

تاثیر ویتامین ریوفلاوین بر میزان رشد، بازماندگی و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی انگشت قد (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1785)

سیده عاطفه شریف زاده^۱، حسین خارا^{۲*}، شایان قبادی^۳

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

۲- گروه شیلات، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۳- گروه شیلات، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران، صندوق پستی: ۷۵۵

تاریخ دریافت: ۲۰ آبان ۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۱۸ فروردین ۱۳۹۵

چکیده

ویتامین‌ها یک گروه مشتق از ترکیبات آلی هستند که به عنوان اجزای ضروری جیره‌های غذایی ماهی‌ها و میگوها جهت رشد، تکثیر و سلامتی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این مطالعه بچه ماهیان کپور معمولی با جیره غذایی SFC حاوی سطوح مختلفی از ویتامین ریوفلاوین (۲۰ و ۱۵ و ۷ mg/kg) مورد تغذیه قرار گرفتند. هم‌چنین یک گروه شاهد نیز بدون اضافه کردن مکمل ویتامینی مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج مقایسه پارامترهای زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد براساس تیمارهای مختلف سطوح ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی ماهیان نشان داد که تنها از لحاظ شاخص‌های زیست‌سنجی و پارامتر درصد افزایش وزن بدن (BWI%) در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است ($P \leq 0/05$). بیشترین رشد در ماهیان تیمار ۳ ($21/52 \pm 0/55$ گرم) و کمترین میزان در تیمار شاهد ($18/03 \pm 0/72$ گرم) به‌دست آمد. به‌علاوه نتایج مقایسه فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون در بین تیمارهای مختلف جیره غذایی نشان داد که این تیمارها از لحاظ تمامی فاکتورهای ارزیابی شده به‌جز پارامتر هموگلوبین داخل گلبولی MCH دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند ($P \leq 0/05$). بر پایه نتایج به‌نظر می‌رسد که دوز بهینه ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی ۲۰ mg/kg می‌باشد.

کلمات کلیدی: ویتامین ریوفلاوین، رشد و بقاء، فاکتورهای خونی، کپور معمولی.

مقدمه

کپور معمولی به عنوان یکی از گونه‌های مهم ماهیان پرورشی، نقش مهمی در افزایش نرخ تولیدات آبی پروری در سطح جهان ایفا می‌کند. تحقیقات پیشین بر اهمیت ترکیبات جیره غذایی همچون ویتامین‌ها بر سلامت و رشد آبزیان پرورشی اشاره دارد. باتوجه به آنکه آبزیان قادر به سنتز ویتامین‌ها نبوده و یا به مقدار ناکافی سنتز می‌کنند، لذا جهت تکامل و رشد طبیعی آبزیان و نرمال بودن فعالیت‌های متابولیکی آنها نیاز به مقادیر بهینه از ویتامین‌ها در جیره غذایی ضروری می‌باشد (ابراهیمی و بیرقدار، ۱۳۸۵). ویتامین ریوفلاوین یا B₂ در کوآنزیم‌های بافتی، فلاوین منونوکلئوتید، فلاوین آدنین دی نوکلئوتید، کوآنزیم‌های بسیاری از آنزیم‌ها از جمله گلوکاتیون رودوکتازودی آمینواکسیداز یافت می‌شود (Halver and Hardy, 2002). وجود این آنزیم‌ها برای تجزیه پیرووات، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه و تبدیل تریپتوفان به اسید نیکوتینیک ضروری می‌باشد (افشار مازندرانی، ۱۳۸۱). تحقیقات مشابه‌ای جهت تعیین مقادیر بهینه از ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی ماهیان پرورشی همچون قزل آلا رنگین کمان، آزاد ماهی اطلس، ماهی کپور، سیم دریایی، مارماهی و گربه‌ماهی، انجام گردیده است. مقادیر بهینه ویتامین ریوفلاوین در جیره غذای ماهی قزل آلا رنگین کمان و قزل آلا قهوه‌ای ۲۰-۳۰ mg/kg، ماهی آزاد اطلس ۷-۱۰ mg/kg و ماهی کپور معمولی ۷-۱۰ mg/kg گزارش شده است (Halver, 1980). تعیین مقادیر بهینه ویتامین‌ها از اهمیت بسزایی برخوردار است، به‌طوری‌که کمبود ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی عوارضی همچون: بی‌اشتهایی، کدورت چشم، تیرگی پوست،

تغییر رنگ، خونریزی در چشم‌ها، مجاری تنفسی و سرپوش برانشی، عدم تعادل، نورگریزی، بیرون‌زدگی چشم‌ها و مرگ و میر می‌باشد (Pillay and Kutty, 2005).

Wilson و Fang Deng (۲۰۰۳) در نتایج تحقیقی که به بررسی مقادیر مورد نیاز ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان Sunshine bass انجام دادند، بیان نمودند مقادیر پایین ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی این ماهی عوارضی همچون کم‌اشتهایی و کاهش رشد را نشان می‌دهد. به‌علاوه جیره‌های غذایی حاوی مقادیر بیش از ۳/۵ mg/kg ریوفلاوین برای جلوگیری از علائم کمبود و بهبود شرایط رشد بچه ماهیان Sunshine bass مناسب است. ولی مقادیر بهینه ریوفلاوین در جیره غذایی این ماهی ۵ mg/kg پیشنهاد گردید. تحقیقات نشان داده است نیاز ماهیان گرمابی به ویتامین ریوفلاوین ۲۰-۱۰ میلی گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی می‌باشد (Mounsey, 2001). مقدار مصرفی ویتامین ریوفلاوین برای ماهی کپور ۷ تا ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم غذا بیان شده است (Halver and Hardy, 2002).

این تحقیق با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف ویتامین B₂ در جیره غذایی ماهی کپور معمولی انگشت‌قد، بر روی تغییرات شاخص‌های رشد و فاکتورهای خونی و ایمنی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

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. تعداد ۳۶۰ قطعه بچه ماهی کپور با میانگین وزنی ۱۴±۰/۳۳ گرم

ویتامین B₂، با توجه به سطح پایه ویتامین B₂ در جیره SFC (۳/۵ mg/kg) به آن اضافه گردید. عوامل محیطی شامل دما و اکسیژن در تمام مدت پرورش به صورت روزانه اندازه گیری شد به طوری که میانگین دما ۲۴/۶۱±۰/۲ و میانگین اکسیژن ۷/۰۹±۰/۰۶ بوده است. همچنین نتایج اندازه گیری pH نشان داد میانگین آن ۷/۸۸±۰/۰۱ می باشد. بچه ماهیان در طی ۸ هفته با تیمارهای غذایی ذکر شده مورد تغذیه قرار گرفتند. میزان غذادهی روزانه و تعداد دفعات آن براساس بیوماس هر حوضچه و دمای آب و با توجه به جداول تغذیه ای تعیین گردید (فرید پاک، ۱۳۸۷).

جدول ۱: تیمارهای غذایی ویتامینه برای تغذیه ماهیان کپور			
تیمار	شرح تیمار	تعداد تکرار	
۱	غذای SFC+ویتامین B ₂ ۷ mg/kg	۳	
۲	غذای SFC+ویتامین B ₂ ۱۵ mg/kg	۳	
۳	غذای SFC+ویتامین B ₂ ۲۰ mg/kg	۳	
۴	تیمار شاهد: غذای SFC بدون اضافه کردن مکمل ویتامینی	۳	

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. به منظور زیست سنجی بچه ماهیان در پایان دوره، تعداد ۱۰ قطعه بچه ماهی از هر تکرار آزمایش به صورت تصادفی انتخاب گردید. پس از بیهوشی نمونه ها با عصاره پودر گل میخک (مقدار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر)، توزین بچه ماهیان به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ g و اندازه گیری طول آنها با تخته بیومتری با دقت ۱ mm انجام گردید. همچنین در پایان دوره براساس اطلاعات حاصل مقادیر ضریب

گرم و طول ۸/۰۲±۰/۳۲ سانتی متر از استخرهای خاکی آن مجتمع به طور تصادفی صید و در ۱۲ عدد حوضچه فایبرگلاس با حجم آب ۱۰۰۰ لیتر (هر حوضچه ۳۰ قطعه بچه ماهی) توزیع گردید. بچه ماهیان در طی دوره با غذای پلت SFC (غذای استارتر ماهی کپور) مورد تغذیه قرار گرفتند. با توجه به تحقیقاتی که در گذشته در مورد مصرف ویتامین ریوفلاوین برای تعیین دوز بهینه در جیره غذایی ماهی کپور انجام شده است (Halver and Hrady, 2002 ; Mounsey, 2001) در این تحقیق مقادیر زیر در نظر گرفته شده است تا تاثیر تغییر دوزهای ریوفلاوین بر روی رشد و بقا و فاکتورهای خونی و ایمنی و همچنین مقدار بهینه ویتامین ریوفلاوین در شرایط پرورش در این تحقیق مشخص گردد (جدول ۱).

ابتدا محتوای غذائی و ترکیبات جیره مورد بررسی قرار گرفت. پروتئین و خاکستر به ترتیب با دستگاه کجلدال مدل BAP40 ساخت آلمان و چربی و رطوبت به ترتیب با دستگاه سنجش چربی سوکسله مدل BOHR ساخت آلمان و آون اندازه گیری شد (AOAC, 1990) و ترکیبات آن شامل: پروتئین ۳۲٪، چربی ۱۰/۵٪، خاکستر ۱۰/۵٪، خاکستر ۱۱/۲٪ و رطوبت ۸/۷٪ بوده است.

پیش از تهیه تیمارهای غذایی با سطوح مختلف از ویتامین B₂، تعیین سطح اولیه ویتامین B₂ در جیره غذایی SFC بوسیله اندازه گیری جیره با دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC) (مدل CECIL-1100 SERES) با آشکارساز (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

بعد از اتمام دوره پرورش برای بررسی تغییرات احتمالی برای پارامترهای خونی، از هر تکرار در تیمارهای مورد نظر، تعداد سه قطعه بچه ماهی انگشت قد کپور معمولی به طور تصادفی انتخاب شده و خون گیری انجام گردید. به منظور استحصال نمونه‌های 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 (Raida *et al.*, 2003) خون هر تیمار توسط لوله‌های موئین درون لوله ویال آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) ریخته شد و تعداد گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، PCV، MCV، MCHC، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل و IgM مورد بررسی قرار گرفت. (۱ میلی لیتر، ۱۰۰۰ لاند می باشد که برای IgM ۱۰ لاند و برای CBC، ۱۵۰ لاند خون نیاز می باشد. همچنین در صورت کوچک بودن ماهیان و کم بودن مقدار خون مورد نیاز، ماهیانی که هم گروه بودند سرم‌های خون آنها را با هم مخلوط کرده ایم).

تعداد گلبول‌های قرمز به کمک محلول Lewis و با ملانژور و لام ثوبار شمارش شده است. همچنین جهت شمارش تعداد گلبول‌های سفید از محلول Lewis در ۰/۸ گرم (Brillant cresyl blue)، ملانژور و لام ثوبار استفاده گردید (Simmons, 1997).

اندازه گیری هموگلوبین با واحد گرم در دسی لیتر به روش دستگاهی با استفاده از SYSMEXL YS انجام شد (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

اندازه گیری هماتوکریت با لوله‌های میکروهماتوکریت و توسط میکروسانتریفیوژ Hettich با دور

تبدیل غذایی، شاخص رشد ویژه، افزایش وزن بدن، رشد روزانه، کارایی غذا و درصد بازماندگی محاسبه گردید (Hung *et al.*, 1989 ; Ronyai *et al.*, 1990 ; Kofi *et al.*, 1992)

- 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 سانتی متر.

WAY) استفاده شد. همچنین از تست دانکن (Duncan) برای بیان اختلاف‌ها بین گروه‌ها استفاده گردید. در هر گروه از داده‌ها اختلافات احتمالی در سطح ۹۵ درصد ($P < 0.05$) درصد مورد قبول بوده است (Wang et al., 2005). جدول‌ها و نمودارها نیز به وسیله نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

نتایج حاصل از مقایسه پارامترهای زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد بچه ماهیان انگشت قد کپور معمولی بر اساس تیمارهای مختلف از سطوح ویتامین ریپوفلاوین در جیره غذایی آنها در جدول ۲ خلاصه شده است. به علاوه نتایج حاصل از مقایسه فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون بر پایه تیمارهای مختلف از جیره غذایی به کار رفته در طی دوره پرورش ماهیان کپور معمولی انگشت قد در جدول ۳ خلاصه شده است.

نتایج مقایسه پارامترهای زیست‌سنجی و شاخص‌های رشد بر پایه تیمارهای مختلف از سطوح ویتامین ریپوفلاوین در جیره غذایی ماهی کپور انگشت قد نشان داد که تنها از لحاظ شاخص‌های زیست‌سنجی و پارامتر درصد افزایش وزن بدن ($BW\%$) در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است ($P \leq 0.05$). به علاوه نتایج مقایسه فاکتورهای هماتولوژی و بیوشیمیایی خون در بین تیمارهای مختلف جیره غذایی نشان داد که این تیمارها از لحاظ تمامی فاکتورهای ارزیابی شده بجز پارامتر هموگلوبین داخل گلبولی MCH اختلاف معنی‌دار آماری نداشته‌اند ($P \leq 0.05$).

۱۴۰۰ rpm در ۵ دقیقه اندازه‌گیری شده است (عامری مهابادی، ۱۳۷۸).

- محاسبه MCV با واحد فمتولیتتر (Simmons, 1997):

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

- محاسبه MCH با واحد پیکوگرم:

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

(Simmons, 1997)

- محاسبه MCHC با واحد گرم در دسی‌لیتر (Simmons, 1997):

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

- کیت تشخیص کمی IgM در سرم یا پلاسما با روش ایمنونوتوریدیمتریک:

در این بررسی غلظت IgM توسط اندازه‌گیری فتومتریک واکنش بین آنتی‌بادی‌های حساس شده بر علیه IgM انسانی موجود در کیت و آنتی‌ژن IgM موجود در سرم تعیین می‌گردد. آزمایش در طول موج: ۳۴۰ نانومتر با قطر کووت ۱ cm و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با تنظیم فتومتر با بلانک معرف روی صفر اندازه‌گیری می‌شود. برای محاسبه تغییرات جذب نوری، جذب نوری اندازه‌گیری شده در مرحله اول برای هر کووت را از جذب نوری اندازه‌گیری شده در مرحله دوم کسر نموده سپس تغییرات جذب نوری به دست آمده برای کالیبراتورهای مختلف را در جدول لگاریتمی وارد نموده و بر اساس منحنی به دست آمده غلظت کنترل و نمونه‌ها تعیین می‌شود (Bartl et al., 1998).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS.17 انجام گردید. با توجه به نرمال بودن داده‌ها از آزمون‌های آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA ONE)

همچنین بیشترین و کمترین فاکتورهای زیست سنجی (وزن و طول کل) به ترتیب در تیمارهای ۳ (ویتامین B_2 ۲۰ mg/kg) و تیمار شاهد ثبت شد. به نظر می‌رسد سطح مناسب از ویتامین B_2 در جیره غذایی بر روی شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی موثر می‌باشد. به طوری که با افزایش سطوح ویتامین ریو فلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی، میزان پارامترهای درصد افزایش وزن بدن و رشد روزانه روند کاهشی خواهد داشت. همچنین نتایج نشان دادند که بیشترین میزان برخی از فاکتورها همانند ضریب چاقی و ضریب رشد ویژه در تیمار ۲ (ویتامین B_2

۱۵mg/kg) مشاهده می‌گردد، شاید افزایش سطوح ویتامین ریو فلاوین تا حدی باعث افزایش این شاخص‌ها گردد و استفاده از این ویتامین در سطوح بالاتر از این، در جیره غذایی باعث کاهش فاکتورهای مزبور گردد. همچنین نتایج نشان داده که استفاده از مقادیر بهینه از ویتامین ریو فلاوین در جیره غذایی باعث کاهش ضریب تبدیل غذایی و در نتیجه کاهش هزینه پرورش می‌گردد. تحقیقات مشابهی برای تعیین مقادیر بهینه از ویتامین ریو فلاوین در جیره غذایی برخی از ماهیان پرورشی بیانگر اهمیت این ماده مغذی بر وضعیت سلامت آبزیان می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه پارامترهای زیست سنجی و شاخص‌های رشد بر اساس تیمارهای مختلف جیره غذایی (Mean±SD)

شاخص	ویتامین B_2 ۷ mg/kg	ویتامین B_2 ۱۵ mg/kg	ویتامین B_2 ۲۰ mg/kg	شاهد: بدون مکمل ویتامینی
وزن (gr)	۲۰/۷۱±۰/۰۹ ^a	۲۰/۹۸±۰/۸۱ ^a	۲۱/۵۲±۰/۵۵ ^a	۱۸/۰۳±۰/۷۲ ^b
طول کل (cm)	۱۰/۹۵±۰/۴۶ ^a	۱۰/۶۸±۰/۳۱ ^a	۱۱/۰۰±۰/۳۷ ^a	۹/۵۷±۰/۳۱ ^b
ضریب تبدیل غذایی (FCR)	۲/۳۴±۰/۸۲	۲/۴۸±۱/۰۱	۲/۷۳±۱/۲۱	۴/۰۳±۰/۶۲
ضریب رشد ویژه (SGR) (%/روز)	۳۱/۸۰±۳/۷۷	۳۲/۲۹±۲/۷۳	۳۱/۶۵±۲/۹۳	۲۸/۵۰±۱/۰۷
درصد افزایش وزن بدن (BWI%)	۳۵/۵۷±۴/۶۲ ^a	۳۳/۰۴±۷/۰۹ ^a	۲۸/۵۶±۱۰/۱۳ ^{ab}	۱۷/۵۹±۲/۵۴ ^b
رشد روزانه (GR) (گرم/روز)	۰/۲۳±۰/۰۷	۰/۲۲±۰/۰۷	۰/۲۱±۰/۰۷	۰/۱۲±۰/۰۱
ضریب چاقی (CF)	۱/۹۸±۰/۱۶	۲/۲۴±۰/۵۴	۲/۰۲±۰/۱۷	۲/۱۷±۰/۳۸
بازماندگی (%)	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

* بین حروف a، b و c اختلاف معنی دار آماری بین میانگین‌های به دست آمده در سطح ۵٪ وجود دارد

جدول ۳: مقایسه پارامترهای خون شناسی بر اساس تیمارهای مختلف جیره غذایی (Mean±SD)

شاخص	ویتامین B ₂ ۷ mg/kg	ویتامین B ₂ ۱۵ mg/kg	ویتامین B ₂ ۲۰ mg/kg	شاهد: بدون مکمل ویتامینی
گلبول قرمز RBC (mm ³)	۸۹۶۶۶۶/۶۷±۴۰۴۱۴/۵۱ ^a	۹۳۰۰۰۰/۰۰±۱۰۰۰۰/۰۰ ^a	۹۸۰۰۰۰/۰۰±۱۰۰۰۰/۰۰ ^b	۸۸۶۶۶۶/۶۷±۱۵۲۷۵/۲۵ ^a
گلبول سفید WBC (mm ³)	۴۸۶۶/۶۷±۲۵۱/۶۶ ^a	۴۸۳۳/۳۳±۳۵۱/۱۹ ^a	۵۰۶۶/۶۷±۳۲۱/۴۶ ^a	۴۲۰۰/۰۰±۲۰۰/۰۰ ^b
هموگلوبین HB (g/dL)	۸/۴۳±۰/۱۱ ^b	۸/۷۷±۰/۱۱ ^{ab}	۸/۸۳±۰/۰۶ ^a	۷/۸۳±۰/۳۵ ^c
هماتوکریت PCV (%)	۲۳/۰۰±۱/۰۰ ^a	۲۵/۳۳±۰/۵۸ ^b	۲۷/۰۰±۰/۰۰ ^c	۲۱/۰۰±۱/۰۰ ^d
حجم متوسط گلبولی MCV (fL)	۲۵۵/۳۳±۲۲/۵۹ ^{ab}	۲۷۶/۳۳±۵/۵۱ ^a	۲۷۳/۶۷±۱/۵۳ ^a	۲۳۷/۶۷±۷/۷۷ ^b
هموگلوبین داخل گلبولی MCH (pg)	۹۳/۶۷±۴/۵۱	۹۳/۳۳±۰/۵۸	۹۰/۶۷±۱/۵۳	۸۹±۲/۶۵
غلظت هموگلوبین داخل گلبولی MCHC (g/dL)	۳۶/۶۷±۱/۵۳ ^a	۳۳/۶۷±۰/۵۸ ^b	۳۳/۰۰±۱/۰۰ ^b	۳۷/۰۰±۰/۰۰ ^a
نوتروفیل (%)	۲۵/۳۳±۱/۵۳ ^b	۲۵/۰۰±۳/۰۰ ^b	۱۶/۰۰±۱/۰۰ ^a	۲۹/۰۰±۱/۰۰ ^c
لنفوسیت (%)	۷۲/۰۰±۲/۰۰ ^b	۷۲/۳۳±۳/۰۶ ^b	۸۱/۰۰±۱/۰۰ ^a	۶۸/۰۰±۱/۰۰ ^c
مونوسیت (%)	۱/۳۳±۰/۵۸ ^a	۲/۰۰±۰/۰۰ ^b	۳/۰۰±۰/۰۰ ^c	۲/۰۰±۰/۰۰ ^b
ائوزینوفیل (%)	۱/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱/۰۰±۰/۰۰ ^a	۱/۶۷±۰/۵۸ ^b
IgM (mg/dL)	۳۷/۶۷±۴/۵۱ ^a	۳۸/۶۷±۷/۰۲ ^a	۳۹/۰۰±۲/۶۵ ^a	۱۹/۰۰±۵/۵۷ ^b

* بین حروف a، b و c اختلاف معنی دار آماری بین میانگین‌های به دست آمده در سطح ۵٪ وجود دارد.

بحث

مقادیر بهینه ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلا رنگین کمان و قزل‌آلا قهوه‌ای mg/kg ۳۰-۲۰، ماهی آزاد اطلس mg/kg ۱۰-۵ و ماهی کپور معمولی mg/kg ۱۰-۷ گزارش شده است Halver, (1980).

Fang Deng و Wilson (۲۰۰۳) در نتایج تحقیقی که به بررسی مقادیر مورد نیاز ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان Sunshine bass انجام گردید، بیان نمودند مقادیر پایین ویتامین B₂ در جیره غذایی این ماهی عوارضی هم‌چون کم اشتها و کاهش رشد را نشان می‌دهد. به علاوه جیره‌های غذایی حاوی مقادیر بیش از ۳/۵ mg/kg ریوفلاوین برای جلوگیری از

علائم کمبود و بهبود شرایط رشد بچه ماهیان Sunshine bass مناسب است ولی مقادیر بهینه ریوفلاوین در جیره غذایی این ماهی ۵ mg/kg پیشنهاد گردید.

اگرچه ریوفلاوین در بسیاری از ترکیبات غذایی به کار رفته در جیره آبزیان وجود دارد اما معمولاً مقدار آن ناچیز بوده و نیاز به افزودن مقادیر بهینه این ویتامین به جیره می‌باشد. تفاوت‌های موجود در مقادیر بهینه ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی آبزیان مختلف شاید به دلایلی هم‌چون نوع گونه، اندازه ماهی رژیم غذایی و ترکیبات بکار رفته در جیره‌های آنها باشد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر عباس اسماعیلی ریاست محترم مجتمع تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری و آقایان عرفان شاهکار، احسان علی‌پور و جعفر رزاقی نهایت سپاسگزاری را داریم.

منابع

۱. ابراهیمی، ع.، بیرق‌دار، ا.، ۱۳۸۵. تغذیه و نیازهای غذایی ماهیان در آبرزی پروری (با تاکید بر گونه های قابل پرورش در ایران). جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان- مرکز انتشارات. ۲۹۲ صفحه.
۲. افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۱. راهنمای علمی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. چاپ سما رنگ. چاپ اول. ۲۱۶ صفحه.
۳. عامری مهابادی، م.، ۱۳۷۸. روش‌های آزمایشگاهی هماتولوژی دامپزشکی، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۱۲۶ صفحه.
۴. فریدپاک، ف.، ۱۳۸۷. دستورالعمل اجرایی تکثیر مصنوعی و پرورش ماهی‌های گرم آبی. انتشارات علمی آبزیان. چاپ چهارم. ۳۰۵ صفحه.
5. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official methods of analysis. 15th edn. AOAC, Washington, DC., USA.
6. Bartl, R., Hoechtlen-Vollmar, W., Thomas, L., 1998. Monoclonal immunoglobulins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 742-58.
7. Fang Deng, D., Wilson, R., 2003. Dietary riboflavin requirement of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 218, 695-701.
8. Halver, J.E., 1980. Lipids and fatty acids. In *Fish Feed Technology*, 41-53.
9. Halver, J., Hardy, R., 2002. *Fish Nutrition*, 839 P.
10. Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Storebakken, T., 1989. Growth and feed efficiency of White sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub

Woodward (۱۹۸۲) به منظور تعیین مقادیر بهینه ویتامین ریوفلاوین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از تیمارهایی غذایی با ۶ سطح ویتامین B₂ (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰ mg/kg) استفاده نمود. نتایج نشان دادند که ماهیان تیمار که از جیره غذایی به مکمل ریوفلاوین ۴ mg/kg تغذیه شدند، پارامترهای رشد و راندمان تبدیل غذایی شان بیشتر از سایر تیمارها بوده است. اگرچه مقادیر بهینه مکمل ریوفلاوین در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان ضروری است اما ممکن است این ماهی به میزان بالای ریوفلاوین در جیره غذایی حساسیت نشان دهد.

در تحقیقی که به بررسی تاثیر سطوح مختلف ریوفلاوین (۰/۹، ۱/۶، ۴/۴، ۶/۷، ۱۲/۹، ۱۹/۴ mg/kg) در جیره غذایی ماهی هامور بر فعالیت آنتی اکسیدانی در جیره انجام گردید، نتایج نشان داد که در غلظت‌های ۰/۹ و ۱/۶ mg/kg فعالیت آنتی اکسیدانی ضعیف می گردد (Huang et al., 2010).

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق میزان ویتامین B₂ در جیره غذایی بر اغلب فاکتورهای خون شناسی ماهی کپور معمولی موثر می باشد. به طوری که بیشترین میزان گلبول‌های قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، لنفوسیت، مونوسیت و IgM مربوط به تیمار ۳ که حاوی ویتامین B₂ ۲۰ mg/kg می باشد. هم چنین بیشترین میزان، MCV، MCH، MCHC و نوتروفیل مربوط به تیمار ۱ که حاوی ویتامین B₂ ۷ mg/kg می باشد. در مجموع به نظر می رسد مقادیر بهینه ویتامین B₂ برای جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی در حدود ۲۰ mg/kg می باشد.

15. 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.
16. Ronyai, A., Peteri, A., Radics, F., 1990. Cross breeding of starlet and lena river sturgeon. *Aquaculture. Hungrica szarwas*, 6, 13-18.
17. Simmons, A., 1997. Hematology, Simmons, Butterworth- Heinemann, 507 P.
18. Wang, C., Xie, S., Zheng, K., Zhu, X., Lie, W., Yang, Y., Liu, J., 2005. Effects of live food and formulated diets on survival, growth and protein content of first-feeding larvae of *plelteobagrus fulvidraco*. *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 210-214.
19. Woodward, B., 1982. Riboflavin Supplementation of Diets for Rainbow Trout. *The Journal of Nutrition*, 908-913.
- yearling at different feeding rates. *Aquaculture*. 80, 147-153.
11. 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 Physiology and Biochemistry*, 36, 55-62.
12. Kofi, F.A., Hung, S.S.O., Liu, W., Li, H., 1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile 18 White sturgeon fed different levels of D – Glucose. *Aquaculture*, 105, 61-72.
13. Mounsey, S., 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 . 296 P.
14. Pillay, T.V.R., Kutty, M.N., 2005. *Aquaculture Principles and Practices*. Second Edition. Blackwell Publishing, 624 p.