

تأثیر کمبود اسیدهای آمینه آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوфан جیره بر فاکتورهای رشد و ترکیب شیمیایی بدن ماهی صبیتی جوان (*Sparidentex hasta*)

جاسم غفله مرمضی^۱، مرتضی یعقوبی^{*۱}، امید صفری^۲

* m.yaghoubi@ut.ac.ir

- ۱- پژوهشکده آبزیبروری جنوب کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵

چکیده

در این پژوهش اثرات کاهش چهل درصدی اسیدهای آمینه ضروری آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوfan در جیره غذایی بر فاکتورهای رشد، تغذیه و ترکیب بیوشیمیایی لاش ماهی صبیتی به مدت ۴۲ روز مورد بررسی قرار گرفت. از چهار تیمار غذایی در ۳ تکرار استفاده شد که شامل جیره غذایی شاهد با میزان و نسبت مناسب از همه اسیدهای آمینه ضروری بود. در سه تیمار دیگر اسیدهای آمینه آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوfan به میزان ۴۰٪ نسبت به جیره کنترل کاهش یافتند. جهت متعادل نمودن دقیق اسیدهای آمینه ضروری از اسیدهای آمینه خالص (کربستاله) در ساخت همه جیره‌ها استفاده گردید. در تیمار کمبود اسید آمینه آرژنین (ARG) تنها در دو شاخص درصد افزایش وزن ($156/32 \pm 4/4$) و ثبت نیتروژن ($13/8 \pm 0/76$) نسبت به کنترل به صورت معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$). اما در تیمارهای کمبود اسید آمینه فنیل آلانین (PHE) و تریپتوfan (TRP) همه شاخص‌های رشد و تغذیه از جمله وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، میزان مصرف غذا، نرخ کارایی پروتئین و ثبت نیتروژن نسبت به شاهد به صورت معنی داری کاهش یافت ($p < 0/05$). ترکیب شیمیایی لاش در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با تیمار شاهد با افزایش میزان رطوبت در تیمار PHE، کاهش انرژی ناخالص در همه تیمارها و کاهش چربی خام در تیمارهای TRP و PHE، همراه بود ($p < 0/05$). کاهش پروتئین کل لاش در تیمار کمبود اسید آمینه آرژنین نشان دهنده استفاده بیشتر از پروتئین نسبت به چربی به عنوان منبع انرژی در این گروه از ماهیان در مواجهه با کمبود اسید آمینه آرژنین می‌باشد. کاهش چربی لاش در همه تیمارهای آزمایشی نشان دهنده اختلال در متابولیسم چربی با کاهش کارایی اسیدهای آمینه ضروری در بدن می‌باشد. علی‌رغم کاهش چهل درصدی هر یک از اسیدهای آمینه ضروری آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوfan در هر یک از جیره‌ها میزان این اسیدهای آمینه در لاش ماهیان در بین تیمارها تغییر معنی داری را نشان ندادند که نشان دهنده ذخیره‌سازی این اسیدهای آمینه محدود شده توسط بدن ماهی در مواجهه با کمبود آنها می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاهش یک اسید آمینه ضروری تاثیر بسیار زیادی در جذب سایر اسیدهای آمینه و ساخت پروتئین و در نهایت رشد دارد.

کلمات کلیدی: آرژنین، تریپتوfan، فنیل آلانین، کمبود اسیدآمینه، ماهی صبیتی، *Sparidentex hasta*

* نویسنده مسئول

مقدمه

کمبود اسیدهای آمینه‌ی آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوفان پرداخته شد.

ماهیان نیاز زیادی به آرژنین غذایی دارند که این نیازمندی دلایلی همچون زیاد بودن میزان این اسیدآمینه در پروتئین که به عنوان یک اسیدآمینه با باندهای پپتیدی مطرح می‌باشد و در بافت به عنوان محرك به شکل فسفوآرژنین که یک ذخیره‌ی اصلی از ATP می‌باشد، حضور دارد (Li *et al.*, 2009). دلیل دیگر بر نیاز بیشتر به این اسیدآمینه ضروری بودن آن می‌باشد یعنی ساخت مجدد آن محدود و یا حتی اصلاً صورت نمی‌پذیرد (Li *et al.*, 2009). ماهیان غضروفی و استخوانی‌های Ureogenic (ماهیان که اوره به عنوان ماده دفعی تولید می‌کنند) ممکن است قادر به تبدیل سیترولین به آرژنین به وسیله‌ی ساخت argininosuccinate و لایزین در کبد باشند (Mommsen *et al.*, 2001). هرچند این موضوع که آیا تولید خالصی از سیترولین یا آرژنین توسط این ارگان در سایر حیوانات آبزی وجود دارد یا نه، ناشناخته می‌باشد. در برخی موارد آرژنین اسپارین تحت تأثیر گلوتامات غذایی می‌باشد که در گربه‌ماهی کانالی مشاهده شده است (Buentello & Gatlin, 2000)؛ اما این تأثیر ممکن است نتیجه‌ی ممانعت از کاهش آرژنین باشد. در حال حاضر گذرگاه‌های ساخت آرژنین از گلوتامین، گلوتامات، پروتئین یا اسیدآمینه‌های به‌غیراز سیترولین برای ماهیان بیان نگردیده است. آرژنین پرکاربردترین اسیدآمینه می‌باشد این اسیدآمینه به عنوان پیشرو برای ساخت پروتئین، نیتریک اکسید، اوره، پلی آمین‌ها، پرولین، گلوتامات، سرین و agmatine در حیوانات خشکی زی می‌باشد (Wu & Morris, 1998). آرژنین همچنین نقش مهمی در تنظیم ترشحات درون‌ریز و نقش‌های تولیدمثلى دارد و همچنین مشخص کننده ترشحات درون‌ریز اضافه می‌باشد (شامل AMP-dependent protein kinase Jobgen *et al.*, 2006; Yao *et al.* (Rapamycin 2008). ماهی‌ها می‌توانند نیتریک اکساید (NO) را با استفاده از ترکیب tetrahydrobiopterin- (Buentello & Gatlin, 1999) dependent NO و همچنین از ترکیب اوره و اورنیتین، به وسیله‌ی آرژنین تولید کنند (Gouillou-Coustans *et al.*, 2002). اورنیتین حاصله می‌تواند برای ساخت پرولین یا پلی آمین استفاده شود. کاهش در غلظت آرژنین و اورنیتین پلاسمای (Solea senegalensis) در ماهی کفشک سنگالی

Sparidentex hasta (Valenciennes 1830) ماهی صبیتی با نام علمی Sparidentex گونه‌های بالرزش دریایی بوده که به میزان زیادی در خلیج فارس، سواحل هند و قسمت‌های غربی اقیانوس هند یافت می‌شود. این ماهی به‌آسانی در اسارت تخم‌ریزی می‌کند و در شرایط مطلوب رشد سریعی را از خود نمایش می‌دهد و دامنه‌ی وسیعی از شرایط فیزیکوشیمیایی آب را تحمل می‌کند این گونه به عنوان یکی از نمایندگان آبزی پروری دریایی در ایران و حوضه‌ی خلیج فارس مورد توجه می‌باشد (Basurco *et al.*, 2011). استفاده از روش‌های پیشرفت‌ه در تکثیر و پرورش این ماهی برای تأمین نیاز بازار اهمیت زیادی دارد. اگرچه مطالعات وسیعی در مورد این ماهی در پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور به انجام رسیده است و نیاز‌های تغذیه‌ای این گونه تا حدودی مشخص شده است (Hossain *et al.*, 2014; Mozanzadeh *et al.*, 2015a; Mozanzadeh *et al.*, 2016b; Mozanzadeh *et al.*, 2015b; Mozanzadeh *et al.*, 2016a; Yaghoubi *et al.*, 2016; Marammazi *et al.*, 2016) ولی این درحالی می‌باشد که اطلاعات اندکی در زمینه‌ی نیازهای اسیدهای آمینه‌ای (Marammazi *et al.*, 2016) در دسترس می‌باشد.

اسیدهای آمینه مولکول‌هایی هستند که عملکرد هر دو گروه آمین و کربوکسیلیک را دارا می‌باشند. عملکرد اصلی اسیدآمینه کاربرد آن‌ها در ساختن پروتئین می‌باشد. بیست عدد از ۸۰ اسیدآمینه ممکن طبیعی در ساختن پروتئین نقش دارند که یک‌دوم از آن‌ها به عنوان محدود‌کننده یا ضروری تلقی می‌شوند و باید حتماً در جیره غذایی فراهم شوند زیرا زنجیره‌ی کربنی آن‌ها توسط بدن حیوانات قابل ساختن نیستند (Rønnestad *et al.*, 2000). اسیدهای آمینه می‌توانند به صورت پروتئین یا به صورت خالص به حالت کریستاله به عنوان مکمل غذایی فراهم گردند. افزایش استفاده از پروتئین‌های گیاهی در جیره ماهیان در سال‌های اخیر باعث افزایش استفاده از اسیدهای آمینه‌ی خالص برای رفع کمبودهای ایجادشده در اثر استفاده در سطوح بالا از این تولیدات گیاهی گردیده است (Ambardekar *et al.*, 2009). به جهت شناخت تأثیرات منفی جیره‌های نامتعادل از نظر پروفیل اسیدآمینه، در این مطالعه به بررسی جیره‌های داری

می‌تواند مانع پرخاشگری در ماهیان جوان قزل‌آلای رنگین کمان شود (Höglund *et al.*, 2007). همچنین باعث کاهش هم‌جنس خواری و کاهش کماشتہایی ناشی از استرس در ماهی جوان هامور (Hseu *et al.*, 2003) و جلوگیری از استرس القاشه توسط افزایش کورتیزول (Lepage *et al.*, 2002) می‌شود. به علت تأثیرات منفی طولانی شدن افزایش کورتیزول بر رشد، غذا گیری، افزایش پروتئین، ایمنی و مواجه شدن با بیماری (Vijayan *et al.*, 1996)، استفاده از تریپتوفان ممکن است یک استراتژی تغذیه‌ای نویدبخش برای مدیریت سلامت در آبزی پروری در مراحلی چون انتقال، دست‌کاری و واکسیناسیون باشد. سراتونین مغز و قتی در سورون‌ها تولید می‌شود که سراتونین داخلی از طریق موکوس روده تولید و آزاد می‌گردد که این سراتونین پیرامونی به‌وسیله‌ی موکوس روده در پاسخ به تحریک‌کننده‌های مختلف مانند افزایش حجم معده، حضور گلوكز یا محلول با شرایط اسمزی بالا تشکیل و آزاد می‌شود. هر دو سراتونین داخلی و خارجی (غذایی) می‌تواند غذا گیری ماهی را کاهش دهد که مصدق آن در ماهی باس دریایی (Rubio *et al.*, 2006) و حیوانات خشکی زی بیان شده است (Li *et al.*, 2006). ملاتونین از دیگر متابولیت‌های تریپتوفان در اندام پینه آل، شبکیه چشم و لوله‌ی گوارش ماهی تولید می‌شود و در کبد از بین می‌رود. ساخت ملاتونین در غده پینه آل ماهی به‌وسیله‌ی دوره‌ی نوری تنظیم می‌شود و نقش میانجی‌گرانه‌ی مهمی را در بلوغ بیضه‌ها در چندین ماهی مانند ماهی آزاد ماسو (masu salmon) (Amano *et al.*, 2004) و کپور هندی (Bhattacharya *et al.*, 2007) ایفا می‌کند. بکار بردن ملاتونین خارجی در ماهی می‌تواند باعث افزایش غلظت پلاسمای همچنین تحریک بلوغ بیضه‌ها شود. به این نکته باید توجه شود که غلظت ملاتونین، زمان استفاده، دوره نوری و فصل شاخص‌های مهمی هستند که کارایی استفاده از ملاتونین خارجی را به عنوان واسطه در عملکرد تولیدمثی ماهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Li *et al.*, 2009).

هدف از این پژوهش مشخص کردن تأثیرات کاهش اسیدهای آمینه‌ی ضروری آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوفان در جیره به یک میزان ثابت بر روی فاکتورهای رشد، تغذیه، ترکیب شیمیایی و پروفیل اسیدآمینه‌ی لاشه ماهیان مورد تغذیه می‌باشد. با نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان تأثیر جیره‌های غیر متوازن از لحاظ این اسیدهای

تحت استرس مشاهده شده است (Aragao *et al.*, 2008). آرژنین می‌تواند آزاد سازی چندین هورمون مانند انسولین، هورمون رشد و گلوكاگون را تحریک کند در واقع آرژنین یک فعال‌کننده قوی‌تری برای انسولین نسبت به Mommsen *et al.*, (2001) ارتقای رشد و سلامت در برخی از ماهیان و تأمین احتیاجات ساخت پروتئین در مورد آرژنین غذایی گزارش شده است به عنوان مثال بازماندگی گربه‌ماهی Edwardsiella ictaluri به سطح آرژنین غذایی وابسته است (Buentello & Gatlin III, 2001). فنیل آلانین می‌تواند به تیروزین تبدیل شود (به‌وسیله‌ی tetrahydrobiopterin-dependent phenylalanine hydroxylase در کبد و کلیه)؛ بنابراین افزودن تیروزین به جیره برای ماهی می‌تواند نیاز به فنیل آلانین را کاهش دهد (Li *et al.*, 2009). تحقیقات در مورد افزودن غذایی فنیل آلانین و تیروزین به غذاهای آبزیان و تأثیر احتمالی آن بر حیوانات آبزی در حال حاضر محدود می‌باشد. تیروزین ماده متشکله عمومی برای هورمون‌های مهم و انتقال‌دهنده‌های عصبی شامل تیروکسین (T4)، triiodothyronine (T3)، اپینفرین، نوراپینفرین، دوپامین و ملانین می‌باشد. این مولکول‌ها نقش‌های مهم تنظیم‌کننده‌ی دارند (Chang *et al.*, 2000; Yoo *et al.*, 2007). از این‌رو سطح غذایی فنیل آلانین و تیروزین می‌تواند به میزان زیادی بر توسعه رنگدانه‌ها، غذا گیری، عملکرد رشد، ایمنی و بقای ماهی در محیط طبیعی مؤثر باشد. درنتیجه نیاز غذایی به فنیل آلانین و تیروزین در ماهیان به میزان زیادی در دگردیسی Pinto *et al.*, (2009). به علاوه بکار بردن خوارکی T4 در ماهیان کپور، گربه‌ماهی کanal، و کفشک ماهی هضم پروتئینی، فعالیت آنزیم‌های گوارشی، بقای نیتروژنی، میزان رشد و کارایی غذا را افزایش می‌دهد (Garg, 2007).

تریپتوفان می‌تواند به سراتونین (5-هیدروکسی تریپتامین) که یک انتقال‌دهنده عصبی است و ملاتونین که یک آنتی‌اسیدانت می‌باشد، تبدیل شود (Fang *et al.*, 2002). عکس‌عمل‌های پرخاشگرانه و هم‌جنس خواری در ماهیان گوشت خوار می‌توانند ضررهای قابل توجهی را تحت شرایط پرورش متراکم ایجاد کند. افزایش مزمن غلظت و تبدیل سراتونین در مغز با توقف پرخاشگری همراه است. افزودن غذایی ال-تریپتوفان

(جدول ۱). برای متعادل کردن جیره‌ها با منابع غذایی استفاده شده از نرمافزار WUFFF DA نسخه ۱.۰ استفاده شد. برای تهیه جیره‌های غذایی تمامی مواد با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزیں شدند. ابتدا ترکیبات خشک جیره که قبلًا آسیاب شده بود به اضافه اسیدهای آمینه 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 حاصله به چرخ‌گوشت با قطر چشمی ۲ میلی‌متری منتقل شد سپس رشته‌های ایجاد شده بر روی سینی‌های خشک کن قرار گرفته و به دستگاه خشک کن (در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت) منتقل شد گذشته (Yaghoubi *et al.*, 2016) شدن با توجه به قطر رشته‌ها که با بررسی مطالعات گذشته (Yaghoubi *et al.*, 2016) متناسب اندازه دهان ماهی انتخاب شده بودند، به صورت دستی تا حد ممکن شکسته شد تا متناسب با اندازه دهان ماهی گردد.

جدول ۱: درصد و اجزاء غذایی (n = 1), g 100 g⁻¹ dry Diet
تشکیل دهنده جیره‌ها

Table 1: Ingredient of the experimental diets (g 100g⁻¹ dry diet)

جیره‌ها				
TRP	PHE	ARG	Control	اقلام غذایی
۲۶/۰	۲۶/۰	۲۶/۰	۲۶/۰	پودر ماهی ^a
۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	شاسته قربانی ^a
۷/۰	۷/۰	۷/۰	۷/۰	ارد سفید گندم ^a
۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	زانتری ^a
۱۱/۰	۱۱/۰	۱۱/۰	۱۱/۰	روغن ماهی ^a
۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	آگار ^a
۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	مکمل پتنتینه ^b
۱/۰	۱/۰	۱/۰	۱/۰	مکمل معدنی ^b
۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	L-arginine
۷/۱۵	۷/۱۵	۷/۱۵	۷/۱۵	L-lysine-HCl
۰/۸	۰/۸	۰/۸	۰/۸	L-threonine
۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	L-histidine
۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	L-isoleucine
۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	L-leucine
۰/۶	۰/۶	۰/۶	۰/۶	L-methionine
۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	L-phenylalanine
۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	L-tryptophan
۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۵	L-valine
۱۰/۰۵	۱۱/۲	۱۱/۲	۱۰/۲۵	^b NEAA mixture

^a موارد تهیه شده از شرکت خوارک دام، طبور و آبریان ۲۱-۲۱-بیضا. ^b تهیه شده از شرکت مرک. ^c موارد تهیه شده از شرکت فلوكا. ^d ویتامین A IU/kg ۲۰۰۰، ویتامین D ۸۰۰، ویتامین E IU/kg ۲۰۰، ویتامین K IU/kg ۸۸، ویتامین C IU/kg ۲۰، ویتامین B۱۲ mg/kg ۲۰، ویتامین B۲ mg/kg ۲۰، ویتامین B۵ mg/kg ۷۰، ویتامین B۶ mg/kg ۱۲، ویتامین B۷ mg/kg ۵۰، ویتامین B۸ mg/kg ۵۰، ویتامین B۹ mg/kg ۱۶۸، ویتامین H2 mg/kg ۰/۱۶، ویتامین B۱۲ mg/kg ۰/۰۱۶، سلنجی: سولفات آهن mg/kg ۰/۰۱۶، سولفات مس mg/kg ۰/۰۱۶، بیات کلسیم: mg/kg ۰/۰۳۶، اکسیدمگنت: mg/kg ۰/۰۳۶/۲، اکسیدروی: mg/kg ۰/۰۳۶/۲، کیالت: mg/kg ۰/۰۳۶/۲، L-alanine: 13; L-glycine: 15; L-serine: 20; sodium glutamate: 32; L-proline: 10 and L-aspartic acid: 20; and L-glutamate: 32. ^e علامت خط زیر نشان دهنده عدم جایگزینی اسیدهای آمینه ضروری بعد از حذف از جیره می‌باشد.

آمینه ضروری را بر روی ماهی صبیتی جوان بررسی کرد و نقش‌های فیزیولوژیک آنها را بیشتر شناخت. و این در حالی می‌باشد که در بیشتر تحقیقات تاثیر افزودن غذایی این اسیدهای آمینه بر ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است اما در مورد کمبود این اسیدهای آمینه و سایر اسیدهای آمینه‌ی ضروری بر روی ماهیان کمیاب می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جیره نویسی و تهیه‌ی غذاها: در تحقیق حاضر از چهار تیمار در سه تکرار استفاده گردید که هر ۴ جیره‌ی آزمایشی برای هر تیمار به گونه‌ای فرموله شدند که به طور میانگین حاوی ۴۷۰ گرم پروتئین بر کیلوگرم جیره و انرژی خالص ۲۰/۷ کیلوژول بر گرم بودند (جدول ۲). در جیره‌ی تهیه شده برای هر چهار تیمار از الگوی اسیدهای آمینه‌ی پودر ماهی کیلکا برای متعادل کردن جیره استفاده شد و در همه تیمارها ۶۰٪ منبع پروتئین از پودر ماهی کیلکا و ژلاتین و ۴۰٪ مابقی از اسیدهای آمینه کریستاله تأمین گردید. در تیمار شاهد (Control) هیچ محدودیتی در اسیدهای آمینه‌ی ضروری لحاظ نگردید ولی در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی آرژنین (ARG) از ۴۰ درصد ترکیب اسیدهای آمینه‌ی خالص استفاده شده در تیمار اول، میزان آرژنین صفر در نظر گرفته شد و با میزان مشابهی از مخلوط اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری جایگزین گردید. برای تهیه‌ی تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی فنیل آلانین (PHE) و تیمار کمبود تریپتوفان (TRP) نیز روند مشابه ای همانند تیمار آرژنین به انجام رسید. به این ترتیب همه‌ی جیره‌ها هم نیتروژن بودند و تنها تفاوت تیمار شاهد با تیمارهای دارای کمبود اسیدآمینه در کاهش ۴۰ درصدی میزان اسیدهای آمینه‌ی آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوفان به ترتیب در تیمارهای آرژنین، فنیل آلانین و تریپتوفان بود. ترکیب اسیدآمینه‌ی جیره‌ها بر اساس پروفیل اسیدآمینه اجزای جیره به دست آمده از NRC و Köprücü & Özdemir, 2005; NRC, 2011 (Yaghoubi *et al.*, 2016) WUFFF DA و در جدول ۳ گزارش شده است. سایر اقلام غذایی هم به جز اسیدهای آمینه‌ی ضروری طوری تنظیم شدند 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 & Hardy, 2002).

سالن آزمایش منتقل شد. در هر تانک ۱۵ قطعه ماهی قرار داده و به مدت ده روز قبل از شروع آزمایش با شرایط جدید سازگاری یافتند. در تمام مراحل آزمایش ماهی‌ها ۳ نوبت در روز در ساعت ۷ و ۱۲ و ۱۷ در حد سیری غذاهی شدند (Yaghoubi *et al.*, 2016). این آزمایش با ۴ تیمار و در ۳ تکرار اجرا گردید. تنها تفاوت موجود در تیمارهای این آزمایش کاهش ۴۰ درصد از کل اسیدهای آمینه آرزین، فنیل آلانین و تریپتوфан در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بود. آزمایش فوق ۶ هفته به طول انجامید.

نمونه برداری زیست‌سنجدی و شاخص‌های

موردبررسی: در ابتدا و انتهای آزمایش زیست‌سنجدی ماهیان به صورت گروهی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقیق ۰/۰۱ گرم وزن و با خط کش با دقیق یک میلی‌متر طول ۵ عدد از هر تانک سنجیده شد. جهت ارزیابی عملکرد غذاهای مورداستفاده از شاخص‌های رشد استفاده شد تا نتایج بر مبنای آن‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. پس از اتمام دوره پرورش، درصد افزایش وزن بدنه، نرخ رشد ویژه، نرخ بازنده‌گی، ضریب تبدیل غذایی، نرخ کارایی پروتئین، تثبیت نیتروژنی، فاکتور وضعیت، شاخص کبدی، شاخص احشایی و شاخص چربی احشایی بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Yaghoubi *et al.*, 2016).

(WG) وزن اولیه - وزن ثانویه = درصد افزایش وزن

وزن اولیه / ۱۰۰ ×

(SGR) = $(\ln \text{weight}_t - \ln \text{weight}_0) / (\text{weight}_0 \times \text{days})$

(NPR) = نرخ کارایی پروتئین (وزن اولیه / وزن نهایی)

(SFR) = تعداد نهایی ماهیان / (تعداد / وزن اولیه) × ۱۰۰

(FCR) = میزان غذایی مصرفی / ضریب تبدیل غذایی

افزایش وزن

(PER) = وزن اولیه - وزن نهایی = نرخ کارایی پروتئین

(DR) = درصد پروتئین جبره * غذای خورده شده /

(N retention) = تثبیت نیتروژنی (N / وزن اولیه) × ۱۰۰

(N / وزن خورده شده) / (نیتروژن اولیه لاشه - لاشه)

(K) = طول / وزن = فاکتور وضعیت

(HSI) = شاخص کبدی (وزن بدن / وزن کبد) × ۱۰۰

(VSI) = شاخص احشایی (وزن بدن / وزن احشاء) × ۱۰۰

(IPF) = شاخص چربی احشایی (وزن بدن / وزن چربی احشایی) × ۱۰۰

جدول ۲: آنالیز بیوشیمیایی ترکیب جیره‌ها (%) (n = 3)

Table 2: Proximate composition of the experimental diets (%) (n = 3)

TRP	PHE	ARG	Control	ماده خشک
۹/۱/۹۲±۰/۱۲	۹/۷/۱۲±۰/۱۲	۹/۷/۱۲±۰/۱۲	۹/۷/۱۲±۰/۱۲	ازری نامالن ^۱
۲/۱/۰۲±۰/۱	۲/۰/۱۲±۰/۱۰	۲/۰/۱۲±۰/۱۰	۲/۰/۱۲±۰/۱۰	پروتئین
۸/۰/۳۴±۰/۱۵	۴/۶/۰۲±۰/۲۲	۴/۷/۰۲±۰/۱۶	۴/۶/۰۲±۰/۰۷	چربی
۱/۰/۰۲±۰/۱۱	۱/۰/۰۲±۰/۰۲	۱/۰/۰۲±۰/۰۲	۱/۰/۰۲±۰/۰۱	فیرمام
-۰/۰۲±۰/۰۱	-۰/۰۲±۰/۰۶	-۰/۰۲±۰/۰۶	-۰/۰۲±۰/۰۴	عصاره علایی از ارت ^۲
۱/۰/۰۲±۰/۲۵	۱/۰/۰۲±۰/۲۱	۱/۰/۰۲±۰/۱۸	۱/۰/۰۲±۰/۰۵	خاکستر
۰/۰۲±۰/۰۷	۰/۰۲±۰/۰۳	۰/۰۲±۰/۰۷	۰/۰۲±۰/۰۷	

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

جدول ۳: ترکیب اسیدآمینه‌ی

جیره‌های آزمایش

Table 3: amino acids profile of the experimental diets. g 100 g⁻¹Diet, (n = 1)

TRP	PHE	ARG	Control	آرین
۷/۰۵	۷/۰۵	۷/۰۵	۷/۰۵	ازرین
۲/۱۱۵	۷/۰۲	۷/۰۱۷	۷/۰۱۵	ترنوفین
۱/۰۸۰	۱/۰۲۲	۱/۰۱۵	۱/۰۱۰	هیستیدین
۱/۰۲	۱/۰۲۳	۱/۰۲	۱/۰۱۵	ابروزوین
۲/۰۲۲	۱/۰۱۶	۱/۰۱	۱/۰۰۷	لوسین
۲/۰۴۰	۷/۰۲	۷/۰۲۸	۷/۰۳۳	متیونین
۱/۰۲۸	۱/۰۱۶	۱/۰۱	۱/۰۱۸	سیستین
۰/۰۲۶	۰/۰۲۲	۰/۰۲۵	۰/۰۲۲	فنیل الاتین
۱/۰۹	۱/۰۱۱	۱/۰۱۶	۱/۰۱۴	تیروزین
۰/۰۸۵	-۰/۰۵	-۰/۰۷	-۰/۰۸	تریپتووان
۰/۰۴۵	-۰/۰۴۳	-۰/۰۴۸	-۰/۰۴۵	والین
۲/۰۱۲	۷/۰۱۲	۷/۰۱۵	۷/۰۱۲	الاتین
۲/۰۷۶	۲/۰۷۵	۲/۰۷۵	۲/۰۶۲	آسپارتیک اسید
۵/۰۷	۵/۰۹۳	۵/۰۷۴	۵/۰۵	گلوتامیک اسید
۷/۰۸۲	۷/۰۸۴	۷/۰۹	۷/۰۸	کلاریسین
۵/۰۳	۵/۰۱۳	۵/۰۱۶	۵/۰۰	برولین
۲/۰۲۷	۲/۰۲۴	۲/۰۲۶	۲/۰۳۴	
۷/۰۶	۷/۰۱۱	۷/۰۱۲	۷/۰۱۰	سرین

خط زیر نشان‌دهنده اسیدهای آمینه‌ی کاهش‌یافته در هر جیره می‌باشد.

شرایط آزمایش و نگهداری ماهیان: محل انجام

تحقیق حاضر در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) وابسته به پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور بود. تعداد ۱۸۰ قطعه ماهی ۴/۷ گرمی به محل انجام آزمایش انتقال داده شد. شرایط دمایی (۴/۹ ± ۱/۵ °C)، pH (۷/۶ ± ۰/۵ ppt) و شوری (۴/۸ ± ۰/۵ mg L⁻¹) مناسب با شرایط طبیعی منطقه بود و در طول دوره به صورت روزانه اندازه‌گیری گردید. برای انجام آزمایش از ۱۲ مخزن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلنی مدور استفاده گردید که در داخل هر تانک یک سنگ هوا برای تأمین اکسیژن (میانگین اکسیژن محلول: ۶/۸ ± ۰/۴ mg L⁻¹) و یک لوله‌ی تعویض آب به گونه‌ای که در طول شبانه روز دوبار 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

آمینه استفاده شد و درنهایت نتیجه به صورت درصد بیان گردید.

روش آماری و شیوه نمونه‌برداری: 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 پنج درصد استفاده شد. داده‌های درصدی به Arcsinus تبدیل شدند. داده‌های به دست آمده در ارتباط با تأثیر کاهش هریک از اسیدهای آمینه ضروری بر شاخص‌های رشد و بازماندگی به کمک One-Way ANOVA آنالیز واریانس یک‌طرفه (Analysis of Variance) صورت پذیرد و سپس برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. برای انجام آنالیزهای فوق از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد.

نتایج

در طول آزمایش همه‌ی ماهی‌ها سالم بودند. میزان بقا در همه‌ی تیمارها بالا بود و تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. 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 تیمار کمبود اسید آمینه‌ی آرژنین (ARG) تنها در دو شاخص ثبیت نیتروژن و درصد افزایش وزن نسبت به کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$). اما در تیمارهای کمبود اسید آمینه‌ی فنیل آلانین (PHE) و تریپتوفان (TRP) همه‌ی شاخص‌های رشد و تغذیه از جمله وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، میزان مصرف غذا، نرخ کارابی پروتئین و ثبیت نیتروژن نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). بالاترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار کمبود اسید آمینه‌ی تریپتوفان ($2/85 \pm 0.05$) و کمترین آن در تیمار شاهد ($2/00 \pm 0.11$) مشاهده شد ($p < 0.05$). شاخص‌های بیومتری در بین تیمارها بدون تغییر معنی‌دار مشاهده گردید.

با اتمام دوره پرورش همه‌ی زی‌توده موجود در هر تانک با غلظت بالای ماده بیهوده فنوکسی اتانول ($0/5 \text{ ml L}^{-1}$) کشته شدند و با باز کردن شکم تعداد پنج عدد ماهی از هر تانک اقدام به برداشت احتشام و جدا کردن روده و زوائد پیلویریک کبد و چربی احتشایی جهت بررسی فاکتورهای مربوطه شد. بخش دیگری از زی‌توده تانک‌ها (چهار عدد ماهی) به صورت جداگانه و به کمک آون در دمای زیر ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و به منظور آنالیز لاشه به آزمایشگاه تغذیه پژوهشکده آبزی‌پروری جنوب کشور منتقل گردید. تعداد چهار عدد ماهی نیز در کنار بخش به فریزر -۸۰ تا اندازه گیری پروفیل Yaghoubi *et al.*, 2016 اسید آمینه‌ای منتقل شدند.

آنالیز ترکیب شیمیایی و اسیدهای آمینه: 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 Digest Automat K438, Buchi) نیتروژن کل در نمونه‌ها با استفاده از روش کجل‌دال (K370 Kejldahl Auto, Buchi) و ضرب (Barnstead/Electrothermal, UK) به عدد ۶/۲۵ تعیین گردید. چربی با روش سوکسله حلal کلروفرم با نقطه‌جوش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت استخراج و محاسبه شد. خاکستر با سوزاندن لاشه در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت اندازه گیری شد. میزان فیبر خام VELP® Scientifica, (Italy) 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 محاسبه گردید (AOAC, 2005). جهت تعیین پروفیل اسید آمینه 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 اشتغال به وسیله دستگاه HPLC با روش Lindroth & Mopper, 1979 گرفت. طول ستون 4×250 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 اسیدهای

ین اسیدهای آمینه در لاشه ماهیان کاهش نیافتدند. به علت از بین رفتن اسید آمینه‌ی تریپتوفان در هضم اسیدی در پروسه‌ی اندازه گیره اسیدهای آمینه این مقایسه برای این اسید آمینه امکان‌پذیر نبود. در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی آرژنین نسبت به شاهد کاهش اسیدهای آمینه‌ی لایزین و آسپارتیک اسید به صورت معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار کمبود اسیدآمینه‌ی فنیل آلانین نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار میزان اسیدهای آمینه‌ی غیرضروری آسپارتیک اسید مشاهده شد ($p < 0.05$). در تیمار تغذیه شده با جیره‌ی دارای کمبود اسیدآمینه‌ی تریپتوفان اسیدهای آمینه‌ی فنیل آلانین، آسپارتیک اسید، سرین و تیروزین کمتر از تیمار، شاهد گزارش، گردید ($p < 0.05$).

جدول ۵: آنالیز ترکیب کل لاشه (درصد وزن تر) ماهی صبیتی
جوان در انتها آزمایش^۱ ($means \pm SE, n=3$)

Table 5: Composition of whole body proximate (% of wet weight) of Sparidentex hasta juvenile at the end of the growth trial ($means \pm SE$, $n=3$)

۱) حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده تفاوت آماری ($p < 0.05$) دارند. عدم وجود حروف در ردیف‌ها نشان دهنده معنی دار نبودن اختلاف در پارامترهای مذکور است.^۲ محاسبه انحراف ناخالص بر اساس میزان انحراف میانگین نشان دهنده تفاوت آماری ($p < 0.05$) بود.

جدول ۶: ترکیب اسید آمینه‌ی لاشه ما (n = 3), g 16 g⁻¹ N هیان، در ابتدا و انتهای آزمایش.

Table 6: Amino acids profile of whole body of Sparidentex hasta juvenile at the beginning and end of growth trial. g 16 g⁻¹ N (n=3).

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

جدول ۴: رشد، مصرف غذا، بقا و پارامترهای بیومتریک ماهی
صیبیتی جوان در انتهای دوره‌ی آزمایش (means \pm SE, n=3)

TRP	PHE	ARG	Control	معلمکرد روشن و تغذیه
٧/٩٢±٠١٪	٧/٩٣±٠١٪	٧/٩٣±٠١٪	٧/٩٣±٠١٪	IBW (g) *
٨/٩٤±٠١٪	٨/٩٦±٠١٪	٨/٩٦±٠١٪	٨/٩٦±٠١٪	FBW (g) *
٩/٩٦±٠١٪	٩/٩٧±٠١٪	٩/٩٧±٠١٪	٩/٩٧±٠١٪	WG (%) *
٩/٩٧±٠١٪	٩/٩٨±٠١٪	٩/٩٨±٠١٪	٩/٩٨±٠١٪	SGR d
٩/٩٨±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	S (%) *
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	FGR (%)
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	PERI *
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	FC (g fish) ^b
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	N Retention
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	اندیمه ایونومتری (%) ^c
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	HSI *
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	VSI ^d
٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	٩/٩٩±٠١٪	IPF ^m

۱- حروف مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت اماری ($p < 0.05$) 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 ضریب تبدیل غذایی.^g نرخ کارایی پروتئین.^h میزان مصرف غذا.ⁱ تثبیت نیتروژنی.^j فاکتور وضعیت.^k شاخص کبدی.^l شاخص احشایی.^m شاخص چربی احشایی.

آنالیز ترکیب شیمیایی کل بدن ماهیان مورد آزمایش در تیمارها در انتهای آزمایش 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 تنها میزان خاکستر لашه در بین تیمارها تغییرات معنی داری را نشان نداد. میزان رطوبت به صورت معنی داری در تیمار کمبود فنیل آلانین ($۷۳/۲۵ \pm ۰/۸۲$) بیشتر از تیمار شاهد ($۶۷/۶۵ \pm ۰/۹۶$) بود ($p < 0/05$). میزان پروتئین خام در مقایسه‌ی تیمارهای دارای کمبود اسید آمینه نسبت به تیمار کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد. میزان چربی خام در دو تیمار کمبود اسید آمینه‌ی فنیل آلانین و تریپتوфан نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت و انرژی ناخالص در همه‌ی تیمارهای دارای کمبود اسید آمینه نسبت به شاهد با کاهش معنی داری مشاهده شد ($p < 0/05$).

در جدول شماره‌ی ۶ ترکیب اسیدآمینه‌ی لاشه ماهیان بر اساس گرم بر صد گرم پروتئین هم در تیمارهای آزمایشی و هم در ابتدای آزمایش بیان شده است. آنالیز آماری فقط برای ماهیان در انتهای آزمایش مورد بررسی قرار گرفت؛ که بر اساس نتایج به دست آمده و مقایسه تیمارهای موردمطالعه در انتهای آزمایش، اسیدهای آمینه هیستیدین، لوسمین، ترئونین، گلایسین، پرولین، آلانین و سیستین بدون تغییر معنی دار مشاهده شدند ($P > 0.05$). در میزان کل اسیدهای آمینه‌ی ضروری و غیرضروری نیز تفاوت معنی داری وجود نداشت. علی‌رغم کاهش چهل درصدی اسیدهای آمینه‌ی آرژنین و فنیل آلانین در جیره‌های کمبود اسیدهای آمینه مذکور، میزان

بحث

لردوزیس و اسکلروزیس بخصوص در ماهیان آزاد نشان داده‌اند. ولی در برخی مطالعات این تأثیر اثبات نشده است (Poston & Rumsey, 1983) در مطالعه‌ی حاضر نیز هیچ نشانه‌ای از بیماری‌های ذکر شده در ماهیان تغذیه شده با جیره‌ی حاوی کمبود اسیدآمینه‌ی تریپتوفان مشاهده نگردید اما کاهش رشد، کاهش تغذیه و فاکتورهای مربوطه نسبت به شاهد همانند مطالعات ذکر شده مشاهده شد.

فنیل آلانین یک اسیدآمینه‌ی آروماتیک است که میزان نیاز به آن تحت تأثیر میزان اسیدآمینه‌ی تیروزین در جیره قرار دارد. فنیل آلانین می‌تواند به تیروزین تبدیل شود هرچند که تیروزین نمی‌تواند به صورت بر عکس به فنیل آلانین تبدیل شود (Kim *et al.*, 2012). اسیدآمینه‌ی فنیل آلانین تأثیر بسیار زیادی بر میزان تغذیه، عملکرد رشد، ایمنی و بقای ماهیان در محیط‌های طبیعی دارد (Li *et al.*, 2009). در این مطالعه نیز در تیمار کمبود فنیل آلانین تاثیرات منفی بر تغذیه و رشد به خوبی با فاکتورهای بیان شده در جدول چهار قابل مشاهده می‌باشد.

در مطالعه‌ی حاضر بجز ماهیان تغذیه شده با جیره‌ی دارای کمبود اسید آمینه‌ی آرژنین، دو تیمار دیگر به صورت معنی داری میزان کمتری از چربی کل لاشه را نسبت به تیمارهای کنترل نشان دادند که نشان دهنده‌ی تقاضای انرژی بالاتر و نرخ سوخت‌وساز بیشتر در این تیمارها بود که سبب کاهش چربی کل لاشه در این ماهیان گردید و در همین راستا میزان انرژی ناخالص در همه‌ی تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار کنترل کاهش یافت. ماهیان تغذیه شده با جیره‌ی دارای کمبود اسید آمینه‌ی آرژنین دارای کمترین میزان پروتئین کل لاشه بودند که نشان دهنده‌ی استفاده بیشتر از پروتئین نسبت به چربی به عنوان منبع انرژی در این گروه از ماهیان می‌باشد. در همین راستا کاهش کارابی اسیدهای آمینه‌ی ضروری ممکن است موجب اختلال در متابولیسم چربی گردد زیرا منبع اصلی کربن برای ساخت اسیدهای چرب در ماهی از اسیدهای آمینه‌ی فراهم شده توسط پروتئین غذایی می‌باشد (Henderson, 1996). به علاوه مطالعات اخیر نشان داده‌اند که اصلاح ترکیب غذایی اسیدهای آمینه‌ی ضروری تاثیر زیادی بر متابولیسم چربی و تعادل انرژی از طریق مکانیسم‌های تنظیمی اسیدهای آمینه‌ی ضروری Anthony (EAA-sensing mechanisms) دارد (et al., 2013).

اسیدآمینه‌ی آرژنین در بسیاری از فعالیت‌های مربوط به رشد در بدن شرکت می‌کند. برخی از گذرگاههای متابولیکی که آرژنین در آن حضور دارد که شامل ساخت پروتئین، ساخت اوره و متابولیسم گلوتامیک اسید، پرولین، Flynn *et al.*, (2002) همچنین بیان شده است که اسیدآمینه‌ی آرژنین تأثیراتی بر اینمی ماهیان دارد (Cheng *et al.*, 2011). احتیاج غذایی به اسیدآمینه‌ی آرژنین برای چندین گونه از ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است که دامنه‌ی وسیعی از گزارش‌ها را شامل می‌شود که این دامنه از ۳ درصد ۸/۱ پروتئین غذایی در توربت (*Pseua maxima*) تا درصد از پروتئین غذایی برای سیبریم سیاه (*Sparus macrocephalus*) می‌باشد (NRC, 2011). در مطالعه حاضر کاهش اسیدآمینه‌ی آرژنین نسبت به سایر اسیدهای آمینه محدودیت کمتری در رشد ایجاد کرد. اما این کاهش رشد نسبت به تیمار شاهد کاملاً معنی دار بود. گزارش مشابهی از تأثیر در کاهش رشد و کاهش در تثبیت پروتئین در برخی از ماهیان تغذیه شده با رژیم غذایی دارای کمبود اسیدآمینه‌ی آرژنین بیان شده است (Chen *et al.*, 2012) که با نتایج مشاهده شده در مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد.

اسیدآمینه‌ی تریپتوفان و متابولیت‌های آن (سراتونین و ملاتونین) در تنظیم میزان تغذیه، تولید مثل، ایمنی، نقش‌های عصبی و پاسخ‌های ضد استرسی علاوه بر ساخت پروتئین نقش دارند. بنابراین تأمین میزان مورد نیاز از این اسیدآمینه‌ی ضروری در جیره برای رشد، توسعه و سلامتی حیوانات و انسان ضروری می‌باشد (Yao *et al.*, 2011). تریپتوفان به عنوان سومین و یا چهارمین اسیدآمینه محدود کننده در جیره‌های غذایی بر مبنای کنجاله‌ی سویا بعد از لایزین و متیونین و ترئونین برای خوک مطرح می‌باشد (Jansman *et al.*, 2010). در ماهیان نیز بعد از متیونین و لایزین، تریپتوفان به عنوان یکی از محدود کننده ترین اسیدهای آمینه‌ی در جیره‌های Coloso *et al.*, (2004) کمبود اسیدآمینه‌ی مطرح شده است (Poston & Rumsey, 1983). ایجاد کاتاراكت در موش و خوک شده است (Coloso *et al.*, 2004) در صورتی که گزارشی از ایجاد کاتاراكت در اثر کمبود این اسیدآمینه‌ی ضروری در ماهیان موجود نمی‌باشد. مطالعات مختلفی تأثیر کمبود اسیدآمینه‌ی تریپتوفان را در جیره بر بیماری‌های

نشان دهنده ذخیره سازی این اسیدهای آمینه‌ی محدود شده توسط بدن ماهی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

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 تشکر و قدردانی را به جهت همکاری‌های صورت گرفته دارند.

منابع

- Amano, M., Iigo, M., Ikuta, K., Kitamura, S., Okuzawa, K., Yamada, H. and Yamamori, K., 2004.** Disturbance of plasma melatonin profile by high dose melatonin administration inhibits testicular maturation of precocious male masu salmon. *Zoological science*, 21: 79-85. [https://doi.org/10.2108/0289-0003\(2004\)21\[79:DOPMPB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2108/0289-0003(2004)21[79:DOPMPB]2.0.CO;2)
- Ambardekar, A.A., Reigh, R.C. and Williams, M.B., 2009.** Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 291: 179-187. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.02.044>
- Anthony, T.G., Morrison, C.D. and Gettys, T.W., 2013.** Remodeling of lipid metabolism by dietary restriction of essential amino acids. *Diabetes*, 62: 2635-2644. <https://doi.org/10.2337/db12-1613>
- AOAC, 2005.** Official Methods of Analysis, MD: Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg.
- Aragao, C., Corte-Real, J., Costas, B., Dinis, M.T. and Conceição, L., 2008.** Stress response and changes in amino acid requirements in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup

محرومیت غذایی اسیدهای آمینه‌ی ضروری بر کاهش ترجمه‌ی بسیاری از ژن‌های سازنده‌ی چربی مانند fatty acid synthase (Dudek & Semenkovich, 1995; Palii *et al.*, 2009; Shan *et al.*, 2010; Anthony *et al.*, 2013) در آزمایش حاضر، علی‌رغم کاهش میزان اسیدهای آمینه‌ی آرژنین، فنیل‌آلانین و تریپتوفان در جیره‌های غذایی، میزان این اسیدآمینه‌ها در لاشه کاهش نیافت که ممکن است به دلیل حفظ اسیدهای آمینه‌ی مذکور در هنگام مواجه با کمبود آن‌ها در جیره غذایی باشد. این مطلب با این فرض که مکانیسمی در ماهیان برای کاهش مصرف اسیدآمینه‌ی ضروری کاهش داده شده وجود دارد، دریک راستا می‌باشد (Jarss & Bastrop, 1995). نتایج مشابهی در مطالعه‌ی ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) گزارش شده است (Rollin *et al.*, 2003). همچنین بیان شده است که عدم تغییر در پروفیل اسید آمینه‌ی لاشه در مواجهه با کمبود تغذیه‌ای اسیدآمینه‌ی مذکور میتواند مربوط به پروفیل اسیدآمینه‌ی ضروری بهشت محافظت شده پروتئین‌های لاشه‌ی ماهی باشد که تحت تأثیر کیفیت غذا و سن ماهی قرار نمی‌گیرند (Mambrini & Kaushik, 1995; Wilson, 2003)

نتایج این مطالعه نشان داد که با کاهش میزان اسیدهای آمینه‌ی آرژنین، فنیل‌آلانین و تریپتوفان در جیره‌ی ماهی صبیتی به صورت کاملاً معنی‌داری بیشتر فاکتورهای رشد و تغذیه‌ی ماهی تحت تأثیر قرار گرفت. که نشان دهنده اهمیت ساخت جیره‌های غذایی کامل و بدون کمبود در تغذیه‌ی ماهیان می‌باشد به صورتی که کاهش یک اسید آمینه‌ی ضروری تاثیر بسیار زیادی در جذب سایر اسیدهای آمینه و ساخت پروتئین و در نهایت رشد دارد. کاهش پروتئین کل لاشه در تیمار کمبود اسید آمینه‌ی آرژنین نشان دهنده استفاده بیشتر از پروتئین نسبت به چربی به عنوان منبع انرژی در این گروه از ماهیان می‌باشد. از آنجا که منبع اصلی کربن برای ساخت اسیدهای چرب در ماهی از اسیدهای آمینه‌ی فراهم شده توسط پروتئین غذایی می‌باشد کاهش چربی لاشه در همه‌ی تیمارهای آزمایشی نشان دهنده‌ی اختلال در متابولیسم چربی با کاهش کارایی اسیدهای آمینه‌ی ضروری در بدن می‌باشد. عدم تغییر معنی‌دار اسیدهای آمینه‌ی کاهش یافته در جیره‌ها، در لاشه‌ی ماهیان

- 1858). Amino acids, 34: 143-148. doi:10.1007/s00726-007-0495-2
- Basurco, B., Lovatelli, A. and Garc'ia, B., 2011.** Current status of Sparidae aquaculture In *Sparidae Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and Other Species* (Pavlidis, M.A. and Mylonas, C.C. eds.), 390 p. A John Wiley & Sons, Ltd, Crete.
- Bhattacharya, S., Chattoraj, A. and Maitra, S.K., 2007.** Melatonin in the regulation of annual testicular events in carp *Catla catla*: evidence from the studies on the effects of exogenous melatonin, continuous light, and continuous darkness. Chronobiology international, 24: 629-650. <http://dx.doi.org/10.1080/07420520701534665>
- Buentello, J.A. and Gatlin, D.M., 1999.** Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish (*Ictalurus punctatus*): influence of dietary arginine and culture media. Aquaculture, 179: 513-521. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00184-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00184-2)
- Buentello, J.A. and Gatlin, D.M., 2000.** The dietary arginine requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is influenced by endogenous synthesis of arginine from glutamic acid. Aquaculture, 188: 311-321. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00344-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00344-6)
- Buentello, J.A. and Gatlin III, D.M., 2001.** Effects of elevated dietary arginine on resistance of channel catfish to exposure to *Edwardsiella ictaluri*. Journal of Aquatic Animal Health, 13: 194-201. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8667\(2001\)013<0194:EOEDAO>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8667(2001)013<0194:EOEDAO>2.0.CO;2)
- Chang, C.-C., Wu, Z.-R., Kuo, C.-M. and Cheng, W., 2007.** Dopamine depresses immunity in the tiger shrimp *Penaeus monodon*. Fish & shellfish immunology, 23: 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.09.001>
- Chen, G., Feng, L., Kuang, S., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Jiang, W., Li, S., Tang, L. and Zhou, X., 2012.** Effect of dietary arginine on growth, intestinal enzyme activities and gene expression in muscle, hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). British Journal of Nutrition, 108: 195-207. <https://doi.org/10.1017/S0007114511005459>
- Cheng, Z., Buentello, A. and Gatlin, D.M., 2011.** Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture, 319: 247-252. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.025>
- Coloso, R., Murillo-Gurrea, D., Borlongan, I. and Catacutan, M., 2004.** Tryptophan requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer*. Journal of Applied Ichthyology, 20: 43-47. doi: 10.1111/j.1439-0426.2004.00478.x
- Dudek, S.M. and Semenkovich, C.F., 1995.** Essential amino acids regulate fatty acid synthase expression through an uncharged transfer RNA-dependent mechanism. Journal of biological chemistry, 270: 29323-29329. doi: 10.1074/jbc.270.49.29323
- Fang, Y.Z., Yang, S. and Wu, G., 2002.** Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition, 18: 872-879. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4)
- Flynn, N., Meininger, C., Haynes, T. and Wu, G., 2002.** The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. Biomedicine & Pharmacotherapy, 56: 427-438. [https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(02\)00273-1](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(02)00273-1)
- Garg, S., 2007.** Effect of oral administration of l-thyroxine (T4) on growth performance, digestibility, and nutrient retention in *Channa punctatus* (Bloch) and *Heteropneustes fossilis* (Bloch). Fish Physiology and Biochemistry, 33: 347-358. doi: 10.1007/s10695-007-9166-1

- Gouillou-Coustans, M., Fournier, V., Métailler, R., Vachot, C., Desbruyères, E., Huelvan, C., Moriceau, J., Le Delliou, H. and Kaushik, S., 2002.** Dietary arginine degradation is a major pathway in ureagenesis in juvenile turbot (*Psetta maxima*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 132: 305-319. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00032-6)
- 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. doi: 10.1023/B:FISH.0000021878.81647.6e
- Henderson, R., 1996.** Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. Archives of Animal Nutrition, 49: 5-22. <http://dx.doi.org/10.1080/17450399609381859>
- Höglund, E., Sørensen, C., Bakke, M.J., Nilsson, G.E. and Øverli, Ø., 2007.** Attenuation of stress-induced anorexia in brown trout (*Salmo trutta*) by pre-treatment with dietary L-tryptophan. British Journal of Nutrition, 97: 786-789. <https://doi.org/10.1017/S0007114507450280>
- Hossain, M., Al-Abdul-Elah, K. and El-Dakour, S., 2014.** Evaluation of Different Commercial Feeds for Culture of Juvenile Sobaity (*Sparidentex Hasta Valenciennes*) in Kuwait. APCBEE Procedia, 8: 310-316. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2014.03.046>
- Hseu, J., Lu, F., Su, H., Wang, L., Tsai, C. and Hwang, P., 2003.** Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. Aquaculture, 218: 251-263. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00503-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00503-3)
- Jansman, A., van Diepen, J.T.M. and Melchior, D., 2010.** The effect of diet composition on tryptophan requirement of young piglets. Journal of animal science, 88: 1017-1027. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.12.001>
- 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.
- Jobgen, W.S., Fried, S.K., Fu, W.J., Meiningen, C.J. and Wu, G., 2006.** Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. The Journal of nutritional biochemistry, 17: 571-588. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.12.001>
- Kim, S.S., Rahimnejad, S., Song, J.W. and Lee, K.J., 2012.** Comparison of growth performance and whole-body amino acid composition in red seabream (*Pagrus major*) fed free or dipeptide form of phenylalanine. Asian-Australasian journal of animal sciences, 25: 1138. Asian-Australas J Anim Sci. 2012 Aug; 25(8): 1138-1144. doi: 10.5713/ajas.2012.12054
- Köprücü, K. and Özdemir, Y., 2005.** Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 250: 308-316. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.003>
- Lepage, O., Tottmar, O. and Winberg, S., 2002.** Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of experimental biology, 205: 3679-3687.
- Li, P., Mai, K., Trushenski, J. and Wu, G., 2009.** New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. Amino acids, 37: 43-53. doi:10.1007/s00726-008-0171-1

- 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. doi: 10.1021/ac50047a019
- Mambrini, M. and Kaushik, S., 1995.** Indispensable amino acid requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 240-247. doi: 10.1111/j.1439-0426
- Marammazi, J.G., Yaghoubi, M., Safari, O., Peres, H. and Mozanzadeh, M.T., 2016.** Establishing the optimum dietary essential amino acids pattern for silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) juveniles by deletion method. *Aquaculture Nutrition*: In press.
- Mommsen, T.P., Moon, T.W. and Plisetskaya, E.M., 2001.** Effects of arginine on pancreatic hormones and hepatic metabolism in rainbow trout. *Physiological and Biochemical Zoology*, 74: 668-678.
- Mozanzadeh, M., Marammazi, J., Yaghoubi, M., Yavari, V., Agh, N. and Gisbert, E., 2015a.** Somatic and physiological responses to cyclic fasting and re-feeding periods in sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*, Valenciennes 1830). *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1111/anu.12379.
- Mozanzadeh, M., Yavari, V., Marammazi, J., Agh, N. and Gisbert, E., 2016a.** Optimal dietary carbohydrate-to-lipid ratios for silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*: doi: 10.1111/anu.12415.
- Mozanzadeh, M.T., Agh, N., Yavari, V., Marammazi, J.G., Mohammadian, T. and Gisbert, E., 2016b.** Partial or total replacement of dietary fish oil with alternative lipid sources in silvery-black porgy (*Sparidentex hasta*). *Aquaculture*, 451: 232-240.
- <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.022>
- Mozanzadeh, M.T., Marammazi, J.G., Yavari, V., Agh, N., Mohammadian, T. and Gisbert, E., 2015b.** Dietary n-3 LC-PUFA requirements in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). *Aquaculture*, 448: 151-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.007>
- NRC, 2011.** *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, The National Academies Press, Washington, DC.
- Palii, S., Kays, C., Deval, C., Bruhat, A., Fafournoux, P. and Kilberg, M., 2009.** Specificity of amino acid regulated gene expression: analysis of genes subjected to either complete or single amino acid deprivation. *Amino acids*, 37: 79-88. doi: 10.1007/s00726-008-0199-2
- Pinto, W., Figueira, L., Dinis, M.T. and Aragao, C., 2009.** How does fish metamorphosis affect aromatic amino acid metabolism? *Amino acids*, 36: 177-183. doi:10.1007/s00726-008-0045-6
- Poston, H.A. and Rumsey, G.L., 1983.** Factors affecting dietary requirement and deficiency signs of L-tryptophan in rainbow trout. *The Journal of nutrition*, 113: 2568-2577.
- 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.
- Rubio, V., Sánchez-Vázquez, F. and Madrid, J., 2006.** Oral serotonin administration affects the quantity and the quality of macronutrients selection in European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Physiology & behavior*, 87: 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.030>
- Shan, J., Lopez, M.-C., Baker, H.V. and Kilberg, M.S., 2010.** Expression profiling after

- activation of amino acid deprivation response in HepG2 human hepatoma cells. *Physiological genomics*, 41: 315-327. doi: 10.1152/physiolgenomics.00217.2009
- Vijayan, M., Mommsen, T., Glemet, H. and Moon, T., 1996.** Metabolic effects of cortisol treatment in a marine teleost, the sea raven. *The Journal of experimental biology*, 199: 1509-1514.
- Wilson, R.P., 2003.** 3 - Amino Acids and Proteins In *Fish Nutrition (Third Edition)* (Hardy, J.E.H.W. ed.), pp. 143-179. Academic Press, San Diego.
- Wu, G. and Morris, J.S., 1998.** Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J*, 336: 1-17. doi: 10.1042/bj3360001
- Yaghoubi, M., Mozanzadeh, M.T., Marammazi, J.G., Safari, O. and Gisbert, E., 2016.** Dietary replacement of fish meal by soy products (soybean meal and isolated soy protein) in silvery-black porgy juveniles (*Sparidentex hasta*). *Aquaculture*, 468: 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.002>
- Yao, K., Fang, J., Yin, Y., Feng, Z.-M., Tang, Z.-R. and Wu, G., 2011.** Tryptophan metabolism in animals: important roles in nutrition and health. *Front Biosci*, 3: 286-297. doi: 10.2741/s152
- Yao, K., Yin, Y.-L., Chu, W., Liu, Z., Deng, D., Li, T., Huang, R., Zhang, J., Tan, B. and Wang, W., 2008.** Dietary arginine supplementation increases mTOR signaling activity in skeletal muscle of neonatal pigs. *The Journal of nutrition*, 138: 867-872.
- Yoo, J.H., Takeuchi, T., Tagawa, M. and Seikai, T., 2000.** Effect of thyroid hormones on the stage-specific pigmentation of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Zoological science*, 17: 1101-1106. <https://doi.org/10.2108/zsj.17.1101>

Effects of arginine, phenylalanine and tryptophan deficiency in diets on growth factors and whole body proximate of Sobaity seabream juvenile (*Sparidentex hasta*)

Ghafleh Marammazi J.¹; Yaghoubi M.^{1*}; Safari O.²

*m.yaghoubi@ut.ac.ir

1-Research Institute for Aquaculture south, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahwaz

2-Department of Fisheries, Ferdowsi University of Mashhad, Khorasan Razavi

Abstract

On this study effects of reducing arginine, phenylalanine and tryptophan amino acids in diets of Sobaity seabream in a constant level (40%) on growth, nutritional indices, whole body chemical proximate and amino acids, was assessed. For these purposes four different treatments in triplicate was used during 42 days in base of feeding with semipurified diets containing crystalline amino acids. The control diet was without any deficiency, the arginine (ARG), phenylalanine (PHE) and tryptophan (TRP) diets were deficient in arginine, phenylalanine and tryptophan respectively. Crystalline amino acids were used to formulate diets precisely with desired amounts of deficiency. In fish fed ARG diet, just two factors including nitrogen retention and percentage of weight gain decreased in comparing with control group ($p < 0.05$). But in PHE and TRP treatments all the growth and nutrition factors including final weight, weight gain, specific growth rate, feed consumption, protein efficiency and nitrogen retention decreased significantly regarding to the control group ($p < 0.05$). The experimental treatments affect whole body proximate regarding to the control by increasing whole body moisture in PHE, reduction of gross energy in all treatments and reduction of Crude lipids in TRP and PHE ($p < 0.05$). Reduction of whole body protein in ARG treatment showed using more protein rather than lipids as a source of energy in this group of fish. Reduction of whole body lipid in all treatments regarding to the control group showed some disorder in lipid metabolism. In spite of arginine, phenylalanine and tryptophan deficiency in diets, the amounts of these amino acids in fish whole body did not decreased that showed amino acids sparing effect for these three essential amino acids happened in fish body. The results of the current study showed that reduction of one single essential amino acid from diet have strong effects on other amino acids retention and consequently reduces protein synthesis and growth.

Keywords: Arginine, Phenylalanine, Tryptophan, Amino acids deficiency, Sobaity seabream, *Sparidentex hasta*

*Corresponding author