نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی

Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

ISSN: 2423-6349

دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۸۴-۷۱.

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه گنبد کاووس

# تأثیر جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده با پودر ماهی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون و سیستم ایمنی بچه فیل‌ماهی پرورشی

علی حسین‌پور زلتی[۱*]، حسین آدینه[۲]، جلیل جلیل‌پور رودکلی[۳]

[۱،۳] سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، ایران، رشت

[۲] دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس، ایران

**نوع مقاله:**
پژوهشی اصیل

**تاریخچه مقاله:**
دریافت: ۰۳/۰۱/۱۲
پذیرش: ۰۳/۰۵/۱۴

**نویسنده مسئول مکاتبه:**
علی حسین‌پور زلتی، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر، ایران، رشت.

ایمیل: ahpour.z@gmail.com

## چکیده

**در مطالعه حاضر، تأثیر جایگزینی سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده با پودر ماهی بر ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون و سیستم ایمنی بچه فیل‌ماهی به مدت ۴۸ روز بررسی شد. در این پژوهش، 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 (تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵ درصد) و تیمار ۴ کنترل مثبت (غذای تجاری) توزیع شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0.05$)، به‌طوری‌که میزان گلوکز گروه شاهد از سایر تیمارها بیشتر بود. براساس نتایج این مطالعه، بیشترین میزان پروتئین و چربی کل مربوط به تیمار ۲ بود که با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0.05$). از نظر آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($p>0.05$). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان کلسترول در بین تمام گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری نداشت ($p>0.05$). در شاخص‌های ایمنی، میزان ایمنوگلوبولین کل در تیمار ۲ به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها (به استثناء تیمار ۳) بیشتر بود ($p<0.05$). همچنین، نتایج نشان داد که در میزان لیزوزیم بین گروه شاهد با تیمارهای ۱، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$). در این شاخص، تیمار ۲ با بیشترین میزان با سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار داشت ($p<0.05$). میزان فعالیت ایمنوگلوبولین M (IgM) و کمپلمان جایگزین (ACH50) در تمامی گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار نداشت ($p>0.05$). در مجموع، با توجه به نتایج این مطالعه، جایگزینی در سطوح ۲/۷۵ تا ۵/۵ درصد پروتئین هیدرولیزشده، در بیشتر شاخص‌های بیوشیمیایی خون و ایمنی بچه فیل‌ماهیان عملکرد بهتری نسبت به گروه شاهد نشان داد.**

**واژه‌های کلیدی:** **پروتئین هیدرولیز شده، فیل‌ماهی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم، آنزیم‌های کبدی، ایمنی.**

## ۱ | مقدمه

پودر ماهی که منبع ارزشمندی از پروتئین برای ماهیان پرورشی به شمار می‌آید، به‌دلیل تقاضای روزافزون این مادهٔ غذایی با چالش کمبود عرضه، افزایش قیمت و در برخی موارد با کیفیت نامطلوب این محصول مواجه شده است (Watanabe, 2002). همچنین، افزایش تقاضای جهانی برای پودر ماهی و به‌دنبال آن، افزایش قیمت ناشی از این تقاضا، خود می‌تواند فشار بیشتری بر منابع جهانی این محصول وارد کند. بنابراین، بدیهی است که موضوعات مربوط به منابع جایگزین مقرون به‌صرفه پروتئین، موضوعاتی جذاب در زمینه تغذیه ماهی برای توسعهٔ صنعت آبزی‌پروری پایدار باشد (Hardy, 2010) و علاقه به یافتن منابع جایگزین پروتئین برای جایگزینی پودر ماهی همواره رو به افزایش بوده است (Wang *et al.*, 2006).

پروتئین هیدرولیز شده می‌تواند به‌عنوان یک جایگزین بالقوه برای پودر ماهی در جیره‌های آبزی‌پروری مورد



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

استفاده قرار گیرند. پروتئین هیدرولیزشده ماهی محصولی است که از طریق هیدرولیز آنزیمی و یا سایر روش‌ها پروتئین‌های موجود در ضایعات و دورریزهای صنعت فرآوری ماهی به دست می‌آید (Chalamaiah *et al.*, 2012). این فرآیند، پروتئین‌های طبیعی موجود در ضایعات ماهی را به پپتیدهای کوچک‌تر تجزیه می‌کند. پروتئین هیدرولیزشده ماهی حاوی مقادیر زیادی اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای با وزن مولکولی پایین است که جذب و هضم آن‌ها را در روده ماهی تسهیل می‌کند (Neklyudov *et al.*, 2000) و می‌تواند از طریق بهبود هضم، کارایی خوراک را در ماهی افزایش دهد. پروتئین هیدرولیزشده ماهی به دلیل طعم مطبوع، به عنوان یک ماده جاذب طبیعی برای ماهی عمل کرده و اشتهای آن‌ها را افزایش می‌دهد (Ospina-Salazar *et al.*, 2016; Siddik *et al.*, 2018). بخش‌های با وزن مولکولی پایین پروتئین هیدرولیزشده ماهی می‌توانند با کاهش فرایند گلوکونئوژنز، مصرف اسیدهای آمینه را در ماهی تنظیم کنند (Siddik *et al.*, 2021). کارآمدی تغذیه‌ای پروتئین هیدرولیز شده ماهی در جیره غذایی ماهیان پرورشی مورد ارزیابی قرار گرفته است. سنجش آنزیم‌های کبدی و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم همراه با بررسی فاکتورهای ایمنی مانند ایمنوگلوبولین و کمپلمان می‌تواند وضعیت سلامت ماهیان را نشان دهند (Pham *et al.*, 2020; Siddik *et al.*, 2019). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که مکمل‌سازی جیره با سطوح مناسب پروتئین هیدرولیز شده در گونه‌های مختلفی از ماهیان پرورشی از جمله باراموندی (*Lates calcarifer*) (Siddik *et al.*, 2018)، آزادماهی اطلس (*Salmo salar*) (Refstie *et al.*, 2004)، ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Khosravi *et al.*, 2015b)، باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Kotzamanis *et al.*, 2007)، فلاندر زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi *et al.* 2015b)، کروکر زرد (*Larimichthys crocea*) (Cai *et al.*, 2015)، تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus* L.) (Ovissipour *et al.*, 2014)، مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) (Masuda *et al.*, 2013) و قزل‌آلا رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Javaherdoust *et al.*, 2020) بر رشد، مصرف خوراک، جذب مواد مغذی، پاسخ ایمنی، وضعیت اکسیداتیو و مقاومت در برابر بیماری‌ها تأثیر مثبتی داشته است.

ماهیان خاویاری، به عنوان گونه‌های با ارزش بالا و زیست‌محیطی ارزشمند، به دلیل صید بی‌رویه، تخریب زیستگاه و آلودگی، با بحرانی به نام کاهش چشمگیر جمعیت در طبیعت روبرو شده‌اند (Bronzi *et al.* 2019). این معضل، توجه و تلاش مضاعفی را برای حفاظت از این گونه ارزشمند به دنبال داشته و به تبع آن، صنعت پرورش ماهیان خاویاری را رونق بخشیده است. امروزه، این صنعت نقشی حیاتی در تأمین تقاضای جهانی برای گوشت و خاویار ایفا می‌کند. با پیشرفت و گسترش روزافزون صنعت پرورش ماهیان خاویاری، که در قالب افزایش تعداد مزارع پرورش و تنوع گونه‌های پرورشی مشهود است (Bronzi *et al.*, 2019)، بهینه‌سازی روش‌های پرورش، از جمله تغذیه، به منظور تضمین پایداری و سودآوری، امری اجتناب‌ناپذیر است. یکی از عوامل کلیدی در موفقیت پرورش ماهیان خاویاری، حفظ وضعیت فیزیولوژیکی و سلامت ماهیان پرورشی است که به طور مستقیم تحت تاثیر رژیم غذایی قرار می‌گیرد. پروتئین‌های هیدرولیز شده، به دلیل قابلیت هضم بالا و پروفایل متعادل اسیدهای آمینه، به‌عنوان یک جزء امیدوارکننده در جیره غذایی ماهیان پرورشی مطرح شده‌اند که می‌توانند منجر به افزایش نرخ رشد و بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و سلامت ماهیان شوند. در این تحقیق با استفاده از سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون (گلوکز، پروتئین و چربی کل، کلسترول و آنزیم‌های کبدی) و سیستم ایمنی (فعالیت ایمنوگلوبولین کل، IgM، لیزوزیم و کمپلمان جایگزین) تاثیر جایگزینی پروتئین‌های هیدرولیز شده با پودر ماهی در جیره غذایی بر وضعیت سلامت فیل ماهیان جوان ارزیابی شد.

## ۲ | مواد و روش‌ها

### شرایط پرورش فیل ماهیان و تیماربندی

در این پژوهش، ۷۵۰ قطعه بچه فیل‌ماهی با وزن متوسط 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) به ترتیب ۲/۵۷، ۵/۵ و ۸/۲۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده به جای پودر ماهی دریافت کردند.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

گروه پنجم (تیمار ۴) نیز غذای تجاری دریافت کرد. آزمایش در ۱۵ مخزن نیم تنی و با ۵۰ بچه ماهی در هر مخزن به مدت ۴۸ روز انجام شد. آب مورد نیاز از چاه موجود در انستیتو تامین شد. دبی آب ورودی هر مخزن 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 طول شبانه روز بود. هوادهی نیز از طریق سیستم هواده کمپرسور مرکزی و با دیفیوزرهای صفحه‌ای انجام شد. 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 اکسی متر دیجیتال WTW (مدل Weilheim PH 330i ساخت آلمان) با دقت ۰/۰۱ به‌طور روزانه (۳ بار در طول روز) اندازه‌گیری شدند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش در جدول ۱۲ نشان داده شد. اختلاف معنی‌داری در میزان دما، اسیدیته، اکسیژن و میزان اشباعیت آن در طول دوره پرورش وجود نداشت ($p>0.05$).

**جدول ۱- میانگین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب در گروه‌های آزمایشی مختلف در دوره پرورش (میانگین ±خطای استاندارد)**

| شاخص‌ها / تیمارها | دو هفته اول | دو هفته دوم | دو هفته سوم |
|---|---|---|---|
| اکسیژن (mg/l) | ۶/۹۴±۰/۱۱ | ۶/۸۹±۰/۱۲ | ۶/۹۲±۰/۱۱ |
| اشباعیت اکسیژن (٪) | ۷۷/۶۳±۱/۴۱ | ۷۶/۷۰±۱/۳۶ | ۷۶/۸۹±۱/۲۶ |
| دما (°C) | ۲۰/۳۸±۰/۱۴ | ۲۰/۳۸±۰/۱۴ | ۲۰/۲۴±۰/۱۳ |
| اسیدیته آب | ۸/۲۸±۰/۰۲ | ۸/۲۵±۰/۰۳ | ۸/۲۶±۰/۰۲ |

ضایعات (امعاء و احشاء) منجمد فیل ماهی پرورشی از انستیتو تحقیقات بین المللی دریای خزر و شرکت آبزی گستران ساعی (مازندران، ساری) تهیه و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس با استفاده از یونولیت و یخ به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری (ارومیه) منتقل شدند. برای افزایش کارایی هیدرولیز و دسترسی آنزیم‌ها، ضایعات با چرخ گوشت بزرگ خرد و به کیسه‌های پلاستیکی منتقل شدند. سپس در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده (طی یک هفته) نگهداری شدند.

ضایعات با استفاده از چرخ گوشت محلی به صورت خمیری درآمدند و به روش اتولیزی (Nikoo et al., 2022) هیدرولیز شدند. ضایعات خرد شده با آب مقطر (نسبت ۱ به ۱) مخلوط و به مدت ۲ دقیقه با هموژنایزر همگن‌سازی شدند. هیدرولیز به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و pH اولیه ۷/۱ انجام شد. در طول هیدرولیز، مخلوط به طور مداوم توسط همزن مکانیکی مخلوط شد. برای متوقف کردن واکنش آنزیمی، محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از خنک شدن و فیلتراسیون اولیه با پارچه توری، محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت g ×۴۰۰۰سانتریفیوژ شد. مایع باقی‌مانده به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد.

مواد اولیه خمیری‌شده با چرخ گوشت صنعتی (Pars Esfahan, GM32, Esfahan, Iran) با مش ۲ میلی‌متر چرخ شده و رشته‌های حاصل در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. آنالیز تقریبی شامل پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام، خاکستر، ماده خشک و انرژی خالص جیره‌های آزمایشی و جیره شاهد طبق روش‌های (AOAC, 1990) اندازه‌گیری شد.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

جیره‌های مختلف با مقادیر متفاوت پودر ماهی و پروتئین هیدرولیز طبق نیازهای غذایی بچه ماهیان فرموله و ساخته شدند. پروتئین هیدرولیز در سطوح ۲/۷۵، ۵/۵ و ۸/۲۵ درصد به جای پودر ماهی جایگزین شد (جدول ۲). جیره بدون پروتئین هیدرولیز به عنوان شاهد (کنترل منفی) و جیره غذایی یکی از کارخانجات معتبر داخلی به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. به منظور بررسی رشد و محاسبه دقیق غذای مورد نیاز، هر ۱۵ روز یک‌بار زیست‌سنجی انجام شد. غذادهی بر حسب دمای آب و میانگین وزنی، ۳ تا ۴ درصد وزن بدن در سه نوبت صبح، ظهر و عصر به صورت دستی انجام شد. قبل از غذادهی، آب حوضچه‌ها سیفون می‌شد تا غذای باقی‌مانده و فضولات خارج شوند.

## خونگیری و تهیه سرم

در پایان دوره پرورش، برای ارزیابی شاخص‌های خونی و سرمی، از ۳ ماهی از هر تکرار از تمامی گروه‌های آزمایشی به طور تصادفی خونگیری شد. خونگیری با سرنگ ۵ سی‌سی از طریق ورید ساقه دمی (پشت باله مخرجی) با حداقل دستکاری و استرس انجام شد. برای خونگیری از مواد بیهوش‌کننده استفاده نشد، زیرا احتمال تأثیر بر شاخص‌های خونی وجود داشت (Torrecialls *et al.*, 2007; Torrecillas *et al.*, 2011). ۱/۵ سی‌سی از خون جمع‌آوری شده در ویال‌های اپندورف بدون هپارین برای جداسازی سرم ریخته شد. خون در ویال‌های میکروتیوب (بدون هپارین) با سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سرم با سمپلر به ویال‌های جدید منتقل و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آماده‌سازی و اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خونی در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاس‌ماهیان دریای خزر و آزمایشگاه تخصصی ویرومد (گیلان-رشت) انجام شد.

**جدول ۲- اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی برای تغذیه بچه فیل‌ماهیان (*H. huso*)**

| اجزای غذایی | شاهد (٪) | تیمار ۱ (٪) | تیمار ۲ (٪) | تیمار ۳ (٪) |
|---|---|---|---|---|
| پودر ماهی | ۵۵ | ۵۲/۲۵ | ۴۹/۵ | ۴۶/۷۵ |
| پروتئین هیدرولیز شده | ۰ | ۲/۷۵ | ۵/۵ | ۸/۲۵ |
| گلوتن گندم | ۱۳ | ۱۳ | ۱۳ | ۱۳ |
| شیر خشک | ۵ | ۵ | ۵ | ۵ |
| آرد گندم | ۶ | ۶ | ۶ | ۶ |
| کنجاله سویا | ۸ | ۸ | ۸ | ۸ |
| روغن ماهی | ۵/۵ | ۵/۵ | ۵/۵ | ۵/۵ |
| لیستین سویا | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ |
| ویتامین E | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ | ۰/۶ |
| مکمل ویتامینی | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ |
| مکمل معدنی | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ | ۰/۵ |
| لیزین | ۲ | ۲ | ۲ | ۲ |
| متیونین | ۰/۸ | ۰/۸ | ۰/۸ | ۰/۸ |
| دی کلسیم فسفات | ۰/۴ | ۰/۴ | ۰/۴ | ۰/۴ |
| بتائین | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ | ۰/۲ |
| جمع | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |

آنالیز تقریبی جیره‌های آزمایشی

| ترکیب شیمیایی (درصد) | شاهد (٪) | تیمار ۱ (٪) | تیمار ۲ (٪) | تیمار ۳ (٪) | تیمار ۴ (٪) |
|---|---|---|---|---|---|
| پروتئین خام | ۵۳/۵۴ | ۵۳/۷۹ | ۵۳/۹۱ | ۵۴/۴۸ | ۵۲/۴۶ |
| چربی خام | ۱۷/۲۹ | ۱۷/۶۵ | ۱۶/۹۳ | ۱۷/۳۶ | ۱۲/۳۵ |
| فیبر خام | ۱/۲۶ | ۱/۳۶ | ۱/۵۸ | ۱/۳۹ | ۱/۲۸ |
| خاکستر | ۸/۹۶ | ۸/۳۸ | ۸/۶۶ | ۸/۲۹ | ۱۲/۵۸ |
| ماده خشک | ۹۳/۱۲ | ۹۳/۱۶ | ۹۳/۰۶ | ۹۳/۸۷ | ۹۲/۹ |
| انرژی (کیلو کالری/کیلوگرم) | ۵۵۶۵/۳۸ | ۵۴۳۸/۷۸ | ۵۲۸۳/۵۲ | ۵۴۶۸/۶۴ | ۵۰۰۴/۰۶ |



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

سنجش پروتئین کل سرم با روش Modi- Biuret با استفاده از کیت زیست شیمی و با دستگاه اتوآنالایزر مدل (BT-1500 Biotecnica Instruments, Italy) اندازه گیری گردید (Soltani *et al*., 2010). به منظور تعیین چربی کل از روش فتومتری استفاده شد. در این روش، سرم را با اسید غلیظ جوشانده و سپس با معرف فسفووالینیک مخلوط گردید. در واکنش سولفو فسفو وانیلین، لیپیدها به رنگ صورتی در آمده که پس از آن در طول موج ۵۴۶ نانومتر با محلول استاندارد مورد مقایسه قرار گرفت. سنجش آنزیم‌های کبدی (AST, ALT و ALP) به روش نورسنجی، میزان گلوگز به روش آنزیمی- نورسنجی و میزان کلسترول به روش آنزیمی- کالریمتری و با استفاده از کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون (کرج) و دستگاه اتو آنالایزر ( BT-1500, Biotecnica Instruments, Italy) انجام پذیرفت.

فعالیت کمپلمان جایگزین (ACH50) با روش نورسنجی و همولیز سلول‌های قرمز خون خرگوش ( RaRBC; TCS Biociences. Botolph clydon, UK) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه فعالیت کمپلمان منحنی لیز ترسیم شد. حجمی از سرم که سبب ۵۰ درصد همولیز شود، فعالیت کمپلمان تعریف می‌شود و از رابطهٔ زیر به دست می‌آید.

ACH50 (U/ml) = k×0.5 × (فاکتور رقت)

در این رابطه K مقدار سرمی (برحسب میلی‌لیتر) است که باعث ۵۰ درصد همولیز می‌شود و ۰/۵ ضریب تصحیح است (Yano, 1992).

میزان ایمنو گلوبولین M (IgM) در نمونه‌های سرم به روش الایزا با استفاده از کیت Binding Site اندازه‌گیری گردید (Yeh *et al*., 2008). غلظت لیزوزیم سرم خون نیز با استفاده از روش کدورت سنجی براساس روش Ellis (1990) تعیین شد. در این روش ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococous lysodeikticus*) با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در بافر سیترات سدیم ۰/۰۲ مولار با pH برابر با ۵/۵ به ۱۵ میکرولیتر نمونه سرمی در چاهک‌های یک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای افزوده شد. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر بلافاصله به مدت ۵ دقیقه با فواصل ۳۰ ثانیه‌ای قرائت گردید.

کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-26 و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel-2010 استفاده شد. به‌منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت 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 در سطح اطمینان ۹۵٪ و پس از بررسی همگنی داده‌ها در گروه‌ها با آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد.

## ۳ | نتایج

نتایج پارامترهای بیوشیمیایی خون، در جدول ۳ نشان داده شد. براساس نتایج میزان گلوکز سرم، در بین گروه‌های آزمایشی روند کاهشی داشته است به طوری‌که تیمارهای ۳ و ۴ کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان دادند ($p<0.05$)، اما بین تیمارهای ۱ و ۲ با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0.05$). براساس نتایج به دست آمده، میزان پروتئین کل خون در تیمار ۲ با اختلاف معنی‌داری ( $p<0.05$) نسبت به سایر گروه‌ها (به استثناء تیمار ۳) بالاترین میزان را نشان داد. بر اساس نتایج این مطالعه، اختلاف معنی‌داری از نظر میزان آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز سرم خون، در گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد ($p>0.05$). در این تحقیق مشخص شد که میزان کلسترول خون، در گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌دار را نشان نداد ($p>0.05$). براساس نتایج به دست آمده، در میزان چربی کل سرم بین گروه شاهد با تیمارهای ۱، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p> 0.05$). اما تیمار ۲ با اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها بالاترین میزان چربی را داشت ( $p<0.05$).

نتایج شاخص‌های ایمنی خون در شکل ۱ نشان داده شد. مقادیر حاصل از بررسی شاخص‌های ایمنی نشان داد که از نظر میزان ایمنوگلوبولین کل بین گروه شاهد و تیمار ۱ و ۴ و بین تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p>0.05$) اما بین تیمارهای ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<0.05$) و تیمار ۲ بالاترین



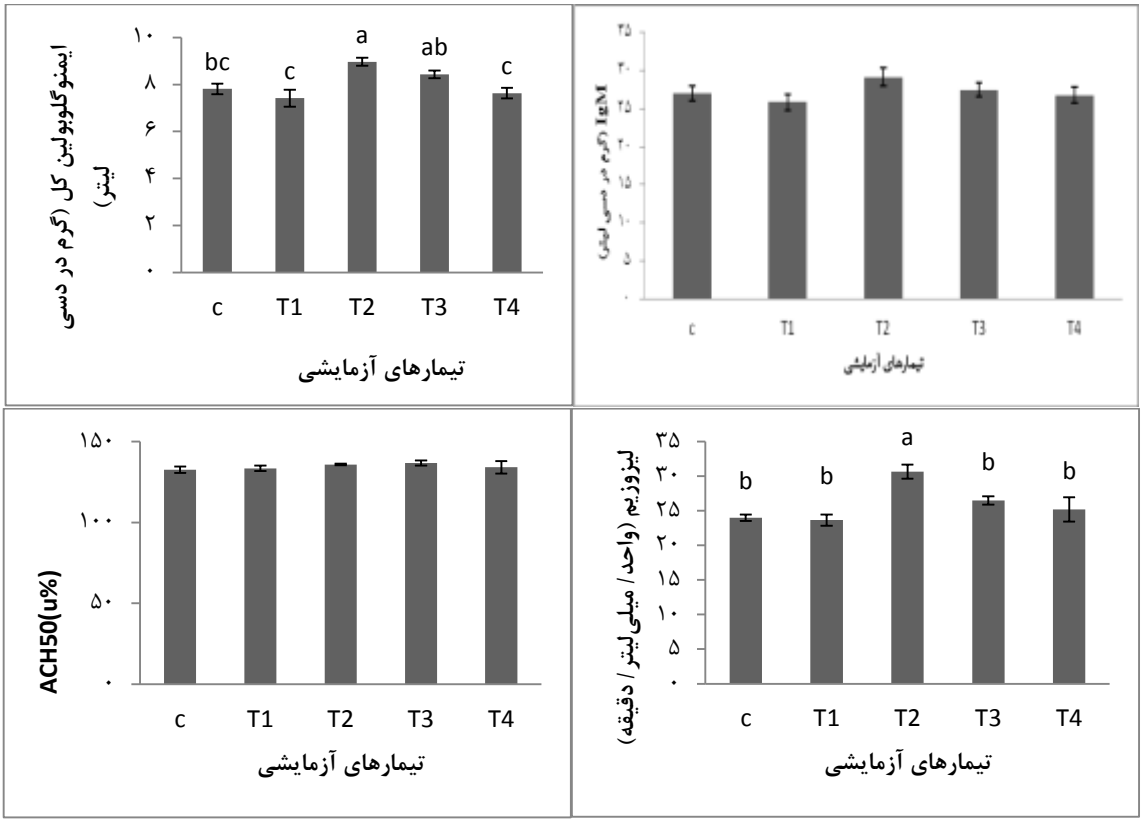
[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

میزان را نشان داد. در سطوح لیزوزیم در گروه شاهد نسبت به تیمارهای ۱، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p>0.05$) اما تیمار ۲ با اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها دارای بالاترین میزان بود ($p<0.05$). در سطوح IgM و فعالیت کمپلمان جایگزین بین گروه شاهد و تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0.05$)، با وجود این تیمار ۲ بالاترین میزان IgM را داشت.

**جدول ۳- فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم فیل ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی برای ۴۸ روز (میانگین ±خطای استاندارد)**

| | شاهد | تیمار ۱ | تیمار ۲ | تیمار ۳ | تیمار ۴ |
|---|---|---|---|---|---|
| **گلوکز (mg/dl)** | ۷۱/۳۳ ± ۳/۶۶$^{a}$ | ۶۳/۳۳ ± ۳/۲۷$^{ab}$ | ۶۵ ± ۱/۴۶$^{ab}$ | ۵۹/۵ ± ۲/۵۹$^{b}$ | ۵۹ ± ۳/۱۸$^{b}$ |
| **پروتئین کل (gr/dl)** | ۱/۱۸ ± ۰/۰۲$^{bc}$ | ۱/۰۶ ± ۰/۰۶$^{c}$ | ۱/۳۷ ± ۰/۰۳$^{a}$ | ۱/۲۵ ± ۰/۰۳$^{ab}$ | ۱/۱۱ ± ۰/۰۷$^{c}$ |
| **ALT (u/l)** | ۱۹/۳۳ ± ۱۵/۱۶ | ۱۹/۳۳ ± ۲۵/۲۷ | ۲۳ ± ۱۶/۰۷ | ۲۲/۱۶ ± ۱۳/۷۲ | ۲۰/۲۰ ± ۲۶/۲۷ |
| **AST (u/l)** | ۲۲۵/۶۷ ± ۳/۷۳ | ۲۱۶/۵۰ ± ۷/۳۹ | ۲۳۱/۶۷ ± ۴/۰۸ | ۲۳۰/۵۰ ± ۵/۰۲ | ۲۲۹ ± ۴/۴۰ |
| **ALP (u/l)** | ۳۵۹/۳۳ ± ۱۵/۱۶ | ۳۳۵/۱۷ ± ۲۵/۲۷ | ۳۵۱ ± ۱۶/۰۷ | ۳۴۷ ± ۱۳/۷۲ | ۳۷۹/۶۰ ± ۲۶/۲۶ |
| **کلسترول (mg/dl)** | ۷۲/۶۷ ± ۱/۶۷ | ۷۴/۶۷ ± ۲/۵۸ | ۸۱/۱۷ ± ۱/۸۶ | ۷۱ ± ۶/۲۹ | ۷۱/۶۰ ± ۸/۰۰۳ |
| **چربی کل** | ۳۵۰/۸۳ ± ۴۳/۷۲$^{b}$ | ۳۱۶/۳۳ ± ۶/۹۶$^{b}$ | ۴۶۸/۳۳ ± ۶/۰۱$^{a}$ | ۳۷۴ ± ۴۴/۳۷$^{b}$ | ۳۶۲/۲۰ ± ۵۱/۹۴$^{b}$ |

*اعداد (میانگین خطای± استاندارد) با حروف متفاوت در هر ردیف اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p<۰/۰۵$)




**شکل ۱- میانگین (خطای استاندارد) فراسنجه‌های ایمنی (فعالیت ایمنوگلوبولین کل، IgM، لیزوزیم و ACH50 بچه فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های آزمایشی**



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

## ۴ | بحث و نتیجه‌گیری

پروتئین هیدرولیزشده ماهی از هیدرولیز آنزیمی ضایعات ماهی تولید می‌شود که به دلیل عملکرد مطلوب و ویژگی‌های تغذیه‌ای، موردتوجه قرار گرفته است (Siddik *et al.*, 2018). شناسایی میزان مناسب پروتئین هیدرولیزشده برای استفاده در جیرهٔ غذایی، از راه بررسی آثار آن بر گونه‌های مختلف ماهی ضروری است. بنابراین، این مطالعه به ارزیابی تاثیر جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده بر ترکیبات بیوشیمیایی سرم خون و سیستم ایمنی بچه فیل ماهیان پرورشی پرداخته است.

تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی سرم، اطلاعاتی در مورد تعاملات متابولیک و فیزیولوژیکی که در یک جاندار رخ می‌دهد، ارائه می‌کند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون می‌تواند منبعی برای ارزیابی وضعیت سلامتی، تشخیص کم خونی، مسمومیت‌ها، بیماری‌ها، کمبود مواد غذایی و فیزیولوژی ماهی باشد (Yousefian *et al.*, 2011). در این بین، مقدار گلوکز خون را می‌توان به عنوان شاخصی برای بررسی استرس وارده ناشی از تغییرات فیزیولوژیک (شرایط محیطی، غذای نامناسب و مقادیر اضافه عناصر ریزمغذی، مواد معدنی، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه اضافه در جیره غذایی) مورد استفاده قرار داد (Martinez *et al.*, 1994). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان گلوکز در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری داشت و بچه فیل ماهیانی که از جیرهٔ حاوی پروتئین هیدرولیزشده تغذیه شده بودند، کاهش میزان گلوکز را نسبت به گروه شاهد نشان دادند. این نتیجه با یافته‌های مطالعه (Siddik *et al.*, 2018) مطابقت دارد که نشان داد میزان گلوکز خون در ماهی بارامونده جوان (*Lates calcarifer*) که با رژیم غذایی حاوی ۱۰ تا ۲۰ درصد پروتئین هیدرولیزشده ماهی تون تغذیه شده بودند، به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. همچنین، در ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) ، تغذیه‌شده با رژیم غذایی حاوی پروتئین هیدرولیزشده میگو و فیل ماهی تغذیه‌شده با پروتئین هیدرولیزشده کنجاله کانولا (Ebrahimnezhadarabi *et al.*, 2021)، سطح گلوکز خون به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (Khosravi *et al.*, 2015b). با این حال، در مطالعه دیگری روی ماهی سیم دریایی قرمز، با تغذیه از جیرهٔ حاوی پروتئین هیدرولیزشده ماهی، تفاوت معنی داری در سطح گلوکز خون مشاهده نشد (Bui *et al.*, 2014). همچنین، در مطالعهٔ دیگری روی ماهی پومپانو (*Trachinotus blochii*)، مشخص شد که در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پروتئین هیدرولیزشده، تغییری در سطح گلوکز خون در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نشد (Pham *et al.*, 2022). علاوه بر این، در مطالعات دیگر، بر خلاف مطالعه حاضر، استفاده از پروتئین هیدرولیزشده باعث افزایش سطح گلوکز خون گربه ماهی (*Ompok pabda*) (Suma *et al.*, 2023؛ Sezu *et al.*, 2024) و تیلاپیای نیل (Kabir *et al.*, 2024) شد. این اختلاف در نتایج را می‌توان به عوامل مختلفی از جمله منبع و سطح پروتئین هیدرولیزشده، اندازه و نوع گونه ماهی، شرایط آزمایشی و روش های نگهداری نسبت داد، زیرا می توانند به شدت بر وضعیت فیزیولوژیکی ماهی تأثیر بگذارند (Chatzifotis *et al.*, 2010; Pham *et al.*, 2022).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میزان چربی کل خون در بین گروه‌های آزمایشی روند و الگوی مشخصی نداشت، به‌طوری‌که در فیل ماهیان تیمار ۱، ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما تیمار ۲ میزان چربی کل خون به طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها بیشتر بود. در مطالعات انجام شده روی ماهی بارامونده (*Lates calcarifer*) (Chaklader *et al.* 2020)، سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Bui *et al.* 2014) و فلاندر زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi *et al.* 2015a) پروتئین هیدرولیزشده تغییر معنی‌داری در میزان تری‌گلیسرید خون نسبت به گروه شاهد ایجاد نکرد. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان کلسترول در تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. در مطابقت با نتایج مطالعه حاضر، کلسترول سرم تحت تاثیر پروتئین هیدرولیزشده در بارامونده (*Lates calcarifer*) (Chaklader *et al.* 2020)، سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Bui *et al.* 2014) و فلاندر زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi *et al.* 2015a) تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. برخلاف نتایج این مطالعات، پروتئین هیدرولیزشده توانست سطح کلسترول



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

را در تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Kabir *et al*., 2024) به‌طور معنی‌داری افزایش دهد. در تضاد با نتایج مطالعه حاضر، میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید در فیل ماهی تغذیه‌شده با پروتئین هیدرولیزشده کنجاله کانولا روند کاهشی را نشان داد (Ebrahimnezhadarabi *et al*., 2021). از آنجایی‌که کلسترول یک متابولیت ضروری برای ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای ماهیان است (Jia *et al*., 2018) و می‌تواند تحت‌تأثیر منابع پروتئینی در رژیم غذایی آنها قرار گیرد (Chaklader *et al*., 2020)، به دلیل عدم تغییر معنی‌دار کلسترول در فیل ماهیان مورد مطالعه، احتمالاً پروتئین هیدرولیزشده تأثیر منفی بر متابولیسم چربی این ماهی نداشت.

برپایه نتایج به دست آمده، بچه فیل ماهیان تیمارهای ۲ و ۳ افزایش میزان پروتئین کل سرم را نشان دادند. مطابق با این نتایج، پروتئین هیدرولیزشده پروتئین کل سرم گربه‌ماهی مولد (*Ompok pabda*) (Sezu *et al*., 2024) و باراموندی جوان (Chaklader *et al*., 2020; Chaklader *et al*., 2021) را افزایش داد. همچنین، در ماهی گیش بزرگ (*Caranx ignobilis*) استفاده از ۳۰ و ۶۰ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده ماهی و میگو باعث افزایش پروتئین کل سرم شد، اما در غلظت ۹۰ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده باعث کاهش پروتئین کل سرم گردید (Nguyen *et al*., 2023). برخلاف نتایج مطالعهٔ حاضر، میزان پروتئین کل در ماهیان پومپانو تغذیه‌شده با جیرهٔ غذایی حاوی ۱۲۰ گرم در کیلوگرم مکمل پروتئین هیدرولیزشده تون ماهی (Pham *et al*., 2022)، فلاندر زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) (Khosravi *et al*., 2015a) تغذیه‌شده با جیرهٔ حاوی ۴۴ گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیزشده ماهی و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Kabir *et al*., 2024) تغذیه‌شده با ۰/۵- ۲ درصد پروتئین هیدرولیزشده ماهی به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین، مشاهدات مطالعه حاضر با نتایج مشاهده شده در باراموندی (Siddik *et al*., 2018) و ماهی آزاد کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) (Murray *et al*. 2003) که در آن پروتئین کل سرم اختلاف معنی داری را در بین ماهیان تغذیه شده با پروتئین هیدرولیزشده نشان نداد، مطابقت ندارد. در مطالعه حاضر، محتوای بالاتر پروتئین در خون بچه فیل‌ماهیانی که با پروتئین هیدرولیز شده تغذیه شدند، می‌تواند ناشی از هضم‌پذیری پروتئین (Hevrøy *et al*., 2005; Khosravi *et al*., 2015a)، وجود زنجیره‌های پپتیدی با وزن مولکولی کم (Aksnes *et al*., 2006; Zheng *et al*., 2012) و احتمالا اسیدهای آمینه آزاد، مولکول‌های دی و تری پپتید در پروتئین هیدرلیزشده (Sezu *et al*., 2024) و تعادل اسیدهای آمینه ضروری در رژیم غذایی (Mach and Nortvedt, 2011) باشد. همچنین، سطح بالای پروتئین کل سرم می‌تواند نشان‌دهنده سیستم ایمنی ذاتی قوی‌تر باشد (Rebl and Goldammer, 2018).

آنزیم‌های کبدی سرم جهت بررسی پاسخ‌های فیزیولوژی و آسیب کبدی ماهیان استفاده می‌شود (Zheng *et al*., 2013). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آنزیم‌های کبدی خون تمام تیمارها نسبت به گروه شاهد تغییری نکرد. در مطابقت با نتایج مطالعه حاضر، در تحقیقی روی ماهی پومپانو مشخص شد که آنزیم‌های ALT و AST در بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشتند (Pham *et al*., 2022). همچنین، اختلاف معنی‌داری در AST سرم با افزودن پروتئین هیدرولیزشده ماهی به جیره سیم دریایی قرمز و باراموندی جوان مشاهده نشد (Siddik *et al*., 2019; Khosravi *et al*., 2015a; Chaklader *et al*., 2020). همچنین، فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST فیل ماهی تحت تاثیر پروتئین هیدرولیزشده کانولا قرار نگرفت (Ebrahimnezhadarabi *et al*., 2021). با این حال، ماهی کروکر زردی (*Larimichthys crocea*) که با جیره غذایی حاوی ۴۰ درصد پروتئین هیدرولیزشده تغذیه شده بود، سطوح AST بالاتری نسبت به گروه شاهد داشت (Cai *et al*., 2015). ثبات سطوح آنزیم‌های کبدی حاکی از آن است که پروتئین هیدرولیز شده توسط بچه فیل ماهیان مورد مطالعه به خوبی تحمل شد و سطوح پروتئین هیدرولیزشده ماهی در جیرهٔ غذایی آسیب کبدی در بچه فیل ماهیان مورد مطالعه ایجاد نکرد.

فعالیت لیزوزیم (فاگوسیت‌های فعال)، اجزای سیستم کمپلمان و مولکول‌های آنتی‌بادی مانند ایمنوگلوبولین‌ها به عنوان فراسنجه‌های مهم در دفاع ایمنی ماهی در نظر گرفته می‌شوند (Saurabh and Sahoo, 2008؛ Magnadottir, 2006). لیزوزیم در ماهی علیه عفونت-



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

های ویروسی، باکتریایی و انگلی عمل می‌کند و سطح بالاتری از فعالیت در خون ماهی به‌عنوان پاسخی به عفونت مشاهده می‌شود (Puangkaew, 2004). همچنین، فعالیت لیزوزیم به عنوان جزء دفاعی ضروری برای همه مهره‌داران و بی‌مهرگان وجود دارد (Song *et al*., 2006). فعالیت کمپلمان ماهی (ACH50) برای مبارزه با ارگانیسم‌های خارجی و تخریب سلول‌های خارجی، شناخته شده است (Gasque, 2004). ایمنوگلوبولین‌ها به‌عنوان یکی از پارامترهای اصلی محافظت بدن برای حیوانات و انسان‌ها، به‌ویژه برای ماهیان استخوانی در نظر گرفته می‌شوند (Ross *et al*., 1998؛ Watts *et al*., 2001؛ Cuesta *et al*., 2004). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فیل ماهیانی که از جیرهٔ حاوی ۵/۵ درصد پروتئین هیدرولیز شده تغذیه کردند، ایمنوگلوبین کل، IgM و فعالیت لیزوزیم از سایر گروه‌ها بالاتر بود. در مطابقت با تحقیق حاضر، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که جایگزینی جزئی پودر ماهی با پودر پروتئین هیدرولیز شده می‌تواند سیستم ایمنی ماهی را تقویت کند (Liang *et al*., 2006; Kotzamanis *et al*., 2007; Tang *et al*., 2008; Bui *et al*., 2014; Chaklader *et al*., 2020). در باس دریایی ژاپنی (*Lateolabrax japonicus*)، گزارش شده است که افزودن ۱۵ و ۲۵ درصد پروتئین هیدرولیزشده به رژیم غذایی، فعالیت لیزوزیم و فعالیت همولیتیک کمپلمان را به طور معنی‌داری افزایش داد (Liang *et al*., 2006). ایمنوگلوبولین M، فعالیت لیزوزیم و کمپلمان C4 در ماهیانی که با رژیم‌های حاوی ۱۰ و ۱۵ درصد پروتئین هیدرولیزشده تغذیه می‌شدند، به‌طور معنی‌داری نسبت به کروکرهای زرد بزرگ که با رژیم پایه یا رژیم حاوی ۵ درصد پروتئین هیدرولیزشده تغذیه می‌شدند، بیشتر بود (Tang et al. 2008). فعالیت افزایش‌یافته لیزوزیم در بچه ماهی بارامونده (*Lates calcarifer*) که با رژیم غذایی حاوی پودر فرآورده جانبی طیور همراه با ۱۰ درصد پروتئین هیدرولیزشده ماهی تون تغذیه شده بودند، در مقایسه با رژیم شاهد مبتنی بر پودر ماهی مشاهده شد (Siddik *et al*., 2019). در بچه ماهی سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) که با پروتئین هیدرولیزشده تغذیه شده بودند، بهبود فعالیت لیزوزیم مشاهده شد و سطح ایمنوگلوبولین در گروه‌های پروتئین هیدرولیزشده به طور معنی‌داری بالاتر بود (Bui *et al*., 2014). با این حال، در توربوت (Zheng *et al*., 2013)، تیلاپیای موزامبیک (Goosen *et al*., 2015) و سیم دریایی قرمز (Bui *et al*., 2014)، تغذیه با منابع مختلف پروتئین هیدرولیز شده تاثیری بر فعالیت لیزوزیم نداشت. عملکرد پروتئین هیدرولیزشده در جیره به عوامل مختلفی از جمله میزان و نوع سایر اقلام غذایی خوراک بستگی دارد، بطوری‌که مشخص شد میزان بالای پودرماهی در خوراک سبب پوشاندن اثر پپتیدها در جیره غذایی خواهد شد (Xu *et al*., 2016). پیشنهاد شده است که تأثیر پروتئین هیدرولیزشده بر سیستم ایمنی ماهی ممکن است به اندازه و غلظت پپتیدها وابسته باشد. پروتئین هیدرولیزشده ماهی حاوی پپتیدهای با اندازه متوسط و کوچک (طیف وزن مولکولی ۵۰۰-۳۰۰۰ دالتون) ایمنی غیر اختصاصی ماهی را تحریک می کند (Bøgwald *et al*., 1996; Gildberg *et al*., 1996; Leduc *et al*., 2018).

در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که جایگزینی پروتئین هیدرولیزشده با پودر ماهی در جیره غذایی، نه تنها تأثیر منفی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون و سیستم ایمنی فیل ماهیان جوان نداشت، بلکه در سطوح ۲/۷۵ تا ۵/۵ درصد جایگزینی پروتئین هیدرولیزشده با پودر ماهی بهبود وضعیت سلامت و ایمنی ماهیان مشاهده شد.

## ۵| ملاحظات اخلاقی

موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

## EFERENCES


Aksnes, A., Hope, B., Jönsson, E., Björnsson, B.T. and 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(1): 305-317.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC. USA.

Blander, J.M. 2017. The many ways tissue phagocytes respond to dying cells. Immunological reviews, 277(1): 158-173.




[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

applications: a review. Food chemistry, 135(4):3020-3038.

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(1-2): 65-70.

Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban MA. 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). Veterinary Immunology and Immunopathology, 101: 203–210.

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(4): 1165-1178.

Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: Techniques in Fish Immunology, vol. 1 (Eds) J.S. Stolen, T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Robertson, W.B. Van Muiswinkel, SOS Publications, Fair Haven. USA. pp:101-103.

Gasque, P., 2004. Complement: a unique innate immune sensor for danger signals. Molecular immunology, 41(11):1089-1098.

Gildberg, A., Bøgwald, J., Johansen, A., Stenberg, E. 1996. Isolation of acid peptide fractions from a fish protein hydrolysate with strong stimulatory effect on Atlantic salmon (*Salmo salar*) head kidney leucocytes. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 114(1): 97-101.

Goosen, N.J., De Wet, L.F. and Görgens, J.F. 2015. Comparison of hydrolysed proteins from different raw materials in diets for Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. Aquaculture international. 23:1165-1178.

Hardy, R.W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. Aquaculture research, 41(5):770-776.

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

Bøgwald, J., Dalmo, R.O.Y., leifson, R.M., stenberg, E., Gildberg, A. 1996. The stimulatory effect of a muscle protein hydrolysate from Atlantic cod, *Gadus morhua* L., on Atlantic salmon, Salmo salarL. head kidney leucocytes. Fish & Shellfish Immunology, 6(1): 3-16.

Bui, H.T.D., Khosravi, S., Fournier, V., Herault, M. and Lee, K.J., 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. Aquaculture, 418:11-16.

Bronzi, P., Chebanov, M., Michaels, J.T., Wei, Q., Rosenthal, H. and Gessner, J., 2019. Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017. Journal of Applied Ichthyology, 35(1):257-266.

Cai, Z., Li, W., Mai, K., Xu, W., Zhang, Y., Ai, Q., 2015. Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. Aquaculture, 440: 40-47.

Chaklader, M.R., Fotedar, R., Howieson, J., Siddik, M.A., Foysal, M.J. 2020. The ameliorative effects of various fish protein hydrolysates in poultry by-product meal based diets on muscle quality, serum biochemistry and immunity in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Fish & Shellfish Immunology, 104: 567-578.

Chaklader, M.R., Fotedar, R., Howieson, J., Siddik, M.A., Foysal, M.J. 2020. The ameliorative effects of various fish protein hydrolysates in poultry by-product meal based diets on muscle quality, serum biochemistry and immunity in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Fish & Shellfish Immunology, 104: 567-578.

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(1): 4997.

Chalamaiah, M., Hemalatha, R., Jyothirmayi, T. 2012. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

Lefevre-Scelles, A., Fournier, V., Gisbert, E., Andree, K.B., Henry, J. 2018. Dietary aquaculture by-product hydrolysates: impact on the transcriptomic response of the intestinal mucosa of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed low fish meal diets. BMC genomics. 19:1-20.

Liang, M., Wang, J., Chang, Q., Mai, K. 2006. Effects of different levels of fish protein hydrolysate in the diet on the nonspecific immunity of Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvieret Valenciennes, 1828). Aquaculture Research. 37(1):102-106.

Mach, D.T.N. and Nortvedt, R., 2011. Free amino acid distribution in plasma and liver of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) fed increased levels of lizardfish silage. Aquaculture Nutrition. 17(2): 644-656.

Magnadóttir, B. 2006. Innate immunity of fish (overview). Fish & shellfish immunology. 20(2): 137-151.

Martinez, F.J., Garcia-Riera, M.P., Ganteras, M., De Costa, J., Zamora, S. 1994. Blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Simultaneous influence of various factors. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. 107(1): 95-100.

Masuda, Y., Jinbo, T., Imaizumi, H., Furuita, H., Matsunari, H., Murashita, K., Fujimoto, H., Nagao, J. and Kawakami, Y., 2013. A step forward in development of fish protein hydrolysate-based diets for larvae of Japanese eel *Anguilla japonica*. Fisheries science. 79: 681-688.

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(1-4): 643-653.

Neklyudov, A.D., Ivankin, A.N., Berdutina, A.V. 2000. Properties and uses of protein hydrolysates. Applied Biochemistry and Microbiology. 36: 452-459.

Nguyen, M.C., Fotedar, R., Pham, H.D. 2024. Effects of dietary hydrolysate supplementation on growth, body composition, hematological responses, and liver histology of juvenile giant trevally (*Caranx* protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture nutrition. 11(4):301-313.

Javaherdoust, S., Yeganeh, S. and Amirkolaie, A.K. 2020. Effects of dietary visceral protein hydrolysate of rainbow trout on growth performance, carcass composition, digestibility and antioxidant enzyme in juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture nutrition. 26: 134-144.

Jia, Y., Gao, Y., Chen, X., Huang, B. 2018. Determination of optimal fasting time before blood sampling to get baseline data on serum biochemical characteristics in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture. 487: 83-88.

Kabir, M.A., Nandi, S.K., Suma, A.Y., Abdul Kari, Z., Mohamad Sukri, S.A., Wei, L.S., Al Mamun, A., Seguin, P., Herault, M., Khoo, M.I., Téllez-Isaías, G. 2024. The Potential of Fish Protein Hydrolysate Supplementation in Nile Tilapia Diets: Effects on Growth and Health Performance, Disease Resistance, and Farm Economic Analysis. Applied Biochemistry and Biotechnology. 1-23.

Khosravi, S., Bui, H.T.D., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Kim, S.S., Jeong, J.B., Lee, K.J. 2015a. Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture. 435: 371-376.

Khosravi, S., Rahimnejad, S., Herault, M., Fournier, V., Lee, C.R., Bui, H.T.D., Jeong, J.B., Lee, K.J., 2015b. Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major*. Fish & shellfish immunology. 45(2): 858-868.

Kotzamanis, Y.P., Gisbert, E., Gatesoupe, F.J., Infante, J.Z., Cahu, C. 2007. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to Vibrio anguillarum in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 147(1): 205-214.

Leduc, A., Zatylny-Gaudin, C., Robert, M., Corre, E., Corguille, G.L., Castel, H.,



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

Ross, D.A., Wilson, M.R., Miller, N.W., Clem, L.W., Warr, G.W., Ross, D.A., Wilson, M.R., Miller, N.W., Clem, L.W., Warr, G.W. 1998. Evolutionary variation of immunoglobulin μ heavy chain RNA processing pathways: origins, effects, and implications. Immunological reviews. 166(1): 143-151.

Saurabh, S., Sahoo, P.K. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture research. 39(3): 223-239.

Sezu, N.H., Nandi, S.K., Suma, A.Y., Kari, Z.A., Wei, L.S., Seguin, P., Herault, M., Hossain, M.S., Khoo, M.I., Eissa, E.S.H., Kabir, M.A. 2024. Ameliorative Effects of Different Dietary Levels of Fish Protein Hydrolysate (FPH) on Growth and Reproductive Performance, Feed Stability, Tissues Biochemical Composition, Haematobiochemical Profile, Liver Histology, and Economic Analysis of Pabda (*Ompok pabda*) Broodstock. Aquaculture Research. 2024: 1- 15.

Siddik, M.A., Howieson, J., Fotedar, R. 2019. Beneficial effects of tuna hydrolysate in poultry by-product meal diets on growth, immune response, intestinal health and disease resistance to Vibrio harveyi in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Fish & shellfish immunology. 89: 61-70.

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(1): 15942.

Soltani, M., Sheikhzadeh, N., Ebrahimzadeh-Mousavi, H.A. and Zargar, A. 2010. Effects of Zataria multiflora essential oil on innate immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries and Aquatic Science. 5(4):191-199.

Song, Z.F., Wu, T.X., Cai, L.S., Zhang, L.J., Zheng, X.D. 2006. Effects of dietary supplementation with Clostridium butyricum on the growth performance and humoral immune response in Miichthys miiuy. Journal of Zhejiang University Science B. 7: 596-602.

Suma, A.Y., Nandi, S.K., Abdul Kari, Z., Goh, K.W., Wei, L.S., Tahiluddin, A.B., Seguin, *ignobilis* Forsskal, 1775). Journal of Fish Biology. 104(1): 216-226.

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(6): 4872-4899.

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.

Ovissipour, M., Abedian Kenari, A., Nazari, R., Motamedzadegan, A., Rasco, B., 2014. Tuna viscera protein hydrolysate: nutritive and disease resistance properties for Persian sturgeon (*Acipenser persicus* L.) larvae. Aquaculture Research. 45(4): 591-601.

Peres, H., Santos, S., Oliva-Teles, A. 2014. Blood chemistry profile as indicator of nutritional status in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Fish Physiology and Biochemistry. 40: 1339-1347.

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.

Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T. 2004. Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish & shellfish immunology, 16(1): 25-39.

Rebl, A., Goldammer, T. 2018. Under control: The innate immunity of fish from the inhibitors' perspective. Fish & shellfish immunology, 77: 328-349.

Refstie, S., Olli, J.J., Standal, H. 2004. Feed intake, growth, and protein utilisation by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. Aquaculture. 239(1-4): 331-349.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

Watts, M., Munday, B.L., Burke, C.M. 2001. Isolation and partial characterisation of immunoglobulin from southern bluefin tuna Thunnus maccoyii Castelnau. Fish & shellfish immunology. 11(6): 491-503.

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.

Yano T. 1996. Non-specific immune system: humoral defense. In: The Fish Immune System. Iwama G. and Nakanishi T. (eds). Academic Press. 106–159.

Yeh, S.P., Chang, C.A., Chang, C.Y., Liu, C.H., Cheng, W. 2008. Dietary sodium alginate administration affects fingerling growth and resistance to *Streptococcus* sp. and iridovirus, and juvenile non-specific immune responses of the orange-spotted grouper, Epinephelus coioides. Fish & shellfish immunology. 25(1-2): 19-27.

Yousefian M., Sheikholeslami Amiri M., Kor, D. 2011. Serum Biochemical Parameter of Male, Immature and Female Persian Sturgeon (*Acipencer Persicus*). Fisheries Journal, Islamic Azad University, Azadshahr Branch, 6(4): 9-14. (In Persian).

Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J., Chang, Q. 2012. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture Nutrition, 18(3): 297-303.

Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J. and Chang, Q. 2013. Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture Research, 44(6): 895-902.

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(3): 147.

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 B. 9(9): 684-690.

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(2):223-233.

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(5): 969-981.

Wang, Y., Kong, L.J., Li, C., Bureau, D.P. 2006. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*). Aquaculture, 261(4):1307-1313.

Watanabe, T.A.K.E.S.H.I. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. Fisheries Science, 68(2): 242-252.

**نحوه استناد به‌مقاله:**

حسین‌پور زلتی ع.، آدینه ح.، جلیل‌پور رودکلی ج. ایمنی تملی ا. تأثیر جایگزینی پروتئین هیدرولیز شده با پودر ماهی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون و سیستم ایمنی بچه فیل‌ماهی پرورشی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی‌دانشگاه گنبدکاووس. ۱۴۰۳. ۱۲(۱): ۸۴-۷۱.

Hosseinpour Zelaty A., Adineh H., Jalilpour Rodkali J. Effects of replacing fishmeal with hydrolyzed protein on blood serum biochemical parameters and immune system of cultured beluga (*Huso huso*) fry. Journal of Applied Ichthyological Research, University of Gonbad Kavous. 2024, 12(1): 71-84.



[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]

**Journal of Applied Ichthyological Research Vol. 12, No 1, 71-84**
Print ISSN: 2423-6349
Journal homepage: http://jair.gonbad.ac.ir

# Effects of replacing fishmeal with hydrolyzed protein on blood serum biochemical parameters and immune system of cultured beluga (*Huso huso*) fry

**Hosseinpour Zelaty A[1*]., Adineh H[2]., Jalilpour Rodkali J[3].**
[1, 3] International Caspian Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Rasht, Iran.
[2] Associate Professor of Fisheries Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Gonbad Kavos, Iran.

**Type:**
Original Research Paper

**Paper History:**

Received: 31-03-2024
Accepted: 04-08- 2024

**Corresponding author:**

Hosseinpour zelaty A. International Caspian Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Rasht, Iran.

**Email:** ahpour.z@gmail.com

## Abstract

The study investigated the effects of substituting fishmeal with different levels of hydrolyzed protein on the serum biochemical composition and immune system of beluga (*Huso huso*) fry over a 48-day period. A total of 750 fish were randomly assigned to five groups: a control group (no hydrolyzed protein), three groups with varying levels of hydrolyzed protein (2.75%, 5.5%, and 8.25%), and a positive control group (commercial feed). The study found significant differences in glucose levels among the groups, with the control group having the highest glucose level. Treatment 2 had the highest total protein and lipid levels, which significantly differed from the other groups. Liver enzyme levels (ALT, AST and ALP) did not vary significantly among the groups. There were no significant differences in cholesterol levels. Regarding immune factors, treatment 2 exhibited significantly higher total immunoglobulin levels compared to all other groups except for treatment 3. Lysozyme levels did not differ significantly between the control group and treatments 1, 3, and 4; however, treatment 2 displayed the highest level. IgM and ACH50 activity did not differ significantly across all groups. In conclusion, replacing fishmeal with hydrolyzed protein at a concentration of 2.75% to 5.5% improved performance in blood biochemical and immune parameters of beluga fry when compared to the control group.

**Keywords**: Hydrolyzed protein, Beluga, Serum biochemical parameters, Liver enzymes, Immunity

[ Downloaded from jair.gonbad.ac.ir on 2025-08-31 ]