



تأثیر جیره غذایی حاوی پودر ماهی فاسد و اثرات حفاظتی مکمل ویتامینی E و C بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مجتبی پوراحد انزابی^۱، کوروش سروی مغانلو^{۲*}، احمد ایمانی^۲، راحله طهماسبی^۳

۱. دانشجوی دکتری گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. استادیار گروه شیمی تجزیه، کروماتوگرافی جهاد دانشگاهی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر پودر ماهی فاسد به‌همراه اثرات حفاظتی ویتامین‌های E و C بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت. بدین‌منظور ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی با میانگین وزنی $12/75 \pm 0/25$ گرم در چهار تیمار شامل تیمار ۱: جیره غذایی حاوی پودر ماهی تازه، تیمار ۲: پودر ماهی فاسد، تیمار ۳: پودر ماهی فاسد به‌همراه سطح کم مکمل ویتامینی (100 mg/kg) میلی گرم/کیلوگرم ویتامین E، 200 میلی گرم/کیلوگرم ویتامین C و تیمار ۴: پودر ماهی فاسد به‌همراه سطح زیاد مکمل ویتامینی (200 میلی گرم/کیلوگرم ویتامین E، 400 میلی گرم/کیلوگرم ویتامین C)، به‌مدت 60 روز تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش، شاخص‌های وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شدند. همچنین شاخص‌های خونی، کلسترول، تری‌گلیسیرید، HDL و LDL مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که شاخص‌های رشد نهایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ کاهش و ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت ($P \leq 0/05$). تعداد گلبول‌های سفید (WBC) و هموگلوبین (Hb) در تیمارهای ۳ و ۴ و تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و درصد هماتوکریت (Htc%) در تیمار ۳ افزایش یافت ($P \leq 0/05$). تری‌گلیسیرید تحت تأثیر مکمل ویتامینی در تیمارهای ۳ و ۴ کاهش یافت ($P \leq 0/05$) و لی کلسترول و LDL در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش و در تیمار ۴ کاهش یافت ($P \leq 0/05$). HDL نیز در تیمارهای حاوی مکمل ویتامینی ۳ و ۴ افزایش یافت ($P \leq 0/05$). می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که پودر ماهی فاسد بر شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی تأثیر منفی دارد و مکمل ویتامینی در کاهش این اثرات در شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی مؤثر است.

واژگان کلیدی: پودر ماهی فاسد، ویتامین‌های E و C، شاخص‌های رشد، فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان



The effect of a diet containing spoiled fish meal and the protective effects of vitamin E and C supplements on growth, hematological and biochemical indices of rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*)

Mojtaba Pourahad Anzabi¹, Kouros Sarvi Moghanlou^{2*}, Ahmad Imani², Raheleh Tahmasebi³

1. Ph.D. Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Urmia, Urmia, Iran
3. Assistant Professor, Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research, Urmia, Iran

Received: 12-Nov-2022

Accepted: 07-Feb-2023

Abstract

The present study was carried out with the aim of investigating the effect of a dietary spoiled fish meal along with the protective effects of vitamins E and C on the growth, hematological and biochemical indices of rainbow trout fingerlings. For this purpose, 240 rainbow trout fingerlings with an average weight of 12.75 ± 0.25 g were fed on 4 treatments diets including: 1: a diet containing fresh fish meal; treatment 2: a diet with spoiled fish meal; treatment 3: a diet with spoiled fish meal and low level of vitamin supplements (100mg/kg vitamin E, 200mg/kg vitamin C) and treatment 4: a diet containing spoiled fish meal and high levels of vitamin supplements (200mg/kg vitamin E, 400mg/kg vitamin C) for 60 days. At the end of the test period, the indices of final weight, specific growth rate, body weight gain, and food conversion ratio were calculated. Also, hematological parameters, cholesterol, triglyceride, HDL, and LDL were evaluated. Based on the obtained results, the final weight, specific growth rate, and body weight gain decreased in treatments 2, 3, and 4, while the food conversion ratio increased ($P \leq 0.05$). WBC and Hb increased in treatments 3 and 4 ($P \leq 0.05$). RBC and Htc% augmented in treatment 3 ($P \leq 0.05$). Triglyceride diminished in treatments 3 and 4 ($P \leq 0.05$), but cholesterol and LDL increased in treatments 2 and 3 and decreased in treatments 2 ($P \leq 0.05$). HDL has grown in treatments 3 and 4 ($P \leq 0.05$). It can be concluded that spoiled fish meal harms growth, hematological, and biochemical indices, and vitamin supplements are impacts on reducing these effects in hematological and biochemical indices.

Keywords: Spoiled fish meal, Vitamin E, Vitamin C, Growth indices, hematological and biochemical parameters, Rainbow trout

۱. مقدمه

افزایش تولید در آبی پروری به کیفیت و تازگی مواد خام اولیه جیره غذایی بستگی دارد (Hardy *et al.*, 1994). کیفیت پایین جیره غذایی آبیان می‌تواند ناشی از فاسد بودن اقلام غذایی مانند منابع پروتئینی باشد (Terjesen *et al.*, 2006). در این بین، استفاده از پودر ماهی با کیفیت، نقش مؤثری در کیفیت گوشت ماهی پرورشی و همچنین ارزش غذایی آن دارد. شرایط نامناسب نگهداری این محصول می‌تواند کیفیت جیره تولیدی را کاهش دهد (Denis *et al.*, 1998). حدود ۲۰ تا ۳۵ درصد زی‌توده ماهیان صید شده به روغن ماهی و پودر ماهی تبدیل و برای مصارف خوراک دام، طیور و آبیان مورد استفاده قرار می‌گیرند (FAO, 2014). یک چهارم پودر ماهی تولیدی در جهان به دلیل اینکه از ضایعات فرآوری ماهیان خوراکی تهیه می‌شود، کیفیت پائینی دارد. از طرفی، به دلیل حجم بالای صید و عدم امکان نگهداری ماهیان در دماهای پایین، هم‌اکنون دسترسی به پودر ماهی با کیفیت محدود شده است (FAO, 2014). اگر چه با توجه به کاهش ذخایر ماهیان و کاهش تولید پودر ماهی، جایگزینی این فرآورده با برخی منابع پروتئینی دیگر صورت می‌گیرد اما با این حال وجود پودر ماهی در جیره غذایی ماهیان پرورشی گوشت‌خوار مثل آزادماهیان از اهمیت بالایی برخوردار است (Ackman and Gunnlaugsdottir, 1992). نیتروژن فرار (TVN) مهمترین شاخص کیفی فساد اقلام اولیه خوراک ماهیان است. مقدار بالای آن به‌عنوان شاخص رشد باکتریایی و بیانگر تجزیه اسیدهای آمینه و کاهش کیفیت پروتئین خوراک محسوب می‌شود. سطوح بیش از حد این شاخص در پودر ماهی نشان‌دهنده وجود ترکیباتی مانند تری‌متیل آمین و آمونیاک در اثر نگهداری نامناسب می‌باشد (Haaland and Njaa, 1989). تری‌متیل آمین از رشد و تجزیه باکتری‌های طبیعی و آمونیاک از تجزیه اسیدهای آمینه به‌وجود می‌آیند. این ترکیبات موجب کاهش پروتئین‌های قابل دسترس در پودر ماهی می‌شوند. با افزایش مدت زمان نگهداری مواد خام،

میزان TVN افزایش و کیفیت خوراک تولیدی کاهش می‌یابد که بر عملکرد ماهیان تغذیه شده با چنین جیره‌هایی اثر می‌گذارد (Haaland and Njaa, 1989). به‌طوری که Tapia-Salazar و همکاران (۲۰۰۴)، شاخص‌های رشد و بقا در میگو *Litopenaeus stylirostris* تغذیه شده با پودر ماهی تازه و فاسد هرینگ (*Clupea harengus*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که این شاخص‌ها در میگوهای تغذیه شده با پودر ماهی فاسد کاهش یافته است. از طرفی، با توجه به اینکه بخشی از پودر ماهی حاوی روغن است، طی فرآیند فاسد شدن کیفیت روغن آن نیز دچار تغییر می‌شود. اکسید شدن روغن پودر ماهی نیز می‌تواند تأثیر منفی بر آبیان بگذارد. در این خصوص نتایج مطالعه Laohabanjong و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که تغذیه میگوهای ببری سیاه (*Penaeus monodon*) با پودر ماهی فاسد که حاوی روغن اکسید شده بود، منجر به کاهش شاخص‌های رشد و آسیب بافت هیپاتوپانکراس شد. محققان به این نتیجه رسیده‌اند که در چنین شرایطی افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین‌ها به جیره غذایی، اثرات حفاظتی خود را دارند (Attia and El-Demerdash, 2002). در این بین، ویتامین‌های E و C نقش مؤثری در حفاظت از سلول‌ها در برابر اثرات تخریبی عوامل نامطلوب تغذیه‌ای ایفا می‌کنند (Adams and Best, 2002). در مطالعه Ali و همکاران (۲۰۱۴)، اثرات حفاظتی ویتامین‌های E و C در مواجهه با سم دی‌ازینون در بهبود برخی شاخص‌های فیزیولوژی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان حاضر به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی و مکمل غذایی آبیان با عوارض جانبی کم در دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرد که با استقرار در غشاء سلولی می‌تواند از لیپوپروتئین غشای سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت نماید (Di Giulio and Meyer, 2008; Hou *et al.*, 2003). ویتامین C نیز یک آنتی‌اکسیدان قوی بوده و می‌تواند مقاومت سلول‌ها را در

(نیترژن فرار) و TBA^2 (تیوباربیتوریک اسید) پودر ماهی تازه و فاسد سنجش شدند (Egan et al., 1981; Haaland and Njaa, 1989). شاخص TVN برای پودر ماهی تازه و فاسد شده به ترتیب ۶۴ و ۷۹ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم و شاخص TBA برای پودر ماهی تازه و فاسد شده به ترتیب ۰/۰۶ و ۳/۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم مالون دی آلدئید به دست آمد. در ادامه درصدهای مشخصی از اقلام غذایی (جدول ۱)، به همراه سطوح مختلف ویتامین های E و C جهت تنظیم جیره های غذایی آزمایشی (جدول ۲) استفاده شد. در جیره پایه، به منظور تامین حداقل نیاز ماهیان از یک درصد مکمل ویتامینی که حاوی ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین E و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C بود، استفاده شد. جیره غذایی تولید شده پس از آنالیز تقریبی (جدول ۳) در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و جهت غذادهی ماهیان هر روز به میزان ۳ درصد وزن بدن در ۳ نوبت و به مدت ۸ هفته استفاده شد (Hung et al., 2008).

۲.۲. محاسبه شاخص های رشد

زیست سنجی ماهیان در پایان دوره پرورش جهت بررسی تغییرات شاخص های رشد انجام و با استفاده از داده های مربوط به وزن و مقدار غذای خورده شده، شاخص های رشد نهایی، نرخ رشد ویژه، درصد افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل غذایی براساس رابطه های زیر به دست آمد (Hamza et al., 2008).

$$\text{وزن نهایی هر تانک} = \frac{\text{زی توده نهایی هر تانک}}{\text{تعداد ماهیان هر تانک}} \times \text{وزن نهایی}$$

$$\times 100 = \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه - لگاریتم طبیعی وزن نهایی}}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times \text{نرخ رشد ویژه}$$

$$\times 100 = \frac{\text{وزن اولیه (گرم) - وزن نهایی (گرم)}}{\text{وزن اولیه}} \times \text{درصد افزایش وزن بدن}$$

$$= \frac{\text{افزایش وزن (گرم)}}{\text{مقدار غذای خشک داده شده (گرم)}} \times \text{ضریب تبدیل غذایی}$$

برابر عوامل اکسیدکننده ارتقاء دهد (Verlhac et al., 1996). این ویتامین برای فعالیت ویتامین D و در سوخت و ساز آهن موثر بوده و همراه با ترشحات بافت آدرنال باعث کاهش اثر استرس محیطی می شود (Lovell, 1989).

با توجه به تأثیر اقلام غذایی اولیه بی کیفیت بر آبیان پرورشی و عدم اجتناب از کاهش کیفیت پودر ماهی تولید شده و اینکه پیشتر تأثیر حفاظتی ویتامین های آنتی اکسیدانی بر عملکرد و وضعیت فیزیولوژی ماهی قزل آلی رنگین کمان بررسی شده است، مطالعه حاضر با هدف تأثیر جیره غذایی حاوی پودر ماهی فاسد به همراه اثرات حفاظتی ویتامین های E و C بر شاخص های رشد، خون شناسی و بیوشیمیایی طراحی و اجرا شد.

۲. مواد و روش ها

۲.۱. تهیه ماهی و شرایط انجام آزمایش

جهت انجام مطالعه حاضر بچه ماهیان قزل آلی رنگین کمان بامیانگین وزنی $12/75 \pm 0/25$ گرم از کارگاهی در استان آذربایجان غربی تهیه و به سالن تکثیر و پرورش پژوهشکده آرمیا و آبی پروری در دانشگاه ارومیه منتقل شدند. پس از سپری شدن دوره سازگاری، بچه ماهیان در مخازن ۳۰۰ لیتری در قالب چهار تیمار و سه تکرار با تراکم ۲۰ عدد تقسیم شدند. برای پرورش از آب چاه با دبی ۰/۵ لیتر در ثانیه با میانگین دمایی $15 \pm 0/5$ درجه سانتی گراد استفاده شد. در ادامه، اقلام اولیه از جمله پودر ماهی جهت ساخت جیره غذایی تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (NRC, 1993). مقداری از پودر ماهی جهت ایجاد فساد با آب ترکیب شده و خمیر به دست آمده در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷ روز گرمخانه گذاری شد (Lanham et al., 1942). پس از این مرحله، پارامترهای فساد پروتئین و چربی شامل شاخص های TVN^۱

^۱Total Volatile Nitrogen

^۲Thio Barbituric Acid

جدول ۱- ترکیب اقلام جیره غذایی پایه (NRC, 1993)

ردیف	اقلام اولیه	درصد در جیره
۱	آرد گندم	۱۱
۲	آرد سویا	۲۰
۳	گلوتن گندم	۱۱
۴	پودر ماهی	۳۵
۵	مخمر	۱۰
۶	روغن ماهی	۱۰
۷	کولین کلراید	۱
۸	مکمل ویتامینی	۱
۹	مکمل معدنی	۱

جدول ۲- تیمارهای آزمایشی بچه ماهیان قزل آلاهی رنگین کمان

تیمار	کیفیت پودر ماهی	ویتامین E (mg/kg در جیره غذایی)	ویتامین C (mg/kg در جیره غذایی)
۱	تازه	۱۰۰ (پایه)	۱۵۰ (پایه)
۲	فاسد شده	۱۰۰ (پایه)	۱۵۰ (پایه)
۳	فاسد شده	۱۰۰ (پایه) + ۱۰۰ (مکمل)	۱۵۰ (پایه) + ۲۰۰ (مکمل)
۴	فاسد شده	۱۰۰ (پایه) + ۲۰۰ (مکمل)	۱۵۰ (پایه) + ۴۰۰ (مکمل)

جدول ۳- تجزیه تقریبی جیره غذایی پایه

شاخص	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر	رطوبت
درصد	۴۲/۲	۱۸/۱	۱۰ >	۱۱ >

۳.۲. سنجش شاخص های خون شناسی و بیوشیمیایی

در پایان دوره پرورشی به صورت تصادفی از هر تانک یک ماهی انتخاب و بامحلول پودر گل میخک با غلظت ۲۵۰ ppm بی هوش و خون گیری از ساقه دمی انجام شد (Akhlaghi and Mirab Brojerdi, 1997). برای سنجش شاخص های خون شناسی از سرنگ آغشته به هپارین استفاده، و داخل میکروتیوب های ۱/۵ سی سی به یخچال منتقل شدند. جهت تعیین تعداد گلبول های قرمز (RBC)، از محلول هایم و توسط ملانژور (Lewis et al., 2006)، مقدار هموگلوبین (Hb)، از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین (Blaxhall and Daisley, 1973) و میزان درصد هماتوکریست (Htc%)، نیز از روش

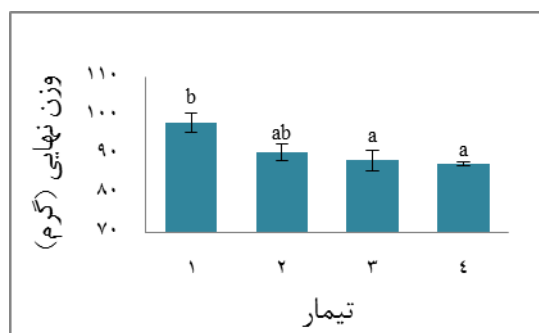
میکروهماتوکریست استفاده شد (Rehulka, 2000). همچنین MCV (تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون/هماتوکریست $\times 10$)، MCH (تعداد گلبول های قرمز بر حسب میلیون/هموگلوبین $\times 10$) و MCHC (هماتوکریست/هموگلوبین $\times 10$) براساس روش توصیه شده توسط Lewis و همکاران (2006) محاسبه شدند. برای تعیین تعداد گلبول های سفید (WBC) از ملانژور و لام نئوبار و شمارش افتراقی گلبول های سفید (نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائزینوفیل) از رنگ آمیزی گیمسا استفاده شد (Lewis et al., 2006). برای تهیه سرم جهت سنجش شاخص های بیوشیمیایی پس از بی هوشی ماهیان، خون گیری از ساقه دمی انجام شد. در ادامه، پس از اینکه خون ها لخته شدند، با استفاده از سانتریفیوژ

ANOVA way) و برای مقایسه میانگین تیمارهای مختلف از آزمون توکی استفاده و نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه و حداقل سطح معنی دار بودن آزمون ها، $0/05$ در نظر گرفته شد.

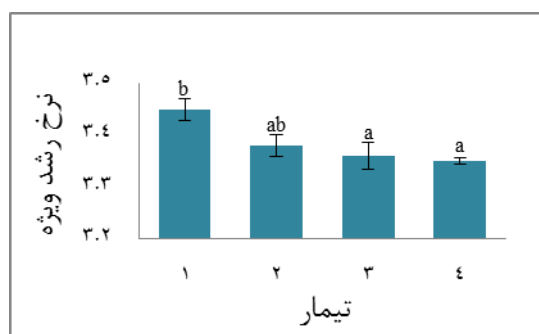
۳. نتایج

۱.۳. شاخص های رشد

نتایج شاخص های رشد در شکل های ۱ تا ۴ ارائه شده است. براساس نتایج، وزن نهایی و نرخ رشد ویژه در تیمار ۱، با تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی داری ($P \leq 0/05$) داشت (شکل ۱). همچنین ضریب تبدیل غذایی و درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ دارای اختلاف معنی داری بود ($P \leq 0/05$)، به طوری که بیشترین وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن (اشکال ۱، ۲ و ۳) و کمترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۱ (شکل ۴) مشاهده شد.



شکل ۱- میانگین تغییرات ($Mean \pm SE$) شاخص وزن نهایی در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان مورد مطالعه

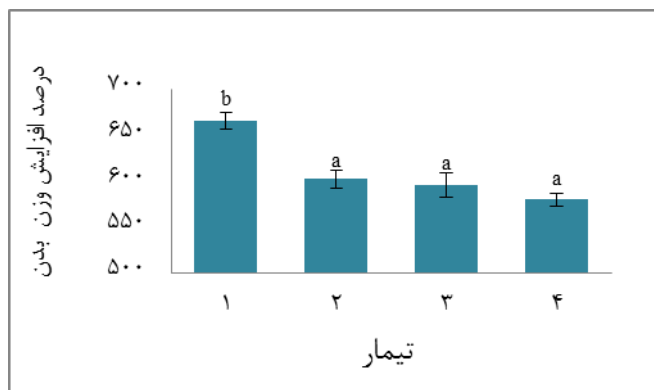


شکل ۲- میانگین تغییرات ($Mean \pm SE$) شاخص نرخ رشد ویژه در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان مورد مطالعه

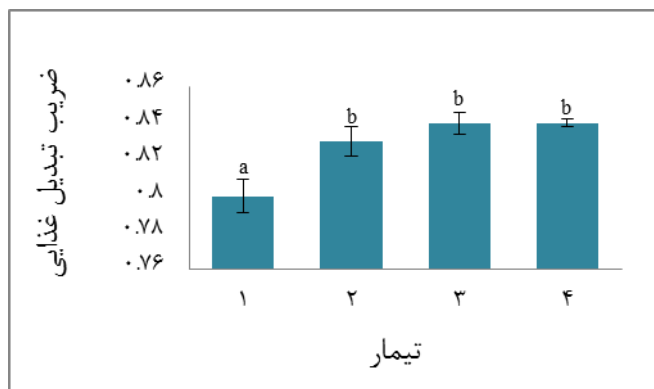
(۳۵۰۰ دور در ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد) سرم به دست آمده به میکروتیوب منتقل و تا انجام آزمایش در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد (Klontz, 1994). اندازه گیری تری گلیسیرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP) و کلسترول و HDL به روش کلسترول اکسیداز (Cholesterol oxidase) صورت گرفت (Borges et al., 2004). LDL نیز از فرمول ارائه شده توسط Friedewald و همکاران (۱۹۷۲) محاسبه شد.

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده ها

پژوهش حاضر به صورت یک طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰۱۰ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد. همچنین از آزمون های کولموگروف-اسمیرنوف و لون به ترتیب برای بررسی نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One-



شکل ۳- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان مورد مطالعه



شکل ۴- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلابی رنگین کمان مورد مطالعه

نشان نداد ($P > 0.05$).

نتایج شاخص‌های بیوشیمیایی (شکل‌های ۵ تا ۸) نشان داد که تری‌گلیسیرید در تیمار ۱ با تیمارهای ۳ و ۴ و در تیمارهای ۲ و ۳ با تیمار ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$). کمترین و بالاترین میزان تری‌گلیسیرید به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد. همچنین براساس نتایج، شاخص‌های کلسترول و LDL تیمار ۱ با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ و در تیمارهای ۲ و ۳ با تیمار ۴ دارای اختلاف معنی‌داری بودند ($P \leq 0.05$). کمترین و بیشترین میزان کلسترول و LDL به ترتیب در تیمارهای ۴ و ۳ مشاهده شد. HDL نیز در تیمارهای ۱ و ۲ با تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$). کمترین و بالاترین میزان HDL به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۳ مشاهده شد.

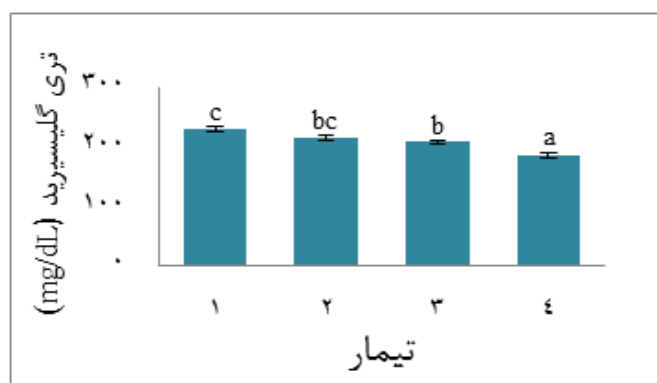
۲.۳. شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی

نتایج آزمون مقایسه میانگین‌های مربوط به شاخص‌های خون‌شناسی (جدول ۳) نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید (WBC) در تیمارهای ۱ و ۲ با اختلاف معنی‌داری کمتر از تیمارهای ۳ و ۴ بود ($P \leq 0.05$). همچنین تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و درصد هماتوکریت (Htc%) در تیمار ۱ با اختلاف معنی‌داری کمتر از تیمار ۳ اختلاف بود ($P \leq 0.05$). هموگلوبین (Hb) نیز در تیمار ۱ با اختلاف معنی‌داری کمتر از تیمارهای ۳ و ۴ بود ($P \leq 0.05$). این نتایج برای شاخص‌های حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC)، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها

جدول ۳- مقایسه میانگین (Mean±SE, n=3) شاخص‌های خون‌شناسی برای تیمارهای مختلف پرورشی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد

مطالعه

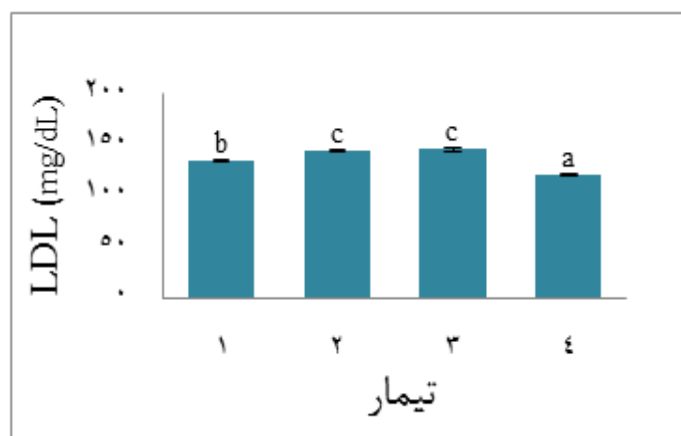
شاخص	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
WBC ($10^3 \times mm^3$)	۴/۶±۰/۴۷ ^a	۴/۷±۰/۲۷ ^a	۶/۳±۰/۲۷ ^b	۶/۳±۰/۳۵ ^b
RBC ($10^6 \times mm^3$)	۱/۳±۰/۰۳ ^a	۱/۴±۰/۰۳ ^{ab}	۱/۵±۰/۰۲ ^b	۱/۴±۰/۰۳ ^{ab}
Hb (g/dL)	۷/۲±۰/۱۶ ^a	۷/۷±۰/۱۴ ^{ab}	۸/۱±۰/۱ ^b	۷/۹±۰/۱۷ ^b
Htc (%)	۳۶/۳±۰/۶۷ ^a	۳۸/۳±۰/۸۸ ^{ab}	۴۰/۷±۰/۸۸ ^b	۳۹/۳±۰/۵۸ ^{ab}
MCV (fL)	۲۷۸±۱/۲	۲۷۶±۱/۲	۲۷۸/۷±۰/۹	۲۷۶/۷±۱/۸
MCH (Pg)	۵۵/۴±۰/۰۶	۵۵/۵±۰/۱۷	۵۵/۵±۰/۰۹	۵۵/۶±۰/۱۲
MCHC (g/dL)	۱۹/۹±۰/۱	۲۰/۱±۰/۲	۱۹/۹±۰/۱	۲۰/۱±۰/۱
نوتروفیل (%)	۱۳±۰/۶	۱۳/۷±۰/۷	۱۵±۰/۶	۱۵/۳±۰/۷
لنفوسیت (%)	۸۱/۷±۰/۳	۸۲/۳±۱/۲	۷۹/۳±۰/۷	۷۹/۳±۰/۹
مونوسیت (%)	۵±۰/۶	۳/۷±۰/۷	۵±۰/۶	۵±۰/۳
اُوزینوفیل (%)	۰/۳±۰/۳	۰/۳±۰/۳	۰/۷±۰/۷	۰/۷±۰/۷



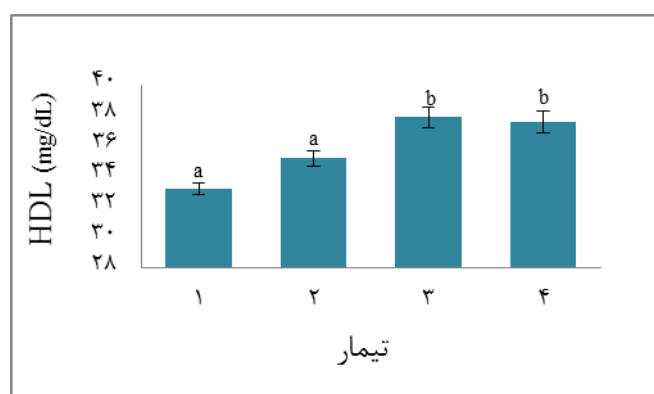
شکل ۵- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص تری‌گلیسرید در تیمارهای مختلف پرورشی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه



شکل ۶- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص کلسترول در تیمارهای مختلف پرورشی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد مطالعه



شکل ۷- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص LDL در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان مورد مطالعه



شکل ۸- میانگین تغییرات (Mean±SE) شاخص HDL در تیمارهای مختلف پرورشی بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان مورد مطالعه

۴. بحث و نتیجه گیری نهایی

پودر ماهی یکی از مهم ترین اقلام اولیه جیره غذایی آبزیان گوشت خوار محسوب می شود. در اثر افزایش مدت زمان نگهداری این محصول میزان TVN آن افزایش یافته و کیفیت خوراک تولیدی کاهش می یابد که بر عملکرد رشد ماهیان تغذیه شده با چنین جیره هایی اثر می گذارد (Haaland and Njaa, 1989).

بررسی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که شاخص های مرتبط با رشد تحت تأثیر پودر ماهی فاسد قرار گرفتند. به طوری که ضریب تبدیل غذایی در ماهیانی که توسط جیره حاوی پودر ماهی فاسد تغذیه شدند، به صورت معنی داری افزایش داشت. عکس همین روند در شاخص های رشد نهایی، نرخ رشد ویژه و درصد افزایش

وزن بدن مشاهده شد و در جیره های حاوی پودر ماهی فاسد این شاخص ها کاهش یافتند. نیتروژن ازت فرار (TVN) به عنوان شاخص رشد باکتریایی و بیانگر تجزیه اسیدهای آمینه در اثر عدم رعایت شرایط مناسب حین فرآیند تولید و نگهداری پودر ماهی افزایش یافته و کیفیت جیره غذایی آبزیان را تحت تأثیر قرار می دهد. تغذیه از چنین جیره هایی منجر به اختلال در عملکرد فیزیولوژی آبزیان شده و در نهایت بر بازدهی رشد آن ها تأثیر می گذارد (Haaland and Njaa, 1989). نتایج مطالعات متعددی حاکی از تأثیر منفی پودر ماهی فاسد بر عملکرد رشد آبزیان دارد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارند. مطالعه Tapia-Salazar و همکاران (۲۰۰۴) بر میگوی *Litopenaeus stylirostris* تغذیه

سطوح مختلف ویتامین C به جیره فیل ماهیان جوان (*Huso huso*) طول دوره پرورشی را در تأثیر بهینه ویتامین‌ها عنوان کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که بیشترین اثر این ویتامین در طول دوره پرورشی کوتاه مدت (۴ هفته) بود و با افزایش طول دوره (۸ هفته) اثر این ویتامین بر شاخص‌های رشد کاهش یافت. در هر صورت بروز چنین نتیجه‌ای در مطالعه حاضر نمی‌تواند به دور از انتظار باشد؛ چرا که تأثیرات مثبت ترکیبات زیست‌فعال نظیر ویتامین‌های E و C بر بازدهی رشد و بازماندگی آبزیان در شرایط نرمال تغذیه‌ای و محیطی رخ می‌دهد که در مطالعات صورت گرفته توسط Le و همکاران (۲۰۱۷)، Khan و همکاران (۲۰۱۳)، و Izquierdo و همکاران (۲۰۱۹) به آن اشاره شده است. اما در زمان وجود عوامل اکسایشی در جیره و محیط، این دو ویتامین نقش خود را به‌عنوان کنترل‌کننده آن‌ها در بدن جاندار ایفا نموده و به قیمت حذف آن‌ها، جاندار سعی در حفظ هموستازی بدن خود دارد. بنابراین، با حذف ویتامین‌ها آن‌ها دیگر وارد فرآیندهای فیزیولوژیکی مؤثر بر عملکرد رشد و بازماندگی نخواهند گردید.

بررسی روند تغییرات شاخص‌های خون‌شناسی مطالعه حاضر نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت در همه گروه‌های آزمایشی حاوی مکمل ویتامینی در مقایسه با گروه‌های فاقد مکمل ویتامینی افزایش نشان داد. اگرچه این افزایش در برخی شاخص‌ها معنی‌دار نبود اما اکثر مطالعات قبلی عنوان کردند که افزودن ویتامین‌ها به جیره غذایی ماهیان باعث افزایش شاخص‌های خونی می‌شود. در گربه ماهی روگامی (*Ictalurus punctatus*) تغذیه‌شده با مکمل ویتامینی این شاخص‌ها افزایش یافت (Yildirim-Aksoy et al.; 2008). همچنین نتایج مطالعات Pimpimol و همکاران (۲۰۱۲) روی گربه‌ماهی غول پیکر مکنونگ *Pangasianodon gigas* و Nsonga و همکاران (۲۰۰۹) روی ماهی تیلاپیای کارونگا (*Oreochromis karongae*) نشان دادند که شاخص‌های خونی در گروه‌هایی که با مکمل‌های ویتامینی تغذیه

شده با پودر ماهی فاسد هرینگ (*Clupea harengus*) نشان داد که شاخص‌های رشد در این میگوها کاهش یافت. Laohabanjong و همکاران (۲۰۰۹) نیز مشابه همین نتیجه را گزارش کردند که تغذیه میگوهای بیری سیاه (*Penaeus monodon*) با جیره حاوی پودر ماهی فاسد شاخص‌های رشد را تحت تأثیر قرار داد. دلایل متعددی برای کاهش رشد آبزیان تغذیه شده با منابع پروتئینی فاسد عنوان شده است. کاهش قابلیت هضم جیره حاوی منابع پروتئینی فاسد، از دسترس خارج شدن برخی اسیدهای آمینه، اکسیداسیون چربی موجود در پودر ماهی فاسد و همچنین بدخوراکی جیره غذایی ساخته شده از پودر ماهی فاسد مهم‌ترین این عوامل هستند (Stadtman and Levine, 2000; Bartosz, 2013; Ozben, 2013).

در تحقیق حاضر شاخص‌های رشد تحت تأثیر ویتامین‌های E و C قرار نگرفت و گروه‌های حاوی مکمل ویتامینی با گروه حاوی پودر ماهی فاسد (فاقد مکمل ویتامینی) اختلاف معنی‌داری نداشت. البته نتایج مطالعات Le و همکاران (۲۰۱۳) روی شاه‌ماهی (*Seriola lalandi*)، Khan و همکاران (۲۰۱۷) روی ماهی ماهزر (*Tor putitora*) و Izquierdo و همکاران (۲۰۱۹) بر ماهی شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) نشان داد که این ویتامین‌ها به‌عنوان محرک رشد عمل کرده و باعث بهبود شاخص‌های مرتبط با آن شدند. با این حال مشابه نتایج تحقیق حاضر، برخی بررسی‌ها نشان می‌دهند که ویتامین‌های E و C بر شاخص‌های رشد مؤثر نیستند. در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۱۶) افزودن ویتامین E به جیره غذایی تأثیری بر اکثر شاخص‌های رشد ماهی *Larmichthys crocea* نداشت. عوامل متعددی توسط محققان برای این چنین نتایج عنوان شده است. برخی پژوهش‌ها برای تأثیر بهینه مکمل‌های غذایی آبزیان بیان کردند که حضور همزمان ویتامین‌ها به‌همراه مواد معدنی تأثیر بیشتری بر رشد آبزیان در مقایسه با مکمل‌های تمام ویتامینی دارند (Chen et al., 2013). Falahatkar و همکاران (۲۰۰۶) نیز با مطالعه اثر افزودن

افزایش کلسترول چگالی بالا (HDL) در گروه‌هایی که از مکمل ویتامینی تغذیه شدند را به خواص آنتی‌اکسیدانی ویتامین‌ها نسبت داد (Gul *et al.*, 2011). با حضور آنتی‌اکسیدان‌ها و کاهش شرایط استرسی، تجزیه تری‌گلیسیرید توسط هورمون‌های اپی‌نفرین و گلوکاکون فعال شدن گلوکوکورتیزول و لیپولیز انجام شده و غلظت آن در سرم کاهش می‌یابد. اسیدهای چرب آزاد شده در گردش خون وارد فرآیند چرخه اسید سیتریک و تولید انرژی شده و منجر به تولید کلسترول چگالی بالا (HDL) و کاهش کلسترول، LDL و تری‌گلیسیرید می‌شود (Larsson and Lewander, 1973; Palmegiano *et al.*, 1993).

۵. نتیجه‌گیری نهایی

در مجموع با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان بیان نمود که تغذیه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با پودر ماهی فاسد بر شاخص‌های رشد، خونی و بیوشیمیایی آن‌ها تأثیر منفی دارد. همچنین افزودن مکمل ویتامینی باعث بهبود شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی شده و منجر به کاهش عوارض ناشی از تغذیه با پودر ماهی فاسد می‌شود. این تأثیر در مکمل ویتامینی سطح بالا بیشتر مشهود است.

شدند، افزایش داشت. بررسی این شاخص‌ها از نظر سلامت ماهیان حائز اهمیت است. گونه آبی، اثرات محیطی و شرایط تغذیه‌ای از عوامل اصلی تغییر در این شاخص‌ها محسوب می‌شود. که می‌توان با ارزیابی این شاخص‌ها به شرایط تغذیه‌ای ماهیان پی برد (Fanouraki *et al.*, 2007). محققان بر این باور هستند که با حضور ویتامین‌ها در جیره غذایی، جذب مواد معدنی افزایش یافته که منجر به فعال شدن بافت‌های خون‌ساز و کاهش حجم پلاسما می‌شود. ادامه این روند باعث افزایش شاخص‌های خونی می‌گردد (Xie *et al.*, 2006; Ibiyo *et al.*, 2007; Yildirim-Aksoy *et al.*, 2008).

بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی مطالعه حاضر نشان داد که کلسترول و LDL سرم خون در ماهیان تغذیه‌شده با پودر ماهی فاسد افزایش یافت. این شاخص‌ها در ماهیانی که همراه با پودر ماهی فاسد از مکمل ویتامینی سطح بالا تغذیه شدند، کاهش بود. همچنین تری‌گلیسیرید در گروه‌هایی که همراه پودر ماهی فاسد از مکمل ویتامینی (هر دو سطح) استفاده کردند، کاهش یافت. برای HDL نیز روند افزایشی در گروه‌های تغذیه‌شده با مکمل ویتامینی دیده شد. تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها بر غلظت این شاخص‌ها در ماهیان توسط محققین متعددی گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند (Otunola *et al.*, 2010; Talpur *et al.*, 2013). با توجه به اینکه وضعیت سلامت ماهیان با سطوح غلظت این شاخص‌ها در ارتباط است، می‌توان کاهش تری‌گلیسیرید، کلسترول و LDL و

۶. منابع

References

- Ackman, R.G, Gunnaugsdottir, H., 1992. Sea foods and fishery by products: natural and unnatural environments for longer chain omega-3 fatty acids. *American Chemical Society* 500(1), 208-230.
- Adams, A.K., Best, T.M., 2002. The role of antioxidants in exercise and disease prevention. *The Physician and Sports Medicine* 30(5), 37-44.
- Akhlaghi, M., Mirab Brojerdi, M., 1997. Investigating the effect of anesthetizing clove in fish and determining its LC50. *Journal of Veterinary Research* 54(2), 49-52.

- Ali, M., Mirvaghefi, A., Poorbagher, H., Asadi, F., 2014. Studying the effect of vitamin E selenium and C supplement on antioxidant defense activity and lipid peroxidation index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in exposure to subacute Diazinon. *Journal of Applied Ichthyological Research* 1(2), 75-92. (In Persian)
- Attia, A.M., El-Demerdash, F.M., 2002. Potent protective effects of melatonin on cypermethrin induced oxidative damage in rats in vivo. *Journal Pest Control Environmental Science* 10(2), 91-104.
- Bartosz, G., 2013. Food Oxidants and Antioxidants: Chemical, Biology and Functional Properties CRC Press, Florida, United Sates.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine hematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* (5), 771-781.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and Serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30(2004): 21-25.
- Chen, Y.J., Liu, Y.J., Tian, L.X., Niu, J., Liang, G.Y., Yang, H.J., Yuan, Y., Zhang, Y.Q., 2013. Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on growth, body composition, and antioxidant defense mechanism in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoide*) fed oxidized fish oil. *Fish Physiology and Biochemistry* 39(3), 593-604.
- Denis, R.M., Ma, I.A., Cruz-Suarez., L.E., Cuzon Cusin, M., Pike, A.I.H., 1998. Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture* 165(1), 95-109.
- Di Giulio, R.T., Meyer, J.N., 2008. Reactive oxygen species and oxidative stress. In: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds.), *The Toxicology of Fishes*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp: 273-324.
- Egan, H., Kirk. R.S., Sawyer, R., Pearson, D., 1981. Pearson's chemical analysis of foods. *Churchill Livingstone* pp: 150-153.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, R.M., Pourkazemi, M., Yasemi, M., 2006. Effects of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *Huso huso*. *Pajouhesh & Sazandegi* 72, 98-103. (In Persian)
- Fanouraki, B.P., Divanach, M., Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators in sexually immature red porgy (*Pargrus pagrus*). *Aquaculture* 265(1-4), 294-304.
- FAO., 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nation. The state of world fisheries and aquaculture. Roma, Roma.105 p.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson D.S., 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499-502.
- Gul Y., Gao Z.X., Qian X.Q., Wang W.M., 2011. Hematological and serum biochemical characterization and comparison of wild and cultured northern snakehead (*Channa argus* Cantor, 1842). *Journal of Applied Ichthyology* 27(1), 122-128.
- Haaland, H.L., Njaa, R., 1989. Total volatile nitrogen criterion for fish silage. *Aquaculture* 79, 311-316.
- Hamza, N., Mhetli, M., Ben, I., Cahu, C., Kestemont, P., 2008. Effect of dietary phospholipd levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture* 275(1-4), 274-282.
- Hardy, R.W., Castro, E., 1994. Characteristics of the Chilean salmonid feed industry. *Aquaculture* 124(1-4), 307-320.
- Hou, F., Wang, S., Zhai, S., Hu, Y., Yang, W., He, L., 2003. Effects of α -tocopherol on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hearing Research* 179(1-2), 1-8.

- Hung, S.S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Blfry, S.K., Schulte, P.M., Brauner, C.J., 2008. Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring Chinook salmon par, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture* 274(1), 109-117.
- Ibiyo, L.M.O., Atteh, J.O., Omotosho, J.S., Madu, C.T., 2007. Vitamin C (ascorbic acid) requirements of *Heterobranchus longifilis* fingerling. *Journal of Biotechnology* 6(13), 1567.
- Izquierdo, M., Dominguez, D., Jimenez, J.I., Saleh, R., Hernandez-Cruz, C.M., Zamorano, M.J., Hamre, K., 2019. Interaction between taurine, vitamin E and vitamin C in microdiets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 498, 246–253.
- Khan, K.U., Zuberi, A., Nazir, S., Ullah, I., Jamil, Z., Sarwar, H., 2017. Synergistic effects of dietary nano selenium and vitamin C on growth, feeding, and physiological parameters of mahseer fish (*Tor putitora*). *Aquaculture Reports* 5(2017), 70-75.
- Klontz, G. W., 1994. Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A. (eds). Vol. 3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey USA. pp: 21-132.
- Lanham, W., Nilson, H., 1942. The effect of heat and moisture on the feeding value of Pilchard meal. United States department of the interior fish and wildlife service Research Report, 3.
- Laohabanjong, R., Tantikitt, C., Benjakul, S., Supamattaya, K., Boonyaratpalin, M., 2009. Lipid oxidation in fish meal stored under different conditions on growth, feed efficiency and hepatopancreatic cells of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 286(3-4), 283-289.
- Larsson A., Lewander K., 1973. Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 44(2), 367-374.
- Le, K.T., Fotedar, R., Partridge, G., 2013. Selenium and vitamin E interaction in the nutrition of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*), physiological and immune responses. *Aquaculture Nutrition* 20(3), 303-313.
- Lewis, S., Bain, B., Bates, I., 2006. Dacie and Lewis Practical Hematology. Tenth Edition. Philadelphia, PA. *Churchill Livingstone* Elsevie, 722 p.
- Lovell, R.T., 1989. Vitamin C (ascorbic Acid) Nutrition and feeding of fish. An AVI book, Van Nostrand Reinhold Publication. pp: 54-60.
- NRC (National Research Council, USA)., 1993. Nutrient Requirements of fish. National Academy of sciences Washington.
- Nsonga, A.R., Kangombe, J., Mfutilodze, W., Soko, C.K., Mtethiwa, A.H., 2009. Effect of varying levels of dietary vitamin C (Ascorbic Acid) on growth, survival and hematology of juvenile Tilapia, *Oreochromis karongae* (Trewavas, 1941) reared in aquaria. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology* 13 (2), 17-23.
- Otunola, G.A., Oloyede, O.B., Oladiji, A.T., Afolayan, A.J., 2010. Comparative analysis of the chemical composition of three spices *Alium sativum* L. *zingiber officinale* Rosocoe and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. *Africa Biotechnology* 9(41), 6927-6931.
- Ozben, T., 2013. Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance. Springer New York.
- Palmeigiano, G.M., Bianchini, M., Boccignone, M., Forneris, G., Sicuro, B., Zoccarato, I., 1993. Effects of starvation and meal timing on fatty acid composition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Rivista Italian Aquaculture* 28, 5-11.
- Pimpimol, T., Phoosamran, K., Chitmanat, C., 2012. Effect of Dietary Vitamin C Supplementation on the Blood Parameters of Mekong Giant Catfish (*Pangasianodon gigas*). *International Journal of Agriculture & Biology* 14(2), 256-260.

- Rehulka, J., 2000. Influence of astaxanthin on growth rate, condition and some blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 190(1-2), 27-47.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L., 2000. Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 899(1), 191-208.
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., Ambok Bolong, A., 2013. Nutritional effects on ginger (*Zingiber officinal* Rosocoe) on immune response of Asian sea bass (*Lates cacarifer*) and disease resistance against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture* 400-401, 46-52.
- Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L., Ricque-Marie, D., Pike, I., Smith, T., Harris, A., Nygard, E., Opstvedt, J., 2004. Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. *Aquaculture* 242(2004), 437-453.
- Terjesen, B.F., Lee, K., Zhang, Y., Failla, M., Dabrowski, K., 2006. Optimization of dipeptide protein mixtures in experimental diet formulations for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) alevins. *Aquaculture* 254(1), 517-525.
- Verlhac, V., Gabaudan, J., Obach, A., Schüep, W., Hole, R., 1996. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 143(2), 123-133.
- Wang, J., Xu, H., Zuo, R., Mai, K., Xu, W., Ai, Q., 2016. Effects of oxidised dietary fish oil and high-dose vitamin E supplementation on growth performance, feed utilization and antioxidant defense enzyme activities of juvenile large yellow croaker (*Larmichthys crocea*). *British Journal of Nutrition* 115(9), 1531-1538.
- Xie, Z., Niu, C., 2006. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile ayu (*Plecoglossusaltivelis*). *Aquaculture Nutrition* 12(2), 151-156.
- Yildirim-Aksoy, M., Lim, C., Li, M.H., 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(11), 1198-1209.