

## "مقاله پژوهشی"

تأثیر آنزیم پروتئاز در جیره غذایی بر عملکرد رشد و ترکیبات شیمیایی بدن بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758)منصوره کاکاوند<sup>۱</sup>، سید پژمان حسینی شکرابی<sup>۲\*</sup>، مهدی شمسانی مهرجان<sup>۱</sup>، هومن رجبی اسلامی<sup>۱</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
 ۲- مرکز تحقیقات ملی آبریان آب‌های شور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بافق، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۴

## چکیده

در پژوهش حاضر تأثیر افزودن آنزیم پروتئاز به جیره تجاری بچه ماهیان استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در غلظت‌های ۰ (گروه شاهد)، ۷۵ میلی‌گرم (تیمار T<sub>1</sub>)، ۱۵۰ میلی‌گرم (تیمار T<sub>2</sub>) و ۳۰۰ میلی‌گرم (تیمار T<sub>3</sub>) در هر کیلوگرم جیره بر پارامترهای رشد و ترکیبات شیمیایی بدن طی یک دوره پرورش ۷۰ روزه بررسی شد. برای این منظور پس از طی دوران سازگاری، تعداد ۱۸۰ عدد بچه ماهی استرلیاد با میانگین وزنی ۱۴/۸۶±۰/۱۴ گرم درون ۱۲ مخزن فایبرگلاس با تراکم ۱۵ عدد بچه ماهی به طور تصادفی تقسیم شدند. در پایان آزمایش، شاخص‌های رشد تفاوت‌های آماری معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی نشان دادند ( $p < 0/05$ ). بیشترین وزن نهایی (۳۳/۰±) و ۶۶/۴۵ (گرم)، افزایش وزن (۵۹/۴۴±۰/۵۲) (گرم)، نرخ رشد ویژه (۱/۳۹±۰/۰۲) درصد در روز، نرخ کارایی پروتئین (۲/۴۳±۰/۱۱) و کمترین ضریب تبدیل غذایی (۸۴/۰±۰/۰۴) در تیمار T<sub>3</sub> اندازه‌گیری شد. در حالی که بیشترین میزان فاکتور وضعیت (۲/۳۴±۰/۰۸) درصد در تیمار T<sub>2</sub> مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). آنالیز ترکیبات شیمیایی بدن افزایش معنی‌داری بین تمامی شاخص‌های مورد بررسی در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد نشان داد ( $p < 0/05$ ). بیشترین ماده خشک (۲۶/۵۴±۰/۰۶) درصد و پروتئین خام (۱۵/۲۷±۰/۰۲) درصد در تیمار T<sub>3</sub> اندازه‌گیری شد. بیشترین چربی خام (۸/۰۷±۰/۰۵) درصد در تیمار T<sub>1</sub> بود. بیشترین خاکستر (۲/۲۷±۰/۰۲) درصد نیز در تیمار T<sub>2</sub> مشاهده شد. براساس نتایج به دست آمده آنزیم پروتئاز در غلظت‌های ۷۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم تأثیر مثبتی بر رشد و ترکیبات شیمیایی بدن بچه ماهیان استرلیاد داشت.

**کلمات کلیدی:** پروتئاز، ترکیبات لاشه، عملکرد رشد، ماهی استرلیاد

## مقدمه

افزودنی‌های غذایی برای یک هدف خاص مانند بهبود کیفیت ماهی، حفظ کیفیت فیزیکی و شیمیایی جیره و حفظ کیفیت آب مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bai et al., 2015). افزایش قیمت و کمبود عرضه آرد ماهی به شدت توسعه آبی پروری را با محدودیت مواجه کرده است. برای کاهش وابستگی به آرد ماهی در جیره آبزیان، مطالعات زیادی روی منابع پروتئین جایگزین، از جمله پروتئین‌های حیوانی، پروتئین‌های گیاهی و پروتئین‌های تک سلولی انجام شده است (Shi et al., 2016; Dokdok et al., 2020; Fuertes et al., 2013; Chowdhury et al., 2015; Zhou et al., 2011; Silva-Carrillo et al., 2012). آنزیم‌های برون‌زا یکی از منابع پروتئینی ایمن و پایدار هستند که وابستگی به منابع جانوری و گیاهی را در تغذیه دام، طیور و آبزیان کاهش می‌دهند (Ferraretto et al., 2018).

مکمل‌سازی جیره‌های غذایی با انواع مختلف آنزیم‌های برون‌زا<sup>۲</sup> از جمله فیتاز، کربوهیدراز، لیپاز و پروتئاز می‌تواند باعث کاهش اثرات منفی عوامل ضدتغذیه‌ای و افزایش قابلیت هضم و جذب مواد مغذی، استفاده بهتر از انرژی جیره و اسیدهای آمینه، سلامت روده و ارتقای عملکرد رشد گردد (Ebru and Cengiz, 2016).

استفاده از پروتئاز در جیره می‌تواند کمبود آنزیم‌های درون‌زا به ویژه برای ماهیان جوان را جبران کرده و تجزیه پروتئین‌های ماکرومولکولی که هضم آنها دشوار است، تسهیل نماید (Arsenault et al., 2017). در مطالعات مختلفی تاثیر استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهیان از جمله قزل‌آلای

رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Dalsgaard et al., 2014)، هیبرید تیلایپا (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) (Li et al., 2016)، تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Saleh et al., 2021)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Leng et al., 2008)، آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) (Carter et al., 1994) و گلدفیش (*Carassius auratus gibelio*) (Shi et al., 2016) گزارش شده است.

ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) کوچک‌ترین گونه در بین ماهیان خاویاری شناخته می‌شود که بیشتر عمر خود را در آب‌های شیرین به سر برده و به ندرت به آب‌های شور مهاجرت می‌کند (Lee et al., 2012). به دلیل مقاومت بالا در برابر تغییرات زیست محیطی، سازگاری با دماهای پایین، پذیرش طیف وسیعی از مواد غذایی و قابلیت رشد سریع پرورش این گونه همواره مورد توجه می‌باشد (Hochleithner and Gessner, 1999). با این حال قیمت بالای غذای طبیعی (به خصوص کرم توبیفکس<sup>۳</sup> تا زمانی که لاروها به اندازه ۵ سانتی‌متری برسند) و مرگ و میر هنگام تغییر جیره باعث ایجاد محدودیت‌هایی در پرورش ماهی استرلیاد شده است (Mocanu et al., 2022).

در شرایط پرورشی، نیازهای غذایی به پروتئین (Stuart & Hung, 1989)، چربی (Şener et al., 2005)، کربوهیدرات (Stuart & Hung, 1989) و عناصر کمیاب (Xu et al., 2011) در گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری بررسی شده است. درحالی‌که، اطلاعات محدودی در مورد نیازهای غذایی این ماهیان به آنزیم‌های برون‌زا از جمله پروتئاز در جیره غذایی

<sup>3</sup> Tubifex

<sup>2</sup> Exogenous enzyme

شدند. تراکم بچه ماهیان در هر مخزن ۱۵ عدد بود. دوره‌ی نوری آزمایش ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در نظر گرفته شد. ۲۵ درصد حجم آب هر مخزن به صورت روزانه از طریق سیفون کردن تعویض شد. جهت هوادهی و تامین نیاز اکسیژنی بچه ماهیان به هر مخزن یک عدد سنگ هوای متصل به منبع هواده نصب شد. تغذیه بچه ماهیان روزانه ۴ درصد وزن بدن بر اساس درجه حرارت آب و وزن بدن در ۳ نوبت (ساعات ۷:۰۰، ۱۲:۰۰ و ۱۷:۰۰) به صورت دستی انجام شد (Saleh *et al.*, 2022).

#### اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی آب

شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی آب هر دو هفته روز یکبار توسط دستگاه مولتی پارامترسنج Hanna (مدل HI2550، ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد. دمای آب قبل از هر وعده غذایی توسط دماسنج جیوه-ای با دقت ۰/۱ درجه اندازه‌گیری شد. نیتروژن آمونیاکی کل ( $\text{TAN}^6$ )، نیتريت ( $\text{NO}_2$ ) و نترات ( $\text{NO}_3$ ) نیز هر دو هفته مطابق با روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (Rice *et al.*, 2012). میانگین نتایج به دست آمده در جدول ۲ ارائه شده است.

#### جیره‌های آزمایشی

در پژوهش حاضر چهار جیره آزمایشی استفاده شد که به ترتیب شامل ۱- گروه شاهد: جیره بدون هر گونه ماده افزودنی، ۲- تیمار T1: جیره حاوی ۷۵ میلی‌گرم آنزیم پروتئاز در هر کیلوگرم غذا، ۳- تیمار T2: جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم آنزیم پروتئاز در هر کیلوگرم غذا و ۴- تیمار T3: جیره حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم آنزیم پروتئاز در هر کیلوگرم غذا (Leng *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2015).

وجود دارد. در یکی از این مطالعات استفاده از مولتی آنزیم کمین<sup>۴</sup> باعث بهبود عملکرد رشد و کارایی تغذیه در بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی شد (Ghomi *et al.*, 2012). Wiszniewski و همکاران (۲۰۲۲) نیز با به کارگیری ۲۰-۱۰ گرم آنزیم پاپاین<sup>۵</sup> در جیره غذایی شاهد بهبود عملکرد رشد و ارتقای ایمنی بچه ماهیان استرلیاد بودند. به دلیل نبود اطلاعات کافی در پژوهش حاضر به بررسی تاثیر سطوح مختلف آنزیم پروتئاز در جیره غذایی بر عملکرد رشد و ترکیبات شیمیایی بدن بچه ماهیان استرلیاد پرداخته شد.

#### مواد و روش‌ها

##### طراحی آزمایش

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی در یک مزرعه خصوصی (کرج، ایران) به مدت ۷۰ روز انجام شد. برای انجام آزمایش تعداد ۲۰۰ عدد بچه ماهی استرلیاد (*A. ruthenus*) با میانگین وزنی  $0.34 \pm 0.02$  گرم از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان شهید بهشتی (گیلان، ایران) تهیه شدند. سپس توسط کیسه-های پلاستیکی دو لایه به محل انجام آزمایش منتقل شدند. سازگاری بچه ماهیان با شرایط جدید به مدت دو هفته انجام شد. در طول دوره سازگاری بچه ماهیان با جیره تجاری مخصوص ماهیان خاویاری (EX-A S) کیمیاگران، ایران) غذادهی شدند. ترکیب جیره غذایی مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. پس از طی دوران سازگاری تعداد ۱۸۰ عدد بچه ماهیان استرلیاد با میانگین وزنی  $0.14 \pm 0.06$  گرم به طور تصادفی در ۱۲ مخرن فایبرگلاس با ظرفیت ۴۰۰ لیتر به طور تقسیم

<sup>4</sup> Kemin

<sup>5</sup> Papain

<sup>6</sup> Total Ammonia Nitrogen

جدول ۱: ترکیب شیمیایی غذای مورد استفاده برای تغذیه بچه ماهیان استرلیاد (*A. ruthenus*)

ترکیب شیمیایی	رطوبت	پروتئین خام	چربی خام	فیبر خام	خاکستر	فسفر
میزان (% وزن خشک)	۱۱	۵۴	۱۴	۳	۱۱	۲

جدول ۲: میانگین پارامترهای فیزیوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش

دما (°C)	شوری (میلی گرم بر لیتر)	اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر)	هدایت الکتریکی (میکروزیمنس بر ثانیه)
۲۲/۳۰ ± ۰/۵۸	۲۳/۷۳ ± ۰/۱۹	۷/۸۳ ± ۰/۱۴	۷۶۳/۱۴ ± ۵۷/۱۹
نیترات (میلی گرم بر لیتر)	نیتريت (میلی گرم بر لیتر)	نیترژن آمونیاکی کل (میلی گرم بر لیتر)	اسیدیته
۰/۰۲ ± ۰/۰۰۱	۰/۵۴ ± ۰/۱۷	۰/۱۵ ± ۰/۰۳	۷/۸۲ ± ۰/۰۵

### ارزیابی شاخص‌های رشد و تغذیه

عملکرد رشد و کارایی تغذیه بچه ماهیان از طریق معادلات زیر محاسبه شد (Jarmołowicz *et al.*, 2012).

میانگین وزن ابتدای دوره - میانگین وزن انتهای دوره = افزایش وزن (زمان / لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم) × ۱۰۰ = نرخ رشد ویژه  
 افزایش وزن بدن / مقدار غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی  
 مقدار مصرف پروتئین / افزایش وزن بدن = نسبت کارایی پروتئین  
 ((میانگین طول انتهای دوره) / میانگین وزن انتهای دوره) × ۱۰۰ = فاکتور وضعیت  
 درصد بقاء = (تعداد اولیه ماهیان / (تعداد تلفات - تعداد اولیه ماهیان)) × ۱۰۰

۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، پروتئین خام به روش کجلدال<sup>۷</sup>، چربی خام به روش سوکسله<sup>۸</sup>، و خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت انجام شد (AOAC, 2000).

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام شد. از آزمون چند دامنه ای دانکن نیز برای مقایسه میانگین بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

### نتایج

براساس نتایج به دست آمده در جدول ۳ آنزیم پروتئاز تاثیر معنی‌داری بر عملکرد رشد و کارایی تغذیه بچه ماهیان استرلیاد داشت ( $p < 0/05$ ). بیشترین وزن نهایی (۶۶/۴۵ ± ۰/۳۳ گرم)، افزایش وزن (۵۹/۴۴ ± ۰/۵۲)

### آنالیز ترکیبات شیمیایی لاشه

به منظور تعیین ترکیبات شیمیایی بدن در پایان دوره‌ی آزمایش تعداد ۳ عدد بچه ماهی از هر تکرار (مجموعاً ۳۶ عدد بچه ماهی) به طور تصادفی صید شد. پس از تخلیه محتویات شکم و خارج کردن امعاء و احشاء بچه ماهیان درون کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه اندازه‌گیری رطوبت با استفاده از دستگاه آون در دمای

<sup>7</sup> Kjeldahl

<sup>8</sup> Soxhlet

بیشترین فاکتور وضعیت ( $2/47 \pm 0/13$  درصد) نیز در تیمار T<sub>2</sub> ثبت شد که به شکل معیاداری بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ).

گرم)، نرخ رشد ویژه ( $1/39 \pm 0/02$  درصد در روز)، و نرخ کارایی پروتئین ( $2/43 \pm 0/11$ ) در تیمار T<sub>3</sub> اندازه-گیری شد ( $p < 0/05$ ). کمترین ضریب تبدیل غذایی ( $0/0 \pm 84/04$ ) نیز در تیمار T<sub>3</sub> مشاهده شد ( $p < 0/05$ ).

جدول ۳: مقایسه پارامترهای رشد و کارایی تغذیه بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف آنزیم پروتئاز

شاخص	تیمار	گروه شاهد	T1	T2	T3
وزن اولیه (گرم)		$6/94 \pm 0/07^a$	$6/77 \pm 0/04^a$	$6/86 \pm 0/06^a$	$7/01 \pm 0/19^a$
وزن نهایی (گرم)		$46/50 \pm 2/04^d$	$50/32 \pm 1/18^c$	$61/77 \pm 0/43^b$	$66/45 \pm 0/33^a$
افزایش وزن (گرم)		$39/56 \pm 2/11^d$	$43/54 \pm 1/13^c$	$54/91 \pm 0/49^b$	$59/44 \pm 0/52^a$
نرخ رشد ویژه (%/day)		$1/17 \pm 0/03^d$	$1/24 \pm 0/01^c$	$1/36 \pm 0/01^b$	$1/39 \pm 0/02^a$
ضریب تبدیل غذایی		$1/20 \pm 0/08^a$	$0/91 \pm 0/03^b$	$0/88 \pm 0/03^b$	$0/84 \pm 0/04^b$
نرخ کارایی پروتئین		$1/78 \pm 0/13^b$	$2/23 \pm 0/09^a$	$2/30 \pm 0/08^a$	$2/43 \pm 0/11^a$
فاکتور وضعیت (%)		$0/75 \pm 0/09^c$	$1/28 \pm 0/08^b$	$2/47 \pm 0/12^a$	$2/34 \pm 0/08^a$
درصد بقا (%)		$100 \pm 0/00$	$100 \pm 0/00$	$100 \pm 0/00$	$100 \pm 0/00$

\* حروف انگلیسی روی داده‌های هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

شد ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان چربی خام ( $8/20 \pm 0/03$  درصد) در تیمار T<sub>1</sub> مشاهده شد ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان خاکستر ( $2/27 \pm 0/03$ ) نیز در تیمار T<sub>2</sub> بود ( $p < 0/05$ ).

باتوجه به جدول ۴، میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر لاشه نیز در هر سه تیمار آزمایشی به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ( $p < 0/05$ ). بیشترین میزان رطوبت ( $73/46 \pm 0/06$  درصد) و پروتئین خام ( $15/27 \pm 0/03$ ) در تیمار T<sub>3</sub> اندازه گیری

جدول ۴: مقایسه ترکیبات شیمیایی لاشه بین تیمارهای حاوی سطوح مختلف آنزیم پروتئاز

شاخص	تیمار	گروه شاهد	T1	T2	T3
رطوبت (درصد)		$23/82 \pm 0/09^c$	$25/99 \pm 0/01^b$	$25/99 \pm 0/01^b$	$26/54 \pm 0/06^a$
پروتئین خام (درصد)		$13/10 \pm 0/19^c$	$15/06 \pm 0/01^b$	$15/16 \pm 0/02^{ab}$	$15/27 \pm 0/03^a$
چربی خام (درصد)		$7/81 \pm 0/04^c$	$8/20 \pm 0/03^a$	$8/09 \pm 0/01^b$	$8/07 \pm 0/05^b$
خاکستر (درصد)		$2/18 \pm 0/19^b$	$2/01 \pm 0/01^{ab}$	$2/27 \pm 0/03^a$	$2/15 \pm 0/05^{ab}$

\* حروف انگلیسی روی داده‌های هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار می‌باشد ( $p < 0/05$ ).

## بحث

بر اساس نتایج به دست آمده استفاده از آنزیم پروتئاز در جیره غذایی بچه ماهیان استرلیاد تفاوت‌های آماری معنی‌داری از لحاظ وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد در پی داشت. همانطور که در جدول ۲ نیز مشخص است با افزایش سطح پروتئاز در جیره‌های غذایی پارامترهای مذکور از روندی صعودی برخوردار بودند. بیشترین مقدار این شاخص‌ها نیز در تیمار T<sub>3</sub> ثبت شد. رشد بهبود یافته ممکن است در نتیجه واکنش آنزیم‌های گوارشی برای هیدرولیز پروتئین‌ها حاصل شده باشد. این شرایط می‌تواند تحت تأثیر دوره تغذیه نیز باشد، زیرا تغییر در سنتز پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهیان پس از طی یک دوره تغذیه طولانی قابل مشاهده است (Dokdok et al., 2020). در تائید نتایج به دست آمده Karabulut و همکاران (۲۰۲۱) نیز با مکمل‌سازی جیره‌های غذایی حاوی ۳۰ درصد کنجاله فندق با سطوح مختلف آنزیم فایتاز شاهد افزایش معنی‌داری پارامترهای رشد و کارایی تغذیه در بچه تاس‌ماهیان سبیری بین تمامی تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد بودند. در تحقیق مذکور بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نسبت کارایی پروتئین و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار مکمل‌سازی شده با بیشترین غلظت آنزیم فایتاز به دست آمد (Karabulut et al., 2021).

نتایج مشابهی در خصوص کپور سیاه (*Mylopharyngodon piceus*)، کاراس (*Carassius carassius*)، میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) و گلدفیش (*Carassius auratus*) (Shi et al., 2009؛ Chen et al., 2009) نیز گزارش شد.

(Liu et al., 2018؛ Song et al., 2017؛ al., 2016). استفاده از آنزیم پروتئاز اثرات مثبتی بر رشد و کارایی تغذیه در هیبرید بچه ماهیان تیلاپیا نیز داشت (Dokdok et al., 2020). در پژوهشی Le Thanh و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که استفاده از آنزیم فیتاز در جیره غذایی ماهی پنگوسی (*Pangasianodon hypophthalmus*) باعث افزایش معنی‌دار وزن نهایی در کمترین دوز مورد استفاده شد. مکمل‌سازی جیره‌های غذایی توسط ۱۵ گرم آنزیم پاپائین در هر کیلوگرم جیره به طور معنی‌داری افزایش وزن و کارایی خوراک را در گربه ماهی کلاریان (*Clarias gariepinus*) افزایش داد (Rachmawati et al., 2019). Lin و همکاران (۲۰۰۷) با به کارگیری مخلوطی تجاری از آنزیم‌های پروتئاز، بتا گلوکاناز و زایلاناز شاهد بهبود عملکرد رشد در ماهی گلدفیش بودند. Carter و همکاران (۱۹۹۴) نیز با مکمل‌سازی جیره‌های غذایی مبتنی بر کنجاله سویا توسط مخلوطی از آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین و کربوهیدرات افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، کارایی تغذیه و کاهش ضریب تبدیل غذایی را در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) گزارش دادند.

بر اساس نتایج این تحقیق بیشترین میزان فاکتور وضعیت در تیمار T<sub>2</sub> ثبت شد. سطوح بالای فاکتور وضعیت نشان دهنده بهبود وضعیت سلامت ماهی با رشد ایزومتریک می باشد که برای ماهیان مطلوب خواهد بود (Mortuza and Al-Misned, 2013). بر این اساس در پژوهش حاضر مکمل‌سازی جیره‌های غذایی توسط سطوح مختلف آنزیم پروتئاز احتمالاً باعث بهبود وضعیت سلامت بچه ماهیان استرلیاد در مقایسه با ماهیان گروه شاهد شد (Dokdok et al., 2020). در مطالعات

Dokdok و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند جایگزینی کامل آرد ماهی با گلوتن ذرت و آنزیم پروتئاز افزایش معنی داری در میزان ماده خشک، پروتئین خام و خاکستر لاشه داشت. Lei و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش دادند استفاده از آنزیم پروتئاز باعث افزایش پروتئین خام لاشه می‌گردد. در مقابل، Amer و همکاران (۲۰۱۵) به این نتیجه رسیدند که آرد ماهی را می‌توان به طور کامل با آرد کنجاله سویا در جیره غذایی بچه ماهیان تیلای نیل از طریق به کارگیری ۳۰۰ گرم آنزیم ال-کارنیتین<sup>۹</sup> در هر کیلوگرم جیره غذایی بدون هیچ گونه تفاوت معنی داری در ترکیبات بدنی بچه ماهیان جایگزین کرد. Ng و Chong (۲۰۰۲) نشان دادند که مکمل چند آنزیمی سوپرزیم<sup>®</sup> هیچ تأثیری بر ترکیب شیمیایی بدن ماهیان تیلای نداشت. جایگزینی آرد ماهی با آرد کنجاله سویا همراه با آنزیم فیتاز نیز بر ماده خشک و خاکستر لاشه تأثیر معنی داری نداشت؛ درحالی‌که پروتئین خام لاشه نسبت به گروه شاهد افزایش معنی داری نشان داد (Mahmoud et al., 2014).

در مجموع نتایج حاضر نشان داد که استفاده از آنزیم پروتئاز در سطوح ۷۵ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی تأثیرات مثبت و معنی داری بر افزایش عملکرد رشد، کارایی تغذیه و ترکیبات بدن بچه ماهیان استرلیاد داشت. بر اساس نتایج به دست آمده بهترین عملکرد رشد در تیمار حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم آنزیم پروتئاز در هر کیلوگرم جیره غذایی ثبت شد.

مختلف تاثیر آنزیم‌های برون‌زا بر فاکتور وضعیت ثابت شده است (Ding et al., 2022; Karabulut et al., 2021; Dokdok et al., 2020).

مشاهده کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار T<sub>3</sub> احتمالاً به دلیل افزایش قابلیت استفاده از پروتئین خام در پی مکمل‌سازی جیره‌ها با آنزیم پروتئاز می‌باشد (Dokdok et al., 2020). در توجیه نتایج به دست آمده Hiophe-Ginindza و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند تغذیه ماهیان تیلای موزامبیک (*Oreochromis mosambicus*) با جیره‌های غذایی مکمل‌سازی شده توسط کمپلکسی چند آنزیمی متشکل از سلولاز، زایلاناز و فیتاز باعث افزایش رشد، نرخ کارایی پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. نتایج مشابهی نیز در مطالعه Dokdok و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد.

استفاده از سطوح مختلف آنزیم پروتئاز تاثیر معنی داری بر درصد بقای بچه ماهیان استرلیاد نداشت. در تایید این نتایج Dokdok و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که استفاده از آنزیم پروتئاز تاثیر معنی داری در نرخ بقای بچه ماهیان هیبرید تیلای نداشت. در مطالعه Mahmoud و همکاران (۲۰۱۴) نیز استفاده از آنزیم‌های تجاری (Pan Zyme و Phytase-plus broiler) 500 تاثیر معنی داری بر میزان بقای بچه ماهیان تیلای نیل (*Oreochromis niloticus*) نداشت.

نتایج ترکیبات شیمیایی بدن افزایش معنی دار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر لاشه بچه ماهیان استرلیاد را بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. این نتایج ممکن است به دلیل افزایش قابلیت استفاده از جیره‌های مکمل‌سازی شده با آنزیم پروتئاز باشد. در تایید نتایج به دست آمده

<sup>9</sup> L – Carnitine

8. Chowdhury, M.K., Iñiguez, K.P., de Lange, C.F., Osborne, V., Lemme, A., Bureau, D.P., 2015. Bioavailability of arginine from Indian mustard protein concentrate and meal compared with that of a soy protein concentrate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 46 (9), 2092-2103.
9. Dalsgaard, J., Bach Knudsen, K.E., Verlhac, V., Ekmann, K.S., Pedersen, P.B., 2016. Supplementing enzymes to extruded, soybean-based diet improves breakdown of non-starch polysaccharides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 419-426.
10. Ding, X., Nie, X., Yuan, C., Jiang, L., Ye, W., Qian, L., 2022. Effects of Dietary Multienzyme Complex Supplementation on Growth Performance, Digestive Capacity, Histomorphology, Blood Metabolites and Hepatic Glycometabolism in Snakehead (*Channa argus*). *Animals*, 12(3), 380.
11. Dokdok, G.A., Abd Elnabi, H.E., Soltan, M.A., Ibrahim, G.D., 2020. Effect of dietary supplementation (prebiotic mixtures and protease enzyme combination) on growth performance and feed utilization of red tilapia oreochromis sp. Fed with diets free fishmeal. *Sinai Journal of Applied Sciences*, 9 (1), 63-76.
12. Ebru, Y., Cengiz, K., 2016. Feed additives in aquafeeds. *Lucrări Științifice-Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie*, 66, 155-160.
13. Ferraretto, L.F., Silva Filho, W.I., Fernandes, T., Kim, D.H., Sultana, H., 2018. Effect of ensiling time on fermentation profile and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated corn with or without varied concentrations of wet brewers grains. *Journal of dairy science*, 101(5), 4643-4649.
14. Fuertes, J.B., Celada, J.D., Carral, J.M., Sáez-Royuela, M., González-Rodríguez, Á., 2013. Replacement of fish meal by pea protein concentrate in practical diets for juvenile crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana, Astacidae) from the onset of exogenous feeding. *Aquaculture*, 388, 159-

## سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تشکر می‌نماییم.

## منابع

1. Amer, T.N., Seden, M.E., El-Tawil, N.E., Ahmad, M.H., 2015. Effect of total replacement of fishmeal by soybean meal with different levels of L-carnitine on growth performance and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 10, 26-43.
2. AOAC., 2000. Official methods of analysis of association of official analytical chemists. Int. 17<sup>th</sup> Ed Gaithersburg, MD, Association of Analytical Communities. USA.
3. Arsenault, R.J., Lee, J.T., Latham, R., Carter, B., Kogut, M.H., 2017. Changes in immune and metabolic gut response in broilers fed  $\beta$ -mannanase in  $\beta$ -mannan-containing diets. *Poultry Science*, 96(12), 4307-4316.
4. Bai, S. C., Katya, K., Yun, H., 2015. Additives in aquafeed: An overview. *Feed and feeding practices in aquaculture*, Woodhead Publishing Series in Food Science. Technology and Nutrition, 171-202.
5. Carter, C.G., Houlihan, D.F., Buchanan, B., Mitchell, A.I., 1994. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed a diet containing supplementary enzymes. *Aquaculture Research*, 25(1), 37-46.
6. Castillo, S., Gatlin III, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture*, 435, 286-292.
7. Chen, J., Ye, J., Xu, Y., Shen, B., Guo, J., Pan, Q., Wang, Y., 2009. Effect of adding neutral protease to diets on growth performance, digestion, and body composition of fingerling black carp (*Mylopharyngodon piceus*). *Acta hydrobiologica sinica*, 33 (4), 726-731.

- specific to wheat arabinoxylan improve the growth performance and gut health of broilers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(24), 4932-4942.
23. Leng, X.J., Liu, D.Y., Li, X.Q., Lu, Y.H., 2008. Effects of adding Protease AG on growth and digestive protease activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 20(3), 1-7.
  24. Li, X.Q., Chai, X.Q., Liu, D.Y., Kabir Chowdhury, M.A. and Leng, X.J., 2016. Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture Nutrition*, 22(6), 1283-1292.
  25. Lin, S., Mai, K., Tan, B., 2007. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture Research*, 38(15), 1645-1653.
  26. Liu, W., Wu, J.P., Li, Z., Duan, Z.Y., Wen, H., 2018. Effects of dietary coated protease on growth performance, feed utilization, nutrient apparent digestibility, intestinal and hepatopancreas structure in juvenile Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 47-55.
  27. Mahmoud, M.M., Kilany, O.E., Dessouki, A.A., 2014. Effects of fish meal replacement with soybean meal and use of exogenous enzymes in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on growth, feed utilization, histopathological changes and blood parameters. *Life Science Journal*, 11(2), 6-18.
  28. Mocanu, E., Dima, F.M., Savin, V., Popa, M.D., 2022. The effect of vitamins and propolis on the larvae of *Acipenser ruthenus*. *Animal & Food Sciences Journal Iasi*, 77, 29-33.
  29. Mortuza, M.G., Al-Misned, F.A., 2013. Length-weight relationships, condition factor and sex-ratio of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* in Wadi Hanifah, Riyadh, Saudi Arabia. *World Journal of Zoology*, 8(1), 106-109.
  30. Ng, W.K., Chong, K.K., 2002. The nutritive value of palm kernel and the
  - 164.
  15. Ghomi, M.R., Shahriari, R., Langroudi, H.F., Nikoo, M., von Elert, E., 2012. Effects of exogenous dietary enzyme on growth, body composition, and fatty acid profiles of cultured great sturgeon *Huso huso* fingerlings. *Aquaculture International*, 20(2), 249-254.
  16. Hiophe-Ginindza, S.N., Moyo, N.A., Ngambi, J.W., Ncube, I., 2016. The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. *Aquaculture research*, 47(12), 3777-3787.
  17. Hochleithner, M., Gessner, J., 1999. The sturgeon and paddlefish (Acipenseriformes) of the world. *Biology and Aquaculture*. AquaTech publications. 165 P.
  18. Jarmołowicz, S., Zakęś, Z., Siwicki, A., Kowalska, A., Hopko, M., Głąbski, E., Demska-Zakęś, K., Partyka, K., 2012. Effects of brewer's yeast extract on growth performance and health of juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture Nutrition*, 18(4), 457-464.
  19. Karabulut, H.A., Kurtoğlu, İ.Z., Özyay, K.Ö.S.E., 2021. The Effect of Phytase Enzyme Supplementation to Hazelnut Meal Based Diets on Growth Performance and Nutrient Digestibility of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Journal of Agricultural Sciences*, 27(2), 231-238.
  20. Le Thanh, H., Binh, V.T.T., Poonperm, W., Ader, P., 2017. The use of phytase and acidifier supplementation on growth and feed utilization of tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Universal Journal of Agricultural Research*, 5(3), 202-208.
  21. Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K.I., Kim, J.D., 2012. Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(4), 577.
  22. Lei, Z., Shao, Y., Yin, X., Yin, D., Guo, Y., Yuan, J., 2016. Combination of xylanase and debranching enzymes

- enzyme activity, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* fed high plant protein diets. *Aquaculture Research*, 48, No. 5, 2550-2560.
38. Stuart, J.S., Hung, S.S., 1989. Growth of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) fed different proteins. *Aquaculture*, 76(3-4), 303-316.
39. Wiszniewski, G., Jarmołowicz, S., Hassaan, M.S., Kamaszewski, M., Szudrowicz, H., Terech-Majewska, E., Kawalski, K., Martynow, J., Szczepański, A., Siwicki, A.K., 2022. Dietary effect of actinidin enzyme on growth, digestive enzymes activity, immunity, liver and intestine histology of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Aquaculture Reports*, 25, 101196.
40. Xu, Q.Y., Xu, H., Wang, C., Zheng, Q., Sun, D., 2011. Studies on dietary phosphorus requirement of juvenile Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2), 709-714.
41. Zhou, Q.C., Zhao, J., Li, P., Wang, H.L., Wang, L.G., 2011. Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 322, 122-127.
- effect of enzyme supplementation in practical diets for red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp). *Asian Fisheries Science*, 15(2), 167-176.
31. Rachmawati, D., Hutabarat, J., Samidjan, I., Widarto, S., 2019. The effects of papain enzyme-enriched diet on protease enzyme activities, feed efficiency, and growth of fingerlings of Sangkuriang catfish (*Clarias gariepinus*) reared in tarpaulin pool. *AAFL Bioflux*, 12(6), 2177-2187.
32. Rice, E.W., Baird, R.B., Eaton, A.D., Clesceri, L.S., 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington: APHA, AWWA, WPCR. 1496 P.
33. Saleh, E.S., Tawfeek, S.S., Abdel-Fadeel, A.A., Abdel-Daim, A.S., Abdel-Razik, A.R.H., Youssef, I.M., 2022. Effect of dietary protease supplementation on growth performance, water quality, blood parameters and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 106(2), 419-428.
34. Şener, E., Yildiz, M., Savaş, E., 2005. Effects of dietary lipids on growth and fatty acid composition in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) juveniles. *Turkish journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29(5), 1101-1107.
35. Shi, Z., Li, X.Q., Chowdhury, M.K., Chen, J.N., Leng, X.J., 2016. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*, 460, 37-44.
36. Silva-Carrillo, Y., Hernández, C., Hardy, R.W., González-Rodríguez, B., Castillo-Vargasmachuca, S., 2012. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Aquaculture*, 364, 180-185.
37. Song, H.L., Tan, B.P., Chi, S.Y., Liu, Y., Chowdhury, M.K., Dong, X.H., 2017. The effects of a dietary protease-complex on performance, digestive and immune

# Effect of protease enzyme in the diet on the growth performance and chemicals body composition of Sterlet (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) juvenile

Kakavand, M.<sup>1</sup>, Hosseini Shekarabi, S.P.<sup>1\*</sup>, Shamsaei Mehrjan, M.<sup>1</sup>, Rajabi Islami, H.<sup>1</sup>

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-National Research Centre of Saline-waters Aquatics, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bafq, Iran

Received: 13 February 2024

Accepted: 16 April 2024

## Abstract

This 70-day experiment examined the effect of protease added to the commercial feed of Sterlet (*Acipenser ruthenus*) at concentrations of 0 (control group), 75 mg (T<sub>1</sub> treatment), 150 mg (T<sub>2</sub> treatment) and 300 mg (T<sub>3</sub> treatment) per kg of diet on growth parameters and carcass composition. A number of 180 juvenile Sterlet with an average body weight of 6.02±0.34 g was randomly divided into 12 fibreglass tanks with stocking density of 15 fish per each tank. At the end of the experiment, growth parameters indicated a significant difference between experimental treatments compared to the control group ( $p<0.05$ ). The highest final weight (66.45 ± 0.33 g), weight gain (59.44 ± 0.52 g), specific growth rate (1.39 ± 0.02 %/day), protein efficiency ratio (2.43±0.11) and the lowest food conversion ratio (0.84±0.04) were measured in T<sub>3</sub> treatment. However, the highest amount of condition factor (2.34±0.08%) was recorded in the T<sub>2</sub> treatment ( $p<0.05$ ). The carcass composition showed a significant increase between all the investigated indices in the experimental treatments compared to the control group ( $p<0.05$ ). The highest amounts of dry matter (26.54±0.06%) and crude protein (15.27±0.02%) were measured in the T<sub>3</sub> treatment. The highest amount of crude fat (8.07±0.05%) was in the T<sub>1</sub> treatment. The highest amount of ash (2.27±0.02%) was observed in the T<sub>2</sub> treatment. Based on the obtained results, it can be concluded that protease in concentrations of 75 to 300 mg per kg positively affected the growth and chemical composition of carcass *A. ruthenus*.

**Keywords:** Protease, Growth performance, Carcass Composition, Sterlet Sturgeon.

---

\*Corresponding Author: [hosseini.pezhman@yahoo.com](mailto:hosseini.pezhman@yahoo.com)