



University of Guilan

University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 1, 2025, pages: 53-65
DOI: 10.22124/janb.2025.29564.1270



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effects of dietary protein restriction on growth performance, nutrition, body composition, and activity of some digestive enzymes in red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)

Fatemeh Kian Ersy, Hamid Mohammadiazarm*, Milad Maniat

Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Khuzestan, Iran

Received 21 January 2025

Revised 16 March 2025

Accepted 17 March 2025

Published online 23 May 2025

KEYWORDS ABSTRACT

Compensatory
growth
Restriction
protein
Digestive
enzyme
Red tilapia

Introduction: The primary operational cost in aquaculture is attributed to feed expenses, which plays a critical role in growth enhancement, immune system performance, and disease resistance. To address this, various strategies have been proposed for feed management, including short-term or long-term fasting, as well as cyclic periods of fasting and refeeding to achieve compensatory growth. Another strategy involves restricting the protein content in the diet within a specific timeframe. This method focuses solely on limiting the protein content in the fish diet for a specific duration, after which the protein level is restored to an optimal and balanced level without interrupting the feeding process. Therefore, formulating diets that maximize growth while conserving protein resources, considering economic viability, and minimizing adverse environmental effects, is essential.

Material Methods: A total of 270 red tilapia, with an average initial weight of 5 ± 0.13 g were randomly distributed among 18 aquaria, each with a capacity of 100 liters (15 fish per tank). The fish were subjected to various protein-level dietary treatments over 8 weeks and were fed three times daily at 9:00, 13:00, and 16:00 until satiation. The experimental treatments were as follows; control group: feeding with a diet containing 38% optimal protein, treatment 1: feeding with a diet containing 32% protein restriction, treatment 2: feeding alternately every other day with a diet containing 32% protein restriction and a diet containing 38% protein, treatment 3: feeding alternately every week with a diet containing 32% protein restriction and a diet containing 38% protein, treatment 4: feeding a 32% protein diet for the first 3 weeks, followed by a 38% protein diet for the remaining 5 weeks, and treatment 5: feeding a 32% protein diet for

the first 4 weeks, followed by a 38% protein diet for the following 4 weeks. At the end of the experiment, growth, nutritional indices, and body composition were assayed. Enzyme activity was assessed using specific substrates and diagnostic kits. Subsequently, a One-way analysis of variance (ANOVA) was employed to compare the differences among the treatments, and the significance of the results was determined using Duncan's multiple-range test.

Results and discussion: The findings of this study revealed that the control group, which was fed a diet containing 38% optimal protein throughout the experimental period, achieved the highest growth performance and the best feed conversion ratio (FCR). Interestingly, treatment 4, which involved feeding the fish with a 32% protein-restricted diet for the first 3 weeks and a 38% optimal protein diet for the remaining 5 weeks, showed no significant difference in growth performance and FCR compared to the control group ($P>0.05$). This suggests that when refeeding with an optimal protein diet, moderate protein restriction can induce compensatory growth without negatively impacting growth performance or feed efficiency. Regarding body composition, the control group exhibited the highest protein and lowest lipid content in the carcass. However, treatment 4 showed no significant difference in these indices compared to the control group ($P>0.05$), indicating that the fish could maintain their body composition despite the initial protein restriction. Similarly, the lack of significant differences in moisture and ash content among the experimental groups further supports the idea that moderate protein restriction does not adversely affect the overall nutritional quality of the fish. The activity of digestive enzymes, including total protease, trypsin, chymotrypsin, and lipase, was the highest in the control group. However, treatment 4 showed no significant difference in digestive enzyme activity compared to the control group ($P>0.05$), suggesting that the fish were able to maintain their digestive efficiency during the refeeding period. This is a critical finding, as digestive enzyme activity is a key indicator of nutrient absorption and utilization in fish.

Conclusion: In conclusion, the results of this study demonstrate that moderate protein (3 weeks) restriction, when followed by adequate refeeding (5 weeks), can induce compensatory growth in red tilapia without negatively impacting growth performance, body composition, or digestive enzyme activity.

*Corresponding author: azarmhamid@kmsu.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

اثر دوره‌های محدودیت پروتئینی بر عملکرد رشد و تغذیه، ترکیب بدن و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی ماهی
تیلاپای قرمز (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*)

فاطمه کیان ارثی، حمید محمدی آذر*، میلاد منیعات

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، خوزستان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۲ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۳/۰۲

کلمات کلیدی

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر دوره‌های محدودیت پروتئینی بر عملکرد رشد و تغذیه، ترکیب بدن و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی ماهی تیلاپای قرمز (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*) به مدت ۸ هفته با میانگین وزن اولیه 13 ± 5 گرم بود. ماهیان در ۶ گروه مورد آزمایش قرار گرفتند که هر گروه دارای ۳ تکرار بود. تیمار شاهد: تغذیه ماهیان با جیره غذایی حاوی پروتئین بهینه ۳۸٪، تیمار ۱: جیره غذایی با محدودیت پروتئین ۳۲٪، تیمار ۲: تغذیه ماهیان یک روز در میان به ترتیب با جیره محدودیت پروتئین ۳۲٪ و پروتئین ۳۸٪، تیمار ۳: تغذیه ماهیان یک هفته در میان به ترتیب با جیره محدودیت پروتئین ۳۲٪ و پروتئین ۳۸٪، تیمار ۴: تغذیه ماهیان ۳ هفته (اول) با محدودیت پروتئین ۳۲٪ و ۵ هفته (دوم) با پروتئین ۳۸٪، تیمار ۵: تغذیه ماهیان ۴ هفته (اول) با محدودیت پروتئین ۳۲٪ و ۴ هفته (دوم) با پروتئین ۳۸٪. نتایج نشان داد شاخص‌های رشد و تغذیه در تیمار ۴ فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد بود ($P > 0.05$). بیشترین مقدار پروتئین و کمترین مقدار چربی بدن در تیمار شاهد بدست آمد که اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴ و تیمار ۵ نداشت ($P > 0.05$). مقدار رطوبت و خاکستر لاشه در بین تیمارهای مختلف آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$). بیشترین فعالیت آنزیم گوارشی پروتئاز کل، تریپسین، کیموتریپسین و لیپاز در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴ و ۵ نداشت ($P > 0.05$). در انتها نتایج نشان داد که تیمار ۴ می‌تواند رشد جبرانی مناسبی را در پایان داشته باشد.

مقدمه

یکی از اصلی‌ترین منابع تأمین پروتئین غذایی برای استفاده بشر در مناطق مختلف دنیا استفاده از محصولات آبزی‌پروری است که در طول دهه‌های گذشته از روند رشد قابل توجهی برخوردار بوده است و احتمالاً به عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین کاندیداها برای تأمین پروتئین حیوانی مورد مصرف انسان در قرن آینده در نظر گرفته می‌شود. این صنعت منبع اصلی تولید غذا، پروتئین سالم و درآمد میلیون‌ها نفر در سراسر جهان است و باید توجه کرد که توسعه آبزی‌پروری علاوه بر تأمین امنیت غذایی، به دلیل کاهش فشار بر ذخایر دریایی و صید آبزیان در حفظ اکوسیستم‌های دریایی نیز بسیار مؤثر بوده است (FAO, 2020). در این راستا، محققان همواره سعی و تلاش وافر در امر افزایش تولیدات آبزی‌پروری در کوتاه‌ترین زمان ممکن، با کمینه هزینه و کمترین عوارض جانبی بر روی ماهیان داشته‌اند. در واقع، به دلیل افزایش جمعیت جهان و نیاز آن‌ها به منابع پروتئینی، صنعت آبزی‌پروری باید بیش از گذشته رشد کند تا تأمین‌کننده نیاز انسان باشد (Smith et al. 2024).

عمده‌ترین هزینه جاری پرورش آبزیان را هزینه‌های مربوط به تغذیه آبزی تشکیل می‌دهد و مشخص شده که تغذیه نقش مهمی در رشد و بهبود عملکرد دستگاه ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها ایفا می‌کند. در نتیجه، مدیریت تغذیه و کیفیت آن بسیار حائز اهمیت است (Tacon and Metian, 2015). از این رو، بیان شده که می‌توان از راهکارهای مختلفی برای اعمال مدیریت تغذیه‌ای مانند گرسنگی کوتاه‌مدت یا بلندمدت و نیز دوره‌های متوالی گرسنگی و تغذیه مجدد برای دستیابی به رشد جبرانی استفاده کرد. پاسخ رشد جبرانی معمولاً با افزایش جذب غذا، نرخ رشد، کارایی غذا و تغییر در ترکیب بافت بدن است. در واقع، رشد جبرانی مرحله رشد سریع موجود بوده که در پی دوره‌های مختلف محدودیت غذایی در بسیاری از گونه‌ها بروز می‌کند (Ali et al. 2003). همچنین، روش محرومیت یا محدودیت خوراک برای کاهش مرگومیر ناشی از بیماری‌ها و یا برای حل مشکلات کیفیت آب نیز توصیه شده است (Wang et al. 2000).

یکی دیگر از راهکارها، محدودیت در مقدار پروتئین جیره در یک محدوده زمانی خاص است که مطالعات محدودی از آن در آبزیان انجام شده است و نشان داده که باعث افزایش

نرخ رشد ویژه در زمان رشد جبرانی می‌شود. این روش صرفاً بر اساس محدود کردن مقدار پروتئین در جیره‌ی غذایی ماهی در یک محدوده زمانی خاص در نظر گرفته می‌شود و پس از آن، مقدار پروتئین به سطح متعادل و مطلوب در برنامه غذایی می‌رسد و تغذیه آبزی قطع نخواهد شد. همچنین، پروتئین گرانترین بخش جیره به حساب می‌آید و پروتئین اضافی جیره نیز ممکن است منجر به دفع نیتروژن بیشتر در محیط آبی شود و کیفیت آب کاهش یابد. لذا برای فرموله کردن جیره، بیشینه رشد در کنار صرفه جویی در منابع پروتئینی با در نظر گرفتن جنبه اقتصادی پرورش آبزی و کاهش اثرات نامطلوب زیست محیطی مد نظر است. بنابراین اعمال دوره‌های محدودیت پروتئینی، ممکن است راهبرد تغذیه مؤثرتری از محدودیت غذایی باشد (NRC, 2011). از این رو، چندین مطالعه از جمله Zhao و همکاران (۲۰۲۱) در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) و Sevgili و همکاران (۲۰۱۲) و Asadi و همکاران (۲۰۲۱) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) Deck و همکاران (۲۰۲۳) در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) اثر دوره‌های محدودیت پروتئینی و تغذیه مجدد با پروتئین بهینه را با مدیریت‌های مختلف دوره تغذیه با پروتئین بهینه بررسی کرده‌اند.

ماهی تیلاپیای قرمز (*Oreochromis mossambicus*) که هیبرید بین گونه‌های تیلاپیای نیل و موزامبیک است، به دلیل رشد سریع، تحمل شوری و سازگاری آسان در کشورهای آسیایی مانند چین، تایوان، تایلند، اندونزی و فیلیپین بسیار رواج پیدا کرده است (El-Sayed, 2006). پرورش تیلاپیای قرمز در ایران به دلیل خصوصیات اقتصادی و زیست‌محیطی آن، فرصت‌هایی برای تولیدکنندگان در مناطقی مانند استان یزد، سمنان، قم، خراسان جنوبی و رضوی ایجاد کرده است. لذا مطالعه در مورد شرایط تغذیه‌ای آن ضروری به نظر می‌رسد. از این رو، در مطالعه حاضر اثر محدودیت پروتئینی بر رشد، ترکیبات بدن و فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی در ماهیان جوان تیلاپیای قرمز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه (۸ هفته) ماهیان سالم تیلاپیا قرمز حاصل از تولید شرکت سپهر فدک آریزان تهیه شده و با کمترین استرس ناشی از جابه‌جایی به محل انجام تحقیق در شهرستان خرمشهر منتقل شدند. ماهیان قبل از ایجاد شرایط سازگاری، از لحاظ وضعیت ظاهری بررسی شده و پس از حمام در آب نمک با غلظت ۲ گرم در لیتر به مدت ۱۰ دقیقه، برای رفع هر گونه استرس ناشی از حمل و نقل و سازگاری به شرایط پرورشی به مدت دو هفته با محیط سازگار شدند. تعداد ۲۷۰ قطعه ماهی تیلاپیا با میانگین وزن 0.13 ± 5 گرم بطور کاملاً تصادفی درون ۱۸ عدد آکواریوم ۱۰۰ لیتری (۱۵ قطعه ماهی به ازای هر مخزن) تقسیم شدند. آکواریوم‌ها قبل از آگیری توسط محلول هیپوکلریت سدیم به مقدار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (Hill et

al. 2013) به مدت ۱۰ دقیقه ضد عفونی، و سپس با استفاده آب شیرین شستشو شدند. برای آگیری آکواریوم‌ها در طی دوره آزمایش از آب شهری کلرزدایی شده با کمینه ۲۴ ساعت ماندگاری استفاده شد. برای تأمین اکسیژن مورد نیاز ماهیان، در هر مخزن یک عدد سنگ هوا متصل به هواده مرکزی قرار داده شد. متوسط مقدار اکسیژن برابر با $0.15 \pm 6/70$ میلی‌گرم، درجه حرارت برابر با $0.10 \pm 7/90$ سانتی‌گراد و مقدار pH برابر با $0.20 \pm 7/90$ در طی دوره آزمایش بود. ماهیان در یک دوره ۸ هفته‌ای در تیمارهای مختلف محدودیت پروتئین مطابق با روش Asadi و همکاران (۲۰۲۱) به شرح زیر در ۳ نوبت (۹، ۱۳، ۱۶) تا حد سیری تغذیه شدند.

تیمار شاهد: تغذیه ماهیان با جیره غذایی حاوی پروتئین بهینه ۳۸٪

تیمار ۱: جیره غذایی با محدودیت پروتئین ۳۲٪

تیمار ۲: تغذیه ماهیان یک روز در میان به ترتیب با جیره محدودیت پروتئین ۳۲٪ و پروتئین ۳۸٪

تیمار ۳: تغذیه ماهیان یک هفته در میان به ترتیب با جیره محدودیت پروتئین ۳۲٪ و پروتئین ۳۸٪

تیمار ۴: تغذیه ماهیان ۳ هفته (اول) با محدودیت پروتئین ۳۲٪ و ۵ هفته (دوم) با پروتئین ۳۸٪

تیمار ۵: تغذیه ماهیان ۴ هفته (اول) با محدودیت پروتئین ۳۲٪ و ۴ هفته (دوم) با پروتئین ۳۸٪

فرمول جیره مربوطه با دو سطح پروتئینی با استفاده از نرم افزار WUFFDA و جداول نیاز غذایی (۲۰۱۱) NRC تهیه شد. در طی دوره آزمایش جیره ۳۸٪ به عنوان جیره اصلی و جیره محدودیت با سطح پروتئین ۳۲٪ در نظر گرفته شد (جدول ۱). برای تهیه جیره‌های غذایی در ابتدا اقلام غذایی خریداری شده آسیاب، و در ادامه، با توجه به مقدارشان وزن‌کشی و با یکدیگر مخلوط شدند. سپس

مقادیر مورد نیاز روغن با آن مخلوط شد. در نهایت خمیر مربوطه با اضافه کردن آب شکل گرفته و با استفاده از چرخ گوشت دستی پلت شده و در دمای اتاق خشک شد. سپس برای به دست آوردن اندازه ذرات غذایی متناسب با اندازه دهان ماهیان، غذای تولیدی الک شد. همچنین جیره‌های غذایی آزمایشی دارای مقدار انرژی و چربی یکسان و سطوح متفاوت پروتئینی بودند.

جدول ۱ ترکیب اجزای جیره های آزمایشی (به درصد)

Table 1 Composition of experimental diet (as a percentage)		
Ingredients	32% Diet	38% Diet
Soybean meal	40	45
Gelatin	15	20
Corn gluten	5.30	8.55
Corn flour	10	8.87
Wheat flour	16.43	5
Barley flour	10	10
Sunflower oil	1.27	0.58
Vitamin premix	1	1
Mineral premix	1	1

Proximate analysis of the diet (%)

Crude protein	32.12	38.05
Crude fat	9.46	9.50
Dry matter	90.11	90.22
Fiber	3.47	3.51
Energy (kcal/g)	3.09	3.04
Cost (USD/kg)	0.566	0.631

Vitamin premix composition per kilogram: A: 160,000 IU, D₃: 400,000 IU, E: 40,000 mg, K₃: 2,000 mg, B₁: 6,000 mg, B₂: 8,000 mg, B₃: 12,000 mg, B₅: 4,000 mg, B₆: 4,000 mg, B₉: 2,000 mg, B₁₂: 8 mg, H₂: 240 mg, C: 6,000 mg, Inositol: 20,000 mg, BHT: 200 mg.

Mineral premix composition per kilogram: Iron: 6,000 mg, Zinc: 10,000 mg, Selenium: 20 mg, Cobalt: 100 mg, Copper: 6,000 mg, Manganese: 5,000 mg, Iodine: 600 mg, Choline chloride: 6,000 mg.

محاسبه شاخص ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین، غذای خورده نشده با استفاده از سیفون کردن جمع‌آوری، خشک و توزین شد. در ادامه، مقدار آن از غذای داده شده به ماهیان کسر شد.

شاخص‌های رشد و تغذیه شامل افزایش وزن، درصد وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میزان بازماندگی، بر اساس رابطه‌های زیر محاسبه شدند (Sharif-Kanani et al. 2024). همچنین، لازم به ذکر است که برای

افزایش وزن بدن: وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم) = (WG)

نرخ رشد ویژه (Specific growth rate): $100 \times \text{دوره پرورش به روز} / (\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}) = (\text{SGR})$

ضریب تبدیل غذایی (Food conversion ratio): $\text{افزایش وزن بدن (گرم)} / \text{مقدار غذای خورده شده (گرم)} = (\text{FCR})$

کارایی پروتئین (Protein efficiency ratio): $\text{مقدار پروتئین خورده شده (گرم)} / \text{افزایش وزن بدن (گرم)} = (\text{PER})$

بازماندگی (Survival rate): $100 \times \text{تعداد ماهیان} / \text{تعداد ماهیان باقی مانده} = (\text{SR})$

میخک به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسان‌کشی شدند (Kildea et al. 2004). در ادامه، قسمت میانی روده گوارشی خارج و پس از توزین با نسبت وزنی به حجمی (W/V) ۱ به ۵ کلرید سدیم ۰/۲ مولار مخلوط شده و در حضور یخ عمل یکنواخت سازی با هموژنایزر انجام شد. سپس سوسپانسیون حاصله در سانتیفریوژ با دور ۵۰۰۰ در دقیقه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و پس از آن، مایع رویی جدا شد. در ادامه، برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی در واحد پروتئین در ابتدا غلظت پروتئین کل نمونه‌ها با استفاده از کیت تشخیصی کمی پروتئین کل شرکت پارس‌آزمون (کرج، ایران) سنجش شد. لذا فعالیت تمام آنزیم‌های گوارشی بر حسب U/mg protein محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز کل با استفاده از سوبسترای کازئین بر اساس روش اشاره شده توسط Jain و همکاران (۲۰۲۴) انجام شد. در این روش پروتئازها، کازئین را به پپتیدهای کوچکتر هیدرولیز می‌کنند که در اسید

سنجش تقریبی ترکیبات بیوشیمیایی بدن ماهیان تیلاپیا با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 1995) و با ۳ تکرار انجام شد. برای سنجش تقریبی بدن ماهیان پنج قطعه از ماهیان به ازای هر تکرار در پایان آزمایش به صورت تصادفی صید شد تا مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر آن‌ها محاسبه شود. برای تعیین رطوبت از آون با دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت، خاکستر از کوره‌ی الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه به مدت ۶ ساعت، چربی خام از طریق حل کردن چربی در حلال اتر و تعیین مقدار آن با استفاده از روش سوکسله و پروتئین خام به روش کلدال و از طریق تعیین نیتروژن کل و ضرب آن در ۶/۲۵ محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

در ابتدا ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع غذادهی شدند تا مواد غذایی از دستگاه گوارش به صورت کامل خارج شود. سپس با استفاده از عصاره گل

و میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۸۰ نانومتر قرائت شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرمال بودن داده به‌وسیله آزمون Shapiro-Wilk بررسی شد. از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) برای مقایسه بین تیمارها استفاده شد و معنی‌داری به کمک آزمون دانکن مقایسات چندگانه محاسبه شد. آزمون‌ها در محیط نرم افزار SPSS 19 انجام شد. داده‌های اولیه در نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (Mean $\pm$ S.E) بیان شد.

نتایج

نتایج حاصل از شاخص‌های رشد و تغذیه تیمارهای مختلف ماهیان تیلاپیای قرمز در انتهای دوره آزمایش در جدول ۲ آمده است. مقدار وزن نهایی، افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۴ (تغذیه ماهیان ۳ هفته اول با محدودیت پروتئین ۳۲٪ و ۵ هفته دوم با پروتئین بهینه ۳۸٪) فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود ($P>0.05$). مقدار ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین در تیمار ۴ فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد بود ($P>0.05$). در دیگر تیمارهای آزمایشی مقدار شاخص‌های رشد و تغذیه کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان داد ($P<0.05$). درصد زنده‌مانی فاقد اختلاف معنی‌دار در بین تیمارهای آزمایشی بود ($P>0.05$).

تری‌کلرواستیک (TCA) محلول باقی می‌مانند. معرف فولین-سیوکالتنو با اسیدهای آمینه آروماتیک (تیروزین و تریپتوفان) موجود در این پپتیدها واکنش داده و رنگ آبی تولید می‌کند که میزان آن متناسب با مقدار پپتیدهای آزاد شده است. جذب نوری این محلول در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در ادامه فعالیت پروتئاز بر اساس مقدار پپتیدهای تولید شده محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت تریپسین، مطابق روش Worthington (۱۹۹۱) انجام شد. در این روش، شکستن پیوند پپتیدی در بنزوئیل-DL-آرژینین-p-نیتروآنیلید (BAPNA) توسط تریپسین کاتالیز می‌شود که منجر به آزاد شدن p-نیتروآنیلین (pNA) می‌شود. در ادامه، جذب نوری در طول موج ۴۱۰ نانومتر، به صورت طیف‌سنجی اندازه‌گیری شد.

روش تعیین فعالیت کیموتریپسین، همان‌طور که توسط Hummel (۱۹۵۹) توصیف شده بود، انجام شد. این روش بر پایه هیدرولیز یک N-استیل-L-تیروزین اتیل استر (ATEE)، توسط آنزیم استوار است. کیموتریپسین شکستن پیوند استری در ATEE را انجام می‌دهد که منجر به آزاد شدن N-استیل-L-تیروزین و اتانول می‌شود. سرعت این واکنش متناسب با فعالیت آنزیمی بوده که از طریق اندازه‌گیری تغییرات جذب نوری در طول موج ۲۳۷ نانومتر به‌صورت طیف‌سنجی سنجیده شد. همچنین، برای سنجش آنزیم لیپاز از کیت شرکت پارس آزمون، (کرج، ایران) استفاده شد. به این منظور، عصاره آنزیمی دستگاه گوارش ماهی به داخل کووت‌های دستگاه اتوآنالایزر منتقل،

جدول ۲ شاخص‌های رشد و تغذیه ماهیان تیلاپیای قرمز مورد آزمایش در تیمارهای مختلف در انتهای دوره آزمایش

Table 2 The growth and nutritional parameters of juvenile red tilapia in different treatments at the end of the experiment.

	Control	T1	T2	T3	T4	T5
Final weight (g)	23.27 $\pm$ 0.15 ^c	17.37 $\pm$ 0.16 ^a	19.37 $\pm$ 0.23 ^{ab}	18.46 $\pm$ 0.39 ^a	21.46 $\pm$ 0.39 ^{bc}	20.38 $\pm$ 0.21 ^b
WG (g)	18.33 $\pm$ 0.11 ^c	12.50 $\pm$ 0.20 ^a	14.50 $\pm$ 0.17 ^{ab}	13.53 $\pm$ 0.35 ^a	16.56 $\pm$ 0.30 ^{bc}	15.43 $\pm$ 0.15 ^b
SGR (%/day)	2.77 $\pm$ 0.01 ^c	2.26 $\pm$ 0.02 ^a	2.45 $\pm$ 0.04 ^{ab}	2.35 $\pm$ 0.01 ^a	2.63 $\pm$ 0.08 ^{bc}	2.52 $\pm$ 0.06 ^b
FCR	1.05 $\pm$ 0.07 ^a	1.38 $\pm$ 0.02 ^d	1.28 $\pm$ 0.08 ^{cd}	1.30 $\pm$ 0.02 ^{cd}	1.10 $\pm$ 0.07 ^{ab}	1.22 $\pm$ 0.06 ^{bc}
PER	2.50 $\pm$ 0.17 ^c	2.26 $\pm$ 0.05 ^a	2.23 $\pm$ 0.14 ^a	2.20 $\pm$ 0.06 ^a	2.52 $\pm$ 0.16 ^c	2.34 $\pm$ 0.12 ^b
SR (%)	100	100	100	100	100	100

Values are mean $\pm$ SE of three replicate groups. Mean values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

معنی‌دار با تیمار ۴ و تیمار ۵ نداشت ($P>0.05$)، اما با دیگر تیمارها اختلاف داشت ($P<0.05$). کمترین مقدار پروتئین بدن نیز در تیمار ۱ مشاهده شد که با دیگر تیمارها تفاوت

نتایج حاصل از سنجش ترکیب بدن نشان داد که دوره‌های محدودیت پروتئینی بر مقدار پروتئین تأثیر گذار است (جدول ۳). مقدار پروتئین بدن در گروه شاهد اختلاف

مقدار چربی بدن در تیمار ۱ مشاهده شد که با تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0.05$). مقدار رطوبت و خاکستر بدن نیز در بین تیمارهای مختلف آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P>0.05$).

معنی‌دار داشت ($P<0.05$). کمترین مقدار چربی بدن در گروه شاهد به دست آمد که با تیمارهای ۴ و ۵ فاقد اختلاف معنی‌دار داشت ($P>0.05$). همچنین، بین تیمار ۴ و ۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P<0.05$). بیشترین

جدول ۳ ترکیب بیوشیمیایی بدن در تیمارهای مختلف ماهیان تیلاپای قرمز در انتهای دوره آزمایش (درصد در وزن تر)
Table 3 Proximate composition of the whole body of juvenile red tilapia fed the experimental diets for 56 days (wet weight; %).

	Control	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Moisture	74.67 ± 5.92 ^{n.s}	75.26 ± 6.28	73.65 ± 4.66	74.26 ± 6.74	74.63 ± 5.22	75.11 ± 7.33
Protein	14.18 ± 0.95 ^c	10.23 ± 0.79 ^a	12.37 ± 0.66 ^b	12.46 ± 0.89 ^b	13.22 ± 0.45 ^c	13.18 ± 0.81 ^c
Lipid	5.37 ± 0.29 ^a	6.42 ± 0.78 ^b	6.12 ± 0.46 ^b	6.23 ± 0.19 ^b	5.69 ± 0.33 ^a	5.78 ± 0.56 ^a
Ash	4.62 ± 0.12	4.69 ± 0.19	4.36 ± 0.16	4.47 ± 0.19	4.16 ± 0.12	4.33 ± 0.11

Values are mean ± SE of three replicate groups. Mean values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

داشت ($P<0.05$), اما بین تیمارهای ۴ و ۵ در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($P>0.05$). بیشترین فعالیت آنزیم کیموتریپسین در گروه شاهد مشاهده شد که با تیمار ۴ و ۵ اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0.05$), اما با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($P<0.05$). کمترین مقدار این آنزیم در تیمار ۱ مشاهده شد. بین تیمار ۲ و ۳ نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($P>0.05$). کمترین فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار ۱ مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد ($P<0.05$) و فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمارهای ۲ و ۳ بود ($P>0.05$). همچنین، فعالیت لیپاز بین گروه شاهد، تیمار ۴ و ۵ فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P>0.05$).

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی تیلاپای قرمز در جدول ۴ آمده است. کمترین میزان فعالیت آنزیم گوارشی پروتئاز در تیمار ۱ مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و دیگر تیمارها داشت ($P<0.05$), اما فعالیت این آنزیم در گروه شاهد اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴ و ۵ نداشت ($P>0.05$). همچنین بین تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی‌دار وجود نداشت، اما این دو با گروه شاهد و تیمار ۴ اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<0.05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم تریپسین در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ۱ مشاهده شد که اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<0.05$). بین تیمار ۲ و ۳ نیز در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار وجود

جدول ۴ فعالیت آنزیم‌های گوارشی (U/mg protein/min) در تیمارهای مختلف ماهیان تیلاپای قرمز در انتهای دوره آزمایش

Table 4 The activity of digestive enzymes (U/mg protein/min) in different treatment groups of red tilapia at the end of the experimental period

	Control	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Total Protease	4.52 ± 0.25 ^c	2.74 ± 0.19 ^a	3.45 ± 0.26 ^b	3.48 ± 0.89 ^b	4.08 ± 0.43 ^c	3.79 ± 0.51 ^{bc}
Trypsin	1.12 ± 0.08 ^c	0.54 ± 0.03 ^a	0.74 ± 0.06 ^b	0.72 ± 0.05 ^b	1.00 ± 0.02 ^c	0.95 ± 0.07 ^{bc}
Chymotrypsin	0.39 ± 0.08 ^c	0.29 ± 0.09 ^a	0.32 ± 0.08 ^b	0.33 ± 0.04 ^b	0.37 ± 0.01 ^c	0.36 ± 0.07 ^{bc}
Lipase	0.26 ± 0.01 ^c	0.15 ± 0.09 ^a	0.17 ± 0.09 ^{ab}	0.16 ± 0.03 ^{ab}	0.25 ± 0.06 ^c	0.22 ± 0.02 ^{bc}

Values are mean ± SE of three replicate groups. Mean values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

پروتئین یک ماده مغذی حیاتی برای ماهی‌هاست و نقش کلیدی در رشد، ترمیم بافت‌ها و عملکردهای متابولیک ایفا

بحث

شده بود، بهترین عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی را داشت. جالب توجه این که تیمار ۴، که شامل تغذیه ماهی‌ها با جیره محدودیت پروتئین ۳۲٪ در ۳ هفته اول و سپس جیره حاوی ۳۸٪ پروتئین بهینه در ۵ هفته باقی‌مانده بود، از نظر عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی و کارایی پروتئین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. این موضوع نشان می‌دهد که محدودیت متوسط پروتئین در صورت تغذیه مجدد با جیره بهینه، ممکن است منجر به رشد جبرانی بدون اثر منفی بر عملکرد رشد یا بازده غذایی ماهیان شود. این نتایج با مطالعات قبلی در مورد رشد جبرانی در دیگر ماهی‌ها همسو است، جایی که دوره‌های محدودیت مواد مغذی به دنبال تغذیه مجدد، توانسته است نرخ رشد را به سطح ماهی‌هایی که به طور مداوم با جیره کامل تغذیه شده‌اند، بازگرداند (Ali et al. 2003; Wang et al. 2000).

از نظر ترکیب بدن، گروه شاهد بالاترین میزان پروتئین و کمترین میزان چربی را نشان داد. با وجود این، تیمار ۴ از نظر این شاخص‌ها تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت، که نشان می‌دهد ماهی‌ها در این تیمار توانسته‌اند ترکیب بدن خود را به رغم محدودیت اولیه پروتئین حفظ کنند. این یافته با مطالعات Li و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی دارد که گزارش کردند رشد جبرانی در تیلاپیا اغلب با بازگشت به ترکیب طبیعی بدن در دوره تغذیه مجدد همراه است. به طور مشابه، عدم تفاوت معنی‌دار در میزان رطوبت و خاکستر لاشه بین گروه‌های آزمایشی نیز این عقیده را تقویت می‌کند که محدودیت متوسط پروتئین، تأثیر نامطلوبی بر کیفیت کلی تغذیه‌ای ماهی‌ها ندارد. در واقع به نظر می‌رسد که پاسخ رشد جبرانی با افزایش جذب و کارایی پروتئین غذا از طریق مکانیسم‌های سوخت و سازی مانند افزایش سطح آنزیم‌های گوارشی توانسته است ترکیب بدن ماهیان را بهبود ببخشد، به طوری که با گروه شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار باشد.

فعالیت آنزیم‌های گوارشی، شامل پروتئاز کل، تریپسین، کیموتریپسین و لیپاز، در گروه شاهد بالاترین میزان را داشت. با وجود این، تیمار ۴ از نظر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. در مطالعه Furne و همکاران (۲۰۰۸)، با بررسی اثر گرسنگی و تغذیه مجدد روی فعالیت آنزیم‌های گوارشی تاس‌ماهی (*Acipenser naccari*) و قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش

می‌کند (NRC, 2011). با وجود این، سطوح بالای پروتئین در جیره غذایی ممکن است منجر به افزایش هزینه‌های خوراک و آلودگی زیست‌محیطی ناشی از دفع نیترژن شود (Kaushik and Seiliez, 2010). از سوی دیگر، محدودیت پروتئین ممکن است در صورت مدیریت نادرست، رشد را مختل کرده و سلامت ماهی را به خطر بیندازد. روندهای آبی‌پروری بر نیاز به راهبردهای تغذیه‌ای پایدار تأکید می‌کنند که تعادل بین مقرون به‌صرفه بودن و عملکرد بهینه ماهی را برقرار می‌کنند (Tacon and Metian, 2015). این مطالعه با بررسی تأثیر محدودیت دوره‌ای پروتئین بر تیلاپای قرمز، گونه‌ای دورگه که به دلیل سازگاری و جذابیت بازار ارزشمند است، به این دانش رو به رشد کمک می‌کند. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که سطوح پروتئین در جیره غذایی تأثیر قابل‌توجهی بر عملکرد رشد و استفاده از مواد مغذی در ماهی‌ها دارد. برای مثال، Li و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که سطوح بهینه پروتئین برای گونه‌های تیلاپیا بین ۳۰ تا ۴۰٪ است که بستگی به مرحله رشد و شرایط محیطی دارد. با وجود این، تأثیر محدودیت پروتئین، به‌خصوص به صورت دوره‌ای یا متناوب، هنوز به‌خوبی درک نشده است. در حالی که برخی مطالعات نشان داده‌اند که رشد جبرانی ممکن است پس از دوره‌های محدودیت پروتئین رخ دهد (Ali et al. 2003)، برخی دیگر کاهش رشد و تغییرات متابولیک را گزارش کرده‌اند که این تفاوت وابسته به دوره محدودیت و نحوه مدیریت محدودیت پروتئین، گونه، اندازه آبی و شرایط پرورش است (Wang et al. 2000).

در مطالعه Deck و همکاران (۲۰۲۳) در مورد محدودیت پروتئینی در ماهی تیلاپای نیل در مرحله بچه ماهی نارس به این نتیجه رسیدند که محدودیت پروتئین تا ۱۴ روز در اوایل رشد منجر به افزایش رشد و کارایی تغذیه می‌شود و بیشتر از این محدوده زمانی برای رشد و سلامتی ماهی مضر به نظر می‌رسد و نرخ مرگ و میر افزایش می‌یابد. Sanchooli و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای که روی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) داشتند، به این نتیجه رسیدند که ماهیان تغذیه شده با جیره محدودیت پروتئینی به مدت دو هفته و شش هفته تغذیه مجدد با پروتئین بهینه بیشترین نرخ ویژه را داشتند.

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که گروه شاهد، که در طی دوره آزمایش با جیره حاوی ۳۸٪ پروتئین بهینه تغذیه

تاسماهی تحت تأثیر دوره‌های گرسنگی، به سطح اولیه خود بازنگشت.

به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ماهی‌ها در تیمارهای ۴ و ۵ توانسته‌اند بازده گوارشی خود را در دوره تغذیه مجدد حفظ کنند. این یافته بسیار مهم است، زیرا فعالیت آنزیم‌های گوارشی شاخص کلیدی جذب و استفاده از مواد مغذی در ماهی‌ها محسوب می‌شود. همچنین حفظ فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمار ۴ با یافته‌های Kaushik و Seiliez (۲۰۱۰) همسو است که تأکید کردند ظرفیت گوارشی ماهی‌ها به شدت با توانایی آن‌ها در بهبود پس از دوره‌های محدودیت مواد مغذی مرتبط است. در مقایسه با مطالعات دیگر، نتایج این آزمایش توان بالاقوه محدودیت دوره‌ای پروتئین را به عنوان یک راهبرد تغذیه‌ای پایدار در آبی‌پروری برجسته می‌کند. برای مثال، Ali و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که رشد جبرانی در ماهی‌ها یک پاسخ رایج به دوره‌های محدودیت مواد مغذی است، اما میزان بهبود به مدت و شدت محدودیت بستگی دارد. در این مطالعه، به نظر می‌رسد که دوره ۳ هفته‌ای محدودیت پروتئین در تیمار ۴ به اندازه کافی متعادل بود تا امکان بهبود کامل در دوره ۵ هفته‌ای تغذیه مجدد فراهم شود و در نتیجه، عملکرد رشد و ترکیب بدن مشابه گروه شاهد حاصل شد. این یافته توسط Wang و همکاران (۲۰۰۰) نیز تأیید شده است که گزارش کردند که تیلاپیاهای تحت محدودیت کوتاه‌مدت پروتئین توانستند به رشد جبرانی بدون تأثیرات منفی بلندمدت بر رشد یا سلامت دست یابند.

علاوه بر این، نتایج این مطالعه با یافته‌های Metian و Tacon (۲۰۱۵) همسو است که بر اهمیت بهینه‌سازی سطح پروتئین در جیره غذایی ماهی‌ها برای کاهش هزینه‌ها و به حداقل رساندن تأثیرات زیست‌محیطی تأکید کردند. با نشان دادن اینکه محدودیت متوسط پروتئین می‌تواند بدون تأثیر منفی بر عملکرد رشد یا بازده گوارشی استفاده شود، این مطالعه بینش‌های ارزشمندی برای توسعه راهبردهای تغذیه‌ای مقرون به‌صرفه و پایدار در پرورش تیلاپیا ارائه می‌دهد. توانایی تیمار ۴ در دستیابی به نتایج مشابه گروه شاهد نشان می‌دهد که محدودیت دوره‌ای پروتئین ممکن است جایگزین مناسبی برای تغذیه مداوم با جیره‌های حاوی پروتئین بهینه باشد، به‌خصوص در شرایطی که منابع محدود هستند. همچنین، در مقابل برخی مطالعات که

کردند که فعالیت پروتئاز پس از ۱ ماه گرسنگی کاهش یافت و هر دو گونه قادر به جبران این آنزیم پس از ۶۰ روز تغذیه مجدد بودند. در بررسی Chan و همکاران (۲۰۰۸)، اثر محرومیت غذایی و تغذیه مجدد بر روی تغییرات پروتئاز در ماهی تیلاپیای موزامبیک نشان داد که فعالیت آن نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت، اما با تغذیه مجدد منجر به تحریک فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک روده در تیلاپیا شده است که با نتایج حاضر مطابقت دارد. در مطالعه Yazdi و همکاران (۲۰۲۲) بر روی ماهی صبیتی (*Sparitendex hasta*) نشان دادند که ماهیان توانایی بازیابی ظرفیت گوارشی خود تریپسین و کیموتریپسین پس از رفع دوره‌های مختلف محدودیت غذایی را دارند که در مورد تریپسین و کیموتریپسین مطابق نتایج حاضر است. Imani و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به این نتیجه رسیدند که ماهیان واجد توانایی بازیابی ظرفیت‌های گوارشی خود پس از رفع دوره‌های محرومیت غذایی هستند و نشان دادند که در مقدار کیموتریپسین نیز این نتیجه به‌دست آمد. Zaeferian و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه اثرات گرسنگی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo caspius*) به این نتیجه رسیدند که میزان آنزیم تریپسین و کیموتریپسین ۴ هفته بعد از تغذیه مجدد مشابه گروه شاهد بود که نشان داد ۴ هفته زمان مناسب برای جبران کاهش آنزیم کیموتریپسین بوده است. همچنین Chan و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای بر روی اثر محدودیت غذایی بر ماهی تیلاپیا نشان دادند که تغذیه مجدد منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک شامل کیموتریپسین می‌شود. همچنین، در مطالعه Santos و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص اثر پروتئین بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیلاپیای قرمز به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم لیپاز در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار نداشتند. اما در مطالعه Imani و همکاران (۲۰۱۰) به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم لیپاز به شدت تحت تأثیر گرسنگی قرار گرفت و ماهیانی که طولانی‌ترین دوره گرسنگی را متحمل شدند، دارای کمترین فعالیت آنزیم لیپاز بودند، ولی با تغذیه مجدد سطح فعالیت این آنزیم به گروه شاهد نزدیک بود. در مقابل، Frune و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که میزان فعالیت آنزیم لیپاز در قزل‌آلای رنگین‌کمان و

از این رو، این موضوع اهمیت تعادل دقیق بین مدت و شدت محدودیت پروتئین با تغذیه مجدد کافی را برای دستیابی به نتایج بهینه برجسته می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که محدودیت متوسط پروتئین (۳ هفته تغذیه با محدودیت پروتئینی و به دنبال آن تغذیه با سطح پروتئین بهینه)، در صورت تغذیه مجدد کافی، ممکن است منجر به رشد جبرانی در تیلاپای قرمز شود، بدون این که تأثیر منفی بر عملکرد رشد، ترکیب بدن یا فعالیت آنزیم‌های گوارشی داشته باشد. لذا، به نظر می‌رسد که ماهیان تیمار ۴ این آزمایش از طریق سازگاری‌های سوخت‌وسازی مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بهبود کارایی غذا دارای رشد جبرانی بوده‌اند که این یافته‌ها با مطالعات قبلی در مورد رشد جبرانی در ماهی‌ها همسو است و بینش‌های ارزشمندی برای توسعه راهبردهای تغذیه‌ای پایدار در آبی‌پروری ارائه می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر به دلیل حمایت مالی از تحقیق فوق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

- Al Ghais, S., Bhardwaj, V. 2019. Utilization of fish viscera for protease production and used for digestion of waste in the pond. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 7: 112-115.
- Ali, M., Nieceza, A., Wootton, R.J. 2003. Compensatory growth in fishes: A response to growth depression. *Fish and Fisheries* 4: 147-190. DOI: 10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x
- AOAC. 1995. Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. DOI: 10.1046/j.1467-2979.2003.00120.x.
- Asadi, M., Kenari, A.A., Esmaeili, N. 2021. Restricted-protein feeding strategy decreased the protein consumption without impairing growth performance, flesh quality and non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 531: 735946. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735946.
- Chan, C.R., Lee, D.N., Cheng, Y.H., Hsieh, D.J.A., Weng, C.F. 2008. Feed Deprivation and re-feeding on alterations of proteases in Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Zoological Studies* 47: 207-214.
- اثرات منفی محدودیت پروتئین بر رشد و سلامت ماهی‌ها را گزارش کرده‌اند، یافته‌های این آزمایش نشان می‌دهد که تأثیرات منفی محدودیت پروتئین ممکن است از طریق دوره متوسط محدودیت پروتئین کاهش یابد. از طرفی، مطالعه Wang و همکاران (۲۰۰۰) نشان داده که محدودیت طولانی‌مدت پروتئین در ماهی تیلاپای قرمز منجر به کاهش رشد و تغییرات متابولیک می‌شود. همچنین، لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر دوره محدودیت کوتاه مدت پروتئینی یک روز در میان و یک هفته در میان اثر مطلوبی بر کارایی رشد ترکیب بدن و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهیان در مقایسه با دوره ۳ هفته محدودیت پروتئینی (دوره متوسط) نداشت که علت را می‌توان مربوط به مواردی به شرح زیر دانست: زمانی که ماهی‌ها به‌طور متناوب در معرض سطوح متفاوت پروتئین قرار می‌گیرند، این نوسان مداوم ممکن است باعث شود تا ماهی‌ها نتوانند به‌طور کامل با شرایط کمبود پروتئین سازگار شوند، یا از مزایای تغذیه با پروتئین بهینه بهره‌مند شوند (Zhao et al. 2021). در مقابل، در روش ۳ هفته محدودیت پروتئین و سپس تغذیه بهینه، ماهی‌ها زمان کافی برای سازگاری با شرایط کمبود پروتئین دارند و پس از آن، با تغذیه بهینه، می‌توانند به‌طور کامل از رشد جبرانی بهره‌مند شوند. همچنین، نوسان مداوم سطح پروتئین از طریق کاهش کارایی پروتئین منجر به اختلال در سنتز پروتئین و رشد ماهیان می‌شود. از طرفی، به دلیل تغییرات مداوم سطح پروتئین سازگاری آنزیمی و تغییرات هورمونی مانند افزایش ترشح هورمون رشد به‌طور کامل رخ نمی‌دهد.

- Deck, C.A., Salger, S.A., Reynolds, H.M., Tada, M.D., Severance, M.E., Ferket, P., Egna, H.S., Fatema, M.K., Haque, S.M., Borski, R.J. 2023. Nutritional programming in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effect of low dietary protein on growth and the intestinal microbiome and transcriptome. PLoS ONE 18: e0292431. DOI: 10.1371/journal.pone.0292431.
- El-Sayed, A.F.M. 2006. Tilapia culture. CAB International, Wallingford, 277. DOI: 10.1079/9780851990149.0000
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020: Sustainability in action. Food and Agriculture Organization of the United Nations. DOI: 10.4060/ca9229en.
- Furne, M., Garcia-Gallego, M., Hidalgo, M. C., Morales, A. E., Domezain, A., Domezain, J. Sanz, A. 2008. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology 149A: 420-425. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.02.002.
- Hill, B.J., Berthe, F., Lightner, D.V., Sais, R.E. 2013. Methods for disinfection of aquaculture establishments. In: Manual of diagnostic tests for aquatic animals. Office International des Epizooties Publishing, 28-39.
- Hummel, B.C.W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 1393-1399.
- Imani, A., Yazdanparast, R., Farhangi, M., Bakhtiari, M., Mojazi Amiri, B., Shokooh Saljooghi, Z. 2010. Investigation of digestive enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during periods of food deprivation and refeeding. Journal of Marine Science and Technology 8: 24-33. (In Persian).
- Jain, A., Mary, A., Ramakrishnan, A.R. 2024. Protease activity in *Labeo rohita* fingerlings fed *Lactobacillus acidophilus* and *Spirulina platensis*, Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 24: 10-15.
- Kaushik, S.J., Seiliez, I. 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: Current knowledge and future needs. Aquaculture Research 41: 322-332 DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x.
- Kildea, M.A., Allan, G.L., Kearney, R.E. 2004. Accumulation and clearance of the anaesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture 232: 265-277. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00483-6.
- Li, X., Zheng, S., Wu, G. 2018. Nutrition and functions of amino acids in fish. Advances in Experimental Medicine and Biology 1265: 133-168. DOI: 10.1007/978-3-030-54462-1_8.
- National Research Council (NRC). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press. DOI: 10.17226/13039.
- Sanchooli, H., Oraj, H., Keramat, A., Jani Khalili, K. 2017. Effects of different protein restriction and realimentation on growth performance and body composition of fingerling Common Carp (*Cyprinus Carpio*). Iranian Scientific Fisheries Journal 26: 111-120. (In Persian).
- Sevgili, H., Hoşsu, B., Emre, Y. Kanyılmaz, M., 2012. Compensatory growth after various levels of dietary protein restriction in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 344: 126-134. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2012.03.030.
- Sharif-Kanani, H., Keyvanshokoo, S., Mohammadiazarm, H., Pasha-Zanoosi, H., Rezaei, S. 2024. Nano-selenium (nano-Se) removes the detrimental impacts of plant-based diets on the production performance and well-being of common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Reports 36: 102107. DOI: 10.1016/j.aqrep.2024.102107.

- Smith, K., Watson, A.W., Lonnie, M., Peeters, W.M., Oonincx, D., Tsoutsoura, N., Simon-Miquel, G., Szepe, K., Cochetel, N., Pearson, A.G., Witard, O.C., 2024. Meeting the global protein supply requirements of a growing and ageing population. *European Journal of Nutrition* 63: 1425-1433. DOI: 10.1007/s00394-024-03358-2.
- Tacon, A.G.J., Metian, M. 2015. Feed matters: Satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* 23: 1-10. DOI: 10.1080/23308249.2014.987209.
- Wang, Y., Cui, Y., Yang, Y., Cai, F. 2000. Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*, reared in seawater. *Aquaculture* 189: 101-108. DOI: 10.1016/S0044-8486(00)00353-7.
- Worthington, C.C. 1991. *Worthington Enzyme Manual*. 3rd Edition. Worthington Biochemical Corp. Freehold, New Jersey. 782p.
- Yazdi, N., Zakeri, M., Kochanian, P., Mousavi, S.M., Taghavi Moghadam, A. 2022. Effects of starvation and re-feeding on recovery of digestive enzyme capacity in Sobeity (*Sparidentex hasta*) marine fish. *Journal of Fisheries* 75: 535-548. (In Persian).
- Zaefarian, A., Yeganeh, S., Ouraji, H. 2020. The Effects of starvation and refeeding on growth and digestive enzymes activity in Caspian brown trout (*Salmo caspius* Kessler, 1877) fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 19: 1111-1129.
- Zhao, W., Luo, H., Zhu, W., Yuan, X., Shao, J. 2021. Effects of time-dependent protein restriction on growth performance, digestibility, and mTOR signaling pathways in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Frontiers in Physiology* 12: 661107. DOI: 10.3389/fphys.2021.661107.