DOI: 10.22092/vj.2017.109867
شماره ۱۱۶ پاییز ۱۳۹۶
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

اثر سطوح مختلف پیکولینات کروم جیره برعملکرد تولید، هماتولوژی و سطوح لیپیدی کبد در ماهی طلال هندی *(Rastrelliger kanagurta)*

• **پریا اکبری (نویسنده مسئول)**
گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
• **سارا مکاری**
گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۰۴-۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۶-۱۳
Email: paria.akbary@gmail.com

چکیده

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی اثر سطوح غذایی پیکولینات کروم بر شاخص‌های رشد (وزن نهایی و ضریب رشد ویژه، افزایش وزن به‌دست آمده و شاخص وضعیت)، تغذیه (ضریب تبدیل غذایی و نسبت بازدهی پروتئین)، هماتولوژی (هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و تعداد گلبول‌های قرمز) و سطوح لیپیدی کبد (کلسترول و تری‌گلیسرید) ماهی طلال *(Rastrelliger kanagurta)* به مدت ۶۰ روز صورت گرفت. در این مطالعه، تعداد ۱۲۰ قطعه ماهی طلال با میانگین وزنی ۱/۰۱±۷/۱۸ گرم در یک طرح کاملا تصادفی به چهار تیمار آزمایشی و سه تکرار (با تعداد ۱۰ قطعه در هر تکرار) تقسیم شدند و به ترتیب با رژیم‌های غذایی حاوی صفر، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج حاصله نشان داد که بالاترین وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت، نسبت بازدهی پروتئین، افزایش وزن به‌دست آمده و کمترین ضریب تبدیل غذا در تیمار حاوی ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا مشاهده شدکه با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). سطوح تری‌گلیسرید و کلسترول کبد در تیمار حاوی ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا کاهش معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) و بیشترین تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز خون و میزان هموگلوبین در تیمارهای حاوی ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. تیمار حاوی ۱۰۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم برکیلوگرم غذا بر کلیه شاخص‌های رشد و هماتولوژی تاثیر نداشت (P>۰/۰۵). در مجموع بر اساس نتایج این تحقیق، افزودن ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم مکمل غذایی پیکولینات کروم بر کیلوگرم جیره غذایی ماهی طلال به‌منظور بهبود شاخص های رشد، هماتولوژی و سطوح لیپید کبد در این ماهی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: ماهی طلال، پیکولینات کروم، رشد، هماتولوژی، کلسترول، تری‌گلیسرید

● Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 160-169

Effect of different levels of dietary chromium picolinate on productive performance, hematology and live Lipid levels in Indian Mackerel (***Rastrelliger kanagurta***)

By: Akbary, P., (Corresponding Author) Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran. and Makari, S., Fisheries Department, Marine Sciences Faculty, Chabahar Maritime University, Chabahar, Iran.

Email: paria.akbary@gmail.com

Received: 2016-07-14 Accepted: 2016-09-03

This experiment was conducted to evaluate the effect of different levels of dietary chromium picolinate on the growth performances (final weight (FW), specific growth ratio (SGR), weight gain (WG) and condition factor (CF)), feed indices (feed conversion rate (FCR) and protein efficiency ratio (PER)) hematology (hemoglobin (Hb), red blood cell (RBC), white blood cell (WBC) and liver lipid levels (cholesterol and triglyceride)) of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) for 60 days. In this experiment, 120 Indian mackerel (with average weight of 7.18±1.01 g) were divided to four treatments and three replicates (n=10 in each replicate) in a completely randomized design and fed with diets containing 0, 600,800 and 100 µg chromium picolinate/kg food, respectively. The present results showed that the highest FW, SGR, CF, PER, WG and the lowest FCR were observed in the diet containing 600 µg/kg chromium picolinate in all of the parameters. Treatment two (600 µg /kg) showed a significant difference compared with control treatment ($P<0.05$). Treatment containing 600 µg /kg chromium picolinate had significantly reduced liver cholesterol and triglyceride levels compared with those in other treatments. The highest WBC, RBC and hemoglobin were observed in treatments containing 600 and 800 µg/kg chromium picolinate. Treatment containing 1000 µg/kg chromium picolinate was not affected in all growth parameters and hematology ($P>0.05$). Finally, the present results suggest that diet containing 600 and 800 µg/kg dietary chromium picolinate could improve growth and hematology indices and liver lipid levels of Indian mackerel.

Key words: *Rastrelliger kanagurta*, chromium picolinate, growth, hematology, cholesterol, triglyceride

مقدمه

در حال حاضر صنعت آبزی‌پروری از بیشترین سرعت رشد تولید در بخش‌های مختلف تولید غذا برخوردار است. افزایش جمعیت جهان از یک سو و ارتقای سطح آگاهی جوامع مختلف درباره اهمیت مصرف محصولات شیلاتی از سوی دیگر و به تبع آن نیاز به تولید بیشتر و با کیفیت‌تر، این بخش را از موقعیت ممتازی در آینده برخوردار کرده است. ماهی طلال با نام علمی *Rastrelliger kanagurta* از جمله ماهیان استخوانی با ارزش جهان و متعلق به خانواده تن ماهیان (Scombridae) می‌باشد این گونه از جمله ذخایر ارزشمند آبهای ساحلی ایران محسوب شده و دارای تراکم نسبتا خوبی در خلیج فارس و دریای عمان بوده و گوشت آنها منبع غذایی برای بسیاری از آبزیان می‌باشد (۱۵، ۲۱). اغلب در آب های گرم با حداقل دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد زندگی کرده و پراکنش این ماهی در سواحل غربی اقیانوس آرام، هند، مالزی، فیلیپین، آفریقای جنوبی، شرق مدیترانه، خلیج فارس و دریای عمان و غیره گزارش شده است (۲۰). همچنین فرآورده‌های آن به‌صورت‌های مختلف مانند فریز شده، دودی و نمک سود شده به مصرف انسان نیز می‌رسد (۲۰). هر گونه فعالیت علمی در جهت کاهش مشکلات موجود در روند حفظ ذخایر این گونه ارزشمند از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که نتیجه آن به‌طور مستقیم در افزایش تولید پروتئین حیوانی و رونق بیشتر آبزی‌پروری در دنیا متجلی خواهد شد (۱۳).

در گذشته در مباحث مربوط به تغذیه آبزیان بیشتر به درشت مغذی‌ها توجه می‌شد. اما به تازگی نقش ریز مغذی‌های مختلف به‌شدت مورد توجه قرار گرفته و از این مواد به عنوان کوچک‌های بزرگ نام برده می‌شود. زیرا این مواد با مقادیر کم خود در جیره‌های غذایی نقش‌های چشمگیری را در ارتقای سطح شاخص‌های کمی و کیفی ایفا می‌کنند (۱۷).

کروم نوعی عنصر کمیاب ضروری است که نقش بسیار موثری در حفظ سلامت ایفا می‌کند. این عنصر باعث کاهش سطح گلوکز و افزایش حساسیت نسبت به انسولین می شود و باعث حمل پروتئین به محل هایی می شود که بیشتر نیاز است (۱۷، ۲۹). در واقع این عنصر کمیاب

نقش بسیار موثری در متابولیسم چربی ها و قند دارد. کروم علاوه بر کنترل قند خون، در سوخت و ساز بدن نقش داشته و برای متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین (که سه ترکیب اصلی رژیم غذایی را تشکیل می‌دهند) موثر است (۱۸، ۱۹).

روش‌های مختلفی برای استفاده از افزودنی‌های غذایی در آبزی‌پروری وجود دارد که هر کدام دارای مزایای خاص خود می‌باشند، اما روش خوراکی و افزودن این مواد به جیره غذایی آبزیان ساده تر از بقیه روش‌ها می باشد، چون با این روش می‌توان تعداد زیادی از آبزیان را در زمان محدودی با جیره حاوی مکمل‌های غذایی تغذیه نمود و همچنین این روش بدون استرس بوده و استفاده از افزودنی‌ها را بدون توجه به اندازه ماهی مقدور می‌سازد (۹).

قابلیت دسترسی اشکال آلی کروم به دلیل جذب بیشتر از طریق دستگاه گوارشی به مراتب بیشتر از اشکال غیرآلی آن است (۲۲). تحقیقات صورت گرفته بر روی موش نشان داد که ترکیبات آلی کروم نظیر پیکولینات کروم، نیکوتینات کروم و مخمر غنی شده کروم ۳۰-۲۵ درصد بیشتر از اشکال غیرآلی آن نظیر کلرید کرومیک و اکسید کرومیک جذب می‌شوند (۱۷).

تحقیقات متعدد به بررسی اثر کروم بر رشد ماهی قزل‌آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۲۹)، کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) (۱۷)، هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) (۲۳) و تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (۱۰، ۱۸) پارامترهای خونی کپور علفخوار (۱۷)، قزل‌آلای‌رنگین کمان (۱۴، ۲۹) و تیلاپیای نیل (۱۰، ۱۸)، پرداخته‌اند. به‌عنوان مثال، ال سید و همکاران (۱۰) با بررسی اثر مکمل پیکولینات کروم روی رشد، ترکیبات بدن، غلظت کروم کل بدن و غلظت گلوکز خون در تیلاپیای نیل با دوزهای (۱۲۰۰، ۱۰۰۰، ۸۰۰ و صفر گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا) نشان داده است که مکمل رژیم غذایی بالای ۱۲۰۰ گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا روی غلظت گلوکز خون، کلسترول، تری گلیسرید و پروتئین کل تأثیر معنی‌داری داشته است و روی رشد هیچ تأثیر معنی‌داری نداشته است. هم‌چنین تحقیق انجام شده توسط لیو و همکاران (۱۷) بر روی کپور علفخوار انگشت قد در شش رژیم غذایی (صفر، ۰/۲، ۰/۴ ، ۰/۸۰،، ۱/۶، ۳/۲ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا) نشان داد که دوز ۰/۸ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا باعث افزایش میزان رشد، افزایش غلظت تری‌گلیسرید و کاهش کلسترول لیپوپروتئین با غلظت بالا (HDL-C) شد. و دوز ۰/۲ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا باعث افزایش میزان گلیکوژن کبدی شد.

از آن‌جایی که فرم سه ظرفیتی کروم نقش مهمی در رفتارهای تغذیه‌ای، فیزیولوژیکی و متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات در آبزیان ایفاء می‌نماید (۱۷) و داده‌های موجود از نظر احتیاجات کمی آن در جیره غذایی گونه‌های مختلف ماهیان بسیار محدود است، لذا مطالعه حاضر به بررسی اثر سطوح مختلف پیکولینات کروم بر رشد، هماتولوژی و سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید کبد ماهی طلال می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش

این پژوهش در اواخر آذرماه ۱۳۹۴ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهی موسسه تحقیقات شیلات چابهار انجام شد.۱۲۰ قطعه ماهی طلال از سواحل چابهار به‌کمک صیاد توسط تور پره صید و به محل آزمایش انتقال داده شد. در طول دوره پارامترهای آب اندازه‌گیری شد. به‌طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب ۱/۳۴±۲۸/۸ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۸۲ ± ۶/۹۵ میلی‌گرم بر لیتر و pH آب ۰/۳±۷/۵ بود. در طی دوره آزمایش دوره نوری به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. به‌منظور هوادهی و نیاز اکسیژن ماهی‌ها به هر یک ازمخزن‌ها، یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود، نصب گردید. همچنین روزانه تعویض آب صورت گرفت.

طراحی آزمایش و شرایط تغذیه

بعد از دو هفته سازگاری، ماهی‌ها (با میانگین وزنی ۱/۰۱±۷/۱۸ گرم و میانگین طولی ۰/۸۱±۵/۴۰ سانتی‌متر) به‌طور تصادفی به چهار تیمار با سه تکرار برای هر تیمار در داخل مخازن ۶۰ لیتری (عمق ۵۰

جدول۱- ترکیب شیمیایی رژیم‌های غذایی مورد آزمایش

رژیم‌های غذایی (میکروگرم پیکولینات کروم به ازای هر کیلوگرم جیره)				
ترکیب تقریبی(درصد)	۰	۵۰	۱۰۰	۱۵۰
پروتئین خام	۴۹/۶	۴۸/۷	۴۹/۶	۴۹/۷
چربی خام	۱۲/۹	۱۲	۱۲/۴	۱۲/۲
خاکستر خام	۱۳/۱	۱۳	۱۳/۸	۱۳/۶
رطوبت	۷/۳	۶/۶	۶/۷	۷/۴

سانتی‌متر) که متصل به سیستم هوادهی قابل کنترل مرکزی بودند، تقسیم‌بندی شدند (۱۰ قطعه بچه ماهی در هر تکرار). تیمار یک به‌عنوان گروه شاهد تنها از غذای کنسانتره (ساخت شرکت ۲۱ بیضاء شیراز) استفاده نمود تیمارهای دو، سه و چهار به‌ترتیب با ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. به‌منظور اضافه نمودن سطوح مختلف مکمل به غذای کنسانتره، ابتدا مقدار غذا برای کل دوره هشت هفته‌ای برای هر تیمار محاسبه شد. سپس سطوح مشخص پیکولینات کروم در آب مقطر و روغن ماهی (نسبت ۱:۱) حل و با اسپری‌کننده های جداگانه به سطح غذا اسپری گردید (۱۷) پس از ۴۸ ساعت جیره های خشک (در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد) با اندازه ۲/۴ میلی‌متر جمع آوری و در نایلون‌های مجزا در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شد. تیمار شاهد تنها با آب مقطر اسپری گردید (۱۸) پس از تهیه جیره‌های غذایی میزان رطوبت، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام به‌روش استاندارد تعیین شد (۲۵) (جدول ۱).

برای تعیین میزان غذای روزانه، ابتدا وزن توده زنده (بیوماس) هر مخزن محاسبه گردید. بیوماس از حاصل‌ضرب متوسط وزن ماهی‌های موجود در هر مخزن در تعداد ماهی به‌دست آمد و با تقسیم سه درصد بیوماس بر عدد دو (تعداد وعده‌های غذایی) (هشت صبح و ۱۶ عصر) مقدار غذایی که در هر وعده در اختیار ماهی‌های هر مخزن قرار گرفت محاسبه شد. در زمان غذادهی، ارتفاع آب به هشت سانتی‌متر رسانده شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه سطح آب در ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری نگه داشته شد (سهولت دسترسی ماهی‌ها به مواد غذایی) و پس از ۳۰ دقیقه سطح آب تا ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر بالا برده شد و به‌منظور خروج بقایای مواد غذایی و دفعی هر روز یک ساعت بعد از غذادهی کف مخزن‌ها سیفون شد. تلفات هر مخزن نیز، روزانه شمارش و ثبت گردید (۱۸).

زیست‌سنجی و بررسی پارامترهای رشد و تغذیه

به‌منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، در انتهای آزمایش، وزن (با دقت۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی‌متر) ماهی‌های هر مخزن ثبت گردید. با استفاده از داده های حاصل از زیست سنجی ها، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت (۳۲)، ضریب تبدیل غذایی (۱۶) ، نسبت بازدهی پروتئین و درصد بقاء (۵) تعیین شد.

Specific growth ratio (SGR) (٪ day^{-1})= (LnWf- Ln Wi)/t × ۱۰۰

SGR= ضریب رشد ویژه

W i = وزن اولیه (گرم) Wf = وزن نهایی (گرم) t= طول دوره پرورش (روز)

FCR= feed consumed/ WG

FCR= ضریب تبدیل غذایی

WG= افزایش وزن بدست آمده (گرم)

Feed consumed= غذای مصرف شده (گرم)

Protein efficiency ratio (PER) = WG/ crude protein intake

PER = نسبت بازدهی پروتئین

Crude protein intake = میزان پروتئین مصرفی

WG = افزایش وزن بدست آمده (گرم)

Condition factor (CF) (٪) = ۱۰۰× (wet weight / (length) ۳)

CF = شاخص وضعیت

wet weight = وزن مرطوب (گرم)

length = طول (سانتی‌متر)

WG= افزایش وزن به‌دست آمده (گرم)

Weight gain (WG) (٪) = (Wf- Wi)/ Wi×۱۰۰

W i = وزن اولیه (گرم)

Wf = وزن نهایی (گرم)

Survival rate (SR) (٪) = N۰/ N۱۰۰×۱

Survival rate = میزان بقاء

N۰ = تعداد اولیه ماهی

N۱ = تعداد نهایی ماهی

جداسازی و هموژنیزه کردن کبد

جهت تعیین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول کبد ماهی، در پایان آزمایش (روز ۶۰)، کبد چهار قطعه ماهی از هر تیمار پس از بیهوشی با پودر گل میخک (دو گرم در هر لیتر آب) پس از کشتن، خارج گردید (۱۴). سپس در داخل میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری در مجاورت یخ جمع آوری شده و سریعا به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. سپس کبدهای جمع آوری شده به‌صورت مجزا کاملا با سرم فیزیولوژی سه بار شسته شدند. سپس با یک حجم سرم فیزیولوژی در میکسر مخلوط گردید و با سرعت ۳۰۰۰ دور در هر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و سپس محلول رویی دو بار دیگر با همین سرعت سانتریفوژ گردید (۲۶). محلول رویی در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری (با سه تکرار برای هر تیمار) جمع‌آوری و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۶).

خون‌گیری از ماهی

برای سنجش پارامترهای خون شناسی (هموگلوبین، تعداد گلبول سفید و قرمز خون) به‌صورت تصادفی از نه قطعه ماهی از هر تیمار پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (دو گرم بر لیتر) خون‌گیری از قلب با استفاده از سوزن و سرنگ انسولین صورت گرفت. سپس سرنگ حاوی خون وارد میکروتیوب مورد نظر شد و از جداره میکروتیوب خون در داخل آن ریخته شد. و با بستن درب میکروتیوب، به کمک انگشتان اشاره و شست ظرف حاوی خون به آهستگی و به روش نیم دورانی به بالا و پایین تکان داده شد تا خون کاملا با هپارین مخلوط شود و در دمای ۷۰- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۸).

سنجش تری‌گلیسرید و کلسترول

برای اندازه‌گیری میزان تری گلیسرید، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه به همراه یک میلی لیتر معرف آنزیمی (آنزیم لیپاز، گلیسرول کیناز و پراکسیداز) به عنوان لوله تست و لوله استاندارد محتوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول استاندارد (۲۰۰ میلی‌گرم تری اولئین در یک میلی‌لیتر ایزوپروپانول خالص) و لوله بلانک حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر معرف آنزیمی آماده شد. سپس لوله‌ها به‌مدت سه دقیقه در بن ماری در دمای ۳۷ درجه

سانتی‌گراد قرار گرفته و جذب نوری لوله‌های تست و استاندارد در طول موج ۵۴۶ نانومتر در مقابل بلانک قرائت گردید (۳۱)، برای سنجش کلسترول، لوله نمونه محتوی ۱۰ میلی‌لیتر به‌همراه یک میلی‌لیتر معرف آنزیمی،(توسط آنزیم کلسترول استراز، کلسترول اکسیداز و پراکسیداز)، لوله استاندارد حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استاندارد (۲۰۰ میلی‌گرم کلسترول خالص در ایزوپروپانول) و لوله بلانک محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر معرف آنزیمی آماده شد و به مدت پنج دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت و در ادامه، جذب نوری لوله‌های تست و استاندارد در طول موج ۵۲۰ نانومتر در مقابل بلانک قرائت گردید (۶).

سنجش پارامترهای خون‌شناسی

شمارش کلی گلبول‌های سفید به روش مستقیم (با استفاده از لام هموسیتوتر) با رقیق کردن خون به نسبت یک به ۲۰ با محلول رقیق کننده پروچازکا و اسکروباک (Prochazka and Skrobak) (۳/۸۸ گرم کلرید سدیم، ۲/۵ گرم سولفات سدیم، ۲/۹۱ گرم دودکاهیدرات مونوهیدروفسفات سدیم، ۰/۲۵ میلی‌لیتر دی هیدروفسفات پتاسیم، ۷/۵ میلی‌لیتر فرمالدییید۳۷ درصد و ۰/۱ گرم بریلیانت کرزیل بلو در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر)، صورت گرفت. پس از انتقال نمونه رقیق شده به لام هموسیتومتر تعداد گلبول‌های سفید در چهار مربع بزرگ اطرافی شمارش گردید و سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد (۲۸).

برای رقیق نمودن خون جهت شمارش تعداد گلبول قرمز از پیپت حبابدار (ملانژور) استفاده گردید (شکل۳-۶). تعداد گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار بعد از رقیق سازی خون هپارینه با محلول داسیس (۱۰ میلی‌لیتر فرمالدییید، ۳۱/۳ گرم تری‌سیترات سدیم و یک گرم بریلیانت کرزیل بلو، در یک لیتر آب مقطر) (رقت یک به ۲۰۰) شمارش شد. از مربع میانی (پنج مربع از ۲۵ مربع میانی) لام نئوبار برای شمارش گلبول قرمز استفاده و عدد بدست آمده در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد و تعداد گلبول قرمز در یک میلی متر مکعب خون محاسبه گردید (۲۸).

برای تعیین میزان هموگلوبین، طبق روش سیانومت هموگلوبین، ابتدا ۱۰ میلی لیتر محلول درآبکین (۲۰۰ میلی‌گرم فری-سیانایدپتاسیم، ۵۰ میلی‌گرم سیانایدپتاسیم و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بی‌کربنات سدیم در یک لیتر آب مقطر) در لوله آزمایش ریخته شدو ۲۰ میکرولیتر از خون به آن اضافه شد. لوله‌ها به‌مدت پنج دقیقه روی شیکر قرار گرفته تا محلول و خون کاملا مخلوط شدند. سپس با استفاده از دستگاه طیف سنج در طول موج ۵۴۰ نانومتر تعیین و با استفاده از رابطه زیر، میزان هموگلوبین بر اساس گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد (۱۲).

جذب محلول سیان مت هموگلوبین×۱۰۰/۶۴۵۰۰×۴۴×d=میزان هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)

۶۴۵۰۰: وزن مولکولی هموگلوبین، عدد ۴۴: ضریب خاموشی به میلی‌مول، عدد ۱۰۰۰: تبدیل از میلی‌گرم به گرم و حرف d: مقدار ضخامت لوله و محلول درون آن بر حسب سانتی‌متر

جدول۱- ترکیب شیمیایی رژیم‌های غذایی مورد آزمایش

	تیمار			
	۱	۲	۳	۴
وزن اولیه (گرم)	۷/۱۷ ±۱/۰۳ a	۷/۱۸ ±۱/۰۲ a	۷/۱۶ ±۱/۰ a	۷/۱۶ ±۱/۰۲ a
وزن نهایی (گرم)	۲۸/۳۵ ±۱/۰۷ a	۳۸/۲۸ ±۱/۰۳ c	۳۵/۸۴ ±۱/۱۵ b	۲۸/۵۳ ±۱/۱۸ a
افزایش وزن بدست آمده (درصد)	۲۹۵/۳۶ ±۲/۱۸ a	۴۳۲/۹۱ ±۱/۹۸ c	۴۰۰/۶۵ ±۲/۹۴ b	۲۹۹/۶۶ ±۲/۲۵ a
ضریب رشد ویژه	۲/۲۹ ±۰/۰۷ a	۲/۷۸ ±۰/۰۹ c	۲/۶۹ ±۰/۰۹ bc	۲/۳۰ ±۰/۰۶ a
شاخص وضعیت	۱/۲۹ ±۰/۰۷ a	۱/۷۴ ±۰/۸۷ c	۱/۶۳ ±۰/۰۵ bc	۱/۲۹ ±۰/۰۵ a
نسبت بازدهی پروتئین	۶/۸۰ ±۱/۰۵ a	۹/۹۷ ±۱/۱۴ c	۹/۲۳ ±۱/۰۶ b	۶/۹۰ ±۱/۰۵ a
ضریب تبدیل غذایی	۱/۸۳ ±۱/۰۳ c	۱/۳۴ ±۰/۱۴ a	۱/۴۳ ±۰/۰۳ b	۱/۸۳ ±۱/۰۵ c
بقاء (درصد)	۹۸ ±۰ a	۹۸ ±۰/۳۶ a	۹۹ ±۰/۵۲ a	۱۰۰ ±۰/۸۸ a

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($p<0/05$). تیمار یک: تیمار شاهد، تیمارهای دو تا چهار به‌ترتیب حاوی ۸۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم جیره غذا است.

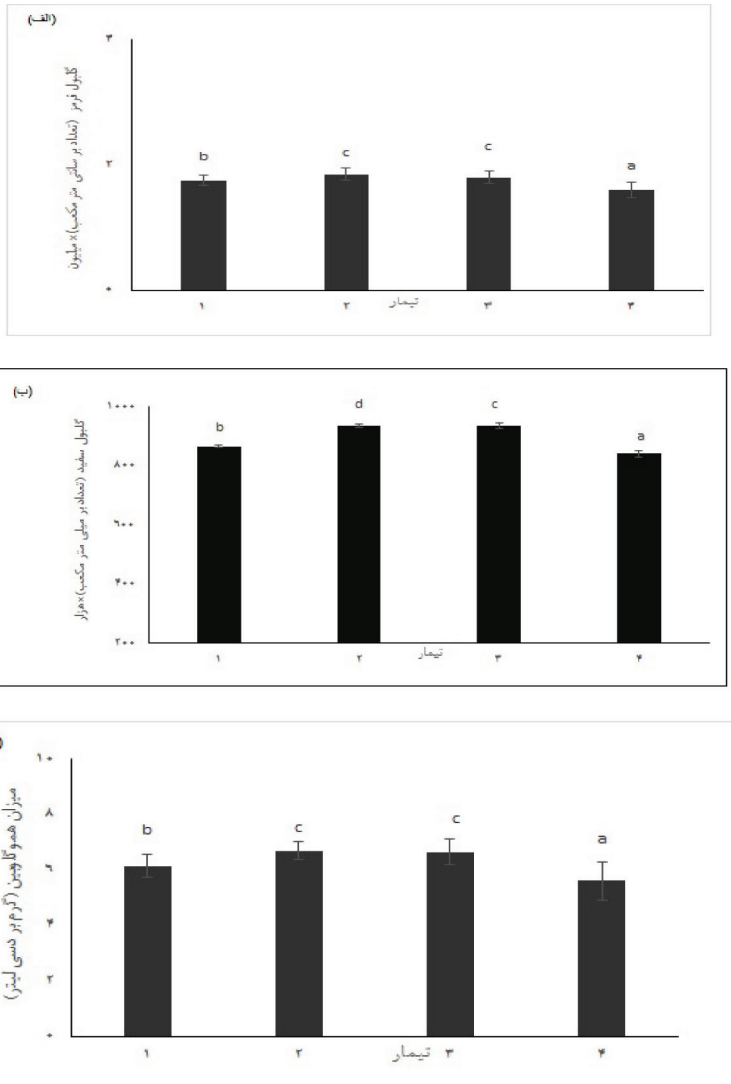
آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از اندازه گیری شاخص های رشد، هماتولوژی و سطوح لیپید کبد با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون دانکن، در سطح احتمال پنج درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS ۱۶ در محیط ویندوز XP استفاده گردید.

نتایج

شاخص های رشد

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش در جدول ۲ آورده شده است. ماهی‌ها از میانگین وزن اولیه ۷/۱۸ گرم به دامنه میانگین وزن نهایی ۲۸/۳۵ الی ۳۸/۲۸ گرم در طول دوره ۶۰ روزه آزمایش رسیدند. نتایج نشان داد که افزودن مقادیر ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم مکمل پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا تفاوت معنی‌داری را در میانگین وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست آمده، ضریب رشد ویژه، شاخص وضعیت، ضریب تبدیل غذایی و نسبت بازدهی پروتئین در مقایسه با تیمار شاهد ایجاد کرد ($P<0/05$). بیشترین وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست آمده، نسبت بازدهی پروتئین وکمترین ضریب تبدیل غذا در تیمار دو مشاهده شد. ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت بین تیمار دو و سه اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ($P>0/05$). میزان بقاء نیز



شکل ۱- میانگین و خطای معیار تعداد گلبول‌های قرمز (الف) ، گلبول‌های سفید (ب) و هموگلوبین(ج) ماهی در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰، با سه تکرار). حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است.

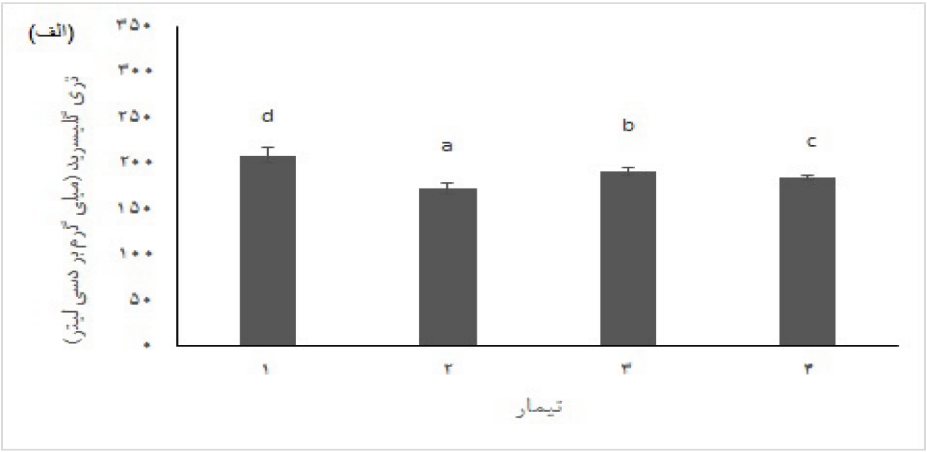
در بین تیمار ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

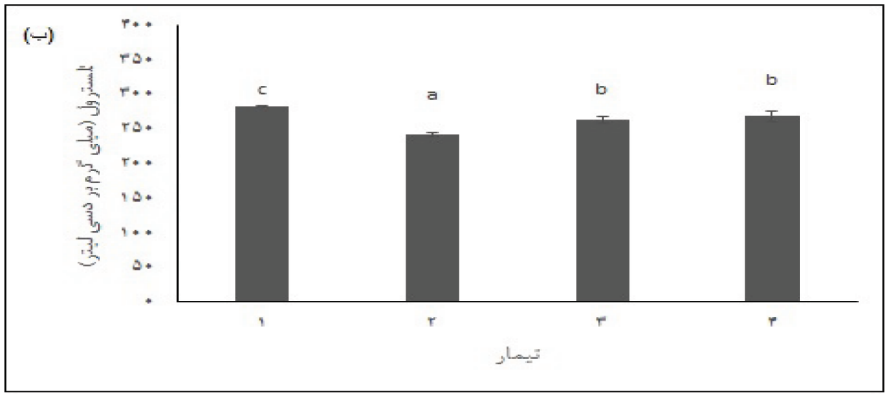
خون‌شناسی

تغییرات میانگین تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز و هموگلوبین خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰) در شکل ۱ نشان داده شده است. طبق شکل ۱ (الف)، تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارهای تغذیه شده با پیکولینات کروم اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). در حالی‌که تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار دو و سه افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵) ولی بین تیمار دو و سه اختلاف معنی-داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). بیشترین تعداد گلبول سفید در تیمار دو مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با بقیه تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). بین تیمارهای تغذیه شده با پیکولینات کروم از نظر تعداد گلبول‌های سفید تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۱ (ب)). طبق شکل ۱ (ج)، میزان هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با پیکولینات کروم تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار دو و سه مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمارشاهد و تیمار چهار نشان دادند (P<۰/۰۵).

سطوح تری‌گلیسرید وکلسترول کبد

تغییرات میانگین میزان تری‌گلیسرید و کلسترول سرم خون ماهی طلال در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز۶۰) در شکل ۲ نشان داده شده است. طبق شکل ۲ (الف)، میزان تری‌گلیسرید در تیمارهای تغذیه شده با پیکولیتات کروم کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). کمترین میزان تری‌گلیسرید در تیمار ۲ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با بقیه تیمارهای تغذیه شده با پیکولینات کروم و تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). بین کل تیمارهای تغذیه شده با پیکولینات کروم نیز از نظر میزان تری‌گلیسرید تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). کمترین میزان کلسترول نیز





شکل ۲- میانگین و خطای معیار میزان تری‌گلیسرید (الف) و کلسترول (ب) ماهی در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰، با سه تکرار). حروف نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است.

در تیمار دو مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) و بیشترین میزان کلسترول در تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵)، در حالی‌که بین تیمار سه و چهار این تفاوت معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵) (شکل ۲ (ب)).

بحث و نتیجه گیری

در سطح مولکولی، کروم به‌عنوان بخشی از ماده‌های الیگوپپتیدی با وزن مولکولی کم یا کرومودیولین (chromodulin) است که نقش حیاتی را در تقویت مکانیسم پیام رسانی انسولین بازی می‌نماید و در نهایت منجر به تسهیل متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها می‌شود (۲۶). تغییرات شاخص های رشد در بین تیمارهای مختلف نشان داد که اضافه نمودن مقادیر مختلف مکمل پیکولینات کروم (به استثنای ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم غذا)، منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه در مقایسه با تیمار شاهد شد که با نتایج به‌دست آمده از تحقیقات صورت گرفته بر روی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با ۰/۵ میلی‌گرم کلرید کروم و پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱)، هیبرید تیلاپیا تغذیه شده با دو میلی‌گرم کلرید کروم بر کیلوگرم غذا (۳۰) و کپور علفخوار تغذیه شده با ۰/۸ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱۷) همخوانی داشت. از آن‌جایی که کروم نقش بسیار مهمی در کاهش سطح گلوکز، افزایش حساسیت نسبت به انسولین و متابولیسم چربی‌ها و قند بازی نموده و باعث حمل پروتئین به محل هایی می شود که بیشتر نیاز است (۱۷، ۲۹)، لذا به نظر می‌رسد وجود این عنصر کمیاب در جیره غذایی می‌تواند سلامت و رشد ماهی را تضمین نماید (۱۸، ۱۹). در حالی‌که نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات صورت گرفته بر روی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با ۱/۶ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۲۹) و هیبرید تیلاپیا تغذیه شده با دو میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۲۳) همخوانی نداشت که دلیل مغایرت نتایج را می توان اختلاف در اشکال کروم و طول دوره مصرف آن دانست (۲۶). هم‌چنین با تغییر سطوح مکمل پیکولینات کروم در این آزمایش، وزن نهایی، افزایش وزن به‌دست آمده و نسبت بازدهی پروتئین روند کاهشی را نشان دادند که با نتایج حاصل از تحقیق Ahmed و همکاران (۳) و Liu و همکاران (۱۷) همخوانی داشت. Ahmed و همکاران (۲) با بررسی اثر سطوح مختلف کلرید کروم (دو، ۱/۵، یک، ۰/۵، ۰/۲ و صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) بر عملکرد رشد ماهی کپور معمولی نشان دادند که بیشترین میزان وزن نهایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازدهی پروتئین و افزایش وزن به‌دست آمده در تیمار تغذیه شده با ۰/۵ میلی‌گرم کلرید کروم بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و همه سطوح کلرید کروم به استثنای دو میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا منجر به بهبود عملکرد رشد و تغذیه ماهی کپور معمولی در مقایسه با تیمار شاهد شد. این موضوع نشان می‌دهد که استفاده بیش از حد کروم سه ظرفیتی در جیره غذایی می‌تواند اثرات سمی را ایجاد کرده و منجر به کاهش رشد گردد (۲، ۸). مصرف بیش از حد کروم سه ظرفیتی باعث تولید انواع اکسیژن فعال شده که در نهایت منجر به شکستن زنجیره DNA و تخریب سلول‌ها می‌شود (۴، ۲۶).

در سال‌های اخیر توجه بیشتری به مطالعه‌های خون‌شناسی به عنوان بخش جدایی‌ناپذیر از شرایط سلامت، وضعیت بهره‌وری و فیزیولوژیکی ماهی شده است (۱۸). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از سطوح ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم مکمل غذایی پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا منجر به افزایش معنی‌دار هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید و گلبول‌های قرمز و هموگلوبین در مقایسه با سطح ۱۰۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا و تیمار شاهد شد که می‌توان افزایش تعداد گلبول‌های سفید را با افزایش تولید آنتی‌بادی در ارتباط دانست که منجر به بهبود وضعیت و بقاء ماهی در برابر سموم می‌گردد (۲۷). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج به‌دست آمده از تحقیق بر روی ماهی تیلاپیای نیل تغذیه شده با سطوح مختلف پیکولینات کروم (صفر، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، و ۱۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم غذا) (۱۸) همخوانی داشت. آن‌ها گزارش کردند که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با ۴۰۰ و ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و با افزایش سطح مکمل پیکولینات کروم بالاتر از ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا تعداد گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و هموگلوبین کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بر سطح بالاتر از ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا مطابقت داشت. این موضوع نشان می‌دهد که غلظت بیش از حد کروم از یک طرف منجر به اختلال در عملکرد بافت اریتروپوئیتیک می‌شود که به‌نوبه خود حیات سلول‌ها را تحت تاثیر قرار می دهد و از طرف دیگر ذخیره و متابولیسم آهن را مختل می‌سازد و منجر به کاهش قابل ملاحظه ی آهن سرم، ظرفیت اتصال آهن، فریتین و هموگلوبین می‌گردد (۳) در حالی‌که غلظت مجاز کروم در جیره غذایی منجر به پایداری سلول‌های قرمز خون در برابر تغییرات سلولی ناشی از پراکسیداسیون می‌شود (۱۸).کاهش تعداد گلبول‌های سفید در سطح بالای ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا می‌تواند ناشی از کاهش شدید تعداد لنفوسیت‌ها باشد که با تحقیقات صورت گرفته بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با ۲۳۴۰ میکروگرم از مخمر کروم بر کیلوگرم غذا (۱۱)، کپور معمولی تغذیه شده با ۵۰۰ میکروگرم از کروم بر کیلوگرم غذا (۷) و تیلاپیای نیل تغذیه شده با غلظت بالاتر از ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱۸) همخوانی داشت. لذا در مطالعه حاضر می‌توان گفت که اثرات منفی استفاده از سطح بالاتر از ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا بر روی پارامترهای خون‌شناسی می‌تواند وضعیت سلامتی و بهره‌وری ماهی را تهدید نماید.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمار حاوی ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا منجر به کاهش معنی‌دار تری‌گلیسرید و کلسترول کبد در مقایسه با سطح ۱۰۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا و تیمار شاهد شد، که این موضوع در ارتباط با نقش تحریک کننده کروم در متابولیسم قند و چربی و اثر مثبت سطوح ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا بر پارامترهای خون‌شناسی می‌باشد (۱۸) نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقات صورت گرفته بر روی تیلاپیای نیل تغذیه شده با ۱۲۰۰

میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱۰)، کپور علفخوار تغذیه شده با ۰/۸ میلی‌گرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱۷) و تیلاپیای نیل تغذیه شده با ۴۰۰و ۶۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا (۱۸) همخوانی داشت. هم‌چنین می‌توان گفت که کروم سه ظرفیتی با نقش آنتی‌اکسیدانی خود نیز می‌تواند با کاهش تری‌گلیسرید منجر به کاهش پر اکسیداسیون لیپید در پلاسما و بافت شود و از تخریب غشاء سلولی جلوگیری نماید (۲۴).

درکل نتایج به‌دست آمده از عملکرد رشد، هماتولوژی و سطوح لیپیدی کبد نشان داد که استفاده از سطوح ۶۰۰ و۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی طلال بهینه‌ترین سطوح به منظور حفظ سلامت و افزایش عملکرد تولید می‌باشد و در رژیم غذایی این گونه ماهی پیشنهاد می‌گردد، و استفاده از سطح بالاتر ۸۰۰ میکروگرم پیکولینات کروم بر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی طلال به دلیل اخلال در عملکرد بافت اریتروپوئیتیک، ذخیره و متابولیسم آهن که در نهایت منجر به تخریب سلول‌ها می‌شود، توصیه نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم موسسه تحقیقات شیلات چابهار و کارشناس محترم آزمایشگاه شبکه دامپزشکی چابهار تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Ahmed, A.R., A.N. Jha and S.J.Davies. 2012. The efficacy of chromium as a growth enhancer for mirror carp (*Cyprinus carpio* L) :an integrated study using biochemical, genetic, and histological responses. *Biological Trace Element Research* 148: 187-197.

2.Ahmed, A.R., J.A. Moody, A. Fisher and S.J. Davies. 2013. Growth performance and starch utilization in common carp (*Cyprinus carpio* L.) in response to dietary chromium chloride supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 27: 45-51.

3.Ani, M. and A.A. Moshtaguie. 1992. The effect of chromium on parameters related to iron metabolism. *Biological Trace Elements Research* 32: 57-64.

4.Bagchi, D., S.J. Stohs, B.W. Downs, M. Bagchi and H.G. Preuss. 2002. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology* 180: 5-22.

5.Bai, S.C. 2001. Requirements of L-ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rochfish (*Sebaster schlegeli*) In: Ascorbic acid in aquatic organism. Dabrowski, K., (Eds.) CRC press.

6.Burtis, C.A., E.R. Ashwood and D.E. Brund. 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry (5thed.).W.B.Sunders Company. Philadelphia, USA

7.Ciftc¸I. N., C. Gunalp, B. Cicik, C. Erdem, and O. Ay. 2010. Effects of chromium on the hematocrit levels and erythrocyte numbers of *Cyprinus carpio*. E-Journal of New World Science Academic (NWSA) 5: 82-88.

8.Castro, M.P., F.R. Moraes, R.Y. Fujimoto, C. Cruz, M.A.A. Belo and J.R.E. Moraes. 2014. Acute toxicity by water containing hexavalent or trivalent chromium in native Brazilian fish, Piaractus mesopotamicus: anatomopathological alterations and mortality. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 92: 213-219.

9.Cook, M.T., P.J. Hayball, W. Hutchinson, B.F.Nowak and D.J. Hayball . 2003. Administration of a commercial immunostimulant preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae (Bloch and Schneider) in winter. *Fish and Shellfish Immunology* 14: 333-345.

10.El-Sayed, E.H., E.I. Hassanein, M.H. Soliman and N.R. Elkhatib2. 2010. The effect of dietary chromium picolinate on growth performance, blood parameters and immune status in nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. F. oreign Agricultural Relations (FAR), Egypt, 29th Nov. - 1st Dec..

11.Gatta, P.P., K.D. Thompson, R.S. Andrea, P.S. Testi and A. Adams. 2001. Dietary organic chromium supplementation and its effect on the immune response of rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 11: 371-382.

12.Goldenfarb, P.B., F.P. Bowyer, T. Hall and E. Brosious. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology* 56: 35-39.

13.Hasan, M.R. 2002. Nutrition and feeding for sustainable Aquaculture development in the third millennium. FAO Reports.

14.Kucukbay, F.Z., H. Yazlak, N.Sahin and M.N. Cakmak. 2006. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on serum glucose, cholesterol and minerals of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 14: 259-266

15.Kuthalingam, M.D.K. 1956. Observations on the food and feeding habits of the Indian mackerel, *Rastrelliger kanagurta* (Russell). Zoology Society 8: 99-106.

16.Lim, C., P.H. Klesius, M.H. Liand E.H. Robinson. 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, haematoloy, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture* 185: 313-327.

17.Liu, T., H.Wen, M.Jiang, D. Yuan, P. Gao, Y. Zhao, F. Wu and W. Liu. 2010. Effect of dietary chromium picolinate on growth performance and blood parameters in grass carp fingerling, *Ctenopharyngodon idellus. Fish Physiology and Biochemistry* 36: 565-572.

18.Mehrim, A.I. 2012. Effect of dietary chromium picolinate supplementation on growth performance, carcass composition and or-

gans indices of nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 7: 224-232.

19.Mertz, W. 1993. Chromium in human nutrition: a review. *Journal of Nutrition* 123: 626-633.

20.Nazan, D., A.Yener and Y. Rikap. 2008. Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of the Zebrafish (*Danio rerio*). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 151: 1-10.

21.Nisa, K. and A. Sadullah. 2011. Seasonal riation in chemical composition of the Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) from Karachi Coast. *Iranian Journal of Fisheries Sciences.* 10, 67-74.

22.NRC, 1997. The role of chromium in animal nutrition. National Academy Press, Washington, DC.

23.Pan, Q., S.H. Liu, Y.G. Tanand Y.Z. Bi. 2003. The effect of chromium picolinate on growth and carbohydrate utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* Oreochromis aureus. Aquaculture* 225: 421-429

24.Papageorgiou, G., Botsoglou, N., Govaris, A., Giannenas, I., Iliadis, S., Botsoglou, E., 2003. Effect of dietary oregano oil and alphatocopheryl acetate supplementation on iron-induced lipid oxidation of turkey breast, thigh, liver and heart tissues. *Journal of Animal Physiology Nutrition* 87, 324-335.

25. Peterson, D.S., D.J. Harris, J.C. Rayner, A.B. Blakeney and M. Choct. 1999. Methods for the analysis of premium livestock grains. *Australian Journal of Agriculture Researches* 50: 775- 787.

26.Pires, K.A., D.C.Carvalho dos Santos, D.S. Graça, M.M. Melo, F.A. Barbosa and B. Soto-Blanco. 2015. Effects of Two Sources of Chromium on Performance, Blood and Liver Lipid Levels in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiae Veterinariae* 43: 1-8.

27.Ramesh, M. and M. Saravanan. 2008. Haematological and biochemical responses in a freshwater fish Cyprinus carpio exposed to chorpyrifos. *Internatinal Journal of Integrative Bioliogy* 3: 80-83.

28.Schaperclaus, W., H. Kulow and K. Schreckenbach. 1991. Hematological and serological technique. In: Fish Disease. Kothekar, V.S. (ed.) (2 nd ed.). Connaught circus, Gulab primlani, Oxonian press. New Delhi, India.

29.Selcuk, Z., S.U. Tiril, F. Alagil,V. Belen, M. Salman,S. Cenesiz, O.H.Muglaliand F.B. Yagci. 2010. Effect of dietary L-Carnitine and chromium picolinate supplementations on performance and some serum parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 18, 213-221.

30.Shiau, S. and M. Chen. 1993. Carbohydrate utilization by tilapia *(Oreochromis niloticusx O. aureus)* as influenced by different chromium sources. Journal of Nutrition 123: 1747-1753.

31.Trinder, P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annuals of Clinical Biochemistry* 6: 24-27.

32.Wahli, T., V.Verlhac, P. Griling, J. Gabaudan and C. Aebischer. 2003. Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout *(Oncorhyncus mykiss) Aquaculture* 225: 371-386.