

اثرات ویتامین‌های B₂ و E بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

افشین عاشوری^۱، حسین خارا^{۲*}، محدثه احمدنژاد^۳

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۹۶

تاریخ پذیرش: آذر ۹۶

چکیده

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877)) از ماهیان مهاجر رودرو است که از ارزش اقتصادی و مقبولیت برخوردار است. در این مطالعه اثر ویتامین‌های B₂ و E بر رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی ۷۵۰ قطعه ماهی بررسی شد. ماهیان با وزن اولیه 3 ± 20 گرم با ۹ تیمار با سطوح مختلف ویتامین B₂ و ویتامین E تغذیه شدند که شامل ویتامین B₂ با غلظت‌های ۱۵ (T1)، ۲۰ (T2) و ۲۵ (T3)، ویتامین E با غلظت‌های ۱۰۰ (T4)، ۲۰۰ (T5) و ۳۰۰ (T6)، ترکیب ویتامین‌های B₂+E با مقادیر ۱۵+۱۰۰ (T7)، ۲۰+۲۰۰ (T8) و ۲۵+۳۰۰ (T9) میلی‌گرم در کیلوگرم بودند. همچنین یک تیمار شاهد نیز وجود داشت. نتایج نشان داد که وزن و طول بدن در بین تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود ($P < 0.05$). ماهیان تیمار شاهد کمترین افزایش وزن و طول را داشتند. کمترین FCR و بیشترین SGR، BWI، GR و CF در تیمار ۸، بیشترین WBC، RBC، لیزوزیم و IgM در تیمار ۹ و بیشترین MCHC، MCH، MCV، هموگلوبین و ایمونوگلوبولین کل در تیمار شاهد وجود داشت. تیمار ۸ (ویتامین‌های E+B₂: ۲۰۰+۲۰ mg/Kg) دارای بهترین عملکرد بود. در نتیجه افزودن توام این دو ویتامین به جیره باعث تقویت عملکرد رشد و سیستم ایمنی بدن شد.

واژگان کلیدی: ماهی آزاد، ویتامین، رشد، شاخص‌های خونی.

- ۱- کارشناس ارشد شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
- ۲- دانشیار گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.
- ۳- استادیار پژوهشکده آبی‌پروری آب‌های داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

* نویسنده مسئول: h.khara1974@yahoo.com

مقدمه

سخت‌پوستان را تشکیل می‌دهد. بنابراین غذاهای مصنوعی باید با توجه به اصول علمی فرموله شوند و فرآیندهای لازم به طور مطلوبی روی آن‌ها صورت گیرد (افشار مازندران، ۱۳۸۱). از آن جایی که ماهیان قادر به سنتز ویتامین‌ها نیستند و یا برخی از آن‌ها را به مقدار کم تولید می‌کنند، بنابراین برای نمو طبیعی، رشد و نگهداری باید ویتامین‌ها در جیره غذایی ماهی‌ها گنجانده شوند. هر ویتامین عملکرد خاصی را در بدن دارد و یک ویتامین نمی‌تواند جایگزین ویتامین دیگر شود (Webster and Lim, 2002). ویتامین‌هایی که به جیره اضافه می‌شوند، مقداری از آن دفع، مقداری فاسد شده و مقداری به مواد دیگر تبدیل می‌شوند (فراهانی، ۱۳۸۳). نیازهای کمی و اختصاصی به ویتامین‌ها در اغلب گونه‌های ماهیان و میگوهای پرورشی هنوز تعیین نشده است. حتی در مورد گونه‌هایی که تعیین مقدار مورد نیاز به ویتامین‌ها در آن‌ها انجام شده است، داده‌ها به علت محدودیت‌های شدید روش‌شناختی کامل نیستند (افشار مازندران، ۱۳۸۱).

ویتامین B₂ یا ریبوفلاوین از گروه ویتامین‌های محلول در آب است که از یک حلقه آلوکسین (Alloxine Ring) که به مشتقات

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) از جمله ماهیان مهاجر رودرو (آنادرموس) دریای خزر است که از ارزش اقتصادی و مقبولیت ویژه‌ای برخوردار است (شریعتی، ۱۳۷۱). از چندین سال پیش که کار تکثیر و بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر شروع شد، این ماهی همواره جهت پرورش بازاری نیز مورد توجه پژوهشگران و پرورش‌دهندگان بوده است. به طوری که امروزه به دلیل بازارپسندی و ارزش اقتصادی بالا از جمله ماهیان با ارزش برای آبی‌پروری است. از طرفی با توجه به افزایش جمعیت بشر و نیازهای غذایی آن، آبزیان توانسته‌اند به عنوان یکی از اقلام غذایی سالم، با ارزش غذایی بالا و ارزان، نسبت به سایر اقلام غذایی، از جایگاه نسبتاً خوبی برخوردار باشند. پرورش موفقیت‌آمیز و مداوم ماهی آزاد دریای خزر همانند سایر ماهیان و سخت‌پوستان (میگو، لابستر و خرچنگ) به مصرف غذاهای مکفی از لحاظ تغذیه‌ای و با صرفه اقتصادی بستگی دارد. تهیه غذا یکی از مهم‌ترین عملیات در پرورش آبزیان به شمار می‌آید و هزینه غذا و بچه ماهی به طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه لازم برای سیستم‌های پرورش ماهی و

B₂ را بر رشد، بقاء و شاخص‌های خونی ماهی انگشت‌قد کپور پرورشی (*Cyprinus carpio*) مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که این ویتامین‌ها باعث بهبود شاخص‌های خونی و رشد ماهی کپور می‌شوند. عاشوری و همکاران (۱۳۹۳) تاثیر ویتامین E و B₂ را بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی و شاخص‌های خونی ماهی شیب (*Acipenser nudiventris*) مورد بررسی قرار دادند و اثر تشدیدکنندگی این دو ویتامین روی رشد بچه ماهی شیب را اعلام کردند. Fang Deng و Wilson (۲۰۰۳) به این نتیجه رسیدند که ویتامین ریوفلاوین روی رشد بچه ماهیان دورگه Sunshine Bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) اثر مثبت دارد. اثرات مثبت حاصل از تمرکز بالا و کافی رژیم خوراکی چربی‌دار و عوامل ضد اکسید کنندگی ویتامین E بر عملکرد رشد ماهی و سلامت آن در قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط Chaiyapechara و همکاران (۲۰۰۳) بررسی شد. Huang و Huang (۲۰۰۴) آزمایشی را برای بالا بردن اثرات خوراکی ویتامین E بر رشد، ضد اکسید شدگی بافت چربی و سطح گلوتاتیون تیلاپپای دو رگه (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) انجام دادند. Sau و همکاران

الکلی ریپوز متصل است تشکیل شده است و در روده به وسیله عمل انتشار بافتی جذب می‌شود. این ویتامین که یک مولکول با رنگدانه زرد است (احتشامی، ۱۳۸۶)، در متابولیسم اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها دخالت دارد. همچنین برای ساخت نیاسین از تریپتوفان نیاز به ریوفلاوین و پیریدوکسین است (Webster, 2002 and Lim).

ویتامین E با نام شیمیایی توکوفرول از ویتامین‌های محلول در چربی است که شامل آلفا، بتا، گاما و لاند است. جذب این ویتامین در روده انجام می‌گیرد و برای جذب مناسب آن باید صفرا و چربی حضور داشته باشند. همچنین این ویتامین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی همانند ویتامین C است (Traber and Atkinson, 2007). کمبود آن در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) موجب کاهش رشد، بیرون‌زدگی چشم، چسبندگی رشته‌های آبششی، ضایعات و دژنراسیون عضلات، کاهش میزان تخم و باروری و کاهش پاسخ ایمنی اختصاصی می‌شود (Lall, 2000).

تاکنون مطالعات گسترده‌ای بر اثر ویتامین‌ها روی ویژگی‌های رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی آبزیان مختلف انجام شده است. شریف‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) اثر ویتامین E و

مواد و روش‌ها

مکان و شرایط آزمایش

این آزمایش به مدت ۸ هفته (از تاریخ ۹۳/۹/۱۰ تا ۹۳/۱۱/۱۰) در ۳۰ حوضچه به ابعاد $۰/۵ \times ۰/۷ \times ۳$ متر با استفاده از آب چشمه در مجموعه قزل چشمه روستای شیخ زاهد محله چابکسر انجام شد. در طی آزمایش هر یک از این حوضچه‌ها شماره‌گذاری شده و به صورت جداگانه به سیستم هوادهی مجهز شدند تا سطح اکسیژن آب در حد مطلوب قرار گیرد. به طوری که در طول دوره دمای آب ۱۴ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول $۹/۴$ میلی‌گرم بر لیتر و $۷/۸$ pH بود.

تیمار بندی و غذادهی

برای انجام این پژوهش ۷۵۰ قطعه ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) به وزن ۲۰ ± ۳ گرم پس از دو هفته سازگاری و تغذیه با غذای FFT1 (کیمیاگران، ایران) طبق جدول ۱ در ۱۰ تیمار با ۳ تکرار تحت شرایط محیطی یکسان توزیع شدند (جدول ۱).

غذای مورد نیاز در هر روز با توجه به وزن توده زنده در مقاطع زمانی مختلف (پس از هر بار زیست‌سنجی) با استفاده از جداول تغذیه‌ای

(۲۰۰۴) نیز آزمایشی را برای بالا بردن نیازمندی رژیم خوراکی با ویتامین E در ماهی روهو (*Labeo rohita*) انجام دادند که موجب افزایش رشد ماهی روهو شد. رژیم خوراکی ویتامین E مورد نیاز ماهی هامور (*Epinephelus malabaricus*) توسط Lin و Shiau (۲۰۰۵) مورد بررسی قرار گرفت و نیاز این ماهی را مورد تاکید قرار دادند. Liu و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر مثبت ویتامین E را در جیره غذایی میگوی سفید (*vannamei Litopenaeus*) نشان دادند. Li و همکاران (۲۰۰۸)، قابلیت دسترسی زیستی آلفا-توکوفریل استات و آلفا-توکوفریل ساکسینات (منبعی از ویتامین E) را به واسطه آنالیز نسبی در مدت ۱۲ هفته بر روی *Sciaenops ocellatus* مقایسه کردند. Huang و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی تاثیر ریبوفلاوین در رژیم غذایی در ماهی هامور در مقادیر مختلف پرداختند. بنابراین، با توجه به این که اطلاعاتی راجع به نیازمندی‌های ماهی آزاد دریای خزر به ویتامین‌ها در دسترس نیست، این پژوهش با هدف تعیین اثر ویتامین‌های B₂ و E بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی این ماهی انجام شد. هدف نهایی این بررسی تعیین مناسب‌ترین غلظت این دو ماده برای استفاده در رژیم غذایی ماهی آزاد دریای خزر است.

مربوطه برحسب وزن بدن تعیین و با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و مورد تغذیه ماهیان قرار گرفت. ویتامین B₂ و E مورد استفاده در این آزمایش ساخت شرکت پدیده کالای باستان تهران بود. ابتدا غذای FFT1 (کیمیا گران)، بررسی شد به طوری که مقدار ویتامین E، ۲۰/۵۶ IU/Kg و ویتامین B₂، ۴/۲۰ mg/Kg بود و بر این اساس مقدار ویتامین هر تیمار به ویتامین پایه اضافه شد. برای آگاهی از عملکرد غذای داده شده و تاثیر دفعات غذایی و افزایش ویتامین جیره روی رشد ماهیان، هر سه هفته یک بار ماهیان برای زیست‌سنجی به صورت تصادفی انتخاب شدند و پس از بیهوشی، با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شدند (مهرابی، ۱۳۷۸) و با تخته زیست‌سنجی طول آن‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور کاهش استرس ماهیان هنگام زیست‌سنجی، ۱۲ ساعت قبل و بعد از زیست‌سنجی غذایی قطع شد.

جدول ۱: مواد تشکیل دهنده تیمارها

تیمارها	مواد تشکیل دهنده
تیمار شاهد	بدون اضافه کردن مکمل ویتامینی
تیمار ۱	ویتامین B ₂ با غلظت ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۲	ویتامین B ₂ با غلظت ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۳	ویتامین B ₂ با غلظت ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۴	ویتامین E با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۵	ویتامین E با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۶	ویتامین E با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۷	ویتامین B ₂ + ویتامین E با مقدار ۱۵+۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۸	ویتامین B ₂ + ویتامین E با مقدار ۲۰+۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم
تیمار ۹	ویتامین B ₂ + ویتامین E با مقدار ۲۵+۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم

خونگیری و فرآیندهای آزمایشگاهی

برای تعیین شاخص‌های خونی WBC و RBC، نمونه‌های خون به وسیله پیپت ملانژور سفید برای شمارش گلبول‌های سفید و پیپت ملانژور قرمز برای شمارش گلبول‌های قرمز با استفاده از محلول Rees رقیق شد. سپس گلبول‌ها توسط لام نئوبار شمرده شدند و با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ تعداد آن‌ها در هر میلی‌متر مکعب خون محاسبه شد (Simmons, 1997).

رابطه ۱:

$$RBC (mm^3) = N \times 10000$$

N: تعداد گلبول‌های قرمز در پنج مربع کوچک لام نئوبار

رابطه ۲:

$$WBC (mm^3) = N \times 50$$

N: تعداد گلبول‌های سفید در چهار مربع متوسط لام نئوبار

اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیانومت هموگلوبین یا سیانید هموگلوبین و با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico, 2100-VIS، آمریکا) در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

برای تعیین درصد هماتوکریت از روش میکروههماتوکریت استفاده شد. به این ترتیب که

پس از زیست‌سنجی، با استفاده از سرنگ ۳ میلی‌لیتری از ماهیان خونگیری شد و ۰/۵ میلی‌لیتر خون از هر تیمار درون ویال آغشته به ماده ضدانعقاد خون (هپارین) ریخته شد. برای تهیه سرم ۱/۵ میلی‌لیتر خون از هر تکرار در ویال‌های ریخته شد، آنگاه به مدت دو ساعت در دمای معمولی اتاق قرار گرفت تا منعقد شود. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۵۰۰ دور در ۵ دقیقه سانتریفوژ (ALC, PK-131 Multi Speed، آلمان) شد (al., 2005 Panigrahi et) و سرم جدا شده با استفاده از میکروسپلر به درون ویال منتقل شد. نمونه‌های سرم در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از جمع‌آوری تمام نمونه‌ها، با استفاده از یک کلمن حاوی یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. در آزمایشگاه تعداد کل گلبول‌های سفید (WBC) و قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb)، درصد هماتوکریت (Hct)، شاخص‌های MCV، MCH و MCHC، درصد نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت و ائوزینوفیل، مقدار ایمونوگلوبین کل، IgM و لیزوزیم تعیین شد.

شاخص‌های خونی

استفاده از دستگاه شمارنده دستی انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸؛ Klontz, 1994). برای اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین M (IgM) از روش ایمونوتوربیدی متری (Immuno Turbidimetric) استفاده شد. سطوح لیزوزیم با روش طیف‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Ellis, 1977). غلظت ایمونوگلوبولین کل مطابق با روش شرح داده شده توسط Siwicki و Anderson (۱۹۹۳) و Amar و همکاران (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ۰/۱ میلی‌لیتر از هر نمونه سرم با ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۳۲٪ مخلوط و برای مدت ۲ ساعت برای پایین آوردن مولکول ایمونوگلوبولین انکوباسیون شد. رسوب ایمونوگلوبولین توسط سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی‌گراد پس از ۲ ساعت برداشته شد.

شاخص‌های رشد

با توجه به اطلاعات طول و وزن به دست آمده از زیست‌سنجی، برای بررسی روند رشد ماهیان در تیمارهای مختلف از شاخص‌های رشد شامل ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب رشد ویژه (SGR)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)،

لوله‌های موین حاوی نمونه خون در داخل میکروسانتریفیوژ (Hettrich, D-78532، آلمان) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (Klontz, 1994). با استفاده از مقادیر به دست آمده از اندازه‌گیری شاخص‌های RBC، Hb و Hct، شاخص‌های حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) از رابطه‌های ۳ تا ۵ محاسبه شدند (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

رابطه ۳:

$$MCV (fL) = [Hct (\%) / RBC (10^6 \cdot mm^{-3})] \times 10$$

رابطه ۴:

$$MCV (fL) = [Hct (\%) / RBC (10^6 \cdot mm^{-3})] \times 10$$

رابطه ۵:

$$MCHC (g/dL) = [Hb (g/dL) / Hct (\%)] \times 100$$

برای شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، گسترش‌های خونی به وسیله متانول ۹۶٪ تثبیت و با محلول ۱۰٪ گیمسا (Merck، آلمان) رنگ‌آمیزی شدند. سپس شمارش انواع گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها به روش زیگزاگ با

برای انجام تحلیل‌های آماری و رسم نمودارها، نرم‌افزارهای SPSS 18 و Microsoft Excel 2013 مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها در گروه‌ها و تکرارها جهت تشکیل تیمارها از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، به منظور مقایسه آماری بین گروه‌ها در تیمارها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس از انجام آزمون Test of Homogeneity of Variances برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از پس‌آزمون دانکن استفاده شد. بررسی داده‌ها در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

نتایج

طبق نتایج به دست آمده میانگین وزن بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) در شاهد کمتر از سایر تیمارها بود. همچنین نتایج نشان می‌دهند که میزان وزن در تیمارها روند افزایشی داشت، اما بیشترین مقدار مربوط به تیمارهای ۳ و ۸ بود. بیشترین طول در تیمارهای ۱ و ۳ و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین ضریب چاقی در تیمارهای ۲، ۴ و ۸، بیشترین ضریب رشد ویژه در تیمار ۸، بیشترین میانگین رشد روزانه در در

رشد روزانه (GR) و ضریب چاقی (CF) طبق رابطه‌های ۶ تا ۱۰ استفاده شد (Merrifield et al., 2011).

رابطه ۶:

$$FCR = F / (W_f - W_i)$$

F: مقدار غذای مصرف شده توسط ماهی (گرم)؛ W_i : میانگین بیوماس اولیه (گرم)؛ W_f : میانگین بیوماس نهایی (گرم).

رابطه ۷:

$$SGR (\%/day) = [(Ln W_f - Ln W_i) / t] \times 100$$

W_i : میانگین بیوماس اولیه (گرم)؛ W_f : میانگین بیوماس نهایی (گرم)؛ t: طول دوره پرورش (روز).

رابطه ۸:

$$BWI (\%) = [(BW_f - BW_i) / BW_i] \times 100$$

BW_i : متوسط وزن اولیه در هر حوضچه (گرم)؛ BW_f : متوسط وزن نهایی در هر حوضچه (گرم).

رابطه ۹:

$$GR (g/Day) = (BW_f - BW_i) / N$$

BW_i : متوسط وزن اولیه در هر حوضچه (گرم)؛ BW_f : متوسط وزن نهایی در هر حوضچه (گرم)؛ N: تعداد روزهای پرورش.

رابطه ۱۰:

$$CF (g/cm^3) = (BW / TL^3) \times 100$$

BW: میانگین وزن نهایی بدن (گرم)؛ TL: میانگین طول کل نهایی (سانتی‌متر)

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تیمار ۸، بیشترین درصد افزایش وزن بدن در تیمارهای ۳ و ۸ مشاهده شد ($P < 0.05$ ؛ جدول تیمار ۸ و بیشترین میانگین بیوماس نهایی در (۲).

جدول ۲: شاخص‌های رشد ماهی آزاد دریای خزر در انتهای دوره نگهداری در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)

تیمار	TL (cm)	W _f (g)	BW (g)	FCR	SGR (%/Day)	BWI (%)	GR (g/Day)	CF (g/cm ³)
شاهد	۱۴/۳۷ ±۰/۰۶ ^a	۲۶/۳۳ ±۰/۵۸ ^a	۳۹۵ ±۰/۶۶ ^a	۳/۹۳ ±۰/۷۱ ^c	۰/۰±۲۵/۰۴ ^a	۱۶/۲۱ ±۰/۷۷ ^a	۰/۰±۲۷/۰۵ ^a	۰/۰±۸۹/۰۲ ^a
۱	۱۶/۲۰ ±۰/۳۵ ^e	۳۹/۰۷ ±۰/۵۰ ^d	۵۸۶ ±۰/۵۵ ^d	۱/۰۲ ±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۰±۸۱/۰۱	۶۲/۵۶ ±۰/۹۶ ^{cd}	۱/۰±۰۴/۰۲ ^{cd}	۰/۰±۹۲/۰۶ ^{ab}
۲	۱۵/۵۳ ±۰/۱۲ ^c	۳۹/۸۰ ±۰/۷۲ ^{de}	۵۹۷ ±۰/۸۲ ^{de}	۰/۹۸ ±۰/۰۲ ^{ab}	۰/۰±۹۲/۰۱ ^e	۷۳/۲۹ ±۰/۲۹ ^e	۱/۰±۲۲/۰۲ ^e	۱/۰±۰۶/۰۳ ^{ef}
۳	۱۶/۲۰ ±۰/۱۰ ^e	۴۱/۱۷ ±۰/۷۶ ^f	۶۱۷/۵۰ ±۰/۴۶ ^f	۰/۸۶ ±۰/۰۲ ^a	۰/۰±۹۶/۰۲ ^e	۷۷/۴۹ ±۰/۲۱ ^f	۱/۰±۲۹/۰۴ ^f	۰/۰±۹۷/۰۰ ^{bc}
۴	۱۵/۱۷ ±۰/۱۵ ^b	۳۶/۲۷ ±۰/۴۶ ^c	۵۴۴ ±۰/۹۳ ^c	۰/۹۸ ±۰/۰۵ ^{ab}	۰/۰±۸۳/۰۴ ^d	۶۴/۱۹ ±۰/۷۹ ^d	۱/۰±۰۷/۰۶ ^d	۱/۰±۰۴/۰۲ ^{def}
۵	۱۵/۹۳ ±۰/۱۲ ^{de}	۳۵/۴۷ ±۰/۵۰ ^{bc}	۵۳۲ ±۰/۵۵ ^{bc}	۱/۱۲ ±۰/۰۱ ^{ab}	۰/۰±۷۸/۰۱ ^c	۵۹/۷۶ ±۰/۷۰ ^c	۰/۰±۹۹/۰۲ ^c	۰/۰±۸۸/۰۲ ^a
۶	۱۵/۷۳ ±۰/۱۲ ^{cd}	۳۹/۶۰ ±۰/۶۶ ^{de}	۵۹۴ ±۰/۸۴ ^{de}	۱/۰۱ ±۰/۰۳ ^{ab}	۰/۰±۸۳/۰۲ ^d	۶۴/۳۱ ±۰/۶۹ ^d	۱/۰±۰۷/۰۳ ^d	۱/۰±۰۲/۰۱ ^{cde}
۷	۱۵/۱۷ ±۰/۲۹ ^b	۳۴/۹۳ ±۰/۹۰ ^b	۵۲۴ ±۰/۵۳ ^b	۱/۳۷ ±۰/۰۴ ^b	۰/۰±۷۰/۰۳ ^b	۵۲/۱۷ ±۰/۳۸ ^b	۰/۰±۸۷/۰۴ ^b	۱/۰±۰۰/۰۴ ^{cd}
۸	۱۵/۴۷ ±۰/۰۶ ^{bc}	۴۰/۳۳ ±۰/۵۸ ^{ef}	۶۰۵ ±۰/۶۶ ^{ef}	۰/۷۳ ±۰/۰۲ ^a	۱/۰±۱۴/۰۲ ^f	۹۸/۴۱ ±۰/۷۵ ^g	۱/۰±۶۴/۰۵ ^g	۱/۰±۰۹/۰۱ ^f
۹	۱۵/۴۷ ±۰/۰۶ ^{bc}	۳۶/۳۳ ±۰/۵۸ ^c	۵۴۵ ±۰/۶۶ ^c	۱/۱۲ ±۰/۰۴ ^{ab}	۰/۰±۸۳/۰۲ ^d	۶۴/۶۹ ±۰/۴۰ ^d	۱/۰±۰۸/۰۴ ^d	۰/۰±۹۸/۰۱ ^c

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$).
TL: طول کل نهایی، W_f: وزن نهایی، BW: بیومس وزنی کل، FCR: ضریب تبدیل غذایی، SGR: ضریب رشد ویژه، BWI: درصد افزایش وزن، GR: میانگین رشد روزانه، CF: ضریب چاقی.

میانگین تعداد گلبول‌های سفید خون بچه قرمز، کمترین مقدار در تیمار شاهد و بیشترین ماهیان در تیمار شاهد کمترین و در تیمار ۹ در تیمار ۹ دیده شد (جدول ۳).
بیشترین بود (جدول ۳). در شاخص گلبول

جدول ۳: شاخص‌های خونی ماهی آزاد دریای خزر در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)

تیمار	WBC (mm ⁻³)	RBC (mm ⁻³)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Neu (%)	Lym (%)	Mon (%)	Eos (%)
شاهد	۴۳۰۰ ۱۰۰± ^a	۱,۱۰۳,۳۳۳ ۱۵۳± ^a	۹/۵۰ ۰±/۱ ^b	۱±۴۹ ^d	۴۴۶ ۱± ^b	۱±۸۶ ^b	۱۹/۱۷ ۰±/۷۶ ^a	۱±۲۳ ^a	۱±۷۳ ^d	۳/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۰±۱ ^b
۱	۱۱۲۰۰ ۱۰۰± ^d	۱,۳۰۵,۰۰۰ ۲۰۰± ^e	۷/۸۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۵ ^{bc}	۳۴۵ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۷/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۱ ^{bc}	۲±۶۳ ^b	۳/۳۳ ۱±/۵۳ ^a	۰±۱ ^b
۲	۱۰۴۰۰ ۱۰۰± ^c	۱,۲۹۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^d	۷/۷۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۳ ^{ab}	۳۳۳ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۲۹ ^b	۲±۶۷ ^c	۳/۳۳ ۱±/۵۳ ^a	۰±۱ ^b
۳	۱۳۵۰۰ ۱۰۰± ^f	۱,۲۹۵,۰۰۰ ۲۰۰± ^d	۷/۸۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۴ ^{ab}	۳۴۰ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۴ ^{cd}	۲±۶۱ ^{ab}	۵/۳۳ ۱±/۵۳ ^{ab}	۰±۱ ^b
۴	۸۹۰۰ ۱۰۰± ^b	۱,۲۵۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^c	۷/۴۰ ۱±/۰ ^a	۲±۴۱ ^a	۳۲۸ ۲۰± ^a	۵±۵۹ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۲۸ ^b	۲±۶۸ ^c	۳/۳۳ ۱±/۵۳ ^a	۰±۱ ^b
۵	۱۳۸۰۰ ۱۰۰± ^g	۱,۱۲۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^b	۸/۵۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۸ ^{cd}	۳۳۸ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۴ ^{cd}	۲±۶۰ ^{ab}	۵/۳۳ ۱±/۵۳ ^{ab}	۰±۱ ^b
۶	۱۲۹۰۰ ۱۰۰± ^e	۱,۳۴۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^f	۸/۰۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۵ ^{bc}	۳۳۶ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۳ ^{cd}	۲±۶۳ ^b	۴/۳۳ ۱±/۵۳ ^{ab}	۰±۱ ^b
۷	۱۳۷۰۰ ۱۰۰± ^g	۱,۳۱۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^e	۷/۸۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۴۳ ^{ab}	۳۲۸ ۲۰± ^a	۵±۵۹ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۵ ^d	۲±۵۹ ^a	۶/۳۳ ۱±/۵۳ ^b	۰±۱ ^b
۸	۱۱۲۰۰ ۱۰۰± ^d	۱,۵۵۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^g	۹/۲۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۵۳ ^e	۳۴۱ ۲۰± ^a	۵±۵۹ ^a	۱۷/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۳ ^{cd}	۲±۶۳ ^b	۴/۳۳ ۱±/۵۳ ^{ab}	۰±۱ ^b
۹	۱۵۰۰۰ ۱۰۰± ^h	۱,۵۶۰,۰۰۰ ۲۰۰± ^h	۹/۰۰ ۱±/۰ ^{ab}	۲±۵۱ ^{de}	۳۴۰ ۲۰± ^a	۵±۶۰ ^a	۱۸/۰۰ ۱±/۰۰ ^a	۲±۳۶ ^d	۲±۵۹ ^a	۱/۵۳ ^{ab} ۵/۳۳±	۰±۱ ^b

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$).

Neu: نوتروفیل، Lym: لنفوسیت، Mon: مونوسیت، Eos: ائوزینوفیل.

همچنین در میزان هموگلوبین خون ماهیان اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد که بیشترین در تیمار شاهد و کمترین در تیمار ۴ بود. بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار ۸ و کمترین در تیمار ۴ دیده شد. بیشترین مقدار نوتروفیل در تیمارهای ۷ و ۹، بیشترین مقدار لنفوسیت در تیمار شاهد و بیشترین مقدار مونوسیت در تیمار ۷ مشاهده شد ($P < 0.05$). همچنین از نظر MCV، MCH و MCHC و اتوزینوفیل بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد (جدول ۳). بیشترین میزان ایمونوگلوبولین کل در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمارهای ۲ و ۴ دیده شد، در حالی که بیشترین میزان لیزوزیم در تیمار ۹ و کمترین آن در تیمار شاهد دیده شد. همچنین بالاترین مقدار Igm در تیمارهای ۳ و ۹ و کمترین آن در تیمار ۴ اندازه‌گیری شد ($P < 0.05$; جدول ۴).

جدول ۴: شاخص‌های ایمنی در ماهی آزاد دریای خزر در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار)

لیزوزیم ($\mu\text{g/mL}$)	ایمونوگلوبولین کل ($\mu\text{g/dL}$)	IGM ($\mu\text{g/dL}$)	تیمار
۱ \pm ۲۰ ^a	۲۱/۰ \pm ۱۷/۷۶ ^c	۱ \pm ۴۵ ^d	شاهد
۲ \pm ۳۱ ^b	۱۷/۲ \pm ۵۰/۰۰ ^{abc}	۲ \pm ۴۰ ^c	۱
۲ \pm ۳۹ ^d	۱۶/۲ \pm ۰۰/۰۰ ^a	۲ \pm ۳۱ ^b	۲
۲ \pm ۷۰ ^g	۱۸/۲ \pm ۸۰/۰۰ ^{abc}	۲ \pm ۶۸ ^f	۳
۲ \pm ۳۵ ^c	۱۶/۲ \pm ۰۰/۰۰ ^a	۲ \pm ۲۲ ^a	۴
۲ \pm ۵۹ ^e	۱۷/۲ \pm ۴۰/۰۰ ^{ab}	۲ \pm ۶۴ ^e	۵
۲ \pm ۶۹ ^g	۱۸/۲ \pm ۰۰/۰۰ ^{abc}	۲ \pm ۶۵ ^{ef}	۶
۲ \pm ۶۳ ^f	۱۷/۲ \pm ۵۰/۰۰ ^{abc}	۲ \pm ۴۴ ^d	۷
۲ \pm ۳۲ ^{bc}	۱۷/۲ \pm ۵۰/۰۰ ^{abc}	۲ \pm ۳۳ ^b	۸
۲ \pm ۷۶ ^h	۲۱/۲ \pm ۰۰/۰۰ ^{bc}	۲ \pm ۷۵ ^g	۹

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P < 0.05$).

بحث

در آینده سوددهی آبی‌پروری وابسته به توانایی متخصصین تغذیه در فرموله کردن جیره‌ها و اجزای غذایی و استفاده از مکمل‌های غذایی مناسب برای حفظ روند رشد و سلامت ماهی در محیط‌های متراکم است (Gatlin, 2002). وجود ویتامین‌ها برای بقا، رشد و تولیدمثل طبیعی جانوران ضروری است (افشار مازندران، ۱۳۸۱) و به عنوان یکی از اصلی‌ترین موارد ضروری جیره است. همچنین دانستن میزان مناسب مصرف آن‌ها با توجه به آثار آنتاگونیستی احتمالی این مواد بر رشد و سیستم ایمنی نیز ضروری است (فراهانی، ۱۳۸۳). ویتامین‌ها مانند کاتالیزور عمل می‌کنند و امکان و توانایی بدن برای مصرف بقیه ترکیبات غذایی را فراهم می‌آورند (Halver, 1957). ترکیب بدن همواره تحت تاثیر ترکیب جیره و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه است. همچنین ویتامین‌ها با اثر در سیستم متابولسم بدن می‌توانند در ترکیب لاشه موثر باشند (فلاح‌تکار، ۱۳۸۴). بررسی کیفیت پرورش ماهی در ایران نشان داده است که تغذیه اصولی و کامل ماهیان پرورشی به ویژه در گونه‌هایی که احتیاجات غذایی خود را منحصر از طریق غذای مصنوعی به دست می‌آورند، وابسته به مقدار و

میزان بهینه ویتامین‌های به کار رفته در جیره غذایی است. به منظور تامین تمامی ترکیبات غذایی مورد نیاز در حد لازم، به کارگیری مقادیر متعادلی از آن‌ها برای دستیابی به رشد مناسب ضروری است. در چنین سیستم‌هایی، برای دستیابی به رشد مطلوب، فرمولاسیون صحیح و تولید مناسب غذاهای مصنوعی ضروری است (افشار مازندران، ۱۳۸۱).

با توجه به نتایج به دست آمده، ماهی آزاد دریای خزر نسبت به جیره‌های غذایی واکنش مناسبی از خود نشان دادند. نتایج آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه بین تیمارهای مورد بررسی نشان داد که از نظر شاخص‌های SGR, FCR, BWI, GR و CF اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. به طور کلی بهترین ضریب تبدیل غذایی، بیشترین ضریب رشد ویژه، بیشترین میانگین رشد روزانه، بیشترین ضریب چاقی و بیشترین درصد افزایش وزن بدن مربوط به تیمار ۸ یعنی E+B₂ با غلظت ۲۰۰+۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود. تحقیقات زیادی برای تعیین مقادیر بهینه ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی ماهیان پرورشی همچون قزل‌آلا رنگین‌کمان، ماهی آزاد اقیانوس اطلس، کپور، سیم دریایی، مارماهی و گربه‌ماهی انجام شده است (Hardy, 2002 Halver and). مطالعه

ویتامین E در جیره غذایی میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) منجر به افزایش رشد آن شد. استفاده از آلفا-توکوفرول استات به عنوان منبع ویتامین E در غنی‌سازی آرتیمیا به همراه اسیدهای چرب ضروری افزایش میزان رشد لاروهای فیل‌ماهی را در پی داشت (جلالی و همکاران، ۱۳۸۷) که با نتایج حاضر همخوانی دارد. Huang و Huang (۲۰۰۴) دریافتند که رشد در ماهیانی که با رژیم غذایی حاوی مقادیر کمتری ویتامین E تغذیه شده بودند به طرز چشمگیری در سطح پایین‌تری قرار داشت. Lin و Shiao (۲۰۰۵) با بررسی ویتامین E مورد نیاز ماهی هامور بیان کردند که رژیم غذایی بهینه از نظر ویتامین E که پیش‌نیاز ماهیان هامور نابالغ است باعث افزایش وزن در آن‌ها می‌شود. ماهیان شیپ انگشت‌قندی که با غذای SFC حاوی B₂+E (۲۰+۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) تغذیه شدند بیشترین افزایش وزن و طول را داشتند و در مقابل ماهیان تیمار شاهد کمترین افزایش وزن و طول را دارا بودند. همچنین بیشترین میزان ضریب تبدیل غذا، درصد افزایش وزن بدن، ضریب چاقی و میانگین رشد روزانه و وزن نهایی، بهبود و کمترین ضریب تبدیل غذا در ماهیان تغذیه شده از جیره حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۲۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین مشاهده

روی تاس‌ماهی شیپ نشان می‌دهد که افزودن ریبوفلاوین و ویتامین E به جیره فرموله شده اثرات سودمندی بر شاخص‌های رشد این گونه دارد (عاشوری و همکاران، ۱۳۹۳). ماهیانی که با غذای بدون مکمل ویتامینی تغذیه شدند، کمترین افزایش وزن و طول را داشتند. نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که غلظت مناسب ویتامین B₂ در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر، نقش به‌سزایی در رشد و افزایش شاخص‌های زیستی بدن مانند وزن و طول کل ایفا می‌کند. Fang Deng و Wilson (۲۰۰۳) با بررسی ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان Sunshine Bass بیان کردند مقادیر پایین ویتامین B₂ در جیره غذایی این ماهی عوارضی همچون کم‌اشتهایی و کاهش رشد را نشان می‌دهد. به‌طور کلی ویتامین‌های محلول در آب مانند ویتامین‌های گروه B نقشی مهم در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی دارند و به عنوان کوآنزیم عمل می‌کنند (Lall, 2000). پژوهش‌ها بر روی ماهی روهو نشان داد که تغذیه این ماهی با جیره غذایی حاوی کمتر از ۱۰۰ mg/Kg ویتامین E منجر به کاهش وزن، کارایی تغذیه و شاخص‌های غذایی دیگر شد (Liu, 2004 Sau et al.). همکاران (۲۰۰۷) عنوان کردند که کاربرد

شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مخلوط ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۲۰ میلی‌گرم ربیوفلاوین در جیره موجب افزایش روند رشد، در بچه ماهیان شد (عاشوری و همکاران، ۱۳۹۳). همچنین نتایج مقایسه شاخص‌های زیست‌سنجی و رشد بر اساس تیمارهای مختلف، ترکیب سطوح ویتامین E+B₂ در جیره غذایی کپور معمولی نشان داد که این تیمارها از لحاظ تمامی شاخص‌های ارزیابی شده بجز ضریب چاقی (CF) دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند (شریف‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). مطالعه حاضر همانند نتایج مطالعات فوق نشان می‌دهد که ویتامین E و B₂ بر رشد ماهی تاثیر دارد. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش میزان ویتامین E و B₂ در جیره غذایی بر تغییرات شاخص‌های خونی ماهی موثر است. میزان گلبول‌های قرمز و سفید، با افزودن ویتامین‌های E و B₂ به طور جداگانه و مخلوط با هم به طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت. مطالعات بر روی ماهی روهو نشان داد که با افزایش ویتامین E هم از مقادیر TBARS (مواد واکنش‌پذیر اسید تیوباربیتوریک، Thiobarbituric Acid، Reactive Substances) و هم شکنندگی گلبول‌های قرمز کاسته شده است (Sahoo and Mukherjee, 2002; Belo et al., 2004). در مطالعه حاضر بیشترین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز مربوط به تیمار ۹ یعنی ویتامین E+B₂ با غلظت ۳۰۰+۲۵mg/Kg و کمترین میزان گلبول‌های سفید و قرمز مربوط به تیمار شاهد بود که دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود. همچنین شریف‌زاده و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی ماهیان انگشت‌قد کپور بیان کردند که بیشترین میزان گلبول‌های قرمز و سفید مربوط به ۷mg/Kg ویتامین B₂ به علاوه ۸۰mg/Kg ویتامین E است که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. به طور کلی شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی وابستگی زیادی به شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و غیره دارند (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۷). لیزوزیم یکی از ترکیبات مهم در سیستم ایمنی دفاعی بدن در مهره‌داران و نرم‌تنان است (Posten et al., 1976). ویتامین E نقش مهمی را در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف سیستم ایمنی بدن ماهی (Gatlin, 2002) ایفا می‌کند. دانشمندان مختلف بیان کرده‌اند که ویتامین E و B₂ می‌توانند از غیرفعال شدن سیستم ایمنی پیشگیری کرده، مقاومت غشاهای گلبول‌های قرمز را افزایش دهند. (Sahoo and Mukherjee, 2002; Belo et al., 2004).

مقایسه با ماهیان تیمار شاهد به طور معنی‌داری در سطح بالاتری قرار داشت (عاشوری و همکاران، ۱۳۹۳). همچنین نتایج مقایسه شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی خون در بین تیمارهای مختلف جیره غذایی کپور معمولی نشان داد که این تیمارها از لحاظ شاخص‌های گلبول قرمز، هماتوکریت، غلظت هموگلوبین داخل گلبولی، نوتروفیل، لنفوسیت و IgM در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بود (شریف‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳).

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که افزودن ویتامین به جیره باعث تقویت عملکرد رشد و بالا بردن سیستم ایمنی بدن می‌شود و اثر هم‌افزایی ویتامین E و B₂ تاثیر بیشتری بر رشد ماهی آزاد دریای خزر داشته است. با توجه به قیمت مناسب ویتامین خالص و مقدار کم مصرفی آن در جیره و با توجه به اختلاف وزن به دست آمده با تیمار شاهد (غذای استاندارد، بدون افزودن مکمل ویتامینی) افزودن آن در کارگاه‌ها مقرون به صرفه و دارای توجه اقتصادی است.

محترم آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر فدایی رشت ابراز می‌دارند.

al., 2005). از لحاظ شاخص‌های ایمنی بیشترین میزان ایمونوگلوبولین کل در تیمار شاهد و ۹، بیشترین میزان لیزوزیم در تیمار ۹ و بالاترین مقدار IgM در تیمار ۹ مشاهده شد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که ریپوفلاوین اضافه شده به جیره بر سیستم ایمنی ماهیان تاثیرگذار است، به نحوی که تعداد گلبول سفید و فعالیت کامپلیمنت CH₅₀ در ماهیان تغذیه شده با جیره ریپوفلاوین به میزان ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (RB20) به طور معنی‌داری بر ماهیان تیمار شاهد برتری دارد (عاشوری و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج نشان داد که افزایش مکمل ویتامین E و B₂ اضافه شده در جیره بر شاخص‌های خونی و سیستم ایمنی بدن بچه ماهیان شیپ تاثیرگذار است. به طوری که میزان گلبول قرمز، فعالیت لیزوزیم، IgM، ایمونوگلوبولین کل و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E در بالاترین سطح و میزان هموگلوبین و فعالیت کامپلیمنت نوع CH₅₀ در ماهیان با جیره حاوی ۲۰ میلی‌گرم B₂ در

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه مسئولین

منابع

- احتشامی ف. ۱۳۸۶. تغذیه ماهیان پرورشی (ترجمه). معاونت تکثیر و پرورش آبزیان مدیریت آموزش و ترویج. ۳۹۶ص.
- افشار مازندران ن. ۱۳۸۱. راهنمای علمی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. چاپ سما رنگ. ۲۱۶ص.
- جلالی م.ع.، حسینی س.ع.، ایمانیور م.ر. و علی محمدی ا.ع. ۱۳۸۷. اثر آرتمیا اورمیانای غنی شده با ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع بر میزان رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در لارو فیل ماهی. مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۲): ۵۸-۴۹.
- شاهسونی د.، وثوقی غ. و خضرائی نیا پ. ۱۳۷۷. تعیین برخی فاکتورهای خونی ماهی ازون برون در سواحل جنوب شرقی دریای خزر. پژوهش و سازندگی، ۴۴: ۱۳۰-۱۲۶.
- شریعتی ا. ۱۳۷۱. ماهیان دریای خزر و حوضه آبریز آن (ترجمه). انتشارات شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۷۱ص.
- شریف‌زاده س.ع.، قبادی ش. و خارا ح. ۱۳۹۳. تاثیر ویتامین‌های E و B₂ (ریبوفلاوین) بر رشد، بازماندگی و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی
- کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). Linnaeus, 1758. آبزیان و شیلات، ۵(۱۹): ۵۱-۶۱.
- عاشوری ع.، خارا ح.، یزدانی ساداتی م.ع. و کاظمی ر. ۱۳۹۳. بررسی تاثیر ویتامین‌های توکوفرول (E) و ریبوفلاوین (B₂) بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی شیب (*Acipenser nudiventris*). فیزیولوژی و تکوین جانوری (علوم زیستی)، ۸(۱): ۲۲-۱۷.
- عامری مهابادی م. ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۲۶ص.
- فراهانی ر. ۱۳۸۳. راهنمای پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. انتشارات نقش مهر. ۱۵۸ص.
- فلاح‌تکار ب. ۱۳۸۴. اثر ویتامین C جیره بر برخی شاخص‌های هماتولوژیک، بیوشیمی و رشد در فیل ماهی. رساله دکتری، دانشگاه تربیت مدرس. ۸۶ص.
- مهرابی ی. ۱۳۷۸. مطالعه مقدماتی اثر بیپوشی گل میخک روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره پیاپی ۴۰، ۴۱، ۴۲: ۱۶۲-۱۶۰.
- Amar E.C., Kiron V., Satoh S., Okamoto N. and Watanabe T. 2000. Effects of dietary b-carotene on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science, 66: 1068-1075.
- Belo M., Schalch S., Moraes F., Soares V., Otoboni A. and Moraes J. 2005. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish,

- Piaractus mesopotamicus*. Journal of Comparative Pathology, 133: 146–154.
- Brigelius-Flohe R., Kelly F.J., Salonen J.T., Neuzil J., Zingg J. and Azzi A. 2002.** The European perspective on vitamin E: Current knowledge and future research. The American Journal of Clinical Nutrition, 76: 703–716.
- Chaiyapechara S., Casten M.T., Hardy R.W. and Dong F.M. 2003.** Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. Aquaculture, 219: 715–738.
- Ellis A.E. 1977.** The leukocytes of fish: A review. Journal of Fish Biology, 11(5): 453–491.
- Fang Deng D. and Wilson R. 2003.** Dietary riboflavin requirement of juvenile Sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). Aquaculture, 218: 695–701.
- Gatlin D.M. 2002.** Nutrition and fish health. P: 671–702. In: Halver J.E. and Hardy R.W. (Eds.). Fish Nutrition. Academic Press, USA.
- Halver J. and Hardy R. 2002.** Fish Nutrition. Elsevier Publications, USA. 839P.
- Halver J.E. 1957.** Nutrition of salmonoid fishes III. Water-soluble vitamin requirements of Chinook salmon. The Journal of Nutrition, 62: 225–243.
- Huang C.H. and Huang S.L. 2004.** Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* fed oxidized oil. Aquaculture, 237: 381–389.
- Huang J., Tian L., Wu X., Yang H. and Liu Y. 2010.** Effects of dietary riboflavin levels on antioxidant defense of the juvenile grouper *Epinephelus coioides*. Fish Physiology and Biochemistry, 36: 55–62.
- Klontz G.W. 1994.** Fish hematology. P: 121–132. In: Stolen J.S., Fletcher T.C., Rowley A.F., Kelikoff T.C., Kaattari S.L. and Smith S.A. (Eds.). Techniques in Fish Immunology. SOS Publications, USA.
- Lall S.P. 2000.** Nutrition and health of fish. P: 13–23. In: Cruz-Suarez L.E., Ricque D., Tapia-Salazar M., Olvera Novoa M.A. and Cerecedo R. (Eds.). Avances en Nutricion Acuicola V. Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico.
- Li P., Wang X. and Gatlin D. 2008.** RRR- α -Tocopheryl succinate is a less bioavailable source of vitamin E than all-rac- α -tocopheryl acetate for red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture, 280: 165–169.
- Lin Y.H. and Shiau S.Y. 2005.** Dietary vitamin E requirements of

- grouper, *Epinephelus malabaricus*, under two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture*, 248: 235–244.
- Liu Y., Wang W.N., Wang A.L., Wang J.M. and Sun R.Y. 2007.** Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. *Aquaculture*, 265: 351–358.
- Merrifield D.L., Bradley G., Harper G.M., Baker R.T.M., Munn C.B. and Davies S.J. 2011.** Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 17(3): 73–79.
- Panigrahi A., Kiron V., Puangkaew J., Kobayashi T., Statoh S. and Sugita H. 2005.** The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 243: 241–254.
- Posten F.L., Pedigo R.B. and Hammond R.B. 1976.** Effects of artificial and insect defoliation on soybean net photosynthesis. *Journal of Economic Entomology*, 69: 109–112.
- Sahoo P.K. and Mukherjee S.C. 2002.** Influence of high dietary α -tocopherol intakes on specific immune response, nonspecific resistance factor and disease resistance of healthy and aflatoxin B1-induced immunocompromised Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*, 8: 159–167.
- Sau S., Paul B., Mohanta K. and Mohanty S. 2004.** Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. *Aquaculture*, 240: 359–368.
- Simmons A. 1997.** Hematology. Butterworth-Heinemann, UK. 507P.
- Siwicki A.K. and Anderson D.P. 1993.** Nonspecific defence mechanisms assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. *Fish Disease Diagnosis and Preventions Methods*, 105–111.
- Traber M.G. and Atkinson J. 2007.** Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology and Medicine*, 43: 4–15.
- Webster C.D. and Lim C. 2002.** Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CAB International, UK. 418P.



Effects of vitamin B₂ and E on performance of growth, hematological and immunology indices in Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*)

Afshin Ashouri¹, Hossein Khara^{2*}, Mohaddeseh Ahmadnezhad³

Received: May 2017

Accepted: December 2017

Abstract

The Caspian Sea salmon (*Salmo trutta caspius*) is anadromous fish which has economic value and high popularity. In this study, the effects of vitamin E and B₂ were investigated on growth performance, hematological and immunology parameters. This study does on 750 fish. Fishes with an initial weight of 20±3g were divided into 10 groups, one was the control group and other groups received different doses of vitamin E and B₂. 15, 20, 25 mg/Kg vitamin B₂, 100, 200 300 mg/Kg vitamin E and 15+100, 20+200 and 25+300 mg/Kg mixture of vitamin B₂+E in T1 to T9, respectively. Significant differences were observed in final weight and length of different treatments (P<0.05). The lowest weight and length increment was seen in the control group. Also, the best FCR and the highest SGR, GR, BWI, and CF were observed in T8, the largest WBC, RBC, IgM, and lysozyme were measured in T9 and the largest MCHC, MCH, MCV, Hb and total immunoglobulin were recorded in control group. The best performance was obtained in T8 (20B₂+200E). Overall results showed that adding the mixture of 2 vitamins improve growth and performances of the immune system and has larger effects on growth.

Key words: *Salmon, Vitamin, Growth, Hematological Index.*

1- M.Sc. in Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3- Assistant Professor in Inland Waters Aquaculture Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Anzali, Iran.

*Corresponding Author: h.khara1974@yahoo.com