CC BY

مقاله علمی – پژوهشی:

اثر پروتئین آبکافتی امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در جیره بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی روده در تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) جوان

سکینه یگانه*[۱]، میلاد عادل[۲]

*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 دریافت: آبان ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۱

چکیده

این مطالعه با هدف تعیین اثر سطوح مختلف پروتئین آبکافتی امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در جیره بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی تاس‌ماهی سیبری جوان (*Acipenser baerii*) انجام شد. برای این منظور، ۳۰۰ عدد تاس‌ماهی سیبری جوان با وزن اولیه ۳±۶۷ گرم در ۱۲ مخزن با حجم ۲۰۰۰ لیتر توزیع شدند. در هر مخزن ۲۵ ماهی معرفی و طی مدت ۵۶ روز با سطوح مختلف پروتئین آبکافتی (PH) در چهار تیمار شامل: سطوح صفر (شاهد)، ۵ (5PH)، ۱۰ (10PH) و ۲۰ (20PH) گرم پروتئین آبکافت شده به ازاء هر کیلوگرم جیره غذادهی شدند. بر اساس نتایج، تمام شاخص‌های رشد در تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی نسبت به شاهد بهبود یافت ($p<۰/۰۵$) به طوری‌که بیشترین میزان نرخ رشد ویژه، وزن اکتسابی و درصد افزایش وزن در 10PH به‌دست آمد ($p<۰/۰۵$). در این تحقیق، کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار 10PH و بیشترین میزان آن در شاهد بود ($p<۰/۰۵$). همچنین ماهیان تغذیه شده با 10PH بالاترین مقدار پروتئین خام (۰/۱۴±۱۹/۱۰ درصد) و پایین‌ترین درصد چربی خام (۰/۱۵±۵/۶۰) 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 ($p<۰/۰۵$). همچنین فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار 10PH به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و 5PH بود ($p<۰/۰۵$). تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار 10PH، بالاترین میزان را نشان داد ($p<۰/۰۵$). در مجموع، تأثیر پروتئین آبکافتی ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ویژه 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 ۱۰ درصد پروتئین هیدورلیز شده برای بهبود شاخص‌های مورد بررسی پیشنهاد می‌گردد.

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

*نویسنده مسئول

مقدمه

آبزی‌پروری نقش بسیار مهمی در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء می‌کند (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 آبزی‌پروری از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا نزدیک به ۶۰ درصد از هزینه‌های تولید آبزیان را هزینه غذا تشکیل می‌دهد (Sinha *et al*., 2011). پرورش ماهیان در سیستم‌های متراکم و محیط‌های مصنوعی منجر به قرار گرفتن آنها در معرض عوامل استرس‌زای مختلف و بیماری‌ها می‌گردد که در شرایط طبیعی مشابه این حالت برای آنها ایجاد نمی‌شود (Adel *et al*., 2021). بنابراین، برای کاهش ضررهای اقتصادی ناشی از این بیماری‌ها، بهبود و افزایش عملکرد سیستم ایمنی آبزیان اهمیت دارد (شیخ‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸).

میزان تولید آبزیان جهان (صید و آبزی‌پروری) در سال ۲۰۲۰، ۱۷۸ میلیون تن (FAO, 2022) و در ایران ۱۲۶۸۷۱۹ تن در سال ۱۳۹۹ برآورد شده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۹۹-۱۳۹۴). این میزان تولید، دارای حجم بالایی از ضایعات شامل فلس، پوست، امعاء و احشاء، استخوان‌ها و ستون فقرات بود (Benjakul and Morrissey,1997). مدیریت صحیح این ضایعات نه‌تنها می‌تواند از مشکلات جدی زیست‌محیطی ناشی از دورریز شدن آنها جلوگیری کند بلکه می‌تواند سبب تولید محصولات با ارزش از آنها گردد. بر اساس گزارش سازمان شیلات ایران، در سال ۱۳۹۹ میزان تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان در کشور ۱۹۰۲۸۷ تن بوده است (سالنامه آماری شیلات ایران ۹۹-۱۳۹۴). حدود ۲۰ درصد از وزن کل یک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ۶۰۰ گرمی را ضایعات (۱۵ درصد امعاء و احشاء و ۵ درصد سایر ضایعات از جمله سر)، تشکیل می‌دهد (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵). بنابراین، با توجه به میزان تولید، طی مصرف این ماهی، مقادیر زیادی ضایعات در خانه‌های مردم، رستوران‌ها و درصد بسیار کمی نیز در کارخانه‌های فراوری آبزیان تولید شده است. این رقم ضایعات با اندکی تغییر هر ساله تولید می‌شود. ضایعات آبزیان، غنی از پروتئین و مواد مغذی هستند (Bhaskar *et al*., 2008) به‌طوری‌که پودر آبکافت‌شده حاصل از امعاء و احشاء قزل‌آلای رنگین‌کمان، حدود ۸۸ درصد پروتئین دارد (Taheri *et al*., 2013) و در صورت بهره‌برداری صحیح، منجر به تولید محصولاتی با ارزش‌افزوده بالا می‌گردد (اویسی‌پور و قمی،۱۳۸۷). از این ضایعات می‌توان در کارخانه‌های مخصوص، محصولاتی با ارزش افزوده بالا (آردماهی، روغن ماهی، سس ماهی، رنگدانه‌ها، کیتین، کیتوزان، کلاژن، ژلاتین، کلسیم، کنستانتره طعم) و آنزیم‌های مختلف تولید و استخراج کرد (ریحانی‌پول و همکاران، ۱۳۹۵).

آبکافت آنزیمی، یک فن‌آوری ایده‌آل برای تبدیل محصولات فرعی کم‌ارزش فراوری ماهی، به محصولات زیست‌فعال کاربردی است. برای تبدیل ضایعات ماهی و بخش‌های کم مصرف آنها به پروتئین، از روش‌های شیمیایی و بیوشیمیایی استفاده می‌شود. در روش آبکافت بیوشیمیایی پروتئین ماهی، آنزیم‌های مناسب بسیاری از قبیل پاپائین، آلکالاز، پروتامکس، نئوتراز و ... توصیف شده‌اند (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 پپتیدی کوتاه‌تر بیشترین توجه را به‌خود اختصاص داده است (Javaherdoust *et al*., 2020). پروتئین‌های آبکافت‌شده از پپتیدهایی به اندازه ۲۰-۲ آمینواسید تشکیل شده‌اند (Meisel and FitzGerald., 2003). این پپتیدها می‌توانند به عنوان ترکیبات غذایی عملکردی یا افزودنی‌های سالم برای بهبود سلامتی و پیشگیری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرند. پپتیدهای زیست‌فعال در طول توالی پروتئین‌های مادری غیر فعال هستند، اما طی فرایند آبکافت در دستگاه گوارشی یا به صورت مصنوعی با آنزیم‌های پروتئینی آزاد می‌شوند (جواهردوست و همکاران، ۱۳۹۸؛ Nasri *et al*., 2013). پروتئین‌های آبکافت‌شده فعالیت‌های بیولوژیک از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Ktari *et al*., 2012; Yeganeh *et al*., 2022; Reyhani Poul and Yeganeh, 2022)، توانایی کاهش کلسترول (Khaled *et al*., 2012)،

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، پپتیدهای حاصل از پروتئین آبکافت‌شده می‌تواند محرک فعالیت ایمنی و محرک ماکروفاژی باشد (Bøgwald *et al.*, 1996; Bui *et al.*, 2014). از مزایای پروتئین‌های آبکافتی می‌توان به افزایش قابلیت جذب آنها، افزایش میزان پپتون‌ها (پپتیدهای با وزن مولکولی کم که از قابلیت انحلال در آب برخوردارند)، افزایش میزان اسیدهای آمینه آزاد که می‌توانند به عنوان اسیدهای آمینه طعم‌زا مطرح باشند، اشاره نمود (Aspmo *et al.*, 2005). مطالعات نشان‌داده است، افزودن پودر پروتئین آبکافت‌شده 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 آبکافت‌شده بر کیلوگرم جیره بهبود هضم‌پذیری مشاهده شده است. پروتئین آبکافتی 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، پپتیدها 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).

تاس‌ماهی 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 نظیر دریاچه، رودخانه و ... به منظور تولید گوشت، پرورش می‌یابد و از نظر تولید خاویار حجم بالایی را به‌خود اختصاص می‌دهد (یزدانی ساداتی و رضایی، ۱۳۹۳). یکی از گونه‌های ماهیان 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، ۹۹-۱۳۹۴).

با توجه به علاقمندی محققان در معرفی جایگزین‌های پودر ماهی، اغلب مطالعات انجام شده در ارتباط با پروتئین آبکافتی 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 آبکافتی به عنوان جایگزین منبع پروتئینی جیره در مورد ماهی شانک (*Pagrus major*) (Bui *et al.*, 2014)، باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (Kotzamanis *et al.*, 2007)، شوریده زرد بزرگ (*Pseudosciaena crocea* R.) (Tang *et al.*, 2008) و مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) (Masuda *et al.*, 2013) اشاره نمود. همچنین در مطالعات طاهری و همکاران (۱۳۹۰ و ۱۳۹۲) مصرف پروتئین آبکافت‌شده ساردین پهلو طلایی (*Sardinella gibossa*) در پرورش آلوین و لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات مثبتی 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 آبکافتی ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در جیره این ماهی مشاهده شده، اما تاکنون مطالعه‌ای با هدف تعیین تاثیر استفاده از پروتئین آبکافت‌شده حاصل از امعاء و احشاء قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان یک افزودنی در جیره تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) در بانک‌های اطلاعاتی در دسترس نویسندگان گزارش نشده است. لذا، هدف از این تحقیق تعیین تاثیر پروتئین آبکافت‌شده حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و فلور باکتریایی تاس‌ماهی سیبری جوان بوده است.

مواد و روش کار

تهیه پروتئین آبکافت‌شده 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 (تعریف 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 امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به عنوان ماده خام اولیه، از بازار ماهی‌فروشان بعثت تهران تهیه و در مجاورت یخ (با نسبت ۲:۱ وزنی/وزنی) به آزمایشگاه دانشگاه علوم و تحقیقات واحد تهران منتقل شد. به منظور جلوگیری از فساد، امعاء 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 امعاء و احشاء (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی و سپس هموژن شد.)، در ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات (۲:۱) (pH: ۸) به ارلن‌مایرها اضافه شد. به منظور غیر فعال‌سازی 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 تعریف‌شده به نمونه‌ها اضافه گردید. پس از اتمام فرآیند آبکافت، به منظور قطع واکنش آنزیمی، نمونه‌ها برای ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از خنک‌شدن تا دمای معمولی اتاق، با استفاده از سانتریفوژ در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، برای مدت ۲۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g، سانتریفوژ شدند و سوپرناتانت‌ها (مایع رویی) جمع‌آوری و با استفاده از آون تحت خلاء خشک شدند (Oveissipour *et al*., 2012).

شرایط پرورش ماهی

برای انجام تحقیق، ۳۰۰ عدد تاس‌ماهی سیبری با وزن اولیه ۳±۶۷ 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)، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده (Javaherdoust *et al*., 2020) 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 اقلام غذایی در دسترس ساخته شد. جیره‌های آزمایش بر اساس آنالیز تقریبی پودر پروتئین آبکافتی با جایگزینی با آرد ماهی ساخته شدند (جدول ۱). غذادهی با جیره‌های آزمایشی به مدت ۸ هفته و دفعات و میزان غذادهی 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 (۱۸/۴±۰/۶) سانتی‌گراد، pH (۸/۷±۰/۷)، اکسیژن محلول (۶/۹±۰/۲ میلی‌گرم/لیتر) و هدایت الکتریکی (۵۸۳۶/۲±۴۱۰/۲ میکروزیمنس/سانتیمتر) در طول دوره اندازه‌گیری شد.

آنالیز پودر پروتئین آبکافتی، ترکیب لاشه 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.

جدول ۱: اجزاء تشکیل دهنده و ترکیب تقریبی جیره مورد استفاده در تیمارهای مختلف پروتئین آبکافت‌شده امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

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

ترکیبات (درصد)	شاهد (صفر)	۵ گرم/کیلوگرم (٪۰/۵)	۱۰ گرم/کیلوگرم (٪۱)	۲۰ گرم/کیلوگرم (٪۲)	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	
بایندر	۱	۱	۱	۱	
آنالیز شیمیایی (درصد در وزن خشک)					
پروتئین	۴۲/۲۱	۴۲/۳۶	۴۲/۳۵	۴۲/۴۱	۷۷/۸
چربی	۱۵/۱۰	۱۵/۰۸	۱۵/۰۶	۱۵/۱۲	۲/۲۰
رطوبت	۹/۸۰	۹/۸۲	۹/۷۸	۹/۸۶	۱۳/۹۰
خاکستر	۱۰/۸۰	۱۰/۸۲	۱۰/۹۲	۱۰/۸۷	۳/۴۰

هر کیلوگرم مخلوط مکمل ویتامینی شامل: ویتامین IU A ۱۶۰۰۰۰۰، ویتامین D_3 IU ۴۰۰۰۰۰، کولین کلراید ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم، نیاسین ۴۰۰۰ میلی‌گرم، ریبوفالوین ۸۰۰۰ میلی‌گرم، پیریدوکسین ۴۰۰۰ میلی‌گرم، فولیک اسید ۲۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_{12} ۸۰۰۰ میلی‌گرم، بیوتین ۱ میلی‌گرم، اینوزیتول ۲۰۰۰۰، ویتامین C ۶۰۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B_2 ۸۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین K_3 ۲۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین E ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم یا IU در هر کیلوگرم غذا. مخلوط مکمل معدنی شامل آهن ۲۶ گرم، روی ۱۲/۵ گرم، سلنیوم ۲ گرم، کبالت ۴۸۰ میلیگرم، مس ۴/۲، منگنز ۱۵/۸، ید ۱ گرم

تعیین شاخص‌های عملکرد رشد

در ابتدا و پایان دوره از ماهیان هر مخزن نمونه‌برداری و زیست‌سنجی به‌عمل آمده و افزایش وزن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بازماندگی بر اساس رابطه‌های ذیل محاسبه شدند:

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

SGR =[(لگاریتم طبیعی وزن نهایی) - (لگاریتم طبیعی وزن اوّلیه / تعداد روزهای پرورش)] × 100

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

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

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

آنزیم‌های گوارشی

در انتهای دوره، تعداد ۳ ماهی از هر تکرار، برای بررسی فعالیت آنزیم‌های 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 سانتریفوژ شد و محلول رویی پس از جمع‌آوری به فریزر ۸۰- منتقل شد (Yanbo and Zirong, 2006). برای اندازه‌گیری پپسین و تریپسین از روش توصیف شده Hidalgo و همکاران (۱۹۹۹)، آمیلاز از روش Wang (۲۰۱۱) و لیپاز از روش Pavasovic و همکاران (۲۰۰۶) استفاده شد.

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 محتویات، توزین و به منظور هموژن نمودن به هاون‌های چینی استریل منتقل شد. پس از هموژن کردن، نمونه‌های روده با استفاده از ۰/۸۷NaCl درصد وزنی/حجمی، رقت‌های 10^{-1}-10^{-6} تهیه گردید. در ادامه، ۰/۵ 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 MRS[1] 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 هوازی گرمخانه‌گذاری 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).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار آزمایشی شامل سطوح مختلف پروتئین آبکافتی و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. پس از بررسی نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد و بواسطه معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد، میانگین داده‌ها تحت آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار SPSS ۲۰ برای آنالیز آماری استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین (± انحراف معیار) گزارش 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، $p<۰/۰۵$) به‌طوری‌که بیشترین میزان نرخ رشد ویژه (۰/۰۶±۲/۱۸ درصد در روز)، وزن اکتسابی (۴/۵±۱۳۷/۳ گرم) و درصد افزایش وزن (۷/۱±۲۰۱/۳ درصد) در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک نسبت به سایر تیمارها به‌ویژه تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). در این بررسی کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده به ازاء هر کیلوگرم خوراک (۰/۰۶±۱/۳۲) و بیشترین میزان آن (۰/۰۸±۱/۶۹) در تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی با تیمار شاهد دیده نشد ($p>۰/۰۵$).

ترکیب شیمیایی بدن

ماهیان تغذیه شده با سطح ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده به ازای هر کیلوگرم خوراک به طور معنی‌داری، بالاترین مقدار پروتئین خام (۰/۰۴±۱۹/۱ درصد) و پایین‌ترین درصد چربی خام (۰/۰۵±۵/۶ درصد) را نشان دادند (جدول ۳، $p<۰/۰۵$) درحالی‌که در مقادیر این دو شاخص بین سایر تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی با تیمار شاهد

[1] DeMan Rogosa and sharpe (MRS)

تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). درصد رطوبت و خاکستر اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف آزمایشی نشان نداد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۲: عملکرد رشد تاس ماهیان سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین آبکافتی حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

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

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

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

جدول ۳: ترکیب شیمیایی بدن تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین آبکافتی حاصل از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

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

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

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی

میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده در کیلوگرم خوراک به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴، $p<۰/۰۵$). فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافتی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و ۵ گرم پروتئین آبکافتی بود ($p<۰/۰۵$)، اما با تیمار ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). بین تیمارهای ۵ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی نیز تفاوت معنی‌داری در آنزیم تریپسین مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). میزان فعالیت آنزیم پپسین بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$).

فلور باکتریایی روده

در تعداد کل باکتری‌های هوازی روده اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه مشاهده نشد (جدول ۵، $p>۰/۰۵$). تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده در کیلوگرم خوراک، به طور معنی‌داری بالاترین میزان را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p<۰/۰۵$)، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای

حاوی پروتئین آبکافتی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

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

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

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

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

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

میانگین (± انحراف معیار)، حروف غیر همسان در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

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. بااین‌حال، در مطالعات مختلف ذکر شده است که جیره‌های حاوی پروتئین 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). در مطالعه Javaherdoust 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 گزارش شده است. Refstie و 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 به‌دست آمد. همچنین Zheng و همکاران (۲۰۱۲) نشان‌دادند 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 درحالی‌که Oliva-Teles و همکاران

(۱۹۹۹) گزارش دادند که جایگزینی بخشی از پودر ماهی با پروتئین آبکافت‌شده ماهی رشد و تغذیه را در ماهیان نوجوان توربوت (*Scophtalmus maximus*) بهبود نداد. سیلاژ پروتئین میگو در سطح ۱۵ درصد در جیره ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث بهبود نرخ رشد ماهیان شد (Plascencia-Jatomea *et al*., 2002) درحالی‌که بر اساس گزارش Leal و همکاران (۲۰۱۰) مقدار ۶ درصدی پروتئین آبکافت‌شده میگو در ماهی تیلاپیای نیل باعث بهبود عملکرد رشد شد. Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش دادند که 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 عبور سریع و جذب مواد مغذی از لایه غشای سلولی روده می‌شود (Aksnes *et al*., 2006a; Zheng *et al*., 2012). به‌علاوه، 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 سایر روش‌ها جهت حذف تلخی آن استفاده شود (Idowu and Benjakul, 2019). این موضوع ممکن است دلیلی برای بهتر بودن فاکتورهای رشد در تیمار ۱۰ گرم نسبت به تیمار ۲۰ گرم باشد.

آنالیز ترکیب شیمیایی بدن در تاس ماهیان 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 (۰/۰۴±۱۹/۱) و پایین‌ترین درصد چربی خام (۰/۰۵±۵/۶) را نشان دادند. در این تحقیق، در درصد رطوبت 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 Javaherdoust 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 نشان‌داد. ترکیب شیمیایی کل بدن در ماهیان سیم دریایی (Bui *et al*., 2014) و کفشک (Oliva-Teles *et al*., 1999) تغذیه‌شده با پروتئین آبکافت‌شده (۴/۰۳ درصد، ۴/۲۳ درصد و ۴/۸۵ درصد) اثر معنی‌داری را نشان نداد، ولی Zheng و همکاران (۲۰۱۲) اثرات معنی‌دار پروتئین‌های آبکافت‌شده فیلترشده را بر ماهیان کفشک 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). به‌علاوه، وجود امولسیفایرها با تغییر در سرعت عبور غذا در دستگاه گوارش و مدت در معرض قرارگیری 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

سطوح مختلف پروتئین آبکافت‌شده نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و لیپاز در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده در کیلوگرم خوراک به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافتی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد و ۵ گرم پروتئین آبکافتی بود، اما با تیمار ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بین تیمارهای ۵ و ۲۰ گرم پروتئین آبکافتی نیز تفاوت معنی‌داری در آنزیم تریپسین مشاهده نشد. پپتیدها نه‌تنها راحت جذب شده بلکه با تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی موجب هضم بیشتر و جذب بالاتر مواد غذایی در روده می‌شوند و عمل تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی در اثر اعمال مستقیم فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های پذیرنده روده یا سلول‌های هدف در داخل بدن است (Anusha *et al*., 2011).

در بررسی تغییرات در فلور باکتریایی روده (واحد کلنی در گرم وزن روده) تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با مقادیر مختلف پروتئین آبکافت‌شده، تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار ۱۰ گرم پروتئین آبکافت‌شده در کیلوگرم خوراک، دارای بالاترین میزان بود، اما بین تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی پروتئین آبکافتی تفاوت معنی‌داری 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 باکتری‌های 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 شاخص‌های رشد ماهی *Lates calcarife* می‌گردند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، تأثیر پروتئین آبکافتی امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌ویژه در تیمار حاوی مقدار ۱۰ گرم در کیلوگرم جیره بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه، آنزیم‌های گوارشی و تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک روده در تاس‌ماهی سیبری جوان کاملاً مثبت و معنی‌دار ارزیابی شد. مقادیر بیشتر پروتئین آبکافتی احتمالاً به دلیل تلخی آن نتوانست موجب بهبود بیشتر در فاکتورهای مورد بررسی شود و شاید با استفاده از روش‌های برطرف نمودن تلخی 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، باتوجه به اینکه تاس‌ماهی سیبری به عنوان یکی از گونه‌های مهم خاویاری پرورشی در کشور و دنیا مطرح است، افزودن ۱۰ گرم پروتئین آبکافتی ضایعات ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در کیلوگرم جیره غذایی جهت دستیابی به حداکثر عملکرد رشد پیشنهاد می‌شود. هر چند که انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین دوز بهینه پروتئین آبکافتی در تاس‌ماهی سیبری جوان، ضروری به‌نظر می‌رسد.

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 می‌شود.

منابع

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

جواهردوست، ش.، یگانه، س. و کرامت امیرکلایی، ع.، ۱۳۹۸. اثرات استفاده از پروتئین آبکافتی تهیه شده از امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)در جیره‌ی غذایی بر برخی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علمی شیلات ایران. ۲۸(۲): ۷۱-۸۳. Doi: 10.22092/ISFJ.2019.118925

ریحانی پول، س.، جعفر پور، س.ع. و صفری، ر.، ۱۳۹۵. خواص کارکردی و آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تولیدشده از اندرونه ماهی قزل‌آلای

رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از روش آنزیمی. علوم و فنون شیلات، ۵ (۴): ۱۳-۲۸.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران.، ۱۳۹۹-۱۳۹۴. 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 معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۴(۱): ۵۴-۴۷.

طاهری، ع.، عابدیان‌کناری، ع. و حلاج، ر.، ۱۳۹۰. تاثیر پروتئین آبکافت‌شده حاصل از ماهی ساردین پهلو طلایی (*Sardinella gibossa*) ضایعات کشتارگاهی طیور بر ترکیب آمینواسید، رشد و بقا آلوین‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. ۲۰(۴): ۹۵-۸۱.

طاهری، ع.، عابدیان‌کناری، ع.، معتمدزادگان، ع.، حبیبی‌رضایی، م. و اوجی‌فرد، ا.، ۱۳۹۲. غلظت‌های مختلف پروتئین آبکافت‌شده ماهی ساردین و ضایعات کشتارگاهی طیور بر سطح باکتری‌های روده و بقاء در لاروهای ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مواجهه با *آئروموناس سالمونیسید*. پاتوبیولوژی مقایسه‌ای. ۱۰(۱): ۸۷۳-۸۸۲.

هاشمی، س.م.ص.، محمدی‌زاده، ف.، بحری، ا. ه.، حافظیه، م. و قربانی‌واقعی، ر.، ۱۴۰۰. تأثیر مکمل نوکلئوتید (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 کنستانتره سویا بجای پودر ماهی بر شاخص‌های رشد و ترکیب لاشه تاس ماهی سیبری. مجله علمی شیلات ایران. ۲۳(۴): ۷۳- ۸۵.

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.

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 Appllied 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 hydrlysate 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 (*Salaria 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 weaningturbot, *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 (*Zosterissessor 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-Novoa, 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 initail 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±0.14%) and the lowest percentage of lipid (5.60±0.15%). The results showed that the amylase and lipase enzyme activitites 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