

بررسی تأثیر سطوح مختلف اسید آمینه آل - آرژنین بر شاخص‌های خون‌شناسی و مقاومت بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مقابل تنش شوری

* ولی‌اله جعفری^۱، اسلام بحری^۱، محمدرضا مازندرانی^۱ و عباسعلی حاجی‌بگلو^۱

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

تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۱۷

چکیده

آرژنین یکی از اسیدهای آمینه‌ای است که تأثیر آن بر بهبود رشد و سیستم ایمنی انسان و بسیاری از حیوانات، همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. در پژوهش حاضر تأثیر این اسید آمینه بر فاکتورهای خونی و مقاومت در برابر تنش شوری ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور ماهیان به چهار تیمار (هر تیمار با سه تکرار) تقسیم شدند و با جیره‌های غذایی شامل مقدار آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد، به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. در نهایت نمونه‌هایی از هر تیمار خون‌گیری و سایر ماهی‌ها تحت تنش شوری ppt ۱۵ به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با مقایسه میانگین تیمارها در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک آزمون دانکن صورت گرفت. بر طبق نتایج خون‌شناسی، تغذیه ماهی کپور معمولی توسط آرژنین بر تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و شاخص‌های MCV، MCH و MCHC خون آن‌ها تأثیر معناداری داشت ($P < 0/05$) ولی تعداد گلبول‌های سفید و هماتوکریت در تیمارهای مختلف اختلاف معناداری نداشت ($P > 0/05$). نتایج اعمال تنش شوری بر تیمارهای مختلف نشان داد که وجود اسید آمینه آرژنین در جیره غذایی کپورماهیان می‌تواند تأثیر چشمگیری بر مقاومت و بقای آن‌ها داشته باشد به طوری که تیمارهای تغذیه‌شده با ۱/۵ و ۲ درصد آرژنین در طی ۷۲ ساعت تلفاتی نداشت؛ بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده، اسید آمینه آرژنین بر سیستم ایمنی و بازماندگی ماهی کپور معمولی تأثیر به‌سزایی دارد.

واژه‌های کلیدی: آرژنین، اسید آمینه، تنش شوری، فاکتورهای خونی، ماهی کپور معمولی

مقدمه

پروتئین‌ها از اجزاء ضروری بدن بوده که نقش مهمی در ساختمان و عمل ارگان‌های زنده بر عهده دارند. موجودات زنده پروتئین‌ها را به جهت فراهم کردن مداوم اسیدهای آمینه به‌ویژه اسیدهای آمینه ضروری مصرف می‌کنند. بر خلاف سایر حیوانات اهلی، آبزیان و سخت‌پوستان نیاز به پروتئین بالا حدود ۲۴ درصد در جیره غذایی دارند. پروتئین جیره از ترکیبات مهم و گران در جیره فرموله آبزیان است

(Wilson, 2002). افزایش استفاده از منابع پروتئین گیاهی در غذای ماهی به دلیل گران بودن و در دسترس نبودن پودر ماهی، سبب ضرورت استفاده از مکمل‌های غذایی اسیدهای آمینه در جیره غذایی آبزیان به‌خصوص جیره ماهیان گوشت‌خوار شده است (Bekan و همکاران، ۲۰۰۶). یکی از اسیدهای آمینه‌ای که طبق مطالعات انجام شده در این زمینه، تأثیر به‌سزایی بر رشد گونه‌های مختلف حیوانات داشته، اسید آمینه آرژنین می‌باشد. تأثیر این اسید آمینه بر انواع آبزیان نیز مورد مطالعه قرار گرفته است.

* نویسنده مسئول: v.jafari.sh110@gmail.com

مسئله نیاز سیستم ایمنی به مواد مغذی، بالاتر از نیاز ماهی به این مواد برای رشد می‌باشد. برخی از این مواد کلیدی شامل اسیدهای آمینه‌ای هستند که سبب تحریک سیستم ایمنی ماهی می‌شوند (Chen و همکاران، ۲۰۱۵).

پاسخ ایمنی اولیه در برابر عامل بیماری‌زا به شدت سبب افزایش متابولیسم و سوخت و ساز شده و این مرحله در میزان مقاومت ماهی در برابر بیماری نقش حیاتی دارد زیرا ترکیبات سیستم ایمنی ذاتی و به‌خصوص فاگوسیت‌ها جهت شناسایی و ایجاد یک پاسخ عمومی نیازمند انرژی متابولیکی فراوانی هستند. فرآیند فوق یعنی اختلال در سیستم هموستازی و ایجاد حالت دفاعی انرژی زیادی از حیوان را به خود اختصاص داده و اولویت نیازهای متابولیکی ماهی به سمت مواد مغذی مورد نیاز سیستم ایمنی شیف‌ت می‌کند و در صورت کمبود این مواد، از یک سو کار سیستم ایمنی مختل خواهد شد و از سوی دیگر سبب ضعف شدید بدنی به دلیل مصرف کامل این مواد توسط سیستم ایمنی مقاومت ماهی نیز از دست خواهد رفت (Gan و همکاران، ۲۰۱۲). پژوهشگران زیادی از جیره‌های خالص و نیمه‌خالص برای تعیین نیاز پروتئینی ماهیان استفاده کرده‌اند؛ اکثر آن‌ها مقداری را مناسب دانسته‌اند که در آن حداقل جیره مصرف شده و حداکثر رشد را داشته‌اند اختلاف بین میزان نیاز پروتئینی در یک ماهی به سه عامل مقدار انرژی جیره، ترکیب اسیدهای آمینه پروتئین جیره و قابلیت هضم و جذب پروتئین بستگی دارد. مقدار پروتئین بهینه برای ماهیان همانند سایر حیوانات تحت تأثیر مقدار پروتئین بهینه برای بالانس انرژی جیره، ترکیب آمینواسیدها، قابلیت جذب پروتئین مصرفی و مقادیر انرژی حاصل از منابع غیرپروتئینی می‌باشد؛ پژوهشگران نیز اغلب از جیره‌های با انرژی

انواع پروتئین‌ها از ۲۰ نوع اسید آمینه تشکیل شده‌اند از این ۲۰ نوع اسید آمینه ۱۰ نوع آن برای ماهی ضروری است و باید منبع پروتئین مورد استفاده در غذای ماهی آن را تأمین کند. اسیدهای آمینه غیرضروری آن‌هایی هستند که بدن قادر به سنتز و تأمین آن‌ها می‌باشد. ارزش ماده پروتئینی به کار رفته در جیره غذایی نیز به میزان تأمین اسیدهای آمینه ضروری، درجه هضم شدن و توازن آن بستگی دارد. آرژینین یکی از بیست اسید آمینه اصلی یاخته‌های زنده است. در جانوران فرم L آرژینین بسیار رایج است. این اسید آمینه ضروری است. داشتن اطلاعات در زمینه اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز ماهیان اهمیت زیادی در ارزیابی کیفیت مواد غذایی به دست آمده از منابع مختلف پروتئینی، فرمول‌بندی آن‌ها در جیره، کاهش هزینه‌های غذا و بهینه‌سازی مصرف پروتئین دارد. مطالعات اخیر در ماهیان نشان می‌دهد که بعضی از اسید آمینه‌ها و متابولیک‌های آن‌ها تنظیم‌کننده‌های مهم مسیرهای متابولیک‌ها هستند که برای نگهداری و بقا، رشد، دریافت غذا، به‌کارگیری مواد مغذی، ایمنی، رفتار، تغییر شکل و دگردیسی لارو، تولیدمثل، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و پاتوژن‌ها در ماهیان متفاوت ضروری و لازم هستند (Cheng و همکاران، ۲۰۱۲).

این موضوع به خوبی ثابت شده است که تغذیه نقش مهمی در حفظ سلامت ماهیان زینتی دارد. در سال‌های اخیر توجه زیادی به استراتژی‌های غذایی شده است که به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر سیستم ایمنی و میزان مقاومت ماهی در برابر بیماری تأثیرگذارند. پژوهش‌ها نشان داده است برخی ترکیبات سیستم ایمنی در زمان کمبود مواد مغذی با مشکل عدم کارایی مواجه‌اند و استفاده از مواد مغذی ضروری به میزان نیاز سیستم ایمنی، سبب افزایش شدید کارایی این خط دفاعی در ماهی شده است.

یکسان برای تعیین مقدار پروتئین موردنیاز استفاده کرده‌اند. از این‌رو با توجه به اهمیت وجود اسیدهای آمینه و به‌ویژه اسیدآمینه آرژنین در جیره غذایی ماهیان، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر اسید آمینه آرژنین در جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی و مقاومت در برابر تنش شوری در کپور معمولی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۲ ماه (۸ هفته) در مرکز تحقیقات آبی‌پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. جهت انجام آزمایش بچه‌ماهیان از کارگاه تکثیر سوجیال شهرستان بندرترکمن خریداری شد و پس از انتقال به مرکز تحقیقات به مدت یک هفته سازگاری با محیط انجام شد. از هفته دوم غذایی با جیره‌های حاوی سطوح مختلف اسید آمینه ال-آرژنین (۰، ۱/۵، ۲، ۲/۵ درصد) انجام شد. در این آزمایش تعداد ۱۳۲ قطعه ماهی با وزن ۱۵ گرم در ۱۲ حوضچه با تراکم ۱۱ عدد در هر حوضچه قرار داده شد.

اسیدآمینه مورد استفاده در این پژوهش ال-آرژنین می‌باشد که از شرکت داروسازی ماس گلوبال نوتریشن کانادا تأمین شد. جیره تجاری که شامل ۳۳ درصد پروتئین خام، ۸ درصد چربی خام، ۶ درصد فیبر خام، ۱۰ درصد رطوبت، ۱۰ درصد خاکستر و ۱ درصد فسفر می‌باشد، استفاده شد. اسیدآمینه آرژنین را با توجه به درصد نیاز هر تیمار (۱/۵، ۲، ۲/۵ درصد) با یک درصد ژلاتین مخلوط کرده و به غذا اسپری شد، همچنین ژلاتین به جیره شاهد هم اضافه شد تا شرایط مشابهی با سایر جیره‌ها داشته باشد. بعد از اسپری

کردن اسیدآمینه بر روی جیره تجاری، غذاها در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس در دمای ۴ درجه در یخچال نگهداری شدند. غذاها پس از خشک شدن جمع‌آوری شدند و درون پلاستیک‌های دربسته شماره‌گذاری و تا آخر دوره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غذایی به میزان ۳ درصد وزن میانگین هر تانک صورت گرفت. هوادهی آب از طریق سنگ هوا متصل به کمپرسور مرکزی انجام شد. برای جلوگیری از آلودگی و خارج کردن غذای باقی‌مانده و فضولات، روزانه یک تا دو بار (صبح و عصر) آب تانک‌ها سیفون می‌شد. لازم به ذکر است آب مورد استفاده برای انجام این پژوهش آب شهری بود که جهت کلرزدایی به مدت ۲۴ ساعت درون تانک‌های ذخیره هوادهی شد. بچه‌ماهی‌ها بر اساس میزان آرژنین موجود در جیره غذایی به ۴ تیمار دسته‌بندی شدند. جیره غذایی تیمار یک جیره تجاری با ۱/۵ درصد آرژنین، تیمار دو ۲ درصد آرژنین، تیمار سه ۲/۵ درصد آرژنین و تیمار شاهد ۰ درصد آرژنین می‌باشد. هر تیمار شامل سه تانک بوده و در هر تانک ۱۱ بچه‌ماهی قرار گرفت.

پس از اتمام زیست‌سنجی‌ها، از هر تیمار ۸ نمونه ماهی جهت آزمایش‌های خون‌شناسی به‌طور تصادفی انتخاب شد. ماهی‌های خون‌گیری شده از سایر ماهی‌ها جدا شدند و نمونه‌های خون در آزمایشگاه با ۳ تکرار شمارش تست شده و تعداد گلبول قرمز، تعداد گلبول سفید، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCH و MCHC آن‌ها تعیین شد.

برای انجام عمل شمارش گلبول‌های قرمز از مربع میانی لام که ۲۵ خانه دارد استفاده گردید، به این صورت که چهار مربع در گوشه‌ها و یک مربع مرکزی را شمرده و عدد به‌دست آمده را در ۱۰۰۰۰ ضرب

SPSS 18 و در محیط ویندوز ۷ انجام شد. تمام داده‌های متن بر اساس میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند.

نتایج

در پژوهش حاضر، میزان هماتوکریت تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه شده با درصد آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۳۳، ۳۵، ۳۴/۸۷ و ۳۴/۸۷ می‌باشد. هماتوکریت خون تیمارهای تغذیه شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد بیش تر بوده و بیشترین هماتوکریت خون مربوط به تیمار ۲ با ۲ درصد آرژنین می‌باشد. اختلاف داده‌های تیمارهای مختلف با هم معنی دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). در شکل ۱ نمودار مقایسه هماتوکریت تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

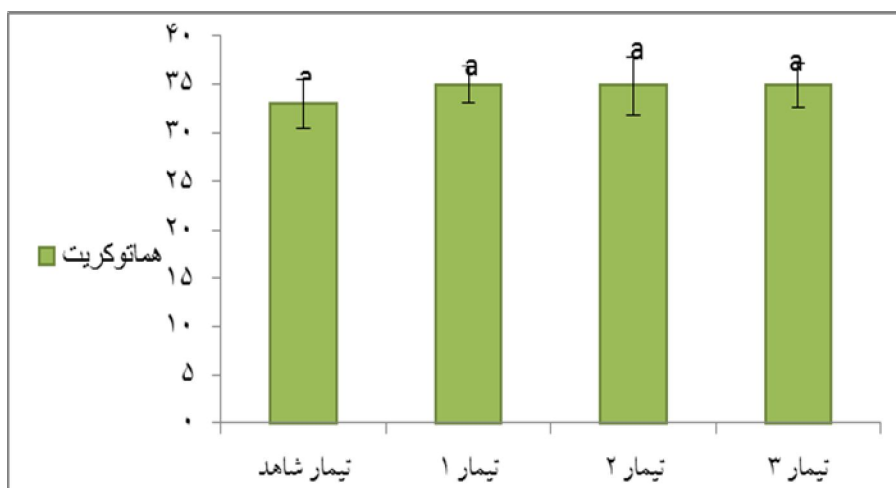
میزان هموگلوبین تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه شده با درصد آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۴/۷۷، ۸/۲۱، ۷/۸۶ و ۶/۷۷ می‌باشد. هموگلوبین خون تیمارهای تغذیه شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد بیش تر بوده و بیشترین هموگلوبین خون مربوط به تیمار ۲ با ۲ درصد آرژنین می‌باشد. اختلاف هموگلوبین تیمارهای تغذیه شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد، معنی دار می‌باشد ($P < 0.05$). در شکل ۲ نمودار مقایسه هموگلوبین تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

شد (شیشه‌تیان و همکاران، ۱۳۷۸). تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی‌متر خون محاسبه گردید. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار و بعد از رقیق‌سازی خون با محلول (رایس) با رقت: ۱:۵۰ شمارش شد. از چهار مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول‌های سفید استفاده شد و عدد به دست آمده در ۵۰ ضرب شد تا تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی‌متر مکعب خون محاسبه گردید (پوردهقانی و همکاران، ۱۳۸۹). برای تعیین مقدار هموگلوبین خون از کیت تجاری زیست‌شیمی استفاده شد. برای اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیان مت هموگلوبین به شرح زیر استفاده گردید (Stoskopf, ۱۹۹۳). برای تعیین مقدار هماتوکریت از روش میکرو هماتوکریت استفاده شد (پوردهقانی و همکاران، ۱۳۸۹). ماهی‌های خون‌گیری نشده تحت تنش شوری قرار گرفتند. بدین ترتیب که ماهی‌ها در معرض شوری PPT ۱۵ به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. برای انجام این تنش ۴ تانک شستشو و آماده شده و به‌ازای هر لیتر آب ۱۵ گرم نمک دریایی اضافه شد. از هر تانک هر تیمار ۷ عدد ماهی و در مجموع ۲۱ عدد ماهی در تانک نماینده آن تیمار ریخته شد. در طول این مدت میزان تلفات ماهی‌های تیمارهای مختلف بررسی و ثبت شد.

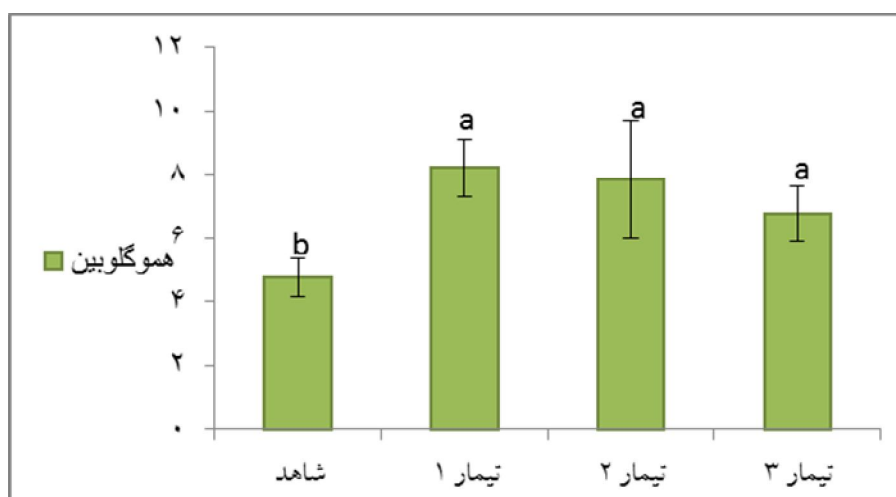
تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس روش آزمون تجزیه واریانس یک طرفه^۱ انجام شد و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن^۲ استفاده شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم‌افزار

1- One-way ANOVA

2- Duncan



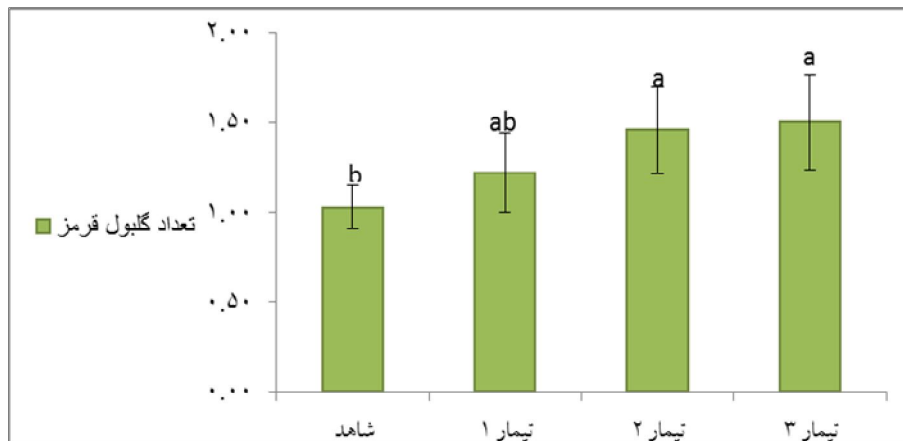
شکل ۱- نمودار هماتوکریت (میانگین \pm انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه‌شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژنین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$)



شکل ۲- نمودار هموگلوبین (میانگین \pm انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه‌شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژنین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$)

آرژنین می‌باشد. اختلاف داده‌ها در تیمار ۲ و ۳ به نسبت تیمار شاهد معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). در شکل ۳ نمودار مقایسه تعداد گلبول قرمز تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

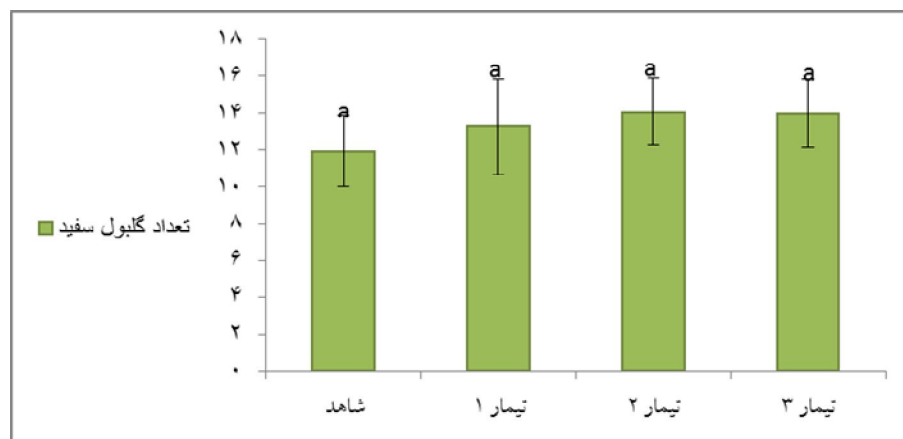
تعداد گلبول قرمز تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه‌شده با درصد آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۱/۰۳، ۱/۲۲، ۱/۴۶ و ۱/۵ می‌باشد. تعداد گلبول‌های قرمز خون تیمارهای تغذیه‌شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد بیش‌تر بوده و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز خون مربوط به تیمار ۳ با ۲/۵ درصد



شکل ۳- نمودار تعداد گلبول قرمز (میانگین \pm انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژینین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار می‌باشد ($P > 0.05$)

و بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز خون مربوط به تیمار ۲ با ۲ درصد آرژینین می‌باشد، ولی داده‌ها در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری ندارد ($P > 0.05$). در شکل ۴ نمودار مقایسه تعداد گلبول سفید تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

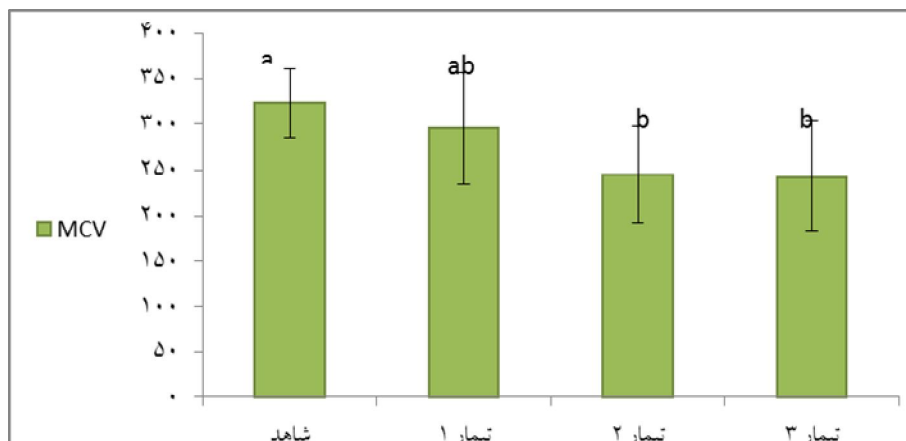
تعداد گلبول سفید تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه‌شده با درصد آرژینین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۱۱/۹۴، ۱۳/۲۵، ۱۴/۰۶ و ۱۴ می‌باشد. با وجود این‌که تعداد گلبول‌های سفید خون تیمارهای تغذیه‌شده با آرژینین به نسبت تیمار شاهد بیش‌تر بوده



شکل ۴- نمودار تعداد گلبول سفید (میانگین \pm انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژینین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار می‌باشد ($P > 0.05$)

تیمار ۳ با ۲/۵ درصد آرژینین می‌باشد. داده‌های تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به نسبت تیمار شاهد معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). در شکل ۵ نمودار مقایسه MCV تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

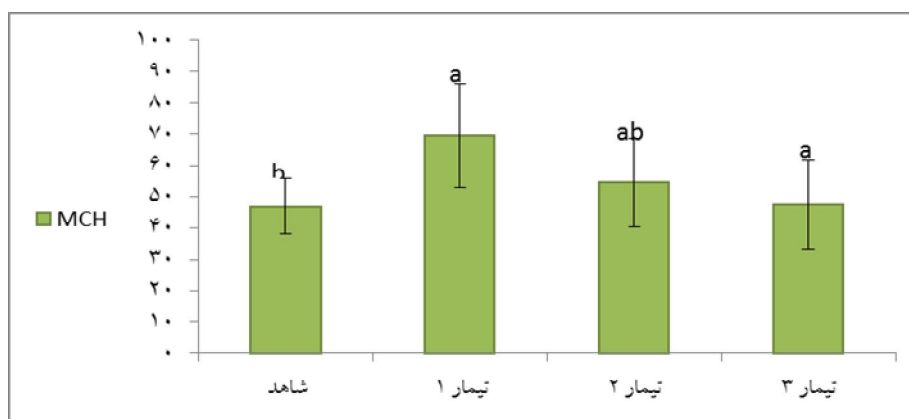
میزان MCV تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه‌شده با درصد آرژینین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۳۲۳/۱۵، ۲۹۵/۱۳، ۲۴۵/۲۹ و ۲۴۲/۹ می‌باشد. MCV خون تیمارهای تغذیه‌شده با آرژینین به نسبت تیمار شاهد کم‌تر بوده و کم‌ترین میزان آن مربوط به



شکل ۵- نمودار MCV (میانگین ± انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژنین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$)

به تیمار ۱ با ۱/۵ درصد آرژنین می‌باشد. تیمارهای ۱ و ۳ اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد دارند ($P < 0.05$). در شکل ۶ نمودار مقایسه MCH تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

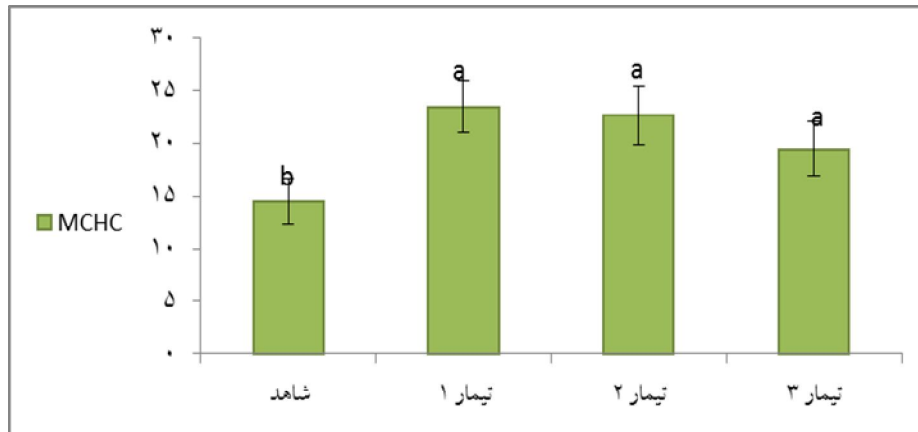
میزان MCH تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه شده با درصد آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۴۶/۹۴، ۶۹/۴۳، ۵۴/۴۶ و ۴۷/۵۵ می‌باشد. MCH خون تیمارهای تغذیه شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد بیش‌تر بوده و بیش‌ترین میزان آن مربوط



شکل ۶- نمودار MCH (میانگین ± انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژنین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P > 0.05$)

مربوط به تیمار ۱ با ۱/۵ درصد آرژنین می‌باشد. داده‌های تیمارهای تغذیه شده با آرژنین اختلاف معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد دارد ($P < 0.05$). در شکل ۷ نمودار مقایسه MCHC تیمارها و انحراف معیار داده‌ها در هر تیمار نشان داده شده است.

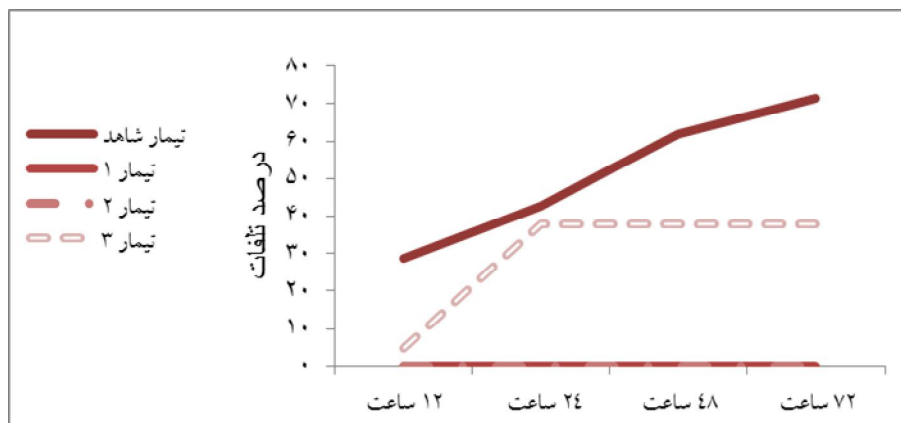
میزان MCHC تیمارهای شاهد، یک، دو و سه، تغذیه شده با درصد آرژنین ۰، ۱/۵، ۲ و ۲/۵، به ترتیب برابر با ۱۴/۵۴، ۲۳/۴۸، ۲۲/۶۸ و ۱۹/۴۷ می‌باشد. MCHC خون تیمارهای تغذیه شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد بیش‌تر بوده و بیش‌ترین میزان آن



شکل ۷- نمودار MCHC (میانگین \pm انحراف معیار) کپور معمولی تغذیه شده با جیره‌های سطوح مختلف آرژینین. حروف انگلیسی یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار می‌باشد ($P > 0.05$)

از ۲۴ ساعت، ۳ عدد در تیمار شاهد و ۷ عدد ماهی در تیمار ۱ و بعد از ۴۸ ساعت، ۴ عدد ماهی در تیمار شاهد تلفات ایجاد شد. در بازدید نهایی و در ۷۲ ساعت بعد از شروع تنش شوری، ۲ عدد در تیمار شاهد تلفات وجود داشت. در شکل ۸ درصد تلفات در چهار تیمار با سطوح مختلف آرژینین مقایسه شده است.

همان‌طور که گفته شد ۴ تانک با شوری ۱۵ Ppt که نماینده تیمارهای شاهد، یک، دو و سه هستند، به مدت ۷۲ ساعت تحت تنش شوری واقع شدند. در شروع تنش در هر تانک ۲۱ ماهی قرار داشت. در ۱۲ ساعت اولیه بعد از شروع تنش، ۶ عدد ماهی در تیمار شاهد و ۱ عدد در تیمار سه تلفات وجود داشت. بعد



شکل ۸- نمودار درصد تلفات تیمارهای مختلف در مواجهه با تنش شوری.

از این تغییرات وابسته به ویژگی‌های گلبول قرمز است مانند تغییر در اندازه سلول و میزان ذخیره هموگلوبین و بخشی دیگر به غلظت پلاسما بستگی دارد که می‌تواند اثر خود را به صورت تغییر در تعداد گلبول‌ها در واحد حجم و همچنین تغییر میزان

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی فاکتورهای خونی وسیله‌ای مناسب برای سنجش وضعیت سلامتی ماهی می‌باشد. تغییر در پارامترهای خون‌شناسی از جمله واکنش‌هایی است که جانور در پاسخ به تنش از خود نشان می‌دهد. بخشی

افزایش چشمگیری نسبت به تیمار شاهد داشته است. مقدار گلبول سفید در تیمار شاهد حدود ۱۱/۹۳ بوده که مقدار آن در تیمار ۲ با ۲ درصد آرژنین، به حدود ۱۴/۰۶ رسیده است. اختلاف تیمارهای ۱، ۲ و ۳ با تیمار شاهد از نظر آماری معنادار می‌باشد ($P < 0/05$) که نشان می‌دهد آرژنین می‌تواند تأثیر به‌سزایی در افزایش قدرت سیستم ایمنی ماهی کپور داشته باشد. همچنین تعداد گلبول‌های قرمز نیز با افزایش درصد آرژنین استفاده‌شده در رژیم غذایی تیمارها، افزایش داشته است. بدین ترتیب تیمار ۳ با بیش‌ترین مقدار آرژنین حدود ۱/۵ و تیمار شاهد حدود ۱/۰۳ درصد گلبول قرمز در آزمایش خون نشان داده‌اند. اختلاف گلبول‌های قرمز در تیمارهای ۲ و ۳ با تیمار شاهد معنادار بوده ($P < 0/05$) و تیمار ۱ اختلاف معناداری نداشته است ($P > 0/05$). هموگلوبین خون تیمارهای تغذیه‌شده با آرژنین به نسبت تیمار شاهد افزایش معناداری داشته است ($P < 0/05$) در حالی که افزایش هماتوکریت در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ از نظر آماری معنادار نمی‌باشد ($P > 0/05$).

شاخص‌های MCH، MCV، MCHC که تابعی از تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین هستند، با تغییر در مقدار این فاکتورها، تغییر می‌یابند. کاهش شاخص MCH نشان می‌دهد که میزان هموگلوبین درون گلبول‌ها نسبت به گروه‌های دیگر کم‌تر است. به عبارت دیگر می‌تواند گفت که سرعت تکثیر گلبول‌های قرمز با سرعت سنتز هموگلوبین مطابقت نداشته، سلول‌ها فرصت کافی برای تولید مقدار متناسب هموگلوبین نداشتند. به عبارت دیگر می‌توان این‌گونه بیان داشت که با افزایش سرعت تکثیر سلول‌ها، گلبول‌ها با اندازه کوچک‌تری به داخل خون آزاد شده‌اند (روضاتی و همکاران، ۱۳۹۲).

نتایج آزمایش خون‌شناسی ماهی‌های نمونه نشان می‌دهد که مقدار MCV در تیمارهای ۱، ۲ و ۳

هماتوکریت نشان دهد (Wood و Milligan، ۱۹۸۲). پارامترهای خون‌شناسی، همانند وضعیت فیزیولوژیکی یک موجود زنده، ابزار ارزشمندی جهت بررسی وضعیت سلامت ماهیان به‌شمار می‌آیند و می‌تواند تحت‌تأثیر تغذیه باشد (عبداللهی و ایمانپور، ۱۳۹۰؛ Kumar و همکاران، ۲۰۰۵). تغییر غلظت خون، تغییر در مقدار شاخص‌های خونی را به دنبال دارد. این تغییر می‌تواند هم غلظت پلاسما و هم حجم گلبول‌ها را تحت‌تأثیر قرار دهد که متعاقب آن تغییراتی در مقدار هماتوکریت و هموگلوبین خواهد شد (Wood و Milligan، ۱۹۸۲). با استفاده از مطالعات خون‌شناسی می‌تواند تغییرات ایجاد شده در بافت‌ها و وضعیت فیزیولوژیکی به وجود آمده در ماهی را تعیین نمود (یزدانی و همکاران، ۱۳۹۲). تقریباً تمامی اکسیژنی که در خون حیوانات حمل می‌گردد به هموگلوبین موجود در گلبول قرمز خون متصل می‌باشد (شکوری و همکاران، ۱۳۹۲). افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون، بازده قلب و افزایش وزن ماهی مؤثر است (کازرانی فراهانی، ۱۳۸۸). شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول قرمز و سفید یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل تنش مطرح باشد (Stoskopf، ۱۹۹۳). درصد هماتوکریت مهره‌داران در حالت استراحت بسته به گونه، بسیار متغیر (۳۵-۱۰) است (Baker و همکاران، ۲۰۰۵). این مقدار در ماهیان عموماً در محدوده ۲۰ تا ۴۵ درصد قرار دارد.

همان‌طور که گفته شد در مطالعه حاضر تأثیر تغذیه ماهی کپور با آرژنین بر روی فاکتورهای خونی آن بررسی شده است. مطابق نتایج به‌دست آمده تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای تغذیه‌شده با آرژنین

بررسی کرد. نتایج این آزمایش در شاخص‌های هماتولوژیکی خون به‌استثنا لنفوسیت، منوسیت هماتوکریت اختلاف معنی‌داری را در میان تیمارهای مختلف ال- آلانین نشان دادند ($P < 0/05$)، به‌طورکلی نتایج نشان می‌دهد که کاربرد ال- آلانین می‌تواند کارایی رشد و برخی شاخص‌های خونی را در بچه‌تاس‌ماهی ایرانی تحت تأثیر قرار دهد.

همان‌طور که گفته شد در پژوهش حاضر ۴ تانک با شوری Ppt ۱۵ که نماینده تیمارهای شاهد، یک، دو و سه هستند، به‌مدت ۷۲ ساعت تحت تنش شوری واقع شدند. در شروع تنش در هر تانک ۲۱ ماهی قرار داشت. در ۱۲ ساعت اولیه بعد از شروع تنش، ۶ عدد ماهی در تیمار شاهد و ۱ عدد در تیمار سه تلفات وجود داشت. بعد از ۲۴ ساعت، ۳ عدد در تیمار شاهد و ۷ عدد ماهی در تیمار سه و بعد از ۴۸ ساعت، ۴ عدد ماهی در تیمار شاهد تلفات ایجاد شد. در بازدید نهایی و در ۷۲ ساعت بعد از شروع تنش شوری، ۲ عدد در تیمار شاهد تلفات وجود داشت.

با توجه به نتایج تنش شوری و مقایسه آن با نتایج داده‌های خونی مبنی بر افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن کپورماهیان، می‌تواند به این نتیجه رسید که مصرف اسیدآمینه آرژنین می‌تواند به‌صورت چشمگیری موجب افزایش بازماندگی و تحمل تنش در کپور ماهیان شود به‌طوری‌که در این تست بعد از ۷۲ ساعت از شروع تنش شوری، ماهیان تیمارهای ۱ و ۲ هیچ‌گونه تلفاتی نداشته و تمام ماهیان زنده ماندند. تعداد تلفات در تیمار ۳ نیز نصف تلفات در تیمار شاهد بوده است. بنابراین آرژنین می‌تواند به‌عنوان یک مکمل قوی جهت افزایش طول عمر ماهیان و استقامت آن‌ها در برابر تنش در جیره غذایی آن‌ها استفاده شود.

کاهش چشمگیری داشته است. این کاهش از نظر آماری نیز معنادار می‌باشد ($P < 0/05$). مقدار MCHC در تیمارهای تغذیه‌شده با آرژنین افزایش معناداری پیدا کرده است ($P < 0/05$). در مطالعه حاضر مقدار MCHC تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به نسبت تیمار شاهد افزایش معناداری داشته است ($P < 0/05$).

کاهش هموگلوبین و افزایش هماتوکریت کاهش شاخص MCHC را به دنبال دارد که نشان می‌دهد که نه تنها سلول‌ها کوچک‌تر هستند بلکه میزان هموگلوبین درون آن‌ها نیز نسبت به حجمشان کم‌تر است. در تیمارهایی که هم‌مقدار هموگلوبین و هم‌هماتوکریت کاهش یافته‌اند افزایش مقدار MCHC نشان می‌دهد که با این‌که سلول‌ها کوچک‌تر شده‌اند و میزان هموگلوبین آن‌ها کم‌تر از گروه‌های دیگر است ولی میزان هموگلوبین نسبت به حجم خود گلبول بالاتر است. در مقابل کاهش MCHC با افزایش هر دو پارامتر هموگلوبین و هماتوکریت نشان می‌دهد که اگرچه میزان هموگلوبین نسبت به سایر تیمارها افزایش یافته ولی مقدار آن نسبت به حجم خود گلبول کم‌تر است (روضاتی و همکاران، ۱۳۹۲).

بنابراین اسیدآمینه آرژنین می‌تواند بر فاکتورهای خونی ماهی کپور تأثیر معناداری گذاشته ($P < 0/05$) و منجر به بهبود خون و سیستم ایمنی ماهی شود. مطابق مطالعات Plisetskaya و همکاران (۱۹۹۰) اسیدآمینه آرژنین می‌تواند موجب افزایش انسولین پلاسمای خون ماهی سالمون و قزل‌آلای رنگین‌کمان شود. در این پژوهش استفاده از آرژنین ۲ درصد در رژیم غذایی ماهی‌ها سبب افزایش رشد کوتاه‌مدت آن‌ها شده ولی استفاده ۳ درصدی آرژنین منجر به سرکوب اشتها و کاهش مصرف غذا و رشد ماهی‌ها شده است. قلیچی (۱۳۹۵) تأثیر اسیدآمینه ال- آلانین بر روی برخی شاخص‌های هماتولوژیکی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی

منابع

- پور دهقانی، م.، کاظمی، ا.، یوسفی جوردهی، ا.، یارمحمدی، م.، و نصری تجن، م.، ۱۳۸۹. فیزیولوژی دستگاه گردش خون آبزیان و فنون کاربردی خون‌شناسی ماهیان. انتشارات بازرگان، ۱۹۴ صفحه.
- پیک موسوی، م.، ۱۳۸۶. مطالعه اثر اسید آمینه متیونین بر شاخص‌های رشد و ترکیب بدن فیل ماهیان پرورشی. پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۷۷ صفحه.
- پیک موسوی، م.، ۱۳۸۹. بررسی سطوح مختلف اسید آمینه متیونین بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدن بچه‌فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) نشریه دامپزشکی، شماره ۸۹، ص ۱۲-۱۹.
- روضاتی، س.ع.، حقی، ن.، و آورجه، س.، ۱۳۹۲. اثرات تنش شوری و دما بر فاکتورهای خونی بچه‌ماهی کپور. نشریه فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، جلد ۱، شماره ۲، ص ۹۵-۱۱۲.
- شکوری، م.، قلیپور، ح.، و ناصری، س.، ۱۳۹۲. بررسی سطوح مختلف پودر سفیره کرم ابریشم بر برخی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نشریه توسعه آبزی، شماره ۴، ص ۳۵-۴۲.
- قلیچی، ا.، ۱۳۹۵. تأثیر اسید آمینه ال-آلانین بر روی برخی شاخص‌های هماتولوژیکی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله شیلات، شماره ۵، ص ۱۷-۲۵.
- کازرانی فراهانی، م.، ۱۳۸۸. بررسی برخی فاکتورهای هماتولوژیک در بعضی از ماهیان خانواده *Acipenseridae*. فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال ۲، شماره ۱، ص ۶۱-۵۰.
- یزدانی ساداتی، م.ع.، هوشیار، ی.، بانی، ع.، کاظمی، ر.، حلاجیان، ع.، و پوردهقانی، م.، ۱۳۹۲. مطالعه روند تغییرات فصلی شاخص‌های خونی تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) در محیط محصور. نشریه بهره‌برداری آبزیان پرورش، سال ۲، شماره ۲، ص ۱۰-۳۲.

- Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K., and Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile (*Acipenser oxyrinchus*) and (*Acipenser brevirostrum*) at rest and following forced activity. *J. Fish Biol.* 66, 208-221.
- Bekan, S., Dogankaya, L., and Cakirogullari, G.C., 2006. Growth and body composition of European catfish (*Silurus glanis*) fed diet containing different Percentages of Protein. *Israeli J. Aquacul. Bamidgeh.* 57, 137-142.
- Chen, G., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W., Kuang, S., Tang, L., Tang, W., Zhang, Y.A., Zhou, X., and Feng, L., 2015. Effect of dietary arginine on the immune response and gene expression in head kidney and spleen following infection of Jian carp with *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 44: 195-202.
- Cheng, Z., Gatlin III, D.M., and Buentello, A., 2012. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth Performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Aquaculture.* 362-363, 39-43.
- Erika, M.P., Libardo, I. Buchell Lr-Narvaiez., Ronaldo, W.H., and Walton, W.D., 1990. Effects of injected and dietary arginine on Plasma insulin levels and growth of Pacific salmon and rainbow trout. *Camp. Biochem. Physiol.* 98, 165-170.
- Gan, L., Lio, Y.J., Tian, L., Yang, H., Yue, Y., Chen, Y., Liang, J.J., and Liang, G.Y., 2012. Effect of dietary Protein reduction with lysine and methionine supplementation on growth Performance, body composition and total ammonia nitrogen excretion of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture nutrition.* 18, 589-598.

- Milligan, C.L., and Wood, C.M., 1982. Disturbances in haematology, fluid volume distribution and circulatory function associated with low environmental Ph in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Exp. Biol. 99, 397-415.
- Stoskopf, M.K., 1993. Fish medicine. Saunders Company.
- Wilson, R.P., 2002. Protein and amino acids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (eds) Fish Nutrition, 3rd version. Elsevier Science, San Diego, USA, pp. 144-179.

**Effects of different dietary levels of L-Arginine hematological parameters
and salinity stress in fingerling common carp (*Cyprinus carpio*)**

***V. Jafari¹, E. Bahri¹, M.R. Mazandarani¹ and A.A. Hajibagloo¹**

¹Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental, Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

Abstract

Arginine is one of the amino acids that its impact on improving the growth and immune system of human and many animals always been one of interest of researchers. In this study, the effect of this amino acid on growth indices, blood factors and resistance against salinity tension on common carp fish have been investigated. For this purpose, four treatments (each treatment with three replicates) were made from common carp and fed with dietary foods containing arginine 0, 1.5, 2 and 2.5% for 60 days. During this period, the fishes three times were biometrics; finally, samples of blood of each treatment have been taken and other fish were subjected to salinity stress (ppt 15) for 72 hours. Data analysis was performed using SPSS software version 18 and Excel and the comparing the mean of treatments in a completely randomized design have been performed analysis with Duncan test and one way ANOVA and existent or lack significant difference were performed in 5% of the level Probability ($P < 0.05$). Also, according to Haematology results, feeding of common carp fish by arginine had a significant effect on the size of red blood cells, hemoglobin and MCH, MCV and MCHC blood indices ($P < 0.05$), but the number of white blood cells and hematocrit in different treatments were not significantly different ($P > 0.05$). Results of applying of salinity stress on different treatments showed that the presence of arginine in the feed of carp fish may have a significant effect on their resistance and survival, so that for feed treatments with 1.5% and 2% of arginine within 72 hours did not show any casualties, therefore, based on the obtained results, arginine-based amino acids, have a significant effect on body immunity and survival of carp fish.

Keywords: Amino Acid; Arginine; Blood Factors; Common Carp; Salinity Stress

* Corresponding author; v.jafari.sh110@gmail.com