فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان
سال سوم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۴

تاثیر ویتامین نیاسین بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی بچه ماهی استرلیاد پرورشی (*Acipenser ruthenus*)

رعنا حق پرست[۱]، حسین خارا[۲]*، مسعود فرخ روز[۳]

تاریخ دریافت: تیر ۹۴ تاریخ پذیرش: شهریور ۹۴

چکیده

پژوهش حاضر به منظور تعیین اثر مقادیر مختلف ویتامین نیاسین (B_3) بر روی شاخص‌های خون و ایمنی بچه تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) پرورشی انجام گرفت. این پژوهش در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر انجام شد. شش جیره غذایی شامل مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم ویتامین B_3 در هر کیلوگرم غذای خشک، به مدت ۸ هفته برای تغذیه ماهیان استرلیاد در نظر گرفته شد. ۹۰ قطعه ماهی استرلیاد با وزن متوسط ۵۰ گرم به ۱۸ وان فایبرگلاس معرفی شد. ماهیان روزانه به میزان ۵ درصد وزن بدن تغذیه شدند. جهت نمونه‌برداری، ۳ ماهی از هر تیمار انتخاب و از ساقه دمی خون‌گیری انجام شد. بر اساس نتایج به دست آمده بین شاخص‌های خونی گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت و حجم متوسط گلبول قرمز از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). اما در شاخص‌های MCH، MCHC، لمفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). در بین شاخص‌های ایمنی از جمله IgM و لیزوزیم اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). افزودن ۲۰ میلی‌گرم ویتامین نیاسین در هر کیلوگرم غذا اثر مطلوبی روی شاخص‌های خونی از جمله هموگلوبین و هماتوکریت داشت. همچنین نتایج نشان داد که ویتامین نیاسین به میزان ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بر روی IgM و لیزوزیم تاثیر مثبت داشت. در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیاسین هر دو شاخص IgM و لیزوزیم افزایش پیدا کردند. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه پیشنهاد می شود جهت افزایش ایمنی از دز ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم استفاده شود.

واژگان کلیدی: *استرلیاد*، Acipenser ruthenus، *نیاسین*، *شاخص‌های خونی*، *شاخص‌های ایمنی*.

۱- کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۲- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
۳- استادیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
* نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) یکی از گونه‌های با ارزش خانواده تاسماهیان و کوچک‌ترین گونه این خانواده محسوب می‌شود. این ماهی یک گونه آب شیرین و پوتامودروموس است. زندگی استرلیاد شبیه ماهیان رودخانه‌ای است و تفاوت آن با ماهی‌های خاویاری دیگر عدم انجام مهاجرت‌های طولانی در رودخانه و دریا است. مهم‌ترین محل زندگی استرلیاد رود ولگا است (Holcik,1989). حداکثر طول این ماهی تا ۱۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. غذای اصلی این ماهی را لارو حشرات، نرمتنان و سخت‌پوستان کوچک تشکیل می‌دهد. این ماهی در فصل زمستان تغذیه نمی‌کند و در قسمت‌های عمیق رودخانه به خواب زمستانی می‌رود. در سال‌های اخیر به دلیل آسیب دیدن محل‌های تخم‌ریزی مولدین در رودخانه‌ها جمعیت آن‌ها رو به کاهش و نسل آن رو به انقراض رفته است (Peterson et al., 2006). به دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار بالای گوشت و خاویار ماهیان خاویاری از یک طرف و کاهش میزان ذخایر در تمام زیستگاه‌های طبیعی از طرف دیگر، تکثیر و پرورش این ماهیان مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت‌های چشمگیری به همراه داشته است. با وجود پیشرفت‌های خوبی که طی چند سال اخیر صورت گرفته است، اما اطلاعات کامل و جامعی در خصوص نیازهای تغذیه‌ای، فناوری ساخت و ترکیبات غذایی این ماهیان وجود ندارد (Hung and Deng, 2002).

نیاسین یکی از ویتامین‌های گروه B است. این ویتامین در تنفس سلولی و در آزاد کردن انرژی از کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها دخالت دارد. گلیکوژن، ماده کربوهیدراتی ذخیره‌ای موجود در کبد و عضلات است که نیاسین در سنتز آن نقش دارد. همچنین نقش مهمی در سوخت و ساز چربی‌ها در بدن ایفا می‌کند. به شکل نیکوتین‌آمید یک جزء ترکیبی ضروری از دو آنزیم نیکوتین‌آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) و نیکوتین‌آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADP) است هر دو آنزیم به عنوان دهنده و گیرنده هیدروژن در آزاد کردن انرژی از هر سه ماده مغذی انرژی‌زا (کربوهیدرات، چربی، پروتئین) دخالت دارند. نیاسین به عنوان یکی از راه‌های درمان کلسترول بالای خون و کاهش سطح آن در خون استفاده می‌شود (Poston and Wolfe, 1985). در نهایت با توجه به ارزش اقتصادی

بالای ماهیان خاویاری و همچنین بالا بردن سیستم ایمنی ماهیان در شرایط پرورشی و با توجه به تاثیر قابل توجهی که ویتامین‌های گروه ب در بدن ایفا می‌کنند در مطالعه حاضر بررسی تاثیر ویتامین نیاسین بر روی شاخص‌های خونی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در شهریور و مهر ۱۳۹۴ در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهی خاویاری شهید دکتر بهشتی سد سنگر انجام شد.

در این پژوهش ۹۰ قطعه بچه ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) با میانگین وزن ۵۰ گرم در ۱۸ حوضچه فایبرگلاس با اندازه ۰/۵×۲×۲ مترمکعب استفاده شد که از ۲ مترمکعب حجم حوضچه ۱/۶ مترمکعب آبگیری می‌شد، قرار داده شدند. پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل اکسیژن و درجه حرارت با استفاده از دستگاه اکسی‌متر (OXI3230B/SET، ساخت تایوان) سه بار در روز و pH با استفاده از دستگاه pHمتر مدل (PH330i/SET، ساخت تایوان) یک بار در روز اندازه‌گیری شدند. ماهیان سه بار در روز در ساعت‌های ۹ صبح، ۱ بعد از ظهر و ۴ بعد از ظهر تغذیه شدند.

طرح کلی این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بدین صورت که ترکیبی از شش سطح ویتامین نیاسین (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذای خشک) برای تهیه پنج جیره حاوی ویتامین با دزهای تعیین شده و یک تیمار شاهد (هر یک با سه تکرار) مورد استفاده قرار گرفت و ماهیان به مدت دو ماه تحت این تیمارها قرار گرفتند (Halver, 1989; Ng et al., 1997; Shaik Mohamed and Ibrahim, 2001). برای آماده‌سازی غذا ابتدا کلیه ترکیبات (پودرماهی، کنجاله سویا، آردگندم، آرد ذرت، پودر مکمل ویتامینی، ملاس و ...) با استفاده از دستگاه آسیاب (ساخت چین) کاملاً به صورت پودر در آمده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه میکسر (ساخت چین) با یکدیگر مخلوط شدند. بعد ترکیبات با مقادیر کم، از قبیل پریمیکس ویتامینی، مکمل معدنی و سایر مواد افزودنی به ازای هر کیلوگرم جیره خشک در ۷۰۰ سی سی آب مقطر مخلوط و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با جیره خشک به طور همگن، مخلوط شدند، سپس روغن (گیاهی و جانوری) به مخلوط جدید افزوده

گشت و به مدت ۱۵ دقیقه کل ترکیب مجدداً با یکدیگر مخلوط شدند (Lovell, 1989؛ جدول ۱). سپس وارد دستگاه غذاساز شد و به صورت گرانول‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر در آمدند. گرانول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه خشک‌کن، خشک شدند.

جدول ۱: ترکیب جیره پایه

نوع ماده	میزان (درصد)
پودر ماهی	۴۶
آرد گندم	۱۲
سبوس برنج	۵/۵
آرد سویا	۱۰
روغن ماهی	۵
روغن سویا	۵
آرد ذرت	۱۰
بایندر	۱
مکمل ویتامینی	۱
مکمل معدنی	۱
آنتی اکسیدان	۰/۵
ضد قارچ	۰/۲۵
دی کلسیم فسفات	۱
ملاس	۱

غذاها پس از خشک شدن، بسته بندی و شماره‌گذاری شدند و در فریزر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف، نگهداری شدند. یک ساعت قبل از توزیع غذا در وان‌ها، جیره‌های ساخته شده از فریزر خارج و در دمای اتاق نگهداری شدند، پس از متعادل شدن درجه حرارت غذای کنسانتره، با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شد و به ماهیان داده شد.

شاخص‌های خونی

برای بررسی شاخص‌های خونی در انتهای دوره ۶۰ روزه تیمار، از خون ماهیان به طور تصادفی نمونه‌برداری شد. از هر تیمار سه نمونه خون گرفته شد. برای این کار، ابتدا ماهیان با عصاره گل میخک با دز ۲۰۰ppm بیهوش شدند، خون‌گیری به دلیل کوچک بودن ماهیان با کمک سرنگ انسولین از رگ‌های ناحیه دمی[1] انجام گرفت.

شمارش گلبول‌های سفید و قرمز (RBC)، تهیه گسترش خونی و تشخیص افتراقی گلبول‌های سفید انجام شد.

هماتوکریت

برای اندازه‌گیری هماتوکریت، نمونه‌های خون بلافاصله پس از خون‌گیری به آزمایشگاه ویرومد انتقال داده شد. سپس نمونه‌ها در لوله‌های موئینه هپارینه با سرعت ۷۰۰۰ دور

1- Caudal Vasculature

در دقیقه به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ (دستگاه میکروسانتریفوژ مدل D-78532 Tuttlingen، شرکت Hettich، ساخت آلمان) شدند (Houston, 1990) و درصد هماتوکریت هر نمونه توسط خط‌کش مخصوص اندازه‌گیری شد.

هموگلوبین

غلظت هموگلوبین هر نمونه خون به روش کالریمتری سیانو هموگلوبین، با محلول معرف در طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS – ۶۵۰۵، شرکت Jenway، ساخت انگلیس) و با استفاده از کیت پارس آزمون (ساخت ایران)، محاسبه شد.

شاخص‌های گلبول قرمز

شاخص‌های گلبول قرمز به صورت زیر محاسبه شدند (Klontz, 1994):

حجم متوسط گلبول قرمز (MCV):[1]

$$MCV_{(fL)} = [Hct / RBC\ (million/mm^3)] \times 10$$

(فرمول ۱)

متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH):[2]

$$MCH_{(pg)} = [Hb(g/dL)/RBC(million/mm^3)] \times 10$$

(فرمول ۲)

1- Mean Corpuscular Volume
2- Mean Corpuscular Hemoglobin

غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC):[3]

$$MCHC_{(\%)} = [Hb\ (g/dL) / Hct] \times 100$$

(فرمول ۳)

شاخص‌های ایمنی

شاخص‌های ایمنی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند ایمونوگلوبولین M (IgM) و لیزوزیم بودند.

اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین M

روش مورد استفاده برای اندازه‌گیری IgM روش ایمونوتوربیدی‌متری[4]است که با استفاده از جداسازی پلاسما انجام شد. در این روش IgM با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال موجود در محلول‌های تامپون تشکیل کمپلکس داده و باعث کدر شدن محلول می‌شوند. شدت کدورت ایجاد شده با مقدار IgM رابطه مستقیم داشته، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 2100-VIS، ساخت شرکت Unico، آمریکا) در طول موج ۳۴۰ نانومتر (با بلانک آب مقطر) خوانده شد.

3- Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
4- Immuno Turbidimetric

اندازه‌گیری لیزوزیم

برای اندازه‌گیری سطوح لیزوزیم در سرم خون، ۱/۷۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری *Micrococcus lysodeikticus* (شرکت سیگما؛ معادل مقدار ۰/۳۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH ۶/۲) با ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های سرم مخلوط شد و جذب نوری آن پس از ۱۵ و ۱۸۰ ثانیه به روش طیف سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر خوانده شد. از بافر فسفات سدیم به عنوان بلانک استفاده شد (Ellis, 1990).

اندازه‌گیری غلظت ایمنوگلوبولین کل

غلظت ایمنوگلوبولین کل مطابق با روش شرح داده شده توسط Siwicki و Anderson در سال ۱۹۹۳ اندازه‌گیری شد. به اختصار، نمونه سرم مطابق با روش Biuret اندازه‌گیری شد: ۰/۱ میلی‌لیتر از هر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول ۳۲٪ مخلوط شد (شرکت سیگما، آمریکا). مخلوط حاصل برای مدت ۲ ساعت برای تشکیل رسوب مولکول ایمنوگلوبولین انکوباسیون شد. رسوب ایمنوگلوبولین توسط سانتریفیوژ (Eppendorf Centrifuge 5415R، EppendorfAG، ساخت آلمان) در ۵۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی‌گراد جدا شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS Version 18 و برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون «شاپیرو-ویلک» بررسی شد و در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن در سطح خطای ۵٪ استفاده شد. برای داده‌های غیرنرمال از آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد و معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون من- ویتنی مشخص شد.

نتایج

بررسی فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب نشان داد میانگین اکسیژن ۸/۶±۰/۲ میلی‌گرم در لیتر، دما در محدوده ۱۷/۴±۰/۵ درجه سانتی‌گراد و PH ۸/۵-۸/۷ بود.

نتایج به دست آمده از سنجش شاخص‌های خونی بچه ماهی استرلیاد در پایان دوره تیمار در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده است. با توجه

به این جدول‌ها می‌توان گفت در این مطالعه ویتامین نیاسین بر شاخص‌های خونی گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت و همچنین بر مقدار شاخص MCV (جدول ۲) و نوتروفیل (جدول ۳) موثر بوده، دارای اختلاف معنی‌دار آماری است (P<۰/۰۵).

جدول ۲: شاخص‌های خونی بچه ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف ویتامین نیاسین (میانگین ± انحراف معیار)

	سطوح ویتامین نیاسین در تیمارها					
	تیمار شاهد (۰ mg/Kg)	**تیمار ۱ (۱۰ mg/Kg)**	**تیمار ۲ (۲۰ mg/Kg)**	**تیمار ۳ (۳۰ mg/Kg)**	**تیمار ۴ (۴۰ mg/Kg)**	**تیمار ۵ (۵۰ mg/Kg)**
تعداد گلبول‌های سفید (mm^3)	۶۱۰۰ ±۲۶۴/۶ abc	۵۶۰۰ ±۵۲۹/۲ a	۶۴۰۰ ±۳۶۰/۶ abc	۷۷۰۰ ±۸۱۸/۵ cd	۷۴۰۰ ±۱۱۵۳/۳ bcd	۸۸۰۰ ±۴۳۵/۹ d
تعداد گلبول‌های قرمز (mm^3)	۷۰۶۶۶۶/۷ ±۱۵۲۷۵/۳ abc	۶۴۴۰۰۰ ±۹۶۴۳/۷ ab	۷۶۷۶۶۶/۷ ±۲۲۵۰۱/۹ c	۶۹۸۶۶۶/۷ ±۵۰۷۱۸/۲ abc	۷۰۱۶۶۶/۷ ±۲۳۶۲۹/۱ abc	۷۱۵۶۶۶/۷ ±۴۱۶۲۱/۳ bc
هموگلوبین (g/dl)	۵/۹۷±۰/۱۵ ab	۵/۵۳±۰/۱۵ a	۶/۵۰±۰/۲۰ b	۵/۹۰±۰/۴۴ ab	۵/۹۳±۰/۲۱ ab	۶/۰۳±۰/۳۵ ab
هماتوکریت (٪)	۲۷/۷±۰/۵۸ ab	۲۵/۳±۰/۵۸ a	۳۰±۱ b	۲۷±۱/۷۳ ab	۲۷/۷±۰/۵۸ ab	۲۸±۱ ab
MCV (fl)	۳۷۶±۲۳/۴ a	۳۸۵/۷±۴/۵ ab	۳۹۰/۳±۱/۵ b	۳۸۶/۳±۴/۲ ab	۳۹۴/۳±۵/۵ b	۳۹۱/۳±۸/۶ b
MCH (pg)	۸۴/۳±۰/۵۸	۸۴/۷±۰/۵۸	۸۵ ±۰/۰	۸۴/۳±۰/۵۸	۸۴/۳±۰/۵۸	۸۴ ±۰/۰
MCHC (g/dl)	۲۱/۳±۰/۵۸	۲۲ ±۰/۰	۲۲ ±۰/۰	۲۱/۷±۰/۵۸	۲۱/۳±۰/۵۸	۲۱/۳±۰/۵۸

جدول ۳: شمارش افتراقی گلبول‌های سفید خون بچه ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف ویتامین نیاسین (میانگین ± انحراف معیار)

	سطوح ویتامین نیاسین در تیمارها					
	تیمار شاهد (۰ mg/Kg)	تیمار ۱ (۱۰ mg/Kg)	تیمار ۲ (۲۰ mg/Kg)	تیمار ۳ (۳۰ mg/Kg)	تیمار ۴ (۴۰ mg/Kg)	تیمار ۵ (۵۰ mg/Kg)
نوتروفیل (٪)	۲۸±۱ abc	۲۷±۲ ab	۲۸±۱ abc	۳۱±۱ c	۲۹/۳±۱/۵۳ abc	۳۰/۳±۱/۵۳ bc
لنفوسیت (٪)	۶۷±۱/۷۳	۶۸/۷±۳/۵۱	۶۷±۱/۷۳	۶۳ ±۲/۶۵	۶۵/۷±۲/۰۸	۶۴±۲/۶۵
منوسیت (٪)	۴/۶۷±۰/۵۸	۴±۱	۵±۰	۵/۳۳±۱/۱۶	۴/۶۷±۰/۵۸	۵/۳۳±۰/۵۸
ائوزینوفیل (٪)	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۶۷±۰/۵۸	۰/۳۳±۰/۵۸	۰/۶۷±۰/۵۸

اما در فاکتورهای MCH، MCHC، لمفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل (جدول‌های ۲ و ۳) تاثیر گذار نبوده، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بر این اساس بیش‌ترین میزان گلبول سفید مربوط به تیمار ۵ با بالاترین دز ویتامین نیاسین بود و همچنین بیش‌ترین میزان گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین مربوط به تیمار ۲ بود. با توجه به نتایج به دست آمده بیش‌ترین میزان MCV در تیمار ۲ مشاهده شد. بالاترین میزان نوتروفیل نیز در تیمار ۳ قابل مشاهده بود.

باتوجه به نتایج به دست آمده از شاخص‌های ایمنی خون طبق جدول ۴ در تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار آماری بین تمام گروه‌ها مشاهده شد. بر این اساس بیش‌ترین میزان ایمونوگلوبین و لیزوزیم در تیمار ۱ مشاهده می‌شود و همچنین بیش‌ترین میزان IgM در گروه‌های مورد بررسی مربوط به تیمار ۳ است. با توجه به آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و پس‌آزمون دانکن، مشخص شد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر میزان ایمونوگلوبین و لیزوزیم اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: شاخص‌های ایمنی بچه ماهی استرلیاد در تیمارهای مختلف نیاسین (میانگین ± انحراف معیار)

	سطوح ویتامین نیاسین در تیمارها					
	تیمار شاهد (۰ mg/Kg)	تیمار ۱ (۱۰ mg/Kg)	تیمار ۲ (۲۰ mg/Kg)	تیمار ۳ (۳۰ mg/Kg)	تیمار ۴ (۴۰ mg/Kg)	تیمار ۵ (۵۰ mg/Kg)
ایمونوگلوبین (mg/mL)	۱۱/۳±۰/۰۶ b	۱۱/۸±۰/۶۵ b	۹/۶±۰/۴۰ a	۱۱/۴±۰/۳۲ b	۹/۸±۰/۴۵ a	۱۱/۹±۰/۴۵ b
IgM (mg/dL)	۶۰/۷±۴/۰۴ a	۷۰/۳±۴/۲ ab	۸۶±۱۱/۵ bc	۹۳/۷±۱۲/۷ c	۷۲±۸/۲ abc	۷۱/۳±۷/۷ abc
لیزوزیم (u/mL/min)	۴۲/۷±۵/۰۳ab	۵۲/۷±۱۲/۵ bc	۶۳±۲ c	۴۲/۷± ۷/۴ ab	۴۸±۴/۴ bc	۴۳±۵/۲ ab

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص‌های خونی مشاهده شد. باتوجه به تیمارها، با افزایش دز ویتامین B_3 میزان گلبول‌های سفید نیز افزایش یافت. همچنین میزان گلبول قرمز و هموگلوبین در تیمار ۲ افزایش داشت در حالی که در تیمار ۱ کم‌ترین میزان آن‌ها مشاهده شد و بین تیمارها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. این در حالی است که در مطالعه‌ای که توسط Carriquiriborde و همکاران (۲۰۰۴) انجام گرفت تفاوت معنی‌داری بین تعداد گلبول‌های قرمز در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد.

همان گونه که از داده‌های مربوط به میزان هماتوکریت مشخص است در تیمار ۱ هماتوکریت کم‌ترین میزان را نشان می‌دهد. همچنین در تیمارهای ۳، ۴، ۵ و شاهد عملاً اختلاف معنی‌داری از نظر این پارامتر مشاهده نشد. نوسانات این پارامتر در بین گروه‌های مختلف تیماری به نسبت سایر پارامترها به مراتب کم‌تر است. با این حال Ng و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعه گربه ماهی کانالی دریافتند که نیاسین بر روی بهبود رشد، بازده کبد و هماتوکریت تاثیرگذار است. در مورد دو پارامتر MCHC و MCH اختلاف چندانی در بین گروه‌ها مشاهده نشد. با توجه به داده‌های آماری مشاهده می‌شود که در تیمارهای ۳ و ۵

بیش‌ترین میزان نوتروفیل و در تیمار ۱ کم‌ترین میزان نوتروفیل وجود داشت. میزان لمفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل در بین گروه‌های مورد بررسی تغییرات چندانی نداشت. درصد نوتروفیل به عنوان یک شاخص ایمنی عمومی، در شرایط عادی در پاسخ به یک محرک سیستم ایمنی افزایش می‌یابد اما میزان لمفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل که موارد شاخص ایمنی اختصاصی هستند در موارد آلودگی با یک پاتوژن خاص افزایش می‌یابند.

بر اساس نتایج کم‌ترین میزان ایمونوگلوبولین مربوط به تیمارهای ۲ و ۴ بود و بیش‌ترین میزان در تیمارهای ۱و ۵ مشاهده شد. میزان IgM که به عنوان شاخص ایمنی مورد بررسی قرار گرفت در تیمار ۳ افزایش قابل توجهی داشت. مطالعات صورت گرفته حاکی از این مطلب است که مقدار IgM با توجه به اندازه و سن ماهی، شرایط محیطی یا وجود بیماری تغییر می‌کند (Affonso et al., 2004). عدم وجود تغییرات زیاد در تیمارها می‌تواند حاکی از عدم وجود بیماری یا تنش‌های دیگر باشد. شاخص لیزوزیم مانند دیگر شاخص‌های ایمنی در تیمار ۲ بیش‌ترین مقدار را داشت و پس از آن در تیمار ۱ نیز افزایش آن قابل مشاهده است. طبق مطالعات انجام شده، به نظر می رسد که سطح فعالیت لیزوزیم در ماهیان خاویاری نسبت به ماهیان استخوانی کم‌تر باشد. Jeney و Jeney (۲۰۰۲) به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت لیزوزیم در دورگه تاسماهی استرلیاد و سیبری تغذیه شده با ویتامین C با وزن ۱۲-۱۰ گرم و در دمای ۲۳-۲۲ درجه سانتی‌گراد، در دز بیش‌تر ویتامین C (۱۰۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به دزهای کم‌تر (۱۰-۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به طور معنی‌داری بالاتر بود. میزان شاخص‌های ایمنی در این مطالعه دارای اختلاف معنی‌دار بود. با توجه به این که مطالعه‌ای در رابطه با میزان تاثیر نیاسین بر شاخص‌های خونی انجام نشده است میزان مرجع این شاخص‌ها جهت مقایسه در دست نیست.

در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده ازشاخص‌های ایمنی خون بچه ماهی استرلیاد، در این پژوهش، ویتامین نیاسین با دز ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بیش‌ترین تاثیر را بر IgM و لیزوزیم خون این ماهی گذاشت و می‌توان نتیجه گرفت که این ویتامین می‌تواند بر شاخص‌های ایمنی تاثیرگذار باشد و بر روی استرس و بیماری نقش موثری داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از ریاست محترم مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان دریایی شهید دکتر بهشتی سد سنگر جناب آقای مهندس عباسعلیزاده، همکاران محترم بخش نوزادگاهی و آزمایشگاه و همچنین جناب آقای دکتر محمد یزدانی رئیس بخش تکثیر و پرورش انیستیتو ماهیان خاویاری دکتر دادمان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

Affonso E.G., Polez V.L., Correa C.F., Mazon A.F., Araujo M.R., Moraes G. and Rantin F.T. 2004. Physiological responses to sulfide toxicity by the air-breathing catfish *Hoplosternum littorale* (Siluriformes, Callichthyidae). Comparative Biochemistry and Physiology C, 139(4): 251–257.

Carriquiriborde P., Handy R.D. and Davies S.J. 2004. Physiological modulation of iron metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low and high iron diets. The Journal of Experimental Biology, 207: 75–86.

Ellis A.E. 1990. Stress and the modulation of defense mechanisms in fish. P: 147–169. In: Pickering A.D. (Ed.). Stress and Fish. Academic Press, London.

Halver J.E. 1989. The vitamins. P: 32–102. In: Halver J.E. (Ed.). Fish Nutrition. Academic Press, New York.

Holcik J. 1989. The freshwater fishes of Europe. Vol.1: Part II. General introduction to fishes: Acipenseriformes. AULA-Verlag GmbH, Wiesbaden, Germany. 469P.

Houston A.H. 1990. Blood and circulation. P: 273–334. In: Schreck V.B. and Moyle P.B. (Eds.). Method for Fish Biology. American Fisheries Society, Maryland, USA.

Hung S.S.O. and Deng D.F. 2002. Sturgeon, *Acipenser* spp. P: 344–357. In: Webster C.D. and Lim C. (Eds.). Nutrient Reguirrements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing.

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

Klontz G.W. 1994. Fish hematology. P: 121–132. 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, Vol. 3. SOS Publications.

Lovell R.T. 1989. Nutrition and Feeding of Fish. Van Mostrand Reinhold, New York. 260P.

Ng W.K., Serrini G., Zhang Z. and Wilson R.P. 1997. Niacin requirement and inability of tryptophan to act as a precursor of NAD^+ in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 152: 273–285.

Peterson D., Vecsei P. and Hochleithner M. 2006.

Threatened fishes of the world: *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758 (Acipenseridae). Environmental Biology of Fishes, 43: 223–225.

Poston H.A. and Wolfe M.J. 1985. Niacin requirement for optimum growth, feed conversion and protection of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, from Ultraviolet-B irradiation. Journal of Fish Diseases, 8(5): 451–460.

Shaik Mohamed J. and Ibrahim A. 2001. Quantifying the dietary niacin requirement of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), fingerlings. Aquaculture Research, 32: 157–162.

Siwicki A.K. and Anderson D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. Disease diagnosis and prevention methods. FAO project GCP/INT/JPA, IFI, Olsztyn, Poland. P: 105–112.

Aquatic Physiology and Biotechnology
Vol. 3, No. 2, Summer 2015

Effect of vitamin niacin in hematological Indices of Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*)

Rana Haghparast[1], Hossein Khara[2*] ,Masoud Farokhroz[3]

Received: July 2015 Accepted: September 2015

Abstract

This study conducted to determine the effects of different amount of vitamin niacin (B_3) on hematological and immune indices in Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) cultured. This study was carried out at Shahid Dr. Beheshti Artificial Sturgeon Propagation and Rearing Center. Six diets include 0, 10, 20,30,40,50 mg/Kg dry food vitamin B_3 for 8 weeks for *A. ruthenus*. The number of 90 fish by weight 50g in 18 fiberglas tank. The fish were fed 5% of body weight. For sampling, 3 fish from each treatment were collected from the caudal peduncle. According to result, between blood indices (red blood cell, white blood cell, hemoglobin, hematocrit, Mean Corpuscular Volume) showed significant differences ($P<0.05$). But in MCH and MCHC indices, lymphocytes, monocytes and eosinophils, differences were not significant ($P>0.05$). Between immune indices, IgM and lysozyme showed significant differences ($P<0.05$). According to result, 20 mg/Kg of niacin in favorable effect on hemoglobin and hematocrit and showed 30 mg/Kg niacin, IgM and lysozyme positive effect, and treated with 30 mg/Kg, both indicators show increased IgM and lysozyme. According to result in this study, it is suggested to increase the safety of 30 mg/Kg dose should be used.

Key words: Acipenser ruthenus, *Vitamin Niacin, Hematology Index, Immune Index.*

1- M.Sc. in Aquaculture, Department of Aquaculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
2- Associated Professor in Department of Aquaculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
3- Assistant Professor in Department of Aquaculture, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.
*Corresponding Author: h.khara1974@yahoo.com