University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 10, No. 1, 2024, pages: 77-95
DOI: 10.22124/janb.2024.26921.1235

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effects of autolytical fish protein hydrolysate on growth performance, survival rate, and hematological indices in farmed juvenile beluga, *Huso huso*

Ali Hosseinpour Zelaty*
International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Guilan, Iran

Received 30 November 2023 Revised 06 March 2024 Accepted 08 March 2024

KEYWORDS
Fish protein hydrolysate
Survival
Growth indices
Hematology
Juvenile beluga

ABSTRACT

Introduction: Aquaculture's rapid expansion has led to a high demand for fishmeal, a key protein source in aquafeed. To address this, alternatives like fish protein hydrolysates (FPHs) are being investigated. FPHs are produced from the enzymatic digestion of proteins in fish processing waste. They have been found to enhance fish growth, feed efficiency, immune responses, and disease resistance. FPHs contain functional and bioactive peptides, making them a viable substitute for fishmeal in aquafeeds. They are also a rich source of proteins, amino acids, peptides, and antioxidants, which are beneficial for fish health and welfare. However, it is important to determine the optimal FPH inclusion level to avoid potential negative effects from excessive use. This study investigates the effects of different levels of autolytical FHP on the growth performance, survival, and some blood parameters of juvenile beluga, *Huso huso* over a 48-day period.

Materials and methods: A total of 750 belugas with an initial weight of 3 ± 0.5 g were randomly distributed into five experimental groups: a control group (without FHP), three treatments with different levels of FHP replacing fishmeal (T_1, T_2, and T_3 with inclusion level of 2.75%, 5.5%, and 8.25%, respectively), and a positive control group (commercial feed, T_4). The experiment was carried out in 15 tanks (500-L), each containing 50 fish. The inflow water rate was 2 L/min, and the water exchange rate was 6 to 7 times per day in each tank. The fish's growth performance was evaluated by measuring its biometric characteristics every 15 days. Hematological parameters were assessed by collecting blood samples from the treatment and control groups at the end of the study.

Results: The results indicated that the beluga fed the experimental diets containing FHP had higher survival rates than the control group. The growth indices in the FHP treatments were higher than those in the control group, however, the differences were not statistically significant ($p>0.05$). Analyses of hematological parameters showed no significant difference in white blood cell count between treatments 1, 2, 3 and the control group ($p>0.05$). However, in treatment 4 it was significantly different from all other groups ($p<0.05$). The red blood cell (RBC) count of the control group was significantly different from that of T_1 ($p<0.05$), with the highest RBC observed in T_1. There were no significant differences in neutrophil percentages between the control group and T_1 and T_3. Additionally, T_2 and T_3 did not differ significantly from each other ($p>0.05$). However, T_4 showed a significant difference in neutrophil percentage compared to the other treatments ($p<0.05$). In addition, T_4 exhibited the lowest lymphocyte percentage, which was significantly different from the other groups ($p<0.05$). No significant differences were found between the experimental groups in other blood parameters, such as hemoglobin, hematocrit, red blood cell indices, monocyte and eosinophil percentages ($p>0.05$).

Discussion: The present study showed that dietary supplementation of hydrolyzed protein in juvenile beluga diet significantly improved survival and growth performance (final weight, specific growth rate and daily growth rate) and did not induce any adverse alterations in the measured blood indices compared to the control group. FPH, derived from enzymatic hydrolysis of fish waste, is rich in proteins, amino acids, peptides, and antioxidants, and contains functional and bioactive peptides. These components can improve growth, feed utilization and immune functions in fish. It seems that optimal levels of FPH supplementation can enhance juvenile beluga growth and health by providing a balanced amino acid profile and bioactive substances that support physiological responses.

Conclusion: In conclusion, the present study demonstrated that the replacement of fishmeal with hydrolyzed protein up to level of 8.25% resulted in increased survival and improved growth performance of juvenile beluga compared to the control group, without any adverse effects on blood indices.

*Corresponding author: ahpour.z@gmail.com

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال دهم، شماره اول، فروردین ۱۴۰۳، صفحات ۹۵-۷۷

DOI: 10.22124/janb.2024.26921.1235

"مقاله پژوهشی"

اثر پروتئین هیدرولیز شده اتولیزی ماهی بر عملکرد رشد، بازماندگی و فراسنجه‌های خونی بچه فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*)

علی حسین پور زلتی*

انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، گیلان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۹ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۸

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده ماهی به روش اتولیز بر عملکرد رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌های خونی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*) در یک دوره ۴۸ روزه انجام شد. ۷۵۰ قطعه بچه فیل‌ماهی با وزن اولیه ۰/۵ ± ۳ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون پروتئین هیدرولیز شده)، ۳ تیمار با سطوح مختلف جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده با پودر ماهی (تیمار ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵٪) و تیمار ۴ کنترل مثبت (غذای تجاری) توزیع شدند. نتایج نشان داد که بچه فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی حاوی پروتئین هیدرولیزشده بازماندگی بیشتری نسبت به گروه شاهد داشتند (p<۰/۰۵). شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف واجد پروتئین هیدرولیزشده بیشتر از گروه شاهد بودند، اما این اختلاف معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). بررسی شاخص‌های خونی نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵)، اما با تیمار ۴ این اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). همچنین، تعداد گلبول‌های قرمز گروه شاهد با تیمار ۱ اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). میزان نوتروفیل گروه شاهد با تیمارهای ۱ و ۳ و تیمارهای ۲ و ۳ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (p>۰/۰۵)، اما درصد نوتروفیل تیمار ۴ با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). کمترین درصد لنفوسیت مربوط به تیمار ۴ بود که با دیگر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). از نظر هموگلوبین، هماتوکریت و شاخص‌های MCV، MCH و MCHC و درصد مونوسیت و ائوزینوفیل بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در مجموع، این مطالعه نشان داد جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده تا سطح ۸/۲۵٪، بدون اثر منفی بر شاخص‌های خونی، به افزایش میزان بقا و بهبود عملکرد رشد فیل ماهیان جوان نسبت به گروه شاهد منجر می‌شود.

کلمات کلیدی

پروتئین هیدرولیز شده ماهی

بازماندگی

شاخص‌های رشد

خون‌شناسی

بچه فیل‌ماهی

نویسنده مسئول: ahpour.z@gmail.com

مقدمه

ماهیان خاویاری جزء آبزیان قدیمی محسوب می‌شوند که منحصراً محدود به مناطقی در نیمکره شمالی هستند. بیشترین صید ماهیان خاویاری در جهان در سال ۱۹۷۷ با میزان ۳۲۰۷۸ تن به‌دست آمد که این میزان هرگز تکرار نشد. در حال حاضر به دلایلی از جمله آلودگی‌های زیست محیطی، رشد شهرنشینی، توسعه صنعتی، صید بی‌رویه، از بین رفتن مناطق مناسب تخم‌ریزی، تغییرات در هیدرولوژی و هیدرودینامیک رودخانه‌ها، نسل بسیاری از گونه‌های ماهیان خاویاری در خطر است. بنابراین، توجه ویژه‌ای به تکثیر و پرورش مصنوعی این ماهیان طی دو دهه اخیر با توجه به تقاضای بازارهای جهانی برای این محصول ارزشمند شده است (Bronzi et al. 2011). در حال حاضر بیش از ۱۳ گونه تاسماهی و ۱۰ هیبرید حاصل از آن‌ها در کشورهای مختلف پرورش داده می‌شود و با تولید و صادرات ده‌ها تن خاویار پرورشی به بازار جهانی، رقابت تنگاتنگی با خاویار طبیعی دریای خزر که اکنون صادرات آن ناچیز شده، ایجاد کرده است (Bronzi et al. 2011). در ایران، تولید ماهیان خاویاری به‌صورت تجاری از سال ۱۳۸۱ آغاز شد و در سال ۱۴۰۱، به تولید ۴۶۶۴ تن گوشت و ۱۴ تن خاویار با مجموع ارزش صادراتی ۳۹۹۷ هزار دلار رسیده است. پیش‌بینی سازمان شیلات ایران برای توسعه پرورش ماهیان خاویاری دستیابی به تولید ده هزار تن گوشت و ۱۰۰ تن خاویار در افق برنامه ۱۴۰۴ است (Iranian Fisheries Organization., 2021). بدیهی است که یکی از ارکان رشد و توسعه صنعت ماهیان خاویاری بهینه‌سازی خوراک این ماهیان است.

در سال‌های اخیر، توجه به نقش پروتئین هیدرولیز شده غنی از پپتیدهای زیست‌فعال در تغذیه آبزیان افزایش یافته است. بازار پروتئین هیدرولیز شده در سال ۲۰۲۵ به ۵۵۸ میلیون دلار خواهد رسید و ضریب رشد سالانه محصول ۵٪ است (Nikoo et al. 2022). مهمترین عوامل رشد صنعت پروتئین هیدرولیز شده در دنیا، کاربرد آن در محصولات آرایشی و بهداشتی، صنایع غذایی و در تولید خوراک آبزیان خصوصاً خوراک آغازین بچه‌ماهیان است. پروتئین هیدرولیز-شده شامل پپتیدهایی با ۲۰-۲ اسید آمینه و وزن مولکولی کمتر از ۳ کیلو دالتون است. پپتیدهای با وزن کمتر از ۱ کیلو دالتون و به‌خصوص دی‌پپتیدها و تری‌پپتیدها به همراه اسیدهای آمینه آزاد نقش مهمی در فعالیت زیستی آن دارند. این پپتیدهای با ساختار مختلف طی فرآیند هیدرولیز آنزیمی از پروتئین جدا می‌شوند و به دلیل ساختار خاصی که دارند، می‌توانند یکسری عملکردهای زیستی، مانند فعالیت‌های ضد اکسایشی، ضد فشار خون، محرک دستگاه ایمنی، ضد سرطان، ضد دیابت، ضد حساسیت و ضد میکروبی از خود نشان دهند (Zheng et al. 2018; Nirmal et al. 2022; Nong and Hsu, 2022; Nikoo et al. 2023).

استفاده از ضایعات جانوری و گیاهی و هیدرولیز آنزیمی و میکروبی و اتولیزی آنها قبل از تغذیه، روشی مفید برای تولید پپتیدهایی با کیفیت بالاست که اهمیت تغذیه‌ای و عملکرد فیزیولوژیک و تنظیم‌کننده‌ای در آبزیان دارد. در کشورهای مختلف، پودر پروتئین هیدرولیز شده از ضایعات میگو و ماهی به‌عنوان مکمل فراسودمند در ساخت خوراک این آبزیان تولید می‌شود. پپتیدهای زیست فعال/پروتئین هیدرولیز شده به دلیل عملکردشان بر کنترل استرس و ارتقای دستگاه ضد اکسایشی آبزی، تقویت دستگاه ایمنی و بهبود عملکرد رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در سال‌های اخیر مورد توجه تولیدکنندگان خوراک قرار گرفته است. به دلیل اثر فرآیند هیدرولیز بر قابلیت هضم‌پذیری پروتئین، جذب پروتئین هیدرولیزشده در مقایسه با پروتئین فرآوری‌نشده توسط ناقل‌های اسیدهای آمینه و ناقل‌های پپتیدی با راندمان بالاتر و سریع‌تر انجام می‌شود (Aksens et al. 2006; Terjesen et al. 2006; Siddik et al. 2018; Gisbert et al. 2018; Ha et al. 2019; Costa et al. 2020). پروتئین هیدرولیزشده ماهی حاصل از امعاء و احشای ماهیان، نتایج امیدوارکننده‌ای را در افزایش رشد و سلامت ماهیان مورد بررسی نشان داده است (Chaklader et al. 2023). برای مثال، پروتئین هیدرولیزشده بر عملکرد رشد بچه فیل‌ماهی (در سطح ۵٪) (Mousavi Nadushan and Mohammadali Khani, 2016)، بر روند رشد، بقا و ترکیب اسیدهای آمینه آلوین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (حد بهینه جایگزینی ۲۵٪ پروتئین هیدرولیز شده ساردین پهلو طلایی

و ۱۰٪ پروتئین هیدرولیز شده ضایعات کشتارگاهی طیور (Taheri et al. 2012)، بر افزایش رشد و ضریب رشد ویژه باس دهان گشاد (*Micropterus salmoides*) (Li et al. 2021) و کاهش آثار سوء ناشی از پروتئین‌های گیاهی در بچه ماهیان باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) (در سطح ۳٪) (Costa et al. 2020) تأثیر می‌گذارد. بنابر سوابق مطالعاتی موجود و با توجه به اهمیت اقتصادی و بوم-شناختی گونه فیل‌ماهی در ایران و همچنین، نقش حیاتی تغذیه در رشد و پرورش ماهیان خاویاری، این پژوهش به بررسی تأثیر جایگزینی بخشی از پروتئین جیره با پروتئین هیدرولیز شده امعا و احشای خود فیل ماهی که به روش اتولیز تولید شده است، بر عملکرد رشد، بقا و شاخص‌های خونی فیل ماهی جوان پرداخته است.

مواد و روش‌ها

محل انجام تحقیق

این پژوهش در سال ۱۴۰۰ و در انستیتو تحقیقات بین-المللی ماهیان خاویاری دریای خزر به مدت ۴۸ روز انجام شد.

منبع تأمین آب

منبع اصلی تأمین آب مورد نیاز پروژه، آب چاه موجود در انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دریای خزر بوده که دبی آب ورودی هر یک از مخازن پرورشی ۵۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۴۰۰ لیتر، ۲ لیتر در دقیقه (معادل ۰/۰۳ لیتر بر ثانیه) بود. میزان تعویض آب در هر مخزن بین ۶ تا ۷ بار در طی شبانه‌روز به همراه هوادهی از طریق دستگاه هواده کمپرسور مرکزی و با دیفیوزرهای صفحه‌ای بود.

شرایط پرورش فیل ماهی‌ها و تیماربندی

برای انجام این تحقیق، تعداد ۷۵۰ عدد بچه فیل‌ماهی با وزن ۰/۵ ± ۳ گرم به طور تصادفی در ۵ گروه آزمایشی با ۳ تکرار تقسیم شدند. گروه اول (شاهد) هیچ پروتئین هیدرولیز شده‌ای دریافت نکرد، اما ۳ گروه دیگر (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) به‌ترتیب ۲/۵۷، ۵/۵ و ۸/۲۵٪ پروتئین هیدرولیز شده به جای پودر ماهی دریافت کردند. گروه پنجم (تیمار ۴) نیز غذای تجاری دریافت کرد. آزمایش در ۱۵ مخزن نیم تنی و با ۵۰ بچه‌ماهی در هر مخزن انجام شد.

تهیه و آماده سازی ضایعات

در این مطالعه، از ضایعات (امعاء و احشاء) منجمد فیل‌ماهی پرورشی تهیه شده از انستیتو تحقیقات بین المللی دریای خزر و شرکت آبزی‌گستران ساعی استفاده شد. این ضایعات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صورت منجمد نگهداری شده و با استفاده از یونولیت و یخ به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری منتقل شدند. برای افزایش کارایی فرآیند هیدرولیز و بهبود دسترسی آنزیم‌ها به سوبسترا، ضایعات ابتدا با یک چرخ گوشت بزرگ خرد شدند. ضایعات خرد شده به وزن ۱ کیلوگرم در کیسه‌های پلاستیکی قرار گرفته و تا زمان استفاده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری، و طی یک هفته در فرآیند هیدرولیز استفاده شدند.

هیدرولیز ضایعات

در آزمایشگاه، با استفاده از یک دستگاه چرخ گوشت محلی (پارس خزر، تهران) و با قطر دارای ۳ میلی‌متر، ضایعات مختلف فیل‌ماهی شامل امعاء و احشاء به صورت خمیری درآمدند. این ضایعات سپس به روش اتولیزی مطابق با روش توصیف‌شده توسط Nikoo و همکاران (۲۰۲۱) هیدرولیز شدند. برای تولید پپتیدها، ضایعات خرد شده با آب مقطر در نسبت ۱ به ۱ مخلوط، و به مدت دو دقیقه با استفاده از دستگاه هموژنایزر همگن‌سازی شدند. فرآیند هیدرولیز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و با pH اولیه ۷/۱ به مدت یک ساعت انجام شد. در طی واکنش، مخلوط به طور مداوم توسط یک همزن مکانیکی مخلوط می‌شد. برای متوقف کردن واکنش آنزیمی، محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت دید و پس از خنک شدن و فیلتراسیون اولیه با استفاده از پارچه توری، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۴۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. در نهایت، مایع رویی برای ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد.

ساخت جیره‌های آزمایشی و مدیریت غذادهی

برای تولید جیره‌های غذایی، مواد اولیه خمیری‌شده با دستگاه چرخ گوشت صنعتی مدل (Pars Esfahan, GM32, Esfahan, Iran) با اندازه چشمه ۲ میلی‌متر چرخ شده و رشته‌های حاصل در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در خشک کن، خشک شد. سنجش تقریبی شامل تعیین پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام، خاکستر، ماده خشک و انرژی خالص هر یک از جیره‌های آزمایشی و جیره شاهد طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990). جیره‌های مختلف حاوی مقادیر متفاوت پودر ماهی و پروتئین هیدرولیز طبق نیازهای غذایی بچه-ماهیان فرموله و ساخته شد و پروتئین هیدرولیز در سطوح مختلف (۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵٪ به جای پودر ماهی جایگزین) به جیره افزوده شد (جدول ۱). جیره فاقد پروتئین هیدرولیز شده به عنوان گروه شاهد (یا کنترل منفی) در نظر گرفته شد. علاوه بر این، از جیره غذایی یکی از کارخانجات معتبر داخلی (شرکت فرادانه) در قالب یک تیمار آزمایشی به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده با مقادیر مشخص با پودر ماهی جایگزین شد. به منظور بررسی رشد و همچنین محاسبه دقیق میزان غذای مورد نیاز برای غذادهی روزانه، هر ۱۵ روز یک بار کل ماهیان هر مخزن زیست‌سنجی شدند. میزان غذادهی برحسب دمای آب و میانگین وزنی بین ۳ تا ۴٪ وزن بدن در سه نوبت صبح، ظهر و عصر به روش دستی انجام شد. آب حوضچه‌های پرورش هر روز قبل از غذادهی سیفون می‌شد تا غذای احتمالی مصرف‌نشده و فضولات از محیط پرورش خارج شود.

جدول ۱ اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی برای تغذیه فیل ماهی جوان (*H. huso*)

Table 1 Ingredients and proximate composition of experimental diets for feeding juvenile beluga (*H. huso*)

Feed components	Control (%)	T_1 (%)	T_2 (%)	T_3 (%)
Fish meal	55	52.25	49.5	46.75
Hydrolyzed protein	0	2.75	5.5	8.25
Wheat gluten	13	13	13	13
Milk powder	5	5	5	5
Wheat flour	6	6	6	6
Soybean meal	8	8	8	8
Fish oil	5.5	5.5	5.5	5.5
Soybean lecithin	2	2	2	2
Vitamin E	0.6	0.6	0.6	0.6
Vitamin supplement	1	1	1	1
Mineral supplement	0.5	0.5	0.5	0.5
Lysine	2	2	2	2
Methionine	0.8	0.8	0.8	0.8
Dicalcium phosphate	0.4	0.4	0.4	0.4
Betaine	0.2	0.2	0.2	0.2
Total	100	100	100	100

Proximate analysis of experimental diets

Chemical composition	**Control**	**T_1**	**T_2**	**T_3**	**T_4**	**FPH**
Crude protein (%)	53.54	53.79	53.91	54.48	52.46	73.79
Crude fat (%)	17.29	17.65	16.93	17.36	12.35	0.56
Crude fiber (%)	1.26	1.36	1.58	1.39	1.28	0.03
Ash (%)	8.96	8.38	8.66	8.29	12.58	5.33
Dry matter (%)	93.12	93.16	93.06	93.87	92.9	88.06
Energy (kcal/kg)	5565.38	5438.78	5283.52	5468.64	5004.06	4301.82

T_1 = substitute 2.75%; substitute 5.5%; substitute 8.25%; T_4 = Commercial feed; FPH= fish protein hydrolysate.

فراسنجه‌های فیزیکی و شیمیایی آب

از بین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب، اکسیژن محلول به عنوان فراسنجه کلیدی کیفیت آب (North et al. 2006)، دما و pH (Wuertz et al. 2006) انتخاب شدند. دمای آب و pH توسط دستگاه دیجیتال WTW (مدل Weilheim PH 330i ساخت آلمان) و میزان اکسیژن محلول با استفاده از اکسی‌متر دیجیتال WTW (مدل Weilheim PH 330i ساخت آلمان) با دقت ۰/۰۱ به‌طور روزانه (۳ بار در طی روز) اندازه‌گیری شدند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فراسنجه‌های فیزیکی و شیمیایی آب در طی دوره پرورش در جدول ۲ نشان داده شد. اختلاف معنی‌داری در میزان دما، pH، اکسیژن و میزان اشباعیت آن در طی دوره پرورش وجود نداشت (p>۰/۰۵).

جدول ۲ شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش (میانگین ± خطای استاندارد)

Table 2 Physicochemical characteristics of water during the culture period (mean ± SE)

Indicators	First two weeks	Second two weeks	Third two weeks
Oxygen (mg/L)	6.94 ± 0.11	6.89 ± 0.12	6.92 ± 0.11
Oxygen saturation (%)	77.63 ± 1.41	76.70 ± 1.36	76.89 ± 1.26
Temperature (°C)	20.38 ± 0.14	20.38 ± 0.14	20.24 ± 0.13
pH	8.28 ± 0.02	8.25 ± 0.03	8.26 ± 0.02

زیست‌سنجی ماهیان

عملیات زیست‌سنجی هر ۱۵ روز یکبار انجام شد. ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی قطع غذا انجام شد. در زیست‌سنجی، درازای کل با تخته زیست‌سنجی با دقت ۰/۰۱ سانتی‌متر و وزن کل با ترازوی دیجیتال با دقت ۱ گرم ثبت شد.

محاسبه شاخص‌های رشد

با انجام زیست‌سنجی‌ها و با توجه به اطلاعات به دست آمده از درازا و وزن ماهیان و تشکیل بانک اطلاعاتی، محاسبات آماری شاخص‌های رشد بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد:

شاخص چاقی (CF) = ۱۰۰× (وزن ماهی / طول کل^{۳}) (Ronyai et al. 1990)

افزایش وزن (WG) (گرم) = وزن نهایی– وزن اولیه (Ricker, 1979)

درصد افزایش وزن بدن (BWI) (درصد) =۱۰۰ × (میانگین وزن نهایی– میانگین وزن اولیه) / (میانگین وزن اولیه) (Ronyai et al. 1990)

نرخ رشد ویژه (SGR) (درصد در روز) = ۱۰۰×[(لگاریتم وزن نهایی– لگاریتم وزن اولیه)/ مدت زمان آزمایش] (Qinghui et al. 2004)

ضریب تبدیل غذایی (FCR) = کل غذای خورده شده (گرم) / افزایش وزن کسب شده (گرم) (Ronyai et al. 1990)

نسبت بازده پروتئینی (PER) = افزایش وزن بدن / مصرف پروتئین خام (Suma et al. 2023)

خون‌شناسی

برای ارزیابی شاخص‌های خونی، در پایان دوره پرورش، نسبت به خون‌گیری از تیمارهای مختلف و گروه شاهد اقدام شد. ماهیان مورد آزمایش ۲۴ ساعت قبل از خونگیری قطع غذا شدند. به این منظور از هر تکرار تعداد ۳ عدد ماهی به‌طور تصادفی انتخاب و خون‌گیری به وسیله سرنگ ۵ میلی‌لیتری از طریق سیاهرگ ساقه دمی، در پشت باله مخرجی، با کمینه میزان دستکاری و استرس انجام شد. لازم به توضیح است که در هنگام خون‌گیری از مواد بیهوش‌کننده به علت احتمال تأثیر بر شاخص‌های خونی استفاده نشد (Torrecialls et al. 2007; Torrecillas et al. 2011). نمونه‌های خون

جمع‌آوری شده از سرنگ‌های آغشته به هپارین به داخل ویال‌های اپندورف ریخته شد.

برای شمارش گلبول‌های قرمز و سفید از ملانژورهای رقیق‌کننده استفاده و خون با محلول ریس رقیق شد (۱:۲۰۰ برای گلبول‌های قرمز و ۱:۲۰ برای گلبول‌های سفید). تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از لام نئوبار شمارش شد. (Klontz, 1994). برای تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش خونی تهیه و با میکروسکوپ نوری بررسی شد. درصد فراوانی هر گروه (لنفوسیت‌ها، ائوزینوفیل‌ها، نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها و مونوسیت‌ها) محاسبه شد (Klontz, 1994; Gao et al. 2007). برای محاسبه درصد هماتوکریت، خون حاوی هپارین در لوله‌های میکروهماتوکریت ریخته و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه (Houston, 1990) سانتریفیوژ (مدل D-78532 Tuttlingen شرکت Hettich آلمان) شد. پس از سانتریفیوژ، گلبول‌های سفید به صورت لایه نازکی روی گلبول‌های قرمز قرار گرفتند و با استفاده از خط‌کش مدرج دستگاه، میزان هماتوکریت برحسب درصد اندازه‌گیری شد (Klontza, 1994). اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیانو مت‌هموگلوبین انجام شد. جذب نوری مخلوط در اسپکتروفتومتر و با استفاده از کیت پارس آزمون در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت هموگلوبین برحسب گرم در دسی لیتر محاسبه شد (Klontz, 1994). حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Anderson and Klontz, 1965; Klontz, 1994):

MCV (fl) = [(مقدار هماتوکریت) / (تعداد گلبول‌های قرمز برحسب میلیون در mm^3)] × ۱۰

MCH (pg/cell) = [(مقدار هموگلوبین) / (تعداد گلبول‌های قرمز برحسب میلیون در mm^3)] × ۱۰

MCHC (g/dL) = [(مقدار هموگلوبین / (مقدار هماتوکریت)] × ۱۰۰

تجریه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها برای تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. در صورت نرمال بودن داده‌ها به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One-way Anova) در سطح اطمینان ۹۵٪ و پس از بررسی همگنی داده‌ها در گروه‌ها با آزمون Test of Homogeneity of Variances برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۶ استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

در مطالعه حاضر، شاخص درصد بازماندگی در گروه‌های آزمایشی مختلف بررسی شد. نتایج نشان داد که درصد بازماندگی در تیمار ۴ با تمامی تیمارهای اصلی دریافت‌کننده پروتئین هیدرولیزشده (تیمارهای ۱، ۲ و ۳) و گروه شاهد، اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) و بیشترین میزان بازماندگی در تیمار ۴ (۱/۹۶ ± ۷۶/۴ درصد) و کمترین آن در گروه شاهد (۱/۵۶ ± ۴۸/۳ درصد) بود. همچنین، تیمارهای ۲ و ۳ و تیمارهای ۱ و ۲ نیز فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (p>۰/۰۵).

نتایج یافته‌های زیست‌سنجی شاخص‌های رشد، در جدول ۳ نشان داده شد. بر اساس نتایج حاصل از این زیست سنجی‌ها، در شاخص‌های وزن نهایی، زی‌توده نهایی، تولید نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه تفاوت معنی‌دار بین این گروه‌ها مشاهده نشد (p>۰/۰۵). نتایج این مطالعه نشان داد که وزن نهایی، زی‌توده نهایی، تولید نهایی و نرخ رشد روزانه ماهیان تیمار ۴ با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند (p<۰/۰۵). همچنین، درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه تیمار ۴ به‌طور معنی‌دار بیش از گروه شاهد بود (p<۰/۰۵). نتایج نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار در ضریب چاقی وجود ندارد (p>۰/۰۵). بیشترین

ضریب چاقی در تیمار ۴ و کمترین آن در تیمار ۲ مشاهده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری میانگین کارآیی غذا و نسبت بازده پروتئینی، اختلاف معنی‌داری را در بین گروه‌های آزمایشی نشان نداد (p>۰/۰۵). بیشترین کارآیی غذا و نسبت بازده پروتئینی در تیمار ۲ و کمترین آن‌ها در تیمار ۱، مشاهده شد.

شاخص‌های خون‌شناسی

بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های خونی (جدول ۴)، اختلاف آماری معنی‌دار به جز در موارد درصد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد لنفوسیت و درصد نوتروفیل بین تیمارها با گروه شاهد مشاهده نشد (p>۰/۰۵). بیشترین میزان گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل در تیمار ۴ بود که با گروه شاهد و دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). همچنین، کمترین درصد لنفوسیت مربوط به تیمار ۴ بود که با دیگر تیمارها و گروه شاهد اختلاف آماری معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵). میزان مونوسیت خون ماهیان، در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). بیشترین میزان مونوسیت خون ماهیان در تیمار ۴ و کمترین آن در گروه شاهد بود. در تعداد گلبول‌های قرمز، بین گروه شاهد و تیمار ۱ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵)، اما گروه شاهد و تیمار ۱ با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشتند (p>۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ۱ و کمترین آن در گروه شاهد بود. در بین هیچ یک از گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار در میزان هموگلوبین خون ماهیان مشاهده نشد (p>۰/۰۵). اما بیشترین تعداد هموگلوبین در تیمار ۱ و کمترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. از نظر درصد هماتوکریت خون ماهیان، در تیمارها با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (p>۰/۰۵). اما بیشترین درصد هماتوکریت در تیمار ۱ و کمترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. میزان حجم متوسط گلبول قرمز، در هیچ یک از گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). اما بیشینه میزان حجم متوسط گلبول قرمز در تیمار ۱ و کمینه آن در گروه شاهد وجود داشت. میزان هموگلوبین متوسط گلبول قرمز، در تمامی گروه‌های آزمایشی بدون اختلاف معنی‌دار بود (p>۰/۰۵). کمترین میزان هموگلوبین متوسط گلبول قرمز در گروه شاهد و بیشترین آن در تیمار ۴ مشاهده شد. میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز، همه گروه‌های آزمایشی تغییرات معنی‌دار نداشت (p>۰/۰۵). بیشینه میزان غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز در تیمار ۳ و کمترین آن در تیمار ۱ مشاهده شد.

جدول ۳ شاخص‌های رشد، تغذیه و بازماندگی فیل ماهی تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در پایان دوره آزمایش (در ۳ تکرار) (میانگین ± خطای استاندارد)

Table 2 Growth performance, feeding and survival rates in beluga (*H. huso*) fed with experimental diets at the end of experiment (in three replicates) (mean ± SE)

Growth indicators	Control	T1	T2	T3	T4
Initial weight (g)	2.97 ± 0.06	2.98 ± 0.03	2.97 ± 0.02	2.97 ± 0.03	2.97 ± 2.19
Final weight (g)	49.29 ± 0.96^{b}	51.19 ± 1.06^{b}	51.02 ± 2.78^{b}	51.08 ± 3.49^{b}	55.88 ± 3.49^{a}
Initial total length (cm)	8.15 ± 0.06	8.20 ± 0.08	7.68 ± 0.48	8.29 ± 0.01	8.19 ± 0.02
Final total length (cm)	24.29 ± 0.65	23.75 ± 0.14	26.55 ± 2.76	24.41 ± 0.38	24.49 ± 0.46
Primary biomass (g)	130.68 ± 2.50	131.12 ± 1.41	130.68 ± 0.91	131.27 ± 1.30	130.53 ± 1.20
Final biomass (kg)	21.69 ± 4.24^{b}	22.52 ± 4.70^{b}	22.45 ± 5.48^{b}	22.48 ± 2.87^{b}	24.59 ± 9.64^{a}
Body weight gain (%)	1561.95 ± 59.3^{b}	1618.7± 52.3^{ab}	1618.4 ± 5.49^{ab}	1613.1 ± 38.6^{ab}	1782.9± 62.5^{a}
Feed conversion ratio	0.66 ± 0.02	0.67 ± 0.01	0.65 ± 0.04	0.64 ± 0.005	0.65 ± 0.02
Specific growth rate (% per day)	3.60± 0.04 ^{b}	3.64 ± 0.03^{ab}	3.64 ± 0.03^{ab}	3.64 ± 0.02^{ab}	3.76 ± 0.04^{a}
Daily growth rate (%)	0.59 ± 0.01^{b}	0.61 ± 0.01^{b}	0.61 ± 0.02^{b}	0.61 ± 0.008^{b}	0.67 ± 0.03^{a}
Condition factor	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.001	0.30 ± 0.007	0.35 ± 0.01	0.38 ± 0.007
Feed efficiency	34.37 ± 1.06	34.14 ± 0.66	35.49 ± 2.55	35.26 ± 0.31	35.03 ± 1.23
Protein efficiency ratio	3.81 ± 0.11	3.79 ± 0.07	3.94 ± 0.28	3.91 ± 0.04	3.89 ± 0.14
Survival rate (%)	48.3 ± 1.56 ^{d}	62.7 ± 1.66 ^{c}	65.8 ± 1.46 ^{bc}	69.1 ± 1.87 ^{b}	76.4 ± 1.96 ^{a}

The different letters in each row indicate significant differences between different treatments at a significance level of $p<0.05$. T_1, T_2 and T_3 = replacement of 2.75%, 5.5% and 8.25% FHP; T_4 = Commercial feed

جدول ۴ شاخص‌های خونی فیل ماهی (*H. huso*) تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف پروتئین هیدرولیزشده (میانگین ± خطای استاندارد)

Table 4 Hematological indices in beluga (*H. huso*) fed with experimental diets containing graded levels of fish protein hydrolysate (mean ± SE)

Hematological indicators	Control	T_1	T_2	T_3	T_4
WBC (/mm^3)	7666.67 ± 560.89^{b}	7366.67 ± 376.31^{b}	7966.67 ± 316.93^{b}	7683.33 ± 376.31^{b}	9960 ± 560.89^{a}
RBC (/mm^3)	524833 ± 17941.4^{b}	586333.3 ± 18865.6^{a}	544833.3 ± 13712.3^{ab}	541166.7 ± 12864.4^{ab}	564000 ± 13382.2^{ab}
Hemoglobin (g/dL)	5.04 ± 0.18	5.69 ± 0.16	5.30 ± 0.16	5.28 ± 0.16	5.59 ± 0.12
Hematocrit (%)	22 ± 0.95	25.83 ± 1.08	23.33 ± 0.84	23.17 ± 0.74	24.60 ± 0.81
MCV (fl)	424.67 ± 5.42	439.50 ± 4.72	427.17 ± 4.85	427.33 ± 4.18	435.6 ± 4.37
MCH (pg/cell)	96.10 ± 1.11	97.01 ± 0.57	97.27 ± 1.09	97.42 ± 0.99	99.16 ± 1.43
MCHC (g/dL)	22.60 ± 0.19	22.05 ± 0.32	22.72 ± 0.24	22.73 ± 0.13	22.72 ± 0.37
Neutrophil (%)	14.33 ± 0.88^{c}	14.50 ± 0.42^{c}	17.17 ± 0.60^{b}	15.66 ± 0.71^{bc}	19.80 ± 1.01^{a}
Lymphocyte (%)	80.5 ± 1.17 ^{a}	81.17 ± 0.54^{a}	78 ± 1.12^{a}	79.83 ± 0.94^{a}	73.80 ± 1.31^{b}
Monocyte (%)	5 ± 0.51	4.33 ± 0.42	4.50 ± 0.56	4.33 ± 0.49	5.60 ± 0.24
Eosinophil (%)	0.16 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.33	0.16 ± 0.16	0.80 ± 0.37

The different letters in each row indicate significant differences between different treatments at a significance level of $p<0.05$. T_1, T_2 and T_3 = replacement of 2.75%, 5.5% and 8.25% FHP; T_4 = Commercial feed.

بحث

در مطالعه حاضر، درصد بازماندگی در بین گروه‌های آزمایشی، متفاوت و دارای اختلاف معنی‌دار بود، به طوری‌که درصد بازماندگی در تمامی تیمارها به‌طور معنی‌دار از گروه شاهد بیشتر بود. بیشترین میزان درصد بازماندگی در تیمار ۴ و کمترین آن در گروه شاهد بود. Taheri و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده ساردین پهلو طلایی را بر بقای بچه ماهیان قزل‌آلا بررسی، و گزارش کردند که سطح بهینه ۲۵٪، سبب افزایش بقا در آلوین‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. اما نتایج مطالعات Yeganeh و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که استفاده از پروتئین هیدرولیز شده (آبکافت شده) در جیره تاسماهی سیبری جوان اختلاف معنی‌دار در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی با تیمار شاهد ندارد. در این باره محققان تأکید دارند که حلالیت و اندازه مولکول‌های پروتئین در غذاهای دستی نقش به‌سزایی در کارآیی رشد نوزادان دارد و جایگزینی بخشی از پروتئین جیره با پروتئین هیدرولیز شده منجر به افزایش رشد، نمو، بازماندگی و کاهش ناهنجاری‌های اسکلتی و در نهایت بهبود کیفیت نوزاد در ماهیان آب شیرین و دریایی شده است (Skalli et al. 2014). همچنین، محققان عقیده دارند که مکمل پروتئین هیدرولیزشدهٔ ماهی در جیره غذایی سازوکارهای دفاعی ماهی‌ها را تقویت می‌کند (Bui et al. 2014; Siddik et al. 2018; Chaklader et al. 2021) که ممکن است دلیلی بر درصد بازماندگی بالاتر بچه فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با پروتئین هیدرولیزشده نسبت به گروه شاهد باشد.

در این پژوهش، شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، زی‌توده نهایی، تولید نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در تیمارهای مختلف واجد پروتئین هیدرولیزشده بیش از گروه شاهد بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. بیشترین وزن نهایی، زی‌توده نهایی، تولید نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در تیمار ۴ و کمترین آن‌ها در گروه شاهد مشاهده شد. اما میزان درازای نهایی، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی فاقد اختلاف معنی‌دار بود. نتایج این پژوهش با برخی از نتایج پژوهش‌های دیگر همسویی دارد. سطوح متوسط پروتئین هیدرولیزشده برای جایگزینی پودر ماهی در جیره‌های غذایی، برای عملکرد رشد ماهی مفید عمل کرده‌اند (Hevroy et al. 2005; Siddik, et al. 2018). Hevroy و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که با جایگزینی ۱۸ تا ۲۴٪ پودر ماهی با پروتئین هیدرولیزشده در جیره غذایی (معادل ۹۱ تا ۱۲۴ گرم بر کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده ماهی)، رشد بالاتری در آزادماهی آتلانتیک (*Salmo salar*) حاصل شده است. به طور مشابه، بهبود رشد در سطوح متوسط ۱۰۰ گرم در کیلوگرم در ماهی باس دریایی اروپایی (Kotzamanis et al. 2007) و ۵۱/۲ و ۱۵۴/۳ گرم در کیلوگرم در آزادماهی اطلس (Refstie et al. 2004) گزارش شد. سطوح پایین ۳۰/۵ تا ۶۱ گرم در کیلوگرم برای جایگزینی ۵ تا ۱۱٪ پودر ماهی در جیره‌های غذایی، عملکرد رشد را در ماهی باراموندی (*Lates calcarifer*) (Siddik et al. 2018)، سیم دریایی قرمز جوان (*Pagrus major*) (Bui et al. 2014) و ماهی کفشک ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) (Zheng et al. 2014) افزایش داده است. در مطالعه‌ای استفاده از پروتئین هیدرولیز شده (آبکافت شده) در جیره تاسماهی سیبری جوان به‌طور معنی‌دار باعث افزایش میزان وزن، نرخ رشد بالاتر و بهبود ضریب تبدیل غذایی نسبت به تیمار شاهد شد (Yeganeh et al. 2022). در پژوهش Javaherdoust و همکاران (۲۰۲۰)، متعاقب مصرف ۱۰ گرم پروتئین هیدرولیز شده در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان افزایش میزان وزن، نرخ رشد بالاتر و بهبود ضریب تبدیل غذایی گزارش شده است. همچنین، Zheng و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که پروتئین هیدرولیز شده در جیره ماهی تا سطح ۳/۷٪ می‌تواند باعث افزایش رشد و تغذیه کفشک ماهیان جوان ژاپنی شود. نتایج تحقیقات Mousavi Nadushan و همکاران (۲۰۱۶)، نشان داد که استفاده از جیره حاوی ۵٪ پروتئین هیدرولیز شده، شاخص‌های رشد مانند افزایش وزن، بازده پروتئینی و میزان برداشت پروتئین را افزایش و بر عملکرد رشد فیل ماهی اثر معنی‌دار در مقایسه با دیگر گروه‌های آزمایشی داشت. مصرف پروتئین هیدرولیز شده ماهی باعث مصرف و کارآیی بهتر غذا و رشد بیش‌تر در آزادماهیان (Bouchez and Azizi, 1991; Berg and Storebakken, 1996) و

نوزاد کپور معمولی (Carvalho et al. 1997) شده است و آثار مثبت آن بر رشد و افزایش قابلیت هضم غذا به واسطه عملکرد آنزیم و آزادسازی اسیدهای آمینه طی فرآیند فرآوری به اثبات رسیده است (Berg and Storebakken, 1996). همچنین، مطالعه اثر مکمل پروتئین هیدرولیزشده ماهی بر عملکرد رشد و پاسخ دستگاه ایمنی در ماهی هامور بزرگ (*Pseudosciaena crocea*) نشان داد که عملکرد رشد و ایمنی این ماهی (به‌خصوص در دوز ۱۰٪) به طور مؤثری بهبود می‌یابد (Tang et al. 2008). پروتئین هیدرولیزشده حاوی پپتیدهای زنجیره‌کوتاه است که با افزایش قابلیت هضم و خوش‌طعمی خوراک، عملکرد رشد ماهی را بهبود می‌بخشد (Siddik et al. 2018). اسیدهای آمینه نقش مهمی در یاخته یا جاندار در تولید پروتئین‌های مختلف با عملکردهای فیزیولوژیک مهم مانند انتقال اکسیژن، دی‌اکسید کربن، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های ساختاری ایفا می‌کنند (Chalamaiah et al. 2010). پروتئین هیدرولیزشده حاوی اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای مناسب، نقش مهمی در حفظ سلامت ماهی دارد (Santos et al. 2009). محققان بهبود رشد ماهی در اثر مصرف پروتئین هیدرولیز شده را به عواملی مانند افزایش قابلیت هضم پروتئین به واسطه هیدرولیز و تأثیر جذب اسیدهای آمینه آزاد شده در طی فرآیند هیدرولیز نسبت داده‌اند. پروتئین هیدرولیز شده مورد استفاده در جیره ماهی، رشد و بقا را افزایش می‌دهد، باعث بلوغ زودرس لوله گوارش می‌شود و روی جمعیت باکتریایی روده تأثیر دارد. دلیل این بهبود، تعادل اسیدهای آمینه آزاد، پپتیدها و پروتئین‌ها و تأثیر مثبت آن در هضم و جذب عنوان شده است (Espe et al. 1999). به طور عمده رشد سریع ماهیان در دوران نوزادی ناشی از افزایش و تجمع پروتئین در بافت ماهیچه است و در واقع، پروتئین‌های اصلی جیره نسبت به پروتئین‌های هیدرولیز شده با سرعت کمتری جذب می‌شوند (Skalli et al. 2014).

با وجود این، سطوح بالای پروتئین هیدرولیزشده در جیره غذایی (معمولاً بیش از ۲۰٪) منجر به کاهش عملکرد رشد در ماهی توربو (Xu et al. 2016)، ماهی کفشک ژاپنی (Zheng et al. 2014)، باس دریایی آسیایی (Siddik et al. 2018) و ماهی پومپانو (Pham et al. 2022) شده است. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که بیش از ۲۸۰ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده به رشد ضعیف و کاهش کارایی خوراک در ماهی کفشک زیتونی منجر شده است (Kim et al. 2014). کاهش رشد و کارایی خوراک همچنین در ماهی کفشک ژاپنی با جیره حاوی ۶۷ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده مشاهده شد، در حالی که این سطح آستانه در ماهی توربوت ۱۲۴ گرم در کیلوگرم بوده است (Xu et al. 2016). به طور خاص، اثرات مخرب بر رشد، کارایی خوراک و هضم در باس دریایی آسیایی جوان با جیره‌های حاوی ۴۱۵ و ۵۸۹/۵ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده ماهی تون مشاهده شده است (Siddik et al. 2018). همچنین، Oliva-Teles و همکاران (۱۹۹۹) گزارش دادند که جایگزینی بخشی از پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده ماهی، رشد و تغذیه را در ماهیان توربوت جوان (*Scaphtalmus maximus*) بهبود نداد. مقادیر زیاد پپتیدهای مولکول‌کوچک و اسیدهای آمینه آزاد در پروتئین هیدرولیزشده، منجر به اشباع مکانیسم انتقال پپتید (Ospina-Salazar et al. 2016) و عدم تعادل اسیدهای آمینه در روده ماهی می‌شود (Kolkovski and Tandler, 2000). پپتیدهای کوتاه موجود در پروتئین هیدرولیزشده به سرعت از دیواره روده عبور می‌کنند که احتمالاً باعث اشباع دستگاه گوارش می‌شوند (Ospina-Salazar et al. 2016). اسیدهای آمینه آزاد موجود در پروتئین هیدرولیزشده به‌سرعت جذب می‌شوند، اما جذب سریع مقدار زیادی اسید آمینه آزاد ممکن است به عدم تعادل اسیدهای آمینه کمک کند (Kolkovski and Tandler, 2000). همچنین، مقدار بیشتر اسیدهای آمینه آزاد ممکن است جذب اسیدهای آمینه را تغییر دهد و به افزایش اکسایش اسیدهای آمینه و کاهش جذب پروتئین غذایی منجر شود (Kolkovski and Tandler, 2000; Aragao et al. 2004).

شاخص‌های خون‌شناسی معمولاً برای ارزیابی سلامت ماهی، وضعیت تغذیه، فعالیت سوخت و سازی و پاسخ ایمنی استفاده می‌شوند (Siwicki et al. 1994; Siddik et al. 2018). بیان دقیق مقایسه داده‌های خونی بین افراد یک گونه، گونه‌های مختلف تاسماهیان و نیز بین تاسماهیان و دیگر

ماهیان امری دشوار است، زیرا خصوصیات فیزیولوژیک خون و سرم ماهیان با تغییرات محیطی، اختلاف گونه‌ای، فنون نمونه‌برداری، مرحله رشد و نمو، اندازه نمونه‌ها (Bani and Haghi, 2011)، شرایط محیطی، استرس ناشی از صید و نمونه‌برداری، رژیم غذایی، سن، جنسیت، فعالیت‌های فردی، شرایط پرورش، تراکم، اکسیژن محلول و شوری (Hoseinifar et al. 2011)، به آسانی تغییر می‌کند و روی مقدار داده‌های خون‌شناسی تأثیر می‌گذارد. همچنین، شاخص‌های خون‌شناسی در ماهیان ممکن است تحت تأثیر عوامل فیزیولوژیک مانند جنسیت، مراحل تولید مثل، سن، اندازه و سلامتی آنها تغییر کند (Luskova, 1998).

گلبول‌های سفید از نظر شکل ظاهری و عملکرد متنوع‌ترین اجزای خونی هستند که به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول گلبول‌های سفید تک هسته‌ای (لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها) و گروه دوم گلبول‌های سفید چند هسته‌ای (نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها) هستند (Shahsvani et al. 2000). تعداد گلبول‌های سفید و نسبت انواع آنها یکی از شاخص‌های مهم سلامتی و وضعیت دستگاه ایمنی در جانوران محسوب می‌شود (Shalaby et al. 2006). ایمنی یاخته‌ای در ماهیان بیشتر مربوط به لکوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) است (Magnadottir et al. 2009). بنابراین، اندازه‌گیری گلبول‌های سفید، درصد و نوع آنها در تعیین وضعیت عمومی ماهی می‌تواند کاربرد فراوانی داشته باشد (Shahsvani et al. 2000). گلبول قرمز خون یکی دیگر از عوامل فیزیولوژیک خون است که به عنوان یک شاخص مهم و رایج در تعیین سلامت و بیماری ماهیان استفاده می‌شود (Houston, 1990). نوتروفیل از گرانولوسیت‌های غالب خون ماهیان است به‌طوری که ۲۵-۲٪ کل گلبول‌های سفید را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین فعالیت نوتروفیل، انجام عمل فاگوسیتوز فعال است. (Kazemi et al. 2010).

بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های خونی در این مطالعه، اختلاف آماری معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز، درصد نوتروفیل و درصد لنفوسیت بین تیمارها با گروه شاهد مشاهده شد. در دیگر شاخص‌های خونی مانند میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) و درصد ائوزینوفیل اختلاف معنی‌دار بین هیچ یک از گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد. نتایج نشان می‌دهد که پروتئین هیدرولیز شده ماهی نه تنها اثر نامطلوبی برشاخص‌های خونی بچه فیل ماهیان مورد مطالعه نداشتند، بلکه باعث افزایش تعداد گلبول سفید، تعداد گلبول قرمز، میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت و درصد نوتروفیل این ماهیان نسبت به گروه شاهد شد، هرچند که این اختلاف در برخی از شاخص‌ها معنی‌دار نبود. نتایج مطالعات دیگر محققان روی ماهیان مختلف، در برخی موارد مطابق و در برخی موارد متفاوت از نتایج این مطالعه بوده است. مطالعات Kader و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که وجود پروتئین‌های هیدرولیز شده اثر معنی‌دار منفی بر شاخص‌های خونی ماهیان سیم دریایی قرمز نداشت. Bui و همکاران (۲۰۱۴) هیچ تفاوتی در شاخص‌های خونی بین سیم‌های دریایی قرمزی که با جیره‌های حاوی پروتئین هیدرولیزشده ماهی و ماهیانی که از جیره بدون پروتئین هیدرولیزشده تغذیه شدند، مشاهده نکردند. نتیجه مشابهی در مورد ماهی آزاد اطلس نیز مشاهده شد، به طوری که جایگزینی پروتئین هیدرولیزشده ماهی با پودر ماهی در جیره غذایی، بر سلامت ماهی آزاد اطلس تأثیری نداشت (Hevroy et al. 2005). در مطالعه بر روی گربه ماهی پابدا (*Ompok pabda*)، مشخص شد که سطوح مکمل پروتئین هیدرولیزشده ماهی در جیره غذایی تأثیر معنی‌دار بر گلبول‌های قرمز خون و تأثیر کمی بر گلبول‌های سفید خون داشت (Suma et al. 2023). در این مطالعه ماهیانی که با جیره غذایی ۲٪ پروتئین هیدرولیزشده تغذیه شدند، سطوح نوتروفیل، مونوسیت، لنفوسیت، گلبول قرمز و پلاکت به‌طور معنی‌دار بالاتر داشتند و هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC تحت تأثیر سطوح مختلف پروتئین هیدرولیزشده قرار گرفت، اما MCV و MCH تأثیر نپذیرفت. Ribeiro و همکاران (۲۰۱۷) نتایج مشابهی را منتشر کردند. برعکس، زمانی که ماهی باراموندی با مقادیر مختلف پروتئین هیدرولیزشده ماهی تون تغذیه شد، این مقادیر بر سطوح هموگلوبین و هماتوکریت تأثیری نداشت (Siddik et al. 2018). Ebrahimnezhadarabi و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که افزودن مقادیر مختلف پروتئین هیدرولیزشده

پروتئین کلزا به جیره‌های فیل‌ماهیان جوان، به ترتیب باعث افزایش و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید شد. Goosen و همکاران (۲۰۱۵) نیز اثر قابل توجهی از پروتئین هیدرولیزشده بر هماتوکریت در ماهی تیلاپیای موزامبیک (*Oreochromis mossambicus*) مشاهده نکردند. همچنین، در مطالعه روی بچه آزادماهی کوهو (*Oncorhynchus kisutch*)، هیچ تغییر معنی‌داری در هماتوکریت بین گروه‌های تغذیه شده با پودر ماهی و پروتئین هیدرولیزشده مشاهده نشد (Murray et al. 2003). برخی اختلافات مشاهده شده در نتایج مطالعات مختلف انجام شده در این زمینه ممکن است به دلیل عوامل متعددی از جمله اندازه ماهی، شرایط آزمایش و روش‌های دستکاری ماهیان باشد، زیرا این عوامل می‌توانند به شدت بر فیزیولوژی ماهی تأثیر بگذارند (Chatzifotis et al. 2010).

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، با توجه به نتایج این مطالعه، که نشان داد جایگزینی تا سطح ۸/۲۵٪ پودر ماهی با پروتئین هیدرولیز شده در جیره غذایی بچه فیل‌ماهیان، تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های خونی (شامل تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) ایجاد نکرد و رشد و بقای بچه‌ماهیان را بهبود بخشید، می‌توان نتیجه گرفت که پروتئین هیدرولیزشده را می‌توان جایگزین مناسبی برای پودر ماهی در جیره غذایی این گونه دانست.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر در قالب یک پروژه مصوب با حمایت مالی موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور (انستیو تحقیقات بین-المللی دریای خزر) انجام شد. نگارنده از کلیه مسئولین و همکارانی که در اجـرای این پروژه حمایت و پشتیبانی کرده-اند، صمیمانه قدردانی و تشکر می‌کند.

منابع

AOAC. 1990. Official Method 950.89. Horwitz, W., Latimer, G. (Eds). Official Methods of Analysis of AOAC International, 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.

Aragão, C., Conceição, L.E., Fyhn, H.J., Dinis, M.T. 2004. Estimated amino acid requirements during early ontogeny in fish with different life styles: gilthead seabream (*Sparus aurata*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Aquaculture 242: 589-605. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2004.09.015.

Bani, A., Haghi Vayghan, A. 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum)*. Ichthyological Research 58: 126-133. doi: 10.1007/s10228-010-0199-6.

Berg, G.E., Stoerebakken, T. 1996. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*) fry.

Abdul Kader, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Honda, Y., Mamauag, R.E., Laining, A. 2011. Growth, nutrient utilization, oxidative condition, and element composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed with fermented soybean meal and scallop by-product blend as fishmeal replacement. Fisheries Science 77: 119-128. doi: 10.1007/s12562-010-0312-9.

Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B.T., Albrektsen, S. 2006. 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: 305-713. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2006.07.025.

Anderson, D., Klontz, G.W. 1965. Basic hematology for the fish culturist. Annals of Northwest US Fish Culturist Conference 16: 38-41.

Aquaculture 145: 205-202. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01355-5.

Bouchez, P., Azzi, D. 1991. Biotechnology: Use of hydrolytic enzymes in preprocessing of feedstuffs. In: Nutritional strategies and Aquaculture waste. Coway, C.B., Cho, CY (Eds.). University of Guelph, Canada, 91-101.

Bronzi, P., Rosenthal, H., Gessner, J. 2011. Global sturgeon aquaculture production: an overview. Journal of Applied Ichthyology 27: 169-175. doi: 10.1111/J.1439-0426.2011.01757.X.

Bui, H.T.D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M., 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: 11-16. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2013.09.046.

Chaklader, M.R., Howieson, J., Foysal, M.J., Hanif, M.A., Abdel-Latif, H.M., Fotedar, R. 2023. Fish waste to sustainable additives: fish protein hydrolysates alleviate intestinal dysbiosis and muscle atrophy induced by poultry by-product meal in *Lates calcarifer* juvenile. Frontiers in Nutrition 10: 1145068. doi: 10.3389/fnut.2023.1145068.

Chaklader, M.R., Howieson, J., Siddik, M.A., Foysal, M.J., Fotedar, R. 2021. Supplementation of tuna hydrolysate and insect larvae improves fishmeal replacement efficacy of poultry by-product in *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) juveniles. Scientific Reports 11: 49-97. doi: 10.1038/s41598-021-84660-5.

Chalamaiah, M., Rao, G.N., Rao, D.G., Jyothirmayi, T. 2010. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. Food Chemistry 120: 652-657. doi: 10.1016/J.Foodchem.2009.10.057.

Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I., Mylonas, C.C. 2010. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles.Aquaculture 307: 65-70. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2010.07.002.

Costa, M., Costas, B., Machado, M., Teixeira, C., Fernández-Boo, S., Sá, T., Batista, S., Marques, A., Miranda, F., Valente, L.M. 2020. Anchovy and giant squid hydrolysates can enhance growth and the immune response of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed plant-protein-based diets. Aquaculture 523: 735182. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735182.

Ebrahimnezhadarabi, M.R., Changizi, R., Hoseinifard, S.M., Vatandoust, S., Ghobadi, S. 2021. Effects of canola protein hydrolysate (CPH) on growth performance, blood biochemistry, immunity, and gastrointestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. Iranian Journal of Fisheries Sciences 20: 1165-1178. doi: 10.22092/ijfs.2021.124567.

Espe, M., Sveier, H., Høgøy, I., 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.

Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J.S., Wang, H., Wang, H., Li, Y., Sun, Y. 2007. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus*: comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology 147A: 1001-1008. doi: 10.1016/J.CBPA.2007.03.006.

Gisbert, E., Nolasco, H., Solovyev, M. 2018. Towards the standardization of brush border purification and intestinal alkaline phosphatase quantification in fish with notes on other digestive enzymes.

Aquaculture 487: 102-108. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2018.01.004.

Ha, N., Jesus, G.F.A., Gonçalves, A.F.N., de Oliveira, N.S., Sugai, J.K., Pessatti, M.L., Mouriño, J.L.P., Fabregat, T.E.H.P. 2019. Sardine (*Sardinella* spp.) protein hydrolysate as growth promoter in South American catfish (*Rhamdia quelen*) feeding: Productive performance, digestive enzymes activity, morphometry and intestinal microbiology. Aquaculture 500: 99-106. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2018.10.004.

Hevrøy, E.M., Espe, M., Waagbø, R., Sandnes, K., Ruud, M., Hemre, G.I. 2005. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition 11: 301-313. doi: 10.1111/J.1365-2095.2005.00357.X.

Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Amiri, B.M., Yelghi, S., Bastami, K.D. 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. Fish Physiology and Biochemistry 37: 91-96. doi: 10.1007/s10695-010-9420-9.

Houston, A.H. 1990. Blood and Circulation. In: Methods for Fish Biology. Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.). American Fisheries Society, 786 p.

Iranian Fisheries Organization. 2021. Annual report. Ghorbanzade, R.A., Nazari, S. (Eds.). Available online: http://www.khzshilat.ir/Content/media/image/2022/12/2372_orig.pdf.

Javaherdoust, S., Yeganeh, S., 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.

Kazemi, R., Pourdehghani, M., Yousefi Jourdehi, A., Yarmohammadi, M., Nasri Tajan, M. 2010. Cardiovascular system physiology of aquatic animals and applied techniques of fish hematology. Bazorgan Publ., Rasht, Iran, 194 p (in Persian).

Kim, H.S., Jung, W.G., Myung, S.H., Cho, S.H., Kim, D.S. 2014. Substitution effects of fishmeal with tuna byproduct meal in the diet on growth, body composition, plasma chemistry and amino acid profiles of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture 431: 92-98. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2014.03.025.

Klontz, G.W. 1994. Fish hematology. In: Techniques in Fish Immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaattari, S.L., Smith, S.A. (Eds.). SOS, Poland, 303p.

Kolkovski, S., Tandler, A. 2000. The use of squid protein hydrolysate as a protein source in microdiets for gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. Aquaculture Nutrition 6: 11-15. doi: 10.1046/J.1365-2095.2000.00125.X.

Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Zambonino Infante, J., 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 147A: 205-214. doi: 10.1016/j.cbpa.2006.12.037.

Li, S., Dai, M., Qiu, H., Chen, N. 2021. Effects of fishmeal replacement with composite mixture of shrimp hydrolysate and plant proteins on growth performance, feed utilization, and target of rapamycin pathway in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. Aquaculture 533: 736185. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736185.

Luskova, V. 1998. Factors affecting hematological indices in free-living fish populations. Acta Veterinaria Brno 67:

249-255. doi: 10.2754/AVB199867040249.

Magnadottir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish and Shellfish Immunology 20: 137-151. doi: 10.1016/J.FSI.2004.09.006.

Mousavi Nadushan, R., Mohammadali Khani, S. 2016. The effects of fish protein hydrolyzate (FPH) on the efficiency of protein uptake efficiency in *Huso huso*. Journal of Animal Environment 7: 159-164 (in Persian).

Murray, A.L., Pascho, R.J., Alcorn, S.W., Fairgrieve, W.T., Shearer, K.D., Roley, D. 2003. Effects of various feed supplements containing fish protein hydrolysate or fish processing by-products on the innate immune functions of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 220: 643-653. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00426-X.

Nikoo, M., Benjakul, S., Ahmadi Gavlighi, H. 2022. Protein hydrolysates derived from aquaculture and marine byproducts through autolytic hydrolysis. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 21: 4872-4899. doi: 10.1111/1541-4337.13060.

Nikoo, M., Regenstein, J.M., Yasemi, M. 2023. Protein hydrolysates from fishery processing by-products: Production, characteristics, food applications, and challenges. Foods 12: 4470. doi: 10.3390/foods12244470.

Nirmal, N.P., Santivarangkna, C., Rajput, M.S., Benjakul, S., Maqsood, S. 2022. Valorization of fish byproducts: Sources to end-product applications of bioactive protein hydrolysate. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 21: 1803-1842. doi: 10.3390/foods12244470.

Nong, N.T.P., Hsu, J.L. 2022. Bioactive peptides: An understanding from current screening methodology. Processes 10: 1-25. doi: 10.3390/pr10061114.

North, B.P., Turnbull, J.F., Ellis, T., Porter, M.J., Migaud, H., Bron, J., Bromage, N.R. 2006. The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 255: 466-479. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2006.01.004.

Oliva-Teles, A., Cerqueira, A.L., 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.

Ospina-Salazar, G.H., Ríos-Durán, M.G., Toledo-Cuevas, E.M., Martínez-Palacios, C.A. 2016. The effects of fish hydrolysate and soy protein isolate on the growth performance, body composition and digestibility of juvenile pike silverside, *Chirostoma estor*. Animal Feed Science and Technology 220: 168-179. doi: 10.1016/J.ANIFEEDSCI.2016.08.011.

Pham, H.D., Siddik, M.A., Le, H.M., Ngo, M.V., Nguyen, M.V., Francis, D. 2022. Effects of dietary tuna viscera hydrolysate supplementation on growth, intestinal mucosal response, and resistance to *Streptococcus iniae* infection in pompano (*Trachinotus blochii*). Aquaculture Nutrition 2022: 1-14. doi: 10.1155/2022/3645868.

Qinghui, A., Kangsen, M., Chunxiao, Z., Qingyuan, D., Beiping, T., Zhiguo, L. 2004. Effect of dietary vitamin C on growth immune response of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicas*). Aquaculture 242: 489-500. doi: 10.1016/J.AQUACULTURE.2004.08.016.

Refstie, S., Olli, J.J., Standal, H. 2004. Feed intake, growth, and protein utilization 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.

Ribeiro, M.D.S., Fonseca, F.A.L.D., Queiroz, M.N.D., Affonso, E.G., Conceição, L.E.C.D., Gonçalves, L.U. 2017. Fish protein hydrolysate as an ingredient in diets for *Arapaima gigas* juveniles. Boletim do Instituto de Pesca 43: 85-92. doi: 10.20950/1678-2305.2017.85.92.

Ricker, W.E. 1979. Growth rates and models. In: Fish Physiology. Vol. XIII. Hoar, W.S. Randall, D.J., Schreck, C.B. (Eds.). Academic Press, New York, 786 p.

Ronyai, A., Ruttkay, A., Varadi, L., Peteri, A. 1990. Growth of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* B.) and that of its both hybrids with the sterlet (*Acipenser ruthenus* L.) in recycling system. Acipenser Premier Colloque International Sur l'esturgeon, Bordeaux, Cemagref 423-427.

Santos, S.D.A., Martins, V.G., Salas-Mellado, M., Prentice, C. 2011. Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes. Food and Bioprocess Technology 4: 1399-1406. doi: 10.1007/S11947-009-0301-0.

Shahsavani, D., Vosoughi, G., Khazraei Nia, P. 2000. Determine some blood indices fry sturgeon in *Acipenser stellatus* and *Acipenser persicus* in Guilan province. Pazhouhesh va Sazandegi 50: 16-18 (in Persian).

Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 12: 172-201. doi: 10.1590/S1678-91992006000200003.

Siddik, M.A.B., Howieson, J., Ilham, I., Fotedar, R. 2018. Growth, biochemical response and liver health of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*) fed fermented and non-fermented tuna hydrolysate as fishmeal protein replacement ingredients. PeerJ 6: 4870. doi: 10. 7717/peerj.4870.

Siddik, M.A., Howieson, J., Partridge, G.J., Fotedar, R., 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: 15942.

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. 1994. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology 41: 125-139. doi: 10.1016/0165-2427(94)90062-0.

Skalli, A., Zambonino-Infante, J.L., Kotzamanis, Y., Fabregat, R., Gisbert, E. 2014. Peptide molecular weight distribution of soluble protein fraction affects growth performance and quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Aquaculture Nutrition 20: 118-131. doi: 10.1111/ANU.12058.

Suma, A.Y., Nandi, S.K., Abdul Kari, Z., Goh, K.W., Wei, L.S., Tahiluddin, A.B., Seguin, P., Herault, M., Al Mamun, A., Téllez-Isaías, G., Anamul Kabir, M. 2023. Beneficial effects of graded levels of fish protein hydrolysate (FPH) on the growth performance, blood biochemistry, liver and intestinal health, economics efficiency, and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* of Pabda (*Ompok pabda*) fingerling. Fishes 8: 147. doi: 10.3390/fishes8030147.

Taheri, A., Abedian Kenari, A., Halladj, R. 2012. Goldstrip sardine (*Sardinella gibossa*) and poultry by-product protein hydrolysate effects on amino acid composition, growth and alevins survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal 20: 81-

96. doi: 10.22092/ISFJ.2017.110026. (in Persian).

Tang, H.G., Wu, T.X., Zhao, Z.Y., 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 9: 684-690. doi: 10.1631/jzus.B0820088.

Terjesen, B. F., Lee, K.-J., Zhang, Y., Failla, M., Dabrowski, K. 2006. Optimization of dipeptide–protein mixtures in experimental diet formulations for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevins. Aquaculture 254: 517-525. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2005.11.013.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Ginés, R., Sweetman, J., Izquierdo, M. 2011. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition 17: 223-233. doi: 10.1111/J.1365-2095.2009.00730.X.

Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F., Sweetman, J., Tort, L., Izquierdo, M.S. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish & Shellfish Immunology 23: 969-981. doi: 10.1016/J.FSI.2007.03.007.

Wiegertjes, G.F., Stet, R.M., Parmentier, H. K., van Muiswinkel, W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish: A comparative approach. Developmental and Comparative Immunology 20: 365-381. doi: 10.1016/S0145-305X(96)00032-8.

Wuertz, S., Lutz, I., Gessner, J., Loeschau, P., Hogans, B., Kirschbaum, F., Kloas, W. 2006. The influence of rearing density as environmental stressor on cortisol response of Shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). Journal of Applied Ichthyology 22: 269-273. doi: 10.1111/J.1439-0426.2007.00966.X.

Xu, H., Mu, Y., Zhang, Y., Li, J., Liang, M., Zheng, K., Wei, Y. 2016. Graded levels of fish protein hydrolysate in high plant diets for turbot (*Scophthalmus maximus*): effects on growth performance and lipid accumulation. Aquaculture 454:140-147. doi: 10.1016/J.Aquaculture.2015.12.006.

Yeganeh, S., Adel, M. 2022. 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*). Iranian Scientific Fisheries Journal 31: 79-94. doi: 10.22092/ISFJ.2023.128424 (in Persian).

Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J., Chang, Q. 2012. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGFI level of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture Nutrition 18: 297-303. doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00896.x.

Zheng, K., Xu, T., Qian, C., Liang, M., Wang, X. 2014. Effect of low molecular weight fish protein hydrolysate on growth performance and IGF-I expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed high plant protein diets. Aquaculture Nutrition 20: 372-380. doi: 10.1111/anu.12090.

Zheng, L., Yu, H., Wei, H., Xing, Q., Zou, Y., Zhou, Y., Peng, J. 2018. Antioxidative peptides of hydrolysate prepared from fish skin gelatin using ginger protease activate antioxidant response element-mediated gene transcription in IPEC-J2 cells. Journal of Functional Foods 51: 104-112. doi: 10.1016/j.jff.2018.08.033.