(DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134220 34(3) 47-58 Iranian Scientific Fisheries Journal

Effect of different lysine and histidine levels in the diet of beluga sturgeon (*Huso huso*) on liver antioxidant indices

Mohseni M.[1*]; Mehdizadeh Mood S.[2*]; Mahdavi A.[2]; Hassanpour Laskukalayeh S.[3]

*mahmoudmohseni73@gmail.com; smehdizadeh@semnan.ac.ir

1-International Sturgeon Research Institute, National Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Gilan
2-Food Hygiene and Aquatic Animal Department, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
3-Beluga Sturgeon Farm, Rasht, Gilan, Sangar

Received: February 2025 Accepted: June 2025 Published: September 2025

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Introduction

The beluga sturgeon (*Huso huso*) is one of the most economically important fish species in aquaculture, particularly for caviar production (Mohseni *et al.,* 2016). Oxidative stress is a major challenge in aquaculture, leading to cellular damage, impaired growth, and increased susceptibility to diseases. It occurs when the balance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant defense system is disrupted. Fish, like other vertebrates, rely on endogenous antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione reductase (GR) to neutralize oxidative stress (Naji *et al.,* 2023). Nutritional strategies play a fundamental role in modulating oxidative stress (Feng et al., 2013: Huang *et al.,* 2021; Huang *et al.,* 2022). Among various nutrients, amino acids have gained increasing attention due to their involvement in antioxidant defense mechanisms. Lysine is a key essential amino acid required for protein synthesis, enzyme function, and immune response (Ahmed and Ahmed, 2021; Dou *et al.,* 2023), while histidine serves as a precursor for carnosine, a potent antioxidant that protects tissues against oxidative stress (Ramos-Pinto *et al.,* 2021; Hussein *et al.,* 2023). Studies suggest that histidine supplementation can enhance antioxidant capacity by scavenging free radicals and reducing lipid peroxidation. Despite their importance, the optimal levels of lysine and histidine required to mitigate oxidative stress in beluga sturgeon remain unclear. This study aimed to investigate the effects of different dietary levels of lysine and histidine on antioxidant enzyme activity and oxidative stress markers in the liver of beluga sturgeon. The findings will contribute to developing optimized dietary formulations to improve fish health and performance in aquaculture.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

Methodology

At International Sturgeon Research Institute, a total of 315 juvenile beluga sturgeons (*Huso huso*) with an initial mean weight of 20±2 g housed in recirculating aquaculture systems (RAS) equipped with biological filtration, aeration, and temperature control to ensure optimal conditions. The experimental diets were formulated based on a fishmeal-based basal diet with varying levels of lysine (0.4% and 0.8%) and histidine (0.2%, 0.5%, and 0.8%) including control and six Treatments (Control: 0% Lysine and Histidine, T1: 0.4% Lysin -0% Histidine; T2: 0.8% Lysin -0% Histidine; T3:0% Lysin -0.2% Histidine; T4:0% Lysin -0.5% Histidine;T5: 0.4% Lysin -0.2% Histidine; T6:0.8% Lysin -0.8% Histidine), each consisting of three replicates (15 fish per replicate). The ingredients were finely ground, mixed, pelleted, and dried before storage. The fish were fed four times daily (08:00, 14:00, 20:00 and 2:00) at a rate of 3% of body weight for a period of eight weeks. Feed intake was monitored daily to ensure uniform consumption across treatments. At the end of the feeding trial, fish were euthanized with clove powder and liver samples were collected and stored at -80°C for biochemical analysis (Bahrami *et al*.,2022). In the present study liver antioxidant enzymes activity including Catalase, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Glutathione reductase, as well as the lipid peroxidation index, malondialdehyde were evaluated in *Huso huso* fed with different levels of lysine and histidine. Enzymes activity was determined using spectrophotometric assays, following standard protocols.

Results

Catalase activity in samples that received the combination of lysine and histidine showed a significant increase. The highest catalase activity was observed in the treatment with levels of 0.8% lysine and 0.8% histidine ($P<0.05$). The difference between treatments 5 and 6 was not significant ($P>0.05$), while a significant difference was observed with other groups ($P<0.05$). Analysis of superoxide dismutase activity showed that adding high amounts of lysine and histidine (0.8 lysine and 0.8 histidine) increased the highest level of activity of this enzyme. Unlike catalase, the difference between treatments 5 and 6 was significant ($P<0.05$). GPx activity increased significantly with increasing histidine and lysine. Treatment 6 showed the highest level of activity ($P<0.05$). GR activity gradually increased with increasing histidine and lysine levels in the diet. The highest level of activity of this enzyme was also related to treatment 6.

Discussion and conclusion

The observed increase in antioxidant enzyme activity (SOD, CAT, and GPx) in response to higher lysine and histidine supplementation suggests that these amino acids play a crucial role in enhancing the antioxidant defense system of beluga sturgeon. Histidine, as a precursor of carnosine, likely contributed to the neutralization of reactive oxygen species, thereby protecting liver tissue from oxidative damage (Holeček, 2020; Sui *et al.,* 2023). Additionally, the reduction in MDA levels supports the hypothesis that optimal dietary amino acid levels mitigate lipid peroxidation and oxidative stress. Similar findings have been reported in other fish species, indicating that adequate lysine and histidine supplementation improves oxidative stability and overall health.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

This study highlights the importance of lysine and histidine in regulating oxidative stress and enhancing hepatic antioxidant defense mechanisms in beluga sturgeon. The optimal dietary levels (0.8% lysine and 0.8% histidine) significantly improved antioxidant enzyme activity while reducing lipid peroxidation markers. These findings provide valuable insights into nutritional strategies for improving fish health in aquaculture. Future studies should investigate long-term effects of amino acid supplementation on growth performance, immune response, and metabolic functions in sturgeon.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest

Acknowledgment

The authors wish to extend their heartfelt gratitude to the International Sturgeon Research Institute at the Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO). We also sincerely appreciate the support from the Beluga Sturgeon Farm for providing fish and diets essential for our research. It is important to note that this study did not receive any specific funding from public or non-profit sector agencies.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

مجله علمی شیلات ایران ۳٤ (۳) ٤۷-۵۸ (DOI): 10.22092/ISFJ.2025.134220

مقاله علمی – پژوهشی:

تأثیر سطوح مختلف لیزین و هیستیدین در جیره فیل‌ماهی (*Huso huso*) بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد

محمود محسنی*[۱]، سارا مهدی زاده مود*[۲]، علی مهدوی[۲]، سمیه حسن پور لسکوکلایه[۳]

* mahmoudmohseni73@gmail.com; smehdizadeh@semnan.ac.ir

۱-انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، گیلان

۲-بخش بهداشت مواد غذایی و آبزیان ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۳-مزرعه پرورش ماهی خاویاری بلوگا، رشت، گیلان، سنگر

تاریخ دریافت: بهمن ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: خرداد ۱٤۰٤ تاریخ چاپ: شهریور ۱٤۰٤

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی اثرات سطوح مختلف لیزین و هیستیدین در جیره غذایی فیل‌ماهی(*Huso huso*) بر عملکرد شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان استرس اکسیداتیو در بافت کبد بود. بدین منظور، تعداد ۳۱۵ عدد فیل‌ماهی با میانگین وزنی اولیه ۲ ± ۲۰ گرم به صورت تصادفی و پس از دو هفته سازگاری، در ۷ تیمار با سه تکرار در ۲۱ مخزن فایبرگلاس ۲۰۰۰ لیتری با تراکم ۱۵ عدد در هر مخزن توزیع شدند. سطوح لیزین شامل ۰/۴و ۰/۸ درصد و سطوح هیستیدین شامل۰/۲ ، ۰/۵و ۰/۸ درصد در جیره پایه بود. پس از ۸ هفته تغذیه، نمونه‌برداری از بافت کبد جهت اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی اکسیدانی شامل فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPx) و شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی: مالون‌دی‌آلدئید (MDA) صورت گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین سطوح ترکیبی (۰/۸ درصد لیزین و ۰/۸ درصد هیستیدین) باعث بهبود معنی‌دار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش سطح مالون دی آلدئید درکبد فیل‌ماهی گردید ($p<۰/۰۵$). یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده نقش کلیدی لیزین و هیستیدین در سطوح بهینه در تعدیل استرس اکسیداتیو و ارتقاء سلامت کبد در فیل‌ماهی است.

لغات کلید: فیل‌ماهی (*Huso huso*) ، لیزین، هیستیدین، شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

مقدمه

فیل‌ماهی (*Huso huso*) به عنوان یکی از با ارزش‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر، به دلیل تولید گوشت و خاویار مرغوب، از جایگاه اقتصادی بالایی برخوردار است. در سال‌های اخیر، توجه به پرورش صنعتی این ماهی افزایش یافته و پژوهش‌های گوناگونی در زمینه بهبود و بهینه‌سازی فرمولاسیون خوراک آن صورت گرفته است (Mohseni *et al.*, 2016). موفقیت در پرورش فیل‌ماهی، علاوه بر مدیریت صحیح شرایط محیطی، تا حد زیادی به تأمین نیازهای تغذیه‌ای دقیق و متعادل وابسته است (Mohseni *et al.*, 2014). یکی از مؤلفه‌های اساسی در تأمین نیازهای تغذیه‌ای، اسیدهای آمینه ضروری هستند که نقش محوری در ساخت پروتئین‌ها، حفظ رشد و ترمیم بافتی دارند (Mohseni and Malekpour, 2018). از میان اسیدهای آمینه ضروری، لیزین و هیستیدین اهمیت ویژه‌ای دارند (Jia *et al.*, 2022). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که لیزین، افزون بر نقش آن در افزایش راندمان پروتئین مصرفی و حفظ تعادل نیتروژن، با بهبود عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از بروز استرس اکسیداتیو در بافت‌های حیاتی جلوگیری نماید (Ahmed and Ahmed, 2021; Dou *et al.*, 2023). در مقابل، هیستیدین نیز با مشارکت در ساخت ترکیبات زیست‌فعال (کارنوزین و هیستامین)، نقش کلیدی در مقابله با رادیکال‌های آزاد ایفاء می‌کند (Ramos-Pinto *et al.*, 2021; Hussein *et al.*, 2023). تأمین همزمان این دو اسید آمینه در جیره به‌خصوص در گونه‌های خاویاری، می‌تواند موجب بهبود شرایط آنتی‌اکسیدانی و سلامت کلی ماهی شود (Ahmed and Ahmed, 2021; Li *et al.*, 2021).

کبد به عنوان اندام متابولیک اصلی ماهیان، نه‌تنها در مسیرهای سم‌زدایی بلکه در تنظیم سوخت و ساز پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها نیز نقش دارد (Martínez-Alvarez *et al.*, 2022). در صورت بروز استرس اکسیداتیو، فعالیت آنزیم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)،کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) مختل می‌شود و شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی به‌ویژه مالون‌دی‌آلدئید (MDA) افزایش می‌یابد. چنین وضعیتی، می‌تواند عملکرد طبیعی کبد را به‌شدت تحت تأثیر قرار دهد و بر رشد و سلامت ماهی اثر منفی بگذارد (Naji *et al.*, 2023).

مرور مطالعات انجام‌شده بر گونه‌های مختلف، از ماهیان خاویاری تا کفشک (*Scophthalmus maximus*) و کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) بیانگر آن است که تنظیم بهینه سطوح لیزین و هیستیدین در جیره، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در کبد، از بروز استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Feng *et al.*, 2013; Huang *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2022) برای مثال، در تاس‌ماهی هیبرید (*Acipenser baerii* × *Acipenser schrenckii*)، افزایش سطح لیزین منجر به بهبود رشد، بازده خوراک و بالا رفتن فعالیت SOD و GPx در کبد گردید (Wang *et al.*, 2021). همچنین در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) مشخص گردید که افزودن مقادیر مناسب لیزین، با افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی، باعث افزایش ذخیره گلوتاتیون احیاء شده و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد. همچنین در کپور علفخوار و کفشک، هیستیدین توانست ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌هایSOD ، CAT و GPx و کاهش میزان MDA، به میزان قابل‌توجهی ارتقاء بخشد (Wang *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2022).

با توجه به شواهد مذکور و اهمیت بالای فیل‌ماهی در صنعت آبزی‌پروری، شناسایی و تنظیم سطوح مناسب لیزین و هیستیدین در جیره این گونه می‌تواند نقش مهمی در افزایش کارایی تولید، حفظ سلامت کبد و کاهش استرس اکسیداتیو، ایفاء نماید. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات متقابل لیزین و هیستیدین بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان استرس اکسیداتیو در کبد فیل‌ماهی انجام پذیرفت. یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌تواند به تدوین جیره‌های تجاری و ارتقاء روش‌های پرورشی این گونه ارزشمند کمک شایانی نماید.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

مواد و روش کار

تهیه ماهیان و نحوه پرورش

ماهیان به مدت ۲ هفته در مخازن فایبرگلاس در مزرعه پرورش فیل ماهی در رشت- سنگر به شرایط جدید پرورشی با جیره شاهد سازگار گردیدند. درابتدای آزمایش تعداد ۳۱۵ عدد بچه فیل‌ماهی با وزن متوسط ۱/۹±۲۰/۲ گرم (سازگارشده با غذای کنسانتره)، به طور تصادفی در ۲۱ مخزن فایبرگلاس (قطر ۲۰۰ سانتیمتر، ۵۱ سانتی‌متر ارتفاع و حجم آب ۲۰۰۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (به صورت فواره‌ای) با دبی آب ۴/۷۵ لیتر در دقیقه (آب چاه) در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل ذخیره و با جیره‌های آزمایشی به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. میانگین دما، اکسیژن و pH در طول دوره پرورش به‌ترتیب ۰/۵۳±۲۱/۳۰ درجه سانتی‌گراد، ۰/۲۸±۷/۱۱ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۰۹±۸/۵۲، قلیائیت ۴/۹±۲۴۷/۵ میلی‌گرم در لیتر، سختی کل ۱۶/۵±۳۲۰/۳ میلی‌گرم درلیتر، آمونیوم۰/۰۱±۰/۱۱ میلی‌گرم در لیتر بودند. ماهیان ۴ بار در روز و درساعات ۸، ۱۴، ۲۰ و ۲ صبح تا حد سیری و به صورت دستی غذادهی شدند. به منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی، غذادهی ماهیان قطع گردید. برای نمونه‌برداری و زیست‌سنجی، ماهیان با محلول پودرگل میخک (۲۰۰ppm) بیهوش شدند (Bahrami *et al.,* 2022).

جیره‌های غذایی

به منظور تهیه جیره های غذایی، ابتدا ترکیبات غذایی مورد نیاز برای تجزیه‌وتحلیل به آزمایشگاه (تجزیه‌وتحلیل غذایی مرکز تحقیقات علوم دامی کشور، کرج-ایران) منتقل گردید تا بر اساس اطلاعات صحیح از ترکیب مواد اولیه نسبت به تنظیم جیره‌ها اقدام گردد (جدول ۱).

جدول ۱: سطوح مختلف افزودن اسیدهای آمینه لیزین و هیستیدین در جیره تیمارهای آزمایشی

Table 1: Different levels of addition of amino acids lysine and histidine in the diets of experimental treatments

Diet	Percentage of Lysin and Histidine supplementation
Control	-
Treatment1	0.4% Lysin -0% Histidine
Treatment2	0.8% Lysin -0% Histidine
Treatment3	0% Lysin -0.2% Histidine
Treatment4	0% Lysin -0.5% Histidine
Treatment5	0.4% Lysin -0.2% Histidine
Treatment6	0.8% Lysin -0.8% Histidine

هفت جیره آزمایشی ایزوکالریک (۱۲/۵٪ درصد چربی خام) و با پروتئین خام یکسان (۴۴ درصد پروتئین خام) با سطوح ۲۰ مگاژول انرژی خام در هرکیلوگرم جیره فرموله شدند (Mohseni *et al.,* 2022). شش جیره غذایی با سطوح مختلف لیزین شامل ۰/۴ و ۰/۸ درصد و اسید آمینه هیستیدین شامل ۰/۲، ۰/۵ و ۰/۸ درصد بر اساس نیازهای تغذیه‌ای فیل‌ماهی 2011 (NRC,) فرموله شدند و نتایج با جیره شاهد (عاری از لیزین و اسید آمینه هیستیدین) مقایسه شدند. مواد خشک قبل از ترکیب با مواد مرطوب با استفاده از آسیاب (شرکت دامیکور، تهران) به قطر ۲۰۰ میکرون تبدیل شدند. لیزین و هیستیدین مورد نیاز، از منابع تجاری خالص تأمین و در میکسر (مخلوط کننده) مکمل معدنی و ویتامینی اضافه گردید، سپس با آرد گندم به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده ازدستگاه هم زن دوزبانه (ری بونی، شرکت گرماالکتریک، آمل)، کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. سپس دوباره مخلوط حاصل به سایر ترکیبات اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه دیگر با مخلوط کن (ری بونی، شرکت گرما الکتریک، آمل) مخلوط شدند. اجزاء خشک غذا پس از مخلوط کامل با یکدیگر با روغن مخلوط و سپس آب ولرم به آن اضافه گردید تا یک خمیر سفت تشکیل شود. پس از اطمینان از مخلوط شدن تمامی ترکیبات به صورت همگن، محصول نهایی با استفاده از یک چرخ دستگاه پلت زن (California Pellet Mill Co., San Francisco, Ca, USA) CPM با توجه به اندازه دهان ماهی به قطر ۴-۲

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

میلی‌متر پلت شدند. سپس پلت‌ها با استفاده از خشک کن دردمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت تا رطوبت تقریبی ۱۰درصد خشک، شماره گذاری و در محفظه‌های عاری از هوا بسته‌بندی و تا زمان مصرف دردمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها از فریزر خارج و پس از متعادل شدن بادمای اتاق، با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین شدند و در اختیار ماهیان قرار گرفتند.

اندازه‌گیری شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد

پس از گذشت ۱۰ هفته از دوره پرورش و تغذیه با جیره‌های آزمایشی، به‌منظور بررسی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت کبد، از هر تیمار ۹ عدد ماهی (۳ عدد از هر تکرار) به صورت تصادفی انتخاب شد. پس از بیهوشی با استفاده از محلول استاندارد (اسانس گل میخک)، بافت کبد هر ماهی با دقت جداسازی و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد گردید. در ادامه، نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه کبدی جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها و متابولیت‌ها

برای هموژن کردن بافت کبد حدود ۲۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم از بافت آن را وزن نموده و در بافر هموژنایزر (بافری حاوی ۵۰ میلی‌مول/ لیتر تریسHCl-، ۱۵۰ میلی‌مول/ لیترNaCl ، ۱ میلی‌مول/ لیترEDTA، ۱ میلی‌مول/ لیتر DTT ، pH 7.4) قرار داده سپس بافت در هموژنایزر به‌خوبی خرد و همگن گردید. این فرایند در دمای پایین (روی یخ) صورت گرفت تا فعالیت آنزیم‌ها و ترکیبات حساس حفظ گردد. بافت کبد هموژن شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با نیروی گرانشی (g) ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی (سوپرناتانت) به عنوان عصاره خام آنزیمی جمع‌آوری شده و در لوله‌های استریل نگهداری گردید. این عصاره برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های اکسیداتیو مورد استفاده قرار گرفت (Bahrami *et al.*, 2022).

ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای ارزیابی فعالیت کاتالاز(CAT)، از روش Aebi (۱۹۸۴) بهره گرفته شد. در این روش، تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2)به آب و اکسیژن آزاد در طول زمان اندازه‌گیری و با کاهش جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر شاخص‌سازی شد. اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) طبق روش اصلاح‌شده Sun و همکاران (۱۹۸۸) انجام گرفت. برای این منظور، عصاره آنزیمی از بافت کبد تهیه و تغییرات جذب نوری در طول موج مورد نظر (اغلب ۵۶۰ نانومتر) سنجیده شد. سنجش گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) با استفاده از روش Paglia و Valentine (۱۹۶۷) انجام پذیرفت. در این روش، کاهش NADPH در حضور H_2O_2 به عنوان سوبسترا اندازه‌گیری می‌شود و سرعت کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر معرف فعالیت آنزیم است.

شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی

برای تعیین سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، روش تیوباربیتوریک اسید (TBA)(Zhao *et al*., 2012) استفاده شد. در این روش، محصولات پراکسیداسیون لیپید با TBA واکنش داده و کمپلکس رنگی صورتی‌رنگ تشکیل می‌دهند که جذب آن در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف و همگنی واریانس با آزمون لون بررسی شدند. سپس آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) برای بررسی اثرات اصلی و متقابل لیزین و هیستیدین انجام گرفت. در صورت وجود تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$)، مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن انجام شد. از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۶) برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

نتایج

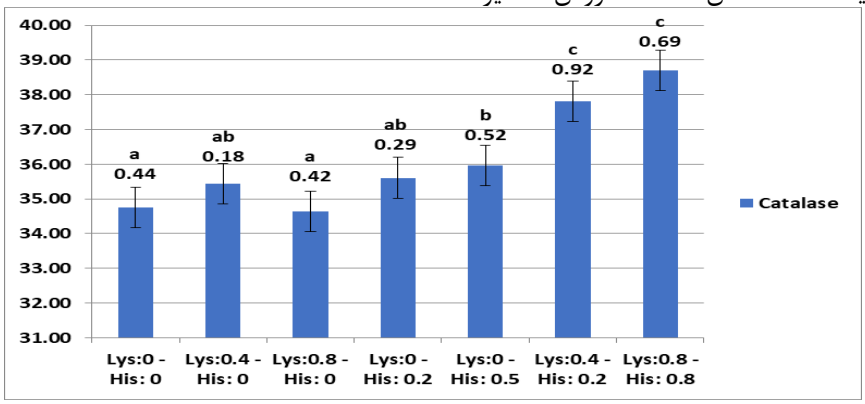
در تحقیق حاضر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کبد شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، مالون دی آلدئید در

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

فیل‌ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف لیزین و هیستیدین، ارزیابی شد.

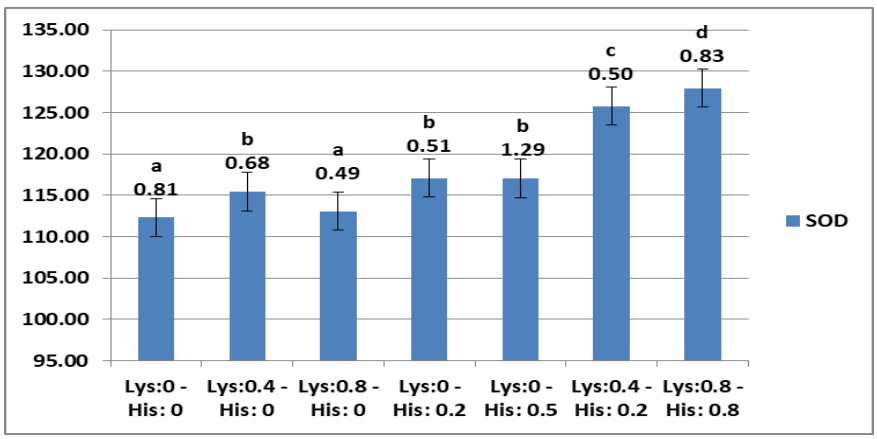
شاخص‌های آنتی اکسیدانی

فعالیت کاتالاز در نمونه‌هایی که ترکیب لیزین و هیستیدین را دریافت کردند، افزایش معنی‌داری نشان داد. بیشترین فعالیت کاتالاز در گروه با سطوح ۰/۸ درصد لیزین و ۰/۸ درصد هیستیدین مشاهده شد (p<۰/۰۵). این امر بیانگر نقش هم‌افزایی این دو اسید آمینه در افزایش فعالیت آنزیم‌های خنثی‌کننده پراکسید هیدروژن است (شکل ۱). تجزیه‌وتحلیل فعالیت SOD نشان داد که افزودن مقادیر بالای لیزین و هیستیدین (۰/۸ درصد لیزین و ۰/۸ درصد هیستیدین) موجب افزایش بیشترین سطح فعالیت این آنزیم شد (شکل۲). این افزایش فعالیت به دلیل بهبود شرایط آنتی‌اکسیدانی کبد و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن(ROS) است. فعالیت GPx به طور معنی‌داری با افزایش هیستیدین و لیزین افزایش یافت (شکل ۳). تیمار۶ بالاترین میزان فعالیت را نشان داد (p<۰/۰۵). این نتایج به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در حضور این ترکیبات اشاره دارد.



شکل۱: مقایسه میانگین آنزیم کاتالاز در تیمارهای مختلف (وجود حروف غیر همسان در هر ستون نشانه اختلاف معنی دار در هر تیمار آزمایشی است (p<۰/۰۵).

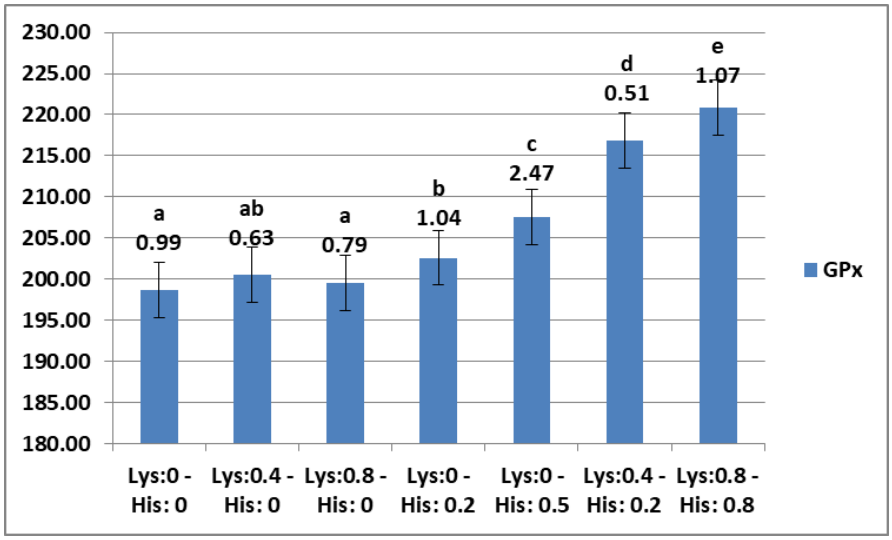
Figure 1: Mean comparison of Catalase enzyme in different treatments (Presence of different letters in each column indicates a significant difference in each experimental treatment, p<0.05).



شکل۲: مقایسه میانگین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای مختلف (وجود حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار در هر تیمار آزمایشی است (p<۰/۰۵).

Figure 2: Mean comparison of superoxide dismutase (SOD) enzyme in different treatments (Presence of different letters in each column indicates a significant difference in each experimental treatment, p<0.05)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

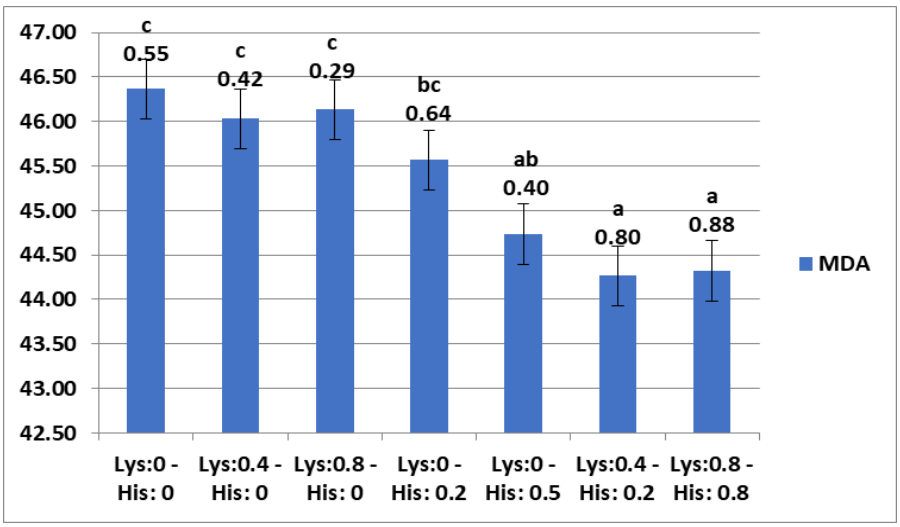


شکل۳: مقایسه میانگین آنزیم آنتی اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز (جود حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی دار در هر تیمار آزمایشی است(p<۰/۰۵).

Figure 3: Mean comparison of Gluthation peroxidase (GPx) enzyme in different treatments (Presence of different letters in each column indicates a significant difference in each experimental treatment, p<0.05)

شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی

سطح مالون دی آلدئید در شکل ۴ به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار در تیمار ۶ است (p<۰/۰۵). این نتایج حاکی از کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ یکپارچگی غشاء سلولی است.



شکل ۴: مقایسه میانگین مقادیر مالون دی آلدئید در تیمارهای مختلف (وجود حروف غیر همسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار در هر تیمار آزمایشی است (p<۰/۰۵).

Figure 4: Mean comparison of of malondialdehyde (MDA) levels in different treatments (Presence of different letters in each column indicates a significant difference in each experimental treatment, p<0.05)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

بحث

تأمین اسیدهای آمینه ضروری در جیره آبزیان به‌ویژه ماهیان خاویاری، نقشی محوری در تأمین نیازهای رشد، ترمیم بافتی و حفظ عملکرد طبیعی اندام‌های حیاتی دارد(Taj *et al.,* 2022). در میان اندام‌های داخلی، کبد به عنوان مهم‌ترین بافت متابولیک و مرکز سم‌زدایی در ماهیان، بیش از سایر اندام ها در معرض استرس‌های مختلف به‌خصوص استرس اکسیداتیو، قرار می‌گیرد (Martínez-Alvarez *et al.,* 2022). استرس اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و ظرفیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌هم می‌خورد و به دنبال آن، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به ساختار پروتئین‌ها و DNA افزایش می‌یابد (Hoseinifar *et al.,* 2020). در دهه‌های اخیر، پژوهش‌های متعددی به بررسی تأثیر کمیت و کیفیت پروتئین و اسیدهای آمینه در جیره بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد پرداخته‌اند. نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که برخی از اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین، هیستیدین، متیونین و آرژنین، افزون بر نقش کلیدی در سنتز پروتئین، در تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز مؤثرند (Egbujor *et al.,* 2024).

مکانیسم‌های پیشنهادی حاکی از آن است که این اسیدهای آمینه از طریق افزایش سنتز پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی، تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و تأمین پیش‌ساز ترکیبات زیست‌فعال (کارنوزین از هیستیدین) می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از تخریب لیپیدهای غشایی و سایر ماکرومولکول‌های سلولی جلوگیری نمایند (Ramos pinto *et al.,* 2021). اهمیت اسیدهای آمینه در پیشگیری از استرس اکسیداتیو به‌ویژه در مرحله پرورش و رشد ماهیان، زمانی برجسته‌تر می‌شود که در شرایط استرس‌زای محیطی (نوسانات دمایی، تراکم بالا، آلودگی‌های شیمیایی و ...)، تقاضای ماهی برای آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر می‌شود و احتمال بروز آسیب‌های اکسیداتیو در کبد افزایش می‌یابد (Martínez-Alvarez *et al.,* 2022). در چنین شرایطی، کمبود یا عدم تعادل اسیدهای آمینه ضروری باعث تضعیف سیستم ایمنی و اختلال در فرایندهای محافظتی کبد می‌شود. ازاین‌رو، انتخاب مقادیر بهینه اسیدهای آمینه ضروری و لحاظ کردن آنها در فرمولاسیون جیره، به عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود سلامت کبد، کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش راندمان تولید در آبزی‌پروری مطرح است (Zhao *et al.,* 2012). تغذیه مناسب و تأمین دقیق اسیدهای آمینه ضروری در جیره آبزیان به‌ویژه ماهیان خاویاری، نقشی کلیدی در دستیابی به حداکثر رشد، سلامت عمومی و حفظ عملکرد اندام‌های حیاتی دارد .

در سال‌های اخیر، بسیاری از مطالعات بر نقش اسیدهای آمینه در تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی و مقابله با استرس اکسیداتیو در کبد (Hoseinifar, 2020; Li *et al.,* 2014) متمرکز شده‌اند. نتایج این مطالعات، ضرورت تنظیم دقیق سطوح اسیدهای آمینه‌ای همچون لیزین و هیستیدین را در جیره غذایی به‌خوبی نشان می‌دهد. به‌طور کلی، کمبود اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند منجر به کاهش سنتز پروتئین‌های ساختاری و آنزیم‌های کلیدی در کبد شود و بدین‌ترتیب ظرفیت مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) را کاهش دهد (Martínez-Alvarez *et al.,* 2022). این آسیب معمولاً به شکل افزایش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز)، در کبد دیده می‌شود. در این زمینه، برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که افزایش سطوح مناسب اسیدهای آمینه نه‌تنها منجر به بهبود شاخص‌های رشد می‌شود بلکه با افزایش بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی سلول، از ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی نیز جلوگیری می‌کند (Teixeira *et al.,* 2020; Hoseinifar *et al.,* 2020).

لیزین به عنوان یکی از اسیدهای آمینه ضروری، نقش قابل‌توجهی در ساخت پروتئین‌ها و تولید آنزیم‌های دخیل در مسیرهای آنتی‌اکسیدانی ایفاء می‌کند(Zhang *et al.*,2024). در مطالعه‌ای بر ماهی هیبرید (*Acipenser baerii* × *A. schrenckii*) افزایش سطح لیزین در جیره باعث بهبود رشد، بازده خوراک و بهبود سلامت کبد شده

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

درحالی‌که پایین بودن سطح لیزین باعث اثرات نامطلوب بر آنزیم های کبدی شده است (Wang *et al.,* 2021).
هیستیدین به دلیل مشارکت در سنتز کارنوزین و هیستامین، به عنوان اسید آمینه‌ای شاخص در مهار رادیکال‌های آزاد مورد توجه قرار گرفته است (Holeček, 2020). افزودن سطح بهینه هیستیدین در جیره می‌تواند باعث مهار پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ پایداری غشاء سلولی شود (Liang *et al.,* 2022). طبق پژوهشی بر کفشک (*S. maximus*)، افزایش سطح هیستیدین توانست به طور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد و عملکرد سلامت ماهی را بهبود دهد (Sui *et al.,* 2023). نتایج مشابه در برخی دیگر از گونه‌های آبزیان گرمابی نیز گزارش شده است (Gao *et al.,* 2016).
تأثیر متقابل لیزین و هیستیدین (هم‌افزایی)[1] میان اسیدهای آمینه ضروری در برخی مطالعات پیشنهاد شده است. به‌طوری‌که افزایش توأم لیزین و هیستیدین در جیره، اثر بهتری بر شاخص‌های رشد و آنتی اکسیدانی دارد (Richter *et al.,* 2021). این تأثیر هم‌افزا به صورت افزایش سطح گلوتاتیون احیاءشده (GSH) و کاهش معنی‌دار شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) مشاهده شده است . چنین بهبودی در عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند به دلیل نقش مکمل این اسیدهای آمینه در سنتز پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز در ساخت ترکیبات زیست‌فعال باشد.
همچنین تأمین هم‌زمان این دو اسید آمینه، از بروز عدم تعادل آمینواسیدی جلوگیری می‌کند که خود ممکن است منجر به کاهش کارایی خوراک و تضعیف پاسخ ایمنی شود. نتایج این پژوهش به‌وضوح نشان می‌دهد که لیزین و هیستیدین، هر دو در تنظیم پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو در فیل‌ماهی نقش مهمی ایفاء می‌کنند. به‌نظر می‌رسد که این تأثیر مثبت احتمالا ناشی از دو مکانیسم اصلی باشد: ۱) افزایش سنتز آنزیم‌ها و پروتئین‌های آنتی‌اکسیدانی: لیزین در ساخت پروتئین‌های ساختاری و آنزیمی دخیل است و کمبود آن می‌تواند به اختلال در عملکرد آنزیم‌های دفاعی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز)، بیانجامد (Yu *et al.,* 2022).
۲) تأمین پیش‌سازهای بیومولکول‌های محافظتی: هیستیدین از طریق تولید کارنوزین، قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد و تثبیت غشاهای سلولی را بالا می‌برد. همچنین هیستیدین پیش‌ساز هیستامین است که در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی نقش دارد.

در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۲۱) بر تاس‌ماهیان هیبرید (*Acipenser baerii* × *Acipenser schrenckii*)، نقش مهم لیزین در بهبود عملکرد رشد، بازده خوراک و ارتقاء شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی کبد نشان داده شد. در سطوح بهینه لیزین، مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی(سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز)، در کبد به طور معنی‌داری افزایش یافت.

نقش حیاتی هیستیدین در ارتقاء ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کبد و پیشگیری از استرس اکسیداتیو در کپور علفخوار گزارش شده است. در تیمارهایی با سطوح بالاتر هیستیدین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش و مقدار مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت. در مطالعه Sui و همکاران (۲۰۲۳) در آزمایشی با تمرکز بر هیستیدین، نشان دادند که مکمل کردن جیره کفشک (*S. maximus*) با هیستیدین سبب افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت کبد و کاهش آسیب اکسیداتیو شد. همچنین سطوح مناسب هیستیدین موجب بهبود ساختار بافتی کبد گردید.
مطالعات مذکور نشان می‌دهند، تنظیم دقیق سطوح لیزین و هیستیدین، با توجه به گونه و مرحله رشدی، تأثیر به‌سزایی در ارتقاء وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد و کنترل استرس اکسیداتیو دارد. مکانیسم اصلی این بهبود، عمدتاً از طریق افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و کاهش شاخص پراکسیداسیون لیپیدی انجام می‌گیرد. به همین دلیل، در تدوین جیره‌های ویژه پرورش گونه‌های ارزشمند نظیر ماهیان خاویاری، توجه به سطوح بهینه لیزین و هیستیدین

[1] Synergism

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

برای حفظ سلامت کبد و بهبود بازده تولید امری ضروری است. به رغم تعدد پژوهش‌ها در زمینه تأثیر لیزین و هیستیدین بر سلامت کبد، هنوز نیاز به بررسی مکانیسم‌های مولکولی دقیق در گونه‌های مختلف خاویاری احساس می‌شود. همچنین بررسی تعادل بهینه اسیدهای آمینه در مراحل مختلف رشدی (لارو، پیش‌پرورشی و پرورشی)، می‌تواند زمینه‌ساز تولید جیره‌های هوشمند و اختصاصی برای هر مرحله باشد (Mohseni *et al.,* 2023). به طور کلی، یافته‌های پژوهش حاضر در زمینه نتایج سایر مطالعات اخیر است که تأکید می‌کنند، تأمین صحیح اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند اثرات مثبتی بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی و شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در آبزیان داشته باشد (Zhao *et al*., 2012; Martínez-Alvarez *et al*., 2022).

منابع

Aebi, H., 1984. Catalase *in vitro. Methods in Enzymology*, 105: 121-126. DOI:10.1016/S0076-6879(84)05016-3

Ahmed, I. and Ahmad, I., 2021. Dietary lysine modulates growth performance, haemato-biochemical indices, non-specific immune response, intestinal enzymatic activities and antioxidant properties of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 27, 124-139. DOI:10.1111/anu.13409

Bahrami, Z., Roomiani, L., Javadzadeh, N., Sary, A.A. and Baboli, M.J., 2022. Investigating the effect of microencapsulation of Lactobacillus plantarum bacteria with chitosan/alginate microparticles on oxidative stress indices in Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*).155-165. DOI:10.22059/jvr.2022.346007.3285

Dou, X., Liu, Y., Cao, Y., Zhang, Y., Fu, X., Deng, J. and Tan, B., 2023. Effects of dietary lysine level on growth performance and protein metabolism in juvenile leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus). Aquaculture Nutrition*, 1), 1017222. DOI:10.1155/2023/1017222

Draper, H. and Hadley, M., 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology,* 186:421-431. DOI:10.1016/0076-6879(90)86135-i

Egbujor, M.C., Olaniyan, O.T., Emeruwa, C.N., Saha, S., Saso, L. and Tucci, P., 2024. An insight into role of amino acids as antioxidants via NRF2 activation. *Amino Acids,* 56(1):23. DOI:10.1007/s00726-024-03384-8

Feng, L., Zhao, B., Chen, G., Jiang, W., Liu, Y., Jiang, J. and Zhou, X., 2013. Effects of dietary histidine on antioxidant capacity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*). *Fish physiology and biochemistry*, 39:559-571. DOI:10.1007/s10695-012-9719-9

Gao, Y.J., Liu, Y.J., Chen, X.Q., Yang, H.J., Li, X. F. and Tian, L.X., 2016. Effects of graded levels of histidine on growth performance, digested enzymes activities, erythrocyte osmotic fragility and hypoxia-tolerance of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella. Aquaculture*, 452:388-394. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.11.019

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

Holeček, M., 2020. Histidine in health and disease: metabolism, physiological importance, and use as a supplement. *Nutrients*, 12(3):848. DOI:10.3390/nu12030848

Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F. and Carnevali, O., 2020. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 29(2):198-217. DOI:10.1080/23308249.2020.1795616

Huang, D., Liang, H., Ren, M., Ge, X., Ji, K., Yu, H. and Maulu, S., 2021. Effects of dietary lysine levels on growth performance, whole body composition and gene expression related to glycometabolism and lipid metabolism in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* fry. *Aquaculture,* 530, 735806. DOI:10.1155/2022/1372819

Huang, X., Song, X., Zhou, H., Liu, C., Mai, K. and He, G., 2022. Dietary lysine level affects digestive enzyme, amino acid transport and hepatic intermediary metabolism in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 48(4):1091-1103. DOI:10.1007/s10695-022-01098-w

Hussein, M.M., Zakaria, G., Abdelkhalek, A. and Arisha, A.H., 2023. Histidine-containing dipeptide and diabetic complications. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 13(4):685-692. DOI:10.5555/20230468090

Jia, S., Li, X., He, W. and Wu, G., 2022. Protein-sourced feedstuffs for aquatic animals in nutrition research and aquaculture. *Recent advances in animal nutrition and metabolism,* 237-261. DOI:10.1007/978-3-030-85686-1_12

Li, X.Y., Tang, L., Hu, K., Liu, Y., Jiang, W.D., Jiang, J. and Zhou, X.Q., 2014. Effect of dietary lysine on growth, intestinal enzymes activities and antioxidant status of sub-adult grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish Physiology and Biochemistry,* 40(3): 659-671. DOI:10.1007/s10695-013-9874-7

Li, X., Zheng, S. and Wu, G., 2021. Nutrition and functions of amino acids in fish. Amino acids in nutrition and health: amino acids in the nutrition of companion, *Zoo and Farm animals*, 133-168. DOI:10.1007/978-3-030-54462-1-8

Liang, H., Xu, G., Xu, P., Zhu, J., Li, S. and Ren, M., 2022. Dietary histidine supplementation maintained amino acid homeostasis and reduced hepatic lipid accumulation of juvenile largemouth bass, Micropterus salmoides. *Aquaculture Nutrition*, 1:4034922. DOI:10.1155/2022/4034922

Liang, H., Xu, P., Xu, G., Zhang, L., Huang, D., Ren, M. and Zhang, L., 2022. Histidine deficiency inhibits intestinal antioxidant capacity and induces intestinal endoplasmic-reticulum stress, inflammatory response, apoptosis, and necroptosis in Largemouth Bass *(Micropterus salmoides*). *Antioxidants,* 11(12):2399. DOI:10.3390/antiox11122399

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

Martínez-Alvarez, R.M., Morales, A.E. and Sanz, A., 2022. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors revisited. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 32(1):1-15. DOI:10.1007/s11160-005-7846-4

Mohseni, M., Amirkhani, A., Seyed Hassani, M.H. and Pourali, H.R., 2014. Effect of different dietary protein and energy levels on growth of juvenile Beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(4):107-118. DOI:10.22092/isfj.2017.110153

Mohseni, M., Pourkazemi, M., Seyed Hassani, M.H. and Pourali, H.R., 2016. Effects of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization and carcass compositions in beluga, *Huso huso*, fed soy protein -based diet. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 25(1):119-134. DOI:10.22092/ISFJ.2017.110228

Mohseni, M. and Malekpour, M., 2018. Replacement of fish meal with canola meal and its effects on growth performance, digestion, indicas hematological and thyroid hormones level of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 27(5):135-148. DOI:10.22092/ISFJ.2019.118084

Mohseni, M., Aftabgard, M., Hassanzadeh Saber, M., and Moazenzadeh, K., 2022. Comparing effects of sources levels of zinc on growth performance, carcass composition, haematological and serum immuno-biochemical indices of juvenile beluga sturgeon, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Fisheries Science and Technology*, 11(1):91-105. DOI:20.1001.1.23225513.1400.11.1.1.4

Mohseni, M., Pazhand, Z., Ghiasi, S., Pordehghani, M., Ghorbani Vagheie, R., Yeganeh, H. and Ghasemian, S., 2023. Effect of egg immersion at different levels of water-soluble thiamine on improving the incubation indices and larvae growth of farmed beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 32(2):1-12. DOI:10.22092/isfj.2023.129114

Naji, T., Biniaz, M., Mohamadi Motamed, S. and Sheybani, Y., 2023. Comparison of the effect of Haloperidol and *Morus alba* leaf extract on liver tissue and hepatic enzymes in *Trichogaster trichopterus*. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology),* 36(4):292-308. DOI:10.22034/jar.2023.2307

NRC (National Research Council), 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. *National Academy Press, Washington*, DC. DOI:10.17226/13039.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1):158-169.

Ramos-Pinto, L., Machado, M., Calduch-Giner, J., Pérez-Sánchez, J., Dias, J., Conceição, L.E. and Costas, B., 2021. Dietary histidine, threonine, or taurine supplementation affects gilthead seabream (*Sparus aurata*) immune status. *Animals,* 11(5):1193 DOI:10.3390/ani11051193

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]

Richter, B. L., de Castro Silva, T. S., Michelato, M., Marinho, M. T., Gonçalves, G. S., and Furuya, W. M., 2021. Combination of lysine and histidine improves growth performance, expression of muscle growth-related genes and fillet quality of grow-out Nile tilapia. *Aquaculture Nutrition*, *27*(2), 568-580.

Sui, Z., Wang, X., Sun, Y., Zhou, H., Liu, C., Mai, K. and He, G., 2023. Optimal dietary methionine requirement of sub-adult turbot (*Scophthalmus maximus L.)*: growth performance, feed utilization and hepatic lipid metabolism. *Aquaculture*, 566, 739197. DOI:10.1016/j. aquaculture.2022.739197

Sun, M. and Zigman, S., 1988. An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine auto-oxidation. *Analytical Biochemistry*, 90:81-89.DOI:10.1016/0003-2697(78)90010-6

Taj, S., Ma, L., Wu, X., Ye, B., Geng, L., Zhou, Z. and Mu, W., 2022. Effects of dietary histidine levels on growth performance, feed utilization, and expression of related genes of juvenile hybrid Grouper *Epinephelus fuscoguttatus*♀× *Epinephelus lanceolatus*♂. *Aquaculture Nutrition*, 1, 7738843. DOI:10.1155/2022/7738843

Teixeira, S.O., Nunes, Z.M.P., Junior, A.D.S.P., Salaro, A.L., de Moura, L.B., Veras, G.C. and Campelo, D.A.V., 2020. Optimal dietary lysine improves growth performance, increases protein deposition and reduces lipid accumulation in tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles. *Aquaculture Research*, 51(12):5065-5073 DOI:10.1111/are.14845

Wang, W., Yang, P., He, C., Qin, Y., Mai, K. and Song, F., 2021. Lysine supplemented to poultry by-product meal replacement diet modulates body growth, metabolism and related gene expressions of hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♀× *Acipenser baerii*♂). *Aquaculture Research*, 52(11):5419-5429. DOI:10.1111/are.15411

Yu, H., Yang, M., Xiao, T., Luo, Y., Ren, W., Ye, L. and Li, Y., 2022. Effects of dietary lysine levels on growth performance and antioxidative capacity in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Research*, 53(12):4414-4425. DOI:10.1111/are.15939

Zhang, S., Liu, C.A., Lu, S., Han, S. and Yang, Y., 2024. Impact of dietary lysine on growth, nutrient utilization, and intestinal health in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low fish meal diets. *Aquaculture Reports*, 39, 102402. DOI:10.1016/j.aqrep.2024.102402

Zhao, B., Feng, L., Liu, Y., Kuang, S. Y., Tang, L., Jiang, J. and Zhou, X. Q., 2012. Effects of dietary histidine levels on growth performance, body composition and intestinal enzymes activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition,* 18(2):220-232. DOI:10.1111/j.1365-2095.2011.00898.x

[Downloaded from isfj.ir on 2025-08-20]