

اثرات پروتئین هیدرولیز شده ماهی (FPH) بر راندمان کارایی جذب پروتئین در فیل ماهی (*Huso huso*)

- **رضوان موسوی ندوشن***: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، صندوق پستی: ۱۸۱-۱۹۷۳۵
- **سمیه محمدعلی خانی**: گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، صندوق پستی: ۱۸۱-۱۹۷۳۵

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۳

چکیده

در این تحقیق اثرات پروتئین هیدرولیز شده ماهی (FPH) بر روی عملکرد رشد و کارایی برداشت پروتئین در فیل ماهی (*Huso Huso*) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ۲۹۷ عدد فیل ماهی، با میانگین وزن اولیه ۴۵ گرم در سه تیمار و با سه تکرار در ۹ حوضچه دایره‌ای شکل با مساحت ۳ متر مربع رهاسازی گردید. ماهیان با سه جیره غذایی شامل جیره شاهد (غذای چینه)، غذای چینه حاوی ۵ درصد مکمل FPH و غذای چینه حاوی ۱۰ درصد مکمل FPH غذادهی شدند. درصد افزایش وزن بدن (BWI) ۵۷۸/۵۶، ۶۸۱/۰۳ و ۶۰۴/۰۶ درصد، درصد برداشت پروتئین (APU) ۱۱، ۱۶ و ۱۷ درصد و میزان کارایی پروتئین (PER) ۱/۱۱، ۱/۲۲ و ۱/۰۳، به ترتیب در تیمارهای شاهد و حاوی ۵ و ۱۰ درصد FPH به دست آمد. آنالیز آماری نشان داد اختلاف در پارامترهای رشد شامل افزایش وزن بدن، میزان برداشت پروتئین و میزان کارایی پروتئین میان گروه‌های آزمایشی در سطح ۰/۰۱ معنی دار بوده، به نظر می‌رسد جیره حاوی ۵ درصد FPH با افزایش میزان برداشت و کارایی پروتئین، بر روی عملکرد رشد فیل ماهی تأثیر به‌سزایی داشته است.

کلمات کلیدی: پروتئین هیدرولیز شده ماهی، کارایی پروتئین، فیل ماهی



مقدمه

از آن جاکه فیل ماهی یکی از گونه‌های مهم ماهیان خاویاری ایران بوده از سرعت رشد بالا و خاویار مرغوب برخوردار است و جمعیت آن در معرض تهدید قرار دارد، تحقیق فعلی برای اولین بار به منظور ارزیابی اثرات جیره‌های حاوی مکمل پروتئین هیدرولیز شده ماهی بر عملکرد رشد فیل ماهی انتخاب گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ و در آزمایشگاه دانشکده علوم و فنون دریایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال انجام شد. **آماده‌سازی جیره:** پروتئین هیدرولیز شده ماهی (FPH) از ماهی کیلکا به روش آنزیمی و با استفاده از آنزیم تریپسین تهیه گردید. FPH تولید شده حاوی ۶۴ درصد پروتئین بود. به منظور اضافه کردن FPH به غذای ماهی، پودر FPH با آب محلول و بر روی پلت‌های چینه اسپری گردید. میزان غذا در طول دوره به میزان ۷ درصد از وزن بدن ماهیان محاسبه و غذادهی به صورت روزانه و در ۵ نوبت انجام شد.

جدول ۱: فرمول و ترکیب تقریبی جیره های آزمایشی

محتویات (درصد، W/W)			فرمول و ترکیب
جیره ۱۰٪	جیره ۵٪	جیره شاهد	اجزاء جیره
۵۵	۶۰	۶۵	پودر ماهی
۴/۵	۴/۵	۴/۵	آرد سویا
۱۷	۱۷	۱۷	نشاسته
۱/۸	۱/۸	۱/۸	پروتئین و پودر خون
۱	۱	۱	مخلوط ویتامین
۲	۲	۲	مخلوط مواد معدنی
۰/۲	۰/۲	۰/۲	سلولز
۸/۵	۸/۵	۸/۵	روغن ماهی
۱۰	۵	۰	پروتئین هیدرولیز شده ماهی

شرایط پرورش فیل ماهی: تعداد ۲۹۷ عدد بچه ماهی

خاویاری از نوع فیل ماهی با وزن اولیه ۴۵ گرم در ۹ حوضچه دایره‌ای شکل با مساحت ۳ متر مربع به تعداد مساوی ۳۳ عدد در هر حوضچه رهاسازی شدند. این تحقیق در منطقه‌ای واقع در بوئین زهرا، در کارگاه اختصاصی با منبع آب چاه به مدت ۳۲ روز انجام شد. دمای آب در تمام دوره تقریباً ثابت، ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود.

میزان کارایی پروتئین: درصد افزایش وزن بدن به عنوان

یکی از گران‌ترین بخش‌ها در تولید غذا پروتئین است. به طور عمده رشد سریع ماهیان در دوران لاروی ناشی از ساخت و افزایش سریع پروتئین در بافت ماهیچه است و نیاز پروتئینی لاروها و ماهیان انگشت‌قد برای دستیابی به حداکثر رشد دو برابر ماهیان پروراری است. در این رابطه محققین تاکید دارند که حلالیت و اندازه مولکول‌های پروتئین در غذاهای دستی نقش به‌سزایی در کارایی رشد لارو ها دارد و جایگزینی بخشی از پروتئین جیره با FPH منجر به افزایش رشد، نمو، بازماندگی و کاهش ناهنجاری‌های اسکلتی و در نهایت بهبود کیفیت لارو در ماهیان آب‌شیرین و دریایی گردیده است (Skalli و Gisbert، ۲۰۱۰). از جمله مصرف پروتئین هیدرولیز شده ماهی باعث مصرف و کارایی بهتر غذا و رشد بیش‌تر در آزادماهیان (Berg و Storebakken، ۱۹۹۶؛ Bouchez و Azizi، ۱۹۹۱) و لارو کپور معمولی (Carvalho و همکاران، ۱۹۹۷) گردیده. اثرات مثبت بر رشد و افزایش قابلیت هضم غذا به واسطه عملکرد آنزیم و آزادسازی اسیدهای آمینه طی فرآیند فرآوری به اثبات رسیده است (Berg و Storebakke، ۱۹۹۶). پروتئین‌های هیدرولیز شده ماهی حاوی عملکرد آنتی‌اکسیدانی نیز هستند (Espe و Liaset، ۲۰۰۸؛ Klompong و همکاران، ۲۰۰۷؛ Thiansilukul و همکاران، ۲۰۰۷).

هم‌چنین پروتئین‌های هیدرولیز شده مانند بتاگلوکان‌ها (Chen و Ainsworth، ۱۹۹۲) و لیپوپلی‌ساکاریدها (Anderson، ۱۹۹۲) از جمله محرک‌های ایمنی بیوشیمیایی هستند. در واقع مشخص گردیده است که از نظر بیوشیمیایی طی فرآوری و هیدرولیز پروتئین، پپتیدهای فعال با قدرت تحریک سیستم ایمنی و ویژگی‌های ضد باکتریایی تولید می‌گردد (Raa، ۱۹۹۶). تصور بر این است که بخش اعظم تحریک ایمنی در آبی‌پروری از طریق تحریک عملکرد لوکوسیت‌ها و فعالیت ماکروفاژی آن‌ها باشد که با تحریک کنش‌های سلولی شامل درون‌خواری، ترشح و تولید آنیون‌های سوپراکسید و آنزیم‌های هیدرولیزی آغاز می‌شود (Ellis، ۱۹۹۹). تحقیقات نشان داده است ماکروفاژهایی که از کلیه ماهی آزاد اقیانوس اطلس پس از تزریق پروتئین هیدرولیز شده ماهیچه کاد، جدا شده بود (در مقایسه با سلول‌های شاهد) حاوی غلظت‌های بالاتر آنیون سوپراکسید بوده‌اند (Gisbert و Skalli، ۲۰۱۰) و در نهایت، در تحقیقی بر روی ماهی شوریده مصرف پروتئین هیدرولیز شده منجر به افزایش نرخ سلامتی و تحریک سیستم ایمنی گردیده است (Hardy، ۲۰۰۱).



جهت بررسی وضعیت پارامترهای مورد مطالعه میان تیمارهای آزمایشی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی دانکن استفاده شد.

پارامتر رشد از طریق شاخص BWI محاسبه گردید:

$$\text{وزن اولیه - وزن نهایی}$$

$$\text{BWI} = 100 \times \frac{\text{وزن اولیه}}{\text{افزایش وزن بدن}}$$

و کارایی پروتئین از طریق شاخص های (PER، APU) محاسبه شد:

$$\text{میزان پروتئین محلی}$$

$$\text{APU} = 100 \times \frac{\text{میزان پروتئین محلی}}{\text{میزان پروتئین غذا}}$$

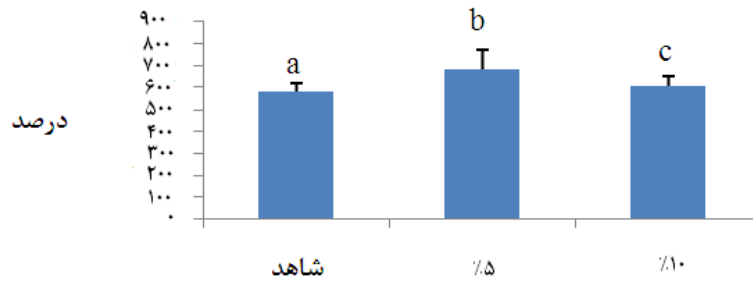
$$\text{افزایش وزن}$$

$$\text{PER} = \frac{\text{میزان کارایی پروتئین}}{\text{میزان پروتئین دریافت شده}}$$

نتایج

در مدت تحقیق بالاترین درصد افزایش وزن بدن در ماهیان غذایی شده با ۵ درصد FPH با ۶۸۱/۰۳ درصد و کمترین درصد در ماهیان شاهد با ۵۷۸/۵۶ درصد به دست آمد و میان درصد افزایش وزن بدن ماهیان در تیمارهای مذکور اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/01$).

BWI

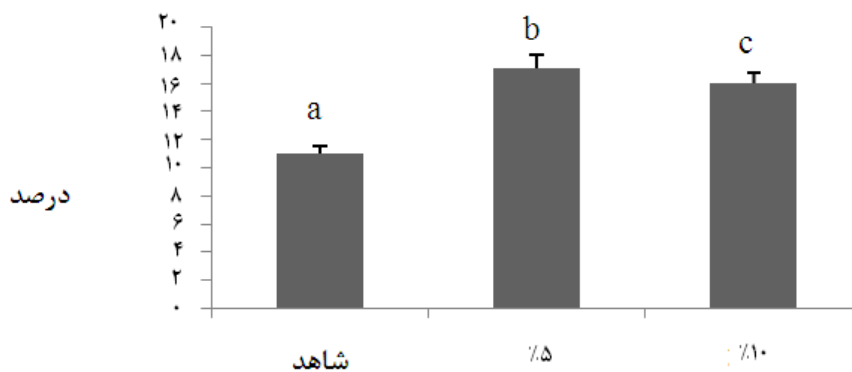


شکل ۱: نمودار مقایسه میانگین درصد افزایش وزن بدن (BWI) در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی ۵ و ۱۰ درصد FPH (حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میان تیمارهای آزمایشی است)

بررسی و مقایسه میزان برداشت پروتئین ماهیان در تیمارهای مذکور و براساس آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه، اختلاف معنی دار ملاحظه گردید ($P < 0/01$).

در این مطالعه، بالاترین میزان برداشت پروتئین در ماهیان غذایی شده با ۵ درصد FPH به میزان ۱۷ درصد و کمترین میزان برداشت در ماهیان شاهد با ۱۱ درصد محاسبه گردید. در

APU

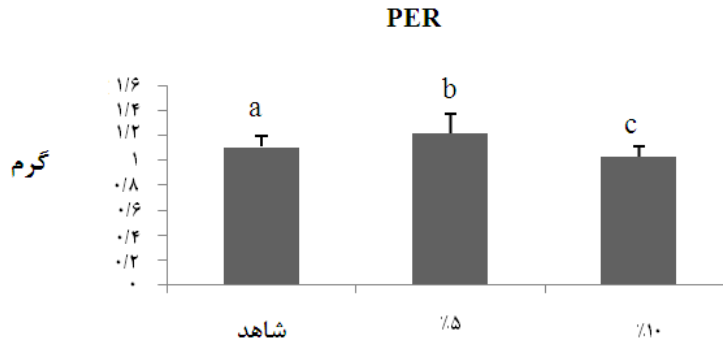


شکل ۲: نمودار مقایسه میانگین درصد برداشت پروتئین (APU) در تیمارهای آزمایشی (حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میان تیمارهای آزمایشی است)



در این مطالعه بالاترین میزان کارایی پروتئین در ماهیان غذادهی شده با ۵ درصد FPH با ۱/۲۲ گرم و کمترین میزان کارایی در ماهیان غذادهی شده با ۱۰ درصد FPH با ۱/۰۳ گرم

مشاهده شد. مقایسه میزان کارایی پروتئین ماهیان در تیمارهای مذکور در شکل ۳ نشان داده شده است ($P < 0/01$).



شکل ۳: نمودار مقایسه میانگین میزان کارایی پروتئین (PER) در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی ۵ و ۱۰ درصد FPH

(حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میان تیمارهای آزمایشی است)

ماهیچه‌ای اثر بگذارند و رشد، تولید توده زنده و کیفیت بافت ماهیچه را تحت تأثیر قرار دهند (علیزاده و دادگر، ۱۳۸۰) و محققان بهبود رشد ماهی در اثر مصرف پروتئین هیدرولیز شده را به عواملی نظیر افزایش قابلیت هضم پروتئین به واسطه هیدرولیز و تأثیر جذب اسیدهای آمینه آزاد شده در طی فرآیند هیدرولیز نسبت داده‌اند. تعدادی از محققان بر این عقیده‌اند که ظرفیت رشد می‌تواند با هضم و ظرفیت انتقال مواد غذایی محدود شود (Blier و همکاران، ۱۹۹۷). از جمله اشاره شده است که نرخ رشد لارو کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماندگاری ماهی *Anarhichas lupus* به عملکرد تریپسین و هضم پروتئین توسط آنزیم‌های اصلی معده بستگی دارد (Lamarre و همکاران، ۲۰۰۴). لذا با توجه به ظرفیت گوارشی محدود معده در تغذیه اولیه لارو به عنوان فاکتور محدودکننده، مصرف مقدار بیش‌تر جیره قابل هضم (پپتید یا اسیدآمینه) تا سطح اپتیمم، و نه بیش‌تر، می‌تواند رشد و ماندگاری ماهیان تازه از تخم درآمده را بهبود بخشد. مصرف بیش از حد پروتئین هیدرولیز شده منجر به کاهش رشد می‌گردد (Ronnestad، ۲۰۰۱).

در تحقیق حاضر میزان کارایی پروتئین (PER) در فیل ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۵٪ FPH حتی در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰٪، افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0/01$). در واقع اثرات مهم و سودمند FPH در نمو ماهیان را می‌توان به کمک ویژگی‌های فیزیولوژی تغذیه و توانایی موجود در این مرحله در هضم و جذب پپتیدها نسبت داد. ترکیبات مولکول‌های درشت پروتئینی تحت تأثیر آنزیم‌های

بحث

استفاده از مکمل‌های غذایی پروتئینی و هیدرولیز شده و جایگزینی آن‌ها در بخش‌های پروتئینی غذا باعث کارایی بهتر رشد در گونه‌های مختلف ماهیان می‌گردد (Refstie و همکاران، ۲۰۰۴؛ Berg و Storebakken، ۱۹۹۶). اثرات مثبت پروتئین هیدرولیز شده ماهی به دلیل افزایش قابلیت هضم و تجزیه پروتئین به پپتید و اسیدهای آمینه در سیستم گوارشی و افزایش کارایی در ساخت، تولید مقدار بیش‌تر توده زنده و رشد بافت‌ها بوده (Oliva-Teles و همکاران، ۱۹۹۹؛ Cahu و همکاران، ۱۹۹۵)، اما بهترین نتایج عملکرد رشد با مصرف بهینه پروتئین هیدرولیز شده ماهی به دست آمده است ($P < 0/01$). لذا تعیین سطح بهینه مکمل امری ضروری است و استفاده از مقادیر بالای FPH باعث کاهش رشد در ماهی می‌شود.

در تحقیق حاضر نیز افزایش وزن بدن ماهیان (BWI)، در ماهیان غذادهی شده با جیره حاوی ۵ درصد FPH نه تنها نسبت به تیمار شاهد، بلکه نسبت به تیمار ۱۰ درصد بیش‌تر بوده است ($P < 0/01$). به‌طور عمده رشد سریع ماهیان در دوران لاروی ناشی از افزایش و تجمع پروتئین در بافت ماهیچه است و در حقیقت پروتئین‌های اصلی جیره نسبت به پروتئین‌های هیدرولیز شده با سرعت کم‌تری جذب می‌شوند (Gisbert و Skalli، ۲۰۱۰). هم‌چنین یک وابستگی قوی میان سطوح پروتئین بافت‌ها و وزن بدن وجود دارد. سطوح پروتئینی جیره و اسیدهای آمینه می‌توانند به‌طور مشخص بر تقویت رشته‌های



جذب پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد شده طی فرآیند هیدرولیز نسبت داد.

منابع

1. **گذار، ا.**، ۱۹۸۴. مدیریت تغذیه بر پرورش متراکم آبزیان. ترجمه: علیزاده، م. و دادگر، ش.، ۱۳۸۰. تهران. شرکت سهامی شیلات ایران، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، اداره کل آموزش و ترویج. ۱۹۰ صفحه.
2. **Adibi, S.A., 1997.** The oligopeptide transporter (Pept-1) in human intestine: Biology and function. *Gastroenterol.* Vol. 113, pp: 332-340.
3. **Anderson, D.P., 1992.** Immunostimulant, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annu. Rev. Fish Diseases.* pp: 281-307.
4. **Berg, G.M. and Storebakken, T., 1996.** Fish protein hydrolysate in starter diets for Atlantik salmon (*Salmo salar*) fry, *Aquaculture.* Vol. 145, pp: 205-212.
5. **Bagni, M.; Archeti, L.; Amadori, M. and Marino, G., 2000.** Effect of long-term administration of an immunostimulant diet on innate immunity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Vet. Med.* Vol. 47, No. 10, pp: 745-751.
6. **Blier, P.; Pelletier, D. and Dutil, J.D., 1997.** Does aerobic capacity set a limit on fish growth rate? *Rev. Fish. Sci.* Vol. 5, pp: 323-340.
7. **Bouchez, P. and Azzi, D., 1991.** Biotechnology: Use of hydrolytic enzymes in preprocessing of feedstuffs. In: Coway, C.B., Cho, CY (Eds.), *Nutritional strategies and Aquaculture waste.* University of Guelph, Canada. pp: 91-101.
8. **Carvalho, A.P.; Escaffre, A.M.; Oliva Teles, A. and Bergot, P., 1997.** First feeding of common carp larvae on diets with high levels of protein hydrolysate. *Aquac int.* Vol. 5, No. 4, pp: 361-367.
9. **Cahu, C.L. and Zambonino-Infante, J.L., 1995.** Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) effect of weaning with different protein sources. *Fish Physiol. Biochem.* Vol. 14, pp: 431-437.
10. **Chen, D. and Ainsworth, A.J., 1992.** Glucan administration potentiates immune defence mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. *Fish Diseases.* Vol. 15, pp: 295-304.
11. **Cordova-Murueta, J.H. and Garcia-Carreno, F.L., 2002.** Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture.* Vol. 210, pp: 371-384.
12. **Ellis, A.E., 1999.** Immunity to bacteria in fish. *J. Fish Shellfish Immunol.* Vol. 9, pp: 291-308.
13. **Gisbert, E. and Skalli, A., 2010.** Protein hydrolysate in larval fish nutrition yeast, pig blood hydrolysate substitute for fishmeal in study. *Global aquaculture advocate.* Vol. 73, pp: 74-75.
14. **Hardy, N.F., 2001.** Enzymatic modification of food proteins. In: Sikorski, Z. (Ed.), *the chemical and functional properties of Food.* Economic publishing, Lancaster, PA. 207 p.

گوارشی و طی فرآیند تدریجی هضم به پپتیدها و اسیدهای آمینه هیدرولیز گردیده، دی و تری پپتیدهای موجود در FPH راحت تر و ساده تر به آمینواسیدهای آزاد تبدیل می شوند (Adibi و همکاران، ۱۹۹۷). از طرفی یکی از اصول مهم در جذب بهینه اجزای غذایی، به ویژه پروتئین ها میزان حلالیت آن هاست که در روند تولید FPH، تجزیه تا حد شکسته شدن مولکول های درشت به پپتیدها و اسیدهای آمینه پیش می رود (Kotzamins و همکاران، ۲۰۰۷). هم چنین مولکول های دست نخورده و درشت پروتئین دو تا سه برابر آهسته تر از پروتئین های هیدرولیز شده جذب می شوند (Bagni و همکاران، ۲۰۰۰). هم چنین مشخص گردیده است که مولکول های آنزیمی به کار رفته در پروسه هیدرولیز (متصل به مولکول های FPH جیره) می تواند منجر به تحریک و افزایش ترشح محدود پپتیدازهای گوارشی و نمو بهتر و سریع تر سلول ها و بافت جدار لوله گوارش گردد (Adibi و همکاران، ۱۹۹۷).

در این تحقیق میزان برداشت پروتئین (APU) با مقدار ۱۷ درصد در ماهیان غذادهی شده با جیره ۵ درصد FPH نسبت به تیمارهای شاهد و ۱۰ درصد FPH مشاهده گردید. آنالیز آماری نشان داد اختلاف میان پارامترهای فوق در سطح ۰/۰۱ معنی دار بود. در تحقیقی که بر روی رشد میگو انجام شده است محققین دریافتند محتوای پروتئین ماهیچه میگوی تغذیه شده با مکمل پروتئین هیدرولیز شده نسبت به گروه شاهد بالاتر بوده است و افزایش درصد پروتئین ماهیچه میگو می تواند به وجود منابع پروتئینی خوب با کیفیت بالا در جیره میگو، درصد برداشت بالاتر پروتئین (APU) و میزان بالاتر کارایی پروتئین (PER) ارتباط داشته باشد (Carvalho و همکاران، ۱۹۹۷). هم چنین در ماهی منیزیم و کلسیم دو عنصر مهم برای فعال سازی و مکانیسم های تکمیلی رشد هستند (Sakai, ۱۹۹۲) و مکمل FPH به خوبی می تواند مواد معدنی مهم جیره شامل منیزیم، فسفر و کلسیم را تأمین و فعالیت های تکمیلی رشد را تحت تأثیر قرار دهد (Sugiura و همکاران، ۲۰۰۰؛ Vielma و همکاران، ۱۹۹۹). ویژگی های بیوشیمیایی پروتئین های هیدرولیز شده از جمله حلالیت و قابلیت دستیابی بالا، تحریک ایمنی و فعال سازی مکانیسم های ثانویه رشد، منجر به بهبود روند مورفوزن در ماهیان در حال رشد و کاهش ناهنجاری های استخوانی و انحراف ستون فقرات می گردد. در نهایت می توان بهبود عملکرد متابولیسم را به افزایش کارایی پروتئین هیدرولیز شده در سیستم گوارش فیل ماهی، افزایش کارایی جذب و تأثیر



trout *Oncorhynchus mykiss* (walbaum). Aquacult. Nutr. Vol. 5, pp: 65-71.

15. **Hardy, R.W.; Shearer, K.D.; Stone, F.D. and Wieg, D.H., 1983.** Fish silage in aquaculture diets. J. World Mar. Soc. Vol. 14, pp: 695-703.
16. **Klompong, V.; Benjakul, S.; Kantachote, D. and Shahidi, F., 2007.** Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. Food chem. Global aquaculture advocate. Vol. 2, No. 4, pp: 1317-1327.
17. **Kotzamins, Y.P.; Gisbert, E.; Gatesoupe, F.J.; Zambonino infant, J. and Cahu, C., 2007.** Effect of different dietary levels of fish protein hydrolysate on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comp. Biochem Physiol. Vol. 147, No.1, pp: 205-214.
18. **Liaset, B. and Espe, M., 2008.** Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. Process Biochem. Vol. 43, No. 1, pp: 42-48.
19. **Lamarre, S.G.; Le Francois, N.R.; Falk-Petersen, I.B. and Blier, P.U., 2004.** Can digestive and wolffish enzyme activity levels predict growth rate and survival of newly hatched (*Atlantic Anarhichas lupus*) Aquac. Res. Vol. 35, pp: 608-613.
20. **Oliva-Teles, A.L. and Cerqueira, P.G., 1999.** The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scopphthalmus maximus*) juveniles. Aquaculture. Vol. 179, pp: 195-201.
21. **Raa, J., 1996.** The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. Rev. Fish Sci. Vol. 4, No. 3, pp: 229-288.
22. **Refstie, S.; Olli, J. and Standal, H., 2004.** Feed intake, growth, and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. Aquaculture. Vol. 239, No. 1-4, pp: 331-349.
23. **Roennestad, I.; Rojas-Garcia, C.R.; Tonheim, S.K. and Conceicao, L.E.C., 2001.** In vivo studies of digestion and nutrient assimilation in marine fish larvae. Aquaculture. Vol. 201, pp: 161-175.
24. **Sakai, D.K., 1992.** Repertoire of complement in immunological defense mechanisms of fish. Annu. Rev. Fish Dis. Vol. 2, pp: 223-247.
25. **Sugiura, S.H.; Babbitt, J.K.; Dong, F.M. and Hardy, R.W., 2000.** Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (walbaum). Aquaculture. Res. Vol. 31, pp: 585-593.
26. **Stone, F.D.M.; Hardy, R.W.; Hearer, K.D. and Scott, T.M., 1989.** Utilization of fish silage by Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture. Vol. 76, pp: 109-118.
27. **Szlaminska, M.; Escaffre, A.M.; Charlon, N. and Bergot, P., 1993.** Preliminary data on semi synthetic diet for goldfish (*Carassius auratus L.*) Larvae. In: Kaushik S.j. Luquet, P. (Eds) Fish nutrition in practice, INRA, Paris (Les Colloques 61). pp: 606-612.
28. **Thiansilakul, Y.; Benjakul, S. and Shahidi, F., 2007.** Composition, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decap-terus mariuadsi*). Food chem. Vol. 103, No. 4, pp: 1385-1394.
29. **Vielma, J.; Ruohonen, K. and Lall, S.P., 1999.** Supplemental citric acid and particle size of fish bone-meal influence the availability of minerals in rainbow

