Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۱، دوره ۶۷، شماره ۴، ۳۸۰-۳۷۳

تأثیر ویتامین C بر پارامترهای خونی، رشد و پاسخ به استرس دمایی در بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

محمد رحیمی[۱] محمد سوداگر[۱] حسین اورجی[۲*] سید عباس حسینی[۱] وحید تقی زاده[۱]

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: ویتامین‌ها مهمترین مواد مغذی هستند که سیستم ایمنی ماهی را تحریک می‌کنند و ویتامین C به عنوان یک ماده مغذی ضروری در آبزی پروری مطرح است. **هدف:** آزمایش تغذیه ای به مدت ۹ هفته برای بررسی اثرات ویتامین C بر شاخص‌های رشد و خونی بچه ماهیان قزل آلای رنگین کمان در دو تراکم مختلف انجام شد. **روش کار:** سه جیره غذایی با سه سطح مکمل ویتامین C (۱۰۰mg/kg، ۲۰۰، ۱۰۰۰) 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 ^{o}C ۲۸،۲۶،۲۴ قرار گرفتند و بعد از مدت زمان مشخص بازماندگی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت بعد از ۹ هفته شاخص‌های رشد (افزایش وزن، بقاء، 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 معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر روی شاخص‌های رشد داشته است و تراکم تنها بر ضریب تبدیل غذایی تأثیر معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$) و بر سایر شاخص‌های رشد اثر معنی‌داری نداشت ($p<۰/۰۵$). نتایج پارامترهای خونی نشان داده است که سطح ویتامین C جیره غذایی اثر معنی‌داری بر روی میزان هماتوکریت و هموگلوبین و تعداد گلبول قرمز داشته ($p<۰/۰۵$) ولی بر شاخص‌های MCH، MCHC اثر معنی‌داری نداشته است ($p>۰/۰۵$). تراکم تنها در تعداد گلبول قرمز اثر معنی‌داری نشان داده است ($p<۰/۰۵$). همچنین اثر متقابل ویتامین C و تراکم تنها بر تعداد گلبول قرمز اثر معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$). **نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج تنش‌های 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 ($p<۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: ویتامین C، رشد، قزل‌آلای رنگین‌کمان، پارامترهای خونی، استرس دمایی.

مقدمه

صنعت آبزی پروری یکی از صنایع مهم و در حال توسعه بوده و هر ساله بر میزان تولیدات آبزی پروری در دنیا افزوده می‌شود. به طور معمول آبزیان در محیط‌های بسته همچون استخرهای خاکی، سیمانی، قفس‌ها و یا تانک‌ها پرورش داده می‌شوند و سعی تلاش در بالا بردن تراکم آبزیان 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 استرس‌زا و همچنین افزایش حساسیت ماهی به عوامل بیماریزا می‌شود. بنابراین باید با اتّخاذ شیوه‌هایی بقاء و رشد مناسب ماهیان را در چنین شرایطی حفظ کرد. استفاده از مواد محرک ایمنی در جیره غذایی می‌تواند مقاومت در برابر بیماریهای عفونی را با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی افزایش دهد (۱۹). ویتامین‌ها مهمترین مواد مغذی هستند که سیستم ایمنی ماهی را تحریک می‌کنند و ویتامین C به عنوان یک ماده مغذی ضروری در آبزی پروری مطرح است 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 می‌کند. اغلب ماهیان به دلیل فقدان آنزیم ال - گلونولاکتون 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 می‌کند و نقش حفاظتی این ویتامین در برابر استرس می‌تواند 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 می‌کند (۱۴). مطالعات نشان داده که ویتامین C می‌تواند باعث افزایش مقاومت ماهی در برابر تنش‌های 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 تراکم‌های مختلف بر روی شاخص‌های رشد، پارامترهای خونی و میزان مقاومت بچه ماهیان قزل آلا در برابر استرس دمایی می‌باشد.

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۱۵۱-۳۸۲۲۷۱۷ نمابر: ۰۱۵۱-۳۸۲۲۵۶۵ Email: hoseinoraji@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مواد وروش کار

این تحقیق به مدت ۹ هفته در شرکت تهران قزل آلا 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، ۰mg/kg (شاهد)، ۱۰۰ (سطح پایین)، ۲۰۰ (سطح متوسط) و ۱۰۰۰ (سطح بالا) جیره در دو تراکم ذخیره سازی ۴۰۰ قطعه در متر مربّع (تراکم معمول در کارگاه) و ۸۰۰ قطعه در متر مربع (تراکم بالا) در آزمون فاکتوریل ۲×۴ مورد ارزیابی و بررسی قرار گرفت. به ازای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. برای این منظور بچه ماهیان قزل آلا با میانگین وزن اولیه ۲/۱g در بیست وچهار حوضچه به ابعاد ۰/۳m × ۰/۴ × ۰/۹ با تراکم‌های مورد نظر ذخیره‌سازی شدند. در طی دوره پرورش PH آب ۷/۸ و میانگین دمای آب ۱۰-۱۳°C و اکسیژن محلول آب ۸/۵ ppm بود. غذادهی بچه ماهیان به میزان ۵-۳٪ وزن بدن و در ۵ وعده در ساعات ۸، ۱۱، ۱۳، ۱۵ و ۱۸ انجام شد. در طی دوره پرورش هر ده روز یکبار به منظور زیست سنجی، تعداد ۳۰ قطعه از بچه ماهیان هر حوضچه به طور تصادفی برداشت شدند و وزن آنها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱g و طول آنها با خط کش بیومتری با دقت ۱mm اندازه گیری شد و مجدداً به حوضچه‌های پرورشی منتقل شدند. در پایان هفته نهم همه ماهیان هر حوضچه صید شاخص‌های رشد (افزایش وزن، بقاء ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، کارایی غذایی، و ضریب چاقی) مورد بررسی قرار گرفت (۲،۶).

وزن اوّلیه - وزن نهایی = افزایش وزن

$$\text{ضریب رشد ویژه} = \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی} - \text{لگاریتم طبیعی وزن اوّلیه}}{\text{طول دوره پرورش}} \times 100$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{غذای مصرفی}}{\text{افزایش وزن}}$$

$$\text{ضریب چاقی (۱)} = \frac{\text{وزن}}{\text{طول}^3} \times 100$$

جهت بررسی تغییرات خونی (هموگلوبین، هماتوکریت، HMC، CMCH، RBC) بعد از پایان هفته نهم از ماهیان هر تیمار بعد از بیهوشی با پودر گل میخک، به روش قطع ساقه دمی خونگیری شد (۸). خون گیری از ساقه دمی روش مناسبی برای خون‌گیری از ماهی‌های کوچک (کوچکتر از ۱۰cm) 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 هموسیتومتر نئوبار و محلول‌های رقیق کننده گاور و تورک شمارش گردیدند (۳). هموگلوبین بوسیله کیت مخصوص شرکت پارس آزمون و به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰nm در دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. اندازه گیری هماتوکریت با استفاده از سانتریفوژ انجام شد (۸). همو گلوبین 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 قزل آلای رنگین‌کمان در برابر تنش‌های محیطی از تنش دمایی با دمای ۲۶،۲۴°C و ۲۸ استفاده شد با استفاده از هیترهای آکواریوم دمای آب در دمای‌های مذکور تنظیم شد و به ترتیب بعد از مدت زمان ۴۵،۳۵، ۶۰ 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 ۵٪ (p=۰/۰۵) 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، ۱۰۰۰mg با میانگین وزن ۱۷/۸۶ و کمترین افزایش وزن مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C با میانگین وزن ۱۳/۶۶ 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 ۱۰۰۰mg با میانگین ۳/۵۴ و کمترین مقدار ضریب رشد ویژه مربوط به جیره بدون ویتامین C با میانگین ۳/۱ 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، ۱۰۰۰mg بهترین ضریب تبدیل غذایی را داشته و با جیره‌های با سطوح ویتامین ۲۰۰mg، ۱۰۰، ۰ تفاوت معنی‌داری داشته است نتایج کارایی غذای 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 ۷۹/۶ و بیشترین بازماندگی به ترتیب برای سطح ۲۰۰ mg و ۱۰۰۰ با میانگین ۸۹/۱ و ۸۸/۱ بوده و بین سطوح ویتامین C ۲۰۰ و ۱۰۰۰ تفاوت معنی‌داری

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- اجزاء جیره و آنالیز تقریبی جیره.

اجزا جیره	درصد
آرد ماهی	۵۸
آرد گوشت	۱۲
آرد گندم	۱۴
دکسترین	۵
روغن ماهی	۶
روغن گیاهی (سویا)	۲/۲
فیلر	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 معنی‌داری داشته است ولی بر روی MCHC و MCH در هیچ یک از تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است. مقادیر این پارامترها در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ویتامین C(۱۰۰mg/kg،۲۰۰،۱۰۰۰) به طور معنی‌داری بالاتر از مقادیر آنها در ماهیان تغذیه شده با جیره عاری از ویتامین C (۰ mg/kg غذا) بوده است. در مورد هماتوکریت اختلاف معنی‌داری 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 ۱۰۰mg،۲۰۰،۱۰۰۰اختلاف معنی‌دار نبوده است با این وجود بیشترین مقدار مربوط به سطح ویتامین C، ۱۰۰۰mg/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 معنی‌دار 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 برروی گلبول قرمز تأثیر معنی‌داری داشته است و برروی دیگر شاخص‌های خونی اثر معنی‌داری 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 f، ۱۰۰۰mg/kg جیره با تراکم پایین (۴۰۰ قطعه در مترمربع) 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 ۱۰۰۰mg 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 هماتولوژیکی تأثیر متقابل ویتامین C و تراکم تنها در گلبول قرمز تأثیر معنی‌دار داشته و بر روی دیگر شاخص‌ها اختلاف معنی‌داری 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 26^{o} و 24^{o} اختلاف معنی‌داری بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین C و ماهیان تغذیه شده بدون ویتامین C مشاهده شده است و بین سطوح ۱۰۰mg،۲۰۰، ۱۰۰۰ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در دمای 28^{o} اختلاف معنی‌داری بین تمام تیمارها مشاهده شده است بیشترین بازماندگی مربوط به سطح ویتامین ۱۰۰۰mg و ۲۰۰ بوده و کمترین مقدار آن در جیره بدون ویتامین C مشاهده شد (جدول۴) تراکم در دمای 26^{o} و ۲۸ بر روی بازماندگی تأثیر معنی‌داری داشته است ولی در دمای 24^{o} اختلاف معنی‌دار نبوده در دمای 28^{o} بیشترین مقدار در تراکم ۴۰۰ قطعه در متر مربع مشاهده شد.

بحث

نتایج بدست آمده از این بررسی به تأثیر معنی‌دار ویتامین C در رشد، بقاء، فاکتورهای خونی و تست دمایی اشاره دارد. نیاز ویتامین C در گونه‌های مختلف مورد ارزیابی قرارگرفته است و نتایج مختلف گزارش شده است، به طور مثال در بچه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis karonga*) ۶۰mg به ازای هر کیلوگرم (۱۶) و یا در گونه (Arapaima gigas) نیاز به ویتامین C، ۱۲۰۰mg-۸۰۰ به ازای هر کیلوگرم (۱) گزارش شده است. wahli و همکاران در سال ۲۰۰۳ (۲۴) در بررسی اثرات سطوح مختلف ویتامین C (۲۵، ۱۵۰ و ۱۰۰۰ mg به ازای هر کیلوگرم جیره) مشاهده کردند که با افزایش سطح ویتامین C از ۱۵۰mg به ۱۰۰۰mg در جیره، سرعت بهبود زخم افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر بچه ماهیان قزل آلای تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰۰mg مکمل ویتامین C، عملکرد بهتری را نشان دادند. همچنین بهترین ضریب تبدیل غذایی (۱/۰۹) مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰mg مکمل ویتامین C بود. ضریب تبدیل غذایی یکی از شاخص‌هایی است که در مطالعات تغذیه‌ای مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و میزان آن در ماهیان حتّی 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

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- شاخص‌های رشد بچه ماهی قزل آلای تغذیه شده با سطوح متفاوت ویتامین C در تراکم‌های مختلف. * بیانگر اثر معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

سطح ویتامین C	تراکم در متر مربع	افزایش وزن (g)	ضریب رشد ویژه	ضریب تبدیل غذایی	ضریب چاقی	بازماندگی
۰	۴۰۰	۱۳/۷۳±۱/۴۲^{a}	۳/۱۱±۰/۰۸^{a}	۱/۳۹±۰/۰۵^{c}	۰/۹۹±۰/۰۵^{a}	۸۰/۳±۳/۰۵^{ab}
	۸۰۰	۱۳/۶±۰/۷۲^{ab}	۳/۱۳±۰/۰۷^{a}	۱/۴±۰/۰۲^{c}	۱/۰۱±۰/۰۷^{a}	۷۹±۳^{a}
۱۰۰	۴۰۰	۱۶/۴۴±۱/۳۲^{cd}	۳/۴۲±۰/۰۸^{b}	۱/۲۴±۰/۱۱^{b}	۱/۰۷±۰/۰۷^{ab}	۸۲±۳/۰۵^{ab}
	۸۰۰	۱۵/۸±۱/۷^{bde}	۳/۳۶±۰/۰۸^{b}	۱/۲۸±۰/۰۴^{b}	۱/۱۲±۰/۰۴^{abc}	۸۶±۲/۶^{bc}
۲۰۰	۴۰	۱۵/۷۶±۱/۱۵^{bc}	۳/۳۶±۰/۱^{b}	۱/۲۵±۰/۰۲^{b}	۱/۱۲±۰/۰۴^{abc}	۸۸/۶±۴/۰۴^{c}
	۸۰۰	۱۵/۵۶±۰/۵۷^{abc}	۳/۳۵±۰/۰۷^{b}	۱/۲۶±۰/۰۲^{b}	۱/۱۶±۰/۱۴^{abc}	۸۹/۶±۴/۰۴^{c}
۱۰۰۰	۴۰۰	۱۷/۸۶±۰/۲۸^{d}	۳/۶۴±۰/۰۶^{c}	۱/۰۹±۰/۰۱^{a}	۱/۲۸±۰/۱۳^{c}	۹۱±۲/۶^{c}
	۸۰۰	۱۶/۴۶±۰/۵۷^{cd}	۳/۴۴±۰/۰۹^{b}	۱/۲۳±۰/۰۲^{b}	۱/۲۲±۰/۱۴^{bc}	۸۵/۳۳±۱/۵^{bc}
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 آلای تغذیه شده با جیره‌هایحاوی سطوح متفاوت ویتامین C در تراکم‌های مختلف.* بیانگر اثر معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

سطح ویتامین C	تراکم	MCHC(g/l)	Hb(g/l)	RBC (106/l)	Hct (%)	MCH (pg)
۰	۴۰۰	۱۰۱/۲۶±۱۱/۰۲^{c}	۲۹/۷۳±۴/۸۳^{a}	۰/۱۶±۰/۰۶^{a}	۶±۰/۳۶^{a}	۲۰/۷۶±۲/۳۶^{b}
	۸۰۰	۹۵/۲±۹/۱۰^{bc}	۳۱/۵±۴/۷۳^{ab}	۰/۶۲±۰/۰۴a	۶±۰/۲۶^{a}	۱۹/۳±۱/۱۱^{ab}
۱۰۰	۴۰۰	۹۳/۲۳±۱۲/۲۳^{a}	۳۹±۳^{c}	۰/۷۳±۰/۰۶^{a}	۶/۷±۰/۳۴^{bc}	۱۷/۵±۱/۹۹^{a}
	۸۰۰	۹۸/۰۳±۹/۲^{ab}	۳۴±۳^{abc}	۰/۶۵±۰/۰۳^{a}	۶/۴±۰/۳۵^{b}	۱۸/۸۶±۲/۶۶^{ab}
۲۰۰	۴۰	۱۰۱/۳۳±۹/۱۵^{ab}	۳۳/۳۳±۴/۱۶^{abc}	۰/۶۷±۰/۰۴^{a}	۶/۷±۰/۲۶^{b}	۱۸/۸۰±۲/۸۳^{b}
	۸۰۰	۹۷/۰۳±۸/۶۵^{ab}	۳۶/۳۳±۲/۳۰^{abc}	۰/۶۵±۰/۰۳^{a}	۶/۵±۰/۴۵^{b}	۱۸/۳۶±۲/۴۵^{ab}
۱۰۰۰	۴۰۰	۹۷/۱۰±۹/۷۲^{a}	۳۸/۳۳±۳/۰۵^{bc}	۰/۶۹±۰/۰۴^{a}	۷±۰/۵۵^{c}	۱۷/۳۳±۲/۰۴^{ab}
	۸۰۰	۹۸/۷۰±۸/۷۰^{ab}	۳۸±۳/۶۰^{bc}	۰/۶۷±۰/۰۲^{a}	۶/۹±۰/۴۱^{bc}	۱۸/۰۶±۱/۹۵^{ab}
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

بازماندگی به طور معنی‌داری پایین تر از ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰mg، ۲۰۰، ۱۰۰۰ ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بود. بازماندگی پایین تر در ماهیان تغذیه شده با جیره بدون ویتامین C ممکن است با استرس‌های 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 می‌شود (۱۷). برخی علائم کمبود ویتامین C از قبیل کاهش رشد، آسیب دیدگی کلاژن، تیرگی پوست، لوردوزیس و اسکلورزیس، مرگ و میر توسط برخی محققین گزارش شده است (۵،۱۴،۲۱). در تحقیق حاضر تعدادی از بچه ماهیان قزل آلا تغذیه شده با جیره بدون مکمل ویتامین C از لحاظ ظاهری علائم کمبود ویتامین C شامل اسکلورزیس و لوردوزیس را نشان دادند.

وقتی تأثیر تراکم ذخیره سازی در رشد ماهی بررسی می‌شود از اصطلاحات متفاوتی استفاده می‌شود. 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 کرده‌اند که افزایش تراکم اثر منفی بر فاکتورهای رشد دارد (۱،۱۰،۲۲،۲۳). تراکم بالا به عنوان یک استرس

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- درصد بازماندگی بچه ماهیان قزل آلا نسبت به تنش‌های دمایی. * بیانگر اثر معنی دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

سطح ویتامین C	تراکم در متر مربع	دمای ۲۴ درجه	دمای ۲۶ درجه	دمای ۲۸ درجه
۰	۴۰۰	۳۳/۳±۶/۷^{a}	۳۳/۳±۶/۷^{a}	۱۹/۸۶±۶/۸^{ab}
	۸۰۰	۴۳/۷۳±۵/۰۹^{a}	۴۴/۴±۱/۹۰^{b}	۱۷/۷۳±۱/۹۶^{a}
۱۰۰	۴۰۰	۷۳/۳۰±۰/۰^{d}	۵۱/۰۶±۷/۷۳^{b}	۳۳/۳±۶/۷^{c}
	۸۰۰	۶۲/۲±۱/۹۰^{c}	۶۴/۴±۵/۰۹^{cd}	۱۷/۷۳±۱/۹۶^{a}
۲۰۰	۴۰	۷۳/۳۰±۶/۷۰^{d}	۵۹/۹±۶/۶۵^{cd}	۴۶/۶۳±۶/۶۵^{d}
	۸۰۰	۶۱/۰۶±۵/۰۸^{c}	۵۹/۹±۶/۶۵^{cd}	۲۵/۵۰±۱/۹۰^{ab}
۱۰۰۰	۴۰۰	۵۵/۵۳±۷/۷۳^{bc}	۵۳/۳±۳/۱۳^{bc}	۳۳/۲۶±۱۱/۵۴^{c}
	۸۰۰	۶۶/۶۳±۳/۳۵^{c}	۶۶/۶±۳/۳۵^{d}	۲۹/۹۶±۳/۳۵^{bc}
		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*

دهنده مزمن در آبزی پروری مطرح است (۱۵،۲۲). تحت این شرایط استرسی مزمن، مصرف غذا در ماهی کاهش می‌یابد و از طرفی به دلیل تنظیمات متابولیکی از قبیل تغییرات در فعالیت آنزیم‌های گلوکولیتیک و گلوکونوژنیک افزایش درخواست انرژی را به ماهی تحمیل می‌کند و ماهی برای تامین انرژی از ذخایر بدن استفاده می‌کند که منجر به کاهش رشد در ماهی می‌شود (۴،۲۲،۲۳).

در این آزمایش بچه ماهیان قزل‌آلای 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 می‌شود را تایید می‌کند 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 می‌باشد.

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 مزمن که درخواست انرژی بالا در ماهی را تحمیل می‌کند باشد (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 معنی‌داری 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 می‌شود این ویتامین باعث افزایش تولید آنتی بادی شده و از تأثیرات منفی استرس جلوگیری می‌کند و نقش حفاظتی این ویتامین در برابر استرس می‌تواند 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 می‌کند (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

www.SID.ir

Archive of SID

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.

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 (*Oncorhynchs 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 viatamin 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. Haghighi, 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 onthe 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

www.SID.ir

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.

www.SID.ir

Archive of SID

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

Rahimi, M.[1], Sudagar, M.[1], Ouraji, H.[2*], Hosseini, S.A.[1],Taghizadeh, V.[1]

[1]*Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan- Iran.*

[2] *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 ± 0.1) were reared in triplicate groups in fiberglass tanks at two different densities (400 and 600 /m^2). 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.

***Corresponding author's email: hoseinoraji@yahoo.com, Tel: 0151-3822717, Fax: 0151-3822565**

www.SID.ir