

اثرات منفی کمبود اسیدآمینه‌های لایزین و متیونین در جیره بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بدن ماهی صیبتی جوان (*Sparidentex hasta*)

چکیده

لایزین و متیونین اغلب یکی از محدودکننده‌ترین اسیدهای آمینه در اجزای غذایی مورد استفاده در غذای ماهیان تجاری می‌باشد که این محدودیت در مواردی که پودر ماهی با منابع پروتئینی گیاهی جایگزین می‌شود، افزایش می‌یابد. در این پژوهش تأثیرات کاهش اسیدهای آمینه‌ی ضروری لایزین و متیونین در جیره به یک میزان ثابت بر روی فاکتورهای رشد، تغذیه، ترکیب شیمیایی لاشه ماهی صیبتی جوان در تابستان سال ۹۳ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی مورد بررسی قرار گرفت. بر این اساس این تحقیق در سه تیمار و سه تکرار به مدت ۴۲ روز بر مبنای تغذیه با جیره‌هایی غذایی نیمه خالص شامل جیره شاهد بدون کمبود غذایی و جیره‌ی لایزین و متیونین به ترتیب با کمبودهای غذایی لایزین و متیونین با بکارگیری اسیدهای آمینه‌ی خالص به انجام رسید. در پایان آزمایش اطلاعات مربوط به فاکتورهای رشد، تغذیه و نمونه‌هایی برای بررسی ترکیب شیمیایی و ترکیب اسیدهای آمینه لاشه جمع‌آوری شدند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده هیچ تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها در درصد بقا مشاهده نشد اما همه‌ی شاخص‌های رشد و تغذیه شامل وزن نهایی، درصد افزایش وزن، شاخص رشد ویژه، کارایی پروتئین، تثبیت نیتروژنی و شاخص چربی احشایی در بین تیمارهای دارای کمبود اسیدآمینه نسبت به تیمار کنترل به‌صورت معنی‌داری کاهش و شاخص ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت. میزان چربی خام و متیونین لاشه در دو تیمار کاهش یافت ولی در میزان لایزین لاشه تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. کاهش عملکرد در بسیاری از فاکتورهای رشد و تغذیه در تیمارهای دارای کمبود اسیدآمینه‌ی متیونین و لایزین نشان‌دهنده اهمیت این دو اسیدآمینه در تغذیه ماهی صیبتی جوان بوده است. اسیدهای آمینه‌ی متیونین و لایزین همچنین بر متابولیسم و ذخیره‌ی چربی در ماهی صیبتی جوان مؤثر بوده است.

واژگان کلیدی: ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*)، کمبود اسیدآمینه، متیونین و لایزین، عملکرد رشد.

مرتضی یعقوبی^{۱*}

جاسم غفله مرمری^۲

امید صفری^۳

۱. دانشجوی دکتری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، اهواز

۲. دانشیار گروه تغذیه، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور، اهواز

۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه فردوسی، مشهد

*مسئول مکاتبات

m.yaghoubi@ut.ac.ir

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۲۰۳۹۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۵

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

آمینواسیدها مولکول‌هایی هستند که عملکردهای هر دو گروه آمین‌ها و کربوکسیلیک‌ها را شامل می‌شوند. عملکرد اصلی آمینواسید کاربرد آن‌ها در ساختن پروتئین می‌باشد. بیست عدد از ۸۰ آمینواسید ممکن طبیعی در ساختن پروتئین نقش دارند که یک‌دوم از آن‌ها به‌عنوان محدودکننده یا

ضروری تلقی می‌شوند که باید حتماً در جیره غذایی فراهم شوند زیرا زنجیره‌ی کربنی آن‌ها توسط بدن حیوانات قابل ساختن نیستند (Rønnestad et al., 2000). لایزین و متیونین اغلب یکی از محدودکننده‌ترین اسیدهای آمینه در اجزای غذایی مورد استفاده در غذای ماهیان تجاری می‌باشد که این محدودیت در مواردی که پودر ماهی با منابع پروتئینی گیاهی جایگزین می‌شود، افزایش می‌یابد (Mai et al., 2006) و بر این اساس شناخت اثرات مستقیم و غیر مستقیم کمبود این اسیدهای آمینه در جیره‌ی ماهیان هدف در آبی پروری لزوم و دلایل انجام مطالعه‌ی اخیر را نشان می‌دهد. افزودن لایزین غذایی باعث بهبود پاسخ ایمنی و توسعه‌ی معده و روده در ماهیان بی‌شکم می‌شود (Zhou, 2005). علاوه بر کاهش رشد و کارایی غذا، کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین در جیره باعث برخی پیامدهای مربوط به سلامت ماهیان مانند پوسیدگی باله‌های پشتی و دمی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorinchus mykiss*) و کپور معمولی (*Syprinus carpio*) شده است (NRC, 2011). گذرگاه ترنس‌میتیلیشن (انتقال گروه متیل از یک ترکیب به ترکیب دیگر)، ری‌میتیلیشن (افزودن گروه متیل به یک ترکیب در پی حذف قبلی گروه متیل از آن ترکیب) و ترنس‌فلوریشن (انتقال سولفور یا بخش‌های حاوی سولفور بین دو ترکیب) متیونین برای ساختن سیستمین و تائورین برای کبد پستانداران شناخته شده است و احتمالاً در ماهیان نیز با در نظر گرفتن اختلافات کمی در گونه‌های مختلف به همین گونه می‌باشد. به‌عنوان مثال تبدیل متیونین به تائورین برای ماهیان گزارش شده است (Wilson, 2003)، اما در مورد فعالیت آنزیم‌های مداخله‌کننده و همچنین تنظیمات هورمونی و تغذیه‌ای اطلاعات اندکی وجود دارد. متیونین عموماً به شکل DL در دسترس می‌باشد. ال متیونین که ایزومر طبیعی متیونین می‌باشد، به‌آسانی جذب و به‌صورت کاربردی توسط حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاهش فراهم‌سازی متیونین غذایی در ماهیان ممکن است باعث ایجاد کاتاراکت شود که این مطلب در مطالعات مربوط به ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، آزاد اطلس (*Salmo salar*) و قزل‌آلای دریاچه‌ای (*Salvelinus namaycush*) گزارش شده است (Poston et al., 1977)؛ بنابراین سطح غذایی اسیدهای آمینه‌ی لایزین و متیونین به‌صورت مهمی عملکرد رشدی و سلامت ماهیان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. دسترسی تجاری به اسیدآمینه‌های لایزین و متیونین غذایی و افزودن آن به جیره‌هایی که پروتئین آن‌ها بر مبنای پروتئین‌های گیاهی می‌باشد باعث کاهش مؤثر استفاده از پروتئین غذایی بدون تأثیر بر عملکرد رشدی می‌شود (Mai et al., 2006). این استراتژی تغذیه‌ای همچنین می‌تواند باعث کاهش ترشح آمونیم و فسفر محلول توسط ماهی به محیط آب شود (Cheng et al., 2003). اگر چه در داخل کشور مطالعات مشابهی در مورد تأثیر کمبود اسیدهای آمینه‌ی ضروری بخصوص متیونین و لایزین در دسترس نمی‌باشد ولی مطالعات سنجش نیاز اسید آمینه‌ای بر اساس روش حذف اسید آمینه بر روی چندین گونه از ماهیان شامل قزل‌آلای رنگین‌کمان (Green and Hardy, 2002)، آزاد اطلس (Rollin et al., 2003)، سیم سرطلایی (Peres and Sparus aurata) (Oliva-Teles, 2009) و تیلاپای نیل (Diógenes et al., 2015) (*Oreochromis niloticus*) به انجام رسیده است که در این مطالعات اثرات کاهش اسیدهای آمینه‌ی ضروری بر فاکتورهای رشد و ترکیب شیمیایی بدن مورد بررسی قرار گرفته است.

هدف از این پژوهش مشخص کردن تأثیرات کاهش اسیدهای آمینه‌ی ضروری لایزین و متیونین در جیره به یک میزان ثابت بر روی فاکتورهای رشد، تغذیه و ترکیب شیمیایی و ترکیب اسیدهای آمینه لاشه ماهیان مورد تغذیه می‌باشد. با نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان تأثیر جیره‌های غیر متوازن از لحاظ اسیدآمینه‌های ضروری را بر روی ماهی صبیتی بررسی کرد و نقش‌های فیزیولوژیک این دو اسیدآمینه‌ی ضروری را در ماهی صبیتی جوان شناخت.

مواد و روش‌ها

محل انجام این تحقیق در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) بود. تعداد ۲۲۵ قطعه ماهی ۴/۷ گرمی به محل انجام آزمایش انتقال داده شد. شرایط دمایی، pH و شوری متناسب با شرایط طبیعی منطقه بود و در طول دوره به‌صورت روزانه اندازه‌گیری گردید. این تحقیق

از ۹ عدد تانک ۳۰۰ لیتری پلی‌اتیلنی مدور برای انجام آزمایش استفاده می‌شد که در داخل هر تانک یک سنگ هوا برای تأمین اکسیژن و یک لوله‌ی تعویض آب به‌گونه‌ای که در طول شبانه‌روز دو بار آب کاملاً تعویض شود، تعبیه شد. برای آبیگری مخازن، آب دریا به حوضچه‌های رسوب‌گیر منتقل و پس از عبور از فیلتر شنی، حوضچه کلرزدنی و فیلتر اشعه‌ی ماروبنفش به سالن آزمایش منتقل شد. در هر تانک ۲۵ قطعه ماهی قرار داده و به مدت ده روز قبل از شروع آزمایش با شرایط جدید سازگاری یافتند. در تمام مراحل آزمایش ماهی‌ها ۴ نوبت در روز در حد سیری (Visual satiation) غذادهی شدند (Green and Hardy, 2002). این آزمایش با ۳ تیمار و در ۳ تکرار اجرا گردید. تنها تفاوت موجود در تیمارهای این آزمایش کاهش ۴۰ درصد از کل اسیدآمینه‌های لایزین و متیونین در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل بود (Green and Hardy, 2002). آزمایش فوق با توجه به استفاده از اسیدهای آمینه‌ی خالص در جیره بر اساس مطالعه‌ی (Peres and Oliva-Teles, 2009) بر روی ماهی سیم سر طلایی از ماهیان هم خانواده ماهی صبیتی در مدت ۶ هفته به انجام رسید.

هر ۳ جیره‌ی آزمایشی به‌گونه‌ای فرموله شدند که به‌طور میانگین حاوی ۴۷۰ گرم پروتئین بر کیلوگرم جیره و انرژی خالص ۲۰/۷ کیلوژول بر گرم بودند (جدول ۲). پروتئین از منابع پودر ماهی، ژلاتین و آمینواسیدهای خالص تأمین شد. در جیره‌ی تهیه‌شده برای هر سه تیمار از الگوی اسیدهای آمینه‌ی کیلکا برای متعادل کردن جیره استفاده شد و در همه تیمارها ۶۰ درصد منبع پروتئین از پودر ماهی کیلکا و ۴۰ درصد مابقی از اسیدهای آمینه کریستاله تأمین شد. در تیمار شاهد هیچ محدودیتی در اسیدهای آمینه‌ی ضروری لحاظ نگردید ولی در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین از ۴۰ درصد ترکیب اسیدهای آمینه‌ی خالص استفاده‌شده در تیمار اول میزان لایزین صفر در نظر گرفته شد و با میزان مشابهی از مخلوط اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری جایگزین گردید. برای تهیه‌ی تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی متیونین نیز روند مشابه ای همانند تیمار لایزین به انجام رسید. به‌این‌ترتیب همه‌ی جیره‌ها هم نیتروژن بودند، بنابراین تنها تفاوت تیمار شاهد با تیمارهای دارای کمبود اسیدآمینه در کاهش ۴۰ درصدی میزان اسیدآمینه‌هایی لایزین و متیونین در تیمارهای دوم و سوم به ترتیب بود. سایر عناصر هم به‌جز آمینواسیدهای ضروری طوری تنظیم شد که همه‌ی جیره‌ها هم انرژی نیز باشند. اسیدهای آمینه خالص با یک درصد آگار به جهت تأخیر انداختن در هضم و جذب و افزایش کارایی آن‌ها در بدن بجای پروتئین پوشش دهی شدند (Green and Hardy, 2002). برای متعادل کردن جیره‌ها با منابع غذایی استفاده‌شده از نرم‌افزار WUFFF DA نسخه 1.0 استفاده شد. برای تهیه جیره‌های غذایی تمامی مواد با ترازوی دیجیتال توزین شدند. ابتدا ترکیبات خشک جیره که قبلاً آسیاب شده بودند به‌اضافه آمینواسیدهای خالص به مدت تقریباً ۲۰ دقیقه با یکدیگر مخلوط گردیدند سپس روغن با مواد ویتامینی مخلوط گشته و به مواد خشک اضافه گردید و همراه با اضافه کردن آب به مقدار لازم کاملاً مخلوط شدند. سپس خمیر به چرخ‌گوشت با چشمه ۲ میلی‌متری منتقل شد سپس رشته‌های ایجادشده بر روی سینی‌های خشک‌کن قرار گرفته و به دستگاه خشک‌کن (در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت) منتقل شد. جیره‌ها پس از خشک شدن به‌صورت دستی شکسته شد تا متناسب با اندازه دهان ماهی گردند.

اجزای غذای هر سه جیره‌ی ساخته‌شده برای این پژوهش در جدول یک نشان داده‌شده است که در همه‌ی جیره‌ها همه‌ی اجزای غذای بکار برده شده به‌جز میزان لایزین خالص در تیمار کمبود لایزین و میزان متیونین خالص در تیمار کمبود متیونین یکسان می‌باشند. در جیره‌ی شاهد هیچ کمبودی بر اساس پروفیل پودر ماهی استفاده‌شده وجود ندارد. در جدول ۲ نتایج آنالیز شیمایی جیره‌ها بیان گردیده است که همه‌ی جیره‌ها هم نیتروژن با میزان مساوی پروتئین تقریباً ۴۷ درصد و هم انرژی با انرژی خالص تقریباً ۲۰/۷ کیلوژول بر گرم می‌باشند در این جدول میزان چربی و فیبر و عصاره‌ی عاری از ازل نیز بیان شده است که تقریباً بین همه‌ی جیره‌یکسان می‌باشند. ترکیب آمینواسیدی جیره‌ها بر اساس ترکیب اسیدهای آمینه اجزای جیره به‌دست‌آمده از NRC و ترکیب اسیدهای آمینه پودر ماهی کیلکا توسط نرم‌افزار محاسبه و در جدول ۳ گزارش شده است (Köprücü and Özdemir, 2005; NRC, 2011). ترکیب اسیدهای آمینه برای هر دو جیره بر مبنای پروفیل آرد ماهی مورد استفاده تعیین شد و در هر سه جیره به‌جز اسیدآمینه‌های کاهش‌یافته‌ی لایزین و متیونین به ترتیب در جیره‌های کمبود لایزین و متیونین تقریباً یکسان بودند.

در ابتدا و انتهای آزمایش زیست‌سنجی ماهیان به صورت گروهی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و با خط کش با دقت یک میلی‌متر طول ۵ عدد از هر تانک سنجیده شد. جهت ارزیابی عملکرد غذاهای مورد استفاده از شاخص‌های رشد استفاده شد تا نتایج بر مبنای آن‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. پس از اتمام دوره پرورش، میزان افزایش وزن بدن، میزان رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، درصد بقا، نرخ کارایی پروتئین، میزان تثبیت نیتروژن، فاکتور وضعیت و شاخص‌های کبدی احشایی و چربی احشایی بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$100 \times \text{وزن اولیه} / \text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه} = \text{درصد افزایش وزن}$

$\text{تعداد روز آزمایش} / (\ln \text{وزن اولیه} - \ln \text{وزن نهایی}) \times 100 = \text{نرخ ویژه رشد}$

$\text{افزایش وزن} / \text{میزان غذایی مصرفی} = \text{ضریب تبدیل غذایی}$

$100 \times \text{تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش} / \text{تعداد ماهیان در انتهای آزمایش} - \text{تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش} = \text{نرخ بقا}$

$(\text{میزان پروتئین جیره} \times \text{غذای خورده شده}) / (\text{وزن اولیه} - \text{وزن نهایی}) = \text{نرخ کارایی پروتئین}$

$\text{نیتروژن خورده شده} / (\text{نیتروژن اولیه لاشه} - \text{نیتروژن پایانی لاشه}) \times 100 = \text{تثبیت نیتروژنی}$

$(2) / (\text{تعداد ماهیان در انتهای آزمایش} + \text{تعداد ماهیان در ابتدای آزمایش}) \times \text{کل غذای خورده شده تیمار} = \text{غذای خورده شده}$

(Turchini et al., 2011) $[(2) / (\text{وزن اولیه} + \text{وزن نهایی})] / (\text{تعداد روز دوره} / \text{غذای خورده شده}) = \text{شاخص غذای خورده شده روزانه}$

$^3 (\text{طول}) / \text{وزن} = \text{ضریب چاقی}$

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

$100 \times \text{وزن بدن} / \text{وزن احشاء} = \text{شاخص احشایی}$

$100 \times \text{وزن بدن} / \text{وزن چربی احشایی} = \text{شاخص چربی احشایی}$

با اتمام دوره پرورش همه زی توده موجود در هر تانک به صورت جداگانه و به کمک آون در دمای زیر ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و به منظور آنالیز لاشه به آزمایشگاه تغذیه پژوهشکده آبی‌پروری جنوب کشور منتقل گردید. بدین ترتیب میزان پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام، خاکستر و رطوبت کل بدن هر تکرار به صورت جداگانه به دست آمد. برای محاسبه پروتئین خام، پس از هضم نمونه‌ها (با استفاده از دستگاه Digest Automat K438, Buchi) مقدار نیتروژن کل در نمونه‌ها با استفاده از روش کلدال (دستگاه K370 Keijldahl Auto, Buchi) و تقسیم آن در عدد ۶/۲۵ تعیین گردید. چربی با روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت استخراج و با دستگاه fat Analyzer محاسبه شد. خاکستر با سوزاندن لاشه در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت اندازه‌گیری شد. میزان فیبر خام به وسیله دستگاه فیبر سنج (شرکت Velp) و با استفاده از هضم اسیدی (اسیدسولفوریک) و هضم قلیایی (هیدروکسیدسدیم) محاسبه شد. عصاره فاقد ازت (NFE) از طریق روش محاسباتی تفریق میزان پروتئین، چربی، فیبر، رطوبت و خاکستر از ۱۰۰ محاسبه گردید (AOAC, 2005). جهت تعیین پروفیل اسیدآمینه کل لاشه بعد از صید به صورت کامل و یکنواخت به وسیله آسیاب چرخ شده و سپس میزان ده گرم از آن با دستگاه فریز درایر خشک و پس از دو مرحله هضم و اشتقاق به وسیله دستگاه HPLC (Kauner, Germany) با روش (Lindroth and Mopper, 1979) در آزمایشگاه تغذیه‌ی دانشگاه علوم دریایی تربیت مدرس نور مورد سنجش قرار گرفت. طول ستون ۴×۲۵۰ میلی‌لیتر، دمای ستون ۳۰ درجه سانتی‌گراد و نوع آن C18 بود. از آشکارساز فلورسنس بین دو طول موج Excitation 330 nm و Emission 450 nm نیز جهت شناسایی اسیدآمینه‌ها استفاده شد و در نهایت نتیجه به صورت درصد بیان گردید. شیوه نمونه‌برداری به صورت طرح کاملاً تصادفی بود. بعد از تحقق دو شرط اصلی آزمون‌های پارامتری یعنی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف و یکنواختی واریانس‌ها با استفاده از آزمون Levene، از آزمون ANOVA در سطح اعتماد ۹۵ درصد استفاده

شد. داده‌های درصدی به Arcsinus تبدیل شدند. داده‌های به‌دست‌آمده در ارتباط با تأثیر کاهش هریک از اسیدآمینه‌های ضروری بر شاخص‌های رشد، بازماندگی ماهی صیبتی به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA Analysis) صورت پذیرفت و سپس برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. برای انجام آنالیزهای فوق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد.

جدول ۱: درصد و اجزاء غذایی تشکیل‌دهنده جیره‌ها (گرم بر صد گرم جیره خشک).

جیره‌ها			
اقلام غذایی	شاهد	کمبود لایزین	کمبود متیونین
پودر کیلکا ^۱	36/00	36/00	36/00
نشاسته ذرت ^۱	20/50	20/50	20/50
آرد سفید گندم ^۱	7/00	7/00	7/00
ژلاتین ^۱	4/00	4/00	4/00
روغن ماهی ^۱	11/00	11/00	11/00
آگار ^۲	1/00	1/00	1/00
مکمل ویتامینی ^{۱a}	1/00	1/00	1/00
مکمل معدنی ^{۱a}	1/00	1/00	1/00
L-arginine ^۲	0/85	0/85	0/85
L-lysine-HCl ^۲	1/15	0/00	1/15
L-threonine ^۲	0/80	0/80	0/80
L-histidine ^۲	0/50	0/50	0/50
L-isoleucine ^۲	0/85	0/85	0/85
L-leucine ^۲	1/40	1/40	1/40
L-methionine ^۲	0/60	0/60	0/00
L-phenylalanine ^۲	0/75	0/75	0/75
L-tryptophan ^۲	0/20	0/20	0/20
L-valine ^۲	0/95	0/95	0/95
NEAA mixture ^{۲b}	10/20	11/35	10/80

^۱ موارد تهیه‌شده از شرکت خوراک دام، طیور و آبزیان ۲۱- بیضا. ^۲ تهیه‌شده از شرکت مرک. ^۳ موارد تهیه‌شده از شرکت فلوکا. ^a ویتامین A ۲۰۰۰ واحد استاندارد بر کیلوگرم، ویتامین D: ۸۰۰ واحد استاندارد بر کیلوگرم، ویتامین E: ۸۸ واحد استاندارد بر کیلوگرم، ویتامین K: ۳ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین C: ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B1: ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B2: ۱۴ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B5: ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B3: ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B6: ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B9: ۳ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین B12: ۰/۰۱۶ میلی گرم بر کیلوگرم، ویتامین H2: ۰/۱۴ میلی گرم بر کیلوگرم، سلنیم: ۱۶۸ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات آهن ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات مس ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، یدات کلسیم: ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، اکسیدمنگنز: ۱۶/۸ میلی گرم بر کیلوگرم، اکسیدروی: ۳۳/۲ میلی گرم بر کیلوگرم، کبالت: ۰/۳۳۶ میلی گرم بر کیلوگرم. ^b ترکیب اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری برحسب درصد شامل: L- glycine: 15; L-serine: 10; and L-proline: 10. _علامت خط زیر نشان‌دهنده عدم جایگزینی اسیدهای آمینه‌ی ضروری بعد از حذف ۴۰ درصد از جیره می‌باشد.

جدول ۲: آنالیز بیوشیمیایی ترکیب جیره‌ها (درصد در سه تکرار).

جیره‌ها	ماده خشک	انرژی ناخالص ^۱	پروتئین	چربی	فیبر خام	عصاره‌ی عاری از ازلت ^۲	خاکستر
شاهد	92/91±0/4	20/92±0/05	46/67±0/57	20/14±0/01	1/08±0/04	19/14±0/5	6/75±0/07
کمبود لایزین	92/02±0/4	20/46±0/07	47/92±0/19	18/91±0/3	0/41±0/09	19/34±0/01	5/84±0/09
کمبود متیونین	92/5±0/25	20/35±0/03	46/87±0/35	19/23±0/15	0/43±0/08	20/16±0/62	6/24±0/12

^۱ محاسبه انرژی ناخالص بر اساس میزان انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول بر گرم)، چربی (۳۹/۵ کیلوژول بر گرم) و کربوهیدرات (۱۷/۲ کیلوژول بر گرم) محاسبه شد (NRC, 2011). ^۲ عصاره عاری از نیتروژن = ۱۰۰ - (فیبر+خاکستر+رطوبت+چربی+پروتئین).

جدول ۳: ترکیب آمینواسیدی جیره‌های آزمایش (گرم بر صد گرم جیره در یک تکرار).

آمینواسیدها														جیره‌ها
SER	GLY	TYR	CYS	VAL	TRP	PHE	MET	LEU	ILE	HIS	THR	LYS	ARG	شاهد
2/04	5	0/87	0/27	2/33	0/45	1/84	1/38	2/43	2/07	1/15	1/9	2/۱۵	2/56	شاهد
2/21	5/33	0/87	0/27	2/33	0/45	1/84	1/38	2/32	2/07	1/15	1/9	<u>1/29</u>	2/56	کمبود لایزین
2/1	5/11	0/87	0/27	2/33	0/45	1/84	<u>0/79</u>	2/45	2/07	1/15	1/9	2/۱۵	2/56	کمبود متیونین

در جدول فوق (ARG) اسید آمینه‌ی آرژنین، (LYS) اسید آمینه‌ی لایزین، (THR) اسید آمینه‌ی ترئونین، (HIS) اسید آمینه‌ی هیستیدین، (ILE) اسید آمینه‌ی ایزولوسین، (LEU) اسید آمینه‌ی لوسین، (MET) اسید آمینه‌ی متیونین، (PHE) اسید آمینه‌ی فنیل آلانین، (TRP) اسید آمینه‌ی تریپتوفان، (VAL) اسید آمینه‌ی والین، (CYS) اسید آمینه‌ی سیستئین، (TYR) اسید آمینه‌ی تیروزین، (GLY) اسید آمینه‌ی گلیسین، (SER) اسید آمینه‌ی سرین می‌باشد. _ خط زیر نشان دهنده اسیدهای آمینه‌ی کاهش یافته در هر جیره می‌باشد.

نتایج

در طول این آزمایش همه‌ی ماهی‌ها سالم بودند. اگرچه نرخ بقا در تیمار کمبود اسید آمینه‌ی لایزین به میزان ده درصد و در تیمار کمبود متیونین به میزان تقریباً ۵ درصد به صورت میانگین نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت اما این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. فاکتورهای رشد، تغذیه و شاخص‌های بیومتری مربوط به این آزمایش در جدول شماره ۴ گزارش شده است. همه‌ی جیره‌های آزمایشی به خوبی توسط ماهی‌ها پذیرفته شدند و همه‌ی ماهی‌ها در طول آزمایش به مدت ۴۲ روز به خوبی به صورت فعال به تغذیه پرداختند. در همه‌ی فاکتورهای رشد و تغذیه در بین تیمارها تفاوت‌های معنی‌داری گزارش گردید؛ که همه‌ی موارد در هر دو تیمار آزمایشی نسبت به تیمار کنترل به کاهش عملکرد مشاهده شد ($P < 0/05$). در شاخص‌های وزن نهایی، کارایی پروتئین و مصرف غذا و درصد مصرف روزانه‌ی غذا تنها بین تیمارهای کمبود اسید آمینه و کنترل تفاوت‌ها به صورت معنی‌دار بود ولی بین کمبود اسید آمینه‌ی لایزین و متیونین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0/05$) ولی در شاخص‌های درصد افزایش وزن، شاخص رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و تثبیت نیتروژنی هر سه تیمار مورد بررسی با یکدیگر متفاوت بودند و عملکرد ماهیان در این شاخص‌ها به گونه‌ای بود که بیشترین عملکرد رشد و تغذیه در تیمار کنترل مشاهده شد و در بین تیمارهای کمبود لایزین و متیونین عملکرد ماهیان تیمار کمبود متیونین بهتر از لایزین بود ($P < 0/05$). در اندیس‌های بیومتری تنها شاخص چربی احشایی با کاهش در تیمارهای کمبود لایزین و متیونین به صورت معنی‌دار مواجه گردید. سایر فاکتورهای بیومتری شامل شاخص وضعیت، شاخص کبدی و فاکتور وضعیت بدون تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده شدند.

جدول ۴: رشد، مصرف غذا، بقا و پارامترهای بیومتریک ماهی صبیتی جوان در انتهای دوره‌ی آزمایش (میانگین $\pm$ خطای استاندارد در ۳ تکرار).^۱

عملکرد رشد و تغذیه	شاهد	کمبود لایزین	کمبود متیونین
IBW (g) ^a	4/64 $\pm$ 0/08	4/67 $\pm$ 0/04	4/71 $\pm$ 0/02
FBW (g) ^b	12/84 $\pm$ 0/53 ^a	7/78 $\pm$ 0/29 ^b	8/83 $\pm$ 0/40 ^b
WG (%) ^c	177/03 $\pm$ 5/9 ^a	66/89 $\pm$ 2 ^c	87/60 $\pm$ 1 ^b
SGR ^d	2/39 $\pm$ 0/12 ^a	1/21 $\pm$ 0/07 ^c	1/50 $\pm$ 0/10 ^b
S (%) ^e	100	90 $\pm$ 4/19	95/7 $\pm$ 2/96
FCR ^f	2/00 $\pm$ 0/11 ^c	4/09 $\pm$ 0/07 ^a	3/17 $\pm$ 0/08 ^b
PER ^g	1/12 $\pm$ 0/11 ^a	0/55 $\pm$ 0/08 ^b	0/67 $\pm$ 0/10 ^b
Feed intake (g fish ⁻¹) ^h	16/27 $\pm$ 0/41 ^a	12/52 $\pm$ 0/33 ^b	13/54 $\pm$ 0/23 ^b
Daily feed intake ⁱ	0/۰۴۴ $\pm$ 0/00 ^b	0/۰۴۸ $\pm$ 0/00 ^a	0/047 $\pm$ 0/00 ^a
N Retention ^j	17/06 $\pm$ 0/97 ^a	6/21 $\pm$ 0/7 ^c	10/15 $\pm$ 0/53 ^b
اندیس‌های بیومتری			
K ^k	2/4 $\pm$ 0/00	2/4 $\pm$ 0/00	2/4 $\pm$ 0/00
HSI ^l	2/04 $\pm$ 0/02	1/66 $\pm$ 0/31	2/18 $\pm$ 0/16
VSI ^m	9/49 $\pm$ 0/43	7/45 $\pm$ 0/60	7/97 $\pm$ 0/51
IPF ⁿ	1/80 $\pm$ 0/16 ^a	0/41 $\pm$ 0/10 ^b	0/48 $\pm$ 0/11 ^b

^۱ حروف مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی تفاوت آماری ($P < ۰/۰۵$) و عدم وجود حروف در ردیف‌ها نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف در پارامترهای مذکور است. ^a وزن اولیه، ^b وزن نهایی، ^c درصد افزایش وزن، ^d نرخ ویژه رشد، ^e نرخ بقا، ^f نرخ کارایی غذا، ^g نرخ کارایی پروتئین، ^h میزان مصرف غذا، ⁱ میزان مصرف غذای روزانه (Turchini et al., 2011)، ^j تثبیت نیتروژنی، ^k ضریب چاقی، ^l شاخص کبدی، ^m شاخص احشایی، ⁿ شاخص چربی احشایی.

جدول ۵: آنالیز ترکیب کل لاشه (درصد وزن تر) ماهی صبیتی جوان در انتهای آزمایش (میانگین $\pm$ خطای استاندارد در ۳ تکرار)

اولیه	شاهد	کمبود لایزین	کمبود متیونین
۷۲/۳۷ $\pm$ ۱/۱۶	۷۰/۱۸ $\pm$ ۰/۶۷ ^b	75/3 $\pm$ 1/32 ^a	73/25 $\pm$ 0/81 ^{ab}
۱۷/۵۵ $\pm$ ۰/۶۰	۱۷/۳۴ $\pm$ ۰/۲۶	15/34 $\pm$ 0/45	16/65 $\pm$ 0/55
۵/۱۱ $\pm$ ۰/۲۸	۷/۳۲ $\pm$ ۰/۲۲ ^a	5/17 $\pm$ 0/21 ^b	4/69 $\pm$ 0/13 ^b
۴/۲۹ $\pm$ ۰/۱۶	۴/۸۵ $\pm$ ۰/۲۱	4/27 $\pm$ 0/08	4/35 $\pm$ 0/13
۶/۲۲ $\pm$ ۰/۰۲	۷/۰۴ $\pm$ ۰/۰۷ ^a	5/67 $\pm$ 0/03 ^c	5/83 $\pm$ 0/02 ^b

^۱ محاسبه انرژی ناخالص (کیلو ژول بر گرم) بر اساس میزان انرژی موجود در هر گرم پروتئین (۲۳/۶ کیلوژول بر گرم)، چربی (۳۹/۵ کیلوژول بر گرم) و کربوهیدرات (۱۷/۲ کیلوژول بر گرم) محاسبه شد (NRC, 2011).

آنالیز ترکیب شیمیایی کل بدن ماهیان مورد آزمایش در دو تیمار و همچنین در ماهیان شروع آزمایش در جدول شماره ۵ گزارش گردیده است. آنالیز آماری فقط برای نتایج انتهای آزمایش گزارش شده است؛ که بر اساس نتایج حاصله میزان پروتئین خام و خاکستر لاشه در بین تیمارها تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. میزان رطوبت به‌صورت معنی‌داری در تیمار لایزین بیشتر از تیمار کنترل بود ($P < ۰/۰۵$) ولی با تیمار متیونین تفاوت معنی‌داری را نشان نداد همچنین تیمار متیونین با هیچ یک از تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری را نداشت. چربی لاشه در تیمارهای دارای کمبود اسیدآمینه کمتر از میزان مشاهده‌شده در تیمار کنترل بود ($P < ۰/۰۵$). انرژی ناخالص در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین کمتر از تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی متیونین بود و در هر دو تیمار کمتر از میزان مشاهده‌شده در تیمار کنترل بود که این تغییرات به‌صورت معنی‌دار مشاهده گردید ($P < ۰/۰۵$).

در جدول ۶ ترکیب آمینواسیدی لاشه‌ی ماهیان بر اساس گرم بر صد گرم پروتئین هم در تیمارهای آزمایشی و هم در ابتدای آزمایش بیان شده است؛ که بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در مقایسه بین تیمارهای مورد مطالعه در بین اسیدهای آمینه، اسیدهای آرژنین، لایزین، ترئونین، گلوتامیک اسید، گلايسين و سيستين بدون تغيير مشاهده شدند. اسیدهای آمینه هیستیدین و متیونین به‌صورت معنی‌داری در تیمار کمبود متیونین کمتر از تیمار کمبود لایزین بود و در تیمار کنترل بیشتر از هر دو تیمار مورد آزمایش مشاهده شد ($P < 0.05$). اسیدآمینه‌ی ایزولوسین در تیمار لایزین کمتر از دو تیمار متیونین و کنترل بود ($P < 0.05$) ولی تفاوت معنی‌داری در بین تیمار کنترل و متیونین مشاهده نشد. اسیدآمینه‌ی لوسین در بین دو تیمار آزمایشی کمتر از میزان مشاهده‌شده در تیمار کنترل اندازه‌گیری شد ($P < 0.05$). اسیدآمینه‌ی والین تنها اسیدآمینه‌ی ضروری بود که در تیمار کمبود متیونین نسبت به کنترل افزایش یافته بود ولی در تیمار لایزین دارای کمترین میزان نسبت به سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری پرولین در هر دو تیمار آزمایشی و آلانین در تیمار لایزین نسبت به کنترل افزایش یافتند ($P < 0.05$). اسیدهای آمینه‌ی سرین و آسپارتیک اسید در هر دو تیمار آزمایشی و اسیدآمینه‌ی تیروزین تنها در تیمار کمبود لایزین نسبت به کنترل کاهش یافتند ($P < 0.05$)؛ که میزان اسیدآمینه‌ی متیونین در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین به‌صورت معنی‌داری کاهش یافته است و در بین اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری میزان اسیدآمینه‌ی آلانین به‌صورت معنی‌داری در تیمار کاهش اسیدآمینه‌ی لایزین افزایش یافته است ($P < 0.05$). به‌طور کلی در تیمار لایزین میزان اسیدآمینه‌های ضروری کاهش و میزان اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری افزایش یافتند ($P < 0.05$).

جدول ۶: ترکیب آمینواسیدی لاشه ماهیان در ابتدا و انتهای آزمایش (گرم بر ۱۶ گرم نیتروژن در ۳ تکرار)^۱.

اولیه	شاهد	کمبود لایزین	کمبود متیونین
اسیدآمینه‌های ضروری			
آرژنین	6/45 ± 0/03	7/83 ± 0	7/69 ± 0/06
هیستیدین	2/93 ± 0/03	2/6 ± 0/01 ^a	2/55 ± 0/01 ^c
ایزولوسین	3/97 ± 0/02	4/03 ± 0/08 ^a	3/52 ± 0/01 ^b
لوسین	7/58 ± 0/1	7/59 ± 0/07 ^a	7/17 ± 0/03 ^b
لایزین	8/61 ± 0/04	7/8 ± 0/03	7/82 ± 0/03
متیونین	2/52 ± 0	3/1 ± 0/04 ^a	2/62 ± 0/05 ^c
فنیل آلانین	3/92 ± 0/02	4/18 ± 0/08 ^a	3/96 ± 0/05 ^{ab}
ترئونین	3/89 ± 0/06	4/78 ± 0/01	4/87 ± 0/11
والین	4/86 ± 0/09	4/21 ± 0/1 ^b	3/86 ± 0/01 ^c
اسیدآمینه‌های غیرضروری			
آسپارتیک اسید	11/11 ± 0/1	10/54 ± 0/03 ^a	10/3 ± 0/01 ^b
گلوتامیک اسید	14/17 ± 0/07	14/79 ± 0/08	14/71 ± 0/22
سرین	3/55 ± 0/04	4/6 ± 0/03 ^a	4/49 ± 0/08 ^a
گلايسين	7/58 ± 0/09	6/63 ± 0/24	8/14 ± 0/09
پرولین	3/5 ± 0/04	3/43 ± 0/03 ^b	3/59 ± 0/02 ^a
آلانین	6/94 ± 0/02	7/08 ± 0/03 ^b	7/73 ± 0/13 ^a
تیروزین	3/25 ± 0/02	3/17 ± 0/02 ^a	3/04 ± 0/01 ^b
سیستین	0/95 ± 0/08	0/96 ± 0/12	0/92 ± 0/02
Total EAA	44/72 ± 0/12	46/09 ± 0/35 ^a	44/05 ± 0/01 ^b
Total NEAA	51/05 ± 0/2	51/18 ± 0/29 ^b	52/91 ± 0/04 ^a
Total AA	95/77 ± 0/31	97/27 ± 0/11	96/96 ± 0/02

^۱ میانگین ۳ تکرار، حروف مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری ($P < 0.05$) و عدم وجود حروف در ردیف‌ها نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف در پارامترهای مذکور است.

بحث و نتیجه گیری

تأثیرات کاهش رشد و عملکرد تغذیه در اثر کمبود اسیدهای آمینه متیونین و لایزین نسبت به تیمار کنترل در جدول شماره ۴ به خوبی مشهود می‌باشد. دلایل کاهش عملکرد ماهی صبیتی در اثر کمبود اسیدهای آمینه ضروری لایزین و متیونین را می‌توان در نقش‌های فیزیولوژیک این اسیدهای آمینه ضروری مورد بررسی قرار داد. لایزین برای ساخت کارنیتین استفاده می‌شود که در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره از سیتوسول به میتوکندری به جهت اکسید شدن کاربرد دارد. فواید بالقوه افزودن غذایی کارنیتین شامل افزایش رشد و محافظت در برابر سمیت آمونیوم و عوامل زنده خارجی، بهبود تحمل‌پذیری نسبت به تغییر ناگهانی دما و استرس‌های وابسته و افزایش عملکرد تولیدمثلی می‌باشد (Harpaz, 2005). کاداوآرین محصول کربن‌زدایی لایزین در طول فساد بافت‌های حیوانی می‌باشد. افزودن ترکیب کاراوآرین و هیستیدین باعث افزایش مصرف غذا و رشد میگوی آبی می‌شود (Tapia-Salazar et al., 2004). از اهمیت‌های فیزیولوژیک متیونین می‌توان به بر تحریک ساخت پروتئین به صورت مستقیم (Belghit et al., 2014) و بر افزایش قابلیت هضم و رشد به صورت تائورین (Gaylord et al., 2007) را نام برد که در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفته است. تائورین که از متابولیت‌های متیونین می‌باشد در کاهش سندرم کبد سبز در ماهی سیم قرمز (*Pagrus major*) (Takagi et al., 2006) و افزایش بقای سلولی در ماهی آزاد اطلس (Espe and Holen, 2013) مؤثر می‌باشد؛ بنابراین کاهش سطح غذایی لایزین و متیونین ایجاد شده در مطالعه‌ی حاضر که به وسیله جیره‌های نیمه خالص بدست آمد و یا در اثر استفاده از منابع غذایی گیاهی که برای کاهش هزینه‌ی تولید غذا بکار می‌رود، می‌تواند باعث کاهش رشد در اثر ایجاد اختلال در تأثیرات فیزیولوژیک لایزین و متیونین و متابولیت‌های آن شود.

نیاز به لایزین برای چندین گونه از ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است که بر مبنای آن نیاز به لایزین در این ماهیان از ۳/۲ تا ۸/۸ درصد پروتئین متفاوت است (Forster and Ogata, 1998; Wilson, 1994). در مطالعه‌ی حاضر میزان لایزین غذایی از ۲/۸۸ درصد جیره در تیمار اول به میزان ۱/۷۳ درصد جیره در تیمار کمبود لایزین کاهش داده شد که این میزان با بیان دیگر برابر با ۶/۱۳ درصد پروتئین در جیره‌ی کنترل و ۳/۶۸ درصد پروتئین در جیره‌ی کمبود لایزین بود و این میزان با توجه به گوشت‌خوار بودن ماهی هدف در بالای رنج معرفی شده برای نیاز ماهیان مختلف قرار دارد. نیاز به اسید آمینه‌ی لایزین در ماهیانی که وابستگی بیشتری به پروتئین در جیره دارند بیشتر می‌باشد. به عبارت دیگر نیاز ماهیان گوشت‌خوار به اسید آمینه‌ی لایزین نسبت به ماهیان همه‌چیزخوار یا گیاه‌خوار بیشتر می‌باشد (Zhou et al., 2007). میزان نیاز کمی به متیونین در بسیاری از ماهیان عمده‌ی پرورشی بین ۱/۸ تا ۳/۲ درصد پروتئین بیان شده است (Wilson, 2003) میزان نیاز بالا به پروتئین در ماهی صبیتی می‌تواند نشان‌دهنده نیاز بالای به متیونین در این ماهی باشد زیرا عموماً ماهیانی که نیاز بالایی به پروتئین در جیره خود دارند به میزان بیشتری از اسید آمینه‌ی متیونین علاوه بر لایزین نیازمندند (Zhou et al., 2006). کمبود لایزین باعث کاهش اشتها و عملکرد رشد می‌شود که این مطلب در مورد کپور بزرگ هندی (Ahmed and Khan, 2004) سی‌باس ژاپنی (Mai et al., 2006) و ماهی کویا (Zhou et al., 2007) بیان شده است. در مطالعه‌ی حاضر نیز همانند مطالعات ذکر شده کاهش اشتها، کاهش عملکرد رشد و تغذیه در تیمار کمبود اسید آمینه‌ی لایزین مشاهده گردید. از اثرات کمبود متیونین بر روی ماهیان علاوه بر موارد ذکر شده برای اسید آمینه لایزین به آب‌مروراید چشمی در ماهیان آزاد اشاره شده است (Cowe et al., 1992; Rumsey et al., 1983; Walton et al., 1982) که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده نشد. علت اصلی کاهش فاکتورهای رشد و تغذیه در هنگام تغذیه‌ی ماهی از جیره‌های دارای کمبود اسیدهای آمینه متیونین و لایزین را می‌توان به اختلال در نقش‌های فیزیولوژیک این دو اسید آمینه و متابولیت‌های وابسته به آنها و همچنین نقش اصلی اسیدهای آمینه در تولید پروتئین نسبت داد (Zhou et al., 2007; Zhou et al., 2006).

کاهش میزان چربی خام لاشه که با کاهش میزان فاکتور چربی احشایی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد نشان‌دهنده بروز اختلال در متابولیسم و ذخیره‌ی چربی در بدن ماهیان هنگام مواجه‌شدن با جیره‌های دارای کمبود اسیدهای آمینه‌ی لایزین و متیونین می‌باشد؛ که این مطلب به‌خوبی با نقش متیونین و لایزین در ساخت کارنیتین قابل توضیح می‌باشد، زیرا کارنیتین در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره در بدن نقش دارد (Harpaz, 2005). اگرچه در مطالعه‌ی حاضر میزان چربی احشایی و چربی خام ترکیب لاشه‌ی ماهیان آزمایشی کاهش یافته است که نشان‌دهنده‌ی اختلال در متابولیسم چربی می‌باشد اما این موضوع برخلاف مطالعات مشابه در هنگام مواجه با کمبود اسیدهای آمینه‌ی لایزین و متیونین در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد. در مطالعات مشابه افزایش میزان چربی ذخیره‌شده در بدن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Rodehutsord *et al.*, 1997) و ماهی آزاد اطلس (Espe *et al.*, 2007) گزارش گردید. با بررسی میزان اسیدآمینه‌ی لایزین در تیمارهای آزمایشی و مقایسه با تیمار کنترل مشاهده می‌شود که علی‌رغم کاهش میزان لایزین در تیمار کمبود لایزین، میزان این اسیدآمینه در این تیمار کاهش نیافته است و تفاوت معنی‌داری در میزان این اسیدآمینه در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده نمی‌شود؛ که می‌توان گفت ذخیره‌سازی اسیدآمینه‌ی لایزین در هنگام مواجه با کمبود این اسیدآمینه رخ داده است که این مطلب با این فرض که مکانیسمی در ماهیان برای کاهش مصرف اسیدآمینه‌ی ضروری کاهش داده‌شده وجود دارد، دریک راستا می‌باشد (Jarss and Bastrop, 1995). نتایج مشابهی در مطالعه‌ی ماهی آزاد اطلس گزارش شده است (Rollin *et al.*, 2003). برخلاف اسیدآمینه‌ی لایزین اسیدآمینه‌ی متیونین همانند برخی دیگر از اسیدهای آمینه در مطالعه‌ی حاضر دستخوش تغییرات متفاوتی شدند.

به‌طورکلی با بررسی نتایج حاصل از این آزمایش به این نتیجه می‌رسیم که کاهش میزان اسیدآمینه‌ی لایزین و متیونین در جیره‌ی ماهی صبیتی به‌صورت کاملاً معنی‌داری همه‌ی فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی ماهی تحت تأثیر قرار گرفت که مشخص‌کننده اهمیت این اسیدهای آمینه‌ی ضروری در جیره‌ی ماهی صبیتی جوان می‌باشد. علاوه بر این کاهش میزان چربی لاشه و فاکتور چربی احشایی نشان‌دهنده به وجود آمدن اختلال در متابولیسم و ذخیره‌سازی چربی بوده است. در این مطالعه با کاهش اسیدآمینه‌ی ضروری لایزین در جیره‌ی ماهی صبیتی میزان این اسیدآمینه‌ی لاشه در بین تیمارها بدون تغییر مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی ذخیره‌سازی این اسیدآمینه در بدن در مواجهه با کمبود آن می‌باشد.

سپاسگزاری

این مقاله از طرح مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور با کد شماره ۹۲۰۱۱۶۱۰ استخراج شده است. نویسندگان از پرسنل پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور و ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی کمال تشکر و قدردانی را به جهت همکاری‌های صورت گرفته دارند.

منابع

- Ahmed, I. and Khan, M. A., 2004. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*, 235: 499-511.
- AOAC, 2005. *Official Methods of Analysis*, MD: Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg.
- Belghit, I., Skiba-Cassy, S., Geurden, I., Dias, K., Surget, A., Kaushik, S., Panserat, S. and Seiliez, I., 2014. Dietary methionine availability affects the main factors involved in muscle protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *British Journal of Nutrition*, 112: 493-503.

- Cheng, Z. J., Hardy, R. W. and Usry, J. L., 2003.** Plant protein ingredients with lysine supplementation reduce dietary protein level in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets, and reduce ammonia nitrogen and soluble phosphorus excretion. *Aquaculture*, 218: 553-565.
- Cowey, C. B., Cho, C. Y., Sivak, J. G., Weerheim, J.A. and Stuart, D. D., 1992.** Methionine Intake in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Relationship to Cataract Formation and the Metabolism of Methionine. *The Journal of nutrition*, 122: 1154-1163.
- Diógenes, A., Fernandes, J., Dorigam, J., Sakomura, N., Rodrigues, F., Lima, B. and Gonçalves, F., 2015.** Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method. *Aquaculture Nutrition*. doi:10.1111/anu.12262.
- Espe, M. and Holen, E., 2013.** Taurine attenuates apoptosis in primary liver cells isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *British Journal of Nutrition*, 110: 20-28.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A. and El-Mowafi, A., 2007.** Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. *Aquaculture*, 263: 168-178.
- Forster, I. and Ogata, H.Y., 1998.** Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, 161: 131-142.
- Gaylord, T. G., Barrows, F. T., Teague, A. M., Johansen, K. A., Overturf, K. E. and Shepherd, B., 2007.** Supplementation of taurine and methionine to all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 269: 514-524.
- Green, J. and Hardy, R., 2002.** The optimum dietary essential amino acid pattern for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), to maximize nitrogen retention and minimize nitrogen excretion. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27: 97-108.
- Harpaz, S., 2005.** L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition - a review. *Aquaculture*, 249: 3-21.
- Jarss, K. and Bastrop, R., 1995.** Amino acid metabolism in fish, in" *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*"(ed. by PW Hochachka and TP Mommsen), Vol. 4. Elsevier Science, Amster dam.
- Köprücü, K. and Özdemir, Y., 2005.** Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 250: 308-316.
- Lindroth, P. and Mopper, K., 1979.** High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthaldialdehyde. *Analytical chemistry*, 51: 1667-1674.
- Mai, K., Zhang, L., Ai, Q., Duan, Q., Zhang, C., Li, H., Wan, J. and Liufu, Z., 2006.** Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 258: 535-542.
- NRC, 2011.** *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, The National Academies Press, Washington, DC.
- Peres, H. and Oliva-Teles, A., 2009.** The optimum dietary essential amino acid profile for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 296: 81-86.
- Poston, H., Riis, R., Rumsey, G. and Ketola, H., 1977.** The effect of supplemental dietary amino acids, minerals and vitamins on salmonids fed cataractogenic diets. *The Cornell Veterinarian*, 67: 472-509.
- Rodehutscord, M., Becker, A., Pack, M. and Pfeffer, E., 1997.** Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids. *The Journal of nutrition*, 127: 1166-1175.
- Rollin, X., Mambrini, M., Abboudi, T., Larondelle, Y. and Kaushik, S. J., 2003.** The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *British Journal of Nutrition*, 90: 865-876.
- Rønnestad, I., Conceição, L. E., Aragão, C. and Dinis, M. T., 2000.** Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of nutrition*, 130: 2809-2812.

- Rumsey, G. L., Page, J. W. and Scott, M. L., 1983.** Methionine and cystine requirements of rainbow trout. The Progressive Fish-Culturist, 45: 139-143.
- Takagi, S., Murata, H., Goto, T., Ichiki, T., Endo, M., Hatate, H., Yoshida, T., Sakai, T., Yamashita, H. and Ukawa, M., 2006.** Efficacy of taurine supplementation for preventing green liver syndrome and improving growth performance in yearling red sea bream *Pagrus major* fed low-fishmeal diet. Fisheries science, 72: 1191-1199.
- Tapia-Salazar, M., Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Pike, I. H., Smith, T. K., Harris, A., Nygård, E. and Opstvedt, J., 2004.** Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. Aquaculture, 242: 437-453.
- Turchini, G., Francis, D., Senadheera, S., Thanuthong, T. and De Silva, S., 2011.** Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray Cod: evidence of an “omega-3 sparing effect” by other dietary fatty acids. Aquaculture, 315: 250-259.
- Walton, M., Cowey, C. and Adron, J., 1982.** Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content. The Journal of nutrition, 112: 1525-1535.
- Wilson, R., 1994.** Amino acid requirements of finfish. Amino acids in farm animal nutrition: 377-399.
- Wilson, R., 2003.** 3 - Amino Acids and Proteins In *Fish Nutrition (Third Edition)* (Hardy, J.E.H.W. ed.), pp. 143-179. Academic Press, San Diego.
- Zhou, Q. C., Wu, Z. H., Chi, S. Y. and Yang, Q. H., 2007.** Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, 273: 634-640.
- Zhou, Q. C., Wu, Z. H., Tan, B. P., Chi, S.-Y. and Yang, Q. H., 2006.** Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, 258: 551-557.
- Zhou, X., 2005.** Use of synthetic lysine in fish feeds: a review on research and application. Feed Ind, 27: 1-7