فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 28، جلد 8، شماره 1، زمستان93، صفحه 17 تا 22

بررسی تاثیرویتامین های توکوفرول(E) و ریبوفلاوین(B_2) بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه ماهی شیپ(*Acipenser nudiventris*)

علیرضا عاشوری[1]، حسین خارا[2]، محمد علی یزدانی ساداتی[1]، رضوان اله کاظمی[1]

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

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

تاریخ دریافت: 93/7/14 **تاریخ پذیرش: 93/9/17**

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر سطوح مختلف مکمل های ویتامین E و B_2 بر فاکتورهای خونی و ایمنی بچه تاس ماهی شیپ است.

روش کار: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 6 تیمار در نظر گرفته شد. به تیمار شاهد ویتامین Eو B_2 اضافه نشد. در تیمارهای بعد به ترتیب 300 میلی گرم در کیلوگرم ویتامینE، 20 میلی گرم در کیلوگرم B_2، مخلوط ویتامین E و B_2 به میزان 15+300 میلی گرم در کیلوگرم، 20 +300 میلی گرم در کیلوگرم و 25+300 میلی گرم در کیلوگرم به هر تیمار اضافه شد. بچه ماهیان شیپ با متوسط وزن اولیه 1/5 ± 30 گرم به¬مدت 8 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_2 اضافه شده در جیره بر شاخص های خونی و سیستم ایمنی بدن ماهیان تاثیرگذار است. به¬طوری که میزان گلبول قرمز، فعالیت لیزوزیم، IgM، توتال ایمونوگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی 300 میلی گرم ویتامینE در بالاترین سطح و میزان هموگلبوبین و فعالیت کامپلایمنت نوعCH50 در ماهیان با جیره حاوی20 میلی گرم B_2 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 300 میلی گرم ویتامین E و 20 میلی گرم B_2 در جیره موجب بهبود شاخص های خونی و ایمنی در بچه ماهی شیپ می گردد.

واژه‌های کلیدی: تاس ماهی شیپ، ویتامین E، ویتامین B_2، شاخص های خونی و ایمنی.

مقدمه

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 سیبری 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 گونه‌هایی که احتیاجات غذایی خود را منحصراً از طریق غذای مصنوعی به دست می آورند وابسته به مقدار و دوز بهینه ویتامین های به کاررفته در جیره غذایی می‌باشد(1). عامل دوم جهت پرورش موفقیت آمیز ماهیان در محیط 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(8). 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 آتلانتیک(*Salmo salar*) موجب کاهش رشد، بیرون زدگی چشم، چسبندگی فیلامان های آبششی، ضایعات و دژنراسیون عضلات، کاهش میزان تخم و باروری و کاهش پاسخ ایمنی اختصاصی می گردد(12). Sau و همکاران در سال

www.SID.ir

2004، 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 100 میلی گرم مکمل ویتامینی E به طرز چشم-گیری باعث افزایش وزن و کارایی تغذیه می شود(14). Lim و همکاران تاثیر سطوح مختلف چربی و ویتامین E جیره را بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی و میزان مقاومت ماهی تیلاپیای نیل به استرپتوکوکوس 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 وهپاتوسوماتیک ماهیان تغذیه شده از تیمارهای مختلف غذایی تغییر کرده بود (9). ریبوفلاوین ویتامین محلول در آب است که کمبود آن اختلالات وسیع و گسترده ای در آزاد ماهیان ایجاد می کند. **Webster** و همکاران در سال 2002 کمبود ریبوفلاوین در گربه ماهی روگاهی را بررسی کردند (15). نتایج به‌صورت کاهش رشد و کارایی غذا، دیستروفی عضلانی، کبد چرب و مرگ و میر زیاد در دوران لاروی و بچه ماهی بروز می کند. نتایج تحقیقات **Fang Deng & Wilson** در سال 2003 که به بررسی مقادیر مورد نیاز ویتامین ریبوفلاوین در جیره غذایی بچه ماهیان ***Sunshine bass*** انجام گردید، بیان نمود مقادیر پایین ویتامین B_2 در جیره غذایی این ماهی عوارضی هم چون کم اشتهایی و کاهش رشد را نشان می دهد(5). **Huang** و همکاران در سال 2010 بیان نمودند که ریبوفلاوین فعالیت آنتی اکسیدانی دارند(8). متاسفانه 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 نیز فراتر نمی رود و داده ها نیز به علت محدودیت شدید روش شناختی کامل نیستند.

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(3). از آن جایی که تاس ماهی شیپ یکی از گونه-های عمده 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 به‌صور ت 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 $\mathbf{B_2}$ مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پدیده کالای باستان تهران خریداری شد. براساس بروشورهای دریافتی هر کیلوگرم پرمیکس رومیت E حاوی 5500 واحد بین المللی ویتامین E مکمل و هر کیلوگرم رومیت $\mathbf{B_2}$ حاوی 4000 میلی گرم ریبوفلاوین بود. ابتدا اجزای اولیه غذا(پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر، فیبر، کربوهیدرات و انرژی کل) آنالیز شد، سپس با استفاده از برنامه ریزی خطی در محیط **Excel** یک جیره(حاوی49 درصد پروتئین، 14 درصد چربی و 21 مگا ژول انرژی درکیلوگرم) بر اساس میزان انرژی آزاد شده از هرگرم پروتئین، لیپید و کربوهیدرات به ترتیب برابر با 5/48، 9/8 و4/18 کیلوکالری بر اساس روش های اندازه گیری استاندارد مواد غذایی با روش **NRC** در سال 1993 ساخته شد. مقدار ویتامین **E** 20/56 و مقدار ریبوفلاوین 4/2 میلی گرم در کیلوگرم تیمار اعلام گردید، در مرحله بعد 5 جیره ایزوکالریک و ایزوپروتئین با جیره اول ساخته و ویتامین **E** و ریبوفلاوین

Archive of SID

www.SID.ir

(B_2) در سطوح مختلف به ترتیب زیر به ازای هر کیلوگرم جیره اضافه گردید(10).

جیره 1: فاقد ویتامین E و B_2

جیره 2: 300 میلی گرم در کیلوگرم ویتامین E مقدار ثابت(2)

جیره3: 20 میلی گرم در کیلوگرم B_2

جیره 4: ویتامین E و B_2 به‌میزان 15+300 میلی گرم

جیره 5: ویتامین E و B_2 20+300 میلی گرم

جیره 6: ویتامین E و B_2 25+300 میلی‌گرم به هرکیلوگرم جیره اضافه شد. ترکیب شیمیایی جیره ها در جدول1 ارائه گردیده است:

جدول1- ترکیب شیمیایی جیره های غذایی

ترکیب شیمیایی	جیره 1	جیره 2	جیره 3	جیره 4	جیره 5	جیره 6
ماده خشک (٪)	65/37	95/1	95/2	95/3	95/2	45/4
پروتئین (٪)	49	49/1	49/2	48/8	49	49/1
چربی (٪)	14/1	14	13/8	14/1	14	14
رطوبت(٪)	14/2	14/3	14/1	14/2	14/2	14/2
خاکستر(٪)	20/7	20/7	20/7	20/7	20/7	20/7
فیبر	2	21/1	2	2	2/1	2
انرژی کل(مگاژول برکیلوگرم)	21/1	1/9	21/15	21/27	21/2	21/18

مراحل اجرای این تحقیق از تاریخ 1391/3/1 لغایت 1391/4/30 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 150 عدد ماهی شیپ از انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری دکتر دادمان رشت به سایت چابکسر انتقال و در وان های فایبرگلاس ذخیره به‌منظور سازش با شرایط جدید با جیره بیومار فرانسه به‌مدت 2 هفته تغذیه شدند. پس از طی این دوره تعداد 120 عدد ماهی با متوسط وزن 0/145 ± 30/33 گرم انتخاب و به‌صورت تصادفی بدون دارا بودن اختلاف معنی دار آماری در شاخص وزن در 12 وان فایبرگلاس دو تنی توزیع گردیدند. ماهیان در طول دوره پرورش روزانه به میزان 3 تا 5 درصد وزن بدن(تا حد سیری) در سه نوبت تغذیه شدند. بیومتری ماهیان در فواصل 25 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(8 هفته) و 24 ساعت بعد از آخرین بیومتری 30 درصد از جمعت ماهیان در تیمار به‌طور تصادفی انتخاب و با سرنگ3 سی سی(13) از ساقه دمی آن ها نمونه خون تهیه و جهت اندازه گیری شاخص های خونی(گلبول قرمز، گلبول سفید، هموگلوبین، هماتوکریت) و فاکتورهای ایمنی(لیزوزیم، توتال ایمنوگلوبولین، IgM و کامپلیمنت CH_{50}) به آزمایشگاه ارسال شدند. لازم به ذکر است در هنگام خون‌گیری از مواد بیهوش کننده به علت احتمال تاثیر بر روی سطوح شاخص های خونی استفاده نگردید. داده-های اولیه در نرم افزار Excel به‌عنوان 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 95 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 به‌ترتیب برابر با 0/5±24/6

Archive of SID

www.SID.ir

درجه سانتی گراد، 0/5±7/13 میلی گرم در لیتر، شوری 8/5 و pH برابر با 0/23±7/2 بود. میزان گلبول های قرمز، سفید، هماتوکریت، هموگلوبین و فعالیت سیستم ایمنی با افزودن ویتامین های E و B_2 به‌طور جداگانه و مخلوط با هم به‌طور معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (P<0/05). بیشترین میزان گلبول‌های قرمز، سفید و هماتوکریت مربوط به ماهیان تغذیه شده با جیره2 و هم چنین بیشترین میزان هموگلوبین در تیمار 3 و 5 حاوی 20 میلی گرم ویتامین B_2 و جیره 5(20+300 میلی‌گرم) هر چند با افزایش مکمل های ویتامینی فعالیت توتال 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_2 فعالیت لیزوزیم، IgM و کمپلایمان در ماهیان به‌طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان لیزوزیم و IgM در ماهیان تغذیه شده با جیره(300 میلی گرم ویتامین E) و بیشترین فعالیت کمپلایمان در ماهیان تغذیه شده با جیره های 2 و3 به‌ترتیب حاوی300 میلی گرم ویتامین E و20 میلی گرم B_2 ثبت گردید(P<0/05).

جدول 2- تاثیر مکمل های ویتامین بر شاخص های خونی بچه ماهیان در یک دوره 8 هفته ای

شاخص ها	گلبول سفید (Mm^3)	گلبول قرمز (Mm^3)	هموگلوبین (g/dl)	هماتوکریت (%)
جیره 1	27166/66±1922/09^{cd}	1220000±320000^{a}	3/40 ±0/1 ^{a}	21±^{1ab}
جیره 2	30333/33±833/33^{d}	2016666/7±40551/75^{b}	4/5 ±0/50^{a}	24/33 ±3/48^{b}
جیره 3	23666/66±881/33^{bc}	1313333/3±165058/91^{ab}	6/63 ±0/94^{b}	6/63 ±0/94^{b}
جیره 4	19116/66±333/33^{ab}	1473333/3±62271/80^{ab}	4/1 ±0/37^{a}	19/33 ±0/66^{ab}
جیره 5	17500/00±866/02^{a}	1733333/3±109290/64^{ab}	9/33 ±0/16^{c}	19/33 ± 1/20^{ab}
جیره 6	20666/66±600/92^{ab}	1610000±57735/02^{ab}	5 ±0/76^{ab}	22 ±2/30^{ab}

جدول 3- تاثیر مکمل های ویتامین بر شاخص های ایمنی بچه ماهیان در یک دوره 8 هفته ای

شاخص ها	جیره 1	جیره 2	جیره 3	جیره 4	جیره 5	جیره 6
توتال ایمونوگلوبین	7/26 ± 1/31^{ab}	12/73 ±2/75^{b}	8/06 ±1/44 ^{ab}	6/43 ± 1/47^{a}	8/3 ±1/35 ^{ab}	6/26 ±1/68^{a}
لیزوزیم	42/00 ±6/80^{a}	94/66 ±15/34^{b}	47/33 ±8/37^{a}	57/66 ±12/54^{a}	53/00 ±5/50^{a}	60/66 ±9/52^{a}
CH_{50}	32/1 ±2/36^{b}	41/06±1/23^{c}	49/33 ±5/94^{c}	14/23 ±2/11^{a}	10/66 ±0/64^{a}	8/1 ±0/87^{a}
IgM	6/33 ±1/20^{a}	24/00±2/08^{c}	17/33 ±2/84^{bc}	22/33 ±1/20^{c}	22/66 ±3/92^{c}	12/00 ±4/35^{ab}

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 جیره‌ها و اجزای غذایی و استفاده از مکمل های غذایی مناسب جهت حفظ روند رشد و سلامت ماهی در محیط-های متراکم است(6). درآزمایش حاضر میزان گلبول های قرمز، سفید، هماتوکریت، هموگلوبین و فعالیت سیستم ایمنی با افزودن ویتامین های E و B_2 به‌طور جداگانه و مخلوط با هم به‌طور 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(14). همانند چنین تحقیقی نیز توسط تاتینا و همکاران بر روی ماهی استرلیاد پرورش (*Acipenser ruthenus*) صورت گرفت، به‌طوری که

www.SID.ir

بیشترین میزان گلبول های قرمز، گلبول سفید مربوط به ویتامین E(100 mg/kg) بود(2). لیزوزیم و کمپلایمنت (CH_{50}) شاخص های مهم سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهی هستند. در این بین لیزوزیم 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 به‌صورت افزایش شاخص های سیستم ایمنی غیر اختصاصی در خون خود را نشان می دهد(12). در مطالعه حاضر با افزودن ویتامین E و B_2 فعالیت لیزوزیم، IgM و کمپلایمان در ماهیان به‌طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با جیره(300 میلی گرم ویتامین E) و بیشترین فعالیت کمپلایمان در ماهیان تغذیه شده با جیره های 2 و 3 به‌ترتیب حاوی 300 میلی گرم ویتامین E و 20 میلی گرم ریبوفلاوین به‌ترتیب به مقدار 1/22±41/06 و 5/94±49/23 ثبت گردید. هم چنین محققین مختلف بیان کرده اند که ویتامینE و ریبوفلاوین می توانند از غیر فعال شدن سیستم ایمنی پیش‌گیری کرده و مقاومت غشاهای سلول های قرمز را افزایش دهند(5، 4). 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 وهمکاران در سال 1987 بیان نمودند که ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی است که موجب افزایش حیات و دوام اریتروسیت ها می شود و یک نقش اساسی در تنفس سلولی بازی می کنند(8). وجود بیشترین تعداد گلبول های قرمز در تیمار1 ویتامین E(300 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 به‌دست آمده در این گونه با نظریه Hung و همکاران(8) تطابق دارد. در مجموع نتایج این مطالعه نشان می دهد که مخلوط 300 میلی گرم ویتامین E و 20 میلی گرم ریبوفلاوین در جیره موجب افزایش شاخص-های خونی و سیستم ایمنی و افزودن ویتامین E و ریبوفلاوین به‌طور جداگانه به ترتیب در مقادیر 300 و 20 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 انیستیتو 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 راداریم.

منابع

1- افشارمازندران، ن. 1381. راهنمای عملی تغذیه و نهاده-های غذایی و دارویی آبزیان در ایران. انتشارات نوربخش.213 ص.

2- تاتینا، م.، بهمنی، م.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، قریب خانی، م. 1388. بررسی تاثیر جیره های غذایی حاوی سطوح مختلف ویتامین های C و E بر میزان گلبول های قرمز خون ماهی استرلیاد پرورشی

Archive of SID

www.SID.ir

(*Acipenser ruthenus*). مجله بیولوژی دریا. صفحه های 23 تا 34.

3- فلاحتکار، ب.، سلطانی، م.، ابطحی، ب.، کلباسی، م.، پورکاظمی، م.، یاسمی، م. 1385. 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 72. صفحه 98 تا 103.

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 ^{o}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 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.

.

Archive of SID

www.SID.ir