

تأثیر کیتوزان جیره بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خون‌شناسی در بچه‌ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*, Kamenskii 1901)

- معصومه کمالی نجف‌آباد*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- محمدرضا ایمانپور: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- وحید تقی‌زاده: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- علیرضا عالیشاهی: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط‌زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق‌پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۲

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر کیتوزان به‌عنوان یک محرک ایمنی بر شاخص‌های رشد و پارامترهای خون‌شناسی در بچه‌ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*) انجام شد. این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل سطوح صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره تجاری ماهی سفید با سه تکرار طراحی شد. بچه‌ماهیان سفید با میانگین وزنی ۰/۱۵ ± ۱/۷۶ گرم در آکواریوم به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تا حد سیری تغذیه شدند. پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل معیارهای رشد (وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت و افزایش وزن بدن)، شاخص تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذا) بود. در پایان دوره آزمایش پارامترهای هماتولوژیک خون بچه‌ماهیان مورد بررسی قرار گرفت و خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان به‌عمل آمد. نتایج به‌دست آمده از نظر شاخص‌های رشد تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$) اما نتایج از نظر شاخص تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی) و فاکتور خون‌شناسی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نشان داد ($P < 0.05$). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد کیتوزان در سطح ۲ گرم می‌تواند بر ارتقاء گلبول سفید خون و در سطح ۱ گرم بر بهبود ضریب تبدیل غذایی در بچه‌ماهیان سفید تأثیرگذار باشد.

کلمات کلیدی: کیتوزان، رشد، پارامترهای خون‌شناسی، بچه‌ماهیان سفید (*Rutilus frisii kutum*)



مقدمه

ماهی سفید با نام علمی (*Rutilus frisii kutum*) از خانواده کپور ماهیان، یکی از مهم‌ترین و با ارزش‌ترین ماهیان استخوانی تجاری و اقتصادی دریای خزر است (Holchik, ۱۹۹۵). این ماهی تنها در دریای خزر وجود دارد و زیستگاه اصلی آن مربوط به بخش جنوبی دریای خزر به‌خصوص سواحل ایران می‌باشد (Razavi Sayad, ۱۹۹۵). آمار صید ماهی سفید در سواحل ایرانی دریای خزر نشان می‌دهد که این ماهی رقم عمده صید صیادان منطقه را تشکیل می‌دهد. این میزان صید سالانه حاصل رهاکرد میلیون‌ها بچه‌ماهی توسط کارگاه‌های تکثیر و پرورش شیلات ایران است. لذا جهت بازسازی ذخایر این ماهی پس از تکثیر و پرورش لارو این ماهی با کیفیت خوب، نرخ بقا و رشد بالاتر می‌تواند موفقیت زندگی بچه‌ماهیان را پس از رهاسازی و ورود به دریا تضمین نموده و درصد بازماندگی را افزایش دهد (Ahmadifar و همکاران، ۲۰۰۹).

آلودگی‌های زیست‌محیطی، صید بیش از حد ذخایر، کاهش ضریب بازگشت بچه‌ماهیان رهاسازی شده و همچنین کاهش میانگین وزن متوسط مولدین در ده ساله اخیر از عوامل متعددی است که میزان ذخایر ماهی سفید را به شدت تحت تأثیر قرار داده است (فلاحی و همکاران، ۱۳۸۳). بدین جهت پرورش این گونه از طریق فرموله کردن غذای مناسب اهمیت پیدا کرده است (نویریان همکاران، ۱۳۸۳).

تغذیه یکی از اساسی‌ترین محدودیت‌ها و عامل پرهزینه در پرورش گونه‌ها و یا رهاسازی در محیط‌های طبیعی می‌باشد؛ لذا با آگاهی از نیازمندی‌های تغذیه‌ای بچه‌ماهی سفید و استفاده از انواع مواد مغذی و مکمل‌های غذایی مرغوب که در بالا بردن راندمان سیستم ایمنی نقش دارند شاید بتوان تا حد زیادی میزان بقا، میل تغذیه و رشد آن را به خصوص در دوران قبل از رهاسازی افزایش داد (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷).

استفاده از محرک‌های ایمنی در ماهی می‌تواند مقاومت ماهی را در برابر شرایط نامساعد محیطی و عوامل بیماری‌زا در مقایسه با روش‌های دیگر درمانی بهبود ببخشد (Sakai, ۱۹۹۹). کیتوزان تجاری توسط دی‌استیله شدن کیتین که عنصر ساختاری در اسکلت خارجی سخت‌پوستان هم‌چون خرچنگ و میگو و دیواره سلول‌های قارچ است، تولید می‌شود. به‌طور متوسط، وزن مولکولی کیتوزان تجاری تولیدی ۳۸۰۰ تا ۲۰۰۰۰ دالتون است. گروه آمینه در کیتوزان منجر به تولید محلول اسیدی خنثی با چگالی وابسته به pH می‌شود، که باعث

می‌شود کیتوزان قابل حل در آب و ماده چسبناک زیستی که به آسانی به سطوح باردار منفی مانند موکوس متصل شوند (Zhuangdong, ۲۰۰۷). Romeran و همکاران (۲۰۰۲) و Kim و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی‌های خود نشان دادند که کیتوزان خواص رشد و تحریک کننده سیستم ایمنی در حیوانات آبی با حلالیت کیتین در آب و دیگر حلال‌های مشابه دارد. Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعات خود به این نکته اشاره کردند که کیتوزان دارای خواص تحریک کننده سیستم ایمنی در گونه‌های مختلف ماهیان است.

Roberfroid و Gibson (۲۰۰۲)؛ Walker و Teitelbaum (۱۹۹۵) اشاره کردند که شواهد و مدارکی از اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها پیدایشی از مفهوم پروبیوتیک‌ها را نشان می‌دهد که به‌عنوان مجموعه‌ای از الیگوساکاریدها با وزن مولکولی کم طبقه‌بندی شده و به‌طور کلی نمی‌توانند توسط ماهی هضم شوند اما با ارتقاء باکتری‌های سالم در دستگاه گوارش میزبان متابولیسم می‌شوند. به‌همین نسبت در مطالعات Ringo و همکاران (۲۰۱۰)؛ Luo و همکاران (۲۰۰۹) اثرات مفید برخی از الیگوساکاریدها در ماهی نشان داده شده است. Li و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که کیتوزان الیگوساکارید (COS) یک نوع الیگوساکاریدی است که از هیدرولیز آنزیمی و شیمیایی کیتوزان به‌دست آمده است. COS فعالیت بالاتر و عملکردهای فیزیولوژیکی بالاتر از کیتوزان دارد که به‌علت وزن مولکولی پایین‌تر و یا قابلیت انحلال سریع آن در آب است. در واقع، برخی مطالعات در رابطه با COS بر روی خوک‌ها توسط Han و همکاران (۲۰۰۷)، جوجه‌های گوستی توسط Li و همکاران (۲۰۰۷) و یا ماهی توسط Hoffman و همکاران (۱۹۹۷)؛ Luo و همکاران (۲۰۰۹) مورد بررسی قرار گرفته و اثرات مفیدی بر روی عملکرد رشد، ایمنی و پروفیل خون گزارش شده است.

کیتوزان برنامه‌های کاربردی بسیاری در پزشکی، کشاورزی و آبی‌پروری دارد. در آبی‌پروری، کیتوزان به‌عنوان ایمنی برای محافظت از آزادماهیان در برابر بیماری‌های باکتریایی در بررسی‌های Anderson و Siwicki (۱۹۹۴)؛ Siwicki و همکاران (۱۹۹۴)، افزایش انفجار تنفسی و فعالیت فاگوسیتوز در ماهی سیم سر طلایی (*Sparus Auratus*) در ماهی gilthead در مطالعات Esteban و همکاران (۲۰۰۰)؛ Ortuno و همکاران (۲۰۰۰)؛ و Esteban و همکاران (۲۰۰۱)؛ Cuesta و همکاران (۲۰۰۳)، غوطه‌وری و رژیم غذایی مکمل در گزارش‌های Kono و همکاران (۱۹۸۷)؛ Kawakami و همکاران (۱۹۹۸) مورد استفاده قرار گرفته است، با



(Steckel و Nogley، ۲۰۰۳؛ Shahidi و Synwieki، ۱۹۹۱). غالباً کیتوزان را به عنوان ماده کیتینی با درصد استیلاسیون بالای ۵۰ درصد می‌شناسند. کیتوزان‌های تجاری معمولاً درصد دی‌استیلاسیون بیش از ۷۰ درصد و وزن مولکولی بین ۱۰ هزار تا ۱/۲ میلیون دالتون دارند (No و همکاران، ۲۰۰۲؛ Benjakul و همکاران، ۲۰۰۰).

آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی: فرمولاسیون جیره پایه و تجزیه و تحلیل ترکیب تقریبی آن بر طبق روش AOAC (۱۹۹۰) در (جدول ۱) نشان داده شده است. جیره پایه به عنوان جیره شاهد استفاده شد. کیتوزان با درجه دی‌استیلاسیون (DD) ۹۰٪ و وزن مولکولی (Mw) ۱۰ کیلودالتون (وزن مولکولی کم) مطابق با روش Alishahi و همکاران (۲۰۱۱) تهیه شد. چهار جیره آزمایشی به مکمل حاوی ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره اضافه شد. ۰/۷۵ گرم ژلاتین به ازای هر کیلوگرم غذا هم به جیره‌های آزمایشی اضافه شد، هم چنین ژلاتین به جیره شاهد هم اضافه شد تا شرایط مشابهی با سایر جیره‌ها داشته باشد. بعد از اسپری کردن کیتوزان بر روی جیره تجاری، پلیت‌ها در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت خشک شدند و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. تغذیه بچه‌ماهیان در تیمارهای شاهد و آزمایشی براساس ۳٪ وزن بدن آن‌ها محاسبه شده و روزانه در ۳ نوبت به مدت ۸ هفته به آن‌ها غذا داده شد.

محل اجرا و روش آزمایش: این آزمایش در تابستان ۱۳۹۲ به مدت ۸ هفته اجرا شد. برای این منظور بچه‌ماهیان سفید از مرکز تکثیر و پرورش ماهی کلمه سیجوال (بندرترکمن) تهیه و به مرکز آبی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه بچه‌ماهیان به مدت ۳ هفته با غذای کنسانتره تجاری (جدول ۱)، تعداد ۵۲۵ قطعه بچه‌ماهی با وزن متوسط $15 \pm 1/76$ گرم در ۱۵ آکواریوم ۷۰ لیتری که با حدود ۴۰ لیتر آب پر شده بودند، با تراکم ۳۵ عدد در هر آکواریوم کشت شدند. جهت تامین هوادهی و نیاز اکسیژنی ماهیان، به هر یک از آکواریوم‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب گردید.

طرح آزمایش: این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل چهار سطح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره تجاری ماهی سفید در پنج تیمار با سه تکرار برطبق روش Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) طراحی شد.

این حال Shiau و Yu (۱۹۹۹) رشد افسرده تیلاپیا را پس از تغذیه کیتین و کیتوزان گزارش دادند.

لذا با توجه به موارد فوق، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات سطوح متفاوت کیتوزان در جیره غذایی بچه‌ماهیان سفید بر عملکرد رشد جهت تسریع و افزایش رشد و در نتیجه کاهش مدت زمان نگهداری بچه‌ماهیان برای رسیدن به وزن رهاسازی یا رهاسازی بچه‌ماهیان با اوزان بالاتر به منظور افزایش بازگشت شیلاتی آن‌ها و کاهش هزینه تولید و هم‌چنین تاثیر کیتوزان بر فاکتورهای خون‌شناسی و در انتها تولید بچه‌ماهیان مقاوم در برابر استرس و شرایط محیطی در طول دوره پرورش انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

محل اجرا و روش آزمایش: این آزمایش در تابستان ۱۳۹۲ به مدت ۸ هفته اجرا شد. برای این منظور بچه‌ماهیان سفید از مرکز تکثیر و پرورش ماهی کلمه سیجوال (بندر ترکمن) تهیه و به مرکز آبی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه بچه‌ماهیان به مدت ۳ هفته با غذای کنسانتره تجاری (جدول ۱)، تعداد ۵۲۵ قطعه بچه‌ماهی با وزن متوسط $15 \pm 1/76$ گرم در ۱۵ آکواریوم ۷۰ لیتری که با حدود ۴۰ لیتر آب پر شده بودند، با تراکم ۳۵ عدد در هر آکواریوم کشت شدند. جهت تامین هوادهی و نیاز اکسیژنی ماهیان، به هر یک از آکواریوم‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب گردید.

طرح آزمایش: این تحقیق با استفاده از طرح کاملاً تصادفی شامل چهار سطح ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره تجاری ماهی سفید در پنج تیمار با سه تکرار برطبق روش Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) طراحی شد.

کیتوزان مصرفی: کیتوزان پلیمر دی - گلوکزآمین با نام علمی $(\text{poly}(\beta\text{-D}(1\text{-}4)\text{-}2\text{-amino-}2\text{-deoxy-}\alpha\text{-glucan})$ پس از دی‌استیله شدن از کیتین با نام شیمیایی $(\text{poly}(\beta\text{-D}(1\text{-}4)\text{-N-acetyly-glucosamine})$ به دست می‌آید (George و Roberts Roberts، ۱۹۹۲). کیتین ماده‌ای سخت با ساختار کریستالی و سفیدرنگ است که به مقدار زیاد در پوسته سطحی سخت‌پوستان و حشرات و دیواره سلولی قارچ‌ها وجود دارد. منبع اصلی تولید صنعتی کیتین در دنیا، ضایعات پوسته حاصل از صنایع فرآوری میگو و خرچنگ است



جدول ۱: ترکیبات شیمیایی جیره تجاری ماهی سفید

درصد ماده خشک	تجزیه تقریبی جیره
۸۲/۴۶	ماده خشک
۴۲/۳۹	پروتئین خام
۱۷/۱۹	چربی خام
۶/۵۶	خاکستر
۵/۱	فیبر

شاخص‌های رشد: زیست‌سنجی ماهیان هر دو هفته یک بار صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و جهت اندازه‌گیری طول از خط‌کش با دقت ۱ میلی‌متر استفاده شد و براساس اطلاعات ثبت شده شاخص‌های رشد نظیر وزن نهایی، نرخ رشد ویژه (SGR)، فاکتور وضعیت (CF)، افزایش وزن بدن و پارامترهای تغذیه‌ای مثل ضریب تبدیل غذایی (FCR) محاسبه شد (Hatlen و همکاران، ۲۰۰۵):

میانگین وزن ابتدای دوره به گرم - میانگین وزن انتهایی دوره به گرم = افزایش وزن بدن (زمان/لگاریتم طبیعی میانگین وزن اولیه به گرم - لگاریتم طبیعی میانگین وزن نهایی به گرم) $\times 100$ = ضریب رشد ویژه
 [میانگین طول انتهایی دوره به سانتی‌متر) / (میانگین وزن انتهایی دوره به گرم) $\times 100$ = شاخص وضعیت
 افزایش وزن بدن (گرم) / مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار مقادیر اندازه‌گیری شده اکسیژن

شوری	pH	دمای آب	اکسیژن محلول
(ppt)		(درجه سانتی‌گراد)	(میلی‌گرم بر لیتر)
۰/۲±۰	۷/۷۱±۰/۱	۲۵/۵۳±۰/۱۱	۵/۹±۰/۰۶

اعداد به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند.

نمونه‌گیری و خون‌گیری: نمونه‌گیری از بچه‌ماهیان سفید

با میانگین وزنی ۴ گرم جهت تعیین فاکتورهای خون‌شناسی در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۸ ماهی به ظاهر سالم (به ازای هر تکرار) به‌طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه‌دمی آن‌ها خون‌گیری به‌عمل آمد و داخل ظروف حاوی ماده ضدانعقاد هپارین جمع‌آوری شد.

روش اندازه‌گیری: آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی

ماده ضدانعقاد هپارین انجام گرفت. فاکتورهای خون‌شناسی مورد مطالعه به‌روش توصیه شده توسط Feldman و همکاران (۲۰۰۰) شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HGB)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش

آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) با استفاده از آزمون دانکن و با کمک نرم‌افزارهای spss (نسخه ۱۶) و Excel انجام پذیرفت و نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند و سطح اطمینان ۹۵ درصد به‌عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف از نظر آماری در نظر گرفته شد.

تاثیر کیتوزان بر روی برخی از شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان

سفید در جدول ۳ ارائه شده است.

نتایج نشان داد که کیتوزان نتوانسته به‌طور معنی‌داری بر روی برخی از شاخص‌های رشد در بچه‌ماهیان سفید تاثیر بگذارد ($P > 0.05$)، در میانگین وزن نهایی، افزایش وزن انفرادی بدن، نرخ رشد ویژه و فاکتور وضعیت اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد وجود نداشت. اما کیتوزان تاثیر معنی‌داری بر شاخص تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی) داشته است ($P < 0.05$) (جدول ۳). این نتایج نشان داد بچه‌ماهیان سفید در تیمار چهارم (۱ گرم بر کیلوگرم کیتوزان در جیره) از ضریب تبدیل غذایی بهتری برخوردار می‌باشند به‌طوری که در این تیمار کم‌ترین مقدار ۲/۱۴ در مقایسه با سایر تیمارها به‌دست آمد ($P < 0.05$).

تاثیر کیتوزان بر روی برخی از پارامترهای خون‌شناسی

بچه‌ماهیان سفید در جدول ۴ ارائه شده است.

نتایج نشان داد که کیتوزان نتوانسته به‌طور معنی‌داری بر میزان گلبول سفید خون در بچه‌ماهیان سفید تاثیر بگذارد (جدول ۴)، به‌طوری‌که میزان گلبول سفید (WBC) در ماهیان تیمار پنجم با بیش‌ترین سطح کیتوزان ۲ گرم به‌زای هر کیلوگرم جیره

نتایج

میانگین مقادیر اندازه‌گیری شده اکسیژن محلول، درجه حرارت، pH و شوری در آکواریوم‌های پرورش طی روزهای مختلف در جدول ۲ نشان داده شده است:



جدول ۳: مقایسه شاخص‌های رشد (میانگین \pm انحراف معیار) بچه‌ماهیان سفید پرورشی در تیمارهای مختلف طی ۸ هفته پرورش

شاخص	تیمار	شاهد	۰/۲۵ (گرم بر کیلوگرم)	۰/۵ (گرم بر کیلوگرم)	۱ (گرم بر کیلوگرم)	۲ (گرم بر کیلوگرم)
وزن اولیه (گرم)		۱/۸۸ \pm ۰/۱۰ ^a	۱/۷۱ \pm ۰/۰۹ ^a	۱/۷۳ \pm ۰/۱۰ ^a	۱/۷۴ \pm ۰/۲۳ ^a	۱/۷۳ \pm ۰/۲۶ ^a
وزن نهایی (گرم)		۳/۵۸ \pm ۰/۲۱ ^a	۳/۴۲ \pm ۰/۱۷ ^a	۳/۴۴ \pm ۰/۲۹ ^a	۳/۶۲ \pm ۰/۱۹ ^a	۳/۴۴ \pm ۰/۳۱ ^a
افزایش وزن انفرادی بدن (گرم)		۱/۷۰ \pm ۰/۱۳ ^a	۱/۷۱ \pm ۰/۱۹ ^a	۱/۷۰ \pm ۰/۲۵ ^a	۱/۸۷ \pm ۰/۱۱ ^a	۱/۷۰ \pm ۰/۴۳ ^a
ضریب تبدیل غذایی		۲/۳۵ \pm ۰/۰۷ ^a	۲/۳۴ \pm ۰/۱۶ ^a	۲/۳۵ \pm ۰/۰۸ ^a	۲/۱۴ \pm ۰/۱۳ ^b	۲/۳۴ \pm ۰/۱۷ ^a
نرخ رشد ویژه		۱/۱۵ \pm ۰/۰۶ ^a	۱/۲۳ \pm ۰/۱۳ ^a	۱/۲۱ \pm ۰/۱۳ ^a	۱/۳۱ \pm ۰/۱۶ ^a	۱/۲۳ \pm ۰/۳۵ ^a
فاکتور وضعیت		۰/۸۵ \pm ۰/۱۳ ^a	۰/۹۶ \pm ۰/۱۱ ^a	۰/۹۲ \pm ۰/۱۳ ^a	۰/۸۴ \pm ۰/۰۸ ^a	۰/۸۵ \pm ۰/۰۳ ^a

حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند ($P > 0.05$).جدول ۴: متغیرهای خون‌شناختی (میانگین \pm انحراف معیار) بچه‌ماهیان سفید تغذیه شده با سطوح متفاوت کیتوزان در جیره تجاری

فاکتورهای خونی	تیمار	شاهد	۰/۲۵ (گرم بر کیلوگرم)	۰/۵ (گرم بر کیلوگرم)	۱ (گرم بر کیلوگرم)	۲ (گرم بر کیلوگرم)
گلبول سفید (میکرولیتر/ 10^3)		۷/۱۶ \pm ۲/۸۸ ^c	۷/۳۰ \pm ۱/۷۳ ^c	۷/۵۶ \pm ۳/۰۵ ^c	۸/۲۳ \pm ۱/۵۲ ^b	۸/۷۳ \pm ۲/۰۸ ^a
گلبول قرمز (میکرولیتر/ 10^3)		۲/۴۸ \pm ۰/۱۴ ^a	۲/۳۲ \pm ۰/۱۳ ^a	۲/۵۲ \pm ۰/۰۵ ^a	۲/۴۴ \pm ۰/۰۹ ^a	۲/۴۴ \pm ۰/۱۶ ^a
هموگلوبین (دسی‌لیتر/گرم)		۱۰/۸۷ \pm ۰/۸۹ ^a	۹/۷۵ \pm ۱/۰۶ ^a	۱۱/۱۳ \pm ۰/۴۷ ^a	۱۰/۶۰ \pm ۰/۵۰ ^a	۱۰/۶۰ \pm ۰/۷۸ ^a
هماتوکریت (درصد)		۳۷/۶۶ \pm ۲/۴۶ ^a	۳۴/۷۰ \pm ۳/۵۳ ^a	۳۸/۸۶ \pm ۱/۱۹ ^a	۳۷/۲۰ \pm ۱/۸۶ ^a	۳۷/۲۳ \pm ۲/۵۵ ^a
حجم متوسط گلبولی (فمتولیترا)		۱/۵۱ \pm ۱/۱۰ ^a	۱/۴۹ \pm ۶/۵۷ ^a	۱/۵۳ \pm ۱/۷۵ ^a	۱/۵۲ \pm ۲/۲۲ ^a	۱/۵۲ \pm ۱/۲۵ ^a
هموگلوبین متوسط گلبولی (پیکوگرم)		۴۳/۷۳ \pm ۱/۰۱ ^a	۴۱/۹ \pm ۲/۱۲ ^a	۴۴/۰۳ \pm ۰/۹۸ ^a	۴۳/۴۰ \pm ۰/۷۵ ^a	۴۳/۳۳ \pm ۰/۳۵ ^a
غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (دسی‌لیتر/گرم)		۲۸/۸۳ \pm ۰/۴۹ ^a	۲۸/۳۶ \pm ۰/۴۷ ^a	۲۸/۶۶ \pm ۰/۳۵ ^a	۲۸/۵۰ \pm ۰/۲۰ ^a	۲۸/۴۶ \pm ۰/۴۰ ^a
نوتروفیل (درصد)		۸/۶۶ \pm ۱/۱۵ ^a	۷/۳۳ \pm ۰/۵۷ ^a	۷/۶۶ \pm ۰/۵۷ ^a	۸/۰۰ \pm ۱/۰۰ ^a	۸/۶۶ \pm ۱/۵۲ ^a
لنفوسیت (درصد)		۹۰/۳۳ \pm ۱/۱۵ ^a	۹۱/۳۳ \pm ۰/۵۷ ^a	۹۱/۰۰ \pm ۱/۰۰ ^a	۹۱/۰۰ \pm ۰ ^a	۹۰/۰۰ \pm ۱/۰۰ ^a
ائوزینوفیل (درصد)		۱/۰۰ \pm ۰ ^a	۱/۳۳ \pm ۰/۵۷ ^a	۱/۵۰ \pm ۰/۷۰ ^a	۲/۰۰ \pm ۰ ^a	۱/۳۳ \pm ۰/۵۷ ^a

اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیرمشابه هستند اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

شیوع بیماری‌ها به‌عنوان مشکل عمده آبی‌پروری، گسترش اقتصاد این بخش را در بسیاری از کشورهای جهان تحت تأثیر قرار داده است و همواره راه‌حلهایی نیز برای برطرف کردن این مشکلات ارائه شده است که موفقیت‌چندانی نداشته‌اند (Mohamadi Azarm و همکاران، ۲۰۰۴).

نتایج به‌دست آمده در بررسی حاضر مبین این موضوع است که جایگزینی کیتوزان در جیره غذایی بچه‌ماهیان سفید تفاوت معنی‌داری روی وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، فاکتور وضعیت نداشته است اما تأثیر معنی‌داری بر ضریب تبدیل غذایی داشته است.

اثرات مکمل کیتوزان در رژیم غذایی بر رشد با چند گونه پرورشی با نتایج متفاوت مورد بررسی قرار گرفته است. برطبق نتایج Gopalakannan و Arul (۲۰۰۶)، مکمل کیتوزان در رژیم غذایی باعث افزایش رشد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) Common carp شده است. علاوه بر این، کیتوزان پوشش داده شده در رژیم غذایی به‌منظور ارتقاء رشد در کفشک‌ماهی زیتونی

به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P < 0.05$) و در گروه شاهد و تیمار دوم و سوم بدون هیچ اختلاف معنی‌داری کم‌ترین میزان به‌دست آمد. اما در میزان گلبول‌های قرمز (RBC)، هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HGB)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$). هم‌چنین درصد نوتروفیل، لنفوسیت و ائوزینوفیل نیز تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها با گروه شاهد نداشت ($P > 0.05$).

بحث

در سال‌های اخیر آبی‌پروری از سریع‌ترین بخش‌های تولید غذا بوده و در کنار این رشد قابل توجه همواره با مشکلاتی روبه‌رو بوده است که از جمله آن می‌توان به تغییرات کیفیت آب، شیوع بیماری‌ها و مشکلات تغذیه‌ای اشاره کرد، به گونه‌ای که



طول دوره پرورش، شرایط محیطی، رفتارهای تغذیه‌ای، خصوصیات فیزیولوژیک، نوع مواد اولیه به‌کار رفته در تهیه جیره و کمیت و کیفیت وابسته باشد.

در مطالعه حاضر، WBC به‌طور قابل توجهی پس از ۸ هفته در ماهیان تغذیه شده با ۲ گرم کیتوزان در کیلوگرم جیره غذایی افزایش یافته است. در مطالعه حاضر میزان RBC، HCT، HGB، MCV، MCH و MCHC در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف کیتوزان در رژیم‌های غذایی بعد از ۸ هفته آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که مکمل کیتوزان در جیره غذایی به‌میزان ۰/۲٪ و ۰/۵٪ تعداد گلبول‌های سفید خون را در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌مدت ۸ هفته افزایش داد. سطح WBC در ماهی کپور معمولی تغذیه شده با مکمل کیتین و کیتوزان در رژیم غذایی بر علیه *آئروموناس هیدروفیلا* در بررسی Gopalakannan و Arul (۲۰۰۶) افزایش یافته است. Awad و Austin (۲۰۱۰)؛ Nya و Austin (۲۰۱۱)؛ Sahu و همکاران (۲۰۰۷) در رابطه با مطالعه قبلی مشاهده کردند که در *Labeo rohita* تغذیه شده با رژیم غذایی مکمل سیر تعداد گلبول‌های قرمز، لوکوسیت‌ها و NBT و فعالیت سرم باکتری در برابر *آئروموناس هیدروفیلا* افزایش یافته است.

Hawk و همکاران (۱۹۵۴) گزارش دادند تغییرات در گلبول‌های قرمز و هموگلوبین منسوب به گروه شاهد در شرایط کم‌خونی ناشی می‌شود. در ماهی درمان نشده، سطح پایین RBC، HCT و غلظت هموگلوبین نشان داد که گلبول‌های قرمز هستند که توسط لکوسیتوز بعد از آن اریتروبلاستوسیت تخریب شدند در حالی Holeyton و Randall (۱۹۶۷) اظهار داشتند که افزایش سطح HCT به‌عنوان یک نتیجه از کمبود اکسیژن ناشی شده است. افزایش MCV ممکن است به تورم گلبول‌های قرمز و در نتیجه کم‌خونی ماکروسیتیک و یا اختلال در تعادل آب (استرس اسمزی) یا کم‌خونی ماکروسیتیک در ماهی در معرض استرس نسبت داد (Tort و همکاران، ۱۹۸۸)؛ این می‌تواند میل به اکسیژن را در خون افزایش دهد (Soivio و Nikinmaa، ۱۹۸۱). تعداد لنفوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری در رژیم غذایی مکمل کیتوزان پس از ۸ هفته در مقایسه با گروه شاهد نداشته است. مشابه آن Meshkini و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که تعداد مونوسیت و ائوزینوفیل در هر گروه از ماهیان تغذیه شده با کیتوزان افزایش نیافت. درصد نوتروفیل در ماهیان تغذیه شده با ۰/۲۵٪ کیتوزان کاهش پیدا کرد.

Paralichthys olivaceus (olive flounder) توسط Cha و همکاران (۲۰۰۸) مورد بررسی قرار گرفته است. در حالی که Kono و همکاران (۱۹۸۷) گزارش دادند که کیتوزان در رژیم غذایی رشد قابل توجهی در رشد ماهی دریای سرخ *red sea Japanese eel (Pagellus bgaoraveo)*، مارماهی ژاپنی *Anguilla japonica* و دم‌زرد *(Seriola lalani)* نداشته است. در مقابل Shiau و Yu (۱۹۹۹) رشد افسرده را در تیلاپیا *(Oreochromis niloticus × O. aureus)* tilapia تغذیه شده با کیتوزان در رژیم غذایی مشاهده کردند. تا به امروز، هیچ توضیح دقیق در مورد عملکرد COS که چگونه میزان رشد مخصوص حیوانات را افزایش می‌دهد وجود ندارد.

مطالعات قبلی با استفاده از کیتوزان در رژیم غذایی به‌عنوان یک محرک ایمنی برای محافظت از آزادماهیان در برابر بیماری‌های باکتریایی توسط Anderson و Siwicki (۱۹۹۴)، افزایش انفجار تنفسی و فعالیت فاگوسیتوز در ماهی سیم سرطلایی توسط Cuesta و همکاران (۲۰۰۳)؛ Esteban و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. Zhang و همکاران (۱۹۹۹) گزارش دادند کیتوزان اولیگوساکاریدها (COS) به‌عنوان مشتقات از کیتوزان، زیست‌سازگاری و انحلال‌پذیری بهتری دارند. به این دلایل، فعالیت‌های زیستی COS در پژوهش‌های اخیر مورد توجه است. در گزارش Yu و Shiau (۱۹۹۹) رشد افسرده در تیلاپیا به این علت است که فیبر می‌تواند به یک جیره غذایی اضافه شده یا به‌عنوان یک مقدار معادل در اجزای جیره غذایی جایگزین شود مثل نشاسته و یا به جیره کل اضافه شود. Southgate (۱۹۷۳) اظهار داشت زمانی که فیبر جایگزین شود انرژی قابل توجه را تامین نمی‌کند و درصدهایی از مواد مغذی به‌جز انرژی مواد غذایی، ثابت باقی می‌ماند، اما نسبت پروتئین/کالری تغییر می‌کند. در مقابل، اضافه کردن (محلول) به فیبر می‌تواند نسبت پروتئین/کالری را ثابت نگه داشته اما نسبت مواد مغذی کاهش می‌یابد. در مطالعه اخیر، رقیق‌سازی کیتین و کیتوزان اجازه برای ثابت بودن نسبت پروتئین/کالری بوده است. به‌نظر می‌رسد کاهش در مقدار مواد مغذی داده شده به ماهی یک عامل کمک‌کننده به کاهش رشد تیلاپیا بوده است.

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که جایگزینی کیتوزان در جیره غذایی بچه‌ماهیان سفید تفاوت معنی‌داری روی هیچ‌یک از شاخص‌های رشد نداشته اما بر شاخص تغذیه‌ای (ضریب تبدیل غذایی) تفاوت معنی‌دار داشته است. در مجموع اختلاف موجود در نتایج این تحقیق با یافته‌های دیگر محققان را احتمالاً بتوان به نوع گونه پرورشی، اندازه، سن گونه پرورشی،



عنوان سوبسترا هستند، به طور قابل ملاحظه‌ای بر خصوصیات ریخت‌شناسی خون اثر می‌گذارند.

باتوجه به نتایج این تحقیق کیتوزان به‌عنوان یک محرک ایمنی در بچه‌ماهیان سفید تغذیه شده در سطح ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره بر ارتقاء گلبول‌های سفید خون و در سطح ۱ گرم بر بهبود ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌داری تاثیرگذار بوده، اما بر شاخص‌های رشد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال (بندرترکمن) و هم‌چنین مسئولین آزمایشگاه آبی پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت در اختیار قرار دادن امکانات و راهنمایی‌های لازم در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. اکرمی، ر.؛ حاجی‌مرادلو، م.ع.؛ متین‌فر، ع.؛ عابدیان کناری، م.ع. و علیمحمدی، ا.، ۱۳۸۷. اثرات سطوح متفاوت پربیوتیک اینولین جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن فیل ماهیان جوان پرورشی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۵، صفحات ۵۵ تا ۶۷.
 ۲. عمادی، ح.، ۱۳۶۵. ماهی سفید، وضعیت گذشته و کنونی آن در آب‌های شمال ایران. سازمان تحقیقات شیلات ایران. صفحات ۹ تا ۱۶.
 ۳. فلاحی، م.؛ دقیق‌روحی، ج.؛ نهرور، م.ر.؛ مرادی‌چافی، م. و سرپناه، ع.، ۱۳۸۳. بررسی رشد و بقا لارو ماهی سفید با تغذیه روتیفر مقایسه آن با غذای کنسانتره. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۶۳، صفحات ۶۶ تا ۷۱.
 ۴. نویریان، ح.؛ مصطفی‌زاده، س. و طلوعی، م.، ۱۳۸۳. بررسی اثرات سطوح مختلف پروتئین بر روی معیارهای شاخص رشد بچه‌ماهی سفید جنوب دریای خزر. نشریه علمی پژوهشی دام و آبزیان وزارت تحقیقات جهاد کشاورزی. شماره ۶۸، صفحات ۳۸ تا ۴۹.
5. Ahmadifar, E.; Jalali, M.A.; Sudagar, M.; Azari takami, G.H. and Mohammadi Zaraj Abad, A., 2009. Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival and haematological factors in beluga (*Huso huso*)

درحالی‌که بیش‌تر بررسی‌ها در مورد اثرات تحریک‌کننده‌گی کیتوزان متمرکز شده‌اند. از سوی دیگر هیچ‌گونه بررسی علمی در زمینه کاربرد کیتوزان در جیره غذایی بچه‌ماهیان سفید و تعیین اثرات آن بر شاخص‌های رشد و تغییرات مربوط به شاخص‌های خون در این گونه در ایران به‌عمل نیامده است. برای افزایش میزان مقاومت در برابر ابتلا به بیماری‌ها و کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، امروزه افزودن محرک‌های ایمنی به غذاها رایج شده است که این افزودنی‌ها موجب فعال شدن گلبول سفید و افزایش سلامت روده گردیده و به‌وفور در پرورش طیور و سایر دام‌های پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Romeran و همکاران، ۲۰۰۲). تعداد گلبول‌های سفید و ترکیب آن از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی و یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند (Ahmadifar و همکاران، ۲۰۰۹) که نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش بدن به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد (Serajian و همکاران، ۲۰۰۷) بنابراین، از مله ارزیابی‌هایی که باید پس از کاربرد محرک‌های ایمنی انجام داد، شمارش تعداد کل لوکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان تکثیر لنفوسیت‌ها در موجودات مورد آزمایش می‌باشد (Ahmadifar و همکاران، ۲۰۰۹). در این مطالعه بیش‌ترین میزان گلبول سفید که به‌عنوان سد دفاعی بدن مطرح می‌باشد، در تیمار پنجم (۲ گرم) کیتوزان به ازای هر کیلوگرم جیره به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود. هماتوکریت به‌عنوان یک شاخص مهم و مفید و در عین حال ساده و سریع در ارزیابی کم‌خونی (Khadjeh و همکاران، ۲۰۰۸) هم‌چنین در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرد.

براساس یافته‌های موجود در این بررسی و یافته‌های دیگر پژوهشگران مشاهده می‌شود که فاکتورهایی مانند عوامل محیطی (فصول سال، شوری، دوره نوری، درجه حرارت و تراکم)، عوامل فیزیولوژیک (گونه آبی، سیکل تولیدمثلی و وضعیت بلوغ، سن، جنس) و شرایط تغذیه‌ای (زمان نمونه‌گیری، چگونگی تهیه نمونه، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری) می‌توانند بر فعالیت پارامترهای بیوشیمی خون تأثیر بگذارند و باعث اختلاف در تفسیر نتایج شوند (Williams و همکاران، ۱۹۷۶). هم‌چنین فرمولاسیون جیره‌های غذایی، نوع پربیوتیک مصرفی، درجه خلوص پربیوتیک مصرفی (کیتوزان) و میزان مورد استفاده آن در جیره، روش‌های مختلف اضافه کردن کیتوزان به جیره و احتمالاً فلور میکروبی ویژه‌ای که قادر به استفاده از کیتوزان به



15. **Feldman, B.F.; Zinkl, J.G. and Jian, N.C., 2000.** Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams & Wilkins publication, Philadelphia. USA. 178 p.
16. **Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. Vol. 125, pp: 1401-1412.
17. **George, A. and Roberts, F., 1992.** Chitin chemistry. In senior lecture in Dyeing Nottingham Polytechnic. The Macmilan press LTD. London, UK. 349 p.
18. **Gopalakannan, A. and Arul, V., 2006.** Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*. Vol. 255, pp: 179-187.
19. **Han, K.N.; Kwon, I.K.; Lohakare, J.D.; Heo, S. and Chae, B.J., 2007.** Chitooligosaccharides as an alternative to antimicrobials in improving performance, digestibility and microbial ecology of the gut in weanling pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. Vol. 20, pp: 556-562.
20. **Hatlen, B.; Grisdale-Helland, B. and Helland, S.J., 2005.** Growth, feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content. *Aquacult*. Vol. 249, pp: 401-408.
21. **Hawk, P.B.; Oser, B.L. and Summerson, W.H., 1954.** Practical Physiological Chemistry. The Blakiston Company, Philadelphia. 237 p.
22. **Hoffman, J.; Johansen, A.; Steiro, K.; Gildberg, A.; Stenberg, E. and Bøgwald, J., 1997.** Chitooligosaccharides stimulate Atlantic salmon, *Salmo salar* L., head kidney leukocytes to enhanced superoxide anion production in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Vol. 1, No. 118B, pp: 105-115.
23. **Holchik, J., 1995.** New fata on the ecology of kutum, *Rutilus frissi kutum* (Nordman, 1840) From the Caspian Sea. *Ecology of Fresh Water Fish*. Vol. 4, pp: 175-179.
24. **Holeton, G.F. and Randall, D.J., 1967.** Changes in blood pressure in the rainbow trout during hypoxia. *Journal of Experimental Biology*. Vol. 46, pp: 297-305.
25. **Kawakami, H.; Shinohara, N. and Sakai, M., 1998.** The non-specific immunostimulation and adjuvant effects of juvenile. *Gorgan. J. Agri. Sci. Natur. Resources*. Vol. 16, No. 1, pp: 72-80.
6. **Alishahi, A.; Mirvaghefi, A.; Tehrani, M. R.; Farahmand, H.; Koshio, S.; Dorkoosh, F.A. and Elsabee, M.Z., 2011.** Chitosan nanoparticle to carry vitamin C through the gastrointestinal tract and induce the non-specific immunity system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Carbohydrat Polymers*. Vol. 86, pp: 142-146.
7. **Anderson, D.P. and Siwicki, A.K., 1994.** Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion. *Progressive Fish-Culturist*. Vol. 56, pp: 258-261.
8. **AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990.** Official method of analysis AOAC, Washington DC, USA. 1263 P.
9. **Awad, E. and Austin, B., 2010.** Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. Vol. 33, pp: 413-420.
10. **Benjakul, S.; Viessanguan, W.; Tanaka, M.; Ishizaki, S.; Suthdham, R. and Sugpech, O., 2000.** Effect of chitin and chitosan on gelling properties of surimi from barred gar fish (*Hemiraphus far.*). *J. Sci. Food Agric*. Vol. 81, No. 1, pp: 102-108.
11. **Cha, S.H.; Lee, J.S.; Song, C.B.; Lee, K.J. and Jeon, Y.J., 2008.** Effects of chitosan coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. Vol. 278, pp: 110-118.
12. **Cuesta, A.; Esteban, M.A. and Meseguer, J., 2003.** In vitro effect of chitin particles on the innate cellular immune system of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shell Immunology*. Vol. 15, pp: 1-11.
13. **Esteban, M.A.; Mulero, V.; Cuesta, A.; Ortuno, J. and Meseguer, J., 2000.** Effects of injecting chitin particles on the innate immune responses of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 10, pp: 543-554.
14. **Esteban, M.A.; Cuesta, A.; Ortuno, J. and Meseguer, J., 2001.** Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response. *Fish Shell Immunol*. Vol. 11, pp: 303-315.



- Iranian Fisheries Research Institute. 164 p. (In Persian).
36. **Ortuno, J.; Estban, M.A. and Meseguer, J., 2000.** High dietary intake of α -tocopherol acetate enhances the nonspecific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 10, pp: 293–307.
 37. **Ringo, E.; Olsen, R.E.; Gifstad, T.O.; Dalmo, R.A.; Amlund, H. and Hemre, G.I., 2010.** Probiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 16, No. 2, pp: 117–136.
 38. **Romeran, K.; Thu, B.J. and Evensen, O., 2002.** Immersion delivery of plasmid DNAIL. A study of the potential of a chitosan based delivery system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *J Control Release*. Vol. 85, pp: 215–225.
 39. **Sado, R.J.; Bicudo, A.J.D.A. and Cyrno, J.E.P., 2008.** Feeding dietary mannan oligosaccharid to juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *World. Aqu. Soc*. Vol. 39, pp: 821–826.
 40. **Sahu, S.; Das, B.K.; Mishra, B.K.; Pradhan, J. And Sarangi, N., 2007.** Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 23, pp: 109–118.
 41. **Sakai, M., 1999.** Current research status of fish immune-stimulants. *Aquaculture*. Vol. 172, pp: 63–92.
 42. **Serajian, S.H.; Zamini, A.A.; Yousefian, M.; Saeedi, A.A. and Jafari, A., 2007.** Comparing of some hematological parameters in Golden grey mullet (*Liza auratus*) Fishes in Caspian Sea. *Azadshahr. J. Fisheries*. Vol. 1, No. 4, pp: 51–60.
 43. **Shahidi, F. and Synwieki, J., 1991.** Isolation and characterization of nutrients and value added products from snow crab (*Chinocete sopilio*) and shrimp (*Pandalus boreqlis*) processing discards. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 39, No. 8, pp: 1532–1572.
 44. **Shiau, S.Y. and Yu, Y.P., 1999.** Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in Tilapia, *Oreochromis niloticus* \times *O. auratus*. *Aquaculture*. Vol. 179, pp: 439–446.
 45. **Siwicki, A.K.; Anderson, D.P.; Rumsey, G.L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects *Vibrio anguillarum* bacterin, M-glucan, chitin and Freund's complete adjuvant against *Pasteurella piscicida* infection in yellowtail. *Fish Pathology*. Vol. 33, pp: 287–292.
 26. **Khadjeh, G.H.; Pyghan, R.; Mesbah, M. and Rasekh, R., 2008.** A comparative study on haematological parameters of culturing Benni (*Barbus sharpeyi*) and Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Ahvaz Iranian Vet. J*. Vol. 4, No. 1, pp: 24–36.
 27. **Kim, S.K. and Rajapakse, N., 2005.** Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydr Polym*. Vol. 62, No. 4, pp: 357–368.
 28. **Kono, M.; Matsui, T. and Shimizu, C., 1987.** Effects of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*. Vol. 53, pp: 125–129.
 29. **Li, X.J.; Piao, X.S.; Kim, S.W.; Liu, P.; Wang, L.; Shen, Y.B.; Jung, S.C. and Lee, H.S., 2007.** Effects of chito-oligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens. *Poultry Science*. Vol. 86, pp: 1107–1114.
 30. **Luo, L.; Cai, X.F.; He, C.; Xue, M.; Wu, X.F. and Cao, H.N., 2009.** Immune response, stress resistance and bacterial challenge in juvenile rainbow trouts *Oncorhynchus mykiss* fed diets containing chitosan-oligosaccharides. *Current Zoology*. Vol. 55, No. 6, pp: 416–422.
 31. **Meshkini, S.; Taky, A.A.; Tukmechi, A. and Farhangpajuh, F., 2012.** Effects of chitosan on hematological parameters and stress resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Research Forum*. Vol. 3, No. 1, pp: 49–54.
 32. **Mohamadi Azarm, H.; Abedin Kenari, A.M. and Abtahi, B., 2004.** Effect of probiotic protexin on the growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Marine Sciences*. Vol. 3, pp: 69–75 (In Persian).
 33. **No, H.K.; Park, N.Y.; Lee, S.H. and Meyers, S.P., 2002.** Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiology*. Vol. 74, pp: 65–72.
 34. **Nya, E.J. and Austin, B., 2011.** Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, *Walbaum*) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. *Fish & Shellfish Immunology*. Vol. 30, pp: 845–850.
 35. **Razavi Sayad, B., 1995.** *Rutilus frisii Kutum*.



- non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Vol. 41, pp: 125–139.
46. **Soivio, A. and Nikinmaa, M., 1981.** Kirjoloihen fysiologisesta tilasto kuljetuksen ja sita seuraavan toipumisen aikana. (The physiological condition of rainbow trout during transport and the subsequent recovery period). *Suomen Kalatalous*. Vol. 49, pp: 49–56.
47. **Southgate, D.A.T., 1973.** Fiber and the other unavailable carbohydrate and their effect on the energy value of the diet. *Proc. Nutr. Soc.* Vol. 32, pp: 131–136.
48. **Steckel, H. and Nogly, F.M., 2003.** Production of chitosan pellets by extrusion/spherinization. *European J. Pharm. Biophar.* Vol. 46, pp: 1-6.
49. **Teitelbaum, J.E. and Walker, W.A., 2002.** Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. *Annual Review of Nutrition*. Vol. 22, pp: 107–138.
50. **Tort, L.; Torres, P. and Hidalgo, J., 1988.** The effects of sublethal concentrations of cadmium on haematological parameters in the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Journal of Fish Biology*. Vol. 32, pp: 277–282.
51. **Williams, R.W. and Warner, M.C., 1976.** Some observation on the stained blood cellular elements of *Ictalurus punctatus*. *J. Fish. Biol.* Vol. 9, pp: 491-497.
52. **Zhang, H.; Du, Y.; Yu, X.; Mitsutomi, M. and Aiba, S., 1999.** Preparation of chitooligosaccharides from chitosan by a complex enzyme. *Carbohydrate Research*. Vol. 320, No. 3–4, pp: 257–260.
53. **Zhuangdong, Y., 2007.** Study on the synthesis and catalyst oxidation properties of chitosan bound nickel (II) complexes. *J Agric Food Chem*. Vol. 21, No. 5, pp: 22-24.

