



مقاله علمی - پژوهشی:

اثرات کلرید کبالت و ویتامین C جیره بر عملکرد رشد و برخی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*)

سید محمدصادق رودبارکی^۱، هادی ارشاد لنگرودی^{۱*}، عباسعلی زمینی^۱، بهرام فلاحتکار^۲، رقیه صفری^۳

*ershad5353@gmail.com

- ۱- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
 ۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان، ایران
 ۳- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، گلستان، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۲

چکیده

در این بررسی، اثرات کلرید کبالت (CoCl_2) با دو سطح ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ویتامین C با غلظت‌های ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره و غلظت‌های ترکیبی آنها در ۹ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار روی ۲۷۰ تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) با میانگین وزن اولیه $11/51 \pm 0/29$ گرم طی مدت ۱۲ هفته آزمایش شد. بر اساس نتایج حاصل، میانگین وزن و طول نهایی ماهیان در غلظت ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم CoCl_2 نسبت به شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0/05$). در وزن کسب‌شده، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0/05$). نتایج شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز و سفید به ترتیب در تیمارهای ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم $\text{CoCl}_2 + 200$ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C مشاهده گردید. بیشترین درصد نوتروفیل در تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C مشاهده شد که با تیمارهای 2CoCl_2 ، $800 \text{C} + 4 \text{CoCl}_2$ ، $800 \text{C} + 2 \text{CoCl}_2$ ، $200 \text{C} + 4 \text{CoCl}_2$ و شاهد، اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). درصد لنفوسیت در تیمارهای ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم $\text{CoCl}_2 + 800$ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C، با شاهد، اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0/05$). کمترین درصد مونوسیت در گروه شاهد بود. بیشترین درصد ائوزینوفیل در تیمار ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم $\text{CoCl}_2 + 800$ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها بود. بیشترین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول به ترتیب در غلظت‌های ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم $\text{CoCl}_2 + 200$ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم CoCl_2 مشاهده گردید. نتایج نشان داد که استفاده از ویتامین C و کلرید کبالت به صورت مجزا و ترکیبی در محدوده وزنی مورد نظر اثرات معنی‌داری بر بسیاری از شاخص‌های رشد طی دوره پرورش داشت. اثر ویتامین C بر شاخص‌های مورد مطالعه در مقایسه با کلرید کبالت بیشتر بود. اثرات مثبت تیمارهای ترکیبی در اغلب شاخص‌ها بیشتر از تیمارهای مجزا بود. نهایتاً، جیره غذایی حاوی ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم $\text{CoCl}_2 + 200$ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C برای پرورش تاس‌ماهی سبیری جوان مناسب قلمداد گردید.

لغات کلیدی: تغذیه ماهی، ماهی خاوباری، مکمل خوراکی، رشد، خون‌شناسی

*نویسنده مسئول

مقدمه

با توجه به اهمیت تغذیه و فرمولاسیون جیره در آبی پروری که شامل ۵۰-۴۰ درصد از هزینه‌های جاری دوره پرورش می‌شود، باید عنوان نمود که پرورش موفق ماهیان نیاز به استفاده از خوراک کامل، کارآمد با ترکیب بهینه دارد (Juliana et al., 2012; Mohseni et al., 2011). تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) یک گونه وارداتی از ماهیان خاویاری به ایران است و به علت دارا بودن قابلیت زندگی در آب شیرین، مقاومت در برابر تغییرات شرایط محیطی، سازگاری با دماهای پایین، پذیرش طیف وسیعی از مواد غذایی و استعداد فراوان برای رشد مورد توجه قرار گرفته است (Falahatkar, 2018). بین گونه‌های مختلف ماهیان خاویاری، تاس ماهی سیبری یکی از گونه‌های مهم و اصلی‌ترین گونه پرورشی جهان بوده که این گونه را به عنوان یک گزینه مناسب برای اهداف آبی پروری تبدیل کرده است (Eslamloo et al., 2012)، و نیز به عنوان یک مدل زیستی جهت مطالعات فیزیولوژیک و تغذیه‌ای است (Fontagné et al., 2006). از شرایط مهم و ضروری برای موفقیت در پرورش تاس ماهی سیبری توجه به جیره غذایی مناسب، مدیریت تغذیه و اعمال استراتژی‌های مناسب در مواجهه با شرایط متفاوت پرورش است که چنین استراتژی‌هایی قادرند تا علاوه بر کاهش هزینه‌های تولید، پاسخگوی همه نیازهای تغذیه‌ای تاس ماهی سیبری مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی باشد تا اجازه رشد سریع و سالم به تاس ماهیان داده شود (Mohseni et al., 2013; Mohseni, 2015a).

ایجاد تعادل بین سرعت رشد ماهی و استفاده بهینه از غذا مسئله‌ای، مهم در صنعت آبی پروری است (Bureau et al., 2006). مطالعات تغذیه‌ای به منظور بررسی تبدیل غذای ماهی به گوشت در کوتاه‌ترین زمان ممکن و ایجاد سودآوری و سایر مزایای اقتصادی صورت می‌گیرد (Tatina et al., 2012). ویتامین‌ها ترکیبات آلی هستند که از نظر کمی جزء ناچیز، اما از نظر کیفی جزء ضروری غذا بوده، زیرا در همان مقادیر کم برای رشد طبیعی، تولیدمثل و سلامتی ضروری هستند (Gouda et al., 2020). یکی از ویتامین‌های مهم محلول در آب ویتامین C ($C_6H_8O_6$)

است که به نام اسیدآسکوربیک نیز شناخته می‌شود. این ویتامین یکی از قوی‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی بوده که تاکنون شناخته شده است و یک کوفاکتور اکسیداسیون - احیاء مهم است که مکانیسم‌های حیاتی را به راه می‌اندازد. این ویتامین اثرات منفی رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کند (Ibrahim et al., 2020). ویتامین C پاسخ‌های ایمنی، از جمله نفوذ ماکروفاژ، تکثیر سلولی، سطح لایوزیم، فعالیت فاگوسیتیک لکوسیت‌ها، توسعه سیتوکین‌ها و غلظت آنتی‌بادی را القاء می‌کند (Duman and Şahan, 2018). ماهیان استخوانی فاقد آنزیم ال-گلوکونلاکتون اکسیداز هستند که مسئول سنتز ویتامین C است. بنابراین، نیازهای ویتامین C آنها از یک منبع خارجی باید صورت پذیرد (Ai et al., 2006). نقش ویتامین C در ساخت هورمون‌های استروئیدی (Ruff et al., 2003) اثر بر رشد، بازماندگی بیشتر، مقاومت در برابر عوامل پاتوژنی و بهبود عملکرد تولیدمثل است (Dabrowski, 2000). کبالت یک عنصر کمیاب ضروری بوده که برای رشد و عملکرد فیزیولوژیک در جانوران از جمله ماهیان ضروری است (Li et al., 2022). میزان کبالت در پوسته زمین و آب پراکنش و فراوانی نسبتاً کمی دارد (Karadede-Akin and Ünlü, 2007; Swanner et al., 2014) که به صورت سولفید کبالت بسیار نامحلول رسوب می‌کند. بنابراین، باید از طریق غذا برای آبیان تأمین شود (Mukherjee and Kaviraj, 2009). در محیط‌های دریایی، کبالت مورد نیاز جلبک‌های سبز آبی (سیانوباکتری‌ها) و سایر ارگانسیم‌های تثبیت کننده نیتروژن است. کبالت یکی از ۱۳ ماده معدنی ضروری در رژیم غذایی ماهی است (Al-Ghanem, 2011) و به عنوان یک یون فعال‌کننده در برخی از فعل و انفعالات آنزیمی دخالت دارد. کبالت سازنده ویتامین B12 (سیانوکوبالامین) است که به صورت کلرید کبالت و سولفات کبالت به منظور تأمین مواد معدنی، به غذا افزوده می‌شود و برای جذب نیتروژن، بلوغ گلبول‌های قرمز و سنتز هموگلوبین مورد نیاز است. ویتامین B12 در بسیاری از فعل و انفعالات متابولیک دخالت داشته و با فعالیت‌های بعضی از مواد مغذی دیگر مثل اسید فولیک، اسید پانتوتینیک، کولین و متیونین، رابطه نزدیک دارد (Emadi et al., 2017). میکروارگانسیم‌های

اثرات افزایشی یا کاهش‌ی بر روند رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی در ماهیان خاویاری است. با توجه به توسعه روزافزون پرورش ماهیان خاویاری در جهان و سرعت رشد بالای تاس‌ماهی سبیری و با نگرش به مطالب عنوان شده در خصوص اهمیت حضور ویتامین C و کلرید کبالت در جیره غذایی ماهیان و از آن‌جایی‌که تاکنون مطالعه‌ای در مورد استفاده توأم این دو ماده در ماهیان انجام نشده است، بنابراین مطالعه حاضر به تعیین اثرات ترکیبی و مجزا کلرید کبالت و ویتامین C بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی در تاس‌ماهی سبیری می‌پردازد.

مواد و روش کار

تهیه ماهی و شرایط پرورش

این مطالعه در مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان در دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان انجام پذیرفت. به منظور سازگاری ماهیان در شرایط جدید پرورش، ۲۷۰ بچه تاس‌ماهی سبیری پس از زیست‌سنجی با میانگین وزن اولیه $11/51 \pm 0/29$ گرم و میانگین طول کل اولیه $12/92 \pm 0/15$ سانتی‌متر با تراکم ۱۰ ماهی در ۲۷ مخزن فایبرگلاس با ظرفیت ۵۰۰ لیتر (قطر ۱۰۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، حجم مفید آبیگری ۳۵۰ لیتر)، در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیر تنظیم آب و با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی ذخیره گردیدند. در این مطالعه دبی آب تمامی مخازن با یکدیگر مساوی و برابر ۱ لیتر بر دقیقه بود که به طور مداوم تعویض می‌شد. منبع تأمین‌کننده آب مخازن، آب مخزن ذخیره مرکز و از آب چاه تأمین شد. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب نظیر دما، pH و اکسیژن با استفاده از دستگاه‌های سنجش دیجیتال کالیبره (کمپانی WTW، وایلهایم، آلمان) در طول دوره پرورش اندازه‌گیری و ثبت گردید. بر این اساس میانگین دمای آب $22/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد، میانگین pH آب $7/2 \pm 0/1$ و میانگین اکسیژن محلول آب $6/3 \pm 0/3$ میلی‌گرم در لیتر بود. شاخص‌های کیفی آب چاه شامل آهن ۲ ظرفیتی mg/L ۰/۳۹ و آهن ۳ ظرفیتی mg/L ۰/۲۱، آمونیاک mg/L ۰/۲۶۶، نیتريت mg/L ۰/۰۰۳، سولفات mg/L ۰/۲۶۶

روده به سنتز ویتامین B12 کمک می‌کنند، اما فقدان کبالت در جیره غذایی باعث کاهش سنتز ویتامین B12 در روده و ذخیره آن در کبد می‌شود (Younus *et al.*, 2020). کبالت در ماهی‌های آب شیرین از طریق آبشش‌ها و روده به عنوان مسیره‌های اصلی جذب می‌شود (Blust, 2012). کمبود ویتامین B12 چندین ناهنجاری از جمله کمبود اشتها و رشد ضعیف، میزان پایین هموگلوبین و کم‌خونی در ماهی ایجاد می‌کند (Emadi *et al.*, 2017). این ویتامین در متابولیسم واحدهای کربنی، حفظ فعالیت‌های گلوکوتیون و تبدیل متیل مالونیل کوآنزیم A به ساکسینیل کوآنزیم و متیلاسیون هموسیستئین به متیونین نقش دارد (Tacon, 1990). حیوانات و ماهی‌های تک معده به ویتامین جیره غذایی B12 نیاز دارند، زیرا توانایی سنتز این ویتامین به مقدار کافی به‌وسیله میکروبیوتا در دستگاه گوارش آنها وجود ندارد. در برخی از ماهیان گرمابی، به‌وسیله میکروارگانیزم‌ها سنتز روده‌ای ویتامین B12 را انجام می‌دهند. به‌نظر می‌رسد، موجودات زنده نیازهای این ویتامین را برای *Oreochromis niloticus* (Lovell and Limsuwan, 1982; Shiau and Lung, 1993; Shiau and Lung, 1993) و تیلایپای هیبرید (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (Lung, 1993) برآورده می‌کنند. اما برای *Ictalurus punctatus* برآورده نمی‌شود. مقدار بیش از حد کبالت ممکن است عملکردهای فیزیولوژیک و خونی را مختل کنند و کمبود کبالت نیز باعث کاهش سنتز ویتامین B12 در جانوران آبی می‌شود (Hoopes and Koutsos, 2021). اگرچه اثرات کلرید کبالت و ویتامین C به‌تنهایی در آبیان مختلف مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به‌دست آمده از این مطالعات نشان‌دهنده مؤثر بودن آنها بر عوامل مختلف از جمله رشد، استرس و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بوده است (Falahatkar *et al.*, 2006; Rahimi *et al.*, 2012; Pourgholam *et al.*, 2014; Abbas and Javed, 2016; Ibrahim *et al.*, 2020; Younus *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2022). تاکنون گزارشی از اثر ترکیبی کلرید کبالت و ویتامین C در غلظت‌های مختلف بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی در ماهیان خاویاری وجود ندارد و مشخص نیست که ترکیب این دو ماده باهم دارای

قلیابیت کل ۱۱۰/۱۶ mg/L و سختی کل ۳۴۲/۸ mg/L بود که بر اساس آزمایش به دست آمد.

تیمار بندی

تیمار بندی در طراحی کاملاً تصادفی (Completely Randomized Design) (۹ تیمار و ۳ تکرار) به منظور ارزیابی اثر سطوح مختلف کلرید کبالت به همراه ویتامین C در جیره غذایی و تأثیر آنها بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی انجام شد. برای تغذیه ماهیان از جیره تجاری شرکت فرادانه (شهرکرد، ایران) با سایز ۱/۵ میلی‌متر استفاده گردید. براساس آنالیز تقریبی انجام شده ترکیب غذایی جیره مورد استفاده در آزمایش برابر ۵۴ درصد پروتئین خام، ۱۴ درصد چربی خام، ۳ درصد فیبر خام، ۱۱ درصد خاکستر، ۱۱ درصد رطوبت و ۲ درصد فسفر، کبالت و ویتامین C به ترتیب برابر ۰/۰۳ و

۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره بوده است. ویتامین C برای آزمایش از شرکت لابراتوار سئانس (قزوین، ایران) تهیه شد و کلرید کبالت (مرک، دارمشتات، آلمان) برای انجام تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور افزودن ویتامین C و کلرید کبالت به جیره غذایی، ابتدا ویتامین C و کلرید کبالت، به صورت مجزا در ۱۰ میلی‌لیتر آب حل شده و سپس روی پلت‌ها اسپری شدند. برای جدا نشدن این دو ماده از پلت‌های غذا، ژلاتین با غلظت ۱ درصد به منظور پوشش استفاده شد. همچنین به جیره شاهد فقط ماده ژلاتین اضافه گردید (Fansadco, 2021). مدت زمان تغذیه ۱۲ هفته در نظر گرفته شد و غذادهی به صورت روزانه در ۴ نوبت (۶ صبح، ۱۲ ظهر، ۱۸ عصر و ۲۴ شب) بر اساس اشتهای ماهیان انجام گردید. میزان مصرف کلرید کبالت و ویتامین C در تیمارهای مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱: تیمار بندی بر اساس غلظت‌های مختلف ویتامین C و کلرید کبالت در جیره تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*)

Table 1: Treatment based on different concentrations of vitamin C and cobalt chloride in the diet of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Treatments	Description
Control	The control treatment, which does not contain cobalt chloride and vitamin C, and food without additives are used.
2 CoCl ₂	2 mg/kg of cobalt chloride without adding vitamin C
4 CoCl ₂	4 mg/kg of cobalt chloride without adding vitamin C
200 C	200 mg/kg of vitamin C without adding cobalt chloride
800 C	800 mg/kg of vitamin C without adding cobalt chloride
200 C-2 CoCl ₂	2 mg/kg of cobalt chloride and 200 mg/kg of vitamin C
800 C-4 CoCl ₂	4 mg/kg of cobalt chloride and 800 mg/kg of vitamin C
800 C-2 CoCl ₂	2 mg/kg of cobalt chloride and 800 mg/kg of vitamin C
200 C-4 CoCl ₂	4 mg/kg of cobalt chloride and 200 mg/kg of vitamin C

تعیین شاخص‌های رشد

در طول دوره آزمایش، زیست‌سنجی بچه ماهی‌ها هر دو هفته یکبار با ترازوی دیجیتالی مدل DK-300 (ZhiHeng، شانگهای، چین) با دقت ۱ گرم برای وزن و طول نیز با متر نواری مدرج با دقت ۱ میلی‌متر صورت گرفت. شاخص‌های رشد شامل طول و وزن ابتدایی و انتهای و نرخ رشد، نرخ

رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن ماهی‌ها در تیمارهای مختلف آزمایش و شاهد بررسی گردید. به منظور ارزیابی روند رشد، علاوه بر اندازه‌گیری وزن و طول کل ماهیان، شاخص‌های رشد بر اساس منابع موجود از فرمول‌های ذیل محاسبه شد (Falahatkar et al., 2008):

وزن اولیه (g) - وزن نهایی (g) = وزن کسب شده (WG)

۱۰۰ × ((وزن اولیه (g)) / (وزن اولیه (g) - وزن نهایی (g))) = افزایش وزن بدن (BWI)

افزایش وزن مرطوب / غذای خشک مصرف شده = ضریب تبدیل غذا (FCR)

تعیین شاخص‌های خونی

در انتهای دوره پرورش، از پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر (Mohseni, 2015b) جهت بیهوشی ماهیان استفاده شد و سپس خونگیری با کمک سرنگ هیپارینه ۲ میلی‌لیتر از ناحیه دمی انجام گرفت. بعد از گرفتن ۲ میلی‌لیتر خون (به تعداد ۳ ماهی از هر تیمار)، ۰/۵ میلی‌لیتر خون به داخل ویال‌های ۱ میلی‌لیتری شماره‌گذاری شده برای سنجش شاخص‌های خونی (CBC) منتقل و ۱/۵ میلی‌لیتر باقی‌مانده به داخل ویال‌های ۲ میلی‌لیتری شماره‌گذاری شده به منظور تهیه پلاسما برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون ریخته و در کلمن حاوی یخ خشک به آزمایشگاه منتقل گردید. برای شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و گلبول‌های سفید خون (WBC)، پس از همگن‌سازی به کمک پیپت ملانژور و محلول رقیق‌کننده رنگی Lewis در ۰/۱ گرم (Brilliant crystal blue) رقیق‌سازی (به علت تراکم بالای گلبول‌های خونی ماهیان) انجام شده و روی لام هموسیتومتر نئوبار تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در میلی‌متر مکعب خون برای هر نمونه محاسبه شد. محاسبه تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با معادلات متداول صورت پذیرفت (Suryani et al., 2015). جهت شمارش افتراقی یاخته‌های سفید خون بلافاصله پس از خون‌گیری، قطره کوچکی از خون روی لام آزمایشگاهی قرار داده می‌شود و با روش دو لایه با زاویه ۴۵ درجه گسترش خونی تهیه گردید. پس از خشک و تثبیت اسمیر با الکل متانول در هوای آزاد، گسترش‌ها به کمک محلول رقیق شده گیمسا با غلظت ۱۰ درصد رنگ‌آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی، برای هر نمونه خون از سه گسترش خونی برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید و محاسبه درصد فراوانی هر گروه از آنها (یاخته‌های نوتروفیل، ائوزینوفیل، لنفوسیت و مونوسیت) استفاده گردید. از روش زیگزاگ جهت شمارش اسلایدها استفاده شده و برای دقت بیشتر در محاسبات، از خون هر ماهی دو اسلاید تهیه و از هر اسلاید ۲۰۰ سلول شمارش شد (Ameri-Mahabadi, 2008).

تعیین شاخص‌های بیوشیمیایی

نمونه‌های خون تهیه شده از تاس‌ماهی سبیری در دمای آزمایشگاه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (هستاران طب، تهران، ایران) شده و پلاسما آنها جدا گردید. برای تعیین سطح تری‌گلیسرید از روش رنگ‌سنجی استفاده گردید. شدت رنگ حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت شرکت Biochrom، کمبریج، انگلستان) در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید که شدت نور تشکیل شده نسبت مستقیم با غلظت تری‌گلیسرید دارد. اندازه‌گیری کلسترول روش رنگ‌سنجی انجام شد. شدت رنگ حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (ساخت شرکت Biochrom، کمبریج، انگلستان) در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری گردید که شدت نور تشکیل شده نسبت مستقیم با غلظت کلسترول دارد. آزمایش‌ها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Selectra Pro، تهران، ایران) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی و در قالب آزمون فاکتوریل با دو فاکتور شامل فاکتور اول کلرید کبالت در سه سطح و عامل دوم ویتامین C در سه سطح و هر کدام با سه تکرار انجام شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. سپس، در صورت نرمال بودن داده‌ها به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و پس از انجام آزمون Levene برای بررسی همگنی داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS (ساخت شرکت IBM، نیویورک، آمریکا) و ویرایش ۲۶ در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد

نتایج عملکرد رشد در تاس‌ماهی سبیری تغذیه شده با سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C بعد از ۱۲ هفته (جدول ۲) نشان داد که هنگام شروع آزمایش در طول و وزن اولیه تمامی گروه‌ها با یکدیگر و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.05$).

جدول ۲: تغییرات شاخص‌های رشد در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C به مدت ۱۲ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 2: Changes in growth indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fed diets containing different levels of cobalt chloride and vitamin C for 12 weeks (mean \pm SE)

Treatments	Parameters						
	Initial weight (g)	Final weight (g)	Initial length (cm)	Final length (cm)	Weight (g) gain	Body weight increase (%)	Food conversion ratio
Control	0.03 \pm 11.51	3.45 ^d \pm 96.96	0.31 \pm 12.91	0.66 ^{bcd} \pm 30.44	3.42 ^d \pm 85.45	28.78 ^a \pm 742.27	0.01 ^{ab} \pm 2.86
2 CoCl ₂	0.13 \pm 11.51	1.50 ^{ab} \pm 108.30	0.29 \pm 12.92	0.04 ^{ab} \pm 31.64	1.55 ^{ab} \pm 96.80	20.56 ^a \pm 841.27	0.01 ^a \pm 2.82
4 CoCl ₂	0.25 \pm 11.60	1.22 ^a \pm 110.93	0.15 \pm 12.94	0.11 ^a \pm 32.38	1.02 ^a \pm 99.32	12.87 ^a \pm 857.38	0.00 ^{ab} \pm 2.81
200 C	0.21 \pm 11.53	4.73 ^{ab} \pm 107.26	0.17 \pm 12.89	0.98 ^{cd} \pm 30.14	4.82 ^{ab} \pm 95.73	45.41 ^a \pm 830.88	0.02 ^{ab} \pm 2.83
800 C	0.58 \pm 11.53	0.20 ^{abc} \pm 106.24	0.06 \pm 12.90	0.06 ^{abc} \pm 31.33	0.56 ^{abc} \pm 94.70	41.42 ^a \pm 828.45	0.02 ^{ab} \pm 2.83
200 C + 2 CoCl ₂	0.35 \pm 11.43	1.14 ^{abcd} \pm 11.65	0.16 \pm 12.91	0.27 ^{bcd} \pm 30.52	1.33 ^{bcd} \pm 89.22	34.22 ^a \pm 783.35	0.01 ^{ab} \pm 2.84
800 C + 4 CoCl ₂	0.39 \pm 11.55	1.84 ^{bcd} \pm 103.72	0.14 \pm 12.92	0.09 ^{abcd} \pm 31.0	2.04 ^a \pm 92.17	41.42 ^a \pm 802.29	0.02 ^b \pm 2.84
800 C + 2 CoCl ₂	0.18 \pm 11.43	2.33 ^{cd} \pm 98.77	0.20 \pm 12.96	0.28 ^d \pm 29.70	2.49 ^d \pm 87.35	33.26 ^a \pm 765.41	0.01 ^{ab} \pm 2.85
200 C + 4 CoCl ₂	0.47 \pm 11.54	2.29 ^{ab} \pm 108.44	0.04 \pm 12.98	0.30 ^a \pm 32.21	2.26 ^{ab} \pm 96.90	42.77 ^a \pm 844.14	0.01 ^{ab} \pm 2.82
p-value	1.00	0.004*	1.00	0.001*	0.005*	0.328	0.257
Two-Way ANOVA							
	FW	FL	WG	BWI	FCR		
CoCl ₂	0.038*	0.001*	0.600	0.379	0.225		
Vitamin C	0.642	0.039	0.112	0.940	0.060		
Vitamin C + CoCl ₂	0.002*	0.018*	0.946	0.141	0.551		

حروف لاتین غیر همنام در هر ستون تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$). علامت ستاره () نشان‌دهنده وجود معنی‌داری و اثرات متقابل در سطح $p < 0.05$ می‌باشد. گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی). تیمار ۱: ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۲: ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۳: ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۴: ۸۰۰ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۵: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۶: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۷: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره و تیمار ۸: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره. WF = وزن نهایی بدن، Lf = طول نهایی، WG = وزن کسب شده، BWI = درصد افزایش وزن، FCR = ضریب تبدیل غذایی

Non-synonymous Latin letters in each row show a significant difference ($p < 0.05$). The asterisk () indicates the existence of significance and interaction effects at the level of $p < 0.05$. Control group: basic diet (without experimental additives), treatment 1: 2 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 2: 4 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 3: 200 mg of vitamin C per kg of diet, Treatment 4: 800 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 5: combination of 2 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 6: combination of 4 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 7: combination of 2 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet and treatment 8: combination of 4 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet. FW = final body weight, FL = final length, BWI = body weight increase, WG = weight gain, FCR = food conversion ratio

شاخص‌های رشد شامل وزن کسب شده، افزایش وزن بدن، ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد ($p > 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که تنها در وزن و طول

همچنین مشخص گردید که بیشترین وزن و طول نهایی در تیمار 4 CoCl₂ (۴ میلی‌گرم کلرید کبالت به ازای کیلوگرم جیره تجاری) ثبت شد که با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). با این حال، تفاوت معنی‌داری در سایر

بیشترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار C 800 (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C بدون افزودن کلرید کبالت)، مشاهده شد و کمترین تعداد گلبول سفید متعلق به گروه شاهد بود ($p < 0.05$). تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار 200 $C + 2 CoCl_2$ (تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) در مقایسه با سایر تیمارها و گروه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p < 0.05$). در شاخص‌های خونی بین دو مکمل اضافه شده به جیره پایه ماهیان (کلرید کبالت و ویتامین C)، نسبت به یکدیگر اثر متقابل وجود داشت ($p < 0.05$).

نهایی تیمارها بین کلرید کبالت و ویتامین C اثر متقابل وجود داشت ($p < 0.05$).

شاخص‌های خون‌شناسی

در تحقیق حاضر، با اندازه‌گیری شاخص‌های خونی بعد از دوره ۱۲ هفته‌ای پرورش، مشخص گردید اثر سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C در برخی از این شاخص‌ها معنی‌دار بود (جدول ۳). میانگین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است، اما

جدول ۳: تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی در تاس‌ماهی سبیری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C به مدت ۱۲ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 3: Changes in hematological indices in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fed diets containing different levels of cobalt chloride and vitamin C for 12 weeks (mean \pm SE)

Treatments	Parameters	
	WBC ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)	RBC ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)
Control	9533.3 \pm 102.7 ^f	641.3 \pm 6.1 ^d
2 CoCl ₂	11466.0 \pm 102.7 ^{dc}	637.6 \pm 11.4 ^d
4 CoCl ₂	12466.0 \pm 531.2 ^{bcd}	670.3 \pm 5.9 ^{bc}
200 C	12800.0 \pm 933.6 ^{bc}	659.3 \pm 11.6 ^{bcd}
800 C	1525.0 \pm 54.0 ^a	679.6 \pm 2.7 ^b
200 C + 2 CoCl ₂	11640.0 \pm 88.3 ^{cde}	711.6 \pm 7.1 ^a
800 C + 4 CoCl ₂	13266.0 \pm 490.5 ^b	678.3 \pm 6.7 ^b
800 C + 2 CoCl ₂	13033.0 \pm 351.9 ^b	656.0 \pm 5.2 ^{bcd}
200 C + 4 CoCl ₂	10666.0 \pm 143.4 ^{ef}	648.6 \pm 8.9 ^{cd}
p-value	0.000*	0.000*
Two-Way ANOVA		
	WBC	RBC
CoCl ₂	0.338	0.423
Vitamin C	0.000*	0.000*
Vitamin C + CoCl ₂	0.000*	0.003*

حروف لاتین غیر همنام در هر ستون تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$). علامت ستاره () نشان‌دهنده وجود معنی‌داری و اثرات متقابل در سطح $p < 0.05$ می‌باشد. گروه شاهد: جیره‌ی پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۲: ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۳: ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۴: ۸۰۰ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۵: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۶: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۷: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره و تیمار ۸: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره. WBC = گلبول سفید، RBC = گلبول قرمز

Non-synonymous Latin letters in each row show a significant difference ($p < 0.05$). The asterisk () indicates the presence of significance and interaction effects at the level of $p < 0.05$. Control group: basic diet (without experimental additives), treatment 1: 2 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 2: 4 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 3: 200 mg of vitamin C per kg of diet, Treatment 4: 800 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 5: combination of 2 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 6: combination of 4 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 7: combination of 2 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet and treatment 8: combination of 4 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet. WBC= white blood cell, RBC= red blood cell.

میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) با گروه شاهد اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.05$). همچنین کمترین درصد مونوسیت به طور معنی داری در گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). تیمار C 800 (۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) و $2 \text{ CoCl}_2 + 800 \text{ C}$ (تلفیق ۲ میلی گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) ائوزینوفیل بیشتری در مقایسه با گروه شاهد و سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). اگرچه، این اختلاف با تیمار 4 CoCl_2 (۴ میلی گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره) و ویتامین C در درصد مونوسیت، نوتروفیل و ائوزینوفیل تیمارهای آزمایشی اثر متقابل وجود دارد ($p < 0.05$).

شمارش افتراقی گلبول سفید

نتایج نشان داد که بیشترین درصد نوتروفیل در تیمار 800 C (۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) مشاهده شد (جدول ۴) که به طور معنی داری با سایر تیمارها و گروه شاهد اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.05$)؛ اگرچه، این اختلاف با تیمارهای 4 CoCl_2 (۴ میلی گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره)، C 200 (۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره)، و $2 \text{ CoCl}_2 + 200 \text{ C}$ (تلفیق ۲ میلی گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) معنی دار نبود ($p > 0.05$). درصد لنفوسیت تنها در دو تیمار 800 C (۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره) و $800 \text{ C} + 2 \text{ CoCl}_2$ (تلفیق ۲ میلی گرم کلرید کبالت و ۸۰۰

جدول ۴: نتایج شمارش افتراقی گلبول سفید در تاس ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C به مدت ۱۲ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 4: The results of the differential count of white blood cells in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fed with diets containing different levels of cobalt chloride and vitamin C for 12 weeks (mean \pm SE)

Treatments	Parameters			
	Lymphocyte (%)	Neutrophil (%)	Monocyte (%)	Eosinophil (%)
Control	88.3 \pm 1.6 ^a	11.0 \pm 0.8 ^b	2.0 \pm 0.4 ^b	0.0 \pm 0.0 ^b
2 CoCl ₂	86.6 \pm 2.6 ^a	11.0 \pm 1.0 ^b	5.0 \pm 0.4 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b
4 CoCl ₂	84.3 \pm 2.7 ^a	13.3 \pm 0.8 ^{ab}	5.0 \pm 0.4 ^a	0.3 \pm 0.2 ^{ab}
200 C	82.3 \pm 2.0 ^{ab}	13 \pm 1.0 ^{ab}	5.3 \pm 0.4 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b
800 C	77.6 \pm 1.2 ^b	14.3 \pm 0.6 ^a	5.0 \pm 0.4 ^a	0.7 \pm 0.2 ^a
200 C + 2 CoCl ₂	82.3 \pm 0.8 ^{ab}	12.0 \pm 0.4 ^{ab}	4.0 \pm 0.0 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b
800 C + 4 CoCl ₂	83.3 \pm 0.3 ^{ab}	11.3 \pm 0.6 ^b	4.6 \pm 0.6 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b
800 C + 2 CoCl ₂	77.6 \pm 2.0 ^b	11.6 \pm 0.6 ^b	5.3 \pm 0.6 ^a	1.0 \pm 0.57 ^a
200 C + 4 CoCl ₂	86.3 \pm 2.2 ^a	11.0 \pm 1.6 ^b	4.0 \pm 0.8 ^a	0.0 \pm 0.0 ^b
p-value	0.003*	0.034*	0.002*	0.016*
Two-Way ANOVA				
	Lym	Neu	Mono	Eos
CoCl ₂	0.255	0.558	0.280	0.527
Vitamin C	0.000*	0.015*	0.072	0.009*
Vitamin C + CoCl ₂	0.095	0.147	0.001*	0.044*

حروف لاتین غیر همنام در هر ردیف تفاوت معنی دار را نشان می دهد ($p < 0.05$). علامت ستاره () نشان دهنده وجود معنی داری و اثرات متقابل در سطح $p < 0.05$ است. گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی های آزمایشی)، تیمار ۱: ۲ میلی گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۲: ۴ میلی گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۳: ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۴: ۸۰۰ میلی گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۵: تلفیق ۲ میلی گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۶: تلفیق ۴ میلی گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۷: تلفیق ۲ میلی گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره و تیمار ۸: تلفیق ۴ میلی گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره. Lym = لنفوسیت، Neu = نوتروفیل، Mono = مونوسیت، Eos = ائوزینوفیل

Non-synonymous Latin letters in each row show a significant difference ($p < 0.05$). The asterisk () indicates the presence of significance and interaction effects at the level of $p < 0.05$. Control group: basic diet (without experimental additives), treatment 1: 2 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 2: 4 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 3: 200 mg of vitamin C per kg of diet, Treatment 4: 800 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 5: combination of 2 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 6: combination of 4 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 7: combination of 2 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet and treatment 8: combination of 4 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet. Lym= lymphocyte, Neu= neutrophil, Mono= monocyte, Eos= eosinophil

شاخص‌های بیوشیمیایی

ویتامین C) و کمترین میزان تولید کلسترول در تیمار شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). به علاوه، نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که بین دو مکمل مورد استفاده برای جیره ماهیان در شاخص‌های کلسترول و تری‌گلیسرید رابطه متقابل وجود دارد ($p < 0.05$) (جدول ۵).

کمترین میزان تری‌گلیسرید پلاسمای خون ماهیان در تیمار 800 C (۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C بدون افزودن کلرید کبالت) و بیشترین میزان در تیمار 200 C + 4 CoCl₂ مشاهده گردید. بیشترین میزان کلسترول در تیمار 4 CoCl₂ (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلرید کبالت بدون افزودن

جدول ۵: تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی در تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baerii*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف کلرید کبالت و ویتامین C به مدت ۱۲ هفته (میانگین \pm خطای استاندارد)

Table 5: Changes in biochemical indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) fed with diets containing different levels of cobalt chloride and vitamin C for 12 weeks (mean \pm SE)

Treatments	Parameters	
	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
Control	3.27 ^f \pm 253.33	2.62 ^e \pm 87.33
2 CoCl ₂	4.02 ^d \pm 322.00	3.74 ^{bc} \pm 134.00
4 CoCl ₂	3.12 ^{cd} \pm 328.66	2.58 ^a \pm 159.73
200 C	3.40 ^{bc} \pm 344.66	4.04 ^a \pm 156.03
800 C	2.16 ^g \pm 205.00	1.08 ^d \pm 106.00
200 C + 2 CoCl ₂	1.01 ^{ab} \pm 353.33	2.66 ^d \pm 105.66
800 C + 4 CoCl ₂	3.86 ^e \pm 276.33	1.03 ^c \pm 127.33
800 C + 2 CoCl ₂	4.14 ^{bcd} \pm 338.00	1.43 ^b \pm 139.33
200 C + 4 CoCl ₂	8.38 ^a \pm 365.66	1.63 ^b \pm 137.00
p-value	0.000*	0.000*
Two-Way ANOVA		
	TGs	TC
CoCl ₂	0.000*	0.000*
Vitamin C	0.000*	0.001*
Vitamin C + CoCl ₂	0.000*	0.000*

حروف لاتین غیر همنام در هر ردیف تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$). علامت ستاره () نشان‌دهنده وجود معنی‌داری و اثرات متقابل در سطح $p < 0.05$ است. گروه شاهد: جیره پایه (بدون افزودنی‌های آزمایشی)، تیمار ۱: ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۲: ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۳: ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۴: ۸۰۰ میلی‌گرم کلرید کبالت در کیلوگرم جیره، تیمار ۵: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۶: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره، تیمار ۷: تلفیق ۲ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره و تیمار ۸: تلفیق ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره. TC = کلسترول کل، TGs = تری‌گلیسرید

Non-synonymous Latin letters in each row show a significant difference ($p < 0.05$). The asterisk () indicates the presence of significance and interaction effects at the level of $p < 0.05$. Control group: basic diet (without experimental additives), treatment 1: 2 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 2: 4 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 3: 200 mg of vitamin C per kg of diet, Treatment 4: 800 mg of cobalt chloride per kg of diet, treatment 5: combination of 2 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 6: combination of 4 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet, treatment 7: combination of 2 mg of cobalt chloride and 800 mg of vitamin C per kg of diet and treatment 8: combination of 4 mg of cobalt chloride and 200 mg of vitamin C per kg of diet. TGs= Triglyceride, TC= Cholesterol

بحث

شاهد نشان داد. در مطالعه حاضر کمترین میزان وزن کسب شده در تیمار شاهد، و بیشترین وزن و طول نهایی در تیمار 4 CoCl₂ بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. این نتایج بیانگر این مطلب است که سطوح ویتامین C و

نتایج کسب شده طی ۱۲ هفته غذایی با افزودن ویتامین C و کلرید کبالت به جیره، اثرات مثبت آنها بر شاخص‌های رشد تاس‌ماهی سیبری در همه تیمارها نسبت به تیمار

غذایی تیلاپیا *Tilapia zillii* بر شاخص‌های رشد، گزارش نمودند. تیمارهای حاوی ویتامین C و کلرید کبالت رشد مناسب‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعات مختلف که بر گونه‌های متفاوت ماهیان از جمله قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، اسکار سلطنتی (*Astronatus ocellatus*)، هامور (*Epinephelus malabaricus*)، تیلاپیای شکم‌سرخ (*Tor putitora*)، و تیلاپیای نیل (*Coptodon zillii*) انجام شده، افزایش رشد در تیمارهای تغذیه شده حاوی کبالت اعلام شد (Yada et al., 2002; Mukherjee and Kaviraj, 2009; Lin et al., 2010; Emadi et al., 2017; Younus et al., 2020). تحقیق حاضر مطابقت دارد. نیاز کبالت جیره غذایی گزارش شده برای *Tilapia zillii* حدود ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره غذایی بود. غلظت کمتر از ۱۰ میلی‌گرم در جیره غذایی باعث افزایش سنتز ویتامین B12 باکتریایی دستگاه گوارش شد (Blust, 2012). کبالت می‌تواند باکتری‌های تولیدکننده ویتامین B12 دستگاه گوارش را در مقادیر کافی برای تأمین نیازهای رشد ماهی هامور (*Epinephelus malabaricus*) افزایش داده و میزان جذب مواد غذایی را افزایش دهد (Lin et al., 2010). همچنین مطالعه Ibrahim و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر مثبت ویتامین C را بر رشد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) به نقش ویتامین C در افزایش سطح سرمی هورمون رشد، بهبود مورفولوژی روده و سطح جذب روده در ماهی نسبت دادند. بنابراین، می‌توان این فرضیه را برای مطالعه حاضر در نظر گرفت که این افزایش جزئی شاخص‌های رشد در تمامی تیمارها نسبت به تیمار شاهد به دلیل بالا رفتن میزان تولید ویتامین B12، افزایش سطح سرمی هورمون رشد، بهبود مورفولوژی روده و افزایش سطح جذب مواد غذایی در دستگاه گوارش مرتبط است. در خصوص رشد، بسیاری از مطالعات انجام گرفته بر اثرات مثبت و تأثیرگذاری ویتامین C و کلرید کبالت به‌خصوص در ماهیان استخوانی اشاره دارند (Dabrowski, 2000; Pourgholam et al., 2014; Emadi et al., 2017; Hosseini Mashhadi et al.,

کلرید کبالت مورد استفاده در جیره‌ها بر عملکرد رشد و تغذیه تأثیرگذار بوده است. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Desimira و همکاران (۲۰۱۳) همخوانی دارد. آنان در مورد اثرات چهار سطح ویتامین C جیره بر عملکرد رشد ازون‌برون (*Acipenser stellatus*) بیان نمودند که بهترین مقادیر برای عملکرد شاخص‌های رشد در محدوده ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره بود (Desimira et al., 2013). Falahatkar و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر سطوح مختلف ویتامین C با غلظت‌های مختلف در فیل‌ماهی (*Huso huso*) را مورد بررسی قرار دادند و اذعان نمودند ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در جیره از روند رشد و ضریب تبدیل غذایی مناسب‌تری برخوردار بودند که مطابق با نتایج مطالعه حاضر بود. Mohseni (۲۰۱۵ b) اثرات متقابل ویتامین‌های C و E را بر عملکرد رشد و کارایی تغذیه تاس‌ماهی سبیری مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که میزان ویتامین C مورد نیاز برای بهبود روند رشد، کارایی غذا، شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بود که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت داشت. Xu و همکاران (۲۰۲۲) اثرات ویتامین C جیره را بر عملکرد رشد، پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماهی آزاد کوهو (*Oncorhynchus kisutch*) در مرحله پس از اسمولت، مورد مطالعه قرار دادند و بیان داشتند که سطح ویتامین C مورد نیاز برای عملکرد بهینه رشد، فعالیت‌های آنزیمی سرم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله پس از اسمولت در دامنه ۲۲۴/۶۸ - ۹۳/۰۸ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بود. Misra و همکاران (۲۰۰۷) اثرات ویتامین C جیره را بر ایمنی، رشد و بازماندگی ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) انگشت‌قد، مورد بررسی قرار دادند و سطوح بهینه (۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) را برای ایمنی، رشد و بازماندگی نرمال توصیه نمودند. Lin و Shiau (۲۰۰۵) نیز رشد بهتر، پاسخ ایمنی و مقاومت به بیماری در ماهی هامور (*Epinephelus malabaricus*) جوان پس از تغذیه با ویتامین C را در سطوح بالا به مدت ۸ هفته گزارش نمودند. در مطالعه Anadu و همکاران (۱۹۹۰) تأثیر افزودن کلرید کبالت و ویتامین C را به جیره

نامشخص است. در هر حال در برخی گونه‌ها، این امر می‌تواند به دلیل همراهی کاهش جذب جیره و با نقش این ویتامین در متابولیسم آهن باشد. فقدان ویتامین C، فریک هموگلوبین را به فروس تبدیل کند. بنابراین، با حمل پلاسما و جذب سلولی آهن همراه است. این ویتامین همچنین می‌تواند به عنوان تسهیل‌کننده جذب آهن در جیره عمل کند. فقدان ویتامین C می‌تواند باعث آسیب آهن رها شده از ذخایر رتیگو- اندوتلیال شده و مانع از سنتز اریتروسیت‌ها و باعث توسعه آنمی گردد (Nsonga *et al.*, 2009). از عوامل مؤثر بر تعداد گلبول‌های سفید التهاب، استرس، دما و وضعیت غذایی است. نقایص تغذیه‌ای و نامناسب بودن میزان مواد معدنی و ویتامینی می‌تواند از عوامل تأثیرگذار بر کاهش تعداد لکوسیت‌ها باشد (Safabakhsh *et al.*, 2019). همچنین گلبول‌های سفید در کنترل عملکردهای سیستم ایمنی نقش دارند و تغییرات در تعداد آنها، سبب کاهش ایمنی غیراختصاصی ارگانیسم می‌شود (Narra *et al.*, 2015). اثرات سطوح مختلف ویتامین C در جیره غذایی تاس‌ماهی سبیری با وزن ۲۹/۸ گرم بر شاخص‌های خونی و ایمنی به مدت هشت هفته بررسی گردید. نتایج نشان داد، بالاترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار ویتامین C با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت درحالی‌که در تعداد گلبول‌های سفید، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (Pourgholam *et al.*, 2014). اما در تیمارهای ۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم دارای بالاترین مقادیر بود که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. نتایج تحقیق کنونی متفاوت از مطالعه Narra و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی شاخص‌های هماتولوژیک بود که یک کاهش را در میزان گلبول‌های سفید، قرمز و هموگلوبین تحت تیمار با ویتامین C در گربه ماهی *Clarias batrachus* نشان دادند. این کاهش ممکن است به دلیل مهار گلبول‌های قرمز، هموستنز، اختلال در تنظیم اسمزی یا به دلیل افزایش سرعت تخریب گلبول‌های قرمز در اندام خون‌ساز باشد. با توجه به مطالعات انجام شده سایر محققان و مقایسه با تحقیق حاضر، نتایج نشان دادند که افزودن ویتامین C و کلرید کبالت به جیره غذایی تاس‌ماهی سبیری باعث بهبود شاخص‌های خونی می‌شوند. کبالت

2017; Harsij *et al.*, 2020; Ibrahim *et al.*, 2020; Younus *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021; Delavari *et al.*, 2022; Ghafarifarsani *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2022). در مطالعه حاضر، در وزن کسب‌شده، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. Moreau و Dabrowski (۲۰۰۰) با مطالعه در مورد بیوسنتز اسید آسکوربیک در ماهیان غیراستخوانی بیان نمودند که احتمالاً مهم‌ترین دلیل عدم تفاوت معنی‌دار در رشد تاس‌ماهی سبیری همانند سایر ماهیان خاویاری، استفاده از سطوح مختلف ویتامین C حضور آنزیم ال-گلوکونولاکتون اکسیداز (GLO) است که آخرین مرحله ساخت ال-آسکوربیک اسید از D-گلوکز یا D-گالاکتوز را بر عهده دارد به طوری‌که حتی در صورت فقدان ویتامین C در جیره غذایی، مقدار مورد نیاز آن به وسیله این آنزیم به صورت *de novo* تشکیل می‌گردد و مورد مصرف ماهی در شرایط طبیعی قرار می‌گیرد (Dabrowski, 2000; Moreau and Dabrowski, 2000).

در مطالعه حاضر، تعداد و نوع گلبول‌های سفید و قرمز، تغییرات معنی‌داری را بین تیمارها نشان دادند. این سطوح برای گلبول‌های سفید در تیمار C 800 و گلبول‌های قرمز در تیمار $200\text{ C} + 2\text{ CoCl}_2$ در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری، بالاترین میزان بود. افزایش تعداد لکوسیت‌ها در تمام گروه‌ها در مقایسه با گروه شاهد بیان‌گر تأثیر مثبت استفاده از کلرید کبالت و ویتامین C در جیره غذایی تاس‌ماهی سبیری است. کبالت از اجزاء سازنده ویتامین B12 بوده (Tonye and Sikoki, 2014) و مقدار ویتامین B12 (سیانوکوبالامین) با افزایش میزان کبالت رابطه مستقیم دارد. از اعمال اصلی سیانوکوبالامین، افزایش تولید و بلوغ گلبول‌های قرمز خون بوده و نیز دارای اثر خون‌سازی است (Hall and Hall, 2020). کاهش سیانوکوبالامین باعث آنمی و پیدایش غیر طبیعی و قطعه‌قطعه شدن گلبول‌های قرمز خون در آبزیان می‌گردد. ویتامین C جهت رها سازی آهن متصل شده فریتین از کبد، جهت استفاده آهن در فرآیند اریتروپوئیس ضروری است (Garcia *et al.*, 2007). نقش فقدان ویتامین C در بروز آنمی هنوز

نظر داشت که کاهش اثرات مثبت ناشی از جیره‌های مذکور در فرآیند بیوسنتز لیپوپروتئین‌ها، کاتابولیسم چربی‌ها، عملکرد کلیه و کبد است. همچنین مصرف کبالت میزان هورمون تیروئید که به وسیله هیپوفیز تنظیم می‌شود، کاهش می‌دهد. کاهش ترشح هورمون تیروئید، غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید را به میزان زیادی افزایش می‌دهد و تقریباً در تمام موارد موجب انباشته‌شدن چربی در کبد می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن کلرید کبالت و ویتامین C به جیره می‌تواند در بهبود شاخص‌های رشد، خونی و بیوشیمیایی پلاسمای خون مؤثر واقع شود. نتایج نشان داد که ویتامین C قدرت تأثیر بیشتری بر شاخص‌های مورد مطالعه در مقایسه با کلرید کبالت داشته است به طوری که کلرید کبالت به تنهایی تعداد اندکی از شاخص‌ها را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. اثرات استفاده همزمان کلرید کبالت و ویتامین C در تیمارها باعث افزایش اغلب شاخص‌ها نسبت به تیمارهای جداگانه و تیمار شاهد شد که موجب افزایش تولید و بهره‌وری بیشتری در تاس‌ماهی سبیری گردید. در نهایت، می‌توان اذعان داشت که غلظت ۴ میلی‌گرم کلرید کبالت و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در بین شاخص‌های مورد مطالعه دارای اثربخشی بیشتری برای پرورش تاس‌ماهی سبیری در وزن مورد مطالعه بود.

منابع

- Abbas, S. and Javed, M., 2016. Growth performance of *Labeo rohita* under chronic dual exposure of water-borne and dietary cobalt. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(1):257-264.
- Al-Ghanem, K.A., 2011. Effect of cobalt-supplemented diets on bioaccumulation, digestive enzyme activities and growth of *Cyprinus carpio*. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 93(5): 985-995.
- Ameri-Mahabadi, M., 2008. Veterinary hematology laboratory methods. Tehran University Press, Iran. 126 P.
- B12 پیش‌ماده ضروری برای ساخت ویتامین B12 (سیانوکوبالامین) است و به عنوان یکی از اجزاء ویتامین B12 در متابولیسم پروتئین شرکت می‌کند (Tonye and Sikoki, 2014). کلرید کبالت و نیترات کبالت جیره باعث بهبود رشد و افزایش تولید هموگلوبین در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) شد (Mohd and Khan, 2021). کلرید کبالت جیره میزان رشد و پروتئین در تیلایپای نیل را افزایش داد (Makwinja and Geremew, 2020). مکمل‌های غذایی کبالت تعداد گلبول‌های قرمز در ماهی کپور و قزل‌آلای رنگین کمان را افزایش داده است و پاسخ بقاء و رشد در کفال طلایی (*Liza parsia*) و بچه‌ماهی کپور معمولی و رشد مرحله جنینی تخم قزل‌آلا را بهبود بخشید (Stubblefield et al., 2020; Vishwakarma et al., 2020).
- نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان کلسترول پلاسمای خون ماهیان تفاوت معنی‌داری در بین تمام تیمارها داشت و میزان آن نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. بیشترین میزان کلسترول در تیمار 4 CoCl₂ بوده و کمترین میزان در تیمار شاهد بود. افزایش میزان کلسترول خون تمام تیمارها در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد که در هر دو سطح بالا و پایین ویتامین C و کلرید کبالت تأثیری در کاهش کلسترول خون نداشته است. این نتایج در تضاد با مطالعات پیشین بود که بیان کردند، تیمار با کبالت سبب افزایش فعالیت گیرنده‌های LDL و کاهش بیان ژنی کوآنزیم A هیدروکسی متیل گلوتهوری شد که در نهایت منجر به کاهش سطح کلسترول می‌گردید (Yang et al., 2010). همچنین تمام تیمارها عملکرد تقریباً یکسانی در افزایش سطح تری‌گلیسرید غیر از تیمار C 800 در مقایسه با تیمار شاهد داشتند. افزایش میزان تری‌گلیسرید و کلسترول پلاسمای خون در تیمارهای تغذیه شده با کلرید کبالت نسبت به تیمار شاهد، با توجه به مطالعه Yada و همکاران (۲۰۰۲) که تأثیر کبالت بر رابطه بین چاقی و هورمون‌های متابولیک در قزل‌آلای رنگین کمان را بررسی نموده و تأکید کردند که مصرف کبالت میزان هورمون تیروئید را کاهش داده و در نتیجه باعث افزایش غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید شده است. بنابراین، می‌توان این تئوری را برای مطالعه حاضر در

- Blust, R., 2012.** Cobalt in fish physiology: Homeostasis and toxicology of essential metals; Wood, C.M., Farrell, A.M., Brauner, C.J., Eds.; Elsevier/Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 291–326.
- Bureau, D.P., Hua, K. and Cho, C.Y., 2006.** Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600 g. *Aquaculture Research*, 37(11):1090-1098. DOI:10.1111/j.1365-2109.2006.01532.x
- Dabrowski, K., 2000.** Ascorbic acid in aquatic organisms: status and perspectives. Book. CRC press, ISBN: 08493 – 9881-9. Washington. 279P.
- Delavari, N., Gharaei, A., Mirdar, H.J., Davari, A. and Rastiannasab, A., 2022.** Modulatory effect of dietary copper nanoparticles and vitamin C supplementations on growth performance, hematological and immune parameters, oxidative status, histology, and disease resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-19. DOI:10.1007/s10695-021-01036-2
- Desimira, D.S.M., Victor, C., Catalina, M.C., Săndița, P., Mihai Ștefan, P. and Tiberiu, C.M., 2013.** Effects of different levels of dietary vitamin C on growth performance of Stellate Sturgeon (*Acipenser stellatus*, Pallas, 1771). *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies/Lucrari Stiintifice. Zootehnie si Biotehnologii*, 46(2):244-249. 6P.
- Duman, S. and Şahan, A., 2018.** Some hematological and non-specific immune responses of rosehip (*Rosa canina*)-fed Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt and Ratzeburg, 1833) to *Mycobacterium salmoniphilum*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61. DOI:10.1590/1678-4324-2018180283
- Emadi, H., Mokhayer, B. and Mahani, A., 2017.** Effect of cobalt as blood factors on Oscar fish (*Astronatus ocellatus*). *Journal of Marine Science and Technology Research*, 4(13):75-82. [in Persian]
- Eslamloo, K., Falahatkar, B. and Yokoyama, S., 2012.** Effects of dietary bovine lactoferrin on growth, physiological performance, iron metabolism and non-specific immune responses of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) *Fish and Shellfish Immunology*, 32(6):976-985. DOI:10.1016/j.fsi.2012.02.007
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbasi, M., Pourkazemi, M. and Yasemi, M., 2006.** Effects of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*, 22:283-286.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Porkazemi, M., Abtahi, B., Kalbasi, M. and Mohseni, M., 2008.** Effects of dietary L-Ascorbyl-2-Polyphosphate as a source of vitamin C on growth indices in beluga sturgeon (*Huso huso* L.). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 17(3): 107-120. DOI:10.22092/isfj.2008.115345
- Falahatkar, B., 2018.** Nutritional requirements of the Siberian sturgeon: An updated synthesis. In *The Siberian Sturgeon*

- (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). *1-Biology Volume* (pp. 207-228.(Springer). DOI:10.1007/978-3-319-61664-3-11
- Fansadco, 2021.** Types of binders used in pill production. Available at: <https://www.fansadco.com/fa/binder-types-and-properties-used-in-tablet-manufacturing>.
- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T. and Bergot, P., 2006.** Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae. *Aquaculture*, 257(1-4):400-411. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.01.025.
- Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E.M., de Moraes, F.R. and Martins, M.L., 2007.** Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 271(1-4):39-46. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.06.021
- Ghafariarsani, H., Hoseinifar, S.H., Javahery, S., Yazici, M. and Van Doan, H., 2022.** Growth performance, biochemical parameters, and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio*) fed experimental diets supplemented with vitamin C, thyme essential oil, and quercetin. *Italian Journal of Animal Science*, 21(1):291-302. DOI:10.1080/1828051X.2021.1965923
- Gouda, A., Amer, S.A., Gabr, S. and Tolba, S.A., 2020.** Effect of dietary supplemental ascorbic acid and folic acid on the growth performance, redox status, and immune status of broiler chickens under heat stress. *Tropical Animal Health and Production*, 52(6): 2987-2996. DOI:10.1007/s11250-020-02316-4
- Hall, J.E. and Hall, M.E., 2020.** Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book. Elsevier Health Sciences, 14th edition. ISBN: 9780323640039. 1112 P.
- Harsij, M., Kanani, H.G. and Adineh, H., 2020.** Effects of antioxidant supplementation (nano-selenium, vitamin C and E) on growth performance, blood biochemistry, immune status and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sub-lethal ammonia exposure. *Aquaculture*, 521: 734942. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.734942
- Hoopes, L.A. and Koutsos, E.A., 2021.** Nutrition and nutritional support. *Clinical Guide to Fish Medicine*, 67-96. DOI:10.1002/9781119259886.ch4
- Hosseini Mashhadi, S.H., Hedaiatifard, M. and Ghobadi, S., 2017.** The effect of Different Levels of Ascorbic acid on the Growth Performance and Survival of Fingerling Common Carp (*Cyprinus carpio*) *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 26(1):1-14. DOI:10.22092/isfj.2017.110326 [in Persia]
- Ibrahim, R.E., Ahmed, S.A., Amer, S.A., Al-Gabri, N.A., Ahmed, A.I., Abdel-Warith, A.W.A., Younis, E.S.M. and Metwally, A.E., 2020.** Influence of vitamin C feed supplementation on the growth, antioxidant activity, immune status, tissue histomorphology, and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).

- Aquaculture Reports*, 18:1005-45.
DOI:10.1016/j.aqrep.2020.100545
- Iuliana, A., Aida, V., Gabriela, G., Aurelia, I. and Elpida, P., 2012.** Evaluation of nutritional quality of the common carp (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology*, 36(1):61-73.
- Karadede-Akin, H. and Ünlü, E., 2007.** Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from Tigris River, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 131(1):323-337.
DOI:10.1007/s10661-006-9478-0
- Li, X., Lin, H., Zhu, Z., Watson Ray, G., Zhou, S., Yang, Q. and Tan, B., 2022.** Effects of cobalt sources and Levels on growth performance, serum biochemistry, metabolic activities, and cobalt contents in the tissue of juvenile (*Litopenaeus vannamei*). *North American Journal of Aquaculture*, 84:336–344.
DOI:10.1002/naaq.10243
- Lin, Y.H., Wu, J.Y. and Shiau, S.Y., 2010.** Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B12 in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture*, 302(1-2):89-93.
DOI:10.1016/j.aquaculture.2010.02.008
- Lovell, R.T. and Limsuwan, T., 1982.** Intestinal synthesis and dietary non-essentiality of vitamin B for *Tilapia niloticus*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 11:485 - 490.
- Makwinja, R. and Geremew, A., 2020.** Roles and requirements of trace elements in tilapia nutrition. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3): 281–287. DOI: Org/10.1016/j.ejar.2020.05.001.
- Misra, C.K., Das, B.K., Mukherjee, S.C. and Pradhan, J., 2007.** Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp (*Labeo rohita*), fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 13:35–44.
- Mohd Khan, Y. and Khan, M.A., 2021.** Effects of dietary cyanocobalamin on growth performance, nonspecific immune response, antioxidant capacity, haematological parameters, body composition and liver cyanocobalamin concentration of fingerling major carp, *Catla catla* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*, 27(2):604–614.
DOI:101111/anu.13210
- Mohseni, M., 2015a.** Effects of vitamin E deficiency on dietary vitamin C requirement in Siberian Sturgeon (*Acipenser Baerii*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24(3):45-57. DOI:10.22092/isfj.2017.11019 [in Persia]
- Mohseni, M., 2015b.** Effects of vitamin E deficiency on dietary vitamin C requirement in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 24(3):45-57. DOI:10.22092/isfj.2017.110193 [in Persia]
- Mohseni, M., Hassani, M., Pourali, F., Pourkazemi, M. and Bai, S., 2011.** The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, (*Huso huso*). *Journal of Applied Ichthyology*,

- 27(2):775-780. DOI:10.1111/j.1439-0426.2011.01706.x.
- Mohseni, M., Pourkazemi, M., Hosseini, M.R., Hassani, M.H.S. and Bai, S.C., 2013.** Effects of the dietary protein levels and the protein to energy ratio in sub-yearling Persian sturgeon, (*Acipenser persicus*, Borodin). *Aquaculture Research*, 44(3):378-387. DOI:10.1111/j.1365-2109.2011.03041.x
- Moreau, R. and Dabrowski, K., 2000.** Biosynthesis of ascorbic acid by extant actinopterygians. *Journal of Fish Biology*, 57(3):733-745. DOI:10.1111/j.1095-8649.2000.tb00271.x
- Mukherjee, S. and Kaviraj, A., 2009.** Evaluation of growth and bioaccumulation of cobalt in different tissues of common carp, (*Cyprinus carpio*) (Actinopterygii: Cypriniformes: Cyprinidae), fed cobalt-supplemented diets. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 39(2):87. DOI:10.3750/AIP2009.39.2.02
- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Rao, J.V. and Begum, G., 2015.** The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish (*Clarias batrachus*). *Chemosphere*, 132:172-178. DOI:10.1016/j.chemosphere.2015.03.00.
- Nsonga, A., Kang'Ombe, J., Mfitilodze, W., Soko C. and Mtethiwa, A., 2009.** Effect of varying levels of dietary vitamin C (ascorbic acid) on growth, survival and hematology of juvenile tilapia, (*Oreochromis karongae*) (Trewavas 1941) reared in aquaria. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 13(2):17-23. DOI:10.14210/bjast.v13n2.p17-23
- Pourgholam, Y., Khara, H. and Mohseni, M., 2014.** Effects of different levels of vitamin C on growth factors of Siberian sturgeon fingerlings (*Acipenser baerii*). *Aquatic and Fisheries Journal*, 5(17):11-19. [in Persian]
- Rahimi, M., Sudagar, M., Ouraji, H., Hosseini, S. and Taghizadeh, V., 2012.** The effect of vitamin C on growth performance, survival rate, hematological parameters and response to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*, 67(4):373-380.
- Ruff, N., Fitzgerald, R., Cross, T., Hamre, K. and Kerry, J., 2003.** The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. *Aquaculture Nutrition*, 9(2):91-103. DOI:10.1046/j.1365-2095.2003.00230.x
- Safabakhsh, M.R., Bahri, A.H., Mohseni, M. and Mohammadzadeh, F., 2019.** The effect of dietary selenium on growth performance, Carcass Composition, and blood profile of farmed juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of Aquaculture Development*, 13(1):89-101. [In Persian]
- Shiau, S.Y. and Lung, C.Q., 1993.** No dietary vitamin B12 required for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105A:147-150.
- Singh, G., Khati, A. and Chauhan, R., 2021.** Evaluation of probiotic and vitamin C as growth promoters for freshwater major carp

- (*Cyprinus carpio*). *Journal of Experimental Zoology India*, 24(1):377-382.
- Stubblefield, W.A., Van Genderen, E., Cardwell, A.S., Heijerick, D.G., Janssen, C.R. and De Schampelaere, K.A., 2020.** Acute and chronic toxicity of cobalt to freshwater organisms: Using a species sensitivity distribution approach to establish international water quality standards. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(4):799-811. DOI:10.1002/etc.4662
- Suryani, E., Wiharto, W. and Polvonov, N., 2015.** Identification and counting white blood cells and red blood cells using image processing case study of leukemia. *arXiv preprint arXiv:1511.04934*. 2(6):35 – 49. DOI:10.48550/arXiv.1511.04934
- Swanner, E.D., Planavsky, N.J., Lalonde, S.V., Robbins, L.J., Bekker, A., Rouxel, O.J., Saito, M.A., Kappler, A., Mojzsis, S.J. and Konhauser, K.O., 2014.** Cobalt and marine redox evolution. *Earth and Planetary Science Letters*, 390:253-263. DOI:10.1016/j.epsl.2014.01.001
- Tacon, A.G., 1990.** Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. Argent Laboratories Press, Washington DC. 454 P.
- Tatina, M., Taati, R., Bahmani, M., Soltani, M. and Gharibkhani, M., 2012.** The effect of different levels of vitamins C and E on the growth indices and survival in farmed sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 21(1):1-12. DOI:10.22092/isfj.2017.110034 [in Persian]
- Tonye, I.A. and Sikoki, F.D., 2014.** Growth Performance and Proximate Composition of *Oreochromis Niloticus* (Trewavas) Fed Cobalt Chloride Incorporated Diet. *Growth*, 4(5):106-125.
- Vishwakarma, B.K., Sharma, A.P., Kala, P., Mohan, D. and Pandey, N.N., 2020.** Effect of mineral mixture-based diet on the growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Message, Journal of Krishi Vigyan*, 9:81-84.
- Xu, C.M., Yu, H.R., Li, L.Y., Li, M., Qiu, X.Y., Fan, X.Q., Fan, Y.I. and Shan, L.J., 2022.** Effects of dietary vitamin C on the growth performance, biochemical parameters, and antioxidant activity of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*, Walbaum, 1792) Postsmolts. *Aquaculture Nutrition*, 1 - 12. DOI:10.1155/2022/6866578
- Yada, T., Moriyama, S., Suzuki, Y., Azuma, T., Takahashi, A., Hirose, S. and Naito, N., 2002.** Relationships between obesity and metabolic hormones in the “cobalt” variant of rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 128(1):36-43. DOI:10.1016/S0016-6480(02)00047-3
- Yang, K.C., Lee, L.T., Lee, Y.S., Huang, H.Y., Chen, C.Y. and Huang, K.C., 2010.** Serum selenium concentration is associated with metabolic factors in the elderly: a cross-sectional study. *Nutrition and Metabolism*, 7(1):1-7. DOI:10.1186/1743-7075-7
- Younus, N., Zuberi, A., Rashidpour, A. and Metón, I., 2020.** Dietary cobalt supplementation improves growth and body composition and induces the expression of growth and stress response genes in *Tor putitora*. *Fish physiology and Biochemistry*, 46(1):371-381. DOI:10.1007/s10695-019-00723-5

Effects of dietary cobalt chloride and vitamin C on growth performance, some hematological and biochemical indices in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)

Sadegh Roubarkhi S.M.¹; Ershad Langroudi H.^{1*}; Zamani A.A.¹, Falahatkar B.²; Safari R.³

1-Fisheries Department, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

2-Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran.

3-Fisheries Department, Faculty of Fisheries and Environment, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Golestan, Iran.

Abstract

In this study, the effects of cobalt chloride (CoCl₂) with two levels of 2 and 4 mg/kg and vitamin C with two levels of 200 and 800 mg/kg diet and their combined levels in 9 treatments and each treatment with 3 replications on 270 Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) with an initial average weight of 11.51±0.29 g were evaluated for 12 weeks. Based on the results, the mean final weight and length of the fish in 4 mg/kg CoCl₂ were significantly higher than the control group ($p < 0.05$). There was no significant difference in the weight gain, body weight gain and food conversion ratio between the treatments and the control group ($p > 0.05$). The results of blood and biochemical indices showed that the highest number of red and white blood cells was observed in the treatments of 2 mg/kg CoCl₂+200 and 800 mg/kg vitamin C, respectively. The highest percentage of neutrophils was observed in 800 mg/kg vitamin C treatment, which showed a significant difference with treatments 2 CoCl₂, 800 C+4 CoCl₂, 800 C+2 CoCl₂, 200 C+4 CoCl₂ and control ($p < 0.05$). There was a significant difference in the percentage of lymphocytes in 800 mg/kg vitamin C and 800 mg/kg vitamin C + 2 mg/kg CoCl₂ treatments compared to the control group ($p < 0.05$). The lowest percentage of monocytes was in the control group ($p < 0.05$). The highest percentage of eosinophils was found in 800 mg/kg vitamin C and 800 mg/kg vitamin C + 2 mg/kg CoCl₂ treatments compared to the control group and other treatments ($p < 0.05$). The highest amount of triglyceride and cholesterol was observed in the concentrations of 200 mg/kg vitamin C+4 mg/kg CoCl₂ and 4 mg/kg CoCl₂, respectively ($p < 0.05$). The results showed that the use of vitamin C and cobalt chloride separately and in combination in the desired weight range had significant effects on growth parameters during the culture period. The effect of vitamin C on some growth and blood indices was higher compared to cobalt chloride. The positive effects of combined treatments were more than individual treatments in most indices. Finally, the diet containing 200 mg/kg vitamin C+4 mg/kg CoCl₂ was considered suitable for growth of juvenile Siberian sturgeon.

Keywords: Fish nutrition, Sturgeon, Dietary supplement, Growth, Hematology

*Corresponding author