

اثر گلوتامین بر رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی در بچه تاس‌ماهیان سیبری (*Acipenser baerii*, Brandt 1869)

سامان درویشی^۱، حسین خارا^{۲*}، محدثه احمدنژاد^۳

تاریخ دریافت: مهر ۹۸

تاریخ پذیرش: اسفند ۹۸

چکیده

تاس‌ماهی سیبری گونه مناسبی برای آبی‌پروری است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر گلوتامین روی رشد و شاخص‌های خونی و ایمنی بچه تاس‌ماهی سیبری و آگاهی از مقادیر بهینه گلوتامین در شرایط پرورش به مدت ۸ هفته انجام شد. این بررسی روی ۱۲۶ قطعه ماهی با میانگین وزنی $45/71 \pm 7/56$ گرم در شش تیمار (شاهد، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) و سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های رشد وجود نداشت ($P > 0/05$). وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده از جیره محتوی ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره نسبت به تیمارهای دیگر در سطح بالاتری بود. بیشترین ضریب چاقی نیز در ماهیان تغذیه شده از جیره محتوی ۵ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره مشاهده شد. همچنین، اختلاف معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید، میزان هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، MCH، MCV، نوتروفیل و لیزوزیم وجود نداشت ($P > 0/05$)، اما لنفوسیت، مونوسیت، اتوزینوفیل، IgM و ایمونوگلوبین کل اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0/05$). گلوتامین تاثیر معنی‌داری در اکثر شاخص‌های خونی تاس‌ماهی سیبری نداشت، ولی افزایش شاخص‌های ایمنی مانند لنفوسیت، مونوسیت، ایمونوگلوبین کل و IgM مشاهده شد. به نظر می‌رسد که افزودن اسید آمینه گلوتامین به جیره پایه در این رده سنی و شرایط پرورشی ضرورتی نداشت و جیره پایه نیازهای ماهیان را برآورده کرده است.

واژگان کلیدی: گلوتامین، رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی، تاس‌ماهی سیبری.

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

۳- استادیار پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

* نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

معمول تجاری استفاده می‌کنند، از این رو آگاهی از نوع غذا و تغذیه ماهیان خاویاری ضروری است (Webster and Lim, 2002). در آینده سود به دست آمده از آبی‌پروری با توجه به عواملی مثل توانایی فرموله کردن دقیق جیره، عناصر غذایی و استفاده از مکمل‌های غذایی تعیین می‌شود (Gatlin, 2002). ماهیان خاویاری به دلیل داشتن ویژگی‌های زیستی منحصر به فرد دارای نیازهای غذایی متفاوتی نسبت به ماهیان گوشت‌خوار پرورشی دیگر هستند (مومن‌نیا و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی میزان مناسب پروتئین خالص در جیره غذایی ماهیان امری است که تاکنون کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Imanpoor and Bagheri, 2012). اسیدهای آمینه، اجزای اصلی پروتئین‌ها هستند. ماهیان تحت شرایط نبود غذای کافی، نیازمند درصد بالاتری از پروتئین در جیره غذایی هستند تا نیازهای انرژی متابولیک ماهی تامین شود (Lovell, 1998). تعیین سطح مناسب پروتئین در جیره غذایی به منظور استفاده بهینه و کاهش هزینه‌ها، ضروری است. زیرا استفاده بیش از حد از پروتئین سبب کاهش بازدهی پروتئین و افزایش غیرمعمول Brauge et al.,) قیمت جیره غذایی می‌شود.

امروزه بسیاری از گونه‌های تاس‌ماهیان به دلیل صید بیش از حد، صید غیرمجاز، آلودگی آب، تقاضای بازار و تخریب زیستگاه‌های طبیعی در معرض خطر انقراض قرار دارند (Gomulka et al., 2008). به منظور حفاظت از جمعیت‌های طبیعی و تامین تقاضای بالای خاویار، پرورش تاس‌ماهیان به یکی از شاخه‌های در حال توسعه آبی‌پروری تبدیل شده است (Balabanova et al., 2009) و در این بین، تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) از جمله گونه‌هایی است که از آینده خوبی برای پرورش در کشورهای اروپایی برخوردار هستند (Steffens et al., 1990; Rad et al., 2003) و گونه مناسبی برای استفاده در صنعت آبی‌پروری محسوب می‌شوند (Williot et al., 2001).

از آنجایی که جمعیت بشر و نیازهای غذایی آن رو به افزایش است، آبیان می‌توانند به عنوان یک ماده غذایی سالم، دارای ارزش غذایی بالا و ارزان قیمت، در مقایسه با مواد غذایی دیگر محسوب شوند. تهیه غذا یکی از مهم‌ترین عملیات در پرورش آبیان به شمار می‌آید (افشار مازندران، ۱۳۸۱). به دلیل آن که بیشتر پرورش‌دهندگان ماهیان خاویاری از جیره‌های

پورین و واسطه‌های مهم دیگر سلولی ضروری است (Nakajo et al., 2005; Wu et al., 2011). برای انتروسیت‌ها، گلوتامین به عنوان سوخت اصلی متابولیک بدن عمل می‌کند که دستگاه گوارش را به عنوان اندام اصلی استفاده از گلوتامین در حالت پس از جذب تبدیل می‌کند (Bartell and Batal, 2007; Rhoads and Wu, 2009; Wu et al., 2011). گلوتامین نه تنها از آتروفی مخاط روده جلوگیری می‌کند بلکه باعث رشد روده می‌شود و طول ویلی‌ها را در دوازدهه و ژژونوم افزایش می‌دهد (Yi et al., 2005; Zou et al., 2006; Bartell and Batal, 2007; Murakami et al., 2007; Wang et al., 2008; Soltan, 2009; Wu et al., 2011). اثرات سودمند گلوتامین‌ها منجر به افزودن این اسید آمینه به جیره می‌شود. گلوتامین اسید آمینه‌ای غیرضروری است اما در مواردی مانند درمان برخی بیماری‌های گوارشی می‌تواند ضروری باشد (Pohlenz et al., 2012a). در تلاش برای تبدیل بهتر پرورش جانوران به یک فعالیت موثرتر، گلوتامین می‌تواند نقش رو به رشدی داشته باشد. زیرا شواهد قانع کننده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد گلوتامین باید به عنوان یک اسید آمینه ضروری در نظر گرفته

(1995). از طرف دیگر، کم بودن آن نسبت به سطح مطلوب در جیره تاثیرات نامطلوبی از نظر اشتها، میزان مصرف غذا، رشد و کیفیت محصول و در نهایت بازده اقتصادی بر جای خواهد گذاشت (Lupatsch et al., 2001). پروتئین با بازده خوب به عنوان یک منبع انرژی توسط ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lovell, 2000). در صورت بالا بودن نسبت انرژی به پروتئین در جیره، مصرف غذا کاهش می‌یابد (Shiau and Huang, 1990). میزان پروتئین مورد نیاز جیره برای رشد ماهیان خاویاری ۴۵-۴۰ درصد تعیین شده است که این میزان در مورد تاس ماهی سیبری ۴۰ درصد است (Medale et al., 1995).

گلوتامین دارای نقش‌های فراوانی بر عملکرد حیاتی ماهیان است. وظایف اصلی گلوتامین ساخت پروتئین، تنظیم تعادل اسید و باز در کلیه با تولید آمونیوم، منبع انرژی برای سلول، به عنوان دهنده کربن در چرخه کربس و منتقل کننده غیرسمی آمونیاک در گردش خون است. (Waddell and Fredricks, 2005). گلوتامین نقش مهمی به عنوان تنظیم کننده متابولیسم سلولی ایفا می‌کند، به عنوان یک منبع انرژی برای تکثیر سلول‌ها عمل کرده، برای ساخت اسیدهای نوکلئیک، نوکلئوتیدهای پیریمیدین و

شود و در شرایط خاص فیزیولوژیکی لازم می‌شود (Wu et al., 2011).

تعیین نیازهای غذایی در مورد رشد و ایمنی برای حفظ بقا و افزایش جمعیت آبزیان دارای اهمیت است (عرب و همکاران، ۱۳۹۲). میزان تغذیه برای موفقیت پرورش مهم است (Deng et al., 2003). تعادل بین ترکیبات غذایی به منظور رشدی مناسب ضروری است (افشار مازندران، ۱۳۸۱). کیفیت بالای غذا و دفعات غذادهی مناسب سبب رشدی خواهد شد که مورد پذیرش پرورش‌دهنده است (Bureau et al., 2006). رشد و تبدیل غذایی دو عامل حیاتی است که حیات اقتصادی یک گونه را برای هم مقیاس آبی پروری و هم تلاش‌های بازسازی تعیین می‌کند (Hung et al., 1989).

خون نسبت به تغییرات بسیار حساس است (Stoskopf, 1993) که تحت تاثیر عوامل فیزیولوژیکی و آسیب‌شناسی، ترکیبات آن تغییر می‌کند (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷). ماهیان از سیستم ایمنی پیشرفته‌ای برخوردار هستند که به شدت متأثر از دمای آب است (Zapata et al., 1997) و به صورت اختصاصی و غیراختصاصی عمل می‌کند (Whyte, 2007).

تاکنون مطالعات گسترده‌ای درباره اثر اسیدهای آمینه روی رشد، شاخص‌های خونی و

ایمنی آبزیان مختلف انجام شده است که می‌توان به مطالعات پورعلی فشمی و همکاران (۱۳۹۳) روی اثر اسید آمینه آلانین بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بازماندگی بچه تاس‌ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) انگشت‌قد اشاره کرد که در این مطالعه مشخص شد وجود اسید آمینه آلانین برای بهبود عملکرد رشد و تغذیه بچه تاس‌ماهیان ضروری است. کرامت و ابولفضلی (۱۳۹۶) بیان کردند که اثرات متقابل اسید آمینه میتونین و آل‌کارنتین در مقادیر پایین تاثیر بهتری بر شاخص‌های رشد، ترکیب لاشه و برخی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دارند. قاسم‌زاده و همکاران (۱۳۹۷) مشخص کردند که اسید آمینه سیستئین بر شاخص‌های خونی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) در برابر آلودگی فلزات سنگین مس و روی تاثیر ندارد. Qiu- و Yan Zhou (۲۰۰۶) اثرات مثبت مکمل گلوتامین جیره بر عملکرد رشد و ساختار و عملکرد روده در ماهی کپور جوان (*Cyprinus carpio*) را گزارش کردند. Pohlenz و همکاران (۲۰۱۲b) اثرات مکمل‌های گلوتامین و آرژنین جیره روی سلول‌های ایمنی گربه‌ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) را بیان کردند. Pohlenz و

طول دوره دمای آب $17/1 \pm 0/9$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $7/8 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر و pH آب $7/5$ تا $7/8$ بود. سیستم پرورشی ماهیان به صورت باز بود و شرایط نوری آن به صورت فتوپریود طبیعی تنظیم شد. برای انجام این مطالعه ۱۲۶ قطعه بچه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با وزن اولیه $25/71 \pm 1/53$ گرم و طول اولیه $45/71 \pm 7/56$ سانتی‌متر تحت شرایط محیطی یکسان بین وان‌ها توزیع شدند. بعد از رقم‌بندی، ماهیان برای سازگاری با شرایط جدید محیطی (اکسیژن، دما و pH) به مدت ۱۵ روز با غذای کنسانتره ماهیان خاویاری تغذیه شدند (جدول ۱). طرح کلی این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و شامل ۶ تیمار، شاهد (فاقد گلوتامین)، تیمار ۱ (۵ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، تیمار ۲ (۱۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، تیمار ۳ (۱۵ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، تیمار ۴ (۲۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) و تیمار ۵ (۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) بود و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در این مطالعه از اسید آمینه گلوتامین با خلوص صد درصد (Biotech، آمریکا) استفاده شد و مقادیر اسید آمینه گلوتامین بر اساس مطالعه

همکاران (۲۰۱۲a) روی تاثیر مثبت مقادیر مختلف گلوتامین جیره غذایی بر مورفولوژی روده، اسیدهای آمینه پلاسما و عملکرد رشد در گربه‌ماهی کانالی جوان و Han و همکاران (۲۰۱۴) روی اثرات اسید آمینه گلوتامین بر شاخص‌های رشد، شاخص‌های خونی و فعالیت‌های اکسیداتیو در ماهی فلاندر ژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) اشاره کردند.

با توجه به تطبیق پذیری گلوتامین و اثرات مثبت فراوان، علاقه به استفاده آن در رژیم غذایی به منظور افزایش تولید تجاری ماهیان به طور قابل توجهی افزایش یافته است. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر سطوح مختلف گلوتامین جیره بر رشد و شاخص‌های خونی و ایمنی بچه تاس‌ماهیان سیبری انجام شد. هدف نهایی این بررسی تعیین سطح مطلوب گلوتامین جیره با توجه به شاخص‌های فوق است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۸ هفته در ۱۸ وان فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با استفاده از آب چاه مجموعه و آب رودخانه سفیدرود در بخش ونیروی مجتمع تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سنگر انجام شد. در

A: خاکستر (درصد)؛ W_{DA} : وزن ظرف با خاکستر؛ W_{DE} : وزن ظرف خالی؛ W_{DS_D} : وزن ظرف با نمونه خشک.

ترکیبات جیره غذایی مورد استفاده در این مطالعه در جدول ۱ و ترکیبات تقریبی جیره پایه در جدول ۲ آمده است. با توجه به اندازه ماهیان، غذادهی به میزان ۳ درصد وزن زی توده، به صورت دستی و در سه نوبت (در ساعت‌های ۷، ۱۵ و ۲۳) انجام شد. غذا در هنگام غذادهی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و در سطح وان‌ها توزیع می‌شد.

زیست‌سنجی ماهیان در طول ۸ هفته پرورش هر ۱۵ روز یک بار (در مجموع ۴ بار) به منظور اندازه‌گیری طول کل و وزن در تمام تیمارها و تکرارها و از کلیه ماهیان به صورت فردی انجام شد. به منظور کاهش استرس ماهیان هنگام زیست‌سنجی، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی غذادهی قطع می‌شد.

پس از زیست‌سنجی ماهیان، با گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتر عملیات خونگیری از سیاهرگ ساقه دمی صورت گرفت. ۰/۵ میلی‌لیتر خون به داخل تیوب‌های اپندروف آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) برای انجام مطالعات خون‌شناسی

Pohlenz و همکاران (۲۰۱۲b) انتخاب شد. برای راستی‌آزمایی دوباره آنالیز جیره پایه انجام شد. آنالیز پروتئین و خاکستر به ترتیب با دستگاه کج‌دال (Behr, BAP40, آلمان) و آنالیز چربی به وسیله دستگاه سوکسله (Behr, آلمان) و درصد رطوبت به وسیله آون و دسیکاتور در آزمایشگاه ویرومد رشت انجام شد و مقدار هر یک از آن‌ها طبق رابطه‌های ۱ تا ۴ محاسبه شد (AOAC, 1995).

رابطه ۱:

$$P(\%) = [(V_{H_2SO_4} \times 0.0028 \times 6.25) / W_S] \times 100$$

P: پروتئین (درصد)؛ $V_{H_2SO_4}$: حجم اسید سولفوریک مصرفی (میلی‌لیتر)؛ W_S : وزن نمونه.

رابطه ۲:

$$L(\%) = 100 - [(W_D - W_F) / W_S] \times 100$$

L: چربی (درصد)؛ V_D : وزن نمونه بعد از دسیکاتور (گرم)؛ V_F : وزن کاغذ صافی (گرم)؛ W_S : وزن نمونه اولیه.

رابطه ۳:

$$M(\%) = [(W_{DS_W} - W_{DS_D}) / (W_{DS_W} - W_{DE})] \times 100$$

M: رطوبت (درصد)؛ W_{DS_W} : وزن ظرف با نمونه تر؛ W_{DS_D} : وزن ظرف با نمونه خشک؛ W_{DE} : وزن ظرف خالی.

رابطه ۴:

$$A(\%) = [(W_{DA} - W_{DE}) / (W_{DS_D} - W_{DE})] \times 100$$

جدول ۱: ترکیبات جیره های غذایی مورد استفاده در آزمایش

تیمارها	شاهد	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	تیمار چهارم	تیمار پنجم
ترکیبات جیره	(g گلو تامین)	(۵g گلو تامین)	(۱۰g گلو تامین)	(۱۵g گلو تامین)	(۲۰g گلو تامین)	(۳۰g گلو تامین)
آرد ماهی (%)	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰
آرد گندم (%)	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰
شیر خشک (%)	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
کنجاله سویا (%)	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰
روغن ماهی (%)	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰
گلوتن ذرت (%)	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰
مخمر (%)	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰
مخلوط مواد معدنی (%)	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳
مخلوط مواد ویتامینی (%)	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷
گلو تامین (g/kg)	-	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۳۰

جدول ۲: ترکیبات تقریبی جیره پایه (میانگین \pm انحراف معیار)

رطوبت	خاکستر	پروتئین	چربی	فیبر
۱۴/۲ \pm ۰/۲ (%)	۲۰/۷ \pm ۱۰/۰	۴۹/۰ \pm ۰/۸	۱۴/۱ \pm ۰/۲	۲/۰ \pm ۰/۱

توسط سانتریفوژ (Heraeus, Labofuge 200) و اپندروف غیرهپارینه برای انجام مطالعات ایمنی ریخته شد و نمونه ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به دور از تکان های شدید به آزمایشگاه هماتولوژی و پرومدرشت ارسال شد. لازم به ذکر است در هنگام خون گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر روی سطوح شاخص های

خونی استفاده نشد (Torrecillas et al., 2011). جداسازی سرم از سلول های خونی و ۱/۵ میلی لیتر باقیمانده به داخل تیوب های

اپندروف غیرهپارینه برای انجام مطالعات ایمنی ریخته شد و نمونه ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به دور از تکان های شدید به آزمایشگاه هماتولوژی و پرومدرشت ارسال شد. لازم به ذکر است در هنگام خون گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر روی سطوح شاخص های خونی استفاده نشد (Torrecillas et al., 2011). جداسازی سرم از سلول های خونی و ۱/۵ میلی لیتر باقیمانده به داخل تیوب های

گلوبول های قرمز (RBC) و سفید (WBC) به کمک محلول رقیق کننده Rees و با ملانژور

میزان میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از رابطه‌های ۸ تا ۱۰ محاسبه شد (Houston, 1990).

رابطه ۸:

$$MCV (\text{fL}) = [\text{Hct} / \text{RBC (per million)}] \times 10$$

رابطه ۹:

$$MCH (\text{pg}) = [\text{Hb} / \text{RBC (per million)}] \times 10$$

رابطه ۱۰:

$$MCHC (\%) = (\text{Hb} / \text{Hct}) \times 100$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش‌های خونی تهیه شده با متانول ۹۶ درصد تثبیت و با محلول ۱۰ درصد گیمسا (Merck, آلمان) رنگ‌آمیزی شدند. شمارش انواع گلبول‌های سفید مانند نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها زیر میکروسکوپ به روش زیگزاگ انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994).

برای اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین M (IgM) با استفاده از روش ایمونوتوربیدیتری (Immunturbidimetry) که در آن آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال در محلول‌های تامپون تشکیل کمپلکس می‌دهند و باعث کدر شدن

و لام نئوبار شمارش شدند و تعداد آن‌ها با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ در هر میلی‌متر مکعب محاسبه شد (Klontz, 1994).

رابطه ۵:

$$\text{RBC (1/mm}^3\text{)} = X \times 10000$$

X: تعداد گلبول قرمز شمارش شده در ۵ مربع متوسط لام نئوبار.

رابطه ۶:

$$\text{WBC (1/mm}^3\text{)} = X \times 50$$

X: تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده در ۴ مربع بزرگ لام نئوبار.

اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb) به روش سیانمت هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico, 2100-VIS, آمریکا) با طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (Klontz, 1994) و بر اساس رابطه ۷ محاسبه شد (Blaxhall and Daisley, 1983).

رابطه ۷:

$$\text{Hb (g/dL)} = \text{OD}_s / \text{OD}_{st} \times C_{st}$$

OD_s: جذب نمونه مورد نظر؛ OD_{st}: جذب نمونه استاندارد؛ C_{st}: غلظت نمونه استاندارد.

اندازه‌گیری هماتوکریت (Hct) با لوله‌های میکروهماتوکریت و توسط میکروسانتریفیوژ (Hettich, آلمان) با دور ۷۰۰۰ rpm در مدت ۵ دقیقه انجام شد.

Siwicki and Anderson, 1993., Amar)
(et al., 2000).

رابطه ۱۱:

$$I_{gT} (\text{mg/mL}) = P_T - P_{PEG}$$

P_T : پروتئین کل در نمونه سرم (میلی گرم در میلی لیتر)؛ P_{PEG} : پروتئین کل تیمار شده با پلی اتیلن گلیکول (میلی گرم در میلی لیتر).

با توجه به اطلاعات طول و وزن به دست آمده از زیست سنجی ها، برای بررسی روند رشد ماهیان در تیمارهای مختلف، شاخص های رشد شامل نرخ رشد روزانه (GR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) با استفاده از رابطه های ۱۲ تا ۱۶ محاسبه شد (Merrifield et al., 2011).

رابطه ۱۲:

$$GR (\text{g/Day}) = (BW_f - BW_i) / n$$

BW_i : میانگین وزن اولیه (گرم)؛ BW_f : میانگین وزن نهایی (گرم). n: تعداد روزهای پرورش.

رابطه ۱۳:

$$BWI (\%) = [(BW_f - BW_i) / BW_i] \times 100$$

BW_i : میانگین وزن اولیه (گرم)؛ BW_f : میانگین وزن نهایی (گرم).

محلول می شوند، انجام شد. شدت کدورت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر با بلانک (آب مقطر) خوانده شد.

برای اندازه گیری سطوح لیزوزیم سرم خون، ۱/۷۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma-) Aldrich، آمریکا) (شاهد معادل مقدار ۰/۳۷۵ میلی گرم در میلی لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH برابر ۶/۲) با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه های سرم مخلوط و جذب نوری پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش طیف سنجی انجام شد و جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد (Ellis, 1977).

برای اندازه گیری غلظت ایمونوگلوبولین کل (I_{gT}) ۰/۱ میلی لیتر از نمونه سرم با ۰/۱ میلی لیتر محلول پلی اتیلن گلیکول (Sigma-) Aldrich، آمریکا) ۳۲ درصد مخلوط و به مدت ۲ ساعت برای رسوب مولکول ایمونوگلوبولین آنکوباسیون شد. رسوب ایمونوگلوبولین توسط سانتریفیوژ (Eppendorf, 5415R، آلمان) در ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. مقدار ایمونوگلوبولین مطابق رابطه ۱۱ محاسبه شد

رابطه ۱۴:

$$SGR (\%/day) = [(LnW_f - LnW_i) / t] \times 100$$

W_i : میانگین زی توده اولیه (گرم)؛ W_f : میانگین زی توده نهایی (گرم)؛ t : تعداد روزهای پرورش (روز).

رابطه ۱۵:

$$CF = (BW / TL^3) \times 100$$

BW : میانگین وزن نهایی بدن (گرم)؛ TL : میانگین طول کل نهایی (سانتی متر).

رابطه ۱۶:

$$FCR = F / (W_f - W_i)$$

F : مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی (گرم)؛ W_i : میانگین زی توده اولیه (گرم)؛ W_f : میانگین زی توده نهایی (گرم).

نتایج

طبق نتایج به دست آمده، بر اساس آزمون تحلیل واریانس یک طرفه هیچ گونه اختلاف معنی داری در شاخص های رشد وجود نداشت ($P > 0.05$). با این حال، بهترین عملکرد وزن نهایی، طول نهایی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ رشد روزانه در تیمار پنجم (۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) و بهترین عملکرد ضریب چاقی در تیمار اول (۵ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) مشاهده شد. در مقابل، ضعیف ترین عملکرد وزن نهایی، طول نهایی، ضریب چاقی، درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه و نرخ رشد روزانه مربوط به تیمار چهارم (۲۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) بود (جدول ۳).
طبق نتایج به دست آمده، بر اساس آزمون واریانس یک طرفه هیچ گونه اختلاف معنی داری در تعداد گلبول های قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV ، MCH ، $MCHC$ ، نوتروفیل و لیزوزیم وجود نداشت ($P > 0.05$). همچنین، بر اساس آزمون واریانس یک طرفه لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل، IgM و ایمونوگلوبولین کل دارای اختلاف معنی دار بودند ($P < 0.05$). بیشترین تعداد گلبول های

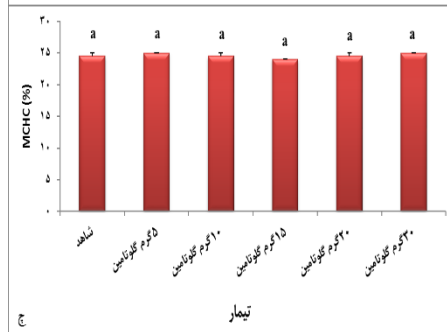
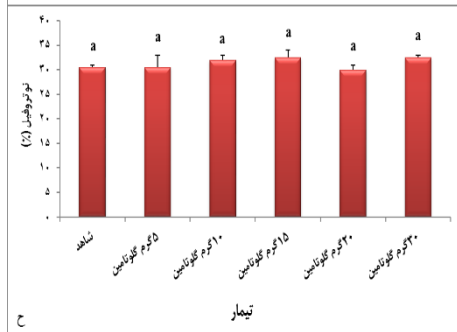
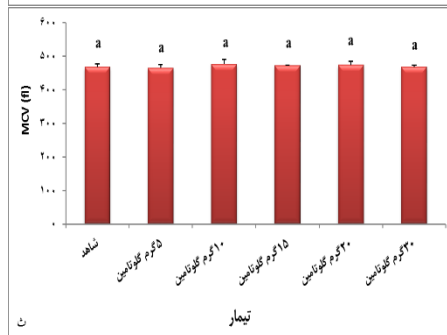
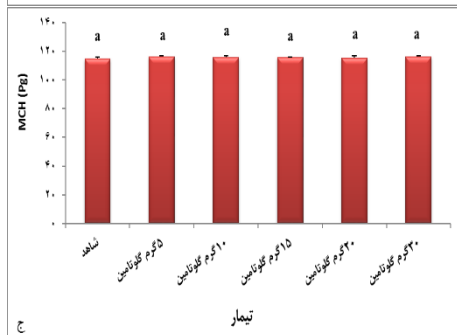
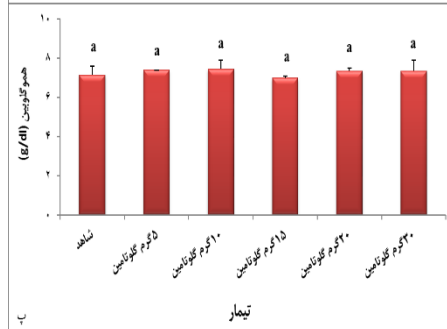
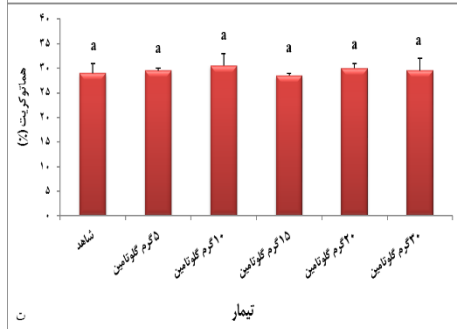
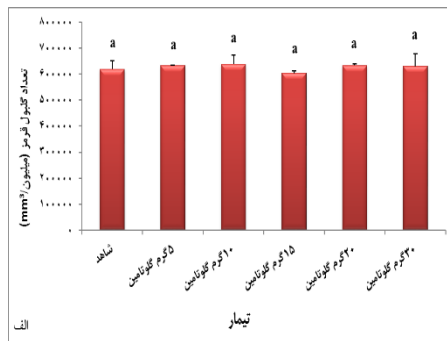
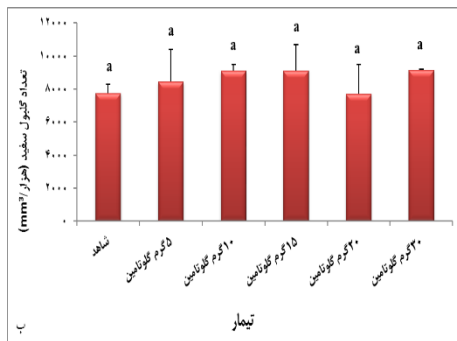
برای تجزیه و تحلیل کلیه داده ها از نرم افزار SPSS 18 و برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد. داده ها ابتدا برای اطمینان از نرمال بودن با آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شدند. به دلیل نرمال بودن توزیع داده ها، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ابتدا اختلاف کلی بین میانگین ها مشخص و سپس با استفاده از پس آزمون دانکن (Duncan) گروه ها از یکدیگر تفکیک شدند.

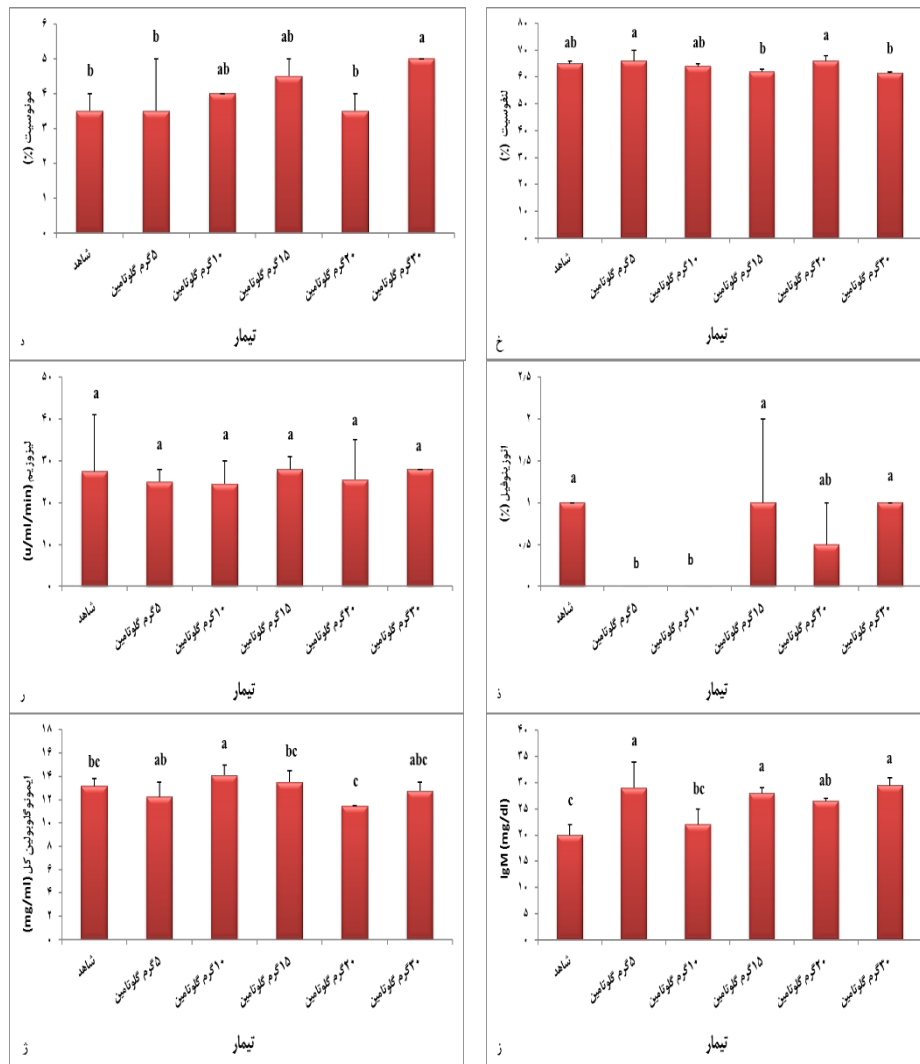
قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV و ایمونوگلوبولین کل در تیمار دوم (۱۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، گلوتامین در هر کیلوگرم جیره، بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و مونوسیت در تیمار پنجم (۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، بیشترین لنفوسیت در تیمارهای اول و چهارم (۵ و ۲۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، بیشترین MCH، MCHC و IgM در تیمارهای اول و پنجم (۵ و ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، بیشترین نوتروفیل و لیزوزیم در تیمارهای سوم و پنجم (۱۵ و ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) و بیشترین ائوزینوفیل در تیمارهای شاهد، سوم و پنجم (۰، ۱۵ و ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) مشاهده شد. در مقابل، کمترین MCH و IgM در تیمار شاهد، کمترین MCV در تیمار اول (۵ گرم گلوتامین

در هر کیلوگرم جیره)، کمترین لیزوزیم در تیمار دوم (۱۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، کمترین تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC در تیمار سوم (۱۵ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، کمترین تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل و ایمونوگلوبولین کل در تیمار چهارم (۲۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، کمترین ائوزینوفیل در تیمارهای اول و دوم (۵ و ۱۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره)، کمترین لنفوسیت در تیمارهای سوم و پنجم (۱۵ و ۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) و کمترین مونوسیت در تیمارهای شاهد، اول و چهارم (شاهد، ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۳: مقایسه شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)

شاخص‌های رشد	تیمارها (گلوتامین)	شاهد (گلوتامین)	تیمار اول (۵g گلوتامین)	تیمار دوم (۱۰g گلوتامین)	تیمار سوم (۱۵g گلوتامین)	تیمار چهارم (۲۰g گلوتامین)	تیمار پنجم (۳۰g گلوتامین)
وزن نهایی (g)	۱۵۰/۰۰ \pm ۲۱/۴۸	۱۵۲/۸۶ \pm ۳۰/۴۳	۱۵۲/۸۶ \pm ۳۰/۴۳	۱۴۸/۲۱ \pm ۲۱/۴۵	۱۵۰/۳۶ \pm ۲۵/۳۸	۱۴۶/۷۹ \pm ۲۲/۲۴	۱۵۷/۵۰ \pm ۲۷/۲۳
طول نهایی (cm)	۳۵/۲۹ \pm ۲/۳۶	۳۵/۲۹ \pm ۲/۳۶	۳۵/۳۲ \pm ۲/۲۳	۳۵/۵۴ \pm ۱/۲۲	۳۵/۵۴ \pm ۱/۸۱	۳۵/۰۴ \pm ۲/۲۱	۳۶/۱۴ \pm ۱/۶۸
ضریب چاقی (%)	۰/۳۴ \pm ۰/۰۲۵	۰/۳۴ \pm ۰/۰۲۵	۰/۳۵ \pm ۰/۰۰۸	۰/۳۳ \pm ۰/۰۱۲	۰/۳۳ \pm ۰/۰۰۸	۰/۳۲ \pm ۰/۰۲۰	۰/۳۳ \pm ۰/۰۰۴
درصد افزایش وزن بدن (%)	۲۲۸/۱۰ \pm ۴/۴۲	۲۲۸/۱۰ \pm ۴/۴۲	۲۳۴/۴۰ \pm ۱۹/۸۹	۲۳۴/۲۰ \pm ۲۰/۹۹	۲۲۸/۹۰ \pm ۲۹/۸۳	۱۹۹/۲۰ \pm ۴۰/۸۸	۲۴۴/۵۳ \pm ۹/۹۴
ضریب تبدیل غذایی	۱/۳۷ \pm ۰/۰۲	۱/۳۷ \pm ۰/۰۲	۱/۳۲ \pm ۰/۰۶	۱/۳۸ \pm ۰/۰۷	۱/۳۵ \pm ۰/۰۵	۱/۴۹ \pm ۰/۱۵	۱/۲۴ \pm ۰/۱۲
ضریب رشد ویژه (//Day)	۱/۹۸ \pm ۰/۰۲	۱/۹۸ \pm ۰/۰۲	۲/۰۱ \pm ۰/۰۹	۱/۹۶ \pm ۰/۱۱	۱/۹۸ \pm ۰/۱۵	۱/۸۲ \pm ۰/۲۳	۲/۰۶ \pm ۰/۰۵
سرعت رشد روزانه (g/Day)	۳/۸۰ \pm ۰/۰۷	۳/۸۰ \pm ۰/۰۷	۳/۹۱ \pm ۰/۳۳	۳/۷۴ \pm ۰/۳۵	۳/۸۲ \pm ۰/۴۹	۳/۳۲ \pm ۰/۶۸	۴/۰۸ \pm ۰/۱۷





شکل ۱: شاخص های خونی و ایمنی در تیمارهای مختلف گلو تامین (میانگین \pm انحراف معیار). الف) تعداد گلبول قرمز. ب) تعداد گلبول سفید. پ) هموگلوبین. ت) هماتوکریت. ث) MCV. ج) MCH. چ) MCHC. ح) نوتروفیل. خ) لنفوسیت. د) مونوسیت. ذ) اتوزینوفیل. ر) لیزوزیم. ز) IgM. ژ) ایمونوگلوبولین کل. حروف متفاوت در نمودارها نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است ($P < 0.05$).

بحث

ایجاد یک تعادل بین سرعت رشد ماهی و استفاده بهینه از غذا مسئله‌ای مهم در صنعت آبزی‌پروری است (Bureau et al., 2006). جیره‌های با مکمل گلوتامین موجب بهبود افزایش وزن و بازده بالای خوراک در گونه‌های مختلف پرندگان و پستانداران می‌شود (Bartell and Batal, 2007; Soltan, 2009; Wu et al., 2011). گلوتامین به عنوان یک پیش‌ماده ضروری برای ساخت پروتئین‌ها، پورین‌ها، پریمیدین‌ها، NAD و قندهای آمینه به کار می‌رود (Wu et al., 1994).

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر روی تاس‌ماهی سیبری پرورشی نشان داد که شاخص‌های رشد در هیچ کدام از تیمارهای مورد بررسی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). این نتایج بیان‌گر این مطلب است که سطوح مختلف گلوتامین روی هیچ کدام از شاخص‌های رشد نتوانسته تاثیر معناداری بگذارد. با این حال، نتایج بیان‌گر این مهم است که بیشترین مقادیر در شاخص‌های رشد متعلق به تیمار پنجم (۳۰ گرم گلوتامین در هر کیلوگرم جیره) بود. تاثیرات حاصل از جیره‌های غذایی حاوی مکمل گلوتامین در گونه‌های مختلف ماهیان گزارش شده است. از

جمله این تاثیرات می‌توان به بهبود در افزایش وزن، بازده بالای خوراک، وزن روده، ساختارهای بافت‌شناسی و یا فعالیت آنزیم‌های گوارشی اشاره کرد که برای بچه کپور ماهی (Yan and Qiu-Zhou, 2006)، ماهیان خاویاری دورگه *Acipenser schrenckii* × *Huso dauricus* (Qiyou et al., 2011) و گربه‌ماهی کانالی (Pohlenz et al., 2012a) اشاره کرد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Pohlenz و همکاران (۲۰۱۲ا) که به بررسی اثرات سطوح مختلف گلوتامین روی شاخص‌های رشد گربه‌ماهی کانالی پرداختند مطابقت دارد. به طوری که در هیچ کدام از مقادیر آزمایشی روی گربه‌ماهی کانالی هیچ گونه تاثیر معناداری روی درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی گزارش نشد. نتایج مطالعه Han و همکاران (۲۰۱۴) روی اثرات سطوح مختلف گلوتامین بر شاخص‌های رشد ماهی فلاندر ژاپنی نشان داد که مقادیر آزمایشی هیچ گونه تاثیر معناداری بر شاخص‌های رشد نداشتند که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. Cai و Burtle (۱۹۹۶) بیان کردند که در ارتباط با احتیاجات اسید آمینه در ماهیان، گاهی ممکن است که اثرات اسیدهای آمینه بر رشد تا آخرین مراحل آزمایش ظاهر نشود. تاس‌ماهی سیبری یک ماهی کفزی بوده،

بیان‌گر وجود بیشترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن و شاخص رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با ۳ درصد آلانین بود که با تیمارهای محتوی آلانین ۱ درصد، تیمار شاهد و جیره محتوی منابع پروتئینی گیاهی و جانوری برابر، برتری معنی‌دار آماری نشان داد (پورعلی فشتمی و همکاران، ۱۳۹۳). در مطالعه حاضر نیز با وجود عدم وجود اختلاف معنی‌دار در شاخص‌های رشد، تیمار دارای بالاترین مقادیر گلوتامین دارای بالاترین مقادیر شاخص‌های رشد بود. پیک‌موسوی و همکاران (۱۳۸۹) بیان کردند که سطوح مختلف متیونین تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و تغذیه فیل‌ماهی (*Huso huso*) نداشت. مطالعات نشان می‌دهد که قابلیت جذب مکمل اسیدهای آمینه کریستاله بسیار سریع‌تر از سایر اسیدهای آمینه موجود در منابع پروتئینی است. بنابراین، ماهیانی که از جیره‌های خالص تغذیه کردند نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره‌های کاربردی دارای رشد ضعیف‌تر و کارایی غذای پایین‌تری بودند (Bicudo et al., 2009). در آبی‌پروری تلاش می‌شود تا با بالا بردن تعداد دفعات غذایی (بیش از ۴ بار) کارایی هضم اسیدهای آمینه کریستاله افزایش یابد (Polat, 1999). تغییر مقادیر اسیدهای آمینه مورد نیاز

از بینایی نسبتاً پایینی برخوردار است و ضرورتاً قدرت بویایی و چشایی بالایی دارد و بیشتر غذای خود را با استفاده از حس چشایی پیدا می‌کند، به غذا حمله نمی‌کند و حرکت آهسته آن‌ها وابسته به شکل دینامیکی خاص بدن است (Gershanovich and Taufik, 1992). Ronyai و همکاران (۲۰۰۱) به منظور جایگزینی پروتئین جانوری جیره ماهیان خاویاری سیبری با وعده سویای پرچرب و اسیدهای آمینه سنتزی دریافتند که بیشترین نتایج شاخص‌های رشد مربوط به ماهیانی بود که از جیره حاوی پودر ماهی و گوشت تغذیه می‌شدند و در جیره‌هایی که با اسیدهای آمینه آزاد مکمل شده بودند، رشد کمتری را شاهد بودند. هر چند که این تفاوت‌ها معنادار نبود اما علت این امر را اثر منفی میزان بالای اسید آمینه آزاد در جیره عنوان کردند، فرضیه‌ای که از این مطالعه استنباط شد این است که اسیدهای آمینه آزاد سریع‌تر از اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها تجزیه می‌شوند و در نتیجه در ساخت پروتئین بدن شرکت نمی‌کنند و یا این که ممکن است اسیدهای آمینه آزاد به حد کافی مورد استفاده تاس ماهیان نباشند (Ronyai et al., 2001). نتایج به دست آمده از بررسی تاس ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*)

برای گونه‌ها به ترکیبات جیره، اندازه و سن ماهی، رژیم غذایی، شرایط پرورش و تغییرات ژنتیکی گونه بستگی دارد (Mai et al., 2006). افزایش متیونین در جیره‌های غذایی هامورماهیان جوان (*Epinephelus coioides*) از سطح ۱/۳۴ درصد به ۱/۸۱ درصد تاثیری در شاخص نرخ رشد ویژه و وزن نداشت (Luo et al., 2005). عدم سینرژیستی (هم‌افزایی) مجموعه‌ای از اسیدهای آمینه می‌تواند علت ناکارآمدی جیره باشد (پورعلی فشمی و همکاران، ۱۳۹۳).

شاخص‌های خونی و سرمی ماهیان شاخص مهمی در پاسخ به مکمل‌های غذایی هستند (Kavitha et al., 2010). مطالعه شاخص‌های خونی سبب شناخت وضعیت سلامتی (Bani and Haghi-Vayghan, 2011) و فیزیولوژی آبی (Hued and Bistoni, 2002) می‌شود.

با اندازه‌گیری شاخص‌های خونی در طول دوره پرورش در مطالعه حاضر، مشخص شد که در برخی شاخص‌ها، اثر گلوتامین بر این شاخص‌ها معنی‌دار بود. گلوتامین دارای اثراتی روی سیستم ایمنی مهره‌داران عالی است (Li et al., 2007). از جمله این اثرات می‌توان به افزایش فاگوسیتوز و کشتار باکتریایی (Newsholme, 2001)، تکثیر لنفوسیت

(Choi et al., 2009)، تولید سیتوکین (Newsholme, 2001) و افزایش تولید ایمونوگلوبولین، لیزوزیم و کمپلمان‌های C₄ و C₃ (Tayade et al., 2006) اشاره کرد. نتایج مطالعه حاضر درباره شاخص‌های خونی با نتایج Han و همکاران (۲۰۱۴) که اثرات گلوتامین را روی شاخص‌هایی چون گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین در ماهی فلاندر ژاپنی مورد بررسی قرار دادند، مطابقت دارد. آن‌ها بیان کردند که هیچ اختلاف معناداری در بین هیچ کدام از شاخص‌های یاد شده در سطوح مختلف گلوتامین وجود نداشت (Han et al., 2014). طبق نتایج مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۱۱) روی اثرات گلوتامین بر سرم، ایمنی غیراختصاصی ماهی خاویاری هیبرید *Acipenser schrenckii* × *Huso dauricus* میزان لیزوزوم، IgM، C₄ و C₃ در مقادیر بالای گلوتامین دارای بیشترین میزان بود. قاسم‌زاده و همکاران (۱۳۹۷) با بررسی اثر اسید آمینه سیستمین بر شاخص‌های خونی ماهی کفال خاکستری در برابر آلودگی فلزات سنگین مس و روی بیان کردند که اسید آمینه سیستمین بر شاخص‌های خونی این ماهی تاثیرگذار نبود. نتایج مطالعه Pohlenz و همکاران (۲۰۱۲b) روی تاثیر گلوتامین در گربه‌ماهی کانالی نشان

پنجم (۳۰ گرم گلوتامین در کیلوگرم جیره) دیده شد. با این حال، این اسید آمینه تاثیر معنی‌داری در بیشتر شاخص‌های خونی تاس‌ماهی سیبری نداشت ولی افزایش شاخص‌های ایمنی مانند لنفوسیت، مونوسیت، ایمنوگلوبین کل و IgM مشاهده شد. البته، برای تایید این نتایج آزمایش‌های بیشتری مورد نیاز است. به نظر می‌رسد که افزودن اسید آمینه گلوتامین به جیره پایه در این رده سنی و شرایط پرورشی ضرورتی نداشته باشد و جیره پایه نیازهای ماهیان را برآورده کرده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین آزمایشگاه ویرومد رشت که در به ثمر نشستن این مطالعه تلاش نموده‌اند، ابراز می‌دارند.

داد که گلوتامین باعث افزایش تکثیر بهینه لنفوسیت‌ها و ماکروفاژکننده‌ها شد. استفاده از اسید آمینه متیونین در پرندگان شواهد واضحی از ظرفیت‌های تحریک کننده سیستم ایمنی نشان داد و پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال را بهبود بخشید (Jankowski et al., 2014). استفاده از اسید آمینه متیونین در ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) نشان داد که مکمل غذایی متیونین وضعیت ایمنی باس دریایی را بدون فعال شدن مکانیسم‌های پیش التهابی بهبود بخشید (Machado e al., 2018).

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که اگرچه افزودن اسید آمینه گلوتامین در جیره غذایی تاس‌ماهی سیبری به دلیل وزن بالای بچه ماهیان (وزن اولیه حدود ۵۰ گرم) تاثیر معناداری روی شاخص‌های رشد نداشت ولی بیشترین مقادیر شاخص‌های رشد در تیمار

منابع

- افشار مازندران ن. ۱۳۸۱. راهنمای علمی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. چاپ سما رنگ، ۲۱۶ص.
- پورعلی فشتمی ح.، بهمنی م.، شکوریان م.، حسنی س. ح. و یارمحمدی م. ۱۳۹۳. مطالعه اثر اسید آمینه آلانین بر شاخص‌های رشد، تغذیه و بازماندگی بچه تاس‌ماهیان ایرانی (*Acipenser persicus*) انگشت‌قد. نشریه توسعه آبی‌پروری، ۸(۱): ۳۳-۱۹.
- پیک‌موسوی م.، بهمنی م.، سواری ا.، محسنی م. و حقی ن. ۱۳۸۹. بررسی سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه فیل‌ماهیان جوان (*Huso huso*). نشریه تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک، ۲۴(۴): ۱۹-۱۲.
- جمال‌زاده ح.، کیوان آ.، عریان ش. و قمی مرزدشتی م. ر. ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهی آزاد دریای مازندران (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۳): ۴۷-۵۴.
- عامری مهابادی م. ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۲۶ص.
- عرب ن.، رجبی‌اسلامی ه. و شمسایی‌مهرجان م. ۱۳۹۲. تاثیر ویتامین C در میزان بقا و شاخص‌های رشد بچه ماهی آزاد دریای مازندران (*Salmo trutta caspius*). مجله منابع طبیعی ایران، ۶۶(۳): ۳۳۱-۳۴۶.
- قاسم‌زاده ج.، نوروزی ز.، سینایی م.، زاده‌عباس شاه‌آبادی ح. و ملاحی‌دولابی ف. ۱۳۹۷. بررسی اثر اسید آمینه سیستئین بر پارامترهای خونی ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus* L. در برابر آلودگی فلزات سنگین مس و روی. نشریه علمی پژوهشی پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۶(۱): ۱۰۵-۱۲۲.
- کرامت ع. و ابولفضلی آ. ۱۳۹۶. اثرات متقابل اسید آمینه میتونین و آل‌کارنتین بر پارامترهای رشد، ترکیب لاشه و برخی پارامترهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۶(۳): ۱۱۸-۱۰۵.
- مومن‌نیا م.، آرین‌نژاد غ. ر.، مینوفر ک.، بهشتی سرشت ن.، هادی برادران طهوری ه. و متین‌فر م. ۱۳۸۹. تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، معرفی زمینه‌های سرمایه‌گذاری در زیربخش شیلات. سازمان شیلات ایران. ۷۴ص.
- Amar E.C., Kiron V., Satoh S., Okamoto N. and Watanabe T. 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Sciences, 66: 1068-1075.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1995.

- Official Method of Analysis. AOAC, USA. 697P.
- Balabanova L.V., Mikryakov D.V. and Mikryakov V.R. 2009.** Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocytes to hormone induced stress. *Inland Water Biology*, 2(1): 86–88.
- Bani A. and Haghi-Vayghan A. 2011.** Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyological Research*, 58: 126–133.
- Bartell S.M. and Batal A.B. 2007.** The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. *Poultry Science*, 86: 1940–1947.
- Bicudo A.J.A., Sado R.Y. and Cyrino J.E.P. 2009.** Dietary lysine requirement of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Aquaculture*, 297: 151–156.
- Blaxhall P.C. and Daisley K.W. 1983.** Routine haematological methods for use with fish blood. *Fish Biology*, 5: 771–781.
- Brauge C., Corraze G. and Medale F. 1995.** Effect of dietary levels of carbohydrate and lipid on glucose oxidation and lipogenesis from glucose in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in freshwater or in seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111: 117–124.
- Bureau D.P., Hua K. and Cho C.Y. 2006.** Effects of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 150 to 600g. *Aquaculture Research*, 37: 1090–1098.
- Cai Y. and Burtle G.J. 1996.** Methionine requirement of channel catfish fed soybean meal-corn-based diets. *Animal Science*, 74: 514–521.
- Choi B.S., Martinez-Falero I.C., Corset C., Munder M., Modolell M., Muller I. and Kropf P. 2009.** Differential impact of L-arginine deprivation on the activation and effector functions of T cells and macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 85(2): 268–277.
- Deng D.F., Koshio S., Yokoyama S., Bai S.C., Shao Q., Cui Y. and Hung S.S.O. 2003.** Effects of feeding rate on growth performance of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) Larvae. *Aquaculture*, 217: 589–598.
- Ellis A.E. 1977.** The Leucocytes of fish: A review. *Journal of Fish Biology*, 11(5): 453–491.
- Gatlin D.M. 2002.** Nutrition and fish health. P: 671–702. In: Halver J.E. and Hardy R.W. (Eds.). *Fish Nutrition*. Academic Press, USA.

- Gershanovich A.D. and Taufik L.R. 1992.** Feeding dynamics of fingerlings (Acipenseridae) depending on food concentration and stocking density. *Journal of Fish Biology*, 41: 425–453.
- Gomulka T., Wlasow P., Velisek J., Svobodova Z. and Chmielinska E. 2008.** Effects of eugenol and MS-222 anesthesia on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt). *Acta Veterinaria Brno*, 77(3): 447–453.
- Han Y., Koshio S., Jiang Z., Ren T., Ishikawa M., Yokoyama S. and Gao J. 2014.** Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 434: 348–354.
- Houston A.H. 1990.** Blood and circulation. P: 273–334. In: Schreck C.B. and Moyle P.B. (Eds.). *Methods in Fish Biology*. American Fisheries Society, USA.
- Hued A. and Bistoni M.A. 2002.** Effects of water quality variations on fish communities in the Central Part of Argentina, South America. *Proceeding of the International Association of Theoretical and Applied Limnology*, 28: 112–116.
- Hung S.S.O. 2000.** Feeds and feeding of sturgeon. *International Aquafeed*, 4: 24–27.
- Hung S.S.O., Lutes B.P. and Storebakken T. 1989.** Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) subyearling at different feeding rates. *Aquaculture*, 80: 147–153.
- Imanpoor M.R. and Bagheri T. 2012.** Effect of replacing meal by soybean meal along with supplementing phosphorus and magnesium in diet on growth performance of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(2): 521–528.
- Jankowski J., Kubinska M. and Zdunczyk Z. 2014.** Nutritional and immunomodulatory function of methionine in poultry diets- A review. *Annals of Animal Science*, 14(1): 17–31.
- Kavitha C., Malarvizhi S., Senthil K. and Ramesh M. 2010.** Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2848–2854.
- Klontz G.W. 1994.** Fish hematology. P: 121–132. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Rowley A.F., Kelikoff T.C., Kaattari S.L. and Smith S.A. (Eds.). *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publications, USA.

- Li P., Yin Y.L., Li D., Kim S.W. and Wu G. 2007.** Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*, 98(2): 237–252.
- Lovell R.T. 1998.** Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, USA. 268P.
- Luo Z., Liu Y., Mai K., Tian L., Yang H., Tan X. and Liu D. 2005.** Dietary L methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cyctine level. *Aquaculture*, 249: 409–418.
- Lupatsch I., Kissil G.W. and Sklan D. 2001.** Optimization of feeding regimes for European sea bass *Dicentrarchus labrax*: A factorial approach. *Aquaculture*, 202: 289–302.
- Machado M., Azeredo R., Fontinha F., Fernandez-Boo S., Conceicao L.E., Dias J. and Costas B. 2018.** Dietary methionine improves the European seabass (*Dicentrarchus labrax*) immune status, inflammatory response, and disease resistance. *Frontiers in Immunology*, 9: 1–17 (2672).
- Mai K., Wan J., Ai Q., Xu W., Liufu Z., Zhang L., Zhang C. and Li H. 2006.** Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture*, 253: 564–572.
- Medale F., Corrze G. and Kaushik S.J. 1995.** Nutrition of farmed Siberian sturgeon. P: 289–298. In: Gershanovic A.D. and Smith T.I.J. (Eds.). *Proceedings of the Third International Symposium on Sturgeons*. VNIRO Publishing, Russia.
- Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B. and Davies S.J. 2011.** Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 17(3): 73–79.
- Murakami A.E., Sakamoto M.I., Natali M.R.M., Souza L.M.G. and Franco J.R.G. 2007.** Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. *Poultry Science*, 86: 488–495.
- Nakajo T., Yamatsuji T., Ban H., Shigemitsu K., Haisa M., Motoki T., Noma K., Nobuhisa T., Matsuoka J., Gunduz M., Yonezawa K., Tanaka N. and Naomoto Y. 2005.** Glutamine is a key regulator for amino acid-controlled cell growth through the mTOR signaling pathway in rat intestinal epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 326: 174–180.
- Newsholme P. 2001.** Why is L-glutamine metabolism important to

- cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition*, 131: 2515–2522.
- Pohlenz C., Buentello A., Bakke A. and Gatlin III D.M. 2012a.** Free dietary glutamine improves intestinal morphology and increases enterocyte migration rates, but has limited effects on plasma amino acid profile and growth performance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 370-371: 32–39.
- Pohlenz C., Buentello A., Mwangi W. and Gatlin III D.M. 2012b.** Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells. *Fish and Shellfish Immunology*, 32(5): 762–768.
- Polat A. 1999.** The effects of methionine supplementation to soybean meal (SBM)-based diets on the growth and whole body-carcass chemical composition of tilapia (*T. zilli*). *Turkish Journal of Zoology*, 23: 173–178.
- Pottinger T.G. and Carrick T.R. 2001.** A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress-responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture Research*, 175: 351–363.
- Qiyu X., Qing Z., Hong X., Changan W. and Dajiang S. 2011.** Dietary glutamine supplementation improves growth performance and intestinal digestion/absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♀ × *Huso dauricus*♂). *Journal of Applied Ichthyology*, 27: 721–726.
- Rad F., Koksai 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.
- Rhoads M.J. and Wu G. 2009.** Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. *Amino Acids*, 37: 111–122.
- Ronyai A., Csengeri I. and Varadi L. 2001.** Partial substitution of animal protein with full-fat soybean meal and amino acid supplementation in diet of Siberian sturgeon. 4th International Symposium on Sturgeon, USA. P: 8–13.
- Shiau S.Y. and Huang S.L. 1990.** Influence of varying energy levels with two protein concentrations in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) reared in sea water. *Aquaculture*, 91: 143–152.
- Siwicki A.K. and Anderson D.P. 1993.** Nonspecific defence mechanisms assay in fish. II. Potential killing activity of

- neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (T-Ig) levels in serum. Fish Diseases Diagnosis and Prevention's Methods. FAO-Project GCP/INT/526/JPN, IFI Olsztyn. P: 105–112.
- Soltan M.A. 2009.** Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. International Journal of Poultry Science, 8: 60–68.
- Steffens W., Jannichen H. and Fredrich F. 1990.** Possibilities of sturgeon culture in central Europe. Aquaculture, 89: 101–122.
- Stoskopf M.K. 1993.** Fish Medicine. Saunders Company, Philadelphia. 882P.
- Tayade C., Jaiswal T.N., Mishra S.C. and Koti M. 2006.** L-arginine stimulates immune response in chickens immunized with intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. Vaccine, 4: 552–560.
- Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Gines R., Sweetman J. and Izquierdo M.S. 2011.** Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Aquaculture Nutrition, 17(2): 223–233.
- Waddell D. and Fredricks K. 2005.** Effects of glutamine supplement on the skeletal muscle contractile force of mice. American Journal of Undergraduate Research, 4: 11–18.
- Wang J., Chen L., Li P., Li X., Zhou H., Wang F., Li D., Yin Y. and Wu G. 2008.** Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. Journal of Nutrition, 138: 1025–1032.
- Webster C.C. and Lim C.E. 2002.** Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International, CABI Publishing, UK. 448P.
- Whyte S.K. 2007.** The innate immune response of finfish: A review of current knowledge. Fish and Shellfish Immunology, 23: 1127–1151.
- Williot P., Sabiau L., Gessner J., Arlati G., Bronzi P., Gulyas T. and Berni P. 2001.** Sturgeon farming in Western Europe: Recent developments and perspectives. Aquatic Living Resources, 14(6): 367–374.
- Wu G., Bazer F.W., Johnson G.A., Knabe D.A., Burghardt R.C., Spencer T.E., Li X.L. and Wang J.J. 2011.** Important roles for L-glutamine in swine nutrition and production. Journal of Animal Science, 89: 2017–2030.

- Wu G., Knabe D.A. and Flynn N.E. 1994.** Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochemical Journal*, 299: 115–121.
- Yan L. and Qiu-Zhou X. 2006.** Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 256: 389–394.
- Yi G., Allee G., Knight C. and Dibner J. 2005.** Impact of glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, 84: 283–293.
- Zapata A.G., Torroba M. and Varas A. 1997.** Vitaminize E. Immunity in fish larvae. *Development Biology Standard*, 90: 23–32.
- Zhu Q., Xu Q.Y., Xu H., Wang C.A. and Sun D.J. 2011.** Dietary glutamine supplementation improves tissue antioxidant status and serum non-specific immunity of juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♀ × *Huso dauricus*♂). *Journal of Applied Ichthyology*, 27(2): 715–720.
- Zou X.T., Zheng G.H., Fang X.J. and Jiang J.F. 2006.** Effects of glutamine on growth performance of weanling piglets. *Czech Journal of Animal Science*, 51: 444–448.



Research Paper

The effect of glutamine on growth, blood and immunity parameters in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869)

Saman Darvishi¹, Hossein Khara^{2*}, Mohaddeseh Ahmadnezhad³

Received: October 2019

Accepted: March 2020

Abstract

Siberian sturgeon is a suitable species for using in aquaculture industry. The purpose of this study was to investigate the effect of glutamine on growth and blood and immunity indices of Siberian sturgeon fingerling and to determine the optimal amount of glutamine in rearing conditions. This study was performed on 126 fish with a mean weight of 45.71 ± 7.56 g in six treatments (control, 5, 10, 15, 20 and 30g glutamine/kg diet) and three replicates during 8 weeks. The results showed that there was no significant difference in growth factors ($P > 0.05$). However, final weight, final length, the percentage of increasing body weight, feed conversion ratio, specific growth factor and daily growth rate were higher in fish fed the diet containing 30g glutamine/kg diet compared to other treatments. The highest obesity coefficient was observed in fish fed the diet containing 5g glutamine/kg diet. Also, there was no significant difference in red and white blood cell count, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, neutrophil and lysozyme ($P > 0.05$), but lymphocytes, monocytes, eosinophils, IgM and total immunoglobulin were significantly different ($P < 0.05$). Glutamine had no significant effect on most of the blood parameters of Siberian sturgeon, but an increase in immunity parameters such as lymphocytes, monocytes, total immunoglobulin and IgM was observed. It seems that the addition of glutamine to the basal diet is not necessary in this age and culture conditions and the basal diet supports the needs of fish.

Key words: *Glutamine, Growth, Blood and immunity Indices, Siberian Sturgeon.*

1- M.Sc. in Fisheries, Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3- Assistant Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

*Corresponding Author: h.khara1974@yahoo.com

