بررسی تاثیر جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف ویتامین های C و E بر میزان گلبول های قرمز خون ماهی استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*)

مصطفی تاتینا[1*]، محمود بهمنی[2]، مهدی سلطانی[3]، بهروز ابطحی[4] و مهتاب قریب خانی[5]

۱و۵) استادیار و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آستارا
۲) دانشیار پژوهشی وزارت جهاد کشاورزی
۳) استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
۴) دانشیار دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی

*نویسنده مسئول مکاتبات m.tatina@iau-astara.ac.ir

تاریخ دریافت:۱۳۸۸/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش:۱۳۸۸/۱۲/۳۰

چکیده

این مطالعه به منظور تعیین تاثیر سطوح مختلف ویتامین های C و E جیره بر نوسانات گلبول های قرمز خون ماهی استرلیاد پرورشی(*Acipenser ruthenus*) در مرکز تکثیر انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان انجام گرفت. ۹ جیره غذایی شامل ترکیبی از مقادیر ۰، ۱۰۰ و ٤۰۰ میلی گرم ویتامین C از نوع ال- اسکوربیل- ۲- پلی فسفات (APP) و ۰ ، ۱۰۰ و ٤۰۰ میلی گرم ویتامین E از نوع دی- آلفا توکوفرول در کیلوگرم غذا در دو تکرار و به مدت ۱۵ هفته جهت پرورش ماهیان استرلیاد در نظر گرفته شد. پس از عادت دهی ماهیان با غذای مصنوعی، تعداد ۱۵ عدد ماهی استرلیاد با وزن متوسط ۱٤/۲۸ ±۳۵۰/۹۲ به هر یک ازهجده تانک در نظر گرفته شده معرفی گردید. ماهیان روزانه به میزان ۳٪ از وزن تر بدنشان مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان آزمایش تعداد ۳ عدد ماهی از هر تانک به صورت تصادفی انتخاب شده و مورد خونگیری قرار گرفتند. نتایج حاصل از آنالیز نمونه های خون در پایان هفته پانزدهم نشان داد که بیشترین میزان گلبول های قرمز مربوط به تیمار C۰mg/kg E۱۰۰ (جیره۳) و کمترین میزان گلبول های قرمز مربوط به تیمار شاهد (جیره۱) بود (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که سطوح مختلف ویتامین های C و E جیره و افزایش آنها منجر به ایجاد تغییرات منظمی در تعداد گلبول های قرمز خون ماهی استرلیاد پرورشی نمی شود.

واژگان کلیدی: ویتامین C، ویتامین E، گلبول قرمز، استرلیاد، *Acipenser ruthenus*

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

تاسماهیان یا ماهیان خاویاری که ماهیان غضروفی- استخوانی یا استروژن (Sturgeon) نیز نامیده می شوند از دسته ماهیان غضروفی دوران اولیه هستند که حدود ۲۵۰ میلیون سال قدمت دارند (Hung , 1991). به دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار بالای گوشت و خاویار از یک سو و کاهش میزان ذخایر این ماهیان درتمام زیستگاه های طبیعی آنها از سوی دیگر، تکثیر و پرورش آنها از سال ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت های چشمگیری به همراه داشته است. علیرغم پیشرفت های خوبی که طی چند سال اخیر در مورد پرورش تاسماهیان صورت گرفته است لیکن اطلاعات کافی درمورد نیازهای تغذیه ای، تکنولوژی ساخت و ترکیبات غذایی آنها وجود ندارد (Hung and Deng, 2002). یکی از اقلام غذایی که از نظر کمی جزء نا چیز اما از نظر کیفی جزء ضروری و مهم جیره آبزیان تلقی می گردد ویتامین ها هستند که خود به دو دسته ویتامین های محلول در آب و ویتامین های محلول در چربی تقسیم بندی می شوند (NRC, 1993).

یکی از ویتامین های بسیار مهم محلول درآب ویتامین C ($C_6H_8O_6$) است که به نام اسید اسکوربیک نیز شناخته می شود. ویتامین C از گلوکز و سایر قندهای ساده توسط گیاهان و بسیاری از گونه های جانوری سنتز می شود . این ویتامین در طبیعت فراوان بوده واغلب جانداران و گیاهان قادرند این ترکیب شیمیایی را از اسید گلوکورونیک بیوسنتز کنند (Keefe , 2001; Halver, 2002).

ویتامین E را دسته ای از ترکیبات تحت عنوان آلفا توکوفرولها تشکیل داده اند که آلفا توکروفرول مهم ترین آنهاست. ویتامین E به فرمول ($C_{22}H_{50}O_2$) یک ترکیب آلی هتروسیکلیک مشتق از هسته کرومان (Chromane) می باشد. به طور کلی ویتامین E به گروهی از ترکیبات فعال که به یکدیگر شباهت زیادی دارند اطلاق می شود (Nakagawa *et al*., 2007). لذا داشتن اطلاعات در مورد نیازهای ویتامینی خصوصا ویتامین های مهم و ضروری مانند ویتامین C و E در جیره غذایی آنها که تاثیر زیادی در فرآیندهای رشد، متابولیسم و تولید مثل و شاخص های خونی دارند ضروری به نظر می رسد.

مطالعات خون شناسی ابزار ارزشمندی در تعیین شرایط فیزیولوژیکی در ماهیان است. بنابراین پارامترهای خونی به مقدار زیادی به عنوان شاخص های شرایط فیزیولوژیکی یا پاسخ های استرس زیرکشنده در ماهی نسبت به تغییراتی با منشأ داخلی یا خارجی مورد استفاده قرار می گیرند (Cataldi *et al*., 1998; Belanger *et al*., 2001). گلبول های قرمز یا Erythrocytes بیشترین سلول های خونی هستند. تولید سلول‌های خونی در ماهیان، در مناطق مختلفی از بدن صورت می گیرد. گلبول‌های قرمز در بیشتر ماهیان، عمدتاً در کلیه و طحال ساخته می‌شوند. معمولاً رأس کلیه، مهم‌ترین محل تولید آنهاست (ستاری، ۱۳۸۱). همچنین دانشمندان مختلف بیان کرده اند که این شاخص می تواند تحت تاثیر نحوه تغذیه و نوع ترکیبات جیره غذایی از جمله ویتامین های C و E قرار گیرد. بطوریکه در برخی گونه دارای اثر مثبت و در برخی کم اثر یا بی تاثیر بوده است. مطالعات مختلفی توسط محققین داخلی و خارجی در ارتباط با تعیین اثرات ویتامین های C و E جیره غذایی بر روی شاخص های خونی از جمله نوسانات گلبول های قرمز خون انجام شده است. فلاحتکار (۱۳۸۴) اثرات ویتامین C جیره را بر روی برخی از شاخص های هماتولوژیک، بیو شیمیایی و

Archive of SID

www.SID.ir

رشد در فیل ماهی (*Huso huso*) را مورد بررسی قرار داد. Chen و همکاران (۲۰۰۴) تاثیر ویتامین های C و E جیره بر روی فعالیت مکمل تناوبی، هماتولوژی، ترکیب بدن، غلظت های ویتامین و پاسخ به استرس گرما در ماهی های جوان *Notemigonus crysoleucas* را بررسی کردند. Andrade و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر مکمل های غذایی حاوی ویتامین های C و E را بر روی پارامترهای خونی ماهی (*Arapaima gigas*) را مورد بررسی قرار دادند. Lenient و همکاران (۲۰۰۸) پاسخ پارامترهای خونی بچه ماهیان انگشت قد *Heterobranchus longifilis* به مکمل ویتامین E جیره را مورد بررسی قرار دادند.

استرلیاد (*Acipenser ruthenus Linnaeus, 1758*) بعنوان یکی از گونه های با ارزش خانواده تاسماهیان (Acipenseriformes) کوچکترین گونه از این ماهیان محسوب می شود. این ماهی یک گونه آب شیرین و پوتامودروموس است و در آبهای شیرین مناطق سرد سیری در رودخانه هایی که به دریای سیاه، آزوف و دریاچه خزر (ولگا و کورا) می ریزند زندگی می کند (Peterson *et al.*, 2006) .در مطالعه حاضر تأثیر ویتامین های C و E جیره غذایی بر روی نوسانات گلبولهای قرمز خون ماهی استرلیاد پرورشی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

مراحل اجرایی این پروژه از اسفند ماه سال ۱۳۸۶ تا تیرماه سال۱۳۸۷ در بخش های تکثیر و پرورش و فیزیولوژی و بیوشیمی انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان که در ۲۵ کیلومتری شهر رشت و در مجاورت سد سنگر در جوار رودخانه سفید رود قرار دارد، انجام شد.

در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی تعداد ۲۷۰ عدد ماهی استرلیاد با وزن متوسط ۱۴/۲۸ ±۳۵۰/۹۲ گرم که از نظر شرایط ظاهری سالم بودند. از بین ماهیان موجود در مخازن بتونی بخش تکثیر و پرورش انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری انتخاب شده و به محل آزمایش منتقل گردیدند. جهت انجام عملیات پرورش از ۱۸ عدد وان ۲ تنی فایبرگلاس به حجم آبی ۲۰۰۰ لیتر در کنار یکدیگر و در یک محیط سرپوشیده استفاده شد. سطح آب در این مخازن ۵۰ سانتی متر بود. آب مورد نیاز وانها از آب رودخانه سفید رود تأمین می شد. در هر وان ۱۵ عدد ماهی رها سازی گردید. با انجام محاسبات آماری پس از انجام بیومتری مشخص شد که هیچ اختلاف معنی داری از نظر وزن و طول در این ماهیان در تمامی وانها وجود ندارد. در زمان انجام بیومتری به ماهیان تگ زده شد. بعد از سورت بندی، ماهیان جهت سازگاری با شرایط جدید محیطی (اکسیژن، دما و pH) به مدت ۱۵ روز با غذای کنسانتره متداول مورد استفاده برای تغذیه ماهیان خاویاری، تغذیه گردیدند.

این آزمایش بصورت طرح فاکتوریل(۳×۳) در قالب کاملا تصادفی (Completely Randomized Design) انجام گردید. بدین صورت که ترکیبی از سه سطح از ویتامین C (۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از غذا) و سه سطح از ویتامین E (۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم از غذا) برای تهیه ۹ جیره شامل یک جیره پایه (فاقد ویتامین های C و E) و ۸ جیره آزمایشی (جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفت و هر یک از جیره های آزمایشی برای غذادهی ماهیان ۲ تانک بکار گرفته شد. طول مدت آزمایش نیز ۱۵هفته در نظر گرفته شد. ترکیبات و نتایج آنالیز تقریبی جیره در جدول ۲ آورده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: ترکیبات جیره های غذایی مورد استفاده در آزمایش در این بررسی (۸۷-۸۶)

	جیره								
ترکیبات جیره	**۱**	**۲**	**۳**	**٤**	**٥**	**٦**	**۷**	**۸**	**۹**
آرد ماهی(٪)	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰	۵۴/۰
آرد گندم (٪)	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰	۱۸/۰
شیر خشک (٪)	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰
کنجاله سویا (٪)	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰
گلوتن ذرت (٪)	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰	۵/۰
روغن ماهی(٪)	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰
مخمر (٪)	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰
مخلوط مواد معدنی۱ (٪)	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳	۱/۳
مخلوط مواد ویتامینی۲ (٪)	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷	۱/۷
ویتامینE۳(میلی گرم در کیلوگرم غذا)	۰	۰	۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۰۰	۴۰۰	۴۰۰
ویتامینC٤(میلی گرم در کیلوگرم غذا)	۰	۱۰۰	۴۰۰	۰	۱۰۰	۴۰۰	۰	۱۰۰	۴۰۰

۱- مخلوط مواد معدنی (گرم در کیلوگرم مکمل):

calcium lactate, 327; K_2PO_4, 239.8; $CaHPO_4$. $2H_20$, 135.8; $MgSO_4$. $7H_20$, 132; Na_2HPO_4. $2H_2O$, 87.2; NaCl, 43.5; ferric citrate, 29.7; $ZnSO_4$. $7H_20$, 3; $CoCl_2$. $6H_2O$, 1; $MnSO_4$. H_2O, 0.8, KI, 0.15; $AlCl_3.6H_2O$, 0.15; $CuCl_2$, 0.1.

۲- مخلوط مواد ویتامینی (گرم در کیلوگرم مکمل):

thiamin hydrochloride, 2.5; riboflavin, 10; calcium pantothenate, 25; nicotinic acid, 37.5; pyridoxine by hydrochloride, 2.5; folic acid, 0.75; inositol, 100; ascorbic acid, 50; chlorine chloride, 250; menadione, 2; retinol acetate, 1; cholecalciferol, 0.0025; biotin, 0.25; vitamin B_{12}, 0.05.

۳- ویتامینE : دی آلفا- توکوفرول

۴- ویتامین C : ال- اسکوربیل- ۲- پلی فسفات

جدول۲: ترکیبات تقریبی جیره پایه در این بررسی (۸۷-۸۶)

	رطوبت	**خاکستر**	**پروتئین**	**چربی**	**فیبر**
ترکیب تقریبی (٪)	۱۴/۲± ۰/۲	۲۰/۷± ۱۰/۰	۴۹/۰± ۰/۸	۱۴/۱± ۰/۲	۲/۰± ۰/۱

با توجه به اندازهٔ ماهیان غذادهی به میزان ۲ ٪ وزن بیومس، بصورت دستی و در سه نوبت (در ساعات ۷، ۱۵ و ۲۳) انجام می شد. غذای ماهیان بر اساس شماره هر تیمار در ظروف جداگانه و مخصوص نگهداری می شد و هنگام

Archive of SID

www.SID.ir

غذادهی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و در سطح وان ها توزیع می گردید. آب تانک ها هر روز قبل از غذا دهی سیفون گردیده تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج گردد.

پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله اکسیژن محلول، pH و دما در طول دوره پرورش به منظور کنترل شرایط محیطی پرورش به دقت اندازه گیری شد (جدول۳). اکسیژن محلول و دما دو بار در روز و pH یک بار در روز اندازه گیری شدند. همچنین هر ۲۱ روز یکبار وانها کاملاً خشک شده و سپس با مواد ضد عفونی کننده شستشو شده و ضد عفونی می شدند.

جدول ۳: فاکتورهای فیزیکوشیمیایی اندازه گیری شده در طول مدت پرورش در این بررسی (۸۷-۸۶)

فصل	دما (درجه سانتیگراد)	اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر)	pH
زمستان	۹/۵ ± ۰/۲	۹/۴ ± ۰/۶	۷/۳ ± ۰/۳
بهار	۱۶/۳ ± ۰/۲	۶/۹ ± ۰//۵	۷/۴ ± ۰//۱
تابستان	۱۷/۲ ± ۰/۱	۶/۷ ± ۰/۳	۷/۵ ± ۰/۱

عملیات خونگیری از سیاهرگ دمی واقع در پشت باله مخرجی ماهیان استرلیاد پرورشی صورت گرفت. جهت انجام مطالعات خون شناسی از سرنگ هایی با حجم cc ۵ استفاده گردید. بعد از گرفتن cc ۴ خون توسط سرنگ از ساقه دمی این ماهیان خون به داخل تیوبهای اپندرف شماره گذاری شده منتقل و پس از افزودن ماده ضد انعقاد خون جهت انجام مطالعات هماتولوژیک به آزمایشگاه ارسال گردید. لازم به ذکر است در هنگام خونگیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر روی سطوح شاخص های خونی استفاده نگردید.

جهت شمارش گلبول های قرمز از پیپت مخصوص استفاده شد. پس از شمارش گلبول ها توسط لام هموسیتومتر مجموع اعداد ۵ خانه دو قسمت لام را با هم جمع، میانگین گرفته و در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب گردید و تعداد گلبول های قرمز بر حسب عدد در میلی متر مکعب بدست آمد. گلبول های قرمز با عدسی ۴۰ شمارش گردیدند (درگاهی و همکاران، ۱۳۷۵).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 17و رسم نمودار نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج اندازه گیری گلبول های قرمز خون در هفته پانزدهم پس از تغذیه با جیره های حاوی مقادیر مختلف ویتامین های C و E در جدول ۴ و شکل ۱ نشان داده شده است.

در هفته پانزدهم، بیشترین مقدارRBC در تیمار E۱۰۰ C۰mg/kg مشاهده گردید. این در حالی است که کمترین، کمترین مقدار RBC مربوط به تیمارهای mg/kg E۰ C۰ و E۱۰۰ C۴۰۰mg/kg بود (جدول ۴). با توجه به نتایج حاصل از آنالیز آماری مشخص شد که در مورد

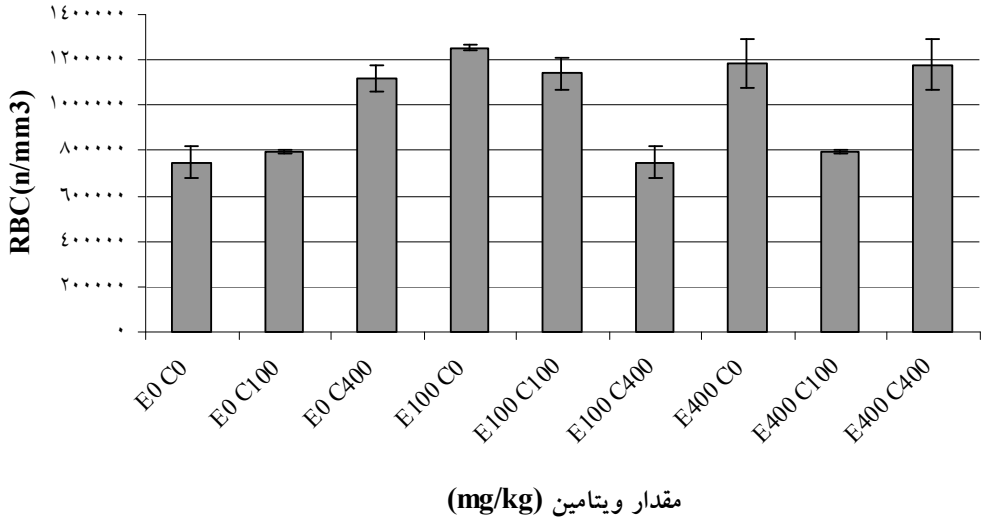
Archive of SID

www.SID.ir

شاخص RBC در تیمارهـای مختلـف اخـتلاف معنـی داری وجود دارد ($P < ۰/۰۵$).

جدول ٤: نتایج اندازه گیری شاخص RBC در ماهی استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*) در هفته پانزدهم (n=٥٤) در این بررسی (٨٧-٨٦)

مقدار ویتامین (میلی گرم بر کیلوگرم)	RBC (تعداد بر میلی متر مکعب)
E۰ C۰	۷۴۸۳۳۳/۳۳ ± ۷۱۶۶۶/۶۷ b
E۰ C۱۰۰	۷۹۳۳۳۳/۳۳ ± ۱۰۰۰۰/۰۰ b
E۰ C٤۰۰	۱۱۱۶۶۶۶/۶۷ ± ۵۶۶۶۶/۶۷ ab
E۱۰۰ C۰	۱۲۵۵۰۰۰/۰۰ ± ۱۱۶۶۶/۶۷ a
E۱۰۰ C۱۰۰	۱۱۴۰۰۰۰/۰۰ ± ۷۰۰۰۰/۰۰ ab
E۱۰۰ C٤۰۰	۷۵۳۳۳۳/۳۳ ± ۷۱۶۶۶/۶۷ b
E٤۰۰ C۰	۱۱۸۵۰۰۰/۶۷ ± ۱۰۸۳۳۳/۳۳ ab
E٤۰۰ C۱۰۰	۷۹۳۳۳۳/۳۳ ± ۱۰۰۰۰/۰۰ b
E٤۰۰ C٤۰۰	۱۱۸۰۰۰۰/۰۰± ۱۱۰۰۰۰/۰۰ ab



شکل ۱: مقدار RBC اندازه گیری شده در ماهی استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با جیره های حاوی مقادیر مختلف از ویتامین های C و E در هفته پانزدهم (n=٥٤) در این بررسی (٨٧-٨٦)

www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از بررسی حاضر در انتهای هفته پانزدهم پرورش نشان داد که تعداد گلبول های قرمز خون تفاوت معنی داری را در بین تیمار های مختلف دارد. بیشترین تعداد گلبول های قرمز در این مرحله نیز در تیمار میلیگرم بر کیلوگرم۰ C ۱۰۰E و کمترین تعداد آنها نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. این امر تایید کننده تاثیر مثبت سطوح ویتامین های C و E جیره بر روی این شاخص خونی است.

به عنوان مثال Dinning (۱۹۶۲) و Cox (۱۹۶۸) پیشنهاد کردند که ویتامین C می تواند موجب افزایش تعداد گلبول های قرمز خون شود. آنها بیان نمودند که افزایش در تعداد گلبول های قرمز با اضافه شدن مقادیر ویتامین C می تواند به علت اثر مستقیم ویتامین C بر روی اریتروپویزیس باشد. Hung و همکاران (۱۹۸۷) بیان نمودند که ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی است که موجب افزایش حیات و دوام اریتروسیت ها می شود و یک نقش اساسی در تنفس سلولی بازی می کند. Affonso و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که تاثیر ویتامین C در افزایش گلبول های قرمز خون می تواند موجب انتقال و عرضه بیشتر اکسیژن در خون ماهی و در نهایت در بافت ها شده و موجب ارائه پاسخ فیزیولوژیکی بهتر در ماهی شود.

همچنین دانشمندان مختلف بیان کرده اند که ویتامین های C وE می توانند از غیر فعال شدن سیستم ایمنی پیشگیری کرده و مقاومت غشاهای سلول های قرمز را افزایش دهند (Belo *et al*., 2005; Sahoo and Mukherjee, 2002; Pearce *et al*., 2003; Sau *et al*., 2004; Kiron *et al*., 2004; Chen *et al*., 2004).

با توجه به وجود تاثیرات مثبت این ویتامین ها و همچنین عکس العمل و تغییر تعداد گلبول های قرمز خون تحت تاثیر عوامل مختلف به برخی از مطالعات انجام شده در داخل و خارج از کشور در ارتباط با این شاخص خونی اشاره می شود. فلاحتکار (۱۳۸۴) با استفاده از مقادیر مختلف ویتامین C (۰، ۱۰۰،۲۰۰، ۴۰۰،۸۰۰ و میلی گرم بر کیلوگرم ۱۶۰۰) در طی ۱۶ هفته برای پرورش فیل ماهیان جوان با وزن متوسط ۰/۵ ± ۳۸/۱ گرم انجام داد نشان داد که در این دوره اختلاف معنی داری در شاخص گلبول های قرمز خون در بین تیمار های مختلف وجود دارد. تفاوت نتایج مطالعه حاضر با یافته های تحقیق فوق با توجه به تاثیر ویتامین C در هر دو مطالعه بر روی نوسانات گلبول های قرمز خون به تفاوت گونه ها، اندازه ماهیان و عدم استفاده از ویتامین E نسبت داد.

در مطالعه دیگری Hamre و همکاران (۱۹۹۷) اثرات تغذیه با مکمل های حاوی ویتامین های C و E جیره بر روی شاخص RBC خون در ماهی *Salmo salar* را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که اندرکنش بین این ویتامین ها در رابطه با تاثیر بر روی شاخص RBC خون همانند مطالعه حاضر وجود ندارد. Papp و همکاران (۱۹۹۵) با بررسی اثر ویتامین C بر تاسماهی هیبرید با وزن متوسط ۲/۱± ۱۱/۹ بمدت ۸ هفته دریافتند که کمترین مقدار گلبول های قرمز خون در تیمار شاهد مشاهده گردید که با سایر تیمار ها دارای اختلاف معنی داری بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

Jeney and Jeney (۲۰۰۲) با اندازه گیری مقدار پارامترهای خونی در تاسماهی هیبرید با وزن متوسط ۱۲-۱۰گرم که ۲۰ هفته با دوزهای مختلف ویتامین C تغذیه

Archive of SID

www.SID.ir

شده بود دریافتند که ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی این ویتامین دارای تعداد گلبول قرمز کمتری در مقایسه با گروه کنترل بودند که با نتایج حاصل از این مطالعه مغایرت دارد. Chen و همکاران (۲۰۰۴) اثرات تغذیه با مکمل های حاوی ویتامین های C و E جیره بر روی شاخص RBC خون در ماهی *Notemigonus crysoleucas* را مورد بررسی قرار دادند و مشابه مطالعه حاضر دریافتند که اندرکنش بین این ویتامین ها در رابطه با تاثیر بر روی شاخص RBC خون وجود ندارد. Menezes و همکاران (۲۰۰۶) با بررسی تاثیر مکمل های غذایی حاوی ویتامین های C و E بر روی شاخص های خونی ماهی (*Arapaima gigas*) پرورش یافته در قفس به مدت ۴۵ روز دریافتند که مقدار گلبول های قرمز خون (RBC) در ماهیان تغذیه شده از جیره های حاوی مکمل های ویتامین C (۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و (C+E) حاوی (ویتامین E، ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ویتامین C، ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری در مقایسه با گروههای تغذیه شده با مکمل های حاوی ویتامین E (۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروههای کنترل بیشتر بود. Andrade و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تاثیر مکمل های غذایی حاوی ویتامین های C و E برروی شاخص های خونی ماهی (*Arapaima gigas*) در مدت ۲ ماه پرورش دریافتند که در شاخص RBC افزایش معنی داری در ماهیان تغذیه شده با جیره های حاوی مقادیر ۸۰۰ و ۱۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C مشاهده شد. اگرچه اختلاف معنی داری برای ماهی های تغذیه شده از تیمارهای مختلف ویتامین E وجود نداشت. مشابه این نتایج توسط Montero و همکاران (۲۰۰۱) برای *S. aurata* تغذیه شده با غلظت های مختلف ویتامین E بدست آمد. Lenient و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تاثیر جیره های حاوی مکمل های ویتامین E با سطوح (۰ ، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و میلی گرم بر کیلوگرم ۱۵۰) به روی بچه ماهیان انگشت قد ماهی (*Heterobranchus longifilis*) بعد از ۱۲ هفته پرورش بر روی شاخص RBC (اریتروسیت ها ی خون) دریافتند که این شاخص در ماهیان تغذیه شده با جیره های مختلف روند مشخصی را نشان نداد. در تیمار ۲۵ و سپس ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعداد RBC از سایر تیمارها بیشتر و در تیمار ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم از بقیه کمتر بود. نتایج این مطالعات با توجه به متفاوت بودن گونه ها، شرایط پرورشی، اندازه گونه ها، مقادیر متفاوت ویتامین های استفاده شده و احتمالا توانایی ساخت ویتامین C به دلیل وجود آنزیم GLO در بعضی از گونه ها که تا حدی و یا بطور کامل نیاز به منابع خارجی این ویتامین را منتفی می نماید با مطالعه حاضر مغایرت دارد.

وجود بیشترین تعداد گلبول های قرمز در پایا ن هفته پانزدهم در تیمار E۱۰۰ C۰mg/kg نشان دهنده تاثیر حداقل سطوح ویتامین E با طولانی شدن مدت زمان پرورش و بهبود شرایط محیطی و سازگاری ماهیان با محیط پرورش، هوادهی منظم، کیفیت خوب آب و همچنین شرایط کنترل شده محیط پرورشی بوده که موجب عدم بروز استرس به ماهیان شده است. سطوح پایین ویتامین E در این مرحله و عدم وجود ویتامین C در افزایش تعداد گلبول های قرمز خون موثر بوده و فقدان ویتامین C در جیره تاثیری بر روی این شاخص نداشته است. نتایج بدست آمده در این گونه با نظریه Dinning (۱۹۶۲) و Cox (۱۹۶۸)که پیشنهاد کردند ویتامین C می تواند موجب افزایش تعداد گلبول های قرمز خون شود مغایر و با نظریه Hung و همکاران (۱۹۸۷) که بیان نمودند ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی است که می تواند موجب افزایش حیات و دوام وتعداد اریتروسیت ها

Archive of SID

www.SID.ir

شده و یک نقش اساسی در تنفس سلولی بازی می کند موافق است. این نتایج نشان دهنده بی تاثیر بودن ویتامین C (عدم وجود و سطوح بالا) و تاثیر مثبت ویتامین E جیره حتی در سطوح پایین بر روی این شاخص خونی است.

عدم تاثیر سطوح بالا و یا فقدان این ویتامین در جیره بر روی این شاخص احتمالا میتواند به دلیل وجود آنزیم GLO در ماهیان خاویاری و از جمله گونه استرلیاد باشد که با سنتز آن در کلیه این ماهیان مقدار مورد نیاز جبران شده و نیاز ماهی به منبع جیره ای آن کم شده ولی وجود ویتامین E ضروری می باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر محمد پور کاظمی ریاست محترم انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری و کارشناسان محترم بخشهای فیزیو لوژی وتکثیر وپرورش آقایان مهندس رضوان الله کاظمی، مهندس میر حامد سید حسنی، مهندس محمود محسنی، مهندس محمد پور دهقانی، مهندس ایوب یوسفی، مهندس علی حلاجیان، مهندس سهراب دژندیان، مهندس هوشنگ یگانه، مهندس جلیل جلیل پور وسایر پرسنل بخش تکثیر و پرورش صمیمانه تشکر می نماییم.

منابع

۱.درگاهی، ح. عظیمی، س. و شریفی، ی.، ۱۳۷۵. هماتولوژی آزمایشگاهی. مؤسسه انتشارات امید. چاپ اول.۳۷۶ ص.

۲.ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی شناسی(۱) تشریح و فیزیو لوژی ، انتشارات نقش مهر. ۶۵۹ ص.

۳.فلاحتکار، ب.، ۱۳۸٤. اثرات ویتامین C جیره بر برخی شاخص های هماتولوژیک، بیوشیمیایی و رشد در فیل ماهی (*Huso huso*) ، پایان نامه دکتری تخصصی شیلات، دانشگاه تربیت مدرس نور، ۸۶ ص.

4.Affonso, E.G., Silva, E.C., Tavares-Dias, M., Menezes, G.C., Carvalho, S.M., Nunes, E.S.S., Ituassu, D.R., Roubach, R., Ono, E.A., Fim, J.D.I. and Marcon, J.L., 2007. Effect of high level of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxa (*Brycon amazonicus*). Comprative Biochemistry and physiology, 147: 383-388.

5.Andrade, J.I.A., Ono, E.A., Menezes, G.C., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C. and Tavares-Dias, M., 2007. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. Comparative Biochemistry and Physiology.Part A, 146: 576–580.

6.Belanger, J.M., Son, J.H., Laugero, K.D., Moberg, C.P., Doroshov, S.I., Lankford, S.E. and Cech, J.J., 2001. Effects of short – term management stress and acth injection on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 203: 165-176.

7.Belo, M.A.A., Schalch, S.H.C., Moraes, F.R., Soares, V.E., Otoboni, A.M.M.B. and Moraes, J.E.R., 2005. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. J. Comp. Pathol., 133: 146–154.

Archive of SID
www.SID.ir

15.Hung .S.S.O., 1991. Hand book of nutrition requirement of finfish, CRS press. 153- 160.

16.Hung, S.S.O. and Deng, D.F., 2002. Sturgeon , *Acipenser spp.*, In: Webster, C. D., Lim , C., (Eds.), Nutrient reguirements and feeding of finfish for aquaculture, CABI publishing , 344 – 357 .

17.Jeney, G. and Jeney, Z., 2002. Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* × *A. baerii*. Journal of Applied Ichthyology, 18: 416-419.

18.Keefe, T., 2001. Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in Aquaculture Feeds .ASA Technical Bulletin Vol .AQ48. 1-9.

19.Kiron, V., Puangkaew, J., Ishizaka, K., Satoh, S. and Watanabe, T., 2004. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. Aquaculture, 234: 361–379.

20.Lenient, M., Atteh, J., Omotosho, J. and Madu, C., 2008. Response of *Heterobranchus longifilis* Fingerling to Supplemental Dietary Vitamin E. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 3(1):22-30.

21.Menezes, G.C., Tavares-Dias, M., Ono, E.A., Andrade, J.I.A., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., Marcon, J.L. and Affonso, E.G., 2006. The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of

8.Cataldi, E., Idimarco, P., Mandich, A. and Catandella, S., 1998. Serum parameters of adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces : Acipenseriformes): Effect of temperature and stress. Comp. Biochem. Physiol., 120: 273-278.

9.Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski K. and Lee, K.J., 2004. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). Aquaculture, 242: 553–569.

10.Cox, V.E., 1968. The anemia of scurvy. In: Harris, R.S., Wool, I.G., Loraine, J.A. _Eds.., Vitamins and Hormones Academic Press, New York, pp. 635–651.

11.Dinning, J.S., 1962. Nutritional requirements for blood cell formation in experimental animals. Physiol. Rev., 42: 169–180.

12.Halver, J.E., 2002. The vitamins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA, 61–141.

13.Hamre, K., Waagbo, R., Berge, R.K. and Lie, O., 1997. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar, L.*). Free Radic. Biol. Med. 22: 137–149.

14.Hung, S.S.O., Lutes, P.B. and Conte, F.S., 1987. Carcass proximate composition of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Comp. Biochem. Pphysiol., 88 (1): 269 -272 .

Archive of SID

www.SID.ir

pirarucu, Arapaima gigas, in net culture. Comparative Biochemistry and Physiology A., 145: 274–279.

22.Montero, D., Tort, L., Robaina, J., Vergara, M., and Izquierdo, M.S., 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. Fish Shellfish Immunology., 11: 473–490.

23.Nakagawa, H., Sato, M. and Gatlin, D.M., 2007. Dietary Supplements for the health and quality of cultured fish. CRC press. USA. 220p.

24.National Research Council (NRC), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp.

25.Papp, Z., Jeney, G. and Jeney, G., 1995. Comparative studies on the effect of vitamin C feeding of European catfish (*Silurus glanis* L.) and sturgeon hybrid (*Acipenser ruthenus* L. × *Acipenser baeri* L.). J. Appl. Ichthyol. 11: 372- 374.

26.Pearce, J., Harris, J.E. and Davies, S.J., 2003. The effect of vitamin E on the serum complement activity of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition, 9: 337–340.

27.Peterson, D., Vecsei, P. and Hochleithner, M., 2006. Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus Linnaeus*, 1758 (Acipenseridae) Environ. Biol. Fishes. 2P.

28.Sahoo, P.K. and Mukherjee, S.C., 2002. Influence of fish dietary α-tocopherol intakes on specific immune response, non-specific immune resistance factors and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immuno compromised Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). Aquac. Nutr., 8: 159–167.

29.Sau, S.K., Paul, B.N., Mohanta, K.N. and Mohanty, S.N., 2004. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. Aquaculture, 240: 359–368.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of diets supplemented with vitamins C and E on RBC fluctuations in (*Acipenser ruthenus*)

M. Tatina[1*], M. Bahmani[2], M. Soltani[3], B. Abtahi[4] and M. Gharibkhani[5]

1,5) Department of Fisheries, Islamic Azad University, Astara Branch, Astara, Iran
2) International Sturgeon Research Institute, Rasht, Iran
3) Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
4) Department of Marine Biology, Faculty of Biological Science, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

[*]**Corresponding author** m.tatina@iau-astara.ac.ir

Received date:15/1/2010 **Reception date:20/3/2010**

Abstract

This study was carried out to determine the effects of different levels of following dietary Vitamins C and E on the fluctuations of RBC in *Acipenser rothenus* in the breeding center of International Sturgeon Research Institute from January to July 2008. 9 diets were supplemented with a combination of 0, 100 and 400 mg/kg vitamin C, L-ascorbyl-2-polyphosphate (APP), and 0, 100 and 400 mg/kg vitamin E, D-alpha- tocopherol and were fed to starlet in 2 replications during 15 weeks. After adapting with experimental diet, 15 fish with the average weight of 350.92±14.28 were introduced of each tank. At the end of experiment, 3 fish of each tank were choosed randomly for collecting blood samples. The results of blood samples at the end of 15th week revealed that fish that were fed diets containing 100 mg kg^{1-} vitamin E and 0 mg kg^{1-} vitamin C (diet 3) and fish fed testifier diets (diet 1) had significantly the highest and the lowest RBC($p>0.05$), respectively. The results showed that the different levels of dietary vitamin C and E and their increase didn't lead to the regular changes in number of RBC in cultured starlet.

Key words: Starlet, *Acipenser ruthenus*, vitamins C, vitamin E, RBC

Archive of SID

www.SID.ir