

تأثیر اسید آمینه ال-آلانین بر روی برخی شاخص‌های هماتولوژیکی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

*افشین قلیچی^۱، رضوان‌الله کاظمی^۲ و ملیحه راحتی^۳

^۱ گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

^۲ انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، رشت، ایران

^۳ دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۲۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۰۵

چکیده

در این پژوهش یک دوره آزمایش ۶۰ روزه به منظور ارزیابی تأثیر اسید آمینه ال-آلانین جیره بر روی برخی شاخص‌های خونی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) به مدت ۸ هفته انجام شد. برای این منظور ۹۶ عدد بچه‌ماهی با وزن متوسط ۲۳/۶ گرم پس از عادت‌دهی به غذای کنسانتره در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری تقسیم و تحت تیمار با سطوح ال-آلانین افزوده شده به جیره پایه، در مقادیر ۱، ۲ و ۳ درصد جیره قرار گرفتند. غذاهای به مقدار ۴ درصد وزن بدن و در ۶ نوبت انجام شد. خون‌گیری در ابتدای دوره به‌طور تصادفی از تعدادی ماهی انجام شد، اما در انتهای دوره از هر تیمار ۶ ماهی یعنی از هر تکرار ۲ ماهی و در مجموع ۲۴ ماهی خون‌گیری به‌عمل آمد. اندازه‌گیری وزن و طول کل به‌صورت ماهیانه انجام شد. شاخص‌های هماتولوژیکی شامل تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید و تعیین هماتوکریت، هموگلوبین، حجم متوسط یاخته‌ای (MCV)، میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC) و غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCH) مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص‌های هماتولوژیکی خون به‌استثنا لنفوسیت، مونوسیت، هماتوکریت و MCH اختلاف معنی‌داری را در میان تیمارهای مختلف ال-آلانین نشان دادند ($P < 0/05$). به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهد که کاربرد ال-آلانین می‌تواند کارایی رشد و برخی شاخص‌های خونی را در بچه‌تاس‌ماهی ایرانی تحت تأثیر قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: ال-آلانین، تاس‌ماهی ایرانی، شاخص‌های هماتولوژیکی

مقدمه

از اسیدهای آمینه ضروری است و همچنین وجود خاویار با درصد بسیار بالایی از پروتئین و چربی دارای اهمیت بسیاری است (آذری‌تاکامی، ۱۳۵۶). در پرورش تجاری تاس‌ماهیان، غذا و جیره غذایی ۶۰-۵۰ درصد هزینه تولید را تشکیل می‌دهد. از طرف دیگر آدپتاسیون غذایی برای برخی گونه‌ها از جمله تاس‌ماهی ایرانی بسیار سخت و پرتلفات می‌باشد، بنابراین برای سود اقتصادی، جبران هزینه‌های ثابت و جاری پرورش باید تا حد امکان هزینه‌های غذا کاهش یابد. افزودن مواد جاذب در جیره غذایی می‌تواند

تاس‌ماهیان یا ماهیان خاویاری که ماهیان غضروفی-استخوانی یا استروژن (Sturgeon) نیز نامیده می‌شوند، از دسته ماهیان غضروفی دوران اولیه هستند که حدود ۲۵۰ میلیون سال قدمت دارند (Hung, ۱۹۹۱). حدود ۹۳ درصد از جمعیت ماهیان خاویاری جهان در دریای خزر زندگی می‌کنند. ماهیان خاویاری به دلیل داشتن گوشت بسیار لذیذ که سرشار

* مسئول مکاتبه: afshin_ghelchi@yahoo.com

۱۹۹۳). بافت خون و تعیین فاکتورهای خونی و توجه به تغییرات گلوبول قرمز و سفید به عنوان شاخص مهم وضعیت فیزیولوژیکی اندام‌های بدن و آنالیز خون محیطی از نظر پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی در تشخیص بیماری‌های عفونی خونی و متابولیکی و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان (ماهی) همواره مدنظر است.

پارامترهای خونی به عنوان شاخص‌های فیزیولوژیکی در پاسخ به تغییرات خارجی یا داخلی در ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. شاخص‌های خونی به‌طور عمده برای ارزیابی سلامت ماهیان و استرس محیطی، تغذیه، جنس، اندازه، اختلافات فصلی و تخم‌ریزی نقش مهمی دارند. تغییرات عوامل خونی در زمان‌های مختلف در ماهیان به اثبات رسیده است. از آنجا که این جانداران تابع شرایط محیطی می‌باشند، فاکتورهای خونی در آن‌ها متغیر است.

خون بافتی سیال است که سایر بافت‌ها را به یکدیگر مرتبط می‌نماید. بافت خون شاخص مهمی برای بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص سلامت یا بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهیان می‌باشد. امروزه اهمیت علم خون‌شناسی به عنوان یکی از روش‌های دستیابی به وضعیت فیزیولوژیک مناسب در ماهیان به‌منظور به‌گزینی گله‌های مولد ثابت شده است. بررسی کمی نشانه‌های خونی در مراحل اولیه رشد و نمو ماهیان به عنوان یک شاخص مهم وضعیت فیزیولوژیک محسوب می‌گردد که در تکثیر و پرورش تاس‌ماهیان دارای اهمیت است (Alykrina Kyay و Dolgova, ۱۹۸۴). هر چند بیش از ۱۰۰ سال از مطالعه در زمینه خون‌شناسی ماهی می‌گذرد، اما برخی موانع، مطالعه خون‌شناسی ماهی را در مقایسه با پستانداران با مشکل مواجه کرده است، با این حال پیشرفت‌های قابل توجهی در زمینه خون‌شناسی

سبب تحریک گیرنده‌های چشایی و بویایی شده و در بلعیدن غذا تأثیر داشته باشد (Kasumyan, ۲۰۰۲). در سال‌های اخیر استفاده از مواد زیادی به عنوان ماده جاذب در جیره غذایی آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد که از جمله آن‌ها می‌توان اسیدهای آمینه، آمین‌ها، الکل‌ها، آلدئیدها و مواد چشایی کلاسیک، نوکلوتیدها، نوکلئوسیدها، شکر و دیگر هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و مخلوطی از این مواد را نام برد (Kasumyan, ۲۰۰۲). اسیدهای آمینه از جمله ال-آلانین به مقدار زیاد در آب محلول بوده و به آسانی منتشر می‌شوند که به عنوان ماده جاذب در جیره غذایی ماهیان گزارش شده است.

ال-آلانین یک آمینواسید غیرضروری با فرمول شیمیایی $C_3H_7NO_2$ می‌باشد. این اسید آمینه یکی از مهم‌ترین آمینواسیدهای مورد نیاز برای چرخه انرژی در سراسر بدن است و به میزان زیاد در ماهیچه و به میزان کم در خون، کلیه، کبد و مغز وجود دارد. ال-آلانین در بدن از تغییر پیرووات (طی مرحله متابولیسم کربوهیدرات) یا از تفکیک انسیرین و کارنوسین ساخته می‌شود.

خون‌شناسی به عنوان یکی از شاخه‌های مهم و پیشرفته در پزشکی و دامپزشکی و با توجه به نقش آن در تشخیص بیماری‌ها دارای اهمیت است و از سال ۱۹۸۰ رشد سریعی پیدا کرده است (کامکار و همکاران، ۱۳۷۷). تاریخ مطالعات خون‌شناسی در ماهیان اوایل قرن نوزدهم آغاز شده است. تغییرات فاکتورهای خون‌شناسی در جمعیت‌های مختلف ماهیان در سنین مختلف (Hrubec و همکاران، ۲۰۰۰)، فصول مختلف (Hardigo و Holgund, ۱۹۸۳) و بلوغ جنسی (Hrubec و همکاران، ۲۰۰۰) مشاهده شده است. محیط زیست ماهیان و شرایط حاکم به آن مانند درجه حرارت مواد غذایی، آلودگی و صید بر مقادیر متابولیت‌ها و سلول‌های خونی تأثیر می‌گذارد (Bullis,

بخش تکثیر و پرورش تعداد ۸۴ عدد ماهی با وزن متوسط ۲۳/۶ گرمی ($\pm 12/5$) و طول متوسط ۱۷/۸ سانتی‌متر ($\pm 3/8$) انتخاب و به حوضچه‌های ۵۰ لیتری که از قبل آماده‌سازی شده بودند، منتقل شدند. البته قبل از انتقال تاس‌ماهیان به حوضچه‌ها وزن و طول کل ماهیان اندازه‌گیری شد. ماهیان برای سازگار شدن با شرایط جدید محیطی (اکسیژن، دما) به مدت ۱۰ روز درون حوضچه‌ها و با جیره بیومار معمولی $1/5N^{\circ}$ (پروتئین ۵۴ درصد، چربی خام ۱۸ درصد، خاکستر ۷/۹ درصد، ویتامین ۰/۹ درصد، فسفر کل ۱/۵۷ درصد، سلولز خالص ۰/۹ درصد و سولفات مس ۰/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) بدون ماده جاذب (ال-آلانین) تغذیه شدند. ماهیان روزانه به میزان ۴ درصد وزن بدن در ۶ وعده (ساعات ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۲۰) به صورت دستی به مدت ۶۰ روز غذادهی می‌شدند. ماهیان بعد از سازگاری در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با تراکم ۷ قطعه در هر حوضچه توزیع شدند. برای بررسی اثرات ال-آلانین بر شاخص‌های خونی ۳ تیمار با ۳ تکرار شامل ال-آلانین ۱، ۲ و ۳ درصد و یک تیمار شاهد بدون ال-آلانین طراحی شد. بعد از هر بار بیومتری و تعیین متوسط بیومس موجود در حوضچه‌ها میزان غذای مورد نیاز براساس وزن بدن ماهیان تعیین می‌شد. هنگام غذادهی آب حوضچه به نصف کاهش و سیفون می‌شد تا ماهی‌ها از نظر ظاهری مورد بررسی قرار گیرند. در این مدت میانگین اکسیژن ۶/۹ میلی‌گرم بر لیتر و میانگین دما ۱۶/۷ درجه سانتی‌گراد بود.

برای ساخت جیره‌های آزمایشی، بیومار $1/5N^{\circ}$ آسیاب شده و به آن با توجه به گروه آزمایشی، ال-آلانین اضافه شد. مواد خشک کاملاً با یکدیگر مخلوط می‌شد تا تمام قسمت‌های غذا به ال-آلانین آغشته شود. سپس آب به آن اضافه شد تا به صورت خمیر در آید. این ماده در چرخ گوشت قرار گرفت و

تخصصی گونه‌های مختلف ماهی با آگاهی و شناخت تکنیک‌های خون‌شناسی در ماهی و کسب پاسخ‌های فیزیولوژیک ماهی به بیماری‌ها در ۱۵ سال اخیر صورت گرفته است (Colgrove, ۱۹۹۶).

مطالعات به نسبت زیادی نیز پیرامون خون‌شناسی برخی گونه‌های ماهی در شرایط و حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک به‌انجام رسیده است (Zinkl, ۱۹۹۹؛ Styandarayan و همکاران، ۲۰۰۴؛ Siddiqui و Nasim، ۱۹۷۹؛ Luo و همکاران، ۲۰۰۵؛ Luo و همکاران، ۲۰۰۶؛ Stolen و همکاران، ۱۹۹۴؛ Sardar و همکاران، ۲۰۰۹؛ Yan و همکاران، ۲۰۰۷؛ Hrubec و همکاران، ۲۰۰۰؛ Palikova و همکاران، ۱۹۹۹؛ Adeyemo و همکاران، ۲۰۰۳؛ Rehulka و Minarik، ۲۰۰۵؛ Sano، ۱۹۳۶؛ بهمنی و کاظمی، ۱۳۸۲؛ سراجیان، ۱۳۸۵؛ سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲؛ پورغلام و سعیدی، ۱۳۷۵؛ فراشی، ۱۳۸۶؛ یوسفی‌چوردھی، ۱۳۸۵؛ کامکار و همکاران، ۱۳۷۸). اما با توجه به تنوع گونه‌های بومی و محلی مشکل وجود دارد. از آن‌جایی که تاکنون پژوهشی در زمینه تأثیر جیره غذایی شامل ال-آلانین روی پارامترهای هماتولوژیک بچه‌تاس‌ماهی ایرانی در شرایط پرورشی به‌عمل نیامده است، بنابراین این مطالعه به منظور تعیین مقادیر برخی پارامترهای هماتولوژیک خون بچه‌تاس‌ماهی ایرانی تغذیه شده با سطوح مختلف ال-آلانین در حوضچه‌های فایبرگلاس انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرایی این پروژه از اوایل آبان‌ماه تا اواسط دی‌ماه سال ۱۳۸۹ در بخش‌های تکثیر و پرورش و فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در ۲۵ کیلومتری شهر رشت و در مجاورت سد سنگر در جوار رودخانه سفیدرود قرار دارد، انجام شد. از ذخیره تاس‌ماهیان موجود

میانگین \pm انحراف معیار و تفاوت آماری در سطح اطمینان ۵ درصد ارائه شدند.

نتایج

افزودن ال-آلانیل به جیره غذایی بچه تاس ماهیان تفاوت آماری معنی داری را روی رشد ماهیان تغذیه شده در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0/05$). ماهیانی که جیره ۲ درصد ال-آلانیل را دریافت کردند، دارای بالاترین میزان وزن نهایی، افزایش وزن و درصد بقا بودند ($P < 0/05$).

نتایج به دست آمده از تأثیر سطوح مختلف ال-آلانیل جیره غذایی روی میانگین برخی شاخص‌های هماتولوژیکی بچه تاس ماهی ایرانی پرورشی در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است. افزودن ال-آلانیل به جیره غذایی تأثیری بر درصد هماتوکریت، مونوسیت، لنفوسیت و متوسط هموگلوبین ذره‌ای (MCH) نداشت ($P > 0/05$), ولی افزودن ال-آلانیل به جیره غذایی بر روی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC), گلبول سفید (WBC), حجم متوسط یاخته‌ای (MCV), میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC), درصد نوتروفیل و ائوزینوفیل تأثیر معنی داری نداشت ($P < 0/05$). درصد نوتروفیل و ائوزینوفیل در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۳ درصد ال-آلانیل به طور قابل توجهی بالاتر از ماهیان تغذیه شده با دیگر تیمارها بود ($P < 0/05$). درصد لنفوسیت و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲ درصد ال-آلانیل افزایش داشت، اما این افزایش معنی دار نبود ($P > 0/05$). تعداد گلبول قرمز در تیمار ۳ درصد ال-آلانیل کاهش یافت، اما با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0/05$).

به صورت پلت‌هایی با قطر ۲/۵ میلی‌متر تبدیل شد. جیره تیمار شاهد نیز بدون این‌که ال-آلانیل به آن اضافه شود با این روش به صورت پلت ساخته شد. در نهایت پلت‌ها در دستگاه خشک‌کن با دمای ۴۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شوند.

خون‌گیری در ۲ مرحله، در ابتدا و انتهای دوره انجام شد. در مرحله ابتدایی به طور تصادفی تعدادی ماهی از تمامی تیمارها و در مرحله انتهایی از هر تیمار ۶ ماهی یعنی از هر تکرار ۲ ماهی به طور تصادفی برای بررسی فاکتورهای خونی انتخاب و قبل از زیست‌سنجی، خون‌گیری از آن‌ها با استفاده از سرنگ‌های هپارینه انجام شد. عملیات خون‌گیری از سیاهرگ دمی (caudal vein) واقع در پشت باله مخرجی صورت گرفت. لازم به ذکر است که هنگام خون‌گیری از مواد بی‌هوش‌کننده به علت احتمال تأثیر بر روی سطوح شاخص‌های خونی استفاده نشد. هماتوکریت، هموگلوبین (Hb) مطابق روش Colgrove (۱۹۶۶), بررسی اریتروسیت (RBC) و لوکوسیت‌های کل (WBC) مطابق روش Snieszko (۱۹۶۰), حجم متوسط یاخته‌ای (MCV), میانگین غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCHC), غلظت هموگلوبین ذره‌ای (MCH) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه گردید (Stolen) و همکاران, ۱۹۹۴). شمارش افتراقی لوکوسیت‌ها نیز با استفاده از روش Blaxhall (۱۹۷۲) صورت گرفت.

داده‌های به دست آمده پس از تبدیل، توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS 15 بررسی شدند. نتایج به صورت

جدول ۱- مقایسه نتایج به دست آمده از آنالیز لوکوسیت‌ها خون بچه‌تاس ماهیان ایرانی تغذیه شده با تیمارهای مختلف ال-آلانین (Mean±S.D)

شاخص	تیمار	انتهای آزمایش			
		شاهد	۱ درصد ال-آلانین	۲ درصد ال-آلانین	۳ درصد ال-آلانین
اریتروسیت (میلی مترمربع)	۴۴۴۰۰±۱۳۰۸۸۱/۶۲ ^a	۳۰۶۰۰±۷۱۶۲۴/۰۱ ^b	۳۱۸۳۳۳/۳±۷۶۲۶۷/۰۷ ^b	۳۳۶۰۰±۹۴۴۹۸/۶۷ ^{ab}	۲۵۶۶۶۶/۶±۴۳۶۶۵/۳۹ ^b
MCV (fl)	۴۵/۸۶±۱۷۳/۲۲ ^a	۵۷۹/۶۲±۹۵/۹۵ ^{bc}	۷۶۴/۰۵±۱۶۹/۹۲ ^{ab}	۶۱۴/۹۹±۱۳۹/۲۳ ^b	۹۳۵/۳۲±۲۳۲/۶۲ ^a
MCHC (درصد)	۱۸/۴۰±۵/۱۹ ^a	۱۷/۶۷±۳/۷۱ ^a	۱۱/۸۶±۲/۲۰ ^b	۱۲/۰۵±۲/۰۸ ^b	۱۲/۳۱±۳/۳۹ ^b
MCH (pg)	۷۷/۳۵±۱۷/۵۵ ^a	۱۱۰/۶۵±۳۸/۲۹ ^a	۹۰/۳۰±۲۴/۴۴ ^a	۶۷/۶۶±۳۰/۶۲ ^a	۱۱۱/۰۹±۴۲/۹۸ ^a
P.C.V (درصد)	۱۸/۶۰±۲/۵۸ ^a	۱۹/۸±۲/۵۸ ^a	۲۱±۳/۸۲ ^a	۲۳/۶۶±۵/۳۹ ^a	۲۲/۸۰±۲/۷۷ ^a
Hb (گرم بر دسی لیتر)	۳/۲۸±۰/۵۳ ^a	۳/۵۱±۰/۸۴ ^a	۲/۲۱±۰/۹۱ ^b	۲/۸۴±۰/۴۲ ^a	۲/۸۳±۰/۸۸ ^a
لوکوسیت (میلی مترمربع)	۲۱۷۰۰±۸۴۲۳/۱۸ ^a	۹۹۰۰±۲۷۰۱/۸۵ ^b	۱۹۶۰۰±۵۵۹۴/۶۴ ^a	۱۷۱۶۶/۶۰±۴۳۰۸/۹۰ ^{ab}	۱۸۵۰۰±۶۲۹۲/۸۵ ^a

توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف غیرمشابه در هر ردیف، اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).

جدول ۲- مقایسه نتایج به دست آمده از آنالیز لوکوسیت‌ها خون بچه‌تاس ماهیان ایرانی تغذیه شده با تیمارهای مختلف ال-آلانین (Mean±S.D)

شاخص	تیمار	انتهای آزمایش			
		شاهد	۱ درصد ال-آلانین	۲ درصد ال-آلانین	۳ درصد ال-آلانین
لنفوسیت (درصد)	۷۸±۶/۲۰ ^a	۷۵/۵۰±۲۳/۱۷ ^a	۷۷/۲۵±۷/۵۰ ^a	۸۳/۳۳±۵/۲۰ ^a	۷۴/۵±۱۰/۰۳ ^a
مونوسیت (درصد)	۵/۴۰±۲/۳۰ ^a	۶/۲۵±۴/۵۷ ^a	۵±۱/۸۲ ^a	۶/۵±۳/۶۱ ^a	۵/۱۶±۴/۷۰ ^a
اوتوزینوفیل (درصد)	۵±۲/۳۴ ^b	۴/۵±۳/۸۷ ^b	۵/۷۵±۴/۳۴ ^b	۴/۱۶±۲/۰۴ ^b	۱۰/۶۶±۳/۷۷ ^a
نوتروفیل (درصد)	۱۱/۶۰±۳/۶۴ ^{ab}	۷/۳۳±۲/۵۱ ^{bc}	۹/۵±۵/۶۴ ^{abc}	۴/۵۰±۱/۸۷ ^c	۱۳/۲۵±۲/۲۶ ^a

توجه: تیمارهای مشخص شده با حروف غیرمشابه در هر ردیف، اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری

در این بررسی کاربرد اسید آمینه ال-آلانین در جیره غذایی بچه‌تاس ماهی ایرانی سبب افزایش رشد و درصد بقا در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۲ درصد ال-آلانین شد ($P < 0/05$). تاکنون هیچ‌گونه بررسی علمی در زمینه کاربرد اسید آمینه ال-آلانین در جیره غذایی تاس ماهی ایرانی و تعیین اثرات آن بر رشد و تغییرات مربوط به شاخص‌های خون به عمل نیامده است.

شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های قرمز و سفید از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها

یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آن‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح باشد (Stoskopf, ۱۹۹۳). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی یا عفونت باشد (Adamze, ۲۰۰۲). تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای ال-آلانین نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی داری داشت. گلبول‌های سفید خاصیت فاگوسیتوزی و بیگانه‌خواری دارند و ورود یک جسم

اوتوزینوفیل $10/6-4$ بود که بالاتر از محدوده ذکر شده می باشد. عمده پژوهش های انجام شده بیانگر حضور $25-2$ درصد از نوتروفیل ها در جمعیت لکوسیت های ماهیان است و از گرانولوسیت های غالب در خون ماهیان می باشند (Stoskopf, 1993). در این بررسی نوتروفیل ها $13/25-4/5$ درصد از لکوسیت ها را به خود اختصاص داده است. وظیفه اصلی نوتروفیل ها، بلع (فاگوسیتوز) و تجزیه باکتریایی سلول در طی مکانیسم دفاعی بدن متعاقب ورود هر نوع ذره خارجی مانند باکتری ها می باشد.

گرانولوسیت ها مثل نوتروفیل ها و اوتوزینوفیل ها سلول های اولیه ای هستند که در طی $24-12$ ساعت اول در پاسخ به التهاب ظهور پیدا می کنند و نقشی که آن ها ایفا می کنند در گونه های مختلف به صورت متفاوت بروز نماید. مثلاً نوتروفیل ها می توانند نقش فاگوسیتوزی یا بیگانه خواری داشته باشند. افزایش نوتروفیل و اوتوزینوفیل در سطح 3 درصد ال-آلانین جیره در این بررسی را می توان به عنوان یک واکنش دفاعی از جانب بدن ماهی و تأثیر سوء سطوح بالای ال-آلانین دانست و با توجه به کاهش درصد لنفوسیت و گلبول قرمز که در ایمنی غیراختصاصی ماهی مؤثرند، می توان چنین بیان کرد که دستگاه گوارش (روده) بچه تاس ماهی قادر به تخمیر ال-آلانین در سطوح بالاتر (3 درصد) نبوده و منجر به افزایش این ماده جاذب غیرقابل هضم در دستگاه گوارش گشته و در نتیجه تأثیر زیان باری را به دنبال داشته است. بنابراین احتمالاً ال-آلانین در سطوح بالا منجر به تضعیف سیستم ایمنی می شود، چون در پاسخ به استرس، عفونت باکتریایی، پروتوزایی و التهاب، میزان نوتروفیل ها نیز افزایش می یابد (Stoskopf, 1993). همچنین به دنبال استرس های زیست محیطی و عفونت های باکتریایی مقادیر اوتوزینوفیل بالا می رود

خارجی مانند ال-آلانین باعث افزایش گلبول سفید در تیمارهای ال-آلانین نسبت به تیمار شاهد شده است. بنابراین از جمله ارزیابی هایی که می توان پس از کاربرد ماده جاذب انجام داد، شمارش تعداد کل لکوسیت ها و اریتروسیت ها و میزان تکثیر لنفوسیت ها در موجودات مورد آزمایش باشد. در این بررسی مکمل سازی جیره ها با ال-آلانین تأثیری بر درصد هماتوکریت، لنفوسیت، مونوسیت و متوسط هموگلوبین ذره ای (MCH) بچه تاس ماهی ایرانی نداشت، اما درصد هماتوکریت و لنفوسیت در ماهیانی که جیره 2 درصد ال-آلانین دریافت کرده بودند، بیش تر از تیمارهای دیگر بود. بررسی ها نشان می دهد که افزایش درصد لنفوسیت ها در نهایت سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن می شود (Raa و همکاران، 1992؛ Sakai, 1999). در این میان، لنفوسیت ها می توانند در تولید پادتن نقش داشته باشند. همچنین بررسی ها بیانگر آن است که لنفوسیت های ماهی فعالیت بیگانه خواری را نیز نشان می دهند یا این که تعداد سلول هایی مثل ماکروفاژها را که در بیگانه خواری نقش دارند را افزایش می دهند. در این پژوهش بیش ترین درصد گلبول های سفید خون را لنفوسیت ها و نوتروفیل ها تشکیل می دادند و این مسأله در سایر ماهیان نیز به اثبات رسیده است (Williams و همکاران، 1976). از دیگر گلبول های سفید، مونوسیت ها هستند که آن ها در نیز در بیگانه خواری نقش دارند. تعداد این دسته از گلبول های سفید (مونوسیت ها) تحت تأثیر میزان ال-آلانین قرار نگرفت. این در حالی است که درصد نوتروفیل ها و اوتوزینوفیل ها در ماهیانی که جیره 3 درصد ال-آلانین را دریافت کرده بودند، بیش تر از سایر تیمارها بود. سطوح اوتوزینوفیل ماهیان در شرایط طبیعی $3-2$ درصد و حداکثر 10 درصد از کل گلبول های سفید را تشکیل می دهند (Stoskopf, 1993). در این بررسی مقادیر

و بیش‌ترین میزان در تیمار متیونین + لایزین مشاهده شده است (Sardar, ۲۰۰۹).

هماتوکریت شاخص سلامت و ایمنی در ماهیان می‌باشد که در این بررسی بیش‌ترین درصد هماتوکریت در تیمار ۲ درصد ال-آلانین مشاهده شد که بیانگر سلامت و ایمنی ماهیان بوده است، هر چند که این افزایش معنی‌دار نبود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که سطح ۲ درصد ال-آلانین می‌تواند دارای اثرات مثبتی روی فاکتورهای خونی بچه‌تاس‌ماهی ایرانی پرورشی باشد. با توجه به محدودیت منابع و مطالعات به‌نسبت اندک صورت گرفته بر روی پارامترهای خون‌شناسی در تاس‌ماهی پرورشی در سنین مختلف پرورش و با توجه به گسترش روزافزون صنعت پرورش ماهیان خاویاری به‌نظر می‌رسد باید مطالعات بیش‌تری در ارتباط با پارامترهای خونی و چگونگی آن‌ها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت گیرد تا به موازات گسترش این صنعت بتوان پاسخ‌گوی نیازهای علمی در زمینه پیش‌گیری، تشخیص و درمان بیماری‌های آن بود. در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان نمود که ال-آلانین ۲ درصد به‌عنوان ماده جاذب با تأثیری که می‌تواند بر روی سیستم ایمنی بدن ایجاد کند، باعث مقاومت بیش‌تر آبزیان شده و تحت شرایط نامناسب محیطی که ممکن است با استرس‌های خاصی هم‌چون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد، مؤثر واقع شده و در نهایت افزایش بازده تولید را در پی داشته باشد.

(Williams و همکاران، ۱۹۷۶). از طرفی در ماهیان نیز مشابه پستانداران استرس منجر به بروز پدیده کاهش لنفوسیت‌ها، کاهش منوسیت‌ها و افزایش نوتروفیل‌ها می‌شود (بهمنی و همکاران، ۱۳۷۸؛ Wedemeyer و همکاران، ۱۹۹۰؛ Barton و Zitziv، ۱۹۹۵؛ Ellis، ۱۹۸۱؛ Benfey و Biron، ۲۰۰۰). استرس نیز نقش بسیار مؤثری در نوسان تعداد لکوسیت‌ها دارد، به‌طوری‌که استرس‌های مزمن قادر به پاک‌سازی لنفوسیت‌ها از تمام بافت‌های لنفوئیدی و خون می‌باشند (Benfey و Biron، ۲۰۰۰). بررسی‌های بیش‌تری در ارتباط با مکانیسم‌هایی که ال-آلانین از طریق آن‌ها می‌تواند باعث افزایش مقاومت در مقابل بیماری‌ها در بچه‌تاس‌ماهیان شود مورد نیاز است. نتایج این بررسی بیانگر آن است که سطح ۲ درصد ال-آلانین در جیره دارای بالاترین درصد لنفوسیت، مونوسیت، هماتوکریت، تعداد گلبول قرمز و کم‌ترین درصد ائوزینوفیل و نوتروفیل در بچه‌تاس‌ماهی ایرانی در مقایسه با گروه شاهد گردید. در بررسی تأثیر اسید آمینه متیونین بر روی رشد و شاخص‌های خونی بچه‌فیل‌ماهیان تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل، هماتوکریت، تحت تأثیر متیونین جیره قرار نگرفت (حقی، ۱۳۸۶).

در بررسی تأثیر جیره‌های غذایی بدون لایزین و میتونین (شاهد)، لایزین، میتونین، متیونین + لایزین بر روی رشد و شاخص‌های هماتولوژیکی Major carp مشاهده شد که میزان هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول سفید و قرمز در تیمارهای لایزین، میتونین، متیونین + لایزین نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشته

منابع

- ۱- آذری تاکامی، ق. ۱۳۵۶. تکنولوژی خاویار. دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحه‌های ۱ و ۱۶.
- ۲- بهمنی، م.، کاظمی، ر. ۱۳۸۲. مطالعه برخی عوامل بیوشیمیایی و خون در تاس ماهیان پرورشی (قره‌برون *Acipenser persicus* و فیل ماهی *Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، ویژه‌نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، صفحه‌های ۲۹ تا ۳۶.
- ۳- پورغلام، ر.، سعیدی، ع. ۱۳۷۵. مقایسه سلول‌های خونی در ماهیان قره‌برون و فیل ماهی. مرکز تحقیقات شیلات مازندران، ۷۵ صفحه.
- ۴- حقی، ن. ۱۳۸۶. تأثیر اسید آمینه متیونین بر روی رشد و شاخص‌های خونی بچه فیل ماهیان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، دانشکده علوم و فنون دریایی.
- ۵- سراجیان، ش. ۱۳۸۵. بررسی و مقایسه برخی از فاکتورهای خونی و هورمونی استروئیدی در ماهیان ماده نارس و بالغ کفال طلایی دریای خزر (*Liza auratus*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۱۱۳ صفحه.
- ۶- سعیدی، ع.، پورغلام، ر.، رضائی نصرآباد، ع.، کامکار، م. ۱۳۸۲. مقایسه برخی از پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال (تعداد اریترویست‌ها، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، اندیس‌های خونی شامل M.C.H، M.C.H.C، M.C.V و گلوکز یا قند خون) در بچه‌ماهی قره‌برون در درجه حرارت‌های مختلف و مولد قره‌برون در شرایط دریا. مجله علمی شیلات ایران، ویژه‌نامه اولین سمپوزیوم ملی ماهیان خاویاری، صفحه‌های ۹۹ تا ۱۰۶.
- ۷- شاهسونی، د.، وثوقی، غ.، خضرائی‌نیا، پ. ۱۳۷۸. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون‌برون در سواحل جنوب‌شرقی دریای خزر. مجله پژوهشی و سازندگی، شماره ۴۴، سال ۱۲، جلد ۳، صفحه‌های ۱۲۶ تا ۱۳۰.
- ۸- فراشی، ا. ۱۳۸۶. مطالعه برخی شاخص‌های خونی و اسمزی در روند تکامل جنسی گونه تاس‌ماهی ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر.
- ۹- کامکار، م.، حبیبی، ف.، لطفی‌نژاد، ح.، سعیدی، ع.ا.، پورغلام، ر.، یوسفیان، م. ۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول‌های سفید و شمارش افتراقی آن در ماهیان خاویاری قره‌برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۴، سال ۱۲، جلد ۳، صفحه‌های ۱۳۱ تا ۱۳۳.
- ۱۰- یوسفی‌جوردهی، ا. ۱۳۸۵. تعیین ارتباط برخی شاخص‌های خونی و اسمزی در روند تکامل جنسی ازون‌برون پرورشی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، ۱۴۶ صفحه.

11. Adamze, S.M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress: Bethesda, MD: American fisheries Society, 644pp.
12. Adeyemo, O.K., Agbede, S.A., Olaniyan, A.D., and Shoaga, D.A. 2003. The haematological response of *Clarias gariepinus* to changes in acclimation temperature. Afr. J. Biomed. Res. 6, 105-108.
13. Alykrins Kyay, I.O., and Dolgova, S.N. 1984. Haematological feature of young sturgeon. Voprosy Icthiologii 4, 135-139.
14. Barton, B.A., and Zitzow, R.E. 1995. Physiological responses of juvenile walleye handling stress with recovery in saline water. The Progressive Fish Culturist 57, 267-276.
15. Benfey, T.G., and Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture 184, 167-176.
16. Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assessment of the health of fresh water fish. J. Fish Biol. 4, 593-604.

17. Bullis, R.A. 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fishes. In: fish Medicine. Stoskopf, pp. 232-239.
18. Colgrove, G.S. 1966. Histological and hematological changes accompanying sexual maturation of sockeye salmon in the Fraser River system. *Bulletin of International Pacific Salmon Fisheries Commission* 20, 1-28.
19. Groff, J.M., and Zinkl, J.G. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. Common carp and goldfish. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 2(3), 741-776.
20. Hardigo, Y., and Hoglund, I. 1993. On accuracy in estimating fish blood variables. *Comparative Biochemistry and Physiology* 75, 35-40.
21. Hrubec, T.C., Cardinale, Y., and Smith, S.A. 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology* 29, 7-12.
22. Hung, S.S.O., 1991. Hand book of Nutrition requirement of Finfish. CRS Press, pp. 153-160.
23. Kasumyan, A.O., 2002. Taste preference in fish. *J. Ichthyol.* 41, 88-128.
24. Luo, Z., Liu, Y., Mai, K., Tian, L., Yang, H., Tan, X., and Lio, D. 2005. Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level. *Aquaculture* 249, 409-418.
25. Luo, Z., Liu, Y.J., Mai, K.S., Tian, L.X., Tan, X.Y., Yang, H.J., Liang, G.Y., and Liu, D.H. 2006. Quantitative L-lysine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition* 12, 165-172.
26. Palikova, M., Mares, J., and Jirasek, J. 1999. Characteristics of leucocytes and thrombocytes of selected sturgeon species from intensive breeding. *Acta Veterinaria Bron* 68, 259-264.
27. Raa, J., Roestad, G., Engstad, R.E., and Robertsen, B. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organism to microbial infections In: I.M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Arthur, Editors, Diseases in Asian aquaculture, Health Fish Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 39-50.
28. Rehluka, J., Minarik, B., Adammec, V., and Rehulkova, E. 2005. Investigation of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 36(1), 22-32.
29. Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172, 63-92.
30. Sano, T. 1960. Haematological studies of the culture fishes in Japan. *J. Tokyo University of Fisheries*, 46, 98-87.
31. Sano, T. 1963. Blood properties of cultured fish. *Jap. Soc. Fish.*, 29(12), 113-118. (In Japenes).
32. Sardar, P., Abid, M., Randhawa, H.S., and Prabhkar, S.K. 2009. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato- biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita*) fed soy protein-based diet. *Aquaculture Nutrition* 15, 339-348.
33. Siddiqui, A.Q., and Nasim, S.M. 1979. The hematology of marigal, *Cirrhina mrigala* (Teleostei: Cyprinidae). *Anatomischer Anzeiger* 146 (3), 262-269.
34. Snieszko, S.F. 1960. Microhaematocrit as a tool in fishery research and management. *Special Scientific Reports of the U.S. Fish and Wildlife Service*, 341pp.
35. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Zelikoff, J.T., Kaattari, S.L., and Smith, S.A. 1994. Techniques in Fish Immunology-3. SOS Publication, USA, pp. 121-130.
36. Stoskopf, M.A., 1993. Fish Medicine. Sounders Company, 882pp.
37. Styanarayan, S., Bejankwar, R.S., Chaudhari, P.R., Kotangale, J.P., and Satyanarayan, A. 2004. Impact of some chlorinated pesticides on the haematology of the fish *Cyprinus carpio* and *Funtius ticto*. *J. Environ. Sci. (China)*, 16(4), 631-4.

38. Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., and Mcleay, D.J. 1990. Stress and acclimation. In Methods for fish biology (Scheck, C.B. and Moyle, P.B., EDS), pp. 451-490.
39. Williams, R.W., and Warner, M.C. 1976. Some observation on the stained blood cellular elements of *Ictalurus punctatus*. J. Fish. Biol. 9, 491-497.
40. Yan, Q., Xie, S., Zhu, X., Lei, W., and Yang, Y. 2007. Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. Aquaculture Nutrition 13, 163-169.

**Effect of L-alanin amino acid on some blood indices
in Persian sturgen (*Acipenser persicus*) fingerling**

***A. Ghelichi¹, R. Kazemi² and M.Rahati³**

¹ Dept. of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

² Dr. Dadman International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran

³ M.Sc. Graduated, Dept. of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

Abstract

In this study, an experiment of 60 days was carried out to evaluate the effect of L-alanine amino acids dietary on some blood parameters of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). To this end, 96 fish (initial mean weight: 23.5 gr) were fed a basal diet with 54% crude protein for a conditioning period of 8 Week. Following conditioning, fish were stocked as groups of 8 in twelve 500 lit fiberglass tanks and fed the basal diet and experimental diets supplemented with 1,2 and 3% L-alanin for a period of 8 weeks. The groups were tested in triplicate. The fish were fed 4 times a day based on 4% of their biomass. At the beginning of the period, blood samples were taken from some of the fish with syringe from caudal peduncle area. At the end, blood samples were collected from 24 fish (2 fish from each tank) in order to determine and analyse the most important parameters of blood such as the amount of packed cell volume (PCV), eosinophils, notrophiles, lymphocytes, monocytes, hemoglobin (Hb), erythrocyte count (RBC), leucocyte count (WBC), mean corpuscle volume (MCV), mean corpuscle hemoglobin concentration (MCHC) and mean corpuscular haemoglobin (MCH) assessed. Blood haematological indicator with the exception of lymphocytes, monocytes, PCV and MCH showed significant differences among different attendances of L-alanin ($P<0.05$). The results of this study showed that application of L-alanine can affect growth performance and some blood indices in Persian sturgeon.

Keywords: L-alanine; Persian sturgeon; Haematologic indicators

*- Corresponding authors; afshin_ghelchi@yahoo.com