

## بررسی تاثیر سطوح مختلف ویتامین C و ویتامین E در جیره بر پارامترهای رشد و

### سیستم ایمنی ماهی آزاد دریای خزر

محمود صیاد بورانی<sup>۱</sup>، حسین خارا<sup>۲\*</sup>، محمد صیادبورانی<sup>۳</sup>، سید محمد اسماعیل فخرزاده<sup>۳</sup>

\*h.khara1974@yahoo.com

۱- اداره کل شیلات استان زنجان

۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، صندوق پستی ۱۶۱۶

۳- مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی کشور، تنکابن

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۲

### چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اهمیت سطوح مختلف ویتامین C و ویتامین E در جیره ماهی آزاد دریای خزر طراحی گردید. در این بررسی اثر مقادیر مختلف ویتامین های C و E در جیره بر فاکتورهای هماتولوژی و رشد بچه ماهی آزاد دریای خزر مورد مطالعه قرار گرفت. بچه ماهیان آزاد دریای خزر با وزن متوسط  $(\pm SD) 35 \pm 0/24$  گرم با جیره غذایی اکستروژد رشد ۲ (EX-TG2) و سطوح مختلفی از ویتامین C و ویتامین E به صورت همزمان مورد تغذیه قرار گرفتند. تیمارهای مختلف ۱ تا ۱۰ مورد استفاده به ترتیب شامل مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم ویتامین C و مقادیر ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ میلیگرم بر کیلوگرم ویتامین E بودند. غذای مورد استفاده در تیمار ۱۰ نیز به عنوان شاهد فاقد ویتامین بود. غذا دهی روزانه به میزان ۳٪ وزن بدن و ۳ بار در روز انجام پذیرفت. به جهت بررسی بر هم کنش احتمالی دو ماده غذایی در جیره ها از دو ویتامین C و E همزمان استفاده گردید. نتایج نشان داد که بین تیمارهای مورد بررسی از نظر افزایش وزن بدن و درصد بازماندگی ماهیان اختلاف معنی دار آماری مشاهده می گردد. همچنین نتایج بررسی نشان داد که در بین تیمارهای مختلف ویتامین C و E، ماهیان سه تیمار (۷ و ۸ و ۹) که با غذای حاوی ویتامین C و ویتامین E بترتیب به مقدار بالا تر ویتامین C یعنی (۳۰۰-۴۰۰)، (۳۰۰-۳۰۰) و (۳۰۰-۲۰۰) (mg/kg) تغذیه شده بودند، بیشترین افزایش وزن بدن و درصد بازماندگی را بدست آوردند و ماهیان تیمار (۱۰) که با غذای فاقد ویتامین تغذیه شدند نیز، کمترین افزایش وزن بدن و درصد بازماندگی را داشتند. بالاترین FCR (ضریب تبدیل) متعلق به تیمار ۱۰ (بدون ویتامین) بوده است. همچنین نتایج نشان داد که بین گروههای تیماری مختلف در این بررسی اختلاف معنی دار آماری در فاکتورهای خونی نظیر: گلبولهای قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، نوتروفیل و لنفوسیت وجود دارد. بیشترین میزان گلبول سفید و نوتروفیل در تیمار (۷ و ۸ و ۹)، بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار (۸ و ۹) بود. لنفوسیت و منوسیت در بین گروههای مورد بررسی تغییر چندانی نداشت و حداکثر مقدار لیزوزیم متعلق به تیمار (۵) بود. ایمنوگلوبولین کل نیز به عنوان یک شاخص ایمنی عمومی در سه تیمار ۷ و ۸ و ۹ در بالاترین حد خود قرار داشت. به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که بهترین دوز مناسب ویتامین C و ویتامین E برای بچه ماهیان آزاد دریای خزر بترتیب ۳۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم و ۳۰ میلیگرم بر کیلوگرم در غذا بود. همچنین نتایج نشان داد که میان این دو ویتامین در جیره بر هم کنش مثبت وجود داشت.

**واژگان کلیدی:** ماهی آزاد دریای خزر، ویتامین سی، ویتامین ای، شاخصهای خونی، شاخصهای ایمنی

\*نویسنده مسئول

## مقدمه

خوراک بهینه جهت پرورش ماهی آزاد دریای خزر می باشد.

وجود ویتامین ها، به عنوان یکی از بخشهای اصلی تشکیل دهنده خوراک، در جیره غذایی برای بقا، رشد و تولید مثل طبیعی حیوانات ضروری است. در جیره غذایی ماهی و میگو هم ۱۱ نوع ویتامین محلول در آب و ۱۴ نوع ویتامین محلول در چربی بکار می رود. مواد غذایی طبیعی ممکن است در تراکم پایین و شرایط پرورش غیر متراکم بتوانند نسبتهای مناسب و یا تمامی ویتامین های مورد نیاز ماهی و میگو را تامین نمایند. با این وجود در تراکم های بالا مانند موارد پرورش نیمه متراکم و متراکم که مواد غذایی طبیعی فقط برای حفظ حیات جمعیت کفایت می کنند، بنابراین افزودن ویتامین به جیره ها از اهمیت زیادی برخوردار می گردد (افشارمازندران، ۱۳۸۱). ویتامین ها مانند کاتالیزور عمل کرده و امکان و توانایی بدن برای مصرف بقیه ترکیبات مواد غذایی را فراهم می آورند (Halver, 1957). اگرچه نیازهای کمی و اختصاصی به ویتامین ها در اغلب گونه های ماهیان پرورشی هنوز تعیین نشده است اما این نیاز در جیره تحت تاثیر اندازه، سن، میزان رشد، شرایط فیزیولوژیک، وضعیت سلامتی، ترکیب غذایی جیره، پایداری جیره در آب، شرایط محیطی و همچنین دسترسی به طریق مصرف مواد غذایی طبیعی و دخالت فلور میکروبی دستگاه گوارش قرار دارد (افشار مازندران، ۱۳۸۱). با این حال وجود ویتامین ها در جیره به عنوان یکی از اصلی ترین موارد ضروری است. همچنین دانستن میزان مناسب مصرف آنها با توجه به آثار آنتاگونیستی احتمالی این مواد بر رشد و سیستم ایمنی نیز ضروری است (فراهانی، ۱۳۸۳).

ویتامین C یکی از ویتامین های حساس بوده که دارای نقش های متابولیک متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی و جلوگیری از مرگ و میر، بهبود زخم ها، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولیدمثل می باشد (Dabrowski and Ciereszko, 2001).

ویتامین E نیز از ویتامین های محلول در چربی است که نام شیمیایی آن توکوفرول میباشد که شامل آلفا، بتا، گاما و لاندا میباشد (Traber and Atkinson, 2007). جذب این ویتامین در روده انجام می گیرد و برای جذب مناسب آن بایستی صفرا و چربی حضور داشته باشند. این ویتامین دارای اثرات آنتی اکسیدانی همانند ویتامین C نیز می باشد (Traber and Atkinson, 2007).

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) جمله ماهیان مهاجر رودرو (آنادرموس) دریای خزر می باشد که از ارزش اقتصادی و مقبولیت ویژه برخوردار است (کازانچف، ۱۳۷۱). این گونه اگرچه غذاگیری و رشد کندتری نسبت به قزل آلی رنگین کمان دارد لیکن به لحاظ بازاریابی و شکل ظاهری و همچنین طعم گوشت نسبت به قزل آلی رنگین کمان ارجح بوده و با وجود گرانی قیمت، در بازار مشتریان خاص خود را دارا می باشد.

پس از سال ۲۷ - ۱۳۲۶ هجری شمسی صید این ماهی کاهش یافت، بطوریکه از حدود ۱۶/۵ تن به حدود ۳/۷ تن در فصل صید ۸۳-۱۳۸۲ رسید، که نسبت به سال های گذشته کاهش چشمگیری را نشان می دهد، هرچند در برخی از سال ها این ماهی در آمار صید مشاهده نمی شود (عبدالملکی و صیادبورانی، ۱۳۸۳). همچنین بر اساس مطالعات غنی نژاد و همکاران (۱۳۸۱)، متوسط طول و وزن این ماهی (حاصل از صید تجاری) طی سالهای اخیر در مقایسه با دهه های گذشته کاهش یافته و متوسط وزن از حدود ۵ کیلوگرم در سال ۱۳۲۶ به حدود ۲/۵ کیلوگرم در سال ۱۳۸۰ رسیده است. این مساله تلاشهایی به جهت بازسازی ذخائر ماهی آزاد را در دریای خزر به همراه داشته است.

کاهش ذخایر ماهی آزاد دریای خزر به عنوان یکی از گونه های تجاری، با ارزش منجر به تکثیر مصنوعی و رها سازی بچه ماهی در دریای خزر به جهت بازسازی ذخایر این گونه شده است. هر ساله سازمان شیلات ایران چند صد هزار بچه ماهی آزاد دریای خزر را به رودخانه های منتهی به دریای خزر (محل اصلی مهاجرت ماهی) رها سازی می نماید. این تولید و رها سازی بچه ماهی امکان پرورش این گونه با ارزش را در سیستم های پرورشی سرد آبی کشور فراهم کرده است.

کشور ایران در حال حاضر بزرگترین تولید کننده ماهی قزل آلا در جهان است (Adeli and Baghaei, 2013). ماهی آزاد دریای خزر به عنوان یک گونه بومی می تواند در سیستم پرورش سرد آبی کشور وارد شده و علاوه بر سود آوری بیشتر برای پرورش دهندگان تنوع تولید و رونق هرچه بیشتر این صنعت را نیز به همراه داشته باشد. برای نیل به این هدف یکی از مراحل مقدماتی تامین

برگشتی سیستم جهت نگه داری استفاده گردید. همچنین دمای آب در طول آزمایش ۱۷/۱ درجه سانتیگراد تثبیت گردید. pH متوسط نیز برابر ۶/۹ و اکسیژن متوسط نیز برابر ۷/۱ تثبیت شد.

در این تحقیق از ۳۰۰ عدد بچه ماهی آزاد دریای خزر با وزن متوسط ۳۵ گرم در ۳۰ پلات آزمایش استفاده گردید. نمونه ها از مرکز تحقیقات ماهیان سرد آبی (دو هزار) اخذ گردیدند. در مرحله بعد پس از انتقال به بخش آزمایش و سپری شدن زمان از بین رفتن استرس حمل، از نظر قد و وزن متوسط همسانه سازی گردیده و به مخازن آزمایش منتقل شدند.

هر یک از حوضچه ها به صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز بوده تا سطح اکسیژن آب در حد استاندارد قرار گیرد. پارامترهای کیفی آب مثل دما، pH و اکسیژن محلول آب توسط دستگاه EUTECH مدل DO6 به صورت روزانه اندازه گیری و ثبت شد تا تمامی این پارامترها در دامنه بهینه قرار گیرند.

بعد از تمیز کردن و آبگیری حوضچه ها، بچه ماهیان با وزن اولیه ۳۵ گرم را وارد حوضچه های بتونی نموده تا ماهی ها ۲۴ ساعت با شرایط محیط پرورش جدید سازش یابند، سپس غذا دهی با تیمارهای جدید آغاز گردید. در طول دوره مطالعه از خوراک اکسترود رشد ۲ (EX-TG2) شرکت تعاونی ۲۱ بیضاء استفاده شد. مشخصات فیزیکی و آنالیز غذای مصرفی در جدول ۱ نشان داده شده است.

تاکنون مطالعات مختلفی رایج به اثرات ویتامین های مذکور در آزاد ماهیان صورت گرفته است. ولی هیچ گونه مطالعه ای راجع به اثرهای این ویتامین ها در کنار یکدیگر انجام نگرفته است. به عبارت ساده تر آثار متقابل ویتامین C و ویتامین E در آبزیان و خصوصا آزاد ماهیان مشخص نیست.

این پژوهش با هدف تعیین اثر ویتامین C و ویتامین E بر رشد و بقای بچه ماهی آزاد دریای خزر و همچنین تعیین اثر این دو ماده بر فاکتورهای رشد و هماتولوژی بچه ماهی طراحی گردید. هدف نهایی این بررسی تعیین مناسب ترین غلظت بین این دو ماده جهت استفاده در رژیم غذایی بچه ماهی آزاد دریای خزر بود. همچنین هدف کاربردی ارائه مناسب ترین ترکیب ویتامین C و E جهت استفاده در جیره ماهی آزاد دریای خزر بوده است.

## مواد و روشها

این پروژه به مدت ۸ هفته در یک مزرعه خصوصی مداربسته پرورش ماهی قزل آلا در استان زنجان-روستای کوشکن انجام گرفت. مخازن نگه داری استخرهای بتنی پرورش بچه ماهی بود که به سیستم دستگاه مخلوط کننده آب و اکسیژن، پمپ برگشت آب، سنسور کنترل سطح آب؛ سیستم خنک کننده آب، حوضچه های ته نشینی فضولات و سیستم هشدار مجهز گردید. میزان آب ورودی تازه ۱/۱ لیتر در ثانیه و ۲۰ لیتر در ثانیه نیز آب

جدول ۱: آنالیز خوراک استفاده شده جهت تغذیه بچه ماهی های مورد بررسی

مواد مغذی	قطر خوراک ماهی (mm)	وزن پروتئین خام (حداقل)	چربی خام.٪ (حداقل)	انرژی قابل هضم (Kcal/Kg)	فیبر خام (حد اکثر)	فسفر قابل جذب.٪ (حداکثر)	رطوبت.٪ (حداکثر)
نوع خوراک	علامت اختصاری	۴۴	۱۴/۵	۴۳۰۰	۲/۲	۰/۸	۱۰
رشد دو	Ex-TG ۲	-۷۵	۲۵				

ویتامین C در 40 ویتامین E (300 ویتامین C در ۲۰ ویتامین E) (300 ویتامین C در 30 ویتامین E) (۱۰۰ ویتامین C در 40 ویتامین E) (0 ویتامین C در 0 ویتامین E) که به ترتیب تیمار ۱ تا ۱۰ نام گذاری شدند. ویتامین E مورد استفاده dl-آلفا توکوفرول استات، محصول شرکت D,S,M سوئیس بود. همچنین ویتامین C مورد استفاده نیز از نوع ال - اسکوربیل ۲ - پلی

تیمارها با استفاده از مقادیر متفاوت ویتامین C و E در جیره انجام پذیرفت. این مقادیر در تیمارهای مختلف عبارت بودند از (۱۰۰ ویتامین C در ۲۰ ویتامین E) (۱۰۰ ویتامین C در 30 ویتامین E) (۱۰۰ ویتامین C در 40 ویتامین E) (200 ویتامین C در ۲۰ ویتامین E) (200 ویتامین C در 30 ویتامین E) (200

تیوبهای اپندروف غیر هپارینه شماره گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای ایمنی بر روی یخ منتقل شد. جهت انجام مطالعات سرولوژی خون غیر هپارینه توسط سانتریفوژ (مدل Labofuge ساخت شرکت Heraeus Sepatch آلمان با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم جدا سازی شد. اندازه گیری کلیه شاخص های خونی و ایمنی در آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی انجام گرفت. جهت شمارش افتراقی گلبولهای سفید و قرمز از لام ملانژور استفاده گردید (حقیقی، ۱۳۸۸). همچنین جهت تعیین میزان هماتوکریت نیز از سانتریفوژ لوله مویین و تعیین نسبت گلبولهای قرمز به کل خون داخل لوله مویین استفاده شد. اندازه گیری هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین به علت دقت، راحتی انجام کار و سهولت دسترسی به محلول استاندارد پایدار انجام گرفت (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

جهت اندازه گیری ایمونوگلوبولین و لیزوزیم نیز از روش ایمونوتوربیدی متری (Immunoturbidimetric) و دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده گردید (Silva et al., 2009). علاوه بر این غلظت ایمونوگلوبولین کل مطابق با روش شرح داده شده توسط Siwicki و Anderson در سال ۱۹۹۳ و Amar و همکاران در سال ۲۰۰۰ اندازه گیری شد.

داده ها ابتدا جهت اطمینان از نرمال بودن با آزمون (Shapiro-wilk) بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده های مورد بررسی با استفاده از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه (Two way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ ابتدا اختلاف کلی بین میانگینها مشخص و سپس با آزمون توکی (Tukey) گروهها از یکدیگر تفکیک گردیدند. در شرایطی که داده ها نرمال نبودند نیز از آزمون کروسکال-والیس استفاده شد.

## نتایج

نتایج این بررسی در جدول ۲ و نمودارهای ۱ تا ۸ نشان داده شده است. بیشترین افزایش وزن بدن و کمترین ضریب تبدیل در سه گروه ۷ و ۸ و ۹ تیماری بوده است. در این گروهها میزان ویتامین C در بیشینه بوده ولی در میزان ویتامین E تفاوت مشاهده می گردد. در این بین تیمار ۹ با بیشینه میزان ویتامین C و E بالاترین ضریب رشد و درصد افزایش وزن بدن و نیز بیشتری میزان رشد روزانه را داشته است. در تمامی موارد

فسفات بوده است. برای مخلوط کردن ویتامین E با جیره به دلیل ساختار روغنی آن از روغن استفاده نگردید، اما برای اضافه کردن ویتامین C به جیره از روغن کانولا استفاده شد. روش مخلوط کردن جیره با ویتامین بر اساس روش روغن پوش سازی (oil coating) بود (Treves-Brown, 2000)

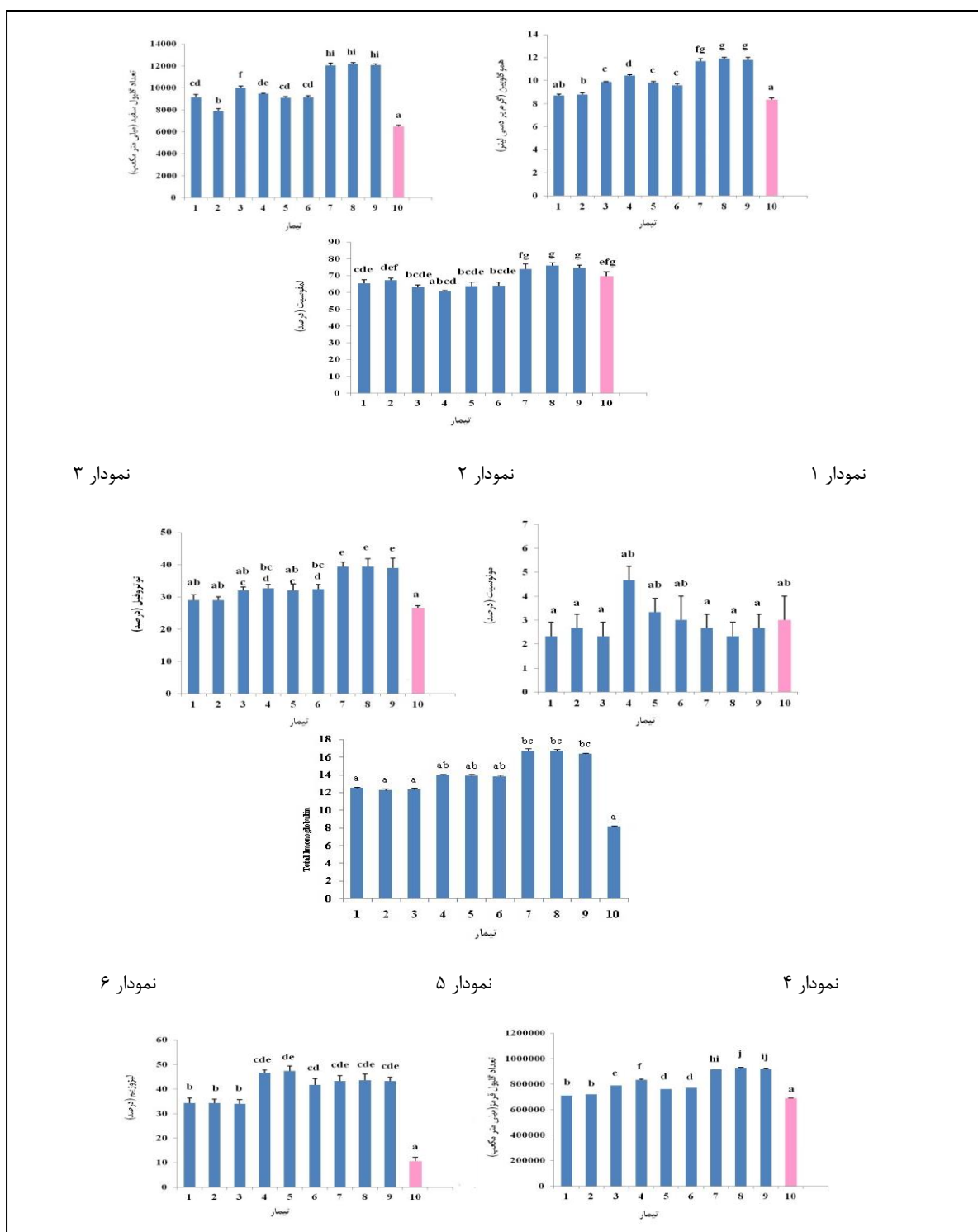
غذا دهی به میزان ۳٪ وزن بیومس، بصورت دستی و در سه نوبت (در ساعات ۷، ۱۲ و ۱۸) انجام گردید. غذای ماهیان بر اساس شماره هر تیمار در ظروف جداگانه و مخصوص نگهداری می شد و هنگام غذادهی با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شده و در سطح مخازن توزیع می گردید. آب تانک ها جهت حذف فضولات از محیط پرورش به حوضچه های ته نشینی فضولات هدایت می شد.

بیومتری دوره ای در طول آزمایش هر ماه یک مرتبه با قطع غذا دهی ۲۴ ساعت قبل از نمونه برداری انجام شد. از هر تکرار تعداد ۵ عدد بچه ماهی جهت زیست سنجی به صورت تصادفی انتخاب شدند، سپس توسط عصاره پودر میخک با مقدار ppm100 بیهوش شده و با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند. اندازه گیری طول نیز با تخته بیومتری انجام شد (وئوقی و مستجیر، ۱۳۸۱). غذای مورد نیاز در هر روز با توجه به وزن توده زنده در مقاطع زمانی معین (پس از هر بار زیست سنجی) با استفاده از جداول تغذیه ای مربوطه برحسب وزن بدن (سالک یوسفی، ۱۳۷۹) تعیین و با ترازوی دیجیتالی با دقت (۰/۰۰۱ گرم) توزین و مورد تغذیه ماهیان قرار گرفت.

با توجه به مقادیر طول و وزن ماهیان در بیومتری های انجام شده برای بررسی روند رشد ماهیان در تیمارهای مختلف از شاخص های رشد استفاده گردید (بیسواس، ۱۳۸۱). ضریب رشد ویژه، ضریب تبدیل و افزایش وزن شاخصهای رشد مورد استفاده بودند که بر اساس فرمول ارائه شده توسط بیسواس (۱۳۸۱) محاسبه گردیدند.

بعد از مدت ۸ هفته پرورش و گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه ماهیان صید شده و عملیات خونگیری از سیاهرگ دمی (Caudalvein) واقع در پشت باله مخرجی ماهیان آزاد پرورشی صورت گرفت. بعد از گرفتن 2 cc خون توسط سرنگ از ساقه دمی این ماهیان، 0.5 cc خون به داخل تیوبهای اپندروف آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) شماره گذاری شده جهت انجام مطالعات فاکتورهای خونی ریخته و 1.5 cc باقیمانده به داخل

تیماز شاهد (۱۰) که فاقد ویتامین C و E در جیره بود ضعیف ترین نتایج را نشان داد.



نمودار ۱: درصد متوسط لنفوسیت ها، نمودار ۲: متوسط هموگلوبین در پایان آزمایش ، نمودار ۳: تعداد گلبولهای سفید در نمونه ها، نمودار ۴: میزان ایمنوگلوبولین کل در نمونه های مورد بررسی، نمودار ۵: درصد مونوسیت ها در پایان آزمایش، نمودار ۶: درصد نوتروفیل ها در پایان آزمایش، نمودار ۷: تعداد گلبولهای قرمز در نمونه های مورد بررسی، نمودار ۸: میزان فعالیت آنزیم لیزوزیم در نمونه ها

جدول ۲: پارامترهای رشد، افزایش وزن و درصد هماتوکریت در خون نمونه های مورد بررسی، میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
پارامتر										
FCR	۱/۵۴±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۱/۴۶±۰/۰۴ <sup>bd</sup>	۱/۴۴±۰/۰۲ <sup>bd</sup>	۱/۲±۰/۱ <sup>c</sup>	۱/۲۸±۰/۰۱ <sup>ce</sup>	۱/۲۴±۰/۰۳ <sup>ce</sup>	۱/۱۸±۰/۰۱ <sup>e</sup>	۱/۰۷±۰/۰۴ <sup>f</sup>	۱/۱۲±۰/۰۲ <sup>f</sup>	۱/۸۹±۰/۰۳ <sup>a</sup>
وزن	۷۰/۳۵±۱/۷۸ <sup>h</sup>	۸۵/۴۶±۱/۴۴ <sup>ef</sup>	۷۴/۲۴±۲/۶۳ <sup>ef</sup>	۹۴/۱۶±۶/۸۲ <sup>de</sup>	۱۰۷±۵/۸۶ <sup>d</sup>	۹۵/۰۳±۱/۲ <sup>de</sup>	۱۴۴/۶۴±۵/۲ <sup>b</sup>	۱۲۶/۲۹±۱/۲ <sup>f</sup>	۱۸۴±۷/۹ <sup>a</sup>	۲۴/۲±۰/۰۲ <sup>h</sup>
بازماندگی	۸۲/۳±۵/۷ <sup>a</sup>	۷۰±۱ <sup>a</sup>	۸۲/۳±۱۱/۵ <sup>a</sup>	۸۰±۰ <sup>a</sup>	۶۶/۶±۵/۷ <sup>ab</sup>	۷۰±۱ <sup>a</sup>	۷۲/۳±۱۱/۵ <sup>a</sup>	۸۲/۳±۱۱/۵ <sup>a</sup>	۷۰±۰ <sup>a</sup>	۴۲/۳±۵/۷ <sup>b</sup>
SGR	۰/۵±۰/۰ <sup>f</sup>	۰/۵±۰/۰ <sup>ef</sup>	۰/۰۵±۰/۰ <sup>ef</sup>	۰/۶±۰/۰ <sup>ef</sup>	۰/۶±۰/۰ <sup>d</sup>	۰/۶±۰ <sup>de</sup>	۰/۸±۰/۰ <sup>b</sup>	۰/۷±۰ <sup>c</sup>	۰/۹±۰/۰ <sup>a</sup>	۰/۷±۰ <sup>e</sup>
هماتوکریت	۲۴/۶±۱/۵ <sup>c</sup>	۲۵/۲±۱/۵ <sup>c</sup>	۲۹/۶±۱/۵ <sup>b</sup>	۴۱±۱ <sup>b</sup>	۴۰/۶±۱/۵ <sup>b</sup>	۴۰/۶±۱/۵ <sup>b</sup>	۴۵±۱ <sup>ab</sup>	۴۷±۲ <sup>a</sup>	۴۶±۱ <sup>ab</sup>	۳۲±۱ <sup>d</sup>

میزان باز ماندگی در گروههای آزمایشی اختلاف چندانی نشان نمی دهد. تنها مورد اختلاف گروه ۵ با میزان ویتامین C ۲۰۰ و ویتامین E ۲۰ بود که به طرز معنا داری بازماندگی آن کمتر بود. در سایر گروهها درصد بازماندگی در حدود ۸۰٪ بود. نمودارهای ۱ تا ۸ نتایج آنالیزهای هماتولوژی را در نمونه های ماهی آزاد دریای خزر نشان می دهد. همانگونه میزان گلبولهای سفید خون در سه تیمار ۷ و ۸ و ۹ به طور میانگین بالاتر از سایر تیمارهاست (df=۲/۱۱, p<0.05). این میزان در تیمار شاهد (فاقد ویتامین C و E) در کمینه مقدار قرار داشت. میزان هموگلوبین و گلبول قرمز نیز در گروههای آزمایشی در گروه ۷ و ۸ و ۹ در بیشینه مقدار قرار داشت (نمودارهای ۲ و ۷, df=۳/۱۱, p<0.05). البته نتایج آزمون توکی نشان داد که بین این سه گروه (۷ و ۸ و ۹) اختلاف معنی داری وجود ندارد (p>0.05). با این حال کمینه مقدار هموگلوبین و گلبول قرمز در تیمار شاهد مشاهده گردید.

### بحث

تغییرات میزان هماتوکریت و متوسط حجم گلبول قرمز در بین گروههای آزمایشی از روندی بطئی در بین گروههای آزمایشی پیروی می کرد. سه گروه ۷ و ۸ و ۹ بیشترین مقدار هماتوکریت را داشتند. با این حال میزان هموگلوبین در بین گروههای آزمایشی تغییر چندانی نشان نداد (جدول ۲).

میزان نوتروفیل و لنفوسیت در سه گروه تیماری ۷ و ۸ و ۹ به نسبت سایر گروهها به طرز معنی داری بالاتر بود (نمودارهای ۱ و ۶, df=۴/۲۳, p<0.05). این مساله در حالی مشاهده گردید که میزان منوسیت این سه گروه به طرز معنی داری کمتر بود (نمودار ۱۰, p<0.05).

میزان باز ماندگی در سه تیمار ۷ و ۸ و ۹ به نسبت سایر تیمارها کمتر بود. در تیمار ۷ و ۸ و ۹ میزان بازماندگی به طرز معنی داری کمتر بود (نمودار ۳ و ۴, p<0.05). این مساله در حالی مشاهده گردید که میزان منوسیت این سه گروه به طرز معنی داری کمتر بود (نمودار ۱۰, p<0.05).

سفید می شوند بلکه بر سایر پارامترهای خونی نیز تاثیر دارند (Silva et al., 2009). در این بررسی عامل عفونت و استرس وجود نداشت بنا بر این تغییر میزان گلبولهای سفید بیانگر تحریک سیستم ایمنی بوده است. تحقیقات پیشین نشان داده است که افزایش ویتامین C باعث بالا رفتن ایمنی عمومی بدن ماهی می شود (Hardie et al., 1991). از این منظر بالا رفتن این پارامتر در تیمارهای با غلظت بالاتر ویتامین C از این منظر قابل توجه است. همانگونه که در تحقیقات پیشین نیز نشان داده شده است ویتامینهای محلول در چربی تنها در غلظت های معینی دارای اثر مثبت هستند و بالا رفتن غلظت بیش از حد مطلوب اثر آنتاگونیستی بر سلامت ماهی دارد (Kiron, 2012). در این بررسی نیز با افزایش میزان ویتامین E در جیره (بدون ویتامین C) از میزان افزایش گلبولهای سفید کاسته شده است.

علاوه بر این یک سیر افزایش بطئی در میزان گلبولهای سفید توام با افزایش ویتامین C مشاهده می گردد. این مساله بیانگر اثر بخشی بیشتر ویتامین C در تحریک سیستم ایمنی ماهی آزاد است. این مساله با نتایج قبلی که در آزاد ماهیان انجام شده است همخوانی دارد (Verlhac et al., 1998). البته در این مورد افزایش ویتامین C در حضور ویتامین E اثر بیشتری داشته است.

با توجه به بالاتر بودن میزان گلبولهای سفید در تیمارهای ۷ و ۸ و ۹ به نسبت سایر گروهها می توان اثر متقابل میان دو عامل متغیر یعنی ویتامین C و ویتامین E را مشاهده نمود. از این منظر با افزایش ویتامین C سیر بطئی افزایش گلبولهای سفید در کلیه تیمارها مشاهده می گردد، اما این سیر در مورد ویتامین E کامل نیست. این مساله نیز احتمالاً بدلیل تاثیر وابسته به غلظت اپتیمم ویتامین E در مقایسه با ویتامین C می باشد.

همانگونه که در نمودار ۶ نشان داده شده است یک افزایش بطئی در میزان گلبولهای قرمز و هموگلوبین با افزایش میزان ویتامین C در تیمارها مشاهده می گردد. آنچه مسلم است افزایش میزان گلبولهای قرمز و هموگلوبین با توجه به نقش آنها در انتقال اکسیژن به معنی بهبود شرایط زیستی، افزایش پتانسیل مقاومت زیستی و تحریک بهتر سیستم ایمنی است. میزان گلبولهای قرمز و هموگلوبین نیز در سه تیمار ۷ و ۸ و ۹ به طرز معنا داری به نسبت سایر تیمارها بالاتر بود. تیمار ۸ و ۹ نیز به نسبت تیمار ۷ افزایش بیشتری را نشان می دادند. این مساله بیانگر اثر گذاری بهتر غلظت بالاتر ویتامین E در افزایش این پارامتر بوده است. بنا بر این با

وزن متوسط و بهبود شاخصهای وزنی SGR و FCR و PER بین دوزهای ۰ با ۲۰۰ و ۸۰۰ اختلاف معنی داری مشاهده کرد. در این بررسی نیز همانگونه که مشاهده گردید افزایش بطئی و معنی داری در افزایش وزن بدن نمونه ها توام با افزایش میزان ویتامین C مشاهده گردید. با این حال در مطالعه مذکور ویتامین E و اثر سینرژتیک آن مطالعه نگردید. اما در این بررسی از این منظر اثر متقابل میان ویتامین C و E مشاهده گردید.

از دیرباز اثبات گردیده است که ویتامین های محلول در آب همانند ویتامین C در بدن قابلیت ذخیره ندارند و در مقادیر بالاتر اثر بهتری از خود نشان می دهند (Halver, 1980). هرچند در این بررسی بهبود شاخصهای رشد توام با افزایش مقدار ویتامین C در جیره مشاهده شد اما این بهبود کیفیت رشد بیشتر در گروههایی مشاهده گردید که درصد کمی ویتامین E نیز وجود داشت. این مساله احتمالاً بدلیل اثر سینرژتیک این دوماه با یکدیگر بوده است. البته عملکرد بهتر ویتامین C ارتباط چندانی با تفاوت مقدار ویتامین E نشان نداد که خود بیانگر تاثیر کمتر ویتامین E توام با افزایش مقدار در جیره می باشد. اثر متقابل سینرژتیک ویتامین C و E در کنار یکدیگر پیش از این نیز مشاهده شده است (Wahli et al., 1998).

درصد بازماندگی در تیمار شماره ۱۰ (فاقد ویتامین) از بقیه تیمارها کمتر بود. این مساله بدلیل نقش مهم تغذیه ای ویتامین C و E در جیره ماهی آزاد دریای خزر بوده است. به عبارت دیگر عدم استفاده از این دو ماده در جیره ماهی آزاد دریای خزر منجر به کاهش قدرت مقاومت ماهی نسبت به استرسورهای مختلف محیطی و در نتیجه کاهش بازماندگی می شود. با استفاده از آنتی اکسیدانت هایی همانند ویتامین C و E بازماندگی و مقاومت ماهی نسبت به بیماریها افزایش می یابد (Wahli et al., 1998). این مساله احتمالاً بدلیل نقش این دو ویتامین در تعدیل استرس اکسیداتیو در سطح سلولی است (Vajdovich, 2011).

در این بررسی نشان داده شد که در سه تیمار ۷ و ۸ و ۹ میزان گلبولهای سفید به طرز معنا داری بالاتر است. این سه تیمار از نظر میزان ویتامین C در بالاترین حد ممکن قرار داشتند در حالی که میزان ویتامین E در آنها اختلاف داشت. بالا رفتن میزان گلبولهای سفید خون می تواند ناشی از سه مساله باشد. یکی القای شرایط استرسی بر ماهی و دیگری تحریک سیستم ایمنی و عفونت. از این نظر این عوامل نه تنها باعث بالا رفتن میزان گلبولهای

می باشد. البته بالاتر بودن این پارامتر در گروههای بیماری ۷ و ۸ و ۹ نیز مجدداً مشهود است. در بررسیهایی که پیش از این توسط محققین به عمل آمد نشان داده شده است که میزان RBC و هماتوکریت در صورت عدم حضور ویتامین C در جیره کاهش می یابد (Smith and Halver, 1969). در این بررسی نیز افزایش این دو پارامتر در کنار یکدیگر توأم با تیمار بوسیله ویتامین C و E مشاهده گردید. با این حال هماتوکریت بیشتر در زمان استرس تغییر می کند (Iwama et al., 1989). در این بررسی نیز این تغییرات سیر محدودی را طی نموده بود. در تحقیقات دیگر در این زمینه نیز وضع به همین منوال بوده است. برای نمونه در گربه ماهی روگای تیمار شده به وسیله ویتامین C و E نیز تغییرات هماتوکریت بسیار بطئی و محدود بوده است (Yildirim-Aksoy et al., 2008).

در بین گروههای مورد بررسی سه گروه ۷ و ۸ و ۹ از بالاترین میزان نوتروفیل برخوردار بودند. البته میزان لنفوسیت و منوسیت در بین گروههای مورد بررسی تغییر چندانی نداشت. درصد نوتروفیل ها به عنوان یک شاخص ایمنی عمومی در شرایط عادی و در پاسخ به یک محرک سیستم ایمنی افزایش می یابد اما میزان لنفوسیت و منوسیت و نیز ائوزینوفیل در موارد آلودگی با یک پاتوژن خاص افزایش می یابد. افزایش نوتروفیل، لنفوسیت و منوسیت در گروههای ۷ و ۸ و ۹ بیانگر اثرگذاری بیشتر ویتامین C در تحریک سیستم ایمنی ماهی بوده است. به عبارت دیگر در طی آزمایش با افزایش ویتامین C در تیمار اثر بخشی آن بیشتر شده است. این پدیده در مورد ویتامین E مشاهده نگردید. بر همین اساس میتوان اذعان داشت که عامل اصلی تحریک سیستم ایمنی عمومی در ماهی آزاد ویتامین C بوده است که نقش بیشتری در مقایسه با ویتامین E داشته است. این مساله با تحقیقات دیگری که در این زمینه انجام شده است نیز همخوانی دارد (de Menezes et al., 2006).

سیر تغییرات در آنزیم لیزوزیم به عنوان یکی از غیر اختصاصی ترین شاخصهای ایمنی بسیار خاص بود. گروه ۱۰ در این بین شاهد منفی مطالعه بود که هیچ ماده تیماری به آن اضافه نشد. از طرف دیگر در گروههای ۳ و ۵ و خصوصاً ۹ این میزان به شدت بالاتر بود. گروه ۹ بالاترین میزان ویتامین C را دارا بود. این مورد بیانگر اثر گذاری بیشتر ویتامین C بر تولید آنزیم لیزوزیم است. در بسیاری از مطالعات ویتامین C دارای خواص در مانی ثبت

توجه به پارامتر گلبول قرمز می توان نقش ویتامین E را در تحریک سیستم ایمنی بیشتر از ویتامین C دانست. علاوه بر این با توجه به نقش آنتی اکسیدانی که برای این دو ویتامین در نظر گرفته شده است می توان اذعان داشت که این نقش در ویتامین C پر رنگ تر است. البته این نتایج تنها با در نظر گرفتن پارامترهای موثر در تحریک سیستم ایمنی می باشد. با توجه به نقش ویتامین E در کنترل استرس اکسیداتیو و تعدیل اثرات آن، پدیده ای که در عفونت و استرس عمومی دیده می شود (Vajdovich, 2011)، احتمالاً در زمان بروز بیماری اثر ویتامین E در کنار ویتامین C مشهود تر خواهد بود.

افزایش میزان گلبولهای قرمز و هموگلوبین توأم با افزایش میزان ویتامین E پدیده ای است که در تحقیقات دیگری نیز مشاهده شده است. در تحقیقاتی که توسط Wise و همکاران (۱۹۹۳) انجام شد این پدیده در گربه ماهی روگای نیز مشاهده گردید. همچنین تغییر گلبولهای قرمز و بالارفتن آنها در تیمار بوسیله ویتامین C نیز قبلاً مشاهده شده است (Hardie et al., 1991). البته این افزایش میتواند از دو منظر مورد توجه قرار گیرد یکی تاثیر تحریک سیستم ایمنی و استرس. در این بررسی احتمالاً در غلظتهای پایت تر ویتامین E با توجه به عملکرد تیمار در سایر پارامترها این افزایش ناشی از تحریک سیستم ایمنی و بهبود شرایط فیزیولوژیک بوده است اما در مراحل بعدی و توأم با افزایش ویتامین E این افزایش در میزان گلبولهای قرمز را می توان ناشی از استرس دانست. پدیده ای که در تیمار با غلظت های بالاتر از حد مورد نیاز ویتامین E مشاهده می گردد.

همانگونه در داده های مربوط به میزان هماتوکریت نیز مشخص است در گروه شاهد منفی این پارامتر به طرز معنا داری کمتر است. افزایش میزان هماتوکریت هرگاه در شرایط استرس مورد بررسی قرار میگرفت می توانست بیانگر بالاتر بودن شدت استرس در گروه مورد مطالعه باشد. با این حال در این بررسی بدلیل نبود عامل استرس زا و تیمار به وسیله مواد مغذی ضروری با غلظت مختلف در جیره بیانگر بهبود شرایط زیستی ماهی می باشد. با این حال نوسانات این پارامتر در بین گروههای مختلف تیماری به نسبت سایر پارامترها به مراتب کمتر است. این مساله به نحوی است که میان گروههای تیماری ۱ و ۲ در مقایسه با تیمار شاهد عملاً اختلاف معنی داری از نظر این پارامتر مشاهده نگردید. این مورد بیانگر تاثیر پذیری کمتر هماتوکریت از تیمارهای غذایی به نسبت تیمارهای زیستی



گردید. عملکرد بهینه این دو ماده در کنار هم در غلظتهای بالاتر ویتامین C در کنار مقدار کمتر ویتامین E می باشد. با این حال مقدار کمتر ویتامین E به معنی عدم حضور آن نیست.

در این پژوهش در میان سه غلظت ویتامین E در جیره اختلاف چندانی وجود نداشت اما درصد بالاتر ویتامین C در جیره ماهی آزاد هم از نظر تغذیه ای و هم از نظر تحریک سیستم ایمنی آثار بهتری از خود نشان داد. عدم حضور هر یک از این دو ماده نیز در جیره ماهی آزاد نیز به طور کلی حائز آثار منفی و بهترین حالت قرار گرفتن این دو ماده در کنار یکدیگر در جیره ماهی آزاد بود.

## منابع

افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۱. راهنمای علمی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. چاپ سما رنگ. چاپ اول. ۲۱۶ صفحه.

بیسواس، ا.ج. پی.، ۱۳۸۳. مبانی زیست شناسی ماهی، ترجمه افشین عادل، انتشارات نقش مهر. ۱۷۶ صفحه.

حقیقی، م.، ۱۳۸۸. روشهای آزمایشگاهی خون شناسی ماهی، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۸۴ صفحه.

سالک یوسفی، م.، ۱۳۷۹. تغذیه آبزیان پرورشی (ماهیان سرد آبی، ماهیان گرم آبی و میگو). چاپ موسسه تبلیغاتی عاطفه. چاپ اول. ۳۱۹ صفحه.

عبدالملکی، ش. و صیادبورانی، م.، ۱۳۸۳. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۸۳-۱۳۸۲. مرکز تحقیقات ماهیان استخوانی دریای خزر. بندرانزلی. ۱۱۳ صفحه.

غنی نژاد، د.؛ مقیم، م.؛ عبدالملکی ش. و صیادبورانی، م.، ۱۳۸۱. ارزیابی ذخایر ماهیان استخوانی دریای خزر در سال ۷۹-۸۰. پژوهشکده آبروی پروری آبهای داخلی کشور. بندرانزلی. ۹۸ صفحه.

فراهانی، ر.، ۱۳۸۳. راهنمای پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان. انتشارات نقش مهر. چاپ اول. ۱۵۸ صفحه.

فلاحکار، ب.؛ سلطانی، م.؛ ابطحی، ب.؛ کلباسی، م.؛ پورکاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵. تأثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. ۱۰۳-۹۸، ۷۲. گازانچف، ا. ان.، ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوضه آبریز آن، ترجمه ابوالقاسم شریعتی، انتشارات شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۷۱ صفحه. وثوقی، غ. و

شده جهت بسیاری از بیماریها بوده است. این مساله افزون بر تاثیر این ماده بر استرس اکسیداتیو و اثر آنتی اکسیدانی آن است. افزایش میزان آنزیم لیزوزیم احتمالا یکی از دلایل همین آثار درمانی است. از طرف دیگر این افزایش در صورت وجود ویتامین E در تیمار به شکل معنا داری کمتر بوده است. شاهد این مدعا افزایش معنا داری لیزوزیم در گروه ۷ و ۹ می باشد. در این گروه ویتامین C در بالاترین حد بود و ویتامین E تغییر می کرد. با این حال روند افزایشی در میزان آنزیم لیزوزیم در این گروهها مشاهده نشد.

این نتایج را می توان با نتایج سایر دانشمندان منطبق دانست. Verlhac و همکاران (۱۹۹۸) مقدار فعالیت لیزوزیم را با مصرف ویتامین C در ماهی مرتبط دانستند. البته این آثار برای ویتامین E بسیار کمتر بوده است . Jeney و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی اثر دوزهای مختلف ویتامین C در تاس ماهی هیبرید (*A. ruthenus*) (*A. baeri*) با وزن متوسط ۱۲-۱۰ گرم و در دمای ۲۳-۲۲ درجه سانتی گراد به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سطح ۱۰۰ و ۱۰۰۰ mg/kg ویتامین C با میانگین ( $\pm$ SD)  $2/05 \pm$  و  $10/89 \pm$  و دوزهای ۱۰ و صفر که به ترتیب  $0/6 \pm$  و  $3/1 \pm$   $2/0$  میکرو گرم بر میلی گرم بودند اختلاف معنی داری را نشان می دهند. بدین دلیل آنها پیشنهاد نمودند که ویتامین C بطور خارجی (تغذیه) ممکن است برخی موارد مثبت را در مراحل اولیه رشد ماهیان خاویاری بوجود آورد. بنا براین ویتامین C تاثیر مثبتی بر فعالیت لیزوزیم سرم خون ماهیها دارد. البته این آثار برای ویتامین E بسیار کمتر بوده است.

با توجه به این مطالعه نیز می توان بیان نمود که شاخص ایمنی تاثیر پذیری بیشتری از ویتامین C دارد. این اثر پذیری از ویتامین E به شدت کمتر است. با این حال با در نظر گرفتن شاخصهای بیولوژیک و تغذیه ای در کنار شاخصهای ایمنی اثر ویتامین C در کنار ویتامین E سینرژتیک می باشد. به عبارت دیگر در زمانی که از ویتامین C در کنار ویتامین E حضور داشته باشد تاثیر بسیار کاملتری بر سیستم ایمنی و شرایط بیولوژیک و فیزیولوژیک ماهی دارد. با این حال به نظر می رسد تاثیر غلظت های بالاتر ویتامین C در کنار غلظت های کمتر ویتامین E در بهترین حد ممکن می باشد. از طرف دیگر در برخی موارد بین غلظتهای بالاتر ویتامین E و غلظت بالای ویتامین C تا حدی نیز اثر آنتاگونیستی مشاهده

- sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* × *A. baerii*. Journal of Applied Ichthyology 18, 416-419.
- Kiron, V., 2012.** Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Animal Feed Science and Technology 173, 111-133.
- Silva, B.C., Martins, M.L., Jatobá, A., Buglione Neto, C.C., Vieira, F.N., Pereira, G.V., Jerônimo, G.T., Seiffert, W.Q., Mouriño, J.L.P., 2009.** Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. Pesquisa Veterinária Brasileira 29, 874-880.
- Smith, C.E., Halver, J.E., 1969.** Folic acid anemia in coho salmon. Journal of the Fisheries Board of Canada 26, 111-114.
- Traber, M.G., Atkinson, J., 2007.** Vitamin E, antioxidant and nothing more. Free Radical Biology and Medicine 43, 4-15.
- Treves-Brown, K., 2000.** Methods of drug administration. Applied Fish Pharmacology. Springer, pp. 1-15.
- Vajdovich, P., 2011.** Studies on veterinary medicine. Springer.
- Verlhac, V., Obach, A., Gabaudan, J., SCHÜEP, W., HOLE, R., 1998.** Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (< i> Oncorhynchus mykiss</i>). Fish & Shellfish Immunology 8, 409-424.
- Wahli, T., Verlhac, V., Gabaudan, J., Schuep, W., Meier, W., 1998.** Influence of combined vitamins C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum). Journal of Fish diseases, 21, 127-138
- Wise, D., Tomasso, J., Gatlin III, D., Bai, S., Blazer, V., 1993.** Effects of dietary مستجیر، ب.، ۱۳۸۱. ماهیان آب شیرین. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۳۱۷ صفحه.
- Adeli, A., Baghaei, F., 2013.** Production and Supply of Rainbow Trout in Iran and the world. World. 5, 335-341.
- Dabrowski, K. and Ciereszko, A., 2001.** Ascorbic acid and reproduction in fish: Endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture Research, 32, 623-638.
- de Menezes, G.C., Tavares-Dias, M., Ono, E.A., de Andrade, J.I.A., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., Marcon, J.L. and Affonso, E.G., 2006.** The influence of dietary vitamin C and E supplementation on the physiological response of pirarucu, *Arapaima gigas*, in net culture. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 145, 274-279.
- Halver, J.E., 1957.** Nutrition of Salmonoid fishes III. Water-soluble vitamin requirements of chinook salmon. The Journal of Nutrition, 62, 225-243.
- Halver, J.E., 1980.** Vitamin requirements of finfish [Deficiency symptoms]. Nutrition and food science; present knowledge and utilization 2.
- Hardie, E., Page, R., Williams, P. and Fischer, W., 1991.** Effect of time of cisplatin administration on its toxicity and pharmacokinetics in dogs. American journal of veterinary research, 52, 1821.
- Iwama, G.K., McGeer, J.C. and Pawluk, M.P., 1989.** The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Canadian Journal of Zoology, 67, 2065-2073.
- Jeney, G., Jeney, Z., 2002.** Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in

selenium and vitamin E on red blood cell peroxidation, glutathione peroxidase activity, and macrophage superoxide anion production in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 5, 177-182.

**Yildirim-Aksoy, M., Lim, C., Li, M.H. and Klesius, P.H., 2008.** Interaction between dietary levels of vitamins C and E on growth and immune responses in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquaculture Research*, 39, 1198-1209.

## The effect of vitamin C and E supplement in diet on the growth and immunological parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*)

Sayad Burani M. <sup>(1)</sup>; Khara H. <sup>(2)\*</sup>; Sayad Burani M. <sup>(3)</sup>; Fakharzadeh S.E. <sup>(3)</sup>

\* h\_khara1974@yahoo.com

- 1- Fisheries Office, Zanjan Province
- 2- Fisheries Department , Islamic Azad University, Lahidjan Branch
- 3- Cold Waters Fishes Research Center-Tonekabon

**Key Words:** Caspian Salmon, Vitamin C, Vitamin E, hematologic parameters, Immunological parameters

### Abstract

This study was performed in order to investigate the importance of vitamin C and E in diet. In this study the effect of vitamin C and E supplement in diet on hematological and growth parameters of Caspian salmon have been investigated. Samples were Caspian Salmon juveniles ( $35 \pm 0.24$  gr) which feed by extrude growing diet (EX-TG2) by different concentrations of vitamin C and E simultaneously. Different treatments (1 to 10) used in this study consisted of 100, 200, 300 mg/kg vitamin C by 20, 30, 40 g/kg vitamin E regularly. Last treatment feed with control diet. All fishes daily feed in 3% of their body weight 3 times a day. To investigate the interaction between vitamin C and E, this supplements used simultaneously in diet. Results shown that there is difference between treatments in growth parameters. Also results shown that treatments with higher vitamin C concentration had ore effect on growth and survival parameters significantly ( $p < 0.05$ ). Furthermore control treatment samples had lower growth and survival and higher FCR compare with treatment groups ( $p < 0.05$ ). Also there was significant difference between treatment groups in hematological parameters. WBC and Nutrophil and hematocrit were significantly higher in treatments with higher vitamin C concentrations ( $p < 0.05$ ). But there was not any differences in Lymphocytes and monosites between treatment groups. Total Immunoglobulin and lysosime was higher treatments with higher vitamin C and E ( $p < 0.05$ ). The conclusion of this study have shown that the best dos of vitamin C and E in diet was 300 and 30 mg/kg regularly. Also the results shown that there was an interaction between this two supplements in Caspian Salmon diet.

---

\*Corresponding author