اثر سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی صبیتی انگشت قد *Sparidentex hasta*

اعظم نیک‌نام شیری[۱]، رحیم عبدی[۲*]، امیر پرویز سلاطی[۳]، عبدالعلی موحدی‌نیا[۴]، جاسم غفله مرمضی[۵]

۱- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: azamnicknam@gmail.com

۲- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: abdir@kmsu.ac.ir

۳- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: salatia@gmail.com

۴- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، استان خوزستان، خرمشهر، پست الکترونیکی: movahedinia@kmsu.ac.ir

۵- پژوهشکده آبزی پروری جنوب کشور، پست الکترونیکی: marammazi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۴ ** نویسنده مسوول* *تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۸*

© نشریه علمی ـ پژوهشی اقیانوس‌شناسی ۱۳۹۲، تمامی حقوق این اثر متعلق به نشریه اقیانوس‌شناسی است.

چکیده

ماهی صبیتی یکی از ماهیان با ارزش از نظر اقتصادی در خلیج فارس است که در آبزی‌پروری نیز مورد توجه زیادی است. سطوح بهینه اجزای جیره غذایی تضمین‌کننده رشد و سلامتی ماهی است. در مطالعه حاضر تغذیه با سطوح متفاوت پروتئین و اسید آمینه به منظور بررسی اثرات آن بر پارامترهای خون شناسی ماهی صبیتی انجام گرفت. برای این منظور ماهیان ۳۰ تا ۳۵ گرمی پس از ۲ هفته تطابق با یک جیره غذایی بدون چربی، به مدت ۸ هفته در ۳۶ تانک ۳۰۰ لیتری با جیره‌های غذایی آزمایشی حاوی مقادیر مختلف پروتئین و لیپید تغذیه شدند. به‌طوری‌که تغذیه ماهیان ۲ بار در روز در ساعات ۱۰ صبح و ۱۷ بعد از ظهر با ۴ سطح پروتئین مختلف (۴۵٪، ۵۰٪، ۵۵٪و ۶۰٪) و سه تکرار برای هر تیمار غذایی در نظر گرفته شد و ماهیان به مدت ۶۰ روز با جیره های فوق الذکر تغذیه شدند. در پایان دوره‌ی آزمایش، نمونه‌های خونی با سرنگ‌های هپارینه دریافت و پس از انتقال به آزمایشگاه و شمارش گلبول‌های سفید و قرمز، اندازه‌گیری هماتوکریت، هموگلوبین و اندیس‌های خونی طی بررسی آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت‌هایی بین گروه‌های مختلف با جیره متفات مشاهده گردید اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که در خصوص پرورش ماهی صبیتی از نظر مطالعات خون‌شناسی، رژیم‌های مورد نظر دارای شرایط بهینه برای گونه مورد نظر هستند.

کلمات کلیدی: *پروتئین، جیره، خون‌شناسی، ماهی صبیتی.*

۱. مقدمه

در پرورش ماهیان، تغذیه به‌طور واضح نقش مهمی در نگهداری سلامتی آن‌ها دارد (Pieterse et al., 2000). نیازهای غذایی ماهیان هم مشابه دیگر مهره‌داران است، یعنی آن‌ها هم برای رشد، تولیدمثل ودیگر عملکردهای فیزیولوژیکی معمول خود نیاز به مصرف پروتئین، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فاکتور رشد و منابع انرژی دارند (Babalola et al., 2011). از این رو نقص در یک یا چند ماده مغذی ضروری می‌تواند باعث کاهش میزان کارایی ماهی، بیماری یا حتی مرگ شود (Barrows et al., 2007). اثر سطوح مختلف پروتئین جیره غذایی بر پارامترهای خون‌شناسی ماهی در گونه‌های مختلف مانند ماهی صبیتی و قزل‌آلا و توسط سایر محققین گزارش گردیده و تاثیر آن بر روی گلبول‌های قرمز و سفید خون نشان داده شده است (Cheng et al., 2006; Barrows et al., 2007). پروتئین گران‌ترین ماده تشکیل دهنده جیره ماهی است. در واقع پروتئین یک ماده مغذی ضروری است که برای اطمینان از سلامتی، رشد و نوشدن سلولی باید به مقادیر کافی تأمین شود. پروتئین‌های رژیم غذایی منبع آمینواسیدهای ضروری هستند و نیتروژن رابرای سنتز آمینواسیدهای غیرضروری فراهم می‌کنند (Craig and Helfrich, 2002). از طرف دیگر نگهداری یک نسبت مناسب پروتئین به انرژی در جیره غذایی حایز اهمیت است. انرژی کافی باید فراهم باشد تا پروتئین جیره برای رشد مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از منابع انرژی غیر پروتئینی (لیپید و کربوهیدرات) جهت تأمین نیاز انرژی ماهی موجب کاهش اکسیداسیون اسیدهای آمینه و در پی آن افزایش مصرف پروتئین جیره غذایی جهت رشد می‌شود. این اثر لیپید و کربوهیدرات در تغذیه‌ی آبزی، صرفه‌جویی یا حفظ پروتئین گفته می‌شود (Yilmaze and Genc, 2006; Zakes et al., 2010). اگر مقدار انرژی جیره غذایی اضافی باشد، در بدن ماهی ایجاد چربی می‌کند و اگر میزان انرژی کافی نباشد، پروتئین رژیم غذایی به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌شود و در نتیجه باعث کاهش رشد می‌شود. بنابراین، حفظ تعادل میان انرژی و پروتئین در ساخت غذای ماهی ضروری است (Mekbungwan and Yamauchi, 2004).

ماهی صبیتی با نام علمی *Sparidentex hasta* بومی خلیج فارس، غرب اقیانوس هند و سواحل هند است. زیستگاه آن از آب‌های ساحلی تا اعماق آب بوده و گزارش شده که در بیشتر ماه‌های سال در خوریات حضور دارد و بیشتر از بی‌مهرگان و سخت پوستان تغذیه می‌کند. با توجه به ذائقه پسندی، این ماهی به‌عنوان یک گونه بومی ارزش بالایی برای تکثیر و پرورش دارد. همچنین در خصوص اثر سطوح مختلف پروتئین جیره بر پارامترهای خون‌شناسی این‌گونه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. بنابراین در این تحقیق سعی شده است تا به تاثیر جیره‌های متفاوت از نظر پروتئین بر روی پارامترهای خونی ماهی صبیتی پرداخته شود (Watanabe, 2002).

۲. مواد و روش‌ها

۶۱۲ عدد بچه ماهی صبیتی با میانگین وزنی اولیه ۲۷/۹۹ گرم که در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) تکثیر شده بود جداسازی و به طور تصادفی با تراکم ۱۷ عدد ماهی در هر مخزن ۳۰۰ لیتری پلی اتیلنی مستطیلی جمعا ۳۶ مخزن رها سازی شدند. تانک‌ها در یک فضای سرپوشیده که مجهز به سامانه‌ی هوادهی، تخلیه‌ی آب مرکزی، شیرهای تنظیم آب و هوا و همچنین سامانه‌ی گرمایشی بود قرار گرفته بودند. دما در محدوده ۱/۸۵ ± ۲۴/۶۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. تیمارها به‌مدت دو هفته با غذای دستی وپلیت تجاری که کمترین میزان پروتئین و انرژی بالانس شده را دارا بودند، برای تطابق تغذیه شدند. در این مدت، تغذیه ماهیان ۲ بار در روز در ساعت‌های ۱۰ صبح و ۱۷ بعد از ظهر تا حد سیری انجام شد. در این مطالعه برای ماهیان صبیتی انگشت قد ۱۲ جیره غذایی آزمایشی با ۴ سطح پروتئین مختلف (۴۵٪، ۵۰٪، ۵۵٪ و ۶۰٪) تعریف گردید و سه تکرار برای هر تیمار غذایی در نظر گرفته شد. لازم به یادآوری است که تنها تاثیر پروتئین بر فاکتورهای خونی مد نظر بوده و از آنالیز سایر فاکتورها صرف نظر شده است (جدول ۱). ماهیان به مدت ۶۰ روز با جیره‌های فوق الذکر تغذیه شدند. بعد از هر غذا دهی فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی (دما، شوری، pH) در دو نوبت صبح و ظهر بعد از غذا دهی اندازه‌گیری شده تا تغییری در مقدار آن طی دوره آزمایش دیده نشود. شدت نور به‌صورت طبیعی در نظر گرفته شده بود. در انتهای دوره‌ی آزمایش از هر تانک ۳ ماهی و در کل از هر تیمار ۹ ماهی برای خونگیری برداشته شدند. ماهیان با غلظت‌های بالای گل میخک کشته شده و با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با حساسیت ۱ گرم توزین گردیدند. خون‌گیری از ورید ساقه دمی انجام گرفت. بعد از خون‌گیری، سرنگ را از بدن ماهی خارج و سپس سوزن از سرنگ جدا شد. خون داخل سرنگ را به آرامی به درون لوله آزمایش وارد نموده و بلافاصله لوله آزمایش در مجاورت یخ قرار داده شد، در پایان این مرحله نمونه‌ها به آزمایشگاه دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند.

جدول ۱: جیره‌های غذایی استفاده شده در ماهی صبیتی طی دوره آزمایش

درصد پروتئین خام	٪۴۵				٪۵۰				٪۵۵				٪۶۰	
مواد(٪)	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12
پودر ماهی	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵	۴۵
پودر سویا	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵	۱۰	۱۵	۸	۴/۴۵	۸	۴/۵۰	۰/۱۵
ژلاتین	۳	۳	۲/۷۰	۷/۳۲	۷/۶۰	۱۱/۶۲	۱۲/۹۳	۱۳	۱۴/۵۰	۱۶	۱۷/۷۰	۱۹/۹۲
کازئین	۱۳/۵۰	۱۳/۵۵	۱۴	۱۵	۱۴/۷۵	۱۳	۱۵	۱۹/۲۵	۱۹/۶۰	۳/۳	۲۳/۴۰	۲۳/۴۰
روغن ماهی	۱/۵۰	۵/۷۲	۹	۱	۴/۹۰	۷/۹۰	۰/۵۰	۳/۶۵	۷/۱۰	۰/۲۵	۳	۵/۹۱
روغن گیاهی آفتابگردان	۱/۵۰	۵/۷۲	۹	۱	۵	۸	۰/۵۰	۳/۸۵	۳	۰/۲۰	۳	۶
مخلوط ویتامین	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۵۰	۰/۲۵	۰/۸۰	۰/۵۰	۰/۲۵
مخلوط عناصر معدنی	۱	۱	۰/۷۵	۱	۱	۰/۷۲	۱/۱۰	۱	۰/۵۰	۱	۱	۰/۲۵
دکسترین	۱۴	۵/۵۵	۱/۷۵	۹	۲	۲	۴	۳	۰/۶۰	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۱۵
بافت همبند	۴	۴/۹۵	۲/۳۰	۵/۱۸	۴/۲۵	۱/۲۵	۵/۴۰	۲/۷۵	۱	۶	۲/۵۰	۰/۵۰

۲-۱. *شمارش گلبول‌های قرمز*

برای شمارش گلبول‌های قرمز از روش دستی استفاده شد. برای این کار در ملانژور شمارش گلبول قرمز خون تا علامت ۰/۵ کشیده شده و سپس تا علامت ۱۰۱ با محلول هندریکز پر شد. سپس ملانژور حاوی خون و رقیق کننده به مدت ۲ دقیقه روی شیکر قرار داده شد تا محلولی یکنواخت حاصل شود. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز از مربع وسط لام نئوبار استفاده شده و تعداد گلبول‌های قرمز در ۴ خانه اطراف و ۱ خانه در مرکز این مربع شمارش گردید. برای محاسبه‌ی تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز شمارش شده در ۵ خانه با هم جمع و سپس در عدد ۱۰,۰۰۰ ضرب شد. عدد حاصل بیانگر تعداد گلبول‌های قرمز در یک میلی متر مکعب خون است (Houston, 1990; Cameron et al., 2002).

۲-۲. *شمارش گلبول‌های سفید*

برای شمارش گلبول‌های سفید در ماهی از محلول‌های رقیق کننده‌ای مانند شاو و پروزکا – اسکروبک استفاده می‌شود. اگرچه با استفاده از این محلول‌ها در زیر میکروسکوپ گلبول‌های قرمز و هسته آن‌ها صورتی کمرنگ دیده می‌شوند، اما گلبول‌های سفید دارای سیتوپلاسم و هسته‌های پررنگ در تمام لام هموسیتومتر قابل مشاهده هستند.

به‌منظور شمارش، گلبول های سفید خون را تا علامت ۰/۵ به داخل پیپت کشیده و بقیه آن تا علامت ۱۱ با رقیق کننده پر شد. تعداد گلبول‌های سفید در ۴ مربع در چهار گوشه لام نئوبار شمرده و سپس در عدد ۲۰۰ ضرب شد. عدد حاصل تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی متر مکعب خون است (Houston, 1990).

۲-۳. *اندازه‌گیری هماتوکریت*

به‌منظور اندازه‌گیری هماتوکریت از روش میکروهماتوکریت استفاده شد. طول لوله‌های استاندارد میکروهماتوکریت ۷۵ میلی متر و قطر آنها۱/۱ تا ۱/۲ میلی‌متر است. با استفاده از خاصیت مویینگی حداکثر تا دو سوم لوله از خون پر می‌شود، سپس انتهای خشک لوله را در وضعیت عمودی در خمیر میکروهماتوکریت فرو برده تا در حدود ۶-۴ میلی متر انتهای لوله با خمیر پر شود. لوله‌ها به‌صورت متقارن در شیارهای سانتریفیوژ هماتوکریت قرار داده شدند، در حالی که انتهای بسته شده با خمیر لوله‌ها به سمت خارج صفحه سانتریفیوژ قرار گیرد. پس از پایان سانتریفیوژ با استفاده از خط‌کش مخصوص طول ستون گلبول‌های قرمز اندازه‌گیری شده و هماتوکریت بر حسب درصد قرائت می‌گردد (Morris and Davey, 1996).

۲-۴. *تعیین میزان هموگلوبین*

در این روش به ۵ میلی لیتر محلول درابکین ۲۰ میکرولیتر خون اضافه می‌گردد. محلول حاصل را خوب مخلوط نموده و در دمای آزمایشگاه قرار داده شده تا تمام اشکال هموگلوبین به سیانومت هموگلوبین تبدیل شوند. سپس محلول حاصل به‌مدت ۶ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شده و محلول رویی برای اندازه‌گیری هموگلوبین برداشت می‌گردد. سپس برای تهیه استاندارد به ۵ میلی‌لیتر درابکین ۲۰ میکرولیتر محلول استاندارد

(با غلظت هموگلوبین معین) افزوده شد. جذب نوری استاندارد و مجهول را در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت و با استفاده از رابطه زیر میزان هموگلوبین نمونه محاسبه می‌گردد (حقیقی، ۱۳۸۸)

جذب نوری نمونه خون مورد / جذب نوری استاندارد × غلظت استاندارد = غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر آزمایش

۲-۵. روش تهیه گسترش خونی و شمارش افتراقی

برای تهیه گسترش خونی ابتدا یک قطره کوچک خون در یک انتهای لام قرار داده شد. سپس لامل تمیز با زاویه ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد به لامی که قطره خون بر روی آن قرار داشت نزدیک شد تا با خون تماس حاصل نماید و سپس این لام با حرکتی آرام و ملایم بر روی لام گسترش به‌طرف جلو رانده شد تا خون در سطح لام گسترش یافته و لایه‌ی نازکی از خون تشکیل گردد. سپس لام به سرعت در هوا خشک شد و به مدت ۱-۲ دقیقه در متانول ۹۵ درصد ثابت و از روش رنگ آمیزی گیمسا استفاده شد. رنگ‌آمیزی به این صورت بود که رنگ گیمسا به‌نسبت ۱ به ۴ با آب مقطر رقیق شد و به مدت ۲۰ دقیقه روی لام‌های گسترش خونی ریخته شده و بعد از خشک شدن لام زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت (Lin and Shiau, 2003).

۲-۶. اندیس‌ها یا ضرایب گلبولی

این اندیس‌ها شامل حجم متوسط گلبول قرمز، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز هستند. حجم متوسط گلبول قرمز خون، عبارت است از حجم متوسط گلبول قرمز نمونه‌ای از خون و از تقسیم هماتوکریت بر حسب میلی لیتر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر خون برتعداد اریتروسیت‌ها (Er)، بر حسب میلیون در میلی متر مکعب خون مطابق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$MCV = \frac{PCV \times 1000}{Er}$$

هموگلوبین متوسط گلبول قرمز خون عبارت است از وزن متوسط هموگلوین موجود در یک گلبول قرمز نمونه‌ای از خون که بر حسب پیکوگرم بیان می‌شود. از تقسیم نمودن هموگلوبین بر حسب گرم در دسی لیتر بر تعداد اریتروسیت‌ها بر حسب یک میلیون در هر میلی‌متر مکعب به‌دست می‌آید.

$$MCH = \frac{HB \times 10}{Er}$$

همچنین غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز از رابطه‌ی زیر محاسبه شد:

$$MCHC = \frac{HB \times 100}{PCV}$$

۳. نتایج

اگرچه طی بررسی آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت‌هایی بین گروه‌های مختلف با جیره متفاوت در پارامترهای خونی اندازه-گیری شده مشاهده گردید، اما از لحاظ مقیاس آماری معنی‌دار نبوده است ($p>0/05$). بیشترین و کمترین مقدار هماتوکریت به‌ترتیب در جیره ۲ و ۴ مشاهده شد. همچنین بیشترین و کمترین مقدار گلبول سفید نیز به‌ترتیب در جیره‌های فوق مشاهده گردید. بیشترین و کمترین مقدار گلبول قرمز در جیره‌های ۷ و ۶ مشاهده شده و بیشترین و کمترین مقدار هماتوکریت در جیره‌های ۸ و ۴ مشاهده گردید. بیشترین و کمترین مقدار MCV به ترتیب در جیره‌های ۴ و ۱ مشاهده شد. همچنین در MCH بیشترین و کمترین مقدار مربوط به جیره‌های ۴ و ۸ بوده و کمترین و بیشترین مقدار MCHC به‌ترتیب در جیره‌های ۸ و ۴ مشاهده گردید (جدول ۲ و ۳).

۴. بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به این که تغذیه، نقش مهمی در کیفیت رشد و سلامت آبزیان در سامانه‌های پرورشی دارد، استفاده از یک جیره غذایی مناسب نقش بسزایی را در تأمین نیازهای غذایی آبزی ایفا می‌کند. ماهیان گوشتخوار، به مقدار بالایی پروتئین و چربی در جیره‌های غذایی خود نیاز دارند (Watanabe, 2002). شاخص‌های خون شناسی پارامترهای مهمی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی جاندار هستند. یک تغذیه متعادل در ماهیان با ارزیابی نرمال شاخص‌های خون شناسی مرتبط است (Misaila., 1998). برخی نقایص تغذیه‌ای و ناکارایی پروتئین‌های خاص و مواد معدنی

ممکن است باعث وضعیت آنمی شدید شود. که این به خاطر کاهش هماتوکریت و هموگلوبین است (Mohamed, 2001; Cheng et al., 2006). که در تحقیق حاضر چنین عارضه‌ای مشاهده نشد. در بررسی اثر منابع مختلف لیپید گیاهی و روغن ماهی بر هماتولوژی *Clarias gariepinus* بالاترین مقدار هموگلوبین و MCV و هماتوکریت مربوط به جیره غذایی حاوی روغن ماهی بود (Sotolu, 2010). با این وجود در مطالعه حاضر هیچ یک از فاکتورهای خونی هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز تغییر معناداری را نشان نداد که مربوط به بالانس بین جیره از نظر روغن و پروتئین مورد نظر باشد. Lim و همکاران (۲۰۰۶) نیزدر گربه ماهی کانالی هنگامی که با رژیم غذایی حاوی سطوح افزایشی روغن ماهی نسبت به پروتئین تغذیه شدند، در مورد پارامترهای خون‌شناسی نتایج مشابهی را با مطالعه حاضر گزارش کردند (Yildirim-Aksoy et al., 2009). با توجه به آنچه قبلا در مورد قابل اعتماد بودن فاکتورهای خونی در ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای ماهی ذکر شد، به نظر می‌رسد عدم تغییر معنی‌دار در فاکتور های خونی در مطالعه حاضر بدین‌معنی باشد که هیچ یک ازجیره‌های مورد استفاده برای ماهی صبیتی نامناسب و یا مضر نبوده و فقط با تغییراتی در بالانس ترکیبات آن می‌توان از ایجاد ضایعات پاتولوژیکی در کبد و روده نیز جلوگیری کرد تا به حداکثر میزان هضم و جذب غذا دست یافت که نتیجه نهایی آن رشد هر چه بیشتر و مطلوب‌تر خواهد بود.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعات خون شناسی ماهی صبیتی می‌توان چنین بیان کرد که نسبت‌های پروتئین و انرژی مورد استفاده در این مطالعه دارای اثرات نامطلوب بر ماهی صبیتی نمی‌باشند. در واقع می‌توان با تغییراتی در بالانس ترکیبات جیره‌های غذایی از ایجاد ضایعات احتمالی در خون موجود جلوگیری کرد.

جدول ۲: بررسی پارامترهای خون‌شناسی در جیره‌های غذایی مختلف (Mean±S.E)

جیره غذایی	Hb (g/l)	WBC	RBC (×106 µl)	Haematocrit (%)	MCV(fl)	MCH (pg)	MCHC(%1g/100ml)
D1	۸/۹۱±۰/۰۶	۱۳۶۸/۶±۶۱/۹۲	۱/۰۹۴۰۲۸±۰/۰۲	۲۴/۶±۰/۴۸	۲۲۵/۲۱±۷/۰۱	۸۱/۶±۱/۹	۳۶/۳±۰/۵۲
D2	۸/۹۴±۰/۶۳	۱۴۹۳/۳±۷۳/۳۳	۰/۹۰۰۵±۰/۱۹	۲۵/۶۳±۱/۳۹	۲۶۵/۶۲±۳۰/۶	۹۲/۶±۱۰/۵	۳۵/۱±۲/۲۱
D3	۷/۷۷±۰/۲۴	۱۳۶۶/۳±۸۳/۹	۰/۷۶۷۸۳۳±۰/۱۵	۲۴/۳۹±۲/۰۴	۳۴۷/۶۲±۱۶/۱	۸۰/۴±۵/۷	۳۲/۷±۲/۲
D4	۸/۷±۰/۱۶	۱۲۰۰±۵/۷۳	۰/۷۸۴۸۳۳±۰/۱۳	۲۳/۱۵±۱/۷۵	۳۷۲/۵±۹۲/۳۶	۱۳۶/۷±۳۰/۹	۳۸/۹±۳/۷
D4	۸/۷±۰/۱۶	۱۲۰۰±۵/۷۳	۰/۷۸۴۸۳۳±۰/۱۳	۲۳/۱۵±۱/۷۵	۳۷۲/۵±۹۲/۳۶	۱۳۶/۷±۳۰/۹	۳۸/۹±۳/۷
D6	۸/۵۴±۰/۲	۱۴۶۰±۶/۱	۰/۰۶۱±۰/۰۴۱	۲۸/۴±۱/۰۵	۲۶۸/۷±۹/۱۷	۸۰/۸±۲/۷	۳۰/۲±۱/۱
D7	۸/۰۸±۰/۳۸	۱۴۹۳/۳±۱۷۳/۳	۱/۳۰۵۰۸۳±۰/۲۵	۲۵/۲۴±۰۵۰/۸۲	۲۴۱/۵±۵۰/۴۳	۷۴±۱۴/۷	۳۱/۷±۱/۹۸
D8	۸/۲۵±۰/۲۶	۱۵۶۰±۳/۶	۱/۱۷۵۵±۰/۱۷	۲۸/۸±۲/۷۳	۲۲۷/۳±۲۳/۳۵	۶۵/۸±۵/۵	۲۹/۷±۲/۵
D9	۸/۲۵±۰/۳۳	۱۳۲۳/۳±۱۰۲/۶	۰/۹۶۵۲۲۲±۰/۰۳	۲۷/۱±۲/۱۷	۲۸۲/۳±۲۵/۷	۸۶±۵/۴	۳۲/۰۷±۴/۲
D10	۷/۹۵±۰/۵	۱۳۹۹/۶±۱۰۲/۰۱	۰/۷۱۰۳۳۳±۰/۱۳	۲۴/۵±۱/۲۷	۲۸۲/۳±۲۲/۹	۹۲/۰۸±۱۰/۶	۳۳/۱۵±۳/۳
D11	۸/۴۲±۰/۳۶	۱۴۳۰±۱۰۱/۱۵	۱/۰۳۲۱۶۷±۰/۰۸	۲۵/۴±۱/۶۷	۲۵۵/۴±۲۸/۴	۸۴/۷±۸/۰۱	۳۳/۸±۲/۷
D12	۸/۳۴±۰/۲۲	۱۳۷۰±۶۲/۴۴	۰/۸۸۹۶۶۷±۰/۱۲	۲۷/۷±۳/۸۹	۳۲۸/۲±۳۸/۵	۱۰۶/۶±۱۸/۷	۳۳/۰۵±۴/۲

جدول ۳: شمارش تفریقی گلبول‌های سفید در جیره‌های غذایی مختلف (Mean±S.E)

جیره غذایی	نوتروفیل	منوسیت	لنفوسیت
D1	۲±۱/۱	۲±۱/۱	۹۵±۰/۶
D2	۳/۳±۱/۳	۳/۳±۲/۴	۹۱±۱/۳
D3	۲/۶±۱/۳	۲/۶±۱/۳	۹۰±۴/۱
D4	۲±۱/۱	۲/۳±۱/۳	۹۷±۱/۷
D5	۲±۱/۱	۱/۶±۰/۶	۸۹±۵/۹۲
D6	۳/۳±۳/۳	۲/۶±۱/۷	۸۹±۷/۶
D7	۲/۹±۱	۲/۶±۱/۷	۹۱±۴/۶
D8	۳/۹±۱/۳	۴±۳/۰۵	۸۰±۱۰
D9	۱/۳±۱/۳	۳/۶±۰/۶	۹۷±۰/۶
D10	۲/۹±۱/۳	۴/۳±۳/۵	۸۷±۵/۴
D11	۳/۶±۱	۲/۶±۰/۶	۸۵±۴/۰۵
D12	۵/۳±۱/۳	۴±۲	۸۹±۴/۶

۵. سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بدین وسیله کمال تشکر و قدردانی خود را از کارکنان محترم ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی(ره) که نهایت سعی و تلاش و همکاری خود را مبذول داشتند ابراز می‌نمایند.

منابع

حقیقی، م.، ۱۳۸۸. روش‌های آزمایشگاهی خون‌شناسی ماهی، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی.

Babalola, TO.; Apata, DF.; Omotosho, JS.; Adebayo, MA., 2011. Differential effects of directory lipids on growth performance, digestibility, Fatty of african catfish (*Heterobranchus longifilis*) fingerlings. Food and Nutrition Sciences, 2: 11-21.

Barrows, TF.; Gaylord, GT.; Stone, AJD.; smith, E.C., 2007. Effect of protein source and nutrient density on growth efficiency, histology and plasma amino acid concentration of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum), Aquaculture Research, 38: 1747-1158.

Cameron, C.; Gurure, R.; Reddy, K.; Moccia, R.; Leatherland, J., 2002. Correlation between dietary lipid: protein ratios and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (Linnaeus). Aquac. Res., 33: 383-394.

Cheng, A.; Chen, C.; Liouc and Chang, C., 2006. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters and superoxide anion production in the grouper, *Epinephelus coioides* (Serranidae: Epinephelinae), Zoological Studies, 45: 492-502.

Craig, S.; Helfrich, LA., 2002. Undrestanding fish nutrition, and feeds and feeding Extension Specialists, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, and Department of Fisheris and Wildlife Sciences, Virginia Tech, 420-256.

Houston, AH., 1990. Blood and circulation. In: Moyle (ed) Methods for fish biology. American Fisheries Society, 273–334.

Lim, C.; Webster, C.D., 2006. Nutrition and fish health. The Haworth Press, Inc., Binghamton, New York, USA.

Lin, YH.; Shiau, SY., 2003. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses. Aquaculture, 225: 243-250.

Mekbungwan, A.; Yamauchi, K., 2004. Growth performance and histological intestinal alterations in piglets fed diet aryraw and heated pigeon pea seed meal Histology and Histopathology,19:381–389.

Misaila, E.R., 1998. Biochemical and ecophysiological research on metabolic profile of some cultured fish. Doctoral Thesis. Universitatea Al.I.Cuza Iaşi,

Mohamed, J. S., 2001. Dietary pyridoxine requirrement of indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. Aquaculture. 194:327-335.

Morris, M.W.; Davey, F.R., 1996. Basic examination of blood .In:Clinical Diagnosis and Management by Labotory Methods. Edited by J.B. Henry. chap. 24. NewYork

Pieterse, E.; Goly, E.L.; Viljoen, J., 2000. The effects of dietry Soyabean oil-cake meal on performance and gut histology of piglets. Animal Science. 62-66.

Sotolu, A.O., 2010. Feed Utilization and Biochemical Characteristics of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Fingerlings Fed Diets Containing Fish Oil and Vegetable Oils as Total Replacements. World Journal of Fish and Marine Sciences, 2 (2): 93-98.

Watanabe, T., 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. Fisheries Science, 68: 242-252.

Yildirim-Aksoy, M.; Shelby, R.; Klesiu, P.H., 2009. Increasing fish oil levels in commercial influenc hematological and immunological responses of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, Journal Of The World

Zakes, Z.; Demska-Zakes, K.; Kowalska, A.; Hancz, C. and Jarmolowicz S., 2010. Impact of diets supplemented with rapeseed, soy, and sunflower oils on growth rates and the histological picture of the livers of juvenile pikeperch, (*Sander lucioperca* L.), Arch. Pol. fish, 18:67-75.

Aquaculture Society. 76-79.

Yilmaze, E. and Genc, E., 2006. Effects of alternative dietary lipid sources (soy-acid oil and yellow grease) on growth and hepatic lipidosis of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerling: Apreliminary study, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 6: 37-42