

## تأثیر ویتامین C بر پارامترهای خونی، رشد و پاسخ به استرس دمایی در بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد رحیمی<sup>۱</sup>، محمد سوداگر<sup>۱</sup>، حسین اورجی<sup>۲\*</sup>، سید عباس حسینی<sup>۱</sup> و وحید تقی زاده<sup>۱</sup>

۱) گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان - ایران.

۲) گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۳ فروردین ماه ۱۳۹۱، پذیرش نهایی: ۲۶ تیر ماه ۱۳۹۱)

### چکیده

**زمینه مطالعه:** ویتامین هامهمترین مواد مغذی هستند که سیستم ایمنی ماهی را تحریک می کنند و ویتامین C به عنوان یک ماده مغذی ضروری در آبی پروری مطرح است. **هدف:** آزمایش تغذیه ای به مدت ۹ هفته برای بررسی اثرات ویتامین C بر شاخص های رشد و خونی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان در دو تراکم مختلف انجام شد. **روش کار:** سه جیره غذایی با سه سطح مکمل ویتامین C (۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg) و یک جیره بدون ویتامین C به عنوان جیره شاهد و دو تراکم (۴۰۰ قطعه در متر مربع به عنوان تراکم پایین و ۸۰۰ قطعه در متر مربع به عنوان تراکم بالا) در نظر گرفته شد. وزن اولیه بچه ماهیان قزل آلا ۲/۱g بود و در پایان آزمایش ماهیان هریک از تیمارها تحت استرس دمایی با سه گسترده دمایی C<sup>0</sup> ۲۸، ۲۶، ۲۴ قرار گرفتند و بعد از مدت زمان مشخص بازماندگی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت بعد از ۹ هفته شاخص های رشد (افزایش وزن، بقا، SGR، FCR، FE، CF) و تغییرات هماتولوژیکی (هموگلوبین، هماتوکریت، MCH، MCHC، RBC) مورد ارزیابی قرار گرفت. **نتایج:** نتایج نشان داده است که سطح ویتامین C جیره غذایی اثر معنی داری (p<۰/۰۵) بر روی شاخص های رشد داشته است و تراکم تنها بر ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی داری داشته است (p<۰/۰۵) و بر سایر شاخص های رشد اثر معنی داری نداشت (p>۰/۰۵). نتایج پارامترهای خونی نشان داده است که سطح ویتامین C جیره غذایی اثر معنی داری بر روی میزان هماتوکریت و هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز داشته (p<۰/۰۵) ولی بر شاخص های MCH، MCHC اثر معنی داری نداشته است (p>۰/۰۵). تراکم تنها در تعداد گلبول قرمز اثر معنی داری نشان داده است (p<۰/۰۵). همچنین اثر متقابل ویتامین C و تراکم تنها بر تعداد گلبول قرمز اثر معنی داری داشته است (p<۰/۰۵). **نتیجه گیری نهایی:** نتایج تنش های دمایی نشان داده است که ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت مکمل ویتامین C بازماندگی بیشتری نسبت به ماهیان تغذیه شده بدون ویتامین C داشتند (p<۰/۰۵).

**واژه های کلیدی:** ویتامین C، رشد، قزل آلائی رنگین کمان، پارامترهای خونی، استرس دمایی.

که برای حفظ فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل رشد نرمال، ایمنی بدن و تکثیر جانوران مختلف از قبیل ماهی مورد نیاز است (۱۲، ۱۶). این ویتامین محلول در آب است و به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل می کند. اغلب ماهیان به دلیل فقدان آنزیم آل - گلوکونلاکتون اکسیداز در بدنشان قادر به بیوسنتز این ویتامین نیستند، بنابراین به مقدار کافی باید در جیره غذایی وجود داشته باشد (۵، ۱۷). مطالعات نشان داده است که ویتامین C از تأثیرات منفی استرس جلوگیری می کند و نقش حفاظتی این ویتامین در برابر استرس می تواند به دلیل جلوگیری از تبدیل اسیدهای چرب غیر اشباع به استرهای کلسترول باشد که ترکیب مهمی در ساخت کورتیزول هستند و به این طریق از افزایش کورتیزول در بدن جلوگیری می کند (۱۴). مطالعات نشان داده که ویتامین C می تواند باعث افزایش مقاومت ماهی در برابر تنش های محیطی گردد. تحقیقات همچنین نشان داده است که ویتامین C بر روی پارامترهای خونی موثر است (۴، ۱۷، ۲۱، ۲۳). هدف از این مطالعه بررسی اثرات سطوح مختلف ویتامین C در تراکم های مختلف بر روی شاخص های رشد، پارامترهای خونی و میزان مقاومت بچه ماهیان قزل آلا در برابر استرس دمایی می باشد.

### مقدمه

صنعت آبی پروری یکی از صنایع مهم و در حال توسعه بوده و هر ساله بر میزان تولیدات آبی پروری در دنیا افزوده می شود. به طور معمول آبیان در محیط های بسته همچون استخرهای خاکی، سیمانی، قفس ها و یا تانک ها پرورش داده می شوند و سعی تلاش در بالا بردن تراکم آبیان در واحد سطح، یکی از مهمترین علل پیشرفت و افزایش تولید این صنعت است. بی شک بالا بودن تراکم پرورش اثر معکوسی بر وضع سلامت و بهداشت ماهی خواهد گذاشت و این وضعیت سبب ایجاد شرایط محیطی نامناسب و استرس زا و همچنین افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماریزا می شود. بنابراین باید با اتخاذ شیوه هایی بقاء و رشد مناسب ماهیان را در چنین شرایطی حفظ کرد. استفاده از مواد محرک ایمنی در جیره غذایی می تواند مقاومت در برابر بیماریهای عفونی را با تقویت سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی افزایش دهد (۱۹). ویتامین ها مهمترین مواد مغذی هستند که سیستم ایمنی ماهی را تحریک می کنند و ویتامین C به عنوان یک ماده مغذی ضروری در آبی پروری مطرح است



شمارش گردیدند (۳). هموگلوبین بوسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزموون و به روش کلرومتریکی با طول موج ۵۴۰nm در دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هماتوکریت با استفاده از سانتیفریوژ انجام شد (۸). هموگلوبین متوسط گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (۸):

$$MCH = (Hb/RBC) \times 10$$

$$MCHC = (Hb/Ht) \times 100$$

بعد از پایان دوره ۹ هفته پرورش برای سنجش میزان مقاومت بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان در برابر تنش‌های محیطی از تنش دمایی با دمای  $C^{\circ} 24, 26$  و  $28$  استفاده شد با استفاده از هیترهای آکواریوم دمای آب در دمای‌های مذکور تنظیم شد و به ترتیب بعد از مدت زمان  $25, 45, 60$  دقیقه بازماندگی بچه ماهیان مورد ارزیابی قرار گرفت (۲).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** برای تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق از نرم افزار آماری SSPS و از روش آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد و مقایسه داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اعتماد  $5\%$  ( $p=0/05$ ) تعیین گردید.

## نتایج

**تأثیر ویتامین C در شاخص‌های رشد:** بعد از ۹ هفته آزمایش ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف ویتامین C به طور معنی‌داری افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذایی، ضریب رشد ویژه و درصد بازماندگی بیشتری نسبت به ماهیان تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C داشتند. همانطوری که در جدول ۲ نشان داده شده است بیشترین افزایش وزن مربوط به سطح ویتامین C،  $1000\text{mg}$  با میانگین وزن  $17/86$  و کمترین افزایش وزن مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C با میانگین وزن  $13/66$  بدست آمده است. ضریب رشد ویژه که در واقع بیانگر میزان اضافه وزن بر حسب درصد وزن بدن در روز می‌باشد که بیشترین مقدار آن مربوط به جیره با سطح ویتامین  $1000\text{mg}$  با میانگین  $3/54$  و کمترین مقدار ضریب رشد ویژه مربوط به جیره بدون ویتامین C با میانگین  $3/1$  بوده است. ضریب تبدیل غذایی برابر با نسبت مقدار خوراک مصرفی به میزان اضافه وزن می‌باشد هرچه قدر این مقدار کمتر باشد بیانگر رشد بیشتر در قبال خوراک مصرفی است جدول ۲ نشان داده است که جیره غذایی با سطح ویتامین C،  $1000\text{mg}$  بهترین ضریب تبدیل غذایی را داشته و با جیره‌های با سطوح ویتامین  $200, 100, 0$  تفاوت معنی‌داری داشته است نتایج کارایی غذایی به همین صورت بوده است. درصد بازماندگی در ماهیان به طور معنی‌داری تحت تأثیر ویتامین C بود به طوری که کمترین بازماندگی مربوط به جیره بدون ویتامین C با میانگین  $79/6$  و بیشترین بازماندگی به ترتیب برای سطح  $200$  و  $1000$  با میانگین  $89/1$  و  $88/1$  بوده و بین سطوح ویتامین C  $200$  و  $1000$  تفاوت معنی‌داری

## مواد و روش کار

این تحقیق به مدت ۹ هفته در شرکت تهران قزل‌آلا واقع در شهرستان فیروزکوه انجام شد. در این تحقیق چهار جیره آزمایشی با سطح انرژی و پروتئین یکسان (جدول ۱) ولی حاوی سطوح مختلف ویتامین C،  $0\text{mg/kg}$  (شاهد)،  $100$  (سطح پایین)،  $200$  (سطح متوسط) و  $1000$  (سطح بالا) جیره در دو تراکم ذخیره‌سازی  $400$  قطعه در متر مربع (تراکم معمول در کارگاه) و  $800$  قطعه در متر مربع (تراکم بالا) در آزمون فاکتوریل  $2 \times 4$  مورد ارزیابی و بررسی قرار گرفت. به ازای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. برای این منظور بچه ماهیان قزل‌آلا با میانگین وزن اولیه  $2/1\text{g}$  در بیست و چهار حوضچه به ابعاد  $3/3 \times 4/4 \times 9/0$  با تراکم‌های مورد نظر ذخیره‌سازی شدند. در طی دوره پرورش PH آب  $7/8$  و میانگین دمای آب  $10-13^{\circ}\text{C}$  و اکسیژن محلول آب  $8/5$  ppm بود. غذاهای بچه ماهیان به میزان  $5-3\%$  وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات  $8, 11, 13, 15$  و  $18$  انجام شد. در طی دوره پرورش هر ده روز یکبار به منظور زیست‌سنجی، تعداد  $30$  قطعه از بچه ماهیان هر حوضچه به طور تصادفی برداشت شدند و وزن آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت  $0/01\text{g}$  و طول آنها با خط کش بیومتری با دقت  $1\text{mm}$  اندازه‌گیری شد و مجدداً به حوضچه‌های پرورشی منتقل شدند. در پایان هفته نهم همه ماهیان هر حوضچه صید شاخص‌های رشد (افزایش وزن، بقا، ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذایی، و ضریب چاقی) مورد بررسی قرار گرفت (۲، ۶).

وزن اولیه - وزن نهایی = افزایش وزن

$100 \times$  لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن نهایی

= ضریب رشد ویژه

طول دوره پرورش

غذای مصرفی

= ضریب تبدیل غذایی

افزایش وزن

$100 \times$  وزن

= ضریب چاقی (۱)

طول

جهت بررسی تغییرات خونی (هموگلوبین، هماتوکریت، HMC، RBC، CMCH) بعد از پایان هفته نهم از ماهیان هر تیمار بعد از بیهوشی با پودر گل میخک، به روش قطع ساقه دم خونگیری شد (۸). خونگیری از ساقه دم روش مناسبی برای خونگیری از ماهی‌های کوچک (کوچکتر از  $10\text{cm}$ ) است (۸). خون هر تیمار وارد لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA شده تا برای بررسی فاکتورهای خونی مورد استفاده قرار گیرد. فاکتورهای خونی شامل مقادیر WBC و RBC بوسیله لام مخصوص هموسیتمتر نتوبار و محلول‌های رقیق کننده گاور و تورک



جدول ۱- اجزاء جیره و آنالیز تقریبی جیره.

اجزاء جیره	درصد
آرد ماهی	۵۸
آرد گوشت	۱۲
آرد گندم	۱۴
دکسترین	۵
روغن ماهی	۶
روغن گیاهی (سویا)	۲/۲
فیبر	۰/۸
مکمل معدنی	۱
مکمل ویتامینی	۱
جمع	۱۰۰
تجزیه تقریبی جیره	
پروتئین	۴۹±۱
چربی	۱۵/۱±۰/۸
NFE	۱۶/۵±۰/۹۲
انرژی	۳۸۰ kcal/۱۰۰ g

مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

تأثیر ویتامین C در شاخص‌های خونی: ویتامین C در پارامترهای خونی هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز اثر معنی داری داشته است ولی بر روی MCHC و MCH از هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشده است. مقادیر این پارامترها در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ویتامین C (۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg) به طور معنی داری بالاتر از مقادیر آنها در ماهیان تغذیه شده با جیره عاری از ویتامین C (۰ mg/kg) بوده است. در مورد هماتوکریت اختلاف معنی داری بین ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی سطوح متفاوت ویتامین C و ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C وجود داشت ولی بین سطوح ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg اختلاف معنی دار نبوده است با این وجود بیشترین مقدار مربوط به سطح ویتامین C، ۱۰۰۰ mg/kg جیره مشاهده شده است برای مقدار گلبول قرمز و هموگلوبین نیز چنین وضعیتی بوده است (جدول ۳).

تأثیر تراکم بر شاخص‌های رشد و هماتولوژی: اگرچه اثر تراکم بر شاخص‌های رشد معنی دار نبوده است با این حال ماهیان نگهداری شده با تراکم ۴۰۰ قطعه در متر مربع عملکرد نسبتاً بهتری از لحاظ شاخص‌های رشد داشتند (جدول ۲). در بین پارامترهای خونی تراکم ذخیره سازی تنها بر روی گلبول قرمز تأثیر معنی داری داشته است و بر روی دیگر شاخص‌های خونی اثر معنی داری نداشته است (جدول ۳).

تأثیر متقابل ویتامین C و تراکم ذخیره سازی در شاخص‌های رشد و هماتولوژی: در شاخص‌های افزایش وزن، ضریب چاقی، ضریب رشد ویژه و کارایی غذایی بیشترین مقدار مربوط به سطح ویتامین C، ۱۰۰۰ mg/kg جیره با تراکم پایین (۴۰۰ قطعه در متر مربع) مشاهده شد و کمترین آن مربوط به تیمار بدون ویتامین C و با تراکم ۸۰۰ قطعه در متر مربع بود. در شاخص ضریب تبدیل و بازماندگی بهترین عملکرد مربوط به سطح ویتامین ۱۰۰۰ mg ویتامین C با تراکم ۴۰۰ قطعه در متر مربع و کمترین مقدار

این شاخص‌ها در تیمار غذایی بدون ویتامین C با تراکم ۸۰۰ قطعه در متر مربع مشاهده شد. در شاخص‌های هماتولوژی تأثیر متقابل ویتامین C و تراکم تنها در گلبول قرمز تأثیر معنی دار داشته و بر روی دیگر شاخص‌ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتایج استرس دمایی: نتایج تنش‌های دمایی نشان داده است که ماهیان تغذیه شده با سطوح متفاوت ویتامین C بازماندگی بیشتری نسبت به ماهیان تغذیه شده بدون ویتامین C داشتند (جدول ۴). در دمای ۲۶<sup>o</sup> و ۲۴<sup>o</sup> اختلاف معنی داری بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین C و ماهیان تغذیه شده بدون ویتامین C مشاهده شده است و بین سطوح ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ mg اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در دمای ۲۸<sup>o</sup> اختلاف معنی داری بین تمام تیمارها مشاهده شده است بیشترین بازماندگی مربوط به سطح ویتامین ۱۰۰۰ mg و ۲۰۰ بوده و کمترین مقدار آن در جیره بدون ویتامین C مشاهده شد (جدول ۴) تراکم در دمای ۲۶<sup>o</sup> و ۲۸ بر روی بازماندگی تأثیر معنی داری داشته است ولی در دمای ۲۴<sup>o</sup> اختلاف معنی دار نبوده در دمای ۲۸<sup>o</sup> بیشترین مقدار در تراکم ۴۰۰ قطعه در متر مربع مشاهده شد.

### بحث

نتایج بدست آمده از این بررسی به تأثیر معنی دار ویتامین C در رشد، بقاء، فاکتورهای خونی و تست دمایی اشاره دارد. نیاز ویتامین C در گونه‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است و نتایج مختلف گزارش شده است، به طور مثال در بچه ماهی تیلایپا (*Oreochromis karonga*) ۶۰ mg به ازای هر کیلوگرم (۱۶) و یا در گونه (*Arapaima gigas*) نیاز به ویتامین C، ۱۲۰-۸۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم (۱) گزارش شده است. و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۲۴) در بررسی اثرات سطوح مختلف ویتامین C (۱۵۰، ۲۵ mg و ۱۰۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم جیره) مشاهده کردند که با افزایش سطح ویتامین C از ۱۵۰ mg به ۱۰۰۰ mg در جیره، سرعت بهبود زخم افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر بچه ماهیان قزل آلا تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰۰ mg مکمل ویتامین C، عملکرد بهتری را نشان دادند. همچنین بهترین ضریب تبدیل غذایی (۱/۰۹) مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰ mg مکمل ویتامین C بود. ضریب تبدیل غذایی یکی از شاخص‌هایی است که در مطالعات تغذیه‌ای مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و میزان آن در ماهیان حتی می‌تواند به کمتر از ۱ برسد. هر چقدر این شاخص کوچکتر باشد بیانگر کارایی بالاتر ماهی در استفاده از غذا و همچنین هضم و جذب آن می‌باشد. بالا بودن یا نوسان داشتن ضریب تبدیل غذایی می‌تواند منعکس کننده مشکل در جیره یا روش غذادهی باشد (۱۳). در تحقیق حاضر، بالاترین ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C مشاهده شد که می‌تواند به دلیل کمبود ویتامین C باشد.

در مطالعه اخیر کاهش نسبی بازماندگی در ماهیان تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C (۷۹٪) مشاهده شد. به عبارت دیگر درصد



جدول ۲- شاخص های رشد بچه ماهی قزل آلابی تغذیه شده با سطوح متفاوت ویتامین C در تراکم های مختلف. \* بیانگر اثر معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

سطح ویتامین C	تراکم در متر مربع	افزایش وزن (g)	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	ضریب چاقی	بازماندگی
	۴۰۰	۱۳/۷۳±۱/۴۲ <sup>a</sup>	۳/۱۱±۰/۰۸ <sup>a</sup>	۱/۳۹±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۰/۹۹±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۸۰/۳±۳/۰۵ <sup>ab</sup>
	۸۰۰	۱۳/۶±۰/۷۲ <sup>ab</sup>	۳/۱۲±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۱/۴±۰/۰۲ <sup>c</sup>	۱/۰۱±۰/۰۷ <sup>a</sup>	۷۹±۳ <sup>a</sup>
	۴۰۰	۱۶/۴۴±۱/۳۲ <sup>cd</sup>	۳/۴۲±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۱/۲۴±۰/۱۱ <sup>b</sup>	۱/۰۷±۰/۰۷ <sup>ab</sup>	۸۲±۳/۰۵ <sup>ab</sup>
	۸۰۰	۱۵/۸±۱/۷ <sup>bdc</sup>	۳/۳۶±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۱/۲۸±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۱/۱۲±۰/۰۴ <sup>abc</sup>	۸۶±۲/۶ <sup>bc</sup>
	۴۰۰	۱۵/۷۶±۱/۱۵ <sup>bc</sup>	۳/۳۶±۰/۱ <sup>b</sup>	۱/۲۵±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۱۲±۰/۰۴ <sup>abc</sup>	۸۸/۶±۴/۰۴ <sup>c</sup>
	۸۰۰	۱۵/۵۶±۰/۵۷ <sup>abc</sup>	۳/۳۵±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۲۶±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۱۶±۰/۱۴ <sup>abc</sup>	۸۹/۶±۴/۰۴ <sup>c</sup>
	۴۰۰	۱۷/۸۶±۰/۲۸ <sup>d</sup>	۳/۶۴±۰/۰۶ <sup>c</sup>	۱/۰۹±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۲۸±۰/۱۳ <sup>c</sup>	۹۱±۲/۶ <sup>c</sup>
	۸۰۰	۱۶/۴۶±۰/۵۷ <sup>cd</sup>	۳/۴۴±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۲۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۲۲±۰/۱۴ <sup>bc</sup>	۸۵/۳±۱/۵ <sup>bc</sup>
اثر هر متغیر و اثرات متقابل آنها						
اثر ویتامین C		۰/۰۰*	۰/۰۰*	۰/۰۰*	۰/۰۰۴*	۰/۰۰*
اثر تراکم		۰/۲۰	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۷۶	۰/۶۰
اثر متقابل		۰/۷۴	۰/۱۸	۰/۱۶	۰/۷۲	۰/۱۱

جدول ۳- پارامترهای هماتولوژی بچه ماهیان قزل آلابی تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح متفاوت ویتامین C در تراکم های مختلف. \* بیانگر اثر معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

سطح ویتامین C	تراکم	MCHC(g/l)	Hb(g/l)	RBC (106/l)	Hct (%)	MCH (pg)
	۴۰۰	۱۰۱/۲۶±۱۱/۰۲ <sup>c</sup>	۲۹/۷۳±۴/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۱۶±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۶±۰/۳۶ <sup>a</sup>	۲۰/۷۶±۲/۳۶ <sup>b</sup>
	۸۰۰	۹۵/۲±۹/۱۰ <sup>bc</sup>	۳۱/۵±۴/۷۳ <sup>ab</sup>	۰/۶۲±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۶±۰/۲۶ <sup>a</sup>	۱۹/۳±۱/۱۱ <sup>ab</sup>
	۴۰۰	۹۳/۲۳±۱۲/۲۳ <sup>a</sup>	۳۹±۳ <sup>c</sup>	۰/۷۳±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۶/۷±۰/۳۴ <sup>bc</sup>	۱۷/۵±۱/۹۹ <sup>a</sup>
	۸۰۰	۹۸/۰۳±۹/۲ <sup>ab</sup>	۳۴±۳ <sup>abc</sup>	۰/۶۵±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۶/۴±۰/۳۵ <sup>b</sup>	۱۸/۸۶±۲/۶۶ <sup>ab</sup>
	۴۰۰	۱۰۱/۳۳±۹/۱۵ <sup>ab</sup>	۳۳/۳۳±۴/۱۶ <sup>abc</sup>	۰/۶۷±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۶/۷±۰/۲۶ <sup>b</sup>	۱۸/۸۰±۲/۸۳ <sup>b</sup>
	۸۰۰	۹۷/۰۳±۸/۶۵ <sup>ab</sup>	۳۶/۳۲±۲/۳۰ <sup>abc</sup>	۰/۶۵±۰/۰۳ <sup>a</sup>	۶/۵±۰/۴۵ <sup>b</sup>	۱۸/۳۶±۲/۴۵ <sup>ab</sup>
	۴۰۰	۹۷/۱۰±۹/۷۲ <sup>a</sup>	۳۸/۳۳±۳/۰۵ <sup>bc</sup>	۰/۶۹±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۷±۰/۵۵ <sup>c</sup>	۱۷/۳۳±۲/۰۴ <sup>ab</sup>
	۸۰۰	۹۸/۷۰±۸/۷۰ <sup>ab</sup>	۳۸±۳/۶۰ <sup>bc</sup>	۰/۶۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>	۶/۹±۰/۴۱ <sup>bc</sup>	۱۸/۰۶±۱/۹۵ <sup>ab</sup>
اثر هر متغیر و اثرات متقابل آنها						
اثر ویتامین C		۰/۹۳	۰/۰۱۶*	۰/۰۰*	۰/۰۴*	۰/۳۳
اثر تراکم		۰/۸۰	۰/۹۳	۰/۰۰*	۰/۴۴	۰/۹۵
اثر متقابل		۰/۷۵	۰/۲۸	۰/۰۰*	۰/۹۴	۰/۷۰

از لحاظ ظاهری علائم کمبود ویتامین C شامل اسکورزیس و لوردوزیس را نشان دادند.

وقتی تأثیر تراکم ذخیره سازی در رشد ماهی بررسی می شود از اصطلاحات متفاوتی استفاده می شود. از اصطلاحات معمول می توان به بیوماس (توده زنده) در واحد سطح و یا تعداد در واحد سطح اشاره نمود. در این تحقیق تعداد ماهیان نگهداری شده در طول دوره آزمایش ثابت بوده و بیوماس در طی دوره افزایش یافت، به طوری که بیشترین بیوماس در تیمار ۱۰۰۰mg ویتامین C با تراکم ۴۰۰ و کمترین بیوماس در ماهی تغذیه شده بدون ویتامین C با تراکم ۸۰۰ قطعه در متر مربع مشاهده شده است.

بسیاری از نویسندگان بیان کرده اند که افزایش تراکم اثر منفی بر فاکتورهای رشد دارد (۱،۱۰،۲۲،۲۳). تراکم بالا به عنوان یک استرس

بازماندگی به طور معنی داری پایین تر از ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰mg ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بود. بازماندگی پایین تر در ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C ممکن است با استرس های فیزیولوژیکی ناشی از کمبود ویتامین C مرتبط باشد (۱۳). از طرفی دیگر مرگ و میر بالا در ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C ممکن است بخاطر آسیب شدید در متابولیسم تیروزین باشد که می تواند منجر به بیماری گرانولوماتوز کلیوی شود و در نهایت منجر به مرگ و میر ماهیان می شود (۱۷). برخی علائم کمبود ویتامین C از قبیل کاهش رشد، آسیب دیدگی کلاژن، تیرگی پوست، لوردوزیس و اسکورزیس، مرگ و میر توسط برخی محققین گزارش شده است (۵،۱۴،۲۱). در تحقیق حاضر تعدادی از بچه ماهیان قزل آلابی تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C



جدول ۴- درصد بازماندگی بچه ماهیان قزل آلا نسبت به تنش های دمایی. \* بیانگر اثر معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

سطح ویتامین C	تراکم در متر مربع	دمای ۲۴ درجه	دمای ۲۶ درجه	دمای ۲۸ درجه
	۴۰۰	۳۳/۳±۶/۷ <sup>a</sup>	۳۳/۳±۶/۷ <sup>a</sup>	۱۹/۸۶±۶/۸ <sup>ab</sup>
	۸۰۰	۴۲/۷۳±۵/۰ <sup>a</sup>	۴۴/۴±۱/۹ <sup>b</sup>	۱۷/۷۳±۱/۹۶ <sup>a</sup>
	۴۰۰	۷۳/۳±۰/۰ <sup>d</sup>	۵۱/۰۶±۷/۷۳ <sup>b</sup>	۳۳/۳±۶/۷ <sup>c</sup>
۱۰۰	۸۰۰	۶۲/۲±۱/۹ <sup>c</sup>	۶۴/۴±۵/۰۹ <sup>cd</sup>	۱۷/۷۳±۱/۹۶ <sup>a</sup>
	۴۰	۷۳/۳±۶/۷۰ <sup>d</sup>	۵۹/۹±۶/۶۵ <sup>cd</sup>	۴۶/۶۳±۶/۶۵ <sup>d</sup>
۲۰۰	۸۰۰	۶۱/۰۶±۵/۰۸ <sup>c</sup>	۵۹/۹±۶/۶۵ <sup>cd</sup>	۲۵/۵۰±۱/۹۰ <sup>ab</sup>
	۴۰۰	۵۵/۵۳±۷/۷۳ <sup>bc</sup>	۵۳/۳±۳/۱۳ <sup>bc</sup>	۳۳/۲۶±۱۱/۵۴ <sup>c</sup>
۱۰۰۰	۸۰۰	۶۶/۶۳±۳/۳۵ <sup>c</sup>	۶۶/۶±۳/۳۵ <sup>d</sup>	۲۹/۹۶±۳/۳۵ <sup>bc</sup>
اثر هر متغیر و اثرات متقابل آنها				
	اثر ویتامین C	۰/۰۰*	۰/۰۰*	۰/۰۰۱*
	اثر تراکم	۰/۷۹	۰/۰۰۵*	۰/۰۰۱*
	اثر متقابل	۰/۰۰*	۰/۳۴	۰/۰۳۸*

(۱۵،۱۶،۲۲)، ولی در این مطالعه تراکم تأثیری بر روی هماتوکریت و هموگلوبین نداشته است.

بعضی از محققین رابطه کمبود ویتامین C و کاهش هماتوکریت را بیان کرده اند (۵) بعضی دیگر ارتباط بین هماتوکریت و هموگلوبین با افزایش سطح ویتامین C را بیان کردند (۷). در این تحقیق ارتباط بین کمبود ویتامین C و سلامتی ماهی مشخص شده برای مثال پارامترهای خونی در ماهی به طور معنی داری با ویتامین C جیره ارتباط داشته است ماهیان تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C مقادیر کمتری هماتوکریت و هموگلوبین داشتند. کاهش این فاکتورها با سلامتی ماهی در ارتباط است نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده توسط محققین دیگر مطابقت دارد (۱۳،۱۴). کم خونی در جانوران تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C امر عادی است بخاطر اینکه در ماهیان تغذیه شده بدون ویتامین C کاهش در جذب و پخش آهن به وجود خواهد آمد که نتیجه آن کاهش سنتز هموگلوبین می باشد (۲۰). ویتامین C به عنوان ویتامینی که در شرایط استرس نقش مثبت در بهبود و تأثیر پذیری کم عامل استرس زا بر ماهی دارد، بیان می شود این ویتامین باعث افزایش تولید آنتی بادی شده و از تأثیرات منفی استرس جلوگیری می کند و نقش حفاظتی این ویتامین در برابر استرس می تواند به دلیل جلوگیری از تبدیل اسیدهای چرب غیر اشباع به استرهای کلسترول باشد که ترکیب مهمی در ساخت کورتیزول هستند و به این طریق از افزایش کورتیزول در بدن جلوگیری می کند (۱۴). ویژگی های آنتی اکسیدانی ویتامین C احتمالاً در تحمل به استرس دمایی در ماهی نقش دارد (۲۱).

### تشکر و قدردانی

این تحقیق در قالب پایان نامه دانشجویی مقطع ارشد و با حمایت

دهنده مزمین در آبرزی پروری مطرح است (۱۵،۲۲). تحت این شرایط استرسی مزمین، مصرف غذا در ماهی کاهش می یابد و از طرفی به دلیل تنظیمات متابولیکی از قبیل تغییرات در فعالیت آنزیم های گلوکولیتیک و گلوکونوژنیک افزایش در خواست انرژی را به ماهی تحمیل می کند و ماهی برای تامین انرژی از ذخایر بدن استفاده می کند که منجر به کاهش رشد در ماهی می شود (۴،۲۲،۲۳).

در این آزمایش بچه ماهیان قزل آلا ی پرورش یافته در تراکم پایین میزان رشد نسبتاً بهتری نسبت به بچه ماهیان پرورش یافته در تراکم بالا داشتند. تراکم بر روی ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی داری داشته است ولی بر روی دیگر شاخص های رشد اثر معنی داری نشان نداد. به طوری که ضریب تبدیل در ماهیان با تراکم پایین عملکرد بهتری را نسبت به ماهیان با تراکم بالا نشان داده است و مقدار کارایی غذایی در ماهیان با تراکم پایین بالاتر از ماهیان با تراکم بالا بوده است با این وجود در ماهیان با تراکم پایین (۴۰۰ قطعه در متر مربع) مقدار افزایش وزن، ضریب رشد ویژه بیشتر از ماهیان با تراکم بالا (۸۰۰ قطعه در متر مربع) بود به طوری که بیشترین رشد در تراکم ۴۰۰ قطعه با افزایش وزن ۱۷/۸۶g و کمترین رشد در تراکم ۸۰۰ قطعه با افزایش وزن ۱۳/۶g ثبت شده است که تا حدودی این عقیده را که افزایش تراکم باعث کاهش رشد می شود را تایید می کند ولی با این وجود تفاوت افزایش وزن در طول ۹ هفته معنی دار نبوده است که احتمالاً برای معنی دار شدن اختلاف وزن نیاز به مدت زمان بیشتری می باشد.

تأثیر تراکم بالا بر پارامترهای خونی بسیار متنوع است و نتایج آن همیشه به صورت قطعی و ثابت نیست بعضی نویسندگان افزایش هماتوکریت و هموگلوبین را با افزایش تراکم نشان دادند این افزایش ممکن است به دلیل افزایش ظرفیت حمل اکسیژن خون تحت شرایط استرس مزمین که درخواست انرژی بالا در ماهی را تحمیل می کند باشد



## References

1. Andrade, J.I.A., Ono, E.A., Menezes, G.C., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., et al. (2007) Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 146: 576-580.
2. Azari Takami, G., Meshkini, S., Rasouli, A., Amini, F. (2005) The nutritional effects of vitamin C-enriched *Artemia urmiana nauplii* on growth, survival rate and resistance to environmental stresses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Pajouhesh Va Sazandegi*. (In Persian). 66: 22-35.
3. Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973) Routine hematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.* 5: 771-781.
4. Fabiana Garcia, F., Pilarski, E.M., Onaka, F.R.D., Moraes, M.L., Martins, M.L. (2007) Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*. 271: 39-46.
5. Fracalossi, D.M., Allen, M.E., Nichols, D.K., Oftedal, O.T. (1998) Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. *J. Nutr.* 128: 1745-1751.
6. Gholipour, F., Allameh, S.K., Arani, M.M., Naser, M. (2006) Effect of density on growth and feed conversion ratio in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pajouhesh Va Sazandegi*. (In Persian). 70: 23-27.
7. Goddard, S. (1996) *Feed Management in Intensive Aquaculture*. Chapman and Hall. New York, USA.
8. Haghghi, M. (2009) *Laboratory Methods of Fish Hematology*. Iranian Fisheries Research Organization Publication. Tehran, Iran.
9. Huang, C.H., Huang, S.L. (2004) Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture*. 237: 381-389.
10. Irwin, S., O'Halloran, J., FitzGerald, R.D. (1999) Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque). *Aquaculture*. 178: 77-88.
11. Lbiyo, L.M.O., Atteh, J.O., Omotosho, J.S., Madu, C.T. (2007) Vitamin C (ascorbic acid) requirements of heterobranchus longifilis fingerling. *J. Biotechnol.* 6: 1559-1567.
12. Menezes, G.C., Tavares-Dias, M., Ono, E.A., Andrade, J.I.A., Brasil, E.M., Roubach, R., et al. (2006) The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 145: 274-279.
13. Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M. (1999) High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish. Physiol. Biochem.* 20: 53-60.
14. Montero, D.M., Marrero, M.S., Izquierdo, L., Robaina, J., Vergara, M., Tort, L. (1999) Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*. 171: 269-278.
15. Montero, D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M., Izquierdo, M.S. (2001) Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.* 11: 473-490.
16. Nsonga, A. (2009) Effect of varying levels of dietary vitamin C (ascorbic acid) on growth, survival and hematology of juvenile tilapia, *Oreochromis karongae* reared in aquaria. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.* 13: 17-23.
17. Qinghui, A., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Zhang, W., Hongming, M., et al. (2006) Effects of dietary

مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. از کلیه افرادی که در اجرا و تکمیل این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نماییم.



- vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 261: 327-336.
18. Shiau, S.Y., Jan, F.L. (1992) Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 58: 671-675.
19. Soltani, M. (2008) *Fish and Shellfish Immunology*. Tehran University Publication. Tehran, Iran.
20. Stickney, R.R. (2000) *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA.
21. Trenzado, C.E., Morales, A.E., Higuera, M.L. (2006) Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture* 258: 583-593.
22. Trenzado, C.E., Morales, A.E., Higuera, M.L. (2007) Influence of dietary vitamin E and C and HUFA on in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding condition. *Aquaculture*. 263: 249-258.
23. Trenzado, C.E., Morales, A.E., Higuera, M.L. (2008) Physiological changes in rainbow trout held under crowding condition and fed diets with different levels of vitamin E and C and highly unsaturated fatty acids (HUFA) . *Aquaculture*. 277: 293-302.
24. Wahli, T., Verlhac, V., Girling, P., Gabaudan, J., Aebischer, C. (2003) Influence of dietary vitamin C on the wound healing process in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture*. 225: 371-386.



# The effect of vitamin C on growth performance, survival rate, hematological parameters and response to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Rahimi, M.<sup>1</sup>, Sudagar, M.<sup>1</sup>, Ouraji, H.<sup>2\*</sup>, Hosseini, S.A.<sup>1</sup>, Taghizadeh, V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan- Iran.

<sup>2</sup>Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari- Iran.

(Received 11 April 2012 , Accepted 16 July 2012)

## Abstract:

**BACKGROUND:** Vitamin C is an essential nutrient for teleost fish. It plays vital role in immune system function. **OBJECTIVES:** A feeding trial was conducted to determine the effects of different levels of dietary vitamin C supplement on growth performance, hematological indicators and response to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings kept at different densities. **METHODS:** The fingerlings (initial weight of  $2.1 \pm 0.1$ ) were reared in triplicate groups in fiberglass tanks at two different densities (400 and 600 /m<sup>2</sup>). The fish were fed with four experimental diets containing different levels of vitamin C (0, 100, 200 and 1000 mg vitamin C/kg diet) for 9 weeks. To evaluate the effect of heat stress on survival, fish were exposed to different temperatures (24, 26 and 28 °C) at the end of feeding experiment. **RESULTS:** Growth performance in fish which fed diets containing different levels of vitamin C (100, 200 and 1000 mg /kg diet) was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those fed diet without vitamin C supplement. In terms of hematological indicators, it was shown that different levels of vitamin C significantly ( $p < 0.05$ ) effected the hematocrit, hemoglobin and red blood cell (RBC) count. However, it did not make any effect on the MCH and MCHC values. On the other hand, stocking density only had significant effect on RBC count. **CONCLUSIONS:** Survival of fish which fed diets containing different levels of vitamin C was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those fed diet without vitamin C in response to heat stress.

**Key words:** vitamin C, growth, *Oncorhynchus mykiss*, hematological parameters, temperature stress.

## Figure Legends and Tabel Captions

**Table 1.** Diet ingredients and proximate composition.

**Table 2.** Growth performance of rainbow trout fingerlings fed diets containing different levels of vitamin C at different densities.

**Table 3.** Haematological parameters of rainbow trout fingerlings fed diets containing different levels of vitamin C at different densities.

**Table 4.** Survival rate of rainbow trout fingerlings in response to heat stress.

