

تأثیر سطوح مختلف ویتامین C بر فاکتورهای خونی در ماهی شیربت *Barbus grypus*

خدیدجه بیت سیاح^۱، مژده چله مال دزفول نژاد^۲، مهرزاد مصباح^۳، ابوالفضل عسکری ساری^۲

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۲. واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۳. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: kh.beitsayah@gmail.com

چکیده

در این مطالعه اثر سطوح مختلف ویتامین C بر سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی ماهی شیربت مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور ۳۰۰ عدد ماهی با وزن متوسط ($27/5 \pm 2/5$) گرم به صورت کاملاً تصادفی به ۴ تیمار آزمایشی و یک تیمار کنترل، که هر تیمار در ۳ تکرار تقسیم گردید، مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها به ترتیب با غلظت‌های ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در کیلوگرم جیره به مدت ۶۰ روز و روزانه ۲ مرتبه و به میزان ۳٪ وزن بدن تغذیه شدند. در انتهای دوره از هر تیمار ۱۰ قطعه ماهی از طریق ورید ساقه دم خون‌گیری شد و پارامترهای خون‌شناسی از جمله شمارش کلی گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و اندیس‌های گلبولی (MCHC، MCH، MCV) به روش‌های متداول آزمایشگاهی اندازه‌گیری گردید. از میان فاکتورهای مورد بررسی در شمارش کلی گلبول‌های قرمز، هموگلوبین، MCH، MCV تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). MCHC افزایش معنی‌داری (در سطح اطمینان ۹۵٪) در سایر تیمارها نسبت به گروه شاهد داشت ($P \geq 0.05$). از نظر مقدار هماتوکریت تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و سایر تیمارها مشاهده گردید و بیشترین هماتوکریت در گروه شاهد دیده شد ($P \geq 0.05$).

کلمات کلیدی: ویتامین C، ماهی شیربت، سیستم ایمنی، فاکتورهای خونی

مقدمه

دامنه‌ی وسیعی از شوری و دما بدون هیچ گونه مشکلی زیست می‌کند. افزایش حساسیت ماهی در مقابل استرس و گسترش سریع بیماری در آب پرورش‌دهندگان را مجبور می‌کند تا ماهی را در مقابل استرس‌ها و بیماری‌ها برای منافع اقتصادی قابل تحمل کنند. افزایش سلامت ماهی نیاز دارد به اینکه مکانیسم‌های دفاعی بر علیه عوامل پاتوژن افزایش یابد که توسط ایمنی غیراختصاصی و ایمنی اختصاصی پاسخ داده می‌شود. ایمنی غیراختصاصی در ماهی در مقایسه با پستانداران اهمیت بیشتر دارد (Iwama and Nakanishi, 1996). کیفیت تغذیه‌ای غذا، فاکتور مهمی در

ماهی شیربت جز راسته کپور شکلان و خانواده کپور ماهیان است. خانواده کپور ماهیان بزرگترین خانواده ماهیان استخوانی را تشکیل می‌دهد که شامل ۲۱۰ جنس و ۲۰۱۰ گونه می‌باشد. این ماهی متعلق به جنس *Barbus* می‌باشد و تقریباً در اکثر منابع آبی ایران انتشار داشته اما آنچه مسلم است این گونه در منابع آبی غرب و جنوب غرب کشور به ویژه در آبهای خوزستان حضور گسترده دارد. پراکنش این گونه در حوضه رودخانه‌های دجله و کارون، زهره، خلیج و هرمز است ماهی شیربت در تمامی آبهای داخلی استان خوزستان حضور وسیع دارد و این ماهی در آبهای استان و

مواد و روش کار

جمع آوری نمونه و تیمار بندی

تعداد ۳۰۰ قطعه بچه ماهی شیربت با وزن متوسط $(27/5 \pm 2/5)$ گرم از یکی از مزارع پرورش ماهی مرکز پرورش ماهی آزادگان در جنوب اهواز خریداری گردید و به طور تصادفی در ۱۵ تانک به تعداد ۲۰ ماهی در هر تانک معرفی شدند. این ماهی‌ها به صورت کاملاً تصادفی به ۵ تیمار به ترتیب با غلظت‌های ۱۶۰۰، ۸۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره تقسیم بندی شدند (Mohsen et al., 2008).

غذادهی

در طول دوره‌ی آزمایش از یک جیره‌ی غذایی با آنالیز، ماده خشک ۷/۹۳، پروتئین خام ۲۵/۰۸، چربی خام ۱/۲، خاکستر ۷/۲، فیبر ۶/۷۵ و NFE ۳۹/۲۷ زیر استفاده شد. که به این جیره ویتامین C با مقادیر ۴۰۰، ۲۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا اضافه و ماهیان برای یک دوره‌ی ۶۰ روزه و به میزان ۳٪ وزن بدن با این جیره‌ها تغذیه شدند. گروه کنترل در سه تکرار با جیره مشابه ولی فاقد ویتامین C در نظر گرفته شد.

فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب

فاکتورهای کیفی آب در طی دوره‌ی آزمایش با مشخصات دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، میانگین اکسیژن برای تمام آکواریوم‌ها معادل ۸-۹/۵ ppm و PH معادل ۸ بود.

نگهداری سلامت ماهی است و نشان داده شده که سیستم ایمنی توسط استفاده از فاکتورهای افزایش‌دهنده ایمنی مانند ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی به طور مثال ویتامین ث، کارتنوئیدها و دیگر افزودنی‌های مجاز خوراکی می‌تواند مقاوم شود (Iwama and Nakanishi, 1996). طی تحقیقات بسیاری که انجام شده مشخص شده است که از میان ویتامین‌ها، ویتامین C بر سیستم ایمنی و افزایش مقاومت آبزیان نقش مؤثرتری نسبت به بقیه‌ی ویتامین‌ها دارد. از نظر فرمول شیمیایی این ویتامین از ساده‌ترین انواع ویتامین‌ها می‌باشد و شباهت ساختمانی نسبی با اسید اسکوربیک دارد. مطالعات نشان می‌دهند که اکثر ماهیان استخوانی به دلیل عدم وجود آنزیمی تحت عنوان ال-گلونولاکتون اکسیداز قادر به سنتز ویتامین C ازال-گلوکز نبوده لذا ضروری است که مقدار مورد نیاز این ویتامین از راه تغذیه خارجی تأمین شود. ویتامین C به راحتی از دستگاه گوارش جذب می‌شود و به طور گسترده در تمام بدن پخش می‌شود این ویتامین به میزان زیادی در افزایش و تداوم واکنش‌های ایمنی و سازگاری نقش داشته و فعالیت‌های بیولوژیکی مانند مقاومت در برابر استرس‌ها همچنین مسمومیت‌ها و فعالیت‌های ایمنی در لاروهای گونه‌های مختلف آبزیان توسط به کارگیری مکمل‌های ویتامین C بهبود می‌یابد (Secombes, 2004). تحقیقات زیادی در مورد تأثیر ویتامین C بر بعضی فاکتورها از قبیل رشد، سیستم ایمنی و... در سایر ماهیان از قبیل قزل آلا و ناپلیوس اترمیا، ماهی ازاد اطلس و... انجام گرفته است ولی تا به حال تحقیقی با عنوان تأثیر سطوح مختلف ویتامین C بر پاسخ‌های ایمنی ماهی شیربت انجام نگرفته است.

خون گیری نمونه ها

هماتوکریت (درصد) / هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) ×

$$MCHC = 1000$$

تعداد گلبول های قرمز (میلیون در میلی متر مکعب) /

$$MCH = 10 \times (\text{گرم در دسی لیتر})$$

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز اطلاعات تحقیق از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده گردید. ابتدا از آزمون Leven statistic test برای همگن بودن انحراف معیار اطلاعات استفاده گردید. پس از اطمینان از هموژنیته انحراف معیار اطلاعات، از آنالیز واریانس یک طرفه برای بررسی تفاوت میانگین تیمارها در مراحل مختلف نمونه گیری استفاده شد. میانگین ها در سطح معنی دار ۰/۰۵ با استفاده از تست تکمیلی Duncan با هم مقایسه گردیدند.

نتایج

در این تحقیق برخی پارامترهای خون شناسی در ماهی *Barbus grypus* مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. بدین منظور از ۹۰ قطعه ماهی از طریق ورید ساقه دمی خون گیری شد و پارامترهای خون شناسی از جمله شمارش کلی گلبول های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و اندیس های گلبولی (MCV، MCH، MCHC) به روش های متداول آزمایشگاهی اندازه گیری گردید و میانگین و خطای استاندارد میانگین هر یک از پارامترهای مذکور تعیین گردید. تعداد گلبول های قرمز در تیمارهای آزمایش با تیمار

پس از پایان دوره ی ۶۰ روزه ی آزمایش، از هر تیمار ۱۰ نمونه به صورت تصادفی برای سنجش فاکتورهای هماتولوژی انتخاب شد. بدین منظور پس از بیهوش نمودن ماهی ها توسط MS222، خون گیری با استفاده از سرنگ های انسولین هپارینه شده از ساقه ی دمی انجام شد. و نمونه های خون به میکروتیوب هایی که حاوی ۲۰ μL هپارین بود منتقل گردید. میکروتیوب ها شماره گذاری و برای انجام آزمایشات خون شناسی در مراحل بعد آماده سازی گردیدند (Thrall, 2004).

اندازه گیری فاکتورهای خونی

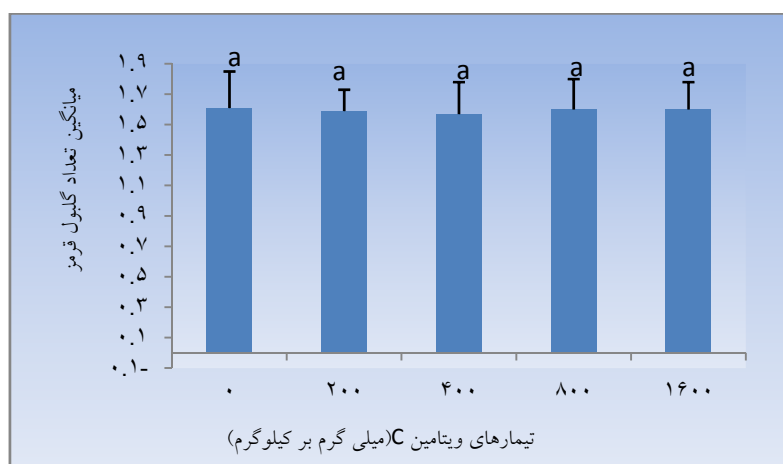
شمارش کلی گلبول های قرمز به روش دستی و با استفاده از لام هماسیتومتر نوبار صورت گرفت. برای این کار از رقیق کننده ی نات هریک استفاده شد (Thrall, 2004). برای اندازه گیری هموگلوبین از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین استفاده شد (Feldman et al., 2000). حجم فشرده گلبولی یا PCV به روش معمول و متداول برای پستانداران و پرندگان یعنی روش میکروهماتوکریت با استفاده از لوله های میکروهماتوکریت و سانتی فوژ نمودن نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتی فوژ میکروهماتوکریت صورت گرفت (Feldman et al., 2000). اندیس های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول های استاندارد موجود محاسبه گردید (Thrall, 2004).

تعداد گلبول های قرمز (میلیون در میلی متر مکعب) / ۱۰ ×

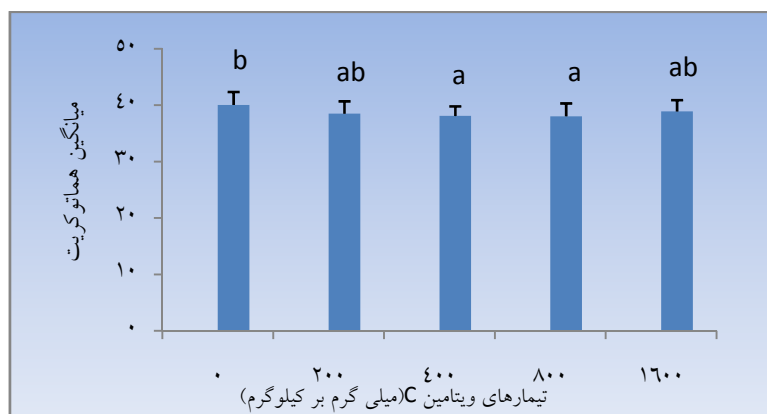
$$MCV = (\text{درصد})$$

۲ خلاصه شده است. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود در مقدار MCV و MCH بین تیمارها و تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P \geq 0.05$). اما مقدار MCHC در تمام تیمارها نسبت به تیمار کنترل افزایش یافته است ($P \leq 0.05$). و بیشترین اختلاف در تیمار ۱۶۰۰ با تیمار کنترل قابل مشاهده است ($P \leq 0.05$).

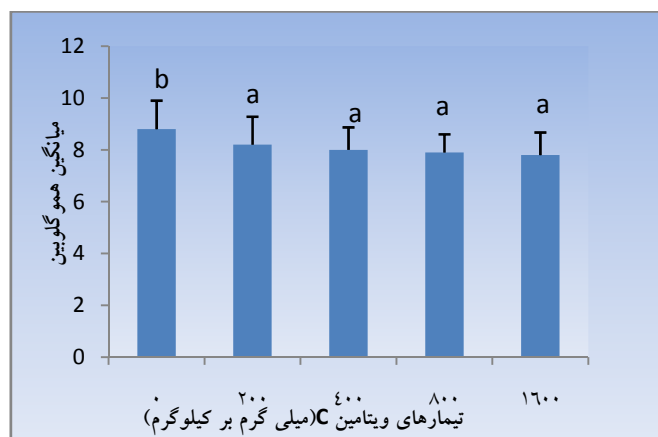
شاهد اختلاف معنی‌داری ندارد ($P \geq 0.05$). حال آنکه مقدار هماتوکریت در تمام تیمارها نسبت به تیمار کنترل کاهش یافته است ($P \geq 0.05$). (نمودار ۲). بر اساس نتایج این تحقیق میزان هموگلوبین در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافته است (نمودار ۳). در این پژوهش میانگین اندیس‌های گلبولی در ماهی شیریت تغذیه شده با تیمارهای مختلف ویتامین C (mg/kg) نیز محاسبه گردید که نتایج در جدول



نمودار ۱- میانگین گلبول قرمز (سلول/میکرولیتر) در ماهی شیریت تغذیه شده با تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی گرم در کیلوگرم)



نمودار ۲- میانگین هماتوکریت (درصد) در ماهی شیریت تغذیه شده با تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی گرم در کیلوگرم)



نمودار ۳ - میانگین هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) در ماهی تغذیه شده با تیمارهای مختلف ویتامین C (میلی گرم در کیلوگرم)

جدول ۲ - میانگین اندیس های گلبولی در ماهی شیرت تغذیه شده با تیمارهای مختلف ویتامین C

تیمار	شاهد ۰ (میلی گرم در کیلوگرم)	۲۰۰ (میلی گرم در کیلوگرم)	۴۰۰ (میلی گرم در کیلوگرم)	۸۰۰ (میلی گرم در کیلوگرم)	۱۶۰۰ (میلی گرم در کیلوگرم)
MCV (fl)	۲۵۲/۴±۱۴/۰۴ ^a	۲۴۹/۶±۴۹/۳ ^a	۲۴۲/۳±۳۷/۷ ^a	۲۴۱/۷±۳۶/۱ ^a	۲۴۲/۱±۳۸/۷ ^a
MCH (pg)	۴۹/۴±۹ ^a	۴۸/۶±۸/۷ ^a	۴۹/۳±۸/۱ ^a	۴۹/۵±۹ ^a	۴۸/۳±۸ ^a
MCHC (%)	۲۰/۶±۱/۴ ^a	۲۰/۹±۲/۳ ^{ab}	۲۱/۰۳±۱/۸ ^{ab}	۲۱/۱/۴±۲/۲ ^{ab}	۲۱/۱/۸±۱/۹ ^{ab}

بحث

از آنجا که ماهی شیرت یک گونه گرمابی است و در خوزستان پرورش داده می شود دارای ارزش اقتصادی می باشد و تلاش در افزایش قدرت ایمنی این ماهی در برابر بیماری های متعدد و رسیدن برای رشد بهتر اهمیت ویژه ای دارد. از بین محرک های ایمنی، افزودنی های غذایی یکی از انواع محرک های ایمنی می باشند که ویتامین ها از شاخص ترین افزودنی های غذایی دخیل در پاسخ ایمنی ماهی هستند. که توضیح مختصری در مورد آنها آورده می شود. از طرفی ماهی ها بعلت قرار گرفتن در سطوح پایین تکاملی نسبت به حیوانات خون گرم، دارای سیستم ایمنی ساده تر و ابتدایی تری هستند. لذا ایمنی اختصاصی در حیوانات خون سرد بویژه ماهی ها توسعه کمی یافته و بیشتر بازوی ایمنی غیر اختصاصی و وظیفه دفاعی را به عهده گرفته است (Iwama and Nakanishi, 1996). این وضعیت

ویژه باعث اهمیت خاص محرک‌های ایمنی که باعث تحریک ایمنی غیر اختصاصی می‌گردند، در ماهی شده است. بطوری‌که حتی برای افزایش کارایی واکسن‌ها، باید در کنار استفاده از واکسن‌ها از محرک‌های ایمنی غیر اختصاصی نیز استفاده نمود (Dabrowski, 2009). ویتامین C جزء ویتامین‌های محلول در آب بوده و تقریباً تمام جانوران به جز انسان و میمون و خوکیچه هندی آن را در بدن خود می‌سازند. این ویتامین به جذب آهن در بدن کمک می‌کند و همچنین در تشکیل کلاژن نیز نقش دارد، زخم و سوختگی و خون‌ریزی لثه را التیام بخشیده و در پائین آوردن کلسترول خون نقش دارد و احتمال ایجاد لخته‌های خونی در سیاهرگ را کم می‌کند. این ویتامین در فعالیت دستگاه‌های ایمنی، تولید مثل، قلبی، بافت همبند، سیستم عصبی، تنفس، چشم و در شرایط استرس‌زا دارای نقش حساس می‌باشد. شاخص‌های خونی مهم‌ترین پارامتر در تکامل وضعیت فیزیولوژیکی ماهی‌ها است. تغییر شاخص‌های خونی تحت تأثیر گونه، سن، بلوغ جنسی و وضعیت سلامت موجود قرار دارد (Blaxhall, 1972; Wedemeyer et al., 1983; Zhiteneva et al., 1989; Bielek and Strauss, 1993; Golovina, 1996; Luskova, 1997; Vosylien'e, 1999; Hrubec et al., 2001). شاخص‌های خونی ارتباط نزدیکی با شرایط زیست محیطی جانور دارد و بیان می‌شود که محیطی که موجود در آن زندگی می‌کند بر فاکتورهای خونی آن تأثیر گذار است

(Vazquez, 2007). سنجش هوموگرام یک موجود شامل تعیین تعداد کل گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد کل گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، غلظت هموگلوبین (Hb)، اندیس‌های گلبولی (MCV, MCHC, MCH) و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید است (Campbell, 2004). هدف از این تحقیق بدست آوردن اطلاعات پایه در ارتباط با سلول‌های خونی و تأثیر ویتامین C بر فاکتورهای خونی ماهی *Barbus grypus* بود. تعیین اثر ویتامین C بر فاکتورهای خونی این ماهی می‌تواند اطلاعات مفیدی را فراهم آورد که در مطالعات دیگر مانند بررسی بیماری‌های مختلف و راه‌های پیشگیری و درمان آنها در این ماهی مورد استفاده قرار گیرد. بررسی تأثیر ویتامین C بر روی سلول‌های خونی در این آزمایش و مقایسه‌ی آنها با تحقیق‌های مشابه محققین داخلی و خارجی مشخص می‌کند که تفاوت‌ها و تشابه‌هایی بین نتایج این آزمایش و نتایج سایر محققین وجود دارد. عوامل محیطی، گونه‌ی ماهی، شرایط آزمایش و بسیاری از عوامل دیگر می‌تواند عامل به وجود آمدن بسیاری از این تفاوت‌ها باشد. در مورد اندیس‌های گلبولی گزارشات محدودی از تأثیر محرک‌های ایمنی بر تعداد و یا اندازه گلبول‌های قرمز و افزایش هموگلوبین و هماتوکریت وجود دارد. که البته برخی از این گزارشات افزایش این فاکتورها (Kokdil et al., 2006 و Ekanem and Usuf, 2008) و برخی

کاهش این فاکتورها (Harikrishnan et al., 2003) و در صد هماتوکریت وجود دارد (Tavares and Dias et al., 2000 a, b). بر اساس نتایج تحقیق تجویز خوراکی ویتامین C، میانگین تعداد گلبول های قرمز در همه ی تیمارها نسبت به تیمار کنترل کاهش اندکی داشتند. اما بین تیمارهای مختلف با تیمار کنترل تفاوت معنی داری وجود نداشت. که این بیانگر عدم تأثیر ویتامین C بر گلبول های قرمز می باشد. Garcia و همکاران، در سال ۲۰۰۷ شاخص هماتولوژی ماهی *Piaractus mesopotamicus* که ویتامین C و E به جیره آنها افزوده شده بود مورد بررسی قرار دادند و ثابت کردند که اضافه کردن این ویتامین ها برای حفظ ساختار گلبول های قرمز در *Piaractus mesopotamicus* ضروری است. دوز مناسب ویتامین C و E برای *Piaractus mesopotamicus* را ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در کیلو گرم در جیره عنوان کردند. در تحقیقی که انجام شد در مقدار MCV و MCH در تیمار کنترل با سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ($P < 0.05$). Parasad و همکاران در سال ۲۰۱۱ تأثیر عصاره ی (اکالیپتوس) با غلظت های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ میلی گرم در کیلو گرم غذا را بر فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسما و پارامترهای خونی *P. hypophthalmus* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان MCV و MCH در همه تیمارها تقریباً یکسان بوده است اما در تیمار ۳۰۰۰ نسبت به سایر تیمارها این مقدار کاهش یافته است. کاهش این فاکتورها (Harikrishnan et al., 2003) و برخی گزارشات نیز عدم تأثیر محرک ایمنی بر این فاکتورها را گزارش نموده اند (Tatina et al., 2010). لذا با توجه به اختلافات زیاد در مطالعات مختلف می توان نتیجه گرفت که اندیس های گلبولی معرف مناسبی برای تعیین وضعیت تحریک ایمنی ماهی نبوده و بیشتر تحت تأثیر فاکتورهای دیگر محیطی (بویژه فصل، وضعیت تولید مثلی، سن، دما و ..) قرار می گیرد. در این تحقیق مقدار هماتوکریت در تمام تیمارها نسبت به تیمار کنترل کاهش یافته است و غلظت هموگلوبین نیز در تمام تیمارها نسبت به تیمار کنترل کاهش یافته است. بعضی محققین ثابت کرده اند که وابستگی و ارتباطی بین مکمل غذایی ویتامین C و E و افزایش همانوکریت وجود دارد (Andrade et al., 2007) (Menezes et al., 2006). دانشمندانی دیگر ثابت کرده اند که ارتباطی بین کمبود ویتامین C و کاهش هماتوکریت وجود دارد (Lim and 1978; Chagas and Val, 2003) (Lovell., 2003). در مطالعات اخیر یک اثر متقابل بین ویتامین C و E در هماتوکریت مشاهده شده این پارامتر در تیمار شاهد که فاقد ویتامین C و E است (0 mg/kg) نسبت به بقیه بیشتر است و به این نتیجه رسیده اند که غلظت هموگلوبین و هماتوکریت در کمترین مقدار ویتامین C افزایش می یابد و ثابت شده که یک ارتباط مثبتی بین غلظت هموگلوبین و

گلوبولی MCV، MCH و MCHC هیچکدام تحت تاثیر تجویز خوراکی ویتامین C در غلظت‌های مختلف قرار نگرفت ($P>0.05$). این نتایج نشان دهنده عدم تاثیر ویتامین C در فاکتورهای خونی مربوط به گلبول‌های قرمز می باشد. به عبارت دیگر علی‌رغم تحریک ایمنی بدن با تجویز خوراکی ویتامین C، فعالیت هماتوپوئیتیک (خون‌سازی) و نیز میزان تخریب گلوبولی تحت تاثیر تجویز ویتامین C قرار نگرفته است. نتایج مشابهی از تحقیقات مشابه نیز گزارش گردیده است (Sakai, 1999). البته فاکتورهای خونی حیوانات خون‌سرد بویژه ماهی بر خلاف حیوانات خون‌گرم بطور قابل توجهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف، مثل استرس، دما، فصل، تغذیه و... قرار گرفته و تابلوی خوبی برای بررسی وضعیت سلامت یا ایمنی ماهی به شمار نمی رود (Iwama and Nakanishi, 1996).

در تحقیقی که انجام شد مقدار MCHC در سایر تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت و در تیمار ۸۰۰ بیشترین مقدار MCHC مشاهده گردید. در بین تیمار شاهد و تیمار ۱۶۰۰ با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($P\leq 0.05$). این نتایج می تواند بیانگر تأثیر احتمالی ویتامین C بر فاکتورهای خونی وابسته به گلبول‌های قرمز باشد. در تحقیقی که اثر ویتامین C و E بر فاکتورهای هماتولوژی ماهی *Piaractus mesopotamicus* را نشان می‌دهد به این نتیجه رسیده‌اند که مقدار MCHC نسبت به گروه شاهد افزایش پیدا کرده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Roberts, 1989., Secombes, 1996).

نتیجه‌گیری نهایی

در تحقیق جاری حجم فشرده گلوبولی (PCV) و تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین و نیز اندیس‌های

References

1. Andrade, J.I.A., One, E.A., Menezes, G.C., Brasil, E.M., Roubach, R., Urbinati, E.C., and Tavares-Dias, M. 2007. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp. Biochem. Physiol. A*: 576-580.
2. Bielek, E., and Strauss, B. 1993. Ultrastructure of the granulocyte of the South American lungfish, *Lepidosiren paradoxa*: morphogenesis and comparison to other leucocytes. *J. Morphol.* 218: 29-41.
3. Blaxhall, P.C. 1972. The haematological assessment of the health of the freshwater fish. A review of selected literature. *J. Fish Biol.* 4: 593-604.
4. Campbell, T.W. 2004. Hematology of lower vertebrates. In: Proceedings of the 55th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists Pathologists (ACVPC) & 39th Annual Meeting of the American Society of Clinical

- Pathology (ASVCP). ACVP and ASVCP, USA
5. Chagas, E.C., and Val, A.L. 2003. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parametros hematologicos tambaqui. Pes. Agro. Brasil. 38: 397-402.
 6. Dabrowski, K. 2009. Ascorbic acid in aquatic organisms. oral Thesis, CRC press, Moscow, p: 53.
 7. Ekanem, J.T.Y., and Usuf, O.K. 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on Trypanosoma brucei-infected rats. Afr. J. Biotechnol. 153-157.
 8. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., And Jain, N.C. 2000. Schalm Veterinary Hematology .5th Ed. Lippincott Williams & Wilkins. U.K. p: 1120-1124.
 9. Harikrishnan, R., Nisha, M.R., and Balasundaram, C. 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*. 221: 41-50.
 10. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M.S. 2009. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. *Fish shellfish Immunol*. 55: 102-106.
 11. Hrubec, T.C., Smith, S.A., and Robertson, J.L. 2001. Age related in haematology and chemistry values of hybrid striped bass *chrysops Morone saxatilis*. *Vet. Clin. Pathol*. 30: 8-15.
 12. Iwama, G., and Nakanishi, T. 1996. The fish immune system. Chapter 3: innate Immunity in fish. Academic Press, London, , p: 73-114.
 13. Lim, C., and Lovell, R.T. 1978. Pathology of vitamin c deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr*. 108: 1137-1146.
 14. Luskova, V. 1997. Annual cycles and normal values of haematological parameters in fishes. *Acta Sc. Nat. Brno*. 31: 70.
 15. Mohsen, A., Tawwab, M., Ahmad Yasser, M., Abdel-Hadi, A., Medhat, E.A., and Seden. 2008. Use Of Spirulina (*Arthrospira Platensis*) As A Growth And Immunity Promoter For Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus* (L.) Fry Challenged With Pathogenic *Aeromonas Hydrophila*. 8st International Symposium On Tilapia In Aquaculture 2008
 16. Secombes, C.J. 1996. The fish Immune system–The Nonspecific Immune system: cellular Defenses. *academis Press, Usa*. 366 p.
 17. Tatina, M., Bahmani, M., Soltani, M., Abtahi, B., and Gharibkhani, M. 2010. Effects of different levels of dietary Vitamins C and E on some of hematological and biochemical parameters of sterlet (*Acipenser ruthenus*) *J. Fish. Aqua. Sci*. pp. 1-11
 18. Thrall, M.A. 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, USA, p: 241, 277-288, 402.
 19. Zhiteneva, L., Poltavceva, T.G., and Rudnickaja, O.A. 1989. Atlas of normal and pathological cells in the blood of fish. Rostov-on-Don, p. 112.