تاثیر ویتامین های E و B_2 (ریبوفلاوین) بر رشد، بازماندگی و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1785)

سیده عاطفه شریف زاده [۱] ؛ حسین خارا [۲] * ؛ شایان قبادی [۳]

h.khara1974@yahoo.com

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶.

۲-استادیار گروه شیلات دانشگاه آزاداسلامی واحدلاهیجان، دانشکده منابع طبیعی ،ایران، صندوق پستی :۱۶۱۶.

۳-استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، دانشکده شیلات.

تاریخ دریافت :اسفند۱۳۹۲ تاریخ پذیرش :شهریور۱۳۹۳

چکیده

ویتامین ها یک گروه مشتق از ترکیبات آلی هستند که به عنوان اجزای ضروری جیره های غذایی ماهی ها و میگو ها جهت رشد، تکثیر و سلامتی آنها مورد استفاده قرار میگیرند. این تحقیق در طی ماههای مرداد و شهریور سال ۱۳۸۹ به مدت ۸ هفته در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید رجایی ساری انجام گردید. در این تحقیق اثر ترکیبی سطوح مختلف از ویتامین E و ریبوفلاوین بر رشد، بقاء و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی انگشت قد کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور بچه ماهیان کپور معمولی با جیره غذایی SFC با سطوح مختلفی از ترکیب ویتامین های $E+B_2$ (۲۰mg/kg+۱۵،۲۴۰+۷،۱۶۰+۸۰) مورد تغذیه قرار گرفتند. همچنین یک گروه شاهد بدون اضافه کردن مکمل ویتامینی مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج مقایسه پارامترهای زیست سنجی و شاخص های رشد بر اساس تیمارهای مختلف، ترکیب سطوح ویتامین $E + B_2$ در جیره غذایی ماهیان نشان داد که این تیمارها از لحاظ تمامی فاکتورهای ارزیابی شده بجز ضریب چاقی(CF)دارای اختلاف معنی دار آماری می باشند($P\leq0.05$). بعلاوه نتایج مقایسه فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی خون در بین تیمارهای مختلف جیره غذایی نشان داد که این تیمارها از لحاظ فاکتورهای گلبول قرمز، هماتوکریت، غلظت هموگلوبین داخل گلبولی، نوتروفیل، لنفوسیت و IgM در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی دار می باشند($P\leq0.05$). بیشترین رشد در ماهیان تیمار 1 (۱/۳۱±۲۸/۱۶گرم) و کمترین میزان در تیمار شاهد (۰/۷۲±۱۸/۰۳ گرم) بدست آمد. بر پایه نتایج به نظرمی رسد که غلظت بهینه ویتامین$E+B_2$ در جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی ۸۰+۷ mg/kg می باشد.

کلمات کلیدی: ویتامینE ، ریبوفلاوین ، رشد، بقاء، فاکتورهای خونی ، ایمنی، کپورمعمولی(*Cyprinus carpio*).

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

کپور معمولی به عنوان یکی از گونه های مهم ماهیان پرورشی، نقش مهمی در افزایش نرخ تولیدات آبزی پروری در سطح جهان ایفا می کند. تحقیقات پیشین بر اهمیت ترکیبات جیره غذایی همچون ویتامین ها بر سلامت و رشد آبزیان پرورشی اشاره دارد. باتوجه به آنکه آبزیان قادر به سنتز ویتامین ها نبوده و یا به مقدار نا کافی سنتز می کنند، لذا جهت تکامل و رشد طبیعی آبزیان و عادی بودن فعالیتهای متابولیکی آنها نیاز به مقادیر بهینه از ویتامین ها در جیره غذایی ضروری می باشد (۱). ویتامین E یک ترکیبی آلی است که نام شیمیایی آن توکوفرول می‌باشد و به عنوان یک آنتی اکسیدان ، خصوصا در مورد اسید های چرب غیر اشباع عمل می کند. اثرات ویتامین E در تغذیه قزل آلا (۹)خرچنگ آب شیرین(۱۴) ماهی روهو(۳۰) خامه ماهی (۶) قزل آلای رنگین کمان(۳۲) و ماهی تیلاپیا(۲۴) مورد بررسی قرار گرفته است.

ویتامین ریبو فلاوین در کو آنزیم های بافتی، فلاوین منونوکلئوتید، فلاوین آدنین دی نوکلئوتید، کو آنزیم های بسیاری از آنزیم ها از جمله گلوتاتیون رودوکتازودی آمینو اکسیداز یافت می شود. وجود این آنزیم ها برای تجزیه پیرووات، اسید های چرب و اسید های آمینه و تبدیل تریپتوفان به اسید نیکوتینیک ضروری می باشد(۲). تحقیقات مشابه ای جهت تعیین مقادیر بهینه از ویتامین ریبو فلاوین در جیره غذایی ماهیان پرورشی همچون قزل آلا رنگین کمان ، آزاد ماهی اطلس، ماهی کپور، سیم دریایی، مارماهی و گربه ماهی، انجام گردید(۱۶)تعیین مقادیر بهینه ویتامینها از اهمیت بسزایی برخوردار است ، بطوریکه کمبود ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی عوارضی همچون : بی اشتهایی ، کدورت چشم ،تیرگی پوست ،تغییر رنگ ، خونریزی در چشمها ،مجاری تنفسی و سرپوش برانشی ، عدم تعادل ، نورگریزی ، بیرونزدگی چشم ها و مرگ و میر می باشد (۲۷) .

Fang Deng و Wilson (۲۰۰۳) در تحقیقی که به بررسی مقادیر مورد نیاز ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان Sunshine bass انجام دادند، بیان نمودند مقادیر پایین ویتامین B_2 در جیره غذایی این ماهی عوارضی همچون کم اشتهایی و کاهش رشد را نشان می دهد. بعلاوه جیره های غذایی حاوی مقادیر بیش از mg/kg ۳/۵ ریبوفلاوین برای جلوگیری از علائم کمبود و بهبودشرایط رشد بچه ماهیان Sunshine bass مناسب است ولی مقادیر بهینه ریبوفلاوین در جیره غذایی این ماهی ۵mg/kg پیشنهاد گردید. تحقیقات نشان داده است نیاز ماهیان گرمابی به ویتامین ریبوفلاوین ۲۰-۱۰ میلی گرم و ویتامین E ۳۰۰-۱۰۰میلی گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی می باشد(۱۰). مقدار مصرفی ویتامین ریبوفلاوین برای ماهی کپور ۷ تا ۱۰میلی گرم و ویتامین E ۸۰تا ۱۰۰میلی گرم در کیلوگرم غذا بیان شده است (۱۷). این تحقیق با هدف بررسی اثرات همیاری سطوح مختلف ویتامینE و B_2 در جیره غذایی ماهی کپور معمولی انگشت قد ، بر روی تغییرات شاخص های رشد و فاکتورهای خون شناسی انجام گردید .

۲.مواد و روشها

این تحقیق در ماههای مرداد و شهریور سال ۱۳۸۹ به مدت ۸ هفته در مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان گرمابی شهید رجایی ساری انجام گردید. تعداد۳۶۰ بچه ماهی کپور با میانگین وزنی ۰/۱۴ ± ۱۰/۳۳ گرم و طول ۰/۳۲ ± ۸/۰۲ سانتیمتر از استخرهای خاکی مجتمع به طور تصادفی صید و در ۱۲ عدد

حوضچه فایبرگلاس با حجم آب ۱۰۰۰ لیتر (هر حوضچه ۳۰ عدد بچه ماهی) توزیع گردید. بچه ماهیان در طی دوره با غذای دان SFC (غذای آغازین ماهی کپور) مورد تغذیه قرار گرفتند. با توجه به تحقیقاتی که در گذشته در مورد مصرف ویتامین ریبوفلاوین و ویتامین E برای تعیین غلظت بهینه در جیره غذایی ماهی کپور انجام شده است (۱۷) (۱۰)، در این تحقیق مقادیر زیر در نظر گرفته شده است تا تاثیر تغییر غلظت های ریبوفلاوین و E بر روی رشد و بقاء و فاکتورهای خونی و ایمنی و همچنین مقدار بهینه ترکیب ویتامین ریبوفلاوین و E در شرایط پرورش در این تحقیق مشخص گردد. تیمارهای غذایی بکار رفته در جدول ۱ درج شده اند:

جدول ۱: تیمارهای غذایی ویتامینه برای تغذیه ماهیان کپور معمولی(*Cyprinus carpio*)

تیمار	شرح تیمار	تعداد تکرار
۱	غذای SFC+ویتامین(B_2 mg/kg ۸۰+۷ (E+	۳
۲	غذای SFC+ ویتامین(B_2 mg/kg ۱۶۰+۱۵ (E+	۳
۳	غذای SFC+ویتامین (B_2 mg/kg ۲۴۰+۲۰ (E+	۳
۴	تیمار شاهد: غذای SFC بدون اضافه کردن مکمل ویتامینی	۳

ابتدا محتوای غذائی و ترکیبات جیره مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین و خاکستر به ترتیب با دستگاه کجلدال مدلBAP۴۰ ساخت آلمان و چربی و رطوبت به ترتیب با دستگاه سنجش چربی سوکسله مدل BOHR ساخت آلمان و آون اندازه گیری شد(۵).جیره غذایی حاوی ۳۲ درصد پروتئین، ۱۰.۵ درصد چربی، ۱۱.۲ درصد خاکستر و ۸.۷ در صد رطوبت بوده است.

پیش از تهیه تیمارهای غذایی با سطوح مختلف از ویتامین $E+B_2$ ، تعیین سطح اولیه ویتامین B_2 و E در جیره غذایی SFC بوسیله اندازه گیری جیره با دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC) (مدل CECIL-1100 SERES) با آشکار ساز (دتکتور)UV و ستون ProntoSil با سرعت جریان (Flow rate) ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه، در آزمایشگاه علوم پزشکی ساری انجام گردید. بر همین اساس در هر تیمار مقادیر مورد نظر از ویتامین B_2، با توجه به سطح پایه ویتامین B_2 در جیره SFC ((mg /kg) ۳/۵) و با توجه به سطح پایه ویتامین E در جیره SFC ((mg /kg) ۴۵/۱۰) به آن اضافه گردید. عوامل محیطی شامل دما و اکسیژن در تمام مدت پرورش به صورت روزانه اندازه گیری شد و میانگین دما ۰/۲±۲۴/۶۱ درجه سانتیگراد، و میانگین اکسیژن ۰/۰۶±۷/۰۹ میلی گرم در لیتر، بود و نیز هر هفته pH اندازه گیری شد و میانگین آن ۰/۰۱±۷/۸۸ بود. بچه ماهیان در طی ۸ هفته با تیمارهای غذایی ذکر شده مورد تغذیه قرار گرفتند. میزان غذادهی روزانه و تعداد دفعات آن براساس زیتوده هر حوضچه و دمای آب و با توجه به جداول تغذیه ای به میزان ۱۵ ٪ وزن بدن تعیین گردید(۴). همگام با رشد بچه ماهیان و شرایط محیطی، میزان جیره غذایی از ۵ وعده در روز در نهایت به ۳ وعده در روز کاهش یافت. برای آگاهی از عملکرد غذای داده شده و تأثیر دفعات غذادهی و افزایش ویتامین جیره بر روی بازماندگی و رشد ماهیان، از هر تکرار، هر دو هفته یکبار زیست سنجی از ماهیان انجام گردید. پس از بیهوشی نمونه ها با عصاره پودر گل میخک (۲۰۰ میلی گرم در

لیتر)، توزین بچه ماهیان به کمک ترازوی دیجیتالی با دقت g ۱ ۰/۰ و اندازه گیری طول آنها با تخته زیست سنجی با دقت mm ۱ انجام گردید. همچنین در پایان دوره براساس اطلاعات حاصل مقادیر ضریب تبدیل غذایی، شاخص رشد ویژه، افزایش وزن بدن، رشد روزانه، کارایی غذا و درصد بازماندگی محاسبه گردید(۲۲،۲۹،۱۸).

- ضریب تبدیل غذایی (FCR):

$$FCR=F/(wt-wo)$$

F = مقدار غذای مصرف شده. Wo = میانگین بیوماس اولیه (گرم) Wt = میانگین بیوماس نهایی (گرم).

- ضریب رشد ویژه S .G. R :

$$S.G.R=(Lnwt-Lnwo)/t\times 100$$

Wo = میانگین بیوماس اولیه (گرم) Wt = میانگین بیوماس نهایی (گرم) T= تعداد روزهای پرورش.

- درصد افزایش وزن بدن (%BWI) :

$$\%BWI=(Bwf-Bwi)/Bwi\times 100$$

Bwi = متوسط وزن اولیه. Bwf = متوسط وزن نهایی.

- رشد روزانه (گرم / روز) G.R :

$$G.R=(Bwf-Bwi)/n$$

Bwi = متوسط وزن اولیه. Bwf = متوسط وزن نهایی. n = تعداد روزهای پرورش.

- ضریب چاقی (K یا CF) : $CF=(Bw/TL^3)\times 100$

Bw = میانگین وزن نهایی بدن بر حسب گرم. TL = میانگین طول کل نهایی بر حسب سانتیمتر

- درصد بازماندگی:

$$\text{درصد بازماندگی} = \frac{\text{تعداد بچه ماهیان باقیمانده در پایان دوره پرورش}}{\text{تعداد بچه ماهیان اولیه در آغاز دوره پرورش}}\times 100$$

بعد از اتمام دوره پرورش برای بررسی تغیرات احتمالی در پارامترهای خونی، از هر تکرار در تیمارهای مورد نظر، تعداد سه عدد بچه ماهی به طور تصادفی انتخاب شده و خونگیری انجام گردید. به منظور استحصال نمونه های خونی از ماهیان، پس از انجام مراحل بیهوشی توسط پودر گل میخک (با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) و قرار دادن مجدد در آب تمیز و سپس خشک کردن آنها با کمک پارچه تنظیف و با قطع ساقه دمی (۲۸) خون هر تیمار توسط لوله های مویین درون لوله ویال آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) ریخته شد و تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت،حجم متوسط گلبولی ،غلظت هموگلوبین داخل گلبولی، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و IgM مورد بررسی قرار گرفت. به علت کوچک بودن و کمی حجم خون ماهیان،سرم های خون ماهیان همگروه با هم مخلوط گردید تا مقدار خون مورد نیاز تامین گردد.

- تعداد گلبول های قرمز به کمک محلول Lewis و با ملانژور و لام نئوبار شمارش شد(۳۱).

همچنین جهت شمارش تعداد گلبول های سفید از محلول Lewis در ۰/۱ گرم (Brillant cresyl blue)، ملانژور و لام نئوبار استفاده گردید(۳۱).

- اندازه گیری هموگلوبین با واحد گرم در دسی لیتر به روش دستگاهی با استفاده از SYSMEXL YS انجام شد(۳).

- اندازه گیری هماتوکریت با لوله های میکرو هماتو کریت و توسط میکروسانتریفیوژ Hettich با دور ۱۴۰۰۰rpm در ۵ دقیقه اندازه گیری شد(۳).

- محاسبه حجم متوسط گلبولی با واحد فمتولیتر(۳۱)

$$M.C.V = \frac{HCT(\%) \times 10}{RBC/million}$$

- محاسبه هموگلوبین داخل گلبولی با واحد پیکوگرم :(۳۱)

$$M.C.H = \frac{Hb(gr\%) \times 10}{RBC/million}$$

-محاسبه غلظت هموگلوبین داخل گلبولی با واحد گرم در دسی لیتر: (۳۱)

$$M.C.H,C = \frac{Hb \times 100}{HCT}$$

- کیت تشخیص کمی IgM در سرم یا پلاسما با روش ایمونوتوربیدیمتریک (emmeno turbidometric)(۷).

تجزیه و تحلیل آماری داده های با نرم افزار SPSS.17 انجام گردید. از آزمون های آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. همچنین از تست دانکن (Duncan) برای بیان اختلاف ها بین گروه ها استفاده گردید. در هر گروه از داده ها اختلافات احتمالی در سطح اعتماد ۹۵ در صد ($p<0.05$) مورد قبول بوده است (۳۳). جداول و نمودارها نیز به وسیله نرم افزار Excel رسم شدند.

۳.نتایج

نتایج حاصل از مقایسه پارامتر های زیست سنجی و شاخص های رشد بچه ماهیان بر اساس تیمارهای مختلف از سطوح ترکیب ویتامینE و ریبوفلاوین در جیره غذایی آنها در جدول شماره ۲ و نتایج حاصل از مقایسه فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون بر پایه تیمارهای مختلف از جیره غذایی به کار رفته در طی دوره پرورش ماهیان در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

جدول -۲- نتایج حاصل از مقایسه پارامترهای زیست سنجی و شاخص های رشد بر اساس تیمارهای مختلف جیره غذایی (اعدادی که با حروف یکسان مشخص شده اند، اختلاف معنی دار ندارند).

شاخص	غذایSFC + ویتامین B_2+E ۷+۸۰mg/kg	غذایSFC + ویتامین B_2 +E ۱۵+۱۶۰mg/kg	غذایSFC+ ویتامین B_2 +E ۲۰+۲۴۰mg/kg	شاهد: غذایSFC بدون مکمل ویتامینی
وزن (gr)	۲۸/۱۶±۱/۳۱ a	۲۴/۴۲±۱/۴۲b	۲۲/۹۹±۱/۳۲ b	۱۸/۰۳±۰/۷۲ c
طول کل(cm)	۱۱/۳۲±۱/۳۵ a	۱۱/۰۸±۱/۲۵ b	۱۰/۸۷±۱/۳۲ b	۹/۵۷±۱/۱۲ b
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۴/۰۹±۰/۲۸ a	۶/۳۹±۱/۴۶ ab	۷/۷±۲/۱ b	۱۱/۴۴±۲/۲۸ c
ضریب رشد ویژه (SGR) (٪/day)	۳۸/۸۱±۰/۳۲ a	۳۵/۷۱±۱/۵۹ ab	۳۴/۲۳±۲/۰۱ b	۲۹/۴۵±۲/۰۹ c
درصد افزایش وزن بدن(BWI%)	۳۶/۸۷±۳/۱۶ a	۲۶±۶/۲۵ b	۲۱/۸۲±۵/۷۶ bc	۱۳/۳۸±۴/۲۹ c

رشد روزانه(GR) (gr/day)	۰/۵۵±۰/۰۲ [a]	۰/۳۶±۰/۰۸ [b]	۰/۲۹±۰/۰۸ [b]	۰/۱۵±۰/۰۵ [c]
ضریب چاقی(CF)	۱/۷۸±۰/۲۴	۱/۷۹±۰/۱۰	۱/۷۹±۰/۰۹	۲/۰۶±۰/۱۲
بازماندگی(٪)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

*** اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری دارند . ($P \leq 0.05$)**

جدول -۲- مقایسه پارامترهای خون شناسی بر اساس تیمارهای مختلف جیره غذایی (اعدادی که با حروف یکسان مشخص شده اند، اختلاف معنی دار ندارند).

شاخص	غذایی SFC + ویتامین B_2+E ۷+۸۰mg/kg	غذایی SFC + ویتامین B_2 +E ۱۵+۱۶۰mg/kg	غذایی SFC+ ویتامین B_2 +E ۲۰+۲۴۰mg/kg	شاهد: غذایی SFC بدون مکمل ویتامینی
تعداد گلبول های قرمز (mm^3)(RBC)	۱۲۵۰۰۰۰±۳۶۰۵۵ [a]	۱۲۲۰۰۰۰±۴۰۰۰۰ [a]	۹۸۶۶۶۶/۶۷±۱۹۷۳۱ [b]	۸۸۶۶۶۶/۶۷±۱۵۲۷۵/۲۵ [b]
تعداد گلبول های سفید WBC (mm^3)	۴۴۳۳/۳۳±۷۷۶/۷۵	۳۶۰۰±۳۰۰/۰	۳۷۰۰±۴۵۸/۲۶	۴۲۰۰±۲۰۰/۰
هموگلوبین Hb(g/dL)	۱۱/۴±۰/۷ [a]	۱۱/۰۷±۰/۵۹ [a]	۹/۳±۲/۳۱ [ab]	۷/۸۳±۰/۳۵ [b]
هماتوکریت PCV(٪)	۳۴/۶۷±۱/۵۳ [a]	۳۲/۶۷±۱/۵۳ [ab]	۲۶±۷/۹۴ [bc]	۲۱/۰±۱/۰ [c]
حجم متوسط گلبولی (Fl)MCV	۲۷۴/۶۷±۴/۵۱ [a]	۲۷۰±۸ [ab]	۲۶۰/۶۷±۳۳/۰۸ [ab]	۲۳۷/۶۷±۷/۷۷ [b]
هموگلوبین داخل گلبولی(٪) MCH	۹۳/۶۷±۰/۵۸	۹۱/۶۷±۳/۲۱	۸۸/۳۳±۱۰/۵	۸۹±۲/۶۵
غلظت هموگلوبین داخل گلبولی MCHC(٪)	۳۴/۳۳±۰/۵۸ [ab]	۳۳/۶۷±۰/۵۸ [a]	۳۶/۶۷±۲/۵۲ [bc]	۳۷/۰±۰/۰ [c]
نوتروفیل(٪)	۱۶/۶۷±۲/۵۲ [b]	۱۵±۱ [b]	۸/۶۷±۰/۵۸ [a]	۲۹/۰±۱/۰ [c]
لنفوسیت(٪)	۸۱±۳ [b]	۸۲±۰/۰۰ [b]	۸۸±۱ [a]	۶۸/۰±۱/۰ [c]
مونوسیت(٪)	۱/۶۷±۰/۵۸	۱/۶۷±۰/۵۸	۲/۶۷±۰/۵۸	۲/۰±۰/۰۰
ائوزینوفیل(٪)	۱±۰/۰۰	۱/۶۷±۰/۵۸	۱±۰/۰۰	۱/۶۷±۰/۵۸
IgM(mg/dL)	۳۵±۵/۲۹ [a]	۳۴/۳۳±۴/۵۱ [a]	۳۱/۶۷±۱/۵۳ [a]	۱۹/۰±۵/۵۷ [b]

*** اعداد در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری دارند . ($P \leq 0.05$)**

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج مقایسه پارامترهای زیست سنجی و شاخص های رشد بر اساس تیمارهای مختلف از سطوح ویتامین $E + B_2$ در جیره غذایی ماهی کپور انگشت قد نشان داد که این تیمارها از لحاظ تمامی فاکتورهای ارزیابی شده بجزء پارامتر ضریب چاقی(CF)دارای اختلاف معنی دار آماری می باشند($P\leq0.05$). بعلاوه نتایج مقایسه فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی خون در بین تیمارهای مختلف جیره غذایی نشان داد که این تیمارها از لحاظ فاکتورهای گلبول قرمز، هماتوکریت، غلظت هموگلوبین داخل گلبولی، نوتروفیل، لنفوسیت و IgM در بین تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی دار می باشند($P\leq0.05$).

همچنین بیشترین و کمترین فاکتورهای زیست سنجی(وزن و طول کل) به ترتیب در تیمار های۱ (۸۰E+۷ B_2 mg/kg) و تیمار شاهد ثبت شد. بر پایه نتایج به نظرمی رسد سطح مناسب از ویتامین $E+ B_2$ در جیره غذایی بر روی شاخص های رشد ماهی کپور معمولی موثر می باشد. تحقیقات مشابه ای برای تعیین مقادیر بهینه از ویتامین ریبوفلاوین و ویتامین E در جیره غذایی برخی از ماهیان پرورشی بیانگر اهمیت این ماده مغذی بر وضعیت سلامت آبزیان می باشد.

تحقیق حاضر همانند نتایج حاصله از آزمایش (Sau *et al*,2004) تاثیر ویتامینE در غلظت های ۲۰۰،۱۵۰،۱۰۰، ۵۰،۰ میلی گرم در کیلوگرم بر تغذیه ماهی روهو، (Wodward,1982) تاثیر ویتامین ریبوفلاوین در مقادیر ۱۰۰،۵۰،۲۵،۱۰،۴،۰ میلی گرم در کیلو گرم بر تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان، (Liu *et al*,2007) کاربرد ویتامین E در جیره غذایی میگوی سفید) Chaiyapechar (*et al*,2003) اثرات حاصله از رژیم غذایی چربی دار و عوامل ضد اکسید کنندگی ویتامین E بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان (Huang *et al*,2010) اثرات ویتامین E بر رشد و ضد اکسید شدگی بافت چربی و سطح گلوتاتیون تیلاپیا) نشان میدهد که ویتامین E و B_2 تاثیر بر رشد ماهی دارد (۹، ۱۹، ۲۵،۳۴).

ویتامین E نقش مهمی را در فرایند های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مختلف بدن ماهی ایفا می کند، (۸). در خلال تحقیقات تغذیه ای و فیزیولوژیک که بر گونه های مختلفی از آبزیان صورت گرفت، ثابت شد که ویتامین E باعث تقویت عملکرد رشد (۲۳) و تقویت سیستم ایمنی بدن (۱۲) می گردد. اگرچه ویتامین E و ریبو فلاوین در بسیاری از ترکیبات غذایی به کار رفته در جیره آبزیان وجود دارد اما معمولا مقدار آن ناچیز بوده و نیاز به افزودن مقادیر بهینه این ویتامین به جیره می باشد. تفاوتهای موجود در مقادیر بهینه ویتامین E و ریبوفلاوین در جیره غذایی آبزیان مختلف شاید به دلایلی همچون نوع گونه، اندازه ماهی رژیم غذایی و ترکیبات بکار رفته در جیره های آنها باشد.

Kyeong و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثرات دراز مدت فعل و انفعالات رژیم خوراکی ویتامین E و C بر روی رشد و عملکرد تولید مثلی در ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*)مورد مطالعه قرار دادند. رژیم غذایی مورد آزمایش طوری تنظیم شد که حاوی سطح بالایی از ویتامین E (۱۶۰mg/kg) و یا عاری از آن باشد و مکمل ویتامینی C در آن باشد(۲۵۰mg/kg) و دیگری نباشد. نتایج اینطور نشان داد که میزان رشد و زنده ماندن آندسته از ماهیانی که با رژیم غذایی E-C+ و E+ C+ تغذیه شده بودند به طرز چشمگیری بالاتر از دسته ای بود که با رژیم

غذایی C-E- تغذیه شدند.این بررسی نشانگر آن است که مکمل های خوراکی C و E میزان رشد را افزایش می دهند.

در تحقیقی که به بررسی خون شناسی (*Piaractus mesopotamicus*) تغذیه شده با مکمل های E و C برای مقاومت در برابر (*Aeromonas hydrophila*) پرداخته شد (۱۳). به این نتیجه رسیدند که ویتامین E و C امری ضروری برای محافظت از گلبول های قرمز زیرا ویتامین C باعث افزایش ترومبوسیت ها می شود. با این وجود همانطور که باید از کمبود ویتامین ها جلوگیری نمود، استفاده بیش از حد آنها نیز می تواند منجر به بروز صدماتی به ماهیان شود. این پدیده در مقدار هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده گردیده است.

ریبوفلاوین یک ویتامین قابل حل در آب است که مورد نیاز تمامی حیوانات می باشد. اگرچه ریبو فلاوین در بسیاری از مواد غذایی به کار رفته در جیره های کاربردی ماهی وجود دارد اما به طور کلی برای بر آوردن نیاز ماهی به این ویتامین ، بسیار کم است(۱۱).در تحقیقی که به بررسی تعیین نیاز Sunshine bass به ریبوفلاوین مورد بررسی قرار گرفت مشخص شد که بچه ماهیانی که با مقدار کم ریبوفلاوین تغذیه شدند کم اشتهایی و رشد کم را نشان دادند(۱۱) این علائم در اکثر گونه های تغذیه شده با غذاهای حاوی ریبوفلاوین کم ، موجود می باشد(۲۶). تیره شدن پوست و آب مروارید بر اثر کمبود ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی در (*Oncorhynchus tshawytscha*) Chinook salmon (۱۵) و نیز ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش شده است (۲۱). دیگر علائم کمبود خاص گونه ها همچون فرسایش باله ، کم خونی و کوتوله شدن در Sunshine bass با کمبود ریبوفلاوین مشاهده نشده است و مشخص گردید که غذاهای حاوی بیش از ۳/۴۵mg/kg ریبوفلاوین برای جلوگیری از علائم کمبود و حمایت از رشد بهینه Sunshine bass کافی است و نیاز ریبوفلاوین برای این ماهی ۵ mg/kg در مواد غذایی میباشد (۱۱). بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق علائم کمبود ویتامینB_2 در بچه ماهی کپور مشاهده نشده است که این ممکن است بر اثر اختلاف موجود در این گونه ها، سایز ماهی یا دیگر شرایط آزمایشی باشد.

Woodward در سال ۱۹۸۲، از مکمل ریبوفلاوین بر روی ۶ رژیم غذایی قزل آلای رنگین کمان در مقادیر (۱۰۰،۵۰،۲۵،۱۰،۴،۰)به این نتیجه رسید : ماهیانی که از مکمل های غذایی به مقدار ۴mg/kg تغذیه شدند ، پارامترهای رشد و راندمان تبدیل غذایی شان بیشتر از مقادیر دیگر بوده است. اگرچه مکمل ریبوفلاوین به عنوان رژیم غذایی قزل آلای رنگین کمان کاربردی و مقرون به صرفه است اما ممکن است ماهی قزل آلا به میزان بالای ریبوفلاوین در رژیم غذایی حساسیت نشان دهد امادر تحقیق دیگری، نتایج حاصل از اثر مازاد رژیم غذایی ریبوفلاوین بر رشد قزل آلای رنگین کمان نشان داد که قزل آلای رنگین کمان نسبت به استفاده بیش از حد رژیم غذایی ریبوفلاوین حساسیت نداشته و کاهش رشدی که توسط محققین دیگر بیان شده در نتیجه برخی تاثیرات غذایی و یا ناقص بودن طرح آزمایشی می باشد(۲۰).در تحقیقی که به بررسی تاثیر ریبوفلاوین در رژیم غذایی در دفاع آنتی اکسیدانی در ماهی هامور(*Epinephelus coioides*) در غلظت های (۰/۹mg/kg ، ۱/۶ ، ۴/۴ ، ۶/۷ ، ۱۲/۹ ، ۱۹/۴) انجام شد به این نتیجه رسیدند که در غلظت هایmg/kg ۰/۹ و ۱/۶ فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیفی دارند(۱۹).

در یک نتیجه گیری کلی می توان گفت که افزودن ویتامین به جیره باعث تقویت عملکرد رشد و بالا بردن سیستم ایمنی بدن می شود. و میتوان گفت که اثر همیاری این دو ویتامین فوق تاثیر بیشتری بر رشد بچه ماهی کپور 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) انجام آن در کارگاهها مقرون به صرفه است و دارای توجیه اقتصادی می باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر عباس اسماعیلی ریاست محترم مجتمع تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری و جناب آقایان عرفان شاهکار و جعفر رزاقی و ابراهیم باوند نهایت سپاسگزاری را دارم.

منابع

۱.ابراهیمی، ع. بیرقدار، الف. ۱۳۸۵. تغذیه و نیازهای غذایی ماهیان در آبزی پروری(با تاکید بر گونه های قابل پرورش در ایران). جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان-مرکز انتشارات. ۲۹۲ ص.

۲.افشار مازندران، ن.۱۳۸۱. راهنمای علمی تغذیه و نهاده های غذایی و دارویی آبزیان در ایران.چاپ سما رنگ.چاپ اول. ۲۱۶ ص.

۳. عامری مهابادی، م. ۱۳۷۸. روشهای آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۲۶ ص.

۴. فریدپاک، ف. ۱۳۸۷. دستورالعمل اجرایی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی های گرم آبی. چاپ چهارم. انتشارات علمی آبزیان. ۳۰۵ ص.

5.AOAC (Assosiation of Official Analitical Chemists)., 1990. Official methods of analysis. 15th edn. AOAC, Washington, DC., USA.

6.Azad,I.Dayal,J.,Poornima,M.,Ali,S.2007. Supra dietary levels of vitamins C and E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish , *Chanos chanos* (Forsskal) to formalin-killed *Vibrio vulnificus*.Fish&Shelfish Immunology 23.pp154-163

7.Bartl,R.Hoechtlen-Vollmar,W.Thomas,L.1998.Monoclonal immunoglobulins.In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.1st ed. Frankfurt:TH-Books Verlagsgesellschaft; p.742-58.

8. Brigelius-Flohé, R., Kelly, F.J., Salonen, J.T., Neuzil, J., Zingg, J., Azzi, A. 2002. TheEuropean perspective on vitamin E: current knowledge and future research. Am. J. Clin. Nutr. 76, 703–716.

9.Chaiyapechara,S.,Casten,M.,Hardy,R.,Dong ,F.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.pp715-738.

10. D. Mounsey,A.,2001. Handbook of feed additives 2001. a guide to the use of animal feed additives for feed producers and veterinarians. 19th ed. Published by HGM Publications in Baslow . 296p.

11. Fang Deng,D., Wilson, R., 2003.Dietary riboflavin requirement of juvenile sunshine bass(*Morone chrysops* ×*Morone saxatilis*). Aquaculture 218.695-701.

12. Gatlin III, D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 671–702.

13.Garcia,F.,Pilarski,F.,Makoto Onaka,E.,Moraes,F.,Martins,M.2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*.Aquaculture 271.pp39-46.
14. Harlioglu,M.,Barim,O.2004. The effect of dietary vitamin E on the pleopodal egg and stage-1 juvenile numbers of freshwater crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). Aquaculture236.PP267-276.
15. Halver,J.E.,1957.Nutrition of salmonid fishes:4.Water-soluble vitamin requirements of Chinook salmn.J.Nutr.62,225-243.
16. Halver, J.E. , 1980. Lipids and fatty acids. In Fish Feed Technology, pp. 41–53.
17. Halver,J.,Hardy,R.2002.Fish Nutrition.pp 839.
18. Hung, S.S.O; lutes, P.B. and Storebakken , T ; 1989. Growth and feed efficiency of whitesturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub yearling at different feeding rates . Aquaculture .vol. 80,pp.147-153.
19. 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:PP55-62.
20. Hughes,S.1984.Effect of Excess Dietary Riboflavin on Growth of Rainbow trout.American Institute of Nutrition. The Journal of Nutrition.NY 13045.1660.
21.Kitamura,S.,Suwa,T.,Ohara,S.,Nakagawa, K.,1967.Studies on vitamin requirements of rainbow trout:2.The deficiency symptoms of fourteen Kinds of vitamin.Bull.Jpn.Soc.Sci.Fish.33,1120-1125.
22. Kofi , F. A; Hung, S.S.O;liu, W. and li Hong bin;1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile 18 white sturgeon fed different levels of D – Glucose. Aquaculture .vol. 105,pp . 61-72.
23. Kocabas, A.M., Gatlin III, D.M., 1999. Dietary vitamin E requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops × M. saxatilis*). Aquac. Nutr. 5, 3–7.
24.Lim,Ch.,Yildirim,M.,Li,M.,Welker,T.,Kles ius,P.2009. Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge.Aquaculture 298.pp76-82.
25.Liu,Y.,Wang,W.,Wang,A.,Wang,J.,Sun,R. 2007. Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities *in Litopenaeus vannamei*(Boone, 1931) exposed to acute salinity changes.Aquaculture 265.pp351-358.
26. NRC (National Research Council) 1993. Nutrient Requirements of Fish. The National Academies Press, Washington, DC, 114 pp.
27. Pillay,T.V.R., Kutty,M.N., 2005 . Aquaculture Principles and Practices Second Edition . Blackwell Publishing .624 p.
28. 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: 495–498.
29. Ronyai , A;peteri,A .and Radics ,F;1990 . Cross breeding of starlet and ۲۲lena river sturgeon. Aquaculture. Hungrica szarwas.vol .6,pp:13-18.
30.Sau,S.,Paul,B.,Mohanta,K.,Mohanty,S.200 4. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. Aquaculture 240.pp359-368.
31. Simmons,A.,1997,Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann , pp :۲۵ 507.
32. Trenzado,C.,Higuera.M., Morales,A.2007. Influence of dietary vitamins E and C and

HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions.).Aquaculture 263.PP249-258
33.Wang,C.,Xie,S.,Zheng,K.,Zhu,X.,Lie,W., Yang,Y.,and Liu,j.2005.Effects of live food and formulated diets on survival,growth and protein content of frist-feeding larvae of *plelteobagrus fulvidraco*. Journal of Appl.Ichthyol.21:210-214.
34.Wood ward,b. 1982 .Riboflavin Supplementation of Diets for rainbow Trout. The Journal of Nutrition.pp908-913.

The Effect Of Vitamin E and B_2(Riboflavin) on Growth, Survival , Hematological and Immune Factors of Common carp FingerLings (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1785)

Sharifzadeh S.A.[(1)]; Khara H.[(2)*]; Ghobadi SH.[(3)]

h.khara1974@yahoo.com

1- Young Researchers and Elite Club, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan , Iran, P.O.Box:1616.

2-Islamic Azad university- Lahijan, Faculty of Natural Resource, Department of Fishery and Aquaculture, Iran. P.O.Box: 1616.

3 - Islamic Azad University- Babol Branch, Faculty of Agriculture and Natural Resource, Department of Aquaculture, Babol, Iran.

Received: September 2011 Accepted: June2014

Abstract

Vitamin groups composed of different natural compounds that can be used as an essential supplement in food dietary for fish and shrimp health, growth and reproduction. In this study the compound effect of different levels of Vitamin E and Riboflavin has been studied on the growth, survival and blood and Immune factors of fingerling common carp. For this propose fingerling common carp(*Cyprinus Carpio*) was feed on with food meals SFC containing different levels of Vitamins E+B_2(80+7,160+15,240+20 mg/kg).Also,a control group was feel with diets containing SFC with out Vitamin Supplements.According to the biometrical parameters results and growth indices in dietavy food treatments. Containing different levels of Vitamins E+B_2 show that these treatments in terms of all evaluated factors except (CF) have a meaningful difference.($P \leq 0.05$).Morever the results of comparison in Hematology and blood Biochemical among different treatments of food dietry shows that these treatment according to RBC, PCV, MCHC, lymphocyt, Neutrophil, IgM in different treatments have a significantl difference($p<0.05$).maximum growth rate was found in treatment number 1 (28.16+1.31g) and minimum growth rate was observed in control treatment(18.03+0.72g).Bused on the obtained results, the optimal proportion of vitamins E+B_2 in fish meal for fingerling common carp is 80+7 mg/kg.

Keywords: vitamin E, B_2, growth, survival, blood factors, Common carp(*Cyprinus carpio*).

*Corresponding author