

تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولیدمثلی مولدین ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) در حضور یا عدم حضور تیامین در جیره

ساره قیاسی، بهرام فلاحتکار*

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۲

چکیده

به منظور بررسی اثر تیامین (ویتامین B₁) بر تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولید مثلی ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تعداد ۳۰ مولد ماده (698 ± 15 گرم) که در مرحله ۴ رسیدگی جنسی بودند، انتخاب و به طور تصادفی در دو تیمار و سه تکرار در ۶ تانک فایبرگلاس (حجم آبگیری ۱۰۶۳/۳ لیتر) توزیع شدند. تیمار اول (تیامین) با جیره ای حاوی ۱۰ mg/kg تیامین هیدروکلراید و تیمار دوم (آنتی تیامین) با جیره ای حاوی ۱ g/kg آمپرولیوم هیدروکلراید در جیره خشک به مدت ۵ ماه تغذیه شدند. پس از این مدت، ماهیان با تزریق هورمون LHRH-A₂ تکثیر شدند. در انتهای دوره، پارامترهای رشد تفاوت معنی داری بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$). میزان هماتوکریت و هموگلوبین در تیمار تیامین افزایش معنی داری داشت ($P < 0.05$)، اما تعداد گلبول قرمز، تعداد گلبول سفید، شاخص های خونی و درصد افتراقی گلبول های سفید تفاوت معنی داری نداشتند ($P > 0.05$). شاخص قطبیت هسته در سه مرحله (روزهای صفر، ۷۵ و ۱۵۰) اندازه گیری شد که در وسط و انتهای دوره کاهش معنی داری در تیمار تیامین مشاهده شد ($P < 0.05$). گلوکز شش فسفات دهیدروژناز و استرادیول تفاوت معنی داری نشان ندادند ($P > 0.05$)، اما تستوسترون افزایش معنی داری در تیمار تیامین داشت ($P < 0.05$). تعداد تخمک در هر گرم و زمان پاسخ به القای هورمونی افزایش معنی داری به ترتیب در تیمار آنتی تیامین و تیامین داشت ($P < 0.05$)، اما همآوری و تیامین تخم تفاوت معنی داری نداشت ($P > 0.05$). با توجه به نتایج این مطالعه، حضور تیامین در جیره می تواند منجر به بهبود برخی شاخص های فیزیولوژیک و تولیدمثلی در مولدین ماهی استرلیاد شود و یک ماده ضروری در فصل تکثیر ماهیان محسوب می شود.

کلمات کلیدی: ویتامین B₁، فیزیولوژی، تولیدمثل، استرلیاد

مقدمه

با افزایش روز افزون جمعیت جهان و نیاز به غذا امروزه آبزیان به عنوان یکی از منابع تامین کننده پروتئین حیوانی مورد نیاز از جایگاه مناسبی برخوردار هستند. در این بین پرورش تاسماهیان از یک سو به علت کاهش ذخایر آنها و از سوی دیگر به علت تولید خاویار و دارا بودن مرغوبیت گوشتشان رو به افزایش است. ماهی استرلیاد جزء ماهیان ساکن رودخانه است که با توجه به دوره رسیدگی جنسی کوتاه تر نسبت به تاسماهیان دیگر و کیفیت گوشت آن و هیبرید حاصل از آن با نام بستر (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*) (Bester) تکثیر و پرورش این ماهی در کشورهای مختلف جهان رو به توسعه است (Steffens et al. 1990).

مدیریت تغذیه ای مولدین از جمله کارهای مهم در بحث توسعه آبری پروری است، به طوری که تغذیه مولدین ارتباط مستقیمی با کیفیت نوزاد و بچه ماهی دارد (Lee and Dabrowski, 2004). ویتامین ها از جمله ریز مغذی هایی هستند که با وجود نیاز کم بدن نشانه های کمبود آنها در ماهیان به سرعت بروز می کند (Morito et al. 1986). ویتامین B₁ یا تیامین از جمله ویتامین های محلول در آب است که در بدن ساخته نمی شود و جذب آن صرفاً از طریق غذا در ماهیان صورت می گیرد. این ویتامین توسط سلول های روده جذب می شود و به عنوان یک کوآنزیم در مراحل متابولیک سلولی و در سوخت و ساز طبیعی کربوهیدرات، چربی و زنجیره های آمینواسید شرکت می کند و معمولاً نقشی حیاتی در اعمال عصبی ایفا می نماید که مستقل از نقش کوآنزیمی آن است (Brown et al. 1998). مطالعات صورت گرفته نشان می دهند که در زمان حضور این ویتامین در جیره ماهیان، شاخص های رشد (Andrews and Murai, 1978; Morito et al. 1986; Lim and Lea Master, 1991)، پارامترهای خون شناختی (Lim and Yildirim-Aksoy, 2011) و فعالیت آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز (Amcoff et al. 2000) بهبود پیدا می کند. نقش ویتامین ها در بلوغ و ساختن استروئیدهای جنسی به خوبی شناخته شده است (Dabrowski et al. 1995)، اما در ارتباط با اثر تیامین بر بلوغ و استروئیدهای جنسی ماهیان تاکنون مطالعه ای انجام نشده است.

کمبود تیامین در اثر ناکافی بودن یا تخریب این ویتامین در جیره ماهیان اتفاق می افتد، به طوری که گزارش شده است در زمان تغذیه با آنتی تیامین هایی مانند تیامیناز (Honeyfield et al. 2005) و آمپرولیوم هیدروکلراید (Fynn-Aikins et al. 1998)، کمبود تیامین در ماهیان مشاهده می شود. کمبود تیامین در مولدین باعث کاهش ذخایر تیامین در بدن این ماهیان می شود و این کاهش در فصل تکثیر با کاهش تیامین در تخم های حاصله (Wiegand et al. 2011) منجر به بروز نوعی بیماری همراه با تلفات عمده به نام مرگ و میر زودرس (Early Mortality Syndrome) در نوزادها می شود (Ketola et al. 2000). همچنین بیان شده که ویتامین ها نقش مهمی در عملکرد تولیدمثلی ماهیان از جمله تسریع در بلوغ و رسیدگی جنسی دارند (Blom and Dabrowski, 1995)، اما در ارتباط با اثر تیامین بر عملکرد تولیدمثلی تاسماهیان تاکنون مطالعه ای انجام نشده است.

امروزه در بحث ماهیان خاویاری به رغم پیشرفت های خوبی که طی چند سال اخیر در مورد پرورش آنها انجام شده، اطلاعات کافی در مورد نیازهای ویتامینی و اثرات آنها وجود ندارد و این نبود اطلاعات منجر به محدودیت تکثیر و پرورش این ماهیان شده است. با توجه به ارزش اقتصادی ماهیان خاویاری، کاهش ذخایر مولدین وحشی و اهمیت تیامین بر پارامترهای ذکر شده، مطالعه حاضر به بررسی شاخص های رشد، خون شناسی، فعالیت آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز، استروئیدهای جنسی و عملکرد تولید مثلی مولدین استرلیاد در حضور و عدم حضور تیامین در فصل تولیدمثلی می پردازد. بدیهی است که نتایج به دست آمده به مدیریت صحیح تغذیه مولدین پرورشی و افزایش کارایی تکثیر این ماهی با ارزش کمک شایان توجهی می کند.

مواد و روش ها

ماهی، شرایط پرورش و غذادهی

مطالعه حاضر در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت (استان گیلان) انجام شد. به منظور اجرای این آزمایش تعداد ۳۰ ماهی مولد استرلیاد با میانگین وزنی ۱۵ ± ۶۹۸ گرم انتخاب و مرحله رسیدگی جنسی در آنها توسط شاخص قطبیت هسته (GV) تعیین

سازی هشتگرد (هشتگرد، ایران) تهیه شد. سپس اقلام غذایی از لحاظ میزان تیامین بررسی شده و اقلامی انتخاب شدند که دارای حداقل میزان تیامین در ساختار خود بودند (www.nutritiondata.self.com). جیره های آزمایشی به صورت دست ساز تهیه و ماهیان روزانه به میزان ۰/۵٪ وزن بدن در شرایط زمستان گذرانی یک نوبت در روز با جیره های مورد نظر تغذیه شدند. میانگین دمای آب در طی دوره پرورش $0.3 \pm 8/9$ درجه سانتیگراد (۵ ماه قبل از تکثیر و در دمای زمستان گذرانی) و میانگین اکسیژن محلول برابر $0.2 \pm 7/5$ میلی گرم در لیتر بود. آب مورد نیاز برای پرورش از رودخانه سفیدرود تامین و بعد از فیلتر شدن وارد تانک ها می شد. همچنین ماهیان در طی آزمایش در شرایط دوره نوری (فتوپریود) طبیعی و در یک مکان سرپوشیده قرار داشتند. اقلام غذایی و آنالیز تقریبی جیره پایه در جدول ۱ آورده شده است.

شد. پس از پلاک گذاری در ناحیه باله سینه ای، ماهیان در مخازن فایبرگلاس با حجم آبیگری ۱۰۶۳/۳ لیتر توزیع (پنج ماهی در هر تانک) و به مدت ۲ هفته با جیره ای فاقد تیامین حاوی ۰/۴۳٪ پروتئین و ۰/۱۳٪ چربی به میزان ۰/۵٪ وزن بدن و یک دفعه در روز تغذیه شدند. دو تیمار در نظر گرفته شد به طوری که در تیمار اول (تغذیه شده با تیامین)، ماهیان با جیره ای خشک حاوی ۱۰ میلی گرم تیامین به ازای هر کیلو وزن بدن و در تیمار دوم (تغذیه شده با ضد تیامین) ماهیان با جیره ای حاوی ۱ گرم بر کیلوگرم آمپرولیوم هیدروکلراید (به عنوان ترکیب ضد تیامین) به مدت پنج ماه قبل از فصل تکثیر تغذیه شدند و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. تیامین مورد استفاده از شرکت سیگما (Vitamin B₁ hydrochloride; Sigma, Germany)، آمپرولیوم هیدروکلراید از شرکت تولید داروهای دامی ایران (تهران، ایران) و مکمل ویتامینه فاقد تیامین از شرکت مکمل

جدول ۱- اجزا تشکیل دهنده و آنالیز تقریبی جیره تهیه شده در تحقیق حاضر.

اجزای جیره	تیمار تیامین (درصد)	تیمار آنتی تیامین (درصد)
آرد ماهی	۳۴	۳۴
آرد گندم	۵	۵
کنجاله سویا	۲۰	۲۰
پودر گوشت	۲۰	۲۰
سبوس گندم	۹	۹
روغن ماهی	۳	۳
روغن گیاهی	۳	۳
کربوکسی متیل سلولز	۳	۲/۹
مکمل معدنی ^۱	۱/۵	۱/۵
مکمل ویتامینه ^۲	۱/۵	۱/۵
آمپرولیوم هیدروکلراید ^۳	۰	۰/۱
آنالیز تقریبی جیره (n=۳)		
پروتئین	۴۳/۰۰ ± ۰/۷	۴۳/۰۰ ± ۰/۷
چربی	۱۳/۱ ± ۰/۲	۱۳/۱ ± ۰/۲
خاکستر	۹/۷ ± ۰/۱	۹/۷ ± ۰/۱
رطوبت	۱۳/۴ ± ۰/۱	۱۳/۴ ± ۰/۱

^۱ مکمل معدنی استفاده شده ساخت شرکت هشتگرد (هشتگرد، ایران) می باشد که هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس حاوی ۶ گرم آهن، ۱۰ گرم روی، ۲۰ میلی گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی گرم کبالت، ۶۰۰ میلی گرم مس، ۶ گرم آهن، ۵ گرم منگنز، ۶۰۰ میلی گرم ید و ۱ گرم کولین کلراید می باشد.

^۲ مکمل ویتامینه استفاده شده ساخت شرکت مکمل سازی هشتگرد (هشتگرد، ایران) می باشد که هر ۱۰۰۰ گرم پرمیکس حاوی ۱۶۰۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ IU ویتامین D₃، ۶۰ گرم ویتامین E، ۸ گرم ریبولوین، ۱۲ گرم نیاسین، ۴۰ گرم اسید پانتوتونیک، ۴ گرم پیریدوکسین، ۲ گرم اسید فولیک، ۸ میلیگرم سیانوکوبالامین، ۶۰ گرم ویتامین C، ۲ گرم ویتامین K₃، ۴۰ میلی گرم بیوتین و ۲۰ گرم ویتامین اینوزیتول می باشد. ^۳ شرکت داروهای دامی ایران (تهران، ایران).

تعیین پارامترهای رشد و هماتولوژی

برای بررسی اثر تیماین بر شاخص های رشد در انتهای دوره ابتدا ماهیان با دوز ۴۰۰ ppm به روش غوطه وری با عصاره گل میخک بیهوش شده، به صورت انفرادی ریخت

سنجی شدند و وزن آنها با دقت ۱۰ گرم اندازه گیری شد. فاکتورهای افزایش وزن (WG) و نرخ رشد ویژه (SGR) در هر دو تیمار با استفاده از فرمول زیر تعیین شد (Falahatkar et al. 2012):

وزن اولیه - وزن نهایی = (گرم) WG

$100 \times [\text{مدت زمان آزمایش} / (\text{لگاریتم وزن اولیه} - \text{لگاریتم وزن نهایی})] = \text{SGR (درصد/روز)}$

(Hb) توسط دستگاه اسپکتروفتومتری و با روش سیان مت هموگلوبین سنجش شد (Drabkin, 1945). برای محاسبه شاخص های خونی شامل میانگین حجم یک گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین یک گلبول قرمز (MCH) و میانگین درصد غلظت هموگلوبین در یک گلبول قرمز (MCHC) از فرمول های زیر استفاده شد (Yuan et al. 2008):

به منظور تعیین پارامترهای خون شناسی در انتهای دوره پس از بیهوشی ۲ میلی لیتر خون از ساقه دمی ماهیان توسط سرنگ هپارینه گرفته شد. تعداد گلبول های قرمز (RBC) و تعداد گلبول های سفید (WBC) توسط لام هموسیتومتر به روش Yuan و همکاران (۲۰۰۸) اندازه گیری شد. میزان هماتوکریت (Hct) به روش Rey و Vazquez و Guerrero (۲۰۰۰) و میزان هموگلوبین

$10 \times [\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون در میلی متر مکعب)} / \text{هماتوکریت (درصد)}] = \text{MCV (fl)}$

$10 \times [\text{تعداد گلبول قرمز (میلیون در میلی متر مکعب)} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)}] = \text{MCH (pg/cell)}$

$100 \times [\text{هماتوکریت (درصد)} / \text{هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)}] = \text{MCHC (g/dl)}$

برای بررسی اثر تیماین بر مهاجرت هسته به سمت قطب حیوانی، در ابتدا، وسط و انتهای دوره پرورش (روز صفر، ۷۵ و ۱۵۰ پس از شروع آزمایش) در ابتدا از هر تانک سه ماهی به صورت تصادفی صید و شاخص قطبیت هسته (GVM) اندازه گیری شد و در وسط و انتهای دوره نیز همان ماهیان بررسی شدند. ماهیان پس از بیهوشی روی میز کار قرار گرفته و توسط یک سوند کوچک مقدار کمی تخمک از ناحیه شکمی آنها بیرون کشیده شد و میزان GVM به روش Van Eenennaam و Chapman (۲۰۰۷) اندازه گیری شد.

همچنین برای اندازه گیری درصد افتراقی گلبول های سفید و شمارش تعداد لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت پس از تهیه گسترش خونی سلول ها با روش Daisley و Blaxhall (۱۹۷۳) شمارش شدند.

سنجش استروئیدهای جنسی و شاخص قطبیت هسته

سطوح هورمون های تستوسترون و استرادیول با استفاده از کیت تشخیص آزمایشگاهی Immunotech (Marseille, France) با روش رادیو ایمنونواسی (RIA) توسط سیکلو هگزان اتیل استات با روشی مشابه روش Fostier و Jalabert (۱۹۸۶) محاسبه شد. همچنین ضریب تغییرات intra-assay و inter-assay به ترتیب برای هورمون تستوسترون برابر ۰/۲۷، ۰/۶۹ و استرادیول ۶۳، ۹۰ بود. برای اطمینان از درستی اندازه گیری های انجام شده، همه نمونه ها و استانداردها دو بار تکرار شدند.

تعیین فعالیت آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز و تیماین در تخمک

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم گلوکز شش فسفات دهیدروژناز (G6PDH) از کیت آزمایشگاهی مخصوص (کیت بهار افشان، تهران، ایران) و دستگاه اتوالایزر با روش Amcoff و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد.

به منظور تعیین میزان تیماین هیدروکلراید (THCL)، تیماین مونوفسفات (TMP)، تیماین پیروفسفات (TPP)

دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. سپس تعداد تخمک در یک نمونه حدود ۲-۱/۵ گرمی از تخمک هر ماهی شمارش، و با توجه به آن، تعداد تخمک در هر گرم تعیین شد. همچنین فاصله زمانی اولین مرحله تزریق هورمون تا رسیدگی نهایی ماهی برای هر ماهی به طور جداگانه ثبت و به عنوان زمان پاسخ به تزریق هورمون در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

به منظور انجام آنالیز آماری داده ها، ابتدا وضعیت نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov – Smirnov و همگنی واریانس ها با آزمون Levene بررسی شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد. اختلاف میانگین ها در کلیه موارد با سطح معنی داری $P < 0/05$ تعیین شد. تجزیه و تحلیل با نرم افزار SPSS 16 انجام شد. داده های درون متن به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه شده اند.

نتایج

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تغذیه مولدین استرلیاد با جیره های حاوی تیامین و آنتی تیامین تفاوت معنی داری در پارامترهای رشد مانند وزن کسب شده، نرخ رشد ویژه و وزن نهایی نداشت ($P > 0/05$) (جدول ۲).

و تیامین کل پس از تخم کشی از هر ماهی مقداری تخمک را درون اپندورف ریخته و در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان آنالیز قرار داده شد. سپس نمونه ها با ازت مایع به دانشگاه آتاتورک واقع در شهر ارزروم کشور ترکیه منتقل شدند. فرم های مختلف تیامین در تخمک توسط کروماتوگرافی مایع با روش Amcoff و همکاران (۲۰۰۰) در شرایط ستون $250 \times 4/6$ میلی متری، پرتو 1/min و در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد سنجش شد.

عملکرد تولید مثلی

به منظور تعیین عملکرد تولیدمثل در انتهای دوره پرورش (۵ ماه)، با رسیدن به دمای مناسب تکثیر (۱۶ تا ۱۷ درجه سانتیگراد) و اطمینان از رسیدگی جنسی توسط اندازه گیری GVM، پس از قطع غذاهای ماهیان تکثیر شدند. القای تخم ریزی در ماهیان با تزریق هورمون شد. ماهیان با ۴۰۰ ppm عصاره گل میخک بیهوش شدند و هورمون مورد نظر در ناحیه عضله پشتی تزریق شد. تزریق ماهیان با دوز $5/2 \mu\text{g/kg}$ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ۲ مرحله به فاصله ۱۲ ساعت انجام شد. ۲۰ ساعت پس از اولین تزریق، با اطمینان از سیال شدن تخمک ها در محوطه شکمی، پس از بیهوشی، ماهیان به روش سزارین تکثیر شدند (فلاحکار و عفت پناه کمایی، ۱۳۹۱). به منظور تعیین همآوری کاری، کل تخمک استحصالی از هر ماهی به طور جداگانه جمع آوری و با

جدول ۲- پارامترهای رشد در مولدین ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با آنتی تیامین و تیامین در طی ۵ ماه. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده اند ($n=15$ برای هر تیمار).

پارامترهای رشد	آنتی تیامین	تیامین
وزن اولیه (گرم)	712 ± 17	685 ± 22
وزن نهایی (گرم)	735 ± 22	767 ± 22
وزن کسب شده (گرم)	$22/8 \pm 18/9$	$82/1 \pm 29/4$
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	$0/02 \pm 0/01$	$0/07 \pm 0/02$

در تیمار تیامین وجود داشت، اما این تفاوت معنی دار نبود ($P > 0/05$). بررسی شاخص های خونی در انتهای دوره نشان داد تفاوت معنی داری در میزان MCH، MCV و MCHC بین تیمار تیامین و آنتی تیامین وجود ندارد

مطالعه حاضر نشان داد در ارتباط با پارامترهای خون شناختی افزایش معنی داری در میزان Hct و Hb در تیمار تیامین نسبت به آنتی تیامین مشاهده شد ($P < 0/05$). در ارتباط با RBC و WBC بیشترین میزان

حاصل از پارامترهای خون شناختی در جدول ۳ آورده شده است.

($P > 0.05$). در مورد درصد افتراقی گلبول های سفید، مطالعه حاضر نشان داد تفاوت معنی داری در میزان لنفوسیت، نوتروفیل، ائوزینوفیل و مونوسیت بین تیمار تیمامین و آنتی تیمامین وجود ندارد ($P > 0.05$). نتایج

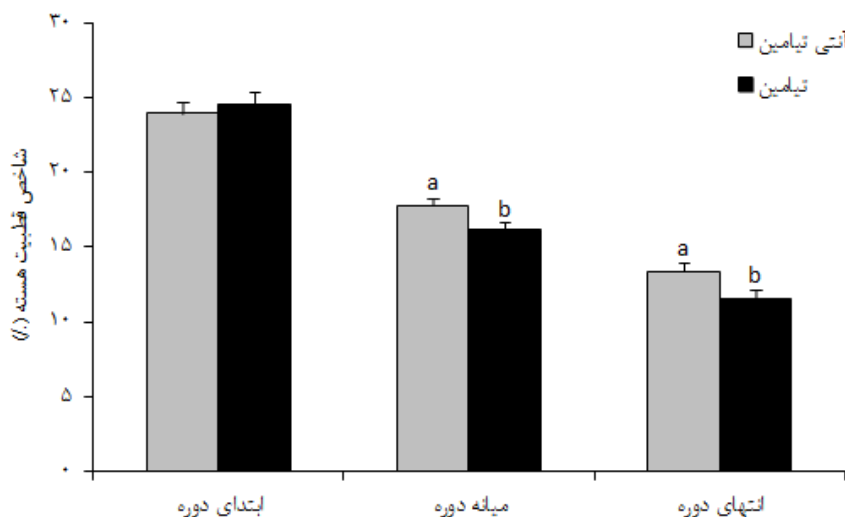
جدول ۳- پارامترهای خون شناختی در مولدین ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با آنتی تیمامین و تیمامین در طی ۵ ماه. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده اند ($n=15$ برای هر تیمار).

پارامترهای خونی	آنتی تیمامین	تیمامین
Hct (%)	26.2 ± 1.2^b	35.2 ± 0.88^a
Hb (g/dl)	6.1 ± 0.2^b	7.1 ± 0.2^a
RBC ($\times 10^3$ cell/mm ³)	135.2 ± 4.5	141.1 ± 8.4
WBC ($\times 10^3$ cell/mm ³)	58.7 ± 4.8	66.7 ± 5.4
MCV (fl)	123.7 ± 13.7	135.5 ± 6.4
MCH (pg/cell)	46.7 ± 0.3	52.6 ± 2.2
MCHC (g/dl)	45.3 ± 4.2	50.1 ± 5.6
لنفوسیت (%)	91.7 ± 1.4	87.3 ± 2.7
نوتروفیل (%)	0.8 ± 0.3	0.4 ± 0.3
ائوزینوفیل (%)	6.8 ± 1.2	11.7 ± 2.7
مونوسیت (%)	0.3 ± 0.1	0.4 ± 0.1

حروف a و b بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها هستند ($P < 0.05$).

تیمارها وجود دارد ($P < 0.05$) به طوری که کاهش معنی داری در تیمار تیمامین نسبت به تیمار آنتی تیمامین مشاهده شد (شکل ۱).

بررسی مهاجرت هسته به سمت قطب حیوانی در روز صفر، ۷۵ و ۱۵۰ پس از شروع آزمایش نشان داد در وسط و انتهای دوره تفاوت معنی داری در میزان GVM بین



شکل ۱- شاخص قطبیت هسته در مولدین ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با آنتی تیمامین و تیمامین در طی ۵ ماه. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده اند. ($n=15$ برای هر تیمار). حروف a و b بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها هستند ($P < 0.05$).

نداشت، اما در تیمار تغذیه شده با تیامین میزان همآوری تا حدودی بیشتر بود ($P > 0.05$). بیشترین تعداد تخمک در گرم در تیمار آنتی تیامین مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد در مورد زمان پاسخ به القای هورمونی کاهش معنی داری در تیمار آنتی تیامین نسبت به تیامین وجود دارد ($P < 0.05$). نتایج حاصل از بررسی استروئیدهای جنسی، فعالیت آنزیم G6PDH و عملکرد تولید مثلی مولدین در جدول ۴ آورده شده است.

نتایج حاصل از تغذیه مولدین استرلیاد با جیره های حاوی تیامین و آنتی تیامین در انتهای دوره نشان داد در مورد استرادیول پلازما تفاوت معنی داری در بین تیمارها وجود ندارد ($P > 0.05$). در مورد هورمون تستوسترون افزایش معنی داری در تیمار تغذیه شده با تیامین نسبت به آنتی تیامین وجود داشت ($P < 0.05$). در انتهای دوره افزایش نسبی در فعالیت آنزیم G6PDH در تیمار تیامین نسبت به ضد تیامین مشاهده شد، اما این افزایش معنی دار نبود ($P > 0.05$). همآوری در بین تیمارها تفاوت معنی داری

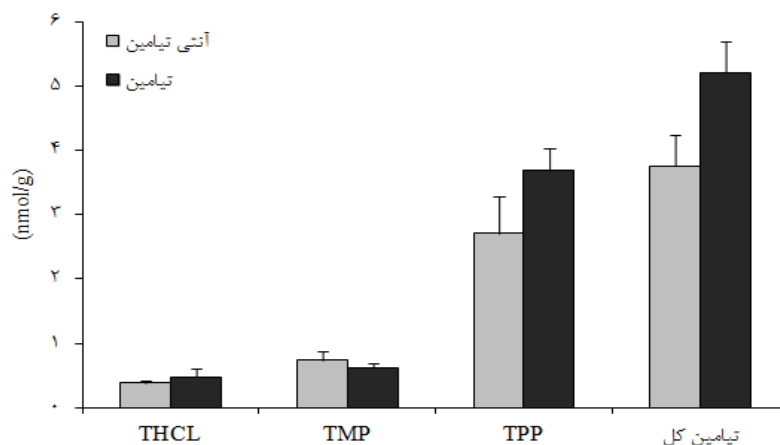
جدول ۴- استروئیدهای جنسی، فعالیت آنزیم G6PDH و عملکرد تولیدمثلی در مولدین ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) تغذیه شده با آنتی تیامین و تیامین در طی ۵ ماه. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده اند. (n=15 برای هر تیمار).

تیامین	آنتی تیامین	تیمار
$5/25 \pm 1$	$6/1 \pm 1$	استرادیول (ng/ml)
$29/3 \pm 3^a$	19 ± 1^b	تستوسترون (ng/ml)
$13/2 \pm 0.6$	$10/7 \pm 1/1$	G6PDH (IU/gHb)
$2227/3 \pm 789/7$	$2164/1 \pm 808/9$	همآوری کاری (تعداد تخمک)
$109/5 \pm 48/3^b$	$129/5 \pm 55/4^a$	تعداد تخمک در هر گرم
$33/5 \pm 0.7^a$	$29/4 \pm 1/1^b$	زمان پاسخ به القای هورمونی (ساعت)

حروف a و b بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها هستند ($P < 0.05$).

با وجود این، میزان تیامین کل در تخم ماهیان تیمار تغذیه شده با آنتی تیامین کمتر از تیمار تیامین بود (شکل ۲).

نتایج حاصل از بررسی میزان THCL، TMP، TPP و تیامین کل تخم در مولدین استرلیاد تغذیه شده با تیامین و آنتی تیامین در انتهای دوره تفاوت معنی داری در تیمار تغذیه شده با تیامین و آنتی تیامین نشان نداد ($P > 0.05$).



شکل ۲- میزان تیامین هیدروکلراید (THCL)، تیامین مونوفسفات (TMP)، تیامین بیروفسفات (TPP) و تیامین کل تخم در مولدین ماهی استرلیاد تغذیه شده با آنتی تیامین و تیامین در طی ۵ ماه. داده ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شده اند. (n=15 برای هر تیمار).

حروف a و b بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها هستند ($P < 0.05$).

بحث

هموگلوبین تیمار شاهد نشان می دهد که با نتایج حاضر در باره مولدین استرلیاد مطابقت داشت.

مطالعه حاضر نشان داد تغذیه با تیامین تا حدودی منجر به افزایش نسبی در میزان RBC و WBC در تیمار تیامین می شود، اما این تفاوت معنی دار نیست. در همین ارتباط در مطالعه Lim و Yildirim-Aksoy (۲۰۱۱) در ماهی تیلاپیا، بیان شد تغذیه با جیره حاوی تیامین باعث افزایش میزان RBC نسبت به تیمار شاهد می شود. همچنین مطالعه Ghazaly و همکاران (۱۹۹۱) بر روی ماهی تیلاپیا نشان داد در زمان مسمومیت با سرب، تغذیه با تیامین بر میزان WBC اثر نداشته، ولی با افزایش تیامین میزان RBC افزایش می یابد. تعداد گلبول های قرمز در تبادل اکسیژن و گلبول های سفید در ایمنی بدن اهمیت ویژه ای دارند و در طی کاهش آنها ماهی مستعد بیماری می شود (Benfey and Birion, 2000). در مطالعه حاضر، تغذیه با تیامین و آنتی تیامین به ترتیب باعث افزایش و کاهش نسبی گلبول های قرمز و گلبول های سفید شد. نتایج حاصل از این مطالعه درباره شاخص های خونی نشان داد تیامین اثر معنی داری بر روی MCV، MCH، MCHC و MCH ندارد. شاخص های MCV و MCHC دارای اهمیت ویژه ای در تشخیص کم خونی در اغلب حیوانات هستند. به نظر می رسد کمبود تیامین منجر به بروز نوعی آنمی یا کم خونی در ماهیان شود (Ghazaly, 1991) و کاهش میزان شاخص های خونی در تیمار آنتی تیامین تایید کننده این مطلب است. نتایج حاصل از این تحقیق درباره اثر تیامین بر درصد افتراقی گلبول های سفید تفاوت معنی داری را در بین دو تیمار نشان نداد. مطالعات Feng و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که با افزایش تیامین در جیره به میزان ۱/۰۶ میلی گرم، فعالیت بیگانه خواری گلبول های سفید در ماهی کپور افزایش می یابد. کلیه و طحال جزء مهمترین بافت ها در خونسازی هستند و با توجه به اینکه در زمان کمبود تیامین میزان این ماده در این بافت ها کاهش می یابد (Fitzsimon et al. 2005)، لذا به نظر می رسد در تحقیق حاضر کاهش تیامین در این بافت ها منجر به کاهش خونسازی و در نهایت کارایی بافت های مذکور شده باشد.

در تکثیر مصنوعی، GVM بیان کننده رسیدگی نهایی و زمان مناسب تزریق در ماهیان است. نتایج حاصل از این

مطالعه حاضر نشان داد پارامترهای رشد در زمان تغذیه با تیامین و آنتی تیامین تفاوت معنی داری نداشت، اما در انتهای دوره ماهیان تغذیه شده با تیامین یک افزایش وزن ۴۰ گرمی را نسبت به تیمار ضد تیامین نشان دادند. مطالعات انجام شده در ارتباط با حد نیاز ماهیان به تیامین نشان داد که در گربه ماهی کانالی *Ictalurus punctatus* (Andrews and Murai, 1978)، ماهی هیبرید تیلاپیا قرمز *Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus* (Lim and Lea Master, 1991) و ماهی تیلاپیا *Oreochromis niloticus* (Lim and Yildirim-Aksoy, 2011) به ترتیب حضور ۱، ۲/۵ و ۳/۵ میلی گرم تیامین در جیره باعث افزایش رشد در ماهیان می شود. در مطالعه حاضر، معنی دار نبودن رشد در تیمارها احتمالاً به علت قرار داشتن ماهیان در دمای پایین است که منجر به کاهش میزان تغذیه و جذب غذا و در نهایت، کاهش رشد می شد. همچنین ماهیان مورد مطالعه مولد بوده و در دوران بلوغ و تکامل غدد جنسی، عمده رشد بدن معطوف به نمو غدد جنسی می باشد و رشد غدد جنسی بیشتر از رشد سوماتیک گزارش شده است (Quince et al. 2008). با توجه به روند افزایشی شاخص های رشد در تیمار تغذیه شده با تیامین، به نظر می رسد در دماهای بالاتر و خارج از فصل تولیدمثل، افزایش تیامین باعث بروز اثرات مثبت بیشتری در رشد مولدین شود.

پارامترهای خون شناختی و بیوشیمیایی خون نشانه ای از وضعیت فیزیولوژیک ماهی است که تحت تاثیر مواد غذایی و ویتامین ها می توانند تغییر کنند (Graff et al. 2002). نتایج حاصل از مطالعه حاضر افزایش معنی داری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت تیمار تیامین نسبت به آنتی تیامین نشان داد، اما در مورد پارامترهای خون شناختی دیگر تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در مطالعه انجام شده بر ماهیان تیلاپیا کاهش معنی داری در سطح هماتوکریت تیمار شاهد نسبت به تیمارهای تغذیه شده با تیامین مشاهده شد (Lim and Yildirim-Aksoy, 2011). در همین ارتباط، نتایج حاصل از مطالعه Ghazaly و همکاران (۱۹۹۱) نشان داد کاهش تیامین در جیره، کاهش معنی داری را در میزان

تستوسترون باشد، چرا که مغز به عنوان اولین عضو دخیل در ایجاد ارتباط بین محور هیپوتالاموس - هیپوفیز، یکی از مکان های ذخیره تیامین است (Morito et al. 1986). همچنین تیامین به عنوان کوآنزیم مهم در تولید نهایی ATP می تواند تامین کننده انرژی مورد نیاز بافت غده جنسی برای ساختن استروئیدها باشد (Morito et al. 1986).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیامین جیره افزایش معنی داری در G6PDH ندارد، اما در تیمار تغذیه شده با ماده آنتی تیامین فعالیت آنزیم تا حدودی کاهش می یابد. در مطالعه Amcoff و همکاران (۲۰۰۰) تزریق تیامین به مولدین ماهی *Salmo salar* و حمام تیامین در آلوین ها منجر به افزایش معنی داری در G6PDH آلوین های این ماهی شد. تیامین یک کوآنزیم برای فعالیت آنزیم ترانس کتولاز است که فعالیت آن باعث تولید نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات و ریبوز ۵ فسفات می شود و این محصول ها در نهایت G6PDH را تولید می کنند (Amcoff et al. 2000). بنابراین، کاهش تیامین باعث کاهش فعالیت آنزیم ترانس کتولاز و در نهایت کاهش نسبی G6PDH در تیمار تغذیه شده با ماده آنتی تیامین شده است.

مطالعه حاضر نشان داد تغذیه با تیامین تاثیری بر میزان همواری ندارد، اما کاهش و افزایش معنی داری به ترتیب در تعداد تخمک در گرم و زمان پاسخ به القای هورمونی را نشان می دهد. درباره اثر تیامین بر میزان همواری در ماهیان مطالعه ای انجام نشده است، اما مطالعه بر روی ویتامین C نشان داد که میزان همواری در مولدین قزل آلی تغذیه شده با جیره های حاوی ویتامین در مقایسه با تیمار شاهد افزایش معنی داری دارد (Blom and Dabrowski, 1995). بیان شده است که افزایش همواری در ماهیان ممکن است به علت اثرات مواد غذایی بر هیپوفیز و افزایش میزان تولید هورمون و در پی آن، افزایش تخم ریزی باشد (Izquierdo et al. 2001). در مطالعه حاضر، به نظر می رسد که افزایش همواری در تیمار تغذیه شده با تیامین، علاوه بر افزایش مواد مغذی بدن به علت افزایش اشتها و تغذیه، با افزایش وزن ماهی نیز در ارتباط باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تیمار تیامین کاهش معنی داری در تعداد تخمک در هر گرم نسبت به تیمار ضد تیامین دارد. مطالعات

مطالعه نشان داد تغذیه با تیامین اثر معنی داری بر GVM دارد. درباره اثر ویتامین ها بر GVM تاکنون مطالعه ای انجام نشده است. Yue (۲۰۱۱) اثر تغذیه بر GVM را در تاسماهی سفید *Acipenser transmontanus* بررسی کرد و نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد میزان GVM تحت تاثیر میزان چربی و پروتئین جیره است، هر چند که این اختلاف معنی دار نبود. در مطالعه حاضر، بیشترین میزان مهاجرت هسته در تیمار تغذیه شده با تیامین مشاهده شد. مطالعات نشان می دهند که در زمان رسیدگی نهایی تخمک و مهاجرت هسته به قطب حیوانی، ترشح هورمون GnRH از هیپوتالاموس منجر به تحریک ترشح GTH از هیپوفیز و در پی آن ترشح هورمون های استروئیدی می شود و این هورمون ها در مراحل انتهایی تکامل تخمک منجر به GVM می شود (Omoto et al. 2005). از طرفی هیپوتالاموس به عنوان اصلی ترین عضو دخیل در برقراری ارتباط بین عوامل داخلی بدن و عوامل محیطی مانند دما، فصل، دوره نوری (فتوپریود) و مواد غذایی است (Munro et al. 1990). به نظر می رسد در مطالعه حاضر تیامین موجود در جیره منجر به بهبود عملکرد هیپوتالاموس شده است که می تواند با ذخیره تیامین در این بافت ها ارتباط داشته باشد، ولی نیاز به مطالعات تکمیلی دارد.

در مطالعه حاضر هورمون تستوسترون افزایش معنی داری در تیمار تغذیه شده با تیامین نسبت به تیمار آنتی تیامین نشان داد، اما در مورد استرادیول این تفاوت معنی دار نبود. مطالعه Dabrowski و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد در مولدین قزل آلی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* میزان تستوسترون افزایش معنی داری در تیمارهای تغذیه شده با اسکوربیک اسید داشت، اما استرادیول تحت تاثیر میزان ویتامین قرار نگرفت که با نتایج ما در ارتباط با مولدین استرلیاد مطابقت دارد. همچنین مطالعات نشان داد که در مارماهی *Monopterus albus* (Yuan et al. 2011) تغییر سطوح مختلف پروتئین در جیره سبب افزایش معنی داری در میزان استرادیول و تستوسترون پلاسما می شود. درباره اثر تیامین بر استروئیدهای جنسی دلایل شفافی وجود ندارد، اما به نظر می رسد ذخیره سازی تیامین در بافت های تاثیر گذار بر ساخت هورمون های استروئیدی مانند مغز و کبد، از جمله دلایل این افزایش در میزان

افزایش نسبی میزان تیامین تخم در ماهیان تیمار تیامین ارتباط مستقیمی با میزان تیامین جیره مولدین دارد، به طوری که در مطالعات نیز بیان می شود که ویتامین ها می توانند در بافت غده جنسی ذخیره شوند و این ذخیره سازی در نهایت می تواند باعث افزایش ویتامین در تخم های شکل گرفته در بافت تخمدان شود (Lee and Dabrowski, 2004).

مطالعه حاضر با مقایسه تغییرات فیزیولوژیک و عملکرد تولیدمثل ماهی استرلیاد در حضور و عدم حضور تیامین نشان داد که تغذیه با تیامین منجر به افزایش معنی داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تستوسترون و مهاجرت هسته به قطب حیوانی می شود که بیانگر ارتباط نزدیک و اثر مثبت تیامین بر این پارامترها بود. از این رو، با اطلاع از این اثرات، تعیین حد مورد نیاز تیامین برای ماهیان خاویاری که باعث بروز اثرات مثبت بیشتر می شود، حائز اهمیت است. همچنین با توجه به اثر مثبت تیامین بر پارامترهای تکثیر پیشنهاد می شود در فصل تکثیر از هر گونه کاهش و تخریب تیامین در جیره با استفاده از منابع حاوی ضد تیامین مانند ماهیان دارای تیامیناز جلوگیری شود، تا حفظ این ویتامین در مولدین منجر به افزایش کیفیت تخم و لارو و افزایش کارایی فیزیولوژی تولیدمثل شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از مسئولین و پرسنل محترم مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی به خاطر در اختیار قرار دادن ماهی و امکانات پرورش، همچنین از پروفسور کنراد دابرووسکی از دانشگاه ایالتی اوهایو به خاطر نقطه نظرات ارزنده شان در تمامی مراحل انجام این پروژه و دکتر ارسلان از دانشگاه آتاتورک ترکیه به خاطر اندازه گیری تیامین در تخمک کمال تشکر را داریم.

منابع

فلاحتکار، ب.، عفت پناه کمایی، ا. ۱۳۹۱. استحصال تخمک از ماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) از طریق جراحی. مجله تحقیقات دامپزشکی ۶۶: ۳۴۹-۳۵۳
Amcoff, P., Akerman, G., Borjeson, H., Tjarnlund, U., Norrgren, L., Balk,

نشانی می دهند که اندازه تخم با مواد غذایی که مولدین با آن تغذیه می کنند در ارتباط است (Johnston et al. 2008). در مقابل، Wiegand و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تخم مولدین وحشی سوف *Sander vitreus* بیان کردند که افزایش تیامیناز اثری بر اندازه تخم ندارد. کاهش تعداد تخمک در واحد وزن به منزله افزایش اندازه تخم در ماهیان است که ارتباط مستقیمی با میزان ویتلوژنین در تخمک دارد. ویتلوژنین یک مولکول گلیکوفسفولیپوپروتئینی بزرگ است که پیش ساز خاص پروتئینی برای زرده تخم محسوب می شود و در ماهیان خاویاری از چربی (حدود ۲۰٪) و مقدار قابل توجهی کربوهیدرات تشکیل شده است (Lu, 2009). با توجه به اهمیت تیامین در ساختن کربوهیدرات (Fynn-Aikins, 1998) به نظر می رسد افزایش تیامین در ماهیان باعث افزایش ویتلوژنین و در نهایت، درشت تر شدن اندازه تخم شده باشد. مطالعه حاضر نشان داد که علاوه بر کاهش همآوری، در مورد زمان پاسخ به القای هورمونی، کاهش معنی داری در تیمار تغذیه شده با ماده ضد تیامین وجود دارد. بنابراین، به نظر می رسد در ماهیان تحت تیمار تیامین، افزایش همآوری و اندازه تخم به طور همزمان باعث شده است که نسبت به تیمار آنتی تیامین غده جنسی بزرگتری داشته باشند. با توجه به این مساله، تاخیر در زمان رسیدگی تخمک در ماهیان تیمار تیامین می تواند به این علت باشد که زمان طولانی تری نیاز هست تا القای هورمونی در سراسر غده جنسی اثر گذاشته و باعث اوولاسیون شود.

مطالعه حاضر نشان داد تغذیه با تیامین باعث افزایش معنی دار در میزان تیامین تخم مولدین استرلیاد نمی شود، اما بیشترین میزان THCL، TPP و تیامین کل در تیمار تیامین مشاهده می شود. درباره گونه های دیگر بیان می شود که افزایش تیامین تخم، نتیجه افزایش میزان تیامین در مولدین است (Amcoff et al. 2000; Ketola et al. 2000; Fitzsimons et al. 2005).

همچنین در مورد اثرات تغذیه ای ماده ضد تیامین بر ماهیان، مطالعات نشان می دهد که تغذیه با تیامیناز در ماهی قزل آلا (Carvalho et al. 2009) و تغذیه با آمپرولیوم در مولدین ماهی آزاد (Fynn-Aikins et al. 1998) باعث کاهش تیامین در تخم های به دست آمده می شود. به نظر می رسد که در مطالعه حاضر دلیل

- L.2000. Hepatic activities of thiamine-dependent enzymes, glucose-6-phosphate dehydrogenase and cytochrome P4501A in Baltic salmon (*Salmo salar*) yolk-sac fry after thiamine treatment. *Aquatic Toxicology* 48: 391-402.
- Andrews, J.W., Murai, T. 1978. Thiamin requirement of channel catfish fingerling. *Journal of Nutrition* 108: 176-180.
- Benfey, T.J., Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture* 184: 167-176.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 6: 771-781.
- Blom, J.H., Dabrowski, K. 1995. Reproductive success of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biology of Reproduction* 52: 1073-1080.
- Brown, S.B., Fitzsimons, J.D., Palace, V.P., Vandenbyllaardt, L. 1998. Thiamine and early mortality syndrome in lake trout. *Journal of American Fisheries Society* 21: 18-25.
- Carvalho, P.S.M., Tillitt, D.E., Zajicek, J.L., Dale, R.A., Honeyfield, D.C., Fitzsimons, J.D., Brown, S.B. 2009. Thiamine deficiency effects on the vision and foraging ability of lake trout fry. *Journal of Aquatic Animal Health* 21: 315-325.
- Chapman, F.A., Van Eenennaam, J.P. 2007. Sturgeon aquaculture – specialized techniques: Determining the stage of sexual maturity in female sturgeon for artificial spawning: the egg polarization index or PI. Fisheries and Aquatic Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 4p.
- Dabrowski, K., Ciereszko, R.E., Blom, J.H., Ottobre, J.S. 1995. Relationship between vitamin C and plasma concentrations of testosterone in female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry* 14: 409-414.
- Drabkin, D.R. 1945. Crystallographic and optical properties of human hemoglobin: a proposal for the standardization of hemoglobin. *The American Journal of the Medical Science* 209: 268-270.
- Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. 2013. Effect of winter feeding and starvation on the growth performance of young-of-year (YOY) great sturgeon, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology* 29: 26-30.
- Feng, L., Huang, H.H., Liu, Y., Jiang, W.D., Hu, K., Li, S.H. 2011. Effect of dietary thiamin supplement on immune responses and intestinal microflora in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition* 17: 557-569.
- Fitzsimons, J.D., Williston, B., Amcoff, P., Balk, L., Pecor, C., Ketola, H.G., Hinterkopf, J.P., Honeyfield, D.C. 2005. The effect of thiamine injection on upstream migration, survival, and thiamine status of putative thiamine-deficient coho salmon. *Journal of Aquatic Animal Health* 17: 48-58.
- Fostier, A., Jalabert, B. 1986. Steroidogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at various preovulatory stages: changes in plasma hormone levels and in vivo and in vitro responses of the ovary to salmon gonadotropin. *Fish Physiology and Biochemistry* 2: 87-99.
- Fynn-Aikins, K., Bowser, P., Honeyfield, D.C., Fitzsimons, J.D., Ketola, G. 1998. Effect of dietary amprolium on tissue thiamin and Cayuga syndrome in Atlantic salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 127: 747-757.
- Ghazaly, K.S. 1991. Influences of thiamin on lead intoxication, lead deposition in

- tissues and lead hematological responses of *Tilapia zillii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 3: 417-421.
- Graff, E., Waagbo, R., Fivelstad, S., Vermeer, C., Lie, O., Klundeb, A. 2002. A multivariate study on the effects of dietary vitamin K, vitamin D3 and calcium, and dissolved carbon dioxide on growth, bone minerals, vitamin status and health performance in smolting Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 25: 599-614.
- Honeyfield, D.C., Hinterkopf, J.P., Fitzsimons, J.D., Tillitt, D.E., Zajicek, J.L., Brown, S.B. 2005. Development of thiamine deficiencies and early mortality syndrome in lake trout by feeding experimental and feral fish diets containing thiaminase. *Journal of Aquatic Animal Health* 17: 4-12.
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios, H., Tacon, A.G.J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42.
- Johnston, T.A., Wiegand, M.D., Mittermuller, S., Casselman, J.M., Pyle, G.G., Leggett, W.C. 2008. Metal provisioning of ova in walleye and lake whitefish. *Aquaculture* 281: 131-137.
- Ketola, H.G., Bowser, P.R., Wooster, G.A., Wedge, L.R., Hurst, S.S. 2000. Effects of thiamine on reproduction of Atlantic salmon and a new hypothesis for their extirpation in Lake Ontario. *Transactions of the American Fisheries Society* 129: 607-612.
- Lee, K.J., Dabrowski, K. 2004. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture* 230: 377-389.
- Lim, C., LeaMaster, B. 1991. Thiamin requirement of red hybrid tilapia grown in seawater. *World Aquaculture Society*, June 16-20, San Juan, Puerto Rico.
- Lim, C., Yildirim-Aksoy, M. 2011. Thiamin Requirement of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 824-833.
- Lu, X. 2009. Determining sexual maturity in White sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to maximize yield and quality of caviar. Chapter 1. A review of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) female reproductive physiology and its importance for caviar production. Master of Science in food science, Washington State University, 7p.
- Morito, C.L.H., Conrad, D.H., Hilton, J.W. 1986. The thiamin deficiency signs and requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Journal of Fish Physiology and Biochemistry Part A* 1: 93-104.
- Munro, A.D., Scott, A.P., Lam, T.J., 1990. Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. CRC press, Boca Raton, 264 p.
- Omoto, N., Maebayashi, M., Adachi, S., Arai, K., Yamauchi, K. 2005. The influence of oocyte maturational stage on hatching and triploidy rates in hybrid (bestor) sturgeon *Huso huso* × *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture* 245: 287-294.
- Quince, C., Shuter, B.J., Abrams, P.A., Lester, N.P. 2008. Biphasic growth in fish II: Empirical assessment. *Journal of Theoretical Biology* 27: 207-214.
- Rey Vazquez, G., Guerrero, G.A. 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and Cell* 39: 151-160.
- Steffens, W., Jahnichen, H., Fredrich, F. 1990. Possibilities of sturgeon culture in Central Europe. *Aquaculture* 89: 101-122.
- Wiegand, M.D., Johnston, T.A., Brown, L.R., Brown, S.B., Casselman, J.M., Leggett, W.C. 2011. Maternal influences on thiamine status of walleye (*Sander vitreus*) ova.

Journal of Fish Biology 78: 810-824.

- Yuan, C.T., Pan, X.P., Gong, Y., Xia, A.J., Wu, G.H., Tang, J.Q., Han, X.D. 2008. Effects of astragalus polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp, *Cyprinus carpio* L. International Immunopharmacology 8: 51-58.
- Yuan, H., Gong, S., Chu, Z., Zhang, J., Yuan, Y., Gong, W., Yan, J. 2011.

Effects of low dietary protein level on serum oestradiol, testosterone and sex reversal in rice field eel *Monopterus albus* (Zuiew). Aquaculture Research 42: 1752-1763.

- Yue, Z. 2011. Husbandry and dietary effects on sturgeon (*Acipenser transmontanus*) farmed for caviar. MSc thesis in Animal Biology, the University of California, 48p.

Physiological changes and reproductive performance in presence or absence of thiamine in the diet of Sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus*

Sareh Ghiasi, Bahram Falahatkar*

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

Received 16 December 2014; accepted 2 May 2015

Abstract

To evaluate the effects of thiamine (vitamin B₁) on physiological changes and reproductive performance of Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*), 30 females (averaged 698 ± 15 g) were selected in maturity stage IV and were randomly distributed in six fiberglass tanks (1063.3 liters) with two treatments and three replicates. The first treatment was fed with a dry diet containing 10 mg/kg thiamine hydrochloride, while second one was fed with 1 g/kg amprolium hydrochloride as an anti-thiamine compound for five months. After this period, fish were induced for spawning by LHRH-A2. At the end of the experiment, the growth parameters showed no significant differences between treatments (P>0.05). In the first treatment (fed with thiamine), the levels of hematocrit and hemoglobin were significantly increased (P<0.05), but no significant differences were observed in the number of red blood cells, white blood cells, blood indices and differential white blood cells (P>0.05). Germinal vesicle migration was measured in three stages (day 0, 75 and 150) which had a significant decrease in thiamine-fed treatment (P<0.05) at the middle and end of the experiment. Glucose-6-phosphate dehydrogenase and estradiol values showed no significant differences (P>0.05) between the treatments, while a significant increase in testosterone were observed in thiamine-fed treatment (P<0.05). The number of eggs per gram and the latency time increased significantly in anti-thiamine and thiamine-fed treatments, respectively (P<0.05), but fecundity and thiamine content in the eggs showed no significant differences between the treatments (P>0.05). According to the results, the presence of thiamine in the diet led to improvement in some physiological and reproductive indices in Sterlet sturgeon and it seems to be an essential vitamin in reproduction season for Sterlet broodstocks.

Keywords: Vitamin B₁, Physiology, Reproduction, Sterlet