

Effects of singular and combined use of fulvic acid and Arginine amino acid in dietary on growth indices, hematological and serum biochemical parameters, growth related genes (GH and IGF-I) expression in Persian sturgeon juveniles (*Acipenser persicus* Borodin, 1897)

Seed Mahmood Tahrinasab¹, Valiollah Jafari^{1*}, Roghieh Safari¹, Seyed Hosein Hosseinifar¹,
Hosein Oragi²

1- Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

1-Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Animal Science, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

Received: 7 November 2024

Accepted: 18 January 2025

Extended Abstract:

Introduction: From the point of view of biodiversity and gene pool, sturgeons are actually considered to be one of the few living fossils. Therefore, their importance in this aspect is also significant and vital. Considering the growing trend of human population and the increasing demand for animal protein, especially fish and aquatic animals, increasing production, growth and improving the immune system are important solutions in aquaculture. Therefore, the use of food supplements, such as amino acids and fulvic acid, which, in addition to being desirable in breeding and not posing any risks to the environment and humans, is also important. Therefore, the aim of this study is to use the amino acids arginine and fulvic acid individually and in combination in the diet of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) juveniles, as one of the most important species of sturgeon in the Caspian Sea, to increase growth and improve the immune system and to affect the expression of growth-related genes (GH and IGF-I).

Material and Methods: For this purpose, 270 Persian sturgeon juveniles with an average weight of about 13.5 grams were released in 27 tanks. Nutritional treatments at the desired levels of the combination of these two based on food (Manaco Company) were added to the fish feed by spraying. And for 8 weeks, they were fed diets containing 0 (control), 1 percent folic acid (treatment 1), 2 percent fulvic acid (treatment 2), 3 percent arginine (treatment 3), 4 percent arginine (treatment 4), 1 percent fulvic acid + 3 percent arginine (treatment 5), 1 percent fulvic acid + 4 percent arginine (treatment 6), 2 percent folic acid + 3 percent arginine (treatment 7) and 2 percent folic acid + 4 percent arginine (treatment 8). Performance evaluation after the end of the project, samples were taken from brain and liver tissue to examine the expression indices of growth-related genes. Tissue samples were extracted in the laboratory using an extraction kit and according to the manufacturer's instructions (Ziistfan Pishro Azma). In addition, all fish in each group were weighed using a digital scale and growth performance indices were calculated.

Results and Discussion: The results obtained from the evaluation of the growth performance of Persian sturgeon after 8 weeks of feeding with diets containing different levels of folic acid and arginine, and according to the evaluations, the highest final weight (FW), weight gain (WG), and specific growth rate (SGR) were in fish that were fed a diet containing a combination of 2% folic acid and 3% arginine, which was significantly different from the control and other treatments ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference in the aforementioned indices between fish fed with different levels of folic acid and arginine ($p > 0.05$), although these groups had significant differences with the control ($p < 0.05$). The lowest feed conversion ratio and the highest value at a significant level were observed in treatment 7 and the control group, respectively ($p < 0.05$). Also, the expression level of IGF gene in fish fed with diets containing a combination of different levels of folic acid and arginine did not show a significant difference ($p > 0.05$). However, the highest expression level was observed in the treatment of 1% folic acid and 4% arginine (treatment 7). There was no statistically significant difference between the different levels of folic acid and the control ($p > 0.05$). The results obtained are from the expression of the GH gene. According to the results, the highest expression level of this gene was in treatment 7 (2% folic acid + 3% arginine), which had a significant difference with the other treatments ($p < 0.05$). The lowest expression level of this gene was in the 4% arginine treatment, which was not significantly different from the control and 1% folic acid ($p > 0.05$).

Conclusion: The present study clearly showed that the use of folic acid and arginine in the diet of Persian sturgeon juveniles had a significant effect on growth performance. And the highest final weight, weight gain and specific growth rate were in fish that had 2% folic acid and 3% arginine in their diet. In addition, the use of these compounds in the diet also significantly reduced the feed conversion ratio compared to the control group. The results of this study showed that the use of a combination of folic acid and arginine caused significant changes in the expression levels of GH and IGF genes in Persian sturgeon, which was significantly different from the control group. The results showed that the highest growth performance and the lowest feed conversion ratio were significantly different from the control group in treatment 7 (2% folic acid + 3% arginine). The highest expression levels of GH and IGF genes were also in treatment 7. Therefore, it can be concluded that the use of folic acid and arginine in the diet of Persian sturgeon can have a positive effect on the growth of this species

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors of the article.

Acknowledgment: We hereby express our gratitude and appreciation for the assistance of all colleagues in conducting this research.

Keywords: Folic acid, arginine, growth, gene expression, Iranian dice fish

* Corresponding Author: v.jafari.sh110@gmail.com

"مقاله پژوهشی"

اثرات اسیدفولیک و اسید آمینه آرژنین به تنهایی و ترکیب با یکدیگر بر عملکرد شاخص های رشد و بیان ژن های مرتبط با رشد (GH و IGF-I) در بچه ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

سید محمود ظاهری نسب^۱، ولی اله جعفری^{۱*}، سید حسین حسینی فر^۱، رقیه صفری^۱، حسین اورجی^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۸/۱۷

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر اسیدفولیک و آرژنین بر فاکتورهای رشد و بیان ژن های درگیر در رشد (GH و IGF-I) بچه تاس ماهی ایرانی انجام شد. به همین منظور تعداد ۲۷۰ قطعه تاس ماهی ایرانی با میانگین وزنی حدود ۱۵ گرم در ۲۷ تانک (۹ تیمار و ۳ تکرار) ذخیره سازی شدند. ماهیان به مدت ۱۰ هفته با جیره های حاوی ۰ (شاهد)، ۱ درصد اسیدفولیک (تیمار ۱)، ۲ درصد اسیدفولیک (تیمار ۲)، ۳ درصد آرژنین (تیمار ۳)، ۴ درصد آرژنین (تیمار ۴)، ۱ درصد اسیدفولیک + ۳ درصد آرژنین (تیمار ۵)، ۱ درصد اسیدفولیک + ۴ درصد آرژنین (تیمار ۶)، ۲ درصد اسیدفولیک + ۳ درصد آرژنین (تیمار ۷) و ۲ درصد اسیدفولیک + ۴ درصد آرژنین (تیمار ۸)، تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش نتایج نشان داد که بیشترین میزان عملکرد رشد و کمترین ضریب تبدیل غذایی در سطح معنی داری نسبت به گروه شاهد در تیمار ۷ (۲ درصد اسیدفولیک + ۳ درصد آرژنین) بود ($p < 0.05$). بیشترین میزان بیان ژن های GH و IGF-I نیز در تیمار ۷ بود. بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از اسیدفولیک و آرژنین در جیره تاس ماهی ایرانی می تواند تاثیر مثبتی بر رشد این گونه اعمال کند.

کلمات کلیدی: اسیدفولیک، آرژنین، رشد، بیان ژن، تاس ماهی ایرانی

مقدمه

تغییر شکل و دگرذیسی لارو، تولید مثل، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و عوامل بیماری‌زا در ماهیان ضروری و لازم هستند. به‌طور کلی بر اساس نقش‌های پایه‌ای اسیدهای آمینه در متابولیسم و فیزیولوژی سلول، مکمل‌های غذایی اسید آمینه‌ای پیشنهاد می‌شود که ممکن است به دلایل زیر سودمند باشند: ۱- افزایش خاصیت جاذب‌های شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای غذای آبزی با محتوای کم پودر ماهی، ۲- بهینه‌سازی کارایی انتقال متابولیک‌ها در ماهیان جوان و بالغ، ۳- جلوگیری از رفتارهای تهاجمی و همنوع خواری، ۴- افزایش عملکرد و بازماندگی لارو، ۵- تنظیم زمان و کارایی تخم‌ریزی، ۶- بهبود طعم فیله، گوشت و بافت، ۷- افزایش ایمنی و افزایش دامنه‌ی تحمل در برابر تنش‌های محیطی (Beirami *et al.*, 2017). نتایج منتشر شده از مطالعه جانوران آبزی و دیگر جانوران نشان می‌دهد که بیشتر اسیدهای آمینه مسیرهای کلیدی متابولیک را تنظیم می‌کنند، که برای نگهداری و بقا، رشد، تولید مثل و واکنش‌های ایمنی حیاتی و ضروری‌اند. در سال‌های اخیر از مواد جاذب مختلف معدنی و انواع اسیدهای آمینه برای خوش خوراک کردن غذا در کشور های اروپائی استفاده شده است (Sudagar *et al.*, 2005). آرژنین یکی از اسید آمینه‌های ضروری است که از طریق جیره جهت بالانس نیتروژن مورد استفاده آبزین قرار می‌گیرد (Wu and Morris, 1998). آرژنین با تولید اکسید نیتریک عملکردهای متعددی از جمله تحریک رشد به‌واسطه سنتز پروتئین‌ها، مقابله با عوامل بیماری‌زا، دخالت در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، تکثیر و تمایز لنفوسیت‌ها و هدایت سیگنالی سلول‌ها را عهده دارد (Li *et al.*, 2008). در ارتباط با استفاده از آرژنین در جیره آبزین

پرورش ماهیان خاویاری به‌دلیل تولید گوشت و خاویار از اهمیت ویژه‌ای در میان پرورش دهندگان برخوردار است. امروزه صنعت پرورش ماهیان خاویاری با مسائل متعددی از قبیل افزایش قیمت خوراک و نهاده‌ها، افزایش قیمت بچه ماهی، بیماری‌های متعدد و مسائل مربوط به بهداشت مزارع و همچنین ایجاد مقاومت در برابر بیماری‌ها به‌دلیل استفاده دراز مدت از آنتی‌بیوتیک‌ها مواجهه است. همچنین یکی دیگر از عوامل مهم کمبود منابع آبی می‌باشد که این امر باعث شده از روش پرورش متراکم جهت پرورش ماهیان خاویاری استفاده شود. تراکم از عواملی است که بر میزان بازدهی و سوددهی کارگاه پرورش تاثیر به‌سزایی دارد و می‌توان گفت که هرچه تراکم بالاتر رود میزان تولید و رسیدن به سوددهی بیشتر نیز مورد انتظار است (Sudagar *et al.*, 2005). اما در پرورش متراکم ماهیان همواره باید این نکته را در نظر داشت که پرورش متراکم زمانی سودده می‌باشد که ماهی از سرعت رشد مناسبی برخوردار باشد و میزان تراکم اثرات سوئی بر وضعیت سلامت ماهیان وارد نکند (Ghabbour and Davies, 2009). امروزه در صنعت آبزی‌پروری به‌منظور افزایش رشد و تقویت سیستم ایمنی از مکمل‌ها و افزودنی‌های خوراک استفاده می‌شود. اسیدهای آمینه از جمله مکمل‌هایی هستند که در صنعت آبزین به‌منظور تحریک سیستم ایمنی و افزایش رشد مورد توجه پرورش دهندگان قرار گرفته‌اند. مطالعات اخیر در ماهیان نشان می‌دهد که بعضی از اسیدهای آمینه متابولیت‌های آن‌ها تنظیم‌کننده‌های مهم مسیرهای متابولیکی هستند که برای نگهداری و بقا، رشد، دریافت غذا، به‌کارگیری مواد مغذی، ایمنی، رفتار،

هفته در سالن پرورش همان مرکز با شرایط سازگار شدند. سپس با میانگین وزنی 15 ± 0.3 گرم در تانک‌های ۴۰۰ لیتری و در هر تانک ۱۰ قطعه ماهی توزیع شدند. تیمارهای این آزمایش شامل، ۰ (شاهد)، ۱ درصد اسیدفولیک (تیمار ۱)، ۲ درصد اسیدفولیک (تیمار ۲)، ۳ درصد آرژنین (تیمار ۳)، ۴ درصد آرژنین (تیمار ۴)، ۱ درصد اسیدفولیک + ۳ درصد آرژنین (تیمار ۵)، ۱ درصد اسیدفولیک + ۴ درصد آرژنین (تیمار ۶)، ۲ درصد اسیدفولیک + ۳ درصد آرژنین (تیمار ۷) و ۲ درصد اسیدفولیک + ۴ درصد آرژنین (تیمار ۸)، و هر تیمار دارای ۳ تکرار بود. ماهیان به مدت ۸ هفته با جیره حاوی اسیدفولیک، آرژنین و ترکیبی از این دو مکمل تغذیه شدند.

سنجش شاخص‌های رشد

در پایان دوره تغذیه ماهیان به منظور ارزیابی فاکتورهای رشد زیست‌سنجی شدند و عملکرد رشد شامل میزان وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و بقا با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

افزایش وزن بدن = میانگین وزن ثانویه (گرم) - میانگین وزن اولیه (گرم)
 ضریب رشد ویژه = $(\ln W_2 - \ln W_1) / (t \times \text{دوره پرورش (روز)}) \times 100$
 ضریب تبدیل غذایی = افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم)

نمونه‌برداری ژنتیکی

پس از اتمام دوره آزمایش، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت قطع غذا شدند و در شرایط کاملاً استریل از بافت مغز (GH) و کبد (IGF-I) ۳ قطعه ماهی از هر تیمار جهت سنجش میزان بیان ژن‌های رشد و فاکتور شبه انسولینی نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله در

مطالعات متعددی صورت گرفته است. Rostamkhani و Malekzadeh-Viayeh (۲۰۱۴) افزایش عملکرد رشد و سطح بیان ژن IGF-I را در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با مکمل ال-آرژنین و اورنیتین گزارش کردند. اسیدفولیک یک اسید آلی پلیمری است که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهابی و تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی می‌باشد (Ozkan et al., 2015). در ارتباط با استفاده از اسیدفولیک در جیره ماهی مطالعات محدودی انجام شده است. Delsoz و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که استفاده انفرادی و توأم اسید فولیک با *Pediococcus acidilactici* موجب بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی تاس‌ماهی شیب می‌شود. Gao و همکاران (۲۰۱۸) ضمن بررسی اثر اسیدفولیک بر میگوی پاسبید غربی *Litopenaeus vannamei* گزارش کردند که استفاده از این ترکیب باعث بهبود عملکرد رشد و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در میگوی وانامی شد. با توجه به این که اطلاعات در ارتباط با اثرات استفاده از اسید آمینه آرژنین و اسیدفولیک در جیره غذایی تاس‌ماهی ایرانی وجود نداشت، این مطالعه با هدف بررسی اثرات اسیدفولیک و اسید آمینه آرژنین به تنهایی و ترکیب با یکدیگر بر عملکرد شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF-I و GH) در تاس‌ماهی ایرانی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تیمار بندی

تعداد ۲۷۰ قطعه بچه تاس‌ماهی ایرانی با میانگین وزنی ۱۰ گرم از مرکز بازسازی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آبزبان شهید رجایی ساری تهیه و به مدت ۲

از کیت سنتز cDNA (Add bio ساخت شرکت کرده) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. در نهایت جهت مطالعه بیان ژن از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های هدف و رفرنس که بر اساس توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI طراحی شدند (جدول ۱) استفاده گردید و توسط دستگاه ریل تایم مورد سنجش قرار گرفت و خروجی دستگاه با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ در فضای اکسل انجام شد (Safari et al., 2016).

ازت مایع قرار گرفتند و تا زمان استخراج RNA در فریزر ۸۰- نگهداری شدند (Hosseini et al., 2016).

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA با استفاده از RNX-Plus که یک ماده هضم کننده است و طبق دستورالعملی که شرکت سازنده ارائه داده بود انجام شد سپس کمیت و کیفیت RNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از اسپکتوفتومتر و ژل آگارز ۱ درصد انجام شد پس از حصول اطمینان از کیفیت RNA استخراج شده سنتز cDNA با استفاده

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده (GH، IGF-I و RPL به عنوان ژن رفرنس)

Table 1: Sequence of primers used (GH, IGF-I and RPL as reference genes)

Primer name	Sequence	Piece length (open pair)
GH-F	TGTGGCTCTCATGAGGGAT	200
GH- R	CTGCATTTTCATCACTTTTCAGG	
IGF- F	GACACGCTTTTGTGTGTGGAG	190
IGF- R	ACTCGTTCACGATGCCCCCTGTGGTG	
RPL- F	GTGGTCAAACCTCCGCAAGA	167
RPL- R	GCCAGTAAGGAGGATGAGGA	

نتایج

نتایج به دست آمده از ارزیابی عملکرد رشد تاس ماهی ایرانی پس از ۵۶ روز تغذیه با جیره‌های حاوی سطوح مختلف اسیدفولیک و آرژنین در جدول ۲ گزارش شده است. طبق ارزیابی‌ها، بیشترین میزان وزن نهایی (FW)، افزایش وزن (WG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در ماهیانی بود که با جیره محتوی ترکیبی از ۲ درصد اسیدفولیک و ۳ درصد آرژنین تغذیه شده بودند که اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). بین ماهیان تغذیه شده با سطوح

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بیان نسبی ژن‌های IGF-I و GH با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ توسط نرم افزار اکسل انجام شد. پس از همگن کردن داده‌ها با استفاده از آزمون آزمون کولموگروف-اسمیرنوف Kolmogrov – Smirnov تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و آزمون چند دامنه ای دانکن (Duncan's Multiple range test) در فضای SPSS ورژن ۲۰۲۲ انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شدند.

معنی دار بود ($p < 0.05$). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی و بیشترین مقدار در سطح معنی داری به ترتیب در تیمار ۷ و گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$).

مختلف اسیدفولیک و آرژنین اختلاف آماری معنی داری در شاخص‌های مذکور مشاهده نشد ($p > 0.05$) هرچند این گروه‌ها اختلافشان با شاهد

جدول ۲: شاخص‌های رشد تاس ماهی ایرانی تغذیه شده جیره‌های حاوی اسیدفولیک و آرژنین
Table 2: Growth indices of Persian sturgeon fed diets containing folic acid and arginine

Growth indicators	Control	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Initial weight (g)	13.63±0.63 _a	13.45±0.45 ^a	13.53±0.98 ^a	13.57±1.3 ^a	13.61±1.02 ^a	13.60±0.30 ^a	13.50±1.10 ^a	13.52±0.80 ^a	13.56±0.96 ^a
Final weight (g)	44.35±5.65 _c	53.38±4.78 ^{ab}	51.07±1.37 ^{bc}	46.29±2.34 ^{bc}	48.17±3.03 ^{bc}	47.73±1.14 ^{bc}	50.93±4.41 ^{bc}	57.98±4.92 ^a	46.96±3.41 ^{bc}
Weight gain (g)	30.70±5.62 _c	39.93±4.75 ^{ab}	37.54±40.1 ^{bc}	32.71±2.32 ^{bc}	34.56±3.04 ^{bc}	34.13±1.14 ^{bc}	37.43±4.41 ^{bc}	44.46±4.90 ^a	33.40±3.41 ^{bc}
Specific growth rate (%)	2.10±0.22 ^c	2.46±0.16 ^{ab}	2.37±0.05 ^{bc}	2.19±0.09 ^{bc}	2.25±0.11 ^{bc}	2.24±0.04 ^{bc}	2.37±0.15 ^{bc}	2.60±0.15 ^a	3.21±0.13 ^{bc}
Food conversion ratio	74.1±0.32 ^a	1.46±0.10 ^{ab}	1.6±0.23 ^{ab}	1.71±0.08 ^a	1.61±0.18 ^{ab}	1.73±0.06 ^a	1.33±0.22 ^{bc}	1.11±0.08 ^c	1.50±0.13 ^{ab}
Survival (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

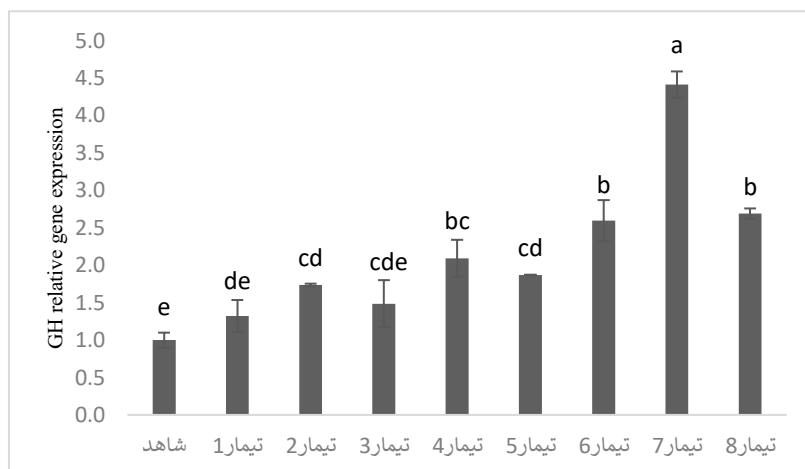
* Non-common letters indicate significant differences at the 0.05% level.

مختلف اسیدفولیک و آرژنین را نشان می‌دهد. میزان بیان این ژن در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ترکیب سطوح مختلف اسیدفولیک و آرژنین اختلاف معنی داری با هم نشان ندادند ($p > 0.05$). اما بیشترین سطح بیان در تیمار ۶ بود (۴/۰۲). بین سطوح مختلف اسیدفولیک و شاهد اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج بیان ژن‌های GH و IGF-I

طبق نتایج بالاترین سطح بیان این ژن (۴/۴۱) در تیمار ۷ (۲ درصد اسید فولیک + ۳ درصد آرژنین) بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها و تیمار شاهد داشت ($p < 0.05$). کمترین مقدار بیان این ژن (۱/۰) در گروه شاهد بود که با تیمارهای اسیدفولیک و ۳ درصد آرژنین اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$) (شکل ۱).

شکل ۲ نتایج به دست آمده از سطح بیان ژن IGF تاسماهی ایرانی تغذیه شده با جیره حاوی سطوح

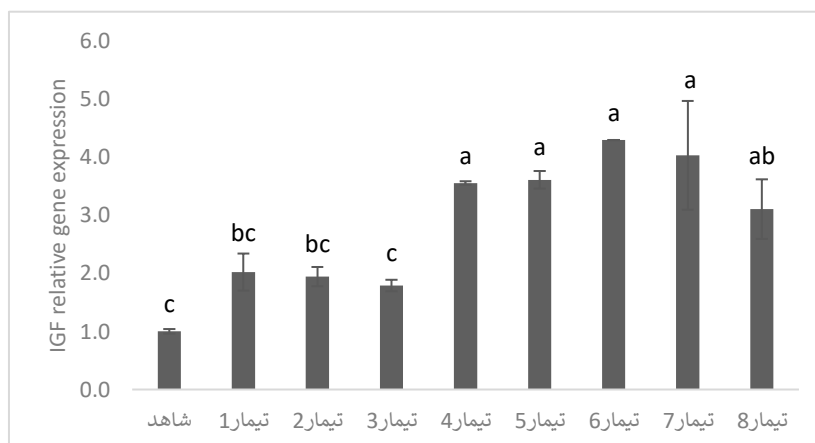


شکل ۱: بیان ژن GH تاس ماهی ایرانی تحت تاثیر تغذیه با جیره‌های مکمل شده با سطوح مختلف اسیدفولیک و آرژنین

حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

Figure 1: GH gene expression in Persian sturgeon under the influence of feeding diets supplemented with different levels of folic acid and arginine

*Non-common letters indicate significant differences at the 0.05% level.



شکل ۲: بیان ژن IGF تاس ماهی ایرانی تحت تاثیر تغذیه با جیره‌های مکمل شده با سطوح مختلف اسیدفولیک و آرژنین

حروف غیرمشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد می‌باشد.

Figure 1: IGF gene expression in Persian sturgeon under the influence of feeding diets supplemented with different levels of folic acid and arginine

*Non-common letters indicate significant differences at the 0.05% level.

بحث

معنی‌داری بر عملکرد رشد داشت. و بالاترین میزان وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در ماهیانی

مطالعه حاضر به خوبی نشان داد که استفاده از اسیدفولیک و آرژنین در جیره تاس ماهی ایرانی تاثیر

همکاران (۲۰۱۷) استفاده از ترکیب اسید آمینه آرژنین و گلوتامین در جیره ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) باعث رشد بیشتر و ارتقای سیستم ایمنی در مقایسه با استفاده مجزا از هریک از این دو اسید آمینه شد. Shalaby و همکاران (۲۰۱۹) نرخ رشد بیشتر و افزایش وزن بیشتر را در ماهیان تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم اسید فولیک گزارش کردند. همچنین بیان کردند که بهبود عملکرد رشد تحت تاثیر اسید فولیک را می‌توان به تعال فلور میکروبی و همچنین بهبود وضعیت ایمنی و آنتی‌اکسیدانی نسبت داد. Jamalzad و Falah و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که استفاده از جیره حاوی اسید فولیک در جیره غذایی تاس‌ماهی با میانگین وزنی ۴/۳۶ گرم به مدت ۵۶ روز باعث افزایش معنی‌دار ضریب رشد نسبی و نرخ رشد روزانه شد.

سلول‌های سوماتوتروفیک غده هیپوفیز پیشین مسئول آزادسازی GH هستند. این هورمون ماهیت پپتیدی و الگوی ضربانی دارد و به وسیله هیپوتالاموس تنظیم می‌شود (Velloso, 2008). بین GH و IGF اثرات متقابلی وجود دارد که مقدار رشد را در ماهیان و دیگر مهره‌داران کنترل می‌کند (Picha et al., 2008). IGF یک هورمون تک‌رشته‌ای با ماهیت پلی‌پپتیدی است که فعالیت‌های هورمون رشد (GH) را واسطه‌گری می‌کند (Siharath., 1993) هر دوی این هورمون‌ها به رشد و توسعه ماهیچه‌ها و اسکلت ماهیان و همچنین حفظ هومئوستازی بدن کمک می‌کنند (Velloso, 2008). هنگامی که هورمون GH از غده هیپوفیز آزاد شد، به وسیله جریان خون به گیرنده‌هایش که در سطح بافت کبد (بافت هدف) قرار دارند، متصل می‌شود و منجر به فعال شدن یک‌سری گیرنده ثانویه می‌شود. این فرآیند

بود که در جیره آن‌ها از ۲ درصد اسید فولیک و ۳ درصد آرژنین استفاده شده بود. علاوه بر این استفاده از این ترکیبات در جیره، ضریب تبدیل غذایی را نیز در سطح معنی‌داری (۱/۱۱) نسبت به گروه شاهد کاهش داد. اسید فولیک یکی از ریز مغذی‌های مهم در بدن برای رشد طبیعی است و نقش بسیار حیاتی در سنتز اسید آمینه‌ها و DNA دارد (Steele et al., 2020). سلول‌های جانوری فاقد آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز فولات هستند (Cossins, 2000) و از این رو به یک منبع حاوی اسید فولیک در رژیم غذایی جهت تکثیر، تکامل و حفظ هومئوستازی بدن نیاز دارند (Sesay et al., 2016). آرژنین دارای نیتروژن بسیار زیادی است و به‌عنوان یک پیش‌ماده جهت سنتز کراتین، اورنیتین، پرولین، گلوتامات و نیتریک اسید عمل می‌کند (Buentello et al., 1999). در تحقیق حاضر نیز مقدار آرژنین در نظر گرفته شده در جیره تاس‌ماهی ایرانی ۳ و ۴ درصد بود که در هر دو سطح توانست افزایش رشد را نسبت به گروه شاهد در این گونه اعمال کند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق همراستا با نتایج تحقیق Zhou و همکاران (۲۰۱۵) می‌باشد که گزارش کردند استفاده از سطوح مختلف لیسین و آرژنین در جیره گربه‌ماهی زرد (*Peltherobagrus fulvidraco*) بر عملکرد رشد و ترکیب شیمیایی بافت‌های بدن تاثیر مثبت داشت. آنها بیان کردند که سطوح ناکافی آرژنین و لیسین منجر به کاهش رشد در این گونه می‌شود که در چنین حالتی کاتابولیسم اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد. آرژنین یکی از حیاتی‌ترین اسید آمینه‌ها در فرآیندهای سوخت‌وساز بدن و رشد است و حتی گزارش شده است که تاثیر آن بر رشد بیشتر از گلوکز می‌باشد (Tibaldi et al., 2015). طبق نتایج Pereira و

براین Han و همکاران (۲۰۱۸) افزایش سطح ژن‌های IGF-I و انسولین را تحت تاثیر جیره حاوی آرژنین در ماهی هامور (*Epinephelus coioides*) گزارش کردند.

نتجه‌گیری

مطالعه انجام شده اثرات مثبت به‌کارگیری اسیدفولیک و آرژنین را در جیره بچه تاس‌ماهی ایرانی نشان داد. استفاده از این دو مکمل هم به‌صورت انفرادی و هم به‌صورت ترکیبی توانست باعث بهبود عملکرد رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در نقایسه با گروه شاهد در این گونه شود. طبق نتایج به‌دست آمده استفاده از ۳ درصد آرژنین همراه با ۲ درصد اسیدفولیک توانست رشد را افزایش و ضریب تبدیل غذایی را در تاس‌ماهی ایرانی کاهش دهد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از یابت یاری کلیه همکاران در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

1. Beirami, N., Zakeri, M., Kochenin, P., Yavari, V. and Mohammadi Azarm, H., 2017. Effects of amino acid supplementation of lysine and methionine on body biochemical composition and amino acid profile of Sobaity sea bream (*Sparidentex hasta*) juveniles. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(5), pp.129-141. DOI:10.22092/ISFJ.2017.110320 [In Persian]
2. Buentello, J.A. and Gatlin Iii, D.M., 1999. Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish (*Ictalurus punctatus*): influence of dietary arginine and culture

تحریک، سنتز و آزاد کردن هورمون IGF-I را به‌وجود می‌آورد. IGF-I آزاد شده موجود در پلاسما باعث ایجاد یک فیدبک منفی می‌شود و منجر به سرکوب ترشح GH می‌شود (Fruchtman *et al.*, 2000; Picha *et al.*, 2008). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از ترکیبی از اسیدفولیک و آرژنین باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری در سطح بیان ژن‌های GH و IGF در تاس‌ماهی ایرانی شد که با تیمار شاهد در سطح معنی‌داری این اختلاف نمایان‌گر بود. طبق نتایج به‌دست آمده از مطالعات، آرژنین باعث تحریک غدد درون‌ریز و آزاد شدن هورمون‌های GH، انسولین و IGF می‌شود. ترشح IGF و انسولین می‌توانند باعث فعال شدن مسیر سیگنال‌های TOR شوند و از این طریق باعث ارتقای سنتز پروتئین در ماهیچه‌ها و تنظیم متابولیسم در ماهیان شوند (Fuentes *et al.*, 2013). براساس نتایج حاصل از تحقیقی که بر روی گربه‌ماهی کانالی انجام شد، Pohlenz و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که جیره حاوی مکمل آرژنین باعث افزایش سطح بیان mRNA ژن IGF-I در پلاسما شد همچنین بیان کردند که GH و IGF ارتباط بسیار نزدیکی با عملکرد رشد در ماهیان دارند. در ماهی سی‌باس دهان بزرگ (*Micropterus salmoides*) با افزایش سطح آرژنین در جیره سطح IGF-I کبد و هورمون GH مترشحه از غده هیوفیز افزایش یافت. افزایش بیان mRNA ژن‌های GH و IGF-I نشان دهنده ارتباط قوی بین این ژن‌ها و نرخ رشد ویژه در ماهی سی‌باس دهان بزرگ بود (Chen *et al.*, 2012). Tu و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که استفاده از جیره حاوی آرژنین در ماهی طلایی (*Carassius gibelio*) باعث افزایش سطح بیان ژن‌های GH و IGF-I شد. علاوه

- International*, 26(8), pp.1519-1530. DOI: 10.1007/s10499-018-0302-y
9. Ghabbour, E.A., Davies, G., 2009. Spectrophotometric Analysis of Fulvic Acid Solutions-a Second Look. *Annals of Environmental Science*, 3, pp.131-138.
 10. Han, F., Chi, S., Tan, B., Dong, X., Yang, Q., Liu, H. and He, Y., 2018. Metabolic and immune effects of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* induced by dietary arginine. *Aquaculture Reports*, 10, pp.8-16. DOI: 10.1016/j.aqrep.2018.03.002
 11. Hosseini, M., Miandare, H.K., Hoseinifar, S.H. and Yarahmadi, P., 2016. Dietary *Lactobacillus acidophilus* modulated skin mucus protein profile, immune and appetite genes expression in gold fish (*Carassius auratus gibelio*). *Fish and Shellfish Immunology*, 59, pp.149-154. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.10.026
 12. Jamalzad Falah, F., Rajabi Islami, H. and Shamsaie Mehrjan, M., 2021. Effect of vitamin B9 (folic acid) levels on growth and some serum biochemical indices and liver enzymes of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Aquatic Physiology and Biotechnology*, 9(3), pp.1-22. DOI: 10.22124/japb.2021.17487.1392
 13. Li, P., Mai, K., Trushenski, J. and Wu, G., 2008. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids*, 37(1), pp.43-53. DOI:10.1007/s00726-008-0171-1
 14. Ozkan, A., Sen, H.M., Sehitoglu, I., Alacam, H., Guven, M., Aras, A.B., Akman, T., Silan, C., Cosar, M. and Karaman, H.I.O., 2015. Neuroprotective effect of humic acid on focal cerebral ischemia injury: an experimental study in rats. *Inflammation*, 38(1), pp.32-39. DOI: 10.1007/s10753-014-0005-0
 15. Pereira, R.T., Rosa, P.V. and Gatlin D.M., 2017. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, media. *Aquaculture*, 179(1-4), pp.513-521. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00184-2
 3. Chen, N., Jin, L., Zhou, H. and Qiu, X., 2012. Effects of dietary arginine levels and carbohydrate-to-lipid ratios on mRNA expression of growth-related hormones in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *General and Comparative Endocrinology*. 179(1), pp.121-127. DOI: 10.1016/j.ygcen.2012.08.004
 4. Cossins, E.A., 2000. Canadian Society of Plant Physiologists Gold Medal Review/Synthèse médaille d'or de la Société canadienne physiologie vegetal. The fascinating world of folate and one-carbon metabolism. *Canadian Journal of Botany*, 78(6), pp.691-708. DOI: 10.1139/b00-061
 5. Delsoz, N., Khara, H., Shenavar, A.R., Mohseni, M., 2017. Interaction of dietary *Pediococcus acidilactici* and folic acid on growth performance, haematological parameters and non-specific immune response of finger barbel, *Acipenser nudiventris*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(3), pp.869-883.
 6. Fuentes, E.N., Valdés, J.A., Molina, A. and Björnsson, B.T., 2013. Regulation of skeletal muscle growth in fish by the growth hormone-insulin-like growth factor system. *General and Comparative Endocrinology*, 192, pp.136-148. DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.06.009
 7. Fruchtman, S., Jackson, L. and Borski, R., 2000. Insulin-like growth factor I disparately regulates prolactin and growth hormone synthesis and secretion: studies using the teleost pituitary model. *Endocrinol*, 141(8), pp.2886-2894. DOI: 10.1210/endo.141.8.7616
 8. Gao, Y., Zhu, J., Bao, H., Hector, V., Zhao, B. and Chu, Z., 2018. Effect of lignite fulvic acid on growth, antioxidant ability, and HSP70 of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*

21. Sudagar, M., Azari Tahami, Gh., Panomarev, C.A., Mahmoudzadeh, H., Abedian, A. and Hoseini, S.A., 2005. The effects of different dietary levels of betaine and methionine as attractant on the growth factors and survival rate of juvenile beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 14(2), pp.41-50. [In Persian]
22. Sesay, D.F., Habte-Tsion, H.M., Zhou, Q., Ren, M., Xie, J., Liu, B., Chen, R. and Pan, L., 2016. Effects of dietary folic acid on the growth, digestive enzyme activity, immune response and antioxidant enzyme activity of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerling. *Aquaculture*, 452(2), pp.142-150. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.10.026
23. Siharath, K., 1993. The physiology of insulin-like growth factor (IGF) and its binding proteins in teleost fishes. *Proceedings of the Zoological Society, Calcutta. Haldane. Comm.* pp.113-124.
24. Steele, T., Singer, R.D., and Bjørnson, S., 2020. Effects of food availability on microsporidiosis and alkaloid production in the two-spotted lady beetle, *Adalia bipunctata* L. *Journal of Invertebrate Pathology*, 172(21), 107353. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107353
25. Tibaldi, E., Tulli, F.D. and Lam, I., 2015. Arginine requirement and effect of different dietary arginine and lysine levels for fingerling sea bass. *Aquaculture*, 127(2-3), pp.207-218. DOI: 10.1016/0044-8486(94)90427-8
26. Tu, Y., Xie, Sh., Han, D., Yang, Y., Jin, J. and Zhu, X., 2015. Dietary arginine requirement for gibel carp (*Carassis auratus gibelio* var. CAS III) reduces with fish size from 50 g to 150 g associated with modulation of genes involved in TOR signaling pathway. *Aquaculture*, 449, pp.37-47. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.031
27. Velloso, C., 2008. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. innate immune responses, Plasma amino acid Profiles and Whole- body composition. *Aquaculture*, 473, pp.135-144. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.01.033
16. Picha, M.E., Turano, M.J., Beckman, B.R. and Borski, R.J., 2008. Endocrine biomarkers of growth and applications to aquaculture: a minireview of growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, and IGF-binding proteins as potential growth indicators in fish. *North American Journal of Aquaculture*, 70(2), pp.196-211. DOI: 10.1577/A07-038.1
17. Pohlenz, C., Buentello, A., Miller, T., Small, B.C., MacKenzie, D.S. and Gatlin, D.M., 2013. Effects of dietary arginine on endocrine growth factors of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 166(2), pp.215-221. DOI: 10.1016/j.cbpa.2013.06.016
18. Rostamkhani, N. and Malekzadeh-Viayeh, R.A., 2014. Study on the Effects of Supplementary L-arginine and L-ornithine on the Growth Indices in Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(4), pp.290-300. [In Persian]
19. Safari, R., Hoseinifar, S.H., Nejadmoghadam, S. and Jafar, A., 2016. Transcriptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula (*Ferula assafoetida*). *Fish and Shellfish Immunology*, 55, pp.242-248. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.05.038
20. Shalaby, A.M., Ghareeb, A.A., Abd El-Rahman, M.M.E. and Abd El-Hamid, A.A., 2019. Effect of different levels of folic acid on the growth and some physiological aspects of Nile tilapia "*Oreochromis niloticus*". *Egyptian Journal for Aquaculture*, 9(2), pp.33-45. DOI: 10.21608/eja.2019.19184.1008

- British Journal Pharmacology*. 154(3), pp.557-568. DOI:10.1038/bjp.2008.153
28. Wu, G. and S.M., Morris., 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical Journal*, 336, pp.1-17. DOI: 10.1042/bj3360001
29. Zhou, Q., Jin, M., Elmada, Z. C., Liang, X. and Mai, K., 2015. Growth, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*, fed diets with different arginine levels. *Aquaculture*, 437, pp.84-91. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.11.030