University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

Aquatic Animals Nutrition

Vol. 6, No. 1, 2020, pages: 1-12

Effects of different levels of dietary glucosamine on some growth performance, serum immune and biochemical indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Maryam Nazari, Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi*, Mehdi Shamsaie Mehrgan
Department of Fisheries Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Tehran, Iran

Received 26 October 2019 accepted 15 March 2020

KEYWORDS

Glucosamine

Siberian sturgeon

Growth

Hepatic enzymes

Immune system

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the effects of different dietary levels of glucosamine on growth performance, serum biochemical and immune indices of Siberian sturgeon. Fish (9.3 ± 0.4 g initial weight) in 12 fiberglass tanks with a density of 15 fish/tank were randomly distributed and fed with different levels of glucosamine including: 0 (control), 250, 750 and 1500 mg per kg of diet (C_0, T_{250}, T_{750} and T_{1500}, respectively) for 56 days. Based on the results, the highest final weight (63.1 ± 1.6 g), weight gain (54.14 ± 1.82 g), body weight increase (558.28 ± 23.23%), and specific growth rate (3.36 ± 0.08%/day) were observed in T_{1500} compared to the other treatments ($p<0.05$). The results of this study showed that there are no significant differences in survival rate and blood glucose levels among the experimental treatments ($p>0.05$). The results of the serum immune indices exhibited that the highest levels of IgM (38.1 ± 0.5 mg/dL), C3 (5.20 ± 0.17 mg/dL) and C4 (20.72 ± 1.0 mg/dL) were observed in T_{1500} compared to other experimental treatments ($p<0.05$). On the other hand, by increasing glucosamine concentration, the activity of hepatic enzymes including aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, and alkaline phosphatase was decreased and the lowest levels were observed in T_{1500} ($p<0.05$). In conclusion, glucosamine, especially at the level of 1500 mg/kg of diet, displayed positive effects on the growth and immune indices of juvenile Siberian sturgeon.

*Corresponding author: hosseini@srbiau.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

تغذیه آبزیان

سال ششم، شماره اول، بهار ۱۳۹۹، صفحات ۱۲-۱

"مقاله پژوهشی"

تأثیر سطوح مختلف گلوکزامین بر برخی شاخص‌های رشد، ایمنی و بیوشیمیایی تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*)

مریم نظری، سید پژمان حسینی شکرابی*، مهدی شمسایی مهرجان

گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۸/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۵

چکیده

این مطالعه به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف گلوکزامین بر عملکرد رشد، شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم در بچه تاسماهی سیبری انجام شد. برای این منظور ماهیان (وزن اولیه ۰/۴ ± ۹/۳ گرم) در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۱۵ عدد ماهی به صورت تصادفی توزیع و طی مدت ۵۶ روز با سطوح مختلف گلوکزامین شامل: صفر (شاهد)، ۲۵۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک غذادهی شدند. بر اساس نتایج رشد، بیشترین میزان وزن نهایی (۱/۶ ± ۶۳/۱ گرم)، وزن کسب شده (۱/۸۲ ± ۵۴/۱۴ گرم)، افزایش وزن (۲۳/۲۳ ± ۵۵۸/۲۸ درصد) و نرخ رشد ویژه (۰/۰۸ ± ۳/۳۶ درصد در روز) در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم نسبت به دیگر تیمارها دیده شد ($p<0/05$). نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معناداری در درصد بازماندگی و میزان گلوکز خون بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود ندارد. نتایج بررسی شاخص‌های ایمنی سرم نشان داد که بیشترین میزان ایمونوگلوبولین M سرم (۰/۵ ± ۳۸/۱ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و اجزای کمپلمان C3 (۰/۱۷ ± ۵/۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و C4 (۱/۰ ± ۲۰/۷۲ میلی‌گرم/دسی‌لیتر) در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد ($p<0/05$). در نقطه مقابل، با افزایش غلظت گلوکزامین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز کاهش یافت و کمترین میزان آنها در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده شد ($p<0/05$). در مجموع، تأثیر مثبت غلظت‌های بالاتر گلوکزامین به‌خصوص در سطح ۱۵۰۰ گرم در کیلوگرم خوراک روی شاخص‌های رشد و ایمنی بچه تاسماهی سیبری مثبت ارزیابی شد.

کلمات کلیدی

گلوکزامین

تاسماهی سیبری

رشد، آنزیم کبدی

سیستم ایمنی

نویسنده مسئول: hosseini@srbiau.ac.ir

مقدمه

با توجه به نقش تغذیه در آبزی‌پروری و پذیرش این موضوع که جیره غذایی ماهیان ۵۰ تا ۶۰٪ هزینه‌های پرورش را به خود اختصاص می‌دهد، پرورش و تولید موفقیت آمیز به استفاده از خوراک کامل با ترکیب بهینه وابسته است، به طوری‌که تمام ترکیبات مغذی ضروری مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی را برای ماهی فراهم می‌کند تا ماهی به رشد سریع و مطلوب خود برسد (Cho et al. 2005). گلوکزامین یک آمینومونوساکارید مشتق شده از کیتوزان بوده که کیتوزان نیز از استیل‌زدایی کیتین مشتق می‌شود. به عبارت دیگر، کیتین یک پلیمر زیستی خطی متشکل از واحدهای N-استیل گلوکزامین است که براساس درجه استیل‌زدایی (حذف گروه‌های آمیدی و جایگزینی با گروه‌های آمین) به ترکیبات کیتوزان و گلوکزامین تبدیل می‌شوند (Houpt et al. 1999). گلوکزامین از کیتین و کیتوزان موجود در دیواره‌های سلولی بسیاری از قارچ‌ها و پوسته خارجی سخت پوستان دریایی تولید می‌شود (Wu et al. 2020). گلوکزامین یک مکمل دارویی است که در درمان استئوآرتریت، بافت‌های پیوندی، پوست، تاندون‌ها و غضروف‌ها و رباط‌ها و همچنین، تسکین ورم مفاصل استفاده می‌شود. این مکمل به تنهایی یا به همراه کوندرویتین سولفات موجود بوده و برای کاهش درد در بیماری استئوآرتریت، ترمیم بافت غضروف و تجدید مایعات مفصلی مؤثر است (Sweetman, 2011). تحقیقات در خصوص استفاده از این مکمل خوراکی در جیره آبزیان محدود است و بیشتر تحقیقات، به جنبه‌های انسانی این مکمل پرداخته‌اند. اگرچه برخی تحقیقات محدود به اثرات مفید گلوکزامین به عنوان محرک رشد در گربه ماهی راه‌رونده، *Clarias batrachus* (Chowdhary et al. 2011, 2016; Srivastava et al. 2013) و تقویت‌کننده دستگاه ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، *Oncorhynchus mykiss* (غرقی، ۱۳۹۲) اشاره می‌کند. با وجود این، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر استفاده از این مکمل در جیره غذایی آبزیان به‌خصوص خانواده تاسماهیان به‌عنوان ماهیان غضروفی-استخوانی انجام نشده است.

تاسماهی سیبری (*Acipenser baerii*) با قابلیت رشد سریع، کوتاه بودن دوره رسیدگی جنسی، مقاومت در برابر تغییرات شرایط زیست محیطی، زندگی در آب شیرین، سازگاری با دماهای پایین و پذیرش دامنه گسترده‌ای از مواد غذایی، علاوه بر اینکه معرف یک گونه پرورشی تجاری مهم در دنیاست، بلکه به عنوان یک مدل زیستی برای مطالعات فیزیولوژیک و تغذیه‌ای تاسماهیان کارایی دارد (Fontagné et al. 2006). لذا در مطالعه حاضر، تأثیر سطوح مختلف گلوکزامین بر شاخص‌های رشد برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی سرم بچه تاسماهیان سیبری ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه طی یک دوره ۸ هفته‌ای در پاییز سال ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی دماوند وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات (روستای سربندان، دماوند، تهران، ایران) انجام شد. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی، تعداد ۱۸۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی ۰/۴ ± ۹/۳ گرم در ۱۲ حوضچه فایبرگلاس با تراکم ۱۵ عدد ماهی با شرایط یکسان از نظر حجم آب و فراسنجه‌های کمی و کیفی مشابه توزیع و به مدت یک هفته با غذای پایه (غذای تجاری اسکرتینگ، ایتالیا) نگهداری شدند. میانگین فراسنجه‌های فیزیکوشیمیایی آب شامل دما ۰/۵۳ ± ۲۳/۹۰ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۲۱ ± ۶/۹ میلی‌گرم در لیتر، pH ۰/۰۹ ± ۷/۹۲ و میزان روشنایی برای تمامی تیمارها ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت خاموشی تنظیم شد.

تهیه و آماده سازی جیره‌های انتخابی

در این مطالعه کپسول گلوکزامین ساخت شرکت والمارک کشور چک با خلوص ۱۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گلوکزامین تهیه شد. آنالیز جیره تجاری (اسکرتینگ، ایتالیا) مورد استفاده در این مطالعه شامل ۰/۴ ± ۵۲/۶٪ پروتئین، ۰/۱ ± ۲۰٪ چربی، ۰/۱ ± ۹/۵٪ خاکستر و ۰/۲ ± ۸/۴٪ رطوبت بود. به منظور تهیه جیره‌های آزمایشی، غلظت‌های صفر (تیمار شاهد)، ۲۵۰، ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین در کیلوگرم خوراک به جیره پایه به صورت یکنواخت و همگن با استفاده از محلول ژلاتین ۲٪ مخلوط شد. با توجه به اینکه این مکمل برای اولین بار در خوراک ماهی خاویاری استفاده شده است، مبنای انتخاب دوزها براساس غلظت‌های مؤثر پیشنهاد شده برای مصرف روزانه

گلوکزامین در حیوانات و انسان انتخاب شد (Altman, 2009; Ibrahim et al. 2012). به غذای ماهیان گروه شاهد فقط محلول ژلاتین افشانه شد. خوراک پس از آماده‌سازی، در دمای اتاق خشک و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. تهیه خوراک‌های آزمایشی به صورت هفتگی بود. میزان غذای روزانه بچه ماهیان بر حسب میزان سیری ظاهری تعیین شد و ماهیان به مدت ۸ هفته و ۴ بار در روز با جیره‌های انتخابی، تغذیه شدند. این بررسی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در طی دوره، هر روز مدفوع و دیگر مواد باقی مانده از کف حوضچه‌ها سیفون، و حدود یک سوم آب هر حوضچه تعویض شد.

ارزیابی شاخص‌های رشد و تغذیه

زیست‌سنجی ماهیان در طی دوره آزمایشی به فاصله زمانی ۱۵ روز یکبار بود. وزن ماهیان هر تیمار با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل با کولیس دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به این منظور، ۲۴ ساعت قبل از زیست‌سنجی، تغذیه ماهیان قطع شده و قبل از زیست-سنجی، با پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش شدند. در این مطالعه، شاخص‌های رشد ماهیان شامل: درصد افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، میانگین رشد روزانه، شاخص چاقی (وضعیت) و درصد بازماندگی طبق روابط زیر محاسبه شد (Adel et al. 2015):

- درصد افزایش وزن= ۱۰۰×{(وزن ابتدایی بر حسب گرم \وزن ابتدایی بر حسب گرم - وزن نهایی بر حسب گرم)}
- ضریب تبدیل غذایی= افزایش وزن بدن بر حسب گرم\ مقدار غذای خورده شده بر حسب گرم
- نرخ رشد ویژه= ۱۰۰ × {(تعداد روزهای پرورش)\(میانگین وزن اولیه - میانگین وزن ثانویه)}
- ضریب چاقی= {طول بر حسب سانتیمتر به توان ۳)\(۱۰۰× وزن بر حسب گرم)}
- درصد بازماندگی= ۱۰۰× (تعداد اولیه ماهیان \ تعداد ماهیان باقیمانده)

نمونه‌برداری و خون‌گیری

نمونه‌گیری در انتهای روز ۵۶ دوره پرورش و پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش، بعد از بیهوش کردن ماهیان با پودر گل میخک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام شد. به این ترتیب که ماهیان به صورت کاملاً تصادفی صید شدند (از هر تیمار ۳ قطعه ماهی) و عملیات خونگیری از ماهیان با سرنگ از سیاهرگ دمی از ناحیه باله مخرجی انجام شد. نمونه‌های خون پس از جمع‌آوری در تیوب‌های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد خون، به مدت ۲ ساعت در یخچال نگهداری و سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد)، نمونه‌های سرم جدا شد. این نمونه‌ها تا قبل از انجام آزمایش‌های ایمنی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Blaxhall and Daisley, 1973).

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و ایمنی

اندازه‌گیری شاخص‌های گلوکز، ایمونوگلوبولین نوع M (IgM)، C3، C4، آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) همگی با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (پارس آزمون، تهران) و به وسیله دستگاه اتوآنالایزر تحقیقاتی (Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System, Japan) انجام شد (Mari et al. 2014).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۸ و با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵٪ تعیین شد ($p<۰/۰۵$).

نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد و بازماندگی تیمارهای مختلف تاسماهی سیبری تغذیه شده با مکمل گلوکزامین در انتهای دوره در جدول ۱ ارائه شده است. بر اساس این نتایج، وزن نهایی، وزن کسب شده و درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکوزامین در کیلوگرم خوراک نسبت به گروه شاهد و تیمارهای دیگر افزایش معنی‌دار نشان داد ($p<۰/۰۵$)، در حالی که ضریب

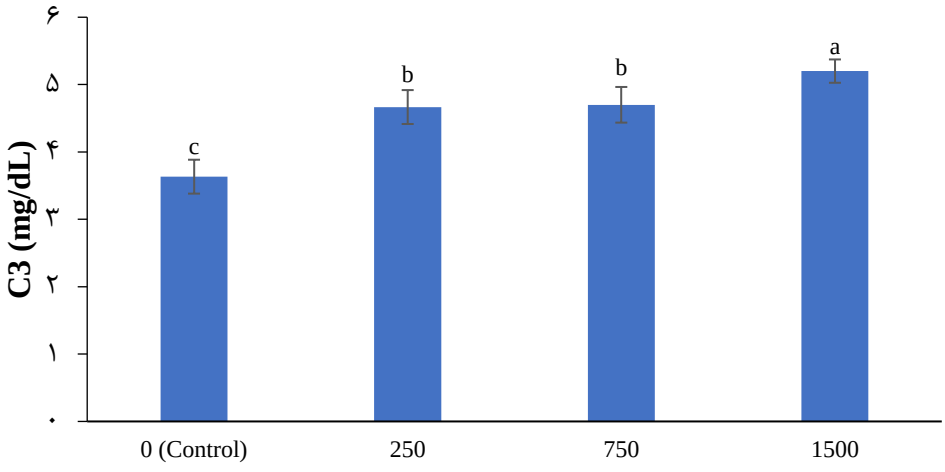
تبدیل غذایی و شاخص وضعیت در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم حداقل بود ($p<۰/۰۵$). نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معناداری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود ندارد و هیچ گونه تلفاتی در طی دوره غذادهی مشاهده نشد.

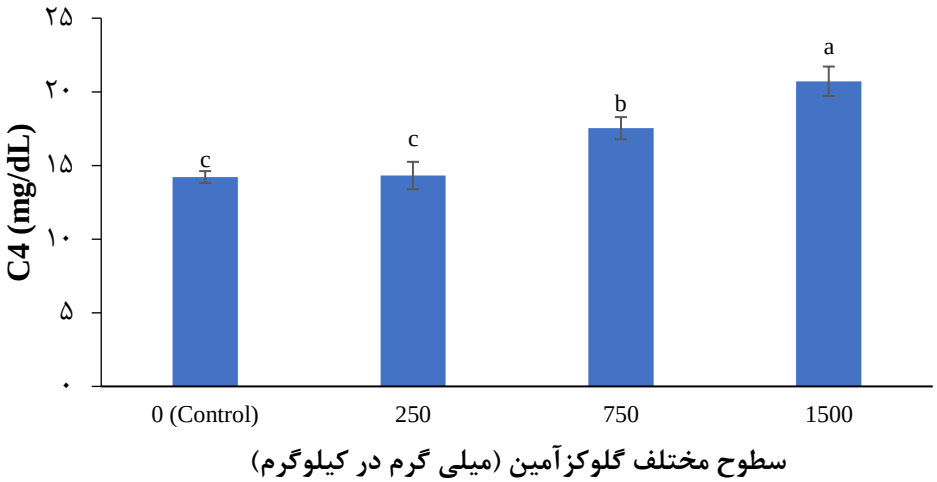
جدول ۱ میانگین شاخص‌های رشد و بازماندگی در بچه ماهیان سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف گلوکزامین.

شاخص	مقدار گلوکزامین (میلی‌گرم در کیلوگرم)			
	صفر (شاهد)	۲۵۰	۷۵۰	۱۵۰۰
وزن اولیه (گرم)	۹/۰۵ ± ۰/۵	۹/۳ ± ۰/۵۹	۹/۶۶ ± ۰/۴۹	۹/۷ ± ۰/۱۷
وزن نهایی (گرم)	۴۹/۵۹ ± ۰/۷۴^{c}	۴۹/۸۵ ± ۰/۷^{c}	۵۵/۰۸ ± ۰/۶۳^{b}	۶۳/۸۴ ± ۱/۶۰^{a}
وزن کسب شده (گرم)	۴۰/۵۴ ± ۱/۲۴^{c}	۴۰/۵۵ ± ۱/۲۹^{c}	۴۵/۴۲ ± ۱/۱۲^{b}	۵۴/۱۴ ± ۱/۸۲^{a}
درصد افزایش وزن بدن (٪)	۴۴۹/۳۸ ± ۳۸/۵۹^{c}	۴۳۷/۹۹ ± ۴۱/۹۹^{c}	۴۷۱/۶۲ ± ۳۶/۲۵^{b}	۵۵۸/۲۴ ± ۲۸/۲۳^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۳/۰۴ ± ۰/۱۳^{c}	۳/۰ ± ۰/۱۴^{c}	۳/۱۱ ± ۰/۱۱^{b}	۳/۳۶ ± ۰/۰۸^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۴۷ ± ۰/۵۳^{a}	۱/۵۳ ± ۰/۱۷^{a}	۱/۲۵ ± ۰/۰۴^{b}	۱/۱۰ ± ۰/۰۵^{c}
شاخص وضعیت	۲/۱۰ ± ۰/۱۲^{a}	۱/۸۷ ± ۰/۳۳^{a}	۱/۶۴ ± ۰/۰۶^{b}	۱/۰۹ ± ۰/۱۶^{c}
درصد بازماندگی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد است ($p<۰/۰۵$).

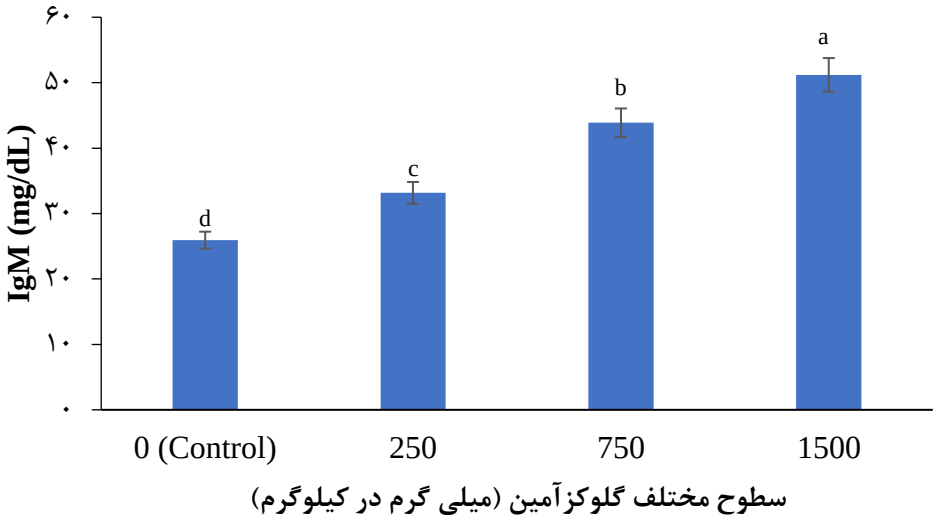
تغییرات سطوح برخی اجزای کمپلمان در سرم خون تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج این بررسی نشان داد که اختلاف معناداری در مقادیر اجزای کمپلمان (C3 و C4) سرم بین تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم با دیگر تیمارهای آزمایشی به خصوص گروه شاهد وجود دارد ($p<۰/۰۵$). کمترین میزان C3 در گروه شاهد برابر با ۲۵ ± ۳/۶۳ (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) و بیشترین میزان آن در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین برابر با ۰/۱۷ ± ۵/۲۰ (میلی‌گرم/دسی لیتر) به‌دست آمد. C4 در گروه شاهد با مقدار ۰/۴۰ ± ۱۴/۲۲ (میلی‌گرم/دسی لیتر) کمترین میزان و در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین برابر با ۱/۰ ± ۲۰/۷۲ (میلی‌گرم/دسی لیتر) بیشترین میزان را داشت ($p<۰/۰۵$).





شکل ۱ مقادیر اجزای کمپلمان (شامل C3 و C4) سرم تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.

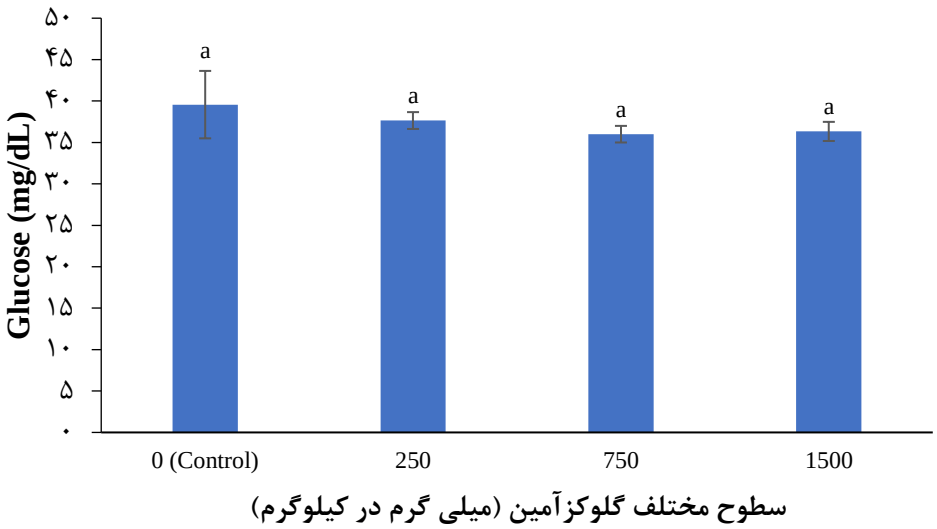
با توجه به شکل ۲، نتایج نشان‌دهنده آن است که اختلاف معناداری در میزان IgM سرم تاسماهی سیبری تغذیه شده با جیره ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین با دیگر تیمارهای آزمایشی به‌خصوص با گروه شاهد وجود دارد (p<۰/۰۵).



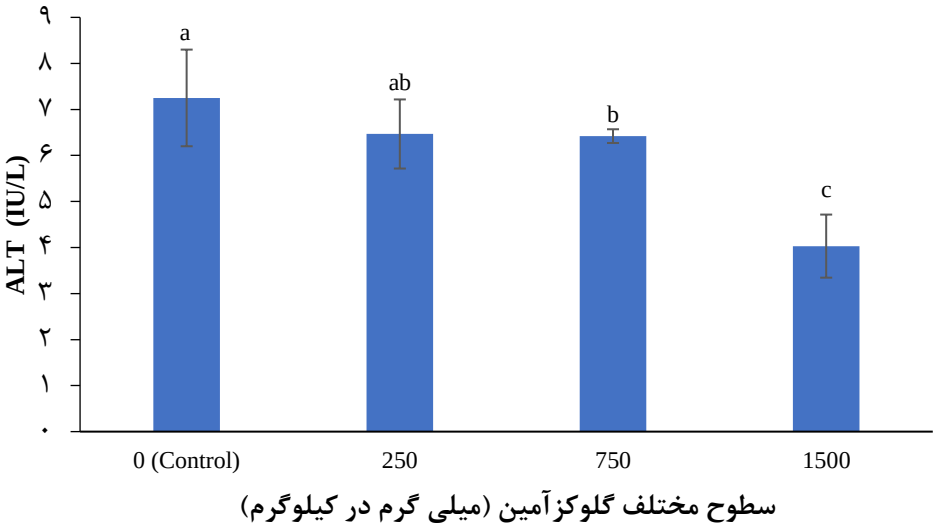
شکل ۲ تغییرات ایمونوگلوبولین M (IgM) سرم تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.

بر طبق نتایج حاصل از این اندازه‌گیری‌ها، از لحاظ سطح گلوکز خون تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و تیمارهای آزمایشی وجود نداشت (p>۰/۰۵؛ شکل ۳).

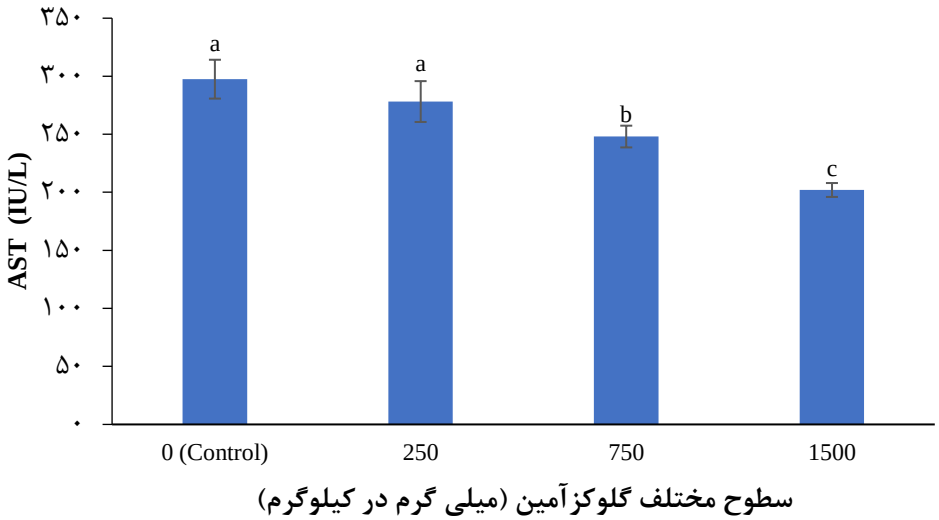
از سوی دیگر اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های AST و ALT بین تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم با دیگر تیمارهای آزمایشی به‌خصوص تیمار شاهد وجود داشت (شکل‌های ۴ و ۵؛ p<۰/۰۵). همچنین، نتایج نشان دهنده آن است که اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم ALP سرم تاسماهیان سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف گلوکزامین در مقایسه با گروه شاهد وجود دارد (p<۰/۰۵). کمترین میزان ALP در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم برابر با ۸/۴۳ ± ۱۵۸/۴۰ (واحد بین‌المللی/لیتر) و بیشترین میزان آن در تیمار شاهد برابر با ۸/۴۹ ± ۱۸۲/۹۷ (واحد بین‌المللی/لیتر) به‌دست آمد (شکل ۶).



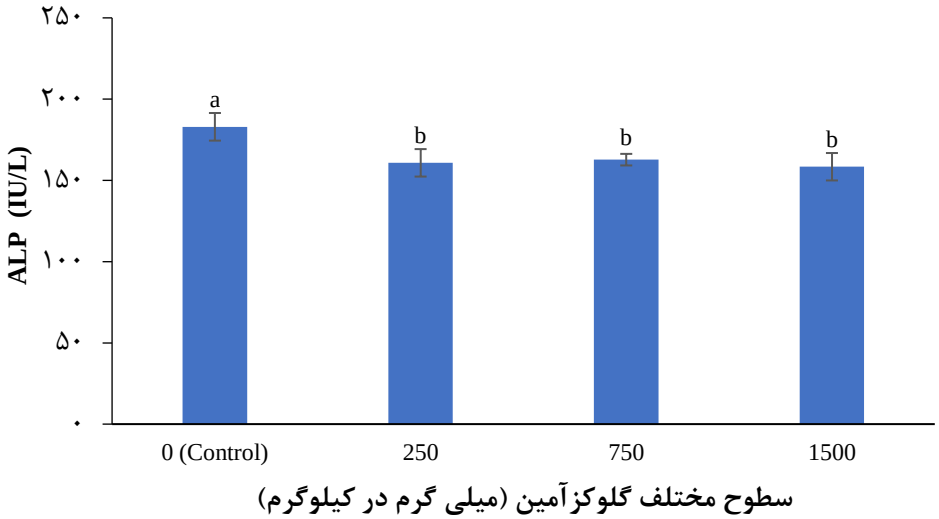
شکل ۳ مقادیر گلوکز خون تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.



شکل ۴ تغییرات آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) سرم تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.



شکل ۵ تغییرات آنزیم کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) سرم تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.



شکل ۶ تغییرات آنزیم کبدی آلکالین فسفاتاز (ALP) تاسماهی سیبری تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل گلوکزامین.

بحث

بهینه‌سازی شاخص‌های تغذیه‌ای و ایمنی می‌تواند باعث سازگاری بوم شناختی، رشد بهتر و کاهش تلفات سنگین در طی دوره پرورش در آبزیان شود. تاسماهی سیبری یکی از با ارزش‌ترین ماهیان خاویاری اقتصادی است که به دلیل سرعت رشد بالا در شرایط پرورشی، خاویاردهی در سنین پایین و دامنه تحمل دمایی در سراسر دنیا و از جمله ایران به منظور تولید گوشت و خاویار مورد توجه خاصی واقع شده است. لذا تلاش در جهت بهبود شاخص‌های رشد و افزایش قدرت ایمنی این ماهی افزایش فزاینده‌ای داشته است (Hamlin et al. 2011). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین در هر کیلوگرم خوراک، اثرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشد تاسماهی سیبری داشته است. در انتهای دوره، ماهیان تغذیه شده با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم، بیشترین وزن را داشتند و اختلاف وزن آن‌ها با تیمارهای دیگر معنی‌دار بود. نتایج مشابهی درباره افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت به دست آمد. وزن کسب‌شده در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین در بیشترین میزان و در تیمار شاهد در کمترین میزان مشاهده شد. این نتایج بیانگر آن

است که سطوح مختلف گلوکزامین مورد استفاده در این تیمارها روی وزن کسب‌شده تأثیرگذار بوده است.

نتایج مشابه تحریک‌کنندگی رشد به هنگام استفاده از گلوکزامین در گربه ماهی راه رونده (Chowdhary et al. 2012; Srivastava et al. 2013) گزارش شده است. بهبود شاخص‌های رشد ناشی از مصرف گلوکزامین در جیره تاسماهی سیبری می‌تواند ناشی از بهبود هضم مواد مغذی جیره یا به علت افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی، قدرت ضدباکتریایی قوی کیتین و مشتقات آن، متعادل کردن باکتری‌های مفید روده‌ای (Kaur et al. 2013) و در نهایت، بهبود سطح ایمنی غیراختصاصی ماهی باشد (El-Naby et al. 2018). در مطالعات مشابه با تحقیق حاضر، بهبود شاخص‌های رشد متعاقب مصرف کیتوزان در ماهی نیل تیلاپیا (Wang and Lee, 2011) و گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Udo et al. 2018) گزارش شده است.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان ضریب تبدیل غذاست، زیرا موجب کاهش هزینه‌های غذا و مقدار غذادهی و به‌تبع آن، موجب کاهش آلودگی آب محیط پرورشی و کاهش عفونت‌های ثانویه خواهد شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز غلظت‌های مختلف خوراکی گلوکزامین به‌خصوص در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم موجب کاهش معنی‌دار میزان ضریب تبدیل غذا نسبت به گروه شاهد می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که حتی سطوح پایین‌تر گلوکزامین جیره (۷۵۰ میلی‌گرم) نیز می‌تواند روی میزان ضریب تبدیل غذایی و کاهش مقدار آن در مقایسه با گروه شاهد تأثیرگذار باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری در درصد بازماندگی بین تیمارهای مختلف آزمایشی وجود ندارد و هیچ تلفاتی در طی دوره غذادهی مشاهده نشد. هر چند که در مطالعه Chowdhary و همکاران (۲۰۱۲) گربه ماهی راه رونده حاوی رژیم غذایی محتوی پروتئین گیاهی ترکیب شده با ۱۰٪ گلوکزامین در مقایسه با پروتئین گیاهی یا رژیم‌های طبیعی (ناپلیوس آرتمیا) از عملکرد رشد بهتر و نرخ بازماندگی بالاتری برخوردار بود.

روند تولید ایمونوگلوبولین‌ها در ماهی وقوع مجموعه‌ای از واکنش‌ها بین سلول ارائه‌دهنده آنتی ژن، سلول‌های T کمکی فعال‌شده و اینترلوکین‌ها سبب تحریک لنفوسیت‌های B می‌شوند (Iwama and Nakanishi, 1996). ایمونوگلوبولین‌ها پروتئین‌های مهمی هستند که در پاسخ ایمنی هومورال نقش مهمی دارند.

کیتین و مشتقات آنها دارای اثرات تعدیل کنندگی ایمنی هستند و با تأثیر بر ایمنی ذاتی و اکتسابی سبب افزایش فعالیت سلول‌های ایمنی و یاخته‌های ترشح کننده سایتوکین‌ها و کموکین‌ها می‌شوند (Mari et al. 2014). تحقیقات نشان‌دهنده آن است که استفاده از کیتین و کیتوزان در جیره غذایی ماهی موجب تحریک لنفوسیت‌های B و T می‌شوند. این لنفوسیت‌ها در اثر تحریک پلاسماسل‌ها موجب افزایش سطح ایمونوگلوبولین تام (Ig) می‌شوند (El-Naby et al. 2018). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده آن است که اختلاف معنی‌داری در میزان IgM سرم تاسماهیان سیبری تغذیه شده با جیره حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین با دیگر تیمارهای آزمایشی به خصوص با گروه شاهد وجود دارد و بیشترین مقدار IgM متعلق به این تیمار بوده است. Bentancor و همکاران (۲۰۱۲) خصوصیات ادجوانتی (یاور ایمنی) از گلوکوزامین را گزارش کرده اند. در حقیقت یکی از مواد طبیعی مهم و شناخته شده به عنوان محرک دستگاه ایمنی، کیتوزان به عنوان ماده پیش‌ساز گلوکزامین است، به‌طوری‌که مطالعه مشابهی حاکی از افزایش ایمونوگلوبولین سرم (IgM) به دنبال مصرف کیتین در جیره ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata* L.) است (Cuesta et al. 2004). No و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دادند که استفاده از کیتوزان به صورت خوراکی در جیره غذایی ماهی باعث افزایش فعالیت ضد باکتریایی سرم و افزایش شاخص‌های ایمنی و مقاومت شد.

کمپلمان در ماهیان نقش مهمی در باکتری‌کشی سرم و موکوس ایفا می‌کند و به عنوان اپسونین (مشهی) با اتصال به بخش‌های اختصاصی عامل مهاجم در سطح بدن میزبان در بیگانه خواری دخیل است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن سطوح مختلف گلوکزامین تأثیر معنی‌داری در میزان شاخص‌های کمپلمان C3 و C4 سرم تاسماهیان سیبری داشته است و بیشترین میزان این شاخص‌ها متعاقب تجویز سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارها به‌خصوص گروه شاهد داشته است. در مطالعه همسو با این تحقیق، غرقی (۱۳۹۲) نشان داد که استفاده از کیتوزان و گلوکزامین هیدروکلراید به صورت خوراکی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از

یک دوره ۲ ماهه منجر به تقویت ایمنی غیراختصاصی ماهیان می‌شود، به طوری که در تیمارهای حاوی کیتوزان و گلوکزامین هیدروکلراید افزایش معنی‌دار در شاخص‌های کمپلمان و لایزوزیم مشاهده شد. در مطالعات همسوی دیگر، Mari و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از کیتوزان به میزان ۱٪ در جیره غذایی ماهی کپور مریگال (*Cirrhina mrigala*) با تحریک و ارتقای ایمنی و شاخص‌های آن شامل کمپلمان، لایزوزیم و پروتئین تام سرم موجب افزایش مقاومت ماهی در مواجه با قارچ بیماریزای *Aphanomyces invadans* شده است.

شاخص‌های بیوشیمیایی خون نشانه‌ای از وضعیت فیزیولوژیک ماهی است که مقادیر آن تحت تأثیر مواد غذایی خورده شده و سطوح مورد مصرف می‌تواند تغییر کند. گلوکز از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون است که می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت زیستی ماهی به‌کار رود و دارای نقش مهمی در تولید انرژی جانوران با تولید ATP است. سطح گلوکز خون وابسته به فاکتورهای مختلفی مثل جیره غذایی، سن، تغذیه و فصل است و از مهم‌ترین پاسخ‌های ثانویه در هنگام بالا رفتن کورتیزول است (Wedemeyer et al. 1990). با توجه به نتایج، سطح گلوکز خون در تیمارهای تغذیه شده با گلوکزامین نسبت به گروه شاهد کاهش یافته اما این کاهش معنی دار نبود. کاهش سطح گلوکز خون احتمالاً ناشی از تأثیر گلوکزامین بر مکانیسم‌های کنترل کننده جذب، ذخیره و سوخت و ساز گلوکز خون ماهی است.

آنزیم‌های کبدی، شاخص فعالیت کبدی محسوب می‌شوند و تغییر در میزان فعالیت و ترشح آن‌ها را می‌توان متأثر از فراسنجه‌های فیزیکی و شیمیایی آب، تراکم، شرایط پرورشی، نوع جیره مصرفی، سن، جنس و وضعیت سلامت ماهیان دانست (Racicot et al. 1975). در این مطالعه، با افزایش غلظت گلوکزامین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP کاهش یافته و کمترین میزان آنزیم‌های مذکور در تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین مشاهده شده است. ثابت ماندن و در حد متعارف بودن شاخص‌های کبدی مذکور احتمالاً بیانگر عملکرد پایدار کبدی و دستگاه صفراوی در طی انجام این مطالعه است. عدم تأثیر و کاهش مقادیر آنزیم‌های کبدی مذکور به خصوص در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم گلوکزامین، نشان‌دهنده آن است که این مکمل فاقد مواد آسیب‌رسان کبدی است، هر چند که انجام مطالعات تکمیلی آسیب‌شناسی بافت‌های کبدی، کلیه، طحال و روده می‌تواند تأیید کننده این مطلب باشد که مکمل مذکور فاقد ترکیبات سمی و آسیب‌رسان بافتی است. در مطالعه همسو، El-Naby و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که افزودن ۵ گرم از فرم نانوکسپوله کیتوزان/کیلوگرم خوراک ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) موجب کاهش معنی‌دار آنزیم‌های کبدی ALT و AST در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. در مطالعه Mehrpak و همکاران (۲۰۱۵) نیز متعاقب مصرف ۱۰۰۰ میلی‌گرم کیتوزان همراه با ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم خوراک نیز کاهش مقادیر آنزیم‌های کبدی ALT و AST ماهی کپور معمولی مشاهده شد. کاهش مقادیر آنزیم‌های کبدی متعاقب مصرف کیتوزان و مشتقات حاصل از آن را مرتبط با اثرات ضداکسایشی این ترکیبات دانسته‌اند (El-Naby et al. 2018).

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از تأثیر مثبت سطوح مختلف گلوکزامین به‌خصوص در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک روی شاخص‌های رشد، آنزیم‌های کبدی و ایمنی تاسماهی سیبری جوان بود، هر چند که انجام مطالعات تکمیلی برای تعیین دوز بهینه گلوکزامین و تأثیر آن بر فعالیت‌های فیزیولوژیک بدن ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند تا از تلاش‌ها و زحمات پرسنل محترم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی-دماوند وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات بابت همکاری در بخش پرورش ماهیان تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

غرقی، ا. ۱۳۹۲. بررسی اثرات ایمنی بخشی کیتوزان و گلوکزامین هیدروکلراید در ماهی قزل آلای رنگین کمان. دومین همایش ملی توسعه و پرورش ماهیان سردابی. ۱۱-۱۰ اردیبهشت ۱۳۹۲، شهرکرد.

Adel, M., Nayak, S., Lazado, C.C., Yeganeh, S. 2016. Effects of dietary prebiotic grobiotic®-a on growth performance, plasma thyroid hormones and mucosal immunity of great sturgeon, *huso huso* (Linnaeus, 1758). Journal of Applied Ichthyology 32: 825-831.

Altman, R.D. 2009. Glucosamine therapy for knee osteoarthritis: pharmacokinetic considerations. Expert Review of Clinical Pharmacology 2: 359-371.

Bentancor, L.V., O'Malley, J.M., Bozkurt-Guzel, C., Pier, G.B., Maira-Litrán, T. 2012. Poly-N-acetyl-β-(1-6)-glucosamine is a target for protective immunity against *Acinetobacter baumannii* infections. Infection and Immunity 80: 651-656

Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology 5: 771-781.

Cho, S.H., Lee, S.M., Lee, J.H. 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquaculture Nutrition 11: 235-240.

Chowdhary, S., Srivastava, P.P., Mishra, S., Yadav, A.K., Dayal, R., Raizada, S., Jena, J.K. 2012. Partial replacement of dietary animal protein with vegetable protein blend with different proportions of glucosamine on growth, feed efficiency, body composition and survival of fingerlings of Asian catfish (*Clarias batrachus*). National Academy Science Letters 35: 291-297.

Chowdhary, S., Srivastava, P.P, Mishra, S., Yadav, A.K., Dayal, R., Lakra, W.S. 2011. Synergistic effects of dietary glucosamine and plant/animal proteins on the growth performance of Asian catfish (*Clarias batrachus*) juveniles. Online Journal of Animal Feed Research 2: 50-57.

Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A. 2004. Total serum immunoglobulin M levels are affected by immunomodulators in seabream (*Sparus aurata* L.). Veterinary Immunology and Immunopathology 101: 203-210.

El-Naby, F.A.S., Naiel, M.A.E., Al-Sagheer, A.A., Negm, S.S., A. 2018. Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 501: 82-89.

Fontagné, S., Bazina, D., Brèquea, J., Vachota, C., Bernardea, C., Rouaultb, T., Bergot, P. 2006. Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae. Aquaculture 257: 400-411.

Hamlin, H.J., Milnes, M.R., Beaulaton, C.M., Albergotti, L.C., Guillette, L.J. 2011. Gonadal stage and sex steroid correlations in Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, habituated to a semitropical environment. Journal of the World Aquaculture Society 42: 313-320.

Houpt, J.B, McMillan, R., Wein, C., Paget-Dellio, S.D. 1999. Effect of glucosamine hydrochloride in the treatment of pain of osteoarthritis of the knee. Journal of Rheumatology 26: 2423-230.

Ibrahim, A., Gilzad-Kohan, M.H., Aghazadeh-Habashi, A., Jamali, F. 2012. Absorption and bioavailability of glucosamine in the rat. Journal of Pharmaceutical Sciences 101: 2574-2583.

Iwama, G., Nakanishi, T. 1996. The Fish Immune System. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish, 73-114.

Kaur, P., Choudhary, A., Thakur, R. 2013. Synthesis of chitosan-silver nanocomposites and their antibacterial activity. International Journal Science Engineering Research 4: 869-872.

Mari, L.S.S., Jagruthi, C., Anbazahan, S.M., Yogeshwari, G., Thirumurugan, R., Arockiaraj, J., Harikrishnan, R. 2014. Protective effect of chitin and chitosan enriched diets on immunity and disease resistance in *Cirrhina mrigala* against

Aphanomyces invadans. Fish & Shellfish Immunology 39: 378-385.

Mehrpak, M., Banaee, M., Nematdoost Haghi, B., Noori, A. 2015. Protective effects of vitamin C and chitosan against cadmium-induced oxidative stress in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Journal of Toxicology 9: 1360-1367.

No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H., Meyers, S.P. 2002. Antibacterial activity of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights. Journal of Food Microbiology 74: 65-72.

Racicot, J.G., Gaudet, M., Leray, C. 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salrno gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: study of CC1, toxicity and a case of *Aeromonas* infection. Journal of Fish Biology 7: 825-835.

Srivastava, P.P., Chowdhary, S., Lakra, W. S., Dayal, R., Yadav, A.K., Mishra, S. 2013. Combined effects of graded levels of glucosamine and total replacement of animal protein from plant protein, on the growth of magur (*Clarias batrachus*) fingerling. European Journal of Experimental Biology 3: 557-565.

Sweetman, S.C. 2011. Martindale: The Complete Drug Reference. 37th ed., London: Pharmaceutical Press 4142p.

Udo, I.U., Etukudo, U., Anwana, U.I.U. 2018. Effects of chitosan and chitosan nanoparticles on water quality, growth performance, survival rate and meat quality of the African catfish, *Clarias gariepinus*. Nanoscience 1: 12-25

Wang, Y., Li, J. 2011. Effects of chitosan nanoparticles on survival, growth and meat quality of tilapia, *Oreochromis nilotica*. Nanotoxicology 5: 425-431

Wedemeyer, G.A., Barton, B.A., McLeay, D.J. 1990. Stress and acclimation. In: Shreck, C.B., Moyle, P.B. 1990. Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, U.S.A., 387p.

Wu, Y., Rashidpour, A., Almajano, M.P., Metón, I. 2020. Chitosan-based drug delivery system: Applications in fish biotechnology. Polymers 12: 1177-1201.