

بررسی تاثیر ویتامین های توکوفرول (E) و ریبوفلاوین (B_۲) بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی شیپ (*Acipenser nudiventris*)

علیرضا عشوری^۱، حسین خارا^۱، محمد علی یزدانی ساداتی^۱، رضوان الله کاظمی^۱

۱- موسسه تحقیقات بین المللی تاس ماهیان دریای خزر، بخش تکثیر و پرورش، رشت. ایران. Alireza.ashouri52@gmail.com

۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر سطوح مختلف مکمل های ویتامین E و B_۲ بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه تاس ماهی شیپ است.

روش کار: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ گروه شرکت کننده شد. به تیمار شاهد ویتامین E و B_۲ اضافه نشد. در تیمارهای بعد به ترتیب ۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ویتامین E، ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم B_۲، مخلوط ویتامین E و B_۲ به میزان ۱۵۰+۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم و ۲۰۰+۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم و ۳۰۰+۲۵۰ میلی گرم در کیلوگرم به هر تیمار اضافه شد. بچه ماهیان شیپ با متوسط وزن اولیه $1/5 \pm 30$ گرم به مدت ۸ هفته تغذیه شدند و در پایان دوره پرورش شاخص های خونی و ایمنی در آن ها اندازه گیری شد.

یافته ها: نتایج نشان دادند که افزایش مکمل ویتامین E و B_۲ اضافه شده در جیره بر شاخص های خونی و سیستم ایمنی بدن ماهیان تاثیرگذار است. به طوری که میزان گلبول قرمز، فعالیت لیزوزیم، IgM، توقال ایمونوگلوبین و هماتوکربت در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E در بالاترین سطح و میزان هموگلوبین و فعالیت کامپلایمنت نوع CH₅₀ در ماهیان با جیره حاوی ۲۰ میلی گرم در مقایسه با ماهیان تیمار شاهد به طور معنی داری در سطح بالاتری قرار داشت ($P \leq 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که مخلوط ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۲۰ میلی گرم B_۲ در جیره موجب بهبود شاخص های خونی و ایمنی در بچه ماهی شیپ می گردد.

واژه های کلیدی: تاس ماهی شیپ، ویتامین E، ویتامین B_۲، شاخص های خونی و ایمنی.

مقدمه

متراکم سلامتی آن ها است، بدین معنی که آن ها باید قادر به مقابله با شرایط استرس زای محیط و حذف عوامل بیماری زای خارجی و درون سلولی و نگهداری تعادل اسمزی خود باشند (۸). در تغذیه ماهیان، آزاد ماهیان دو نوع ویتامین E و ریبوفلاوین نقشی اساسی دارند. ویتامین E یک ویتامین محلول در چربی است و کمبود آن در آزاد ماهی آتلاتیک (*Salmo salar*) موجود کاهش رشد، بیرون زدگی چشم، چسبندگی فیلامان های آبسشی، ضایعات و دژنراسیون عضلات، کاهش میزان تخم و باروری و کاهش پاسخ ایمنی اختصاصی می گردد (۱۲). Sau و همکاران در سال

در حال حاضر پرورش ماهیان خاویاری در کشور به سرعت رو به توسعه می باشد، گونه های پرورشی عمده در این مراکز تولیدی فیل ماهی، تاس ماهی سیری و گونه شیپ است. وجود ویتامین ها به میزان کافی در پرورش متراکم اهمیت خاصی دارد. از سوی دیگر بررسی کیفیت پرورش ماهی در ایران نشان داده است که تغذیه اصولی و کامل ماهیان پرورشی به ویژه در گونه هایی که احتیاجات غذایی خود را منحصر از طریق غذای مصنوعی به دست می آورند وابسته به مقدار و دوز بهینه ویتامین های به کار رفته در جیره غذایی می باشد (۱). عامل دوم جهت پرورش موفقیت آمیز ماهیان در محیط

اما نتایج یک سری تحقیقات نشان داده است که دوز و محدوده مشخصی از ویتامین های به کار رفته در جیره تاثیرات مفیدی بر روند رشد و سیستم ایمنی بدن ماهیان دارند^(۳). از آن جایی که تاس ماهی شیپ یکی از گونه های عمدۀ در پرورش گوشتی ماهیان خاویاری در کشور محسوب می گردد و باید در تراکم های بالا پرورش یابد، شناخت نیازمندی های غذایی و بررسی تاثیر افزودن ویتامین های محلول در آب و چربی بر روند رشد و شاخص های ایمنی که تاثیر مثبتی بر افزایش بازده تولید خواهد داشت از اهمیت خاصی برخوردار می باشد، بنابراین در این تحقیق اثر سطوح مختلف ویتامین E و ریبوفلاوین بهصورت جداگانه و مخلوط با هم بر روند رشد، شاخص های خونی و سیستم ایمنی تاس ماهی شیپ در مرحله رشد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

ویتامین E و B₂ مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پدیده کالای باستان تهران خریداری شد. براساس بروشورهای دریافتی هر کیلوگرم پرمیکس رومیت E حاوی ۵۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین E مکمل و هر کیلوگرم رومیت B₂ حاوی ۴۰۰۰ میلی گرم ریبوفلاوین بود. ابتدا اجزای اولیه غذا (پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر، فiber، کربوهیدرات و انرژی کل) آنالیز شد، سپس با استفاده از برنامه ریزی خطی در محیط Excel یک جیره (حاوی ۴۹ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی و ۲۱ مگاژول انرژی در کیلوگرم) بر اساس میزان انرژی آزاد شده از هر گرم پروتئین، لیپید و کربوهیدرات به ترتیب برابر با ۵/۴۸، ۹/۸ و ۴/۱۸ کیلوکالری بر اساس روش های اندازه گیری استاندارد مواد غذایی با روش NRC در سال ۱۹۹۳ ساخته شد. مقدار ویتامین E ۲۰/۵۶ و مقدار ریبوفلاوین ۴/۲ میلی گرم در کیلوگرم تیمار اعلام گردید، در مرحله بعد ۵ جیره ایزوکالریک و ایزوپروتئین با جیره اول ساخته و ویتامین E و ریبوفلاوین

۲۰۰۴، نیازبچه ماهی روهو (*Labeo rohita*) به رژیم خوراکی با ویتامین E، در ارتباط با عملکرد رشد بررسی نمودند و به این نتیجه دست یافتند که رژیم خوراکی حاوی ۱۰۰ میلی گرم مکمل ویتامین E به طرز چشم-گیری باعث افزایش وزن و کارایی تغذیه می شود^(۴). Lim و همکاران تاثیر سطوح مختلف چربی و ویتامین E جیره را بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی و میزان مقاومت ماهی تیلاپیای نیل به استرپتوکوس اینیا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که چربی و ویتامین موجود در جیره تاثیری بر روند رشد، غذای جذب شده و درصد بقا نداشته، اما چربی لاشه در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین E به طور معنی داری افزایش یافت. هم چنین شاخص های خونی و هپاتوسوماتیک ماهیان تغذیه شده از تیمارهای مختلف غذایی تغییر کرده بود^(۹). ریبوفلاوین ویتامین محلول در آب است که کمبود آن اختلالات وسیع و گستره ای در آزاد ماهیان ایجاد می کند. Webster و همکاران در سال ۲۰۰۲ کمبود ریبوفلاوین در گریه ماهی روگاهی را بررسی کردند^(۱۵). نتایج بهصورت کاهش رشد و کارایی غذا، دیستروفی عضلاتی، کبد چرب و مرگ و میر زیاد در دوران لاروی و بچه ماهی بروز می کند. نتایج تحقیقات Fang Deng & Wilson در سال ۲۰۰۳ که به بررسی مقادیر مورد نیاز ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان Sunshine bass انجام گردید، بیان نمود مقادیر پایین ویتامین B₂ در جیره غذایی این ماهی عوارضی هم چون کم اشتهایی و کاهش رشد را نشان می دهد^(۵). Huang و همکاران در سال ۲۰۱۰ بیان نمودند که ریبوفلاوین فعالیت آنتی اکسیدانی دارند^(۸). متأسفانه در حال حاضر نیازهای کمی و اختصاصی ویتامین ها در ماهیان خاویاری تعیین نشده است و موارد تحقیق در این زمینه از تعداد انگشتان دست تیز فراتر نمی رود و داده ها نیز به علت محدودیت شدید روش شناختی کامل نیستند.

جیره ۴: ویتامین E و B_۲ بهمیزان ۱۵ میلی گرم
 جیره ۵: ویتامین E و B_۲ ۲۰ میلی گرم
 جیره ۶: ویتامین E و B_۲ ۲۵ میلی گرم به هر کیلو گرم جیره اضافه شد. ترکیب شیمیایی جیره ها در جدول ۱ ارائه گردیده است:

(B_۲) در سطوح مختلف به ترتیب زیر به ازای هر کیلو گرم جیره اضافه گردید(۱۰).

جیره ۱: فاقد ویتامین E و B_۲
 جیره ۲: ۳۰۰ میلی گرم در کیلو گرم ویتامین E مقدار ثابت(۲)

جیره ۳: ۲۰ میلی گرم در کیلو گرم B_۲

جدول ۱- ترکیب شیمیایی جیره های غذایی

ترکیب شیمیایی	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳	جیره ۴	جیره ۵	جیره ۶
ماده خشک (%)	۶۵/۳۷	۹۵/۱	۹۵/۲	۹۵/۳	۹۵/۲	۴۵/۴
پروتئین (%)	۴۹	۴۹/۱	۴۹/۲	۴۸/۸	۴۹	۴۹/۱
چربی (%)	۱۴	۱۴	۱۴/۱	۱۳/۸	۱۴/۱	۱۴
رطوبت (%)	۱۴/۲	۱۴/۳	۱۴/۱	۱۴/۲	۱۴/۲	۱۴/۲
خاکستر (%)	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷	۲۰/۷
فیبر	۲	۲	۲	۲	۲/۱	۲
انرژی کل (مگازول بر کیلو گرم)	۲۱/۱	۲۱/۱	۲۱/۱۵	۲۱/۲۷	۲۱/۲	۲۱/۱۸

بعد از آخرین بیومتری ۳۰ درصد از جمعت ماهیان در تیمار به طور تصادفی انتخاب و با سرنگ ۳ سی سی (۱۳) از ساقه دمی آن ها نمونه خون تهیه و جهت اندازه گیری شاخص های خونی (گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت) و فاکتورهای ایمنی (لیزوژیم، توتال ایمنو گلوبولین، IgM و کامپلیمنت CH₅₀) به آزمایشگاه ارسال شدند. لازم به ذکر است در هنگام خون گیری از مواد بیهوده کننده به علت احتمال تاثیر بر روی سطوح شاخص های خونی استفاده نگردید. داده های اولیه در نرم افزار Excel به عنوان بانک اطلاعاتی ذخیره و پس از ثبت با آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون جداساز دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح احتمال ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون Kolmogorov-Smirnov جهت بررسی توزیع نرمال ماهیان توزیع شده در وان ها استفاده شد.

نتایج

نتایج مربوط به میانگین درجه حرارت، اکسیژن و شوری و pH در طول دوره به ترتیب برابر با ۲۴/۶±۰/۵

مراحل اجرای این تحقیق از تاریخ ۱۳۹۱/۳/۱ لغایت ۱۳۹۱/۴/۳۰ در ایستگاه تحقیقات تاس ماهیان گیلان- چابکسر و با استفاده از آب لب شور دریای خزر انجام شد. در ابتدای آزمایش و به منظور سازگاری ماهیان با شرایط جدید پرورشی تعداد ۱۵۰ عدد ماهی شیب از انسیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به سایت چابکسر انتقال و در وان های فایبر گلاس ذخیره بمنظور سازش با شرایط جدید با جیره بیومار فرانسه به مدت ۲ هفته تغذیه شدند. پس از طی این دوره تعداد ۱۲۰ عدد ماهی با متوسط وزن ۰/۱۴۵ ± ۰/۳۳ گرم انتخاب و به صورت تصادفی بدون دارا بودن اختلاف معنی دار آماری در شاخص وزن در ۱۲ وان فایبر گلاس دو تنی توزیع گردیدند. ماهیان در طول دوره پرورش روزانه به میزان ۳ تا ۵ درصد وزن بدنه (تا حد سیری) در سه نوبت تغذیه شدند. بیومتری ماهیان در فواصل ۲۵ روزه انجام می گرفت و بر اساس وزن به دست آمده میزان غذای داده شده برای دوره بعد تنظیم می گردید. بعد از طی دوره تحقیق (۸ هفته) و ۲۴ ساعت

توatal ایمونوگلوبولین در ماهیان روند افزایشی را نشان داد، اما دارای اختلاف معنی دار آماری با تیمار شاهد نبود ($P > 0.05$)، ولی با افزودن ویتامین E و B_۲ فعالیت لیزوزیم، IgM و کمپلایمان در ماهیان به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان لیزوزیم و IgM در ماهیان تغذیه شده با جیره (۳۰۰ میلی گرم ویتامین E) و بیشترین فعالیت کمپلایمان در ماهیان تغذیه شده با جیره های ۲ و ۳ به ترتیب حاوی ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۲۰ میلی گرم B_۲ ثبت گردید ($P < 0.05$).

درجه سانتی گراد، $7/13 \pm 0.5$ میلی گرم در لیتر، شوری ۸/۵ و pH برابر با $7/2 \pm 0.23$ بود. میزان گلوبول های قرمز، سفید، هماتوکریت، هموگلوبین و فعالیت سیستم ایمنی با افزودن ویتامین های E و B_۲ به طور جداگانه و مخلوط با هم به طور معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین میزان گلوبول های قرمز، سفید و هماتوکریت مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره ۲ و هم چنین بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار ۳ و ۵ حاوی ۲۰ میلی گرم ویتامین B_۲ و جیره ۵ ($300+20$ میلی گرم) هر چند با افزایش مکمل های ویتامینی فعالیت

جدول ۲- تأثیر مکمل های ویتامین بر شاخص های خونی بچه ماهیان در یک دوره ۸ هفته ای

شاخص ها	گلوبول سفید (Mm ³)	گلوبول قرمز (Mm ³)	هموگلوبین (g/dl)	هماتوکریت (%)
جیره ۱	$27166/66 \pm 1922/0.9^{cd}$	1220000 ± 32000^a	$2/40 \pm 0.1^a$	21 ± 1^{ab}
جیره ۲	$30333/33 \pm 833/33^{cd}$	$2016666/7 \pm 4051/75^b$	$4/5 \pm 0.5^a$	$224/33 \pm 23/48^b$
جیره ۳	$22666/66 \pm 881/33^{bc}$	$13113333/3 \pm 1650.58/91^{ab}$	$6/63 \pm 0.94^b$	$19/33 \pm 0.66^{ab}$
جیره ۴	$19116/66 \pm 333/33^{ab}$	$1473333/3 \pm 62271/8.0^{ab}$	$4/1 \pm 0.37^a$	$19/33 \pm 1/20^{ab}$
جیره ۵	$17500/0 \pm 866/0.2^a$	$1733333/3 \pm 109290/64^{ab}$	$9/33 \pm 0.16^c$	$22 \pm 2/30^{ab}$
جیره ۶	$20666/66 \pm 600/92^{ab}$	$161000 \pm 51735/0.2^{ab}$	5 ± 0.76^{ab}	

جدول ۳- تأثیر مکمل های ویتامین بر شاخص های ایمنی بچه ماهیان در یک دوره ۸ هفته ای

شاخص ها	جیره ۱	جیره ۲	جیره ۳	جیره ۴	جیره ۵	جیره ۶
توقال ایمونوگلوبین	$7/26 \pm 1/31^{ab}$	$12/73 \pm 2/75^b$	$8/06 \pm 1/44^{ab}$	$6/43 \pm 1/47^a$	$8/3 \pm 1/35^{ab}$	$6/26 \pm 1/68^a$
لیزوزیم	$42/00 \pm 6/80^a$	$94/66 \pm 15/34^b$	$47/33 \pm 8/37^a$	$57/66 \pm 12/54^a$	$53/00 \pm 5/50^a$	$60/66 \pm 9/52^a$
CH ₅₀	$32/1 \pm 2/36^b$	$41/06 \pm 1/23^c$	$49/33 \pm 5/94^c$	$14/23 \pm 2/11^a$	$10/66 \pm 0/64^a$	$8/1 \pm 0/87^a$
IgM	$6/33 \pm 1/20^a$	$24/00 \pm 2/08^c$	$22/33 \pm 1/20^c$	$22/66 \pm 3/92^c$	$12/00 \pm 4/35^{ab}$	

های قرمز، سفید، هماتوکریت، هموگلوبین و فعالیت سیستم ایمنی با افزودن ویتامین های E و B_۲ به طور جداگانه و مخلوط با هم به طور معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت که مطابق با نتایج Sau و همکاران است که اظهار نموده اند افزودن ویتامین E در جیره موجب می گردد مقدار TBARS و شکنندگی اریتروسیت کاهش یابد (۱۴). همانند چنین تحقیقی نیز توسط تاتینا و همکاران بر روی ماهی استرلیاد پرورش (Acipenser ruthenus) صورت گرفت، به طوری که

بحث و نتیجه گیری
امروزه پرورش آبزیان، به منظور رها سازی بچه ماهیان در آب های طبیعی جهت بازسازی ذخایر و به منظور تولید پروتئین، یک صنعت رو به رشد در سراسر دنیا محسوب می شود و در آینده سود دهی آبزی پروری وابسته به توانایی متخصصین تغذیه در فرموله کردن جیره ها و اجزای غذایی و استفاده از مکمل های غذایی مناسب جهت حفظ روند رشد و سلامت ماهی در محیط های مترکم است (۶). در آزمایش حاضر میزان گلوبول

دوام اریتروسیت ها می شود و یک نقش اساسی در تنفس سلولی بازی می کنند^(۸). وجود بیشترین تعداد گلبول های قرمز در تیمار ۱ ویتامین E (۳۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) نشان دهنده تاثیر حداقل سطوح ویتامین E با طولانی شدن مدت زمان پرورش و بهبود شرایط محیطی و سازگاری ماهیان با محیط پرورش، هوادهی منظم، کیفیت خوب آب و هم چنین شرایط کنترل شده محیط پرورشی بوده که موجب عدم بروز استرس به ماهیان شده است. نتایج بدست آمده در این گونه با نظریه Hung و همکاران^(۸) تطابق دارد. در مجموع نتایج این مطالعه نشان می دهد که مخلوط ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۲۰ میلی گرم ریبوфلافوین در جیره موجب افزایش شاخص های خونی و سیستم ایمنی و افزودن ویتامین E و ریبوفلافوین به طور جداگانه به ترتیب در مقادیر ۳۰۰ و ۲۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره موجب ارتقای شاخص های خونی و ایمنی در بچه ماهی شیپ می گردد و در نهایت توصیه می شود این مقادیر در جیره غذایی تجاری ماهیان خاویاری اضافه گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس اسماعیل حسین نیا سرپرست ایستگاه تحقیقات ماهیان خاویاری چابکسر، آقایان مهندس حسنی، مهندس پوردهقانی و مهندس هوشنگ یگانه کارشناسان ائیستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان، آقای ملکی کارشناس هماتولوژی، آقای مهندس سجاد دروی قاضیانی در تهیه نمونه های خونی و آقای مهندس جلیل پور مشاور آماری نهایت سپاس و تشکر را داریم.

۲- تاتینا، م، بهمنی، م، سلطانی، م، ابطحی، ب، قریب خانی، م. ۱۳۸۸ بررسی تاثیر جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف ویتامین های C و E بر میزان گلبول های قرمز خون ماهی استریلیاد پرورشی

بیشترین میزان گلبول های قرمز، گلبول سفید مربوط به ویتامین E (۱۰۰ mg/kg) بود^(۲). لیزوژیم و کمپلایمنت (CH₅₀) شاخص های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی هستند. در این بین لیزوژیم یکی از ترکیبات مهم در سیستم ایمنی دفاعی بدن در مهره داران و نرمتنان می باشد. امروزه مشخص شده است که عملکرد سیستم ایمنی غیراختصاصی در مقابل انگل ها، باکتری ها، عفونت های ویروسی، در پاسخ به عفونت ها به صورت افزایش شاخص های سیستم ایمنی غیر اختصاصی در خون خود را نشان می دهد^(۱۲). در مطالعه حاضر با افزودن ویتامین E و B_۶ فعالیت لیزوژیم، IgM و کمپلایمان در ماهیان به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان لیزوژیم در ماهیان تغذیه شده با جیره ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E و بیشترین فعالیت کمپلایمان در ماهیان تغذیه شده با جیره های ۲ و ۳ به ترتیب حاوی ۳۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۲۰ میلی گرم ریبوفلافوین به ترتیب به مقدار ۱/۲۲ و ۴۱/۰۶±۵/۹۴ ۴۹/۲۳±۵/۹۴ ثبت گردید. هم چنین محققین مختلف بیان کرده اند که ویتامین E و ریبوفلافوین می توانند از غیر فعال شدن سدنهای سیستم ایمنی پیش گیری کرده و مقاومت غشاهاي سلول های قرمز را افزایش دهند^(۵). خون شناسی *Piaractus mesopotamicus* تغذیه شده با مکمل های E و C برای مقاومت در برابر *Aeromonas hydrophila* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برای Pacu ویتامین E و C امری ضروری برای محافظت از اریتروسیت هاست زیرا ویتامین C باعث افزایش ترومبوسیت ها می شود. Huang و همکاران در سال ۱۹۸۷ بیان نمودند که ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی است که موجب افزایش حیات و

منابع

- افشارمازندران، ن. ۱۳۸۱. راهنمای عملی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. اشارات نوربخش. ۲۱۳ ص.

performance, immune response, and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing various levels of vitamins C and E. J. World Aquacult. Soc, 41; 35–48.

10.Lovell, T. (1989). Nutrition and feeding of fish(second edition). Kluwer Academic Publisher (USA). 258P.

11.Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh,S., Takeuchi, T., Watanabe, T. (2004). Nonspecific immune response of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids. Fish Shellfish Immunol, 16; 25-39.

12.Posten, F. L., Pedigo, R.B., Hammond, R.B. (1976). Effects of artificial and insect defoliation on soybean net photosynthesis. J. Econ. Ent., 69; 109–112.

13.Raida, M.K., Larsen, J.L., Nielsen, M.E., Buchmann, K.(2003). Enhanced resistance of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* (BioPlus2B). Journal of Fish Diseases, 26; 495.

14.Sau, S., Paul, B., Mohanta, K., Mohanty, S. (2004). Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of Rohu (*Labeo rohita*) fry. Aquaculture, 240; 359-368.

15.Webster, C.D., Lim, C. E. (2002). Nutriet requirement and feeding of finfish for aquaculture. CAB International, CABI publishing, 418 p.

های ۲۳ تا ۳۴. *(Acipenser ruthenus)* مجله بیولوژی دریا. صفحه

- ۳- فلاحتکار، ب..، سلطانی، م..، ابطحی، ب..، کلباسی، م..، پور کاظمی، م..، یاسمی، م. ۱۳۸۵. تاثیر ویتامین C بر برخی پارامترهای رشد، نرخ بازماندگی و شاخص کبدی در فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. شماره ۹۸ تا ۱۰۳.
- 4.**Belo, M., Schalch, S., Moraes, F., Soares, V., Otoboni, A., 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*. J. Comp. Path, 133; 146–154.
- 5.**Fang Deng, D., Wilson, R. (2003). Dietary riboflavin requirement of juvenile Sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). Aquaculture, 218; 695-701.
- 6.**Gatlin, D.M. (2002). Nutrition and fish health. In: Halver, J. (Ed). Fish nutrition. (Third ed) Elsevier Science, 671-702.
- 7.**Hung, S.S.O., lutes, P.B.(1987). Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20 °C. Aquaculture, 65; 307-317.
- 8.**Huang, J., Tian, L., Wu, X., Yang, H., Liu, Y. (2010). Effects of dietary riboflavin levels on antioxidant defense of the juvenile grouper *Epinephelus coioides*. Fish Physiol Biochem, 36; 55-62.
- 9.**Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Li, M.H., Welker, T., Klesius, P.H. (2010). Growth