بررسی اثر کلرید کبالت بر برخی شاخص های خونی ماهی اسکار سلطنتی(*Astronatus ocellatus*)

حسین عمادی ، آرزو مهانی* و بابا مخیر
گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران-شمال

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۲۵

چکیده

۵گروه از ماهی های اسکار سلطنتی (***Astronatus ocellatus***) با میانگین وزن ۰.۰۲±۰.۸گرم ، به مدت ۹۰روز در۱۵ آکوآریوم به ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ سانتی متر با تراکم ۱۰ عدد در هر آکوآریوم، با چهار دوز کلرید کبالت شامل۰، ۲/۵، ۳/۰، ۳/۵ و۴/۰ میلی گرم در یک کیلوگرم غذا ، هر یک با ۳ تکرار غذا دهی شدند. مقایسه شاخص های خونی (RBC,WBC،گلوکز و هموگلوبین) تیمارها با گروه شاهد(فاقد کلرید کبالت) نشان داد که کبالت به عنوان ماده محرک رشد ، روی شاخص های فاکتورخونی ذکر شده، در ۴ جیره ساخته شده نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری داشتند($P<۰/۰۵$) . بین جیره های ساخته شده، کمترین میزان گلوکز (۵/۰۳±۱۲۹/۶۶میلی گرم دردسی لیتر) ، بیشترین میزان گلبول قرمز ($۱۰^{۶}$×۱/۶۹در میلی متر مکعب خون) و هموگلوبین (گرم در دسی لیتر ۸/۰۱±۱/۶۶) ، در تیمار با جیره دارای ۴ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلو گرم غذا ، بدست آمد. بیشترین میزان گلبول سفید (۹×۱۰۳در یک میلی متر مکعب خون) نیز در تیمار با ۳/۵میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلوگرم غذا ، بدست آمد. تجزیه و تحلیل داده ها از نظر آماری با استفاده از بسته نرم افزار SPSS۱۳ انجام پذیرفت. به طورکلی، ماهیانی که در معرض بیشترین میزان کبالت(۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا) قرار گرفتند، بهترین شرایط را از لحاظ خونی دارند.

واژگان کلیدی: اسکارسلطنتی(*Astronatus ocellatus*) ، کلرید کبالت ، محرک رشد ، فاکتورهای خونی.

*نگارنده پاسخگو: arezoo_mahani@yahoo.com

مقدمه

ماهی اسکار سلطنتی با نام علمی *Astronotus ocellatus* از شناخته شده ترین ماهی های زینتی گوشتخوار و از خانواده Cichlidae است . این ماهی در آب های شیرین زندگی می کند و بومی رودخانه های آمازون ، پاراگوئه و شرق ونزوئلا است .این ماهی پراشتها است و به خوبی رشد می کند، لذا برای انجام آنالیز های مختلف خونی ، خون لازم را می توان از آن بدست آورد(نیل پرونک ، ۱۳۸۹). انتخاب این ماهی به علت رشد قابل ملاحظه و رسیدن به اندزه مناسب برای خونگیری بود.

با این که مواد معدنی حداکثر دو درصد جیره غذایی را تشکیل می دهند ، با وجود این نقش بسیار مهمی در فعالیت های متابولیک و فعل وانفعالات آنزیمی و شیمیایی بدن ماهی دارا هستند(Lovell,۱۹۸۸). به جیره غذایی ماهی ها می توان موادی افزود که با استفاده از آنها میزان رشد ماهی ها بیشتر شده و طی زمان کمتری، به محصول نهایی با همان کیفیت و چه بسا بالاتر برسد. این مواد تحت عنوان مواد محرک رشد شناخته شده اند که نمی توانند جایگزین غذا و مواد اولیه غذایی موثر در جیره غذایی ماهیان باشند ولی در افزایش جذب و ترکیب عناصر غذایی و افزایش میزان رشد بسیار موثر هستند (Sukhoverkhov,۲۰۰۶). مواد محرک رشد در میزان کم، نقش مهمی را در افزایش رشد دارند که شامل ویتامین ها ،امعاء و احشاء ، آنتی بیوتیک و کبالت می باشد. **کبالت (Co)** ماده

معدنی از دسته عناصر کم یاب می باشد که هم به صورت کلرید کبالت و هم با ترکیب سولفات کبالت به منظور تامین مواد معدنی ، به غذا افزوده می شود(بخشایی،۱۳۸۶).
تاثیر کبالت روی فاکتورهای خونی، به عنوان یک ماده محرک رشد، در ماهی ها در سطح محدودی مطالعه شده و منابع کافی دراین مورد در دسترس نیست. شاید این اولین تحقیق کامل در این زمینه باشد. تاثیر کبالت بیشتر در شاخص های رشد مورد بررسی قرار گرفته است و تنها مطالعه علمی مشابه در موش آزمایشگاهی(مظفریان،۱۳۸۵) بر میزان گلبول سفید می باشد.

کبالت به عنوان یک یون فعال کننده در برخی از فعل و انفعالات آنزیمی دخالت دارد. معمولا ماهیان پرورشی دچار کمبود کبالت نمی شوند، چرا که مقدار نیاز آن ها به این عنصر، هم از طریق آب و هم از طریق مواد غذایی تامین میشود(سالک یوسفی،۱۳۷۹). به کارگیری این عنصر به عنوان یک ماده محرک رشد، مستلزم افزودن مقدار بیشتری از این ماده معدنی نسبت به میزان دریافتی از آب یا مقدار جزئی در جیره غذایی ، به غذای خشک می باشد.

کبالت در حیوانات غیر نشخوار کننده به ساخت ویتامین B۱۲ توسط میکروارگانیسم های روده کمک می کند، که البته این مقدار نمی تواند تمام احتیاجات این حیوانات را به ویتامین B۱۲ تامین کند (سالک یوسفی ۱۳۷۹). کبالت عنصر پا یه ای در ویتامین B۱۲ است (مرادی،۱۳۸۷). درسال ۱۳۹۱ توسط مهانی میزان ویتامین B۱۲(سیانوکوبالامین) در کبد ماهی اسکار سلطنتی درتیمار شاهد و تیمار ۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا مقایسه گردید و نتایج به دست آمده نشان دادند که ، میران ویتامین B۱۲ تیمار شاهد در مقایسه با تیمار ۵ تفاوت معنی داری داشت($P<۰/۰۵$).

کاهش ویتامین $B_{۱۲}$ باعث کم خونی، پیدایش غیر طبیعی و قطعه قطعه شدن گلبول های قرمز ، بی اشتهایی، ضعف عمومی بدن، کاهش رشد و کاهش وزن بدن در آبزیان پرورشی می شود (سالک یوسفی، ۱۳۷۹).افزودن کبالت به جیره غذایی ماهیان به عنوان ماده محرک رشد، باعث افزایش میزان انسولین پلاسما و افزایش کلسترول آزاد و تری آسی گلیسرول (Triacyglycerol) در پلاسما و کاهش فعالیت آنزیم تری آسی گلیسرول لیپاز می شود (Tacon *et al.*,۱۹۹۰). همچنین ویتامین B۱۲ از راه کمک در انجام متیلاسیون در ساخت اسید نوکلئیک و پروتئین و از راه فعال نمودن کوآنزیم اسید فولیک در ساخت گلبول قرمز خون شرکت می کند و دارای فعالیت و اثر خون سازی است (نوین دارو ، ۱۳۹۰).

کبالت جزء اصلی ویتامین B_{12} (سیانوکوبالامین) می باشد (Sukhoverkhov,۲۰۰۶) ، مهانی در سال ۱۳۹۱ نشان داد که افزودن B۱۲ باعث افزایش تعداد گلبول های قرمز می گردد.

افزایش میزان انسولین پلاسما در ماهی ها که به جیره غذایی آنها کبالت افزوده شده ، باعث کاهش فعالیت آنزیم های کبدی تجزیه کننده چربی و تجمع چربی در خون و عضلات می شود . انسولین در تنظیم فعالیت های متابولیک ماهی نقش دارد و ساخت و ذخیره سازی پروتئین و چربی ها را در بدن ماهی افزایش می دهد . چگونگی بازده به گونه ای است که تعدادی از هورمون ها ، باعث تحریک هورمون های دیگر و یا تحریک هورمون خود (بازده مثبت) و یا توقف تولید یا عملکرد هورمون دیگر (بازده منفی) می شوند. طبق این مکانیسم اهمیت اندازه گیری گلوکز در این بررسی روشن است. Yitzhak در سال ۲۰۰۳ تاثیر معنی دار افزودن کبالت در ماهی کپور معمولی را بر متابولیسم گلوکز را گزارش داد.
هموگلوبین حمل کننده اکسیژن می باشد، لذا با افزایش میزان اکسیژن در بافت ها، رشد عضلانی را در پی خواهد داشت (عمادی و همکاران ،۱۳۹۱) .گلبول سفید همچنین عاملی است در مقابل بروز بیماری ها و با افزایش آن سیستم ایمنی بالا می رود (گایتون،۲۰۰۰)
هدف از انجام این بررسی تولید ماهیانی مقاوم تر در برابر بیماری ها و با رشد مناسب و سالم می باشد، لذا بر اساس این هدف، فرضیه چگونگی تغییرات تعداد گلبول های قرمز و سفید خون و میزان گلوکز و هموگلوبین با اضافه نمودن کبالت مد نظر قرار گرفته است.

مواد و روش ها

در این بررسی۱۵۰ عدد ماهی اسکار سلطنتی با میانگین وزن ۰.۸±۰.۰۲ گرم، غذای دان آماده، کلرید کبالت ($CoCl . 6H_2O$) ساخت شرکت Merck آلمان و نشاسته به عنوان محافظ کبالت در پانزده آکوآریوم پرورش ماهی به ابعاد ۳۰×۴۰×۴۰ سانتی متر به مدت ۹۰ روز پرورش داده شدند ، وسایل اندازه گیری پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل دماسنج دیجیتالی ، کیت تست pH سرا (Sera) ساخت کشور آلمان، دستگاه اکسیژن سنج PF۱۱ ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر بود.

برای تغذیه ماهی ها از غذای دان ریز ساخت شرکت بیومار با اندازهF_3 با قطر ۱/۱ میلی متر متناسب با اندازه دهان ماهی ها استفاده شد که با بزرگ شدن آن ها ، اندازه دانه غذا ها نیز بزرگتر شد.

طبق گزارش دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، میزان پروتئین خام، چربی خام، فیبر، خاکستر ، رطوبت و فسفر دان ها، بر اساس روش AOAC (۲۰۰۰) به شرح جدول (۱) می باشد:

جدول ۱- آنالیز غذای اصلی مورد استفاده جهت پژوهش، بدون اضافه کردن کبالت (درصد)

پروتئین	چربی	خاکستر	فسفر	فیبر خام	ماده خشک	رطوبت
۴۴/۵۳	۲۳/۲۸	۷/۹۲	۱/۱۲	۳	۹۴/۲۵	۵/۷۵

جیره شاهد فاقد کبالت افزودنی بود، ولی حاوی مقدار بسیار ناچیزی کبالت بود که معمولا در ترکیب اولیه غذا وجود دارد. به تیمار های ۱،۲،۳و۴ به ترتیب ۳/۵،۳،۲/۵و ۴ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلو گرم غذا اضافه گردید.

مکمل سازی غذا طی دو مرحله انجام گرفت . در شروع کار ۴۰۰ گرم غذا به طور کل آماده شد، بدین صورت که غذا های دان شده برای هر جیره، جداگانه در ابعاد یکسان، روی توری هایی با چشمه های ریزتر از غذاهای دان پهن شدند. میزان هر دوز از کلرید کبالت برای هر جیره جداگانه توزین و پس از انحلال کامل در آب با دستگاه اسپری به طور منظم و یکسان پاشیده شد.. بعد از گذشت دو روز ،با خشک شدن کامل دان ها از محلول نشاسته و آب برای پوشش کبالت در غذا استفاده شد که مقدار ۵۰ گرم نشاسته در یک لیتر آب به مدت پانزده دقیقه جوشانده شد، میزان ۵۰ میلی لیتر از این محلول توسط لوله مدرج برداشته و بعد از سرد شدن ، محلول مورد نظر روی کلیه دان ها به صورت یکسان، برای محافظت از حل شدن کبالت در حین شناوری غذا در آب ، قبل از خورده شدن توسط ماهیان، پاشیده شد. بعد از گذشت یک روز با خشک شدن کامل دان ها، غذا ها جمع آوری و هر جیره در ظرف هایی مجزا با شماره شناسایی بسته بندی گردید و در انبار کارگاه دور از رطوبت ، نور و حرارت نگهداری گردید.روی غذای شاهد نیز به منظور مشابه بودن همه جیره ها ، محلول نشاسته مشابه میزان به کار رفته در جیره های دیگر اسپری گردید(بای،۱۳۸۶).

آکوآریوم ها به صورت مجزا از آب شهری آب گیری شدندو با نگهداری ۴۸ ساعته در محیط سرباز به منظور کلرزدائی استفاده گردید. دوره سازگاری ماهی به مدت دو هفته با شرایط پرورش طی شد. طی دو هفته سازگاری ماهیان با غذای دان آماده ساخت شرکت بیومار تغذیه شدند ، ماهی ها به مدت ۹۰ روز با استفاده از فرمول های غذائی ذکر شده پرورش یافتند. پس از پایان دوره ، تعداد گلبول قرمز ، گلبول سفید ، میزان گلوکز و هموگلوبین اندازه گیری شد.

اندازه گیری فاکتورهای خونی

برای رقیق سازی خون از محلول ناتریک و برای شمارش گلبول های قرمز از لام نئوبار و از فرمول زیر استفاده گردید (صافی ، ۱۳۸۸).

۲۰۰×۱۰×۵× مجموع تعداد گلبول های قرمز شمارش شده در ۵ مربع کوچک= شمار گلبول قرمز در میلی متر مکعب

برای رقیق سازی خون از محلول ناتریک و برای شمارش گلبول های سفید از لام هموسیتومتر نئوبار و از فرمول زیر استفاده گردید (صافی ، ۱۳۸۸)

مربع ٤در شده شمارش های گلبول تعداد ٤۰۰۰×

اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیانت هموگلوبین بر مبنای همولیز گلبول قرمز درمحلول درآبگین وآزاد شدن هموگلوبین انجام پذیرفت (حقیقی ، ۱۳۸۸) گرم در لیتر

اندازه گیری سطح گلوکز توسط دستگاه گلوکز سنج **TD-۴۲۳۰** ساخت چین اندازه گیری شد(صافی ، ۱۳۸۸) میلی گرم در دسی لیتر

پارامتر های فیزیکی و شیمیایی آب

در پژوهش حاضر، میانگین دما بین ۲±۲۵ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. میزانpH در طول دوره آزمایش در کلیه کانال ها در دامنه۷/۵ تا ۸ قرار داشت. میزان اکسیژن محلول آب در ابتدا، میان دوره وانتهای بررسی به ترتیب ۹/۱ ، ۸/۹۴ و ۸/۸۲(به طور میانگین ۸/۹۵) میلی گرم در لیتر بود.

بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون همگنی واریانس داده‌ها انجام گردید و انالیز داده ها از روش تجزیه واریانس یکطرفه **(one- way ANOVA)**و روش **T-Test** انجام شد و همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن**(Duncan)** استفاده گردید.

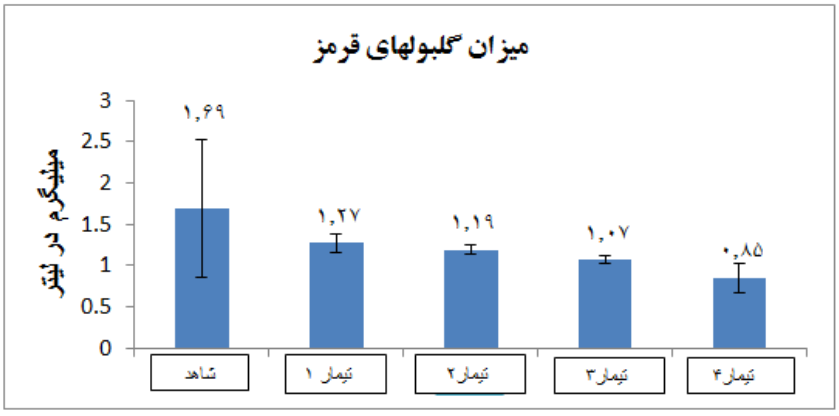
نتایج

میانگین افزایش گلوکز ماهی های حاصل شده در تیمارهای مختلف غذایی مورد آزمایش در انتهای دوره با یکدیگر مقایسه و نتایج آن در جدول شماره(۲)داده شده است.

جدول ۲- میانگین وضعیت شاخص های خونی ماهی اسکار سلطنتی(*Astronatus ocellatus*) پس از دوره پرورش ۹۰ روزه در تیمارهای مختلف

شاخص ها	شاهد	۱	۲	۳	۴	ملاحظات
گلبول قرمز($\times 10^6$)	۰/۸۵±۰/۱۱	۱/۰۷±۰/۰۷	۱/۱۹±۰/۰۵	۱/۲۷±۰/۱۱	۱/۶۹±۰/۸۲	شمار این شاخص با افزایش میزان کبالت **افزایش** یافته
گلبول سفید($\times 10^3$)	۳/۱±۲/۳	۳/۶±۳/۴	۳/۹±۹/۶	۹/۰±۴/۹	۴/۰۶±۱/۷	شمار این شاخص با افزایش میزان کبالت **افزایش** یافته
گلوکز(میلیگرم در دسی لیتر)	۲۷۳/۳۳±۳۳/۱۷	۲۳۵±۴۲/۵۷	۱۹۲/۳۳±۱۹/۵۵	۱۵۴/۳۳±۲۰/۵۹	۱۲۹/۶۶±۵/۰۳	شمار این شاخص با افزایش میزان کبالت **کاهش** یافته
هموگلوبین(گرم در دسی لیتر)	۴/۲۱±۰/۳۸	۴/۹۲±۰/۰۷	۶/۳۱±۱/۶۶	۶/۱۴±۰/۳۱	۸/۰۱±۰/۲	شمار این شاخص با افزایش میزان کبالت **افزایش** یافته

میانگین افزایش تعداد گلبول قرمز ماهی ها در تیمارهای مختلف غذایی مورد آزمایش با یکدیگر مقایسه و نتایج آن در جدول (۲)و بررسی مقایسه ای تعداد گلبول قرمز در پایان دوره آزمایش در شکل(۲)نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود تعداد گلبول های قرمز در نمونه شاهد برابر ۰/۸۵±۰/۱۱ می باشد که از همه تیمار ها کمتر است. نتایج نشان می دهد که کمترین تعداد گلبول قرمز با ۱/۰۷±۰/۰۷ مربوط به تیمار (۱) و بیشترین تعداد با رقم ۱/۶۹±۰/۸۲ مربوط به تیمار (۴) با غلظت ۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا بود.

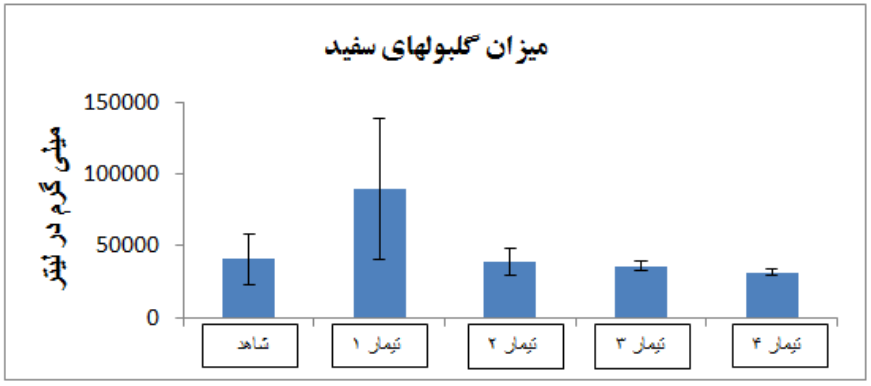


شکل۲- بررسی مقایسه ی تعداد گلبول های قرمز در خون ماهی اسکار سلطنتی پس از ۹۰ روز دوره پرورش درتیمارهای مختلف(آنتنک ها بیانگر انحراف معیار می باشند)

با توجه به نتایج جدول (۲) و شکل(۲) ، میزان گلبول های قرمز در تیمار ۴ با میانگین ۱/۶۹ ±۰/۸۲ $\times 10^6$در یک میلی لیتر خون بیشترین مقدار را داشت که این مقدار با نتایج تیمارهای شاهد و ۱و۲و۳ دارای اختلاف معنی دار است($P<0/05$).

میانگین افزایش تعداد گلبول سفید ماهی های حاصل شده در تیمارهای مختلف غذایی مورد آزمایش با یکدیگر مقایسه و نتایج آن در جدول (۲)و بررسی مقایسه ای تعداد گلبول سفید در پایان دوره آزمایش در شکل (۳)داده

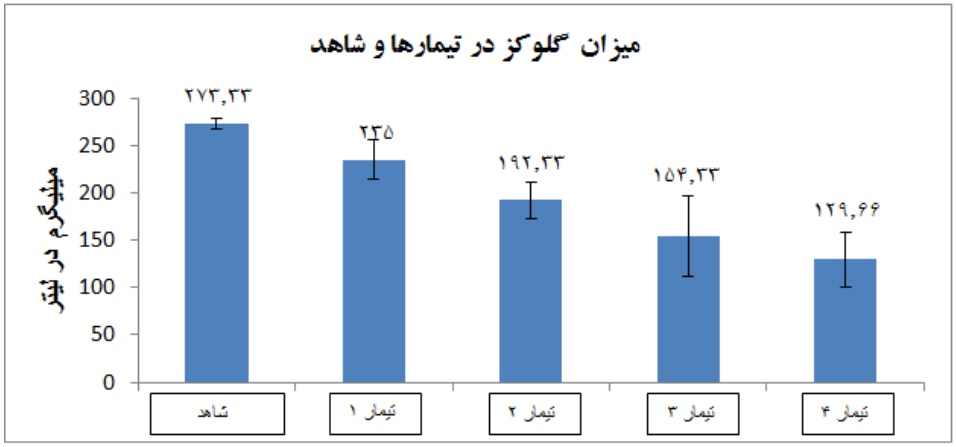
شده است. همانطور که ملاحظه می شود تعداد گلبول های سفید در نمونه شاهد برابر ۳/۱±۲/۳ که از همه تیمار ها کمتر است ، در تیمار ها کمترین تعداد با ۳/۶±۳/۴مربوط به تیمار (۱) و بیشترین تعداد با رقم ۹/۰±۴/۹مربوط به تیمار (۳) با غلطت ۳.۵ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا بود.



شکل ۳- بررسی مقایسه ای تعداد گلبول های سفید در خون ماهی اسکار سلطنتی پس از ۹۰ روز دوره پرورش در تیمارهای مختلف(آنتنک ها بیانگر انحراف معیار می باشند)

با توجه به نتایج جدول (۲)و شکل(۳) ، بیشترین تعداد گلبول های سفید اندازه گیری شده در تیمار ۳ با میانگین۹/۰ ±۴/۹ ✕ ۱۰۳در یک میلی لیتر خون مشاهده گردید ، ضمن اینکه در مقایسه تیمار ها به کمترین میزان گلبول سفید در گروه شاهد اشاره کرد و این مقدار در مقایسه با سایر تیمار دارای اختلاف معنی دار بود (P<۰/۰۵).

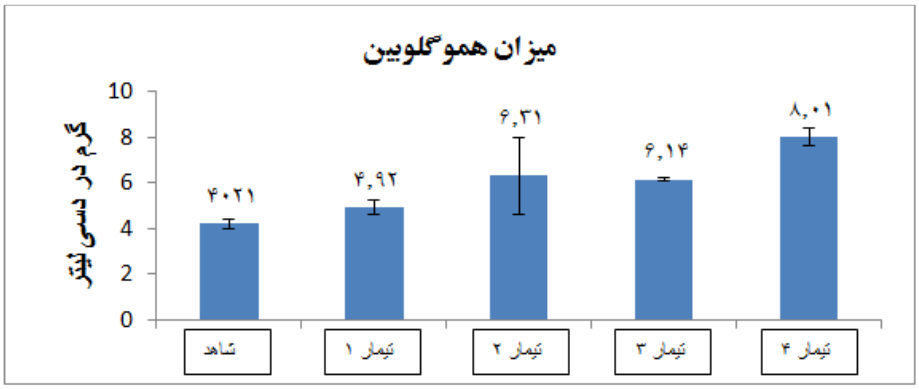
بررسی مقایسه ای میزان گلوکز در پایان دوره آزمایش در شکل (۴) داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود میزان گلوکز در نمونه شاهد برابر ۲۷۳/۳۳±۳۳/۱۷ و از همه تیمار ها بیشتر است ، در تیمار ها بیشترین میزان با ۲۳۵±۴۲/۵۷مربوط به تیمار (۱) و کمترین میزان ۱۲۹/۶۶±۵/۰۳ مربوط به تیمار (۴) با غلطت ۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا بود.



شکل۴- بررسی مقایسه ای وضعیت شاخص گلوکز در خون ماهی اسکار سلطنتی پس از ۹۰ روز دوره پرورش درتیمارهای مختلف(آنتنک ها بیانگر انحراف معیار می باشند)

با توجه به نتایج جدول(۲) و شکل(۴)، میزان سطح گلوکز خون ماهی برای تیمار ۴ در کمترین مقدار با میانگین ۵/۰۳±۱۲۹/۶۶ میلیگرم در دسی لیتر بود که دارای اختلاف معنی دار با تیمار ها است($P<0/05$).

میانگین افزایش سطح هموگلوبین ماهی های حاصل شده در تیمارهای مختلف غذایی مورد آزمایش با یکدیگر مقایسه و نتایج آن در جدول (۲) و بررسی مقایسه ای سطح هموگلوبین در پایان دوره آزمایش در شکل(۵) داده شده است. همانطور که ملاحظه می شود میزان هموگلوبین در نمونه شاهد برابر ۰/۳۸±۴/۲۱ و از همه تیمار ها کمتر است ، در تیمار ها کمترین میزان با ۰/۰۷±۴/۹۲ مربوط به تیمار (۱) و بیشترین میزان با ۰/۲±۸/۰۱ مربوط به تیمار (۴) با غلظت ۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا بود.



شکل۵- بررسی مقایسه ای سطح هموگلوبین در خون ماهی اسکار سلطنتی پس از ۹۰ روز دوره پرورش در تیمارهای مختلف(آنتنک ها بیانگر انحراف معیار می باشند)

با توجه به نتایج جدول (۲)و شکل(۵) ، بیشترین سطح هموگلوبین اندازه گیری شده در تیمار ۴ با میانگین۰/۲±۸/۰۱ گرم در دسی لیتر مشاهده گردید، که این امر به علت افزایش میزان کبالت می باشد که این مقدار با نتایج تیمارهای شاهد و ۱و۲و۳ دارای اختلاف معنی دار است($P<0/05$).

بحث و نتیجه گیری

گلبول های قرمز در تیمار ۴ با ۴ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلوگرم غذا با ۰/۸۲± ۱/۶۹ × 10^6در یک میلی لیتر خون بیشترین مقدار را داشت یعنی با افزایش میزان کبالت افزایش تعداد گلبول فرمز را در پی داشتیم.ویتامین B۱۲جزعی از کبالت است و با افزایش میزان کبالت رابطه مستقیم دارد(sukhoverkhov,۲۰۰۶).همانطور که بیان شد، ویتامین B۱۲ عاملی برای افزایش تولید گلبول های قرمز است ،زیرا این ویتامین در ساخت گلبول قرمز خون شرکت می کند و دارای فعالیت و اثر خون سازی است (احمدی، ۱۳۹۰).

کاهش ویتامین B۱۲ باعث کم خونی، پیدایش غیر طبیعی و قطعه قطعه شده گلبول های قرمز در آبزیان پرورشی می شود (سالک یوسفی، ۱۳۷۹). افزایش ویتامین B۱۲ در کبد ماهی اسکار سلطنتی به منظور اضافه نمودن کبالت

توسط عمادی و همکاران،۱۳۹۱ و در ماهی قزل آلای رنگین کمان توسط بای(۱۳۸۶) گزارش شده است این عامل می تواند توجیهی بر افزایش میزان گلبول قرمز دانست.

تیمار ۲ (۳.۵ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا) تعداد گلبول سفید با بیشترین تعداد با رقم ۴/۹±۹/۰مربوط به تیمار (۳) با غلظت ۳.۵ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا را نشان داد .در این بررسی از هر تیمار ۳ نمونه ماهی مورد بررسی قرار گرفت و عدد حاصله میانگین به دست آمده می باشد. با توجه به سالم بودن ماهی ها می توان بیان نمود که افزایش تعداد گلبول های سفید، افزایش میزان آنزیم لیزوزیم ، افزایش فاگوسیتوز و افزایش سلول های پادتن ساز را در پی خواهد داشت(گایتون،۲۰۰۰). شاید بتوان گفت نمونه های این تیمار، از ایمنی بیشتری در برابر بیماری ها برخوردارند. لذا طبق نتایج به دست آمده ، بهترین دوز میزان ۳/۵ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا می باشد . درسال ۱۳۸۵، مظفریان درباره اثر تزریق داخل صفاقی سولفات کبالت بر پلاکت ها و گلبول سفید خون در موش آزمایشگاهی، به این نتیجه رسید که سولفات کبالت در غلظت های مورد استفاده(۱/۰، ۳/۵،۸/۰، ۱۱/۵ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن) بر افزایش گلبول های سفید تاثیر معنی داری داشته است ، که نتایج مزبور مشابه نتایج پژوهش حاضر است اگرچه به علت عدم انجام مطالعه مشابه در ماهیان مقایسه منابع انجام شده با موش آزمایشگاهی صورت گرفت.

با توجه به این که کبالت به عنوان ماده محرک رشد ، باعث رشد طولی و وزنی ماهی اسکار سلطنتی می شود ، می توان بیان کرد که در سال(۲۰۰۲) Takashi و همکاران تاثیر افزودن کبالت به جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان را بر افزایش رشد و رابطه آن را با متابولیسم توسط هورمون ها گزارش نمودند ، که دلیل افزایش رشد قزل الای رنگین کمان ، افزایش هورمون انسولین و کاهش میزان هورمون تیروئید پلاسما بوده است.

با مصرف کبالت در جیره های غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان ، میزان انسولین پلاسما به میزان چهار برابر افزایش می یابد (Takashi,۲۰۰۲). که این امر نیز در ماهی اسکار صدق میکند زیرا طبق مکانیسم بازده منفی، انسولین به مقدار زیاد و به طور مستقیم در خون ترشح شده و انسولین پلاسمای آن را افزایش داده و تاثیر بر بافت هدف گذاشته و باعث کاهش گلوکز در خون می شود، که در جدول شماره(۲) در پژوهش حاضر مشهود است که

کمترین مقدار را در تیمار ۴ با ۵/۰۳±۱۲۹/۶۶ میلی گرم در دسی لیتر بود.

انسولین به دلیل آن که مصرف گلوکز را در بیشتر بافت های بدن افزایش می دهد ، به طور خودکار مصرف چربی را کاهش می دهد ، در نتیجه به عنوان نگهدارنده چربی عمل می کند . این هورمون انتقال بسیاری از اسید آمینه ها ، نظیر والین ، ایزولوسین ، تیروزین و فنیل آلانین را به داخل سلول ها تحریک می کند . بنابراین اثر انسولین در این زمینه مشابه اثر هورمون رشد می باشد ولی این نوع اسید آمینه منتقل شده در مورد هر کدام از هورمون ها لزوما یکسان نیست (گایتون ، ۲۰۰۰) .

Yitzhak، در سال ۲۰۰۳ تاثیر معنی دار افزودن کبالت به جیره غذایی ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)* را بر متابولیسم گلوکز ، گزارش نمود . این تحقیق نشان داد افزودن کلرید کبالت به غذای کپور معمولی ، موجب افزایش هورمون انسولین در بدن آن گردید.

مصرف کبالت در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان ،میزان هورمون تیروئید پلاسما را که توسط غده هیپوفیز تنظیم می شود ، کاهش می دهد (Takashi *et al.*,۲۰۰۲) . کاهش ترشح هورمون تیروئید ، غلظت

پلاسمایی کلسترول ، فسفولیپید ها و تری گلسیرید را به میزان زیادی افزایش می دهد و تقریبا در تمام موارد موجب انباشته شدن چربی در کبد می شود.

در سال ۲۰۰۳، Anadu، تاثیر افزودن کلرید کبالت و اسید آسکوربیک به جیره غذایی ماهی تیلاپیا (*Tilapia zilli*) را بر شاخص های ضریب تبدیل غذایی و میزان پروتئین مصرفی ، به صورت جداگانه ، گزارش نمودند. در این آزمایش سه گروه از ماهیان تیلاپیا در عرض ۱۲ هفته با دوزهای مختلف اسید آسکوربیک و کلرید کبالت ، غذادهی شدند و نتایج حاصل با تیمار شاهد که غذای آنها فاقد اسید آسکوربیک و کلرید کبالت بود ، مقایسه گردیدند. بهترین گروه ، گروهی بود که با اسید آسکوربیک تغذیه شدند و تیماری که با کلرید کبالت تغذیه شده بود ، رشد بهتر و بیشتر را نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

در تیمار ۴ (۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا) بیشترین میزان سطح هموگلوبین با میزان ۰/۲±۸/۰۱ مربوط به تیمار (۴) با غلظت ۴ میلی گرم کبالت در یک کیلوگرم غذا و در تیمار ها کمترین میزان با ۰/۰۷±۴/۹۲مربوط به تیمار (۱)دیده شد. هموگلوبین حمل کننده اکسیژن است و با افزایش آن میزان اکسیژن بیشتری به بافت ها می رسد در نتیجه رشد بیشتری در این ماهی ها حاصل می شود(گایتون،۲۰۰۰). . Takashiو همکاران در سال، ۲۰۰۲ در قزل آلای رنگین کمان، بای(۱۳۸۶) در ماهی قزل آلای رنگین کمان ، Sukhoverkhove در سال ۲۰۰۶ در ماهی کپورمعمولی وYizhak و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ماهی کپور معمولی و Anadu و همکاران در سال ۲۰۰۳ در ماهی تیلاپیا افزایش رشد وزنی و رشد طولی را اعلام نمود که مشابه نتایج بدست آمده در این پژوهش در تیمارهای تغذیه شده با کبالت به دیگر تیمارها می باشد.

با توجه به نتایج آزمایش آنالیز خونی بیشترین افزایش تعداد گلبول های قرمز و هموگلوبین در تیمار ۴(۴ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلوگرم غذا) و بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار ۳ (۳/۵ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلو گرم غذا) ملاحظه گردید.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان گلوکز با افزایش میزان کبالت کاهش داشت. که این امر می تواند به دلیل افزایش میزان انسولین در خون باشد که باعث ذخیره سازی چربی و افزایش وزن شود(Yitzhak,۲۰۰۳) ، شاید بتوان نتیجه گرفت که در این پژوهش نمونه های ماهی اسکار با میزان ۴ میلی گرم کلرید کبالت در یک کیلوگرم غذا نتیجه بهتری را از لحاظ شاخص های خونی نشان دادند.

منابع

احمدی،آ. ۱۳۹۰. ۱۰راه برای کاهش وزن بدون رژیم غذایی، ویتامین B۱۲. مجله نوین دارو، ۴۲: ۱.

بای، ش. ۱۳۸۶. تاثیر کبالت بعنوان ماده محرک رشد در ماهی قزل آلای رنگین کمان. پایان نامه کارشناسی ارشد ،گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

بخشائی ، م.ح. ۱۳۸۶ . از کبالت چه می دانیم؟ مجله کارشناس ، ۲۴: ۶۶-۶۵.

حقیقی،م. ۱۳۸۸.روش های آزمایشگاهی خونشناسی ماهی. انتشارات آبزیان. تهران.

سالک یوسفی، م. ۱۳۷۹. تغذیه آبزیان پرورشی (ماهیان سردآبی ، ماهیان گرمابی و میگو) . موسسه فرهنگی وانتشاراتی اصلانی . ایران .

گایتون ، آ. ۲۰۰۰. فیریولوژی پزشکی. ترجمه م. بیگدلی،۱۳۸۰ . نشرطبیب، تهران .

مرادی ، ر. ۱۳۸۷. شناخت فلزات (کبالت) . مجله اطلاعات علمی ، سال بیست و سوم.

مظفریان ، ف. ۱۳۸۵. اثر تزریق داخل صفاقی سولفات کبالت بر ارزیابی کمی انواع گلبول سفید وآغاز فیبروز کبدی در موش آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.

نیل پرونیک، ا.۱۳۸۸. ماهی اسکار . ترجمه ف.امامی لنگرودی. ش.حیدری پور،انتشارات علمی آبزیان، تهران.

عمادی، ح.، مخیر، ب . و مهانی، آ. ۱۳۹۱. تاثیر کبالت به عنوان ماده محرک رشد در ماهی اسکار سلطنتی.(منتشر نشده).

مهانی، آ. ۱۳۹۱. بررسی اثر کلرید کبالت بر شاخص های رشد در ماهی اسکار سلطنتی(*Astronatus ocellatus*). پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

AoAc. ۲۰۰۰. Official Methods of Analylysis AoAc, Washinton , Dc.

Anadu, A., Anozie, O. C. & Anthony, A. D. ۱۹۹۰. Growth responses of Tilapia zillii fed diets containing various levels of ascorbic acid and cobalt chloride. Aquaculture, ۹۰:۳۲۹_۳۳۶.

Lovell, T. ۱۹۸۸. Nutrition and feeding of fish. Van Nastrand Reinhold, New York.

Sukhoverkhov, F.M. ۲۰۰۶.The effect of cobalt, vitamins, tissue preparation and antibiotics on carp production. FAO, Rome.

Takashi T., Sutherland, S. C. & Wanninkhof, R. ۲۰۰۲.Relationships between obesity and metabolic hormones in the cobalt variant of rainbow trout .General and Comparative Endocrinology, ۱۲۸.۱.۱.: ۳۶-۴۳.

Tacon, A. G .J. ۱۹۹۰. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories press. Redmond, USA.

Yitzhak, D.& Körtzinger , A. ۲۰۰۳. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): the effect of cobalt and chromium . Aquaculture, ۱۰۶: ۲۵۵- ۲۶۷ .