

اثر اسیدهای آمینه لایزین و متیونین جیره بر شاخص‌های رشد، خون، آنزیم‌های کبدی و واکنش‌های ایمنی
فیل ماهی (*Huso huso*)

محمود محسنی^{۱*}، ایوب یوسفی^۱، رضا طاعتی^۲، علیرضا علیپور^۱، سمیه حسن پور^۳

۱- موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، گیلان

۲- گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، گیلان

۳- مزرعه تکثیر و پرورش خاویار طلایی، جوار سد سنگر، رشت، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۲۹

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر اسیدهای آمینه لایزین و متیونین جیره بر شاخص‌های رشد، خون، آنزیم‌های کبدی و ایمنی فیل ماهی (*Huso huso*) اجرا شد. چهار تیمار آزمایشی بر پایه پروتئین سویا شامل گروه شاهد (بدون لایزین و متیونین)، تیمار ۱ (لایزین)، تیمار ۲ (متیونین) و تیمار ۳ (لایزین + متیونین) در سه تکرار فرموله شدند. تعداد ۲۴۰ قطعه فیل ماهی با وزن متوسط $4/64 \pm 144/6$ گرم با جیره‌های آزمایشی در شرایط یکسان پرورشی به مدت ۱۲ هفته تغذیه شدند. مکمل‌های لایزین و متیونین به جیره پایه محتوی ۳۴۴ گرم بر کیلوگرم کنجاله سویا به مقدار ۲۲/۰۲ و ۱۲/۹۴ گرم بر کیلوگرم اضافه شدند. شاخص‌های رشد ماهیان تغذیه شده با جیره لایزین + متیونین، به‌طور معنی‌دار ($p < 0/05$) از ماهیان تغذیه شده با دیگر جیره‌ها مناسب‌تر بود. کمترین میزان شاخص کبدی متعلق به گروه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت ($p < 0/05$). مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، گلوکز، پروتئین کل، آنزیم‌های کبدی و تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان تغذیه شده با تیمار لایزین + متیونین بهبود معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند ($p < 0/05$). افزایش در شاخص‌های ایمنی مانند ایمونوگلوبولین کل و لیوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدهای آمینه نسبت به شاهد وجود داشت که این افزایش در ماهیان تغذیه شده با جیره لایزین + متیونین معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، فیل ماهی جوان پرورشی می‌تواند به‌طور مؤثری از مکمل اسیدهای آمینه لایزین به‌میزان ۲۲/۰۲ گرم در کیلوگرم جیره و متیونین به میزان ۱۲/۹۴ گرم در کیلوگرم در جیره پلایه محتوی ۳۴۴ گرم در کیلوگرم کنجاله سویا به منظور بهبود عملکرد رشد، شاخص‌های خون و ایمنی استفاده کند.

کلمات کلیدی: پروتئین سویا، ایمنی، خون، لایزین، متیونین، فیل ماهی

مقدمه

رشد پایدار صنعت آبی‌پروری با توجه به کاهش صید ماهیان دریایی، به تولید غذای آبیان با حداقل وابستگی به ماهیان دریایی ارتباط دارد (Naylor et al. 2000). با توجه به نقش تغذیه در آبی‌پروری و توسعه پذیرش جیره غذایی ماهیان از محصولات تجاری که شامل بخش‌های هنگفتی از هزینه‌های کل پرورش می‌شود (بیش از ۵۰٪)، می‌توان ادعا کرد که پرورش موفق ماهیان نیاز به استفاده از خوراک کامل، کارآمد با ترکیب بهینه دارد (محسنی و همکاران، ۱۳۸۵؛ Aprodu et al. 2012) و باید تمام ترکیبات تغذیه‌ای ضروری، مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را برای ماهی فراهم کند تا امکان رشد سریع و سالم به آنها داده شود (Cho et al. 2005).

محققان به ضرورت جایگزین کردن منابع پروتئین گیاهی به جای پودر ماهی در غذای آبیان به دلیل قیمت بالای پودر ماهی، به شدت تأکید کرده‌اند. در این راستا، تحقیقات گسترده‌ای به منظور جایگزینی تمام یا حداقل بخشی از دیگر منابع پروتئینی گیاهی به جای پودر ماهی انجام شده است. ایران دارای منابع پروتئین گیاهی غنی از جمله کنجاله سویا، ذرت، کانولا، کنجد و آفتابگردان است که برخی از آنها به‌خصوص کنجاله سویا در سطح وسیعی در تغذیه آبیان استفاده می‌شود. کنجاله سویا به دلیل پروتئین بالا و قابلیت دسترسی (Sardar et al. 2009)، از گزینه‌های مطلوب برای جایگزینی به‌جای پودر ماهی در آبیان به‌شمار می‌رود. استفاده از پروتئین گیاهی ارزان-قیمت در آبی‌پروری و کاهش قیمت تمام شده غذا، توسط دیگر محققان (Refstie et al. 2003; Kaushik et al. 2007; Thompson et al. 2004) نیز به اثبات رسیده است. نتایج این تحقیقات دلالت بر آن دارد که تغییرات تفاوت‌های زیادی بسته به گونه ماهیان در توانایی استفاده از آرد سویا به عنوان منبع پروتئینی ثانویه به‌جای پودر ماهی وجود دارد. همچنین، به کار بردن مواد غذایی متعادل و متوازن در جیره غذایی، هزینه تولید را پایین آورده و وضعیت تولید را بهبود می‌بخشد (Wang et al. 2008). ثابت شده است که سطوح زیاد آرد سویا به جای پودر ماهی در تغذیه ماهی به دلیل متوازن نبودن مواد مغذی (سطوح اسیدهای آمینه ضروری مانند لایزین و متیونین، انرژی و مواد مغذی)، قابلیت هضم پایین آن، کاهش مطلوبیت و

خوشمزگی غذا، مقادیر بالای بازدارنده‌های رشد مانند تریپسین و لکتین (Tacon, 2008) منجر به کاهش رشد و کارایی غذا در ماهیان خواهد شد (Ahmed et al. 2006; Ahmed and Khan 2004; Gaber, 2003). اضافه کردن جاذب‌های شیمیایی در غذای فرموله‌شده ماهی اهمیت بسیاری داشته و امروزه در آبی‌پروری بسیار گسترش یافته است. این ترکیبات سبب افزایش بهبود کیفیت غذای مصرفی، به حداقل رسانیدن زمان غذاگیری ماهی، کاهش زمان ماندن غذا در آب و در نتیجه، سبب کاهش و از بین رفتن مواد مغذی موجود در غذا شده و به تبع آن، آلودگی آب نیز به حداقل خواهد رسید (Webster and Lim, 2002; Marcouli et al. 2006).

لایزین اسیدآمینه‌ای ضروری است که اهمیت زیادی در تعیین پروتئین مورد نیاز و صرفه‌جویی در مصرف پروتئین دارد (Wilson and Poe, 1985; Kim and Lall, 2001)، به نحوی که جزء اسیدهای آمینه محدود کننده در پروتئین آرد غلات به‌شمار می‌رود که نقش کلیدی در فرمول‌بندی درست جیره‌های غذایی دارد و با ایجاد طعم مناسب، اثرات سودمندی را در مصرف مواد غذایی و رشد ماهی ایجاد می‌کند (Small and Soares, 2000; Murillo-Gurrea et al. 2001; Tantikitti & Chimsung, 2001).

متیونین نیز اسیدآمینه‌ای ضروری در مهره‌داران خشکی است و ماهیان نیز برای رشد مطلوب و انجام دادن وظایف سوخت و ساز به این اسیدآمینه نیاز دارند. کمبود متیونین در بسیاری از گونه‌های ماهیان موجب کاهش رشد، کارایی غذا و بروز آب مروارید می‌شود (Goff and Galtin, 2004).

پرورش فیل‌ماهی (*Huso huso*) صنعت نسبتاً جدیدی در ایران به‌شمار می‌آید و اطلاعات در مورد مدیریت مناسب پرورش و نیازمندی غذایی این گونه به‌نسبت محدود است. فیل‌ماهی به‌دلیل رژیم گوشت‌خواری به درصد بالایی از پروتئین در جیره غذایی نیاز دارد (محسنی و همکاران، ۱۳۹۸). از آنجا که پروتئین‌ها، بخش عمده هزینه غذاهای تنظیم شده را در هر گونه پرورشی تشکیل می‌دهند (Mohseni et al. 2011)، تعیین احتیاجات پروتئینی و وارد کردن اجزای پروتئینی ارزان قیمت در فرموله کردن غذای محتوی سطوح متعادل اسیدآمینه، اولین گام مؤثر در

ماهی کیلکای عمل‌آوری شده در دمای پایین و کنجاله سویا به عنوان منابع پروتئینی، روغن ذرت و روغن ماهی کیلکا (به نسبت مساوی) به عنوان منابع چربی و آرد گندم به عنوان منبع کربوهیدرات تنظیم شدند. چهار جیره آزمایشی با سطح انرژی یکسان (۴۳۱۵ کیلوکالری انرژی قابل هضم بر کیلوگرم جیره)، چربی خام ۱۳/۳٪ و با پروتئین خام یکسان (۴۲٪ پروتئین) فرموله شدند. پس از تنظیم و تعیین درصد هر یک از اجزای سازنده جیره‌ها، اقدام به ترکیب و آماده سازی آنها توسط دستگاه پلتزن (CPM, California Pellet Meal, USA) شد. پلت‌ها به قطر ۴ میلی‌متر تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای کاهش رطوبت به میزان ۹ تا ۱۰٪ قرار داده شدند. جیره‌ها پس از خشک‌شدن، بسته بندی و شماره‌گذاری شده و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. یک ساعت قبل از مصرف، جیره خارج و پس از متعادل شدن با دمای اتاق با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهیان قرار گرفت.

تهیه ماهیان و نحوه پرورش

تعداد ۲۴۰ قطعه بچه‌فیل ماهی (۲۰ عدد در هر مخزن) با وزن متوسط $4/64 \pm 144/6$ گرم به طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری (۲۰۰ سانتی‌متر قطر، ۵۳ سانتی‌متر ارتفاع و حجم مفید آب ۱۷۰۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به دستگاه هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به صورت فواره‌ای) با دبی آب ۴/۷۵ لیتر در دقیقه (آب رودخانه سفیدرود) در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر به مدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. ماهیان ۳ بار در روز در ساعات ۸، ۱۶ و ۲۴ تا حد سیری و به صورت دستی غذادهی شدند. برای کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی ماهیان قطع شد. برای زیست‌سنجی، ماهیان توسط محلول ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک بیهوش می‌شدند (حلاجیان و همکاران، ۱۳۹۰).

جهت تولید جیره غذایی کم هزینه با کارایی بالا در رشد ماهیان محسوب می‌شود (Coutinho et al. 2012). جیره غذایی براساس پروتئین سویا برای ماهیان پرورشی، نیاز به مکمل‌های متیونین و لایزین برای افزایش روند رشد، کارایی غذا و جلب بچه‌ماهیان به غذای فرموله‌شده دارد (Kitagima and Fracalossi, 2011). یعقوبی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که کاهش عملکرد بسیاری از فاکتورهای رشد و تغذیه در تیمارهای دارای کمبود متیونین و لایزین در تغذیه ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*) نشان‌دهنده اهمیت این دو اسیدآمینو بوده است. Nguyen و همکاران (۲۰۱۹) در مقایسه سه سطح کمبود، کافی و مازاد متیونین در ماهی سوکلا (*Rachycentron canadum*)، کاهش رشد، سوخت و ساز ضعیف و کاهش ابقای نیتروژن را در ماهیان تغذیه شده با سطح کمبود متیونین گزارش کردند. تأثیر متیونین و لایزین در فیل‌ماهیان مطالعه نشده است. لذا، هدف از انجام این مطالعه، دسترسی به یک جیره غذایی مناسب از لحاظ ترکیب پروتئینی برای پرورش بچه‌فیل‌ماهیان، بررسی اثرات جایگزینی پودر ماهی با کنجاله سویا و تأثیر مکمل‌های لایزین و متیونین بر پلت‌های غذایی تجاری بر پایه پروتئین سویا، بر روند رشد، شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی و ایمنی، کاهش هزینه‌های تولید گوشت و در نهایت، معرفی جیره غذایی بهینه است.

مواد و روش‌ها

جیره‌های غذایی و نحوه تهیه آن

برای تهیه جیره‌های غذایی، ابتدا ترکیبات غذایی مورد نیاز برای تجزیه شیمیایی به آزمایشگاه (آنالیز غذایی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور و مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر) منتقل شد تا براساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام شود (جدول ۱).

جیره شاهد (بدون مکمل لایزین و متیونین) و مابقی جیره‌های آزمایشی (جیره‌های ۱ تا ۳) با استفاده از پودر

جدول ۱ اجزای غذایی و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی

ترکیبات غذایی	مقادیر (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
پودر ماهی ^۱	۲۸۰
گلوتن گندم ^۲	۸۵
کنجاله سویا ^۳	۳۴۴
آرد گندم	۸۰
دکسترین	۳۹
متیونین	۰
لایزین	۰
روغن (گیاهی + جانوری) ^۱	۱۱۷
مکمل ویتامینی ^۴	۲۰
مکمل معدنی ^۴	۵
Cr ₂ O ₃	۱۰
سلولز	۲۰

تجزیه تقریبی (n = 3) جیره‌های آزمایشی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

گروه شاهد	تیمار ۱ (لایزین)	تیمار ۲ (متیونین)	تیمار ۳ (لایزین + متیونین)
رطوبت	۱۰۳	۱۰۱	۱۰۴
پروتئین خام	۴۲۶	۴۲۲	۴۲۳
چربی خام	۱۳۵	۱۳۳	۱۳۱
خاکستر	۱۱۲	۱۱۱	۱۰۹
فیبر	۲۵	۲۵	۲۵
انرژی خام (kJ/g)	۱۹/۸	۱۹/۹	۱۹/۸
کلسیم	۱۷	۱۷	۱۷
فسفر	۱۱/۴	۱۱/۴	۱۱/۳
لایزین	۱۲/۵۳	۱۲/۵۳	۳۴/۵۵
متیونین	۶/۵۶	۶/۵۶	۱۹/۵
نسبت پروتئین به انرژی (mg/kg)	۲۱/۵	۲۱/۱	۲۱/۷

۱: آرد ماهی: ۶۰٪ پروتئین، روغن ماهی تهیه شده از شرکت پودر ماهی خزر- کیشهر. ۲: گلوتن ذرت: ۷۲٪ پروتئین تهیه شده از شرکت گلکوزان-قزوین. ۳: آرد سویا تهیه شده از شرکت خوشه زرین-مشهد. ۴: پریمیگس ویتامین، معدنی، ویتامین C و E و لایزین تهیه شده از شرکت سیانس-قزوین. ویتامین پریمیگس (برحسب IU یا میلی گرم در کیلوگرم): د-آل-آلفا توکوفرول استات ۶۰ واحد بین‌المللی، د-آل-کوله کلسیفرول ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی. تیمارین ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم، ریوفلاوین ۳۰ میلی گرم در کیلوگرم، پیریدوکسین ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم، ویتامین B₁₂ ۰/۰۵ میلی گرم در کیلوگرم، اسید نیکوتینیک ۱۷۵ میلی گرم در کیلوگرم، اسید فولیک ۵ میلی گرم در کیلوگرم، اسید اسکوربیک ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، اینوزیتول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، بیوتین ۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم، کلسیم پنتوتنات ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم و کولین کلراید ۲۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم. پریمیگس معدنی (بر حسب میلی‌گرم یا گرم در کیلوگرم): کربنات کلسیم ۴۰٪. ۲/۱۵ گرم در کیلوگرم، اکسید منیزیوم ۱/۲۴ گرم در کیلوگرم، سترات فریک ۰/۲ گرم در کیلوگرم، یدید پتاسیم ۰/۴ میلی گرم در کیلوگرم، سولفات روی ۰/۴ میلی گرم در کیلوگرم، سولفات مس ۰/۳ گرم در کیلوگرم، سولفات منگنز ۰/۳ گرم در کیلوگرم، کلسیم فسفات دو ظرفیتی ۵ گرم در کیلوگرم، سولفات کبالت ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم، سلنیت سدیم ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم، کلرید پتاسیم ۰/۹ گرم در کیلوگرم و کلرید سدیم ۰/۴ گرم در کیلوگرم.

تجزیه اجزا و جیره غذایی

محتویات شکم ماهیان در پایان دوره پرورش و بیهوش کردن ماهیان توسط محلول ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پودر گل میخک، از هر تکرار ۳ عدد ماهی به‌طور تصادفی

تجزیه تقریبی ترکیبات، مواد اولیه و جیره‌های آزمایشی طبق روش‌های استاندارد (AOAC (1995) انجام شد. پس از ۱۲ ساعت قطع غذاهای، برای اطمینان از تخلیه

خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹ ساعت اندازه‌گیری شدند.

تعیین شاخص‌های رشد و کبدی

با استفاده از اطلاعات زیست‌سنجی هر مخزن، شاخص‌های محاسباتی شامل وزن کسب شده (WG)، شاخص رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، نسبت بازده پروتئین (PER) و شاخص کبدی (HSI) محاسبه شدند (Luo et al. 2010).

وزن ابتدایی - وزن انتهایی = میزان افزایش وزن (WG)

$100 \times \text{دوره پرورش} / (\text{لگاریتم نپیرین وزن ابتدایی} - \text{لگاریتم نپیرین وزن انتهایی}) = \text{نرخ رشد ویژه (SGR)}$

$100 \times (\text{طول})^3 / \text{وزن} = \text{شاخص وضعیت (CF)}$

$\text{وزن تر تولید شده} / \text{وزن غذای خورده شده} = \text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)}$

$100 \times \text{وزن بدن} / \text{وزن کبد} = \text{شاخص کبدی (HSI)}$

$100 \times \text{پروتئین مصرف شده} / \text{وزن تر تولید شده} = \text{نرخ بازده پروتئین (PER)}$

(ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک انجام شد (Shahsavani et al. 2010).

تعیین فراسنجه‌های ایمنی

برای اندازه‌گیری لیزوزیم از روش توصیه شده Ellis (۱۹۹۰) و برای سنجش میزان ایمونوگلوبولین کل (Ig) از روش پیشنهادی Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تحقیق حاضر در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل در سه تکرار بررسی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 انجام شد. پس از کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov، برای پی بردن به اثر اسیدهای آمینه بر شاخص‌های مختلف با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. داده‌های این مطالعه به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شدند.

برداشته، و کبد برای محاسبه شاخص کبدی از بدن جدا شد.

نمونه چیره‌ها در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت، برای اندازه‌گیری رطوبت، خشک شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل ($N \times 6/25$) با استفاده از روش کلدال استخراج شد. استخراج چربی با روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت انجام شد. میزان انرژی موجود در ترکیبات غذایی توسط بمب کالری‌متر و

تعیین فراسنجه‌های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی

برای بررسی شاخص‌های خونی، فراسنجه‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی، ۱۸ ساعت پس از قطع غذاهای با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتری از ۳ قطعه ماهی خون-گیری از ساقه دمی به عمل آمد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر خون به داخل لوله‌های اپندورف آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین و ۱/۵ میلی‌لیتر باقیمانده به داخل لوله‌های اپندورف غیرهپارینه شماره‌گذاری شده برای انجام مطالعات سرم-شناسی منتقل شد. در این مطالعه، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، درصد هماتوکریت و مقدار هموگلوبین با استفاده از روش‌های متداول آزمایشگاهی اندازه‌گیری شدند (Feldman et al. 2000). برای انجام مطالعات سرم‌شناسی، خون با سانتریفیوژ (Labofuge (Heraeus Sepatch, Germany) با ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، تهران) و توسط دستگاه اتوآنالایزر (Eurolyser, Belgium) انجام شد. آلبومین به روش بروموکرزول سبز و پروتئین تام به روش بیوره اندازه‌گیری شدند. سنجش آنزیم‌های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز (AST) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آنزیم آلکالین فسفاتاز

نتایج

شاخص‌های رشد

در طول دوره پرورش، هیچ مرگ‌ومیری مشاهده نشد. در پایان ۱۲ هفته پرورش، شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیان تیمار ۳

(لایزین + متیونین) به‌طور معنی‌دار ($p \leq 0.05$) از ماهیان دیگر تیمارها بالاتر بود (جدول ۲). کمترین میزان ضریب تبدیل غذا در ماهیان تیمار ۳ مشاهده شد که با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($p \leq 0.05$). کمترین میزان شاخص کبدی متعلق به ماهیان گروه شاهد بود که به‌طور معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارها پایین‌تر بود.

جدول ۲ شاخص‌های رشد بچه فیل ماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف غذایی

تیمارهای آزمایشی				شاخص‌های رشد
تیمار ۳ (لایزین + متیونین)	تیمار ۲ (متیونین)	تیمار ۱ (لایزین)	گروه شاهد	
۸۱۴/۳ ± ۴/۷۹ ^a	۷۹۸/۳ ± ۴/۸۱ ^b	۷۸۵/۳ ± ۲/۳ ^b	۶۴۷/۳ ± ۱۱/۴ ^c	وزن نهایی (گرم)
۴۸۴/۲ ± ۷/۸ ^a	۴۵۱/۹ ± ۳/۶ ^b	۴۵۴/۹ ± ۳/۵ ^b	۳۴۴/۶ ± ۸/۲ ^c	وزن کسب شده (/)
۲/۷۵ ± ۰/۰۳ ^a	۲/۴۴ ± ۰/۰۳ ^b	۲/۴۵ ± ۰/۰۱ ^b	۱/۴۵ ± ۰/۰۳ ^c	شاخص رشد ویژه (/ در روز)
۱/۲۸ ± ۰/۰۳ ^c	۱/۴۳ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۴۷ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۷۳ ± ۰/۰۵ ^a	ضریب تبدیل غذا
۰/۶۳ ± ۰/۰۴ ^a	۰/۵۹ ± ۰/۰۹ ^b	۰/۵۶ ± ۰/۰۶ ^b	۰/۴۱ ± ۰/۰۹ ^c	ضریب چاقی (/)
۱/۶۹ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۵۲ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۵۳ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۰۴ ± ۰/۰۳ ^c	نسبت بازده پروتئین
۳/۲۷ ± ۰/۰۳ ^a	۳/۰۹ ± ۰/۰۴ ^a	۳/۱۱ ± ۰/۰۵ ^a	۲/۶۸ ± ۰/۰۶ ^b	شاخص کبدی (/)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($p \leq 0.05$).

معنی‌دار آماری در مقادیر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در بین تیمارهای مختلف غذایی مشاهده نشد، به‌استثنای تیمار لایزین + متیونین که به‌طور معنی‌دار پایین‌تر از دیگر تیمارها بود ($p \leq 0.05$). مقادیر متوسط آنزیم آلکالین فسفاتاز ماهیان گروه شاهد و تیمار لایزین به‌طور معنی‌دار بالاتر از تیمار ۲ (متیونین) و تیمار ۳ (لایزین + متیونین) بود ($p \leq 0.05$).

تأثیر جیره‌های غذایی بر برخی از فراسنجه‌های ایمنی
نتایج حاصل از تأثیر جیره غذایی حاوی مکمل‌های لایزین و متیونین بر فراسنجه‌های ایمنی در جدول ۴ ارائه شده است. متوسط ایمونوگلوبولین کل در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۳ (لایزین + متیونین) به‌طور معنی‌دار از ماهیان شاهد بالاتر بود ($p \leq 0.05$). بالاترین میزان لیزوزیم در تیمار ۳ مشاهده شد که به‌طور معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارها بالاتر بود ($p \leq 0.05$).

تأثیر جیره‌های غذایی بر برخی از فراسنجه‌های

خونی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی

نتایج حاصل از تأثیر جیره غذایی حاوی منابع مختلف مکمل‌های لایزین و متیونین بر فراسنجه‌های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که میزان هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز در تیمار لایزین + متیونین به‌طور معنی‌دار نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($p \leq 0.05$). اضافه کردن مکمل لایزین + متیونین به جیره غذایی منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر هموگلوبین، گلوکز، کلسترول و پروتئین کل خون نسبت به گروه شاهد شد ($p \leq 0.05$). میانگین کلسترول خون فیل ماهیان گروه شاهد به‌طور معنی‌دار پایین‌تر از تیمارهای لایزین، متیونین و ترکیب لایزین + متیونین بود ($p \leq 0.05$). بیشترین میزان آسپاراتات آمینوترانسفراز در گروه شاهد مشاهده شد که با تیمار لایزین + متیونین دارای تفاوت معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). هیچ اختلاف

جدول ۳ میانگین فراسنجه‌های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی فیلماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف غذایی

تیمارهای آزمایشی				فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی
تیمار ۳ (لایزین + متیونین)	تیمار ۲ (متیونین)	تیمار ۱ (لایزین)	گروه شاهد	
۲۴/۱ ± ۰/۴۳ ^a	۲۳/۱ ± ۰/۴۹ ^{ab}	۲۳/۱ ± ۰/۳۴ ^{ab}	۲۲/۱ ± ۰/۲۳ ^b	هماتوکریت (%)
۶/۴۸ ± ۰/۱۲ ^a	۵/۹۱ ± ۰/۱۰ ^b	۵/۷۹ ± ۰/۱۱ ^b	۴/۶۴ ± ۰/۰۸ ^c	هموگلوبین (گرم/دسی لیتر)
۶۶/۹ ± ۰/۷۴ ^a	۶۴/۷ ± ۰/۶۷ ^{ab}	۶۳/۹ ± ۰/۷۵ ^b	۶۰/۱ ± ۰/۸۶ ^c	گلبول قرمز (تعداد × ۱۰ ^۶)
۲۱/۸ ± ۰/۲۳ ^b	۲۳/۲ ± ۰/۴۶ ^a	۲۳/۷ ± ۰/۳۴ ^a	۲۴/۴ ± ۰/۳۱ ^a	گلبول سفید (تعداد × ۱۰ ^۳)
۴/۷۶ ± ۰/۲۳ ^a	۴/۴۳ ± ۰/۱۳ ^a	۴/۲۴ ± ۰/۰۹ ^a	۳/۴۳ ± ۰/۱۵ ^b	گلوکز (mg/L)
۲۳/۱ ± ۰/۶۸ ^a	۲۱/۶ ± ۰/۳۸ ^b	۲۱/۹ ± ۰/۷۶ ^b	۱۷/۸ ± ۰/۸۹ ^c	پروتئین کل (g/L)
۲۵/۷ ± ۱/۳ ^a	۲۵/۱ ± ۱/۳ ^{ab}	۲۴/۸ ± ۱/۱ ^b	۲۲/۳ ± ۱/۳ ^c	کلسترول (mg/L)
۱۵۵/۷ ± ۲/۱ ^a	۱۵۲/۱ ± ۱/۹ ^{ab}	۱۵۳/۵ ± ۲/۴ ^{ab}	۱۴۳/۸ ± ۴/۱ ^b	تری‌گلیسرید (mg/L)
۲۳۴/۹ ± ۱۵/۸ ^c	۲۵۶/۹ ± ۲۹/۱ ^{ab}	۲۵۴/۹ ± ۳۱/۸ ^{ab}	۲۷۶/۹ ± ۲۹/۴ ^a	آسپارات آمینوترانسفراز (U/L)
۱۵/۴۶ ± ۱/۰۳ ^b	۱۸/۴۴ ± ۱/۰۳ ^a	۱۷/۹۸ ± ۱/۲۴ ^a	۱۹/۷۳ ± ۱/۱۵ ^a	آلانین آمینوترانسفراز (U/L)
۳۵۷/۶ ± ۲۶/۳ ^b	۳۶۶/۶ ± ۶۳/۳ ^b	۳۹۸/۵ ± ۷۸/۴ ^a	۴۰۹/۴ ± ۵۲/۵ ^a	آنزیم الکالین فسفاتاز (U/L)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($p \leq 0.05$).

جدول ۴ میانگین مقادیر فراسنجه‌های ایمنی فیلماهیان پرورشی در تیمارهای مختلف غذایی

تیمارهای آزمایشی				فراسنجه‌های ایمنی
تیمار ۳ (لایزین + متیونین)	تیمار ۲ (متیونین)	تیمار ۱ (لایزین)	گروه شاهد	
۱۳/۳ ± ۲/۶۸ ^a	۱۰/۸ ± ۱/۵۶ ^{ab}	۱۱/۸۹ ± ۲/۳۹ ^{ab}	۹/۵۹ ± ۲/۵۹ ^b	ایمونوگلوبولین کل (mg/dL)
۳/۴۲ ± ۰/۹۸ ^a	۱/۵۹ ± ۰/۵۹ ^b	۱/۸۲ ± ۰/۳۹ ^b	۰/۸۷ ± ۰/۳۶ ^b	لیزوزیم (μg/mL)

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($p \leq 0.05$).

ایرانی (*A. persicus*) نشان داد که کنجاله سویا

می‌تواند به شکل جزئی جایگزین منابع پروتئین حیوانی شود، در صورتی که عنصر فسفر توسط فعالیت میکروبی فیتاز و یا به صورت فسفر خالص به ماهی برسد (Imanpoor et al. 2010).

در مطالعه حاضر، بالاترین وزن کسب شده و ضریب چاقی در تیمار لایزین + متیونین (تیمار ۳) مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌دار با دیگر تیمارها بود. در واقع، جیره محتوی ۳۴۴ گرم بر کیلوگرم کنجاله سویا به اضافه مقادیر ۲۲/۰۲ و ۱۲/۹۴ گرم بر کیلوگرم ماده خشک مکمل‌های لایزین و متیونین، علاوه بر تأمین نیازمندی‌های غذایی به اسیدهای آمینه، باعث افزایش میزان شاخص‌های رشد در فیلماهی خواهد شد. با توجه به ثابت بودن مدیریت تغذیه و پرورش ماهیان مورد بررسی و نیز کاهش معنی‌دار روند رشد و کارایی غذا در ماهیان شاهد نسبت به دیگر تیمارها می‌توان ادعا کرد که لایزین و متیونین جیره پایه ناکافی

بحث

شاخص‌های وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، شاخص رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی ماهیانی که از محتوی مکمل لایزین + متیونین (تیمار ۳) تغذیه کرده بودند به طور معنی‌دار از ماهیان تغذیه شده از دیگر جیره‌ها بالاتر بود. استفاده از کنجاله سویا مناسب‌ترین روش برای تأمین نیازهای پروتئینی جیره است (Gatlin et al. 2007). برنامه تغذیه‌ای مطلوب سبب بهبود شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی، ضریب تبدیل غذایی، کمک به کاهش فضولات ماهی، کاهش اتلاف غذا، کاهش تنوع اندازه، درصد افزایش تولید و بهبود کیفیت آب می‌شود (Tucker et al. 2006). Mazurkiewicz و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه تغذیه تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) گزارش کردند که پروتئین سویای کنسانتره و کلزا جایگزین مناسبی برای پودر ماهی خواهد بود. مطالعه روی تاسماهی

توجه شود، چون کارخانجات تولیدکننده غذا و پرورش‌دهندگان همواره در مورد الحاق منابع پروتئین جانشین به دلیل تأثیر منفی آن‌ها بر شاخص‌های ایمنی آبری مورد نظر تردید دارند، حتی اگر ثابت شود که ماهی تغذیه شده از این منابع روند رشد خوبی داشته است (Francis et al. 2001). در مطالعه بررسی کمیبود متیونین و لایزین در ماهی صیبتی، یعقوبی و همکاران (۱۳۹۵) هیچ تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها در درصد بقا مشاهده نکردند، اما همه شاخص‌های رشد و تغذیه در بین تیمارهای دارای کمیبود اسیدآمینه نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌دار کاهش، ولی میزان ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت. همچنین، در تحقیق دیگر، مقایسه سه سطح کمیبود، کافی و مازاد اسیدآمینه متیونین در ماهی سوکلا نشان داد که کاهش رشد، سوخت‌وساز ضعیف و کاهش ابقای نیتروژن فقط در ماهیان تغذیه شده با سطح کمیبود متیونین رخ داده است (Nguyen et al. 2019).

در مطالعه حاضر، مکمل لایزین و متیونین باعث بهبود شرایط بیوشیمیایی خون شدند. Shuender و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که جیره‌های فرموله شده با انرژی و پروتئین یکسان پودر ماهی می‌تواند حداکثر تا ۳۰۰ گرم در کیلوگرم توسط کنجاله سویا همراه با لایزین و متیونین برای بهبود حجم هماتوکریت در کپور سیاه (*Mylopharyngodon piceus*) جایگزین شود. Zhou و همکاران (۲۰۰۵) اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های خونی از جمله هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز ماهی سوکلا که از سطوح مختلف کنجاله سویا تغذیه کرده بودند، نشان دادند. در پستانداران مثل انسان، اثرات کاهش‌دهنده کلسترول خون با مصرف سویا کاملاً ثابت شده است. مدارک مستندی در باره اثرات کاهش‌دهنده کلسترول در ماهیانی که با جیره‌های حاوی پروتئین گیاهی تغذیه شده‌اند، وجود دارد (Kaushik et al. 1995; De Francesco et al. 2004). در آزمایش حاضر، تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسما ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های لایزین و متیونین دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد بودند. تری‌گلیسرید سرم به عنوان یک نشانگر کوتاه مدت در مورد وضعیت تغذیه به کار می‌رود (Imanpoor et al. 2010). در جایگزین کردن پروتئین گیاهی با جانوری، افزایش چربی کل به همراه

است و این امر به دلیل عدم تأمین اسیدهای آمینه ضروری جیره، منجر به تأثیر نامطلوب بر روند رشد و فراسنجه‌های فیزیولوژیک گونه مذکور، کاهش احتمالی قابلیت هضم و وخیم‌تر شدن تغییرات ساختاری روده بزرگ (Burr et al. 2012) خواهد شد. نتایج فوق با مطالعات Sarder و همکاران (۲۰۰۹) در گونه کپور هندی رهو (*Labeo rohita*)، تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Gaber, 2006)، تاسماهی ایرانی (محسنی و همکاران، ۱۳۸۹)، ماهی صیبتی (یعقوبی و همکاران، ۱۳۹۵) و ماهی سوکلا (Nguyen et al. 2019) هم‌سویی دارد. همچنین در مطالعه حاضر، فیلماهیان تغذیه شده با جیره پایه آرد سویا به همراه مکمل‌های جداگانه لایزین یا متیونین به طور معنی‌دار روند رشد و کارایی تغذیه بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند. اگرچه، مکمل‌های جداگانه اسیدآمینه باعث عملکرد رشد بهتر نسبت به گروه شاهد بودند، اما ترکیب لایزین و متیونین با هم، نسبت به مکمل مجزای لایزین یا متیونین در جیره پایه، برای رشد بیشتر، نتیجه بهتری داشت. کیفیت پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه جیره، دو عامل مهم اثرگذار روی رشد ماهیان هستند، به طوری که پروتئین جیره‌های غذایی که حتی فقط یک نوع اسیدآمینه ضروری را نداشته باشند، برای رشد کافی نیستند.

نتایج مطالعات Takagi و همکاران (۲۰۰۱) مشابه یافته‌های حاضر است که گزارش کردند ماهیان سیم قرمز دریایی (*Pagrus major*) تغذیه شده با جیره کنسانتره سویا به همراه مکمل متیونین و لایزین، از روند رشد و کارایی غذایی بالاتری نسبت به جیره بدون این دو اسید آمینه برخوردار بودند. میزان تحمل گونه‌های متداول پرورشی به بازدارنده‌های موجود در کنجاله سویا متفاوت است. بازدارنده پروتئاز، یک ماده ضدغذایی بسیار شایع است که دو گروه شامل بازدارنده تریپسین و دیگری بازدارنده پروتئاز در کنجاله سویا وجود دارد (Norton, 1991). نتایج دستاوردها در آزادماهی اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) نشان داد که افزایش مقادیر کنجاله سویا به میزان ۳۰ تا ۴۰٪ تأثیر منفی در روند رشد نداشته است. اگر به یک جایگزین پروتئینی مناسب به جای پودر ماهی و تعیین توان بالقوه آن در آبری پروری پرداخته شود، باید به تأثیر آن پروتئین جایگزین بر کارکرد دستگاه ایمنی و پایداری ماهیان تغذیه شده در مقابل بیماری‌ها

آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز و اسپاراتات آمینوترانسفراز را گزارش کردند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که افزودن اسیدهای آمینه لایزین و متیونین اثرات مثبتی بر رشد و عملکرد فیزیولوژیک فیل ماهی دارد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که فیل ماهی جوان پرورشی می‌تواند به‌طور مؤثری از لایزین (L-lysine) به‌میزان ۲۲/۰۲ گرم و متیونین (DL-metionine) به‌میزان ۱۲/۹۴ گرم در کیلوگرم جیره پایه محتوی ۳۴۴ گرم در کیلوگرم کنجاله سویا برای بهبود روند رشد، کارایی تغذیه و عملکردهای متنوع فیزیولوژیک استفاده کند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در قالب طرح مصوب شورای تحقیقات و فناوری استان گیلان- شهرستان رشت (با حمایت مالی استانداری گیلان) با عنوان "بهینه سازی جیره غذایی با هدف افزایش شاخص‌های رشد، بهبود کارایی تغذیه و ارتقای دستگاه ایمنی تاسماهیان پرورشی (فاز اول: فیل ماهی و تاسماهی سبیری)" با شماره مصوب: ۹۴۱۰۴-۳۲-۳۲-۴ در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر انجام شد. نگارندگان کمال تشکر را از کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه دست یاری دادند و با کمک‌ها و زحمات بی‌دریغ خود پشتیبان ما بودند، ابراز می‌دارند.

منابع

حلاجیان، ع.، کاظمی، ر. ا.، یوسفی جوردی، ا. ۱۳۹۰. اثر پودر گل میخک بر مدت زمان بیهوشی و بازگشت از بیهوشی در فیل ماهی (*Huso huso*) پرورشی ۴ ساله. نشریه فن آوری‌های نوین در توسعه آبی پروری ۵: ۱۴۰-۱۳۳.

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی، ر.، علیزاده، م. ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه تعیین احتیاجات غذایی فیل ماهی از مرحله لاروی تا مرحله عرضه به بازار. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۲۲۴ ص.

محسنی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع. ۱۳۸۹. گزارش نهایی پروژه مطالعه امکان تولید

افزایش تری‌گلیسرید پلاسما در ماهیان نشان‌دهنده سوخت و ساز بالای چربی و جواب مثبت به پروتئین جایگزین است. اگرچه سوخت‌وساز کلسترول در پستانداران و ماهی با هم متفاوت است، اما گزارش شده که جایگزینی منابع پروتئین گیاهی به دلیل افزایش ترشح نمک‌های صفراوی مانع از جذب کلسترول یا منجر به جذب و بازگیری در دیواره روده شده و به این ترتیب، کاهش کلسترول یا هاپیوکلسترومی رخ می‌دهد (Kaushik et al. 2004). غلظت گلوکز خون در مطالعه حاضر از تیمارهای غذایی تأثیر پذیرفت. غلظت گلوکز خون در گروه شاهد، به‌طور معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارها پایین‌تر بود. کاهش میزان گلوکز پلاسما نشان‌دهنده تأثیر کنجاله سویا بر سوخت‌وساز انرژی در بدن ماهیان است (Zhou et al. 2005). غلظت پروتئین کل در خون، شاخصی برای بررسی سلامت و وضعیت تغذیه‌ای ماهی است. همچنین کاهش معنی‌دار پروتئین کل خون در هنگام جایگزینی پروتئین‌های گیاهی، دلالت بر عدم کارایی تغذیه و اختلال در کاهش پروتئین در کبد دارد (Kumar et al. 2010).

در مطالعه حاضر، اضافه نکردن مکمل لایزین و متیونین در جیره محتوی سطوح بالای کنجاله سویا، تأثیر معنی‌داری روی پروتئین کل خون، آنزیم‌های کبدی ALT و AST ماهیان داشت که نشان‌دهنده عدم تطابق‌پذیری مناسب فیل ماهی به پروتئین جایگزین است. از سوی دیگر، ALT و AST آنزیم‌هایی هستند که در کبد وجود دارند و وظیفه آنها شکستن (کاتابولیسم) اسیدهای آمینه در کبد و انتقال گروه‌های اسیدآمینه از آلفا آمینواسیدها به آلفا کتواسیدها است (Shi et al. 2006; Soltan et al. 2008). افزایش آنزیم‌های ALT و AST در خون حاصل قسمت‌های آسیب دیده کبد است. میزان AST با انسداد مجرای صفراوی و بیماری تجمع (نفوذ) درون کبدی (Intrahepatic Infiltrative Disease) صفرا بالا می‌رود. ALT هنگامی که سلول‌های کبد تخریب می‌شوند، به خون نشت می‌کند. همچنین میزان آنزیم ALT به‌طور قابل توجهی در کبد آسیب دیده که به حالت بحرانی رسیده است، افزایش می‌یابد (Lundstedt et al. 2004). Soltan و همکاران (۲۰۰۸) با افزایش میزان ترکیب پروتئین‌های گیاهی در جیره ماهی تیلاپیای نیل کاهش میزان هموگلوبین، هماتوکریت و افزایش مقادیر

بهبود کارایی تغذیه و ارتقای سیستم ایمنی تاسماهیان پرورشی (فاز اول: فیلماهی و تاسماهی سبیری). موسسه تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. ۱۸۲ ص.
 یعقوبی، م.، غفله‌مرمضی، ج.، صفری، ا. ۱۳۹۵. اثرات منفی کمبود اسید آمینه‌های لایزین و متیونین در جیره بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن ماهی صیبتی جوان (*Sparidentex hasta*). زیست‌شناسی دریا ۸: ۲۷-۳۸.

Ahmed, I., Khan, M.A. 2004. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture* 235: 499-511.
 Ahmed, I., Khan M.A., Jafri, A.K. 2003. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture International* 11: 449-462.
 AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists International, 18th ed. Gaithersburg, Maryland, USA.
 Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A., Paltenea, E. 2012. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *Food Technology* 36: 61-73.
 Burr, G.S., William, R.W., Frederic, T.B., Ronald, W.H. 2012. Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 334-337: 110-116.
 Cho, S.H., Lee, S.M., Lee, J.H. 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition* 11: 235-240.
 Coutinho, F., Peres, H., Guerreiro, I., Pousao-Ferreira, P., Oliva-Teles, A. 2012. Dietary protein requirement of Sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) juveniles. *Aquaculture* 356-357: 391-397.

گوشت، خاویار و بچه ماهی از تاسماهیان پرورشی (تاسماهی ایرانی، فیلماهی، شیپ و ازون برون). انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۱۳۴ ص.
 محسنی، م.، پورعلی، ح.ر.، حسنی، م.ح.، کاظمی، ر.، پوردهقانی، م.، حلاجیان، ع.، جلیل پور، ج.، علیپور، ع.، دادگر، ش.، طاعتی، ر. ۱۳۹۸. گزارش نهایی بهینه سازی جیره غذایی با هدف افزایش شاخص‌های رشد،
 De Francesco, M., Parisia, G., Medaleb, F., Lupia, P., Kaushik, S.J., Polia, B.M. 2004. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture-based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 236: 413-429.
 Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assays. In: *Techniques in Fish Immunology*. Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B. (Eds). SOS Publication. USA, 101-103.
 Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jane, N.C. 2000. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 1344 p.
 Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199: 197-227.
 Gaber, M.M. 2006. Partial and complete replacement of fish meal by broad bean meal in feeds for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., fry. *Aquaculture Research* 37: 3-15.
 Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu G., Krogdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38: 551-579.
 Goff, J.B., Gatlin, D.M. 2004. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value

- of cystine for methionine. *Aquaculture* 241: 465-477.
- Imanpoor, M.R., Bagheri, T., Azimi, A. 2010. Serum biochemical change induced by soybean meal in diet on Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Global Veterinaria* 5: 61-64.
- Imanpoor, M.R., Roohi, Z. 2015. Effects of Sangrovit-supplemented diet on growth performance, blood biochemical parameters, survival and stress resistance to salinity in the Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Aquaculture Research* 47: 2874-2880.
- Kaushik, S.J., Cravedi, J.P., Lalles, J.P., Sumpter, J., Fauconneau, B., Laroche, M. 1995. Partial or total replacement of fish meal by soya protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout. *Aquaculture* 133: 257-274.
- Kaushik, S.J., Coves, D., Dutto, G., Blanc, D. 2004. Almost total replacement of fishmeal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230: 391-404.
- Kim, J.D., Lall, S.P. 2001. Effects of dietary protein level on growth and utilization of protein and energy by juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture* 195: 311-319.
- Kitagima, R.E., Fracalossi, D.M. 2011. Digestibility of alternative protein-rich feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 306-312.
- Kumar, V., Makkar, P.S., Amselgruber, H.P.S., Klaus, W., Becker, K. 2010. Physiological, haematological and histopathological responses in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings fed with differently detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. *Food and Chemical Toxicology* 48: 2063-2072.
- Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G. 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. *Comparative Biochemistry and Physiology* 137B: 331-339.
- Luo, G., Xu, J., Teng, Y., Ding, C., Yan, B. 2010. Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. *Aquaculture Research* 41: 210-219.
- Marcouli, P., Alexis, M.N., Andriopoulou, A., Ilpopulou-Greor-Gudaki, J. 2006. Development of a reference diet for use in indispensable amino acid requirement studies off gilthead sea bream *Sparus aurata* L. *Aquaculture Nutrition* 10: 335-354.
- Mazurkiewicz, J., Przybyli, A., Golski, J. 2009. Usability of some plant protein ingredients in the diets of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Archives of Polish Fisheries* 17: 45-52.
- Mohseni, M., Hassani, M.H., Pourali, F.H., Pourkazemi, M., Bai, S.C. 2011. The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology* 27: 737-742.
- Murillo-Gurrea, D.P., Coloso, R.M., Bolongan, I.G., Serrano J.R. 2001. Lysine and arginine requirement of Juvenile Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal of Applied Ichthyology* 17: 49-53.
- Naylor, R.L., Goldberg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troeli, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *A'tore* 405: 1017-1024.
- Nguyen, M.V., Espe, M., Conceição, L.E.C., Le, H.M., Yufera, M., Engrola, S.A.D., Jordal, A.E.O., Ronnestad, I. 2019. The role of dietary methionine concentrations on growth, metabolism and N-retention in cobia (*Rachycentron canadum*) at elevated water temperatures. *Aquacult Nutrition* 25: 495-507.

- Norton, G. 1991. Proteinase inhibitors. In: Toxic Substances in Crop plants. Mello, F.J.P., Duffus, C.M., Duffus, J.H. (Eds). The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge, England, 68-106.
- Refstie, S., Korsoen, O., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I., Roem, A. 2003. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190: 46-63.
- Sardar, M., Abid, H.S., Randha, W.A., Prabhakar, R. 2009. Effects of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian major carp, rohu (*Labeo rohita*) fed soy protein-based diet. *Aquaculture Nutrition* 15: 229-346.
- Shahsavani, D., Mohri, M., Gholipour Kanani, H. 2010. Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 39-43.
- Shi, X., Li, D., Zhuang, P., Nie, F., Long, L. 2006. Comparative blood biochemistry of Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) and Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 32: 63-66.
- Shuennder, Y., TainSheng, L., ChyngHwa, L., YewHu, C., Hung- Kuang, P., Chiu, L. 2001. Partial substitution of white fish meal with soybean meal or lupin meal in diets for fingerling black carp (*Mylopharyngodon piceus*). *Journal of Fisheries Society of Taiwan* 28: 317-328.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P. 1993. Nonspecific Defence Mechanisms Assay in Fish: II. Potential Killing Activity of Neutrophils and Macrophages, Lysozyme Activity in Serum and Organs. In: Disease Diagnosis and Prevention Methods. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Waluga, J. (Eds). FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI, Olsztyn, 105-111.
- Small, B.C., Soares, J.R. 2000. Quantitative dietary lysine requirement of Juvenile stripped bass *Morone saxalitis*. *Aquaculture* 6: 207-212.
- Soltan, M., Hanafy, A., Wafa, M.I.A. 2008. Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Global Veterinaria* 2: 157-164.
- Tacon, G.J., Metian, M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146-158.
- Takagi, S., Shimeno, S., Hosokawa, H., Ukawa, M. 2001. Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science* 67: 1088-1096.
- Tantikitti, C., Chimsung, N. 2001. Dietary lysine requirement of freshwater (*Mystus nimurus* Cuv. & Val). *Aquaculture Research* 32: 135-141.
- Thompson, K.R., Metts, L.S., Muzinic, L.A., Dasupta, S., Webster, C.D., Brady, Y.J. 2007. Use of turkey meal as a replacement for menhaden fish meal in practical diets for sunshine bass grown in cages. *North American Journal of Aquaculture* 6: 351-359.
- Tucker, B.J., Booth, M.A., Allan, G.L., Booth, D., Fielder, D. 2006. Effects of photoperiod and feeding frequency on performance of newly weaned Australian snapper *Pagrus auratus*. *Aquaculture* 258: 514-520.
- Wang, Y., Li, K., Han, H., Zheng, Z.X., Bureau, P.B. 2008. Potential of using a blend of rendered animal protein ingredient to replace fish meal in practical diets for Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 281: 113-117.
- Webster, C.D., Lim, C.E. 2002. Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for

- Aquaculture. CAB International, CABI publishing, 418 p.
- Wilson R.P., Poe W.E., 1985. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns in channel cat, *Ictalurus punctatus*. Comparative Biochemistry and Physiology 80B: 338-385.
- Zhou, Q.C., Mai, K.S., Tan, B.P., Liu, Y.J. 2005. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture Nutrition 11: 175-182.

The effect of dietary lysine and methionine amino acids on growth indices, blood parameters, liver enzymes and immune responses in beluga, *Huso huso* (L. 1758)

Mahmoud Mohseni^{1*}, Ayoub Yousefi¹, Reza Taati², Alireza Alipour¹, Somayeh Hasanpour³

1- International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Guilan, Iran

2- Department of Fisheries, Talesh Branch, Islamic Azad University, Talesh, Guilan, Iran

3- Golden Caviar Propagation and Rearing Farm, Sangar Dam, Rasht, Guilan, Iran

Received 24 March 2019; accepted 20 August 2019

Abstract

The present study was conducted to examine the effect of dietary lysine and methionine amino acids on growth, blood parameters, liver enzymes and immune responses of beluga, *Huso huso*. Four experimental soy protein-based treatments including D₀ (without lysine or methionine), D₁ (lysine), D₂ (methionine) and D₃ (lysine + methionine) were formulated in triplicate groups. A total number of 240 juvenile beluga with average weight of 144.6 ± 4.64 g were fed with the experimental diets in the same rearing conditions for 12 weeks. L-lysine and DL-methionine were added to the diets containing 344 g/kg soybean meal at 22.02 and 12.94 g/kg dry diets, respectively. Growth indices in D₃ (lysine + methionine) were significantly (p<0.05) higher than those in other treatments. The lowest content of HSI belonged to D₀ (control) which exhibited significant difference (p<0.05) compared to the other treatments. The values of hematocrit, hemoglobin, glucose, total protein, liver enzymes and number of red blood cells in D₃ revealed significant enhancement compared to D₀ (p<0.05). There was an increased immune parameter including total Ig and lysozyme in treatments with supplemented amino acids (D₁, D₂ and D₃) compared to D₀ (control) with significant difference in case of D₃ (p<0.05). In conclusion, beluga juveniles effectively utilize the supplemented lysine at 22.02 g/kg and methionine at 12.94 g/kg in the dry diets containing 344 g/kg soybean meal to enhance growth performance, haematological and immune parameters.

Keywords: Soy protein, Immunity, Blood, L-Lysine, DL-methionine, Beluga

Corresponding author: mahmoudmohseni73@gmail.com