

## اثر تغذیه با جیره های حاوی ویتامین های C و E بر غلبه بر استرس ناشی از تراکم در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان

زینب فضایی<sup>۱</sup>، میرمسعود سجادی<sup>۲\*</sup>، ایمان سوری نژاد<sup>۱</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان

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

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳

### چکیده

تأثیر افزودن ویتامین های C و E در جیره های غذایی به مدت ۶ هفته بر شاخص های خونی بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دو تراکم مختلف پرورش مورد ارزیابی قرار گرفت. بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان با میانگین وزن اولیه  $(9/6 \pm 0/69)$  گرم در دو تراکم ۵۰ و ۱۰۰ قطعه در ۵۰ لیتر با ۳ جیره غذایی با پروتئین و چربی یکسان غذادهی شدند. جیره های غذایی شامل جیره ۱ بدون افزودن ویتامین، جیره ۲ با افزودن  $1500 \text{ mg/kg}$  ویتامین C و جیره ۳ با افزودن  $600 \text{ mg/kg}$  ویتامین E بودند. تعداد  $1350$  عدد بچه ماهی قزل آلاهی رنگین کمان در ۶ تیمار که هر تیمار شامل سه تکرار بود به صورت  $T_{50(0)}$  (با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره ۱)،  $T_{100(0)}$  (با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره ۱)،  $T_{50(C)}$  (با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره ۲)،  $T_{100(C)}$  (با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره ۲)،  $T_{50(E)}$  (با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره ۳) و  $T_{100(E)}$  (با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره ۳) و به طور کاملاً تصادفی توزیع شدند. پس از ۶ هفته غذادهی، میزان هموگلوبین، تعداد گلبول های قرمز خون و میزان سدیم خون در تیمارهای  $T_{100}$  به طور معنی داری بیش از تیمارهای  $T_{50}$  بود ( $P < 0/05$ ). میزان کورتیزول و گلوکز خون نیز در تیمارهای  $T_{100}$  (بیشترین مقدار در  $T_{100(0)}$ ) به طور معنی داری بیش از تیمارهای  $T_{50}$  (بیشترین مقدار در  $T_{50(0)}$ ) بود ( $P < 0/05$ ). تیمارهای  $T_{50}$  میزان آلبومین و پروتئین کل خون بیشتری نسبت به تیمارهای  $T_{100}$  داشتند ( $P < 0/05$ ). از لحاظ تعداد گلبول های سفید خون و میزان پتاسیم خون در تیمارهای مختلف تفاوت معنی دار مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن ویتامین های C و E به جیره غذایی در بالا بردن مقاومت بچه ماهیان در برابر شرایط استرس زای محیطی ناشی از تراکم پرورش مؤثر است.

کلمات کلیدی: قزل آلاهی رنگین کمان، استرس، تغذیه با ویتامین C، شاخص های خونی

## مقدمه

به کار بردن جیره غذایی حاوی ویتامین های C و E می تواند نقش مؤثر و مهمی در کاهش استرس و در نتیجه، کاهش سطح کورتیزول پلازما و اثر تنظیم کنندگی بر آن داشته باشد (Chavez, 1990). تأثیر تراکم بر شاخص های خون شناسی ماهی قزل آلی رنگین کمان توسط وحدتی و همکاران (۱۳۷۹) مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که تراکم بر میزان هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز خون تأثیر معنی داری نداشته است، ولی باعث کاهش تعداد گلبول های سفید خون می شود. در پژوهش دیگری که تأثیر ویتامین های C و E در جیره غذایی ماهی قزل آلی رنگین کمان پرورش یافته در شرایط متراکم مورد مطالعه قرار گرفت، گزارش شد که این ویتامین ها باعث کاهش سطح کورتیزول پلازما در ماهی می شوند (Trenzado et al. 2006). همچنین Navarre و Halver (۱۹۸۹) گزارش کردند که ماهیان قزل آلی رنگین کمانی که از جیره غذایی حاوی ویتامین C استفاده کرده اند، مقاومت بیشتری در برابر استرس از خود نشان می دهند و سطح کورتیزول پلازما در آن ها افزایش پیدا نکرده است. همچنین، میزان پروتئین کل خون و آلبومین تحت تأثیر ویتامین کاهش یا افزایشی نشان نداد. در مطالعه دیگری افزودن ویتامین های C و E در جیره غذایی سبب کاهش سطح کورتیزول و گلوکز خون در ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata* L.) شد (Montero et al. 1999). Misra و همکاران (۲۰۰۶) نیز در ماهی کپور هندی (*Labeo rohita*) گزارش کردند که از لحاظ تعداد گلبول های سفید خون و میزان هموگلوبین تفاوت معنی داری در تیمارهای تغذیه شده با سطح متوسط ویتامین C مشاهده می شود، ولی از لحاظ میزان پروتئین کل خون و آلبومین تفاوت معنی دار آماری بین تیمارها مشاهده نشد. با توجه به توضیحات فوق و لزوم بررسی شرایط موجود در کارگاه های پرورش قزل آلی رنگین کمان در کشور ایران، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر افزودن ویتامین های C و E به جیره غذایی قزل آلی رنگین کمان نگهداری شده در تراکم های مختلف، بر شاخص های خون شناسی این گونه و ارزیابی مقاومت در شرایط استرس ناشی از تراکم پرورش بوده است.

قزل آلی رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* از ماهیان سردآبی و خانواده آزادماهیان می باشد که بومی رودخانه های ساحلی شمال غرب آمریکا است (Sedgwick, 2001). این ماهی در سال ۱۳۳۹ هجری شمسی از طریق اروپا به آبهای شیرین ایران آورده شده و در اثر جابه جایی به طور گسترده ای در ایران پراکنش یافته است. قزل آلی رنگین کمان به دلیل سرعت رشد زیاد و گوشت لذیذ از ارزش اقتصادی بالایی در جهان برخوردار است. برای افزایش تولید در واحد سطح و استفاده هر چه بیشتر از آب و فضای در دسترس روش های مختلفی ابداع شده است که این امر در نهایت منجر به افزایش تولید پروتئین با کیفیت مطلوب و نیز سودآوری بیشتر برای تولیدکننده خواهد شد (علامه، ۱۳۸۳). از آنجا که هدف صنعت آبی پروری بهینه کردن رشد و تولید ماهی بیشتر با کیفیت بالا است، پرورش ماهی به صورت متراکم یک راهکار مناسب و مهم است، اما پرورش ماهی به صورت متراکم زمانی می تواند اقتصادی باشد که ماهی از سرعت رشد مناسب و میزان بقای بالایی برخوردار باشد تا بتواند هزینه های مصرفی را جبران کند. تأثیر سوء عوامل استرس زا در ماهیان بیشتر از موجودات خونگرم است (Gabaudan and Verlhac, 1992). بنابراین برای پیشگیری از خسارت های اقتصادی و تاثیر نامطلوبی که احتمالاً شرایط محیطی در اثر تراکم بالای ماهیان بر ساختار فیزیولوژیک ماهی وارد می کند نیاز به مدیریت علمی، کنترل کیفی آب و جلوگیری از بروز بیماری ها و مقاومت در برابر آن ها از طریق تقویت سازوکارهای دفاعی بدن امری ضروری است (Barton and Jwama, 1991). کیفیت غذا عاملی مهم در نگهداری سلامت ماهی است، ولی در عین حال، تقویت سلامت ماهی نیاز به افزایش سازوکارهای دفاعی بر علیه عوامل بیماری زا دارد.

ویتامین ها و مواد معدنی برای ارتقای سلامتی در رژیم غذایی ماهیان پرورشی که تراکم بالایی دارند استفاده می شوند. به عبارت دیگر، استفاده از ویتامین ها در جیره غذایی یکی از راهکارهای مناسب پرورش در شرایط متراکم است (Panush and Delafeunte, 1985). با توجه به این که افزایش برخی از پارامترهای خونی مانند کورتیزول پلازما پاسخی در برابر استرس تراکم محسوب می شود،

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی حسین‌آباد واقع در شهرستان بیستون، در استان کرمانشاه انجام شد. به این منظور از تراف‌های کالیفرنایی با ابعاد  $25 \times 45 \times 20$  سانتی‌متر به منظور سازگار کردن و پرورش ماهیان در دو تراکم مختلف استفاده شد. این تراف‌ها به میزان ۵۰ لیتر آب‌گیری شدند و روزانه ۷۵٪ آب آن‌ها تعویض شد. پس از سازگاری کامل ماهیان با شرایط پرورشی، تعداد ۱۳۵۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی  $9/69 \pm 0/69$  گرم با دو تراکم ۵۰ و ۱۰۰ قطعه در ۵۰ لیتر در ۱۸ تراف توزیع شدند. به تدریج و پس از گذشت یک هفته جیره‌های آزمایشی جایگزین غذای تجاری شد و به مدت ۴۵ روز ماهیان با غذای آزمایشی در فواصل زمانی منظم (ساعت ۹:۰۰ و ۱۷:۰۰) و به میزان روزانه ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند.

سه جیره غذایی به صورت جیره ۱ بدون افزودن ویتامین به عنوان جیره شاهد، جیره ۲ با افزودن ۱۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم غذا و جیره ۳ با افزودن ۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین E در کیلوگرم غذا (ساخت شرکت لابراتوارهای سپانس) فرموله شد. پس از مشخص نمودن اقلام جیره و فرمولاسیون جیره غذایی و تجزیه شیمیایی آن، کار ساخت جیره غذایی آغاز شد. تمام جیره‌ها دارای پروتئین و چربی یکسان بودند. ابتدا مواد اولیه به کاررفته در فرمولاسیون جیره‌های غذایی در داخل تشت کاملاً مخلوط شدند. سپس با اضافه کردن تدریجی آب مخلوط خمیری شکلی به دست آمد و با استفاده از چرخ گوشت به صورت پلت‌هایی با قطر ۳ میلی‌متر شکل داده شدند. پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی پلاستیک گسترده و در دمای اتاق کاملاً خشک شدند. در طول مدت خشک شدن، غذاهای پلت‌شده مرتب به هم زده شدند تا به صورت یکنواخت مخلوط شوند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره‌گذاری شده و در فریزر در دمای  $-30$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اطمینان از ترکیب شیمیایی جیره‌های ساخته شده، نمونه‌ای از هر یک از آن‌ها در آزمایشگاه مورد تجزیه قرار گرفت (جدول ۱).

نظر به اهمیت عوامل محیطی در پرورش ماهیان و وابستگی شدید آن‌ها از نظر رشد و سلامتی به برخی از این عوامل و نیز به جهت این‌که پارامترهای کیفی آب

تغییری در نتایج حاصل از تاثیر نوع غذا و تراکم بر تیمارها ایجاد نکند، سعی بر آن شد تا تمام پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب در همه تیمارها یکسان باشند. pH، دما و اکسیژن به صورت روزانه با استفاده از دستگاه (Water Checker-U10, HURIBA, Japan) اندازه‌گیری می‌شد. میانگین درجه حرارت آب ورودی و خروجی تراف‌ها در تیمارهای مختلف در طول آزمایش به ترتیب  $18/11 \pm 0/24$  و  $17/89 \pm 0/24$  درجه سانتی‌گراد، میانگین pH  $7/13 \pm 0/11$  و میانگین اکسیژن ورودی و خروجی تراف‌ها به ترتیب  $8/20 \pm 0/42$  و  $7/76 \pm 0/48$  میلی‌گرم در لیتر بود. تعویض آب با تمیز کردن و سیفون کردن مواد غذایی خورده‌نشده و مدفوع ماهیان در تمامی تراف‌ها به صورت روزانه صورت می‌گرفت.

در پایان دوره پرورش، ۲۴ ساعت قبل از کشتار به ماهیان غذا داده نشد. سپس تمام ماهیان به طور انفرادی توزین شدند و از هر تکرار ۲۰ عدد ماهی برای خونگیری به صورت تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌برداری از خون با قطع کامل ساقه دم به وسیله تیغه اسکالپل انجام شد. خون کامل برای تعیین CBC، به روش‌های متداول آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفت. شمارش گلبول‌های سفید (WBC) و گلبول‌های قرمز (RBC) به صورت دستی با لام نئوبار و مقدار هموگلوبین (Hb) به صورت دستی به وسیله محلول درابکین (Drabkin) محاسبه شد. جداسازی پلاسما از سلول‌های خونی برای محاسبه پارامترهای بیوشیمیایی توسط سانتریفوژ مدل Sepatech Heraeus شرکت Labofuge 2000 ساخت کشور آلمان به مدت ۵ دقیقه در  $3000 \text{ rpm}$  انجام شد و کورتیزول به روش Radioimmunoassay با استفاده از دستگاه گاما کانتر LKB ساخت فنلاند اندازه‌گیری شد (Kubokava et al. 1999). مقدار پروتئین کل خون، آلومین و گلوکز به روش فتومتریک با استفاده از دستگاه اتوانالایزر SINNOWA D-280 سنجش شدند. مقدار سدیم و پتاسیم به روش فتومتریک با استفاده از دستگاه Electrolyte Analyzer سنجش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها در ارتباط با شاخص‌های خونی بر اساس آزمون دانکن در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح  $0/05$  انجام شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شد

و نرمال سازی داده ها توسط کولموگروف - اسمیرنوف صورت گرفت.

جدول ۱- فرمولاسیون (گرم بر کیلوگرم) و ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک) جیره های آزمایشی.

ترکیبات جیره های غذایی			مواد غذایی
۳ (گرم)	۲ (گرم)	۱ (گرم)	
۶۵۰	۶۵۰	۶۵۰	پودر ماهی
۱۹۵/۷	۱۹۵/۷	۱۹۵/۷	کنجاله سویا
۴۵	۴۷	۵۰	آرد گندم
۱۰/۱	۱۰/۱	۱۰/۱	آرد ذرت
۲۰	۲۰	۲۰	نشاسته ذرت
۱۰	۱۰	۱۰	مکمل معدنی <sup>۱</sup>
۱۰	۱۰	۱۰	مکمل ویتامینه <sup>۲</sup>
۲۰	۲۰	۲۰	لازین
۲۰	۲۰	۲۰	متیونین
۱۰/۸	۱۰/۸	۱۰/۸	روغن ماهی
۱۰/۸	۱۰/۸	۱۰/۸	روغن سویا
۲/۵	۲/۵	۲/۵	ضد قارچ
-	۳	-	ویتامین C <sup>۳</sup>
۵	-	-	ویتامین E <sup>۴</sup>
ترکیب شیمیایی جیره (برحسب درصد)			
۴۰	۴۰	۴۰	پروتئین
۱۳/۶	۱۳/۶	۱۳/۶	چربی
۶/۲	۶/۲	۶/۲	رطوبت
۱۶	۱۶	۱۶	خاکستر

۱- هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی: ۲۶ گرم آهن، ۱۲/۵ گرم روی، ۲ گرم سلنیوم، ۴۸۰ میلی گرم کبالت، ۴/۲ گرم مس، ۱ گرم ید، ۱۲ گرم کولین کلراید و ماده حامل تا یک کیلوگرم (ساخت شرکت لابراتورهای سیانس). ۲- هر کیلوگرم از مکمل ویتامینه حاوی: IU ۱۶۰۰۰۰۰ ویتامین A، IU ۴۰۰۰۰۰ ویتامین D<sub>3</sub>، ۴ گرم ویتامین E، ۲ گرم ویتامین K<sub>3</sub>، ۶ گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۸ گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۱۲ گرم ویتامین B<sub>3</sub>، ۴۰ گرم ویتامین B<sub>5</sub>، ۴ گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۲ گرم ویتامین B<sub>9</sub>، ۸ گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۰/۲۴ گرم ویتامین H<sub>2</sub>، ۲ گرم B.H.T و ماده حامل تا یک کیلوگرم (ساخت شرکت لابراتورهای سیانس). ۳- میزان ماده موثره ویتامین C، ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم است. ۴- میزان ماده موثره ویتامین E، ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم است.

## نتایج

تیمارهای تغذیه شده با جیره های غذایی متفاوت در تراکم های مختلف مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

نتایج اختلاف معنی داری را در میزان کورتیزول و گلوکز خون تیمارهای مختلف نشان داد، به این ترتیب که میزان کورتیزول و گلوکز خون در تیمارهای  $T_{100(C)}$ ،  $T_{100(0)}$  و  $T_{50(C)}$ ،  $T_{50(0)}$  به طور معنی داری بیش از تیمارهای  $T_{50(C)}$ ،  $T_{50(0)}$  و  $T_{100(E)}$  بود ( $P < 0/05$ ). بین تیمارهای  $T_{50(C)}$ ،  $T_{50(0)}$  و  $T_{50(E)}$ ، سطح کورتیزول و گلوکز خون در تیمار  $T_{50(0)}$  به طور معنی داری بیش از تیمارهای  $T_{50(C)}$  و  $T_{50(E)}$  بود.

نتایج حاصل از اندازه گیری شاخص های خون شناسی ماهیان قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. مقدار هموگلوبین و تعداد گلبول های قرمز خون در تیمارهای  $T_{100(0)}$ ،  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  به طور معنی داری بیش از تیمارهای  $T_{50(0)}$ ،  $T_{50(C)}$  و  $T_{50(E)}$  بود ( $P < 0/05$ ). از لحاظ تعداد گلبول های سفید خون، اختلاف معنی دار آماری بین

خون ماهیان کپور هندی (*Misra et al. (Labeo rohita)* (2006) و قزل‌آلای رنگین کمان (*Dabrowski et al. 1995*) وجود دارد. شرایط محیطی بر مقدار هموگلوبین خون ماهی مؤثر است (وحدتی و همکاران، ۱۳۷۹). تراکم بالا، عامل استرس‌زای محیطی مهمی در ماهی‌ها محسوب می‌شود. نگهداری ماهی در شرایط متراکم، منجر به کاهش اکسیژن محلول آب و به دنبال آن، کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت‌های بدن می‌شود. لذا افزایش میزان هموگلوبین خون، واکنشی برای افزایش ظرفیت اکسیژن‌رسانی در خون به حساب می‌آید. به همین علت، با افزایش تراکم، ماهی برای سازگاری و تطابق با شرایط ایجاد شده، مجبور به افزایش هموگلوبین برای حمل بیشتر اکسیژن خون به منظور مقابله با کمبود اکسیژن است (وحدتی و همکاران، ۱۳۷۹؛ رفعت نژاد و همکاران، ۱۳۸۹). تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای با تراکم ۱۰۰ به طور معنی‌داری بیش از تیمارهای با تراکم ۵۰ بود. این نتایج مشابه نتایج ارائه شده در باره تأثیر تراکم و عدم تأثیر ویتامین‌های C و E موجود در جیره غذایی بر تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان شانک سرطلایی (*Montero et al. 1999*) است. در مقابل، گزارش‌هایی از عدم تأثیر تراکم بر تعداد گلبول‌های قرمز خون فیلماهیان جوان توسط رفعت نژاد و همکاران (۱۳۸۹) و تأثیر ویتامین‌های موجود در جیره غذایی بر تعداد گلبول‌های قرمز خون ماهیان کپور هندی ارائه شده است (*Misra et al. 2006*). افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون در ماهیان پرورش‌یافته در شرایط متراکم می‌تواند به این دلیل باشد که تراکم بالا از عواملی است که منجر به افت شرایط کیفی آب و به تبع آن، کاهش اکسیژن محلول آب شده و نیاز ماهیان به اکسیژن افزایش پیدا می‌کند. بنابراین، در این شرایط ماهی مجبور به سازگاری با شرایط جدید می‌شود و با افزایش تعداد گلبول‌های قرمز خون برای حمل بیشتر اکسیژن و اکسیژن‌رسانی بیشتر به بافت‌ها خود را با شرایط موجود وفق می‌دهد (وحدتی و همکاران، ۱۳۷۹).

تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری را در مطالعه حاضر نشان نداد. رفعت نژاد و همکاران (۱۳۸۹) در فیلماهیان جوان و *Montero* و همکاران (۱۹۹۹) و *Ortuno* و همکاران (۲۰۰۱) در ماهی شانک سرطلایی نیز عدم تأثیر تراکم بر تعداد

ولی بین تیمارهای  $T_{50(C)}$  و  $T_{50(E)}$  اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). همچنین، بین تیمارهای  $T_{100(C)}$ ،  $T_{100(E)}$  و  $T_{100(0)}$  سطح کورتیزول و گلوکز خون در تیمار  $T_{100(0)}$  به‌طور معنی‌داری بیش از تیمارهای  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  بود ( $P < 0.05$ )، ولی بین تیمارهای  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ( $P > 0.05$ ).

از لحاظ میزان آلبومین و پروتئین کل خون، بین تیمارهای  $T_{50(0)}$ ،  $T_{50(C)}$ ،  $T_{50(E)}$  و همچنین بین تیمارهای  $T_{100(0)}$ ،  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ )، اما در مقایسه بین دو تراکم، تیمارهای  $T_{50}$  میزان آلبومین و پروتئین کل خون بیشتری از تیمارهای  $T_{100}$  داشتند ( $P < 0.05$ ). با افزایش تراکم، میزان سدیم خون، اختلاف معنی‌داری را در تیمارهای مختلف نشان داد. بین تیمارهای  $T_{50(0)}$ ،  $T_{50(C)}$ ،  $T_{50(E)}$  و همچنین بین تیمارهای  $T_{100(0)}$ ،  $T_{100(C)}$ ،  $T_{100(E)}$  اختلاف معنی‌دار آماری از لحاظ سدیم خون مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در مقایسه بین دو تراکم، تیمارهای  $T_{100(0)}$ ،  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  میزان سدیم بیشتری از  $T_{50(0)}$ ،  $T_{50(C)}$  و  $T_{50(E)}$  داشتند ( $P < 0.05$ ). از لحاظ میزان پتاسیم خون، اختلاف معنی‌دار آماری در تیمارهای مختلف مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

## بحث

با افزودن ویتامین به جیره‌های غذایی ماهیان پرورش‌یافته در شرایط متراکم از لحاظ شاخص‌های خون شناسی اختلاف معنی‌دار آماری در تیمارهای مختلف مشاهده شد. شاخص‌های هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز خون در تیمارهای  $T_{100(0)}$ ،  $T_{100(C)}$  و  $T_{100(E)}$  به‌طور معنی‌داری بیش از تیمارهای  $T_{50(0)}$ ،  $T_{50(C)}$  و  $T_{50(E)}$  بود. نتایج مشابهی از افزایش مقدار هموگلوبین خون با افزایش تراکم و عدم تأثیر ویتامین‌های C و E در جیره غذایی بر این شاخص در ماهی شانک سرطلایی گزارش شده است (*Montero et al. 1999*; *Ortuno et al. 2001*). گزارش‌هایی نیز از عدم تأثیر تراکم بر میزان هموگلوبین خون فیلماهیان جوان (رفعت نژاد و همکاران، ۱۳۸۹) و تأثیر ویتامین‌های موجود در جیره غذایی بر هموگلوبین

جدول ۲- مقایسه شاخص های خونی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرورش یافته در دو تراکم مختلف و تغذیه شده با جیره های غذایی متفاوت در طی ۴۵ روز پرورش (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد n=۳).

T <sub>۱۰۰(E)</sub>	T <sub>۵۰(E)</sub>	T <sub>۱۰۰(C)</sub>	T <sub>۵۰(C)</sub>	T <sub>۱۰۰(۰)</sub>	T <sub>۵۰(۰)</sub>	تیمار شاخص خونی
۱۳/۹۳ $\pm$ ۰/۱ <sup>b</sup>	۱۱/۱۰ $\pm$ ۰/۷ <sup>a</sup>	۱۳/۷۳ $\pm$ ۰/۲ <sup>b</sup>	۱۱/۳۰ $\pm$ ۰/۶ <sup>a</sup>	۱۳/۶۰ $\pm$ ۰/۶ <sup>b</sup>	۱۱/۴۶ $\pm$ ۰/۱ <sup>a</sup>	هموگلوبین (g/dL)
۱/۸۷ $\pm$ ۲/۵ <sup>b</sup>	۱/۱۱ $\pm$ ۱ <sup>a</sup>	۱/۸۷ $\pm$ ۲/۵ <sup>b</sup>	۱/۱ $\pm$ ۱/۵ <sup>a</sup>	۱/۸۵ $\pm$ ۱/۱ <sup>b</sup>	۱/۱۲ $\pm$ ۲/۵ <sup>a</sup>	گلبول قرمز ( $\times 10^6/mm^3$ )
۱۴/۳۰ $\pm$ ۱/۳	۱۴/۱۹ $\pm$ ۱	۱۴/۲۶ $\pm$ ۱/۵	۱۴/۱۵ $\pm$ ۱/۴	۱۴/۳۰ $\pm$ ۱/۶	۱۴/۲۵ $\pm$ ۱/۱	گلبول سفید ( $\times 10^3/mm^3$ )
۱۶۱/۶۶ $\pm$ ۱/۵ <sup>c</sup>	۹۶/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۱۶۰ $\pm$ ۱/۵ <sup>c</sup>	۹۶/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۲۲۹/۶۶ $\pm$ ۱/۴ <sup>d</sup>	۱۲۲ $\pm$ ۱/۱ <sup>b</sup>	کورتیزول (nmol/L)
۱۲۶/۳۳ $\pm$ ۱ <sup>c</sup>	۷۵/۶۶ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۱۲۵/۶۶ $\pm$ ۱/۱ <sup>c</sup>	۷۵/۳۳ $\pm$ ۰/۵۷ <sup>a</sup>	۱۴۱/۳۳ $\pm$ ۱/۷ <sup>d</sup>	۹۰/۶۶ $\pm$ ۱/۱ <sup>b</sup>	گلوکز (mg/dL)
۲/۲۳ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۲/۴۶ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>b</sup>	۲/۱۳ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۲/۵۰ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۲/۱۶ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>a</sup>	۲/۵۰ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>b</sup>	آلبومین (g/dL)
۲/۴۶ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۱۶ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>b</sup>	۲/۳۶ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۳۰ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>b</sup>	۲/۴۳ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۴/۲۰ $\pm$ ۰/۲۰ <sup>b</sup>	پروتئین کل خون (g/dL)
۱۶۱/۳ $\pm$ ۱/۷۵ <sup>b</sup>	۱۵۵/۳ $\pm$ ۱/۷ <sup>a</sup>	۱۶۰/۳ $\pm$ ۱/۵ <sup>b</sup>	۱۵۶/۳ $\pm$ ۱/۵ <sup>a</sup>	۱۶۱/۰ $\pm$ ۱/۷۳ <sup>b</sup>	۱۵۷/۰ $\pm$ ۱ <sup>a</sup>	سدیم (MEq/L)
۹ $\pm$ ۰/۹	۸/۷ $\pm$ ۰/۱۵	۸/۵ $\pm$ ۰/۰۵	۸/۹ $\pm$ ۰/۱۱	۸/۶ $\pm$ ۰/۰۶	۸ $\pm$ ۰/۱۷	پتاسیم (MEq/L)

میانگین و خطای استاندارد با حروف متفاوت در ردیف های یکسان نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری می باشد ( $P < 0.05$ ). T<sub>۵۰(۰)</sub>: با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره بدون ویتامین، T<sub>۱۰۰(۰)</sub>: با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره بدون ویتامین، T<sub>۵۰(C)</sub>: با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰۰ mg/kg ویتامین E، T<sub>۱۰۰(C)</sub>: با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰۰ mg/kg ویتامین E، T<sub>۵۰(E)</sub>: با تراکم ۵۰ و تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰۰ mg/kg ویتامین E، T<sub>۱۰۰(E)</sub>: با تراکم ۱۰۰ و تغذیه شده با جیره حاوی ۶۰۰ mg/kg ویتامین E.

گلبول‌های سفید خون را گزارش کردند. تأثیر ویتامین‌های موجود در جیره غذایی بر تعداد گلبول‌های سفید خون تغذیه شده با جیره آزمایشگاهی حاوی مقادیر بالای ویتامین C و E مقاومت بیشتری در مقابل عوامل استرس زا از خود نشان دادند و سطح کورتیزول و گلوکز خون ماهیان تیمارهای تغذیه شده با جیره بدون ویتامین‌های E و C نسبت به تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی بالاترین سطح ویتامین‌های C و E افزایش یافته بود که مشابه نتایج به‌دست آمده از پژوهش کنونی است. مطالعه Cristina و همکاران (۲۰۰۶) بر روی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز نشان می‌دهد که جیره حاوی ویتامین C و E به‌طور قابل ملاحظه‌ای مقدار کورتیزول پلاسما را کاهش می‌دهد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌توان بیان کرد که تراکم بالا یک عامل استرس‌زای مزمن در آبزی‌پروری به شمار می‌رود که بر سلامت ماهی تأثیر می‌گذارد (Wedemeyer, 1996). بررسی‌ها نشان می‌دهند که استرس از طریق تأثیر بر عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بافت بین‌کلیوی بدن ماهی‌ها، میزان ترشح ACTH و کورتیزول را افزایش می‌دهد. بالا رفتن کورتیزول، تأثیر منفی بر رفتار ماهی می‌گذارد و افزایش بیش از حد و طولانی مدت این هورمون‌ها باعث تضعیف سیستم ایمنی ماهی می‌شود (Barton and Iwama, 1991). افزایش سطح کورتیزول، محرکی برای شروع دومین عکس‌العمل بدن ماهی به عامل استرس زا است. تولید کورتیکوستروئیدها باعث تجزیه ذخیره انرژی و گلیکوژن در کبد می‌شود و به دنبال تجزیه گلیکوژن، میزان گلوکز در پلاسمای خون ماهیان افزایش می‌یابد (Thomas and Neff, 1985; Vijayan et al. 1994; Rottlant and Tort, 1997; Vijayan et al. 1997). کاهش سطح کورتیزول و گلوکز خون در تیمارهایی که از رژیم غذایی حاوی ویتامین استفاده کرده بودند، نسبت به تیمارهایی که از رژیم غذایی فاقد ویتامین تغذیه شده بودند، می‌توان به این دلیل دانست که خوراندن مقادیر بالای ویتامین‌ها به ماهیان نگهداری شده در تراکم بالا باعث شده که آنها در مقابل شرایط استرس‌زا مقاومت کرده و این امر سبب کاهش اثرات استرس در آنها (کاهش سطح کورتیزول و گلوکز) شود. نقش خوراندن مقادیر بالای این ویتامین‌ها در کاهش اثرات استرس و جلوگیری از ترشح بیش از حد این هورمون‌ها در

ماهیان کپور هندی هم توسط Misra و همکاران (۲۰۰۶) گزارش شده است. تأثیر تراکم و ویتامین‌های موجود در جیره غذایی بر تعداد گلبول‌های سفید خون در مطالعات دیگر را می‌توان به طول مدت پرورش و طول مدت غذادهی بچه‌ماهیان در این شرایط نسبت داد. مشخص شده است که این ویتامین‌ها پس از یک دوره غذادهی طولانی مدت بر گلبول‌های سفید خون اثرگذار هستند و بنابراین، زمانی که اثر افزایش این ویتامین‌ها بر گلبول‌های سفید مورد بررسی قرار می‌گیرد، باید طول مدت غذادهی مد نظر باشد (Blazer, 1992).

نتایج حاصل از این مطالعه، وجود اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها از لحاظ میزان کورتیزول و گلوکز خون نشان داد. به این ترتیب که سطح کورتیزول و گلوکز خون ماهیان در تیمارهای با تراکم ۱۰۰ به‌طور معنی‌داری بیش از سطح کورتیزول و گلوکز خون ماهیان در تیمارهای با تراکم ۵۰ بود. همچنین سطح کورتیزول و گلوکز خون ماهیان تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های بدون ویتامین‌های C و E به‌طور معنی‌داری بیش از سطح کورتیزول و گلوکز خون ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ویتامین‌های C و E بود. این نتایج مشابه نتایج به‌دست آمده در مطالعه‌ای بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره تجاری و غذای آزمایشگاهی بود. در ماهیان تغذیه شده با جیره آزمایشگاهی حاوی سطوح بالای ویتامین C و E (صفر، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، سطح کورتیزول و گلوکز خون کاهش یافته بود (Blazer, 1982). همچنین، در نتایج حاصل از مطالعه Trenzado و همکاران (۲۰۰۶)، سطح کورتیزول پلاسمای خون ماهیان نگهداری شده در تراکم بالا و تغذیه شده با جیره بدون ویتامین‌های C و E افزایش یافته بود و از این لحاظ دارای تفاوت معنی‌دار آماری با تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ویتامین‌های C و E بود. در مطالعه‌ای بر روی ماهی‌های جوان شانک سرطلایی گزارش شد که سطح کورتیزول پلاسما در پاسخ به استرس ناشی از تراکم در تیمارهایی که با جیره غذایی بدون ویتامین E تغذیه شده بودند، نسبت به آنهایی که در همان شرایط اما با غذای حاوی ویتامین E تغذیه شده بودند، افزایش یافت (Montero et al. 2001). نتایج مطالعه Wahli و همکاران (۱۹۹۸) در پاسخ به شرایط استرس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده با جیره تجاری و غذای آزمایشگاهی نشان داد که ماهیان

تأثیری بر عملکرد این دو فاکتور نداشت. *Trenzado* و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که میزان پروتئین کل خون و آلبومین در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمانی که در شرایط متراکم نگهداری شده بودند در مقایسه با تراکم پائین‌تر کاهش پیدا کرده بود، اما دوز ویتامین‌های به‌کار رفته در جیره غذایی، تأثیری بر میزان این دو عامل نداشت. ویتامین‌های افزوده شده به جیره‌های غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با دوزهای متفاوت در مطالعه *Halver* (۱۹۷۲) نیز تأثیری بر میزان پروتئین کل خون و آلبومین نداشت. کاهش پروتئین کل خون و آلبومین نشان‌دهنده وضعیت بد تغذیه‌ای و شرایط نامساعد محیطی است. در ماهیان نگهداری شده در تیمارهای با تراکم بالا، دسترسی محدود به غذا، کاهش سطح تغذیه به ازای هر ماهی و ماهی‌های غالب وجود دارد که باعث ایجاد طبقات مختلف وزنی و در نتیجه، نامساوی شدن سهم هر ماهی در گرفتن غذا و در نهایت، افزایش نوسان در وزن و کاهش میزان کارایی و ثمربخشی غذا می‌شوند. بنابراین، ماهیان از لحاظ شرایط تغذیه‌ای در وضعیت نامناسبی قرار داشته و همچنین، به دلیل افزایش تعداد ماهی در تراکم بالا مشکلاتی از قبیل کاهش اکسیژن محلول آب، تولید فضولات و مدفوع ماهیان و همچنین، تولید آمونیاک پیش می‌آید و در نتیجه در این شرایط نامساعد محیطی، میزان آلبومین و پروتئین کل خون کاهش می‌یابد (*Ramesh and Saravanan, 2008*) ارتباط بین آلبومین و پروتئین کل خون را این‌طور می‌توان بیان کرد که از آنجا که آلبومین و گلوبولین مهمترین اجزای پروتئین کل پلاسما هستند، تغییر در هر کدام از آنها، بر میزان پروتئین کل خون مؤثر است و در نهایت، می‌توان گفت که تأثیرگذاری این دو پارامتر بر یکدیگر وجود دارد و همبستگی بین آنها قابل انتظار است (*Butler et al. 1984*).

در نتایج حاصل از مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در میزان پتاسیم خون تیمارهای مختلف مشاهده نشد. از طرفی تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف در میزان سدیم پلاسما ماهیان دیده شد؛ بدین ترتیب که ماهیان تیمارهای با تراکم بالاتر، میزان سدیم پلاسما بیشتری نسبت به تیمارهای با تراکم کمتر داشتند. این نتایج مشابه گزارش ارائه شده توسط وحدتی و همکاران (۱۳۷۹) در خصوص تأثیر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر شاخص‌های خون‌شناسی قزل‌آلای رنگین‌کمان بود.

تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ویتامین را می‌توان این‌گونه تفسیر کرد که رهاسازی هورمون‌های استرسی توسط سلول‌های بین‌کلیوی و بافت کروموفین توأم با مصرف بالای این ویتامین‌ها است. بنابراین، با خوراندن مقادیر بالای این ویتامین‌ها می‌توان از تغییرات هورمونی جلوگیری کرد و با حفظ توان سیستم ایمنی به ماهی این امکان را داد که در مقابل شرایط استرس‌زا مقاومت نشان دهد (*Blazer, 1992; Dabrowski et al. 1995*).

علت افزایش سطح کورتیزول و به دنبال آن، گلوکز در تیمارهای تغذیه شده با جیره فاقد ویتامین را می‌توان به این دلیل دانست که کمبود ویتامین‌ها در شرایط پرورش با تراکم بالا که نیاز به آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد مانع ایفای نقش این ویتامین‌ها در تنظیم واکنش مربوط به استرس می‌شود، زیرا ویتامین‌ها برای محافظت به عنوان آنتی‌اکسیدان و تنظیم‌کننده‌ی استرس در رژیم غذایی‌شان در دسترس نیست (*Blazer, 1992*). اما دلیل عدم تأثیر تراکم و ویتامین‌ها بر مقاومت در برابر شرایط استرس‌زا در ماهیان مورد مطالعه در دیگر پژوهش‌ها را می‌توان در طبیعت مقاوم برخی گونه‌ها، سازگاری ماهی‌ها به محیط و سازگاری و تطابق آنها با شرایط ایجاد شده دانست (*Vijayan et al. 1994*).

همچنین دوز پایین ویتامین‌های به‌کار رفته در جیره‌های غذایی در مطالعات دیگر را می‌توان یکی دیگر از عوامل مؤثر بر عدم تأثیر ویتامین‌ها بر مقاومت ماهی‌های مورد استفاده در دیگر مطالعات دانست، به‌طوری‌که افزایش ویتامین‌ها به میزان ده برابر میزان مورد نیاز برای رشد ( $100 \text{ mg/kg}$ ) را در گربه ماهی روگاهی برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی لازم دانسته اند (*Andrews and Murai, 1975; Blazer, 1992*) از عوامل دیگر می‌توان تفاوت‌های موجود در مرحله تکاملی ماهیان را نام برد، به‌طور مثال، کارایی جذب ویتامین‌های C و E در آزادماهیان طی مراحل تکاملی تغییر می‌کند (*Hamre et al. 1997*). در نهایت، می‌توان بیان کرد که میزان دوز بالای ویتامین‌های C و E افزوده شده به جیره غذایی می‌تواند بر مقاومت ماهی نسبت به استرس بیفزاید (*Waagbo et al. 1993*) که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر همخوانی دارد.

میزان پروتئین کل و آلبومین در تیمارهای با تراکم ۱۰۰ نسبت به تیمارهای با تراکم ۵۰ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و افزودن ویتامین‌های C و E موجود در جیره غذایی



- Andrews, J.W., Murai, I. 1975. Studies of vitamin C requirements of channel cat fish (*Ictalurus punctatus*). *Juornal of Nutrition* 105: 557-561.
- Barton, B.A., Iwama, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticostroids. *Aquaculture* 1: 3-26.
- Blazer, V.S. 1982. The effect of marginal deficiencies of ascorbic acid and Alphatocopherol on the natural resistance and immune response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Ph.D. dissertation, University of Rhode Island, Kingston, 1244.
- Blazer, V.S. 1992. Nutrition and disease resistance in fish. *Annual Review of Fish Diseases* 2: 309-323.
- Butler, S.J., Payne, R.B., Gunn, I.R., Burns, J. 1984. Correlation between serum ionized calcium and serum albumin concentration in two hospital populations. *British Journal Medical* 289: 948-950.
- Chavez, M.C. 1990. Vitamin C requirement of the Mexican native cichlid *Cichlasoma urophthalmus* (Gunther). *Aquaculture* 86: 409-416.
- Dabrowski, K., Matusiewics, M., Matusiewics, K., Hoppe, P., Ebeling, J. 2006. Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition* 2 (1): 3-10.
- Gabaudan, J., Verlhac, V. 1992. Biological efficacy of Rovimix Stay – C as a source of vitamin C for salmonids. Poster presentation at the International Symposium on Cultivation of Atlantic salmon, 16-20. Bergen, Norway.
- Halver, J.E. 1972. The role of ascorbic acid in fish disease and tissue repair. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 38: 79-92.
- Hamre, K., Waagbo, R., Berge, R.K., Lie, O. 1997. Vitamin C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo Salar*, L.). *Free Radical Biology & Medicine* 22: 137-149.

افزایش سدیم در تراکم‌های بالاتر را می‌توان به این دلیل دانست که در ماهی‌های نگهداری شده در شرایط متراکم، نوعی پاسخ به استرس ایجاد شده و افزایش کورتیزول و نیز افزایش در روند تجزیه ذخایر قندی و غیرقندی پیش می‌آید و در نهایت، اختلال آب و الکترولیت القاء می‌شود و تعادل برخی یون‌ها به هم می‌خورد و میزان برخی یون‌ها مثل سدیم خون بالا می‌رود (وحدتی و همکاران، ۱۳۷۹). هر گونه اختلال و تغییر در شرایط محیطی منجر به بر هم خوردن اسمولالیته بدن ماهی شده و تعادل برخی یون‌ها مانند سدیم می‌شود (Ramesh and Saravanan, 2008). در مجموع، براساس نتایج حاصل از این مطالعه، تراکم بالا به‌عنوان یک عامل استرس‌زا، بر شاخص‌های خونی تأثیر منفی دارد، اما افزودن ویتامین‌های E و C به جیره غذایی ماهیان پرورش‌یافته در تراکم بالا می‌تواند برخی از اثرات منفی تراکم را کاهش دهد.

## تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه جناب آقای مهندس جعفر سرخوش مدیریت کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان سردآبی حسین‌آباد بیستون و همچنین جناب آقای مهندس مجتبی پوریا و دیگر دوستانی که در انجام این مطالعه همکاری کردند، سپاسگزاری می‌شود.

## منابع

- رفعت نژاد، س.، فلاحتکار، ب.، طلوعی گیلانی، م.ح.، ابراهیم زاده شیخانی، م.، حیدری قادی کلایی، م. ۱۳۸۹. اثر تراکم‌های مختلف ذخیره‌سازی بر برخی پارامترهای کیفی آب و فاکتورهای رشد فیل‌ماهی (*Huso huso*) در مخازن پرورشی. *مجله دامپزشکی ایران*، دوره ششم، شماره ۴، ۳۸-۴۵.
- علامه، س.ک. ۱۳۸۳. بررسی اثر تراکم بر رشد و ضریب تبدیل خوراک ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. *مجله پژوهش و سازندگی (در امور دام و آبزیان)*، شماره ۷۰، ۲۳-۲۷.
- وحدتی، ا.، عزیزی ملک آبادی، ح.، علی استکی، ع.، رعیتی، ع.ا. ۱۳۷۹. اثرات استرس تراکم نگهداری بر شاخص‌های هماتولوژیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. *مجله پژوهشی علوم پایه دانشگاه اصفهان*، شماره ۲، ۴۷-۵۴.

- Kubokava, K., Watanabe, T., Yoshioka, M., Iwata, M. 1999. Effect of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone levels in male and female salmon during the breeding season. *Aquaculture* 172: 335-349.
- Misra, C. K., Mukherjee, S.C., Pradhan, J. 2006. Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp *Labeo rohita*, fingerlings. *Journal of Aquaculture Nutrition* 13: 35-44.
- Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.M. 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.
- Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Vergara, J.M. 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 6: 473-490.
- Navarre, O., Halver, J.E. 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture* 79: 207-221.
- Ortuno, J., Cuesta, A., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2001. Effect of oral administration of high dietary vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Aquaculture* 79: 167-180.
- Panush, R.S., Delafuente, J.C. 1985. Vitamins and immuno competence. *Journal of Nutrition*, 45: 97-123.
- Ramesh, M., Saravanan, M. 2008. Hematological and biochemical responses in a fresh water fish, (*Cyprinus carpio*) exposed to chlorpyrifos. *International Journal of Integrative Fish Biology* 3: 80-83.
- Rottlant, J., Tort L. 1997. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Aquaculture* 51: 21-28.
- Sedgwick, S.D. 2001. Trout farming Handbook. Nourbakhsh, Tehran. 205p.
- Thomas, P., Neffe, J.M. 1985. Plasma corticosteroid and glucose responses of pollutants in striped mullet: different effects of naphthalene, benzo-apyrene and cadmium exposure In: Thurberg, F.P., Calabrese, A., Vernberg, F.J., Vernberg, W.B., (eds.), *Marine Pollution and Physiology: Recent Advances*. University of South Carolina Press, Columbia, 63-82.
- Trenzado, C.E., de la Higuera, M., Morales, A.E. 2006. Influence of dietary vitamins E and C and HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions. *Aquaculture* 263: 249-258.
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., de la Higuera, M. 2006. Physiological changes in rainbow trout held under crowded conditions and fed diets with different levels of Vitamin C and E and highly unsaturated fatty acid (HUFA). *Aquaculture* 227: 293-302.
- Vijayan, M.M., Pereira, C., Moon, T.W. 1994. Hormonal stimulation of hepatocyte metabolism in rainbow trout following an acute handling stress. *Aquaculture* 108: 321-329.
- Vijayan, M.M., Pereira, C., Graue, E.G.K. 1997. Metabolic responses associated with confinement stress in tilapia: the role of cortisol. *Journal of Fish Disease* 116 (1): 89-95.
- Waagbo, R., Glette, J., Raa Nilsen, E., Sandnes, K. 1993. Dietary vitamin C, immunity and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Fish Disease* 12: 61-73.
- Wahli, T., Verlhac Gabaudan, J., Schuep, W., Meier, W. 1998. Influence of combined vitamin C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Disease* 21: 127-137.
- Wedemeyer, G.A. 1996. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Biological Science Center. National Biological Service. U.S. Department of the Interior. Chapman & Hall. International Thompson Publishing.

## Supplementary effects of dietary vitamins C and E on resistance against the stress of stocking density in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Zeinab Fazaee<sup>1</sup>, Mir Masoud Sajjadi<sup>2\*</sup>, Iman Sourinejad<sup>1</sup>

1- Department of Fisheries, Faculty of Marine and Atmospheric Sciences and Technologies, Hormozgan University, Bandar Abbas, Hormozgan, Iran

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

Received 21 December 2014; accepted 14 March 2015

### Abstract

Effects of vitamins C and E - supplemented diet on hematological indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* juveniles at two different densities were investigated in a 6-week trial. Rainbow trout juveniles (initial body weight of  $9.6 \pm 0.69$  g) at two stocking densities of 50 and 100 fish per 50 liters were fed three diets containing the same level of protein and fat, but with different levels of the vitamins. Experimental diets included diet 1 without vitamins, diet 2 supplemented with 1500 mg/kg vitamin C and diet 3 with 600 mg/kg vitamin E. A total number of 1350 rainbow trout juveniles were divided in six treatments each with three replicates as T<sub>50(0)</sub> (density = 50, fed diet 1), T<sub>100(0)</sub> (density = 100, fed diet 1), T<sub>50(C)</sub> (density = 50, diet 2), T<sub>100(C)</sub> (density = 100, diet 2), T<sub>50(E)</sub> (density = 100, diet 3) and T<sub>100(E)</sub> (density = 100 diet 3). After a 6-week feeding, hemoglobin level, the number of red blood cells and sodium level were significantly higher in T<sub>100</sub> treatments ( $P < 0.05$ ). Plasma glucose and cortisol were also significantly higher in T<sub>100</sub> treatments (the highest in T<sub>100(0)</sub>) than in T<sub>50</sub> treatments (the highest in T<sub>50(0)</sub>) ( $P < 0.05$ ). T<sub>50</sub> treatments had higher levels of blood albumin and total protein ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in number of white blood cells and potassium level between treatments ( $P > 0.05$ ). According to the results, supplementing the diet of rainbow trout with vitamins C and E enhances fish resistance to the stressful environment caused by stocking density.

**Keywords:** Rainbow trout, Stress, supplementary Vitamin C and E, Hematological parameters