فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۹، جلد ۱۰، شماره ۴، پائیز۹۶، صفحه ۱ تا ۱۱

تأثیر سطوح مختلف سولفات روی ($ZnSO_4$) در جیره غذایی بر هماتوکریت و فراسنجه‌های خونی ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

عبدالرضا جهانبخشی[۱]، علی شعبانی[۲]، شهاب قاضی[۳]، حامد کلنگی میاندره[۲]

۱- دانشجوی دکتری، گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان. ایران.
jahanbakhshi@gau.ac.ir
۲- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان. ایران.
۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه. ایران.

تاریخ دریافت:۹۶/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱

چکیده

زمینه و هدف: در میان اجزای جیره غذایی توجه به مواد معدنی از مهم‌ترین موضوعات تغذیه ماهی به حساب می‌آیند زیرا با وجود این که در جیره غذایی به میزان کم لحاظ می‌گردند ولی بر فیزیولوژی و متابولیسم عمومی بدن بسیار موثرند. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر سطوح مختلف سولفات روی($ZnSO_4$) بر میزان هماتوکریت و فراسنجه‌های خونی ماهی قرمز(*Carassius auratus*) جهت ارزیابی اثرات این ماده معدنی بر سلامت ماهی می‌باشد.

روش کار: غذاهای آزمایشی با چهار سطح(چهار تیمار و هر تیمار شامل سه تکرار) ۰، ۲۵، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شدند. ماهیان با میانگین وزنی ۰/۱۰± ۳/۳ گرم و میانگین طول۰/۲ ± ۳/۵ سانتی‌متر در تانک‌های ۴۰۰ لیتری که دما ۱±۲۸، pH ۰/۵±۷/۵ و سختی آب ۱/۲ ± ۲۸۶ بود، نگهداری و به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند و در پایان دوره میزان هماتوکریت و فراسنجه‌های خون‌شناسی اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تحلیل پارامترهای خون‌شناسی ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف سولفات روی نشان داد که میزان گلبول‌های سفید خون(WBC)، میانگین حجم گلبول(MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول(MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول(MCHC) در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با یک دیگر نشان ندادند(P>۰/۰۵). اما در تعداد گلبول‌های قرمز(RBC)، هماتوکریت (Ht) و هموگلوبین(Hb) اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت(P<۰/۰۵). تعداد گلبول‌های قرمز خون، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای حاوی سولفات روی(تیمارهای ۲، ۳ و ٤) از مقادیر بالاتری برخوردار بود و بالاترین این مقدار در تیمار ٤(۱۵۰ میلی‌گرم سولفات روی بر کیلوگرم) مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و با تیمارهای ۲ و ۳ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که سولفات روی در جیره غذایی باعث تحریک سیستم فیزیولوژیک ماهی قرمز می‌شود و می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت و بهبود شاخص‌های خونی این ماهی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: جیره غذایی، سولفات روی، ماهی قرمز، خون‌شناسی.

مقدمه

امروزه پیشرفت در صنایع آبزی‌پروری وابسته به جیره غذایی مناسبی است که بتواند کل نیازهای گونه-پرورشی را تأمین کند(۲۵). اخیراً علاوه بر کمیت تولید آبزیان، سلامت و کیفیت محصول بیش از گذشته مورد توجه قرار گرفته و نقش اجزای جیره در این راستا بر کسی پوشیده نیست(۳۴). تامین نیازهای تغذیه ای ماهیان یکی از ارکان مهم در موفقیت‌آمیز بودن روند پرورش و نگهداری ماهیان می باشد. بسیاری از جیره‌های غذایی مصنوعی مورد استفاده در آبزیان به علت مشکلاتی که در کیفیت اولیه مواد خام و یا تاثیرات مضر مراحل فرآوری غذا بر روی ترکیبات آن

www.SID.ir

می‌گذارد تأمین‌کننده نیازهای تغذیه ای ماهیان نمی-باشد لذا استفاده از مکمل های غذایی در بسیاری موارد امری اجتناب ناپذیر است(۳). موفقیت در تمامی سیستم‌های پرورش ماهی نیازمند تغذیه مطلوب به منظور رشد مناسب، حفظ سلامت و افزایش مقاومت در برابر عوامل نامناسب محیطی نظیر انواع استرس‌ها و بیماری‌ها می‌باشد. به طوری‌که وجود مکمل‌های ویتامینی و معدنی برای بهبود رشد و سلامت بیشتر ماهیان به جیره‌های غذایی اضافه می‌گردند. نقش‌های مختلفی در رابطه با ترکیبات غذایی بیان شده است که از آن جمله می‌توان به سوخت‌وساز بهتر غذا، افزایش سختی و مقاومت استخوان‌ها، تبادلات یونی و تعادل بهتر اسمزی اشاره نمود(۴). در میان اجزای جیره توجه به مواد معدنی از مهم‌ترین موضوعات تغذیه ماهی به حساب می‌آیند زیرا با وجود این که در جیره به میزان کم لحاظ می‌گردند ولی بر فیزیولوژی و متابولیسم عمومی بدن بسیار مؤثرند(۵). بیشتر جانوران نمی‌توانند عناصر معدنی را در بدن خود سنتز نمایند و احتیاجات غذایی خود را از طریق خوراک بدست می آورند بنابراین کمبود مواد معدنی در جیره غذایی می تواند مشکلات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک را سبب شود هرچند باید توجه داشت که افزودن بیش از اندازه مواد معدنی به جیره های غذایی موجب مسمومیت‌های غذایی و حتی باعث ایجاد مرگ و میر در ماهیان می-گردد(۳۳). ماهی و سایر موجودات آبزی مواد معدنی از جمله فلزات را از طریق زنجیره‌های غذایی و آب در بدن خود ذخیره می‌کنند. غلظت این فلزات در بدن ماهی به فاکتورهای زیادی مانند منبع غذایی، عوامل فصلی و شرایط محیطی بستگی دارد. روی(Zn) یکی از عناصر مورد نیاز آبزیان است که در بسیاری از سیستم-های آنزیمی موثر بر متابولیسم غذایی به عنوان کوفاکتور عمل می‌کند. هم چنین این عنصر در بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی از جمله در حفظ پوست، چشم و استخوان‌ها دخالت دارد(۱۸). عنصر روی(Zinc)یکی از عناصر ضروری بدن و از نوع ریزمغذی‌ها می‌باشد که در صورت کمبود عوارض خطرناک و جبران ناپذیری را در بدن ایجاد می‌کند. این عنصر به علت نقش حیاتی در ترکیبات ساختاری پروتئین‌ها، فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، بیان ژن(رونویسی ژن و سنتز RNA)، سیستم ایمنی و نیز کوفاکتور آنزیم‌های کاتالیتی، مهم‌ترین عنصر کمیاب مورد نیاز بدن است(۱۲). روی در اشکال مختلف وجود دارد که از مهم‌ترین آن‌ها سولفات‌روی و اکسیدروی می‌باشد که به صورت معدنی وجود دارند که قدرت جذب و دسترسی زیستی سولفات‌روی نسبت به دیگر اشکال آن بیشتر است، روی موجود در جیره غذایی دارای عملکردهای متفاوتی می‌باشد که بسیاری از مطالعات انجام شده تا به امروز با توجه به خواص درمان بیماری‌ها و ارتقاء رشد بر روی حیوانات مختلف از جمله خوک(۱۰) و جوجه‌های گوشتی(۲۲) صورت گرفته است اما مطالعات چندانی در این زمینه بر ماهیان انجام نشده است. امروزه برای تعیین میزان کارکرد سیستم فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بدن موجودات زنده از خون آن ها استفاده می کنند زیرا خون شاخص مهمی برای بیان وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن می‌باشد، هم چنین در تشخیص سلامت یا بیماری و کنترل روند زیستی موجودات زنده از جمله ماهی بسیار مفید است، استفاده از روش‌های خون‌شناسی همانند بررسی گلبول های قرمز خون، گلبول های سفید خون، هموگلوبین، هماتوکریت، شاخص های میانگین حجم سلولی، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی می تواند اطلاعات بسیار جامع را در اختیار محققین در بررسی روند سلامتی ماهیان و پایش پاسخ های

Archive of SID

www.SID.ir

استرسی قرار دهد، از این رو، نتایج بدست آمده از آزمایشات خونی می‌تواند نشان دهنده سطح سلامت ماهی تغذیه شده با گروه های آزمایشی باشد(۱۳). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که مواد معدنی از جمله مس، کبالت، منگنز، روی و غیره می-توانند از راه‌های مختلف همانند وجودشان در محیط زیست و جیره غذایی بر فاکتورهای خونی حیوانات مختلف اثر گذار باشند در همین راستا در مطالعه ای به بررسی اثرات مزمن نانو اکسید روی بر شاخص های خونی ماهی کپور معمولی پرداخته شد که نتایج آن نشان داد وجود نانو اکسید روی در محیط زیست ماهی کپور معمولی می‌تواند فاکتورهای خونی این ماهی را تحت تاثیر قرار دهد(۶). خبازی و همکاران(۱۳۹۴) در مطالعه ی دیگری اثرات مزمن سولفات مس را بر فاکتورهای خونی ماهی قزل آلا مورد مطالعه قرار دادند و نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سولفات مس بر فاکتورهای خونی ماهی قزل‌آلا موثر است و اعلام نمودند که فاکتورهای خونی این آبزی می تواند بیومارکر مناسبی جهت بررسی اثر سولفات مس بر جاندار باشد(۲). از سوی دیگر Jeffry و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثرات روی در جیره غذایی را بر یک گونه از اردک وحشی مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده از روی در جیره غذایی می تواند باعث تغییراتی در فاکتورهایی هم چون گلبول های قرمز، هماتوکریت و لوکوسیت ها شود(۱۵)، در مطالعه ای مشابه اثر جیره‌های مکمل شده با اکسید روی در خوک‌های جوان مورد بررسی قرار گرفت و آن نتایج نشان داد که جیره‌های غذایی حاوی اکسید روی باعث افزایش میزان غلظت گرلین پلاسمای خون و افزایش میزان بیان ژن گرلین در خوک‌های جوان گردیده است(۱۶). Rahfiludin and Praba در سال ۲۰۰۳ به بررسی اثرات روی بر میزان هماتوکریت و هموگلوبین بیماران مبتلا به مالاریا پرداختند، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که غذاهای حاوی روی باعث افزایش میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون در بدن بیماران می شود(۲۸). در مطالعه ای دیگر اثر غلظت‌های بالای اکسید روی در جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی گاوهای هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت که وجود دوزهای بالای اکسید روی در جیره غذایی گاوهای هلشتایین نشان‌دهنده اثر منفی آن بر پارامترهای خون‌شناسی این نمی باشد(۳۰). Leite و همکاران در سال ۲۰۱۶ اعلام کردند که جیره های غذایی بالانس شده می‌تواند بر بیان ژن های مرتبط با متابولیسم روی و هم چنین میزان گلوکز خون بدن در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو موثر باشند(۲۱). در مطالعه ای Azizzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثرات روی خوراکی را در جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی گاوهای جوان مورد بررسی قرار دادند ونتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تاثیر منفی بر پارامترهای خونی گاوهای جوان ندارد(۷). Sarker and Satoh درسال ۲۰۰۹ اثر جیره-های حاوی سطوح مختلف روی و فسفر را بر میزان هماتوکریت، محتویات معدنی پلاسما و فعالیت آلکالین فسفاتاز پلاسما را در ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان بررسی نمودند و گزارش کردند که جیره‌های حاوی سطوح روی باعث افزایش میزان هماتوکریت، فعالیت آلکالین فسفاتاز و محتویات روی پلاسما در ماهیان انگشت قد قزل آلای رنگین کمان می‌گردد(۳۰). ماهی قرمز(*Carassius auratus*) از خانواده کپورماهیان به لحاظ زیستی و تغذیه ای بسیار شبیه به کپور معمولی است و گونه بسیار مناسبی جهت مطالعات تولیدمثلی، آندوکرینولوژی، ایمنی‌شناسی، سم‌شناسی سلولی و مولکولی می‌باشد، زیرا از اندازه مناسبی جهت تحقیقات آزمایشگاهی برخوردار بوده و

Archive of SID

www.SID.ir

در محیط‌های آزمایشگاهی به راحتی قادر به زیست، بلوغ و تولیدمثل است. در واقع از این گونه به عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده شود بنابراین در مطالعه حاضر به بررسی اثرات ماده معدنی سولفات روی در جیره غذایی با سطوح مختلف بر سیستم فیزیولوژیک ماهی قرمز بررسی گردید.

مواد و روش ها

شرایط آزمایشگاهی و تهیه ماهی

برای انجام این تحقیق، از یک مرکز تکثیر و پرورش ماهی قرمز در استان گلستان، ۴۰۰ عدد ماهی قرمز با میانگین وزنی ۰/۱۰± ۳/۳ گرم و میانگین طولی ۰/۲ ± ۳/۵ سانتی‌متر تهیه و به مرکز تحقیقات آبزی-پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال یافت. ماهیان در حوضچه-های ۴۰۰ لیتری نگهداری و پس از انتقال، ماهیان جهت گذراندن دوره آداپتاسیون به مدت دو هفته در حوضچه‌های جداگانه نگهداری شدند. در دوره آداپتاسیون و در طول انجام آزمایش پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب(دما ۱±۲۸ سانتی گراد، pH ۰/۵±۷/۵ و سختی آب ۱/۲ ± ۲۸۶ میلی گرم بر لیتر کربنات‌کلسیم) اندازه‌گیری گردید. از آب شهری کلرزدایی شده با استفاده از هوادهی و تیوسولفات‌سدیم برای انجام آزمایش استفاده شد. در ابتدا ماهیان به مدت یک هفته با جیره‌های پایه به منظور سازگاری، تغذیه و پس از گذشت یک هفته جیره‌های آزمایشی جایگزین غذای پایه گردیدند.

ساخت جیره غذایی

جیره‌های آزمایشی بر اساس نیازهای غذایی ماهی قرمز و به‌صورت جیره خالص تهیه‌گردید. جیره خالص شامل کازئین، دکسترین، ژلاتین، سلولز، روغن، کربوکسی متیل سلولز، مکمل معدنی فاقد روی و مکمل ویتامینی می باشد.

جدول ۱- فرمولاسیون و ترکیب تقریبی اجزا جیره آزمایشی

تیمارهای آزمایشی	تیمار ۱	تیمار۲	تیمار ۳	تیمار ٤
	۰ mg/kgZn	۲۵ mg/kgZn	۷۵ mg/kgZn	۱۵۰ mg/kgZn
اجزای جیره(٪)				
کازئین	۳۲	۳۲	۳۲	۳۲
ژلاتین	۸	۸	۸	۸
دکسترین	۲۸	۲۸	۲۸	۲۸
سلولز	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹
روغن	۶	۶	۶	۶
کربوکسی متیل سلولز	۲	۲	۲	۲
[1]مکمل معدنی	۴	۴	۴	۴
[2]مکمل ویتامینه	۱	۱	۱	۱

۱. مکمل معدنی بدون سولفات روی(٪): سولفات آلومینیوم و پتاسیم ۰/۱۵، کلسیم دی‌هیدروژن فسفاته ۴۴/۶، کربنات کلسیم ۱۸/۱، سولفات منیزیوم ۵/۲، کلرید کبالت ۰/۰۷، کلرید پتاسیم ۱۶/۵، سیترات آهن ۱/۳، سولفات منگنز ۰/۰۷، مونوسدیم فسفات ۱۳/۶و سولفات مس ۰/۰۷.

۲. مکمل ویتامینه: تیامین هیدروکلراید، ۱۰ میلی گرم‌برکیلوگرم. ریبوفلاوین، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. کلسیم پنتوتنات،۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم. نیکوتینیک اسید،۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم. پیرودوکسین هیدروکلراید،۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. کلکلسیفرول، ۱۵۰۰ واحدبین المللی، بیوتین، ۱ میلی گرم بر کیلوگرم. ویتامین B_{12}، ۰/۰۲ میلی گرم بر کیلوگرم. ویتامین A، ۳۰۰۰ واحدبین المللی، ویتامین E، ۵۰ واحد بین المللی و ویتامین C، ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم.

Archive of SID

www.SID.ir

ساخت جیره‌های غذایی: بعد از تهیه مواد اولیه، برای هر یک از تیمارها غلظت‌های مختلف سولفات-روی را تنظیم و با ترازوی دیجیتالی توزین شدند. بعد از توزین مواد اولیه خشک و افزودن مقادیر مختلف سولفات روی به جیره‌های آزمایشی، با استفاده از مخلوط‌کن این مواد با نسبت‌های مورد نظر با هم ترکیب شده و با مقداری آب مخلوط شدند تا حالت خمیری به خود گرفت، خمیر حاصل توسط چرخ گوشت به‌صورت گرانول و بر اساس سایز مناسب دهان ماهی(۳ میلی‌متر) تولید و به‌منظور خشک‌کردن به مدت ۱۲ ساعت در داخل دستگاه خشک‌کن در دمای ۴۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. از هر رژیم غذایی مقداری برای سنجش میزان روی نمونه‌برداری کرده و بدین ترتیب غلظت روی را در رژیم‌های غذایی محاسبه گردید. سنجش میزان روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل یونیکم(Unicam) انجام شد. گرانول-های حاصل شده بعد از بسته‌بندی در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان مصرف در داخل ظروف پلاستیکی درب‌دار نگهداری گردیدند. در ابتدای دوره پرورش و در طول دوره پرورش هر ۱۵ روز ماهیان زیست‌سنجی صورت پذیرفت. برای انجام این کار تمام ماهیان موجود در حوضچه توزین و طول کل آن‌ها نیز محاسبه شد. براساس نتایج حاصل از زیست‌سنجی ماهیان هر یک از حوضچه‌های پرورشی غذای روزانه هر حوضچه محاسبه و پس از توزین برای هر یک از تیمارها(مجموع ۳ تکرار) در پلاستیک‌های ضخیم ریخته و در فواصل زمانی منظم(ساعت ۹ و ۱۷) به ماهیان داده می‌شد.

نحوه خون‌گیری و انجام آزمایشات خونی

جهت نمونه‌برداری ابتدا بچه ماهیان با استفاده از پودر گل میخک بی‌هوش شدند، نمونه‌برداری خون با قطع ساقه دمی انجام گردید. برای تست خون‌شناسی، نمونه‌های خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین قرار گرفتند.

شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شامل: تعداد کل گلبول‌های سفید(لوکوسیت)، تعداد کل گلبول‌های قرمز(اریتروسیت)، میزان هموگلوبین و سطح هماتوکریت بود. شمارش گلبول‌های سفید وگلبول‌های قرمز به روش هموسیتومتری انجام گرفت. مقدار هماتوکریت و غلظت هموگلوبین نیز به روش میکروهماتوکریت و سیانومت هموگلوبین سنجش شد. سایر اندیس‌های مربوط به فاکتورهای خونی از طریق روابط زیر محاسبه گردیدند:

MCV= ۱۰× هماتوکریت / گلبول قرمز

MCH= ۱۰× هموگلوبین / گلبول قرمز

MCHC= ۱۰× هموگلوبین / هماتوکریت

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه تمام متغیرها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار محاسبه و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت و نمودارها در نرم‌افزار Excel رسم شدند. اختلاف بین تیمارها با استفاده آنالیز واریانس یک‌طرفه(ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ ٪، بر اساس آزمون دانکن بدست آمد.

نتایج

تأثیر سطوح مختلف سولفات روی بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی قرمز در جدول ۲ آمده است. آنالیز پارامترهای خون‌شناسی ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف سولفات روی نشان می‌دهد که گلبول‌های سفید خون، میانگین حجم گلبول، میانگین هموگلوبین، در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با یک دیگر نشان ندادند($P \geq ۰/۰۵$). گلبول‌های سفید خون، هموگلوبین گلبول و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول ماهیان

Archive of SID

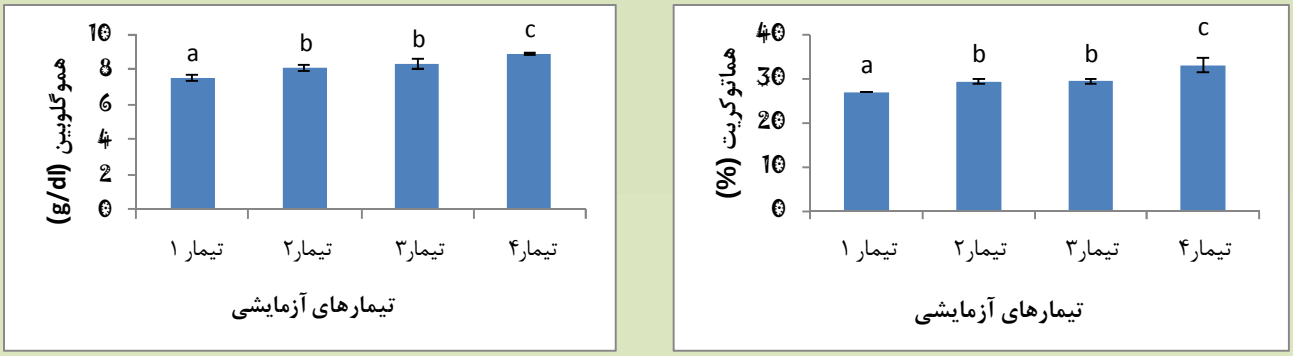
www.SID.ir

تغذیه شده با جیره ۲ دارای مقادیر بالاتری نسبت به سایر تیمارها بودند هر چند اختلاف معنی‌داری با یک دیگر نشان ندادند($P\geq ۰/۰۵$). اما در تعداد گلبول‌های قرمز اختلاف معناداری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت($P<۰/۰۵$). تعداد گلبول‌های قرمز خون در جیره‌های حاوی سولفات روی(تیمارهای ۲، ۳ و ۴) از مقادیر بالاتر برخوردار بود و بالاترین این مقدار در تیمار ۴ مشاهده شد که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و با تیمارهای ۲ و ۳ بود. تأثیر سطوح مختلف سولفات روی بر میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون ماهی قرمز در نمودار ۱ آمده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد($P>۰/۰۵$). میزان هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار حاوی بالاترین مقدار سولفات روی(تیمار ۴) دارای بالاترین مقدار بود و دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود هرچند تیمار ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌داری با یک دیگر نبودند($P>۰/۰۵$)، اما با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند.

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف سولفات روی بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی قرمز(میانگین ± انحراف معیار)

تیمارهای آزمایشی / فراسنجه ها	تیمار ۱ ۰ mg/kgZn	تیمار۲ ۲۵ mg/kgZn	تیمار ۳ ۷۵ mg/kgZn	تیمار ٤ ۱۵۰ mg/kgZn
RBC(10^{-3}cells/mL)	۱/۶۶± ۰/۱۱^{a}	۱/۸۶± ۰/۰۵^{b}	۱/۸۶± ۰/۰۵^{b}	۲/۱۶± ۰/۰۵^{c}
WBC (10^{-6}cells/mL)	۳/۷۳± ۰/۰۵^{a}	۳/۸۳± ۰ /۰۵^{a}	۳/۸۰± ۰/۱۰^{a}	۳/۸۰± ۰/۱۰^{a}
MCV (%)	۱۶۲/۸± ۱۰/۸۳ ^{a}	۱۵۸/۴± ۴/۴۱ ^{a}	۱۵۷/۸± ۴/۳۴ ^{a}	۱۵۳/۳± ۱۱/۹ ^{a}
MCH(pg)	۴۴/۳۵± ۳/۳۴ ^{a}	۴۴/۴۸± ۱/۲۱ ^{a}	۴۳/۲۱± ۰/۵۳ ^{a}	۴۰/۷۹± ۱/۳۷ ^{a}
MCHC(gdl^{-1})	۲۷/۷۱± ۰/۷۴ ^{a}	۲۸/۰۶± ۰/۰۱ ^{a}	۲۷/۳۸± ۰/۹۶ ^{a}	۲۶/۶۶± ۱/۱۳ ^{a}

گلبول‌های قرمز خون، RBC (Red Blood Cell) گلبول‌های سفید خون، WBC (White Blood Cell) میانگین حجم گلبول(Mean Corpuscular Volume)، میانگین هموگلوبین گلبول(Mean Corpuscular Hemoglobin) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول(Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)



نمودار ۱- تأثیر سطوح مختلف سولفات روی بر میانگین± انحراف معیار هماتوکریت و هموگلوبین خون ماهی قرمز

تفاوت حروف بالای میله‌ها نشان‌دهنده معنی‌داری اختلاف بین جیره‌های مختلف حاوی سولفات روی می‌باشد.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه پارامترهای خونی و تعیین مقادیر طبیعی آن-ها در شرایط و حالت مختلف محیطی و فیزیولوژیک به‌عنوان معیاری برای مقایسه با شرایط آزمایشی بکار می‌رود. بکار بردن تکنیک‌های خون‌شناسی شامل ارزیابی گلبول‌های قرمز خون، گلبول‌های سفید خون،

www.SID.ir

غلظت هموگلوبین، هماتوکریت، شاخص‌های میانگین حجم سلولی، میانگین هموگلوبین سلولی و میانگین غلظت هموگلوبین سلولی اطلاعات با ارزشی را در اختیار محققین شیلاتی و زیست‌شناسان در ارزیابی سلامتی ماهیان و نظارت بر پاسخ‌های استرسی می-گذارد(۱۳). بنابراین، نتایج حاصل از آزمایشات خونی می‌تواند بیانگر سطح سلامت ماهی تغذیه شده با تیمارهای آزمایشی باشد. در این مطالعه، اثر سطوح مختلف سولفات روی($ZnSO_4$) بر میزان هماتوکریت و فراسنجه‌های خونی ماهی قرمز(*Carassius auratus*) جهت ارزیابی اثرات این ماده معدنی بر سلامت ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد سطوح مختلف سولفات روی می‌تواند بر فراسنجه‌های خونی ماهی قرمز اثرگذار باشد. در پایان آزمایش بررسی داده‌ها نشان داد که ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف سولفات روی در فاکتورهای گلبول‌های سفید خون، میانگین حجم گلبول، میانگین هموگلوبین گلبول و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول در تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با یک دیگر ندارند($P>۰/۰۵$). مطالعات مختلفی در رابطه با اثرات روی در جیره غذایی بر حیوانات مختلف وجود دارد که در برخی از این مطالعات روی در جیره غذایی بر فاکتورهای خونی مؤثر و در برخی دیگر بدون اثر بوده‌اند علاوه بر این گزارش‌ها مختلف نشان می‌دهد که منابع مختلف روی نقش مهمی در توسعه اریتروسیت‌های گونه‌های مختلف ماهیان دارد(۲۸). در همین راستا Bente and Hemer در سال ۲۰۰۳ اثرات جیره‌های حاوی روی را در ماهی آزاد سالمون(*Salmo salar*) مورد بررسی قرار دادند، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که جیره‌های حاوی سطوح مختلف سولفات روی بر میزان هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، میانگین حجم گلبول، میانگین هموگلوبین گلبول و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول تاثیر معنی‌داری ندارد($P>۰/۰۵$) . هم چنین در مطالعه دیگر Li و همکاران در سال ۲۰۱۵ تاثیر سطوح مختلف روی را بر فاکتورهای خون‌شناسی ماهی هیبرید تیلاپیا مورد بررسی قرار دادند که نتایج این مطالعه نیز نشان داد که جیره‌های حاوی سطوح مختلف سولفات روی بر فاکتورهای خون‌شناسی ماهی هیبرید تیلاپیا تأثیر معنی‌داری ندارد($P >۰/۰۵$)، نتایج به دست آمده از دو تحقیق ذکر شده در گلبول‌های سفید خون، میانگین حجم گلبول، میانگین هموگلوبین گلبول و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول با نتایج حاصل از تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد(۲۲). در انسان ۷۵ تا ۸۰ درصد از روی، داخل گلبول‌های قرمز می-باشد(۳۲)، در گلبول‌های قرمز، روی دست‌آورد آنزیم-های آن‌هیدراز کربنیک و سوپراکسید دیسموتاز می-باشد(۱۴)، به خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها برای نگهداری صحیح غشای گلبول‌های قرمز، محافظت سولفیدریل‌ها از گروه های دارای غشای چربی از فعالیت رادیکال‌های آزاد به خصوص سوپر اکسید، حضور روی بسیار ضروری است(۲۶). به‌عنوان مثال در موش‌های آزمایشی با کاهش میزان روی در جیره غذایی میزان اریتروسیت‌ها کاهش یافته است(۱۷). Tavares-Dias and Faustino ۱۹۹۸ میزان پایین‌تر اریتروسیت ها را در ماهیان تیلاپیای نیل *(Oreochromis niloticus)* تغذیه شده با جیره‌های بدون روی را تایید کردند این محققان اعلام کردند که میزان گلبول‌های قرمز خون در ماهیان تغذیه شده در تانک‌های بارور شده با غذای طبیعی بسیار بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره‌های فاقد روی بوده است(۳۲، ۲۴). به نظر می‌رسد آنزیم وابسته به روی سوپر اکسید دیسموتاز در زمان کمبود روی قادر به جلوگیری از پروکسیداسیون غشا گلبول‌های قرمز در روند خون-

Archive of SID

www.SID.ir

سازی نبوده است، هم چنین کمبود روی در جیره غذایی موجب شکنندگی بالای اریتروسیت‌ها در حیوانات تغذیه شده با این جیره‌ها و در نهایت موجب بروز کم خونی در آن‌ها می گردد(۲۳).-Tavares Dias and Faustino ۱۹۹۸ و Marcelo ۲۰۰۴ هم چنین میزان پایین‌تر هماتوکریت و هموگلوبین را در ماهیان نیل تیلاپیای(*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با کمبود روی را اعلام داشتند(۳۲، ۲۴). در مطالعه‌ای دیگر Marcelo و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر سطوح مختلف روی در جیره غذایی ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که جیره‌های حاوی مقادیر بالاتر روی نسبت به گروه شاهد دارای مقادیر بالاتر و اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین و گلبول‌های قرمز خون می-باشند که نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد(۲۴). در مطالعه‌ای دیگر جعفرپور و همکاران در سال ۱۳۹۵ تأثیر نانو ذره روی در جیره غذایی بر شاخص‌های اریتروسیتی بچه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchu mykiss*) را مورد مطالعه قرار دادند که نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها نشان داد که وجود نانو ذره روی در جیره غذایی باعث بهبود فاکتورهای خونی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان می‌شود، نتایج این مطالعه با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد(۱). محاسبه میزان هماتوکریت از طریق نسبت مقدار پلاسما به سلول‌های خونی می‌باشد و از این معیار می‌توان برای تعیین ظرفیت حمل اکسیژن در خون استفاده نمود(۱۹). بنابراین می‌توان بیان داشت که ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی مقادیر بالاتر سولفات روی قابلیت بالاتری در انتقال اکسیژن در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایش داشته اند. Carmo و همکاران ۲۰۰۴ اعلام کردند که جیره‌های حاوی روی باعث افزایش میزان هموگلوبین خون در ماهیان تیلاپیا می‌گردد(۱۱). هم چنین جعفرپور و همکاران در سال ۱۳۹۴ نتایجی مشابه را در ماهیان قزل‌آلای تغذیه شده با جیره‌های حاوی نانوروی را اعلام داشتند که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد(۱). این افزایش میزان هموگلوبین را می‌توان ناشی از سنتز بیشتر اسپکترین که مهم‌ترین پروتئین ساختمانی در اریتروسیت‌ها برای حفظ شکل ظاهری، تقارن لیپید-های غشایی و در نتیجه کارایی گلبول‌های قرمز در انتقال اکسیژن دانست(۸). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان گلبول‌های سفید خون در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی روی افزایش یافته هرچند که دارای اختلاف معنی‌داری با یک دیگر و گروه شاهد نیستند که این افزایش احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش قدرت ایمنی و مبارزه طلبی با عوامل بیماری‌زا در حیوانات تغذیه شده با جیره‌های دارای روی و در نتیجه میزان تولید آنتی بادی و پاسخ‌های ایمنی بهتر باشد(۱۹). با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق صورت گرفته می‌توان بیان داشت که سولفات روی در جیره غذایی باعث تحریک سیستم فیزیولوژیک ماهی قرمز می‌شود و می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت و بهبود سیستم فیزیولوژیک این ماهی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از اساتید محترم و همکاران گرامی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و هم چنین مسئولین محترم مرکز پژوهش‌های آبزی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات لازم قدردانی و تشکر می-گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

۱-جعفرپور، م.، رجبی اسلامی، ه.، سلطانی، م.، پورحسینی، ش. ۱۳۹۴. تاثیر نانوذره روی در جیره غذایی بر شاخص-های اریتروسیتی بچه ماهی قزل آلای رنگین کمان. (*Oncorhynchus mykiss*). فصل‌نامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری. شماره ۲، ص۱۵۹-۱۶۸.

۲-خبازی، م.، هرسیج، م.، هدایتی، س.ع.ا.، گرامی، م.ح.، غفاری فارسانی، ح. ۱۳۹۴. تأثیر غلظت‌های تحت کشنده‌ی فلز مس در پارامترهای هماتولوژیک خون قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*). نشریه علمی پژوهشی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان. دوره ۲، شماره ۱، صفحه ۷۵-۸۸.

۳-سعیدی، م.ع.، سلیمی، ب.، محمودی، ن.، و جلیلی، س. ۱۳۹۲. تاثیر عصاره گیاه آلوئه ورا بر روی فاکتورهای رشد و بازماندگی ماهی اسکار(*Astronatus ocellatus*). فصلنامه علوم و تکثیر آبزی پروری. ۹۲: ۶۶-۵۵.

٤-قبادی، ش.، رجبی اسلامی، ه.، حسینی‌فرد، س م.، پلنگی، ل. ۱۳۹۲. بررسی اثرات سطوح مختلف نانو ذره آهن(Fe) بر فاکتورهای رشد و تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*). فصل‌نامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری. سال اول، شماره۱، ص ۶۷-۸۲.

۵-گیوم، ج.، کاشیک، س.، پرگات، پ.، متیلر، ر. ۲۰۰۹. تغذیه و غذادهی ماهی و سخت پوستان، ترجمه علیزاده، م.، ۱۳۸۸. تهران. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ص ۲۲۹-۲۲۳ و ۲۳۵.

٦-هدایتی،س.ع.ا.، جهانبخشی، ع.، مرادزاده، م. ۱۳۹۴. بررسی سمیت تحت کشنده نانو اکسید روی(ZnO NPs) بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی. سال چهارم، شماره اول، پیاپی سیزدهم، ۲۷-۳۴.

7.Azizzadeh, M., Mohri, M., Seifi, H. A. (2005). Effect of oral zinc supplementation on hematology. serum biochemistry. Performance and health in neonatal dairy calves. Comp Clin Path,14: 67–71.

8.Bennett, V. (1990). Spectrin-based membrane skeleton: a multipotential adaptor between plasma membrane and cytoplasm. Physiol Rev, 70; 1029-1065.

9.Bente,V., Hemre, G. (2003). Dietary carbohydrate, iron and zinc interactions in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 219;597– 611.

10. Bosi, P., Han, I., Jung, H., Heo, K., Perini, S., Castellazzi, A. (2001). Effect of different spray dried plasmas on growth, ileal digestibility, nutrient deposition, immunity and health of early weaned pigs challenged with *E. coli* K88. Asian-Aus Journal Animal Science, 14; 1138–1143.

11. Carmo, M.V., Pezzato, L.E., Lima, M.M.B.F., Padilha, P.M. (2004). Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia Oreochromis niloticus juveniles diets. Aquaculture, 238; 385-401.

12. Chesters, J. K., O'Dell, B. S., Sunde, R. A. 1997. Handbook of nutritionally essential mineral elements. marcel dekker, New York.; 185–230.

13. Diab. A., El-Nagar, G., Abd-El-Hady, Y. (2002). Evaluation of *Nigella sativa* L (black seeds; baraka), *Allium sativum* (garlic) and BIOGEN as feed additives on growth performance and immunostimulants of *O. niloticus* fingerlings. Suez Canal Veterinary Medicine Journal, 2; 745-753.

14. Hambidge, K.M.; Casey, C.E., Krebs, N.F. (1986). Zinc. In trace elements in human and animal nutrition. edited by wmertz. Academic Press, Orlando, USA, 1-137.

15. Jeffrey, M., Levengood, Glen C., Sanderson, William L., Anderson, George L., Foley, Patrick W. Brown., Seets, James W.(2000). Influence of diet on the hematology and serum biochemistry of zinc-intoxicated mallards. Journal of Wildlife Diseases, 36(1); 111–123.

16. Jingdong, Y., Xilong, L., Defa, L., Tao, Y., Qian, F., Jianjun, N. (2009). Dietary supplementation with zinc oxide stimulates ghrelin secretion from the stomachof young pigs . Journal of Nutritional Biochemistry, 20; 783–790.

17. Kraus, A., Roth, H.P., Kirchgessner, M. (1997). Influence of vitamin C, vitamin E and beta-carotene on the osmotic fragility and the primary antioxidant system of erythrocytes in zinc-deficient rats. Arch. Tierernahr, 50; 257–269.

Archive of SID

www.SID.ir

18. Kucukbay, Z., Yazlak, H., Sahin, N., Sahin, K. (2006). Zinc picolinate decreases oxidative stress in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 257(1-4); 465-469.
19. Larsson, A., Haux, C., Sjöbeck, M.L. (1985). Fish physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. Ecotoxicol Environ Saf, 9; 250-281.
20. Leite Lais, L., Lima Vale, S H., Xavier, C A., Silva, A. A. (2016). .Effect of a one-week balanced diet on expression of genes related to zinc metabolism and inflammation in type 2 diabetic patients. Clin Nutr Res, 5(1); 26-32.
21. Li, M. R., Huang C, H. (2015). Effect of dietary zinc level on growth, enzyme activity and body trace elements of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*× *O. aureus*, fed soya bean meal-based diets. Aquaculture Nutrition, 1-8.
22. Liu, Z., Lu, L., Li, S., Zhang, L., Xi, K., Zhang, Y., Luo, X. (2011). Effects of supplemental zinc source and level on growth performance, carcass traits, and meat quality of broilers. Poultry Science, 90(8); 1782-1790.
23. Marcelo, V. S., Luiz, E., Pezzatob, M., Maria, B., Ferreira, L., Pedro de, M. (2004). Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles diets, Aquaculture. 238; 385–401.
24. Mojabi, A. (2000). Veterinary clinical biochemistry. (in farsi), 2th ed. Noorbakhsh Press, Tehran, Iran, 429-432.
25. New, M. B., Wijkstroem, U. N. (2002). Use of fishmeal and fish oil in aquafeeds. Further thoughts on the fishmeal trap FAO Fish Circulation.
26.O'Dell, B.L., Browning, J.D., Reeves, P.G. (1987). Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. J. Nutr, 117; 1883– 1889.
27. Rahfiludin, M Zen., Ginandjar, P. (2013). The effect of zinc and vitamin C supplementation on hemoglobin and hematocrit levels and immune response in patients with Plasmodium vivax malaria. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 44(5);733-9.
28. Sahin, K., Smith, M.O., Onderci, M., Sahin, N., Gursu, M.F., Kucuk, O. (2005). Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat distressed quail. Poult Sci, 84; 882-887.
29. Sarker, M. S., Satoh, S. (2009). Effect of dietary phosphorus and zinc level on hematocrit value, plasma mineral content and plasma alkaline phosphatase activity of fingerling rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Progress Agriculture, 20(1 and 2); 183 – 192.
30. Sobhanirada, S., Naserian, A.A. (2012). Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. Animal Feed Science and Technology, 177(3–4); 242–246.
31. Tavares-Dias, M., Sandrim, E.F.S., Sandrim, A. (1998). Características hematológicas do tambaqui (*Colossoma macropomum*) Cuvier, 1818 (Osteichthyes: Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. I. Serie eritrocitária. Revista Brasileira de Biologia, 58; 197-202.
32. Underwood, E.J. (1962). Trace Elements in Human and Animal Nutrition, 2nd ed. Academic Press, New York.
33. Watanabe, T., Kiron, V, Satoh, S.H. (1997). Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture, 151; 185-207.
33. Yamamoto, T., Unuma, T., Akiyama, T. (2000). The influence of dietary protein and fat levels on tissue free amino acids levels of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 182, 353-372.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of Different Level Zinc Sulfate($ZnSO_4$) in Diet on the Hematocrit and Hematology Parameters in Gold fish(*Carassius auratus*)

A. Jahanbakhshi[1], A. Shabany[2], Sh .Ghazi[3], H .Kolangi Miandareh[2]

1. Ph.D. Student, Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan. Iran. **jahanbakhshi@gau.ac.ir**

2. Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan. Iran.

3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah. Iran.

Received:2017.13. 9 **Accepted: 2017.23.10**

Abstract

Inroduction & Objective: Mineral materials are the most important part of the fish nutrition subjects diet because they represent a very low quantity in the diet but they have a high effect on fish physiology and metabolism. The aim of this study was investigate the effect of different level of zinc sulfate (ZnSo4) on hematocrit and hematology for assess the effects of this mineral matter on goldfish health.

Materials and Methods: Experimental diets prepared with four levels(four treatments and each treatment include three repetitions) 0, 25, 75 and 125 mg/kg. Healthy fish with average weight 3.3 ± 0.10 and average length 3.5 ± 0.2 was maintained in 400 liter tanks with temperature 28 ± 1, pH 7.5 ± 0.5 and hardness 286 ± 1.2 and feed for 60 days and end the trial hematocrit and hematology parameter was measured.

Results: Result of analysis the hematological parameter of fish feed with different levels of zinc showed that white blood cells (WBC), mean corpuscular volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH) and mean cell hemoglobin concentration (MCHC) in our experimental treatments did not show a significant difference ($p \geq 0.05$) but in red blood cells (RBC), hematocrit (Ht) and hemoglobin (Hb) there was significant difference between treatments ($p \leq 0.05$). Red blood cell count, hematocrit and hemoglobin in zinc sulfate treatments (treatments 2, 3 and 4) had higher values and the highest value was in group 4 (150 mg kg zinc sulfate), which there was significant difference between 2 and 3 treatments also had a significant difference with control group.

Conclusion: The results shows that zinc in the diet stimulate the immune system and can have positive effects on the health and hematological factors of goldfish.

Key word: Diet, Zinc, Goldfish, Hematology.

Archive of SID

www.SID.ir