

اثرات آکوآک ارگوسان (AquaVac Ergosan) بر میزان رشد، بازماندگی و شاخص‌های مربوط به خون در فیل ماهیان جوان (*Huso huso*)

احسان احمدی فر^۱، * محمدعلی جلالی^۲، محمد سوداگر^۳، قباد آذری تاکامی^۴ و اسدالله محمدی زرج آباد^۲

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۲استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۳استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۱۸

چکیده

در این پژوهش یک دوره آزمایش غذایی ۶۰ روزه به منظور ارزیابی تأثیر ارگوسان بر راندمان رشد، بازماندگی و تغییرات سلول‌های مربوط به خون در فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) انجام شد. ارگوسان به‌عنوان یک فرآورده جلبکی که دارای ۱ درصد اسید آلژینیک می‌باشد به میزان ۰، ۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم به جیره‌های غذایی افزوده شد (به ترتیب جیره‌های A، B، C و D). جیره‌های غذایی مربوطه در فواصل ۱۰ روزه در طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اختیار تیمارهایی از فیل ماهیان جوان با میانگین وزنی $41/7 \pm 1/8$ گرم قرار گرفتند (روزهای ۱۰-۱، ۳۰-۲۰ و ۵۰-۴۰ با جیره‌های بدون ارگوسان و روزهای ۲۰-۱۰، ۴۰-۳۰ و ۵۰-۶۰ با جیره‌های دارای ارگوسان). ماهیان تیمار شاهد در طول دوره آزمایش با استفاده از جیره غذایی شاهد (جیره A) تغذیه شدند. غذایی براساس ۵ درصد وزن بدن در روز انجام شد. این میزان غذا به تعداد ۴ بار در روز در اختیار ماهیان قرار داده شد. میانگین دمای آب در طول دوره پرورش $24/3 \pm 2/3$ درجه سانتی‌گراد بود. دوره روشنایی/ تاریکی نیز به‌صورت ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی تنظیم شد. بیشتر شاخص‌های مربوط به رشد در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های دارای ارگوسان بهتر از ماهیان تیمار شاهد بود ($P < 0/05$). ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تیمارهای B، C و D به‌صورت معنی‌داری بهتر از تیمار A بود ($P < 0/05$) در حالی که نسبت کارایی پروتئین تفاوت معنی‌داری را در بین تیمارها نشان نداد. از نظر میزان بقاء در بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی وجود نداشت ($P > 0/05$). همچنین، کاربرد ارگوسان سبب ایجاد تفاوت‌های معنی‌داری در درصد لنفوسیت‌ها شد ($P < 0/05$) در حالی که تفاوت آماری معنی‌داری در درصد هماتوکریت، مونوسیت و میلوپسیت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد کل لوکوسیت‌ها، حجم متوسط گلبولی، وزن هموگلوبین داخل گلبولی و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی مشاهده نگردید. درصد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ماهیان تیمار شاهد بیشتر از ماهیان تغذیه شده با جیره‌های دارای ارگوسان بود. نتایج نشان داد که استفاده ارگوسان در جیره غذایی فیل ماهیان جوان، میزان رشد و برخی شاخص‌های مربوط به خون را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. انجام آزمایش‌هایی در ارتباط با اثرات ضدباکتریایی این عامل محرک سیستم ایمنی در بررسی‌های آینده ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: کارایی رشد، خون‌شناسی، سیستم ایمنی، اسید آلژینیک، ارگوسان، فیل ماهی

مقدمه

محرک‌های سیستم ایمنی عصاره‌های زیستی و مواد شیمیایی هستند که از طریق تقویت عملکرد بیگانه‌خواری، افزایش فعالیت ضدباکتری و تولید آنتی‌بادی موجب تحریک پاسخ‌های ایمنی در موجودات زنده می‌شوند (ساکایی، ۱۹۹۹). انواع مختلفی از این ترکیبات وجود دارند که به‌عنوان محرک‌های سیستم ایمنی مطرح می‌باشند اما تعداد کمی از آنها قابلیت استفاده در آبی‌پروری را دارند (رآ و همکاران، ۱۹۹۲؛ سیویکی و همکاران، ۱۹۹۸). اسید آلژینیک از جنس‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای به‌دست می‌آید که از جمله آنها می‌توان به *Laminaria Macrocystis*، *Sargassum Neroecystis*، *Alaria Ascophyllum* و *Fucus* اشاره کرد. اگرچه ارگوسان که دارای ۱ درصد اسید آلژینیک است از *Laminaria digitata* حاصل می‌شود اما بخش زیادی از آلژینات‌ها از گونه‌های *Macrocystis pyrifera* و *Ascophyllum nodosum* به‌دست می‌آیند (لوئیس و همکاران، ۱۹۹۰).

بررسی‌های صورت گرفته در مورد پستانداران نشان داده که آلژینات‌ها و اسید آلژینیک دارای اثرات بیولوژیکی بی‌شماری هستند. آنها موجب افزایش دفع کلسترول شده (کیمورا و همکاران، ۱۹۹۶)، تأثیر سرکوب‌کنندگی بر تکثیر فیبروبلاست‌ها و سنتز کلاژن در پوست انسان داشته (تاجیما و همکاران، ۱۹۹۹) و سبب تحریک رشد سلول‌های اندوتلیال می‌شوند (کاوادا و همکاران، ۱۹۹۹). در مورد ماهیان نیز بیان شده که آلژینات‌ها باعث افزایش انتقال اکسیژن از غشای سلولی لنفوسیت‌ها و ماکروفاژهای ماهیان گردیده، فعالیت سوخت و سازی را افزایش داده، باعث افزایش مقاومت باکتریایی شده و ظرفیت ترمیم زخم‌ها را سرعت بخشیده (نوسلر و تامپسون، ۱۹۹۲) و همچنین باعث تحریک لوکوسیت‌های ماهی می‌شوند (فوجیکی و یانو، ۱۹۹۷). میلز و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که تزریق ارگوسان تحریک ایمنی را در ماهی *Channa striata* به دنبال دارد. در ارتباط با تأثیر چنین ترکیباتی بر میزان رشد و بازماندگی پدی و همکاران

(۲۰۰۵) نشان دادند که مصرف ارگوسان در جیره غذایی ماهی آزاد چینوک باعث افزایش رشد و ماندگاری آنها می‌شود.

از جمله مهم‌ترین گونه‌های ماهیان که به تازگی نیز در لیست گونه‌های در معرض انقراض قرار گرفته‌اند ماهیان خاویاری (*Acipenseridae*) می‌باشند. در سال‌های اخیر در ایران تلاش‌های زیادی جهت تکثیر مصنوعی ماهیان خاویاری و رهاسازی در محیط‌های طبیعی به‌منظور بازسازی ذخایر آنها صورت گرفته و به دنبال آن علاقه زیادی جهت پرورش و همچنین تولید خاویار از آنها تحت شرایط کنترل شده به وجود آمده است. فیل‌ماهی یا بلوگا (*Huso huso*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان خاویاری می‌باشد که به لحاظ دارا بودن شرایط خاص از جمله عادت‌پذیری بهتر و زودتر به غذاهای مصنوعی و کنسانتره، ظرفیت رشد بالا و داشتن مقاومت در مقابل شرایط نامناسب محیطی (بهمنی، ۱۹۹۸) بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به افزایش درخواست پرورش این گونه و با در نظر گرفتن این نکته که ممکن است ناملایمات زیادی تحت شرایط پرورشی کنترل شده وجود داشته باشد، ضرورت دارد که برای ارتقاء میزان مقاومت آنها و همچنین افزایش رشد و بازماندگی تحت شرایط استرس‌زا از ترکیبات مناسبی در تغذیه این گونه استفاده شود تا در نهایت تولیدات آنها افزایش یابد. با توجه به نکات مورد اشاره، هدف این مطالعه عبارت است از بررسی اثر استفاده از ارگوسان به‌عنوان یک محرک سیستم ایمنی در جیره غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) و ارزیابی اثراتی که این ماده بر میزان رشد، بازماندگی و تغییرات شاخص‌های مربوط به سیستم خون در این گونه با ارزش ایجاد می‌کند.

مواد و روش‌ها

جیره‌های آزمایشی: فرمولاسیون جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است. چهار جیره آزمایشی هر یک با ۰، ۲، ۴ و ۶ گرم در کیلوگرم ارگوسان (-Schering)

شد تا مورد استفاده قرار گیرد. جیره تیمار شاهد (گروه A) نیز بدون این که ارگوسان به آن اضافه شود با این روش ساخته شد. آنالیز جیره‌های آزمایشی نیز در جدول ۲ ارائه شده است. فرمولاسیون تهیه جیره غذایی به طوری صورت گرفت که مطابق با نیازهای غذایی بچه فیل ماهیان باشد (پورعلی و همکاران، ۲۰۰۶).

Plough Aquaculture Company, UK) فرموله و به ترتیب به گروه‌های A، B، C و D تفکیک شدند. جهت ساخت جیره‌های آزمایشی، مواد خشک کاملاً با یکدیگر مخلوط و سپس آب به آنها اضافه شد تا به صورت خمیر در آید. سپس این ماده در چرخ گوشت قرار گرفت و به پلت‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر تبدیل گردید. غذا پس از ساخت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره

جدول ۱- ترکیب مواد غذایی جیره‌های آزمایشی.

مواد غذایی	گرم در کیلوگرم
پودر ماهی	۴۵۰
آرد گندم	۸۰
آرد ذرت	۸۰
کنجاله سویا	۲۰۰
روغن ماهی	۱۰۰
روغن سویا	۶۰
لسیتین	۵
مکمل ویتامین	۱۵
مکمل معدنی	۱۰

۶۰-۵۰ با جیره‌های دارای ارگوسان). تغذیه ماهیان تیمار شاهد در تمام دوره آزمایش با جیره بدون ارگوسان صورت گرفت. به منظور جلوگیری از تجمع آمونیاک و سایر ترکیبات سمی، آب هر یک از مخازن هر ۱۲ ساعت تعویض شد و غذاهای مصرف نشده در کف مخزن نیز سیفون گردید. برای دستیابی به سطوح اکسیژنی مناسب، هوادهی نیز در طول دوره آزمایش انجام شد. میانگین دمای آب در طول دوره پرورش $24/3 \pm 2/3$ درجه سانتی‌گراد بود. دوره روشنایی/ تاریکی نیز به صورت ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی تنظیم شد. به منظور دستیابی به سطوح غذادهی و تنظیم میزان آن، وزن کلی ماهیان در هر مخزن در فواصل ۱۰ روزه اندازه‌گیری شد.

طرح آزمایشی: فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) با میانگین وزنی $41/8 \pm 1/8$ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی، آق‌قلا، گرگان تهیه و به مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. آنها در ۱۲ مخزن با گنجایش ۳۵۰ لیتر با تراکم ۱۵ قطعه در هر مخزن توزیع شدند به طوری که برای هر یک از تیمارها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان به نسبت ۵ درصد وزن بدن در هر روز با جیره‌های آزمایشی مربوطه تغذیه و این میزان غذا ۴ بار در روز به آنها داده شد و آزمایش ۶۰ روز به طول انجامید. ماهیان در فواصل ۱۰ روزه با جیره‌های دارای ارگوسان تغذیه شدند (روزهای ۱-۱۰، ۳۰-۲۰، ۵۰-۴۰ با جیره‌های بدون ارگوسان و روزهای ۲۰-۱۰، ۴۰-۳۰ و

جیره‌های آزمایشی				ترکیب جیره‌ها (بر حسب درصد)
D	C	B	A	
۴۳/۲±۰/۲	۴۴/۶±۰/۴	۴۳/۷±۱/۴	۴۴/۵±۱/۴	پروتئین خام
۱۹/۶±۰/۸	۲۰/۵±۰/۹	۲۰/۱±۰/۳۵	۱۹/۸±۱/۳	چربی خام
۱۳/۱±۰/۴	۱۳/۷±۰/۶	۱۳/۹±۱/۴	۱۳/۲±۰/۵	خاکستر
۲/۳±۰/۴	۲/۵±۰/۱	۲/۳±۰/۵	۲/۲±۰/۲	فیبر
۹/۱±۰/۴	۹/۲±۰/۴	۸/۹±۰/۵	۸/۷±۰/۴	رطوبت

$$\text{ضریب رشد ویژه} = 100 \times \frac{\text{روزهای پرورش}}{\text{لگاریتم وزن اولیه - لگاریتم وزن ثانویه}} \quad (\text{دسیلوا و اندرسون، ۱۹۹۵})$$

$$\text{درصد رشد روزانه} = 100 \times \frac{\text{روزهای پرورش}}{\text{وزن اولیه (گرم) - وزن ثانویه (گرم)}} \quad (\text{دسیلوا و اندرسون، ۱۹۹۵})$$

$$\text{درصد افزایش وزن بدن} = 100 \times \frac{\text{وزن اولیه (گرم)}}{\text{وزن ثانویه (گرم) - وزن اولیه (گرم)}} \quad (\text{دسیلوا و اندرسون، ۱۹۹۵})$$

$$\text{شاخص وضعیت} = 100 \times \frac{\text{طول (سانتی‌متر)}}{\text{وزن (گرم)}} \quad (\text{آسترنگ، ۱۹۷۸})$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{مقدار غذای مصرف شده}}{\text{میزان وزن تولید شده}} \quad (\text{هوروی و همکاران، ۲۰۰۵})$$

$$\text{نسبت کارایی پروتئین} = \frac{\text{افزایش وزن (گرم)}}{\text{پروتئین مصرف شده (گرم)}} \quad (\text{هوروی و همکاران، ۲۰۰۵})$$

$$\text{درصد بازماندگی} = 100 \times \frac{\text{تعداد لاروهای ثانویه}}{\text{تعداد لاروهای اولیه}}$$

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های به‌دست آمده پس از تبدیل، توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن از طریق آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS 11 بررسی شدند. شکل‌ها با استفاده از برنامه EXCEL در محیط ویندوز رسم و نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار و تفاوت‌های آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) ارائه شدند.

آنالیز شاخص‌های مربوط به رشد و خون ماهیان: در پایان دوره غذایی تمامی ماهیان وزن شده و ضریب رشد ویژه (SGR)^۱، درصد رشد روزانه (DGR)^۲، افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، شاخص وضعیت (CF)^۳، ضریب تبدیل غذایی (FCR)^۴، نسبت کارایی پروتئین (PER)^۵ و درصد بازماندگی محاسبه شدند. به‌منظور ارزیابی شاخص‌های خون، تعداد ۶ ماهی از هر تیمار نمونه‌برداری شده و خون‌گیری از آنها با استفاده از سرنگ‌های هپارینه انجام شد. هماتوکریت (Hct)^۶ مطابق روش گلدن‌فارب و همکاران (۱۹۷۱)، هموگلوبین (Hb)^۷ مطابق روش کولیر (۱۹۴۴)، بررسی اریتروسیت‌ها (RBC)^۸ و لوکوسیت‌های کل (WBC)^۹ مطابق روش مارتینز و همکاران (۲۰۰۴)، حجم متوسط گلبولی (MCV)^{۱۰}، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH)^{۱۱} و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی (MCHC)^{۱۲} نیز مطابق روش وینتروب (۱۹۳۴) انجام شد. شمارش افتراقی لوکوسیت‌ها نیز با استفاده از روش کولنتز (۱۹۹۴) صورت گرفت. محاسبه شاخص‌های مربوط به رشد و بازماندگی مطابق رابطه‌های زیر انجام شد.

- 1- Specific Growth Rate
- 2- Daily Growth Rate
- 3- Condition Factor
- 4- Food Conversion Ratio
- 5- Protein Efficiency Ratio
- 6- Haematocrit
- 7- Hemoglobin
- 8- Red Blood Cell
- 9- White Blood Cell
- 10- Mean Corpuscular Volume
- 11- Mean Corpuscular Hemoglobin
- 12- Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

نتایج

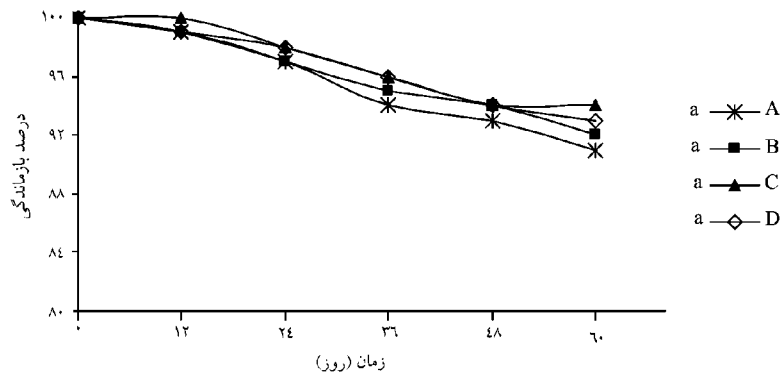
نتایج شاخص‌های مربوط به رشد در جدول ۳ ارایه شده است. افزودن ارگوسان به جیره غذایی فیل‌ماهی تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایشی نشان داد ($P < 0/05$). ماهیان تغذیه شده در تیمارهای C و D دارای بالاترین وزن نهایی و افزایش وزن بودند ($P < 0/05$). نتایج مربوط به ضریب رشد ویژه و درصد رشد روزانه نیز تقریباً مشابه سایر شاخص‌های رشد بود. برخی از مقادیر مربوط به شاخص‌های رشد در بین تیمار شاهد و تیمار B اختلاف معنی‌داری نداشتند. شاخص وضعیت در تیمارهای C و D به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0/05$) اما این میزان در تیمار B اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نداشت. ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده در تیمارهای B، C و D به‌طور معنی‌داری بهتر از تیمار A بود ولی نسبت کارایی پروتئین تفاوتی را در بین تیمارهای آزمایشی نشان نداد.

مقادیر بقاء نیز در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0/05$) (شکل ۱). جدول‌های ۴ و ۵ نتایج به‌دست آمده از آنالیز خون را نشان می‌دهند. افزودن ارگوسان به جیره غذایی تأثیری بر درصد هماتوکریت (Hct)، غلظت هموگلوبین (Hb)، تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد کل لوکوسیت‌ها (WBC)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، وزن هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی (MCHC) نداشت. برعکس، کاربرد ارگوسان باعث افزایش درصد لنفوسیت‌ها در تیمارهای B، C و D در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P < 0/05$). ماهیانی که جیره بدون ارگوسان را دریافت کرده دارای درصد نوتروفیل بیشتری بودند ($P < 0/05$). درصد مونوسیت‌ها و میلویت‌ها در بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشته اما درصد ائوزینوفیل‌ها در ماهیان تغذیه شده در تیمار شاهد به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از تیمارهای دیگر بود ($P < 0/05$).

جدول ۳- مقایسه پاسخ فیل‌ماهیان جوان در تیمارهای آزمایشی مختلف در پایان آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین).

تیمار				معیار
D	C	B	A	
۴۱/۶±۱/۷ ^a	۴۲/۲±۱/۸ ^a	۴۱/۶±۲ ^a	۴۱/۴±۲ ^a	وزن اولیه (گرم)
۱۵۴/۷±۶/۶ ^c	۱۵۶/۲±۶/۴ ^c	۱۴۴/۴±۵ ^b	۱۳۵/۲±۷/۷ ^a	وزن نهایی (گرم)
۱۱۳±۵/۳ ^b	۱۱۴±۵/۴ ^b	۱۰۲/۷±۶/۵ ^a	۹۳/۸±۰/۳ ^a	افزایش وزن (گرم)
۲۵۹/۶±۱۶ ^{ab}	۲۷۰/۹±۲۱ ^b	۲۴۷/۲±۲۱ ^{ab}	۲۲۶/۶±۵ ^a	درصد افزایش وزن
۲/۱۸±۰/۱۳ ^b	۲/۱۸±۰/۱۲ ^b	۲/۰۶±۰/۱ ^{ab}	۱/۹۶±۰/۱۵ ^a	ضریب رشد ویژه
۴/۵±۰/۲ ^b	۴/۵±۰/۳ ^b	۴/۲±۰/۴ ^{ab}	۳/۷±۰/۱ ^a	درصد نرخ رشد روزانه
۰/۳۱±۰/۰۲ ^b	۰/۳۲±۰/۰۱ ^b	۰/۳±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۲۹±۰/۰۲ ^a	شاخص وضعیت
۱/۸۳±۰/۰۷ ^c	۱/۸۲±۰/۰۴ ^c	۲/۰۸±۰/۰۸ ^b	۲/۲۱±۰/۰۶ ^a	ضریب تبدیل غذایی
۱/۱۵±۰/۰۵ ^a	۱/۱±۰/۰۵ ^a	۱/۱۸±۰/۰۱ ^a	۱/۱۹±۰/۰۶ ^a	نسبت کارایی پروتئین

اعدادی که در هر ردیف با حروف متفاوت مشخص شده‌اند اختلاف آماری معنی‌داری دارند ($P < 0/05$).



شکل ۱- مقایسه مقادیر درصد بازماندگی فیل ماهیان جوان تغذیه شده در تیمارهای آزمایشی مختلف؛ تیمارهای دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی داری ندارند ($P > 0.05$).

جدول ۴- مقایسه نتایج حاصل از آنالیز خون فیل ماهیان جوان تغذیه شده در تیمارهای مختلف در پایان آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین).

تیمار				معیار
D	C	B	A	
21.6 ± 1.5^a	21.6 ± 2.6^a	19.8 ± 2.7^a	20.5 ± 3^a	HCT (درصد)
6.1 ± 0.5^a	5.8 ± 0.9^a	5.7 ± 0.9^a	6 ± 0.6^a	Hb (درصد)
62 ± 7^a	64.6 ± 6.1^a	62.6 ± 10.3^a	65.5 ± 10.7^a	RBC (تعداد 10^6 میلی متر مکعب)
22 ± 3.3^a	22.5 ± 2.1^a	20 ± 3.2^a	21 ± 2.2^a	WBC (تعداد 10^3 میلی متر مکعب)
351.5 ± 29^a	338.3 ± 57^a	322.8 ± 15^a	314.9 ± 37^a	MCV (فمتولیترا)
100.2 ± 9.5^a	91.3 ± 16^a	93.1 ± 7^a	93.7 ± 11.2^a	MCH (پیکوگرم)
28.5 ± 1^a	27.6 ± 7^a	28.7 ± 0.7^a	29.3 ± 1^a	MCHC (درصد)

اعدادی که در هر ردیف با حروف مشابه ارائه شده اند اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر ندارند ($P > 0.05$).

جدول ۵- مقایسه نتایج حاصل از آنالیز لوکوسیت های خون ماهیان در پایان آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین).

معیار					تیمار
درصد میلو سیت	درصد ائوزینوفیل	درصد مونوسیت	درصد لنفوسیت	درصد نوتروفیل	
3.1 ± 2.7^a	14.8 ± 3.9^a	0.5 ± 0.5^a	65.8 ± 6.3^a	15.6 ± 6.4^a	A
2.3 ± 1.5^a	9.8 ± 3.1^b	0.5 ± 0.5^a	80.6 ± 3.8^b	6.6 ± 2.8^b	B
1.6 ± 1^a	9.5 ± 3.6^b	0.5 ± 0.5^a	79.6 ± 4.7^b	8.8 ± 2.5^b	C
2 ± 1.6^a	9.5 ± 3.7^b	0.33 ± 0.5^a	79.3 ± 3.2^b	8.8 ± 4.6^b	D

اعدادی که در هر ستون با حروف متفاوت ارائه شده اند اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر دارند ($P < 0.05$).

نمود. بیشتر بررسی ها در مورد اثرات تحریک کنندگی ارگوسان متمرکز شده اند. از سوی دیگر هیچ گونه بررسی علمی در زمینه کاربرد ارگوسان در جیره غذایی فیل ماهیان جوان و تعیین اثرات آن بر شاخص های رشد و تغییرات مربوط به شاخص های خون در این گونه در ایران به عمل نیامده است.

بحث

در این بررسی، کاربرد ارگوسان در جیره غذایی فیل ماهیان سبب بهبود شاخص های رشد در ماهیان تغذیه شده با ارگوسان شد. بیشتر شاخص های مربوط به رشد در ماهیان تیمارهای B، C و D بهتر از گروه A بود که در این میان تیمار C بهترین وضعیت را نشان داد. این در حالی است که میزان بازماندگی در بین تیمارها معنی دار

لوکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها و میزان تکثیر لنفوسیت‌ها در موجودات مورد آزمایش می‌باشد.

در این بررسی، افزودن ارگوسان به جیره‌ها بر درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد کل لوکوسیت‌ها، حجم متوسط گلبولی، وزن هموگلوبین داخل گلبولی و درصد غلظت هموگلوبین داخل گلبولی فیل ماهیان جوان تأثیری نداشت. اما از میان شاخص‌های مربوط به خون، درصد لنفوسیت‌ها در ماهیانی که جیره ارگوسان را دریافت کرده بودند بیشتر بود. این در حالی است که درصد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها در ماهیان تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بوده ولی درصد مونوسیت‌ها تغییری را در بین تیمارها نشان نداد. بررسی‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات تحریک‌کننده سیستم ایمنی می‌توانند از طریق افزایش فعالیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها و همچنین افزایش درصد لنفوسیت‌ها در نهایت سبب افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن شوند (را و همکاران، ۱۹۹۲؛ ساکایی، ۱۹۹۹). در این میان، لنفوسیت‌ها می‌توانند در تولید پادتن نقش داشته باشند. همچنین بررسی‌ها بیانگر آن است که لنفوسیت‌های ماهی فعالیت بیگانه‌خواری را نیز نشان می‌دهند یا این که تعداد سلول‌هایی مثل ماکروفاژها را که در بیگانه‌خواری نقش دارند را افزایش می‌دهند که در این بررسی کاربرد ارگوسان سبب افزایش درصد لنفوسیت‌ها شد. گرانولوسیت‌هایی مثل نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها سلول‌های اولیه‌ای هستند که در طی ۱۲ تا ۲۴ ساعت اول در پاسخ به التهاب ظهور پیدا می‌کنند و نقشی که آنها ایفا می‌کنند ممکن است در گونه‌های مختلف به صورت متفاوت بروز نماید. مثلاً نوتروفیل‌ها می‌توانند نقش فاگوسیتوزی یا بیگانه‌خواری داشته باشند. در بررسی حاضر افزایش ارگوسان به جیره غذایی با افزایش میزان نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها همراه نبود. این در حالی است که این میزان در ماهیان تیمار شاهد بیشتر از ماهیانی بود که جیره‌های حاوی ارگوسان را دریافت کرده بودند. از دیگر گلبول‌های سفید، مونوسیت‌ها هستند که آنها نیز در

در مورد سخت‌پوستان، کاربرد ارگوسان به میزان ۰/۵ درصد وزن جیره غذایی سبب افزایش رشد *Litopenaeus vannamei* در طی یک دوره غذایی ۱۵ روزه شد (مونترو- روکا و همکاران، ۲۰۰۶). تأثیر مشابهی در زمینه کاربرد کلپ‌هایی که شامل جلبک‌های قهوه‌ای *Sargassum spp Ascophyllum nodosum* و *Laminaria digitata* بود به دست آمد (کروز- سوارز و همکاران، ۲۰۰۰). پدی و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که کاربرد ارگوسان در جیره غذایی ماهی آزاد چینوک *Oncorhynchus tshawytscha* باعث افزایش میزان رشد و بازماندگی آن شد. در مقابل، کاربرد اسید آلزینیک (ارگوسان) تأثیری بر کارایی رشد باس دریایی *Dicentrarchus labrax* (باگنی و همکاران، ۲۰۰۵) و *Dentex dentex* (افتیمو، ۱۹۹۶) نداشت. بنابراین مشاهده می‌شود که بسته به گونه پرورشی، ارگوسان می‌تواند اثرات مثبتی روی کارایی رشد آبزیان داشته باشد. این وضعیت احتمالاً ناشی از اثراتی است که ارگوسان روی سوخت و ساز بدن به وجود می‌آورد. در همین رابطه نوسلر و تامپسون (۱۹۹۲) بیان کردند که محرک‌های ایمنی سبب افزایش سوخت و ساز بدن نیز می‌شوند که به این ترتیب میزان جذب غذا و کارایی آن افزایش می‌یابد. بهبود ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های آزمایشی حاوی ارگوسان نیز می‌تواند بیانگر این موضوع باشد.

شاخص‌های مربوط به خون مانند گلبول‌های قرمز و لوکوسیت‌ها از جمله لنفوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند که نوسان در تعداد آنها می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب در ارتباط با پاسخ ماهیان به عوامل استرس مطرح باشد (استوسکویف، ۱۹۹۳). در پاسخ به استرس‌های موجود در محیط آبی، کاهش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند بیانگر سرکوب ایمنی موجود و افزایش میزان آنها نشان‌دهنده پاسخ به استرس یا عفونت باشد (آدامز، ۲۰۰۲). بنابراین، از جمله ارزیابی‌هایی که باید پس از کاربرد محرک‌های ایمنی انجام داد بررسی لیزوزیم در سرم خون، شمارش تعداد کل

فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) تحت تأثیر قرار دهد. بررسی‌های بیشتری در ارتباط با مکانیسم‌هایی که ارگوسان از طریق آنها می‌تواند باعث افزایش مقاومت در مقابل بیماری‌ها در تاس ماهیان شود مورد نیاز است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کارکنان مرکز تحقیقات آبی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و همچنین مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی سپاسگزاری می‌نمائیم.

بیگانه‌خواری نقش دارند. تعداد این دسته از گلبول‌های سفید (مونوسیت‌ها) تحت تأثیر میزان ارگوسان قرار نگرفت. بنابراین محرک‌های ایمنی با تأثیری که می‌توانند بر روی سیستم ایمنی بدن ایجاد کنند باعث مقاومت بیشتر آبی‌زیان شده و تحت شرایط نامناسب محیطی که ممکن است با استرس‌های خاصی همچون تنش‌های شیمیایی، فیزیکی و عفونی همراه باشد مؤثر واقع شده و در نهایت افزایش بازده تولید را در پی داشته باشند.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که کاربرد ارگوسان به‌عنوان یک محرک سیستم ایمنی می‌تواند کارایی رشد و برخی از شاخص‌های خونی را در

منابع

1. Adams, S.M. 2002. Biological indicators of aquatic ecosystem stress: Bethesda, MD, American Fisheries Society.
2. Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13: 265-272.
3. Bagni, M., Romano, N., Finioia, M.G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P.G., Sarti, M., and Marino, G. 2005. Short-and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Fish & Shellfish Immunology*, 18: 311-325.
4. Bahmani, M. 1998. Phylogenic and systematic study on sturgeon. Presented in: Association of the universities of the Caspian region states. Astrakhan, Russia.
5. Collier, H.B. 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50: 550-552.
6. Cruz-Suarez, E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., and Guajardo-Barbosa, C. 2000. Uso de harina de Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. In: Cruz-Suarez, E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A.Y.R., and Civera Cerecedo, R., (Eds.), *Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 19-22 Noviembre, 2000 Mérida, Yucatan, Pp: 227-266.
7. De Silva, S.S., and Anderson, T.A. 1995. In: *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Hall, Press London, 319p.
8. Efthimiou, S. 1996. Dietary intake of β -1, 3/1, 6 glucans in juvenile dentex (*Dentex dentex*), sparidae: effects on growth performance, mortalities and non-specific defense mechanisms, *Journal of Applied Ichthyology*, 12: 1-7.
9. Fujiki, K., and Yano, T. 1997. Effects of sodium alginate on the non-specific defence system of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish & Shellfish Immunol.*, 7: 417-427.
10. Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., and Brosious, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56: 35-39.
11. Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Rund, M., and Hemre, G.I. 2005. Nutrition utilization in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture Nutrition*, 11: 301-313.
12. Kawada, A., Hiura, N., Tajima, S., and Takahara, H. 1999. Alginate oligosaccharides stimulate VEGF-mediated growth and migration of migration of human endothelial cells. *Archive Dermatological Research*, 291: 542-547.
13. Kimura, Y., Watanabe, K., and Okuda, H. 1996. Effects of soluble sodium alginate on cholesterol excretion and glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 54: 47-54.

14. Klontz, G.W. 1994. Fish hematology. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaattari, S.L., and Smith, S.A. (Eds.), Techniques in Fish Immunology, SOS Press, Pp: 121-132.
15. Lewis, J.G., Stanley, N.F., and Guist, G.G. 1990. Commercial production and applications of algal hydrocolloids. In: Lembi, C.A., and Waaland, J.R. (Eds.), Algae and Human Affairs. Cambridge University Press, Cambridge, Pp: 205-235.
16. Martins, M.L., Tavares-Dias, M., Fujimoto, R.Y., Onaka, E.M., and Nomura, D.T. 2004. Haematological alterations of *Leporinus macrocephalus* (Osteichthyes: Anostomidae) naturally infected by *Goezia leporini* (Nematoda: Anisakidae) in fish pond. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 56: 640-646.
17. Miles, D.C., Polchana, J., Lilley, J.H., Kanchanakhan, S., Thompson, K.D., and Adams, A. 2001. Immunostimulation of striped snakehead *Channa striata* against epizootic ulcerative syndrome. *Aquaculture*, 195: 1-15.
18. Montero-Rocha, A., McIntosh, D., Sanchez-Merino, R., and Flores, I. 2006. Immunostimulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following dietary administration of Ergosan. *Journal of Invertebrate Pathology*, 91: 188-194.
19. Nüssler, A.K., and Thompson, A.W. 1992. Immunomodulatory agents in the laboratory and clinic. *Journal of Parasitology*, 105: 5-23.
20. Peddie, S., Davidson, G., Eccersall, S., and Wardle, R. 2005. The effects of Aquavac Ergosan on growth and survival in juvenile Chinook salmon. *Aquaculture Health International*, 3: 23-24.
21. Pourali, H.R., Mohseni, M., Bahmani, M., Sadeghi Rad, M., Ashbury, A., and Hossennia, A. 2006. Comparison of beluga (*Huso huso*) growth rate in brackish and fresh water. *Iranian Fisheries Organization*, Tehran, Iran, (In Persian).
22. Raa, J., Roestad, G., Engstad, R.E., and Robertsen, B. 1992. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organism to microbial infections In: Shariff, I.M., Subasinghe, R.P., and Arthur, J.R. Editors, Diseases in Asian aquaculture, Health Fish Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, Pp: 39-50.
23. Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants, *Aquaculture*, 172: 63-92.
24. Siwicki, A.K., Morand, M., Terech-Majevska, E., Niemczuk, W., Kazun, K., and Glabsky, E. 1998. Influence of immunostimulant on the effectiveness of vaccines in fish: *in vitro* and *in vivo* study, *Journal of Applied Ichthyology*, 14: 225-227.
25. Stoskopf, M.A. 1993. Fish medicine. Saunders Company, U.S.A, 882p.
26. Tajima, S., Inoue, H., Kawada, A., Ishibashi, A., Takahara, H., and Hiura, N. 1999. Alginate oligosaccharides modulate cell morphology, cell proliferation and collagen expression in human skin fibroblasts in vitro. *Journal of Archive Dermatological Research*, 291: 432-436.
27. Wintrobe, M.M. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Journal of Folia Hematological*, 51: 32-49.

Effects of AquaVac Ergosan on growth performance, survival And haematological factors in beluga (*Huso huso*) juvenile

E. Ahmadifar¹, *M.A. Jalali², M. Sudagar³, Gh. Azari takami⁴
and A. Mohammadi Zaraj Abad²

¹Former M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Branch of Bandar Abbas,

²Former M.Sc. Student, Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

³Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

⁴Professor, Dept. of Aquatic Health and Disease, University of Tehran

Abstract

A 60-day feeding trial was conducted to examine the effect of dietary Ergosan on growth performance, survival and blood cells changes in beluga, *Huso huso* juvenile. Ergosan as algal product containing 1% alginic acid supplemented at 0, 2, 4 and 6 g/kg diet (diets A, B, C and D, respectively). Each diet was fed to triplicate groups of Beluga with the initial body weight of 41.7±1.8 g at 10 days intervals (1-10th, 20-30th and 40-50th with non-supplemented diets and 10-20th, 30-40th and 50-60th with supplemented diets). Control group fed with non-supplemented diet during the experiment. Fish fed with respective diets based on 5% body weight. Water temperature was 24.3±2.3 °C. Photoperiod was adjusted at 13 Light /11 dark. Growth indices in the fish fed with supplemented diets were significantly higher than the control group (P<0.05). Feed conversion ratio (FCR) in the fish fed diets B, C and D were significantly better than the control group (P<0.05), while PER was not different among groups. Survival was not different among all the treatments (P>0.05). Also, use of Ergosan resulted in significance differences in lymphocyte percentage, while there were no statistically significant differences in hematocrit, monocyte and myelocyte percentages, hemoglobin concentration, number of erythrocytes, total leukocytes, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration. Neutrophils and eosinophils percentage in the control group was higher than the fish fed with supplemented diet (P<0.05). These results indicated that dietary Ergosan affect some growth and haematological parameters in great sturgeon, *Huso huso* juvenile.

Keywords: Growth performance; Haematology; Humoral immune system; Alginic acid; Ergosan; *Huso huso*

*- Corresponding Author; Email: jalalifc@gmail.com