Dry matter	94.3	94.15	93.93	93.25	92.66
Protein	44.7	44.5	44.4	44.25	44.13
Lipid	19.17	19.5	18.89	18.27	18.26
Fiber	0.43	0.475	0.53	0.61	0.64
Carbohydrate	20.2	20.3	23.8	24.8	25.8
Ash	6.65	5.82	4.99	4.15	3.53
Gross energy (Mj/Kg)	18.27	17.94	18.1	18.0	17.94

FM: جیره مبتنی بر آرد ماهی

GCM₂₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد

GCM₄₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصد

GCM₆₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصد

GCM₈₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد

FM: Diet based on fish meal

GCM₂₀: Diet based on corn gluten at 20% replacement

GCM₄₀: Diet based on corn gluten at 40% replacement

GCM₆₀: Diet based on corn gluten at 60% replacement

GCM₈₀: Diet based on corn gluten at 80% replacement level

جدول ۳: پروفایل اسید آمینه جیره‌های ساخته شده بر پایه گلوتن ذرت (بر اساس درصد ماده خشک)

Table 3: dietary Amino acid profile based on corn gluten (based on percentage of dry matter)

Essential amino acids	Control (FM)	(CGM ₂₀)	(CGM ₄₀)	(CGM ₆₀)	(CGM ₈₀)
Histidine	1.3	1.32	1.34	1.36	1.37
Arginine	2.66	2.76	2.84	2.91	2.95
threonine	1.37	1.49	1.55	1.62	1.49
Tyrosine	1.43	1.48	1.53	1.56	1.58
Valine	1.82	1.89	1.93	1.95	1.99
Methionine	1.18	1.21	1.23	1.27	1.29
cysteine	0.28	0.3	0.31	0.32	0.312
Isoleucine	1.57	1.69	1.76	1.83	1.77
Lysine	3.16	3.23	3.46	3.56	3.5
Tryptophan	0.46	0.46	0.47	0.48	0.49

FM: جیره مبتنی بر آرد ماهی

GCM₂₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصدGCM₄₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصدGCM₆₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصدGCM₈₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد

FM: Diet based on fish meal

GCM₂₀: Diet based on corn gluten at 20% replacementGCM₄₀: Diet based on corn gluten at 40% replacementGCM₆₀: Diet based on corn gluten at 60% replacementGCM₈₀: Diet based on corn gluten at 80% replacement level

داده‌های کسب شده در نرم‌افزار Excel ثبت و مورد پردازش قرار گرفت. سپس نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov-Smirnov و معنی دار بودن داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مورد سنجش قرار گرفت و در صورت مشاهده اختلاف، تست Tukey برای مقایسه میانگین‌ها به عنوان Post-hoc اعمال شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار (SPSS, IBM Corp Version 24.0. (Chicago, USA انجام شد. سطح معنی دار بودن برای همه موارد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

تأثیر جیره‌های جایگزین بر شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای ماهیان در جداول ۲ الی ۵ ارائه شده است. اختلاف معنی داری در وزن و طول نهایی ماهیان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0.05$). ضریب چاقی و درصد افزایش وزن ماهیان تغذیه شده از جیره‌های FM، CGM₂₀.

پس از پایدار شدن کامل نمونه‌ها و انتقال آنها به آزمایشگاه، نمونه‌ها به ترتیب در مراحل آب‌گیری^۱، شفاف کردن^۲، آغشته شدن به پارافین^۳، قالب‌گیری^۴، برش بافت^۵، چسبانیدن بر لام و رنگ‌آمیزی قرار گرفت (Sharifpour et al., 2014). نمونه‌های بافتی بعد از رنگ‌آمیزی به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به مانیتور مورد مطالعه و عکس‌برداری آماری قرار گرفت. شاخص‌های اندازه‌گیری شده در دستگاه گوارش شامل تعداد سلول‌های گابلت (Lunstedt et al., 2004) و ضایعات مورد نظر شامل تعداد سلول‌های جامی، نکروز سلولی و فضای لامینا پروپریا بود (O'Connell, 1976).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

¹ Dehydration² Cleaning³ Paraffin Sectioning⁴ Blocking⁵ Sectioning

اختلاف معنی‌دار بود ($P>0.05$). ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM دارای بیشترین نسبت بازده پروتئین ($1/75 \pm 0/23$) بودند، نسبت بازده پروتئین در ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های CGM_{20} ، CGM_{40} ، CGM_{60} و CGM_{80} در دامنه $1/53-1/73$ درصد بود، اما تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد ($P>0.05$) (جدول ۴).

CGM_{40} ، CGM_{60} و CGM_{80} فاقد تفاوت معنی‌دار آماری و درصد افزایش وزن نزدیکی نسبت به هم داشتند ($298-243$ درصد) ($P>0.05$). تفاوت معنی‌دار در ضریب رشد ویژه و رشد روزانه ماهیان تیمارهای مختلف مشاهده نشد و ضریب تبدیل غذا در ماهیان تغذیه‌شده از تمام جیره‌ها فاقد

جدول ۴: عملکرد رشد فیلماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با مخلوطی از منابع پروتئین جانوری و گیاهی ($n=3$ ، میانگین $\pm$ انحراف معیار)

Index	Control (FM)	(CGM ₂₀)	(CGM ₄₀)	(CGM ₆₀)	(CGM ₈₀)
Initial weight (g)	163.7 $\pm$ 5.44	167.29 $\pm$ 7.04	170.08 $\pm$ 5.43	173.04 $\pm$ 0.99	171.69 $\pm$ 3.37
Final weight (g)	652.6 $\pm$ 3.6.39	601.8 $\pm$ 18.1	644.00 $\pm$ 27.05	597.3 $\pm$ 57.20	623.75 $\pm$ 64.93
Initial length (cm)	35.47 $\pm$ 0.41	35.30 $\pm$ 1.16	35.40 $\pm$ 0.39	35.18 $\pm$ 0.53	37.96 $\pm$ 4.11
Final length (cm)	50.11 $\pm$ 0.66	48.50 $\pm$ 3.16	49.15 $\pm$ 0.54	48.96 $\pm$ 1.79	49.15 $\pm$ 1.37
Condition factor	0.51 $\pm$ 0.001	0.52 $\pm$ 0.001	0.54 $\pm$ 0.001	0.50 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.01
BWI (percentage during the period)	298.68 $\pm$ 20.31	258.4 $\pm$ 56.40	279.07 $\pm$ 24.80	243.85 $\pm$ 0.34	263.1 $\pm$ 35.8.
SGR (percentage per day)	2.00 $\pm$ 0.073	1.83 $\pm$ 0.24	1.93 $\pm$ 0.09	1.78 $\pm$ 0.14	1.86 $\pm$ 0.014
Daily growth rate (gr/day)	7.08 $\pm$ 0.53	6.29 $\pm$ 1.63	6.86 $\pm$ 0.09	6.13 $\pm$ 0.83	6.55 $\pm$ 0.91
Food consumed per fish (g)	206.8	207.80	202.33	207.94	212.17
FCR	1.26 $\pm$ 0.023	1.47 $\pm$ 0.21	1.28 $\pm$ 0.42	1.49 $\pm$ 0.21	1.41 $\pm$ 0.12
PER	1.75 $\pm$ 0.23	1.53 $\pm$ 0.23	1.73 $\pm$ 0.029	1.51 $\pm$ 0.23	1.57 $\pm$ 0.13

FM: جیره مبتنی بر آرد ماهی

CGM₂₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد

CGM₄₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصد

CGM₆₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصد

CGM₈₀: جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد

FM: Diet based on fish meal

CGM₂₀: Diet based on corn gluten at 20% replacement

CGM₄₀: Diet based on corn gluten at 40% replacement

CGM₆₀: Diet based on corn gluten at 60% replacement

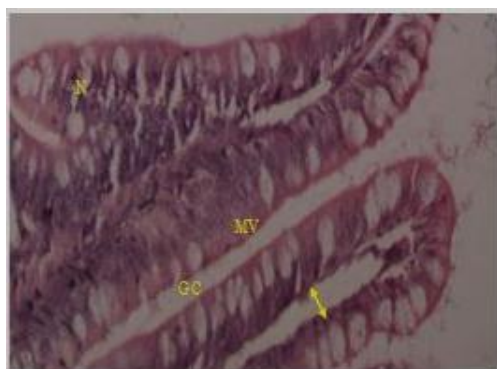
CGM₈₀: Diet based on corn gluten at 80% replacement level

اثرات جیره‌های مختلف بر بافت قدامی روده

نتایج بررسی‌های بافت قسمت قدامی روده فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM حاکی از آن بود که فضای لامینا پروپریا در این ماهیان به میزان مناسب موجود، نکروزه شدن آنتروسیست‌ها در حد ناچیز و تعداد سلول‌های جامی شکل در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با سایر جیره‌های غذایی در حد بالاتری قرار داشت و تنها نکروز سلولی به صورت جزئی در سلول‌های آنتروسیست و پرزهای میکروویلی مشاهده گردید (شکل ۱ و جدول ۵). بررسی‌های بافت قدامی روده فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM_{20} از روندی مشابه با ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM پیروی می‌کرد، فضای لامینا

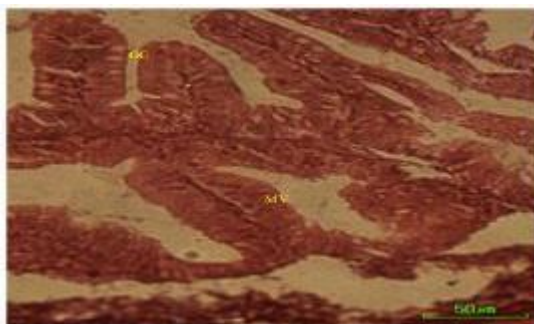
پروپریا در این ماهیان به میزان مناسب موجود، نکروزه شدن آنتروسیست‌ها در حد ناچیز و سلول‌های جامی شکل به تعداد زیاد در این ماهیان وجود داشت (شکل ۲). در روندی مشابه، بررسی‌های بافت قسمت قدامی روده فیل ماهیان تغذیه‌شده با CGM_{40} همانند ماهیان تغذیه شده با جیره FM (شکل ۳ و جدول ۵) نشان کمی از نکروزه شدن بخش کمی از آنتروسیست‌ها، سلول‌ها و پرزهای روده‌ای داشت، گشادگی فضای لامینا پروپریا در این ماهیان دیده شد، مقدار سلول‌های جامی و طول پرزهای میکروویلی تا حد کمی کاهش یافت. قسمت قدامی بافت روده ماهیان تغذیه شده با جیره CGM_{60} (شکل ۴ و جدول ۵) دچار نکروزه شدن بخشی

انتروسیست، تخریب پرزهای رودهای و گشادگی فضای لامینا پروپریا در این تیمار مشاهده شد. همچنین تعداد سلول‌های جامی افزایش یافته بود (شکل ۵ و جدول ۵).



شکل ۲: برش عرضی از بافت قدامی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد (CGM₂₀)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دو سر)، سلول‌های جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV) و نکروز سلولی (N) (X 50, H&E)

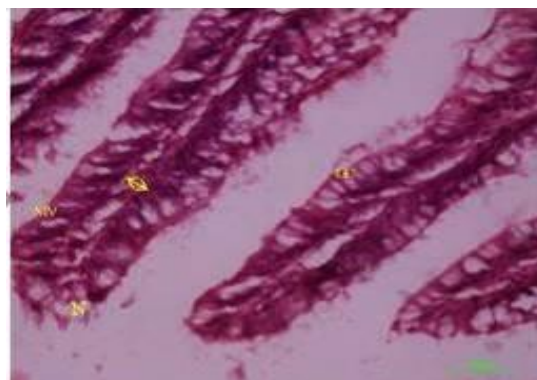
Figure 2: Transverse section of the anterior intestinal tissue juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 20% replacement (CGM₂₀), lamina propria space (double-headed arrow), goblet cells (GC), microvilli (MV) and cell necrosis (X 50, H&E)



شکل ۴: برش عرضی از بافت قدامی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی مبتنی بر آرد گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصد (CGM₆₀)، فضای لامینا پروپریا (ستاره)، سلول‌های جامی شکل (GC) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 100, H&E)

Figure 4: Transverse section of the anterior intestinal tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 60% replacement level (CGM₆₀), lamina propria space (star), goblet cells (GC) and microvilli (MV) (X 100, H&E)

از آنتروسیست و تخریب پرزهای رودهای بود و عوارضی مانند گشادگی فضای لامینا پروپریا نیز مشاهده گردید. ماهیان تغذیه شده با جیره CGM₈₀ نیز دچار آسیب‌های شدیدتری در مقایسه با چهار تیمار قبلی بودند. نکروزه شدن زیاد سلول‌های



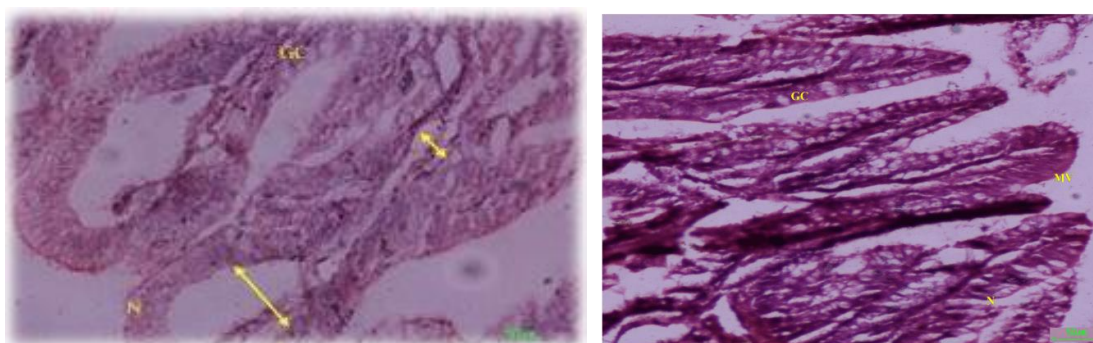
شکل ۱: برش عرضی از بافت قدامی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی مبتنی بر پودر ماهی (FM)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دو سر)، سلول‌های جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV) و نکروز سلولی (N) (X 50, H&E)

Figure 1: Transverse section of the intestinal tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on fishmeal (FM) diets, lamina propria space (double-headed arrow), goblet cells (GC), microvilli (MV) and cell necrosis (N) (X 50, H&E)



شکل ۳: برش عرضی از بافت قدامی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصد (CGM₄₀)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دو سر)، سلول‌های جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV) و نکروز سلولی (N) (X 200, H&E)

Figure 3: Transverse section of the anterior intestinal tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 40% replacement level (CGM₄₀), lamina propria space (double-headed arrow), goblet cells (GC), microvilli (MV) and cell necrosis (N) (X 200, H&E)



شکل ۵: برش عرضی از بافت قدامی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره‌های غذایی مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد (CGM₈₀)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دو سر)، سلول‌های جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV) و نکروز سلولی (N) (H&E, 200 X)

Figure 5: Transverse section of the anterior intestinal tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 80% replacement (CGM₈₀), lamina propria space (double-headed arrow), goblet cells (GC), microvilli (MV) and cell necrosis (N) (X 200, H&E)

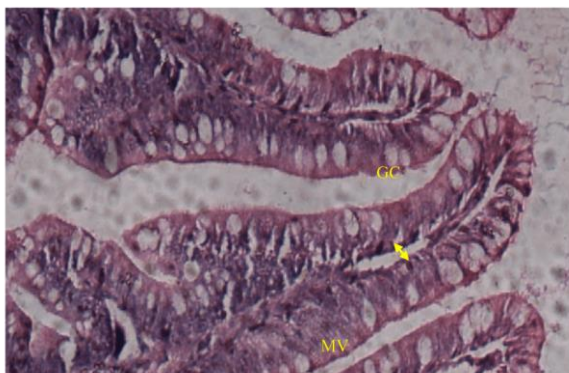
جدول ۵). نتایج بررسی بافت روده میانی ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₈₀ از عوارض شدیدتری همچون خونریزی و گشادگی (افزایش) فضای لامینا پروپریا داشت، ولی تعداد سلول‌های جامی‌شکل در این ماهیان همانند سایر تیمارها در حد بالایی بود (شکل ۱۰ و جدول ۵).

اثر جیره‌های مختلف بر بافت روده انتهایی

بررسی‌های بافت‌شناسی قسمت انتهایی روده فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های FM حاکی از آن بود که فضای لامینا پروپریا در این ماهیان به میزان مناسب موجود، نکروزه شدن آنتروسیست‌ها در حد ناچیز و تعداد سلول‌های جامی‌شکل کم بود (شکل ۱۱ و جدول ۵). در تیمارهای CGM₂₀ و CGM₄₀ درصد گشادگی فضای لامینا پروپریا در حد مطلوب، نکروزه شدن آنتروسیست‌ها (طول سلول‌های جذب روده) به مقدار ناچیز و سلول‌های جامی به مقدار کم مشاهده گردید (اشکال ۱۲ و ۱۳ و جدول ۵). اما در بافت روده انتهایی ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₆₀ پرخونی در فضای لامینا پروپریا و گشادگی در این فضا، نکروزه شدن آنتروسیست و پرزهای میکروویلی به مقدار کم و افزایش تعداد سلول‌های جامی‌شکل مشاهده گردید (شکل ۱۴ و جدول ۵). در ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₈₀ در مقایسه با تیمار قبلی (CGM₆₀) عوارض ذکرشده به‌استثنای کاهش تعداد سلول‌های جامی با شدت بیشتری مشاهده شد (شکل ۱۵ و جدول ۵).

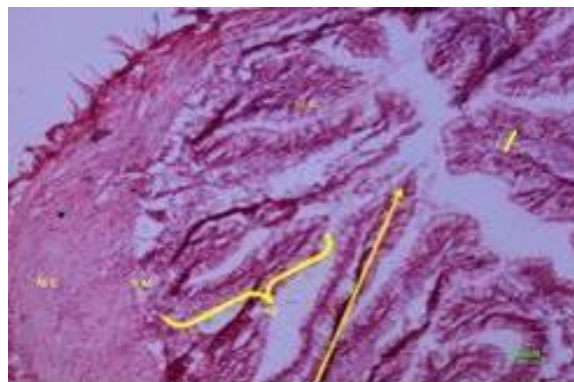
اثرات جیره‌های مختلف بر بافت قسمت میانی روده

بررسی‌های بافت‌شناسی روده میانی ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM سالم و تنها عوارض ناچیزی از جمله وجود سلول‌های خونی در فضای لامینا پروپریا و نکروز خفیف سلولی مشاهده شد. در این تیمار سلول‌های جامی به تعداد زیاد مشاهده شد (شکل ۶ و جدول ۵). اما نتایج بررسی بافت قسمت میانی روده ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₂₀ در مقایسه با بافت روده میانی ماهیان تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر FM ضایعات ناچیزی را نشان داد که از آن جمله می‌توان به نکروزه شدن آنتروسیست به مقدار بسیار کم اشاره کرد. همچنین در این تیمار، فضای لامینا پروپریا در حد مناسبی بود و سلول‌های جامی‌شکل به مقدار زیاد مشاهده شد (شکل ۷ و جدول ۵). همچنین ضایعات ناچیزی در بافت قسمت میانی روده ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₄₀ در مقایسه با دو تیمار قبلی مشاهده شد که می‌توان به نکروزه شدن سلول‌ها، خونریزی و گشادگی فضای لامینا پروپریا اشاره کرد، ولی تعداد سلول‌های جامی در این تیمار نسبت به دو تیمار قبلی کمتر بود (شکل ۸ و جدول ۵). روده میانی ماهیان تغذیه‌شده با جیره CGM₆₀ همانند ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های CGM₂₀ و CGM₄₀ دچار عوارض ناچیزی در مقایسه با روده قدامی ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM شامل نکروز و تخریب آنتروسیست و پرزهای میکروویلی به مقدار کم بود. فضای لامینا پروپریا مناسب تشخیص داده شد و سلول‌های جامی‌شکل به مقدار زیاد مشاهده شدند (شکل ۹ و



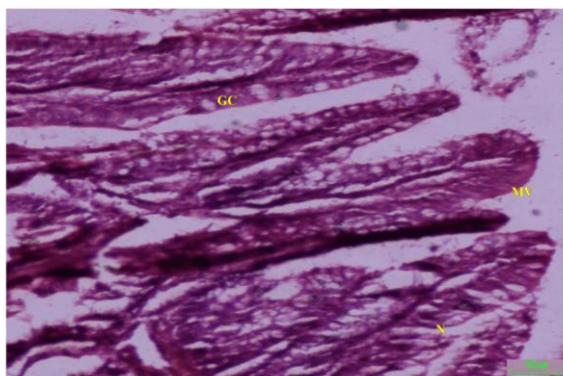
شکل ۷: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد (CGM₂₀). فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر)، سلول‌های جامی شکل (GC) و پرزهای میکروویلی (MV) (H&E, 200 X)

Figure 7: Transverse section of the midgut tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten- at 20% replacement (CGM₂₀). Lamina propria space (double arrow), goblet cells (GC) and microvilli (MV) (X 200, H&E)



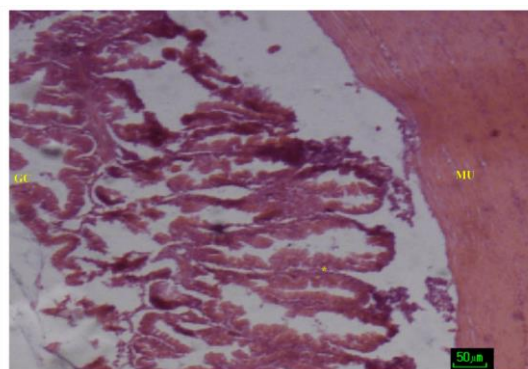
شکل ۶: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر پودر ماهی (FM). (طبقه مخاطی (M)، طبقه زیرمخاطی (SM)، طبقه عضلانی (MU)، طول چین روده (پیکان بزرگ)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و سلول‌های جامی شکل (GC) (X 100, H&E).

Figure 6: Transverse section of the midgut tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on with fishmeal (FM). Mucosal layer (M), submucosal layer (SM), muscular layer (MU), intestinal fold length (large arrow), lamina propria space (double arrow) and goblet cells (GC) (X 100, H&E)



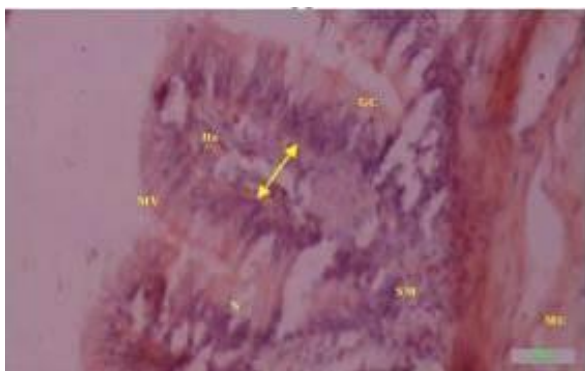
شکل ۹: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر آرد گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصد (CGM₆₀). سلول‌های جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV)، نکروز سلولی (N) (H&E, 200 X)

Figure 9: Transverse section of the midgut tissue juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 60% replacement (CGM₆₀). Goblet cells (GC), microvilli (MV), cell necrosis (N) (X 200, H&E)



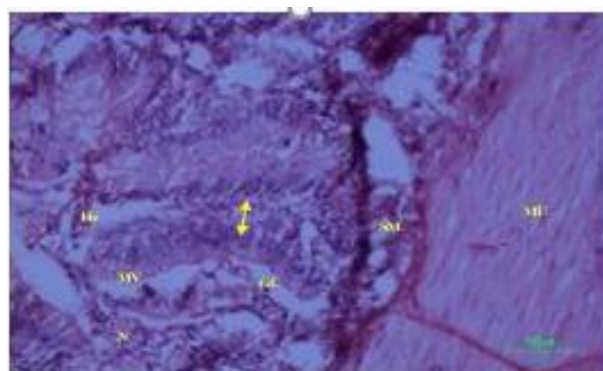
شکل ۸: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصد (CGM₄₀). (طبقه عضلانی (MU)، فضای لامینا پروپریا (ستاره) و سلول‌های جامی شکل (GC) (X 100, H&E)

Figure 8: Transverse section of the midgut tissue of juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 40% replacement (CGM₄₀). Muscular layer (MU), lamina propria space (star) and goblet cells (GC) (X 100, H&E)



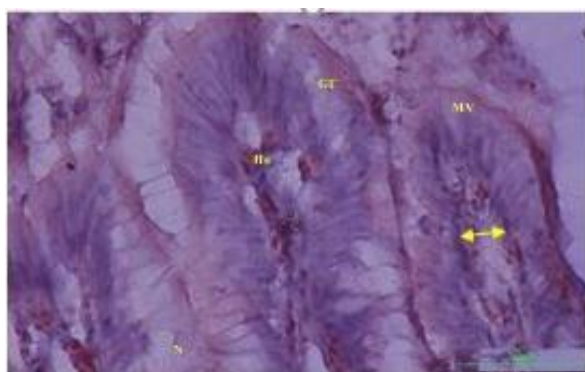
شکل ۱۱: برش عرضی از بافت انتهایی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر آرد ماهی (FM). طبقه زیر مخاطی (SM)، طبقه عضلانی (MU)، سلول جامی شکل (GC)، نکروز سلولی (N)، خونریزی (He)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 200, H&E)

Figure 11: Transverse section of the hindgut tissue of juvenile (*Huso huso*) fed with a diet based on fish meal (FM). Submucosal layer (SM), muscular layer (MU), goblet cell (GC), cell necrosis (N), hemorrhage (He), lamina propria space (double arrow) and microvilli (MV) (X 200, H&E)



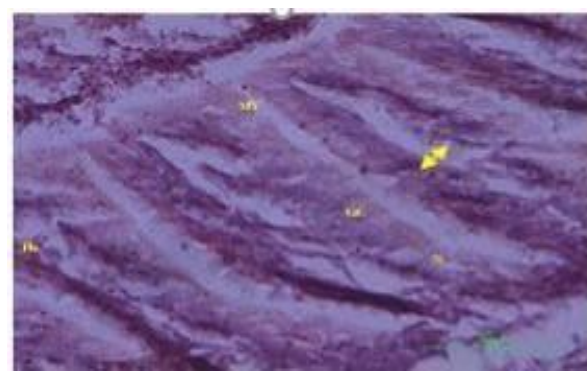
شکل ۱۰: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر آرد گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد (CGM₈₀). طبقه زیر مخاطی (SM)، عضلانی (MU)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر)، سلولهای جامی شکل (GC)، پرزهای میکروویلی (MV)، نکروز سلولی (N) و خونریزی (He). (X 200, H&E)

Figure 10: Transverse section of the midgut tissue juvenile *Huso huso* fed Dietary based on corn gluten at 80% replacement (CGM₈₀). Submucosal layer (SM), muscular layer (MU), lamina propria space (double-headed arrow), goblet cells (GC), microvilli (MV), cell necrosis (N) and hemorrhage (He). (X 200, H&E)



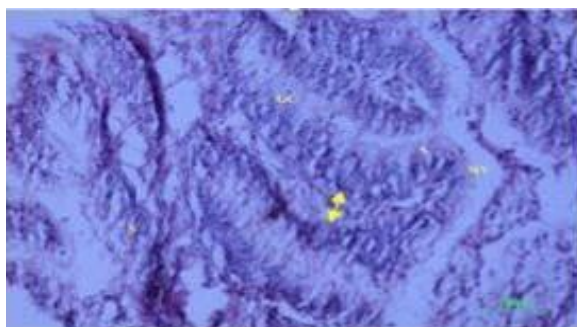
شکل ۱۳: برش عرضی از بافت انتهایی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۴۰ درصد (CGM₄₀). سلول جامی شکل (GC)، نکروز سلولی (N)، خونریزی (He)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 400, H&E)

Figure 13: Transverse section of hindgut tissue of juvenile (*Huso huso*) fed with a diet based on corn gluten at 40% replacement (CGM₄₀). Goblet cell (GC), cell necrosis (N), hemorrhage (He), lamina propria space (double arrow) and microvilli (MV) (X 400, H&E)



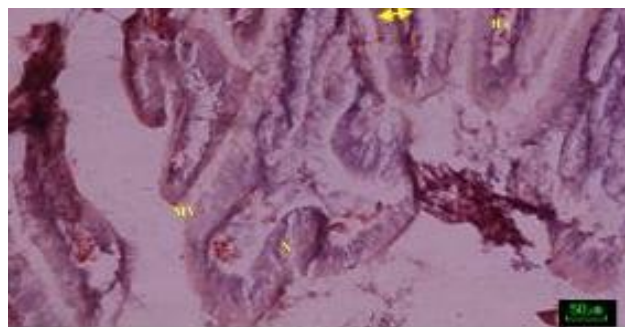
شکل ۱۲: برش عرضی از بافت انتهایی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد (CGM₂₀). سلول جامی شکل (GC)، نکروز سلولی (N)، خونریزی (He)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 400, H&E)

Figure 12: Transverse section of the hindgut tissue of juvenile (*Huso huso*) fed with a diet based on corn gluten at 20% replacement (CGM₂₀). Goblet cell (GC), cell necrosis (N), hemorrhage (He), lamina propria space (double arrow) and microvilli (MV) (X 400, H&E)



شکل ۱۵: برش عرضی از بافت میانی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد (CGM₈₀). سلول جامی شکل (GC)، نکروز سلولی (N)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 200, H&E)

Figure 15: Transverse section of the hindgut tissue of juvenile (*Huso huso*) fed with diet based on corn gluten at 80% replacement level (CGM₈₀). Goblet cell (GC), cell necrosis (N), lamina propria space (double arrow) and microvilli (MV) (X 200, H&E)



شکل ۱۴: برش عرضی از بافت انتهایی روده بچه فیلماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۶۰ درصد (CGM₆₀). سلول جامی شکل (GC)، نکروز سلولی (N)، خونریزی (He)، فضای لامینا پروپریا (پیکان دوسر) و پرزهای میکروویلی (MV) (X 100, H&E)

Figure 14: Transverse section of the hindgut tissue of juvenile (*Huso huso*) fed with diet based on corn gluten at 60% replacement (CGM₆₀). Goblet cell (GC), cell necrosis (N), hemorrhage (He), lamina propria space (double arrow) and microvilli (MV) (X 100, H&E)

جدول ۵: تغییرات آسیب شناسی بافت روده (قدامی، میانی و خلفی) فیلماهی مطالعه شده با میکروسکوپ نوری، علامت + میزان شدت عوارض، علامت - میزان مناسب و طبیعی بودن سلول‌های بافت و علامت پیکان افزایش یا کاهش سلول‌ها در تیمارهای مختلف را نشان می‌دهد.

Table 5: Pathological changes *Huso huso* the intestinal tissue (hindgut, midgut and foregut) studied with light microscope, the + sign indicates the severity of complications, the - sign indicates the appropriateness and normality of tissue cells, and the arrow indicates on increase or decrease of cells in different treatments.

تیمار															عوارض آسیبی
CGM ₈₀			CGM ₆₀			CGM ₄₀			CGM ₂₀			FM			
foregut	midgut	hindgut	foregut	midgut	hindgut	foregut	midgut	hindgut	foregut	midgut	hindgut	foregut	midgut	hindgut	
++++	+++	+++	++	-	++	-	+	+	-	-	-	-	-	-	Lamina propria space
↓	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Goblet cells
+++++	++++	+++	+	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	microvilli Necrosis
+++++	++++	+++	+	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	enterocytes Necrosis
++	++		+		+		+		+				+		Bleeding
+			++												Hyperemia

بحث

در مطالعه حاضر اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های مبتنی بر آرد ماهی و جیره‌های مبتنی بر آرد گلوتن ذرت (مخلوطی از گلوتن ذرت: ۳۵ درصد، گلوتن گندم: ۱۹/۳۴ درصد، آرد سویای فرآوری شده: ۳ درصد، پودر ضایعات مرغ: ۲۰ درصد، پودر گوشت و استخوان: ۸ درصد، پودر خون: ۴/۳ درصد) مشاهده نشد. همچنین ضریب رشد ویژه ماهیان این تیمارها در مقایسه با ماهیان تغذیه‌شده با جیره مبتنی بر پودر ماهی فاقد اختلاف معنی‌دار بود. شاخص‌های رشد مناسب و ضریب تبدیل غذای مطلوب در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف مخلوط پروتئین‌های گیاهی و جانوری را می‌توان به عواملی چند نسبت داد. Xue و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که می‌توان بدون این که اختلاف معنی‌دار و منفی در شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذای تاسماهی سبیری به‌وجود آید، ترکیبی از پروتئین‌های حیوانی را با مکمل‌های لایزین، متیونین و ترئونین جایگزین پودر ماهی نمود. محققین عدم کاهش رشد تاسماهی سبیری را به دارا بودن خصوصیات مشابه با سایر گونه‌های گوشت‌خوار در مصرف اسیدآمینه‌های کریستاله و هضم و جذب پروتئین‌های جانوری (پودر ضایعات مرغ، پودر گوشت و استخوان و پودر پر هیدرولیز شده) نسبت دادند، اما استفاده از پروتئین‌های گیاهی در جیره غذایی ماهیان گوشت‌خوار به دلیل بالا بودن کربوهیدرات و عدم تعادل اسیدآمینه (کمبود اسیدآمینه‌های متیونین و لایزین) (Lunger et al., 2007)، بدطعم بودن و حضور پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای (Dias et al., 2009) تا حد زیادی چالش‌برانگیز است. در مطالعه حاضر، جهت رفع کمبود اسیدهای آمینه ضروری مخلوط پروتئین‌های گیاهی و جانوری از مکمل‌های اسیدآمینه‌های کریستاله (هیستدین، آرژنین، متیونین، لایزین، متیونین و والین) استفاده شد. با توجه به نبود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه‌شده با سطوح مختلف پروتئین‌های گیاهی و جانوری با ماهیان تغذیه‌شده با جیره فرموله شده بر اساس پودر ماهی، نشان‌دهنده امکان استفاده بهینه از اسیدآمینه‌های کریستاله بود که نمونه‌های مشابه آن در جیره‌های نیمه‌خالص قزل‌آلای رنگین‌کمان

(Rodehutsord et al., 1995) و جیره‌های کاربردی در گونه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان (Kaushik et al., 1995) و تاسماهی هیبرید (*Acipenser baerii* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂) (Jiang et al., 2018) تغذیه‌شده با مخلوطی از پروتئین‌های گیاهی و جانوری با مکمل‌های اسیدآمینه بود. در مطالعه حاضر نیز اختلاف معنی‌داری در ضریب تبدیل غذای ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های CGM₂₀، CGM₄₀، CGM₆₀ و CGM₈₀ با ماهیان تغذیه‌شده با جیره FM مشاهده نشد که احتمالاً به دلیل تحمل سطوح بالای کربوهیدرات در ماهیان خاویاری به دلیل آناتومی دستگاه گوارش (حجیم بودن دیواره معده و باب المعده و دارا بودن اندام‌هایی شبیه سنگدان و دریچه‌های مارپیچی^۱ در روده و اندام پیلوریک) است (Buddington and Doroshov, 1986). مطالعاتی نیز نشان داده است، فیل‌ماهی در مقایسه با تاسماهی سفید و سبیری گونه‌ای است که می‌توان آن را با درصد‌های بالای کربوهیدرات مورد تغذیه قرار داد بدون این که در روند رشد آن اختلالی ایجاد شود (Mohseni et al., 2011). قابلیت هضم مخلوطی از پروتئین‌های گیاهی در تاسماهی سبیری ۸۳/۷ درصد برآورد شد (Liu et al., 2008). بنابراین، احتمالاً ماهیان خاویاری به‌ویژه فیل‌ماهی برخلاف ماهیان تک‌معده‌ای (قزل‌آلا) توانایی بیشتری در هضم منابع پروتئین جانوری و گیاهی جایگزین دارند. مطالعات دیگری نیز نشان داده بودند که آستانه تحمل ماهی به جیره محتوی پروتئین‌های گیاهی و جانوری از منبع پروتئین‌های گیاهی و جانوری تأثیر می‌پذیرد (Bañuelos-Vargas et al., 2014). در میان غلات، گلوتن ذرت حاوی پروتئین بالا، قابلیت هضم مناسب و مقادیر مناسب متیونین، لوسین و اسید گلوتامیک، غلظت کم شاخص‌های ضدتغذیه‌ای و از مهم‌ترین منابع گیاهی است که به طور معمول در غذای آبزیان مورد مصرف قرار می‌گیرد (Opstvedt et al., 2003). پودر ضایعات مرغ و پودر گوشت و استخوان اجزای پروتئینی مناسبی جهت جایگزینی در میگوی سفید (Cruz-Suarez et al., 2007) و گونه خرچنگ (Saoud et al., 2008) دارند و ضایعات پروتئین حیوانی نظیر پودر ضایعات مرغ، پودر گوشت و

¹ Spiral valve

با جیره حاوی ۲۰/۴ درصد آرد گلوتن ذرت گزارش نکردند. همچنین مطالعات انجام شده در سایر گونه‌ها که مخلوطی از سه منبع پروتئین گیاهی (آرد سویا، آرد گلوتن گندم و آرد گلوتن ذرت) جایگزین شده به جای پودر ماهی حاکی از تغییرات بافت‌شناسی ناچیزی در روده قزل‌آلای رنگین‌کمان (Barrows *et al.*, 2007)، سیم دریایی سرطلایی (Sitjà-Hansen *et al.*, 2005) کاد آتلانتیک (Bobadilla *et al.*, 2005) و کفال خاکستری (Luzzano *et al.*, 2005) بود. اما شواهدی در مورد التهاب خفیف روده در ماهی کاد آتلانتیک تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰ درصد مخلوط پروتئین گیاهی (آرد گلوتن ذرت، آرد سویا و پروتئین کنسانتره سویا) جایگزین شده به جای آرد ماهی مشاهده شد (Olsen *et al.*, 2007)، ولی Santigosa و همکاران (۲۰۰۸) تغییرات بافت‌شناسی را بدون عارضه التهاب روده در ماهی سیم دریایی تغذیه شده با مخلوط پروتئین‌های گیاهی (آرد گلوتن ذرت و گندم، لوبیای اکستروده شده، آرد لوپن شیرین و گندم کامل اکستروده شده)، گزارش کردند. اما در روندی مخالف با نتایج تحقیقات پیشین، نتایج مطالعات Bai و همکاران (۲۰۱۹) در خصوص جایگزینی آرد گلوتن ذرت به جای پودر ماهی در سطوح صفر، ۳۳، ۵۰ و ۶۷ درصد در جیره غذایی کفشک نشان داد که افزایش گلوتن ذرت به میزان ۴۳ درصد در جیره (سطح جایگزینی ۶۷ درصد)، موجب افزایش حساسیت و واکنش‌های التهابی، گشادگی لامینا پروپریا، نشت سلول‌های خونی در این لایه و لایه مخاطی و بیان بیشتر ژن‌های پیش التهابی سیتوکینین ($\text{Il-1}\beta$ ، Il-8 و $\text{Tnf-}\alpha$)، می‌شود، علاوه بر این، تغییراتی در ساختار میکروویلی‌ها و نکروزه شدن آنها مشاهده شد. اما در مطالعه حاضر، عوارض ایجاد شده در بافت روده ماهیان تغذیه شده با جیره CMG_{80} (۲۶ درصد گلوتن ذرت در کل جیره) را نمی‌توان به شاخص‌های ضدتغذیه‌ای در آرد گندم و آرد گلوتن ذرت نسبت داد، اما آرد گلوتن ذرت دارای قسمت‌های غیرپروتئینی نظیر کربوهیدرات است که بیش از ۳۰ درصد ماده خشک آن را تشکیل می‌دهد (Hardy, 2010) و میزان نشاسته آن با توجه به نوع منبع و نحوه فرآوری ۷/۲۰-۱۳ درصد است (Jaworski *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، سطوح الحاق کربوهیدرات به‌وسیله آرد

استخوان، پودر خون و پر هیدرولیز شده به طور موفقیت آمیزی در جیره ماهی آزاد چینوک (Fowler, 1991)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Bureau *et al.*, 2000)، ماهی *red drum* (Kureshy *et al.*, 2000)، سوف نقره‌ای استرالیایی (Allan *et al.*, 2000) و هیبرید تیلپیا (Xue *et al.*, 2003) به کار گرفته شدند. بدین ترتیب، احتمالاً به‌نظر می‌رسد، فرمولاسیون جیره‌های جایگزین بر اساس طراحی مخلوطی از ضایعات پروتئین جانوری و منابع پروتئین گیاهی اقدامی کارا و موثرتر در غنی‌سازی پروفایل و ترکیب بیوشیمیایی جیره است و می‌توان این مخلوط‌ها را کامل‌تر و متعادل‌تر و در سطح کنترل شده در مقایسه با منابع پروتئین منفرد طراحی کرد (Wang *et al.*, 2016). بررسی‌های توصیفی نشان داد که در ماهیان تغذیه شده با جیره FM، فضای لامینا پروپریا در حد متعارف و نکروزه شدن آنتروسیست‌ها در حد ناچیز بود، ولی با افزایش جایگزینی مخلوط مبتنی بر آرد گلوتن ذرت (CGM_{20} ، CGM_{40} و CGM_{60}) شواهدی مبنی بر نکروز کم آنتروسیست‌ها و پرزهای روده‌ای، پر خونی و افزایش تعداد سلول‌های جامی و گشادگی فضای لامینا پروپریا در روده قدامی، میانی و انتهایی مشاهده شد، هر چند که این تغییرات در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره FM کم و ناچیز بود، اما تغییرات مذکور در ماهیان تغذیه شده با جیره CGM_{80} شدت گرفت. مطالعات انجام شده در آزادماهیان نشان می‌دهد که جایگزینی پروتئین‌های گیاهی به جای پودر ماهی موجب کاهش رشد، تغییرات پاتولوژیک به‌خصوص التهاب در قسمت انتهایی روده می‌شود (Urán *et al.*, 2009a) و همبستگی مثبت با نوع گونه دارد. این پدیده با کوتاه شدن ویلوس‌های روده، از دست رفتن هسته و نکروزه شدن آنتروسیست‌ها، گشاد شدن لایه لامینا پروپریا و نفوذ سلول‌های التهابی به لایه لامینا پروپریا خود را نشان می‌دهد (Raskovic *et al.*, 2011). نتایج تحقیقات در مورد تأثیر پروتئین‌های گیاهی و بروز آنتریت در ماهیان پرورشی متفاوت است. Storebakken و همکاران (۲۰۰۰) از التهاب روده ماهی آزاد اقیانوس اطلس تغذیه شده با جیره محتوی ۳۵ درصد گلوتن ذرت خبر دادند، ولی Aslaksen و همکاران (۲۰۰۷) هیچ‌گونه تغییری در همان گونه تغذیه شده

2007). با توجه به این که سلول‌های گابلت مرتبط با سیستم ایمنی و ترشح موکوس به منظور لزج و روان ساختن مایع لوله گوارشی است و از این طریق یک سد حفاظتی را در مقابل آسیب‌های مکانیکی و شیمیایی ایجاد می‌کند (Marchetti et al., 2006). به نظر می‌رسد که افزایش سلول‌های گابلت، در فیل‌ماهیان تغذیه شده با مخلوط پروتئین‌های گیاهی در سطوح ۶۰ و ۸۰ درصد (CGM₆₀ و CGM₈₀) جایگزینی، واکنشی در مقابل نکروزه شدن لایه مخاطی و کاهش پرزهای روده‌ای است که با ترشح بیشتر موسین‌ها مانع آسیب رساندن بیشتر به چین‌های لایه مخاطی می‌گردد (Li et al., 2007)، اما با وجود این عوارض به نظر می‌رسد که میزان آسیب وارده به اپیتلیوم دستگاه گوارش ماهیان تغذیه شده با جیره‌های CGM₄₀، CGM₂₀ و CGM₆₀ در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره‌های FM، قابل چشم پوشی بوده و منجر به آنتریت (التهاب روده) نگردیده است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح "جایگزینی پروتئین‌های گیاهی و جانوری به جای پودر ماهی در جیره غذایی فیلماهی" به سفارش استانداری استان گیلان است. نگارندگان از آقایان مهندس حمید ناصحی معاونت برنامه‌ریزی سازمان برنامه و بودجه استانداری استان گیلان و دکتر محمدعلی یزدانی ساداتی جهت تامین مالی و سخت افزاری اجرای پروژه صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین تشکر و سپاس ویژه خود را از آقایان مهندس هوشنگ یگانه و آقایان آرش شهبازی و محسن هوشیار که تغذیه و پرورش ماهیان را بر عهده داشتند، ابراز می‌دارند.

منابع

Abdulhai, A. and Karmi-Rad, N.V., 2018. The development of caviar fish farming in Iran. *Sturgeon Scientific Extension Journal*, 1:32-44. (In Persian)

گلوتن ذرت و گلوتن گندم با افزایش جایگزینی در حال افزایش بود و از ۲۰/۲ درصد در جیره مبتنی بر گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۲۰ درصد به ۲۵/۱۸ درصد در جیره مبتنی بر آرد گلوتن ذرت در سطح جایگزینی ۸۰ درصد رسید. حد بهینه کربوهیدرات در ماهیان گوشت‌خواری نظیر سیم دریایی سرتیز (Fernandez et al., 2007)، پمپانوی طلایی (*Trochilotus ovatus*) (Zhou et al., 2007) و گربه‌ماهی پوزه‌دراز (*Leiocosis lngivostriis*) (Tan et al., 2007) کمتر از ۲۰ درصد گزارش شده است. فیل‌ماهی می‌تواند ۳۳ درصد کربوهیدرات (نشاسته عمل‌آوری شده) در جیره را تحمل کند (Mohseni et al., 2011). اما توصیه می‌شود که به جیره این گونه بیش از ۲۰ درصد کربوهیدرات قابل هضم اضافه نشود (Mohseni et al., 2007). بنابراین، با توجه به افزایش کربوهیدرات در جیره به نظر می‌رسد که جیره CGM₈₀ تأثیرات التهابی بر بافت روده فیل‌ماهی دارد که نظیر آن در پمپانوی طلایی (Zhou et al., 2007)، باس دریایی دهان بزرگ (Lin et al., 2018) و گربه‌ماهی دم زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Wang et al., 2014) مشاهده شده بود. البته تاکنون تحقیقات جامعی در خصوص مکانیسم تأثیر کربوهیدرات جیره بر بافت روده ماهیان خاویاری صورت نگرفته است، اما نتایج تحقیقات Bai و همکاران (۲۰۱۹) براین نکته اذعان دارد که کربوهیدرات اضافی در جیره می‌تواند موجب تغییرات التهابی در روده کفشک شود.

در مطالعه حاضر، با افزایش جایگزینی مخلوط‌های مبتنی بر گلوتن ذرت، میزان رسوب سلول‌های جامی شکل (سلول‌های گابلت) افزایش یافت و در تیمار ۸۰ درصد جایگزینی به بیشترین مقدار خود رسید. در مورد تأثیر پروتئین‌های جایگزین بر افزایش و کاهش یا افزایش سلول‌های گابلت اطلاعات کمی در دست است. نتایج مطالعات Bonivini و همکاران (۲۰۱۷) در خصوص جایگزینی آرد سویا به جای آرد ماهی در سطوح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد جیره غذایی باس دریایی اروپایی حاکی از افزایش و رسوب سلول‌های گابلت بود. سلول‌های گابلت در ماهی کاد تغذیه شده با منابع پروتئین گیاهی جایگزین شده به جای پودر ماهی دچار هایپرتروفی و هایپرپلازی شده بودند (Olsen et al.,)

- Allan, G.L., Parkinson, S., Booth, M.A., Stone, D.A.J., Rowland, S.J., Frances, J. and Warner-Smith, R., 2000. Replacement of fishmeal in diets for Australian silver perch (*Bidyamus bidyamus*): I. Digestibility of alternative ingredients. *Aquaculture*, 186:293-310. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00380-4
- Amaya, E.A., Davis, A.D. and Rouse, D.V., 2007. Replacement of fishmeal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions. *Aquaculture*, 262:393-397. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.11.015
- Asla ksen, M.A., Kraugerud, O.F., Penn, M., Svihus, B., Denstadli, V., Jørgensen, H.Y., Hillestad, M., Krogdahl, A. and Storebakken, T., 2007. Screening of nutrient digestibility and intestinal pathologies in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with legumes, oilseeds, or cereals. *Aquaculture*, 272:541-555. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.07.222
- Baeverfjord, G. and Krogdahl, A., 1996. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *Journal of Fish Diseases*, 19:375-387. DOI:10.1046/j.1365-2761.1996.d01-92.x
- Bai, N., Cu, M., Liu, M., Jia, Q. and Pan, S., 2019. Corn gluten meal induces enteritis and decreases intestinal immunity and antioxidant capacity in turbot (*Scophthalmus maximus*) at high supplementation levels. *PLoS One*, 14:e0213867. DOI:10.1371/journal.pone.0213867
- Bani, A., Tabarsa, M. and Falahatkar, B., 2009. Effects of different photoperiods on growth, stress and haematological parameters in juvenile great sturgeon (*Huso huso*), *Aquaculture Research*, 40:1899-1907. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02321.x
- Bañuelos-Vargas, I., López, L.M., Pérez-Jiménez, A. and Peres, H., 2014. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 170B:18-25. DOI:10.1016/j.cbpb.2014.01.00
- Barrows, F.T., Stone, D.A.J. and Hardy, R.W., 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soy bean meal for rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 256:244-252. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.01.017
- Bonivini, E., bonaldo, A., Manrioli, L., Sirri, R., Dond, I.F., Fontanillas, R., Mongile, F., Gatta, P.P. and Parma, L., 2017. Effects of feeding low fishmeal diets with increasing soybean meal levels on growth, gut histology and plasma biochemistry of sea bass. *The Animal Consortium*, 12:1-8
- Buddington, R.K. and Doroshov, S.I., 1986. Development of digestive secretions in white sturgeon (*Acipenser transmontums*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 83A:233-238. DOI:10.1016/0300-9629(86)90567-0
- Bureau, D.P., Harris, A.M. and Cho, C.Y., 2000. Feather meals and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 181:281-291. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00232-X
- Cruz-Suárez, L.E., Rieto-López, E.M., Barbosa, C.G., Tapia-Salazar, M., Scholz, U. and Ricque-Marie, D., 2007. Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in practical diets for

- Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture*, 272:466-476. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.04.084
- Davis, D.A. and Arnold, C.R., 2000.** Replacement of fishmeal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 185:291-298. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00354-3
- Dias, J., Conceição, L.E., Ribeiro, A.R., Borges, P., Valente, L.M. and Dinis, M.T., 2009.** Practical diet with low fish derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the grow out phase. *Aquaculture*, 293:255-262. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.04.042
- Fernandez, F., Miquel, A.G., Cordoba, M., Varas, M., Meto, N.I. and Caseras, A., 2007.** Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Experimental Marine Biology and Ecology*, 343:1-10. DOI:10.1016/j.jembe.2006.10.057
- Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I. and Venou, B., 2005.** Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Research*, 36:1243-1251. DOI:10.1111/j.1365-2109.2005.01232.x
- Fowler, L.G., 1991.** Poultry by-product meal as a dietary protein source in Chinook salmon diets. *Aquaculture*, 99:309-321. [http://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90251-2](http://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90251-2)
- Francis, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2001.** Anti nutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199:197-227. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00526-9
- Glencross, B.D., Booth, M. and Allan, G.L., 2007.** A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition*, 13:17-34. DOI:org/10.1111/j.1365-2095.2007.00450.x
- Gomes, E.F., Rema, P. and Kaushik S.J., 1995.** Replacement of fishmeal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 130:177–186. DOI:10.1016/0044-8486(94)00211-6
- Hansen, A.C., Rosenlund, G., Karlsen, O., Olsvik, P.A. and Hemre, G.I., 2006.** The inclusion of plant protein in cod diets, its effects on macronutrient digestibility, gut and liver histology and heat shock protein transcription. *Aquaculture Research*, 37:773-784. DOI:10.1111/j.1365-2109.2006.01490.x
- Hansen, A., Rosenlund, G. and Karlsen, O., 2007.** Total replacement of fishmeal with plant proteins in diets for the Atlantic cod (*Gadus morhua*). I - Effects on growth and protein retention. *Aquaculture*, 272:599-611. DOI:10.1016/j..2007.08.034
- Hardy, R.W. and Barrows, F.T., 2002.** Diet formulation and manufacture. In: Halver, J.E., Hardy, R.W (Eds). *Fish Nutrition*. Academic Press, London. 505-600
- Hardy, R.W., 2010.** Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41 (5):770-776. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x
- Hung, S.S.O., 2017.** Recent advances in sturgeon nutrition. *Animal Nutrition*, 3: 191-204. DOI:10.1016/j.aninu.2017.05.005

- Jaworski, N.W., Lærke, H.N., Bach Knudsen, K.E. and Stein, H.H., 2015.** Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and non-starch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and co-products from these grains. *Journal of Animal Science*, 93:1103–1113. DOI:10.2527/jas.2014-8147
- Jiang, H.B., Chen., L.Q. and Qin, J.G., 2018.** Fishmeal replacement by soybean, rapeseed and cottonseed meals in hybrid sturgeon (*Acipenser baerii* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂). *Aquaculture Nutrition*, 24:1369-1377. DOI: 10.1111/anu.12674
- Jirsa, D., Barrows, F.T., Hardy, R.W. and Drawbridge, M., 2015.** Alternative protein blends as a replacement for fishmeal in diets for white sea bass (*Atactoscion nobilis*). *Aquaculture Nutrition*, 21:861-967. DOI:10.1111/anu.12212
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M., 1995.** Partial or total replacement of fishmeal by soybean protein on growth, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 133:257-274. DOI:10.1016/0044-8486(94)00403-B
- Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M., Baeverfjord, G., 2003.** Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Nutrition*, 9:361-371. DOI:10.1046/j.1365-2095.2003.00264.x
- Kureshy, N., Davis, D.A. and Aronld, C.D., 2000.** Partial replacement of fishmeal with meat-and-bone meal, flash-dried pouzultury by Kuzmina V.V., Gelman, I.L., 1997. Membrane linked digestion in fish. *Reviews in Fisheries Science*, 5:99-129. DOI:10.1577/1548-8454(2000)062<0266 :PROFMW> 2.0.CO;2
- Li, P., Yin, Y.L., Li, D., Woo, S. and Wu, G., 2007.** Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98:237-252. DOI:10.1017/S000711450769936X
- Lin, S.M., Shi, C.M., Mu, M.M., Chen, Y.J. and Luo, L., 2018.** Effect of high dietary starch levels on growth, hepatic glucose metabolism, oxidative status and immune response of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish and Shellfish Immunology*, 78:121-126. DOI:10.1016/j.fsi.2018.04.046
- Liu, H., Wu, X., Zhao, W., Xue, M., Guo, L., Zheng, Y. and Yu, Y., 2008.** Nutrients apparent digestibility coefficients of selected protein sources for juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), compared by two chromic oxide analyses methods. *Aquaculture Nutrition*, 15:650-656. DOI:10.1111/j.1365-2095.2008.00634.x
- Lunger, A.N., McLean, E. and Craig, S.R., 2007.** The effects of organic protein supplementation upon growth, feed conversion and texture quality parameters in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 264:342-352. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.12.012
- Lunstedt, L.M., Melo, J.B.M. and Moraes, G., 2004.** Adaptive histological variations in the gut of pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) fed different protein levels. *International Conference on the Biology of Fish. San Paolo, Brazil, Physiology Section, American Fisheries Society*, 33-44.
- Luzzano, U., Valfre, F., Mangiarorotti, M. and Domeneghini, C., 2005.** Evaluation of different protein sources in fingerling grey mullet (*Mugil cephalus*) practical diets.

- Aquaculture international*, 13:291-303. DOI:10.1007/s10499-004-3099-9
- Marchetti, L., Capacchietti, M., Sabbieti, M.G., Accili, D., Materazzi, G. and Menghi, G., 2006.** Histology and carbohydrate histochemistry of the alimentary canal in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Fish Biology*, 68:1808-1821. DOI:10.1111/j.0022-1112.2006.01063.x
- Medale, F., Gorraze, G. and Kaushik, S.J., 1995.** Nutrition of farmed Siberian sturgeon. A review of our current knowledge. In: Gershanovic, A.D., Smith, T.I.J. (eds) *Proceedings of the Third International Symposium on Sturgeons* VNIRO Publishing, Moscow, Russia, pp. 289-298
- Mohseni, M., Bahmani, M., Pourali, H., Arshad, A., Alizadeh, M., Jamalzad, F., Sofiani, N., Haghigian, M. and Zahedifar, M., 2005.** Determining *Huso huso* Requirement from the larval market stage. *Fisheries Science Research Institute*, Final report: No: R-1070562, 245 P (In Persian).
- Mohseni, M., Sayed Hassani, M.H., Pourali, H.R., Pourkazemim, M. and Bai, S.C., 2011.** The optimum dietary carbohydrate / lipid ratio can spare protein in growing beluga (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*, 27:775-780. DOI:10.1111/j.1439-0426.2011.01706.x
- Mohseni, M., Pourkazemi, M., Hosseini, M.R., Hassani, M.H.S. and Bai, S.C., 2013.** Effects of the dietary protein levels and the protein to energy ratio in sub-yearling Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture Research*, 44:378-387. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011.03041.x
- Moore, B. J., Hung, S. S. and Medrano, J. F., 1988.** Protein requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 71(3):235-245. DOI:10.1016/0044-8486(88)90262-
- Najafi, M., Falahatkar, B., Amlashi, A.S. and Tolouei Gilani, M.H., 2016.** The combined effects of feeding time and dietary lipid levels on growth performance in juvenile beluga sturgeon (*Huso huso*). *Aquaculture International*, 25:31-45. DOI:10.1007/s10499-016-0011-3.
- O'Connell, C.P., 1976.** Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy (*Engraulis mordax*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 25 (3):285-312. DOI:10.1016/0022-0981(76)90130-1
- Olsen, R.E., Hansen, A.C., Rosenlund, G., Hemre, G.I., Mayhew, T.W., Knudsen, D.L., Eroldogan, O.T., Myklebust, R. and Karlsen, Ø., 2007.** Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua*) II: Health aspects. *Aquaculture*, 272:612-624. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.05.010
- Opstvedt, J., Samuelsen, T.R., Venturini, G., Luzzana, U. and Mundheim, H., 2003.** Effect on protein digestibility of different processing conditions in the production of fishmeal and fish feed. *Science of Food and Agriculture*, 83:775-782. DOI:10.1002/jsfa.1396
- Raskovic, C.B., Stonkovic, B., Markovic, Z.Z. and Poleksic, V.D., 2011.** Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences*, 56:87-100. DOI:10.2298/JAS1101087R
- Rodehutscord, M., Mandel, S., Pack, M., Jacobs, S. and Pfeffer, E., 1995.** Free amino acids can replace protein-bound amino acids in test diets for studies in rainbow trout

- (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Nutrition*, 125:956-963. DOI:10.1093/jn/125.4.956
- Rumsey, G., Endres, J.G., Bowser, P.R., Earnest-Koons, K.A., Anderson, D.P. and Siwicki, A.K., 1994.** Soy protein in diets for rainbow trout: Effects on growth, protein absorption, gastrointestinal histology, and nonspecific serological and immune response. In: Lim, C, and Sessa, D.J. (eds) *Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture*. AOAC Press, Champaign Illinois, United States, pp. 166-188.
- Safarpour, A.S., Falahatkar, B. and Sharifi, S.D., 2006.** Dietary vitamin E requirements and growth performance of young-of-the-year beluga (*Huso huso*) (Chondrostei: Acipenseridae). *Archives of Polish Fisheries*, 20: 299-306. DOI:10.2478/v10086-012-0034-y
- Santigosa, E., Sánchez, J., Médale, F., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J. and Gallardo, M., 2008.** Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. *Aquaculture*, 282:68-74 DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.007
- Saoud, I.P., Davis, D.A. and Rouse, D.B., 2008.** Replacement of fishmeal with poultry by-product meal in practical diets for red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Aquaculture Nutrition*, 14:139-142. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00513.x>.
- Sharifpour, A. Halajian, A. and Kazemi, R., 2014.** Laboratory methods of aquatic histology. *Iranian Fisheries Science Research Institute, Iran*, 356 P. (In Persian)
- Shefchenko, V.N., 1995.** Technology of growing meat of *Acipenser persicus* in fiberglass tanks using artificial foods. Shahid Dr. Beheshti sturgeon reproduction and breeding complex publishing, Iran, 48 P. (In Persian).
- Silva, J.M.G., Espe, M., Conceicao, L.E.C., Dias, J. and Valente, L.M.P., 2009.** Senegalese sole juveniles (*Solea senegalensis*) grow equally well on diets devoid of fish meal provided the dietary amino acids are balanced. *Aquaculture*, 296:309-317. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.08.031
- Sitjà-Bobadilla, A., Peña-Llopisa, S., Gómez-Requena, P., Médale, F., Kaushik, S. and Pérez-Sánchez, J., 2005.** Effect of fishmeal replacement by plant protein sources on non-specific defense mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249:387-400. DOI:10.1016/j.aquaculture.2005.03.031
- Storebakken, T., Shearer, K.D. and Roem, A.J., 2000.** Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon, (*Salmo salar*) fed diets with fishmeal and soy-protein concentrate as the main sources of protein. *Aquaculture Nutrition*. 6:103-108. DOI:10.1046/j.1365-2095.2000.00135.x
- Tan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W. and Yang, Y., 2007.** Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth and feed utilization in of Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris*). *Journal of Applied Ichthyology*, 23:605-610. DOI:10.1111/j.1439-0426.2007.00846.x
- Urán, P.A., Schrama, J.W., Rombout, J.H.W.M., Koppe, W., Obach, A., Jensen, L., Koppe, W. and Verreth, J.A.J., 2008.** Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) at different temperatures. *Aquaculture Nutrition*, 14: (4)

324-330.DOI:10.1111/j.1365-2095.2007.00534.x

Wang, Q., He, G., Mai, K., Xu, W. and Zhou, H., 2016. Fishmeal replacement by mixed plant proteins and maggot meal on growth performance, target of rapamycin signaling and metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture Nutrition*, 22:252-278. DOI:10.1111/anu.12296

Xue, M., Zhou, Z., Wu, X.F., Yu, Y. and Ren, Z.L., 2003. Partial or total replacement of fishmeal by meat and bone meal in practical diets for Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 15:106-112. DOI:10.1111/j.1365-2109.2005.01223.x

Xue, M., Yun, B., Wang, J., Sheng, H., Zheng, Y., Wu, X., 2012. Performance, body composition input and output of nitrogen and phosphorus in Seberian sturgeon, (*Acipenser baerii*), as affected by dietary animal protein blend replacing fishmeal and protein level. *Aquaculture Nutrition*, 18:493-501. DOI:10.1111/j.1365-2095.2011.00908.x

Yazdani, M.H., Sayed Hassani, M.H., Pourkazemi, M., Shakorian, M. and Pourasadi, M., 2014. Influence of different levels of dietary choline on growth rate, body composition, hematological indices and liver lipid of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Journal of Applied Ichthyology*, 30:1632-1636. DOI:10.1111/jai.12619

Yun, B., Xue, M., Wang, J., Sheng, H., Zheng, Y. and Wu, X., 2014. Fishmeal can be totally replaced by plant protein blend at two protein levels in diets of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser Baerii*). *Aquaculture Nutrition*, 20:69-78. DOI:10.1111/anu.12053.

Zhou, X.Q., Zhao, C.R. and Lin, Y., 2007. Compare the effect of diet supplementation

with uncoated or coated lysine on juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian). *Aquaculture Nutrition*, 13:457-461. DOI:10.1111/j.1365-2095.2007.00498.

Effect mixture of vegetable and animal proteins based on corn gluten on growth rate and digestive tract tissue of beluga (*Huso huso*)

Mirhamed Seyed Hassani.^{1*}; Mir Masoud Sajjadi.^{2*}; Bahram Falahatkar.²; Mahmoud Mohseni.¹; Ali Halajian.¹; Ayoub Yousefi.¹; Maryam Monsef Shukri.¹

*mirhamedhassani@yahoo.com; mmsajjadi@hotmail.com

1-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

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

Introduction

Fishmeal price were increasing every year and predicted that fish diet will have a wider range of ingredients replaced by fishmeal, such as vegetable sources, microbial protein sources, waste from fishing and animal protein waste (Glencross *et al.*, 2007). Vegetable proteins can replace fish meal to some extent and have a negative effect on the growth of aquatic animals at high levels. But many studies have shown that a mixture of vegetable proteins can improve the amino acid profile compared to single protein source replaced by fish meal (Amaya *et al.*, 2007). By this method, high replacement with a blend of protein Vegetables have been reported in aquatic animal (Hansen *et al.*, 2007), but increasing fiber, increasing carbohydrates and inappropriate amino acids in diets based on animal and vegetable proteins can led to a negative effect on fish digestive system that showed by growth reduction, immune system depress , low quality meat and even fish fatality in a long-term feeding period (Raskovic *et al.*, 2011). therefore, in this experiment, the effect of a mixture of animal and vegetable proteins replaced by fish meal (levels of 20, 40, 60 and 80%) on the growth indices and digestive system tissue *Huso huso* were studied.

Methodology

In order to reduce the share of fishmeal in the diet of beluga, a basal diet based on 54% of fishmeal was made. A mixture of animal and vegetable proteins (corn gluten: 35%, wheat gluten: 19.34%, processed soybean flour: 3%, chicken by-products: 20%, meat and bone meal: 8%, blood meal: 3.4%) at 20, 40, 60 and 80% levels replaced with fishmeal (FM) (CGM₂₀, CGM₄₀, CGM₆₀, and CGM₈₀, respectively) and finally 5 isonitrogenous (44% crude protein) and isoenergetic (18 MJ/kg) diets were produced. The fish (Average weight: 167±6.5 gr) were fed to saturation for 12 weeks. Biometry were carried out on month interval and by carrying out information obtained from fish length, weight and food consumption, growth indices and feed efficiency ratio were calculated. At the end of the feeding period, 30% of the fish population was collected from each tank for histological studies. Three parts of the intestine (hindgut, midgut, and foregut) were removed. It was fixed and stained. Histological studies were carried out by an optical microscope equipped with a monitor.

Results

There was no significant difference in the final weight and length of fish of different treatments ($P>0.05$). condition factor and percentage of weight gain of fish fed with FM, CGM₂₀, CGM₄₀, CGM₆₀ and CGM₈₀ had no no significant difference and percentage of weight gain was close to each other (243 to 298%) ($P>0.05$). No significant difference was observed in specific growth rate and daily growth rate and food conversion ratio in fish fed with all diets ($P>0.05$). Fish fed FM had the highest protein efficiency ratio (1.75 ± 0.23), but protein efficiency ratio in fish fed with CGM₂₀, CGM₄₀, CGM₆₀ and CGM₈₀ was in the range of 1.53 to 1.73%. But no significant difference was observed ($P>0.05$). Histological studies were carried out by an optical microscope equipped with a monitor. The intestinal tissue of fish fed with CGM₈₀ diet had necrosis and biliary stagnation. However, histological studies in fish fed with FM, CGM₂₀, CGM₄₀, and CGM₆₀ diets showed that the lamina propria space is adequate, the necrosis of enterocytes is negligible, and the number of goblet cells in the anterior, middle, and distal intestine is balanced. The final results confirmed that the CGM₈₀ did not a negative effect on the growth fish, but it caused damage to the digestive system . In the present study, there is no significant difference in growth indices and food conversion ratio of fish fed with diets based on fish meal and diets based on corn gluten flour (a mixture of corn gluten: 35%, wheat gluten: 19.34%, soybean meal processed: 3%, poultry by product: 20%, meat and bone meal: 8%, blood powder: 4.3%). In this order, it seems be that alternative diets formulation based on a mixture of Animal and vegetable protein sources were led to enriching of profile and biochemical composition of diet, In addition beluga Compared to white and Siberian sturheon is a species that can be fed with high carbohydrates percentages without growth reduction (Mohseni *et al.*, 2011). In the present experiment, by increasing mixtures based on corn gluten-based in fish diet, goblet cells were increased and reached to highest value in CGM₈₀. goblet cells are related to immune system and mucus secretion in order to fluidity of digestive tract and create a protective barrier against mechanical and chemical damage (Marchetti *et al.*, 2006). it seems that the increase of goblet cells in beluga fed with a mixture of vegetable proteins (CGM₆₀ and CGM₈₀) is a reaction against to mucous layer necrosis and reduction of intestinal villi in order to further damage of folds by secreting more mucins (Li *et al.*, 2007), but in general, digestive tract epithelium damage in fish fed CGM₂₀, CGM₄₀ diets and CGM₆₀ was negligible compared to fish fed with FM diets and did not lead to enteritis (intestinal inflammation). Therefore, it is suggested to replace fishmeal with a mixture of animal and vegetable proteins at 20 and 40% in *Huso huso* diet during the fattening stage.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest between authors

Acknowledgment

This article is taken from the project " fish meal replacement by vegetable and animal proteins in *Huso huso* diet " ordered by the governorate of Gilan province. The authors sincerely thank to Mr. Hamid Nasahi, Vice President of Planning, Program and Budget Organization of Gilan Province and Dr. Mohammad Ali Yazdani Sadati for providing financial and hardware for project. They also express their special gratitude to Mr. Hoshang Yeganeh, Mr. Arash Shahbazi and Mr. Mohsen Hoshier, who were distribution in feeding and rearing of fish.

*Corresponding author