

مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح ویتامین B₉ (اسید فولیک) بر رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی
و آنزیم‌های کبدی سرم بچه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

فرزین جمالزاد فلاح^۱، هومن رجبی اسلامی^{۲*}، مهدی شمسایی مهرجان^۲

تاریخ دریافت: شهریور ۹۹

تاریخ پذیرش: آبان ۹۹

چکیده

به منظور بررسی سطوح مختلف اسید فولیک بر برخی از شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی سرم و وضعیت آنزیم‌های کبدی بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii* Brandt, 1896)، شش جیره غذایی آزمایشی ایزونیتروژنه و ایزولیپیدی با استفاده از اسید فولیک مکمل در مقادیر ۰/۶، ۱/۶۳، ۲/۷۱، ۳/۵۹، ۴/۸۲ و ۵/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم فرموله شد. ماهیان با میانگین وزنی $4/36 \pm 0/18$ گرم در یک سیستم جریان مستقیم آب به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش شامل افزایش وزن، ضریب رشد نسبی، نرخ رشد روزانه، ضریب تبدیل خوراک، نرخ بقا همراه با میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید، سطح آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گلوکوتایون S-ترانسفراز و سطح مالون دی‌آلدئید سرم خون بودند. نتایج نشان داد که استفاده از اسید فولیک در سطح برابر یا بیشتر از ۲/۷۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذای خشک سبب افزایش نرخ رشد روزانه بچه تاس‌ماهیان سیبری و افزایش معنی‌دار آماری در ضریب رشد نسبی ماهیان شد ($P < 0/05$). از سوی دیگر، نسبت تبدیل خوراک با افزایش سطح اسید فولیک جیره غذایی از ۰/۶۰ به ۲/۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش و پس از آن افزایش یافت. اختلاف معنی‌دار آماری در میزان آلکالین فسفاتاز سرم ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید فولیک مشاهده نشد ($P > 0/05$). فعالیت گلوکوتایون S-ترانسفراز به وسیله غلظت‌های مختلف اسید فولیک جیره تحت تأثیر قرار نگرفت. همچنین غلظت‌های مختلف اسید فولیک جیره غذایی تفاوت معنی‌دار آماری در شاخص‌های تری‌گلیسیرید، کلسترول و مالون دی‌آلدئید ایجاد نکرد ($P > 0/05$). نتایج به دست آمده از این مطالعه بیانگر این مطلب است که اسید فولیک گرچه موجب بهبود شاخص‌های رشد شد، تأثیری در شاخص‌های بیوشیمیایی سرم مورد بررسی در این پژوهش نداشت. میزان نیاز تاس‌ماهی سیبری به اسید فولیک بر اساس نرخ رشد روزانه برابر ۱/۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به دست آمد.

واژگان کلیدی: تاس‌ماهی سیبری، اسید فولیک، عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی.

۱- دکتری شیلات، گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: rajabi.h@srbiau.ac.ir

مقدمه

آن اشراف کامل داشته باشد، پیشرفت‌های خوبی طی چند سال اخیر در مورد پرورش تاس‌ماهیان صورت گرفته است. با این وجود اطلاعات کافی در مورد نیازهای تغذیه‌ای، فناوری ساخت و ترکیبات غذایی تاس‌ماهیان وجود ندارد که این فقدان اطلاعات منجر به محدودیت در امر پرورش آن‌ها شده است (Hung and Deng, 2002).

ویتامین‌ها یکی از اجزای غذایی هستند که از نظر کمی جزئی ناچیز ولی از نظر کیفی جزء بسیار ضروری و مهم جیره آبزیان تلقی می‌شوند (Lin et al., 2011). مواد غذایی طبیعی در تراکم‌های پایین و شرایط پرورش غیرمترکم شاید بتوانند نسبت‌های مناسب و یا تمامی ویتامین‌های مورد نیاز ماهیان را فراهم سازند، اما در تراکم‌های بالای پرورش که مواد غذایی طبیعی فقط برای حفظ حیات جمعیت کفایت می‌کنند، افزودن ویتامین به جیره غذایی از اهمیت خاصی برخوردار خواهد بود (Halver, 1957).

اسید فولیک ماده‌ای با فرمول شیمیایی $C_{19}H_{19}N_7O_6$ و جرم مولکولی ۴۴۱/۴ گرم در مول است که با نام‌های فولات، ویتامین B_۹ (فولاسین) ویتامین B_۹ نیز خوانده می‌شود

یکی از اهداف اولیه آبی‌پروری تولید گونه‌های مختلف آبزیان برای تولید غذا و همچنین بازسازی ذخایر است. مطالعات تغذیه‌ای با هدف تبدیل غذای ماهی به گوشت در زمان کوتاه و در راستای سود و مزایای اقتصادی دنبال می‌شود (Hung, 1991). با توجه به این که هزینه غذا بیش از نیمی از هزینه‌های تمام شده تولید گوشت و خویار را تشکیل می‌دهد، هر تغییری در هزینه غذا می‌تواند به کاهش قیمت تمام شده منجر شود. بنابراین، پیدا کردن بهترین راهبرد غذایی در تاس‌ماهیان منجر به بیشترین رشد و کاهش هزینه به ازای هر واحد تولید می‌شود (فلاح‌تکار، ۱۳۹۳). از میان ماهیان خاویاری، تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii* Brandt, 1896) گونه‌ای با رشد سریع است که رژیم غذایی گسترده و متنوعی دارد. این ماهی همچنین دارای استعداد قابل توجه برای پرورش در محیط‌های محصور و دوره رسیدگی و بلوغ جنسی کوتاه است (Ronayi and Peteri, 1990; Doroshov et al., 1997; Gisbert and Williot, 2002; Koksai et al., 2000; Rad et al., 2003). با توجه به این که همیشه فعالیتی در آبی‌پروری موفق خواهد بود که یک پرورش دهنده به زیست‌فن‌های تکثیر و پرورش

(Bailey and Ayling, 2009). این ماده در واقع یک مولکول کوچک کاملاً اکسیده شده است که نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند تکثیر سلولی، تنظیم بیان ژن، عملکرد غشای سلولی، تشکیل سلول‌های طبیعی خون، تولید ترکیبات بیوشیمیایی، تنظیم کننده فعالیت مغز و سوخت و ساز اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها دارد (Lin et al., 2011; Asaikkutti et al., 2016; Wei et al., 2016; Sesay et al., 2017). ماهی همانند جانداران یوکاریوتی دیگر نمی‌تواند اسید فولیک یا مشتقات فعال متابولیک آن را تولید کند و بنابراین برای تهیه آن باید به منابع غذایی خارجی تکیه کند (Ramamoorthy and Verma, 2008). علایم شایع کمبود اسید فولیک شامل کاهش رشد، کاهش اشتها، اختلال در خون‌سازی، افزایش حساسیت به عفونت‌های باکتریایی، شکنندگی باله شکمی، کم‌خونی نورموکرومیک ماکروسیستیک، شکل غیرطبیعی طحال، تیره شدن رنگ پوست است (Halver, 1982; Shiau and Huang, 2001b; NRC, 2011; Sesay et al., 2017). اگرچه اسید فولیک در دمای عادی ذخیره‌سازی غذای ماهی حلالیت کمی در آب دارد، به راحتی می‌تواند توسط نور خورشید، اکسیژن هوا و در طی فرآیند پخت غذای اکسترود تخریب شود و از بین برود (Araujo et al., 2011; Gazzali et al., 2016).

میزان نیاز به اسید فولیک در بسیاری از موجودات آبی سنجیده شده است که از آن جمله می‌توان به قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) برابر ۰/۶-۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم (Cowe and Woodward, 1993)، گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) برابر ۱/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم (Duncan et al., 1993)، تیل‌پای دورگه (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) جوان برابر ۰/۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم (Shiau and Huang, 2001b)، هامور مالاباری جوان (*Epinephelus malabaricus*) برابر ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم (Lin et al., 2011)، کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) جوان برابر ۱/۰۶-۲/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم (Shi et al., 2015)، سیم پوزه باریک انگشت‌قد (*Megalobrama amblycephala*) برابر ۰/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم (Sesay et al., 2017)، میگوی ببری (*Penaeus monodon*) برابر ۱/۹-۲/۱ میلی‌گرم (Shiau and Huang, 2001a) و میگوی آب شیرین

مواد و روش‌ها *(Macrobrachium rosenbergii)* برابر ۲/۰

میلی‌گرم در کیلوگرم (Asaikkutti et al., 2016) اشاره کرد. با این وجود هیچ علامت

مشهود و آشکاری مبنی بر کمبود اسید فولیک در تیلاپپای دورگه جوان (Shiau and Aoe et al., 2001b) کپور معمولی (Huang, 2001b) و میگوی ببری (Shiau and Huang, 2001a) تغذیه شده با رژیم غذایی فاقد اسید فولیک گزارش نشد. اعتقاد بر این است که اسید فولیک از قسمت‌های بالایی روده کوچک بعد از این که زنجیره‌های جانبی پلی‌گلوکومات آن توسط میکروبیوتای روده به مونوگلوکومات هیدرولیز شد، جذب می‌شود (Duncan et al., 1993; Morgan and Baggott, 2006).

با وجود پژوهش‌های انجام شده روی گونه‌های مختلف، تاکنون تاثیر رژیم غذایی اسید فولیک بر تاس‌ماهی سیبری گزارش نشده است، از این رو با توجه به توسعه روزافزون پرورش ماهیان خاویاری در جهان و سرعت رشد بالای تاس‌ماهی سیبری و همچنین عدم وجود اطلاعات لازم درباره نیازهای ویتامینی این گونه، مطالعه حاضر با هدف بررسی اسید فولیک بر عملکرد رشد، برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی سرم بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری انجام گرفت.

ماهی و شرایط پرورش

این مطالعه در شرکت کاسپین کیان پاد (رودسر، گیلان) به مدت ۱۰ هفته انجام شد. بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) از یک مزرعه محلی ماهی (رودسر) تهیه و برای سازگاری به مدت دو هفته به حوضچه‌های سیمانی با حجم ۱۰۰۰ لیتر منتقل شدند. ماهیان طی دوره سازگاری به منظور تخلیه اسید فولیک احتمالی موجود در بافت‌های ذخیره‌ای با جیره غذایی پایه فاقد اسید فولیک تغذیه شدند.

در آغاز آزمایش، تعداد ۴۵۰ قطعه ماهی با میانگین وزن $4/36 \pm 0/18$ گرم به صورت تصادفی در ۱۸ حوضچه بتونی گرد (با حجم ۳۵۰ لیتر) در یک سیستم جریان مستقیم آب به میزان ۶/۵ لیتر در دقیقه رهاسازی شدند. کلیه حوضچه‌ها به طور جداگانه مجهز به ورودی، خروجی و هوادهی دائم برای حفظ اکسیژن آب در نزدیکی سطح اشباع بودند. ارتفاع آب در کلیه حوضچه‌ها به طور مساوی معادل $30/0 \pm 1/0$ سانتی‌متر در نظر گرفته شد و منبع تامین آن رودخانه سموش سفیدآب رودسر بود. دما، اکسیژن و pH آب محل پرورش طی دوره آزمایش به صورت هفتگی با دستگاه

ایران) سنجیده شد که مقادیر آن در جیره‌های مختلف شامل ۰/۶۰ (جیره پایه)، ۱/۶۳، ۲/۷۱، ۳/۵۹، ۴/۸۲ و ۵/۶۸ میلی‌گرم اسید فولیک در هر کیلوگرم از جیره غذایی بود.

ابتدا اجزای خشک جیره غذایی به خوبی آسیاب شد (کوچک‌تر از ۵۰۰ میکرومتر) و پس از توزین با استفاده از مخلوط کن به مدت ۳۵ دقیقه کاملاً مخلوط شد. در حالی که همچنان عملیات مخلوط کردن ادامه داشت، روغن ماهی کیلکا و سویا به آرامی اضافه شدند. سپس به تدریج آب به مواد مخلوط شده اضافه و اختلاط به مدت ۱۰ دقیقه دیگر ادامه یافت تا خمیر سفت شود و قوام یابد. سپس برای تهیه پلت، خمیر از دستگاه پلت‌زن با قطر منافذ ۲ میلی‌متر عبور داده شد. پلت‌های به دست آمده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در داخل دستگاه خشک‌کن حرارت داده شدند تا مقدار رطوبت آن‌ها به کمتر از ۱۰۰ گرم در کیلوگرم برسد. غذای آماده شده در این فرآیند تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد (سلحشوری و همکاران، ۱۳۹۶).

مولتی‌متر (TPS، 90FI-T، استرالیا) اندازه‌گیری شد. میانگین دما در طی دوره آزمایش 20.7 ± 0.6 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول 6.8 ± 0.14 میلی‌گرم در لیتر و pH 7.15 ± 0.7 بود. دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی (ساعت ۲۰-۸) و ۱۲ ساعت تاریکی طی دوره پرورش اعمال شد.

جیره و غذادهی

فرمولاسیون جیره غذایی پایه و ترکیب تقریبی به کار رفته برای بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. شش جیره غذایی آزمایشی ایزونیتروژنه ($473/2$ گرم در کیلوگرم) و ایزولیپیدی ($167/3$ گرم در کیلوگرم) با استفاده از اسید فولیک مکمل (Sigma Chemical، آمریکا) در مقادیر ۰، ۱/۵، ۲/۵، ۳/۵، ۴/۵ و ۵/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم فرموله و تهیه شد. غلظت فولات در جیره‌های آزمایشی با استفاده از روش میکروبی Ryu و همکاران (۱۹۹۴) با به کارگیری *Lactobacillus casei* (IBRC-M) 10711، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی

جدول ۱: اجزا و ترکیبات تقریبی جیره پایه برای بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

مقدار (گرم در کیلوگرم)	اجزای جیره*
۵۴۰/۰۰	پودر ماهی کیلکا
۱۸۰/۰۰	آرد گندم
۸۰/۰۰	آرد سویا
۵۰/۰۰	گلوتن ذرت
۵۰/۰۰	روغن ماهی
۴۰/۰۰	روغن سویا
۳۰/۰۰	سلولز
۱۵/۰۰	مخلوط ویتامین (فاقد اسید فولیک)**
۱۵/۰۰	مخلوط مواد معدنی***
ترکیب تقریبی	
۹۷/۷۳	رطوبت
۴۷۳/۲۸	پروتئین خام
۱۶۷/۳۲	چربی خام
۱۰۰/۲۹	خاکستر

*: پودر ماهی کیلکا از کارخانه پودر گیل (بندرانزلی)، آرد گندم از شرکت آرد طلایی (تهران)، آرد سویا و روغن سویا از شرکت صنایع بهپاک (بهشهر)، گلوتن ذرت شرکت مهشاد یزد (یزد) و روغن ماهی (روغن تصفیه شده کیلکا *Clupeonella cultriventris*) از کارخانه روغن خزر (بندرانزلی) تهیه شد.

** : مخلوط ویتامین: ویتامین A: ۱۶۰/۰۰۰ IU؛ ویتامین D₃: ۴۰۰/۰۰۰ IU؛ ویتامین K₃: ۲ گرم؛ ویتامین E: ۴۰ گرم؛ ویتامین B₁: ۶ گرم؛ ویتامین B₂: ۸ گرم؛ اسید پانتوتنیک: ۴۰ گرم؛ نیاسین: ۱۲ گرم؛ ویتامین B₆: ۴ گرم؛ ویتامین B₁₂: ۸ گرم؛ ویتامین C: ۶۰ گرم؛ اینوزیتول: ۲۰ گرم؛ بیوتین: ۲۴۰ گرم؛ همه اجزا با α - سلولز تا یک کیلوگرم رقیق شدند. *** : مخلوط مواد معدنی: سولفات روی: ۱۰ گرم؛ سولفات آهن: ۶ گرم؛ سولفات کبالت: ۰/۱۰ گرم؛ سلنیت سدیم: ۰/۴۴ گرم؛ سولفات مس: ۰/۶۰ گرم؛ یدید پتاسیم: ۰/۷۸ گرم؛ کولین کلرید: ۶ گرم؛ سولفات منگنز: ۵ گرم؛ همه اجزا با α - سلولز تا یک کیلوگرم رقیق شدند.

ماهیان سه بار در روز (در ساعت‌های ۷، ۱۵ دو ساعت قبل از مصرف خارج و در دمای اتاق و ۲۳) با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. غذاها یخ‌زدایی شدند و پس از متعادل شدن با دمای

اتاق توسط ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهیان قرار گرفت. میزان خوراک مصرفی در هر حوضچه به طور رزوانه ثبت شد.

جمع‌آوری نمونه و ارزیابی فنی پرورش

غذادهی پس از پایان دوره آزمایشی به مدت ۲۴ ساعت قطع شد. سپس ماهیان با پودر گل میخک (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش شدند (Falahatkar et al., 2014) تا وزن و طول آن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۱ گرم و با خط‌کش زیست‌سنجی با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شود. در نهایت شاخص‌های رشد و تغذیه شامل افزایش وزن (WG)، ضریب رشد نسبی (RGR)، نرخ رشد روزانه (DGC)، ضریب تبدیل خوراک (FCR) و نرخ بقا (SR) با استفاده از رابط‌های ۱ تا ۵ محاسبه شدند (Falahatkar et al., 2006؛ ۱۳۹۳).

رابطه ۱:

$$WG (g) = W_f - W_i$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۲:

$$RGR (\%) = (W_f - W_i) / W_i$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم).

رابطه ۳:

$$DGC (\%/day) = [(\sqrt[3]{W_f} - \sqrt[3]{W_i}) / t] \times 100$$

W_i : وزن اولیه (گرم)؛ W_f : وزن نهایی (گرم)؛ t : تعداد روزهای آزمایش.

رابطه ۴:

$$FCR = FI / (WG)$$

FI: غذای مصرف شده (گرم)؛ WG: افزایش وزن (گرم).

رابطه ۵:

$$SR (\%) = (N_f / N_i) \times 100$$

N_i : تعداد ماهیان در ابتدای؛ N_f : تعداد ماهیان در انتهای آزمایش.

تعداد ۵ قطعه ماهی از هر حوضچه به طور تصادفی برای گرفتن نمونه خون از ساقه دم با استفاده از سرنگ ۵ میلی‌لیتری پلاستیکی و تهیه سرم انتخاب شدند. نمونه خون‌های گرفته شده از ماهیان در هر تکرار به یک لوله هیپارینه منتقل و تا زمان بررسی‌های خون‌شناسی در جعبه حاوی یخ نگهداری شد. سپس نمونه‌ها برای جداسازی سرم به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (Sigma، آلمان) شدند. نمونه‌های سرم پس از انجماد در نیتروژن مایع، برای بررسی‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی سرم

فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) سرم با استفاده از بافر p- نیتروفنیل فسفات به عنوان بستر اندازه‌گیری شد (Snedeker and Greger, 1983). تعیین مقدار تری‌گلیسیرید، کلسترول و مالون دی‌آلدئید (MDA) سرم با استفاده از دستگاه آنالیزور بیوشیمیایی خودکار (Tokyo Boeki Medisys, Prestige 24i، ژاپن) و به وسیله کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) مطابق با پروتکل‌های شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون S- ترانسفراز (GST) سرم به روش Habig و Jakoby (۱۹۸۱) سنجیده شد. یک میلی‌لیتر محلول واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷/۴، EDTA ۱ میلی‌مولار، GSH ۲۰ میلی‌مولار و CDNB ۲۰ میلی‌مولار بود. واکنش با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از عصاره بافتی شروع شد و تغییرات جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 100 UV-Vis، آمریکا) خوانده شد. در نهایت فعالیت ویژه آنزیم برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Habig and Jakoby, 1981).

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس‌ها به ترتیب توسط آزمون‌های Kolmogorov-Smirnov و Levene بررسی شد. اختلاف بین تیمارها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) ارزیابی و از پس‌آزمون Tukey برای مقایسه میانگین‌های بین تیمارها استفاده شد. کلیه آزمون‌های آماری به وسیله نرم‌افزار SPSS 19 انجام گرفت. داده‌های درون متن نیز به صورت میانگین \pm انحراف معیار از سه تکرار ارائه شد. آزمون رگرسیون خط شکسته نیز برای تعیین نیاز تاس‌ماهی سیبری به اسید فولیک مورد استفاده قرار گرفت (Robbins et al., 2006).

نتایج

کارایی رشد و غذای مصرف شده

پس از ۸ هفته غذادهی، عملکرد رشد با توجه به شاخص ضریب رشد نسبی تاثیر معنی‌دار را بر تاس‌ماهیان سیبری تغذیه شده با جیره حاوی اسید فولیک به میزان ۲/۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم نشان داد (جدول ۲). نرخ رشد روزانه (DGC) نیز با افزایش سطح اسید فولیک به میزان ۲/۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم

افزایش و پس از آن به تدریج کاهش یافت ($P < 0/05$). از سوی دیگر، ضریب تبدیل خوراک (FCR) با افزایش سطح اسید فولیک جیره از ۰/۶۰ به ۲/۷۱ میلی‌گرم در کیلوگرم کاهش و پس از آن افزایش یافت ($P < 0/05$). در طی آزمایش‌ها، هیچ‌گونه تلفات یا ماهی بدحال در زمان تغذیه با جیره‌های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان نیاز به اسید فولیک بر اساس رگرسیون خط شکسته ارتباط آن با نرخ رشد

روزانه برابر ۱/۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم جیره به دست آمد (شکل ۱).

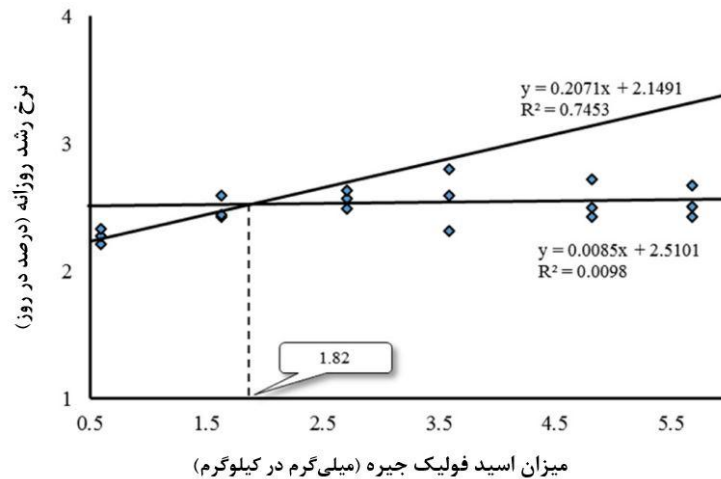
شاخص‌های بیوشیمیایی و اکسایشی

تاثیرات غلظت کلسترول، تری‌گلیسیرید، آلکالین فسفاتاز، گلوکوتیون S- ترانسفراز و مالون دی‌آلدئید در ماهیان تغذیه شده با غلظت‌های مختلف اسید فولیک در جدول شماره ۳ آمده است.

جدول ۲: عملکرد رشد و غذای مصرفی بچه ماهیان انگشت‌قد تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید فولیک به مدت ۵۶ روز (میانگین \pm انحراف معیار)

شاخص‌های رشد	جیره‌های آزمایشی اسید فولیک (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)					
	۰/۶۰ (شاهد)	۱/۶۳	۲/۷۱	۳/۵۹	۴/۸۲	۵/۶۸
وزن ابتدایی (گرم)	۴/۲۴ \pm ۰/۲۱	۴/۴۳ \pm ۰/۱۷	۴/۲۷ \pm ۰/۱۱	۴/۲۵ \pm ۰/۱۸	۴/۲۱ \pm ۰/۶۱	۴/۴۲ \pm ۰/۱۰
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۲۴ \pm ۰/۶۲ ^a	۲۳/۱۱ \pm ۰/۳۳ ^b	۲۳/۵۶ \pm ۰/۹۸ ^b	۲۱/۹۱ \pm ۱/۴۰ ^{ab}	۲۲/۲۴ \pm ۱/۱۹ ^{ab}	۲۱/۱۶ \pm ۰/۴۵ ^{ab}
افزایش وزن (گرم)	۱۱/۰۰ \pm ۰/۲۴ ^a	۱۸/۶۰ \pm ۰/۲۷ ^b	۱۹/۲۹ \pm ۰/۲۹ ^b	۱۷/۶۶ \pm ۰/۲۱ ^{ab}	۱۸/۰۴ \pm ۰/۲۰ ^b	۱۶/۷۴ \pm ۰/۳۹ ^{ab}
ضریب رشد نسبی	۱۴/۲۴ \pm ۰/۲۷ ^a	۲۲/۱۰ \pm ۰/۳۰ ^b	۲۲/۵۶ \pm ۰/۲۴ ^b	۲۰/۹۱ \pm ۰/۲۴ ^b	۲۱/۲۴ \pm ۰/۱۹ ^b	۲۰/۱۶ \pm ۰/۳۷
نرخ رشد روزانه (درصد/روز)	۱/۲۸ \pm ۰/۰۳ ^a	۲/۰۲ \pm ۰/۰۵ ^b	۲/۰۴ \pm ۰/۰۵ ^b	۱/۹۷ \pm ۰/۱۸ ^b	۲/۰۱ \pm ۰/۰۹ ^b	۱/۷۸ \pm ۰/۰۸ ^{ab}
ضریب تبدیل خوراک	۱/۱۹ \pm ۰/۰۵ ^b	۱/۱۲ \pm ۰/۰۴ ^{ab}	۱/۱۰ \pm ۰/۰۸ ^{ab}	۱/۱۰ \pm ۰/۰۶ ^{ab}	۱/۱۱ \pm ۰/۰۷ ^{ab}	۱/۰۲ \pm ۰/۰۴ ^a
نرخ بقا (درصد)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است ($P < 0/05$).



شکل ۱: رابطه بین نرخ رشد روزانه و سطوح مختلف اسید فولیک جیره غذایی بچه تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) در تیمارهای مختلف. هر لوزی نشان دهنده میانگین نرخ رشد روزانه ماهی در هر حوضچه آزمایشی است. میزان نیاز به اسید فولیک بر اساس آزمون رگرسیون خط شکسته برابر ۱/۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به دست آمد.

جدول ۳: شاخص‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی در سرم بچه ماهیان انگشت‌قد تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید فولیک به مدت ۵۶ روز (میانگین \pm انحراف معیار)

جیره‌های آزمایشی اسید فولیک (میلی‌گرم در کیلوگرم جیره)						شاخص‌ها
۵/۶۸	۴/۸۲	۳/۵۹	۲/۷۱	۱/۶۳	۰/۶۰ (شاهد)	
۲۶/۳۳ \pm ۴/۵۰	۲۴/۰۰ \pm ۲/۶۴	۲۹/۳۳ \pm ۷/۰۲	۲۵/۶۶ \pm ۲/۵۱	۳۰/۶۶ \pm ۵/۵۰	۲۵/۳۳ \pm ۶/۰۲	کلسترول (mg/dL)
۱۳۳/۶۶ \pm ۷/۰۹	۱۲۷/۶۶ \pm ۳/۸۷	۱۲۰/۶۶ \pm ۵/۶۸	۱۲۷/۳۳ \pm ۷/۰۹	۱۲۹/۰۰ \pm ۱۲/۴۹	۱۴۲/۶۶ \pm ۱۲/۲۲	تری‌گلیسیرید (mg/dL)
۴۴۸/۰۰ \pm ۲۱/۹۳	۴۴۱/۳۳ \pm ۱۲/۸۵	۴۳۳/۳۳ \pm ۱۷/۷۸	۴۶۱/۶۶ \pm ۱۰/۹۶	۴۷۳/۶۶ \pm ۱۰/۰۶	۴۷۰/۰۰ \pm ۲۰/۹۵	آلکالین فسفاتاز (U/L)
۲۸/۳۳ \pm ۲/۵۱	۳۱/۰۰ \pm ۴/۵۸	۲۹/۳۳ \pm ۳/۵۱	۲۷/۶۶ \pm ۷/۲۳	۲۷/۳۳ \pm ۳/۵۱	۲۹/۰۰ \pm ۳/۰۰	گلوکوتائیون-S-ترانسفراز (ng/mL)
۶۴/۰۰ \pm ۳/۶۰	۶۴/۳۳ \pm ۴/۵۰	۶۵/۶۶ \pm ۳/۷۸	۶۸/۰۰ \pm ۲/۴۴	۶۷/۳۳ \pm ۱/۵۲	۷۱ \pm ۴/۵۸	مالون دی‌آلدئید (μ mol/L)

در مورد آلکالین فسفاتاز اختلاف معنی‌داری فولیک مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). فعالیت آنزیم گلوکوتائیون S- ترانسفراز نیز تحت تاثیر در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید

میگوی آب شیرین (Asaikkutti et al., 2016) مطابقت دارد. اگرچه نیاز ضروری به ویتامین‌های گروه B در گونه‌های مختلف پرورشی مشخص شده است، اما کماکان کمبود اطلاعات در مورد گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری وجود دارد (Falahatkar, 2018). بر اساس میزان نرخ رشد روزانه (با توجه به آزمون رگرسیون خط شکسته)، مطلوب‌ترین میزان اسید فولیک در جیره غذایی بچه تاس‌ماهی سیبری در مطالعه حاضر ۱/۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره برآورد شد (شکل ۱). این مقدار بیشتر از حداقل میزان گزارش شده برای گونه‌های دیگر مانند ۰/۳-۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم برای قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان (Covey and Woodward, 1993)، ۰/۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم برای تیلاپیای دورگه جوان (Shiau and Huang, 2001b)، ۰/۸ میلی‌گرم در کیلوگرم برای ماهی هامور مالاباری جوان (Lin et al., 2011)، ۰/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم برای بچه ماهیان انگشت‌قد سیم‌پوزه باریک (Sesay et al., 2017)، ۰/۲۲-۰/۵۶ میلی‌گرم در کیلوگرم برای بچه ماهی انگشت‌قد کاتلا (Mohd Khan et al., 2020) بود، اما مشابه موارد گزارش شده برای آبزیان دیگر مانند ۲/۶۲ میلی‌گرم در کیلوگرم برای آبالون

غلظت‌های مختلف اسید فولیک جیره قرار نگرفت ($P > 0.05$). همچنین غلظت‌های مختلف اسید فولیک جیره غذایی نتوانستند تفاوت معنی‌داری را در شاخص‌های تری‌گلیسیرید، کلسترول و مالون دی‌آلدئید ایجاد کنند ($P < 0.05$).

بحث

مطالعه حاضر به وضوح نشان داد که عملکرد رشد بچه تاس‌ماهیان سیبری به طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت اسید فولیک جیره غذایی قرار گرفت و بالاترین میزان نرخ رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده با اسید فولیک به میزان ۵/۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره دیده شد ($P < 0.05$). به علاوه یافته‌های موجود بیان می‌کند که FCR روندی مخالف و متضاد از نرخ رشد روزانه را دنبال کرد، به همان گونه که در ماهی سیم‌پوزه باریک (Sesay et al., 2017) و ماهی هامور مالاباری جوان (Lin et al., 2011) دیده شده است. با توجه به عملکرد رشد بچه تاس‌ماهیان سیبری نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بازده و عملکرد خوراک با افزایش غلظت اسید فولیک جیره غذایی افزایش یافت که با گزارش‌های ارائه شده برای تیلاپیای دورگه جوان (Shiau and Huang, 2001b) و

است که ترکیب جیره غذایی و نحوه تغذیه می‌تواند بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهیان از جمله شاخص کلسترول و تری‌گلیسیرید تاثیر بگذارد (Mambrini and Kaushik, 1995; Regost et al., 1999). از سوی دیگر سطوح لیپیدهای سرم و از جمله مقادیر کلسترول و تری‌گلیسیرید تحت تاثیر چندین عامل مانند تولیدمثل، عوامل محیطی، فعالیت تغذیه‌ای و ترکیب جیره نیز قرار دارد، به طوری که تغییر در غلظت آن‌ها بازگو کننده سوخت و ساز در کبد است. افزایش بیش از حد آن‌ها بیانگر بی‌نظمی سوخت و ساز چربی‌ها و لیپوپروتئین‌ها به ویژه تخریب کارایی فیزیولوژیک کبد است (Kocamann et al., 2005).

با بررسی میزان کلسترول در تاس‌ماهیان سبیری انگشت‌قد تغذیه شده با سطوح مختلف اسید فولیک بیشترین میزان کلسترول (۳۰/۶۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و تری‌گلیسیرید (۱۴۲/۶۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به ترتیب در تیمارهای ۱/۶۳ و ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید فولیک جیره مشاهده شد. با این وجود، اختلاف معنی‌دار آماری در میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید ماهیان تغذیه شده در تیمارهای مختلف اسید فولیک مشاهده نشد ($P < 0.05$).

Miao et al., 2013)، ۲/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم برای میگوی آب شیرین (Asaikkutti et al., 2016)، بیش از ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم برای میگوی علفی (Shiau and Huang, 2001a)، ۲/۲۹ میلی‌گرم در کیلوگرم برای خرچنگ گوزنی چینی، (Wei et al., 2016) و ۵/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم برای بچه تاس‌ماهی شپ (نادری و همکاران، ۱۳۹۱) بود. هرچند دلیل اصلی این اختلاف بین گونه‌های آبی مشخص نیست، اما ثابت شده است که میکروبیوتای روده در بیوسنتز اسید فولیک از گوانوزین تری‌فسفات در دستگاه گوارش میزبان به دی‌هیدروفولات نقش دارد (Maynard et al., 2018; Engevik et al., 2019). از این رو مقدار بیشتر نیازمندی اسید فولیک در تاس‌ماهی سبیری ممکن است به جوامع میکروبی دستگاه گوارش در گونه‌های مختلف و به ویژه در ماهیان غضروفی و استخوانی مربوط باشد. هرچند مطالعات بیشتری برای توصیف دلایل اصلی مورد نیاز است.

سطوح غلظت کلسترول به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی وضعیت سلامت ماهیان مطرح است (Gul et al., 2011). ثابت شده

افزایش فعالیت آنزیم‌های کبدی در سرم از جمله آلکالین فسفاتاز نشانه آسیب سلول‌های کبدی است (Hyder et al., 2013). مقادیر بالای فعالیت AST و ALT نشان دهنده تضعیف یا آسیب در کبد است. سطح بالای آلکالین فسفاتاز در سرم نیز می‌تواند نشانه‌های مشابهی داشته باشد (Habte-Tsion et al., 2015). یافته‌های پژوهش حاضر هیچ تفاوت معنی‌داری در فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم در بین تیمارهای اسید فولیک و تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$) که به وضوح اثر اسید فولیک بر محافظت کبد را در بچه تاس‌ماهیان انگشت‌قد سیبری نشان می‌دهد. Ebaid و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که اسید فولیک جیره غذایی فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی را در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به حالت طبیعی بازگرداند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده در مطالعه بر موش‌های صحرایی مشابه بود. با این وجود، مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که اثر اسید فولیک بر روی آنزیم‌های کبدی را در سرم تاس‌ماهی سیبری گزارش می‌کند و از این رو نیاز به مطالعات بیشتری برای مقایسه داده‌ها وجود دارد. البته به نظر می‌رسد کاهش سطح آلکالین فسفاتاز به عنوان مهم‌ترین شاخص فعالیت‌های

پس از کاهش ذخایر گلیکوژنی، میزان گلوکز پلاسما نیز کاهش می‌یابد. بنابراین هورمون‌های اپی‌نفرین و گلوکاگون در پاسخ به مقادیر پایین گلوکز پلاسما ترشح می‌شوند. در اثر ترشح این هورمون‌ها فرآیند گلوکونئوژنز و لیپولیز فعال شده، منجر به تجزیه ذخایر در دسترس چربی‌ها یا همان تری‌گلیسریدها می‌شود (Larsson and Lewander, 1973). بنابراین اسیدهای چرب آزاد شده در اثر لیپولیز چربی‌ها وارد گردش خون می‌شوند. این اسیدهای چرب وارد چرخه اسید سیتریک می‌شود و انرژی تولید می‌کنند. در اثر این فرآیند تولید کلسترول نیز صورت می‌پذیرد (Palmegiano et al., 1993). با توجه به این که در مطالعه حاضر هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد از نظر میزان تری‌گلیسرید و کلسترول مشاهده نشد، به نظر می‌رسد مقادیر اسید فولیک کمتر از آن بوده است که سبب تغییرات ذخایر گلیکوژن، گلوکز و متعاقب آن تری‌گلیسرید و کلسترول شود. دلیل وجود نتایج متفاوت احتمالاً به گونه ماهی و فیزیولوژی هر گونه در تامین نیازهای زیستی در دوران تغذیه مربوط می‌شود (Weatherley and Gill, 1981).

GPx و GR مرتبط است که فعالیت آن‌ها تا حد زیادی به بیان ژن‌ها متکی است (Zhao et al., 2012). بنابراین کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از اسید فولیک ممکن است به دلیل کاهش محتوای GSH و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یاد شده تحت تاثیر بیان ژن‌های مربوطه باشد (Shi et al., 2015). با این وجود اظهار نظر در این مورد نیاز به مطالعات بیشتری در آینده دارد.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA) یکی از بهترین روش‌های پیش‌بینی آسیب اکسیداتیو است که اغلب همبستگی بسیار خوبی هم با شاخص‌های دیگر نشان می‌دهد (Latha and Pari, 2003; Jiang et al., 2010). نتایج مطالعه حاضر نشان داد سطوح مختلف اسید فولیک جیره نتوانست اختلاف معنی‌دار آماری را در سطح MDA در تاس‌ماهیان سیبری انگشت‌قد در بین تیمارهای مختلف ایجاد کند. با این وجود، بیشترین میزان MDA (۷۱ میکرومول بر لیتر) در تیمار ۰/۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مشاهده شد. بررسی‌های Akinsanya و همکاران (۲۰۱۰) و Ebaid و همکاران (۲۰۱۳) روی موش‌های تغذیه شده با جیره دارای مکمل اسید فولیک نشان داد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بهبود و فعالیت MDA

استئوبلاستیک در برخی از تیمارها می‌تواند به دلیل فقدان سلول‌های استخوان‌ساز در ماهیان خاویاری در مقایسه با ماهیان استخوانی باشد (Sabokbar et al., 1994)، اما این مورد هنوز کاملاً مشخص نیست و مطالعات بعدی را با مقادیر بالاتر اسید فولیک در جیره غذایی طلب می‌کند.

با بررسی میزان گلووتاتیون S- ترانسفراز (GSH) در تاس‌ماهیان سیبری انگشت‌قد تغذیه شده با سطوح مختلف اسید فولیک نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم (۳۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) در تیمار ۴/۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید فولیک جیره مشاهده شد. با این وجود، اختلاف معنی‌دار آماری در میزان گلووتاتیون S- ترانسفراز بین تیمارهای مختلف غذایی ثبت نشد ($P > 0.05$). نتایج به دست آمده از این مطالعه با نتایج مطالعه Shi و همکاران (۲۰۱۵) مغایر بود، به طوری که آن‌ها دریافتند سطح گلووتاتیون S- ترانسفراز در کپور علفخوار جوان به تدریج با افزایش سطح اسید فولیک در جیره غذایی تا سطح ۱/۰۳ میلی‌گرم در کیلوگرم افزایش و پس از آن به تدریج کاهش می‌یابد ($P < 0.05$) (Shi et al., 2015). آسیب اکسیداتیو به ترکیبات غیرآنزیمی مانند GSH و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، CAT، GST،

رادیکال هیدروکسیل را در طی اکسیداسیون خودکار هموسیستئین به هموسیستین یا دیگر ترکیبات سولفیددار تولید کند (Heydrick et al., 2004). پایین بودن مقدار MDA در برخی از تیمارها ممکن است به دلیل بالا بودن مقدار TBARS آن‌ها باشد (Zehra and Khan, 2020).

در مجموع مطالعه حاضر نشان داد که اسید فولیک جیره غذایی می‌تواند به طور معنی‌داری عملکرد رشد و مصرف خوراک تاس‌ماهیان سیبری را بهبود بخشد، در حالی که تأثیری بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی خون مانند سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و گلوکوتایون S-ترانسفراز نداشت. میزان نیاز به اسید فولیک بر اساس نرخ رشد روزانه برابر ۱/۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا به دست آمد.

کاهش می‌یابد که مغایر با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر است. MDA فراوان‌ترین آلدئیدی است که در نتیجه پراکسیداسیون لیپید ایجاد می‌شود و تعیین آن توسط مواد واکنش‌پذیر اسید تیوبایوتریک (TBARS) انجام می‌شود که از رایج‌ترین روش‌ها در مطالعات پراکسیداسیون لیپیدها است (Khoubnasabjafari et al., 2015). ثابت شده است جانورانی که با جیره‌های غذایی همراه با کمبود اسید فولیک تغذیه می‌شوند، تولید هموسیستئین را از چرخه متیلاسیون افزایش می‌دهند که باعث پراکسیداسیون لیپید می‌شود (Moat et al., 2003; Diez et al., 2005). هموسیستئین یک اسید آمینه حاوی سولفیدریل مشتق شده از متیلاسیون متیونین است که می‌تواند گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن، آنیون سوپراکسید و

منابع

- نادری م.، خارا ح. و یزدانی ساداتی م. ۱۳۹۵. تاثیر متقابل ویتامین C و اسیدفولیک بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی شیپ. فیزیولوژی و تکوین جانوری (علوم زیستی)، ۱۰(۱): ۶۷-۷۷.
- سلحشوری ا.، فلاحتکار ب. و عفت پناه ا. ۱۳۹۶. تاثیر سطوح پروتئین جیره بر عملکرد رشد و شاخصهای خونی بچه فیل ماهی. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۱): ۵۱-۶۲.
- فلاحتکار ب. ۱۳۹۳. تغذیه و جیره نویسی آبزیان. انتشارات موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، تهران. ۳۳۴ص.
- Ai Q., Mai K., Zhang C., Xu W., Duan Q., Tan B. and Liufu Z. 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 242: 489–500.
- Akinsanya M.A., Taiwo A.T., Gabriel A.O. and Musbau O.A. 2010. Effects of vitamin E and folic acid on some antioxidant enzymes activities of female Wistar rats administered combined oral contraceptives. *African Journal of Biochemistry Research*, 4: 238–242.
- Aoe H., Masuda I. and Takada T. 1967. Water-soluble vitamin requirements of carp. Requirement for folic acid. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 33: 1068–1071.
- Araujo M.M., Marchioni E., Bergaentzle M., Zhao M., Kuntz F., Hahn E. and Villavicencio A.L.C.H. 2011. Irradiation stability of folic acid in powder and aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4): 1244–1248.
- Asaikkutti A., Bhavan P.S. and Vimala K. 2016. Effects of different levels of dietary folic acid on the growth performance, muscle composition, immune response and antioxidant capacity of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 464: 136–144.
- Bailey S.W. and Ayling J.E. 2009. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(36): 154–249.
- Cowey C.B. and Woodward B. 1993. The dietary requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss*) for folic acid. Journal of Nutrition, 123(9): 1594–1600.
- Diez N., Perez R., Hurtado V. and Santidrian S. 2005.** Hyperhomocysteinaemia induced by dietary folate restriction causes kidney oxidative stress in rats. British Journal of Nutrition, 94: 204–210.
- Doroshov S.I., Moberg G.P., Van Eenennaam J.P. 1997.** Observations on the reproductive cycle of cultured white sturgeon (*Acipenser transomntanus* Richardson). Environmental Biology of Fishes, 48: 265–278.
- Duncan P.L., Lovell R.T., Butterworth Jr. C.E., Freeberg L.E. and Tamura T. 1993.** Dietary folate requirement determined for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Journal of Nutrition, 123(11): 1888–1897.
- Ebaid H., Bashandy S.A.E., Alhazza I.M., Rady A. and El-Shehry S. 2013.** Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. Nutrition and Metabolism, 10(1): 1–10.
- Engevik M.A., Morra C.N., Roth D., Engevik K., Spinler J.K., Devaraj S. and Versalovic J. 2019.** Microbial metabolic capacity for intestinal folate production and modulation of host folate receptors. Frontiers in Microbiology, 10: 1–17 (2305).
- Falahatkar B. 2018.** Nutritional requirements of the Siberian sturgeon: An updated synthesis. P: 207–228. In: Williot P., Nonnotte G., Vizziano-Cantonnet D. and Chebanov M. (Eds.). The Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869), Vol. 1: Biology. Springer, Switzerland.
- Falahatkar B., Akhavan S.R., Poursaeid S. and Hasirbaf E. 2014.** Use of sex steroid profiles and hematological indices to identify perinucleolus and migratory gonadal stages of captive Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (Brandt, 1869) females. Applied Ichthyology. 30(6): 1578–1584.
- Gazzali A.M., Lobry M., Colombeau L., Acherar S., Azais H., Mordon S. and Frochot C. 2016.** Stability of folic acid under several parameters. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 93: 419–430.
- Gisbert E. and Williot P. 2002.** Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon. Journal of Fish Biology, 60(5): 1071–1092.
- Gul Y., Gao Z.X., Qian X.Q. and Wang W.M. 2011.** Haematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus*

- Cantor, 1842). Journal of Applied Ichthyology, 27(1): 122–128.
- Habig W.T. and Jakoby W.B. 1981.** Glutathion S transferase (rat and human). Methods in Enzymology, 77: 218–231.
- Habte-Tsion H.M., Liu B., Ren M.C., Ge X.P., Xie J., Zhou Q.L., Miao L.H., Pan L.K. and Chen R. 2015.** Dietary threonine requirement of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). Aquaculture, 437: 304–311.
- Halver J.E. 1957.** Nutrition of salmonid fishes. III. Water soluble vitamin requirements of chinook salmon. Journal of Nutrition, 62: 225–243.
- Halver J.E. 1982.** The vitamins required for cultivated salmonids. Comparative Biochemistry and Physiology (B), 73(1): 43–50.
- Heydrick S.J., Weiss N., Thomas S.R., Cap A.P., Pimentel D.R., Loscalzo J. and Keaney J.F. 2004.** L-homocysteine and L-homocysteine stereo specifically induce endothelial nitric oxide synthase-dependent lipid peroxidation in endothelial cell. Free Radical Biology and Medicine, 36: 632–640.
- Hung S.S.O. 1991.** Hand Book of Nutrition Requirement of Finfish. CRS Press, USA. 204P.
- Hung S.S.O. and Deng D.F. 2002.** Sturgeon *Acipenser* spp. P: 344–357. In: Webster C.D. and Lim C. (Eds.). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, USA.
- Hyder M.A., Hasan M. and Mohieldein A.H. 2013.** Comparative levels of ALT, AST, ALP and GGT in liver associated diseases. European Journal of Experimental Biology, 3: 280–284.
- Jiang W.D., Feng L., Liu Y., Jiang J., Hu K., Li S.H. and Zhou X.Q. 2010.** Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of myo-inositol. Food Chemistry, 120(3): 692–697.
- Khoubnasabjafari M., Ansarin K. and Jouyban A. 2015.** Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. Bio Impacts, 5: 123–127.
- Kocamann E.M., Yanik T. Erdogan O. and Cilatas A.K. 2005.** Alteration in cholesterol, glucose and triglyceride level for reproduction of rainbow trout. Journal of Animal and Veterinary Advances, 4(9): 801–804.
- Koksal G., Rad F. and Kindir M. 2000.** Growth performance and feed conversion efficiency of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juvenile reared in concrete raceways. Turkish Journal of

- Veterinary and Animal Sciences, 24: 443–446.
- Larsson A. and Lewander K. 1973.** Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. Comparative Biochemistry and Physiology (A), 44: 367–374.
- Latha M. and Pari L. 2003.** Preventive effects of *Cassia auriculata* L. lowers on brain lipid peroxidation in rats treated with streptozotoci. Molecular and Cellular Biochemistry, 243: 23–28.
- Lin Y.H., Lin H.Y. and Shiau S.Y. 2011.** Dietary folic acid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and its effects on non-specific immune responses. Aquaculture, 317: 133–137.
- Mambrini M. and Kaushik S.J. 1995.** Indispensable amino acid requirements of fish: Correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins. Journal of Applied Ichthyology, 11: 240–247.
- Maynard C., Cummins I., Green J. and Weinkove D. 2018.** A bacterial route for folic acid supplementation. BMC Biology, 16(1): 1–10 (67).
- Miao S., Zhang W., Xu W. and Mai K. 2013.** Dietary folic acid requirement of juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino. Aquaculture 400-401, 73–76.
- Moat S.J., Hill M.H., McDowell I.F.W., Pullin C.H., Ashfield-Watt P.A.L., Clark Z.E., Whiting J.M., Newcombe R.G., Lewis M.J. and Powers H.J. 2003.** Reduction in plasma total homocysteine through increasing folate intake in healthy individuals is not associated with changes in measures of antioxidant activity or oxidant damage. European Journal of Clinical Nutrition, 57: 483–489.
- Mohd Khan Y. and Khan M.A. 2020.** Dietary folic acid requirement of fingerling catla, *Catla catla* (Hamilton). Aquaculture Nutrition, 26(4): 1035–1045.
- Morgan S.L. and Baggott J.E. 2006.** Anemias. P: 523–540. In: Heimburger D.C. and Ard J.D. (Eds.). Handbook of Clinical Nutrition. Mosby, USA.
- NRC. 2011.** Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academies Press, USA. 376P.
- Palmegiano G.M., Bianchini M., Boccignone M., Forneris G., Sicuro B. and Zoccarato I. 1993.** Effects of starvation and meal timing on fatty acid composition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Rivista Italian Aquaculture, 28: 5–11.
- Rad F., Koksal G. and Kindir M. 2003.** Growth performance and feed conversion ratio of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) at

- different dally feeding rates. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 24: 1085–1090.
- Ramamoorthy K. and Verma R.S. 2008.** Convergence pattern studies of folate receptor. *Bioinformation*, 3(4): 168–172.
- Regost C., Arzel J. and Kaushik J. 1999.** Partial or replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot. *Aquaculture*, 180: 99–177.
- Robbins K.R., Saxton A.M. and Southern L.L. 2006.** Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *Journal of Animal Science* 84, 155–165.
- Ronayi A. and Peteri A. 1990.** Comparison of growth rate of Sterlet, *Acipenser ruthenus* L., and hybrid of Sterlet × Lena river sturgeon, *Acipenser ruthenus* L. × *Acipenser baerii stenorhynchus* Nikolsky. *Aquaculture Hungarica*, 6: 185–192.
- Sabokbar A., Millett P.J., Myer B. and Rushton N. 1994.** A rapid, quantitative assay for measuring alkaline phosphatase activity in osteoblastic cells in vitro. *Bone and Mineral*, 27(1): 57–67.
- Sesay D.F., Habte-Tsion H.M., Zhou Q., Ren M., Xie J., Liu B. and Pan L. 2017.** The effect of dietary folic acid on biochemical parameters and gene expression of three heat shock proteins (HSPs) of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerling under acute high temperature stress. *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(4): 923–940.
- Shi L., Feng L., Jiang W.D., Liu Y., Jiang J., Wu P. and Zhou X.Q. 2015.** Folic acid deficiency impairs the gill health status associated with the NF-κB, MLCK and Nrf2 signaling pathways in the gills of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish and Shellfish Immunology*, 47(1): 289–301.
- Shiau S.Y. and Huang S.Y. 2001a.** Dietary folic acid requirement determined for grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 200(3): 339–347.
- Shiau S.Y. and Huang S.Y. 2001b.** Dietary folic acid requirement for maximum growth of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Fisheries Science*, 67(4): 655–659.
- Snedeker S.M. and Greger J.L. 1983.** Metabolism of zinc, copper and iron as affected by dietary protein, cysteine and histidine. *Journal of Nutrition*, 113: 644–652.
- Weatherley A.H. and Gill H.S. 1981.** Recovery following periods of restricted ration and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology*, 18: 195–208.
- Wei J.J., Zhang F., Tian W.J., Kong Y.Q., Li Q., Yu N. and Chen L.Q.**

- 2016.** Effects of dietary folic acid on growth, antioxidant capacity, non-specific immune response and disease resistance of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Milne-Edwards, 1853). *Aquaculture Nutrition*, 22(3): 567–574.
- Zehra S. and Khan M. 2020.** Dietary folic acid requirement of fingerling *Channa punctatus* (Bloch) based on growth, protein productive value and liver folic acid concentrations. *Animal Feed Science and Technology*, 262: 1–10 (114397).
- Zhao J., Liu Y., Jiang J., Wu P., Chen G.F. and Jiang W.D. 2012.** Effects of dietary isoleucine on growth, the digestion and absorption capacity and gene expression in hepatopancreas and intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 368: 117–128.



Research Paper

Effect of vitamin B₉ (folic acid) levels on growth and some serum biochemical indices and liver enzymes of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Farzin Jamalzad Falah¹, Houman Rajabi Islami^{2*}, Mehdi Shamsaie Mehrjan²

Received: September 2020

Accepted: November 2020

Abstract

To investigate the effect of dietary folic acid (FA) on growth performance, serum biochemical indices and liver enzymes status of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt 1896), six isonitrogenous and isolipidic experimental diets were formulated to contain graded levels of FA including 0.60, 1.63, 2.71, 3.59, 4.82 and 5.68 mg/kg. Each diet was fed to fish (4.36±0.18g) in a flow through water system for 8 weeks. Examined indices in this study included relative growth rate, daily growth coefficient, feed conversion ratio as well as amount of cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase activity, glutathione S-transferase and malondialdehyde. The results showed that the use of folic acid at the level of 2.71mg/kg increased the growth performance and daily growth coefficient of Siberian sturgeon and caused a statistically significant increase in daily growth percentage of fishes ($P < 0.05$). On the other hand, feed conversion ratio decreased with increasing dietary folic acid level from 0.60 to 2.71 mg/kg and then increased. No statistically significant difference was observed in the alkaline phosphatase activity of fish fed with different levels of folic acid ($P > 0.05$). Glutathione S-transferase activity was not affected by different concentrations of dietary folic acid. Furthermore, different concentrations of dietary folic acid could not make a statistically significant effect on the level of triglyceride, cholesterol and malondialdehyde ($P > 0.05$). The folic acid requirement of Siberian sturgeon based on the daily growth coefficient was estimated to be 1.65 mg/kg diet.

Key words: *Siberian Sturgeon, Folic Acid, Growth Performance, Biochemical Indices.*

1- Ph.D. in Fisheries, Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author: rajabi.h@srbiau.ac.ir