The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.35, No.1, Sering.70, Spring 2022, p 28-43
Article type: Research paper

فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۵، شماره ۱، پیاپی ۷۰، بهار ۱۴۰۱، ص ۲۸-۴۳
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۸

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir

10.22051/JAB.2021.34309.1398

# بررسی اثرات پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا بر رشد، ترکیب بدن و بیان ژن‌های رشد و اشتهای فیل ماهی (*Huso huso*)

**محمودرضا ابراهیم‌نژادعربی[۱]، سیدمهدی حسینی‌فرد[*۲]، رضا چنگیزی[۳]، صابر وطن‌دوست[۳]، شایان قبادی[۳]**

## چکیده

***مقدمه:*** *این تحقیق با هدف بررسی اثرات افزایش پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا بر فاکتورهای رشد، مقدار کپی برداری ژن‌های GH، IGF و گرلین، و ترکیب بدن فیل ماهی (Huso huso) انجام شد. تعداد ۸۴۰ قطعه بچه فیل ماهی با میانگین وزنی ۵±۳۰ گرم در ۱۲ تانک ۲۴۰۰ لیتری با تعداد ۷۰ عدد در هر تانک توزیع شدند و با سطوح مختلف ۰ (شاهد)، ۳۰۰ (تیمار ۱)، ۴۰۰ (تیمار ۲) و ۵۰۰ (تیمار ۳) میلی‌گرم پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش زیست‌سنجی به‌منظور ارزیابی فاکتورهای رشد و نمونه‌برداری از بافت مغز، معده و کبد برای ارزیابی بیان ژن‌های مذکور انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش میزان مصرف پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا در جیره، وزن بدن، نرخ رشد ویژه و کارایی پروتئین افزایش یافت و بالاترین مقدار در تیمار ۳ (۵۰۰ میلی‌گرم) بود که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت ($P<0.05$). همچنین کپی برداری ژن‌های مطالعه شده روند افزایشی را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P<0.05$) و بیشترین میزان کپی برداری در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد. در ارتباط با ترکیب شیمیایی بدن نیز کمترین میزان پروتئین در تیمار ۳ بود اما در میزان پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بین شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0.05$). به منظور بهبود شرایط رشد فیل ماهی استفاده از ۵۰۰ mg پپتید حاصل از هیدرولیز آنزیمی کنجاله کانولا در کیلوگرم جیره غذای پرورشی پیشنهاد می گردد.*

***واژه های کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده، فاکتورهای رشد، فیل ماهی، کنجاله کانولا***

---

۱. دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.
۲ .استادیار گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.
۳ .استادیار گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. (*نویسنده مسؤول: sm_hosseinifard@yahoo.com)

## مقدمه

فیل‌ماهی یکی از مهمترین گونه‌های خانواده بزرگ تاس‌ماهیان است که به‌دلیل ارزشمندی گوشت و خاویار از نظر اقتصادی بسیار برای کشور ایران حائز اهمیت است. امروزه به‌دلیل صید بی‌رویه، کاهش زیستگاه‌های طبیعی، عفونت‌ها و بیماری‌ها و وجود بسترهای آلوده تخم‌ریزی در مسیر رودخانه ها، این گونه نیز در میان لیست گونه‌های به شدت در معرض خطر قرار گرفته است (Ahmdifar *et al.*, 2011). غذا یکی از مهمترین عوامل تعیین کننده در افزایش موفقیت آبزی‌پروری است که بخش عمده‌ای از هزینه‌های مزارع پرورش را شامل می شود. بنابراین استفاده از یک جیره غذایی متعادل و مناسب که هم نیاز غذایی آبزیان را تامین کند و هم از هزینه‌های اجرایی کارگاه پرورش بکاهد امری بسیار مهم تلقی می‌شود. وجود پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها و مواد انرژی‌زا در جیره غذایی برای رشد، تولیدمثل و دیگر عملکردهای فیزیولوژیک ضروری است (Webster & Lim, 2002).

پروتئین یکی از مهمترین و گران‌ترین مواد مغذی موجود در جیره بوده که نقش به‌سزایی در افزایش رشد دارد همچنین کیفیت گوشت تولید شده تا حد زیادی بستگی به پروتئین مصرفی ماهی دارد. اگرچه افزایش پروتئین جیره باعث بهبود عملکرد رشد می‌شود، هزینه تولید جیره را نیز افزایش می‌دهد (Ahmad, 2008). بنابراین در طول دوره پرورش ماهی تعیین میزان پروتئین مورد نیاز به‌منظور به‌دست آوردن بهترین بازده غذایی جهت صرفه‌جویی در هزینه‌ها و کاهش ورود نیتروژن به اکوسیستم آبی، که یکی از مهمترین فاکتورها در مدیریت آبزی‌پروری است، امری ضروریست (Abdel-Tawwab *et al.*, 2010). مشتقات حاصل از دانه‌های روغنی می‌توانند منبع مناسبی برای تامین پروتئین و انرژی غذای آبزیان باشند. افزایش استفاده از پروتئین‌های گیاهی در تغذیه آبزیان می‌تواند هزینه‌های استفاده از آرد ماهی را کاهش دهد (Jayant *et al.*, 2021).

امروزه در بسیاری از نقاط جهان استفاده از کنجاله کانولا به‌عنوان یک مکمل پروتئینی ارزان قیمت نسبت به سایر منابع پروتئینی گیاهی از جمله سویا و منابع پروتئینی حیوانی در تغذیه دام، طیور و آبزیان مورد توجه بسیاری قرار گرفته است. کانولا یکی از مهمترین دانه‌های روغنی است که کنجاله آن دومین فرآورده پروتئینی بعد از کنجاله سویا محسوب می‌شود و ۱۳ درصد از تولید جهانی کنجاله‌های پروتئینی (۲۵۳/۲۷ میلیون تن) را به خود اختصاص داده است. علی‌رغم ترکیب پروتئین مناسب کنجاله کانولا برای تغذیه انسان و حیوانات، وجود برخی ترکیبات ضدتغذیه‌ای مانند گلوکوزینولات‌ها، اسید فیتیک، سیناپین و تانن استفاده از این محصول را محدود کرده است (Hernández *et al.*, 2020). روش‌های مختلفی جهت به حداقل رساندن آثار منفی این مواد گزارش شده است که به تازگی هیدرولیز *in vitro* به‌دلیل کارایی بالا، مقدار آنزیم مصرفی کمتر و چالش در پیش روی ایمنی غذایی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (Carter & Sajjadi, 2011). در سال های اخیر با استفاده از علم بیوتکنولوژی تولید فرآورده های غذایی که دارای ارزش تغذیه ای بوده و سلامت مصرف کننده را تضمین می کند، شناخته شده است. یکی از این فرآورده‌ها،

پروتئین هیدرولیز شده است که سبب تولید پپتیدها با وزن ملکولی پایین با قابلیت جذب بالا و محلول در آب خواهد شد. پپتیدها که نخستین بار در سال ۱۸۸۰ میلادی توسط ناگلی به عنوان محرک رشد باکتریایی در یک محیط کشت معرفی شدند، با اندازه کوچک نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای متابولیک موجود زنده ایفا خواهند کرد (Wang *et al.*, 2017). هیدرولیز پروتئین سبب تولید پپتیدهایی می‌شود که دارای وزن ملکولی متفاوت هستند و قابلیت جذب و انحلال بیشتری در آب دارند از این‌رو می‌توانند سبب بهبود عملکرد رشد و تقویت سیستم ایمنی شوند (Ovissipour *et al.*, 2012). گرلین یک پپتید محرک اشتها در معده است که اخیراً شناسایی شده و به لیست پپتیدهای تنظیمی دستگاه گوارش اضافه‌شده است. این هورمون محرکی برای رهاسازی هورمون رشد و افزایش اشتها ست همچنین دارای نقش‌های متعدد فیزیولوژیکی دیگر است که مهم‌ترین فاکتور برای تنظیم ترشح گرلین، تغذیه است (Jönsson, 2013). غده هیپوفیز، هورمون رشد را تولید می‌کند که ترشح آن توسط هورمون‌های مترشحه از هیپوتالاموس تنظیم می شود. هورمون رشد به گیرنده آن در اندام هدف که عمدتاً کبد است، متصل می شود و منجر به ساخت و آزادسازی IGF-I می شود. IGF-I آزاد شده، در تنظیم ساخت پروتئین، لیپید، کربوهیدرات، متابولیسم مواد معدنی در سلول‌ها، تمایز و تکثیر سلول‌ها و سرانجام رشد بدن شرکت می‌کند. فعالیت IGF-I توسط گیرنده‌های آن تسهیل می‌شود. بافت‌های مختلف از جمله مغز، عضله، کبد و روده نیز به طور موضعی قادر به تولید IGF-I هستند، ولی اندام اصلی تولیدکننده IGF-I کبد است (Bertucci *et al.*, 2019). هورمون اصلی تنظیم کننده رشد حیوانات، هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین است. هورمون رشد از غده هیپوفیز می‌تواند با فعالیت مستقیم بر روی بافت هدف از جمله بافت ماهیچه‌ای و استخوان، رشد را تحریک کند (Nebo *et al.*, 2017). با توجه به اینکه IGF- I مسئول نهایی رشد در بدن است، بررسی آن یکی از بهترین روش‌ها برای مطالعات بیولوژیکی رشد است.

هدف از این پژوهش بررسی اثر پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا بر فاکتورهای رشد، ترکیب بدن و بیان ژن‌های GH، Ghrelin و IGF فیل ماهی است.

## مواد و روش ها

جهت انجام این تحقیق تعداد ۸۴۰ قطعه بچه فیل ماهی (*Huso huso*) از کارگاه تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه و در ۱۲ تانک پرورشی با حجم آب حدود ۲۴۰۰ لیتر با تراکم ۷۰ قطعه در هر تانک با میانگین وزنی ۵±۳۰ گرم به سالن پرورش ماهی منتقل شدند. ابتدا ماهیان جهت انگل زدایی با آب نمک ۲ در صد به مدت ۱۵ دقیقه حمام داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت جهت کاهش تلفات احتمالی و استرس، غذادهی نشدند. سازگاری اولیه با تراکم ۷۰ عدد ماهی در هر مخزن ۲۴۰۰ لیتری متصل به پمپ

هوا به مدت یک هفته انجام شد. طی این مدت روزانه ۵۰ در صد آب مخازن با آب شهری کلرزدایی شده، تعویض شد و همه روزه فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب جهت تامین شرایط اپتیمم اندازه‌گیری می‌شد.

## طرح آزمایش و مدیریت مخازن

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل گروه تغذیه شده با صفر، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم پروتئین هیدرولیز شده کانولا در کیلوگرم به جیره تجاری، با چرب نمودن سطح جیره با روغن ماهی (به مقدار یکسان برای تمای جیره‌ها) اضافه شد (Ostaszewska *et al.*, 2010).

## تهیه غذا، مکمل غذا و غذادهی

مکمل غذایی استفاده شده در این آزمایش، پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا بود که از شرکت توسعه و کشت دانه‌های روغنی تهیه شد و سپس در ۴ سطح ۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، به جیره پایه (شرکت خوراک دام و آبزیان مازندران) با آغشته کردن سطح جیره با روغن ماهی (به مقدار یکسان برای تمام جیره‌ها)، اضافه و پس از خشک شدن و تا زمان مصرف به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. لازم به ذکر است ماهیان به‌منظور تصحیح میزان غذا بر اساس بیومس، در ابتدا و انتهای دوره و همچنین در طول دوره آزمایش و در فواصل زمانی ۱۴ روز، زیست‌سنجی می‌شدند. غذادهی بر اساس ۵ درصد وزن بیومس زنده موجود در تانک، به‌صورت دستی انجام می‌شد. میزان غذای مورد نیاز، هر روز طی ۳ وعده از ساعت ۹ صبح تا ۱۴ در اختیار ماهی ها قرار می‌گرفت. پس از هشت هفته تغذیه، زیست‌سنجی نهایی انجام شد و فاکتورهای رشد اندازه‌گیری شد (Yıldız *et al.*, 2018).

افزایش وزن بدن = وزن نهایی – وزن اولیه

نرخ رشد ویژه = لگاریتم (وزن نهایی – لگاریتم وزن اولیه / طول دوره پرورش)×۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = مقدار کل غذای خورده شده / مقدار کل وزن اضافه شده

کارایی پروتئین = مقدار وزن اضافه شده / درصد پروتئین جیره

بقا = تعداد ماهیان بعد از دوره پرورش – تعداد ماهیان ابتدای دوره پرورش

## ترکیب شیمیایی لاشه

در پایان دوره آزمایش به‌منظور آنالیز تقریبی ترکیب لاشه، تعداد ۳ عدد ماهی از هر تانک به‌طور تصادفی صید و پس از جدا کردن امعاء و احشـــاء و ســـر و بالـــه ، فیله به‌دست آمده کاملا چرخ شد و پس از کدگذاری به فریزر C° ۲۰- منقل شدند. تجزیه شیمیایی ترکیب لاشه بر اساس روش‌های استاندارد AOAC به شرح زیر انجام شد (Yıldız *et al.*, 2018):

رطوبت: با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و توزین آن پس از خشک شدن و رسیدن به وزن ثابت، به مدت ۲۴ ساعت.

پروتئین: میزان ازت کل با استفاده از روش کجلدال تعیین گردید و با اعمال ضریب ۶/۲۵ مقدار پروتئین محاسبه شد.

چربی: با استفاده از روش سوکسله و از طریق حل کردن چربی در اتر اندازه‌گیری شد.

خاکستر: از طریق سوزاندن نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و توزین پس از خنک شدن.

## نمونه برداری از بافت برای اندازه گیری بیان نسبی ژن

تعداد ۳ قطعه ماهی از هر تکرار بصورت تصادفی انتخاب و ماهیان قبل از نمونه‌برداری توسط پودر گل میخک (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بی‌هوش شدند (Mohseni *et al.*, 2014) و پس از آن سطح بدن با پنبه آغشته به الکل استریل و به سرعت بافت‌های مذکور جمع‌آوری و به داخل تیوپ‌های از قبل اســـتریل شـــده انتقال داده شـــدند. تیوپ‌ها بلافاصـــله به تانک ازت منتقل شـــدند و تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند (Yarahmadi *et al.*, 2014).

**استخراج RNA و سنتز cDNA :** استخراج RNA در مطالعات بیان ژن یکی از حساس‌ترین مراحل انجام کار است که باید با حفظ شرایط استریل و حفظ دمای نمونه‌ها بتوان RNA با کیفیت مناسب استخراج شود. در این آزمایش استخراج RNA براساس روش Awad و همکاران (Awad *et al.*, 2010) توسط ماده هضم‌کننده RNA- Xplus (سینا ژن، ایران) انجام شد.

**انجام Real time PCR :** PCR در تیوپ‌های مخصـــوص آن و در ۴ تکرار تکنیکی برای هر تیمار صـــورت گرفت که محتویات هر تیوپ ۲۰ میکرولیتر بود. برای ساخت مستر ۱۰ میکرولیتر بافر سایبر گرین، ۱ میکرولیتر آغازگر پیش رونده ژن هدف، ۱ میکرولیتر آغازگر پس‌رونده ژن هدف، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ پلیمراز و ۶/۴ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز استفاده شد. هر ویال مخصوص PCR، محتوی ۲ میکرولیتر cDNA و ۱۸ میکرولیتر مستر بود و مراحل آن در دستگاه، شامل مرحله واسرشت به مدت ۱۰ دقیقه

(°c ۹۵)، مرحله اتصـــال به‌مدت ۱۵ ثانیه (°c ۹۵) و مرحله طویل شـــدن به‌مدت ۳۰ دقیقه برای ژن‌های مذکور در دمای °c ۵۹ و همچنین به‌مدت ۱۵ ثانیه در دمای °c ۷۲ انجام شد (Awad *et al.*, 2010).

**طراحی پرایمر:** طبق جدول ۱ جهت مطالعه بیان ژن از پرایمرهای اختصاصی ژن های هدف و رفرنس که بر اساس توالی های موجود در بانک ژن NCBI طراحی شدند استفاده گردید.

**جدول ۱- توالی پرایمرهای (IGF و Ghrelin وGH) و ژن رفرنس (RPL)**

**Primer sequencing of IGF, Ghrelin, GH and RPL Gene**

| نام پرایمر | توالی | طول قطعه(جفت باز) | دمای ذوب | شماره دسترسی |
|---|---|---|---|---|
| GH-F | TGTGGCTCTCATGAGGGAT | 200 | 59 | AB517597.1 |
| GH- R | CTGCATTTCATCACTTTCAGG | | | |
| IGF- F | GACACGCTTTGTGTGTGGAG | 190 | 59 | AB512770.1 |
| IGF- R | ACTCGTTCACGATGCCCCTGTGGTG | | | |
| Ghre-F | AAGATGACACGTCGAGATTCAGAA | 210 | 59 | AM055940.1 |
| Ghre-R | GACCATCTTGTATTGAAAGCATCC | | | |
| RPL- F | GTGGTCAAACTCCGCAAGA | 167 | 59 | HQ449564 |
| RPL- R | GCCAGTAAGGAGGATGAGGA | | | |

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

بیان کمی ژن‌های IGF، Ghrelin و GH با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ توسط نرم افزار اکسل انجام شد (Livak & Schmittgen, 2001). تجزیه و تحلیل داده‌ها مشتمل بر فاکتورهای رشد، ترکیب بدن و بیان ژن پس از هشت هفته در تابستان ۱۳۹۸ همراه با اتمام عملیات میدانی تحقیق صورت پذیرفت. در این تحقیق از طرح فاکتوریل استفاده شد. در ابتدا نرمال بودن داده ها توسط آزمون کلموگروف- اسمیرنوف بررسی گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه one way- ANOVA و مقایسه میانگین بین تیمارها به دلیل معنی‌دار شدن تفاوت ها در سطوح آزمایش براساس آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند.

## نتایج

## نتایج حاصل از ارزیابی فاکتورهای رشد

نتایج به‌دست آمده از ارزیابی عملکرد رشد حاصل از پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که میزان وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و کارایی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم پروتئین هیدرولیز شده کانولا مقدار بیشتری داشته که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P<0.05$). بین جیره‌های ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$) اما این دو گروه با شاهد اختلافشان معنی‌دار است ($P<0.05$). بیشترین ضریب تبدیل غذایی در گروه شاهد و کمترین میزان در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بود که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت ($P<0.05$). میزان بقا نیز با افزایش میزان پروتئین در جیره افزایش یافت.

**جدول ۲- نتایج حاصل از سطوح مختلف پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا در جیره**

**Result for deferent protein level of hydrolyzed canola meal in diet**

| عملکرد رشد | شاهد | تیمار ۱ (۳۰۰میلی‌گرم) | تیمار ۲ (۴۰۰میلی‌گرم) | تیمار۳ (۵۰۰میلی‌گرم) | SEM | p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| وزن اولیه (گرم) | 29.98±0.02 | 29.97±0.05 | 30.06±0.11 | 29.81±0.05 | 0.005 | 0.89 |
| وزن نهایی (گرم) | 278.34±2.89$^{c}$ | 294.71±15.13$^{b}$ | 301.59±3.69$^{b}$ | 321.90±2.15$^{a}$ | 0.976 | 0.00 |
| افزایش وزن (گرم) | 248.36±2.90$^{c}$ | 264.74±15.08$^{b}$ | 271.53±3.68$^{b}$ | 292.09±2.16$^{a}$ | 0.980 | 0.01 |
| درصد افزایش وزن بدن (درصد) | 828.23±10.10$^{c}$ | 883.21±49.06$^{b}$ | 903.29±12.28$^{b}$ | 979.62±7.87$^{a}$ | 3.391 | 0.01 |
| ضریب تبدیل غذایی | 1.08±0.03$^{a}$ | 0.98±0.05$^{b}$ | 0.94±0.02$^{b}$ | 0.88±0.01$^{c}$ | 0.004 | 0.00 |
| نرخ رشد ویژه | 3.97±0.01$^{c}$ | 4.08±0.08$^{b}$ | 4.11±0.02$^{b}$ | 4.24±0.01$^{a}$ | 0.006 | 0.02 |
| کارایی پروتئین | 1.76±0.05$^{c}$ | 1.91±0.11$^{b}$ | 2.03±0.04$^{b}$ | 2.16±0.03$^{a}$ | 0.009 | 0.01 |
| شاخص وضعیت | 0.48±0.01$^{a}$ | 0.45±0.03$^{ab}$ | 0.42±0.00$^{bc}$ | 0.40±0.01$^{c}$ | 0.001 | 0.04 |
| طول کل نهایی | 38.60±1.36$^{b}$ | 40.28±1.46$^{ab}$ | 41.33±1.12$^{ab}$ | 42.89±1.11$^{a}$ | 0.097 | 0.04 |
| بقا(درصد) | 98 | 99 | 99 | 100 | 0.044 | 0.84 |

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده معنی‌دار بودن داده‌ها است

## ترکیب شیمیایی بدن

نتایج به‌دست آمده از آنالیز لاشه طبق جدول شماره ۳ نشان داد که با افزایش مصرف پروتئین در جیره، محتوای پروتئینی لاشه کاهش یافته است اما این کاهش در سطح معنی‌دار مشاهده نشد (P>0.05). همچنین میزان خاکستر، رطوبت و چربی نیز در تیمارها و گروه شاهد باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>0.05).

**جدول ۳- آنالیز شیمیایی ترکیب لاشه نمونه‌های آزمایشی**

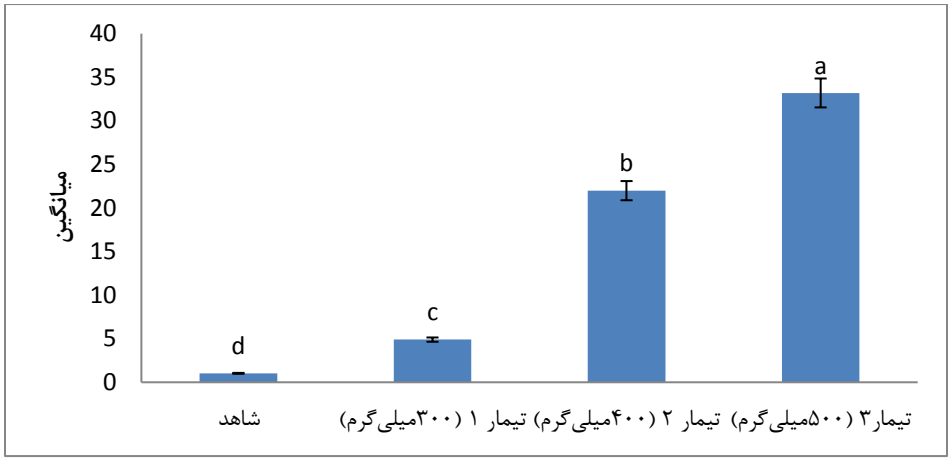
**Body composition test**

| ردیف | پروتئین | چربی | رطوبت | خاکستر | SEM | p-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | 19.02±0.12 | 11.48±0.22 | 65.22±6.32 | 2.8±0.06 | 0.015 | 0.67 |
| **تیمار ۱ (۳۰۰میلی‌گرم)** | 18.85±0.21 | 11.85±0.30 | 65.73±7.41 | 2.45±0.03 | 0.011 | 0.89 |
| **تیمار ۲ (۴۰۰میلی‌گرم)** | 18.97±0.16 | 11.36±0.39 | 65.45±7.21 | 2.13±0.01 | 0.014 | 0.45 |
| **تیمار۳ (۵۰۰میلی‌گرم)** | 18.95±0.21 | 11.89±0.41 | 65.33±5.63 | 2.36±0.02 | 0.003 | 0.53 |

عدم نمایش حروف معنی‌داری نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد

## نتایج به‌دست آمده از بیان ژن

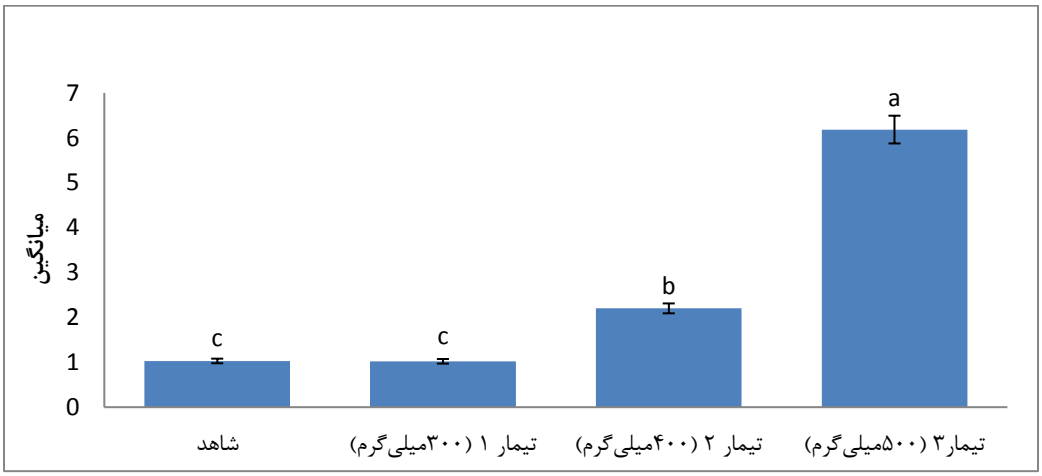
نتایج به‌دست آمده از از بیان ژن گرلین در نمودار ۱ خلاصه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود بیشترین میزان بیان این ژن در تیمار ۳ (۵۰۰ میلی‌گرم) وجود دارد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد دارد (P<0.05). نمودار بیانگر روند افزایشی میزان بیان، همراستا با افزایش پروتئین مصرفی در جیره است. کمترین میزان بیان این ژن در گروه شاهد مشاهده می‌شود.




**نمودار۱- نتایج حاصل از ارزیابی بیان نسبی ژن گرلین**

**Chart1. Gherelin Gene assessment**

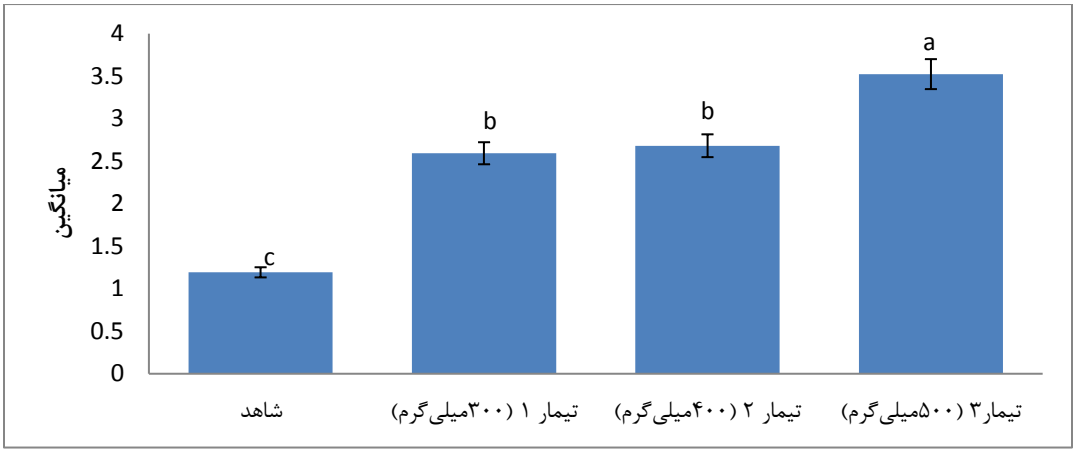
نمودار ۲ نشان دهنده میزان بیان ژن رشد است. بالاترین مقدار بیان نسبی این ژن در گروه ماهیان تغذیه شده با بالاترین سطح پروتئین حاصل از کنجاله کانولا مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت ($P<0.05$). بین تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم و شاهد اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن رشد وجود نداشت و به‌طور کلی با افزایش میزان مصرف پروتئین در جیره میزان بیان ژن رشد روندی افزایشی نشان داد.




**نمودار۲- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن رشد**

**Chart 2. Growth Gene assessment**

میزان بیان ژن فاکتور شبه انسولینی در نمودار ۳ خلاصه شده است. مقدار بیان این ژن نیز الگویی مشابه با ژن گرلین و رشد را نشان داد. بالاترین سطح بیان ژن IGF در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم و کمترین سطح بیان در شاهد بود و بین تیمار ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>0.05$).




**نمودار۳- نتایج حاصل از ارزیابی بیان ژن IGF**

**Chart 3. IGF Gene assessment**

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حا ضر ا ضافه کردن پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا تاثیر مثبتی بر فاکتورهای ر شد و همچنین بیان ژن‌های مرتبط با ا شتها، ر شد و فاکتور شبه انسولینی دا شت. به‌طوریکه بالاترین سطح ا ستفاده از پروتئین (۵۰۰ میلی‌گرم) بیشترین میزان افزایش وزن، نرخ ر شد ویژه، نرخ کارایی پروتئین و کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی را ن شان داد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P<0.05$). فیل ماهی یک گونه گوشتخوار است و لذا جهت انجام فعالیت‌های آنابولیک (تولید بافت و رشد) و فعالیت های کاتابولیک به پروتئین، چربی و کربوهیدرات احتیاج دارند. در واقع چرخه تولید انرژی از پروتئین از طریق آمین‌زدایی صورت می‌گیرد که این امر موجب افزایش ترکیبات آمونیاکی موجود در خون می شود و درنتیجه کاهش کارایی اکسیژن ر سانی از خون به بافت‌ها را به دنبال دارد و روند سوخت و ساز و ر شد را تحت تاثیر قرار می‌دهد(Lemarié *et al.*, 2004). به طورکلی انتظار می‌رود که استفاده از منابع پروتئین گیاهی به‌جای منابع پروتئینی دریایی در رژیم غذایی ماهیان گوشتخوار دارای اثرات منفی بر ر شد و تغذیه با شد. بنابراین حفظ ر شد و کارایی تغذیه با ا ستفاده از عنا صر غذایی گیاهی در سطح بالا در ماهیان گو شتخوار امری دشوار است زیرا این منابع در محتوای تغذیه‌ای تفاوت‌هایی باهم دارند که ممکن است احتیاجات غذایی گونه را برآورده نکند (Jayant *et al.*, 2021).

پروتئین کنجاله کانولا به‌عنوان یک جایگزین بالقوه برای آرد ماهی موضوع مورد تحقیق برای بسیاری از پژوهش‌های انجام شده روی ماهیان گونه گو شتخوار بوده است (Drew *et al.*, 2007, Carter & Sajjadi, 2011, Ngo *et al.*, 2016, Mohammadi *et al.*, 2020). همچنین پروتئین به‌دست آمده از کانولا یک منبع با کیفیت و قابل دسترس برای جانوران آبزی در مقایسه با آرد ماهی تولید شده است و ارزش تغذیه‌ای کنجاله کانولا بستگی به نسبت آرد ماهی به محتوای روغنی باقیمانده و سطح گلوکوزینولات دارد

(Jayant *et al.*, 2021). در صورت وجود مقادیر زیادی گلوکوزینولات که یکی از عوامل ضد تغذیه‌ای است اثرات نامطلوبی از جمله، عدم تمایل به گرفتن غذا، بزرگ شدن غده تیروئید، کاهش سطح هورمون‌های ترشح شده از تیروئید به پلاسما، ناهنجاری‌هایی در اندام‌های کلیه و کبد و حتی مرگ به‌وجود می‌آید (Collins *et al.*, 2013). گزارشات متعددی در ارتباط با قابلیت هضم و ارزش غذایی کانولا برای گونه‌های مختلف آبزیان وجود دارد. پژوهشی در ارتباط با قابلیت هضم پروتئین کانولا در جیره ماهی باس نواری نشان داد، هنگامی‌که سطح فیبر، گلوکوزینولات، سیناپین، کربوهیدرات و فیتات در کانولا کاهش پیدا کند قابلیت هضم پروتئین و میزان انرژی افزایش می‌یابد. مقدار بالای پروتئین و مقدار کم عوامل ضد تغذیه‌ای و کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم موجود در پروتئین استخراج شده از کانولا نسبت به گیاه کانولا باعث افزایش قابلیت هضم پروتئین و افزایش رشد در ماهی باس نواری شد (Ramena *et al.*, 2020).

در این مطالعه نیز درجه هیدرولیز پروتئین تاثیر مثبتی در به‌وجود آوردن دی و تری پپتیدها و متعاقبا بهبود عملکرد رشد داشت. پپتیدها می‌توانند قبل از هیدرولیز شدن به آمینواسید در تنظیم فعالیت آنزیم‌های هضمی و جذب مواد مغذی در روده نقش مهمی ایفا کنند و از این طریق باعث افزایش رشد شوند(Ostaszewska *et al.*, 2010). Gui و همکاران (Gui *et al.*, 2010) بیان داشتند که استفاده از ۱۰ و ۵۰ گرم پروتئین هیدرولیز شده تخم کتان در جیره ماهی کپور باعث بهبود عملکرد رشد، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی شد، همچنین عنوان کردند که تغذیه ماهیان کپور با مقادیر بالاتر از ۵۰ گرم پروتئین هیدرولیز شده اثرات زیان‌باری را به‌دنبال نخواهد داشت آن‌ها اظهار کردند که پپتیدهای حاصل از هیدرولیز پروتئین به‌دلیل داشتن وزن ملکولی کمتر از پروتئین قادرند فعالیت بیشتری داشته و با دیگر ترکیبات غذایی واکنش داشته باشند. Collins و همکاران (Collins *et al.*, 2013) بیان کردند که دفع نیتروژن در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با پروتئین هیدرولیز شده بالاتر از ماهیانی است که با جیره حاوی آرد ماهی تغذیه شدند و این امر به‌دلیل سرعت هضم و جذب جیره حاوی پروتئین هیدرولیز شده است که هم می‌تواند روی رشد اثرات مثبتی داشته باشد و هم منجر به افزایش کاتابولیسم آمینوا سیدها و افزایش میزان آن‌ها در پلاسما شود. مطالعاتی در ارتباط با جایگزین کردن پروتئین‌های گیاهی در جیره در سطح بهینه به جای آرد ماهی و تاثیر مثبت آن بر عملکرد رشد ماهی انجام شده است در این مطالعات تاکید بسیاری بر جایگزینی تا سطح بهینه شده است چرا که گزارشاتی نیز مبنی بر تاثیر منفی بر عملکرد رشد به هنگام استفاده از پروتئین گیاهی بالاتر از سطح اپتیمم وجود دارد. با افزایش پروتئین جیره مقداری از پروتئین در مسیر تولید انرژی هدر رفته و درنتیجه شاخص‌های رشد را کاهش می‌دهد. زیرا با افزایش سطح پروتئین جیره، آمینوا سیدهای اضافه موجود در غذا به‌طور مستقیم در بدن ذخیره نمی شوند و صرف تولید انرژی می‌گردند. در این تحقیق استفاده از پروتئین کنجاله کانولا باعث بهبود نرخ رشد در فیل ماهی شد. می‌توان چنین اذعان نمود که استفاده از پروتئین کنجاله

کانولا قادر ا ست کمبود هیـستیدین و تریپتوفان آرد ماهی را جبران کند به‌طوریکه این دو ماده به خوبی یکدیگر را تکمیل می‌کنند. Przybył و همکاران (Przybył *et al.*, 2006) گزارش کردند که جایگزینی آرد ماهی با منبع پروتئین گیاهی (کنجاله کانولا و کنسانتره سویا) در جیره غذایی تاس ماهی استرلیاد می‌تواند تا ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز جیره را تامین کند. همچنین شفائی‌پور و همکاران نشان دادند که جایگزین کردن پروتئین کنجاله کانولا به جای آرد ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا تا سطح ۳۰ درصد هیچ تاثیر منفی بر وزن نهایی و شاخص‌های رشد ایجاد نکرد. بنابراین استفاده از پروتئین کنجاله کانولا با توجه به قابلیت دسترسی آسان و ارزان‌تر بودن نسبت به آرد ماهی می‌تواند جایگزین مناسبی باشد (Shafaeipour *et al.*, 2008).

نتایج به‌د ست آمده از آنالیز لا شه نیز حاکی از این بود که با افزایش سطح م صرف پروتئین هیدرولیز شده در جیره، محتوای پروتئینی بدن کاهش یافته اســت. با هیدرولیز شــدن پروتئین، پپتیدها و آمینواســیدهایی با وزن ملکولی پایین‌تر از پروتئین بوجود می‌آیند که می‌توانند به راحتی با متصل شده به دیگر ترکیبات مغذی غذا در بسیاری از واکنش‌های تغذیه‌ای شرکت کنند و محتوای پروتئینی بدن را افزایش دهند اما در این تحقیق با افزایش سطح پروتئین هیدرولیز شده مقدار پروتئین لا شه کاهش یافته که این امر می‌تواند ناشی از عدم بالانس اسیدآمینه‌های بوجود آمده از هضم و جذب سریع پروتئین جیره باشد (Drew *et al.*, 2007).

GH و IGF از طریق برهمکنش پیچیده‌ای بین ترکیبات مختلف می‌توانند نقش مهمی در تحریک ر شد دا شته با شد. سطوح GH موجود در پلا سما باعث افزایش تر شح IGF کبدی می شود که این امر ارتباط مثبتی با میزان نرخ ر شد دارد( Sissener *et al.*, 2013). IGF هورمونی مهم با عملکردهای بیولوژیک متعدد از جمله تنظیم متابولی سم سلولی، ت سریع ر شد سلول، تق سیم و تمایز سلول، بهبود تو سعه جنین، تنظیم ر شد و تنظیم ف شار ا سمزی ا ست. همچنین هورمونی ب سیار مهم در ر شد و تولیدمثل ماهی مح سوب می شود(Delgadin *et al.*, 2018). میزان بیان این هورمون در پ ستانداران و پرندگان به تغذیه ب ستگی دارد در واقع برای تر شح هورمون ر شد دو نوع ر سپتور GHR-I و GHR-II وجود دارد که ر سپتور I نقش اصلی را در تر شح هورمون ر شد ایفا می‌کند و عملکرد این رسپتور در ماهیان گوشتخوار تحت تاثیر تغذیه قرار می‌گیرد از طرفی نیز نقش اساسی در تنظیم ترشح IGF دارد. میزان بیان GH و IGF و سطح این دو هورمون در پلا سما می‌تواند تحت تاثیر عواملی از جمله غذاگیری، محتوا و منبع پروتئین و پروفایل اســید آمینه قرار گیرد و متعاقبا رشــد را تحت تاثیر قرار دهد(Sissener *et al.*, 2013). بنابراین می‌توان چنین اســتنباط کرد که افزایش بیان GH و IGF نیز به‌طور م ستقیم تحت تاثیر مثبت پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا قرار گرفته‌اند. گرلین تحت تاثیر غده هیپوفیز و مســئول تحریک ترشــح هورمون رشــد اســت اگرچه در این تحقیق پروتئین کنجاله کانولا باعث افزایش میزان بیان گرلین شده است. اما نوع مکانیسم اثرگذاری این مکمل بر بیان ژن گرلین هنوز مشخص نیست طبق مطالعه چن و همکاران ( Chen *et al.*, 2020) می‌توان چنین ا ستنباط کرد افزایش گرلین با افزایش هورمون ر شد همراه ا ست و همچنین افزایش بیان ژن گرلین

نتیجه افزایش تمایل ماهی به غذاگیری اســت. چون ترکیباتی همچون ســاپونین کانولا که باعث ایجاد مزه تلخ غذا می‌شــود کاهش یافته همچنین به‌دلیل حذف فیبر و فیتات از کانولا نیز میزان خوش خوراکی غذا و به تبع افزایش قابلیت هضــم مواد مغذی و بهبود ضریب تبدیل غذایی نیز از اثرات مثبت استفاده از پروتئین هیدرولیز شده کنجاله کانولا است.

به‌طور کل از این تحقیق می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از mg ۵۰۰ پپتید حاصل از هیدرولیزآنزیمی کنجاله کانولا در کیلو گرم در جیره ماهیان گو شتخوار که به در صد بالایی از پروتئین در جیره غذای خود نیاز دارند می‌تواند بهبود عملکرد ر شد را از طریق بیان ژن‌های مرتبط با ر شد و ا شتها به‌دنبال دا شته با شد. لذا میتوان این عن صر را به عنوان یک ماده مغذی منا سب به پرورش دهندگان ماهی پی شنهاد نمود و به عنوان یک راهکار منا سب و مقرون به صرفه جهت د ستیابی به افزایش ر شد در ماهیان ا ستفاده شود هر چند ارائه یک نتیجه گیری نهایی در این را ستا نیاز به مطالعات گ سترده ای در ابعادگوناگون به ویژه از نقطه نظر فیزیولوژیکی دارد.

## منابع


Abdel-Tawwab, M.;Ahmad, M. H.;Khattab, Y. A. E. and Shalaby, A. M. E. (2010). Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture, 298(3): 267-274.

Ahmad, M. (2008). Response of African Catfish, *Clarias gariepinus*, to Different Dietary Protein and Lipid Levels in Practical Diets. Journal of the World Aquaculture Society, 39: 541-548.

Ahmdifar, E.;Akrami, R.;Ghelichi, A. and Mohammadi Zarejabad, A. (2011). Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. Comparative Clinical Pathology, 20(5): 447-451.

Awad, A. M.;Abd El-Hamid, H. S.;Abou Rawash, A. A. and Ibrahim, H. H. (2010). Detection of reticuloendotheliosis virus as a contaminant of fowl pox vaccines. Poultry Science, 89(11): 2389-2395.

Bertucci, J. I.;Blanco, A. M.;Sundarrajan, L.;Rajeswari, J. J.;Velasco, C. and Unniappan, S. (2019). Nutrient Regulation of Endocrine Factors Influencing Feeding and Growth in Fish. Frontiers in endocrinology, 10: 83-83.

Carter, C. G. and Sajjadi, M. (2011). Low fishmeal diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L., using soy protein concentrate treated with graded levels of phytase. Aquaculture International, 19(3): 431-444.

Chen, B.;Xiao, W.;Zou, Z.;Zhu, J.;Li, D.;Yu, J. and Yang, H. (2020). Ghrelin gene single nucleotide polymorphisms and their effects on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth. Aquaculture Reports, 18: 100469.

Collins, S. A.;Øverland, M.;Skrede, A. and Drew, M. D. (2013). Effect of plant protein sources on growth rate in salmonids: Meta-analysis of dietary inclusion of soybean, pea and canola/rapeseed meals and protein concentrates. Aquaculture, 400-401: 85-100.

Delgadin, T. H.;Simó, I.;Pérez Sirkin, D. I.;Di Yorio, M. P.;Arranz, S. E. and Vissio, P. G. (2018). Cichlasoma dimerus responds to refeeding with a partial compensatory growth associated with an increment of the feed conversion efficiency and a rapid recovery of GH/IGFs axis. Aquaculture Nutrition, 24(4): 1234-1243.

Drew, M. D.;Ogunkoya, A. E.;Janz, D. M. and Van Kessel, A. G. (2007). Dietary influence of replacing fish meal and oil with canola protein concentrate and vegetable oils on growth performance, fatty acid composition and organochlorine residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 267(1): 260-268.

Gui, D.;Liu, W.;Shao, X. and Xu, W. (2010). Effects of different dietary levels of cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestibility, body composition and serum biochemical indices in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Animal Feed Science and Technology, 156(3): 112-120.

Hernández, C.;Olmeda-Guerrero, L.;Chávez-Sánchez, M. C.;Ibarra-Castro, L.;Gaxiola-Cortez, G. and Martínez-Cárdenas, L. (2020). Nutritional evaluation of canola meal as fish meal replacement for juvenile spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*): Effects on growth performance, hematological parameters, body composition, and nutrient digestibility. Animal Feed Science and Technology, 269: 114683.

Jayant, M.;Sahu, N. P.;Deo, A. D.;Gupta, S.;Rajendran, K. V.;Garg, C. K.;Meena, D. K. and Wagde, M. S. (2021). Effective valorization of bio-processed castor kernel meal based fish feed supplements concomitant with oil extraction processing industry: A prolific way towards greening of landscaping/environment. Environmental Technology & Innovation, 21: 101320.

Jönsson, E. (2013). The role of ghrelin in energy balance regulation in fish. General and Comparative Endocrinology, 187: 79-85.

Lemarié, G.;Dosdat, A.;Covès, D.;Dutto, G.;Gasset, E. and Person-Le Ruyet, J. (2004). Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture, 229(1): 479-491.

Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. – Methods 25: 402-408

Mohammadi, M.;Imani, A.;Farhangi, M.;Gharaei, A. and Hafezieh, M. (2020). Replacement of fishmeal with processed canola meal in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Growth performance, mucosal innate immunity, hepatic oxidative status, liver and intestine histology. Aquaculture, 518: 734824.

Mohseni, M.;Pourali, H. R.;Kazemi, R. and Bai, S. C. (2014). Evaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile beluga (*Huso huso* L.1758). Aquaculture Research, 45(11): 1832-1841.

Nebo, C.;Overturf, K.;Brezas, A.;Dal-Pai-Silva, M. and Portella, M. C. (2017). Alteration in expression of atrogenes and IGF-1 induced by fasting in Nile tilapia Oreochromis niloticus juveniles. International Aquatic Research, 9(4): 361-372.

Ngo, D. T.;Wade, N. M.;Pirozzi, I. and Glencross, B. D. (2016). Effects of canola meal on growth, feed utilisation, plasma biochemistry, histology of digestive organs and hepatic gene expression of barramundi (Asian seabass; *Lates calcarifer*). Aquaculture, 464: 95-105.

Ostaszewska, T.;Kamaszewski, M.;Grochowski, P.;Dabrowski, K.;Verri, T.;Aksakal, E.;Szatkowska, I.;Nowak, Z. and Dobosz, S. (2010). The effect of peptide absorption on PepT1 gene expression and digestive system hormones in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 155(1): 107-114.

Ovissipour, M.;Safari, R.;Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B. (2012). Chemical and Biochemical Hydrolysis of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Visceral Protein. Food and Bioprocess Technology, 5(2): 460-465.

Przybył, A.;Mazurkiewicz, J. and Rożek, W. (2006). Partial substitution of fish meal with soybean protein concentrate and extracted rapeseed meal in the diet of sterlet (*Acipenser ruthenus*). Journal of Applied Ichthyology, 22(s1): 298-302.

Ramena, Y.;Rawles, S. D.;Lochmann, R.;Gaylord, T. G.;McEntire, M. E.;Farmer, B. D.;Baumgartner, W.;Webster, C. D.;Beck, B. H.;Green, B. W. and Barnett, L. M. (2020). Growth, nutrient retention, innate immune response, and intestinal morphology of juvenile, soy-naïve hybrid striped bass, *Morone saxatilis* x *M. chrysops* fed commercial-type, soy-based, ideal protein, fish meal replacement diets. Aquaculture, 522: 735150.

Shafaeipour, A.;YAVARI, V.;Falahatkar, B.;Maremmazi, J. G. and Gorjipour, E. (2008). Effects of canola meal on physiological and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 14(2): 110-119.

Sissener, N. H.;Hemre, G.-I.;Espe, M.;Sanden, M.;Torstensen, B. E. and Hevrøy, E. M. (2013). Effects of plant-based diets on glucose and amino acid metabolism, leptin, ghrelin and GH-IGF system regulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture Nutrition, 19(3): 399-412.

Wang, J.;Yan, X.;Lu, R.;Meng, X. and Nie, G. (2017). Peptide transporter 1 (PepT1) in fish: A review. Aquaculture and Fisheries, 2(5): 193-206.

Webster, C. D. and Lim, C. (2002). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture, CABI.

Yarahmadi, P.;Kolangi Miandare, H.;Farahmand, H.;Mirvaghefi, A. and Hoseinifar, S. H. (2014). Dietary fermentable fiber upregulated immune related genes expression, increased innate immune response and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against Aeromonas hydrophila. Fish & Shellfish Immunology, 41(2): 326-331.

Yıldız, M.;Eroldoğan, T. O.;Ofori-Mensah, S.;Engin, K. and Baltacı, M. A. (2018). The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. Aquaculture, 488: 123-133.

# The effects of hydrolyzed canola meal protein on growth, body composition and expression of growth genes, and appetite of beluga fish (*Huso huso*)

**M. Ebrahimnezhadarabi[1], S.M. Hoseinifard[2*], R. Changizi[1], S. Vatandoust[1], Sh. Ghobadi[1]**

Received: 19.1.2021
Accepted: 29.6.2021

## Abstract

*The aim of this study was to investigate the effects of increasing the hydrolyzed protein of canola meal on growth factors, expression of GH, IGF, and ghrelin genes, and body composition of beluga (Huso huso) juvenile. For this purpose, 840 juveniles beluga with an average weight of 30±5grams were distributed in 12 tanks, 70 in each tank. Each tank has a capacity of 2400 liters. Canola meal hydrolyzed protein was fed with different levels of 0 (control), 300 (treatment 1), 400 (treatment 2), and 500 (treatment 3) mg of protein for 8 weeks. At the end of the breeding period, a bioassay was performed to evaluate growth factors and the expression of the genes by biopsy of brain, stomach, and liver tissues. The results showed that with increasing the amount of hydrolyzed protein in thecanola meal of the diet, body weight, specific growth rate and protein efficiency increased and the highest value was in treatment 3 (500 mg) which has a significant difference from other groups (P <0.05). Also, the expression of all 3 genes showed an increasing trend and the difference between treatments and the control was significant (P <0.05). The highest expression was observed for all three genes in the 500 mg treatment. Regarding the chemical composition of the body, the lowest amount of protein was in treatment 3, but there was no significant difference in the amount of protein, fat, ash, and moisture between the control and other treatments (P> 0.05). In general, hydrolyzed canola protein can positively affect growth performance in beluga fish.*

***Keywords: Beluga fish, Body chemical composition, Gene expression, Hydrolyzed protein***

---

1. Department of Aquaculture, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.
2. Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. (* Corresponding Author: sm_hosseinifard@yahoo.com)