

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

چکیده

لایزین و متیونین اغلب یکی از محدودکننده‌ترین اسیدهای آمینه در اجزای غذایی مورد استفاده در غذا 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 صیبیتی جوان در تابستان سال ۹۳ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی موردنبررسی 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 بکار گیری 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 بدست‌آمده 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، تشییت نیتروژنی و شاخص چربی احشایی در بین تیمارهای داری کمبود اسیدآمینه نسبت به تیمار کنترل به صورت 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 معنی داری مشاهده نشد. کاهش عملکرد در بسیاری از فاکتورهای رشد و تغذیه در تیمارهای داری کمبود اسیدآمینه‌ی متیونین و لایزین نشان‌دهنده اهمیت این دو اسیدآمینه در تغذیه ماهی صیبیتی جوان بوده است. اسیدهای آمینه‌ی متیونین و لایزین همچنین بر متابولیسم و ذخیره چربی در ماهی صیبیتی جوان مؤثر بوده است.

مرتضی یعقوبی*

جاسم غفله مرمضی^۱

امید صفری^۲

۱. دانشجوی دکتری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور، اهواز
۲. دانشیارگروه تغذیه، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی پروری 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.

عملکرد رشد.

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 به عنوان محدودکننده یا

ضروری تلقی می‌شوند که باید حتماً در جیره غذایی فراهم شوند زیرا نجیره‌ی کربنی آن‌ها توسط بدن حیوانات قابل ساختن نیستند (Rønnestad *et al.*, 2000). لایزین و متیونین اغلب یکی از محدودکننده‌ترین اسیدهای آمینه در اجزای غذایی مورداستفاده 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 جیره ماهیان هدف در آنژی 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 mykisis*) و کپور معمولی (*Syprinus carpio*) شده است (NRC, 2011). گذرگاه ترنسمتیلیشن (انتقال گروه متیل از یک ترکیب به ترکیب دیگر)، ری متیلیشن (افزوondن گروه متیل به یک ترکیب در پی حذف قبلی گروه متیل از آن ترکیب) و ترنسولفوریشن (انتقال سولفور یا بخش‌های حاوی سولفور بین دو ترکیب) متیونین برای ساختن سیستین و تائورین برای کبد پستانداران شناخته‌شده است و احتمالاً در ماهیان نیز با در نظر گرفتن اختلافات کمی در گونه‌های مختلف به همین‌گونه می‌باشد. به عنوان مثال تبدیل متیونین به تائورین برای ماهیان گزارش شده است (Wilson, 2003)، اما در مورد فعلیت آنزیمه‌های مداخله کننده 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 مورداستفاده قرار می‌گیرد. کاهش فراهم‌سازی متیونین غذایی در ماهیان ممکن است باعث ایجاد کاتاراكت 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 مشابه‌ای 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 (Peres and Sparus aurata), آزاد اطلس (Green and Hardy, 2002), سیم سرطانی (Rollin *et al.*, 2003)، سیم سرطانی (Diógenes *et al.*, 2015) و تیلاپیای نیل (*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 صیبی بررسی کرد و نقش‌های فیزیولوژیک این دو اسیدآمینه‌ی ضروری را در ماهی صیبی 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 لوله تعویض آب به‌گونه‌ای که در طول شبانه‌روز دو بار آب کاملاً تعویض شود، تعییه شد. برای آبگیری مخازن، آب دریا به حوضچه‌های رسوب‌گیر منتقل و پس از عبور از فیلتر شنی، حوضچه کلرزنی و فیلتر اشعه‌ی ماروابنفش 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 حد سیری غذاده 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 Peres and Oliva-Teles, 2002). آزمایش فوق با توجه به استفاده از اسیدهای آمینه‌ی خالص در جیره بر اساس مطالعه‌ی (Hardy, 2002) 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 تهیه شده برای هر سه تیمار از الگوی اسیدهای آمینه 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 استفاده شده 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 مشابه‌ای همانند تیمار لایزین به انجام رسید. به‌این ترتیب 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 به جز آمینواسیدهای ضروری طوری تنظیم شد که همه‌ی جیره‌ها هم انرژی نیز باشند. اسیدهای آمینه خالص با یک درصد آگار به جهت تأخیر اندختن 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 استفاده شده 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 چشممه ۲ میلی‌متری منتقل شد سپس رشته‌های ایجادشده بر روی سینی‌های خشک کن قرار گرفته و به دستگاه خشک کن (در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت) منتقل شد. جیره‌ها پس از خشک شدن به صورت دستی شکسته شد تا متناسب با اندازه دهان ماهی گردد.

اجزای غذای هر سه جیره‌ی ساخته شده برای این پژوهش در جدول یک نشان داده شده است که در همه‌ی جیره‌ها همه‌ی اجزای غذایی بکار برده شده به جز 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 استفاده شده 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 ازت 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 زیست‌سنگی 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 بقاء، نرخ کارایی پروتئین، میزان تثبیت نیتروژن، فاکتور وضعیت و شاخص‌های کبدی احتشایی و چربی احتشایی بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

$$100 * \text{وزن بدن} / \text{وزن احتشاء} = \text{شاخص احتشایی}$$

$$100 * \text{وزن بدن} / \text{وزن چربی احتشایی} = \text{شاخص چربی احتشایی}$$

با اتمام دوره پرورش همه زی‌توده موجود در هر تانک به صورت جداگانه و به کمک آون در دمای زیر ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدن و به منظور آنالیز لاشه به آزمایشگاه تغذیه پژوهشکده آبزی‌پروری 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 K370 Kejldahl Auto, Buchi (Digest Automat K438, Buchi) مقدار نیتروژن کل در نمونه‌ها با استفاده از روش کلدال (Dستگاه fat Analyzer) با استخراج و با دستگاه سانتری گراد به مدت ۴ ساعت اندازه‌گیری شد. میزان فیبر خام به وسیله دستگاه فیبر سنج (شرکت Velp) و با استفاده از هضم اسیدی (اسید سولفوریک) و هضم قلیایی (هیدروکسید سدیم) 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 (اسید سولفوریک) و هضم قلیایی (هیدروکسید سدیم) محاسبه شد. عصاره فاقد ازت (NFE) از طریق روش محاسباتی تفریق میزان پروتئین، چربی، فیبر، رطوبت و خاکستر از ۱۰۰ محسوبه 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, 1979) با روش (Germany) در آزمایشگاه علوم دریایی تربیت مدرس نور مورد سنجش قرار گرفت. طول ستون ۴۰۰ میلی‌لیتر، دمای ستون ۳۰ درجه سانتی‌گراد و نوع آن C18 بود. از آشکارساز فلورسانس بین دو طول موج ۴۰۰ و ۴۵۰ 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-اسمیرنف 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 به دست آمده در ارتباط با تأثیر کاهش هریک از اسید‌آmine‌های ضروری بر شاخص‌های رشد، بازماندگی ماهی صبیتی 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
كمبود متیونین	پودر کیلکا ^۱
36/00	شاسته ذرت ^۱
20/50	آرد سفید گندم ^۱
7/00	ژلاتین ^۱
4/00	روغن ماهی ^۱
11/00	آگار ^۲
1/00	مکمل ویتامینی ^a
1/00	مکمل معدنی ^a
0/85	L-arginine
1/15	L-lysine-HCl
0/80	L-threonine
0/50	L-histidine
0/85	L-isoleucine
1/40	L-leucine
0/00	L-methionine
0/75	L-phenylalanine
0/20	L-tryptophan
0/95	L-valine
10/80	NEAA mixture ^b

^۱ موارد تهیه شده از شرکت خوارک دام، طیور و آبزیان ۳۱- بیضا. ^۲ تهیه شده از شرکت فلوكا. ^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، سلیمیم: ۱۶۸ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات آهن ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، سولفات مس ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، بیات کلسیم: ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، اکسیدمنگنز: ۱۶/۸ میلی گرم بر کیلوگرم، اکسیدروی: ۳۳/۲ میلی گرم بر کیلوگرم، کیالت: ۰/۳۳۶ میلی گرم بر کیلوگرم. ^b ترکیب اسیدهای آmine‌ی غیرضروری بر حسب درصد شامل: L-alanine: 13; L-aspartic acid: 20; sodium glutamate: 32; L-glycine: 15; L-serine: 10; and L-proline: 10 جیره می‌باشد.

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

جیره‌ها	ماده خشک	انرژی ناخالص ^۱	پروتئین	چربی	فیبر خام	عصاره‌ی عاری از آزت ^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+دربوت+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		
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	کمبودلایی زین	
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	کمبودمتیو	نین

در جدول فوق (ARG) اسیدآمینه‌ی آرژنین، (LYS) اسیدآمینه‌ی لایزین، (THR) اسیدآمینه‌ی ترتوئین، (HIS) اسیدآمینه‌ی هیستدین، (ILE) اسیدآمینه‌ی ایزولوسین، (LEU) اسیدآمینه‌ی لوسین، (MET) اسیدآمینه‌ی متیونین، (PHE) اسیدآمینه‌ی فیلی آلانین، (TRP) اسیدآمینه‌ی تریپتوفان، (VAL) اسیدآمینه‌ی والین، (TYR) اسیدآمینه‌ی سیستئین، (CYS) اسیدآمینه‌ی تیروزین، (GLY) اسیدآمینه‌ی گلایسین، (SER) اسیدآمینه‌ی سرین می‌باشد. خط زیر نشان‌دهنده اسیدهای آمینه‌ی کاهش‌یافته در هر جیره می‌باشد.

نتایج

در طول این آزمایش همه‌ی ماهی‌ها سالم بودند. اگرچه نرخ بقا در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین به میزان ۵ درصد و در تیمار کمبود متیونین به میزان تقریباً ۵ درصد به صورت میانگین نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت اما این تغییرات ازلحاظ آماری معنی‌دار نبود. فاکتورهای رشد، تنذیه 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 اسیدآمینه و کنترل تفاوت‌ها به صورت معنی‌دار بود ولی بین کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین و متیونین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) ولی در شاخص‌های درصد افزایش وزن، شاخص رشد و پیله، ضریب تبدیل غذایی و ثبت 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 احتشایی 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 ± خطای استاندارد در ۳ تکرار).^۱

کمبود متیونین	کمبود لایزین	شاهد	عملکرد رشد و تغذیه
4/71±0/02	4/67±0/04	4/64±0/08	IBW (g) ^a
8/83±0/40 ^b	7/78±0/29 ^b	12/84±0/53 ^a	FBW (g) ^b
87/60±1 ^b	66/89±2 ^c	177/03±5/9 ^a	WG (%) ^c
1/50±0/10 ^b	1/21±0/07 ^c	2/39±0/12 ^a	SGR ^d
95/7±2/96	90 ±4/19	100	S (%) ^e
3/17±0/08 ^b	4/09±0/07 ^a	2/00±0/11 ^c	FCR ^f
0/67±0/10 ^b	0/55±0/08 ^b	1/12±0/11 ^a	PER ^g
13/54±0/23 ^b	12/52±0/33 ^b	16/27±0/41 ^a	Feed intake (g fish ⁻¹) ^h
0/047±0/00 ^a	0/48±0/00 ^a	0/44±0/00 ^b	Daily feed intak ⁱ
10/15±0/53 ^b	6/21±0/7 ^c	17/06±0/97 ^a	N Retention ^j
اندیس‌های بیومتری			
2/4±0/00	2/4±0/00	2/4±0/00	K ^k
2/18±0/16	1/66±0/31	2/04±0/02	HSI ^l
7/97±0/51	7/45±0/60	9/49±0/43	VSI ^m
0/48±0/11 ^b	0/41±0/10 ^b	1/80±0/16 ^a	IPF ⁿ

^a 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.

^b وزن اولیه، ^c وزن نهایی، ^d درصد افزایش وزن، ^e نرخ ویژه رشد، ^f نرخ بقا، ^g نرخ کارایی غذا، ^h میزان مصرف غذا، ⁱ میزان مصرف غذای روزانه (Turchini *et al.*, 2011)

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

کمبود متیونین	کمبود لایزین	شاهد	اولیه
73/25±0/81 ^{ab}	75/3±1/32 ^a	70/18±0/67 ^b	72/37±1/16
16/65±0/55	15/34±0/45	17/24±0/26	17/55±0/60
4/69±0/13 ^b	5/17±0/21 ^b	7/32±0/22 ^a	5/11±0/28
4/35±0/13	4/27±0/08	4/85±0/21	4/29±0/16
5/83±0/02 ^b	5/67±0/03 ^c	7/0/4±0/07 ^a	6/22±0/02
انرژی ناخالص^۱			

^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 انتهایی 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 به صورت معنی‌داری در تیمار لایزین بیشتر از تیمار کنترل بود ($P < 0.05$) 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 مشاهده شده در تیمار کنترل بود ($P < 0.05$). انرژی ناخالص در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین کمتر از تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی متیونین بود و در هر دو تیمار کمتر از میزان مشاهده شده در تیمار کنترل بود که این تغییرات به صورت معنی‌دار مشاهده گردید ($P < 0.05$).

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 بدست آمده در مقایسه بین تیمارهای موردمطالعه در بین اسیدهای آمینه، اسیدهای آمینه‌های آزمایشی، لاژین، ترئونین، گلوتامیک اسید، گلایسین و سیستین بدون تغییر مشاهده شدند. اسیدهای آمینه‌ی هیستیدین و متیونین بهصورت معنی‌داری در تیمار کمبود متیونین کمتر از تیمار کمبود لاژین بود و در تیمار کنترل بیشتر از هر دو تیمار مورد آزمایش شد ($P < 0.05$). اسیدآمینه‌ی ایزوولوسین در تیمار لاژین 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 مشاهده شده 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 لاژین دارای کمترین میزان نسبت به سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). اسیدهای آمینه‌ی آسپاراتیک اسید در هر دو تیمار آزمایشی و اسیدآمینه‌ی تیروزین تنها در تیمار کمبود لاژین نسبت به کنترل کاهش یافتند ($P < 0.05$)؛ که میزان اسیدآمینه‌ی متیونین در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لاژین بهصورت معنی‌داری کاهش یافته است و در بین اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری میزان اسیدآمینه‌ی آلانین بهصورت معنی‌داری در تیمار کاهش اسیدآمینه‌ی لاژین افزایش یافته است ($P < 0.05$). بهطورکلی در تیمار لاژین میزان اسیدآمینه‌های ضروری کاهش و میزان اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری افزایش یافتند ($P < 0.05$).

جدول ۶: ترکیب آمینواسیدی لاشه‌ی ماهیان در ابتدا و انتهای آزمایش (گرم بر ۶ گرم نیتروژن در ۳ تکرار)!

اویله	شاهد	کمبود لاژین	کمبود متیونین	اسیدآمینه‌های ضروری
آرژنین	7/83 ± 0	7/69 ± 0/06	7/88 ± 0/06	
هیستیدین	2/6 ± 0/01 ^a	2/55 ± 0/01 ^c	2/69 ± 0 ^b	
ایزوولوسین	4/03 ± 0/08 ^a	3/52 ± 0/01 ^b	4/07 ± 0/09 ^a	
لوسین	7/59 ± 0/07 ^a	7/17 ± 0/03 ^b	7/16 ± 0/02 ^b	
لاژین	7/8 ± 0/03	7/82 ± 0/03	7/96 ± 0/08	
متیونین	3/1 ± 0/04 ^a	2/62 ± 0/05 ^c	2/82 ± 0/01 ^b	
فنیل آلانین	4/18 ± 0/08 ^a	3/96 ± 0/05 ^{ab}	3/79 ± 0/01 ^b	
ترئونین	3/89 ± 0/06	4/78 ± 0/01	5/06 ± 0/02	
والین	4/21 ± 0/1 ^b	3/86 ± 0/01 ^c	4/54 ± 0/07 ^a	
اسیدآمینه‌های غیرضروری				
آسپاراتیک اسید	11/11 ± 0/1	10/54 ± 0/03 ^a	10/3 ± 0/01 ^b	8/69 ± 0/07 ^c
گلوتامیک اسید	14/17 ± 0/07	14/79 ± 0/08	14/71 ± 0/22	14/96 ± 0/37
سرین	3/55 ± 0/04	4/6 ± 0/03 ^a	4/49 ± 0/08 ^a	4/13 ± 0/05 ^b
گلایسین	7/58 ± 0/09	6/63 ± 0/24	8/14 ± 0/09	8/26 ± 0/61
پرولین	3/5 ± 0/04	3/43 ± 0/03 ^b	3/59 ± 0/02 ^a	3/63 ± 0 ^a
آلانین	6/94 ± 0/02	7/08 ± 0/03 ^b	7/73 ± 0/13 ^a	6/91 ± 0/12 ^b
تیروزین	3/25 ± 0/02	3/17 ± 0/02 ^a	3/04 ± 0/01 ^b	3/02 ± 0/03 ^b
سیستین	0/95 ± 0/08	0/96 ± 0/12	0/92 ± 0/02	0/96 ± 0/02
Total EAA	44/72 ± 0/12	46/09 ± 0/35 ^a	44/05 ± 0/01 ^b	45/95 ± 0/14 ^a
Total NEAA	51/05 ± 0/2	51/18 ± 0/29 ^b	52/91 ± 0/04 ^a	50/54 ± 0/2 ^b
Total AA	95/77 ± 0/31	97/27 ± 0/11	96/96 ± 0/02	96/49 ± 0/06

^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 تنفسی در اثر کمبود اسیدهای آمینه‌ی متیونین و لایزین نسبت به تیمار کنترل در جدول شماره ^۴ به خوبی مشهود می‌باشد. دلایل کاهش عملکرد ماهی صبیتی در اثر کمبود اسیدهای آمینه‌ی ضروری لایزین و متیونین را می‌توان در نقش‌های فیزیولوژیک این اسیدهای آمینه‌ی ضروری مورد بررسی قرار داد. لایزین برای ساخت کاربینتین استفاده می‌شود که در انتقال اسیدهای چرب بلند زنجیره از سیتوسول به میتوکندری به جهت اکسید شدن کاربرد دارد. فواید بالقوه افزودن غذایی کاربینتین شامل افزایش رشد و محافظت در برابر سمیت آمونیوم و عوامل زنده خارجی، بهبود تحمل پذیری نسبت به تغییر ناگهانی دما و استرس‌های وابسته و افزایش عملکرد تولیدمثلی می‌باشد (Harpaz, 2005). کاداوارین محصول کربن‌زدایی لایزین در طول فساد بافت‌های حیوانی می‌باشد. افزودن ترکیب کاراوارین و هیستیدین باعث افزایش مصرف غذا و رشد میگویی 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 تأثیرین (Gaylord *et al.*, 2007) را نام برد که در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفته است. تأثیرین که از متابولیت‌های متیونین می‌باشد در کاهش سندرم کبد سبز در ماهی سیم قرمز (Pagrus major) (Takagi *et al.*, 2006) و افزایش بقای سولوی 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 $3/2$ تا $8/8$ درصد پروتئین متفاوت است (Forster and Ogata, 1998; Wilson, 1994). در مطالعه‌ی حاضر میزان لایزین غذایی از $2/88$ درصد جیره در تیمار اول به میزان $1/77$ درصد جیره در تیمار کمبود لایزین کاهش داده شد که این میزان با بیان دیگر برابر با $13/6$ درصد پروتئین در جیره کنترل و $3/68$ درصد پروتئین در جیره کمبود لایزین بود و این میزان با توجه به گوشت‌خوار بودن ماهی هدف در بالای رنچ معرفی شده برای نیاز ماهیان مختلف قرار دارد. نیاز به اسیدآمینه‌ی لایزین در ماهیانی که وابستگی بیشتری به پروتئین در جیره دارند بیشتر می‌باشد. به عبارت دیگر نیاز ماهیان گوشت‌خوار به اسیدآمینه‌ی لایزین نسبت با ماهیان همه‌چیزخوار یا گیاهخوار بیشتر می‌باشد (Zhou *et al.*, 2007). میزان نیاز کمی به متیونین در بسیاری از ماهیان عمده‌ی پرورشی بین $1/8$ تا $3/2$ درصد پروتئین بیان شده است (Wilson, 2003) میزان نیاز بالا به پروتئین در ماهی صبیتی می‌توانند نیاز دهنده نیاز بالایی به متیونین در این ماهی باشد زیرا عموماً ماهیانی که نیاز بالایی به پروتئین در جیره خود دارند به میزان بیشتری از اسیدآمینه‌ی متیونین علاوه بر لایزین نیازمندند (Zhou *et al.*, 2006). کمبود لایزین باعث کاهش اشتها و عملکرد رشد می‌شود که Zhou *et al.*, (2006) و ماهی کویا (Mai *et al.*, 2006) این مطلب در مورد کپور بزرگ هندی (Ahmed and Khan, 2004) بیان کردند. در مطالعه‌ی حاضر نیز همانند مطالعات ذکر شده کاهش اشتها، کاهش عملکرد رشد و تنفسی در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی لایزین مشاهده گردید. از اثرات کمبود متیونین بر روی ماهیان علاوه بر موارد ذکر شده برای اسیدآمینه‌ی لایزین به آب مروارید چشمی در ماهیان آزاد اشاره شده است (Cowey *et al.*, 1992; Rumsey *et al.*, 1983; Walton *et al.*, 1982). که در مطالعه‌ی حاضر مشاهده نشد. علت اصلی کاهش فاکتورهای رشد و تنفسی در هنگام تنفسی ماهی از جیره‌های دارای کمبود اسیدهای آمینه‌ی متیونین و لایزین را می‌توان به اختلال در نقش‌های فیزیولوژیک این دو اسیدآمینه و متابولیت‌های وابسته به آنها و همچنین نقش اصلی اسیدهای آمینه در تولید پروتئین نسبت داد (Zhou *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2007).

کاهش میزان چربی خام لاشه که با کاهش میزان فاکتور چربی احتسابی در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل مشاهده شد نشان‌دهنده بروز اختلال در متابولیسم و ذخیره‌ی چربی در بدن ماهیان هنگام مواجه شدن با جیره‌های دارای کمبود اسیدهای آمینه‌ی لایزین و متیونین می‌باشد؛ که این مطلب به خوبی 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 احتسابی 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 ذخیره شده در بدن در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Rodehutscord *et al.*, 1997) و ماهی آزاد اطلس (Espe *et al.*, 2007) گزارش گردید. با بررسی میزان اسیدآمینه لایزین در تیمارهای آزمایشی و مقایسه با تیمار کنترل مشاهده می‌شود که علی رقم 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 رخداده است که این مطلب با این فرض که مکانیسمی در ماهیان برای کاهش مصرف اسیدآمینه‌ی ضروری کاهش داده شده 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 صیبیتی به‌صورت کاملاً معنی‌داری همه‌ی فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی ماهی تحت تأثیر قرار گرفت که مشخص کننده اهمیت این اسیدهای آمینه‌ی ضروری در جیره‌ی ماهی صیبیتی جوان می‌باشد. علاوه بر این کاهش میزان چربی لاشه و فاکتور چربی احتسابی نشان‌دهنده به وجود آمدن اختلال در متابولیسم و ذخیره‌سازی چربی بوده است. در این مطالعه با کاهش اسیدآمینه‌ی ضروری لایزین در جیره‌ی ماهی صیبیتی 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. نویسنده‌گان از پرسنل پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور و ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی کمال تشكیر 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