DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

تاثیر سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر برخی فاکتورهای رشد ، ایمنی موکوسی و خاصیت ضد باکتریایی موکوس در بچه ماهی سفید دریای خزر *(Rutilus frisii)*

فاضل ظهیری[۱]، حسن صحرایی[۲*]، مریم شجاعی[۳]، امین اسدی امیرآبادی[۴] و سید علی اکبر هدایتی[۱]

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

[۲] ایران، گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه شیلات

[۳] ایران، کازرون، دانشگاه آزاد واحد کازرون، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۴] ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و بیماری های آبزیان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۷

چکیده

در این مطالعه، تاثیر سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر برخی فاکتورهای رشد ، ایمنی موکوسی و خاصیت ضد باکتریایی موکوس در ماهی سفید دریای خزر(*Rutilus frisii*) بررسی شد. ابتدا ۴۲۰ قطعه بچه ماهی سفید با وزن متوسط۰/۰۲ ±۱/۲۴ گرم تهیه، سپس ماهیان به تعداد ۳۵ قطعه و به صورت تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک توزیع شدند. آنگاه بترتیب با دوزهای صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متیونین جیره به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که سطوح مختلف متیونین تاثیر معناداری برشاخص‌های رشد ماهی سفید نداشته است، به طوریکه بین تیمارهای حاوی سطوح متفاوت متیونین و گروه شاهد تفاوت معناداری از نظر شاخص های مختلف رشد مشاهده نشد. بیشترین فعالیت لیزوزیم در سطح ۵ درصد مشاهده شد، همچنین مقادیر فسفاتاز قلیایی و پروتئین محلول موکوس در سطح ۱۰ درصد مشاهده گردید. نتایج نشان داد بیشترین فعالیت ضد باکتریایی نیز مربوط به سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسید آمینه متیونین می باشد. با توجه به نتایج بدست آمده میتوان گفت که سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسید امینه متیونین در بهبود فعالیت برخی از آنزیم های گوارشی(آلکالین فسفاتاز)، پروتئین های محلول و فعالیت ضد باکتریایی در گونه مورد مطالعه میتواند موثر واقع شود، همچنین برای دست یابی به نتایج کاملتر و دقیق تر نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه میباشد.

واژه های کلیدی: متیونین، ایمنی موکوسی ، رشد، فعالیت ضد باکتریایی، ماهی سفید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۴۲۲۷۴۸۱ ، پست الکترونیکی: Hasansahraei22@gmail.com

مقدمه

ماهی سفید گونه ای منحصر به فرد، بومی، دارای ارزش اکولوژیکی برای اکوسیستم دریای خزر، ارزش ژنی مطلوب جهت حفظ ژنتیک درون جمعیت و ارزش اقتصادی و غذایی برای تعداد بیشماری از ساحل نشینان حاشیه جنوبی دریای خزر است .این گونه به دلیل صید بی رویه، افزایش آلودگیها، تخریب بستر رودخانه ها، عدم امنیت مهاجرت از جمله آبزیانی است که میزان صید(نسل) آن کاهش یافته است. همچنین این ماهی به دلیل طعم خوب و کیفیت مناسب گوشت، مصرف کنندگان زیادی را به خود اختصاص داده است (۵). با توجه به نقش تغذیه در آبزی پروری و توسعه پذیرش جیره غذایی ماهیان از محصولات تجاری که شامل بخش هنگفتی از هزینه های کل پرورش می شود (۴۰ تا ۵۰ درصد) باید اذعان داشت که پرورش موفق ماهیان نیاز به استفاده از خوراک کامل، کارآمد با

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

ترکیب بهینه دارد(۱۲) که بایستی تمام ترکیبات تغذیه ای ضروری، مانند پروتئین ها، کربوهیدرات ها، چربی ها، ویتامین ها و مواد معدنی را برای ماهی فراهم نماید (۱۵) تا اجازه رشد سریع و سالم به آنها داده شود. از اینرو استفاده و افزودن صحیح مکمل‌های غذایی از جمله اسیدامینه ها به عنوان پیش ساز متابولیسم به جیره غذایی سبب تهیه جیره غذایی با ترکیب متعادل اسیدهای آمینه و در نتیجه باعث بهبود عملکرد رشد و سوآوری صنعت آبزی پروری می شود. (۱۹). متیونین اسید آمینه سولفوری است که در تغذیه گونه های پرورش ماهی مورد توجه قرار گرفته است.(۱۶). متیونین به علت اینکه بخش سولفوری آن، تامین کننده متیل برای سنتز کراتین و اسپرمیدین می باشد، در تنظیم سوخت وساز ماهی و در نهایت تاثیر بر رشد، موثر می‌باشد (۱۱،۲۵،۱۸،۲۸). نتایج مطالعه محسنی و همکاران(۱۳۹۳) حاکی از آن بود که جیره پایه محتوی ۳۴۴ گرم بر کیلوگرم کنجاله سویا همراه با اسیدهای آمنه لیزین و متونین می تواند به میزان ۴۰ ٪ بدون تاثیر منفی بر عملکرد رشد، شاخص های خونی و بیوشیمیایی جایگزین آرد ماهی در جیرد غذایی فیلماهی جوان پرورشی گردد. همچنین طی مطالعه یعقوبی و همکاران (۱۳۹۵) نیز کاهش عملکرد در بسیاری از فاکتورهای رشد و تغذیه در تیمارهای داری کمبود اسید آمینه متیونین و لایزین گزارش شده است.

با توجه به اهمیت اقتصادی و ارزش تجارتی ماهی سفید در صنعت آبزی پروری کشور و کمبود اطلاعات در تاثیر مکمل هایی از قبیل متیونین جهت خصوصیات ایمنی و رشد این ماهی در مراکز تکثیر و پرورش ماهی از یکسو و ضرورت تعیین این فاکتور مهم و ضروری جهت پرورش موفقیت آمیز بچه ماهیان سفید دریای خزر و در نهایت رهاسازی آنها به دریا از سوی دیگر باعث شد تا، این تحقیق به منظور تعیین اثرات سطوح مختلف متیونین بر نرخ رشد، خصوصیات ضد باکتریایی، آنزیم فسفاتاز قلیایی، لیزوزیم و پروتئین محلول موکوس ماهیان سفید صورت پذیرد.

مواد و روشها

این آزمایش از مهر ماه تا اسفند ماه سال ۹۸ در مرکز آبزی-پروری شهید ناصر فضلی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع-طبیعی گرگان انجام گرفت. ۴۲۰ قطعه بچه ماهی سفید دریای خزر با وزن متوسط۰/۰۲ ±۱/۲۴ گرم، تهیه و به مرکز آبزی‌پروری منتقل شدند. پس از طی حدود ۲ هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به تعداد ۳۵ قطعه (هر تیمار) و به صورت تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در ۱۲ تانک توزیع شدند. آب تانک‌ها از آب لوله‌کشی شهری همراه با هوادهی تامین شدند. دمای آب ۱±۱۵ درجه سانتی‌گراد بود.

تهیه متیونین و غذادهی: اضافه کردن متیونین با دوزهای صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره به غذای مورد استفاده با عنوان تجاری بیومار (ساخت شرکت فرانسه) از طریق اسپری صورت گرفت. متیونین با ژلاتین ۵ درصد به عنوان همبند، مخلوط شده و به غذا اسپری شد. دوره غذادهی ۶۰ روز بود. روزانه غذا دهی به میزان ۳ درصد وزن بدن در سه وعده انجام شد.

جدول ۱- ترکیبات غذایی جیره پایه بر اساس اطلاعات شرکت فرانسه

ترکیبات	واحد
پروتئین خام (٪)	۵۸
چربی خام (٪)	۱۵
فیبر خام (٪)	۰/۵
رطوبت (٪)	۱۱/۵
خاکستر (٪)	۱/۶
* انرژی قابل‌هضم	۱۹/۴(Mj/ Kg) ۴۶۵۰ (KCal/Kg)
*انرژی خالص	۲۱/۸ (Mj /Kg) ۵۲۲۶(KCal/Kg)
* انرژی متابولیک	۱۷/۳ (Mj/ Kg) ۴۱۴۳ (KCal/Kg)

*مقادیر فوق از طریق شرکت مربوطه دریافت شد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

پارامترهای رشد: در پایان دوره پرورش برای ارزیابی کیفیت رشد و عملکرد جیره از شاخص‌های نرخ رشد ویژه(Specific Growth Rate (SGR، ضریب تبدیل غذایی (Food Conversion Ratio (FCR ، Factor، وزن نهایی(Final Weight (FW ، میانگین افزایش وزن(WG) Weight Growth، درصد افزایش بدن(رشد نسبی) (BWI) Body Weight Increase استفاده شد.

جمع آوری موکوس: بعد از اتمام دوره ۵۶ روزه غذادهی، موکوس سطح بدن ماهی براساس روش پیشنهاد شده توسط Subramanian (۳۳) جمع‌آوری شد. ۲۴ ساعت قبل از جمع‌آوری نمونه موکوس، ماهی‌ها در معرض گرسنگی قرار داده شدند. سپس از هر تانک ۱۵ عدد ماهی به صورت تصادفی نمونه‌برداری و پس از بیهوشی با ۵ میلی-گرم در لیتر پودر گل میخک به صورت انفرادی درون کیسه‌های پلی اتیلنی (زیپ پلاست) حاوی ۱۰ میلی لیتر سدیم کلرید ۵۰ میلی مولار قرار گرفتند. پس از ۲ دقیقه ماهیان از کیسه‌ها خارج و به آب پر از اکسیژن قرار گرفتند. موکوس جمع آوری شده به لوله‌های سانتریفیوژ استریل ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و با دور g ×۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و سوپرنتانت به میکروتیوپ‌های ۱/۵ سی سی منتقل شدند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش درون فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

بررسی فعالیت ضدباکتریایی موکوس: باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید که شامل باکتری‌های گرم مثبت Streptococcus faecalis، Staphylococcus aureus و گرم منفی Escherchia coli، Pseudomonas aeruginosa می باشد.

آماده‌سازی محلول مک فارلند: آماده سازی محلول مک فارلند در این مطالعه برای تعیین غلظت مشخص باکتری از محلول استاندارد ۰/۵ مک فارلند استفاده شد که معادل 10^8 × ۱/۵ باکتری می‌باشد. برای این منظور جذب نوری غلظت به دست آمده در طول مـوج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

بررسی خواص ضدباکتریایی: پس از رشد باکتری‌ها در محیط کشت مایع نوترینت براث و تهیه استوک، به منظور مشاهده فعالیت ضد باکتریایی موکوس، با استفاده از روش انتشار دیسک (۳۰) زیر هود میکروبی از تمام سویه‌های باکتریایی سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه شد وسپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون بر سطح محیط کشت آگار به صورت بکنواخت پخش شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر موکوس از هر تیمار درون چاهک ۹۶ خانه ریخته و دیسک‌های بلانک استریل (باقطر ۷ میلی‌متر) درون چاهک قرار گرفته و پس از ۴۰ دقیقه بوسیله پنس استریل با فاصله‌ی معین بر روی سطح محیط کشت آگار قرار گرفتند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند وسپس نتایج فعالیت ضد باکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد بوسیله کولیس ثبت شدند. برای حصول اطمینان این آزمایش برای هر سویه باکتری ۶ بار تکرار شد.

تعیین کمترین غلظت مهار کننده رشد به روش میکرودیلوشن: تعیین کمترین غلظت مهارکننده رشد با استفاده از رقت‌های متوالی (میکرودیلوشن) ابتدا موکوس اولیه در میکروپلیت ۹۶ خانه به صورت مستقیم با آب مقطر رقیق گردید که غلظت‌های حاصله شامل ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر بود. برای هر تیمار یک کووت در نظر گرفته و درون آن مقدار معینی از محیط کشت مایع نوترینت براث ریخته شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر موکوس رقیق شده و۱۰۰ میکرولیتر از هر سویه باکتری به صورت جداگانه اضافه گردید. غلظت باکتری بر اساس ۰/۵ مک فارلند مشخص شد. کووت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند و پس از ۸ ساعت مجددا میزان جذب نوری هر یک از کووت‌ها با استفاده از دستگاه

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

اسپکتروفتومتر ثبت شد. این آزمایش برای هر تیمار ۳ بار تکرار شد(۳۲).

تعیین کمترین غلظت مهار کننده رشد به روش انتشار دیسک: کمترین غلظت مهار کننده رشد، به معنای غلظتی از موکوس است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند که قابل مشاهده با چشم غیر مسلح است. برای تعیین غلظت ابتدا موکوس اولیه در میکوپلیت ۹۶ خانه به صورت مستقیم با آب مقطر رقیق گردید که غلظت‌های حاصله شامل ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر بود(۳۲). سپس با استفاده از روش انتشار دیسک، برای هر غلظت از موکوس یک دیسک شاهد در نظر گرفته شد و دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف موکوس با پنس استریل و به روی پلیت‌های حاوی محیط کشت نوترینت آگار منتقل شدند. پلیت‌ها در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و پس از این مدت قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی‌متر ثبت شدند.

سنجش پروتئین محلول: برای اندازه‌گیری پروئیین محلول از روشLowry و همکاران(۱۹۵۱)و منحنی‌استاندارد آلبومین سرم گاوی استفاده گردید(۲۶). اندازه گیری بعد از اضافه کردن معرف رنگی فولین فنول سیوکالتیو به۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های رقیق شده موکوس استاندارد و قرائت نوری توسط اسپکتروفتومتر انجام گرفت. با انتقال جذب نوری به منحنی استاندارد، میزان پروتئین محلول بر حسب میلی گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

فعالیت آلکالین فسفاتاز: میزان آلکالین فسفاتاز قلیایی موکوس با استفاده از کیت های تولید شده توسط شرکت پارس آزمون و دستگاه‌اسکتروفتومتر وبا طول موج ۴۵۰ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه محاسبه شد.

فعالیت لیزوزیم: محاسبه لیزوزیم به‌روش کدورت سنجی و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گردید(۳۰). برای این کار از باکتری لیوفلیزه میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (ATCC 4698) حل شده در بافر فسفات پتاسیم به عنوان سوبسترا استفاده شد. جذب این محلول در مقابل شاهد(کووت حاوی بافر فسفات پتاسیم) در طول موج ۴۵۰نانومتر و به مدت ۱۰ دقیقه، اثر کاهشی سلول های میکروکوکوس لیزودیکتیکوس ثبت گردید.

آنالیزهای آماری: نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف– اسمیرنف مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام و داده ها توسط پس‌آزمون دانکن در سطح ۵ درصد با یکدیگرمقایسه شدند. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزارآماریSPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت.

نتایج

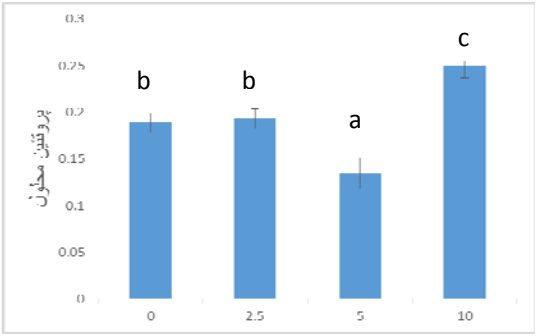
حداقل غلظت بازدارندگی موکوس به روش میکرودیلوشن: نتایج کمترین غلظت بازدارنده رشد باکتری‌های مورد بررسی، برای موکوس تیمارهای مختلف متیونین در جدول ۲ آورده شده است. همان گونه که نشان داده شده است غلظت ۱۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر علیه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureas*) و استرپتوکوکوس فکالیس (*Streptococcus fecalis*) و غلظت ۲۵ و ۵۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر علیه باکتری‌های گرم منفی اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) و پسودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) برای موکوس ماهیان تیمار شاهد دارای حداقل خاصیت مهارکنندگی رشد دارد و در موکوس ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین حداقل غلظت مهارکنندگی کاهش یافت و در این تیمارها، رقت‌های کمتر موکوس همچنان خاصیت ضد باکتریایی نشان داد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

جدول ۲- حداقل غلظت بازدارنده (MIC) موکوس ماهی سفید دریای خزر تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) در برابر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، استرپتوکوکوس فکالیس و سودوموناس ائروژینوزا (بر حسب میکرولیتر در میلی لیتر)

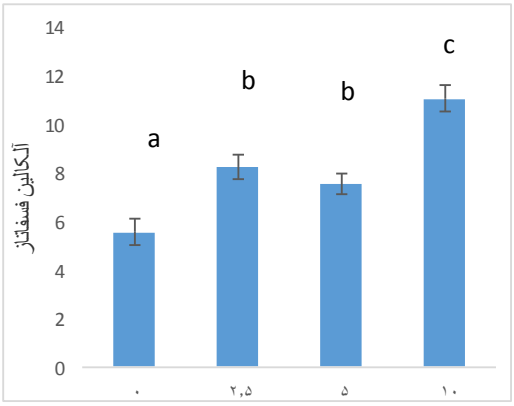
MIC ($\mu l\ ml^{-1}$)	سطوح متیونین($mg\ kg^{-1}$)			
	۰	۲/۵	۵	۱۰
Staphylococcus aureas	۱۰۰	۲۵	۵۰	۵۰
Escherichia coli	۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵
Streptococcus fecalis	۱۰۰	۲۵	۲۵	۵۰
Pseudomonas aeruginosa	۵۰	۵۰	۲۵	۵۰

مقدار پروتئین نمونه‌های موکوس: اندازه گیری مقدار پروتئین محلول نمونه‌های موکوس در تیمارهای مختلف تغذیه شده با سطوح متفاوت متیونین نشان داد که در تیمار ۱ و ۳ با افزایش متیونین جیره، مقدار پروتئین محلول موکوس نیز افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که مقدار پروتئین محلول موکوس تیمار ۳ در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمار های تغذیه شده با متیونین اختلاف معناداری دارد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میزان پروتئین محلول در موکوس ماهی سفید دریای خزر تغذیه شده با سطوح متفاوت متیونین (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد) حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد.

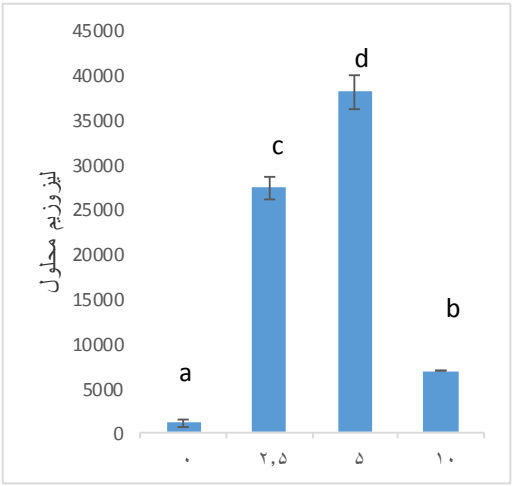
فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی: نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی سطوح متفاوت متیونین و تیمار شاهد تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۲). با افزایش متیونین جیره ، فعالیت آلکالین فسفاتاز قلیایی نیز افزایش یافت، در بین تیمار ۳ با سایر تیمارها تفاوت معناداری مشاهده شد.



شکل ۲ – مقایسه میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز قلیایی در موکوس ماهی سفید دریای خزر تغذیه شده با سطوح متفاوت متیونین (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد.

فعالیت آنزیم لیزوزیم: نتایج حاصل از آزمون دانکن نشان داد که بین فعالیت آنزیم لیزوزیم موکوس تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی سطوح متفاوت متیونین و تیمار شاهد تفاوت معنی داری وجود دارد (شکل ۳). با افزایش متیونین جیره تا سطح ۵ درصد، فعالیت لیزوزیم نیز افزایش یافت، بین تیمارهای حاوی سطوح متفاوت متیونین تفاوت معناداری مشاهده شد. بیشترین فعالیت لیزوزیم در سطح ۵ درصد مشاهده شد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8



شکل ۳ – مقایسه میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم (واحد بین المللی در میلی‌گرم پروتئین) در موکوس ماهی سفید دریای خزر تغذیه شده با سطوح متفاوت متیونین (۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد)، حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد.

صفات رشد و نرخ بقا: نتایج سنجش شاخص‌های رشد در جدول ۳ آمده است. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که متیونین نتوانسته است در ارتباط با شاخص های رشد در ماهی سفید دریای خزر در تیمارهای تغذیه شده با متیونین در مقایسه با تیمار شاهد نشان دهد. نرخ بقا در تیمارهای ۲و۳ (۵ و ۱۰ درصد) ۱۰۰ درصد بود.

جدول ۳- مقایسه برخی از شاخص های رشد بچه سفید دریای خزر ماهی های تغذیه شده با سطوح مختلف متیونین

سطوح متیونین($mg\ kg^{-1}$)	شاهد	متیونین۲/۵٪	متیونین۵٪	متیونین۱۰٪
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۱/۲۶۸ ±۰ /۰۲۶۱^{a}	۱/۲۱۸ ± ۰/۰۷۴^{a}	۱/۳۰۳ ± ۰/۰۷۱۶^{a}	۱/۱۹۴ ± ۰/۰۷۵۴^{a}
میانگین طول ابتدای دوره (سانتی متر)	۵/۳۴ ± ۰/۰۵۲^{a}	۵/۲۶ ± ۰/۱۶۳^{a}	۵/۳۰± ۰/۰۸۳^{a}	۵/۱۷ ± ۰/۰۶۱^{a}
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	۳/۰۶۴ ± ۰/۲۱۴^{a}	۳/۱۵۸ ± ۰/۱۴۹^{a}	۳/۰۵۳ ± ۰/۱۷۷^{a}	۳/۱۷۱ ±۰/۱۲۰^{a}
میانگین طول انتهای دوره (سانتی متر)	۶/۷۸۶ ± ۰/۱۶۶^{a}	۶/۹۲۶ ± ۰/۱۲۰^{a}	۶/۹۳۳ ± ۰/۰۳۰^{a}	۶/۸۶۶ ± ۰ /۰۸۳^{a}
افزایش وزن بدن	۱/۷۹۶ ±۰/۱۹۳^{a}	۱/۹۴ ± ۰/۲۲۲^{a}	۱/۷۴۹ ± ۰/۲۴۷^{a}	۱/۹۷۶ ± ۰ /۰۵۱^{a}
درصد افزایش وزن	۱۴۱/۵۴± ۱۳/۲۳^{a}	۱۶۰/۳۵ ± ۲۸/۹۸^{a}	۱۳۵/۲۱ ± ۲۵/۷۱^{a}	۱۶۵/۹۱ ± ۱۰/۰۷^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۴۶ ± ۰/۰۹^{a}	۱/۵۸ ± ۰/۱۸^{a}	۱/۴۱ ±۰ /۱۸^{a}	۱/۶۲ ± ۰/۰۶^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۹ ± ۰/۲۵^{a}	۲/۱۳ ± ۰/۲۶^{a}	۱/۸۰ ± ۰/۰۸^{a}	۲/۲۵ ± ۰/۵۰^{a}
بازماندگی٪	۹۷/۱۴	۹۹/۰۴	۱۰۰	۱۰۰

بحث

اسیدهای آمینه یکی از منابع مهم تأمین انرژی و رشد در ماهیان بوده و عدم تعادل اسید آمینه‌ها در جیره غذایی می تواند هضم، جذب و متابولیسم مواد مغذی را تحت تأثیر قرار داده و در نهایت هضم پروتئین ها و اسیدهای آمینه کریستاله به خوبی صورت نگیرد از این رو، متعادل بودن ترکیب اسید آمینه‌ای موجود در جیره غذایی، برای رسیدن به بهترین رشد، جبران اثرات زیست محیطی پرورش آبزیان (۲۵)، بهبود عملکرد رشد و سوددهی در صنعت آبزی پروری حائز اهمیت است (۱۰). بنابراین افزودن اسیدهای آمینه آزاد به جیره غذایی روشی جهت جبران فقدان یک یا چند اسید آمینه ضروری جیره غذایی است(۳۱). همچنین جهت دستیابی به رشد مطلوب، متعادل نگه داشتن اسیدهای امینه امری ضروری است(۳۸). در مورد استفاده از اسید آمینه متیونین در جیره آبزیان نتایج متفاوتی بدست آمده که از جمله این مطالعات میتوان به پژوهش پورعلی فشتمی و همکاران(۱۳۹۲) اشاره کرد که نتایج آنها نشان داد اختلاف معناداری در عملکرد رشد در میان تیمارهای مخلف وجود دارد، بطوریکه حداکثر وزن، درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه در سطح ۳ درصد متیونین مشاهده گردید(۳)، طی پژوهشی دیگر Lou و همکاران(۲۰۰۵) نشان دادند با افزایش مقدار متیونین در

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

جیره غذایی از سطح ۱/۳۴ به ۱/۸۱ درصد شاخص های رشد ویژه و وزن ثابت باقی ماندند(۲۷). نتایج مطالعات Yang و همکاران (۲۰۱۰) نیز حاکی از افزایش وزن نهایی در ماهیان تغذیه شده با جیره های غذایی مکمل شده با اسید های آمینه متیونین و لایزین بود(۳۶). سوداگر و همکاران (۱۳۸۴) بتائین و متیونین به عنوان جاذب های غذایی می توانند سبب افزایش خوش خوراکی غذا شده و باعث بهبود عوامل رشد در فیل ماهی شوند(۶). نتایج افزایش متیونین در جیره های غذایی برخی مطالعات نیز نشان دهنده ی کاهش رشد در ماهیان بود (۲۱،۲۳،۳۵).

براساس نتایج این مطالعه، سطوح مختلف متیونین تاثیر معناداری بر فاکتورهای رشد ماهی سفید نداشته است که همسو با مطالعات Kasumyan (۱۹۹۹)بود که طی این مطالعه افزایش مکمل متیونین با سطوح مختلف ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ درصد در جیره ماهی قزل آلا سبب کاهش غذاگیری و کاهش نرخ رشد ویژه و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد و اختلاف معنی داری در تیمارها مشاهده نشد(۲۲)، که از این نظر موافق با تحقیق حاضر بود. همچنین پیک موسوی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش نمودند که سطوح مختلف اسید آمینه متیونین در جیره غذایی (۰/۵، ۱، ۱/۵و ۲ درصد) تاثیر معنی داری بر شاخص های رشد و تغذیه فیل ماهیان جوان نداشته است (۴). از اینرو عدم معنی داری اسید آمینه متیونین بر فاکتورهای رشد می تواند به دلیل جذب غیر همزمان اسیدهای آمینه کریستاله و اسیدهای آمینه موجود در منبع پروتئینی جیره غذایی باشد که بدنبال آن اسیدهای آمینه آزاد به عنوان اسیدهای آمینه نامتعادل به بافت ها فرستاده شده و درنتیجه فرایندهای کاتابولیسم این اسیدهای آمینه بیشتر از فعالیت سنتزی و تولید پروتئین خواهد بود.(۲،۳۷). در این مطالعه بیشترین قدرت ضد باکتریایی موکوس ماهیان سفید بر باکتری های *Staphylococcus aureas* و *Streptococcus fecalis* در تیمار فاقد متیونین مشاهده شد. همچنین افزایش معنادار پروتئین محلول در سطوح مختلف متیونین این مطالعه، نشان دهنده موثر بودن اجزا دخیل در سیستم ایمنی با ساختار پروتئین یکسان میباشد که با مکمل های متیونین تغذیه شده اند.

ارزیابی سطوح فعالیت آنزیم های گوارشی نیز خود می-تواند به عنوان شاخصی مناسب جهت مقایسه ضریب رشد ماهی، پذیرش غذا و همچنین ظرفیت گوارشی، مورد استفاده واقع شود، در همین راستا در این مطالعه نتایج حاصل از اندازه گیری آنزیم آلکالین فسفاتاز نشان داد که با افزایش مقادیر متیونین تا سطوح ۱۰ درصد، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به طور معنا داری افزایش یافت. آلکالین فسفاتاز یکی از مهم ترین آنزیم های غشاء روده بوده و به عنوان شاخص در جذب مواد مغذی تلقی می شود (۱). آنزیم فسفاتاز قلیایی در فرآیند جذب مواد مغذی مثل لیپید، گلوکز، کربوهیدرات، کلسیم، فسفات معدنی از عرض سلول های دیواره روده و نیز در فرآیند معدنی سازی اسکلت جانوران آبزی، انتقال فسفات و هیدرولیز پروتئین های فسفوریته شده نقش دارد(۲۹) آنزیم آلکالین فسفاتاز توسط سلول های انتروسیت بالغ غشای لبه مسواکی تولید می شود و بنابراین شاخص عملکرد سلولهای انتروسیت روده است که دارای آنزیم های مختلف دی ساکاریداز است. سطح بالای چربی در جیره غذایی می تواند فعالیت آلکالین فسفاتاز و لیپاز را در منطقه نوار مسواکی غشاء روده افزایش دهد(۲۴) مطالعات انجام شده توسط برخی محققین حاکی از آن است که تغییرات سطوح آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی نظیر وضعیت شیمیایی آب، میزان مصرف و جذب غذا، دما، سن ماهی و ترکیبات موجود در جیره غذایی بخصوص مواد معدنی و بالاخص فسفر است(۷، ۲۹). بیرمی و همکاران، ۱۳۹۵ بیان داشتند که استفاده از مکمل متیونین در جیره باعث رشد بهتر تیمار های تغذیه شده است که خود میتواند به خوبی بیانگر این موضوع باشد که بین میزان رشد و میزان فعالیت این آنزیم در گونه مورد مطالعه رابطه مثبت خطی وجود دارد(۲). همچنین وجود

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

سطح بالای آنزیم آلکالین فسفاتاز در روده میتواند بیانگر ظرفیت بالای جذب مواد مغذی، رشد و بلوغ روده و در نهایت رشد ماهی است(۲۹). با توجه به نتایج این تحقیق می توان اینگونه استنباط نمود، که تغییر نسبت اسیدهای آمینه ی متیونین خصوصا تا سطح ۱۰ درصد در جیره غذایی بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز تأثیر داشته است از اینرو حد مطلوب اسید آمینه متیونین می تواند رشد و فعالیت آنزیمهای روده ای را بهبود بخشد و همچنین می تواند از طریق گسترش باکتری های مفید و کاهش باکتری های مضر بر تعادل فلور رودهای مؤثر باشد (۳۴).

از سویی دیگر نتایج مطالعه حاضر حاکی از افزایش معنی دار فعالیت آنزیم لیزوزیم (تا سطح ۵ درصد) در موکوس ماهیان سفید تغذیه شده با مکمل های متیونین بود، که نتایج این مطالعه می‌تواند همسو با نتایج مطالعه اثر متیونین بر فاکتورهای ایمنی و موکوسی ماهی سی باس اروپایی اشاره کرد. در آن مطالعه هر چند جیره های دارای متیونین ارتباط معناداری را با گروه شاهد نداشته اند اما در بعضی از موارد متیونین موجب بالا رفتن فاکتورهای ایمنی گردیده است (۱۴). در همین راستا نیز میتوان به پژوهش وزیرزاده و معصومی فشانی (۱۳۹۸) اشاره کرد که اثر منفرد و ترکیبی برخی پروبیوتیکها بر ایمنی موکوسی کپور معمولی مورد مطالعه قرار دادند نتایج آنها نشان داد که استفاده از مکملهای مذکور باعث افزایش پارامترهای ایمونوگلوبولین کل، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین در موکوس ماهی کپور معمولی میشود(۹). همچنین فلاحتکار و همکاران (۱۳۹۹) طی مطالعه دیگری بیان داشتند که تمام فاکتورهای بیوشیمیایی موکوس پوست، قابل اندازهگیری است و از موکوس میتوان به عنوان ابزاری کم تهاجمی و جایگزین خون جهت پایش پاسخهای درونریز ماهی، شاخصهای تولیدمثلی و مراحل رسیدگی جنسی بخصوص در مراحل زردهسازی استفاده کرد(۸). Hu و همکاران (۲۰۱۵) نیز به بررسی اثرات گلوتامین بر عملکرد رشد و فاکتورهای ایمنی در ماهی کپور معمولی پرداختند و طبق نتایجی که به دست آوردند استفاده از گلوتامین در جیره کپور معمولی باعث بهبود عملکرد رشد و افزایش سیستم ایمنی در ماهیان شده است همچنین آنها بر این نکته اظهار داشتند که لیزوزیم یکی از اجزای اصلی سیستم دفاعی ایمنی بی مهرگان و مهره داران محسوب می شود(۲۱). اگرچه نقش فیزیولوژیکی آن دقیقا مشخص نیست اما در دفاع علیه میکروارگانیسم های مهاجم شرکت می کند و میزان این آنزیم در سرم خون و موکوس پوست ماهیان به طور چشمگیری بالا می باشد، در تحقیق حاضر نیز افزایش میزان لیزوزیم در تیمارهای ۵ درصد آنزیم نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار آماری بوده و از این جهت با نتایج Hu و همکاران مطابقت دارد. طی مطالعه دیگر نیز McIntosh و Austin (۲۰۰۹) با افزودن پروبیوتیک به جیره ماهی قزل الا به مدت ۲ هفته باعث افزایش سیستم ایمنی از جمله لیزوزیم در این ماهیان شدند(۱۳). بنا بر مطالعات متعدد (۳۸،۱۷) در رابطه با تاثیر مکمل هایی از قبیل متیونین عواملی مانند اندازه و سن ماهی ، شرایط آزمایشگاهی (دما و تراکم) ، ریتم غذادهی، جیره غذایی و کیفیت اجزای آن نیز اثرگذار است.

در پایان با توجه به نتایج بدست آمده میتوان این چنین نتیجه گیری کرد که که سطوح ۵ و ۱۰ درصد اسید امینه متیونین در بهبود فعالیت برخی از آنزیم های گوارشی(آلکالین فسفاتاز)، پروتئین های محلول و فعالیت ضد باکتریایی در گونه مورد مطالعه میتواند موثر واقع شود، همچنین برای دست یابی به نتایج کاملتر و دقیق تر نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه میباشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئول محترم سالن آبزی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و کلیه کسانی که به نحوی در انجام این پژوهش همکاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می نماییم.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

منابع

۱- احمدی فرد، ن.، عابدیان کناری، ع.، معتمد زادگان، ع.، ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنزیم های پروتئینی معده، پانکراس و روده ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با تیمارهای جایگزین شده پودر ماهی با کنسانتره پروتئینی سبوس برنج. مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۵، شماره ۴، صفحات ۳۶۵-۳۷۶.

۲- بیرمی، ن.، ذاکری، م.، کوچنین، پ.، یاوری، و.، محمدی آذرم، ح.، ۱۳۹۵. اثرات سطوح مختلف اسیدهای آمینه متیونین و لیزین بر شاخص های رشد و تغذیه ماهیان جوان صبیتی، مجله علوم و فنون دریایی، دوره ۱۵،شمار۳، صفحات ۸۹-۱۰۴.

۳- پورعلی فشتمی، ح.، یزدانی ساداتی، م.، پیکران مانا، ن.، حافظیه، م.، دروی قاضیانی، س. ۱۳۹۲. بررسی اثرات اسیدهای آمینه متیونین و لایزین بر شاخص های رشد، تغذیه و بازماندگی بچه تاسماهیان ایرانی.(*Acipenser persicus*) مجله اقیانوس شناسی، سال چهارم، شماره ۱۶، صفحات ۷۵-۶۳.

۴- پیک موسوی، م.، بهمنی، م.، سواری، محسنی، م.، حقی، ن.، ۱۳۸۹. بررسی سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه فیل ماهیان جوان (Huso huso). نشریه دامپزشکی (پژوهش و سازندگی)، شماره ۸۹ زمستان ۱۳۸۹ صفحات ۱۲-۱۹.

۵- رضوی صیاد، ب.، ۱۳۷۴. ماهی سفید، موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران، ۱۶۵ صفحه.

۶- سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق.، پانوماریوف، س.، محمودزاده، ه.، عابدیان، ع . و حسینی، س ، ع.،۱۳۸۴. بررسی اثرات سطوح مختلف بتائین و متیونین به عنوان جاذب های غذایی بر شاخصهای رشد و بازماندگی فیل ماهیان جوانHuso huso مجله علمی شیلات، شماره۴۱۳، صفحات۵۱-۴۱.

۷- طاهری کندر، ا.، سجادی، م.، سوری نژاد، ا.، دریایی، ع.، میرزاده، ق. و خادمی، ف.، ۱۳۹۲. تأثیر افزودن مکمل ال کارنتین به جیره غذایی بر شاخص های رشد و بازماندگی ماهی صبیتی (*Sparidenter hasta*).مجله بوم شناسی آبزیان، سال سوم، شماره ۳، صفحات ۳۵-۴۵.

۸- فلاحتکار, بهرام, سجادی, میرمسعود, کلنگی میاندره, حامد, کستمونت, پاتریک, روستا, زهرا، ۱۳۹۹. مقایسه برخی پارامترهای بیوشیمیایی در پلاسمای خون و موکوس پوست جنس ماده ماهی قرمز (*Carassius auratus*) در مراحل مختلف رسیدگی جنسی .مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران) (علمی), ۳۳(۲)، صفحات ۱۶۰-۱۷۱.

۹- وزیرزاده, آ, معصومی, ه.، ۱۳۹۸. اثر منفرد و ترکیبی برخی پروبیوتیک ها بر ایمنی موکوسی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران) (علمی) ۳۲ (۳)، صفحات۲۸۶-۲۹۸.

10- Abidi, S., Khan, M., 2011. 'Total sulphur amino acid requirement and cystine replacement value for fingerling rohu, Labeo rohita: effects on growth, nutrient retention and body composition.' *Aquaculture Nutrition*, 17:2, e583-e94.

11- Ahmed, I., 2012**.** Dietary amino acid ltryptophan requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and haemato-biochemical parameters. Fish physiology and biochemistry, 38:1195-1209.

12- Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A. and Paltenea, E., 2012. Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. Food Technology 36: 61-73.

13- Austin, B. and McIntosh, D., 1988. Natural antibacterial compounds on the surface of rainbow trout, *Salmo gairdneri*.Richardson. Journal of Fish Diseases, 11(3):275-277.

14- Azeredo, R., Machado, M., Guardiola, F.A., Cerezuela, R., Afonso, A., Peres, H., Oliva-Teles, A., Esteban, M.A., Costas, B., 2017. Local immune response of two mucosal surfaces of the European seabass, *Dicentrarchus labrax*, fed tryptophan- or methionine-supplemented diets. Fish and Shellfish Immunology, 70, 76-86.

15- Cho, S.H., Lee, S.M. and Lee, J.H., 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquaculture Nutrition, 11: 235-240.

16- Khan, M. A. 2014. Total sulfur amino acid requirement and cystine replacement value for

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

fingerling stinging catfish, Heteropneustes fossilis (Bloch). Aquaculture, 426, 270-281.

17- Forster, I.P., Dominy, W.G., 2006. Efficacy of three methionine sources in diets for Pacific white shrimp, *Litopenaeusvannamei*. Journal of the World Aquaculture Society 37, 474-480.

18- Grillo, M. and Colombatto, S., 2007. Sadenosyl methionine and radicalbased catalysis. Amino acids, 3۲,197 -202.

19- Hansen, A.C., Hemre, G.I., Karlsen, Q., Koppe, W., Rosenlund, G., 2011. Do plant-based diets for Atlantic cod (*Gadusmorhua* L.) need additions of crystalline lysine or methionine? Aquaculture nutrition 17, e362-e371.

20- Hu, K., Zhang, J. X., Feng, L., Jiang, W. D., Wu, P., Liu, Y. and Zhou, X. Q., 2015. Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian). Fish physiology and biochemistry, 41(3):635-649.

21- Jackson, A. J.; Capper, B. S.,1982. Investigation into the catfish. Journal Applied Aquaculture, 1: 1-14.

22- Kasumyan, A. O. 1999. Olfaction and taste in sturgeon behviour. J. App. Ichthyol, 15: 228-232.

23- Kaushik, S.J.; Luquet, P., 1980. Influence of bacterial protein incorporation and sulphur amino acid supplementation to such diets on growth of rain bow trout, *Salmo gairdneri*, Research Aquaculture, 19: 163- 175.

24- Krogdahl, Å., Marie Bakke-McKellep, A., 2005. Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 141: 450-460.

25- Li, P., Mai, K.S., Trushenski, Jesse, Wu, G.Y., 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. Amino Acids, 37: 43–53.

26- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal biology Chemeistry, 193(1), 265-275.

27- Luo, Z.; Liu, Y.; Mai, K.; Tian, L.; Yang, H.; Tan, X.; Liu, D., 2005. Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper Epinephelus coioides at a constant dietary cyctine level. Aquaculture, 249: 409-418.

28- Mai, K., Wan, J., Ai, Q., Xu, W., Liufu, Z., Zhang, L., Zhang, C. and Li, H., 2006(a). Dietary methionine requirement of large yellow croaker, (*Pseudosciaena crocea* R.) Aquaculture, 253: 564-572.

29- Nya, E. J., Austin, B., 2011. Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed additives to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum. Aquaculture Nutrition, 17: e459-e466.

30- Sanchooli, O., Hajimoradloo A. and Ghorbani, R. 2012. Measurement of alkaline phosphatase and lysozyme enzymes in epidermal mucus of different weights of Cyprinus carpio. World J. Fish Marine Sci. 4(5): 521-524.

31- Segovia-Quintero, M.A., Reigh, R.C., 2004. Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia (Oreochromisniloticus). Aquaculture 238, 355-367.

32- Soltani, M., Ghodratnama, M., Taheri Mirghaed, A., Zargar, A. and Rooholahi, Sh. 2013. The effect of Zataria multiflora Boiss and Rosmarinus officinalis essential oil on Streptococcus iniae isolated from Rainbow trout farms. J. VetMicrob. 9(1): 1-11.

33- Subramanian, S., MacKinnon, S. L., and Ross, N. W. 2007. A comparative study on innate immune parameters in the epidermal mucus of various fish species. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 148(3), 256-263.

34- Tang, L., Wang, G. X., Jiang, J., Feng, L., Yang, L., LI, S. H., Kuang, S. Y., Zhou, X. Q., 2009. Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*). Aquaculture Nutrition, 15: 477-83.

35- Thebault, H.; Alliot, E.; Pastoureaud, A., 1985. Quantitative methionine requirement of juvenile sea bass (*Dicentrachus labrax*). Aquaculture, 50: 75-87.

36- Yang, H.; Liu, Y.; Tian, L.; Liang, G.; Lin, H., 2010. Effects of supplemental lysine and methionine on growth performance and body composition for Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). American Journal Agricultural and Biological Science, 5(2): 222-227.

DOR: 20.1001.1.23832614.1401.35.1.4.8

37- Yang, S.-D., Liu, F.-G., Liou, C.-H., 2011.Assessment of dietary lysine requirement for silver perch (*Bidyanusbidyanus*) juveniles. Aquaculture 312, 102-108.

38- Zhou, F., Xiao, J., Hua, Y., Ngandzali, B., Shao, Q., 2011.Dietary l-methionine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*) at a constant dietary cystine level. Aquaculture Nutrition 17, 469-481.

The effect of different levels of the amino acid methionine on some growth factors, mucosal immunity and antibacterial properties of mucus in the juvenile *Rutilus frisi*

Zohieri F.[1], Sahraei H.[2]*, Shojaei M.[3], Asadi amir abadi A.[4] and Hedayati S A. A.[1]

[1] Dept. of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R. of Iran.

[2] Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Agriculture, Gonbad kavous University, Gonbad, I.R. of Iran.

[3]Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azad University Kazerun Branch, Kazerun, I.R. of Iran.

[4]Dept. of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

In this study, the effect of different levels of the amino acid methionine on some growth factors, mucosal immunity and antibacterial properties of mucus in *Rutilus frisii* was investigated. Therefore, first 420 juvenile *Rutilus frisi* with an average weight of 1.24± 0/02 g were prepared, then 35 fish were randomly distributed in 12 tanks with four treatments and three replications. They were then fed at doses of 0, 2/5, 5 and 10 mg / kg methionine for 60 days, respectively. The results of this study showed that different levels of methionine had no effect on whitefish growth indices, so that there was no significant difference between treatments containing different levels of methionine in terms of different growth indices. The highest lysozyme activity was observed at 5% level, and the amounts of alkaline phosphatase and mucus-soluble protein were observed at 10% level. The results showed that the highest antibacterial activity was related to the levels of 5 and 10% of the amino acid methionine. According to the results, it can be said that 5 and 10% levels of the amino acid methionine can be effective in improving the activity of some digestive enzymes (alkaline phosphatase), soluble proteins and antibacterial activity in the study species. Achieving more complete and accurate results requires more research in this area.

Key words: Methionine, Mucosal immunity, Antibacterial activity ،Growth, *Rutilus frisii*