مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۳، دوره ۶۹، شماره ۴، ۳۹۳-۳۸۵
Original Article
Journal of Veterinary Research. 69,4:385-393, 2014

تأثیر تجویز خوراکی کیتوزان استحصالی شده از پوسته میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بر فاکتورهای خونی و رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

امین اسمعیلی راد[۱] مجتبی علیشاهی[۲*] مسعود قربانپور[۳] مهدی زارعی[۴]

۱) دانش آموخته، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - ایران
۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - ایران
۳) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - ایران
۴) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز - ایران

(دریافت مقاله: ۳۰ شهریور ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۱۰ آبان ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: پوسته میگو یکی از فرآورده‌های فرعی مهم در روش‌های فرآوری میگو می‌باشد که می‌تواند محیط را آلوده کند، در حالیکه پوسته، حاوی مقادیر فراوانی از کیتین و کیتوزان می‌باشد و می‌تواند به عنوان تحریک‌کننده ایمنی و رشد در آبزیان استفاده شود. **هدف:** در این مطالعه اثرات تجویز خوراکی کیتوزان به‌دست‌آمده از پوسته میگوی *Litopenaeus vannamei* بر برخی فاکتورهای خونی و رشد ماهی کپور معمولی بررسی شد. **روش کار:** پوسته‌های میگو از کارخانه‌های فرآوری میگو جمع‌آوری شد و کیتوزان از آنها استحصال شد. سپس ۳۰۰ قطعه ماهی کپور معمولی به ۴ گروه مساوی در ۳ تکرار (مجموعاً ۱۲ آکواریوم) تقسیم شدند. ماهی‌ها با غذای غنی شده با ۰٪ (به عنوان کنترل)، ۰/۲۵٪ (G2.5)، ۰/۵٪ (G5) و ۱٪ (G10) کیتوزان به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. نمونه‌های خون هر ۲۰ روز از هر گروه در طی آزمایش گرفته شد. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فاکتورهای خونی شامل: WBC، RBC، PCV، Hb، تعداد تفریقی سلول‌های سفید و شاخص‌های گلبولی (MCV، MCH و MCHC) استفاده شد. در انتهای مطالعه شاخص‌های رشد نظیر: نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. **نتایج:** تجویز خوراکی کیتوزان در دوزهای مختلف اثری بر فاکتورهای خونی کپور معمولی نداشت ($p>0/05$). در حالیکه نتایج نشان داد همگی شاخص‌های رشد در G10 در مقایسه با کنترل بهبود پیدا کردند ($p<0/05$). ضریب تبدیل غذایی و نرخ ویژه رشد در تیمار G10 به ترتیب ۲/۹۸±۰/۶۴ و ۰/۶۰±۰/۰۹ بود، در حالیکه همین پارامترها در گروه کنترل به ترتیب ۳/۸۲±۰/۳۰ و ۰/۴۴±۰/۰۴ مشخص گردید. غلظت‌های کمتر کیتوزان (۰/۲۵٪ و ۰/۵٪) شاخص‌های رشد ماهیان را بصورت معنی‌داری تغییر ندادند ($p>0/05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** اگرچه کیتوزان استحصال شده از میگوی پاسفید غربی در غلظت ۱٪ شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی را بهبود بخشید، ولی تأثیر معنی‌داری بر روی فاکتورهای خونی دیده نشد. بنابراین کیتوزان ۱٪ می‌تواند به عنوان یک محرک رشد در کپور معمولی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: کیتوزان، ماهی کپور معمولی، شاخص‌های رشد، فاکتورهای خونی، میگوی پاسفید غربی

مقدمه

استرس حاصل افزایش تراکم ماهی در سیستم‌های پرورشی باعث تهدید سلامت و رشد ماهی می‌گردد (۲۸). لذا استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی در آبزیان در سال‌های اخیر رشد بی‌سابقه‌ای یافته است (۱۴،۳۱). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها که در آبزیان امروزه استفاده می‌شود به دلیل هزینه بالا، تولید باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و آلودگی زیستی چندان ایمن نمی‌باشد (۳۱،۳۶). استفاده از واکسن نیز تنها برای تعداد محدودی از بیماریها به شکل تجاری موجود می‌باشد و به کار بردن این واکسن‌ها و داروهای شیمیایی نیز هزینه‌بر و استرس‌زا می‌باشد (۶،۳۵).

در بین محرک‌های رشد و ایمنی در آبزیان، مواد با منشأ طبیعی، اثرات جانبی کمتری هم بر میزبان و هم بر محیط زیست دارند (۵). یکی از محرک‌های رشد و ایمنی مناسب در آبزیان کیتوزان است (۸).

کیتوزان یک ماده پلی‌مری خطی بوده و دارای گروه آمین فعال و گروه هیدروکسیل فعال می‌باشد و به عنوان فراوانترین پلی‌مر بیولوژیک بعد از سلولز در جهان مطرح بوده و وزن مولکولی آن 1×10^5 Da تا 5×10^5 می‌باشد (۸،۱۰). این ماده توسط دی-استیلاسیون قلیایی از کیتین زمانی که درجه استیلاسیون به حدود ۵۰٪ می‌رسد، به‌دست می‌آید. کیتین یک پلی‌ساکارید غیر منشعب بر پایه گلوکز با وزن مولکولی بالا یا پلی بتا-(۱-۴)-N-استیل-D-گلوکوزآمین می‌باشد. در طبیعت به طور وسیعی گسترده می‌باشد و در اسکلت خارجی سخت پوستان، حشرات، دیواره برخی میکروب‌ها مثل قارچ آسپرژیلوس وجود دارد؛ ولی بیشترین مقدار نسبی این ماده در پوسته میگو موجود می‌باشد (۲۱،۲۲،۳۰). کیتوزان دارای خواص بیولوژیکی مانند افزایش، تحریک و تعدیل ایمنی (۱۷،۲۳،۲۵)، اثرات ادجوانتی (۴،۳۳) و ضد توموری (۲۸)، افزایش رشد (۲۰)، التیام زخم (۲۹،۳۷)، فعالیت ضدمیکروبی (۲۶)، ضد دردی (۲۷) و آنتی‌اکسیدانی (۳۸) می‌باشد. گزارشات متعدد و بعضاً متناقضی از اثر کیتوزان بر شاخص‌های رشد (۱۴،۲۳،۲۴) و فاکتورهای خونی آبزیان

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۶۱-۳۳۷۲۶۹۵۰ نمابر: ۰۶۱-۳۳۳۶۰۸۰۷ Email: alishahim@scu.ac.ir

مختلف (۲۴،۳۵) وجود دارد؛ ولی تا به حال مطالعه‌ای در مورد اثرات کیتوزان استحصال شده از میگوی پاسفید غربی بر فاکتورهای خونی و رشد آبزیان در کشور انجام نشده است.

هر چند در سال‌های اخیر صنعت پرورش میگو در کشور به علت شیوع بیماری ویروسی لکه سفید (White Spot Disease) با چالش جدی مواجه شده است، ولی اخیراً با معرفی میگوی پاسفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) امیدهایی برای بهبود وضعیت تولید در کشور ایجاد شده است. متأسفانه قریب به اتفاق، پوسته میگوی حاصل از فرآوری میگو به عنوان پس ماند، در محیط رها شده و باعث آلودگی محیط زیست می‌گردد، بر اساس آمار سازمان شیلات ایران تولید میگوی پاسفید غربی در سال ۱۳۸۹ در کشور برابر ۵۱۲۸ تن بوده است(۶) که معمولاً حدود۳۵٪ آن قابل استفاده در فرآوری کیتوزان است. ولی تا به حال امکان استفاده از کیتوزان استحصال شده از پوسته این میگو در کشور در آبزی پروری مورد بررسی قرار نگرفته است.

از طرفی ماهیان گرمابی بویژه ماهی کپور در کشور، گونه‌ای با محبوبیت و بازار پسندی بالا می‌باشد. تعداد مزارع پرورش این ماهیان در سال ۱۳۸۸ بیش از ۸۰۰۰ مزرعه بوده که بیش از ۲۰ هزار تن ماهی کپور معمولی تولید نموده اند(۴). که در سال‌های اخیر عدم رشد مناسب و تلفات نسبتاً بالا به عنوان چالش‌های جدی فراروی پرورش این ماهی بوده است. به نظر می‌رسد یکی از گزینه‌ها با توجه به شرایط کشور، استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی باشد که کیتوزان استحصالی از پوسته میگو (که فعلاً به عنوان آلاینده محیط زیست مطرح است) گزینه مناسبی در این ارتباط می‌باشد، لذا در این تحقیق ضمن استحصال کیتوزان از پوسته میگوی پاسفید غربی به روش‌های معمول و کم هزینه، اثرات تجویز خوراکی آن در ماهی کپور معمولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

استخراج کیتین از پوسته‌ی میگو و تبدیل آن به کیتوزان: امروزه تقریباً همه کیتین و کیتوزان تجاری، از راه شیمیایی به دست می‌آید؛ ولی این ماده از راه تخمیر میکروبی و یا آنزیمی هم قابل استحصال می‌باشد. استخراج کیتین بر اساس روش Entsar در سال ۲۰۰۸ و Du در سال ۲۰۰۹ و Sagheer Al در سال ۲۰۰۹ با اندکی تغییرات انجام شد (۳،۹،۱۲). ابتدا پوسته‌های میگوی پاسفید غربی جمع‌آوری شده از بازارهای ماهی و میگوی سطح اهواز، با آب معمولی شسته شد و سپس پوسته‌های شسته شده را در محلول HCL ۰/۲۵ مولار با نسبت ۱g پوسته به ۶mL اسید در دمای یخچال برای ۴۰ دقیقه برای دو مرتبه کلسیم‌زدایی شد؛ بدین معنی که ابتدا به مدت ۵ دقیقه در محلول اسیدی مورد ذکر قرار داشته و سپس اسید دور ریخته شده و پوسته‌ها پس از چلاندن مجددا برای ۳۵ دقیقه در همان محلول اسیدی و همان شرایط دمایی خوابانده شدند. سپس مواد حاصل با آب مقطر برای خنثی شدن pH شسته شدند. برای پروتئین‌زدایی، پوسته‌ها در NaOH یک مولار با نسبت ۱g به ۱۵mL بازدر دمای $۷۰^{o}C$ به مدت ۲۰ ساعت خوابانده شدند. مجدداً با آب مقطر برای رسیدن به pH خنثی شسته شده و در نهایت با اتانول ۹۶^{o} در دمای ۷۰^{o} به مدت ۲۰ دقیقه عملیات رنگ‌بری انجام شد. محصول حاصل در هوای آزاد خشک شد که این ماده کیتین نام داشت. کیتین حاصله برای انجام عملیات د-استیلاسیون در محلول آبی NaOH (۵۰٪ وزنی) با نسبت ۱g به ۱۵mL باز در دمای ۷۰^{o} و به مدت ۲۰ ساعت قرارگرفت. سپس کیتوزان با آب مقطر شسته شده و در اون در دمای ۱۰۰^{o} به مدت ۳ ساعت خشک شد. کیتوزان حاصله برای انجام مطالعه مورد نظر با آسیاب به حالت پودر درآمد.

ماهی و طراحی آزمایش: ۳۰۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن متوسط ۸/۱±۴۲/۴ از یکی از مزارع پرورش ماهی در اطراف شهرستان اهواز در استان خوزستان تهیه گردید. برای یک هفته در تانکرهای بزرگ برای آداپتاسیون و کم شدن استرس نگهداری شدند. فاکتورهای بیوشیمیایی آب محل تحقیق شامل: دمای $۲۵\pm۱^{o}C$، pH برابر ۷/۸-۸/۱، اکسیژن محلول در آب ۸PPM-۱۰، میزان سختی آب ۹۶۰ میکروزیمنس بر سانتیمتر مربع و NO2<۰/۰۱ppm؛ NH3<۰/۰۱ppm تنظیم شد. ماهی‌ها به ۴ گروه و هر گروه به ۳ تکرار تقسیم شدند. هر تکرار در آکواریوم‌های جداگانه نگهداری شده و ۱۰٪ آب هر یک از آکواریوم‌ها روزانه با آب ذخیره شده بدون کلر تعویض می‌شد. ماهیان مورد آزمایش با خوراک حاوی ۰/۲۵٪(G2.5)، ۰/۵٪(G5) و ۱٪(G10) کیتوزان تغذیه شدند. از ۵ عدد ماهی از هر تکرار به صورت تصادفی در روزهای ۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دوره آزمایش بعد از بیهوش کردن با ماده بیهوشی MS-222 خون‌گیری شده و خون جمع‌آوری شده برای اندازه‌گیری فاکتورهای خونی استفاده شد.

آماده سازی غذا: غذای آماده‌ی مخصوص کپور از کارخانه آماده سازی غذای ماهیان شرکت بیضاء شیراز تهیه شد برای اضافه نمودن کیتوزان با غلظت‌های تعریف شده در تحقیق بصورت زیر اقدام شد، ابتدا خوراک استاندارد ماهی کپور با آسیاب برقی بصورت پورد درآورده شده و سپس پودر کیتوزان با مقدار کمی آب مخلوط گردید. سوسپانسیون کیتوزان با درصدهای مدنظر به پورد خوراک اضافه شد و با دستگاه مخلوط‌کن کاملاً مخلوط گردید. سپس خوراک حاصل که به حالت خمیری درآمده بود با استفاده از چرخ گوشت صنعتی بصورت پلت‌های ریز درآمده و در هوای آزاد خشک شده و سپس در دمای ۴^{o} تا زمان استفاده نگهداری گردید. البته کیتوزان وقتی به صورت پودر سفید رنگ در می‌آید ماندگاری مناسبی داشته و در برابر اکسیژن هوا نیز ماندگاری خود را حفظ می‌نماید.

آزمایشات خون‌شناسی (هماتوکریت): حجم فشرده گلبولی یا PCV به همان روش معمول و متداول برای پستانداران و پرندگان یعنی روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله‌های میکروهماتوکریت و سانتریفوژ نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفوژ

میکروهماتوکریت صورت گرفت (۱۳).

هموگلوبین (Hb): هموگلوبین به روش استاندارد سیانومت هموگلوبین انجام می‌گیرد. پس از مخلوط کردن ۰/۰۲mL خون با ۵cc محلول تجارتی درابکین (معرف سیانومت هموگلوبین) و پس از گذشت ۱۰ دقیقه، نمونه مخلوط شده به مدت ۱۰ دقیقه به منظور رسوب ذرات هسته با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس جذب نوری محلول فوقانی در طول موج ۵۴۰nm به وسیله دستگاه اسپکترو فتومتر اندازه‌گیری و میزان هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر محاسبه گردید (۱۵).

شمارش کلی گلبول‌های قرمز (TRBC): شمارش کلی گلبول‌های قرمز ماهی به روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نئوبار صورت گرفت. برای این کار و برای رقیق نمودن نمونه از محلول رقیق کننده نات ـ هریک استفاده شد. برای شمارش گلبول‌های قرمز تا درجه ۰/۵ پی پت ملانژور قرمز خون کشیده شد و سپس تا درجه ۱۰۱ با محلول رقیق‌کننده نات ـ هریک رقیق گردید (نسبت رقت ۱ به ۲۰۰) و سپس نمونه رقیق شده به لام هماسیتومتر نئوبار منتقل و پس از صرف زمان ۵ دقیقه برای ته‌نشین شدن گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز با بزرگ‌نمایی ۴۰ در پنج مربع ثانوی از مربع اولیه مرکزی شمارش و تعداد سلول شمارش شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب گردید و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی لیتر مکعب خون محاسبه شد (۱۱).

اندیس‌های گلبولی: اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد موجود محاسبه گردید (۱۸).

MCV = **تعداد گلبول‌های قرمز (ppm/m^3)** / ۱۰ × هماتوکریت (٪)

MCH = **تعداد گلبوهای قرمز (ppm/m^3)** / **هموگلوبین (g/dL)** × ۱۰

MCHC = **هماتوکریت (٪)** / **هموگلوبین (g/dL)** × ۱۰۰

شمارش کلی گلبول‌های سفید (TWBC): شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم (هماسیتومتر) و همانند شمارش کلی گلبول‌های سفید پرندگان با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات ـ هریک صورت گرفت. برای این‌کار و پس از انتقال نمونه رقیق شده به لام هماسیتومتر تعداد گلبول‌های سفید در ۹ مربع بزرگ اولیه شمارش گردید و سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۳۲).

۲۰۰ × (۱۰٪ + تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش شده در ۹ مربع بزرگ) = تعداد کل گلبول‌های سفید در میکرولیتر خون.

شمارش تفریقی گلبول‌های سفید (DWBC): برای شمارش تفریقی گلبول‌های سفید اقدام به تهیه گسترش خون گردید برای این‌کار و قبل از مخلوط نمودن نمونه خون با ماده‌ی ضد انعقاد مستقیماً یک قطره خون بر روی لام قرار گرفت و اقدام به تهیه گسترش گردید. گسترش‌های تهیه شده با الکل متیلیک تثبیت (فیکس) گردید و سپس با استفاده از رنگ گیمسا به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شد و پس از پایان رنگ آمیزی و شستشوی لام و خشک شدن گسترش با عدسی روغنی تعداد یک صد سلول سفید مورد شمارش و درصد هر یک از سلول‌ها محاسبه و ثبت گردید (۳۲).

فاکتورهای رشد: وزن ماهی‌ها در هر تیمار در ابتدای تحقیق اندازه گیری شد. بعد از تغذیه تیمارها با خوراک‌های مشخص شده به مدت ۲ ماه، وزن نهایی ماهی‌ها نیز ثبت گردید، میزان خوراک مصرفی هر تیمار نیز که بر اساس بیوماس و میزان اشتهای ماهی تنظیم می‌شد (حداکثر روزانه ۵٪) ثبت گردید. بعد از اتمام تیمار و مشخص شدن وزن نهایی، وزن خوراک مصرف شده، فاکتورهای زیر در هر تیمار مشخص و ثبت گردید.

۱۰۰ × [وزن اولیه / (وزن اولیه ـ وزن نهایی)] = درصد افزایش وزن بدن

Food Conversion Rate (اختلاف وزن نهایی و وزن اولیه / میزان غذای مصرف شده = ضریب تبدیل غذایی)

(S Specific Growth Rate) = نرخ رشد ویژه - (وزن نهایی In) زمان (روز) / (وزن اولیه In)

نتایج

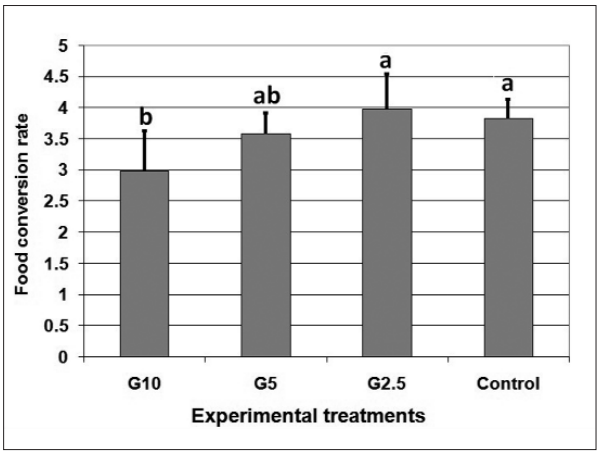
نتایج مربوط به مقایسه فاکتورهای خونی مرتبط با گلبول قرمز بین تیمارهای ۴ گانه در جدول ۱ آورده شده است. هر چند تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف کیتوزان و کنترل مشاهده نگردید ($p>0/05$)، ولی هماتوکریت و RBC در روز ۲۰ فقط در گروه G10 و در روز ۴۰ در همه گروه‌ها نسبت به کنترل بطور نسبی بالاتر بود. غلظت هموگلوبین نیز در روز ۴۰ در گروه G10 و در روز ۶۰ در گروه G2.5 نسبت به کنترل افزایش غیرمعنی‌داری را نشان دادند. فاکتورهای مربوط به گلبول‌های قرمز خونی شامل MCV، MCH، و نیز در اکثر تیمارها و مراحل نمونه گیری افزایش نسبی نسبت به گروه کنترل داشتند که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$).

نتایج مربوط به شمارش کلی و شمارش تفریقی گلبول سفید خونی بین تیمارهای ۴ گانه تحقیق در جدول ۲ آورده شده است.

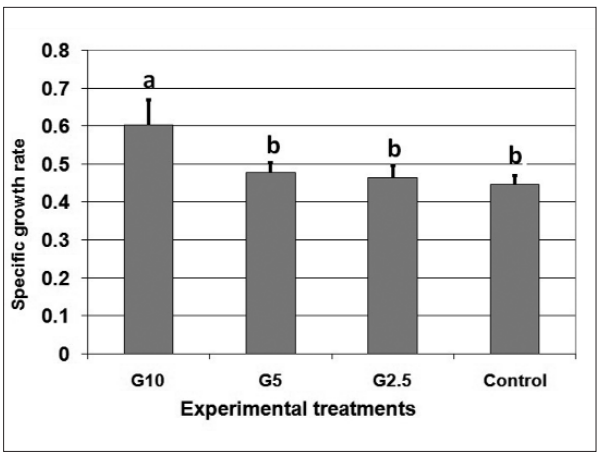
تعداد کلی WBC در گروه‌های G10 و G5 تقریباً در تمام مراحل نمونه‌گیری افزایش نسبی در مقایسه با گروه کنترل داشتند، و از طرفی تعداد لنفوسیت‌ها نیز در تمامی مراحل و در تمامی تیمارهای تغذیه شده با کیتوزان نسبت به کنترل بطور نسبی بالاتر بود، ولی در کل شمارش تفریقی گلبول‌های سفید خونی تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ بین تیمارهای تغذیه شده با غلظت‌های مختلف کیتوزان و گروه کنترل نشان نداد.

نتایج مربوط به رشد در نمودارهای ۱ تا ۳ آمده است.

نرخ رشد ویژه در G10 افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0/05$)، ولی سایر گروه‌ها علیرغم افزایش نسبی نرخ رشد ویژه، تأثیر معنی‌داری بر این فاکتور رشد نداشتند ($p>0/05$) (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه ضریب تبدیل غذایی بین تیمارهای تحقیق طی دوره دو ماهه G2.5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۲/۵g کیتوزان در کیلو گرم خوراک، G5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۵gکیتوزان در کیلو گرم خوراک، G10: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۱۰g کیتوزان در کیلو گرم خوراک. نتایج بر اساس Mean±SD بوده و حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.



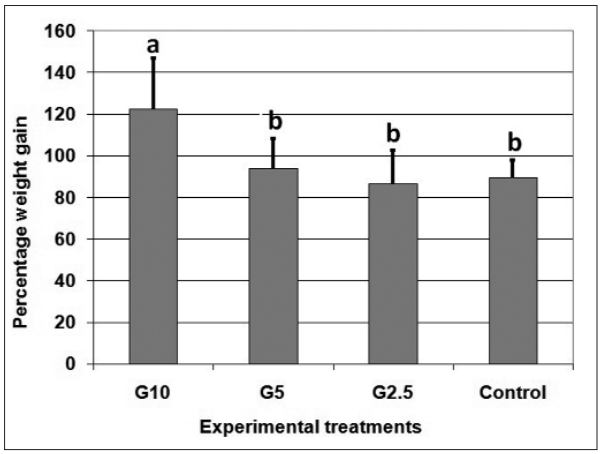
نمودار ۳. مقایسه نرخ رشد ویژه بین تیمارهای تحقیق طی دوره دو ماهه G2.5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۲/۵g کیتوزان در کیلو گرم خوراک، G5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۵gکیتوزان در کیلو گرم خوراک، G10: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۱۰g کیتوزان در کیلو گرم خوراک. نتایج بر اساس Mean±SD بوده و حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

درصد افزایش وزن در G10 افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد(p<۰/۰۵)، ولی سایر گروه‌ها، تأثیر معنی‌داری بر این فاکتور رشد نداشتند(p>۰/۰۵)(نمودار ۲).

ضریب تبدیل غذایی در G10 کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد(p<۰/۰۵)، ولی در سایر گروه‌ها تأثیر معنی‌داری بر این فاکتور رشد دیده نشد (p>۰/۰۵)(نمودار ۳).

بحث

بررسی فاکتورهای خونی وسیله‌ای مناسب برای سنجش وضعیت سلامتی ماهی می‌باشد. بررسی فاکتورهای هماتولوژیک در ماهی، هم



نمودار ۲. مقایسه درصد افزایش وزن بین تیمارهای تحقیق طی دوره دو ماهه G2.5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۲/۵g کیتوزان در کیلو گرم خوراک، G5: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۵gکیتوزان در کیلو گرم خوراک، G10: ماهیان تغذیه شده با خوراک حاوی ۱۰g کیتوزان در کیلو گرم خوراک. نتایج بر اساس Mean±SD بوده و حروف غیر همنام روی میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

برای بررسی وضعیت سلامتی ماهی و هم برای بررسی اثرات احتمالی برخی مواد ضد تغذیه‌ای اهمیت دارد(۲۴). نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز غلظت‌های مختلف کیتوزان بصورت خوراکی تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای خونی مربوط به گلبول قرمز (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد RBC، MCV، MCH و MCHC) نداشت. نتایج مشابهی از عدم تأثیر کیتوزان خوراکی بر فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز گزارش شده است(۳۵) که با نتایج تحقیق جاری مطابقت دارد، وبطور کلی بسیاری از تحقیقات، عدم تأثیر مواد محرک رشد و ایمنی خوراکی بر فاکتورهای خونی ماهی را گزارش نموده اند(۱،۲). البته برخی مطالعات نتایج متناقضی از تأثیر کیتوزان بر فاکتورهای خونی ماهی گزارش نموده‌اند، مثلاً Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۲ افزایش RBC، PCV و Hb را بدنبال تحویز خوراکی کیتوزان در ماهی *Epinephelus bruneus* گزارش کردند (۱۷). برخی نتایج متناقض گزارش شده را می‌توان به اختلاف گونه‌ای ماهی‌های مورد بررسی و نوع فراوری و تفاوت گونه میگوی بکارگرفته شده برای استخراج کیتوزان مرتبط دانست. هر چند نتایج این تحقیق تأثیر مثبتی از کیتوزان بر فاکتورهای خونی مرتبط با گلبول‌های قرمز خونی را نشان نداد، ولی از آنجا که برخی از مواد محرک رشد و ایمنی دارای اجزای ضد تغذیه‌ای بوده و آسیب‌های بافت خونساز و کم خونی‌های تغذیه‌ای را باعث می‌شوند، حداقل می‌توان بر اساس نتایج این تحقیق، اثرات منفی هماتولوژیک کیتوزان را منتفی دانست.

گلبول‌های سفید خون یکی از اجزای مهم دفاع اختصاصی هستند که در خون، ارگان‌های لنفاوی و برخی بافت‌های دیگر حضور دارند و دارای فعالیت بیگانه‌خواری و تولید آنتی‌بادی می‌باشند(۱۹). تعداد کلی WBC

جدول ۱. مقایسه نتایج فاکتورهای خون شناسی ماهی‌ها در ۴ تیمار مورد بررسی در مراحل مختلف نمونه‌گیری. نتایج بر اساس Mean±SD می‌باشند.

مرحله نمونه‌گیری	غلظت کیتوزان	روز صفر	روز ۲۰	روز ۴۰	روز ۶۰
هماتوکریت (٪)	۱۰g در کیلوغذا	۳۳/۱۷±۴/۳۴	۳۷/۶۷±۴/۴۱	۳۵/۵۶±۲/۱۹	۳۴/۷۵±۴/۰۶
	۵g در کیلوغذا	۳۳/۱۷±۴/۳۴	۳۱/۱۷±۴/۹۶	۳۱/۷۸±۴/۰۲	۳۰/۶۷±۵/۳۵
	۲/۵g در کیلوغذا	۳۳/۱۷±۴/۳۴	۳۴/۴۴±۳/۹۱	۳۱/۲۵±۳/۲۴	۳۳/۳۸±۲/۶۲
	کنترل	۳۳/۱۷±۴/۳۴	۳۵/۷۵±۱۱/۸۴	۳۰/۶۷±۰/۵۸	۳۵/۰۰±۸/۷۲
هموگلوبین (g/dL)	۱۰g در کیلوغذا	۴/۱۲±۱/۳۷	۴/۱۱±۱/۸۸	۴/۱۵±۱/۴۵	۴/۴۶±۱/۴۶
	۵g در کیلوغذا	۴/۱۲±۱/۳۷	۴/۰۴±۱/۶۲	۳/۹۴±۱/۵۵	۴/۴۸±۱/۵۳
	۲/۵g در کیلوغذا	۴/۱۲±۱/۳۷	۴/۲۴±۱/۸۴	۳/۹۴±۱/۳۰	۴/۸۸±۱/۰۳
	کنترل	۴/۱۲±۱/۳۷	۴/۲۰±۱/۶۰	۳۰/۶۷±۰/۹۶	۴/۷۳±۱/۰۳
تعداد گلبول‌های قرمز ($10^6\times$)	۱۰g در کیلوغذا	۱/۳۲±۰/۳۰	۱/۲۷±۰/۳۷	۱/۳۷±۰/۲۷	۱/۳۴±۰/۳۸
	۵g در کیلوغذا	۱/۳۲±۰/۳۰	۱/۲۴±۰/۴۸	۱/۳۶±۰/۴۰	۱/۲۹±۰/۵۱
	۲/۵g در کیلوغذا	۱/۳۲±۰/۳۰	۱/۲۷±۰/۲۶	۱/۳۸±۰/۳۶	۱/۳۰±۰/۳۶
	کنترل	۱/۳۲±۰/۳۰	۱/۲۷±۰/۱۵	۱/۳۲±۰/۰۸	۱/۳۵±۰/۴۷
MCV(fL)	۱۰g در کیلوغذا	۲۷۵/۳۸±۷۵/۸۵	۳۳۳/۵۵±۱۱۲/۰۵	۲۶۸/۰۱±۴۶/۵۰	۲۹۲/۱±۸۰/۱۵
	۵g در کیلوغذا	۲۷۵/۳۸±۷۵/۸۵	۳۱۰/۶۰±۱۳۴/۷۹	۲۵۰/۹۵±۶۷/۱۰	۲۶۰/۶۱±۷۹/۸
	۲/۵g در کیلوغذا	۲۷۵/۳۸±۷۵/۸۵	۲۸۴/۲۹±۷۴/۲۹	۲۵۷/۳۸±۱۰۹/۲۰	۲۷۷/۸۲±۷۹/۷
	کنترل	۲۷۵/۳۸±۷۵/۸۵	۳۶۰/۲۸±۸۱/۳۱	۲۳۳/۴۰±۱۳/۴۸	۲۷۸/۰۴±۱۲۹/
MCH(pg)	۱۰g در کیلوغذا	۳۴/۱۸±۱۳/۷۶	۳۵/۹۸±۲۱/۷۱	۳۱/۱۲±۱۱/۵۹	۳۷/۱۳±۱۸/۴۵
	۵g در کیلوغذا	۳۴/۱۸±۱۳/۷۶	۳۸/۰۳±۲۴/۱۰	۳۱/۴۲±۱۵/۸۶	۳۸/۳۲±۲۰/۵۵
	۲/۵g در کیلوغذا	۳۴/۱۸±۱۳/۷۶	۳۳/۹۹±۱۴/۳۶	۳۰/۵۵±۱۱/۶۸	۴۰/۱۲±۱۳/۶۰
	کنترل	۳۴/۱۸±۱۳/۷۶	۴۰/۶۶±۵/۴۵	۳۰/۵۲±۸/۶۰	۳۳/۵۳±۱۷/۲۶
MCHC(٪)	۱۰g در کیلوغذا	۱۲/۸۳±۴/۱۶	۱۱/۶۵±۶/۳۲	۱۱/۶۰±۳/۸۰	۱۳/۶۹±۳/۵۴
	۵g در کیلوغذا	۱۲/۸۳±۴/۱۶	۱۳/۳۱±۷/۰۰	۱۲/۵۹±۵/۲۹	۱۵/۳۲±۷/۷۲
	۲/۵g در کیلوغذا	۱۲/۸۳±۴/۱۶	۱۲/۳۷±۵/۱۸	۱۲/۶۹±۴/۲۹	۱۴/۶۹±۳/۳۶
	کنترل	۱۲/۸۳±۴/۱۶	۱۳/۴۲±۱/۲۲	۱۲/۹۸±۲/۹۶	۱۴/۴۹±۸/۱۸

جدول ۲. مقایسه نتایج گلبول‌های سفید و انواع گلبول‌ها در ماهی‌ها در ۴ تیمار مورد بررسی در مراحل مختلف نمونه‌گیری. نتایج بر اساس Mean±SD می‌باشند.

مرحله نمونه‌گیری	غلظت کیتوزان	روز صفر	روز ۲۰	روز ۴۰	روز ۶۰
گلبول سفید	۱۰g/K غذا	۵/۲۹±۲/۴۸	۴/۷۳±۲/۱۹	۵/۷۲±۳/۱۸	۴/۳۴±۱/۲۱
	۵g/K		۵/۶۷±۲/۵۹	۵/۷۸±۲/۶۰	۴/۶۲±۱/۲۹
	۲/۵g/K		۴/۳۸±۱/۲۷	۶/۰۲±۳/۵۰	۴/۷۲±۱/۳۸
	کنترل		۴/۵۰±۱/۸۵	۵/۹۲±۳/۶۵	۴/۴۸±۱/۴۴
لنفوسیت(٪)	۱۰g/K غذا	۵۹/۷۵±۶/۶۳	۵۸±۵/۲۵	۶۳/۸۳±۶/۶۳	۶۱/۸۳±۶/۱۸
	۵g/K		۶۰/۸۳±۷/۹۱	۶۳/۱۷±۷/۴۹	۶۱/۸۳±۴/۳۱
	۲/۵g/K		۶۰/۰۰±۱۰/۹۴	۵۶/۸۳±۶/۷۹	۶۳/۳۳±۸/۲۶
	کنترل		۵۶/۵۰±۲/۱۲	۵۵/۰۰±۵/۰۰	۵۹/۵۰±۶/۳۶
هتروفیل(٪)	۱۰g/K غذا	۲۴/۶۳±۶/۱۳	۲۷/۳۳±۴/۶۸	۲۱/۸۳±۸/۶۱	۲۶/۱۷±۳/۳۷
	۵g/K		۲۷/۶۷±۴/۰۸	۲۱/۸۳±۳/۷۶	۲۵/۸۳±۴/۵۸
	۲/۵g/K		۲۸/۵۷±۱۰/۸۶	۲۲/۵۰±۲/۷۴	۲۸/۰۰±۴/۳۸
	کنترل		۲۶/۰۰±۶/۰۰	۲۲/۵۰±۲/۹۷	۲۸/۰۰±۵/۶۶
مونوسیت(٪)	۱۰g/K غذا	۱۴/۶۶±۴/۶۴	۱۶/۱۷±۳/۷۱	۱۳/۵۰±۴/۱۸	۱۳/۴۰±۴/۶۷
	۵g/K		۱۱/۵۰±۴/۹۷	۱۶/۱۷±۴/۴۹	۱۲/۶۰±۴/۸۸
	۲/۵g/K		۱۲/۵۷±۶/۶۰	۱۹/۰۰±۷/۲۱	۱۵/۰۰±۴/۰۸
	کنترل		۱۴/۵۰±۲/۱۲	۱۶/۶۷±۲/۸۹	۱۳/۵۰±۲/۱۲

در تحقیق حاضر غلیرغم افزایش نسبی، تقریباً در تمام مراحل نمونه‌گیری، فاقد تفاوت معنی‌دار بین تیمارها و گروه کنترل بود($p>0/05$). از آنجا که گزارشات متعددی از قدرت تحریک ایمنی کیتوزان در آبزیان وجود دارد (۲۳،۲۴،۲۵)، انتظار می‌رفت که چنین افزایشی در تیمارهای تغذیه شده با کیتوزان در این تحقیق نیز مشاهده شود، ولی احتمالاً نسبت کیتوزان مصرفی (با توجه به روش فراوری) یا مدت زمان استفاده (دو ماه) برای القای تفاوت معنی‌دار در تعداد و نسبت گلبول‌های سفید خونی مناسب نبوده است. هر چند در تحقیقاتی مشابه، Chang و همکاران در

سال ۲۰۰۶ در ماهی *Lateolabrax japonicus*، Gopalakannan و Arul در سال ۲۰۰۶ در ماهی کپور معمولی و Siwicki و همکاران در سال ۱۹۹۴ در ماهی قزل آلای رنگین کمان نتایج مشابهی را گزارش نمودند (۷،۱۶،۳۵)؛ ولی اکثر تحقیقات تأثیر معنی‌دار تجویز کیتوزان بر تعداد و نسبت گلبول‌های سفید خونی، که بهبود وضعیت ایمنی را باعث شده است، را گزارش نموده اند (۱۷،۲۳،۲۴).

تجویز خوراکی ۱٪ کیتوزان (G10) باعث بهبود معنی‌دار فاکتورهای رشد (نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی) گردید($p>۰/۰۵$). این نتایج با برخی تحقیقات انجام شده روی اثر کیتوزان در گونه‌های دیگر آبزیان مشابهت دارد؛ به‌عنوان مثال Gopalakannan و Arul در سال ۲۰۰۶ اثر مثبت تجویز خوراکی کیتوزان ۱٪ را بر رشد ماهی کپور معمولی گزارش کردند (۱۶). Geng و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز، کیتوزان به میزان ۳g/kg و ۶ غذا را باعث افزایش برخی شاخص‌های رشد ماهی *Rachycentron canadum* دانستند(۱۴). Lin و همکاران در سال ۲۰۱۲ اثر تجویز خوراکی اولیگوساکارید کیتوزان را بر وزن نهایی و SGR ماهی کپور معمولی بررسی کردند؛ که بهبود فاکتورهای رشد در تیمار تغذیه شده با کیتوزان مشاهده گردید (۲۳).

با وجود گزارشات زیادی که حاکی از تأثیر مثبت کیتوزان بر شاخص‌های رشد ماهی‌های مختلف می‌باشد، گزارشاتی نیز از عدم تأثیر و حتی تأثیر سوء کیتوزان بر رشد ماهی را شامل می‌گردند. (۲۰،۲۴،۳۴). Kono و همکاران در سال ۱۹۸۷ اثر تجویز خوراکی کیتوزان ۱۰٪ را بر رشد برخی گونه‌های ماهیان پرورشی بی اثر دانستند (۲۰). کاهش رشد تیلاپیا در اثر تجویز خوراکی ۲ و ۵ و ۱۰٪ کیتوزان در مطالعه Shiau و Yu در سال ۱۹۹۹ مشاهده شد، که اختلال در جذب مواد غذایی در اثر کیتوزان را علت این یافته دانستند(۳۴). Lin و همکاران در سال ۲۰۱۱ تجویز خوراکی ۰/۲٪ کیتوزان را بر وزن نهایی، SGR و FCR ماهی کپور معمولی بی اثر دانستند (۲۴). این نتایج نسبتاً متناقض را می‌توان به تفاوت در گونه میگویی که کیتوزان از آن استخراج شده، میزان خلوص و داستیلاسیون کیتوزان حاصل، روش استحصال و نیز تفاوت فیزیولوژی گونه ماهی مورد بررسی نسبت داد.

بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کیتوزان استحصال شده به روش نسبتاً ساده از پوسته میگوی پاسفید غربی، که اخیراً به عنوان گونه جایگزین میگوی سفید هندی در کشور کشت می‌شود، با غلظت ۱٪ دارای اثرات تحریک رشد مناسب در ماهی کپور معمولی است، هر چند تجویز خوراکی این ماده تأثیری بر تحریک خونسازی و بهبود شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی ندارد، ولی فاقد تأثیر سوء بر این فاکتورها نیز است. لذا با توجه به کاهش رشد و افزایش تلفاتی که اخیراً در کشور در ماهی کپور معمولی مشاهده می‌شود، می‌توان از کیتوزان نیز به عنوان گزینه‌ای برای مقابل با شرایط جدید استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و از محل پژوهانه نگارندگان انجام گرفت.

References

1. Alishahi, M., Ranjbar, M.M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., Razi jalali, M. (2010) Effects of dietary *Aloe vera* on specific and non-specific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). J Vet Res. 4: 85-91.
2. Alishahi, M., Soltani, M., Mesbah, M., Esmaeilli Rad, A. (2011) Effects of dietary *Silybum marianum* extract on immune parameters of the common carp (*Cyprinus carpio*). J Vet Res. 66: 255-263.
3. Al Sagheer, F.A., Al-Sughayer, M.A., Muslima, S., Elsabee, M.Z. (2009) Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf. Carbohydr Polym. 77: 410-419.
4. Boonyo, W., Junginger, H.E., Waranuch, N., Polnok, A., Pitaksuteepong, T. (2007) Chitosan and trimethyl chitosan chloride (TMC) as adjuvants for inducing immune responses to ovalbumin in mice following nasal administration. J Control Release. 121: 168-175.
5. Bricknell, I., Dalmo, R.A. (2005) The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. Fish Shellfish Immunol. 19: 457- 472.
6. Bureau of planning and budget of Iranian fisheries organization (2010) Annual Report of Iranian Fisheries Organization (1st ed.) Gilan Tasvir publication. Gilan, Iran.
7. Chang, Q., Liang, M., Wang, J., Sun, J. (2006) Influence of chitosan on the growth and non-specific immunity of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*). J Mar Fish Res. 27: 17-27.
8. Cheba, B.A. (2011) Chitin and chitosan: marine biopolymers with unique properties and versatile applications. Global J Biotechnol Biochem. 6: 149-153.
9. Du, Y., Zhao, Y., Dai, S., Yang, B. (2009) Preparation of water-soluble chitosan from shrimp shell and its

antibacterial activity. Innov Food Sci Emerg Technol. 10: 103-107.

10. Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S. (2004) Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. J Sci Ind Res. 63: 20-31.
11. Ellis, A.E. (1990) Lysozyme assays. In: Techniques In Fish Immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., van Muiswinkel, W.B. (eds.). SOS Publications. New Jersey, USA. p. 101-113.
12. Entsar, S.A., Khaled, S.A.N., Maher, Z.E. (2008) Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Biol Resour Technol. 99: 1359-1367.
13. Fox, H.E., White, S.A., Koa, M.F., Fernald, R.D. (1997) Stress and dominance in a social fish. J Neurosci. 16: 6463-6469.
14. Geng, X., Dong, X., Tan, B., Yang, Q., Chi, S., Liu, H., Liu, X. (2011) Effects of dietary chitosan and Bacillus subtilis on the growth performance non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. Fish Shellfish Immunol. 31: 400- 406.
15. Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall. T., Brosious, E. (1971) Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Am J Clin Pathol. 56: 35-39.
16. Gopalakannan, A., Arul, V. (2006) Immuno-modulatory 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. 255: 179-187.
17. Harikrishnan, R., Kim, J., Balasundaram, C., Heo, M. (2012) Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in *Epinephelus bruneus* against Vibrio alginolyticus infection. Aquaculture. 326: 46-52.
18. Hu, F., Hepburn, H.R., Li, Y., Chen, M., Radloff, S.E., Daya, S. (2005) Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. J Ethnopharmacol. 100: 276-283.
19. Iwama, G., Nakanishi, T. (1996) The Fish Immune Dystem: Organism, Pathogen and Environment. Academic Press. New York, USA.
20. Kono, M., Matsui, T., Shimizu, C. (1987) Effects of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish. Nippon Suisan Gakkaishi. 53: 125-129.
21. Kumar, M.N.V.R. (2000) A review of chitin and chitosan applications. React Funct Polym. 46: 1-27.
22. Kurita, K. (2006) Chitin and Chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. Mar Biotechnol. 8: 203-226.
23. Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo L., Pan Y. (2012) Effects of dietary chitosan oligosaccharides and Bacillus coagulans on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). Aquaculture. 342: 36- 41.
24. Lin, S., Pan, Y., Luo, L., Luo, L. (2011) Effects of dietary b-1,3-glucan, chitosan or raffinose on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). Fish Shellfish Immunol. 31: 788-794.
25. Maqsood, S., Singh, P., Samoon, M.H., Balange, A.K. (2010) Effect of dietary chitosan on non-specific immune response and growth of *Cyprinus carpio* challenged with *Aeromonas hydrophila*. Int Aquat Res. 2: 77-85.
26. No, H., Park, N.Y., Lee, S.H., Meyers, S.P. (2002) Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. Int J Food Microbiol. 74: 65-72.
27. Okamoto, Y., Kawakami, K., Miyatake, K., Morimoto, M., Shigemasa, Y., Minami, S. (2002) Analgesic effects of chitin and chitosan. Carbohydr Polym. 49: 249-252.
28. Qin, C., Du, Y., Xiao, L., Li, Z., Gao, X. (2002) Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. Int J Biol Macromol. 31: 111-117.
29. Ramesh, U., Maridass, M. (2010) Wound healing effect of chitosan in fresh water fish *Cyprinus carpio*L. Int J Biol Technol. 1: 99-102.
30. Rinaudo, M. (2006) Chitin and chitosan: Properties

and applications. Prog Polym Sci. 31: 603.
31. Sakai, M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. 172: 63-92.
32. Schaperclaus, W., Kulow, H., Schreckenbach, K. (1991) Hematological and serological technique. In: Fish Disease. Kothekar, V.S. (ed.) (2nd ed.). Connaught circus, Gulab primlani, Oxonian press. New Delhi, India. p. 71-108.
33. Seferian, P.G., Martinez, M.L. (2001) Immune stimulating activity of two new chitosan containing adjuvant formulations. Vaccine. 19: 661-668.
34. Shiau, S.Y., Yu, Y.P. (1999) Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus, O. Aureus*. Aquaculture. 179: 439-46.
35. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Rumsey, G.L. (1994) Dietary intake of Immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Vet Immunol Immunopathol. 41: 125-139.
36. Thanikachalam, K., Kasi, M., Rathinam, X. (2010). Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. Asian Pac Trop Med. 3: 614-618.
37. Ueno, H., Mori, T., Fujinaga, T. (2001) Topical formulations and wound healing applications of chitosan. Adv Drug Deliv Rev. 52: 105-115.
38. Yen, M.T., Yang, J. H., Mau, J.L. (2008) Antioxidant properties of chitosan from crab shells. Carbohydr Polym. 74: 840-844.

The effects of oral administration of extracted chitosan from white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on hematological and growth indices in common carp (*Cyprinus carpio*)

Esmaeili Rad, A.[1], Alishahi, M.[2*], Ghorbanpour, M.[3], Zarei, M.[4]

[1]*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran*

[2]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran*

[3]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran*

[4]*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran*

(Received 21 September 2014, Accepted 1 November 2014)

Abstract:

BACKGROUND: Shell is one of the most important by-products of shrimp processing methods which can potentially pollute the environment, whereas shrimp shell contain large amounts of chitin and chitosan and can be used as immune and growth stimulator in aquaculture. **OBJECTIVES:** The purpose of present study was to investigate the effect of oral administration of chitosan extracted from *Litopenaeus vannamei*'s shell on some hematological and growth factors of common carp. **METHODS:** Shrimp shells were collected from shrimp processing plants and chitosan was extracted. Then 300 common carp were divided into 4 equal groups in 3 trirepcats (12 aquarium totally). Fish were fed with basal food supplemented with 0% (as control group), 0.25% (G2.5), 0.5% (G5) and 1% chitosan (G10) for 60 days. Blood samples were taken every 20 days from each group during the experiment. Samples were used for hematological parameters include: WBC, RBC, PCV, Hb, leukocyte differential count and globular indices (MCV, MCH and MCHC). At the end of study growth indices include: Specific Growth Rate, percentage weight gain and Food Conversion Rate were calculated. **RESULTS:** The results showed that oral administration of chitosan in different dose didn't affect hematological parameters of Common carp ($p>0.05$). Meanwhile results indicate that all growth indices improved in G10 compare to control ($p<0.05$). FCR and SGR in G10 treatment were 2.98±0.64 and 0.60±0.09, versus 3.82±0.30 and 0.44±0.04 in control group, respectively. Lower concentration of chitosan (0.25% and 0.5%) induced no significant change in growth indices of fish ($p>0.05$). **CONCLUSIONS:** Although Chitosan extracted from white leg shrimp in concentration of 1% improved growth indices of common carp, no significant impact were seen in hematological parameters. Therefore, 1% chitosan can be used as a growth stimulant in Common carp.

Key words: Chitosan, common carp, growth indices, hematological factors, *Litopenaeus vannamei*

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. Comparison of Specific Growth Rate (SGR) among the experimental groups after 2 months. G2.5: fish fed with food supplemented inclusion 2.5 g chitosan per kg food. G5: fish fed with food supplemented inclusion 5 g chitosan per kg food. G10: fish fed with food supplemented inclusion 10 g chitosan per kg food. Values are mean±SE (n=10). Significant differences ($p<0.05$) are marked by different letters.

Figure 2. Comparison of percentage weight gain among the experimental groups after 2 months. G2.5: fish fed with food supplemented inclusion 2.5 g chitosan per kg food. G5: fish fed with food supplemented inclusion 5 g chitosan per kg food. G10: fish fed with food supplemented inclusion 10 g chitosan per kg food. Values are mean±SE (n=10). Significant differences ($p<0.05$) are marked by different letters.

Figure 3. Comparison of Food Conversion Rate (FCR) among the experimental groups after 2 months. G2.5: fish fed with food supplemented inclusion 2.5 g chitosan per kg food. G5: fish fed with food supplemented inclusion 5 g chitosan per kg food. G10: fish fed with food supplemented inclusion 10 g chitosan per kg food. Values are mean±SE (n=10). Significant differences ($p<0.05$) are marked by different letters.

Table 1. Results of hematological parameters of 4 treatments in different sampling periods.

Table 2. Results of White blood cell counts and rate of leukocytes of 4 treatments in different sampling periods.

***Corresponding author's email: alishahim@scu.ac.ir, Tel: 061-33726950, Fax: 061-33360807**