

دو فصلنامه علوم تکثیر و آبی‌پروری / سال سوم / شماره ششم / بهار و تابستان ۹۴ / صفحات ۸۰-۷۱

اثر سطوح مختلف ویتامین C بر رشد، تغذیه و بازماندگی ماهی آکواریومی بارب حلب (*Barbonymus schwanenfeldii*)

زهرا غیاثوند^{۱*}، زید احمدی^۱، مهدیس علامه^۱، رضا چنگیزی^۲

چکیده

در این تحقیق ۴ جیره غذایی حاوی اسید اسکوربیک با دوزهای صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده غذایی، در ۳ تکرار و به مدت ۸ هفته به ماهیان بارب حلب *Barbonymus schwanenfeldii* داده شد. ماهیان بارب حلب به تعداد ۱۸۰ و با میانگین وزنی $5/0 \pm 5/2$ گرم، با دوزهای مختلف ویتامین C تغذیه شدند. در هر آکواریوم (۱۸۰ لیتری) تعداد ۱۵ ماهی بارب ذخیره سازی شد و سه بار در روز غذایی انجام گرفت. در این تحقیق شاخص‌های رشد شامل (ضریب رشد ویژه، افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی، نسبت بازدهی پروتئین، مصرف غذای روزانه و درصد بقا) اندازه گیری شد. نتایج آزمایش نشان دادند که بهترین شاخص‌های رشد در جیره حاوی ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C مشاهده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$). بطور کلی می‌توان بیان نمود که بهترین میزان ویتامین C برای ماهی بارب حلب از نظر رشد و فاکتورهای ایمنی، سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم ماده غذایی می‌باشد.

کلید واژه: اسید اسکوربیک، ماهیان بارب، شاخص رشد.

۱- گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، گلستان، ایران zaghiasvand@yahoo.com

۲- گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران

۱- مقدمه

استفاده از ویتامین C در تغذیه آبزیان زیتتی و پرورشی با اهدافی چون افزایش رشد، افزایش ضریب ایمنی بدن، افزایش قابلیت تنظیم اسمزی، افزایش کیفیت و کمیت هم‌آوری انجام می‌گیرد. ویتامین C یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ضروری جهت عملکردهای فیزیولوژیکی در حیوانات از جمله ماهی‌ها می‌باشد. این ویتامین نقش مهمی در بهبود پارامترهای ایمنی، افزایش مقاومت در برابر استرس و بیماری‌ها، تنظیم کردن برخی توانایی‌های رفتاری ماهی (حرکت گله‌ای) ایفا می‌کند. همچنین این ویتامین در ساختن کلاژن که مهمترین پروتئین در ساختار بافت‌های متنوع پیوندی موجودات است نقش مهمی دارد. مطالعات متعددی در زمینه اثرات مفید ویتامین C در گونه‌های آبزیان گزارش شده است (۱۷، ۲۶، ۲۷) اما تعیین نیاز واقعی گونه‌های مختلف آبزیان به ویتامین C مشخص نشده است و لزوم مطالعات بیشتری در این زمینه وجود دارد. در ماهیان استخوانی بیوسنتز ویتامین C در ماهی به دلایل فقدان آخرین آنزیم در مسیر بیوسنتز ال-گلوکونولاکتون اکسیداز رخ نمی‌دهد بنابراین ویتامین C مورد نیاز توسط غذا باید تأمین شود.

امروزه آکواریوم‌ها و ماهیان زیتتی به خوبی توانسته‌اند در این دنیای صنعتی، جای خود را در خانه‌های مردم باز کنند و این شاخه از علم آبی‌پروری به یک صنعت بزرگ و تجاری سودآور تبدیل شده است. ماهیان زیتتی آب شیرین در مناطق مختلفی از جهان یافت می‌شوند و در صنعت آکواریوم مورد بهره برداری، تکثیر و پرورش قرار می‌گیرند. به دلیل شرایط پرسترس محیط آکواریوم که ناشی از تراکم بالای جمعیت ماهیان است، امکان ابتلا به انواع بیماری‌ها افزایش می‌یابد. از اینرو شناخت عوامل مؤثر بر افزایش توان زیستی ماهیان آکواریومی از اهمیت بسزایی برخوردار است. علیرغم اهمیت اقتصادی این مسأله متأسفانه اطلاعات تغذیه‌ای در رابطه با ماهیان زیتتی خصوصاً خانواده کپور ماهیان تخمگذار در زمینه تأثیر ویتامین C بر رشد به میزان کافی در دسترس نمی‌باشد. همچنین فقر اطلاعاتی در رابطه با نیازهای تغذیه‌ای در ماهیان زیتتی هزینه‌های نگهداری را بسیار بالا برده زیرا عوارضی مانند آلودگی آب را بدنبال خواهد داشت.

این تحقیق بر روی یک گونه از ماهیان زیتتی بسیار بازاریابنده زیتتی یعنی ماهی بارب حلب انجام شده است. این ماهی بومی جنوب شرقی آسیا و از خانواده کپور ماهیان تخمگذار است. ماهیان بارب از نظر تغذیه‌ای جزء ماهیان همه چیزخوار بوده و به علت زیبایی و حرکات سریع جز ماهیان زیتتی پر طرفدار می‌باشند. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی تأثیرات مکمل ویتامین C بر روی شاخص‌های رشد، بقا و ایمنی این ماهی صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تأمین ماهیان و شرایط نگهداری

در این بررسی ۱۸۰ عدد ماهی بارب‌حلب (*Barbonymus schwanenfeldii*) با وزن ۰/۵ ± ۲ گرم و سن تقریبی سه ماه از مرکز فنی حرفه‌ای بخش شیلات استان گلستان تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. ماهیان پس از گذشت ۲ هفته سازگاری با خوراک تجاری ماهیان زیتتی، تغذیه شده و مدت ۸ هفته در ۱۲ تانک آکواریومی ۸۵ لیتری و با تراکم ۱۵ عدد ماهی در هر تانک نگهداری شدند. هواده درون آکواریومها قرار داده شده و کلرزدایی و اکسیژن‌رسانی انجام گرفت. درون تمامی آکواریومها دستگاه گرمکن تعبیه شده بود تا دمای آب ثابت و مناسب برای ماهیان باقی بماند. نظر به اهمیت عوامل محیطی در پرورش ماهی‌ها و وابستگی شدید آنها از نظر رشد و سلامتی به برخی از این عوامل، علاوه بر نظافت دیواره داخلی و کف آکواریومها و کنترل کیفیت آب ورودی به آنها، عوامل مختلف از جمله درجه حرارت آب (۱/۰ ± ۲۸ درجه سانتیگراد)، اکسیژن محلول (۱/۲ ± ۸/۸ میلیگرم در لیتر)، pH (۰/۵ ± ۷/۳) و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به صورت هفتگی با استفاده از دستگاه کنترل کیفیت آب (Japan) HuribaU-10 اندازه‌گیری و ثبت گردید.

گروه‌های آزمایشی: در این تحقیق با توجه به نیازهای پروتئینی ماهی بارب‌حلب، از جیره غذایی پایه تجاری ماهیان زیتتی، تولید شرکت بیومار فرانسه و فاقد ویتامین C حاوی پروتئین ۳۸/۷ درصد، چربی ۱۳ درصد، رطوبت ۱۳/۴ درصد و خاکستر ۱۱/۵ درصد استفاده گردید. ویتامین C (شرکت Basel سوئیس) مورد استفاده از نوع پایدار در آب (L-Ascorbyl-2-Polyphosphate) بود. مقادیر مختلف ویتامین C با دوزهای صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم ماده غذایی به جیره اضافه گردید. ویتامین C پس از مخلوط شدن اولیه با جیره در همزن به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط و سپس آب به آن اضافه و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه دیگر مخلوط شدند. سپس جیره‌ها دو بار از چرخ گوشت گذرانده شده و توسط آوند ر دمای ۵۵ درجه سانتیگراد خشک گردیده و پلت‌هایی با قطر ۱ میلیمتر تهیه شد. غذا به میزان مورد نیاز بسته‌بندی و در فریزر در دمای ۱۸- نگهداری شد. به منظور اطلاع از ترکیب شیمیایی و تقریبی غذای مورد استفاده، در ابتدای تحقیق از غذای مورد نظر نمونه‌برداری شده و در آزمایشگاه مورد تجزیه قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- ترکیبات مواد مورد استفاده در جیره غذایی آنالیز شیمیایی خوراک پایه ماهی آکواریومی بارب

حلب

نوع ترکیب	(درصد)
آرد ماهی	۶۰
آردجو	۷/۵
آرد گندم	۷/۵
آرد ذرت	۷/۵
آرد سویا	۷/۵
مخلوط مواد معدنی	۵
روغن زیتون	۲
روغن ماهی	۳
آنالیز خوراک	(درصد)
رطوبت	۱۳/۴
خاکستر	۱۱/۵
پروتئین خام	۳۸/۷
چربی خام	۱۳
مخلوط مواد معدنی شامل (mg/g):	
کلسیم: ۱۸۰۰۰۰	فسفر: ۹۰۰۰۰
ید: ۱۰۰	بیکربنات: ۱۰۰
سدیم: ۶۰۰۰۰	منگنز: ۲۰۰
روی: ۳۰۰	مس: ۶۰۰
سلنیوم: ۱	منیزیم: ۱۹۰۰۰۰
	آهن: ۳۰۰۰
Vitamin A:500000 IU Vitamin D:100000 IU Vitamin E:100 mg	

با توجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی که در آن طول استاندارد ماهیان با استفاده از خط کش با دقت یک میلی‌متر و وزن آنها بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد، غذای مورد نیاز هر آکواریوم محاسبه و برای ۲ هفته بعد معین گردید. غذادهی بر اساس مشاهدات و مدت زمان مصرف غذا توسط ماهیان تا حد سیری و به میزان ۲ تا ۴ درصد توده زنده صورت گرفت. ماهیان روزانه در ۳ نوبت غذادهی شده که ساعات غذادهی به ترتیب برابر با ۹، ۱۳ و ۱۷ بود. غذای ماهیان بر اساس شماره هر تیمار در ظروف جداگانه و مخصوص نگهداری شده و هنگام غذادهی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و در سطح آکواریوم‌ها توزیع می‌گردید. جهت کاهش اثرات استرس‌زای عملیات زیست‌سنجی، یک روز قبل از

زیست‌سنجی غذادهی به ماهیان قطع گردیده و از پودر گل میخک با دوز ۲۰۰ ppm به عنوان ماده بیهوشی استفاده شد.

نمونه‌گیری: برای ارزیابی اثرات جیره‌های مختلف بر روی رشد ماهی از شاخص‌های رشد استفاده شد تا نتایج آزمایشات بر مبنای آنها مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد (جدول ۲).

جدول ۲- شاخص‌های تغذیه، رشد و بازماندگی

شاخص	فرمول محاسبه
(۲۱) ضریب رشد ویژه	رشد پرورش به روز / $(LnW2 - LnW1)$
(۲۱) ضریب تبدیل غذایی	نای خورده شده (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم)
(۱۲) نسبت بازده پروتئین	رتئین مصرفی غذا (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم)
(۱۲) وزن بدست آمده	لیه بدن / (وزن اولیه بدن - وزن نهایی بدن)
(۱۲) درصد وزن بدست آمده	اولیه بدن / (وزن اولیه بدن - وزن نهایی بدن)
(۲۱) درصد غذای دریافتی روزانه	وزن اولیه بدن - وزن نهایی بدن / مقدار غذای خورده شده
(۱۲) درصد بازماندگی	۱۰۰ × (تعداد اولیه / تعداد نهایی)

روش‌های آماری این تحقیق شامل محاسبه میانگین، انحراف معیار، آنالیز رگرسیون و ضرایب همبستگی بوسیله نرم افزار (SPSS (18) و در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. تجزیه و تحلیل بر روی داده‌های مربوط به تغییرات شاخص‌های رشد، تغذیه و فاکتورهای خونی از طریق آزمون تجزیه واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای (تست جدا ساز) Duncan's multiple-range test انجام شد.

۳- نتایج

پس از ۸ هفته پرورش، انجام زیست‌سنجی و کسب اطلاعات، پارامترهای رشد و تغذیه محاسبه شد. نتایج اثرات سطوح ویتامین C بر معیارهای رشد و درصد بازماندگی ماهی آکواریومی بارب حلب در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد که ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین C در شاخص‌هایی مانند وزن نهایی، ضریب تبدیل غذایی، ضریب رشد ویژه، نسبت بازدهی پروتئین و درصد افزایش وزن نسبت به تیمار شاهد (فاقد ویتامین C)، به طور معنی‌داری بهبود داشته‌اند ($P < 0.05$). بیشترین میزان وزن نهایی در تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم ماده غذایی مشاهده شد که با تیمار شاهد که فاقد

ویتامین C بود اختلاف معنی دار داشت ($P < 0.05$). ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف ویتامین C فاقد اختلاف معنی داری بوده اما در هر سه تیمار نسبت به شاهد بطور معنی داری بهبود یافته بود ($P < 0.05$). کمترین میزان مصرف غذای روزانه در تیمار حاوی ۱۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم ماده غذایی مشاهده شد که بین این تیمار و سطوح دیگر ویتامین C و شاهد اختلاف معنی دار بود ($P < 0.05$). ضریب رشد ویژه در تمامی تیمارهای حاوی ویتامین C نسبت به شاهد افزایش معنی داری را نشان داد ($P < 0.05$). در رابطه با درصد بازماندگی بین تیمار شاهد (فاقد ویتامین C) و سایر تیمارهای حاوی ویتامین C اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

جدول ۳- مقایسه شاخص‌های رشد، تغذیه و بازماندگی در ماهی بارب حلب در چهار تیمار سطوح مختلف

ویتامین C

شاخص	تیمار	شاهد	تیمار ۵۰۰ میلی گرم C ویتامین	تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم C ویتامین	تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم در C کیلوگرم ویتامین
وزن اولیه	۲/۳۲±۰/۸۸ ^a	۲/۴۸±۰/۲۸ ^a	۲/۴۳±۰/۰۸ ^a	۲/۲۳±۰/۰۸ ^a	۲/۲۷±۰/۰۲ ^a
وزن نهایی	۷/۶۶±۱/۰۶ ^a	۱۱/۶۶±۰/۲۸ ^b	۱۱/۶۶±۰/۲۸ ^b	۱۲/۹۶±۰/۸۰ ^{bc}	۱۳/۳۶±۰/۴۹ ^c
ضریب تبدیل غذایی	۱/۹۸±۰/۴۲ ^a	۱/۴۶±۰/۱۰ ^b	۱/۴۶±۰/۱۰ ^b	۱/۲۹±۰/۱۲ ^b	۱/۱۱±۰/۰۲ ^b
نسبت بازدهی پروتئین	۱/۱۵±۰/۲۳ ^a	۱/۵۳±۰/۱۰ ^b	۱/۵۳±۰/۱۰ ^b	۱/۷۲±۰/۱۵ ^{bc}	۲/۰۰±۰/۰۷ ^c
مصرف غذای روزانه	۴/۰۸±۰/۱۵ ^b	۴/۱۵±۰/۱۹ ^b	۴/۱۵±۰/۱۹ ^b	۴/۱۵±۰/۱۰ ^b	۳/۷۲±۰/۰۳ ^a
ضریب رشد ویژه	۱/۹۸±۰/۲۹ ^a	۲/۵۸±۰/۲۰ ^b	۲/۵۸±۰/۲۰ ^b	۲/۸۵±۰/۱۶ ^b	۲/۹۵±۰/۰۶ ^b
وزن بدست آمده	۵/۳۴±۱/۱۴ ^a	۹/۱۸±۰/۴۷ ^b	۹/۱۸±۰/۴۷ ^b	۱۰/۶۳±۰/۸۹ ^{bc}	۱۱/۰۹±۰/۴۸ ^c
درصد وزن بدست آمده	۲۳۱/۸۴± ۵۷/۸۳ ^a	۳۷۴/۵۲±۵۵/۳۰ ^b	۳۷۴/۵۲±۵۵/۳۰ ^b	۴۵۶/۲۳±۵۳/۵۷ ^{bc}	۴۸۷/۹۹±۲۱/۳۳ ^c
درصد بازماندگی	۸۴/۴۴±۷/۶۹ ^a	۹۵/۵۵±۷/۶۹ ^a	۹۵/۵۵±۷/۶۹ ^a	۹۷/۷۷±۳/۸۴ ^a	۹۵/۵۵±۷/۶۹ ^a

※ اعدادی که در هر ردیف دارای حروف غیر مشابه هستند اختلاف معنی داری دارند ($P < ۰/۰۵$)

۴- بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- تأثیر مختلف ویتامین C (اسید اسکوربیک) بر برخی پارامترهای رشد در ماهی

آکواریومی بارب حلب

اکثریت ماهیان جهت حفظ میزان طبیعی رشد خود نیازمند منابع غذایی حاوی ویتامین C

می‌باشند زیرا آنها فاقد توانایی تبدیلی ال-گلوکونولاکتون به ۲-کتو-ال-گلوکونولاکتون هستند. در این خصوص بسیاری از مطالعات بر اثرات مثبت ویتامین C در میزان رشد تأکید دارند. بر اساس مطالعات انجام‌شده مقادیر بهینه ویتامین C مورد نیاز در ماهیان مختلف بالای دوز ۷۰۰ میلی گرم در هر کیلو گرم ماده غذایی می‌باشد.

در تحقیق حاضر، رشد ماهیان بارب حلب *Barbonymus schwanenfeldii* با افزایش سطوح ویتامین C افزایش نشان داد که این میزان افزایش در فاکتورهای رشد در بعضی سطوح دارای اختلاف معنی‌داری بودند و این مسأله بیانگر نیاز این ماهی آکارومیومی به منابع خارجی از ویتامین C برای رشد بهینه است. وجود اختلاف معنی‌دار در برخی سطوح بیانگر این مطلب بود که فرآیند رشد ماهیان در منابع حاوی ویتامین C بهتر از نمونه شاهد می‌باشد. در این بررسی با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق بهینه‌ترین فاکتورهای رشد در سطح ۱۵۰۰ میلی-گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره غذایی مشاهده شد. یعنی با افزایش میزان ویتامین C فاکتورهای رشد بهبود یافتند که در تحقیقی مشابه سوداگر و مهرداد در سال ۲۰۱۰ اثر سطوح مختلف ویتامین C را بر روی فاکتورهای رشد ماهی آکارومیومی گویی *Poeciliar eticulata* بررسی کردند و در نهایت بیان کردند که با افزایش سطوح ویتامین C فاکتورهای رشد از جمله ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن به طور معناداری پیشرفت داشتند.

نتایج حاصل از این تحقیق با کارهای سایر محققین متناظر و مشابه می‌باشد (۱، ۲۵، ۲۸، ۱۵، ۱۳، ۶، Farahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ سطوح مختلف ویتامین C را در میزان بازماندگی ماهی آکارومیومی آنجل به روش غوطه‌وری بررسی کردند. نتایج نشان داد با افزایش دوز ویتامین C میزان بقا افزایش یافت به گونه‌ای که کمترین درصد بازماندگی در سطح شاهد و بالاترین در سطح ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد که بین بیشترین و کمترین اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در مقایسه با تحقیق حاضر درصد بازماندگی در تیمارهای مختلف ویتامین C فاقد اختلاف معنی‌دار بوده و از این نظر این دو تحقیق مغایرت دارند که البته نتایج موجود با کار صورت گرفته توسط سوداگر و مهرداد در سال ۲۰۱۰ مشابهت دارد. علیرغم معنی‌دار نبودن درصد بقا در سطوح مختلف ویتامین C، اما از نظر عددی کمترین درصد بقا در جیره فاقد ویتامین C مشاهده گردید که مشابه نتایج کار روی طوطی ماهی، سیم دریایی (Ji et al., 2003) گربه ماهی روگامی (Xie and Niu, 2006) و تیلایپا (Gammanpila et al., 2007) است.

یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان FCR است که در این مطالعه با توجه به حداقل FCR مشاهده شده در دوز ۱۵۰۰ میلیگرم در هر کیلوگرم جیره غذایی می‌توان از این

نظر نیز این مقدار را به عنوان سطح مطلوب دانست چراکه علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی، به سبب مقدار کمتر غذا دهی از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد گردید.

تأثیر مثبت ویتامین C در بهبود اکثر فاکتورهای رشد در ماهی را می‌توان به نقش کوآنزیمی این ویتامین در اکسیداسیون تیروزین و فنیل آلانین به عنوان دو اسید آمینه مهم و ضروری جهت رشد نسبت داد.

نتایج متفاوتی که از میزان مورد نیاز ویتامین C جهت رشد بهینه در ماهیان مختلف بدست آمد را می‌توان اینگونه تفسیر کرد که این تفاوت‌ها بسته به عوامل متعددی نظیر گونه ماهی، سن ماهی، اندازه ماهی، نرخ رشد، مرحله بلوغ جنسی، نوع رژیم غذایی، نحوه نگهداری غذا در مقابل استرس‌های محیطی، شرایط آزمایش و اثر متقابل ویتامین C با سایر مواد مغذی موجود در جیره می‌تواند باشد.

۵- نتیجه گیری نهایی

بر اساس یافته‌های این تحقیق می‌توان ادعا نمود که ویتامین C با دوز ۱۵۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ماده غذایی در مقایسه با سایر سطوح، باعث بهبود اکثر فاکتورهای رشد، بازماندگی و برخی فاکتورهای ایمنی ماهی گردیده و می‌تواند به عنوان یک افزودنی مناسب به جیره دستی ماهی بارب حلب اضافه گردد اما مطالعه بیشتری در زمینه دوزهای بالاتر ویتامین C در فاکتورهای ایمنی و رشد ماهی بارب حلب مورد نیاز است.

منابع

1. Akbary, P., Ghareghani Poor, M., Fereidouni, M.S., (2015). Effect of the seed extract of *Peganumharmala L* supplemented diet on several of non-specific immunity parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Journal of Animal Researches. 28 (1), PP:1-8.
2. Ataeimehr, B., Bagheri, P., Emtiazjoo, M., YousefiSiahkalroodi, S., (2014). Study on Effect of Aloe vera (*Aloe vera*) on Changes of Immunoglobulins IgM, IgA and IgG, Total protein and Differential Counts of white blood cells of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal Researches. 27 (1), PP:89-99.
3. Campbell, TW., (2013). Exotic Animal Hematology and Cytology. Wiley, PP:422
4. Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K., Lee, K-J, (2004). Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). Aquaculture, 242 (1-4), PP:553-569.

5. **Dabrowski, K., (2000).** Ascorbic Acid In Aquatic Organisms: Status and Perspectives. CRC Press.
6. **de Andrade, JIA., Ono, EA., de Menezes, GC., Brasil, EM., Roubach, R., Urbinati, EC., Tavares-Dias, M., Marcon, JL., Affonso, EG., (2007).** Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 146 (4), PP:576-580.
7. **Duarte Ferraz Sampaio, F., Ostrensky, A., (2013).** Brazilian Environmental Legislation As Tool To Conserve Marine Ornamental Fish. Marine Policy. 42, PP:280-285.
8. **Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M., Talebi, A., (2011).** The Effect of Ascorbic Acid on Hatching Performance and Tolerance against Environmental Stressor (High Temperature) by Immersion of Angel Fish (*Pterophyllum Scalare Schultzze*) Fertilized Eggs. World Journal of Fish and Marine Sciences. 3 (2), PP:121-125
9. **Faramarzi, M. (2012).** Effect of dietary vitamin C on growth and feeding parameters, carcass composition and survival rate of common carp (*Cyprinus carpio*). Global Veterinaria. 8(5), PP: 507–510.
10. **Gammanpila, M., Yakupitiyage, A., Bart, A., (2007).** Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and Zinc supplementation on reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences. 12, PP:39-60
11. **Hargrove, M., (2011).** Freshwater Aquariums For Dummies. Wiley , PP:368
12. Hung, SSO., Lutes, PB., Conte, FS., Storebakken, T., 1989. Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub-yearlings at different feeding rates. Aquaculture. 80 (1–2), PP:147-153.
13. **Ibiyo, L., Atteh, J., Omotosho, CM., (2007).** Vitamin C (ascorbic acid) requirements of Heterobranchus longifilis fingerlings. African Journal of Biotechnology. 6 (13), PP:1559-1567
14. **Ji, H., Om, AD., Yoshimatsu, T., Hayashi, M., Umino, T., Nakagawa, H., Asano, M., Nakagawa, A., (2003).** Effect of dietary vitamins C and E fortification on lipid metabolism in red sea bream *Pagrus major* and black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. Fisheries Science. 69 (5), PP:1001-1009.
15. **Lin, M-F., Shiau, S-Y., (2005).** Dietary l-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture. 244 (1–4), PP:215-221.
16. **Misra, CK., Das, BK., Mukherjee, SC., Pradhan, J., (2007).** Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp *Labeo rohita*, fingerlings. Aquaculture Nutrition. 13 (1), PP:35-44.
17. **Narges, Arab., Rjabi, H., (2015).** Effects of Dietary Ascorbic Acid on Growth Performance, Body Composition, and Some Immunological Parameters of Caspian Brown Trout, *Salmo trutta caspius*. Journal of the World Aquaculture Society 46(5), PP: 505-518

18. **Nsonga, AR., Kangombe, J., Mfitilodze, W., Soko, CK., Mtethiwa, AH., (2009).** Effect Of Varying Levels Of Dietary Vitamin C (Ascorbic Acid) On Growth, Survival And Hematology Of Juvenile Tilapia Reared In Aquaria. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology.* 13 (2), PP:17-23
19. **Peng, SM., Shi, ZH., Fei, Y., Gao, QX., Sun, P., Wang, JG., (2013).** Effect of high-dose vitamin C supplementation on growth, tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation stress in juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*. *Journal of Applied Ichthyology.* 29 (6), PP:1337-1341.
20. **Pimpimol, T., Phoosamran, K., Chitmanat, C., (2012).** Effect of Dietary Vitamin C Supplementation on the Blood Parameters of Mekong Giant Catfish (*Pangasianodon gigas*). *International Journal Of Agriculture & Biology.* 14 (2), PP:256-260
21. **Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T., (2004).** Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. *Fish & Shellfish Immunology.* 16 (1), PP:25-39
22. **Ronyai, A., Peteri, A., Radics, F. (1990).** Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. *Aquaculture.* 6, PP:13-18
23. **Sudagar, M., Mehrad, B., (2010).** The effect of vitamin C on growth factors, survival, reproduction and sex ratio in guppy (*Poecilia reticulata*). *AACL BIOFLUX.* 3 (3), PP:163-170
24. **Velasco-Santamaría, Y., Corredor-Santamaría, W., (2011).** Nutritional requirements of freshwater ornamental fish PP: a review. *Revista MVZ Córdoba.* 16, PP:2458-2469
25. **Wang, X. J., K. W. Kim, S. C. Bai, M. D. Huh., B.Y. Cho., (2003).** Effects of the different levels of dietary Vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture.* 215, PP: 203-211.
26. **Xie, Z., C. Niu., (2006).** Dietary ascorbic acid requirement of juvenile ayu (*Plecoglossus susaltivelis*). *Aquaculture Nutrition.* 12, PP:151-156.
27. **Yildirim-Aksoy, M., Lim, C., Li, MH., Klesius, PH., (2008).** Interaction between dietary levels of vitamins C and E on growth and immune responses in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquaculture Research.* 39(11), PP:1198-1209
28. **Zhou, Q., Wang, L., Wang, H., Xie, F., Wang, T., (2012).** Effect of dietary vitamin C on the growth performance and innate immunity of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Fish & Shellfish Immunology.* 32 (6), PP:969-975.