Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

The effect of dietary supplementation with glycine on hematological and biochemical indices of blood plasma in beluga (*Huso huso*)

Seyyed Morteza Hoseini*

Corresponding Author, Research Assistant Prof., Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran. E-mail: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.28.2022
Revised: 05.31.2022
Accepted: 06.15.2022

Keywords:
Beluga,
Blood,
Glycine,
Nutrition

ABSTRACT

Rearing of sturgeon is of great importance in Iran, and diet is one of its important factor. A lot of research has been executed on the nutrition of these fish, but more researches are needed to complete this knowledge. The purpose of this research was to investigate the effect of adding glycine to the diet on hematological parameters, protein concentration and plasma enzyme activity in beluga (*Huso huso*). For this purpose, the fish were fed diets enriched with 0 (control), 0.25, 0.5 and 1% glycine for 8 weeks. The results showed that the number of red blood cells, hematocrit percentage and hemoglobin concentration in 0.25% and 0.5% glycine treatment were significantly higher than the control ($P<0.05$). Also, these treatments had lower alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activities than the control ($P<0.05$). 1% glycine treatment showed a significant increase in total plasma protein concentration, compared to the control treatment ($P<0.05$). Also, there was no significant difference in MCV, MCH, MCHC, albumin, globulin, ammonia, and alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase activities among the treatments ($P>0.05$). Based on these results, adding 0.25-0.5% glycine to the diet of beluga can improve hematological indicators.

Cite this article: Hoseini, Seyyed Morteza. 2023. The effect of dietary supplementation with glycine on hematological and biochemical indices of blood plasma in beluga (*Huso huso*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11 (4), 81-93.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20389.1683
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳۴۵-۴۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۸۸

اثر افزودن گلایسین به جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی پلاسمای خون در فیل‌ماهی (*Huso huso*)

سید مرتضی حسینی*

نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی، گرگان، ایران. رایانامه: seyyedmorteza.hoseini@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵

واژه‌های کلیدی:
تغذیه،
خون،
فیل‌ماهی،
گلایسین

چکیده

پرورش ماهیان خاویاری از اهمیت بالایی در کشور برخوردار است که جیره غذایی یکی از ارکان مهم آن می‌باشد. پژوهش‌های زیادی روی تغذیه این ماهیان انجام شده است ولی پژوهش‌های بیش‌تری برای تکمیل این دانش نیاز می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر افزودن گلایسین به جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی، غلظت پروتئین‌ها و فعالیت برخی از آنزیم‌های پلاسما در بچه‌فیل‌ماهی (*Huso huso*) بود. به این منظور ماهی‌ها به مدت ۸ هفته با جیره‌های غذایی غنی‌شده با ۰ (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین تغذیه شدند. نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در تیمار ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد گلایسین به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد بود ($P<0/05$). هم‌چنین، این دو تیمار فعالیت آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترنسفراز پایین‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند ($P<0/05$). تیمار ۱ درصد گلایسین افزایش معنی‌داری در غلظت پروتئین کل پلاسما نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($P<0/05$). هم‌چنین، اختلاف معنی‌داری در مقدار MCV، MCH، MCHC، آلبومین، گلبولین، آمونیاک، و فعالیت آلانین آمینوترنسفراز و لاکتات دهیدروژناز بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P>0/05$). بر اساس این نتایج، افزودن ۰/۵-۰/۲۵ درصد گلایسین به جیره غذایی فیل‌ماهی می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های خون‌شناسی شود.

استناد: حسینی، سید مرتضی (۱۴۰۱). اثر افزودن گلایسین به جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی پلاسمای خون در فیل‌ماهی (*Huso huso*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۱ (۴)، ۹۳-۸۱.
DOI: 10.22069/japu.2022.20389.1683

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

تغذیه یکی از مهم‌ترین مباحث در آبزی‌پروری است، زیرا بخش بزرگی از هزینه‌های تمام شده تولید در آبزی‌پروری مربوط به تغذیه می‌باشد؛ از طرفی جیره‌های غذایی بالانس شده و مناسب می‌توانند باعث افزایش سلامت و سرعت رشد ماهی شوند (۱). از این‌رو پژوهش‌ها در زمینه تغذیه ماهیان به‌خصوص ماهیان خاویاری که در دوره‌های طولانی‌مدت پرورش می‌یابند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. با افزودن مکمل‌های غذایی می‌توان رشد و سلامت ماهی را بهبود بخشید و یکی از انواع مکمل‌های غذایی، اسیدهای آمینه هستند. اسیدهای آمینه علاوه بر نقشی که در تولید پروتئین در بدن آبزیان دارند، نقش‌های فیزیولوژیک دیگری نیز دارند که تضمین‌کننده سلامت ماهی می‌باشند. در این خصوص اسیدهای آمینه مختلف می‌توانند باعث بهبود فعالیت سیستم ایمنی و سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس در ماهی شوند. به همین دلیل اثر اسیدهای آمینه مختلف در جیره ماهیان خاویاری بررسی شده است که می‌توان به مطالعات انجام شده روی اثر تریپتوفان (۲)، متیونین (۳) و لیزین (٤) اشاره نمود.

یکی از اسیدهای آمینه که مطالعات کم‌تری در خصوص اثرات آن در آبزیان انجام شده است گلایسین می‌باشد. این اسید آمینه نقش مهمی در سنتز کلاژن دارد (۵). هم‌چنین اسید آمینه گلایسین یکی از اسیدهای آمینه در ساختار مولکول گلوتاتیون است و به‌همین دلیل گلایسین جیره، نقش مهمی در تولید این مولکول آنتی‌اکسیدانی و مقاومت موجود زنده در برابر استرس اکسیداتیو بازی می‌کند (٦). مطالعات معدودی در خصوص اثر افزودن گلایسین به جیره غذایی بر رشد و شاخص‌های سلامت ماهی انجام شده است. پژوهش‌های انجام شده روی ماهی آمور، تیلاپیای نیل، میگوی وانامی و ماهی باس دهان بزرگ نشان داده‌اند که افزودن گلایسین به جیره غذایی می‌تواند باعث بهبود رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس شود (۷، ۸، ۹، ۱۰). یکی از اثرات اسید آمینه گلایسین در جیره آبزیان کمک به ماهی در برابر مسمومیت آمونیاکی است. اسید آمینه گلایسین می‌تواند از طریق مسیرهای فیزیولوژیک خاص باعث تولید گلوتامات شود (۱۱) و گلوتامات در مسیر مسمومیت‌زدایی آمونیاک نقش مهمی بازی می‌کند. گلوتامات با آمونیاک موجود در بافت ترکیب شده و گلوتامین تولید می‌کند که می‌تواند در مسیرهای آنابولیکی مورد مصرف ماهی قرار گرفته و باعث رشد شود. مطالعاتی که اخیراً روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام شده‌اند نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد که اسید آمینه گلایسین ضمن کاهش مقدار آمونیاک خون ماهی، استرس اکسیداتیو ناشی از مسمومیت آمونیاک را نیز کاهش می‌دهد (۱۲، ۱۳).

علی‌رغم مطالعات ذکر شده بالا، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص اثر غنی‌سازی جیره غذایی با گلایسین در ماهیان خاویاری انجام نشده است. بنابراین در این پژوهش اثر سطوح مختلف گلایسین جیره بر شاخص‌های خون‌شناسی، غلظت پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های پلاسما در فیل‌ماهی (*Huso huso*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره‌های آزمایشی: در این پژوهش، ٤ گروه آزمایشی براساس میزان گلایسین موجود در جیره تعیین شد. ٤ سطح گلایسین برای افزودن به جیره در نظر گرفته شد که عبارتند از: صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱

درصد گلایسین. جیره غذایی شاهد متشکل از پودر ماهی، پودر گوشت، آرد گندم، آرد سویا، روغن سویا، مکمل معدنی، مکمل ویتامینی، لیستین، نمک معمولی، متیونین، فیتاز و گلایسین بود. در سه گروه تیمار، به همین ترکیب جیره شاهد مقادیر ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین نیز اضافه شد (جدول ۱). فرمولاسیون جیره با نرم‌افزار WUFFDA انجام شد.

پروفیل اسیدهای آمینه جیره‌های غذایی تهیه شده برای هر یک از تیمارها در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی (مقادیر به درصد).

اقلام غذایی	مقدار گلایسین جیره (درصد)			
	شاهد	۰/۲۵	۰/۵	۱
پودر ماهی کیلکا[1]	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
پودر ضایعات کشتارگاهی طیور[2]	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
آرد گندم	۲۲/۹۹	۲۲/۹۹	۲۲/۹۹	۲۲/۹۹
آرد سویا	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵
روغن سویا	۲/۱۸	۲/۱۸	۲/۱۸	۲/۱۸
مکمل معدنی[3]	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰	۱/۵۰
مکمل ویتامینی[4]	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
نمک معمولی	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰
لسیتین	۲	۲	۲	۲
متیونین	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۰
فیتاز	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۳
گلایسین[5]	۰/۰۰	۰/۲۵	۰/۵۰	۱
ترکیب بیوشیمیایی				
رطوبت	۵/٤۵	۵/۳۵	۵/۵۲	۵/٤٦
پروتئین خام	٤۱/۹	٤۱/۹	٤۲/۱	٤۲/۷
چربی خام	۱٤/٤	۱٤/۳	۱٤/۲	۱٤/۳
خاکستر خام	۷/۵۱	۷/۵۵	۷/۵۳	۷/٤۸
فیبر خام	۱/۸۹	۱/۹۱	۱/۹۲	۱/۹۰

۱ پروتئین خام ٦۳/۸ درصد؛ چربی خام ۲۲/٦ درصد؛ TVN ۱۱۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم

۲ شرکت پیگیر؛ پروتئین خام ٥٤ درصد؛ چربی خام ۲۱/۵ درصد؛ TVN ۱۲۵ میلی‌گرم در صد گرم

۳ شرکت آمینه گستر: A، ۱٦۰۰ واحد؛ D3، ۵۰۰ واحد؛ E، ۲۰ میلی‌گرم؛ K، ۲٤ میلی‌گرم؛ B3، ۱۲ میلی‌گرم؛ B5، ٤۰ میلی‌گرم؛ B2، ۱۰ میلی‌گرم؛ B6، ۵ میلی‌گرم؛ B1، ٤ میلی‌گرم؛ H، ۰/۲ میلی‌گرم؛ B9، ۲ میلی‌گرم؛ B12، ۰/۰۱ میلی‌گرم؛ C، ٦۰ میلی‌گرم؛ اینوزیتول ۵۰ میلی‌گرم

٤ شرکت آمینه گستر: سلنیوم، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ آهن، ۲/۵ میلی‌گرم؛ منگنز، ۵ میلی‌گرم؛ کبالت، ۰/۰٤ میلی‌گرم؛ ید ۰/۰۵ میلی‌گرم؛ مس ۰/۵ میلی‌گرم؛ روی، ٦ میلی‌گرم؛ کولین، ۱۵۰ میلی‌گرم

۵ شرکت سیگما

جدول ۲- پروفیل اسیدهای آمینه جیره‌های آزمایشی (مقادیر بر حسب درصد از پروتئین جیره).

اسیدهای آمینه	شاهد	۰/۲۵ درصد گلایسین	۰/۵ درصد گلایسین	۱ درصد گلایسین
گلایسین	۱/۸۰	۲/۰۳	۲/۳۲	۲/۷۷
اسید آسپارتیک	۳/۰۸	۳/۱۱	۳/۲۰	۳/۰۰
اسید گلوتامیک	٦/۱۱	٦/۱۵	٦/۰۲	٦/۰۰
سرین	۱/۷۷	۱/٦۵	۱/۷۰	۱/۸۲
هیستیدین	۷/۵۹	۷/٦۹	۷/٦۰	۷/۷۱
آرژینین	۱/۵۳	۱/۵۵	۱/٦۲	۱/٦٦
ترئونین	۱/۱۲	۱/۲۱	۱/۱۵	۱/۱۳
آلانین	۱/٦۱	۱/٤۸	۱/۵٦	۱/٦۸
پرولین	۱/٤۹	۱/۳۹	۱/۳۸	۱/۵۲
تیروزین	۱/۰۱	۱/۰۳	۱/۱۱	۱/۱۲
والین	۱/۸۹	۱/۸۱	۱/۹۱	۱/۷۲
متیونین	۰/۸۵	۰/۸٦	۰/۹۱	۰/۹۳
سیستئین	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۱٤	۰/۱٦
ایزولوسین	۱/٦٦	۱/۷۱	۱/٦۲	۱/۵٦
لوسین	۲/۳۷	۲/۳٦	۲/۳۱	۲/٤۱
فنیل آلانین	۲/۲۸	۲/۳۲	۲/۲۱	۲/۲۳
لیزین	۲/۰٦	۲/۱۱	۲/۰۳	۲/۱۷

برای ساختن جیره‌ها ابتدا مواد مختلف با نسبت‌های مشخص با هم مخلوط (به‌مدت ۱۰ دقیقه) و سپس به چهار قسمت تقسیم شدند. سپس مقدار ۳۵۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم آب اضافه شد تا حالت خمیری پیدا کنند. پیش از اضافه کردن آب به مواد تشکیل‌دهنده جیره، به ترتیب مقادیر ۰، ۲/۵، ۵ و ۱۰ گرم گلایسین به آب جیره‌های شاهد، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین اضافه شد. خمیر حاصله توسط چرخ گوشت به صورت رشته‌های ۳ تا ٤ میلی‌متری درآمده و پس از خشک شدن (در دمای اتاق و با وزش باد پنکه)، برای استفاده در طول مدت پرورش در یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری ترکیب بیوشیمیایی جیره‌های غذایی: اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی جیره‌های غذایی بر اساس دستورالعمل AOAC انجام شد (١٤). بر این اساس، اندازه‌گیری پروتئین توسط روش کلدال (Gerhard Kjeldahl Dig. & Ext.)، چربی به روش استخراج اتری (Gerhard Soxhlet App)، خاکستر به روش سوزاندن در کوره (۸ ساعت در دمای ٦۰۰ درجه سانتی‌گراد)، رطوبت توسط حرارت در آون (٢٤ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. پروفیل اسید آمینه با استفاده از دستگاه HPLC (Agilent, USA) اندازه‌گیری شد.

تهیه ماهی و شرایط پرورش: تعداد ۵۰۰ عدد فیل‌ماهی جوان با میانگین وزن ۳۵ گرم از مرکز تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری (رشت) خریداری و به مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آب‌های داخلی (گرگان) انتقال داده شد. سپس ماهی‌ها در سه مخزن ۱۲۰۰ لیتری به‌مدت ۷ روز نگهداری شده و با جیره شاهد غذادهی شدند تا با شرایط آزمایشگاهی سازگار شوند. پس از سازگاری با محیط آزمایشی،

٤۸۰ عدد از ماهیان (با وزن حدود ٤۸ گرم) در بین ۱۲ عدد مخزن ۱۲۰۰ لیتری توزیع شدند (تعداد ٤۰ عدد ماهی در هر مخزن). ابعاد مخازن ۱۲۰۰ لیتری، ۲ در ۲ در ۰/۳۵ متر بود. هر یک از مخازن به دو عدد سنگ هوا مجهز شده و جریان آب با سرعت ۰/۵ لیتر بر دقیقه به ازای هرکیلوگرم بیومس، در هر مخزن برقرار شد. آب مورد استفاده در پرورش از چاه تأمین شده و قبل از ورود به مخازن در یک حوضچه بتونی هوادهی شد. هر یک از چهار جیره غذایی به‌مدت ۸ هفته و به مقدار ۳ درصد بیومس در اختیار ماهی‌ها قرار گرفتند. بیومس ماهی‌ها هر ۱۰ روز یک‌بار جهت کنترل مقدار غذای محاسباتی روزانه ثبت شد.

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب جهت کنترل کیفیت آن، هر روز با استفاده از دستگاه آنالیز کیفی آب (Hach Co., HQ40d, Loveland, Colorado, USA) اندازه‌گیری و پایش شدند. دمای آب: ۰/۷ ± ۲۳/۲ درجه سانتی‌گراد، pH: ۰/۲۵ ± ۸/۱۹ شوری: ۰/۱۱ ± ۲/٦۹ گرم بر لیتر، اکسیژن محلول: ۰/۳۹ ± ۷/٤۳ میلی‌گرم بر لیتر بود. آمونیاک کل (۰/۱۲ ± ۰/٤۹ میلی‌گرم بر لیتر) و قلیائیت (۱۳/۷ ± ۱٦۸ میلی‌گرم بر لیتر) نیز به‌صورت هفتگی با استفاده از دستگاه فتومتر (Palintest Photometer model 7100, Gateshead, UK) اندازه‌گیری شدند.

نمونه‌برداری: پس از پایان دوره تغذیه، از هر مخزن چهار ماهی صید و نمونه‌گیری شد. برای این کار ماهی‌ها به آرامی با ساچوک از مخزن خارج شده و در تشت حاوی یوجینول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ٦۰ ثانیه قرار داده شدند تا بیهوش شوند. پس از بیهوشی، نمونه خون از رگ دمی ماهی‌ها با استفاده از سرنگ هپارینه گرفته و در تیوب‌های پلاستیکی ریخته شد (خون دو ماهی هر مخزن با هم ترکیب و یکی شد). بخشی از خون برای شمارش سلول‌های خونی و انجام آزمایش‌های خون‌شناسی کنار گذاشته شد. باقی‌مانده خون نمونه‌برداری شده، به‌مدت ۷ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای جداسازی‌شده جهت آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایش‌ها: تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) با استفاده از لام نئوبار شمارش شد. درصد هماتوکریت (Hct) با استفاده از سانتریفیوژ تعیین شد. هموگلوبین (Hgb) نمونه‌های خون با استفاده از کیت تجاری (زیست شیمی، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) براساس فرمول‌های استاندارد محاسبه شدند (۱۵).

پروتئین کل، آلبومین، آلانین آمینوترنسفراز، لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترنسفراز و آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون با استفاده ازکیت‌های شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) و آمونیاک پلاسما با استفاده از کیت شرکت بایورکس فارس (شیراز، ایران) اندازه‌گیری شدند.

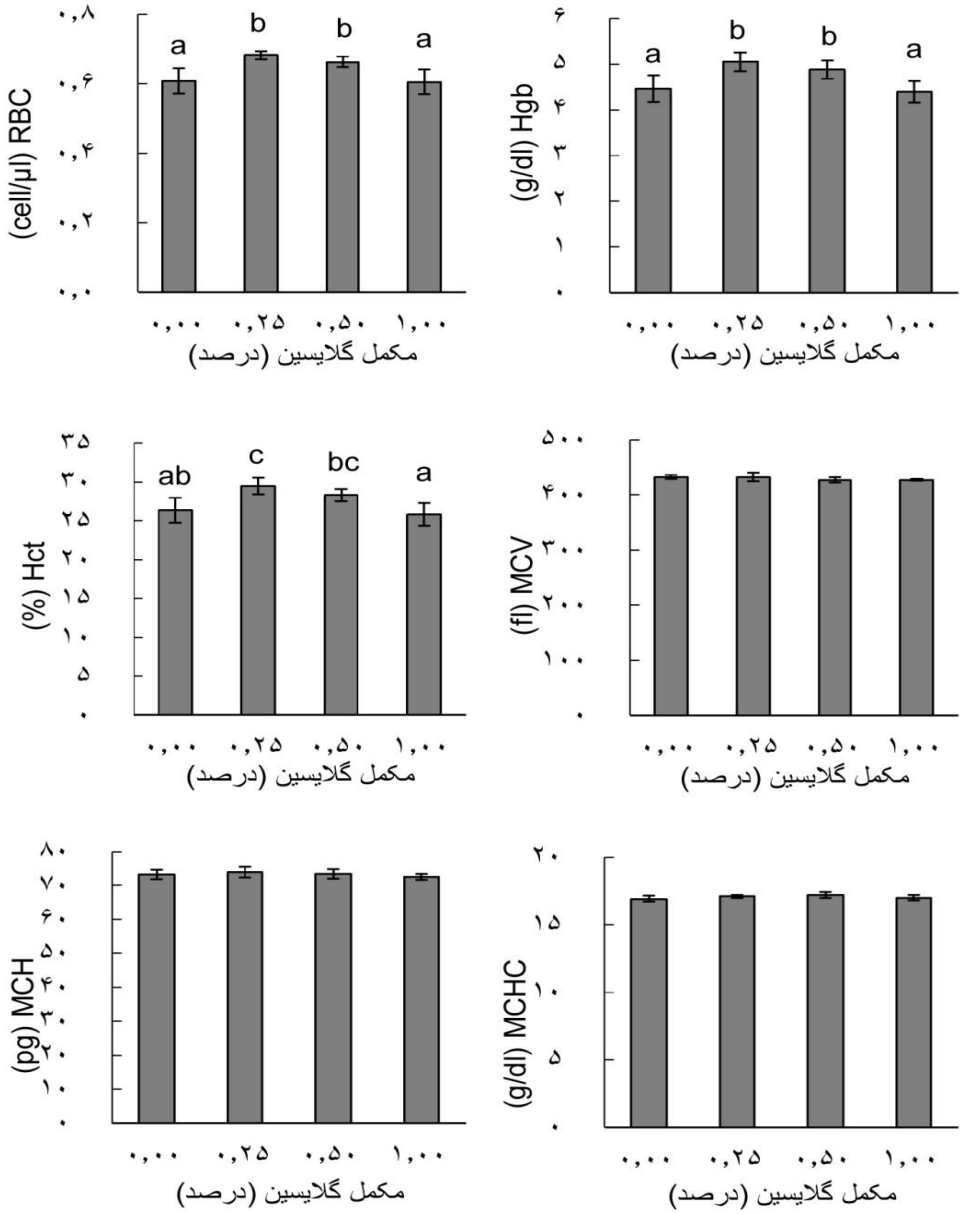
تجزیه و تحلیل آماری: این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها و همگن بودن واریانس‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلک و لون بررسی شدند. از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه جهت اندازه‌گیری اثر گلایسین افزوده شده به جیره بر فاکتورهای بررسی‌شده استفاده شد. مقایسه بین تیمارها با استفاده از آزمون توکی انجام شد. تمام آنالیزها در نرم‌افزار SPSS v.22 صورت گرفت.

نتایج

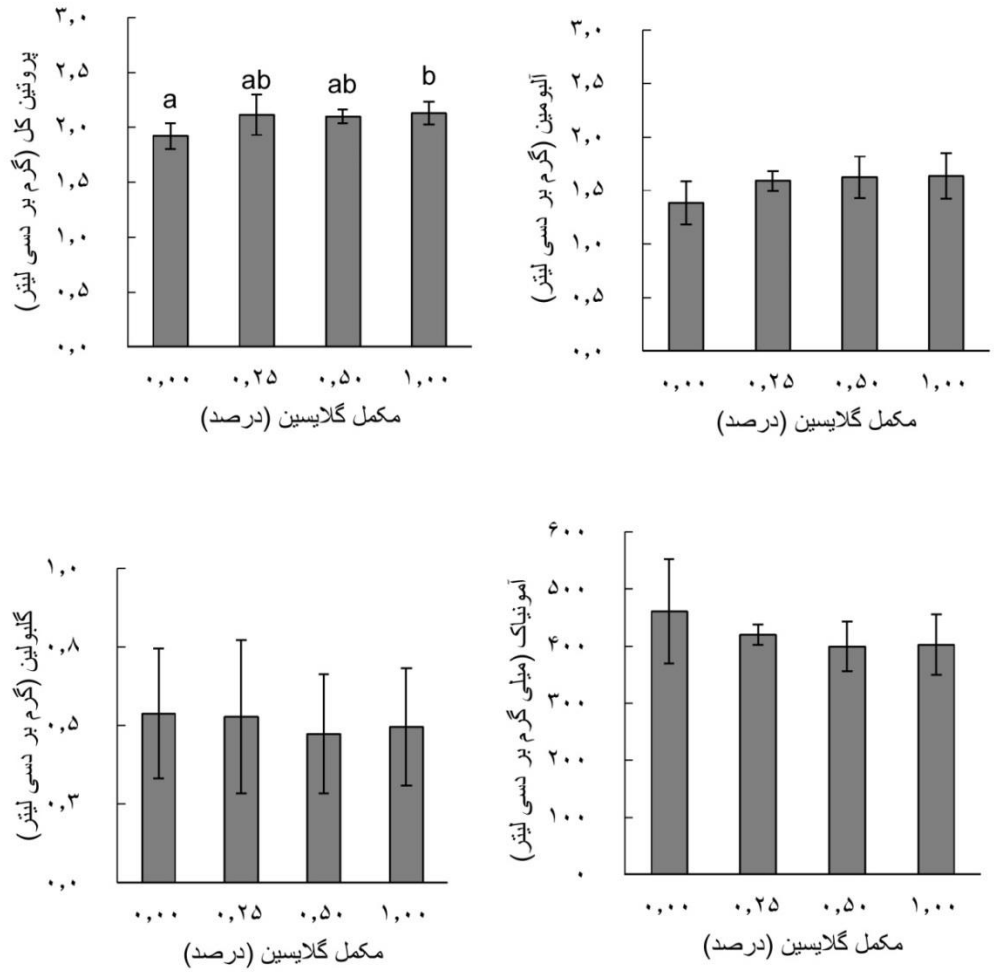
بررسی‌های خون‌شناسی: شکل ۱ شاخص‌های مربوط به بررسی گلبول‌های قرمز خون را نشان می‌دهد. براساس نتایج به‌دست آمده، Hct خون در تیمار ۰/۲۵ درصد گلایسین به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بالاتر از سایر تیمارها بود. RBC و Hgb خون نیز در تیمارهای ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد گلایسین به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) بالاتر از تیمارهای شاهد و ۱ درصد گلایسین بود. در سایر شاخص‌های خونی (MCV، MCH، MCHC) اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P>0/05$) (شکل ۱).

شاخص‌های بیوشیمیایی: با توجه به شکل ۲، اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های گلبولین، آلبومین و آمونیاک پلاسمای خون فیل‌ماهی‌ها در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). میزان پروتئین کل پلاسمای خون ماهیان تیمار ۱ درصد گلایسین به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵).

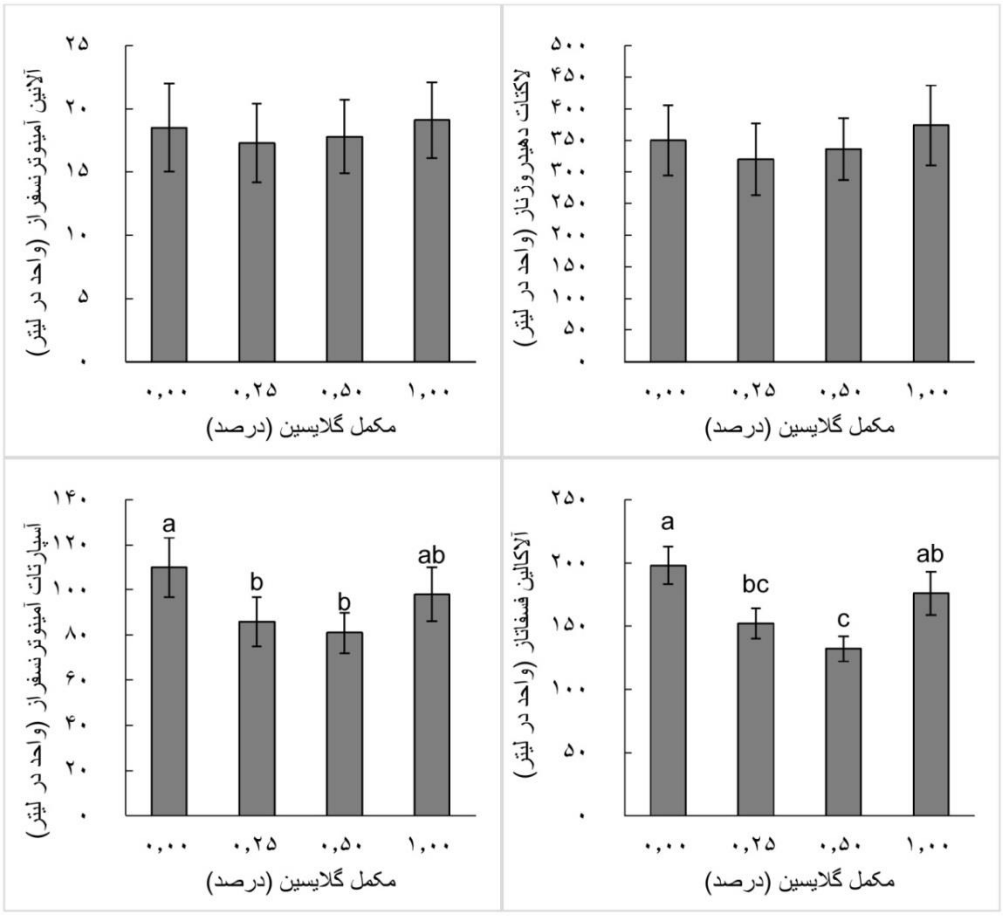
شکل ۳ نشان می‌دهد که افزودن گلایسین به جیره غذایی فیل‌ماهی اثر معنی‌داری روی فعالیت آلانین آمینوترنسفراز و لاکتات دهیدروژناز پلاسما ندارد (P>۰/۰۵). با این‌حال، ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد گلایسین باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آسپارتات آمینوترنسفراز و آلکالین فسفاتاز پلاسما در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵).



شکل ۱- تعداد RBC، درصد Hct، غلظت Hgb و MCV، MCH، MCHC ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی غنی شده با ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین پس از ۸ هفته آزمایش. حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (میانگین ±انحراف معیار ؛ n = ٦، تست Tukey).



شکل ۲- پروتئین کل، آلبومین، گلبولین و آمونیاک پلاسمای خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی غنی‌شده با ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین پس از ۸ هفته آزمایش. حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (میانگین ±انحراف معیار ؛ n = ٦، تست Tukey).



شکل ۳- آلانین آمینوترنسفراز، لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترنسفراز و آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های غذایی غنی‌شده با ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلایسین پس از ۸ هفته آزمایش. حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (میانگین ±انحراف معیار ؛ n = ٦، تست Tukey).

بحث

پارامترهای هماتولوژی در عین سادگی، ابزاری سودمند و کارآمد برای تعیین وضعیت سلامت ماهیان به شمار می‌روند (١٦). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که دست‌کاری در جیره غذایی ماهیان می‌تواند تولید و عملکرد سلول‌های خونی را تحت‌تأثیر قرار دهد (۱۷، ۱۸، ۱۹). در پژوهش حاضر، افزایش معنی‌دار مقدار هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز فیل‌ماهیان تغذیه‌شده با مقادیر متفاوت گلایسین نشان می‌دهد که سنتز گلبول‌های قرمز خون (اریتروپویزیس) در گونه فیل‌ماهی تحت‌تأثیر مقدار گلایسین جیره تغییر می‌کند. گلبول‌های قرمز در پستانداران (۲۰) و ماهی (۲۱) به‌طور فعال گلایسین را به داخل سلول پمپ می‌کنند تا برای ساخت گلوتاتیون و حفظ قدرت آنتی‌اکسیدانی گلبول استفاده شود. در صورتی‌که مقدار گلوتاتیون در گلبول قرمز کاهش یابد، به‌دلیل وجود اکسیژن در ساختار هموگلوبین، احتمال اکسیداسیون و مرگ سلول وجود دارد. هم‌چنین گلایسین یکی از اجزاء کلیدی و محدود کننده در اولین واکنش کاتالیزوری مسیر ساخت پروتئین هِم است و مقدار آن می‌تواند ساخت هموگلوبین را تحت‌تأثیر قرار دهد (۲۲). بنابراین تغییر در مقدار این اسیدآمینه می تواند اثرات قابل‌توجهی بر شاخص‌های هماتولوژی داشته باشد. مطالعات انجام شده در خصوص اثر گلایسین بر شاخص‌های خون‌شناسی ماهی محدود بوده‌اند. تنها مطالعه در این زمینه روی ماهی تیلاپیا انجام شده است که نشان می‌دهد افزودن ۱ درصد گلایسین به جیره غذایی ماهی باعث کاهش هماتوگریت و هموگلوبین خون می‌شود (۲۳).

پروتئین‌های پلاسما شاخص سلامت ماهی به‌خصوص وضعیت سلامت کبد هستند، زیرا بخش بزرگی از پروتئین‌های پلاسما در کبد ساخته می‌شوند. هم‌چنین، غلظت پروتئین‌های پلاسما به شرایط تغذیه‌ای ماهی نیز مربوط می‌باشد (٢٤). نتایج مطالعات انجام شده در خصوص اثر گلایسین جیره در پروتئین‌های پلاسما در گونه‌های دیگر ماهی متفاوت بوده است. در ماهی تیلاپیای نیل، *Oreochromis niloticus*، افزودن گلایسین به جیره غذایی اثری بر غلظت پروتئین‌های پلاسما نداشته است (۹) ولی در مطالعه‌ای دیگر روی همین گونه، افزودن گلایسین به جیره باعث کاهش مقدار پروتئین کل پلاسما شده است (۲۳). این تفاوت‌ها نشان می‌دهد که اثر گلایسین بر غلظت پروتئین‌های پلاسما وابسته به عوامل متعددی است (مانند گونه و مرحله زیستی ماهی، نوع جیره غذایی و شرایط انجام آزمایش) و مطالعات بیش‌تری لازم است تا مکانیسم این اثرات مشخص شود.

نتایج این بررسی تغییری در میزان آمونیاک پلاسمای خون فیل‌ماهیان تغذیه شده با مقادیر مختلف مکمل گلایسین را نشان نداد که با نتایج بررسی اثر گلایسین بر گونه کپور معمولی مغایرت دارد (۱۲، ۱۳). استفاده از مکمل گلایسین برای گونه کپور معمولی میزان آمونیاک خون را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش داده است. با توجه به این‌که گلایسین می‌تواند با تولید گلوتامات در مسیر سم‌زدایی و کاهش آمونیاک نقش داشته باشد (۱۱)، بنابراین عدم تغییر آمونیاک خون فیل‌ماهیان تغذیه شده با مکمل گلایسین می‌تواند به دلیل پایین بودن آمونیاک در محیط و پلاسمای خون ماهی باشد. مطالعات بیش‌تری در خصوص اثر گلایسین در زمان مسمومیت با آمونیاک در فیل ماهی می‌تواند بیش‌تر به درک مکانیسم اثر آن کمک نماید.

آلانین آمینوترنسفراز، لاکتات دهیدروژناز، آسپارتات آمینوترنسفراز و آلکالین فسفاتاز آنزیم‌های سیتوپلاسمی هستند که که در غلظت‌های مختلف در سلول‌های

اندام‌های مختلف بدن ماهی وجود دارند (۲۵). غلظت آلانین آمینوترنسفراز در سلول‌های کبدی بسیار بالا است، در حالی‌که لاکتات دهیدروژناز در سلول‌های عضله و آلکالین فسفاتاز در گلبول‌های قرمز غلظت بالایی دارند. آسپارتات آمینوترنسفراز در بافت‌های مختلفی از جمله کبد، کلیه و گلبول‌های قرمز وجود دارد (۲۶). وقتی به بافت‌های بدن آسیب وارد شود، این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند؛ بنابراین، فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما به‌عنوان شاخص سلامت بافتی در نظر گرفته می‌شود. بر اساس این پژوهش، گلایسین اثری بر سلامت بافت کبد فیل‌ماهی نداشته است زیرا غلظت آلانین آمینوترنسفراز در تیمارهای مختلف ثابت بوده است. این نتایج با مطالعه انجام شده روی کپور معمولی (۱۳) و باس دهان بزرگ (۷) همخوانی دارد. هم‌چنین، گلایسین اثری بر سلامت سلول‌های عضلانی نیز نداشته است که در این خصوص مطالعه‌ای برای مقایسه وجود ندارد. با این‌حال، کاهش فعالیت آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترنسفراز در تیمار ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد گلایسین می‌تواند به دلیل کاهش همولیز در این تیمارها باشد. افزایش تعداد گلبول‌های قرمز در این دو تیمار این فرضیه را حمایت می‌کند. دلیل افزایش تعداد گلبول‌های قرمز علاوه بر افزایش اریتروپوئزیس (که در بالا بحث شد)، می‌تواند بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گلبول‌ها باشد که از همولیز آن‌ها جلوگیری کرده است. گلایسین نقش مهمی در تولید گلوتاتیون دارد که این مولکول وظیفه حفاظت از گلبول‌ها در برابر اکسیداسیون را بر عهده دارد و مطالعات پیشین نشان داده‌اند که افزودن گلایسین به جیره ماهی کپور معمولی باعث افزایش گلوتاتیون می‌شود (۱۲، ۱۳).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که افزودن ۰/۲۵-۰/۵ درصد گلایسین به جیره غذایی فیل‌ماهی می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های خون‌شناسی شود. این اثرات احتمالاً به‌واسطه افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی ماهی بوده و می‌تواند کارایی تنفس در ماهی را افزایش دهد.

منابع

1.Halver, J.E., and Hardy, R.W. 2003. Nutrient flow and retention. Fish nutrition: Elsevier; pp. 755-70.

2.Hoseini, S.M., Taheri Mirghaed, A., Mazandarani, M., and Zoheiri, F. 2016. Serum cortisol, glucose, thyroid hormones' and non-specific immune responses of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* to exogenous tryptophan and acute stress. Aquaculture. 462: 17-23.

3.Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., Eskandari, S., and Amirahmadi, M. 2016. Effect of dietary taurine and methionine supplementation on growth performance, body composition, taurine retention and lipid status of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897), fed with plant-based diet. Aquacult Nutr. 24: 324-31.

4.Hoseini, S.M., Hosseini, S.A., and Soudagar, M. 2013. Effect of dietary free L-Lysine on growth performance and muscle composition of Beluga *Huso huso* (Linnaeus 1785) juveniles. Int. J. Aquat. Biol. 1: 42-7.

5.Li, P., and Wu, G. 2018. Roles of dietary glycine, proline, and hydroxyproline in collagen synthesis and animal growth. Amino Acids. 50: 29-38.

6.McCarty, M.F., O'Keefe, J.H., and DiNicolantonio, J.J. 2018. Dietary glycine is rate-limiting for glutathione synthesis and may have broad potential for health protection. Ochsner J. 18: 81-7.

7.Rossi Jr, W., Allen, K.M., Habte-Tsion, H.M., and Meesala, K.M. 2021. Supplementation of glycine, prebiotic, and nucleotides in soybean meal-based

diets for largemouth bass (*Micropterus salmoides*): Effects on production performance, whole-body nutrient composition and retention, and intestinal histopathology. Aquaculture. 532: 736031.
8. Xie, S., Tian, L., Niu, J., Liang, G., and Liu, Y. 2017. Effect of N-acetyl cysteine and glycine supplementation on growth performance, glutathione synthesis, and antioxidative ability of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Fish Physiol. Biochem. 43: 1011-20.
9. Xie, S., Zhou, W., Tian, L., Niu, J., and Liu, Y. 2016. Effect of N-acetyl cysteine and glycine supplementation on growth performance, glutathione synthesis, anti-oxidative and immune ability of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol. 55: 233-41.
10. Xie, S.W., Tian, L.X., Jin, Y., Yang, H.J., Liang, G.Y., and Liu, Y.J. 2014. Effect of glycine supplementation on growth performance, body composition and salinity stress of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* fed low fishmeal diet. Aquaculture. 418-419: 159-64.
11. Hoseini, S.M., Vatnikov, Y.A., Kulikov, E.V., Petrov, A.K., Hoseinifar, S.H., and Van Doan, H. 2019. Effects of dietary arginine supplementation on ureagenesis and amino acid metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to ambient ammonia. Aquaculture. 511: 734209.
12. Hoseini, S.M., Majidiyan, N., Mirghaed, A.T., Hoseinifar, S.H., and Van Doan, H. 2022. Dietary glycine supplementation alleviates transportation-induced stress in common carp, *Cyprinus carpio*. Aquaculture. 551: 737959.
13. Hoseini, S.M., Paolucci, M., Arghideh, M., Hosseinpour Delavar, F., Zavvar, F., Hoseinifar, S.H., and Van Doan, H. 2022. Effects of dietary glycine administration on biochemical responses to ammonia toxicity in common carp, *Cyprinus carpio*. Aquac Res. 53: 2185-94.
14. AOAC. 2005. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
15. Bain, B.J., Lewis, S.M., and Bates, I. 2006. Chapter 3 - Basic haematological techniques. In: Bates SMLJB, editor. Dacie and Lewis Practical Haematology (Tenth Edition). Philadelphia: Churchill Livingstone; pp. 25-57.
16. Fazio, F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture. 500: 237-42.
17. Buentello, J.A., Reyes-Becerril, M., de Jesús Romero-Geraldo, M., and de Jesús Ascencio-Valle, F. 2007. Effects of dietary arginine on hematological parameters and innate immune function of channel catfish. J Aquat Anim Health. 19: 195-203.
18. Michelato, M., Zaminhan, M., Boscolo, W.R., Nogaroto, V., Vicari, M., and Artoni, R.F. 2017. Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses. Aquaculture. 467: 63-70.
19. Khan, M., and Abidi, S. 2011. Dietary arginine requirement of *Heteropneustes fossilis* fry (Bloch) based on growth, nutrient retention and haematological parameters. Aquacult. Nutr. 17: 418-28.
20. Kim, K.M., Kingsmore, S.F., Han, H., Yang-Feng, T.L., Godinot, N., and Seldin, M.F. 1994. Cloning of the human glycine transporter type 1: molecular and pharmacological characterization of novel isoform variants and chromosomal localization of the gene in the human and mouse genomes. Mol. Pharmacol. 45: 608.
21. Angermeier, S.M., Shepard, M.D., and Tunnicliff, G. 1996. Glycine transport by the red cells of channel catfish. Can. J. Zool. 74:688-92.
22. Winter, M., Funk, J., Körner, A., Alberati, D., Christen, F., and Schmitt, G. 2016. Effects of GlyT1 inhibition on erythropoiesis and iron homeostasis in rats. Exp. Hematol. 44: 964-74.e4.
23. Wardani, W.W., Alimuddin, A., Junior, M.Z., Setiawati, M., Nuryati, S., and Suprayudi, M.A. 2021. Growth performance, robustness against stress, serum insulin, IGF-1 and GLUT4 gene

expression of red tilapia (*Oreochromis* sp.) fed diet containing graded levels of creatine. Aquacult. Nutr. 27: 274-86.

24. Ghelichpour, M., Taheri Mirghaed, A., Mirzargar, S.S., Joshaghani, H., and Ebrahimzadeh Mousavi, H. 2017. Plasma proteins, hepatic enzymes, thyroid hormones and liver histopathology of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) exposed to an oxadiazin pesticide, indoxacarb. Aquac Res. 48: 5666-76.

25. Ghelichpour, M., Taheri Mirghaed, A., Hoseini, S.M., and Perez Jimenez, A. 2020. Plasma antioxidant and hepatic enzymes activity, thyroid hormones alterations and health status of liver tissue in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to lufenuron. Aquaculture. 516:734634.

26. Taheri Mirghaed, A., Ghelichpour, M., Hoseini, S.M., and Amini, K. 2017. Hemolysis interference in measuring fish plasma biochemical indicators. Fish Physiol. Biochem. 34: 1143-51.