نشریه فن‌آوری‌های نوین در توسعه آبزی‌پروری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر/ ISSN: 2008-0026 سال دهم، شماره اول، بهار ۹۵ / صفحات: ۲۰-۱۱

اثرات افزودن کرم خاکی به جیره غذایی بر فاکتورهای خونشناسی و آنزیم‌های کبدی بچه‌ماهیان بستر (*Acipenser ruthenus*×*Huso huso*)

زهره رحمتی‌پرست[1]، *حبیب وهاب‌زاده[2] و محمود محسنی[3]

[1و2] گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

[3]سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مؤسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، رشت

تاریخ دریافت: ۹٤/۹/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٤/۱۲/۱۱

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور بررسی امکان جایگزینی کرم خاکی به جای پودر ماهی در جیره غذایی هیبرید بستر (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*) طراحی و به انجام رسید. در این راستا تعداد ٤٥٠ قطعه ماهی بستر (۳۵۰±۳۵) پس از سازگاری در قالب ۳ تیمار غذایی شامل: تیمار ۱ تیمار شاهد (غذای کنسانتره) تیمار ۲ با ۱۵ درصد غذای زنده و ۸۵ درصد غذای کنسانتره و تیمار ۳ با ۳۰ درصد غذای زنده و ۷۰ درصد غذای کنسانتره در ۹ حوضچه بتونی در طی ۸ هفته غذادهی شدند. در پایان هفته هشتم **برای** بررسی شاخص‌های خونی نمونه‌گیری انجام شد. نتایج به‌دست آمده از شاخص‌های خونی اختلاف معنی‌داری در فاکتورهای خونی نظیر گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، میانگین غلظت هموگلوبین گلوبولی (MCH)، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت را نشان داد (P<۰/۰۵). شاخص‌های ائوزینوفیل و حجم متوسط گلبولی (MCHC) تحت تأثیر قرار نگرفتند. در مطالعه انجام شده میزان کلسترول، تری گلیسرید، آلکالین فسفاتاز و برخی آنزیم‌های کبدی (SGPT، SGOT)، اختلاف معنی دار مشاهده گردید (P<۰/۰۵). اما میزان پروتئین، آلبومین، اوره و نیتروژن اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان داد که افزودن ۱۵ درصد کرم خاکی به غذای کنسانتره سبب بهبود شاخص‌های خونی نسبت به سایر تیمار شده است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای خونی، کرم خاکی، ماهی بستر (*Acipenser ruthenus* ×*Huso huso*)

مقدمه

در آبزی پروری مانند پرورش سایر جانوران، تغذیه یکی از ارکان اصلی موفقیت در تولید محسوب می‌گردد. استفاده از غذای زنده به لحاظ حفظ ارزش غذایی تا زمان مصرف، دارا بودن آنزیم‌های گوارشی و کمک به هضم بهتر غذا به هنگام مصرف و دیگر کاربردهای ارزشمند مورد توجه می‌باشد. بیش از ۵۰ درصد هزینه‌های پرورش به غذا مربوط می‌شود، از این رو می‌توان با تهیه غذای مناسب، پرورش ماهیان خاویاری را اقتصادی کرده و علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، کارایی تغذیه را نیز افزایش داد (Kasumyan، ۱۹۹٤؛ محسنی و همکاران، ۱۳۸۵).

در بین انواع غذاهای زنده، استفاده از برخی کرم‌ها و کرمی شکلان روند افزایشی پیدا کرده است. با توجه به ارزش غذایی مناسب و برابری نسبی ارزش غذایی آنها با نیازهای انواع آبزیان، نظیر میزان پروتئین و چربی و دارا بودن انواع اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه، مورد توجه قرار گرفته‌اند. مزیت استفاده از

*نویسنده مسئول: habib.vahabzadeh@gmail.com

کرم‌ها علاوه بر ارزش غذایی مناسب، پرورش و سازگاری آنها در محیط‌های مختلف می‌باشد (FAO، ۱۹۹۳). از ویژگی‌های مهم غذاهای تهیه شده از کرم خاکی، تشابه ترکیبات آن با نیازهای غذایی آبزیان می‌باشد که از مهمترین این ترکیبات می‌توان به پروتئین اشاره نمود (شمسایی و امینی، ۱۳۹۰).

افزایش و رشد ماهیان پرورشی قزل آلای رنگین کمان، تاسماهی سیبری، مارماهیان در ژاپن و تایلند، در تغذیه با انواع مختلف کرم خاکی نیز مشاهده گردید (Yang و همکاران، ۲۰۰۱). جهت تغذیه بچه ماهیان انگشت قد گربه ماهی آفریقایی از کرم خاکی استفاده کردند، نتیجه این تحقیق نشان داد که بچه ماهیان تغذیه شده با کرم خاکی رشد سریع تر و درصد بازماندگی و مقاومت در برابر استرس بالاتری نسبت به بچه ماهیان گروه شاهد که از کرم خاکی تغذیه نکرده بودن نشان داد (Ng، ۲۰۰۱). به‌دلیل ارزش اقتصادی و غذایی بسیار بالای گوشت و خاویار از یک سو کاهش میزان ذخایر این ماهیان در تمام زیستگاه‌های طبیعی از سوی دیگر، تکثیر و پرورش آنها از سال‌ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان قرار گرفته و پیشرفت‌های چشمگیری به همراه داشته است (ابراهیمی، ۱۳۸۳). دورگه‌گیری بین گونه‌های مختلف تاس ماهیان نیز امکان پذیر است. مهم‌ترین آنها هیبرید بین فیل ماهی ماده و استرلیاد نر است که نسل F_1 آن به بستر معروف است (بیلیایوا و همکاران، ۱۹۸۹). این ماهی قابلیت خوبی برای پرورش به‌منظور تولید گوشت دارد و تجارب متعددی در سطح بین‌المللی در مورد این ماهی موجود است (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). هدف تحقیق حاضر، استفاده از درصدهای مختلف کرم خاکی در جیره غذایی به‌منظور بررسی اثرات آن بر شاخص‌های خونی و آنزیم‌های کبدی در بچه ماهیان بستر می‌باشد.

استفاده از کرم‌های خاکی به‌صورت زنده یا خشک، در تغذیه آبزیان پرورشی حائز اهمیت است. ترکیبات اسیدهای چرب و آمینه ضروری و وجود امگا ۳ در این موجود، استفاده آن را نسبت به دیگر منابع غذایی متمایز ساخته است. هضم و جذب آسان کرم خاکی علاوه بر دیگر خصوصیات مفید آن، استفاده از آن را در پرورش دوران نوزادی و لاروی انواع آبزیان کاربردی ساخته است (Ng، ۲۰۰۱).

Ogbe و همکاران (۲۰۰۵) فاکتورهای رشد را بر روی ماهی *Clarias gariepinus* تغذیه شده با کرم خاکی مشاهده نمودند که سطوح مختلف کرم خاکی هیچ گونه اختلاف معنی‌دار آماری در فاکتورهای رشد مشاهده نکرده‌اند ($P>0/05$).

مواد و روش‌ها

ماهیان و شرایط پرورش: مطالعه حاضر بر روی بچه ماهی هیبرید بستر (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*) با میانگین وزنی (± خطای استاندارد) ۳۵±۳۵۰ گرم در زمستان سال ۱۳۹۲ در مزرعه پرورش ماهیان خاویاری مروارید قروق تالش (هشتپر، گیلان) انجام شد. قبل از شروع آزمایش در ابتدا تعداد ۳۵۰ قطعه بچه ماهی هیبرید بستر انتخاب و از لحاظ وزن، طول، سلامتی و وضع ظاهری مورد بررسی قرار گرفتند و به‌مدت ۱۰ روز با شرایط محیط آزمایش سازگار شدند. در این مدت بچه ماهیان توسط غذای پلت (٤٠ درصد پروتئین، ۲۰ درصد چربی، ٦ درصد کربو هیدرات، ۱۰ درصد رطوبت، ۷ درصد خاکستر و ۱/۵ درصد فسفر) شرکت اسکرتینگ (ورونا، ایتالیا) با اندازه ۳ میلی‌متر روزانه چهار مرحله تا حد اشتها تغذیه شدند و پس از رسیدن به وزن مورد نظر، در مخازن ۱۰۰۰ لیتری به تعداد ۵۰ عدد در هر تانک توزیع شدند. ماهی‌ها در

تراکم کم و در کمترین حد استرس در مدت آزمایش، مورد مطالعه قرار گرفتند.

آب مورد نیاز از آب چاه تأمین گشت. پارامترهای کیفی آب شامل آمونیاک، نیترات و نیتریت هر هفته یک بار و پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل اکسیژن و درجه حرارت روزانه اندازه‌گیری شد. در طول آزمایش دبی آب ورودی به مخازن پرورشی به‌طور متوسط ۰/۲±۱۳/۹ لیتر در هر دقیقه بود. میانگین دمای آب در طول دوره ۰/۹±۱۸/۵ سانتی‌گراد، pH آب ۷/۵ تا ۷/۸ و اکسیژن محلول ۰/۲±۶/۵ میلی‌گرم در لیتر بود.

طراحی آزمایش: طرح کلی این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (Completely Randomized Design) انجام شد. جهت بررسی تأثیر غذای زنده کرم خاکی بر فاکتورهای خونی و هورمون‌های کبدی ۹ تانک با ۳ تیمار و ۳ تکرار در نظرگرفته شد و تراکم ذخیره سازی ۵۰ عدد ماهی در هر تانک در نظر گرفته شد. ماهی‌ها در سه تیمار غذای کنسانتره (شاهد)، ۱۵ درصد غذای زنده (کرم خاکی) ۸۵ درصد غذای کنسانتره و ۳۰ درصد غذای زنده و ۷۰ درصد غذای کنسانتره در شرایط نوری ۱۱ ساعت روشنایی و ۱۳ ساعت تاریکی به مدت ۸ هفته نگهداری شدند.

غذا و تغذیه: غذای ماهیان مورد آزمایش به‌صورت روزانه و با استفاده از کنسانتره (تیمار شاهد) و درصدهای مورد نظر برای تیمارهای دیگر (مخلوطی از کنسانتره و کرم خاکی) به شکل پلت با اندازه ٤ میلی‌متر تهیه می‌شد. با توجه به اندازه ماهیان، غذادهی برای تیمارهای مختلف با توجه به میزان اشتهای ماهی در نظر گرفته شد. غذادهی به‌صورت دستی و در چهار نوبت (در ساعت‌های ۸، ۱۲، ۱٦ و ۲۰) انجام شد. میزان غذای مصرفی روزانه با توزین غذای داده شده و کسر غذای خورده نشده درون مخازن محاسبه شد. آب تانک‌ها هر روز قبل از غذا دهی سیفون گردیده تا غذای احتمالی مصرف نشده و فضولات از محیط پرورش خارج گردد.

نمونه‌برداری: در پایان دوره (پس از ۸ هفته) پرورش و گذشت ٢٤ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان کامل از دفع محتویات لوله گوارش به تعداد ۲۷ عدد ماهی (۳ عدد به ازاء هر تکرار) صید شده و عملیات خون‌گیری از سیاهرگ دمی (Caudal vein) واقع در پشت باله مخرجی بچه ماهی هیبرید بستر پرورشی صورت گرفت. جهت انجام مطالعات خون شناسی از سرنگ‌های هپارینه با حجم ml ۲ استفاده گردید. بعد از گرفتن ml ۲ خون توسط سرنگ از ساقه‌دمی این ماهیان، ml ۰/۵ خون به داخل تیوب‌های اپندروف آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و ml ۱/۵ باقیمانده به داخل تیوب‌های اپندروف غیر هپارینه شماره گذاری شده منتقل شد. نمونه‌ها در یک کلمن حاوی یخ خشک و به دور از تکان‌های شدید به آزمایشگاه هماتولوژی جهت انجام مطالعات شاخص‌های خونی ارسال گردید.

جهت انجام مطالعات سرولوژی خون موجود در لوله‌های اپندورف فاقد ماده ضد انعقاد هپارین توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus sepatch آلمان) با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در اپندورف‌های تازه ریخته و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فاکتورهای خونی: فاکتورهای خونی شامل مقادیر RBC و WBC به‌وسیله لام هموسیتومتر نئوبار، هموگلوبین به وسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزمون به روش کلرومتریک با طول موج ٥٤٠ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر Technicon آمریکا و درصد هماتوکریت با سانتریفیوژ میکروهماتوکریت

اندازه‌گیری شد. به کمک نتایج به‌دست آمده، شاخص‌های گلبول قرمز (MCHC, MCH, MCV) به‌صورت زیر محاسبه شد (Klontz، ۱۹۹٤).

(حجم متوسط گلبول‌های قرمز برحسب فتولیتر)

$MCV_{(fl)} = (Ht/RBC)\times 10$

(متوسط هموگلوبین گلبولهای قرمز بر حسب پیکوگرم)

$MCH_{(Pg)} = (Hb/RBC)\times 10$

(غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز بر حسب گرم در دسی‌لیتر)

$MCHC_{(\%)} = (Hb/Ht)\times 10$

آنزیم‌های کبدی، آلبومین، چربی، اوره و پروتئین خون و BUN: نیتروژن اوره خون یا Blood Urea Nitrogen در حقیقت به نظور تعیین میزان فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی در خون که متاثر از شکست ساختار پروتئین است، انجام گرفت. آنزیم‌های کبدی ALT،ALP و AST نیز از نمونه‌های خون با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون از روش IFCC (فدراسیون بین‌المللی شیمی بالین و طب آزمایشگاهی) اندازه‌گیری شد.

پروتئین کل به روش modi-Biuret با استفاده از کیت زیست شیمی تعیین می‌گردد. میزان کلسترول با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون و به روش آنزیمی، کالریمتری (CHOD-PAD) جهت اندازه‌گیری تک نقطه ای با روش فتومتریک انجام شد.

جهت تعیین آلکالن فسفاتاز (ALP) از کیت شرکت پارس آزمون و با روش DGKC (استاندارد انجمن بیوشیمی آلمان) و بر اساس آزمایش ALP صورت گرفت.

P - nitrophenol + Phosphate P - Nnitrophenylphosphate + $H_2O \rightarrow$

میزان اوره با استفاده از کیت شرکت زیست شیمی و با روش GLDH اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به‌منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Shapiro Wilk استفاده شد. برای داده‌های نرمال به‌منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (Oneway ANOVA) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances جهت مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver. 17.0 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2007 استفاده شد.

نتایج

فاکتورهای خونی: اثرات استفاده از درصدهای متفاوت کرم خاکی در جیره غذایی بر فاکتورهای خونی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاصل نشان داد تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، هموگلوبین نوتروفیل و مونوسیت افزایش معنی‌داری در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد داشتند (P<۰/۰۵). ولی بین تیمار ۲ و تیمار ۳ هیچگونه اختلافی مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). همچنین نتایج مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار میزان MCH و لنفوسیت را در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد نشان داد (P>۰/۰۵). از نظر فاکتورهای MCV، MCHC و ائوزینوفیل تیمارها تحت تاثیر قرار نگرفتند (P>۰/۰۵).

جدول ۱- تاثیر جیره غذایی کرم خاکی بر فاکتورهای هماتولوژیک بچه ماهی هیبرید بستر (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*) پس از ۵۶ روز (اختلاف‌ها براساس آزمون Duncan و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ می‌باشد)

پارامتر	تیمارها	پایان دوره (روز ۵۶)
گلبول سفید	تیمار۱ (شاهد)	۶۹۶۶/۶۷ ±۳۵۲ /۷۶ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۱۰۷۳۳/۳۳ ±۶۱۱ /۹۲ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۹۲۳۳/۳۳ ± ۵۷۸ /۳۱ a
گلبول قرمز	تیمار۱ (شاهد)	۶۲۶۰۰۰ ±۱۰۰۱۶ /۶۵ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۶۹۲۰۰۰ ±۱۱۵۹۰ /۲۳ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۶۷۸۳۳۳/۳۳ ±۱۱۵۵۱ /۸۲ a
درصد هماتوکریت Hct (%)	تیمار۱ (شاهد)	۲۶ ±۰/۵۸ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۲۹ ±۰/۵۸ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۲۸ ±۰/۵۸ a
هموگلوبین Hb (g/dl)	تیمار۱ (شاهد)	۶/۰۳ ±۰/۳۲ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۶/۶۰ ±۰/۲۳ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۶/۴۰ ±۰/۴۱ a
MCV(fl)	تیمار۱ (شاهد)	۴۱۵ ± ۳ a
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۴۱۶/۳۳ ± ۵/۰۴ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۴۱۲/۳۳ ± ۱/۴۵ a
MCH (%)	تیمار۱ (شاهد)	۹۶ ±۰ /۲۶ a
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۹۴/۶۷±۰/۳۳ b
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۹۴ ± ۰/۳۳ b
MCHC (%)	تیمار۱ (شاهد)	۲۳ ± ۰ a
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۲۲/۷ ± ۰/۳۳ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۲۳ ± ۰ a
نوتروفیل	تیمار۱ (شاهد)	۲۷/۳۳ ± ۱ /۴۵ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۳۷/۳۳ ± ۰/۸۸ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۳۵/۶۷ ± ۰ /۶۶ a
لنفوسیت	تیمار۱ (شاهد)	۶۹/۶۷ ± ۱/۷۶ a
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۵۶/۶۷ ±۰/۸۸ b
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۶۰ ±۰/۵۸ b
مونوسیت	تیمار۱ (شاهد)	۲/۳۳ ± ۰/۳۳ b
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۴/۳۳ ±۰/۳۳ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۳±۰/۵۸ a
ائوزینوفیل	تیمار۱ (شاهد)	۰/۶۶ ± ۰/۳۳ a
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	۱/۶۶ ± ۰/۸۸ a
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	۱/۳۳ ± /۵۷ a

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P<0/05$).

فاکتورهای بیوشیمیایی: اعمال درصدهای متفاوت کرم خاکی در جیره غذایی بچه ماهیان هیبرید بستر پس از هشت هفته نشان داد که بین تیمارهای مختلف در پایان دوره اختلاف معنی‌داری به لحاظ میزان پروتئین و اوره خون وجود ندارد (P>۰/۰۵) اما بین تیمارها از نظر میزان کلسترول و تری‌گلیسرید خون ماهیان اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (P<۰/۰۵). به‌نحوی که کمترین مقدار کلسترول در ماهیان تیمار ۲ همچنین بیشترین مقدار کلسترول در تیمار ۳ مشاهده گردید که دارای اختلاف معنی‌دار آماری با سایر تیمارها بود.

جدول ۲- اثرات کرم خاکی در جیره غذایی بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی خون بچه ماهی هیبرید بستر (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*) پس از ٥٦ روز. (اختلاف‌ها بر اساس آزمون Duncan و در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ می‌باشد)

پارامتر	تیمارها	پایان دوره (روز ٥٦)
کلسترول (mg/dl)	تیمار ۱ (شاهد)	٥٤/٣٣ ± ٢/٠٨[b]
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	٣٣/٦٧ ± ٣/٥١[a]
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	٦٢/٦٧ ± ٣/٠٦[a]
تری گلیسرید (mg/dl)	تیمار ۱ (شاهد)	٥٦٣ ± ٤/٣٦[a]
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	٢٨٠ ± ٢[b]
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	٥٢٦/٣٣ ± ٥/٥١[b]
پروتئین (mg/dl)	تیمار ۱ (شاهد)	٢/١٣ ± ٠/١٥[a]
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	٢/٢ ± ٠/١[a]
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	٢/٢٣ ± ٠/٠٦[a]
نیتروژن اوره (mg/dl)	تیمار ۱ (شاهد)	٤/٦٣ ± ٠/٣١[a]
	تیمار ۲ (۱۵٪ کرم خاکی و ۸۵٪ کنسانتره)	٤/٥ ± ٠/٢٦[a]
	تیمار ۳ (۳۰٪ کرم خاکی و ۷۰٪ کنسانتره)	٤/٣٧ ± ٠/٤٧[a]

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P< ۰/۰۵).

آنزیم‌های کبدی: میزان SGOT: استفاده از درصدهای متفاوت کرم خاکی در جیره غذایی بچه ماهیان هیبرید بستر پس از ٥٦ روز در بین تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به تیمار شاهد از لحاظ میزان SGOT (آسپارتات آمینوترانسفراز) از کاهش معنی‌داری برخوردار می‌باشد (P<۰/۰۵).

میزان SGPT: نتایج نشان داد که میزان SGPT (آلانین آمینوترانسفراز) خون ماهیان در تیمار ۳ نسبت به تیمارهای ۲ و شاهد اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (P<۰/۰۵).

میزان آلکالین فسفاتاز: نتایج حاصل از آزمایش در پایان دوره بیانگر افزایش معنی‌دار میزان آلکالین فسفاتاز خون تیمار ۳ نسبت به تیمار ۲ و شاهد می‌باشد (P<۰/۰۵).

میزان آلبومین خون: میزان آلبومین موجود در خون ماهیان پس از ٥٦ روز پرورش نشان داد بین تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P>۰/۰۵).

میزان نیتروژن اوره خون: از نظر میزان نیتروژن اوره خون ماهیان هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها و شاهد مشاهده نگردید (P>۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

فاکتورهای خونی: خون به‌عنوان بافت حیاتی سیال یکی از فاکتورهای مهم و مناسب برای تعیین وضعیت فیزیولوژیک موجودات زنده می‌باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۰). بیماری‌ها، التهاب، استرس، دما، وضعیت تغذیه‌ای (Bullis، ۱۹۹۳) سن و جنس (کامکار و همکاران، ۱۳۷۸) می‌توانند بر تعداد گلبول‌های سفید تأثیرگذار باشند. در مطالعه حاضر تعداد گلبول‌های سفید خون بچه ماهیان بستر تغذیه شده با جیره حاوی کرم خاکی (تیمارهای ۲ و ۳) نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد که خود بیانگر این حقیقت است که جیره حاوی کرم خاکی باعث تحریک و بالا بردن سیستم ایمنی می‌شود.

نتایج این مطالعه نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به شاهد، نشان دهنده بهبود شرایط اکسیژن رسانی به بافت‌ها، فرایند سوخت و ساز و انتقال CO_2 از بافت‌ها به بیرون بدن می‌باشد (Kazemi و همکاران، ۲۰۰۵). از آنجایی که هموگلوبین، پروتئینی است که ۹۵ درصد گلبول قرمز را تشکیل می دهد، افزایش میزان هموگلوبین در تحقیق حاضر، مؤید افزایش تعداد گلبول قرمز است (Walker و همکاران، ۲۰۰۷).

عوامل مختلفی بر میزان هماتوکریت می تواند تأثیر گذار باشد. مانند تغییر پلاسما، تغییر حجم گلبول‌های قرمز و کاهش یا افزایش تولید گلبول‌های قرمز توسط بافت‌های خون ساز (Witters و همکاران، ۱۹۹۰؛ Pearson و همکاران، ۱۹۹۱) مقادیر هماتوکریت کاملاً به موازات مقادیر و تعداد گلبول‌های قرمز خون است و مانند هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند سن، جنس، نژاد، محیط و غیره قرار دارند (عامری مهابادی، ۱۳۷۸). درصد هماتوکریت نیز تابعی از تعداد گلبول‌های قرمز بوده و رابطه مستقیم با آن دارد که در تیمارهای ۲ و ۳ نسبت به شاهد از مقادیر بیشتری برخوردار است که با نتایج مطالعه Tangestani و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد.

با توجه به نتایج این تحقیق مقادیر متوسط نوتروفیل، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌ها دارای اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارها بودند که این اختلاف در تعداد ائوزینوفیل وجود نداشت. از آنجایی که عمده ترین فعالیت نوتروفیل‌ها انجام عمل فاگوسیتوز فعال است (Kazemi و همکاران، ۲۰۰۵) در این بررسی مشاهده شد در تیمارهای ۲ و ۳ تعداد نوتروفیل‌ها افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند.

لنفوسیت‌ها فراوان ترین یاخته‌های سفید خونی را تشکیل می‌دهند که مهم‌ترین نقش آن ایجاد مکانیزم‌های ایمنی از طریق تولید پادتن ایمنوگلوبولین می‌باشد. ایمنوگلبولین، گلیکوپروتئین‌هایی هستند که توانایی پیوند با آنتی ژن را در حد زیاد دارا بوده و از لنفوسیت‌های B در تولید پلاسما و حفاظت در برابر عوامل عفونی آنتی‌ژن از خود بروز می دهند (Kazemi و همکاران، ۲۰۰۵). این در حالی است که لنفوسیت‌ها که نقش سیستم ایمنی کل را بر عهده دارند، در این مطالعه در تیمارهای ۲ و ۳ کاهش یافتند، یعنی تعداد آن در تیمار شاهد بسیار بیشتر از سایر تیمارها است که این اختلاف یا ناشی از استرس‌های مزمن بوده و یا به‌علت قدرت عوامل ایجاد کننده ایمنی غیراختصاصی می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصل میزان مونوسیت در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد

داشته که نشان‌دهنده بهبود ایمنی اختصاصی در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی کرم خاکی می‌باشد. افزودن ۱۵ درصد کرم خاکی باعث افزایش روند رشد شده و بیش از این احتمالاً منجر به اثرات منفی در شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی خون می‌شود نتایج مطالعه حاضر گواه بر این استدلال می‌باشد. نقش کرم خاکی به‌عنوان یک جایگزین جیره غذایی دقیقاً مشخص نشده و نیاز به تحقیق بیشتری دارد اما چیزی که واضح است افزودن مقدار بهینه کرم خاکی سبب افزایش روند شاخص‌های خونی (گلبول‌های سفید و قرمز و هموگلوبین، هماتوکریت) و سیستم ایمنی و احتمالاً فعالیت آنزیمی ماهی خواهد شد.

آنزیم‌های کبدی: با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان اذعان نمود که در فاکتورهای آلکالین فسفاتاز، کلسترول، تری‌گلیسرید و آنزیم‌های کبدی شامل SGOT، SGPT بین تیمارهای آزمایشی و شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد اما در فاکتورهایی نظیر نیتروژن اوره خون و پروتئین بین گروه‌های آزمایشی و شاهد اختلافات معنی‌دار نشد.

اوره با شکسته شدن پروتئین‌ها در کبد تولید می‌شود و از طریق ادرار دفع می‌گردد اگر کلیه‌ها قادر نباشد که اوره را به‌صورت طبیعی از بدن دفع کنند مقدار نیتروژن اوره خون بالا می‌رود. نارسایی قلبی، دهیدراسیون (از دست دادن آب) یا رژیم پروتئین می‌تواند باعث بالا رفتن نیتروژن اوره خون شود.

نتایج مطالعه حاضر حکایت از کاهش میزان آنزیم SGOT در تیمارهای ۲ و ۳ دارد در حالی که مقادیر آنزیم SGPT و آلکالین فسفاتاز در تیمار ۳ بیش از تیمار ۲ و شاهد بوده است. تیمار غذایی که با درصد بالای کرم خاکی تغذیه شده بودند دارای بالاترین آنزیم کبدی بودند با افزایش مقدار عددی کرم خاکی در جیره غذایی مورد مطالعه SGPT از روند افزایشی برخوردار بوده است و این احتمال وجود دارد که با افزایش مقدار کرم خاکی با بیش از ۷۰ درصد احتمالاً میزان بار آلودگی ناشی از تغذیه در این سطوح کرم خاکی افزایش یابد، دلیل این امر را شاید بتوان در محیط رشد این کرم‌ها بررسی نمود به‌طوری‌که میزان باکتری‌های مضر به میزان بیش از حد طبیعی بوده و این امر باعث افزایش آنزیم‌های کبدی گردیده است. افزایش روند رشد ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱۵ درصد نسبت به تیمار ۳۰ درصد گواه بر این ادعاست. Ogbe و همکاران (۲۰۰۵) فاکتورهای رشد را بر روی ماهی *Clarias gariepinus* تغذیه شده با کرم خاکی مشاهده نمودند که سطوح مختلف کرم خاکی هیچ گونه اختلاف معنی‌دار آماری در فاکتورهای رشد مشاهده ننمودند ($P>0/05$).

Ng و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی جهت تغذیه به بچه ماهیان انگشت قد گربه ماهی آفریقایی تغذیه شده با کرم خاکی به این نتیجه رسیدند که بچه ماهیان تغذیه شده با کرم خاکی رشد سریع‌تر و درصد بازماندگی و مقاومت در برابر استرس بالاتری نسبت به بچه ماهیان گروه شاهد که از کرم خاکی تغذیه نکرده بودند نشان داد ($P>0/05$).

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد فاکتورهای خونی نظیر گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCH، نوتروفیل، لنفوسیت و مونوسیت از یک سو و شاخص‌هایی چون کلسترول، تری‌گلیسرید و آنزیم‌های SGOT و SGPT و آلکالین فسفاتاز ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱۵ درصد کرم خاکی به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بهبود یافتند همچنین مصرف غذای غنی شده با ۱۵ درصد کرم‌های خاکی، منجر به افزایش سیستم ایمنی، بهبود مقادیر آنزیم‌های آلبومین، اوره، چربی خون و پروتئین در هیبرید بستر نسبت به ماهیان تغذیه شده با تیمار شاهد ماهیان با تیمار ۳۰ درصد خواهد شد.

منابع

ابراهیمی، ع.، پوررضا، ج.، پاناماریوف، سرگی. و.، کمالی، ا.، و حسینی، ع.، ۱۳۸۳. اثر مقادیر مختلف پروتئین و چربی بر رشد و ترکیب شیمیایی لاشه بچه ماهیان انگشت قد فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی، سال ۱۱، شماره ۳، صفحه‌های ۱٤۱ تا ۱۵۱.

آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیرو پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). انتشارات دانشگاه تهران، ۳۰٤ صفحه.

بیلیایوا و. ن.، ولاسنکو، آ.د.، وایوانوو، و، پ.، ۱۹۸۹. دریای خزر (ایکتیوفون و ذخایر صنعتی) (ترجمه: اطلان پرویز). آکادمی علوم اتحاد شوروی (سابق) کمیته‌های مربوط به علوم و تکنیک هیئت علمی مربوط به مطالعات موضوعات دریای خزر. انستیتیوی موضوعات آبزیان. مسکو، ۲۲۵ صفحه.

شمسایی، م.، امینی، ش.، ۱۳۹۰. امکان تولید کرم خاکی (*Eisenia foetida*) در مزارع پرورش ماهیان گرم آبی به منظور استفاده در تغذیه ماهی کپور معمولی، مجله شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، صفحه‌های ۱۰٦ تا ۱۱۹.

شاهسونی، د.، وثوقی غ.ح.، و خضرایی‌نیا پ.، ۱۳۸۰. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری انگشت قد (قره برون و ازون برون) در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۵۰، صفحه‌های ۱٤ تا ۱۸.

عامری مهابادی، م.، ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۲٦ صفحه.

کامکار م.، حبیبی ف.، لطفی‌نژاد ح.، سعیدی ع.ا.، پورغلام ر.، و یوسفیان، م. ۱۳۷۸. مقایسه تعداد گلبول‌های سفید خون و شمارش افتراقی آنها در ماهیان خاویاری قره برون و دراکول. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ٤٤، صفحه‌های ۱۳۱ تا ۱۳۳.

محسنی، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی ر.، و علیزاده، م.، ۱۳۸۵. گزارش نهایی پروژه تعیین احتیاجات غذایی فیل ماهی از مرحله لاروی تا مرحله عرضه به بازار. انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۲۲٤ صفحه.

Bullis R.A., 1993. Clinical pathology of temperate fresh water and estuarine fish. In: Fish Med. (Ed.) Stoskopf. Pp, 232-239.

Kasumain, A.O., 1994. Olafactory sensitivity of the sturgeon to free amino acids. J. Ichthyology 23, 228-232.

Kazemi, R., Bahmani, M., Hallajian, A., Pourkazemi, M., and Dejandian S., 2005. Investigation of blood serum osmo–ione regulation in brood and reared juvenile *Acipenser persicus*. 5" I.S.S. Ramsar, Iran.

Klontz G.W., 1994. Fish Hematology. In: Techniques in Fish Immunology, Stolen, J.S., T.C. Flecher, A.F. Rowely, T.C. Zelikoff, S.L. Kaattari and S.A. Smith (Eds.). Vol. 2, SOS Publications, USA. Pp, 121-132.

Ng, W.K., 2001. Earthworm as a potential feed for fishes. Hand book, 132, 200-212.

Ogbe, F.G., Tiamiyu, L.O., and Eze, P.N., 2005. Growth performance of *Clarias gariepinus* fingerlings fed earthworm meil (*Lumbricus terrestis*) as replacement for fishmeal. Department of Fisheries and Aquaculture 27, 214-218.

Pearson, M.P., and Stevens, E.D., 1991. Size and hematological impact of the splenic erythrocyte reservoir in rainbow trout, (*Onchorynchus mykiss*). Fish Physiol. Biochem. 9, 39-50.

Witters H.E., and Van Puymbroeck, S., Van Den Sande, I., and Vanderborght, O.L.J., 1990. Haematological disturbances and osmotic shifts in rainbow trout, (*Onchorynchus mykiss*) under acid and aluminum exposure. J. Comp. Physiol. 160, 563–571.

Yang, J., 2001. Analysis and evaluation on nutrition of natural forages of *Mystus guttatus*. Hand Book 2, 19-22.

New Technologies in Aquaculture Development, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 10, No. 1, Spring 2016

Effect of adding earth worm to diet on hematological parameters and hepatic enzymes of bester (*Acipenser ruthenus*× *Huso huso)*

Z. Rahmati Parast[1], *H. Vahabzadeh[2] and M. Mohseni[3]
[1,2] Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran
[3]Organization of research, education and extension, Research Institute of Fisheries Science, the International Research Institute of Caspian Sea sturgeon, Rasht

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of replacement of dietary fish meal with earthworm in Bester (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*) diet. 450 fish (350±35 g) were adapted with new condition and distributed into 9 concrete tanks and were reared with three experimental treatments (100%pelleted diet as a control, 15% live food + 85% pelleted diet and 30% live food + 70% pelleted diet) throughout 8 weeks. After 8 weeks of rearing, the blood samples were collected to assess haematological parameters of fish in the various treatments. Result showed significant differences in blood parameters such as white and red blood cell, Hb, Htc, MCH, Neutrophil, Lymphocyte and Monocyte ($P<0.05$), But there were no significant difference in and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC;%) and eosinophil. In this study significant differences were observed in cholesterol, triglyceride, alkaline phosphates, SGPT and SGOT, levels but there is no significant differences were observed in total protein, albumin, urea and blood nitrogen between treatments. According to the results, adding 15% earthworm into pelleted diet improved blood parameters and can be replaced in pelleted diet.

***Keywords**:* Hepatic enzymes, Blood parameters, Earthworm, Bester (*Acipenser ruthenus* ×*Huso huso*)

*Corresponding author; habib.vahabzadeh@gmail.com