

بررسی روابط متقابل ویتامین C و E بر روند رشد، شاخص های خونی، بیوشیمیایی، آنزیم های کبدی و سیستم ایمنی بچه تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*)

محمود محسنی*

* mahmoudmohseni@yahoo.com

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور،
موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۲

چکیده

بررسی حاضر به منظور ارزیابی اثرات متقابل ویتامین C و E بر عملکرد رشد، کارایی تغذیه، شاخص های خونی، بیوشیمیایی، آنزیم های کبدی و سیستم ایمنی بچه تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*) پرورشی، در قالب طرح فاکتوریل ۲×۵ طراحی و اجرا گردید. ده جیره غذایی هر یک با سه تکرار محتوی دو سطح ویتامین E و ۲۰۰ میلی گرم استات DL- توکرفول (TA) هریک با پنج سطح ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم اسید L- آسکوربیک (AA) در جیره به شکل L- آسکوربیل-۲- منوفسفات (AMP) فرموله شدند. جیره های ترکیبی در دو گروه فاقد ویتامین E با سطوح مختلف ویتامین C شامل: E0C0، E0C100، E0C200، E0C400 و E0C800 و گروه حاوی ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره با سطوح مختلف ویتامین C شامل: E200C0، E200C100، E200C200، E200C400، E200C800 طراحی شدند. تعداد ۲۴۰ عدد بچه ماهی با وزن متوسط $1/66 \pm 29/8$ گرم بطور مساوی در واحد های آزمایشی توزیع و به مدت ۱۲ هفته با جیره های فوق تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش، وزن کسب شده (WG) ماهیان تغذیه شده با جیره های E0C400 و E0C800 بطور معنی داری نسبت به ماهیان تغذیه شده E0C100 و E0C0 بالاتر بود ($p < 0.05$). روند رشد، کارایی غذا و شاخص های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم های کبدی بچه ماهیان تغذیه شده حاوی ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E در هر یک از سطوح ویتامین C بدون اختلاف معنی دار درون گروهی ($p > 0.05$)، بطور معنی داری نسبت به گروه فاقد ویتامین E بهبود یافتند. این امر نشان دهنده اهمیت بیشتر ویتامین E جیره نسبت به ویتامین C می باشد. اگر چه میزان ویتامین C هیچ تاثیر معنی داری بر درصد بازماندگی ماهیان تغذیه شده نداشت، ولی نشانه های کمبود آن از قبیل تاخیر رشد و بی اشتهاپی در ماهیان تغذیه شده حتی در سطوح مختلف ویتامین E مشاهده گردید. با توجه به نتایج مطالعه حاضر در صورت کمبود ویتامین E (صفر میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره)، نیاز ویتامین C بچه تاسماهی سبیری به میزان ۲۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره به منظور بهبود روند رشد، کارایی غذا، شاخص های خونی، بیوشیمیایی و سیستم ایمنی تعیین گردید. در صورت استفاده از ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره غذایی، مصرف ویتامین C به میزان ۵۰ درصد کاهش می یابد.

لغات کلیدی: ویتامین C و E، روند رشد، کارایی غذا، تاسماهی سبیری

* نویسنده مسئول

مقدمه

با توجه به نقش تغذیه در آبی پروری و پذیرش این نکته که جیره غذایی ماهیان بخش هنگفتی از هزینه های پرورش را به خود اختصاص می دهد (۴۰ تا ۵۰ درصد)، باید اذعان داشت که پرورش موفق ماهیان نیاز به استفاده از خوراک کامل، کارآمد با ترکیب بهینه دارد (Mohseni et al., 2011; Aprodu et al., 2012). بطوریکه تمام ترکیبات تغذیه ای ضروری، مانند پروتئین ها، کربوهیدرات ها، چربی ها، ویتامین ها و مواد معدنی را برای ماهی فراهم نموده (Cho et al., 2005; Mohseni et al., 2013)، اجازه رشد سریع و سالم به آنها داده شود. ماهیان خاویاری از نقطه نظر پرورش و بازسازی ذخایر، شایان توجه و مراقبت ویژه هستند. کاهش در ذخایر اکثر گونه های این خانواده، تلاش برای بهبود پرورش جهت بازسازی و یا آبی پروری را افزایش داده است (Furné et al., 2012).

تاسماهی سیبری از گونه های با ارزش تجاری است که از استعداد قابل توجهی برای پرورش در شرایط محصور برخوردار می باشد. سریع الرشد بودن، کوتاه بودن دوره رسیدگی بلوغ جنسی، گستردگی و تنوع در رژیم غذایی باعث گردیده است که این گونه به عنوان یکی از گونه های اصلی در پرورش گوشتی ماهیان خاویاری آب شیرین معرفی گردد. امروزه بسیاری از کشورهای اروپایی از جمله فرانسه، ایتالیا، روسیه، لهستان، اتریش... مبادرت به پرورش گوشتی آن و استحصال خویار می نمایند (محسنی و همکاران، ۱۳۸۵). تاسماهی سیبری در محیط های طبیعی رشد کندی دارد، بطوریکه ماهیان نر در سن ۱۱ تا ۱۴ سالگی و ماده ها در سنین ۱۷ تا ۱۸ سالگی بالغ می شوند. تاسماهی سیبری (Brandt, 1969) *baerii* *Acipenser* به عنوان یک مدل زیستی برای مطالعات فیزیولوژیک و تغذیه ای تاسماهیان مورد استفاده قرار می گیرد (Fontagné et al., 2006). دوره پرورشی طولانی مدت تاسماهیان و به دنبال آن هزینه های پرورش، اهمیت اطلاعات فیزیولوژیک این گونه به عنوان پایه ای برای بهبود پروتکل های پرورشی و تغذیه ای با امکان کاهش هزینه های تولید آشکار می کند. از آنجا که رژیم غذایی مناسب از مهم ترین عوامل دخیل در موفقیت آبی پروری

است، یک رویکرد مهم جهت کاهش هزینه های غذا در آبی پروری تجاری، اعمال مدیریت تغذیه و استراتژی های مناسب در مواجهه با شرایط متفاوت پرورش است. چنین استراتژی هایی قادرند که مدیریت هزینه و کیفیت آب را بهبود ببخشند و نیز هزینه های غذا را کاهش دهند (Yokoyama et al., 2009; Gaylord & Gatlin, 2001).

ویتامین E به عنوان یک ضد اکسید، خصوصا در مورد اسید های چرب غیر اشباع چند تایی عمل می کند. سطوح بالای اسیدهای چرب غیر اشباع چند تایی، نیاز به ویتامین E جیره را افزایش می دهد. نقش ویتامین E جلوگیری از کم خونی، کندی رشد، سستی ماهیچه ها و داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد (Peng & Gatlin, 2009).

ویتامین C یا اسید آسکوربیک (AA) یکی از ویتامین های گروه محلول در آب بوده که دارای نقش های متابولیک متعددی و منجمله اثر بر رشد، بازماندگی بیشتر و جلوگیری از مرگ و میر، بهبود زخم، کاهش اثرات استرس، مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولید مثل می باشد (Ruff, 2003; Lee & Dabrowski, 2004). اسید اسکوربیک برای شکل گیری طبیعی گلبول های قرمز خون ضروری است. از طرف دیگر بازسازی ویتامین E از رادیکال توکوفرول توسط ویتامین C از طریق دادن یک اتم هیدروژن در بسیاری از مطالعات در شرایط آزمایشگاهی به خوبی شرح داده شده است (Rigotti, 2007). اگرچه اثرات متقابل بین ویتامین C و E در آزمایشاتی که تغییرات در الگوهای حیوانی تغذیه شده با جیره های حاوی سطوح مختلف این ویتامین ها را اندازه می گیرد، مورد بررسی قرار گرفته است. اما مطالعات اثرات متقابل در ماهیان بسیار اندک می باشد. آیا مقادیر ویتامین E جیره می تواند سطوح ویتامین C جیره را در تاسماهیان تحت تاثیر قرار دهد، به خوبی شناخته شده نیست. بنابراین مطالعه حاضر به منظور بررسی روابط متقابل ویتامین C و E بر روند رشد، شاخص های خونی، بیوشیمیایی، آنزیم های کبدی و سیستم ایمنی بچه تاسماهی سیبری (*Acipenser baeri*) به مدت ۱۲ هفته طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها**جیره‌های غذایی و نحوه تهیه آن**

جیره آزمایشی و ترکیبات جیره پایه نیمه خالص در جدول ۱، نشان داده شده است. ده جیره غذایی حاوی دو سطح E (۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جیره) استات dl-توکوفرول (TA) هر یک با پنج سطح (۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم اسید L-آسکوربیک (AA) در جیره در شکل L-آسکوربیل - ۲- منوفسفات (AMP) فرموله گردید. جیره ها بصورت $E_0 C_0$ ، $E_0 C_{100}$ ، $E_0 C_{200}$ ، $E_0 C_{400}$ و $E_0 C_{800}$ (بدون افزودن ویتامین E) و $E_{200} C_0$ ، $E_{200} C_{100}$ ، $E_{200} C_{200}$ ، $E_{200} C_{400}$ و $E_{200} C_{800}$ (۲۰۰ میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره) تدوین شدند. کازئین و ژلاتین به عنوان منابع اصلی پروتئین در جیره های آزمایشی نیمه خالص استفاده شدند. آرد ماهی بدون چربی برای افزایش قابلیت دلپذیری غذا به جیره ها افزوده شد. آرد ماهی چهار بار با اتانول گرم (۷۵-۸۰°C، ۱:۲ W/V) قبل از ترکیب با جیره ها، آبیگری شد (Bai, 2001). در جیره های مکمل شده با منبع ویتامین C، مقدار یکسانی از سلولز خارج شد تا ظرفیت غذای مناسب نگه داشته شود. جیره های آزمایشی حاوی ۴۲٪ پروتئین خام و ۱۹/۷ کیلوژول انرژی در هر گرم جیره بر اساس محاسبات (محسنی و همکاران، منتشر نشده) تدوین گردید. قبل از شروع آزمایش غذایی، ماهیان با جیره شاهد بدون ویتامین C و E برای مدت ۲ هفته برای سازگاری به جیره پایه نیمه خالص و برای خالی شدن بدن از ذخایر احتمالی ویتامین C و E تغذیه شدند.

پس از تنظیم و تعیین درصد هر یک از اجزای سازنده جیره‌ها، اقدام به ترکیب و آماده سازی آنها توسط دستگاه پلت زن CPM شد. پلتها به قطر ۴ میلی‌متر تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به منظور کاهش رطوبت به میزان ۹ تا ۱۰٪ قرار داده شدند. جیره‌ها پس از خشک‌شدن، بسته بندی، شماره‌گذاری شده و تا زمان مصرف در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. یک ساعت قبل از مصرف و توزیع غذا، جیره‌ها خارج و پس از متعادل شدن با دمای

اتاق با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین و در اختیار ماهیان قرار گرفت.

تهیه ماهیان و نحوه پرورش

تعداد ۳۰۰ عدد بچه فیله‌های با وزن متوسط $1/66 \pm$ ۲۹/۸ گرم، بطور تصادفی در ۳۰ وان فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری (قطر ۱۰۵ سانتیمتر، ۵۳ سانتیمتر ارتفاع و حجم مفید آب ۳۵۰ لیتر) در فضای سرپوشیده مجهز به سیستم هوادهی، تخلیه آب مرکزی و شیرهای تنظیم آب (بصورت فواره‌ای) با دبی آب ۴/۵ لیتر در دقیقه (آب رودخانه سفیدرود) در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر بمدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. هر جیره به ۳ وان فایبرگلاس داده شد. ماهیان ۳ بار در روز در ساعات ۸-۱۶ و ۲۴ شب تا حد سیرایی به صورت دستی غذادهی شدند. منظور کاهش استرس، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست سنجی، غذادهی ماهیان قطع گردید. جهت زیست سنجی، ماهیان توسط محلول ۲۰۰ پی پی ام پودر گل میخک بیهوش شدند (محسنی و همکاران، ۱۳۸۵).

جدول ۱: اجزای غذایی جیره شاهد و آنالیز تقریبی آن

درصد	ترکیبات غذایی
۳۰	آرد ماهی (Defatted)
۲۰	کازئین (بدون ویتامین)
۹	کنجاله سویا
۶	ژلاتین
۱۳	دکسترین
۸	آرد گندم
۴	روغن ماهی
۴	روغن ذرت
۲	مکمل ویتامین (ویتامین C و E)
۱	مکمل معدنی
۲	سلولز
-	D1-a-tocophery1 acetate *
	آنالیز تقریبی (درصد)
۹/۹	رطوبت
۴۲/۴	پروتئین خام

ادامه جدول ۱:

۱۳/۷	چربی خام
۱/۸۹	فیبر
۱۰/۳	خاکستر
۱۹/۷	انرژی ناخالص (مگاژول در کیلوگرم جیره)

- آسکوربیل - L ، IU/g: ۲۵۰ *D1-a-tocopheryl acetate
 ; L-ascorbyl-2-monophosphate - ۲ منوفسفات ()
 (با ۳۵٪ درصد خلوص) (C) به عنوان منبع ویتامین AMP
 (Hoffman La Roche, Swiss). مورد استفاده قرار گرفت

مکمل ویتامینی:

Vitamin A 1200,000 I.U. ; Vit. D₃ 400,000 I.U. ;
 Vit. K₃ 0.8 g ; Vit. B₁ 2.5 g ; Vit. B₂ 4 g ; Vit. B₆ 2.5
 g ; Vit. B₁₂ 8 mg ; Niacin 35 mg ; Calcium
 Pantothenate, 10 mg ; Vit. B₉ 1 g ; Biotin 150 mg ;
 Inositol 50 g.

مکمل معدنی:

Mineral supplement supplied (mg/kg diet): Mg (as
 MgSO₄·7H₂O) 1 g ; Fe (as FeC₆H₅O₇·5H₂O) 26
 g ; Zn (as ZnSO₄·7H₂O) 12.5 g ; Cu (as
 CuSO₄·5H₂O) 4.2 ; Co (as CoCl₂·6H₂O) 480 mg ;
 I (as KIO₃) 1g ; Se (Selenoitionine) 2 g ; Colin
 Chloride (as C₅H₁₄CINO) 12g.

آنالیز اجزا و جیره های آزمایشی

مقادیر ویتامین C با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع
 (HPLC; CECIL-1100 SERES) (Lin et al.,)
 (2011) در تیمار شاهد به میزان ۳/۹ میلی گرم به ازای
 هر کیلوگرم جیره تعیین گردید. آنالیز تقریبی ترکیبات،
 مواد اولیه و جیره های آزمایشی بر اساس روشهای
 استاندارد جیره (AOAC (1995) انجام شد. نمونه
 جیره ها در ۱۰۵ درجه سانتیگراد بمدت ۶ ساعت تا
 رسیدن به یک وزن ثابت، برای اندازه گیری رطوبت خشک
 شدند. پروتئین با برآورد نیتروژن کل (N×۶/۲۵) با
 استفاده از روش کجلدال استخراج، چربی با روش سوکسله
 با استفاده از حلال کلروفورم با نقطه جوش ۵۰ تا ۶۰
 درجه سانتیگراد به مدت ۴ تا ۶ ساعت استخراج، میزان
 انرژی موجود در ترکیبات غذایی بوسیله بمب کالریمتر و
 خاکستر با سوزاندن در کوره الکتریکی ۵۵۰ درجه
 سانتیگراد به مدت ۹ ساعت اندازه گیری شدند.

آزمونهای خون شناسی و بیوشیمیایی خون

پس از ۱۲ ساعت قطع غذایی به منظور اطمینان از
 تخلیه محتویات شکمی ماهیان در پایان دوره پرورش و
 بیهوش نمودن ماهیان توسط محلول ۲۰۰ پی پی ام
 پودر گل میخک، از هر تکرار ۳ عدد ماهی به طور تصادفی
 برداشت از انتهای باله مخرجی و در زیر ساقه دمی حدود
 ۵۰۰ میکرو لیتر خون به وسیله سرنگ گرفته شد و در
 ظرف ۱/۵ سی سی اپندورف آغشته به ضد انعقاد هپارین
 ریخته شد و پس از مخلوط شدن از آن گسترش تهیه شد
 و برخی از تستهای هماتولوژی در نمونه ها اندازه گیری
 شد. شاخص های خونی مورد مطالعه، شامل بررسی
 ویژگی های سیتولوژیکی (هماتولوژی) و بیوشیمیایی خون
 بودند

تعداد اریتروسیت ها (RBC) و لکوسیت ها (WBC)
 در میلیمتر مکعب خون در میلیمتر مکعب خون به وسیله
 محلول رقیق کننده رنگی و لام هموسیتومتر محاسبه و
 درصد هماتوکریت به روش سانتریفیوژ میکرو هماتوکریت
 و هموگلوبین به روش اسپکترو فتومتریک محاسبه گردید.
 از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون نیز میزان گلوکز،
 سطوح لیزوزیم، آسپارات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین
 آمینوترانسفراز (ALT) مورد بررسی قرار گرفت.

ویژگی های آب و شرایط محیطی شامل درجه حرارت
 (بر حسب درجه سانتی گراد) و اکسیژن محلول (میلی
 گرم در لیتر) به صورت روزانه و pH به صورت هفتگی
 توسط دستگاه اکسیژن سنج، pH متر، دماسنج اندازه
 گیری و اطلاعات آنها ثبت گردید (AOAC, 2000).

تعیین شاخص های رشد

استفاده از اطلاعات زیست سنجی هر وان، فاکتورهای
 محاسباتی شامل وزن کسب شده (WG%)، شاخص رشد
 ویژه (SGR %/day)، ضریب تبدیل غذایی (FCR) و
 نسبت بازده پروتئین (PER) محاسبه شد.

وزن ابتدایی - وزن انتهایی = میزان وزن کسب شده

(WG)

۱۰۰ × دوره پرورش / (لگاریتم وزن ابتدایی - لگاریتم

وزن انتهایی) = نرخ رشد ویژه (SGR)

بطور معنی داری به ترتیب پائین تر و بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره های E_0 , $E_0 C_{400}$, $E_0 C_{200}$, $E_0 C_{100}$, $E_{200} C_{800}$, $E_{200} C_{400}$, $E_{200} C_{200}$, $E_{200} C_{100}$, C_{800} بود. افزایش ویتامین E با ۲۰۰ میلی گرم استات α - توکوفول، افزایش میانگین وزن ثانویه، وزن کسب شده و شاخص رشد ویژه بچه ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_{200} C_{100}$ ، $E_{200} C_{200}$ ، $E_{200} C_{400}$ و $E_{200} C_{800}$ به طور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_{200} C_0$ بود ($p < 0.05$). بطور کلی کمترین شاخص رشد در ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_0 C_0$ و $E_{200} C_0$ مشاهده گردید.

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از آزمون T تست (Least Significant Difference; LSD) و تست جدا ساز دانکن در انتهای دوره پرورش نشان داد که میانگین وزن کسب شده (WG)، در هر یک از سطوح ویتامین E صفر و ۲۰۰ میلی گرم استات α -توکوفول، با افزایش میزان ویتامین C در جیره، بطور معنی داری افزایش یافت (جدول ۳)، بطوریکه ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی صفر میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بودند. در صورتیکه نتایج آنالیز واریانس میانگین وزن کسب شده در انتهای دوره پرورش با استفاده از آزمون توکی حاکی از آن بود که ماهیان تغذیه شده با سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با تیمارهای شاهد و ۱۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بود. همچنین آزمون توکی هیچگونه اختلاف معنی دار آماری در میانگین وزن کسب شده ماهیان تغذیه شده در سطوح ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم و سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره نشان نداد.

وزن تر تولید شده / وزن غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی (FCR)
 ۱۰۰ × پروتئین مصرف شده / وزن تر تولید شده = نرخ بازده پروتئین (PER)

آنالیز آماری

تحقیق حاضر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی متعادل به روش فاکتوریل 2×5 در سه تکرار روی بچه تاسماهی سبیری مورد بررسی قرار گرفت. کنترل همگنی واریانس و نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون Kolmogorov-Smirnov، بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزارهای Exel و SAS و جهت مقایسه میانگین تیمارها از طریق آزمون چند دامنه دانکن انجام شد، وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح اعتماد ۰.۰۵٪ تعیین گردید.

نتایج

پارامترهای کیفی آب هیچگونه اختلاف معنی داری را در طول دوره پرورش نسبت به یکدیگر نشان ندادند ($p \geq 0.05$). همچنین در طول دوره پرورش، هیچگونه مرگ و میری مشاهده نشد. بعد از گذشت ۱۲ هفته از آزمایش غذادهی، مقادیر متوسط میانگین وزن ثانویه، وزن کسب شده، شاخص رشد ویژه و کارایی پروتئین بچه ماهیان به طور معنی داری تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین C، E و همچنین روابط متقابل ویتامین C و E جیره غذایی قرار گرفتند ($p \leq 0.05$). میانگین وزن ثانویه (W2)، وزن کسب شده (WG) و شاخص رشد ویژه (SGR) بچه تاسماهی سبیری پرورشی تغذیه شده با جیره های $E_0 C_{400}$ و $E_0 C_{800}$ به طور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_0 C_0$ و $E_0 C_{100}$ بود ($p < 0.05$). هیچ اختلاف معنی داری در شاخص های فوق الذکر در ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_0 C_{100}$ و $E_0 C_{200}$ مشاهده نشد. کارایی پروتئین (PER) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) ماهیان تغذیه شده ماهیان $E_0 C_0$

جدول ۲: میانگین وزن ثانویه (W2؛ گرم)، وزن کسب شده (WG)، شاخص رشد ویژه (SGR؛ درصد در روز)، ضریب تبدیل غذا (FCR) و کارایی پروتئین (PER؛ %) بچه تاسماهی سیبری پرورشی سطوح مختلف ویتامین C و E در طول مدت ۱۲ هفته

شماره جیره	ویتامین C جیره (mg/kg diet)	وزن ثانویه (گرم)	وزن کسب شده (WG؛ %)	شاخص رشد ویژه (SGR؛ % Day)	ضریب تبدیل غذایی (FCR)	کارایی پروتئین (PER؛ %)
ویتامین E (صفر میلی گرم بر کیلوگرم جیره)						
E ₀ C ₀	.	۹۸/۵ ^c	۳۰۶/۱ ^c	۱/۷۵ ^c	۲/۰۳ ^a	۰/۷۳ ^c
E ₀ C ₁₀₀	۱۰۰	۱۲۹/۷ ^b	۴۳۵/۴ ^b	۲/۱۱ ^b	۱/۵۱ ^b	۱/۰۶ ^b
E ₀ C ₂₀₀	۲۰۰	۱۳۵/۷ ^b	۴۵۴/۴ ^{ab}	۲/۱۴ ^{ab}	۱/۴۸ ^b	۱/۰۷ ^b
E ₀ C ₄₀₀	۴۰۰	۱۴۷/۵ ^a	۴۸۸/۰ ^a	۲/۲۱ ^a	۱/۴۱ ^c	۱/۱۵ ^a
E ₀ C ₈₀₀	۸۰۰	۱۴۸/۳ ^a	۴۹۸/۴ ^a	۲/۲۴ ^a	۱/۵۲ ^b	۱/۱۷ ^a
Pooled SEM ²						
۰/۰۵						
۰/۰۶						
۰/۰۵						
۳۱/۰۴						
۴/۸۱						
ویتامین E (200 میلی گرم بر کیلوگرم جیره)						
E ₂₀₀ C ₀	.	۱۱۸/۹ ^b	۳۹۰/۱ ^b	۱/۸۹ ^b	۱/۸۸ ^a	۰/۹۳ ^c
E ₂₀₀ C ₁₀₀	۱۰۰	۱۴۲/۳ ^a	۴۹۸/۷ ^a	۲/۱۶ ^a	۱/۴۱ ^b	۱/۱۵ ^{ab}
E ₂₀₀ C ₂₀₀	۲۰۰	۱۵۲/۳ ^a	۵۲۷/۱ ^a	۲/۲۹ ^a	۱/۳۹ ^b	۱/۲۴ ^a
E ₂₀₀ C ₄₀₀	۴۰۰	۱۴۸/۸ ^a	۵۱۶/۴ ^a	۲/۲۷ ^a	۱/۳۳ ^b	۱/۲۲ ^a
E ₂₀₀ C ₈₀₀	۸۰۰	۱۴۸/۹ ^a	۵۱۴/۴ ^a	۲/۲۷ ^a	۱/۳۳ ^b	۱/۲۱ ^a
Pooled SEM ²						
۹/۲۱						
۱۸/۷						
۰/۱۴						
۰/۱۲						
۰/۰۷						
آنالیز واریانس						
ویتامین C	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
ویتامین E	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۱
روابط متقابل ویتامین C×E	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

حروف متفاوت در هر ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهاست (p≤۰/۰۵).

²Pooled standard error of mean: SD/√n.

جدول ۳: مقایسه میانگین وزن کسب شده (WG) بچه تاسماهی سیبری پرورشی تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین C و E در طول مدت ۱۲ هفته با استفاده از آنالیز واریانس دانکن، توکی و تی تست (LSD)

ویتامین C جیره (mg/kg diet)			
Tukey	Duncan	T test (LSD)	ویتامین C جیره (mg/kg diet)
۳۴۸/۱ ^c	۳۴۸/۱ ^b	۳۴۸/۱ ^b	صفر
۴۶۲/۶ ^b	۴۶۲/۶ ^a	۴۶۲/۶ ^a	۱۰۰
۴۹۰/۷ ^{ab}	۴۹۰/۷ ^a	۴۹۰/۷ ^a	۲۰۰
۵۰۲/۳ ^a	۵۰۲/۳ ^a	۵۰۲/۳ ^a	۴۰۰
۵۰۶/۵ ^a	۵۰۶/۵ ^a	۵۰۶/۵ ^a	۸۰۰

حروف متفاوت در هر ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهاست (p≤۰/۰۵).

های $E_0 C_0$ و $E_{200} C_0$ بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با سایر تیمارها بود. نتایج حاکی از آن بود که غلظت پلاسما لایزوزیم ($\mu\text{g/ml}$) ماهیان با میزان ویتامین C و E جیره همبستگی مثبت داشته (جدول ۴)، بطوریکه غلظت آن در ماهیانی که از سطوح ویتامین C و E بالاتر تغذیه کرده بودند، بطور معنی داری بیشتر از ماهیانی بود که با جیره‌های $E_0 C_0$ و $E_{200} C_0$ تغذیه شده بودند. همچنین هیچگونه اختلاف معنی دار آماری در غلظت لایزوزیم ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_0 C_{100}$ ، $E_{200} C_{100}$ ، $E_0 C_{200}$ ، $E_0 C_{400}$ ، $E_0 C_{800}$ ، $E_{200} C_{200}$ ، $E_{200} C_{400}$ و $E_{200} C_{800}$ مشاهده نشد.

سطوح مختلف ویتامین C، E و همچنین روابط متقابل ویتامین C و E جیره غذایی، هیچگونه اختلاف معنی دار آماری در مقادیر متوسط گلوکز خون نداشت (جدول ۴). میزان گلبول قرمز خون (RBC) و گلبول سفید خون (WBC) در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با تیمار فاقد ویتامین C در هر یک از سطوح صفر و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E بود. آنزیم های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارات ترانسفراز (AST) ماهیان تغذیه شده با جیره

جدول ۴: روند تغییرات شاخص های خونی، بیوشیمیایی و آنزیم های کبدی خون بچه تاسماهی سبیری (*Acipenser Bearii*) تغذیه شده با جیره های آزمایشی در انتهای دوره پرورش (۱۲ هفته)

Lysosyme $\mu\text{g/ml}$	ALT (U/L)	AST (U/L)	WBC	RBC	Glucose	ویتامین C جیره (mg/kg diet)	شماره جیره
ویتامین E (صفر میلی گرم بر کیلوگرم جیره)							
۹/۳ ^b	۳/۴ ^a	۳۳۰/۰ ^a	۱۲/۲ ^b	۴۶۰/۵ ^b	۳۲/۴	.	$E_0 C_0$
۱۱/۸ ^a	۲/۹ ^b	۳۱۸/۳ ^b	۱۳/۳ ^a	۵۰۴/۹ ^a	۳۲/۸	۱۰۰	$E_0 C_{100}$
۱۳/۹ ^a	۲/۸ ^b	۳۱۴/۱ ^b	۱۳/۳ ^a	۵۱۶/۵ ^a	۲۹/۲	۲۰۰	$E_0 C_{200}$
۱۲/۱ ^a	۲/۶ ^b	۳۱۵/۸ ^b	۱۳/۲ ^a	۵۱۸/۹ ^a	۲۸/۱	۴۰۰	$E_0 C_{400}$
۱۴/۶ ^a	۲/۶ ^b	۳۱۱/۸ ^b	۱۳/۱ ^a	۵۰۲/۳ ^a	۲۶/۷	۸۰۰	$E_0 C_{800}$
۰/۱۶	۰/۰۴	۱/۸۲	۰/۱۰	۶/۵۸	۰/۸۰	Pooled SEM ²	
ویتامین E (200 میلی گرم بر کیلوگرم جیره)							
۹/۵ ^b	۳/۲ ^a	۳۲۷/۷ ^a	۱۲/۴ ^b	۴۹۱/۳ ^b	۲۶/۸	.	$E_{200} C_0$
۱۲/۲ ^a	۲/۸ ^b	۳۱۰/۱ ^b	۱۳/۳ ^a	۵۱۷/۶ ^a	۲۶/۶	۱۰۰	$E_{200} C_{100}$
۱۳/۱ ^a	۲/۶ ^b	۳۰۹/۱ ^b	۱۳/۳ ^a	۵۲۲/۳ ^a	۲۶/۸	۲۰۰	$E_{200} C_{200}$
۱۳/۰ ^a	۲/۶ ^b	۳۰۹/۷ ^b	۱۳/۲ ^a	۵۱۵/۵ ^a	۲۸/۶	۴۰۰	$E_{200} C_{400}$
۱۵/۸ ^a	۲/۵ ^b	۳۰۸/۳ ^b	۱۳/۲ ^a	۵۱۲/۳ ^a	۲۷/۵	۸۰۰	$E_{200} C_{800}$
۰/۵۸	۰/۰۸	۱/۲۳	۰/۸۸	۳۴/۶	۲/۰۷	Pooled SEM ²	
آنالیز واریانس							
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۴۷	ویتامین C	
۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۳	۰/۰۶۳۱	۰/۰۱۹	۰/۰۳۳	۰/۲۱۴	ویتامین E	
۰/۰۰۰۱	۰/۲۲۴	۰/۱۶۱۶	۰/۲۲۶	۰/۱۶۲	۰/۲۲۴	روابط متقابل ویتامین C×E	

حروف متفاوت در هر ردیف نشاندهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهاست ($P \leq 0.05$).

²Pooled standard error of mean: SD/\sqrt{n} .

بحث

ویتامین C و E جیره و اثرات متقابل آنها اثرات معنی داری در کارایی رشد در مطالعه حاضر داشت. بطوریکه میانگین وزن ثانویه، وزن کسب شده، شاخص رشد ویژه و کارایی پروتئین بچه تاسماهی سبیری پرورشی، همراه با مقادیر کاهش یافته برای ماهیان تغذیه شده با جیره هایی که از نظر ویتامین E و C کمبود داشتند، با افزایش ویتامین E [۲۰۰ میلی گرم استات dL-توکوفرول (TA) در هر کیلوگرم جیره] افزایش یافت. اثر صرفه جویی ویتامین E جیره روی ویتامین C در گونه تاسماهی سبیری پرورشی به وضوح در این مطالعه به اثبات رسید. در خصوص دلایل کاهش روند رشد در مطالعه حاضر در آن دسته از ماهیانی که جیره های با کمبود ویتامین C تغذیه شده بودند را می توان به یافته های - Gouillou Coustans و همکاران (۱۹۹۰)، اشاره نمود. آنان کاهش شاخص رشد در ماهی توربوت تغذیه شده با جیره بدون اسید L-آسکوربیک (AA) را به دلیل نقص شدید متابولیسم تیروزین که منجر به بیماری گرانولوماتوز کلیوی می شود، عنوان نمودند. اثرات متقابل بین ویتامین C و E در تیلاپیا (Shiau & Huang, 2001) گزارش شد. در گزارش آنها، سطح بالای مکمل اسکوربات (مقدار 3×) می تواند ویتامین E در جیره ها را برای هیبرید تیلاپیا کمتر کند و اسید L-آسکوربیک و L-اسکوربیل -۲- مونو فسفات منیزیم اثر صرفه جویی مشابهی نشان دادند.

در مطالعه حاضر کمترین وزن کسب شده در تیمار تغذیه شده با صفر درصد ویتامین C و E جیره مشاهده گردید. این نتایج بیانگر این مطلب است که سطوح ویتامینی استفاده شده در جیره ها بر کارایی رشد و تغذیه تاثیر گذار بوده است. بر اساس آنالیز واریانس توکی مقادیر متوسط وزن کسب شده با افزایش مقادیر ویتامین C بطور معنی داری افزایش یافت (جدول ۳). نتایج مطالعه حاضر با یافته های فلاحکار و همکاران (۱۳۸۴ و ۱۳۸۵) همخوانی دارد. آنان تاثیر سطوح مختلف ویتامین C در گونه فیلماهی (*Huso huso*) را مورد بررسی قرار داد و اذعان نمودند که ماهیان تغذیه شده با سطوح بالاتر ویتامین C از روند رشد، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد

ویژه میزان مناسبتری نسبت به تیمارهای تغذیه شده با سطوح کمتر ویتامین C برخوردار می باشند. Affonso و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی سطوح مختلف ویتامین C با مقادیر (۳۵۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ mg/kg) بر روی رشد ماهیان جوان *Brycon amazonicus* با وزن متوسط اولیه 5 ± 55 گرم و به مدت ۲ ماه پرورش، که روند رشد ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۸۰۰ mg/kg ویتامین C بطور معنی داری نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. اصولاً نیاز به ویتامین بر اساس وزن کسب شده، عدم وجود علائم کمبود، فعالیت های آنزیمی مرتبط، یا ذخیره ویتامین C بافتی تعیین می گردد.

مطالعات دقیق پیشنهاد می نمایند که سطح توصیه شده ویتامین C باید چندین برابر بیش از سطح جلوگیری کننده از اسکوروی یا تهی شدن اسکوربات بافتی در نظر گرفته شود (Sealey & Gatlin, 2002). بر اساس مطالعات حاضر می توان اذعان نمود که سطوح بالای ویتامین های C در صورت عدم وجود یا فقدان ویتامین E و یا سطوح بهینه ویتامین E (۲۰۰ میلیگرم به ازای هر کیلوگرم جیره) در سطوح پایین ویتامین C می تواند بر کارایی رشد و تغذیه تاثیر موثر باشد. به عبارت دیگر اندرکنش متقابل مثبتی بین سطوح بالای ویتامین E جیره و سطوح پایین ویتامین C جیره بر روی وزن کسب شده مشاهده می شود. احتمالاً مقادیر بالای ویتامین C می تواند ماهی را در مقابل فقدان ویتامین E محافظت نماید. از سوی دیگر اندرکنش متقابل مثبت سطوح بالای ویتامین E و سطوح پایین ویتامین C نشاندهنده وجود تاثیر مثبت سطح بالای ویتامین های C و E در محافظت از رشد در صورت کمبود یا عدم وجود هر یک از ویتامین-های C و E است (Garcia et al., 2007). همچنین به دلیل وجود آنزیم GLO در ماهیان خاویاری سطوح کم این ویتامین در جیره می تواند با سنتز آن در کلیه این ماهیان جبران شده و به همراه سطوح بالای ویتامین E بر روی وزن کسب شده موثر باشند. Trenzado و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه تاثیر سطوح مختلف ویتامین E, C و HUFA جیره در ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با وزن متوسط اولیه $5/2 \pm$ ۵۳/۱ گرم و به مدت ۴۲ روز تحت شرایط متراکم،

دریافتند که شاخص وزن کسب شده در ماهیان تغذیه شده با جیره (+E-HUFA) با مقادیر $(E = 275/6 \text{ mg/kg}$ و $HUFA = 0 \text{ g/kg}$) و ماهیان تغذیه شده با جیره (-E+HUFA) با مقادیر $(E = 30/5 \text{ g/kg}$ و $HUFA = 0 \text{ mg/kg}$) بدست آمد. در مطالعه حاضر ضریب تبدیل غذایی (FCR) ماهیان تغذیه شده با جیره هایی با کمبود ویتامین C خصوصا بعد از هفته هشتم پرورش، بطور معنی داری کمتر از ماهیانی بود که با جیره مکمل ویتامین C در هر یک از سطوح ویتامین E تغذیه کرده بودند. نشانه های این کمبود به خوبی در گونه های دیگر ماهیان از جمله تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) (تاتینا و همکاران، ۱۳۸۹) و گونه تاسماهی شیپ (*A. nudiventris*) (محسنی و همکاران، ۱۳۸۹) که با جیره های بدون ویتامین C یا جیره هایی با کمبود ویتامین C تغذیه شده بودند، گزارش شده است. نتایج مطالعات تاتینا و همکاران (۱۳۸۹) در خصوص گونه استرلیاد پرورشی نشان داد، وزن کسب شده در تیمارهای $E0 \text{ C}400 \text{ mg/kg}$ بطور معنی داری نسبت به تیمارها بیشتر بوده و به عبارت دیگر تاثیر سطوح مختلف ویتامین های C و E جیره قرار گرفته است. اثرات متقابل ویتامین C و E جیره غذایی در گونه شیپ پرورشی (*Acipenser nudiventris*) به مدت ۴۳ هفته توسط محسنی و همکاران (۱۳۸۹) حاکی از آن بود، جیره های غذایی به طور معنی داری بر بلوغ و رسیدگی جنسی ماهیان نر و ماده تاثیر گذار بودند ($p \leq 0.05$). بالاترین میزان رسیدگی جنسی در ماهیان تغذیه با جیره E200 C400 مشاهده شد. آنان بر اساس تفاوت های مشاهده شده، تاثیر جیره های غذایی بر روند رشد و بلوغ جنسی ماهیان، استفاده از جیره E200 C200 برای ماهیان نر و جیره E200 C400 برای ماهیان ماده به منظور دستیابی به رسیدگی مطلوب جنسی را توصیه نمودند. Lenient و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی تاثیر سطوح مختلف ویتامین E جیره (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ mg/kg) بر روی رشد ماهیان انگشت قد ماهی (*Heterobranchus longifilis*) دریافتند که شاخص ضریب رشد ویژه (SGR) در گروه ماهیانی که مکمل جیره ای حاوی

۵۰ mg/kg ویتامین E تغذیه شدند، نسبت به جیره فاقد مکمل و سایر تیمارهای بیشتر بود. البته این اختلاف نسبت به گروه شاهد و گروه های دیگر تغذیه شده با سطوح دیگر ویتامین E معنی دار نبود. Papp و همکاران (۱۹۹۵) با بررسی اثر سطوح مختلف ویتامین C (صفر، ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ mg/kg) در تاسماهی هیبرید (*Acipenser ruthenus* × *A.baeri*) با وزن متوسط اولیه $2/1 \pm 11/9$ در شروع آزمایش، پس از ۸ هفته پرورش (دمای متوسط ۲۲-۲۳ درجه سانتی گراد)، هیچ اختلاف معنی داری بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده نکرد، هر چند اثر مثبت ناچیزی به دنبال اضافه نمودن ویتامین C در روند رشد مشاهده نمود. همچنین استفاده از سطوح و انواع مختلف این ویتامین در ماهی مذکور در همان شرایط وزنی و دمایی به مدت ۱۶ هفته نیز اختلافی را در رشد نشان نداد و حتی علائم فقدان این ویتامین نیز در ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد ویتامین C مشاهده نگردید.

میزان گلبول قرمز خون (RBC) و گلبول سفید خون (WBC) در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم جیره بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با تیمار فاقد ویتامین C در هر یک از سطوح ۰ و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین E بود. Papp و همکاران (۱۹۹۵) با بررسی اثر ویتامین C بر تاسماهی هیبرید با وزن متوسط $2/1 \pm 11/9$ به مدت ۸ هفته دریافتند مقدار ۱۰۰۰ و 2000 mg/kg دارای اثر معنی داری بر هماتوکریت می باشد. همچنین در مورد لوکوکریت، اریتروسیت و لوکوسیت، در دوز صفر کمترین مقدار مشاهده گردید که با سایر دوزها اختلاف معنی داری را نشان می دهد - ($p < 0.05$). ویتامین C جهت رهاسازی آهن متصل شده فریتین از کبد جهت استفاده آهن در فرآیند اریتروپوئیس ضروری است. نقش فقدان ویتامین C در بروز آنمی هنوز نامشخص است. در هر حال در برخی گونه ها، این امر می تواند هم به دلیل همراهی کاهش جذب جیره و با نقش این ویتامین در متابولیسم آهن باشد. فقدان ویتامین C، فریک هموگلوبین را به فرس تبدیل کرده و بنابراین با

تیمار صفر با $24/7 \pm 85/6$ و حداکثر آن را در تیمار 800 mg/kg به میزان $28/4 \pm 10/2$ مشاهده و اذعان نمود فعالیت لیزوزیم موجود در سرم خون فیلماهیان با افزایش ویتامین C افزایش می یابد. بنابراین ویتامین C تاثیر مثبتی بر فعالیت لیزوزیم سرم خون هر چند ناچیز در فیلماهیان می گذارد. در مجموع نتایج تحقیق حاضر در تاسماهی سبیری پرورشی نشان داد کنش درونی متقابل مثبت سطوح بالای ویتامین E و سطوح پایین ویتامین C نشان دهنده وجود تاثیر مثبت سطح بالای ویتامین های C و E در محافظت از رشد در صورت کمبود یا عدم وجود هر یک از ویتامین های C و E است. در مطالعه حاضر ماهیان تغذیه شده با جیره محتوی $E_{200} C_{200}$ دارای بالاترین روند رشد و کارایی تغذیه بودند. با توجه به نتایج مطالعه حاضر نیاز ویتامین C در بچه تاسماهی سبیری (*Acipenser baeri*) به میزان 200 میلی گرم در جیره در صورت کمبود ویتامین E (صفر میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره) و 100 میلی گرم ویتامین C مکمل شده با 200 میلی گرم ویتامین E در هر کیلوگرم جیره به منظور بهبود روند رشد، کارایی غذا و سیستم ایمنی تعیین گردید.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی استانداری استان گیلان در قالب پروژه "تولید جیره بهینه فیلماهی، تاسماهی ایرانی، شیب و تاسماهی سبیری (فاز اول: فیلماهی و تاسماهی سبیری)" در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر اجرا گردید. از کلیه همکاران و عزیزانی که طی مراحل اجرایی پروژه از حمایت های بیدریغ آنان بهره مند شدیم، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

منابع

فلاحتکار، ب.، 1384. اثرات ویتامین C جیره بر برخی شاخص های هماتولوژیک، بیوشیمیایی و رشد در فیل ماهی (*Huso huso*) پایان نامه دکتری تخصصی شیلات، دانشگاه تربیت مدرس نور، 86 صفحه.

حمل پلاسما و جذب سلولی آهن همراه است. این ویتامین همچنین می تواند به عنوان تسهیل کننده جذب آهن در جیره عمل کند. فقدان ویتامین C می تواند باعث آسیب آهن رها شده از ذخایر رتیگو- اندوتلیال شده و بنابراین جلوی سنتز اریتروسیت ها را گرفته و باعث توسعه آنمی گردد (Sandnes, 1991).

آنزیم های کبدی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپاراتات ترانسفراز (AST) ماهیان تغذیه شده با جیره های $E_0 C_0$ و $E_{200} C_0$ بطور معنی داری بالاتر از ماهیان تغذیه شده با سایر تیمارها بود. نتایج حاکی از آن بود که غلظت پلاسما لایزوزیم ($\mu\text{g/ml}$) ماهیان با میزان ویتامین C و E جیره همبستگی مثبت داشته (جدول 4)، بطوریکه غلظت آن در ماهیانی که از سطوح ویتامین C و E بالاتر تغذیه کرده بودند، بطور معنی داری بیشتر از ماهیانی بود که با جیره های $E_0 C_0$ و $E_{200} C_0$ تغذیه شده بودند. عدم حضور ویتامین C در جیره غذایی میزان فاکتورهای ایمنی را کاهش می دهد، نتایج نشان داد که فاکتورهای ایمنی در تیمارهای بالای ویتامین C خصوصا در سطح بهینه ویتامین E تاثیر بهتری را نشان داد. این نتایج را می توان با نتایج سایر دانشمندان منطبق دانست، مطالعات نشان می دهد سطح فعالیت لیزوزیم در ماهیان خاویاری به نسبت ماهیان استخوانی کمتر به نظر می رسد. Jeney و Jeney (2002) با بررسی اثر دوزهای مختلف ویتامین C در تاسماهی هیبرید (*A. ruthenus* × *A. baeri*) با وزن متوسط $12-10 \text{ g}$ و در دمای $22-23$ درجه سانتی گراد به این نتیجه رسیدند که میزان فعالیت لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سطح 100 mg/kg و 1000 ویتامین C به مقدار $2/05 \pm 10/89 \mu\text{g/ml}$ و $2/33 \pm 11/24$ بوده که با دوزهای 10 و صفر که به ترتیب $0/6 \pm 1/4$ و $0/2 \pm 1/3 \mu\text{g/ml}$ بودند، اختلاف معنی دار آماری را نشان می دهند. بدین دلیل آنها پیشنهاد نمودند که افزودن ویتامین C به جیره ممکن است برخی موارد مثبت را در مراحل اولیه رشد ماهیان خاویاری بوجود آورد. فلاحتکار در سال 1384، در مطالعه ای که به منظور پرورش فیل ماهیان جوان با سطوح مختلف از ویتامین C در طی 16 هفته انجام داد. حداقل مقدار لیزوزیم اندازه گیری شده را در هفته شانزدهم در

- (*Cyprinus carpio*) enriched in fatty acids. Food Technology, 36: 61-73.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1995.** Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2000.** In: Horwitz, W. (Ed.), Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. AOAC, Arlington, Virginia, USA. 71p.
- Bai, S.C., 2001.** Requirements of L-ascorbic acid in a viviparous marine teleost, Korean rockfish, *Sebaster schlegeli*. In: (K. Dabrowski ed). Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC press. pp.69-85.
- Cho, S.H., Lee, S.M. and Lee, J.H. 2005.** Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) reared under optimum salinity and temperature conditions. Aquaculture Nutrition, 11: 235-240.
- Fontagné, S., Bazina D., Brèquea, J., Vachota, C., Bernardea, C., Rouaultb, T. and Bergot, P., 2006.** Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae. Aquaculture, 257: 400-411.
- Furné, M., Morales, A.E., Trenzado, C.E., García-Gallego, M., Hidalgo, M.C., Domezain, A. and SanzRus, A., 2012.** فلاحتکار، ب.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، کلباسی، م.، پورکاظمی، م. و یاسمی، م.، ۱۳۸۵. تاثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیلماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. ۱۰۳-۹۸: ۷۲.
- تاتینا، م.، ۱۳۸۹.** بررسی تاثیر مختلف ویتامین C و E جیره غذایی بر برخی از شاخص های خونی و رشد استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) پرورشی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. رساله دکترا. ۲۵۲ صفحه.
- محسنی، م.، پورکاظمی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی ر. و علیزاده، م.، ۱۳۸۵.** گزارش نهایی پروژه تعیین احتیاجات غذایی فیلماهی از مرحله لاروی تا مرحله عرضه به بازار. انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۲۲۴ صفحه.
- محسنی، م.، بهمنی، م.، پورعلی، ح.، کاظمی ر. و حلاجیان، ع.، ۱۳۸۹.** گزارش نهایی پروژه مطالعه امکان تولید گوشت، خاویار و بچه ماهی از تاسماهیان پرورشی (تاسماهی ایرانی، فیلماهی، شپ و ازون برون). انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری. موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران. ۱۳۴ صفحه.
- Affonso, E.G., Silva, E.C., Tavares-Dias, M., Menezes, G.C., Carvalho, S.M., Nunes, E.S.S., Ituassu, D.R., Roubach, R., Ono, E.A., Fim, J.D.I. and Marcon, J.L., 2007.** Effect of high level of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxa (*Brycon amazonicus*). Comprative Biochemistry and physiology, 147: 383-388.
- Aprodu, I., Vasile, A., Gurau, G., Ionescu, A. and Paltenea, E., 2012.** Evaluation of nutritional quality of the common carp

- The metabolic effects of prolonged starvation and refeeding in sturgeon and rainbow trout. *Journal of Comparative Physiology. Part B*, 182: 63-76.
- Garcia, F., Pilarski, F., MakotoOnaka, E., Moraes, F. and Martins, M., 2007.** Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 271: 39-46.
- Gaylord, T.G. and Gatlin, III D.M., 2001.** Growth performance, body composition and plasma thyroid hormone status of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in response to short-term feed deprivation and refeeding. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24: 73-79.
- Gouillou-Coustans, M.F., Guillaume, J., Metailler, R., Dugornay, O. and Messenger, J.L. 1990.** Effect of an AA deficiency on tyrosinemia and renal granulomatus disease in turbot (*Scophthalmus maximus*) interaction with a slight polyhypovitaminosis. *Comp. Biochem. Physiol.*, 97: 145-152.
- Jeney, G. and Jeney, Z., 2002.** Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defence mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus* × *A. Baerii*. *Journal of Applied Ichthyology*, 18: 416- 419.
- Lee, K.J. and Dabrowski, K. 2004.** Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture*, 230: 377-389.
- Lenient, M.I., Atteh, J.O., Omotosho, J.S., Madu, C.T., 2008.** Response of *Heterobranchus longifilis* fingerlings to supplemental dietary vitamin E. *J. Fish. Aquat. Sci.*, 3: 22-30.
- Lin, Y.H., Lin, H.Y. and Shiau, S.Y., 2011.** Dietary folic acid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and its effects on non-specific immune responses. *Aquaculture*, 215: 203-211
- Mohseni, M., Hassani, M.H., Pourali, F.H., Pourkazemi, M. and Bai, S.C., 2011.** The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27: 737-742.
- Mohseni, M., Purkazemi, M., Hassani, M.H., Hosseini, M.H. and Bai, S.C., 2013.** Effect of the dietary protein requirements and optimum dietary protein to energy ratios in Persian sturgeon, *Acipenser Persicus*. *Aquaculture Research*, 44: 378-387.
- Papp, Z., Jeney, G. and Jeney, G., 1995.** Comparative studies on the effect of vitamin C feeding of European catfish (*Silurus glanis* L.) and sturgeon hybrid (*Acipenser ruthenus* L. × *Acipenser baeri* L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 372- 374.
- Peng, L.I. and Gatlin, D.M. 2009.** Dietary vitamin E requirement of the red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Nutrition*, 15: 313-319.
- Rigotti, A. 2007.** Absorption, transport and tissue delivery of vitamin E. *Mol. Aspects Med.*, 28: 423-436.

- Ruff, N., Fitzgerald, R.D., Cross, T.F., Hamre, K. and Kerry, J.P. 2003.** The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. *Aquaculture Nutrition*, 9: 91-103.
- Sandnes, K., 1991.** Vitamin C in fish nutrition - a review. *Fisk. Dir. Skr. Ser. Ernaer.* 4: 3-32.
- Sealey, W.M. and Gatlin, III D.M., 2002.** Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* female × *M. saxatilis* male) but have limited effect on immune responses. *Journal of Nutrition*, 132:748-755.
- , S.Y. and Huang, S.Y., 2001.** Dietary folic acid requirement for maximum growth of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Fisheries Science* 67: 655-659.
- Trenzado, C., Higuera, M. and Morales, A. 2007.** Influence of dietary vitamins E and C and HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions. *Aquaculture*, 263: 249-258.
- Yokoyama, H., Takashi, T., Ishihi, Y. and Abo, K., 2009.** Effects of restricted feeding on growth of red sea bream and sedimentation of aquaculture wastes. *Aquaculture*, 286: 80-88.