Archive of SID

مجله علمی شیلات ایران (DOI): 10.22092/ISFJ.2019.119786 سال بیست و هشت/ شماره ٤

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

بررسی عملکرد رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئازی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف پروتئین تک‌یاخته

عباس زمانی*[1]، مریم خواجوی[1]

*a.zamani@malayeru.ac.ir

۱- گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

در مطالعه حاضر، تأثیر جایگزینی آرد ماهی با پروتئین تک یاخته باکتریایی بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی (پپسین، تریپسین و پروتئاز قلیایی) بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (وزن متوسط: ۰/۵۵± ۲/۵۱ گرم) برای مدت ۶ هفته بررسی شد. پنج جیره آزمایشی با سطوح جایگزینی صفر(A)، ۲۵ (B)، ۵۰ (C)، ۷۵ (D) و ۱۰۰ ٪ (E) آرد ماهی همسان از نظر پروتئین و انرژی با پروتئین تک سلولی تهیه گردید. بررسی شاخص‌های افزایش وزن بدن، نرخ رشد نسبی، نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی غذا نشان داد این شاخص‌ها در جیره آزمایشی C به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بودند ($p<۰/۰۵$). ضریب تبدیل غذایی در جیره آزمایشی C و E بترتیب کمترین و بیشترین مقدار را نشان داد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). میزان نرخ بقاء در جیره‌های آزمایشی ۱۰۰ ٪ بود. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و پروتئاز قلیایی ضمائم پیلوریک و روده در ماهیان تغذیه شده با جیره آزمایشی C مشاهده شد که نسبت به جیره‌های غذایی D و E اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). هم‌چنین بالاترین فعالیت آنزیم پپسین معده در جیره C مشاهده شد که با سایر جیره‌ها به استثناء جیره B دارای اختلاف معنی داری بود ($p<۰/۰۵$). براساس نتایج حاصل از عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های پپسین، تریپسین و پروتئاز قلیایی جیره حاوی ۵۰ ٪پروتئین تک یاخته نسبت به سایر جیره‌ها می‌تواند برای رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مناسب باشد.

واژگان کلیدی: آرد ماهی، پروتئین تک یاخته، پروتئاز، شاخص‌های رشد، *Oncorhynchus mykiss*

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

مقدمه

در دهه‌های اخیر، صنعت پرورش ماهی در بسیاری از کشورها بمنظور تامین بخشی از پروتئین حیوانی رشد قابل توجهی کرده است بطوریکه میزان تولید آن از۳۰ میلیون تن در سال ۲۰۰۶ به ۵۴ میلیون تن در سال ۲۰۱۶ رسیده و پیش‌بینی می‌گردد. این میزان در سال ۲۰۳۰ به ۷۴ میلیون تن افزایش یابد (SOFIA, 2018). این در حالی است که آرد ماهی به عنوان ماده اصلی در جیره غذایی ماهیان گوشتخوار به میزان ۸۰-۳۰٪ استفاده می‌شود و ارزیابی‌ها نشان می‌دهد میزان استفاده از آن در سال ۲۰۳۰ در حدود ۷/۶ میلیون تن باشد (Tacon and Metian, 2008; AES, 2013). استفاده از آرد ماهی در سال‌های اخیر بدلیل کاهش ذخایر آبزیان، قیمت بالا، مشکلات زیست محیطی و ورود فسفر به منابع آبی درحال کاهش بوده و از سویی، با توجه به اینکه بیش از نیمی از هزینه‌های پرورش صرف تغذیه می‌شود این امر خود باعث ایجاد رقابت شدید در منابع محدود آرد ماهی شده است (Olsen and Hasan, 2012). بر اساس گزارش Tacon و همکاران (۲۰۱۱) پیش‌بینی می‌شود در دهه آینده میانگین استفاده از آرد ماهی در غذای میگو از ۱۶ به ۸٪ ، ماهیان دریایی از ۲۶ به ۱۲٪ ، ماهیان آزاد از ۲۲ به۱۲ ٪ و برای کپورماهیان و تیلاپیا از ۳ به۱ ٪ کاهش یابد که در مجموع ۷٪ کاهش را در حجم پودر ماهی مصرفی بدنبال خواهد داشت. لذا، تلاش‌ها جهت یافتن جایگزین مناسبی به جای آرد ماهی جهت تامین نیاز صنعت تولید خوراک ماهیان برای تداوم رشد و توسعه صنعت آبزی‌پروری در سال‌های آینده و همچنین حفظ منابع دریایی اجتناب ناپذیر است. گیاهان به عنوان یک منبع پروتئین ثابت و ارزان قیمت نسبت به آرد ماهی می‌توانند به طور گسترده در ترکیب با آرد ماهی در جیره‌های غذایی استفاده شوند. اما تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از این منابع مانند کنجاله سویا و غیره دارای اشکالاتی از جمله وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای (شامل بازدارنده‌های پروتئاز، هموگلوتنین، اسید فیتیک و پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای)، تداخل در عملکرد ویتامین‌ها و محدودیت کاربرد در غذای ماهیان گوشتخوار می‌باشد که استفاده آنها را به جیره غذایی محدود می‌نماید (Gatlin *et al*., 2007; Krogdahl *et al*., 2010). یکی از منابع پروتئینی ایمن و پایدار که می‌تواند وابستگی به منابع جانوری و گیاهی را در تغذیه دام، طیور و آبزیان کاهش دهد، استفاده از پروتئین تک یاخته (SCP)[1] است که از میکروارگانیسم‌هایی نظیر مخمرها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها تولید و جهت تهیه غذا به جای منابع پروتئینی رایج استفاده می‌شود (Sultana *et al*., 2018). در واقع، SCP را تولید زیست توده سلولی از طریق کشت بر ضایعات صنعتی و کشاورزی مانند ضایعات سلولزی، آب پنیر و ملاس با کمک میکروارگانیسم‌ها تعریف کرد (بی‌بی‌کم و همکاران، ۱۳۸۹ ;Nasseri *et al*., 2011; Faust, 1987). البته اشکالاتی نیز در استفاده از آنها وجود دارد که می‌توان به قابلیت پائین هضم دیواره سلولی و میزان بالای اسید نوکلئیک بویژه ترکیبات پورین اشاره نمود که می‌توان با کمک فرآوری آنزیمی و حذف دیواره سلولی برطرف نمود (Alvarez and Enriquez, 1988). ارزیابی توانایی گوارش مواد غذایی از مهمترین عوامل در فرآیند جایگزینی پودر ماهی می‌باشد. لذا، مطالعه توزیع آنزیم‌های گوارشی و فعالیت آنها می‌تواند در حل این مشکل موثر باشد (Deguara *et al*., 2003; Trejo-Escamilla *et al*., 2017). یکی از این منابع پروتئین تک یاخته، IPL 68 (Intraco PL 68) می‌باشد که از تخمیر مواد خام گیاهی مانند چغندر قند، ملاس نیشکر و گلوکز گندم توسط باکتری غیر GMO[2] و با استفاده از مونوسدیم ال- اسید گلوتامیک تولید می‌شود و حاوی ۶۸٪ پروتئین با پروفایل اسید آمینه‌ای مناسب بویژه ترئونین، ایزولوسین و والین است. از دیگر ویژگی‌های آن می‌توان به رنگ قهوه‌ای مطلوب و بوی آن اشاره نمود که شبیه پودر ماهی است و از نظر هزینه مقرون به صرفه است و قابلیت دسترسی بالایی دارد. یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی در ایران ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشد که بر اساس سالنامه آماری سازمان شیلات ایران (۱۳۹۶) میزان تولید آن ۱۶۵۷۸۷ تن در سال ۱۳۹۵ بوده است که ۴۴٪ از کل ماهیان پرورشی ایران را تشکیل می‌دهد. لذا، یافتن جایگزین مناسب برای آرد ماهی در تهیه جیره غذایی این گونه بخصوص برای مراحل اولیه رشد به دلیل نیاز پروتئینی بالا ضروری می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق دستیابی به یک جیره غذایی مناسب با جایگزینی پروتئین IPL 68 به جای آرد ماهی و ارزیابی تأثیر آن بر روند رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشد که نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند در افزایش ظرفیت تولید و کاهش هزینه پرورش دهندگان موثر باشد.

[1] -Single cell protein
[2] -Genetically Modified Organism

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

مواد و روش کار

شرایط پرورش

بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۰/۵۵±۲/۵۱ گرم از کارگاه قزل سماء واقع در شهرستان نهاوند تهیه شده و در مدت زمان ۶۰ دقیقه و با استفاده از کیسه حمل به آزمایشگاه گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه ملایر منتقل شدند. سپس بچه ماهیان در ۱۵ عدد آکواریوم با حجم تقریبی۴۰ لیتر طوری توزیع شدند که در هر آکواریوم ۱۵ عدد بچه ماهی رهاسازی گردید. بعد از طی دوره سازگاری به مدت ۲ هفته با غذای تجاری و حصول اطمینان از سلامتی بچه ماهیان، تغذیه ماهیان با جیره‌های غذایی آزمایشی تهیه شده به مدت ۶ هفته بر اساس۴٪ وزن بدن با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی انجام گرفت (موحد راد و همکاران، ۱۳۹۷). غذادهی روزانه در ۳ نوبت و در ساعات ۸، ۱۳ و ۱۹ در حد سیری و بصورت دستی انجام شد. شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب به صورت روزانه طی دوره آزمایش اندازه گیری گردید که به طور میانگین دمای آب C° ۰/۵ ± ۱۴، pH ۰/۱± ۸/۲، شوری کمتر از g/L ۱ و اکسیژن محلول mg/L ۰/۱± ۹/۵ بود. در این مدت مدفوع و غذای بجای مانده در محیط پرورشی ۳۰ دقیقه بعد از اتمام غذادهی روزانه سیفون شده و آب آکواریوم‌ها نیز روزانه تا ۹۰٪ تعویض گردید. در انتهای دوره از هر آکواریوم ۷ عدد ماهی جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های گوارشی و مابقی نیز جهت تعیین شاخص‌های رشد نمونه برداری شدند.

ساخت جیره‌های آزمایشی

جیره غذایی جهت بررسی اثرات جایگزینی68 IPL در ۵ تیمار شامل جیره شاهد A (۱۰۰ درصد آرد ماهی؛ صفر درصد IPL 68)، جیره B (۷۵درصد آرد ماهی؛ ۲۵درصد IPL 68)، جیره C (۵۰ درصد آرد ماهی؛ ۵۰ درصد IPL 68)، جیره D (۲۵ درصد آرد ماهی؛ ۷۵ درصدIPL 68) و جیره E (صفر درصد آرد ماهی؛ ۱۰۰ درصدIPL 68) مورد مطالعه قرار گرفت. فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی با کمک نرم افزار Aquafeed و بر اساس نیازهای غذایی بچه‌ماهی قزل آلای رنگین کمان (NRC, 1993) انجام شد تا جیره‌ها از نظر میزان پروتئین، چربی و انرژی همسان باشند. جهت تهیه جیره‌های آزمایشی ابتدا اقلام غذایی (مانند آرد گندم به عنوان منبع اصلی نشاسته) بر اساس جدول ۱ تهیه شده و بعد از الک کردن و آسیاب نمودن بصورت کاملا پودری آماده شدند. سپس اقلام غذایی بر اساس مقادیر مورد نیاز توسط ترازو توزین و با یکدیگر مخلوط شدند و به آنها آب اضافه شد. خمیر حاصله بوسیله چرخ گوشت با اندازه چشمه ۲ میلی‌متر پلت شده و برای خشک کردن بمدت ۲۴ ساعت در معرض جریان هوا در دمای اتاق قرارگرفت و پلت‌های خشک شده در کیسه‌های پلاستیکی و در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

شاخص‌های رشد

در پایان آزمایش غذادهی ماهیان به مدت ۴۸ ساعت قطع گردید و ماهیان بعد از خروج از هر آکواریوم برای بررسی شاخص‌های رشد با استفاده از سوزن قطع نخاع شدند (زمانی و همکاران، ۱۳۸۵). شاخص‌های افزایش وزن بدن (BWG) [1]، نرخ رشد نسبی(RGR)[2]، ضریب تبدیل غذایی(FCR)[3]، نرخ بقاء (SR) [4]، نسبت کارایی پروتئین (PER) [5]، نسبت کارایی چربی(LER) [6] و نسبت کارایی غذا (FER) [7] با استفاده از روابط ذیل محاسبه شد (Hamza *et al*., 2008).

(BWG) افزایش وزن بدن = وزن اولیه - وزن ثانویه

(RGR) نرخ رشد نسبی = {(وزن اولیه / وزن اولیه - وزن ثانویه)×۱۰۰}

(SR) نرخ بقاء = (تعداد اولیه ماهیان / تعداد نهایی ماهیان)×۱۰۰

(FCR) ضریب تبدیل غذایی = مقدار غذای خشک مصرف / مقدار افزایش وزن بدن شده

(PER) نسبت کارایی پروتئین = مقدار افزایش وزن بدن / مقدار پروتئین خام مصرفی

(LER) نسبت کارایی چربی = مقدار افزایش وزن بدن / مقدار چربی خام مصرفی

(FER) نسبت کارایی غذا = مقدار افزایش وزن بدن / مقدار غذای خشک مصرفی

[1] - Body Weight Gain
[2] - Relative Growth Rate
[3] - Feed Conversion Ratio
[4] - Survival Rate
[5] - Protein Efficiency Ratio
[6] - Lipid Efficiency Ratio
[7] - Feed Efficiency Ratio

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

جدول ۱: اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی جهت تغذیه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان (*O.mykiss*).

Table 1: Ingredients and proximate composition of experimental diets for feeding rainbow trout (*O. mykiss*) fry.

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم غذا)	A	B	C	D	E
پودر ماهی	۵۰۰	۳۷۵	۲۵۰	۱۲۵	۰
IPL-68 [۱]	۰	۱۲۵	۲۵۰	۳۷۵	۵۰۰
آکوپرو [۲]	۶۴/۸	۶۴/۸	۶۴/۸	۶۴/۸	۶۴/۸
امپریال [۳]	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
گلوتن ذرت	۹۰	۸۰/۲	۷۰/۴	۶۰/۶	۵۰/۸
آرد گندم	۱۳۰	۱۳۳	۱۳۸	۱۳۸	۱۴۰
پودر گوشت و استخوان	۶۰	۴۹/۴	۳۸/۸	۲۸/۲	۱۷/۶
روغن سویا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۶	۳۸
روغن ماهی	۷۰	۸۲	۹۳	۱۰۰	۱۰۰
مکمل معدنی [۴]	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
مکمل ویتامینی [۵]	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
آنتی اکسیدان	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
ضد قارچ	۵	۵	۵	۵	۵
پرکننده	۰	۵/۴	۹/۸	۱۷/۲	۲۳/۶
ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی (درصد)					
رطوبت	۴/۵۰	۴/۴۱	۴/۹۱	۴/۸۳	۵/۰۰
پروتئین کل	۴۵/۶۸	۴۵/۷۲	۴۵/۴۷	۴۵/۵۱	۴۵/۴۴
چربی کل	۲۱/۵۰	۲۱/۵۰	۲۱/۵۰	۲۱/۵۰	۲۱/۵۰
خاکستر	۸/۰۲	۷/۹۱	۷/۸۷	۷/۷۳	۷/۶۸
کربوهیدرات	۲۰/۳۰	۲۰/۴۶	۲۰/۲۵	۲۰/۴۳	۲۰/۳۸
انرژی ناخالص (kcal/g)	۵/۴۴	۵/۴۵	۵/۴۳	۵/۴۴	۵/۴۳

۱- IPL-68 (Intraco pl-68) (تولید شده در شرکت Intraco بلژیک): نوعی محصول تهیه شده از زیست توده باکتریایی کشته شده که از اسید مونو سدیم - ال گلوتامیک با استفاده از تخمیر میکروبی مواد خام گیاهی مانند ملاس چغندر قند، نیشکر و یا قند میوه تهیه می‌شود و حاوی ۱۰ درصد رطوبت، ۶۸ درصد پروتئین، ۳/۲۵ درصد چربی، ۱ درصد فیبر خام و ۱۰ درصد خاکستر می‌باشد.

۲- آکوپرو (تولید شده در شرکت یسنا مهر): سویای فرآوری شده. میزان پروتئین ۱ درصد ، انرژی قابل متابولیسم ۲۸۷۰ kcal/kg، رطوبت ۱۲درصد ، خاکستر ۷درصد ، چربی ۲/۸درصد، فیبر خام ۴ درصد ، نشاسته ۵ درصد و قند ۹ درصد است.

۳- امپریال (تولید شده در شرکت کارگیل آمریکا) : منبعی با میزان پروتئین ثابت و خلوص بالاست که از ذرت تهیه شده است. میزان پروتئین ۷۵ درصد ، چربی خام ۲ درصد ، حداکثر فیبر خام ۱ درصد، نشاسته ۱ درصد ، انرژی قابل متابولیسم ۳/۳۵ kcal/g است.

۴- مکمل معدنی (میلی‌گرم/کیلوگرم) : KCl : ۲۰۰ میلی‌گرم، KI : ۶۰ میلی‌گرم، $COCL_2 . 6H_2O$: ۷ میلی‌گرم، $CuSO_4.5H_2O$: ۱۴ میلی‌گرم، $FeSO_4H_2O$: ۴۰۰ میلی‌گرم، $ZnSO_4.H_2O$: ۲۰۰ میلی‌گرم، $MnSO_4.H_2O$: ۸۰ میلی‌گرم، $Na_2SeO_3.5H_2O$: ۶۵ میلی‌گرم، $MgSO_47H_2O$: ۳۰۰۰ میلی‌گرم، $Ca(H_2PO_4).H_2O$: ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم، NaCl: ۱۳۶ میلی‌گرم و Zeolite : ۵۸۴۰ میلی‌گرم و کریر تا ۱ کیلوگرم است.

۵- مکمل ویتامینی حاوی تیامین (۱۲میلی گرم)، ریبوفلاوین (۵ میلی گرم)، پیرودوکسین (۶ میلی گرم)، سیانوکوبالامین(۰/۰۵ میلی گرم) نمک منادیون (K_3) (۵ میلی گرم)، اینوزیتول (۱۰۰ میلی‌گرم)، پانتوتنیک اسید (۳۰ میلی‌گرم)، فولیک اسید (۲ میلی‌گرم)، بیوتین (۰/۰۶ میلی‌گرم)، رتینول استات (۲۵ میلی‌گرم)، D3- کوله کلسیفرول(۵ میلی‌گرم)، آلفا– توکوفرول (۴۰ میلی‌گرم)، آسکوربیک اسید (۵۰۰ میلی‌گرم)، نیاسین (۳۵ میلی‌گرم)، اتوکسی‌کوئین (۱۵۰ میلی‌گرم) و کریر تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم است.

پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بر حسب درصد ماده خشک است و محاسبه کربوهیدرات بر حسب رابطه (پروتئین + چربی + خاکستر+ رطوبت)- ۱۰۰ و محاسبه انرژی ناخالص بر حسب کیلوکالری بر گرم جیره از رابطه حاصلضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۵/۶۵ kcal)، چربی(۹/۴۵ kcal) و کربوهیدرات (۴/۱۱ kcal) تعیین گردید (NRC, 1993).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

ترکیب شیمیایی جیره غذایی

ترکیب شیمیایی جیره غذایی شامل رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر طبق روش استاندارد انجام شد (AOAC, 2005). میزان رطوبت با استفاده از دستگاه آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد، میزان پروتئین خام با روش کجلدال، میزان چربی خام با استفاده از روش Bligh و Dyer (۱۹۵۹) با دستگاه سوکسله و میزان خاکستر نیز در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید.

تهیه عصاره آنزیمی، سنجش فعالیت آنزیم و پروتئین محلول

در این آزمایش برای تهیه عصاره آنزیمی، ابتدا کالبد شکافی جهت جداسازی معده، روده و ضمائم پیلوریک در حضور یخ انجام شد. سپس نمونه‌های معده، روده و ضمائم پیلوریک هر کدام با ترازو با دقت ۰/۰۱ به طور جداگانه وزن شد و با بافر ۵۰ میلی مولار تریس- HCl، ۸/۰ = pH (حاوی۱۰میلی مولار $CaCl_2$ و ۰/۵ مولار NaCl) با نسبت ۱ به ۲۰ (وزن به حجم) مخلوط شد و با استفاده از دستگاه هموژنایزر (مدل Hand Held WT130) عمل همگن‌سازی در حضور یخ به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۱۱۰۰۰rpm انجام شد. بعد از همگن‌سازی، مخلوط حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید و محلول رویی به عنوان عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم و پروتئین محلول انتخاب گردید (Nayak *et al*., 2003). برای سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز قلیایی از کازئین ۱ درصد به عنوان سوبسترا استفاده شد و میزان جذب در طول موج۲۸۰ نانومتر قرائت شد (Walter, 1984). فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از سوبسترای BAPNA[1] سنجش گردید و جذب پارا نیتروآنیلید رهاسازی شده در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت گردید (Erlanger *et al*., 1961). فعالیت آنزیم پپسین با استفاده از سوبسترای هموگلوبین و با روش Anson (۱۹۳۸) سنجش شد و میزان جذب تیروزین رهاسازی شده در طول موج ۲۸۰ نانومتر قرائت گردید. در تمام سنجش‌ها برای نمونه شاهد از آب مقطر به‌جای نمونه آنزیمی استفاده گردید و قرائت نوری نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد. جهت تعیین فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد مطالعه، میزان پروتئین محلول در معده، روده و ضمائم پیلوریک با روشLowry و همکاران (۱۹۵۱) سنجش گردید. در این روش از آلبومین سرم گاوی با غلظت ۱ mg/ml به عنوان استاندارد استفاده گردید.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده گردید. از آزمون‌های کولموگروف اسمیرنوف و Levene بترتیب برای بررسی نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها استفاده شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین شاخص-های رشد و فعالیت‌های آنزیمی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. میزان بهینه IPL 68 در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان بر مبنای شاخص افزایش وزن بدن با روش نمودار خط شکسته (Broken-line) تحت نرم‌افزار Graph pad prism تعیین گردید.

نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد در جدول ۲ ارائه شده است. تاثیر IPL-68 بر وزن نهایی و میزان افزایش وزن بدن نشان داد بترتیب بیشترین و کمترین آنها مربوط به جیره C وE بود، بطوریکه در جیره C نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). همچنین با افزایش درصد جایگزینی تا ۵۰ درصد (جیره C) شاخص نرخ رشد نسبی به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p <۰/۰۵$)، ولی با افزایش جایگزینی تا سطوح ۷۵ درصد (جیره D) و ۱۰۰ درصد (جیره E) کاهش معنی‌داری در میزان آن مشاهده شد ($p ۰/۰۵ >$). میزان ضریب تبدیل غذایی با افزایش جایگزینی تا ۵۰ درصد کاهش معنی‌داری یافت، ولی با افزایش تا سطوح ۷۵ و ۱۰۰ درصد میزان آن افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). بیش‌ترین میزان کارایی چربی و پروتئین در جیره - C و کمترین میزان آن در جیره E مشاهده گردید که بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$). بیشترین و کمترین میزان نسبت کارایی غذا بترتیب مربوط به جیره‌های آزمایشی C و E بود و بین جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). میزان نرخ بقاء در ماهیان تحت آزمایش با افزایش جایگزینیIPL-68 اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با جیره شاهد نشان نداد ($p>۰/۰۵$).

[1] -Nα-Benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide hydrochloride

www.SID.ir

Archive of SID

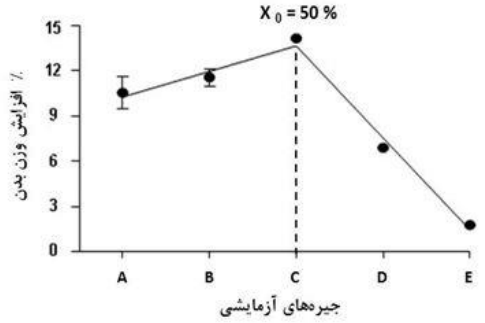
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

جدول ۲: شاخص‌های رشد بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O. mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی
Table 2: Growth performance of rainbow trout (*O. mykiss*) fry fed with experimental diets.

شاخص‌های رشد	جیره				
	A	B	C	D	E
وزن اولیه ماهی (گرم)	۲/۵۱± ۰/۵۵	۲/۵۱± ۰/۵۵	۲/۵۱± ۰/۵۵	۲/۵۱± ۰/۵۵	۲/۵۱± ۰/۵۵
وزن ثانویه ماهی (گرم)	۱۳/۰۵±۱/۰۴^{c}	۱۴/۳۶±۰/۵۷^{b}	۱۶/۶۸±۰/۲۸^{a}	۹/۴۲±۰/۲۶^{d}	۴/۲۹ ±۰/۱۲^{e}
افزایش وزن بدن (گرم)	۱۰/۵۵±۱/۰۴^{c}	۱۱/۸۵±۰/۵۷^{b}	۱۴/۱۷±۰/۲۸^{a}	۶/۹۱±۰/۲۶^{d}	۱/۷۸±۰/۱۲^{e}
نرخ رشد نسبی	۴۲۰/۱۸±۴۱/۷۸^{c}	۴۷۲/۱۱±۲۲/۸۲^{b}	۵۶۴/۸۰±۱۱/۲۲^{a}	۲۷۵/۴۳±۱۰/۳۹^{d}	۷۱/۰۴±۴/۸۱^{e}
ضریب تبدیل غذایی	۰/۹۴±۰/۰۱^{c}	۰/۸۹±۰/۰۴^{c}	۰/۷۶±۰/۰۱^{d}	۱/۱۹±۰/۰۶^{b}	۲/۰۷±۰/۲۷^{a}
نرخ بقا	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}
نسبت کارایی غذا	۱/۰۶±۰/۰۶^{b}	۱/۱۱±۰/۰۵^{b}	۱/۳۱±۰/۰۱^{a}	۰/۸۴±۰/۰۴^{c}	۰/۴۸±۰/۰۶^{d}
نسبت کارایی چربی	۰/۴۹±۰/۰۴۸^{c}	۰/۵۵±۰/۰۲۶^{b}	۰/۶۶±۰/۰۱۳^{a}	۰/۳۲±۰/۰۱۲^{d}	۰/۰۸±۰/۰۰۵^{e}
نسبت کارایی پروتئین	۰/۲۳±۰/۰۴۸^{c}	۰/۲۶±۰/۰۱^{b}	۰/۳۱±۰/۰۰۶^{a}	۰/۱۵±۰/۰۰۶^{d}	۰/۰۴±۰/۰۰۳^{e}

حروف کوچک غیر مشترک در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد. (Mn ± SD ،n = ۳ ،α = ۰/۰۵)

میزان بهینه جایگزینی آرد ماهی بوسیله IPL-68 در جیره غذایی بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان بر مبنای افزایش وزن بدن بر اساس نمودار خط شکسته (broken-line) حدود ۵۰ درصد برآورد گردید (شکل۱).



شکل ۱: نمودار خط شکسته افزایش وزن بدن برای بچه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*O.mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف IPL -68 . X0 نقطه تلاقی دو خط می‌باشد که حد بهینه جایگزینی را نشان می‌دهد.

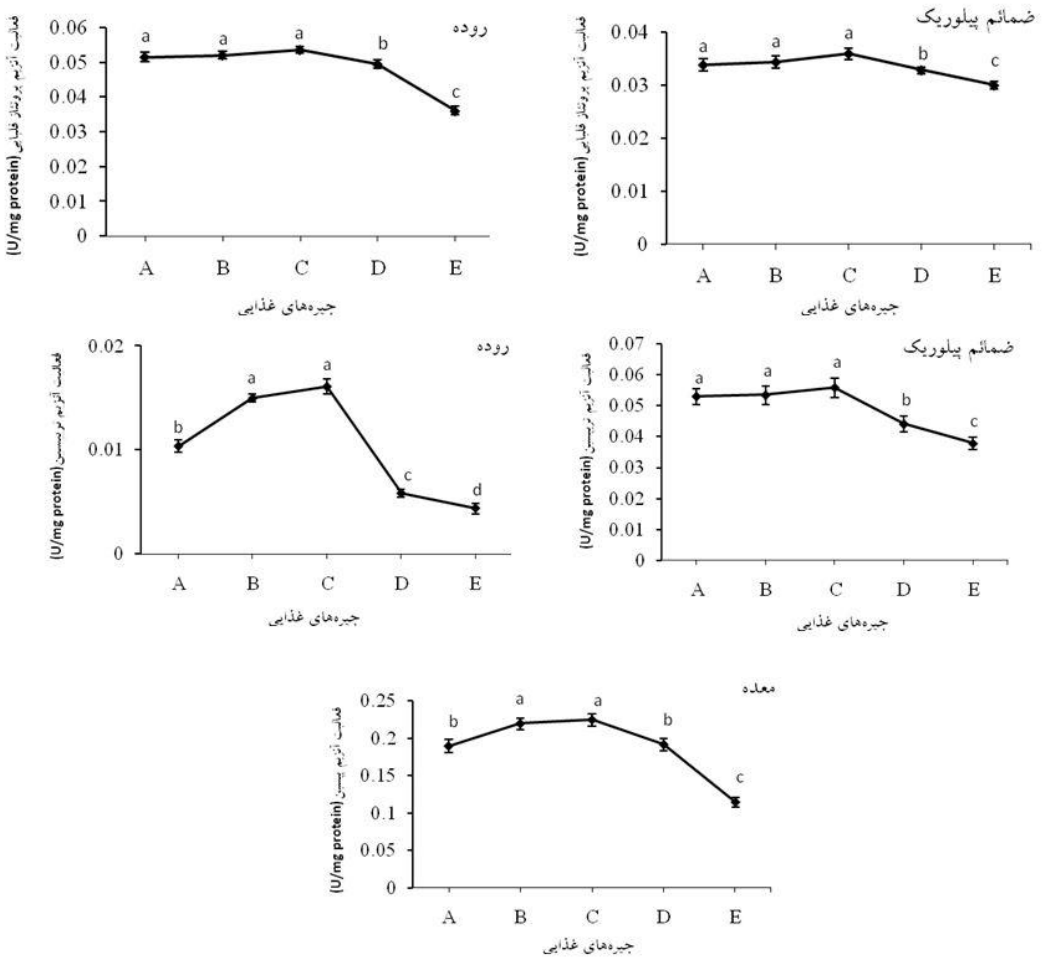
Figure 1: Broken line cuvre of body weight gain for rainbow trout (*O.mykiss*) fry fed with different levels of IPL -68. X_0 is the point of intersection of the two lines represents the optimal replacement.

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در معده، ضمائم پیلوریک و روده بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در شکل۲ نشان داده شده است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پپسین در معده ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی C و کمترین آن در ماهیان تغذیه شده با جیره E مشاهده شد بطوریکه میزان فعالیت آن در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی B اختلاف معنی داری نداشت، ولی با سایر جیره‌ها این اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). بالاترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز قلیایی در ضمائم پیلوریک و روده ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی C مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با جیره های A و B مشاهده نشد در حالیکه با جیره D و E اختلاف معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). فعالیت آنزیم تریپسین در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی نشان داد بیش‌ترین میزان آن در ضمائم پیلوریک و روده ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی C بود بطوریکه در ضمائم پیلوریک با جیره‌های A وB اختلاف معنی‌داری نداشت ولی با جیره های D و E اختلاف معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). همچنین میزان فعالیت آنزیم تریپسین روده در ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی C اختلاف معنی‌داری را با جیره B نداشت (p>۰/۰۵) ولی با سایر جیره ها اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (p<۰/۰۵).

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019



شکل۲: فعالیت آنزیم های پروتئازی (پروتئاز قلیایی، تریپسین و پپسین) درضمائم پیلوریک، روده و معده بچه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*O.mykiss*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف کوچک غیر مشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم می‌باشد (میانگین ۳ تکرار± انحراف معیار ؛ p< ۰/۰۵).

Figure 2: Protease enzymes activity (alkaline protease, trypsin and pepsin) from pyloric caeca, intestine and stomach in rainbow trout (*O.mykiss*) fry fed with experimental diets. Different lower case indicates a significant difference in enzyme activity (Mn ± Sd, n=3 , p<0.05).

بحث

استفاده از IPL 68 به عنوان یک منبع پروتئین باکتریایی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داد که جایگزینی تا سطح ۵۰ درصد به جای آرد ماهی شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، نرخ رشد نسبی، نرخ بقاء، ضریب تبدیل غذایی، نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی غذا را به طور معنی داری افزایش داد ولی جایگزینی بیش از ۵۰ درصد کاهش معنی‌داری بر شاخص‌های مذکور داشت. میزان پروتئین تک یاخته در بین انواع میکروارگانیسم ها متغیر بوده بطوریکه در مخمرها ۵۵-۵۰ درصد، باکتریها ۸۲-۸۰ درصد و در جلبکها ۷۳-۴۵ درصد تخمین زده می‌شود که نسبت به منابع گیاهی مانند سویا بالاتر و از ترکیب اسید آمینه مناسبی برخوردار می‌باشد و حاوی ۳ درصد چربی، ۶ درصد فیبر، ۱۲ درصد خاکستر، ۲۰-۱۲ درصد نوکلئوتید و ۱۹ KJ/g انرژی هستند (Oliva-Teles *et al.*, 2015; Wadhwa and Bakshi, 2016). بر اساس مطالعه Oliva-Teles و همکاران

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

(۲۰۱۵) منابع پروتئینی میکروبی می‌توانند تا سطوح ۵۵-۳۰ درصد آرد ماهی در جیره‌ها استفاده شوند. از مهمترین عواملی که استفاده از پروتئین تک یاخته بویژه نوع باکتریایی را به عنوان منبع پروتئینی در جیره‌های غذایی محدود می‌کند، میزان بالای اسید نوکلئیک و محدودیت اسیدهای آمینه گوگردی مانند متیونین و سیستئین است (Kurbanoglu, 2001; Dhevendaran *et al*., 2013; Feedipedia, 2015). نتایج مطالعه آلبوغبیش و همکاران (۱۳۹۴) در استفاده از مخمر نانوایی و سویا به جای پودر ماهی در جیره غذایی بچه ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*) نشان داد افزایش جایگزینی تا میزان ۱۰۰درصد باعث بهبود نرخ بقاء و افزایش وزن بدن گردید ولی میزان ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین بترتیب افزایش و کاهش یافت. Dharmaraj و Dhevendaran (۲۰۱۴) پروتئین تهیه شده از باکتری استرپتومایسیس را در جیره غذایی ماهی دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*) استفاده نموده و نتایج مطالعه آنها نشان داد ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی۱۰ درصدپروتئین باکتری افزایش معنی‌داری بر شاخص‌های نسبت کارایی غذا، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در مقایسه با گروه شاهد داشتند. همچنین در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) تغذیه شده با پروتئین تک یاخته حاصل از گیاه آزولا میزان رشد و ضریب تبدیل غذایی بهتری در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید (Manju and Dhevendaran, 2002). De و همکاران (۲۰۱۸) پروتئین حاصل از تخمیر اقلام گیاهی در حضور باکتری باسیلوس را در جیره غذایی بچه ماهیان کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به جای آرد ماهی بررسی نموده و یافته‌ها نشان داد جایگزینی تا سطح ۷۵ درصد تاثیر منفی بر شاخص‌های نرخ رشد، ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین و درصد بقاء نداشت. Manuel و Edoghotu (۲۰۱۷) از پروتئین حاصل از مخمر آبجو به جای آرد ماهی در سطوح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ درصد در جیره غذایی گربه ماهی (*Clariasgariepinus*) استفاده کرده و نتایج نشان داد میزان نرخ رشد ویژه و پروتئین بدن در ماهیان تغذیه شده با پروتئین میکروبی در سطح ۶۰ درصد نسبت به گروه شاهد بالاتر بود.Hardy و همکاران (۲۰۱۸) از پروتئین تک یاخته تولید شده توسط باکتری *Methylobacterium extorquens* در سطوح ۵ و۱۰ درصد به جای کنجاله سویا در جیره غذایی ماهی انگشت قد قزل آلای رنگین کمان استفاده کردند و بررسی نشان داد بین شاخص‌های نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی و افزایش وزن بدن اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ولی درصد بقاء در ماهیان تغذیه شده با ۱۰ درصد به طور معنی‌داری بالاتر از گروه تغذیه شده با کنجاله سویا بود. این محققین پیشنهاد نمودند افزایش وزن پائین بدن در ماهیان تغذیه شده با این منبع پروتئینی می‌تواند عمدتاً به دلیل مصرف کمتر غذا باشد که می‌توان با افزایش قابلیت خوش خوراکی غذا از طریق مواد افزودنی سطوح بالاتری از آن را در جیره استفاده نمود. Kiessling و Askbrandt (۱۹۹۳) کاهش میزان مصرف غذا و وزن بدن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با رژیم غذایی حاوی ۴درصد پروتئین باکتری *Corynebacterium glutamicum* مشاهده کردند ولی مطالعاتی نیز نشان می‌دهد استفاده از پروتئین باکتریایی در تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان و ماهی آزاد اقیانوس اطلس تاثیری بر میزان مصرف غذا نداشته است (Aas *et al.*, 2006 a, b). احتمالاً نوع باکتری، فرایند تهیه پروتئین مانند محیط کشت و همچنین اقلام غذایی مختلف مورد استفاده در آزمایش‌ها می‌تواند بر میزان مصرف غذا تأثیرگذار باشد (Overland *et al*., 2013; Hardy *et al*., 2018). برای مثال، Aas و همکاران (۲۰۰۶ b) از پروتئین باکتری تا سطح ۲۷ درصد در جیره غذای ماهی قزل آلای رنگین کمان استفاده نمودند و کاهش در وزن بدن ماهیان تغذیه شده مشاهده نشد بطوریکه جیره شاهد و جیره حاوی پروتئین باکتری بترتیب حاوی ۶۳/۵ و ۴۰/۷ درصد پودر ماهی بودند. در حالیکه در مطالعه Kaushik و Luquet (۱۹۸۰) که از جیره حاوی ۳۵ درصد پروتئین باکتری استفاده کردند، کاهش در وزن ماهیان مشاهده شد و جیره شاهد حاوی ۳۵درصد پودر ماهی بود. در مطالعه حاضر، میزان بقاء در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی پودر ماهی و پروتئین IPL اختلاف معنی‌داری نداشت و ۱۰۰ درصد بود. مطالعات نشان می‌دهند استفاده از منابع پروتئین میکروبی از طریق کاهش آماس معده و روده میزان بقاء را در ماهیان تغذیه شده افزایش می‌دهد (Banerjee *et al*., 2000; Romarheim *et al*., 2011; Laranja *et al*., 2014).

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در مطالعه حاضر نشان داد با افزایش جایگزینی IPL 65 به جای پودر ماهی تا سطح درصد ۵۰ میزان فعالیت افزایش یافت ولی در سطح بالاتر از ۵۰ درصد کاهش فعالیت مشاهده شد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند منابع میکروبی می‌توانند در دستگاه گوارش کلونیزه شده و به بهبود عملکرد گوارش و فیزیولوژی روده کمک

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

نمایند(Merrifield *et al*., 2010; Nayak, 2010) . استفاده از نوکلئوتید در جیره‌های غذایی می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند پپسین و همچنین فعالیت سوکروز مخاط روده شود که بر اساس مطالعات مذکور پیشین، پروتئین باکتریایی حاوی نوکلئوتید است (Li *et al*., 2007). آنزیم‌های گوارشی کارایی استفاده از غذا را افزایش داده و شناسایی آنها می‌تواند اطلاعات مفیدی در زمینه ظرفیت گوارش ماهیان جهت هیدورلیز پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌های اقلام غذایی فراهم نماید بطوریکه بتوان توانایی یک گونه را در استفاده از مواد مغذی مختلف بر اساس الگوی آنزیم های گوارشی آن پیش‌بینی نمود (Lemieux *et al*., 1999). در مطالعه Wache و همکاران (۲۰۰۶) اثرات تغذیه‌ای مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی بررسی شده و نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، گلوتامیل ترنس پپتیداز و لوسین آمینو پپتیداز بعد از گذشت۲۰ روز از غذادهی افزایش یافته بود. تغذیه ماهی آزاد اقیانوس اطلس با ۳ مخمر *Candida utilis*، *Kluyveromyces marxianus* و *Saccharomyces cerevisiae* بعنوان منبع پروتئین منجر به افزایش سلول‌های اپیتلیال و در نهایت افزایش وزن دستگاه گوارش گردید که این امر می‌تواند با افزایش ترشح مخاط روده و بهبود عملکرد دفاعی آن از طریق تعدیل بار میکروبی و حفاظت در برابر عفونت باکتریایی باشد (Overland *et al*., 2013). در مطالعه Tewary و Patra (۲۰۱۱) از مخمر نانوایی در تغذیه ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) استفاده شده و نتایج نشان داد میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ماهیان تغذیه شده افزایش یافته بود. Heidarieh و همکاران (۲۰۱۲) استفاده از*Saccharomyces cerevisiae* در تغذیه بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی نموده و نتایج آنها نشان داد ماهیان تغذیه شده با پروتئین مذکور باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم تریپسین شده است. بنظر می‌رسد غذای حاوی پروتئین تک یاخته از طریق تعدیل فعالیت آنزیمی به عملکرد رشد ماهیان کمک می‌نماید.

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه، جیره آزمایشی C بیشترین میزان شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، نرخ رشد نسبی، نسبت کارایی پروتئین، نسبت کارایی چربی و نسبت کارایی غذا را داشت و پایین‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی نیز در جیره آزمایشی C مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و پروتئاز قلیایی از ضمائم پیلوریک و روده و آنزیم پپسین معده در ماهیان تغذیه شده با جیره آزمایشی C مشاهده شد که نسبت به جیره‌های غذایی حاوی ۷۵ و ۱۰۰ درصد IPL68 اختلاف معنی‌داری نشان داد.

منابع

آلبوغبیش،م.، محمدی آذرم،ح.، یاوری، ذاکری، م.، ۱۳۹۴. اثر جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا و مخمر نانوایی بر عملکرد رشد و تغذیه ماهیان جوان بنی *Mesopotamichthys sharpeyi* . مجله پژوهش‌های جانوری، ۲۸(۲): ۱۴۵-۱۳۶.

بی‌بی‌کم، ص.، عابدیان، ع.، یونسی، ح.، ۱۳۸۹. تولید پروتئین تک‌یاخته با استفاده از کشت باکتری *Lactobacillus acidophilus* و قارچ *Aspergillus niger* از پساب کارخانه آرد ماهی کیلکا (استیک واتر). مجله علمی شیلات ایران، ۱۹(۴): ۳۲- ۲۱.

زمانی،ع.، حاجی مرادلو، ع.، مدنی، ر.، جوهری، ع.، کلباسی، م.ر.، فرهنگی، م.، ۱۳۸۵. مقایسه فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی در معده، ضمائم پیلوریک و روده ماهیان دیپلوئید و تریپلوئید ماده قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۱۵(۲):۳۶- ۲۹.

سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۶. سالنامه آماری شیلاتی ایران، معاونت طرح و برنامه، سازمان شیلات ایران، تهران، ۶۴ ص.

موحد راد، ف.، حاجی مرادلو، ع.، زمانی، ع.، کلنگی، ح.، ۱۳۹۷. بررسی اثر جایگزینی پودر ماهی با آکوپرو (کنجاله سویای فرآوری شده) بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۲): ۵۹-۴۷.

Aas, T. S., Grisdale-Helland, B., Terjesen, B. F. and Helland, S. J., 2006 a. Improved growth and nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing a bacterial protein meal. *Aquaculture*, 259: 365–376. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.05.032

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

Aas, T. S., Hatlen, B., Grisdale-Helland, B., Terjesen, B. F., Bakke-McKellep, A. M. and Helland, S. J., 2006 b. Effects of diets containing a bacterial protein meal on growth and feed utilisation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 261: 357–368. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.07.033

AES (Agriculture and Environmental Services), 2013. Fish to 2030: Prospects for Fisheries and Aquaculture. World Bank Report Number 83177-GLB.Pp 102. http://www.fao.org/3/ i3640e/ i3640e.pdf

Alvarez, R. and Enriquez, A., 1988. Nucleic acid reduction in yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29 (2–3): 208–210. DOI:10.1007/BF01982903

Anson, M.L., 1938.The estimation of Pepsin,Trypsin, Papain and Cathepsin with Hemoglobin. *Journal of General Physiology*, 22: 79-89.DOI: 10.1085/jgp.22.1.79

AOAC., 2005. Official Method 950.89 Horwitz, W., Latimer, G. (Eds). Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.

Banerjee, S., Azad, S. A., Vikineswary, S., Selvaraj, O. S. and Mukherjee, T. K., 2000. Phototrophic bacteria as fish feed supplement. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 13: 991–994. DOI:10. 5713/ajas.2000.991

Bligh, E.G. and Dyer, W.J., 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917. DOI: 10.1139/o59-099

De, D., Ghoshal, T.K., Biswas, G., Mukherjee, S., Kumar, S., Anand, P.S.S., Raja, R.A. and Vijayan, K.K., 2018. Evaluation of growth performance in *Mugil cephalus* l. juveniles fed diets incorporated with fermented plant feedstuffs replacing fishmeal or diets supplemented with fish gut bacteria. *Journal of Food Processing and Technology*, 9(4): 728 – 736. DOI: 10.4172/2157-7110.1000728

Deguara,S., Jauncey, K. and Agius,C., 2003. Enzyme activities and pH variations in the digestive tract of gilthead sea bream. Journal of Fish Biology, 62:1033-1043. DOI:10. 1046/j.1095-8649.2003.00094.x

Dharmaraj, S. and Dhevendaran, K., 2014. Effect of Actinobacteria as a single cell protein on growth performance of *Xiphophorus helleri*. *International Journal of Aquatic Biology*, 3(1):19-24. DOI: 10.22034/ijab.v3i1.42

Dhevendaran, K., Karthikeyan, S. and VedhaHari, B.N., 2013. Microbial single cell protein (scp) for the growth and food conversion efficiency of selected ornamental fish, *Xyphophorous helleri*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3): 166–169.

Erlanger, B., Kokowsky, N. andCohen, W.,1961.The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archive Biochemistry Biophysics*, 95: 271-278.

Faust, U., 1987. Production of microbial biomass. In: Fundamentals of Biotechnology. VCH Publishers, Weinheim, pp. 601–622.

Feedipedia., 2015. Single cell protein. Animal Feed Resources Information System, —INRA CIRADAFZ and FAO© 2012–2015.

Gatlin III, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, A., Nelson, R. and Overturf, K., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research*, 38(6): 551-579. DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

Hamza, N., Mhetli, M., Khemis, I. B., Cahu, C. and Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture*, 275(1): 274-282. DOI:10.1016/ j.aquaculture.2008.01.014

Hardy, R.W., Patro, B., Pujol-Baxley, C., Marx, C.J. and Feinberg, L., 2018. Partial replacement of soybean meal with Methylobacterium extorquens single-cell protein in feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*, 49(6): 2218-2224. DOI:10.1111/are.13678

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Akbari, M., Sheikhzadeh, N., Kamyabi-Moghaddam, Z., Askari, H. and Shahbazfar, A.A., 2012. Evaluations of Hilyses™, fermented S accharomyces cerevisiae, on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance, enzymatic activities and gastrointestinal structure. *Aquaculture Nutrition*, 19(3): 343-348. DOI:10.1111/j.1365-2095.2012.00973.x

Kaushik, S.J. and Luquet, P.,1980. Influence of bacterial protein incorporation and of sulphur amino acid supplementation to such diets on growth of rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson. *Aquaculture*, 19: 163–175. DOI:10.1016/0044-8486(80)90017-4

Kiessling, A. and Askbrandt, S., 1993. Nutritive value of two bacterial strains of single-cell protein for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 109: 119–130. DOI:10.1016/0044-8486(93)

Krogdahl, A., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S. and Bakke, A.M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture Research*, 41(3): 333-344. DOI:10.1111/j.1365-2109 .2009 .02426.x

Kurbanoglu, E.B., 2001. Production of single-cell protein from ram horn hydrolysate.Turkish Journal of Biology, 25(4): 371-377.

Laranja, J. L. Q., Ludevese-Pascual, G. L., Amar, E. C., Sorgeloos, P., Bossier, P., and De Schryver, P., 2014. Poly-b-hydroxybutyrate (PHB) accumulating Bacillus spp. improve the survival, growth and robustness of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) postlarvae. *Veterinary Microbiology*, 173: 310–317. DOI:10.1016/j.vetmic.2014.08.011

Lemieux, H., Blier, P. and Dutil, **J.D., 1999**. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiology and Biochemistry*, 20: 293-303. DOI:10.1023/A:1007791019523

Li, P., Lawrence, A. L., Castille, F. L. and Gatlin, **D. M., 2007**. Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). Aquaculture Research, 38: 887-890. DOI:10.1111/j.1365-2109. 2007.01761.x

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*,193(1): 265-275.

Manju, K.G. and Dhevendaran, K., 2002. Influence of Azolla sp. incorporated feeds on the growth, conversion efficiency and gut flora of *O. mossambicus*. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 17 (3): 221-230.

Manuel, B.F.G. and Edoghotu, J. A., 2017. Wheat Bran Grown Brewer's Yeast (*Saccharomyces cerevisioe*) as Feed for *Clarias gariepinus* Fingerlings: Carcass Analysis and

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

Growth Performance. *Journal of Natural Sciences Research*, 7(2): 75-80.

Merrifield, D.L., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S.J., Baker, R.T.M., Bogwald, J., Castex, M. and Ringo, E., 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*, 302: 1-18. DOI:10.1016/ j.aquaculture .2010.02.007

Nasseri, A., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M. and Ghasemi, Y., 2011. Single cell protein: production and process. American Journal of Food Technology, 6(2): 103-116. DOI:10.3923 /ajft.2011.103.116

Nayak, J., Viswanathan Nair, P., Ammu, K. and Mathew, S., 2003. Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita Hamilton*), oil sardine (*Sardinella longiceps Linnaeus*), mullet (*Liza subviridis Valenciennes*) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta Cuvier*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(11): 1139-1142. DOI:10.1002/jsfa.1515

Nayak, S.K., 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and shellfish immunology*, 29(1) 2-14**.** h DOI:10.1016/j.fsi.2010.02.017

NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington DC, USA.

Oliva-Teles, A., Enes, P. and Peres, H., 2015. Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. In Feed and feeding practices in aquaculture (pp. 203-233). Woodhead Publishing.

Olsen, R.L. and Hasan, M.R., 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science and Technology*, 27(2):120-128. DOI:10.1016/j.tifs.2012.06.003

Overland, M., Karlsson, A., Mydland, L.T., Romarheim, O.H. and Skrede, A., 2013. Evaluation of *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeasts as protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmosalar*). *Aquaculture*, 402–403:1–7.

Romarheim, O. H., Overland, M., Mydland, L. T., Skrede, A. and Landsverk, T., 2011. Bacteria grown on natural gas prevents soybean mealinduced enteritis in Atlantic salmon. *The Journal of Nutrition*, 141: 124–130. DOI:10.3945/jn.110.128900

SOFIA., 2018. The State of the World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and aquaculture Department, Rome.227P.

Sultana, S., Ali, M.E. and Ahamad, M.N.U., 2018. Gelatine, collagen, and single cell proteins as a natural and newly emerging food ingredients. In Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods (pp. 215-239).Wood head Publishing.

Tacon, A.G.J. and Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trend and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146-152. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.08.015Get

Tacon, A. G. J., Hasan, M. R. and Metian, M., 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: Trends and prospects. In: FAO fisheries technical paper, Vol. 564. Rome: FAO

Tewary, A. and Patra, B.C., 2011. Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 2(1):1-7. DOI:10.4172/2155-9546.1000109

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786]
Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

Trejo-Escamilla, I., Galaviz, M.A., Flores-Ibarra, M., Alvarez Gonzalez, C.A. and Lopez, L.M., 2017. Replacement of fishmeal by soya protein concentrate in the diets of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert, 1890) juveniles: effect on the growth performance, in vitro digestibility, digestive enzymes and the haematological and biochemistry parameters. *Aquaculture Research*, 48(8): 4038-4057. DOI:10.1111/are.13225

Wache, Y., Auffray, F., Gatesoupe, F.J., Zambonino, J., Gayet, V., Labbe, L. and Quentel, C., 2006. Cross effects of the strain of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and rearing conditions on the onset of intestinal microbiota and digestive enzymes in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*, fry. *Aquaculture*, 258(1-4): 470-478. DOI:10.1016/ j.aquaculture.2006.04.002

Wadhwa, M. and Bakshi, M.P.S., 2016. Application of waste-derived proteins in the animal feed industry. In *Protein Byproducts* (pp. 161-192). Academic press.

Walter, H.E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. Ed. Methods of Enzymatic Analysis, vol. V. Verlag Chemie, Weinheim. 270–277.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119786

Downloaded from isfj.ir at 11:38 +0330 on Sunday September 22nd 2019

Assessment of growth performance and proteolytic enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed by different levels of single cell protein

Zamani A.[1*]; Khajavi M.[1]

[*]a.zamani@malayeru.ac.ir

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Malayer, Iran.

Abstract

The present study was conducted to evaluate the effect of fish meal replacement with single cell protein on growth performance and proteolytic enzymes activity of pepsin, trypsin and alkaline protease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry (weight: 2.51 ± 0.55 g) for 6 weeks. Five experimental diets were prepared with replacement levels of 0 (A), with 25% (B), 50% (C), 75% (D) and 100% (E) of fish meal with microbial protein as isonitrogenous and isoenergetic. Parameters of body weight gain, relative growth rate, protein, lipid and feed efficiency ratio in diet C were significantly the higher than other treatments ($p< 0.05$), while feed conversion ratio was shown the highest and the lowest values in diet C and E, respectively , with a significant difference than those from other treatments ($p< 0.05$). The survival rate was 100 % in the diets. The highest activity of trypsin and alkaline protease enzymes from pyloric caeca and intestine was observed in diet C, which showed a significant difference compared to D and E diets ($p< 0.05$). Also, pepsin had significantly the highest activity in C diet than that from other diets exception for B diet ($p< 0.05$). The findings of growth performance and pepsin, trypsin and alkaline protease activity were revealed the diet containing 50% single cell protein could be appropriate for rainbow trout growth.

Keywords: Fish meal, Single cell protein, Protease, Growth performance, *Oncorhynchus mykiss*

[*]Corresponding author

www.SID.ir