Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Effect of enzyme extract derived from fish pyloric appendages on growth performance and biochemical composition of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*)

Pouria Heshmatzad[*1], Abdolmajid Hajimoradloo[2], Abbas Zamani[3], Hadi Cheraghi[4]

1. Corresponding Author, Ph.D. Student, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: pheshmatzad@gmail.com
2. Professor, Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a_hajimoradloo@gau.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Hamedan, Iran. E-mail: a.zamani@malayeru.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: h.cheraghi@razi.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 02.10.2024
Revised: 03.04.2024
Accepted: 03.15.2024

Keywords:
Enzyme extract,
Fish waste,
Growth performance,
Rainbow trout

ABSTRACT

In fish farming industry, the use of nutritional supplements, including enzymes, is recognized as a vital strategy to enhance nutritional performance and growth. This study aimed to evaluate the effect of enzymatic extract from pyloric appendages on the growth performance and body composition of rainbow trout fry. Four dietary treatments were prepared, including a control diet (A: without enzyme) and three diets containing different levels of enzyme extract (B: 0.5 g/kg, C: 1 g/kg, and D: 2 g/kg of feed) with uniform protein and energy content. The results indicated that diets D and C exhibited the best growth performance compared to other experimental diets. These diets significantly outperformed others in terms of body weight increase and daily growth rate. Moreover, they showed the best feed conversion ratio, indicating efficient feed utilization. Additionally, diet D showed the highest specific growth rate and condition factor, while diet C exhibited the highest survival rate, although these differences were not statistically significant. The ash content in diet D was also significantly higher compared to other diets. Diets D and C significantly increased protein efficiency ratio and lipid efficiency ratio. The findings suggest that the inclusion of 2 g/kg enzymatic extract from pyloric appendages can improve the growth and nutritional performance of rainbow trout fry.

Cite this article: Heshmatzad, Pouria, Hajimoradloo, Abdolmajid, Zamani, Abbas, Cheraghi, Hadi. 2024. Effect of enzyme extract derived from fish pyloric appendages on growth performance and biochemical composition of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (3), 183-195.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2024.22182.1853
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

اثر عصاره آنزیمی مستخرج از ضمائم پیلوریک ماهی بر عملکرد رشد و ترکیب بیوشیمیایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

پوریا حشمت‌زاد*[۱]، عبدالمجید حاجی‌مرادلو[۲]، عباس زمانی[۳]، هادی چراغی[٤]

۱. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری تخصصی گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: pheshmatzad@gmail.com

۲. استاد گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: a_hajimoradloo@gau.ac.ir

۳. دانشیار گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، همدان، ایران. رایانامه: a.zamani@malayeru.ac.ir

٤. استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: h.cheraghi@razi.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۱۱/۲۱
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۱۲/۱٤
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۱۲/۲٥

واژه‌های کلیدی:
ضایعات ماهی،
عصاره آنزیمی،
عملکرد رشد،
قزل‌آلای رنگین‌کمان

چکیده

در صنعت پرورش ماهی، استفاده از مکمل‌های غذایی، از جمله آنزیم‌ها، به‌عنوان یک راهبرد حیاتی برای بهبود عملکرد تغذیه‌ای و رشد مطرح است. این پژوهش به‌منظور ارزیابی تأثیر عصاره آنزیمی مستخرج از ضمائم پیلوریک بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. چهار جیره غذایی شامل جیره شاهد (A: بدون آنزیم) و سه جیره حاوی مقادیر مختلف عصاره آنزیمی (B: ۰/٥، C: ۱ و D: ۲ گرم در کیلوگرم غذا) همسان از نظر پروتئین و انرژی تهیه شد. نتایج نشان دادن جیره‌های D و C، به‌ترتیب بهترین عملکرد رشد را نسبت به سایر جیره‌های آزمایشی نشان دادند. به‌طوری‌که شاخص‌های افزایش وزن بدن و نرخ رشد روزانه در این جیره‌ها به‌طور معناداری از سایر جیره‌ها بیش‌تر بود. این جیره‌ها با کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی، به‌طور معناداری بهترین عملکرد را در مصرف غذا نیز به نمایش گذاشتند. هم‌چنین، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در جیره D و نرخ بقاء در جیره C بیش‌ترین مقدار را نشان داد اگرچه این تفاوت‌ها معنادار نبودند. درصد خاکستر در جیره D نیز نسبت به سایر جیره‌ها به‌طور معناداری بیش‌تر بود. به‌ترتیب جیره‌های D و C، به‌طور معنی‌داری باعث افزایش نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی شدند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از ۲ گرم در کیلوگرم عصاره آنزیمی مستخرج از ضمائم پیلوریک می‌تواند به بهبود عملکرد رشد و تغذیه‌ای بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کمک کند.

استناد: حشمت‌زاد، پوریا، حاجی‌مرادلو، عبدالمجید، زمانی، عباس، چراغی، هادی (۱۴۰۳). اثر عصاره آنزیمی مستخرج از ضمائم پیلوریک ماهی بر عملکرد رشد و ترکیب بیوشیمیایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۳)، ۱۹٥-۱۸۳.

DOI: 10.22069/japu.2024.22182.1853

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

در دهه‌های اخیر، با افزایش جمعیت جهانی و محدودیت منابع غذایی، نیاز به راهکارهای نوین در زمینه تولید مواد غذایی اهمیت بیش‌تری پیدا کرده است (۱). یکی از راه‌حل‌های مؤثر در این زمینه، گسترش صنعت پرورش ماهی به‌عنوان یک منبع پایدار از پروتئین حیوانی است که مورد توجه قرار گرفته است (۲ و ۳). این صنعت، با توانمندی در تأمین پروتئین با کیفیت و مطمئن، به‌عنوان گزینه‌ای مؤثر برای مقابله با افزایش قیمت گوشت و نیازهای رو به افزایش جامعه جهانی تبدیل شده است (٤). با این‌حال، صنعت پرورش ماهی با چالش‌هایی نیز روبه‌رو است. یکی از مهم‌ترین چالش‌های این صنعت، فرموله‌سازی دقیق جیره‌های غذایی است. پروتئین‌ها بخش عمده‌ای از جیره غذایی ماهیان را تشکیل می‌دهند و نقش مهمی در رشد و عملکرد فیزیولوژیک آن‌ها ایفا می‌کنند (۵). اما، پروتئین‌های موجود در جیره غذایی، به‌ویژه در مراحل ابتدایی رشد ماهی به‌طور کامل هضم نمی‌شوند و بخش عمده آن بدون هضم دفع می‌شود. این امر می‌تواند منجر به کاهش بهره‌وری و افزایش هزینه‌های تولید گردد (٦ و ۷). با توجه به این چالش‌ها، یافتن راهکارهایی برای بهبود هضم پروتئین‌ها و افزایش بهره‌وری در صنعت پرورش ماهی دنبال می‌شود. یکی از راهکارهای مطرح شده در این زمینه، استفاده از عصاره آنزیمی حاصل از ضایعات ماهی است. این عصاره آنزیمی می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی به جیره غذایی ماهیان اضافه شود تا فرآیند هضم پروتئین‌ها را تسریع کرده و هضم ناقص آن‌ها را کاهش دهد، که در نتیجه بهره‌وری رشد و کارایی جیره غذایی را افزایش می‌دهد (۸ و ۹).

استفاده از آنزیم‌ها در صنعت پرورش ماهی می‌تواند تأثیرات چشمگیری بر رشد و عملکرد ماهیان داشته باشد. آنزیم‌ها به‌عنوان کاتالیزورهایی در فرآیند گوارش و هضم مواد غذایی، نقش اساسی در بهبود کارایی تغذیه در ماهیان پرورشی، به ویژه در مراحل اولیه رشد، ایفا می‌کنند (۱۰، ۱۱، ۱۲). با افزایش قابلیت هضم پروتئین‌ها توسط آنزیم‌ها، ماهیان قادرند به‌طور کامل از پروتئین‌های موجود در جیره غذایی استفاده کنند، که به دور از اتلاف مواد غذایی، بهبود قابل‌توجهی در رشد و عملکرد آن‌ها را به ارمغان می‌آورد (۱۳). علاوه بر این، بهبود در هضم پروتئین‌ها منجر به کاهش نیاز به خوراک می‌شود، که این موضوع به معنای کاهش هزینه‌های تولید و افزایش سوددهی در صنعت پرورش ماهی می‌باشد. هم‌چنین، با بهبود هضم مواد غذایی و افزایش قابلیت جذب مواد مغذی، ماهیان به‌طورکلی سلامت بهتری خواهند داشت (۱۰). هضم بهتر مواد غذایی منجر به کاهش دفع فضولات، که این موضوع باعث کاهش آلودگی محیط زیست و بهبود کیفیت آب در محیط‌های پرورش ماهی می‌شود. در نتیجه، استفاده از آنزیم‌ها در صنعت پرورش ماهی می‌تواند تأثیر چشمگیری در عملکرد و رشد ماهیان به همراه داشته باشد، هم‌چنین باعث حفظ محیط زیست و بهبود کیفیت زیستگاه ماهیان خواهد شد (١٤).

پروتئازها گروهی مهمی از آنزیم‌ها هستند که آبکافت پروتئین‌ها به پپتیدها و آمینو اسیدها را کاتالیز می کنند. این آنزیم‌ها طیف وسیعی از کاربردها را در صنایع مختلف، مانند صنایع غذایی، دارویی، شوینده، و آرایشی و بهداشتی دارند (۱۵، ١٦، ۱۷، ۱۸). آبزیان بویژه ماهیان حاوی پروتئازهای شناخته شده اعم از پروتئازهای اسیدی، سرین و متالو پروتئازها هستند. هر یک از این پروتئازها نقش مهمی در هضم پروتئین‌ها، بازسازی بافت‌ها و پاسخ‌های ایمنی آبزیان ایفا می‌کند (۱۹ و ۲۰). یکی از مهم‌ترین پروتئازها، آنزیم تریپسین است که به خانواده پروتئازهای سرین

تعلق دارد و نقش اساسی در فعال‌سازی زیموژن‌های آنزیم‌های پانکراتیک دارد (۱۰ و ۱۱). پروتئازهای موجود (مانند تریپسین) در امعاء و احشاء ماهی مانند ضمائم پیلوریک دارای مزایایی نسبت به پروتئازهای تجاری (مانند تریپسین خوک و گاو) هستند که می‌توان به پایداری در دماهای مختلف و اختصاصی‌تر بودن نسبت به پروتئازهای همولوگ جانداران خونگرم اشاره نمود (۱۲ و ۱۳). با توجه به اهمیت این موضوع، پژوهش‌های بیش‌تر در زمینه کاربردهای پروتئازهای موجود در دورریز ماهی و توسعه روش‌های جداسازی کارآمد و مقرون‌به‌صرفه ضروری است.

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از گونه‌های مهم ماهیان سردآبی است که به‌دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فرد غنی از نظر ارزش غذایی و پتانسیل اقتصادی بالا، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در حوزه آبزی‌پروری جهان شناخته شده است (۲۱). توانایی تطابق این گونه با شرایط اقلیمی متنوع و ارتباط مؤثر با محیط زیست آبی، آن را به یک گزینه برتر پرورشی تبدیل کرده است. ایران با تولید بیش از ۱۹۰ هزار تن ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سال، به‌عنوان یکی از پیشگامان جهانی در این زمینه شناخته می‌شود (۲۲). در مراحل اولیه زندگی، به‌ویژه در مرحله بچه‌ماهی نورس، این گونه با چالش‌هایی از جمله عدم توانایی کامل دستگاه گوارش در هضم مواد غذایی مواجه است (۲۳). برای حل این مسأله، استفاده از مکمل‌های آنزیمی در غذا به‌عنوان یک راه‌حل مؤثر مطرح شده است. آنزیم‌های گوارشی با شکستن مواد غذایی به مولکول‌های کوچک‌تر، جذب آن‌ها را تسهیل می‌کنند و رشد سریع‌تر ماهی را تضمین می نمایند (۲٤).

هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عصاره آنزیمی حاصل از ضمائم پیلوریک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان است و انتظار می‌رود نتایج این پژوهش بتواند به بهبود کیفیت جیره غذایی، افزایش بهره‌وری و کاهش هزینه‌های پرورش این گونه در مرحله بچه ماهی نورس کمک کند.

مواد و روش‌ها

تهیه امعاء و احشاء ماهی: ۸۷ عدد امعاء و احشاء ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بالغ (شامل ۵۹ عدد ماده و ۱۸ عدد نر با سن تقریبی ۲ تا ۳ سال) با وزن متوسط ۱۲٦/۷±۱۵۳۰ گرم بلافاصله پس از صید از بازار جمع‌آوری و در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند. سپس، نمونه‌ها در داخل یک ظرف یونولیتی و با یخ (با نسبت ۱ به ۲) به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از انتقال به آزمایشگاه ضمائم پیلوریک به‌عنوان منبع آنزیم در حضور یخ جدا و بلافاصله در دمای ۸۰- نگهداری شد (۲۵).

چربی‌زدایی وآماده‌سازی نمونه‌ها: نمونه ضمائم پیلوریک بعد از خارج شدن از فریزر، برای مدت ۲ ساعت در دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت تا از حالت انجماد خارج شود و سپس عمل چربی‌زدایی بر روی آن‌ها صورت گرفت. برای این منظور ابتدا نمونه‌ها را تعیین حجم کرده و سپس با استون سرد ۲۰- درجه سانتی‌گراد به نسبت ۱ به ۲ مخلوط شد و برای مدت یک دقیقه عمل همگن‌سازی با دستگاه هموژنایزر (HeidolpH Diax 900, Sigma Co St. Louis, MO, US) با دور ۱۱۰۰۰ و در حضور یخ انجام گردید. سپس نمونه یکنواخت شده به‌وسیله کاغذ صافی (Whatman grade No. 2, Lawrence Kansas, USA) فیلتر شد و مواد باقی‌مانده روی فیلتر چندین مرتبه با استون سرد شسته شد تا عمل چربی‌زدایی انجام شود. سپس مواد روی فیلتر برای یک شبانه‌روز در دمای اتاق قرار گرفت تا

خشک شوند (۲۶). پودر خشک شده با بافر استخراج شده (۵۰ میلی‌مولار تریس – HCl، پی اچ ۷/۵ حاوی ۱۰ میلی‌مولار $CaCal_2$) با نسبت ۱ به ۵۰ ترکیب شد و برای مدت ۳ ساعت در دمای یخچال بر روی همزن مغناطیسی به آرامی مخلوط گردید. مخلوط حاصله برای مدت ٤٥ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در ۱٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ (EC Model B-22M programMable floor centrifuge) گردید و محلول رویی به‌عنوان عصاره خام آنزیمی برای ادامه آزمایش‌ها انتخاب شد (۲۵).

ترسیب با آمونیوم سولفات: در این مرحله عصاره خام آنزیمی با آمونیوم سولفات (Sigma, St. Louis, MO, USA) تا حصول اشباعیت ۰–۳۰؛ ۳۰–٦۰ و ٦۰–۹۰ درصد جهت راسب‌سازی پروتئازها ترکیب شد. برای این منظور ابتدا آمونیوم سولفات در حضور یخ به آرامی و در فواصل زمانی به نمونه اضافه شد تا به خوبی حل گردد. سپس اجازه داده شد تا این مخلوط برای مدت ۲ ساعت در حضور یخ به آرامی مخلوط شود. بعد از ۲ ساعت نمونه در سانتریفیوژ با ۱٤۰۰۰ دور و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد برای مدت ٤٥ دقیقه قرار گرفت. سپس قسمت رسوب یافته جمع‌آوری شد و در ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج حل گردید و در کیسه دیالیز Sigma St. Louis, MO, (USA) قرار گرفت و برای یک شبانه‌روز در حضور بافر استخراج با ۳ بار تعویض بافر، عمل دیالیز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد جهت حذف یون‌های آمونیوم سولفات انجام گردید (۱۲). نمونه دیالیز شده در فریز درایر برای خشک شدن قرار گرفت. به‌منظور انتخاب بهترین غلظت برای مراحل بعدی، فعالیت پروتئاز قلیایی و آنزیم تریپسین مورد سنجش قرار گرفت. نتایج این سنجش نشان داد که غلظت ۳۰ تا ٦۰ درصد به‌عنوان غلظت بهینه برای ادامه کار می‌باشد (۱۲).

پرورش ماهیان: تعداد ۳٦۰ قطعه بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۰/۸٦±۳/۷۸ گرم با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی به‌مدت ۱۱ هفته در تانک فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری پرورش داده شدند. به‌طوری‌که در هر تانک با سه تکرار تعداد ۳۰ عدد بچه‌ماهی رهاسازی شد. بچه‌ماهیان قبل از شروع آزمایش به‌مدت ۷۲ ساعت قطع غذا شدند و سپس غذادهی به‌مدت دو هفته با غذای تجاری جهت سازگاری با شرایط آزمایشی صورت گرفت. تغذیه ماهیان با جیره غذایی آزمایشی تهیه شده، روزانه ۳ بار و به‌مدت ۹ هفته براساس ٤ درصد وزن بدن انجام شد (۲۷). در این مدت مدفوع و غذای به‌جای مانده در محیط پرورشی ۳۰ دقیقه بعد از اتمام غذادهی روزانه سیفون و آب تانک روزانه تا ۹۰ درصد تعویض گردید. در انتهای دوره آزمایش شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی بدن ماهیان سنجش گردید. طی دوره آزمایش شاخص‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما (۰/۵±۱۸)، پی‌اچ (۰/۱±۷/۵)، شوری (کم‌تر از ۱ گرم بر لیتر) و اکسیژن محلول (۰/۱±۷/۵ میلی‌گرم بر لیتر) اندازه‌گیری شد.

تهیه جیره های آزمایشی: جیره غذایی جهت بررسی اثر عصاره آنزیمی (با غلظت ۳۰–٦۰ درصد) استخراج شده بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن، شامل جیره A (شاهد، فاقد عصاره آنزیمی)، جیره B (حاوی ۰/۵ گرم درکیلوگرم غذا عصاره آنزیمی)، جیره C (حاوی ۱ گرم در کیلوگرم غذا عصاره آنزیمی) و جیره D (حاوی ۲ گرم در کیلوگرم غذا عصاره آنزیمی) تهیه گردید. غذای مورد استفاده از نوع آغازین ویژه بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان انتخاب گردید. غذای مذکور فاقد افزدونی آنزیمی و حاوی ۵۰–۵۵ درصد پروتین خام، ۹–۱۳ درصد چربی خام، ١٤ درصد خاکستر، ۱/۵–۳ درصد فیبر

خام، ۱۰-۱۲ درصد رطوبت و ٤۳۰۰ کیلوکالری بر کیلوگرم انرژی قابل‌هضم بود. عصاره آنزیمی بعد از آماده‌سازی بر روی غذا اسپری و سپس ژلاتین (۵ تا ۱۰ درصد) جهت جلوگیری از هدررفت عصاره آنزیمی بر روی غذا اسپری شد.

شاخص های رشد و تغذیه: در انتهای دوره آزمایش ماهیان جهت تعیین شاخص‌های رشد ابتدا به‌مدت ٤۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع غذا شده و بعد از بیهوشی با عصاره گل میخک با استفاده از سوزن قطع نخاع گردیدند. که در آن‌ها وزن اولیه بر حسب گرم (Wt1)، وزن نهایی بر حسب گرم (Wt2)، تعداد روزهای پرورش (٦٤ روز)، طول کل بر حسب سانتی‌متر (TL)، تعداد ماهیان در شروع دوره آزمایش (Nt1)، تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش (Nt2) ثبت گردید. سپس شاخص‌های موردنظر با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (۲۸ و ۲۹):

۱. افزایش وزن بدن (BWI: Body Weight Increase)

$$BWI = (Wt2) - (Wt1)$$

۲. نرخ رشد ویژه (SGR: Specific Growth Rate)

$$SGR = ((LnWt2 - LnWt1) / t) \times 100$$

۳. شاخص وضعیت (CF: Condition Factor)

$$CF = ((Wt2 / TL3)) \times 100$$

٤. نرخ رشد روزانه (GR: Growth Rate)

$$GR = ((Wt2 - Wt1) / t) \times 100$$

۵. ضریب تبدیل غذایی (FCR: Feed Conversion Ratio)

$$FCR = Feed\ intake / BWI$$

٦. نرخ بقاء (SR: Survival rate)

$$SR = (Nt1 / Nt2) \times 100$$

۷. نسبت کارایی پروتئین (PER: Protein Efficiency Ratio)

مقدار پروتئین خام / PER = BWI

۸. نسبت کارایی چربی (LER: Lipid Efficiency Ratio)

مقدار چربی خام مصرفی / LER = BWI

تعیین ترکیب شیمیایی بدن ماهیان: برای تعیین ترکیب شیمیایی بدن ماهیان از روش (AOAC, 2005) استفاده شد. میزان رطوبت بر اساس اختلاف وزن حاصل از قرار دادن نمونه‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد، میزان پروتئین خام از روش کجلدال، میزان چربی خام با استفاده از روش سوکسله و میزان خاکستر نیز با سوزاندن نمونه خشک شده در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و برای مدت ۵ ساعت اندازه‌گیری گردید.

تحلیل داده‌ها: در این آزمایش نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به‌ترتیب با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و آزمون لیون با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 ارزیابی شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین شاخص‌های رشد و ترکیب شیمیایی بدن بچه‌ماهیان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی از آزمون توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد و برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های آزمایشی از آزمون دانکن استفاده شد (۲۷). تمام آزمون‌ها در ۳ تکرار و در سطح اطمینان ۹۵ درصد (α=۰/۰۵) بررسی شد.

نتایج

بچه‌ماهیان تغذیه شده با جیره D (حاوی ۲ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا) وزن نهایی بیش‌تری نسبت به بچه‌ماهیان تغذیه شده با جیره

شاهد (بدون آنزیم) داشتند. جیره D با ٤٦/٩٠ گرم بیش‌ترین وزن نهایی را دارد. جیره B (حاوی ٠/٥ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا) نیز با ٣٨/٨٠ گرم، کم‌ترین وزن نهایی را دارد (جدول ١). براساس آزمون دانکن میانگین وزن نهایی بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C (حاوی ١ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا) و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<٠/٠٥) (جدول ١).

جیره D با ٤١/٤٦ گرم افزایش وزن بدن بهترین عملکرد را نشان داد. جیره C نیز با ٣٩/٨٥ گرم افزایش وزن بدن به نتایج قابل‌توجهی دست یافت. براساس آزمون دانکن میانگین افزایش وزن بدن بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<٠/٠٥) (جدول ١). جیره D با ٦٤/٧٨ درصد نرخ رشد روزانه بالاترین میزان را داشت. جیره ٣ نیز با ٦٢/٢٦ درصد نرخ رشد روزانه در رتبه بعدی قرار گرفت. براساس آزمون دانکن میانگین نرخ رشد روزانه بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<٠/٠٥) (جدول ١). جیره D با نرخ رشد ویژه ٣/٣٦ درصد بهترین عملکرد رشد را نشان داد. جیره C (٣/٣٤ درصد) نیز عملکرد قابل‌توجهی در این زمینه نشان داد. اما براساس آزمون دانکن این تفاوت بین جیره‌ها معنادار نبود (P>٠/٠٥) (جدول ١).

جیره D با ضریب تبدیل غذایی ١/٠٣ بهترین مصرف غذایی را داشت. جیره C نیز نسبت به جیره‌های A و B به بهبود این ضریب دست یافت. براساس آزمون دانکن میانگین ضریب تبدیل غذایی بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<٠/٠٥) (جدول ١). در جیره D با افزایش آنزیم شاخص وضعیت بهبود یافت، اما این تفاوت با سایر جیره‌ها معنادار نبود (P>٠/٠٥). جیره C با نرخ بقاء ٩٨/٨٨ درصد بهبود قابل‌توجهی نسبت به سایر تیمارها نشان داد، اما این تفاوت با سایر جیره‌ها معنادار نبود (P>٠/٠٥) (جدول ١).

جدول ١- ارزیابی عصاره آنزیمی حاصل از ضمائم پیلوریک ماهی به‌عنوان منبع پروتئازی در جیره غذایی بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان بر عملکرد رشد. جیره A: شاهد، بدون آنزیم تریپسین استخراجی، جیره B: حاوی ٠/٥ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا، جیره C: حاوی ١ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا، جیره D: حاوی ٢ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا.

Table 1. Evaluation of enzymatic extract derived from pyloric appendages of fish as a protease source in the diet of rainbow trout fry on growth performance. Diet A: Control, without extracted trypsin enzyme. Diet B: Contains 0.5 grams of extracted enzyme per kilogram of feed. Diet C: Contains 1 gram of extracted enzyme per kilogram of feed. Diet D: Contains 2 grams of extracted enzyme per kilogram of feed.

شاخص‌های رشد/ جیره غذایی	A	B	C	D
وزن اولیه (گرم)	٥/٣٨ ± ٠/٦٧	٥/٤٤ ± ٠/٤٨	٥/٣٣ ± ٠/٣٣	٥/٤٤ ± ٠/٢٥
وزن نهایی (گرم)	٣٨/٨٦ ± ٠/٥٠^{a}	٣٨/٨٠ ± ١/٤٦^{a}	٤٥/١٨ ± ١/٣٣^{b}	٤٦/٩٠ ± ٤/٨٥^{b}
طول کل بدن (سانتی‌متر)	١١/٠١ ± ٠/١٧^{a}	١٠/٨٩ ± ٠/١٤^{a}	١١/٧٧ ± ٠/٠٦^{a}	١١/٥٤ ± ٠/٨٩^{a}
افزایش وزن بدن (گرم)	٣٣/٤٧ ± ٠/٧٤^{a}	٣٣/٣٦ ± ١/٦٧^{a}	٣٩/٨٥ ± ١/١٥^{b}	٤١/٤٦ ± ٤/٤٩^{b}
نرخ رشد روزانه (درصد)	٥٢/٣٠ ± ١/١٦^{a}	٥٢/١٢ ± ٢/٦٠^{a}	٦٢/٢٦ ± ١/٧٩^{b}	٦٤/٧٨٢ ± ٧/٠٢^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد)	٣/٠٩ ± ٠/١٩^{a}	٣/٠٧ ± ٠/١٦^{a}	٣/٣٤ ± ٠/٠٧^{a}	٣/٣٦ ± ٠/١٣^{a}
ضریب تبدیل غذایی	١/٢٥ ± ٠/٠٦^{a}	١/٢١ ± ٠/٠٦^{a}	١/٠٤ ± ٠/٠٢^{b}	١/٠٣ ± ٠/٠٤^{b}
شاخص وضعیت	٢/٩١ ± ٠/١١^{a}	٣ ± ٠/١١^{a}	٢/٧٧ ± ٠/٠٤^{a}	٣/١١ ± ٠/٦٨^{a}
نرخ بقاء (درصد)	٩٦/٦٦ ± ٠/٠٠^{a}	٩٧/٧٧ ± ٣/٨٤^{a}	٩٨/٨٨ ± ١/٩٢^{a}	٩٧/٧٧ ± ١/٩٢^{a}

اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<٠/٠٥)

جیره شاهد با ۷۰/۳۷ درصد رطوبت کم‌ترین مقدار را داشت، اما این تفاوت با سایر جیره‌ها معنادار نبود (P>۰/۰۵). جیره D با ۱/۹۱ درصد خاکستر بیش‌ترین میزان را نشان داد. جیره C نیز با ۱/٤٥ درصد، در رتبه بعدی قرار داشت. براساس آزمون دانکن میانگین درصد خاکستر بچه‌ماهی‌ها در جیره D نسبت به جیره‌های A، B و C تفاوت معناداری نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۲). جیره شاهد با ۱۸/۸۵ درصد پروتئین خام بیش‌ترین مقدار را داشت. جیره C نیز با۱۸/۲۰ درصد، در رتبه دوم قرار گرفت، اما این تفاوت با سایر جیره‌ها معنادار نبود (P<۰/۰۵). جیره شاهد با ۹/۷۸ درصد چربی خام بیش‌ترین میزان را داشت. جیره D با ۸/۵۸ درصد چربی خام کم‌ترین مقدار را داشت، اما این تفاوت با سایر جیره‌ها معنادار نبود (P>۰/۰۵).

بیش‌ترین نسبت کارایی پروتئین در جیره D (۲/۲۹) اندازه‌گیری شد و جیره C در رتبه بعدی قرار گرفت (جدول ۲). براساس آزمون دانکن میانگین نسبت کارایی پروتئین بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۲). جیره D با ٤/۸٤ نسبت کارایی چربی بالاترین مقدار را داشت. جیره C نیز در رتبه بعدی قرار گرفت (جدول ۲). براساس آزمون دانکن میانگین نسبت کارایی چربی بچه‌ماهی‌ها در جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B تفاوت معناداری نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۲- ارزیابی عصاره آنزیم حاصل از ضمائم پیلوریک ماهی به‌عنوان منبع پروتئازی در جیره غذایی بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان بر ترکیب بدن. جیره A: شاهد، بدون آنزیم ترپسین استخراجی، جیره B: حاوی ۰/۵ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا، جیره C: حاوی ۱ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا، جیره D: حاوی ۲ گرم آنزیم استخراجی در کیلوگرم غذا.

Table 2. Evaluation of enzymatic extract derived from pyloric appendages of fish as a protease source in the diet of rainbow trout fry on body composition. Diet A: Control, without extracted trypsin enzyme. Diet B: Contains 0.5 grams of extracted enzyme per kilogram of feed. Diet C: Contains 1 gram of extracted enzyme per kilogram of feed. Diet D: Contains 2 grams of extracted enzyme per kilogram of feed.

شاخص‌های رشد/ جیره غذایی	A	B	C	D
رطوبت (درصد)	۷۰/۳۷ ± ۱/۷۲^{a}	۷۰/٤٦ ± ۰/٦۲^{a}	۷۱/۲۸ ± ۰/٤۰^{a}	۷۱/٤۹ ± ۰/٦۳^{a}
خاکستر (درصد)	۱/۳۹ ± ۰/۰۵^{a}	۱/٤۰ ± ۰/۰۷^{a}	۱/٤٥ ± ۰/۱۰^{a}	۱/۹۱ ± ۰/۲۱^{b}
پروتئین خام (درصد)	۱۸/۸۵ ± ۱/۷٦^{a}	۱۸/۱۳ ± ۰/۷۰^{a}	۱۸/۲۰ ± ۱/۲۱^{a}	۱۸/۰۷ ± ۰/۱۲^{a}
چربی خام (درصد)	۹/۷۸ ± ۱/۱۰^{a}	۹/٦۱ ± ۰/٦٦^{a}	۹/۲٦ ± ۰/٦۲^{a}	۸/۵۸ ± ۰/۸۵^{a}
نسبت کارایی پروتئین	۱/۸۲ ± ۰/۱۲^{a}	۱/۸٤ ± ۰/۱۵^{a}	۲/۱۹ ± ۰/۰۸^{b}	۲/۲۹ ± ۰/۲٤^{b}
نسبت کارایی چربی	۳/٤٤ ± ۰/۳۲^{a}	۳/٤۸ ± ۰/۲۹^{a}	٤/۳۱ ± ۰/۳۱^{b}	٤/۸٤ ± ۰/٤۸^{b}

اعداد با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند (P<۰/۰۵)

بحث

توسعه صنعت خوراک آبزیان نیازمند حرکت به سوی بهبود عملکرد گوارش و هضم مواد غذایی است. با توجه به محدودیت های منابع پروتئینی حیوانی، استفاده از مواد جایگزین با منشأ گیاهی و حیوانی امری ضروری است. این مواد می‌توانند به بهبود ارزش تغذیه‌ای جیره غذایی ماهیان و کاهش هزینه‌های تولید کمک کنند. افزودن آنزیم پروتئاز به جیره غذایی می‌تواند بهبود قابل‌توجهی در هضم پروتئین و اسیدهای آمینه داشته باشد (۲۹). استفاده از پروتئازهای خارجی به‌عنوان یک راه‌حل مؤثر برای بهبود عملکرد گوارشی و تغذیه ماهیان مطرح می‌باشد.

استفاده از پروتئازها به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای، نه تنها نقصان موجود در آنزیم‌های داخلی ارگانیسم‌ها جانور مورد مطالعه را جبران می‌کند، بلکه اثرات مثبت مختلفی بر تجزیه مواد ضدتغذیه، بهبود سلامت روده، افزایش نرخ جذب مواد مغذی، تولید آنتی‌اکسیدان و مقاومت در برابر بیماری‌ها تأثیر گذاشته و عملکرد تغذیه‌ای ماهیان را بهبود می‌بخشد (۳۰). پژوهش حاضر به تأکید بر اهمیت استفاده از عصاره آنزیمی حاوی پروتئاز، از منابع طبیعی مانند ضمائم پیلوریک، به‌عنوان یک راهبرد مؤثر در بهبود رشد و عملکرد تغذیه‌ای بچه‌ماهیان نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان پرداخته است. این نتایج نشان می‌دهند که استفاده از عصاره آنزیمی، به‌عنوان یک ابزار کارآمد در بهبود پارامترهای رشد ماهیان مؤثر است. این یافته‌ها به‌عنوان گام مهمی در جهت بهینه‌سازی تغذیه ماهیان پرورشی و ارتقاء بهره‌وری سیستم‌های پرورش آبزیان مورد تأکید قرار می‌گیرد.

نتایج این مطالعه نشان داد افزودن عصاره آنزیم حاصل از ضمائم پیلوریک ماهی به غذای بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان منجر به بهبود عملکرد رشد و هضم غذا در این ماهیان شد. جیره D که حاوی ۲ گرم عصاره آنزیم در کیلوگرم غذا بود، بهترین عملکرد را نشان داد. این جیره بیش‌ترین افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت، و درصد نرخ رشد روزانه را داشت. هم‌چنین، این جیره کم‌ترین ضریب تبدیل غذایی را نشان داد (جدول ۱). افزایش عملکرد رشد در بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان با افزودن عصاره آنزیمی را می‌توان به تأثیر آنزیم‌ها بر هضم پروتئین‌های جیره غذایی و تبدیل آن به پپتیدها و اسیدهای آمینه نسبت داد که نتیجه آن جذب آسان‌تر اسیدهای آمینه توسط بدن است (۳۱، ۳۲، ۳۳).

هضم غذا در ماهی‌ها توسط آنزیم‌های گوارشی، عادات تغذیه، و آناتومی روده تعیین می‌شود (۳٤). استفاده از مکمل‌های آنزیمی به‌خصوص پروتئازها باعث می‌شود آنزیم‌های داخلی ماهیان به‌طور کارآمدتری عمل کنند و این امر منجر به بهبود هضم مواد مغذی می‌شود. با این‌حال، پژوهش‌ها نشان داده‌اند که نتایج مختلفی درباره استفاده از پروتئاز در رژیم‌های تغذیه ماهی وجود دارد. به‌عنوان مثال، کمی گابو و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده نمودند که پروتئاز هضم پروتئین را در رژیم‌های غذایی با پروتئین بالا بهبود می‌بخشد (۳۵). با این‌حال، ایگیت و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که افزودن پروتئاز یا فیتاز به یک رژیم تغذیه‌ای مبتنی بر جوانه سویا به رژیم تغذیه ماهی قزل‌آلا منجر به افزایش رشد یا هضم مواد مغذی نشد (۳۰). این یافته‌ها نشان می‌دهند که اثرات پروتئاز بر هضم مواد مغذی در ماهی ممکن است تحت‌تأثیر عوامل مختلفی، از جمله ترکیب غذایی و نوع خاص پروتئاز استفاده شده باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد افزودن عصاره آنزیمی به غذای بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود رشد و نمو و کاهش ضریب تبدیل غذایی شد. این نتایج با نتایج مطالعات مشابهی که در سایر گونه‌های ماهیان پرورشی انجام شده است، مطابقت دارد. به‌عنوان مثال، صالح و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده نمودند که اضافه کردن پروتئاز به جیره ماهی (*Nile tilapia*)، عملکرد رشد، مصرف غذا و ضریب تبدیل غذایی را بهبود می‌بخشد، در عین‌حال با کاهش غلظت‌های آمونیاک و نیتریت در آب همراه است (۳٦). این نیز مطابق با یافته‌های لین و همکاران (۲۰۰۷) است که گزارش دادند که مکمل آنزیمی خارجی، از جمله پروتئاز، عملکرد رشد و استفاده از غذا را در تیلاپیا بهبود می‌بخشد (۳۷). در مطالعه حاضر، کاهش ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های حاوی عصاره آنزیمی نشان داد که این آنزیم‌ها باعث

بهبود بهره‌وری غذا در بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان گردیدند. کاهش ضریب تبدیل غذایی نشان می‌دهد که ماهیان با مصرف کم‌تر غذا، رشد بیش‌تری داشته‌اند. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزودن عصاره آنزیمی به جیره غذایی بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند یک استراتژی مؤثر برای بهبود عملکرد تغذیه‌ای این ماهیان باشد.

طیف وسیعی از مطالعات مزایای بالقوه پروتئازها مانند تریپسین را در رژیم غذایی ماهی نشان داده‌اند. دابروسکی و گلوگوسکی (۱۹۷۷) دریافتند که افزودن تریپسین گاوی به رژیم غذایی لارو ماهی کپور معمولی، فعالیت پروتئولیتیک را بدون هیچ اثر منفی بر بقای ماهی افزایش می‌دهد (۳۸). این یافته توسط اسنیدر و لازاری (۲۰۲۲) نیز تأیید شد، که اشاره کردند پروتئازهای خارجی، از جمله تریپسین، می‌توانند رشد ماهی و ضریب تبدیل غذایی را بهبود بخشند (۳۹). دی ویچی و کوپاس (۱۹۹۶) به کاربردهای بالقوه تریپسین ماهی در زیست پزشکی و صنایع غذایی اشاره کردند که بر ارزش این آنزیم‌ها در رژیم غذایی ماهی تأکید می‌کند (٤٠). این بهبودها نه‌تنها در زمینه هضم پروتئین بلکه در هضم چربی‌ها و انرژی نیز مشاهده شده است. افزایش جذب پروتئین توسط ماهی می‌تواند منجر به افزایش رشد و بهبود ترکیب بدن آن شود (٤١). این امر به این دلیل است که پروتئین برای ساخت و ترمیم بافت‌ها ضروری است. افزایش جذب مواد معدنی توسط ماهی نیز می‌تواند منجر به بهبود ترکیب بدن آن شود. این امر به این دلیل است که مواد معدنی برای رشد و عملکرد ماهی ضروری هستند. به‌عنوان مثال، کلسیم برای تشکیل اسکلت ماهی ضروری است، فسفر برای متابولیسم انرژی ضروری است و پتاسیم برای تنظیم تعادل آب و الکترولیت‌ها ضروری است. با این‌حال، مطالعات نشان داده‌اند که اثرات استفاده از پروتئازها ممکن است در جیره‌های غذایی و انواع ماهیان متفاوت باشد (۳۷ و ۳۹). به‌عنوان مثال، در ماهیانی که با جیره غذایی حاوی پروتئاز تغذیه می‌شوند، ضرایب هضم چربی خام و پروتئین خام بهبود یافته و افزایش وزن نیز مشاهده شده است (۳۸). اما در برخی دیگر از مطالعات، تأثیرات مثبتی در استفاده از پروتئازها مشاهده نشده است. این تفاوت‌ها ممکن است به عواملی مانند نوع پروتئاز استفاده شده، نوع جیره غذایی (پلت یا خمیری)، و ویژگی‌های گوارشی گونه ماهی مرتبط باشد (۳۸). با وجود این تفاوت‌ها، استفاده از پروتئازها می‌تواند یک راهکار مؤثر در بهبود ضرایب هضم ظاهری مواد مغذی در ماهیان پرورشی باشد. در عین‌حال، نیاز به بررسی دقیق‌تر اثرات استفاده از پروتئازها در شرایط مختلف و با توجه به ویژگی‌های خاص هر گونه ماهی و نیازهای گوارشی آن‌ها احساس می‌شود. در این مطالعه جیره‌های C و D نسبت به جیره‌های A و B به‌طور معناداری نسبت کارایی پروتئین و نسبت کارایی چربی بالاتری نشان دادند. در مجموع، عصاره آنزیمی مورد استفاده در این مطالعه می‌تواند یک مکمل غذایی مفید برای بچه‌ماهیان نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن عصاره آنزیمی به جیره غذایی بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث بهبود رشد می‌شود. این امر می‌تواند نقش مهمی در افزایش تولید و بهره‌وری در صنعت پرورش بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته باشد. هم‌چنین، افزایش قابلیت هضم مواد غذایی باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود بهره‌وری از غذا می‌شود. بر اساس نتایج این مطالعه، پیشنهاد می‌شود که از جیره غذایی حاوی ۲ گرم در کیلوگرم غذا عصاره آنزیمی در جیره غذایی بچه‌ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شود.

منابع

1. Valoppi, F., Agustin, M., Abik, F., Morais de Carvalho, D., Sithole, J., Bhattarai, M., & Mikkonen, K. S. (2021). Insight on current advances in food science and technology for feeding the world population. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 626227.
2. Giap, D. H., & Lam, T. J. (2015). Meeting the needs for more fish through aquaculture. *COSMOS*, 11(01), 55-68.
3. Liao, I. C., & Chao, N. H. (2009). Aquaculture and food crisis: opportunities and constraints. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 18(4), 564-569.
4. Sampels, S. (2014). Towards a More Sustainable Production of Fish as an Important Protein Source for Human Nutrition. *J. Fisheries Livest. Prod.* 2, 119. **doi: 10.4172/2332-2608.1000119.**
5. Hastein, T., Hjeltnes, B., Lillehaug, A., Utne Skare, J., Berntssen, M., & Lundebye, A. K. (2006). Food safety hazards that occur during the production stage: challenges for fish farming and the fishing industry. *Rev. Sci. Tech.* 25 (2), 607-625.
6. Bureau, D. P., & Hua, K. (2010). Towards effective nutritional management of waste outputs in aquaculture, with particular reference to salmonid aquaculture operations. *Aquaculture Research*, 41 (5), 777-792.
7. Ghaly, A. E., Ramakrishnan, V. V., Brooks, M. S., Budge, S. M., & Dave, D. (2013). Fish processing wastes as a potential source of proteins. *Amino acids and oils: A critical review. Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 5 (4), 107-129.
8. Liang, Q., Yuan, M., Xu, L., Lio, E., Zhang, F., Mou, H., & Secundo, F. (2022). Application of enzymes as a feed additive in aquaculture. *Marine Life Science & Technology*, 4 (2), 208-221.
9. Novelli, P. K., Barros, M. M., Pezzato, L. E., de Araujo, E. P., de Mattos Botelho, R., & Fleuri, L. F. (2017). Enzymes produced by agro-industrial co-products enhance digestible values for *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*): A significant animal feeding alternative. *Aquaculture*, 481, 1-7.
10. Simpson, B. K. (2000). Digestive proteinases from marine animals. *Food Science and Technology- New York - Marcel Dekker*, 191-214.
11. Bougatef, A. (2013). Trypsins from fish processing waste: characteristics and biotechnological applications-comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 57, 257-265.
12. Jesús-de la Cruz, K., Álvarez-González, C. A., Peña, E., Morales-Contreras, J. A., & Ávila-Fernández, Á. (2018). Fish trypsins: potential applications in biomedicine and prospects for production. *3 Biotech*, 8 (4), 186.
13. Khantaphant, S., & Benjakul, S. (2010). Purification and characterization of trypsin from the pyloric caeca of brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). *Food Chemistry*, 120 (3), 658-664.
14. Solar, I. I. (2009). Use and exchange of salmonid genetic resources relevant for food and aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1 (3-4), 174-196.
15. Naveed, M., Nadeem, F., Mehmood, T., Bilal, M., Anwar, Z., & Amjad, F. (2021). Protease-a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. *Catalysis Letters*, 151, 307-323.
16. Veloorvalappil, N. J., Robinson, B. S., Selvanesan, P., Sasidharan, S., Kizhakkepawothail, N. U., Sreedharan, S., ... & Sailas, B. (2013). Versatility of microbial proteases. *Advances in Enzyme Research*, 1(03), 39-51.
17. Gimenes, N. C., Silveira, E., & Tambourgi, E. B. (2021). An overview of proteases: production, downstream processes and industrial applications. *Separation & Purification Reviews*, 50 (3), 223-243.
18. Kolodziejska, I., & Sikorski, Z. E. (1996). Neutral and alkaline muscle proteases of marine fish and invertebrates a review. *Journal of Food Biochemistry*, 20 (3), 349-364.
19. Chong, A. S., Hashim, R., Chow-Yang, L., & Ali, A. B. (2002). Partial characterization and activities of proteases from the digestive tract of

discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). *Aquaculture*, 203 (3-4), 321-333.
20. Lerch, M. M., Halangk, W., & Krüger, B. (2002). The role of cysteine proteases in intracellular pancreatic serine protease activation. *Cellular Peptidases in Immune Functions and Diseases* 2, 403-410.
21. Adeli, A., & Baghaei, F. (2013). Production and supply of rainbow trout in Iran and the world. **https://api.semanticscholar.org/CorpusID:73682681.**
22. Food and Agriculture Organization (FAO). (2024). *Aquaculture Growth Potential in Iran (Islamic Republic)*. United Nations.
23. Alvarez-González, C. A., Cervantes-Trujano, M., Tovar-Ramírez, D., Conklin, D. E., Nolasco, H., Gisbert, E., & Piedrahita, R. (2005). Development of digestive enzymes in California halibut *Paralichthys californicus* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 31, 83-93.
24. Kolkovski, S. (2001). Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200 (1-2), 181-201.
25. Fallah, A. A., Siavash Saei-Dehkordi, S., & Nematollahi, A. (2011). Comparative assessment of proximate composition, physicochemical parameters, fatty acid profile and mineral content in farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science & Technology*, 46 (4), 767-773.
26. Namjou, F., Yeganeh, S., Madani, R., & Ouraji, H. (2023). Effect of dietary trypsin extracted from the viscera of yellowfin sea bream, (*Acanthopagrus latus*) on growth performance, body composition, and digestive trypsin activity in Sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*) larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 22 (3), 658-677.
27. Ai, Q., Mai, K., Zhang, W., Xu, W., Tan, B., Zhang, C., & Li, H. (2007). Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147 (2), 502-508.
28. Watanabe, T. A. K. E. S. H. I. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, 68 (2), 242-252.
29. Ganguly, S., Dora, K. C., Sarkar, S., & Chowdhury, S. (2013). Supplementation of prebiotics in fish feed: a review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 23, 195-199.
30. Yigit, N. O., Bahadir Koca, S., Didinen, B. I., & Diler, I. (2018). Effect of protease and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fed soybean meal-based diets. *Journal of Applied Animal Research*, 46 (1), 29-32.
31. Haghbayan, S., & Shamsaie Mehrgan, M. (2015). The effect of replacing fish meal in the diet with enzyme-treated soybean meal (HP310) on growth and body composition of rainbow trout fry. *Molecules*, 20 (12), 21058-21066.
32. Oliva-Teles, A., Gouveia, A. J., Gomes, E., & Rema, P. (1994). The effect of different processing treatments on soybean meal utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 124 (1-4), 343-349.
33. Assan, D., Kuebutornye, F. K. A., Hlordzi, V., Chen, H., Mraz, J., Mustapha, U. F., & Abarike, E. D. (2022). Effects of probiotics on digestive enzymes of fish (finfish and shellfish); status and prospects: a mini review. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 257, 110653.
34. Drew, M. D., Racz, V. J., Gauthier, R., & Thiessen, D. L. (2005). Effect of adding protease to coextruded flax: pea or canola: pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology*, 119 (1-2), 117-128.
35. Kemi Gabo, C., Masembe, C., Jere, L. W., & Sikawa, D. (2017). Effects of protease enzyme supplementation on

protein digestibility of legume and/or fish meal-based fish feeds. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 9 (7), 73-80.

36. 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.
37. 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.
38. Dabrowski, K., & Glogowski, J. (1977). A study of the application of proteolytic enzymes to fish food. *Aquaculture*, 12 (4), 349-360.
39. Schneider, T. L. S., & Lazzari, R. (2022). Nutritional implications of exogenous proteases in fish feeding. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, 28 (1), 70-93.
40. De Vecchi, S., & Coppes, Z. (1996). Marine fish digestive proteases-relevance to food industry and the south-west Atlantic region-a review. *Journal of Food Biochemistry*, 20 (1), 193-214.
41. 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.