شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۳۱۲-۳۰۱

اثرات متقابل اسکوربیک اسید و تراکم بر شاخص‌های رشد مولدین ماده قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*

زهره قادری فهلیانی[۱]، بهرام فلاحتکار[۲و۳*]، حمید نویریان[۴]، عبدالعلی راهداری[۵]

۱. کارشناس ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران
۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران
۳. استاد گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان، ایران
۴. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، ایران
۵. استادیار گروه شیلات، پژوهشکده تالاب بین‌المللی هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۷

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثرات متقابل سطوح مختلف اسکوربیک اسید و تراکم بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. ۸۱ عدد مولد ماده با وزن متوسط ۱/۵ ± ۸۱۲ گرم در شش تیمار شامل سه جیره غذایی حاوی مقادیر صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید (ال- اسکوربیل-۲- پلی فسفات) در هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. آزمایش‌های غذادهی در دو تراکم مختلف کم و زیاد (۳ و ۶ عدد ماهی در متر مکعب معادل ۰/۲ ± ۲/۴۴ و ۰/۳ ± ۴/۸۷ کیلوگرم بر مترمکعب) به مدت ۱۶ هفته انجام شد. هر جیره آزمایشی در ۳ تکرار انجام و ماهی‌ها در حد سیری دو مرتبه در روز غذادهی شدند. تغییرات افزایش وزن بدن از هفته چهارم تا هفته ۱۲ مشاهده شد. نتایج کل دوره نشان داد بیشترین افزایش وزن و نرخ رشد ویژه مربوط به تراکم زیاد بود ولی اختلاف معنی‌داری بین دوزهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در این تراکم وجود نداشت. در پایان دوره آزمایش، ماهی‌هایی که اسکوربیک اسید به جیره آنها افزوده نشده بود در مقایسه با تیمارهای حاوی اسکوربیک اسید کمترین وزن نهایی را داشتند (۲/۰۹ ± ۸۸۵/۲ گرم). نتایج این مطالعه نشان داد اسکوربیک اسید جیره تاثیر معنی‌داری بر رشد مولدین قزل‌آلا به خصوص در تراکم زیاد دارد و مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در هر کیلوگرم جیره غذایی برای رشد مولدین قزل‌آلا مطلوب به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، مولد، رشد سوماتیک، تراکم، اسکوربیک اسید

* نویسنده مسئول: بهرام فلاحتکار
Email: falahatkar@guilan.ac.ir

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 3, Autumn 2020
pp. 301-312

Interactive effects of dietary ascorbic acid and density on growth parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Zohreh Ghaderi[1], Bahram Flahatkar*[2,3], Hamid Noverian[4], Abdolali Rahdari[5]

1.MSc.Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
2.Professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran
3. *Professor, Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran*
4. *Associate Professor, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran*
5. Assistant Professor, Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: 05-Mar-2020 **Accepted: 17-May-2020**

Abstract
This study was conducted to evaluate the interactive effects of different levels of dietary ascorbic acid and density on growth parameters of rainbow trout. The eighty- one rainbow trout broodstock (812 ± 1.5 g) distributed into six groups as experimental treatments and were fed different levels of ascorbic acid including 0, 100 and 1000 mg/kg L-ascorbyl-2-polyphosphate. The feeding trial was carried out in two different densities (3 and 6 fish/m3) for a 16- week period in triplicates. Each diet was fed to triplicate groups of fish to apparent satiation two times a day. Changes of body weight increase were observed from fourth week to 12th week. The highest amounts of weight gain and specific growth rate were observed in high density (6 fish/m3), but no significant difference was observed between 100 and 1000 mg/kg ascorbic acid in high density. At the end of the experiment, fish fed −C diet had a lowest final mean weight (885.2 ± 2.09 g) than those fed +C diet. These results indicated that dietary ascorbic acid significantly influenced growth performance of rainbow trout broodstock, especially in high density and the level of 100 mg ascorbic acid per kilogram diet can lead to desirable growth of female rainbow trout breeders.

Keywords: Rainbow trout, Brood, Vitamin C, Somatic growth, Density, Reproduction.

۱. مقدمه

مطالعاتی پیرامون تاثیر اسکوربیک اسید بر عملکرد تولیدمثل ماهی قزل‌آلا وجود دارد، ولی پیرامون تاثیر این ویتامین بر رشد مولدین و نیز تاثیر متقابل آن در تراکم‌های مختلف، اطلاعاتی وجود ندارد. از طرفی، شواهد و مطالعاتی وجود دارد که در برخی ماهیان مانند چار قطبی *Salvelinus alpinus* تغییر الگوهای رفتاری در تراکم‌های مختلف میزان رشد ماهی را تنظیم می‌کند (Brown *et al.*, 1992). بنابراین، با توجه به اثرات شگرفی که اسکوربیک اسید بر حذف یا جلوگیری از عوامل نامطلوبی نظیر تراکم بالا می‌تواند داشته باشد، و پاسخ به این سوال که آیا تکثیر کنندگان ماهی می‌توانند با استفاده از سطوح بالای این ویتامین اقدام به نگهداری مولدین بدون ایجاد اثرات منفی نمایند، در این مطالعه تاثیر سطوح مختلف اسکوربیک اسید روی رشد مولدین قزل‌آلا در تراکم‌های زیاد و کم بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه و نگهداری ماهی

این مطالعه در کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌آلای رنگین‌کمان فارس واقع در منطقه شش پیر استان فارس انجام شد. آب مورد نیاز این کارگاه از چشمه شش پیر با دبی ۲۰۰۰ لیتر در ثانیه واقع در فاصله یک کیلومتری کارگاه تأمین می‌شد. تعداد ۸۱ قطعه مولد ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۱/۵ ± ۸۱۲ گرم و طول کل ۰/۸ ± ۳۹/۷ سانتیمتر و سن ۲/۵ سال، به مدت دو هفته با غذای دستی که اسکوربیک اسید به آن افزوده نشده نبود عادت‌دهی شدند. سپس، مولدین به ۱۸ حوضچه به ابعاد ۰/۷۵ × ۱/۵ × ۱ متر با حجم آبگیری ۹۱۰ لیتر معرفی شدند. سه جیره غذایی با سطوح صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید به ازای هر کیلوگرم غذا در ۲ تراکم مختلف کم و زیاد (به ترتیب ۳ و ۶ عدد ماهی به ازای هر متر مکعب معادل ۰/۲ ± ۲/۴۴ و ۰/۳ ± ۴/۸۷ کیلوگرم بر مترمکعب)، به مدت ۱۶ هفته مورد استفاده قرار گرفت. در طول دوره آزمایش، دمای آب ۰/۸ ± ۷/۳ درجه سانتی‌گراد، pH آب ۰/۶ ± ۷/۳، اکسیژن محلول ۰/۲ ± ۷/۲ میلی‌گرم در لیتر، نیترات ۱/۲ ± ۱۱/۶ میلی‌گرم در لیتر و نیتریت ۰/۰۰۳ ± ۰/۰۲۷ میلی‌گرم در لیتر بود. مخازن پرورشی در معرض دوره نوری طبیعی بودند و از نور مصنوعی استفاده نشد.

۲.۲. ساخت جیره‌های غذایی و غذادهی

اسکوربیک اسید مورد استفاده در این تحقیق از نوع L-ascorbyl-2-polyphosphate (ساخت شرکت EASF بلژیک) با خلوص ۹۵ درصد بود. مواد اولیه با توجه به فرمولاسیون تجاری غذای قزل‌آلای رنگین کمان به صورت خشک تهیه و فرمول جیره با نرم‌افزار UFFFDA (version 1.0) تنظیم شد. جهت ساخت جیره‌ها، ابتدا مواد اولیه به مدت ۱۰ دقیقه به وسیله همزن، با هم مخلوط شده و سپس توسط آسیاب برقی، آسیاب شدند. بعد از آن روغن ماهی و آب (۲۵ درصد) به آنها اضافه و دوباره کاملاً مخلوط شدند. مخلوط تهیه شده توسط دستگاه چرخ گوشت با اندازه مناسب چرخ شده و به صورت رشته‌های ماکارونی و به صورت لایه‌ای نازک روی سینی‌های مخصوص منتقل شد. غذای ساخته شده در شرایط سایه و بدون رطوبت در حضور دستگاه فن هواده با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. برای ساخت جیره‌های حاوی اسکوربیک اسید نیز بعد از مخلوط شدن کامل مواد اولیه خشک و قبل از اضافه شدن روغن ماهی و آب، حجم کمی از مواد مخلوط شده با میزان اسکوربیک اسید مدنظر و سپس با حجم کل مخلوط شد. غذای ساخته شده در کیسه‌های نایلونی تیره بسته‌بندی و درون یخچال نگهداری شد. ساخت غذا هر ۳ هفته یکبار انجام گرفت. جدول ۱ ترکیب اجزای جیره و تجزیه تقریبی آن را نشان می‌دهد. ماهی‌ها دو وعده در ۸ صبح و ۱۸ عصر بر اساس اشتها غذادهی شدند.

تجزیه بیو شیمیایی تقریبی مواد اولیه و جیره‌های

آزمایشی با روش‌های استاندارد (AOAC, 2002) انجام شد. به این منظور، برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین خام، پس از هضم نمونه‌ها مقدار نیتروژن کل به روش کلدال (دستگاه Kejeldal V40, Bakhshi, Tehran, Iran) و ضرب عدد به دست آمده در ۶/۲۵ محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری رطوبت نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه آون (Memmert, Universal, Germany) قرار داده شدند و میزان رطوبت از کسر وزن ثانویه از اولیه به دست آمد. چربی خام به روش سوکسله با استفاده از حلال پترولیوم اتر با نقطه جوش ۶۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸-۶ ساعت در دستگاه سوکسله تک خانه (سلیمان تجهیز، تهران، ایران) استخراج و محاسبه شد. مقدار فیبر خام توسط دستگاه فیبرسنج (Velp, Italy) و با استفاده از هضم اسیدی (H_2SO_4) و قلیایی (NaOH) اندازه‌گیری شد. مقدار خاکستر پس از سوزاندن نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره الکتریکی (شیماز، تهران، ایران) محاسبه گردید.

جدول ۱- درصد ترکیب مواد غذایی بکار رفته در جیره‌های آزمایشی و میانگین ترکیب شیمیایی آنها (n = ۳)

اجزای جیره*	درصد
پودر ماهی	۶۰
گلوتن گندم	۴/۹
آرد گندم	۱۸
آرد سویا	۱۰
مخلوط مکمل معدنی و ویتامینی[۱]	۵
روغن ماهی	۲
کریر و یا اسکوربیک اسید*[۲]	۰/۱
آنالیز تقریبی (٪)	
پروتئین	۴۶/۲ ± ۰/۹
رطوبت	۹ ± ۰/۲
چربی	۱۲/۱ ± ۰/۲
فیبر	۳ ± ۰/۱
خاکستر	۸/۵ ± ۰/۱

[۱] ساخت شرکت VDS بلژیک با مواد معدنی و سایر ویتامین‌های مورد نیاز قزل‌آلا (بدون اسکوربیک اسید)

[۲] L-ascorbyl - 2 polyphosphate (EASF- Belgium)

* در جیره پایه (جیره فاقد اسکوربیک اسید) به جای اسکوربیک اسید، ۰/۱ درصد به مقدار گلوتن گندم اضافه شد. در جیره‌های حاوی اسکوربیک اسید با توجه به مقدار در نظر گرفته شده، برای جیره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم حدود ۰/۰۱ درصد و برای ۱۰۰۰ میلی‌گرم، ۰/۱ درصد اسکوربیک اسید افزوده شد.

۳.۲. اندازه گیری شاخص‌های رشد

برای محاسبه شاخص‌های رشد، هر چهار هفته یکبار همه ماهی‌ها به صورت فردی زیست سنجی شدند. برای این کار، ماهیان در محلول حاوی عصاره گل میخک با غلظت ppm ۱۵۰ میلی گرم در لیتر بیهوش (۴) و سپس هر ماهی به صورت انفرادی توزین و طول آنها اندازه‌گیری شد. شاخص‌های وزن نهایی، وزن کسب شده یا افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن بدن (BWI)، نرخ رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF) و میزان بقا (SR) از طریق روابط زیر محاسبه شدند (Falahatkar, 2015):

$$WG\ (g) = \text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}$$

$$BWI\ (٪) = \frac{\text{(وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}}{\text{وزن اولیه (گرم)}} \times ۱۰۰$$

$$SGR\ (\%/day) = \frac{\text{Ln (وزن نهایی (گرم)} - \text{Ln وزن اولیه}}{\text{طول دوره پرورش (روز)}} \times ۱۰۰$$

$$CF = \frac{\text{وزن ماهی (گرم)}}{\text{طول کل (سانتی‌متر)}^۳} \times ۱۰۰$$

$$SR\ (\%) = \frac{\text{تعداد ماهیان در انتهای دوره}}{\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره}}$$

۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS (IBM SPSS Statistics version 25) استفاده شد. نرمال بودن داده ها با آزمون کولموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov- Smirnov) و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت. همچنین، تاثیر متقابل جیره و تراکم با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳. نتایج

بر اساس نتایج ارائه شده در جداول ۲، ۳، ۴ و ۵ روند تغییرات افزایش وزن در طول دوره پرورشی ۱۶ هفته‌ای دارای نوسانات و تغییرات بود، به طوری که در هفته ۴ مقدار افزایش وزن در تراکم زیاد دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید بیشتر از تراکم کم آن و معنی‌دار بود ولی در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم اختلافی بین تراکم زیاد و کم نبود. در هفته ۸ اختلاف معنی‌داری بین تراکم‌های زیاد و کم در هر یک از دوزهای ۱۰۰۰ و ۱۰۰ مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). در هفته ۱۲ تفاوت افزایش وزن بین تراکم‌های زیاد و کم به خوبی مشاهده شد، به گونه ای که در هر دو دوز ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میلی گرم افزایش وزن تراکم زیاد بیشتر از تراکم کم و معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). در این هفته بین تراکم زیاد دوزهای ۱۰۰۰ و ۱۰۰ اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). نهایتاً در هفته پایانی دوره آزمایش (هفته ۱۶) اختلاف معنی داری در میزان رشد بین تمامی گروه‌های آزمایشی وجود نداشت و مقدار افزایش وزن هر تیمار نیز در مقایسه با هفته ۱۲ کمتر بود، به عنوان مثال این عدد برای تراکم زیاد دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم در هفته ۱۶ حدود ۲۵ گرم بود، در حالی که در هفته ۱۲ حدود ۳۱ گرم بود. روند معنی‌دار افزایش وزن از ابتدای دوره شروع و تا هفته ۱۲ ادامه داشت. علاوه بر این، همان طور که در جدول ۶ نشان داده شده است بیشترین افزایش وزن کل دوره در تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم و تراکم زیاد مشاهده شد. همچنین در همه دوزها، مقدار افزایش وزن تراکم زیاد بیشتر از تراکم کم بود. در طول دوره آزمایش هیچ گونه تلفاتی در میان تیمارها وجود نداشت و میزان بقا ۱۰۰درصد بود.

جدول ۲- تاثیر سطوح مختلف اسکوربیک اسید در تراکم‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۴ هفته (میانگین ± خطای استاندارد)

اسکوربیک اسید و تراکم*	وزن متوسط (g)	افزایش وزن (g)	افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه (%/day)	ضریب چاقی
C_0D_3	۸۳۲/۹ ± ۱/۸^{e}	۲۱/۸ ± ۰/۲^{d}	۲/۶ ± ۰/۳^{d}	۰/۰۸ ± ۰/۰۰۸^{c}	۱/۲ ± ۰/۰۰۲^{b}
C_0D_6	۸۳۵/۹ ± ۱/۵^{de}	۲۴/۰۷ ± ۲/۰۲^{cd}	۲/۹ ± ۰/۳^{cd}	۰/۰۹ ± ۰/۰۰۸^{c}	۱/۲ ± ۰/۰۰۲^{b}
$C_{100}D_3$	۸۴۱/۶ ± ۱/۵^{cd}	۲۹/۰۷ ± ۱/۰۴^{bc}	۳/۵ ± ۰/۲^{bc}	۰/۱۱ ± ۰/۰۴^{bc}	۱/۲ ± ۰/۰۰۲^{b}
$C_{100}D_6$	۸۴۸/۲ ± ۷/۷^{b}	۳۲/۰۷ ± ۸/۴^{b}	۴ ± ۱/۰۳^{b}	۰/۱۳ ± ۰/۰۳^{b}	۱/۲ ± ۰/۰۱۱^{b}
$C_{1000}D_3$	۸۴۶/۸ ± ۲/۲^{bc}	۳۴/۰۷ ± ۳/۴^{b}	۴/۲ ± ۰/۴^{b}	۰/۱۴ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۲ ± ۰/۰۰۳^{b}
$C_{1000}D_6$	۸۶۵/۵ ± ۸^{a}	۴۹/۰۷ ± ۸/۸^{a}	۶ ± ۱/۰۸^{a}	۰/۱۹ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۳ ± ۰/۰۱۲^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است.

* اسکوربیک اسید با حرف C و مقدار آن بر حسب mg/kg با اندیس عددی و تراکم با حرف D و تعداد ماهی با اندیس عددی نشان داده شده است.

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف اسکوربیک اسید در تراکم‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۸ هفته (میانگین ± خطای استاندارد)

اسکوربیک اسید و تراکم*	وزن متوسط (g)	افزایش وزن (g)	افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه (%/day)	ضریب چاقی
C_0D_3	۸۴۸/۴۱ ± ۱/۵۶^{d}	۱۵/۴۴ ± ۰/۲۴^{c}	۱/۸۵ ± ۰/۱۵^{b}	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۱^{b}	۱/۳۲ ± ۰/۰۷۳
C_0D_6	۸۶۰/۵۳ ± ۱/۸۸^{c}	۲۴/۵۶ ± ۲/۰۱^{ab}	۲/۹۳ ± ۰/۱۲^{a}	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۱^{a}	۱/۳۴ ± ۰/۰۸۶
$C_{100}D_3$	۸۶۲/۲۳ ± ۱/۳^{c}	۲۰/۶ ± ۱/۴۴^{b}	۲/۴۴ ± ۰/۱۷^{a}	۰/۰۲۴ ± ۰/۰۰۱^{a}	۱/۳۳ ± ۰/۰۸۴
$C_{100}D_6$	۸۷۱/۶۶ ± ۸/۲^{b}	۲۳/۴۴ ± ۶/۵۸^{ab}	۲/۷۶ ± ۰/۷۸^{a}	۰/۰۲۷ ± ۰/۰۰۷^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۸۳
$C_{1000}D_3$	۸۹۶/۸۸ ± ۵/۵۶^{a}	۲۳/۰۵ ± ۲/۵^{ab}	۲/۷۲ ± ۰/۲۹^{a}	۰/۰۲۶ ± ۰/۰۰۲^{a}	۱/۳۹ ± ۰/۰۸۷
$C_{1000}D_6$	۸۹۱/۱۱ ± ۵/۵۶^{a}	۲۵/۵۵ ± ۳/۰۲^{a}	۲/۹۵ ± ۰/۳۷^{a}	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۳^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۹۴

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است.

* اسکوربیک اسید با حرف C و مقدار آن بر حسب mg/kg با اندیس عددی و تراکم با حرف D و تعداد ماهی با اندیس عددی نشان داده شده است.

جدول ۴- تاثیر سطوح مختلف اسکوربیک اسید در تراکم‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۱۲ هفته (میانگین ± خطای استاندارد)

اسکوربیک اسید و تراکم*	وزن متوسط (g)	افزایش وزن (g)	افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه (%/day)	ضریب چاقی
C_0D_3	۸۶۷/۲۲ ± ۲/۳۳^{e}	۱۸/۸۱ ± ۱/۳۶^{c}	۲/۲۱ ± ۰/۱۵^{b}	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۰۵^{b}	۱/۳۲ ± ۰/۰۷۴
C_0D_6	۸۸۱/۱۴ ± ۱/۸۴^{d}	۲۰/۶۱ ± ۱/۵۲^{bc}	۲/۳۹ ± ۰/۱۷^{b}	۰/۰۷۸ ± ۰/۰۰۵^{b}	۱/۳۴ ± ۰/۰۸۶
$C_{100}D_3$	۸۸۵/۶۶ ± ۲/۱۲^{d}	۲۳/۴۳ ± ۲/۰۷^{bc}	۲/۷۱ ± ۰/۲۴^{b}	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۰۷^{b}	۱/۳۴ ± ۰/۰۸۶
$C_{100}D_6$	۹۰۶/۰۵ ± ۴/۵^{b}	۳۴/۳۹ ± ۴/۳۲^{a}	۳/۹۵ ± ۰/۳۵^{a}	۰/۱۲۹ ± ۰/۰۱۷^{a}	۱/۳۶ ± ۰/۰۹۶
$C_{1000}D_3$	۸۹۴/۲۱ ± ۳/۱۴^{c}	۲۴/۳۲ ± ۳/۴۵^{b}	۲/۷۹ ± ۰/۴^{b}	۰/۰۹۱ ± ۰/۰۱۳^{b}	۱/۳۹ ± ۰/۰۸۲
$C_{1000}D_6$	۹۲۲/۲۲ ± ۹/۷۲^{a}	۳۱/۱ ± ۷/۵۹^{a}	۳/۴۹ ± ۰/۸۵^{a}	۰/۱۱۴ ± ۰/۰۲۷^{a}	۱/۳۶ ± ۰/۰۹۵

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است.

* اسکوربیک اسید با حرف C و مقدار آن بر حسب mg/kg با اندیس عددی و تراکم با حرف D و تعداد ماهی با اندیس عددی نشان داده شده است.

جدول ۵- تاثیر سطوح مختلف اسکوربیک اسید در تراکم‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۱۶ هفته (میانگین ± خطای استاندارد)

اسکوربیک اسید و تراکم*	وزن نهایی (g)	افزایش وزن (g)	افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه (%/day)	ضریب چاقی
C_0D_3	۸۸۵/۲ ± ۲/۰۹^{f}	۱۸/۰۲ ± ۰/۶۲	۲/۲۱ ± ۰/۱۵^{b}	۰/۱۲۳ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۳۲ ± ۰/۰۶
C_0D_6	۹۰۰ ± ۲/۴۸^{e}	۱۸/۹۱ ± ۰/۸۹	۲/۳۹ ± ۰/۱۷^{b}	۰/۱۱۸ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۳۴ ± ۰/۰۹
$C_{100}D_3$	۹۰۷/۸ ± ۲/۳۴^{d}	۲۲/۱۸ ± ۰/۸۷	۲/۷۱ ± ۰/۲۴^{b}	۰/۱۴۹ ± ۰/۰۹^{b}	۱/۳۳ ± ۰/۰۸
$C_{100}D_6$	۹۲۹/۲ ± ۴/۶۳^{b}	۲۳/۱۳ ± ۰/۴۴	۳/۹۵ ± ۰/۵۳^{a}	۰/۱۷۹ ± ۰/۰۱۹^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۹
$C_{1000}D_3$	۹۱۸/۳ ± ۳/۲۵^{c}	۲۴/۰۸ ± ۰/۲۲	۲/۷۹ ± ۰/۴^{b}	۰/۱۵۱ ± ۰/۰۱۴^{b}	۱/۳۸ ± ۰/۰۸۲
$C_{1000}D_6$	۹۴۷/۵ ± ۹/۵۹^{a}	۲۵/۳۱ ± ۰/۵	۳/۴۹ ± ۰/۸۵^{a}	۰/۱۹۹ ± ۰/۰۳^{a}	۱/۳۷ ± ۰/۰۹۶

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌داراست.

* اسکوربیک اسید با حرف C و مقدار آن بر حسب mg/kg با اندیس عددی و تراکم با حرف D و تعداد ماهی با اندیس عددی نشان داده شده است.

نتایج کل دوره نشـان داد که بیشـترین افزایش وزن و نرخ رشـد ویژه مربوط به تراکم زیاد (۶ عدد ماهی به ازای هر متر مکعب) بود ولی اختلاف معنی‌داری بین دوزهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم اسـکوربیک اسـید در این تراکم وجود نداشت (جدول ۶).

بر اسـاس نتایج تجزیه واریانس دو طرفه، تاثیر متقابل جیره و تراکم در همه شـاخص‌ها به جز ضـریب چاقی ملاحظه شد (جدول ۷). بیشترین ضریب چاقی در هفته ۴ مربوط به دوز ۱۰۰۰ میلی گرم و تراکم زیاد بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$) ولی در هفته‌های بعد تا پایان دوره اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$).

جدول ۶ -شاخص‌های رشد در تیمارهای حاوی صفر (C_0)، ۱۰۰ (C_{100}) و ۱۰۰۰ (C_{1000}) میلی‌گرم در کیلوگرم اسکوربیک اسید در تراکم‌های ۳ (D_3) و ۶ (D_6) عدد به ازای متر مکعب مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان طی ۱۶ هفته (میانگین ± خطای استاندارد).

اسکوربیک اسید و تراکم*	کل افزایش وزن (g)	افزایش وزن (٪)	نرخ رشد ویژه (%/day)	ضریب چاقی
C_0D_3	۷۳/۲ ± ۶/۵^{c}	۲/۲۲ ± ۰/۲۱^{d}	۰/۰۷ ± ۰/۰۰۵^{b}	۱/۲۹ ± ۰/۰۵
C_0D_6	۸۸ ± ۷/۱^{c}	۲/۶۵ ± ۰/۱۹^{c}	۰/۰۹ ± ۰/۰۱۳^{b}	۱/۳۱ ± ۰/۰۶
$C_{100}D_3$	۹۵/۸ ± ۸/۳^{b}	۲/۵۹ ± ۰/۰۹^{c}	۰/۰۹ ± ۰/۰۱۲^{b}	۱/۳۰ ± ۰/۰۶
$C_{100}D_6$	۱۱۷/۲ ± ۱۰/۵^{a}	۳/۶۷ ± ۰/۳۲^{a}	۰/۱۲ ± ۰/۰۵^{a}	۱/۳۲ ± ۰/۰۷
$C_{1000}D_3$	۱۰۶/۳ ± ۹/۵^{b}	۳/۱۳ ± ۰/۴۱^{b}	۰/۱۰ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۳۴ ± ۰/۰۸
$C_{1000}D_6$	۱۳۵/۵ ± ۱۴/۶^{a}	۳/۹۸ ± ۰/۶۹^{a}	۰/۱۳ ± ۰/۰۸^{a}	۱/۳۵ ± ۰/۰۳

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است.

* اسکوربیک اسید با حرف C و مقدار آن بر حسب mg/kg با اندیس عددی و تراکم با حرف D و تعداد ماهی با اندیس عددی نشان داده شده است.

جدول ۷ -نتایج تجزیه واریانس دو طرفه سطوح مختلف اسکوربیک اسید و تراکم و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های رشد مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از ۱۶ هفته

	جیره غذایی	تراکم	جیره × تراکم
وزن نهایی	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*
افزایش وزن (g)	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۹*
ضریب چاقی	۰/۶۲	۰/۶۲۱	۰/۵۴۷
افزایش وزن (٪)	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۱۷*
نرخ رشد ویژه	۰/۰۰۰*	۰/۰۰۰*	۰/۰۲۷*

* نشان از تاثیر معنی دار تیمارها بر شاخص‌های رشد در سطح معنی داری ($p<۰/۰۵$) دارد.

۴. بحث و نتیجه گیری

بسیاری از مطالعات انجام شده پیرامون تغذیه ماهیان با اسکوربیک اسید، روی ماهیان جوان انجام شده است ولی با این وجود شواهدی مبنی بر تغییر میزان اسکوربیک اسـید مورد نیاز در طول رشـد و به ویژه در ماهیان مولد وجود دارد.

در مطالعه حاضر، نتایج شاخص‌های رشد نشان داد در تمام دوره پرورشـی بیشـترین مقدار متوسـط مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید و کمترین آن مربوط به جیره‌ای بود که اسـکوربیک اسـید افزوده نشـده بود و نیز بیشـترین رشـد از نظر تراکم مربوط به

تراکم زیاد و کمترین مربوط به تراکم کم بود. همچنین، از نظر اثر متقابل جیره و تراکم حداکثر مقدار مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید و تراکم زیاد بود و حداقل مقدار مربوط به جیره‌ای که اسکوربیک اسید اضافه نشده و و تراکم کم بود.

در زیست‌سنجی‌های ابتدایی، اسکوربیک اسید اثر معنی‌دار خود را بر شاخص‌های رشد نشان داد در صورتی که با رسیدن به انتهای دوره پرورشی شاخص ضریب چاقی، تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نداشت. در مراحل انتهایی دوره پرورشی درصد افزایش وزن بین تیمارهای ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در کیلوگرم جیره غذایی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، در صورتی که بین گروه کنترل با مقادیر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم اسکوربیک اسید در کیلوگرم این تفاوت معنی‌دار بود و شاید این مطلب را بتوان با توجه به حداقل مقادیر مجاز برای حداکثر رشد در شرایط آزمایشگاهی برای قزل‌آلای رنگین‌کمان که در NRC آورده شده است توجیه کرد که این مقدار را برای افزایش وزن و فقدان علائم کمبود ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی و برای حداکثر ذخیره سازی کبدی ۱۰۰ میلی‌گرم بیان کرده است (NRC, 2011).

نتایج جمع بندی شده کل دوره نیز موید این است که بالاترین مقدار افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در تراکم بالا اتفاق می‌افتد، ولی بین دوز ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در این تراکم اختلاف آماری وجود نداشت. به عبارت دیگر، بر اساس نتایج حاضر نیاز به افزودن اسکوربیک اسید بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وجود ندارد. این دوز در برخی ماهی‌های دیگر نیز برای افزایش رشد و کاهش استرس گزارش شده است. در کپور هندی روهو *Labeo rohita* دوز ۱۰۰ mg/kg موجب تحریک سیستم ایمنی و افزایش رشد بوده است (Misra *et al*., 2007). در گربه ماهی *Heteropneustes fossilis* دوز ۵۰ mg/kg قادر به از بین بردن استرس ناشی از آفت‌کش fenvalerate نبود ولی دوز ۱۰۰ mg/kg این استرس را از بین برد (Datta and Kaviraj, 2003).

Dabrowski و Blom (۱۹۹۴) ماهی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن ابتدایی ۲۲۰ ± ۹۷۷ گرم را طی یک دوره زمانی ۸ ماهه با جیره‌های فاقد اسکوربیک اسید و یا حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسکوربیک اسید یا اسکوربات مونوفسفات، مورد تغذیه قرار دادند. نتایج مطالعه آنها نشان داد افزایش وزن ماده‌های در حال رسیدگی به میزان معنی‌داری کمتر از گروهی بود که مونو فسفات اسکوربات به جیره آنها افزوده شد. آنها نتیجه گرفتند کمبود اسکوربیک اسید به مدت چند ماه، اثرات منفی بر رشد ماهی های در حال رسیدگی دارد (Dabrowski and Blom, 1994).

در مطالعه حاضر کمترین افزایش وزن (وزن کسب شده) در جیره‌هایی مشاهده شد که اسکوربیک اسید به آنها افزوده نشده بود و این مطلب نشان می‌دهد که سطوح مختلف اسکوربیک اسید بر کارایی رشد و تغذیه تاثیر می گذارد. نتایج کارایی رشد در این مطالعه، ارتباط مستقیمی با میزان اسکوربیک اسید جیره داشت که مطابق با نتایجی است که در بسیاری از ماهی‌های دیگر از قبیل باس دریایی ژاپنی *Lateolabrax japonicus* (Ai *et al*., 2004)، بادکنک ماهی ببری *Takifugu rubripes* (Eo and Lee, 2008)، هامور *Epinephelus malabaricus* (Lin and Shiau, 2005)، ماهی صخره‌ای کره‌ای *Sebastes schlegeli*، طوطی ماهی *Oplegnathus fasciatus* (Wang *et al*., 2003a,b) و سوکلا *Rachycentron canadum* (Zhou *et al*., 2012) به دست آمده است ولی با نتایج گزارش شده در ماهی‌های شوریده زرد بزرگ *Pseudosciaena crocea* (Ai *et al*., 2006) و سیم دریایی *Sparus aurata* (Henrique *et al*., 1998) مطابقت ندارد. همچنین، نتایج پژوهش حاضر با مطالعات Falahatkar و همکاران (۲۰۰۶) روی فیل ماهی *Huso huso* همخوانی دارد. بر اساس این مطالعات، شاخص‌های رشد، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد در فیل ماهی‌های تغذیه شده با سطوح بالاتر اسکوربیک اسید در

مقایسه با تیمارهای حاوی سطوح کمتر این ویتامین بهتر و مناسب‌تر بود (Falahatkar *et al*., 2006; Falahatkar, 2015). Gouillou-Coustans و همکاران (۱۹۹۰) علت کاهش شاخص‌های رشد در ماهی توربوت *Scophtalmus maximus* تغذیه شده با جیره فاقد اسکوربیک اسید را ایجاد نقص شدید در سوخت و ساز تیروزین اعلام کردند که منجر به بیماری گرانولوماتوز کلیوی می‌گردد (Gouillou-Coustans *et al*., 1990).

به عبارت دیگر، علت کاهش رشد ماهی‌ها با مصرف غذاهایی که به اندازه کافی اسکوربیک اسید ندارند این است که احتمالاً فعالیت تیروئید و سایر هورمون‌های تیروئیدی کاهش می‌یابد (Ibiyo *et al*., 2006). در مطالعات دقیقی که در زمینه اسکوربیک اسید صورت گرفته توصیه شده که مقدار این ویتامین باید چند برابر بیشتر از سطح جلوگیری کننده از اسکوروی (تهی شدن اسکوربات بافتی) در نظر گرفته شود (Sealey and Gatlin, 2002). از طرف دیگر نقش مهمی که اسکوربیک اسید در کاهش استرس دارد می‌تواند منجر به افزایش رشد ماهی گردد. در واقع، کاهش و رفع استرس را می‌توان یکی از مکانیسم‌های موثر اسکوربیک اسید برای افزایش رشد قلمداد نمود. در گربه ماهی *H. fossilis* افزایش اسکوربیک اسید جیره غذایی موجب مقاومت ماهی در مقابل استرس ایجاد شده به وسیله آفت‌کش Cypermethrin گردید (Saha and Kaviraj, 2009).

مطالعات نشان داده که تنظیم کورتیزول (بازگشت کورتیزول افزایش یافته به مقدار نرمال) در ماهیان تحت استرسی که با مقادیر بالای اسکوربیک اسید تغذیه شده‌اند به نحو بسیار بهتری صورت گرفته است. این امر نشان دهنده نقش اسکوربات در متابولیسم هورمونی کورتیکواستروئیدها است (Peng *et al*., 2013). همچنین، فرضیه‌ای وجود دارد که افزودن اسکوربیک اسید به جیره غذایی مانع تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع به استرهای کلسترول که ترکیبات مهم کورتیزول هستند می‌گردد (Kibatchi, 1967) و به این ترتیب مانع تشکیل کورتیزول می‌شود.

در تحقیق حاضر، نتایج تقابل تراکم با جیره نشان داد در دو تیمار با دوز یکسان اسکوربیک اسید، شاخص‌های رشد در تراکم زیاد (۶ ماهی به ازای هر متر مکعب) بیشتر از تراکم کم (۳ ماهی به ازای هر متر مکعب) است. دلایل احتمالی این نتیجه را می‌توان موضوعات رقابت ماهی‌ها و رفتار اجتماعی بیان نمود. تراکم رقابتی یکی از مهمترین فاکتورهای تاثیرگذار بر توسعه ویژگی‌های رفتاری و دیگر صفات فنوتیپی در برخی موجودات از جمله ماهی است (Bohlin *et al*., 2002). مشاهده بالینی رفتار ماهی‌های در طی دوره پرورش نشان داد که در زمان توزیع غذا در تراکم‌های کم (۳ ماهی به ازای هر متر مکعب)، حالت ترس و فرار از غذا در ماهی مشاهده می‌شود که این حالت باعث هدر رفت غذا به علت مصرف کم آن نیز می‌شود وخود بر شاخص‌های رشد تأثیر گذار است. از طرف دیگر شاید بتوان گفت که نبود رفتارهای اجتماعی بین مولدین به دلیل تراکم پایین و همچنین نبود رقابت غذایی بین آنها باعث ترس از پذیرش غذا می‌شود.

Brown و همکاران (۱۹۹۲) در مطالعه رفتارهای اجتماعی چار قطبی به این نتیجه رسیدند که با افزایش تراکم، چالش‌های رفتاری کمتر شده و به دنبال آن مصرف انرژی کمتر و رشد افزایش می‌یابد (Brown *et al*., 1992). در واقع در تراکم زیاد نسبت به تراکم‌های متوسط و کم، رفتارهای تهاجمی در ماهی‌ها به مقدار معنی‌داری کاهش می‌یابد و ماهی زمان قابل ملاحظه‌ای را در وضعیت گله‌ای و با دیگر ماهیان می‌گذراند. همین رفتارها موجب صرفه‌جویی در مصرف انرژی و اختصاص آن به رشد سوماتیک می‌گردد.

با توجه به مطالعات انجام شده و همچنین تحقیق حاضر می‌توان گفت که حضور اسکوربیک اسید در جیره مولدین قزل‌آلا برای انجام عملکردهای فیزیولوژیک لازم است. زیرا، آنزیم مهم ال- گولونولاکتون اکسیداز که مرحله نهایی ساخت اسکوربیک اسید را از دی- گلوکز به عنوان پیش‌ساز اصلی، کاتالیز می‌کند در این ماهی همانند

دیگر ماهی های اســـتخوانی وجود ندارد (Dabrowski, 2001). این تحقیق نشــان می‌دهد که نیاز به اســکوربیک اســـید برای رشـــد ماهی‌های قزل‌آلایی که در مراحل ر سیدگی جن سی قرار دارند ضروری ا ست. همچنین، بر اســـاس نتایج این مطالعه می‌توان بیان نمود که احتمالاً تراکم‌های پایین‌تر از حد نرمال باعث دریافت کمتر غذا و متعاقب آن دریافت کمتر اسکوربیک اسید شده و رشد در چنین تراکم‌هایی کاهش می‌یابد که این مســـئله احتمالاً می‌تواند ناشـــی از عدم وجود یا کاهش رفتارهای اجتماعی معمول و عدم وجود رقابت غذایی ماهی‌ها در تراکم‌های پایین باشـد. البته برای تأیید این مطالب باید آزمایش‌های متعددی در تراکم‌های متعدد انجام گیرد.

۵. منابع

References

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Zhang, W., Ma, H., Liufu, Z. 2006. Effect of dietary vitamin C on survival, growth, and immune of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 261(1), 327-336.

Ai, Q., Mai, K., Zhang, C., Xu, W., Duan, Q., Tan, B., Liufu, Z. 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 242(1-4), 489-500.

Asaikkutti, A., Bhavan, P.S., Vimala, K., Karthik, M., Cheruparambath, P. 2016. Effect of different levels dietary vitamin C on growth performance, muscle composition, antioxidant and enzyme activity of freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. *Aquaculture Reports* (3), 229-236.

Bohlin, T., Sundström, L.F., Johnsson, J.I., Höjesjö, J., Pettersson, J. 2002. Density-dependent growth in brown trout: effects of introducing wild and hatchery fish. *Journal of Animal Ecology* 71(4), 683-692.

Brown, G.E., Brown, J.A., Srivastava, R.K. 1992. The effect of stocking density on the behaviour of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Journal of Fish Biology* 41(6), 955-963.

Chen, R.G., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K., Lee, K.J. 2004. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture* 242(1-4), 553-569.

Dabrowski, K. 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC Press. 288 p.

Dabrowski, K., Blom, J.H. 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108(1), 129-135.

Datta, M., Kaviraj, A. 2003. Ascorbic acid supplementation of diet for reduction of deltamethrin induced stress in freshwater catfish *Clarias gariepinus*. *Chemosphere* 53(8), 883-888.

Eo, J., Lee, K.J. 2008. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Fish and Shellfish Immunology* 24(5), 611-616.

Falahatkar, B. 2015. Feeding and Feed Formulation in Aquatic Organisms. 1st Edition. Jihad-e-Agriculture Institute of Technical and Vocational Higher Education, Tehran. 334 p. (In Persian).

Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M. 2015. The role of dietary L-ascorbyl-2-polyphosphate on the growth and physiological functions of beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture Research* 46(12), 3056-3069.

Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M.R., Pourkazemi, M., Yasemi, M. 2006. Effects of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *Huso huso*. *Pajouhesh & Sazandegi* 19(3), 98-103 (In Persian).

Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E.M., Moraes, F.R., Martins, M.L. 2007. Hematology of *Piaractus mesopotamicus* fed diets supplemented with vitamins C and E, challenged by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 271(1-4), 39-46.

Gouillou-Coustans, M.F., Guillaume, J., Metailler, R., Dugornay, O., Messager, J.L. 1990. Effect of an AA deficiency on tyrosinemia and renal granulomatus disease in turbot (*Scophtalmus maximus*) interaction with a slight polyhypovitaminosis. *Comparative Biochemistry and Physiology* 97(2), 145-152.

Henrique, M.M.F., Gomes, E.F., Gouillou-Coustans, M.F., Oliva-Teles, B.A., Davies, S.J. 1998. Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture* 161(1-4), 415-426.

Ibiyo, L.M.O., Madu, C.T., Eze, S.S. 2006. Effects of vitamin C supplementation on the growth of *Heterobranchus longifilis* fingerlings. *Archives of Animal Nutrition* 60(4), 325-332.

Jiménez-Fernández, E., Ruyra, A., Roher, N., Zuasti, E., Infante, C., Fernández-Díaz, C. 2014. Nanoparticles as a novel delivery system for vitamin C administration in aquaculture. *Aquaculture* 432(4), 426-433.

Kibatchi, A.E. 1967. Ascorbic acid in steroidogenesis. *Nature* (215), 1385-1386.

Lin, M.F., Shiau, S.Y. 2005. Requirements of vitamin C (L-ascorbyl-2-sulphate and L-ascorbyl-2-polyphosphate) and its effects on non-specific immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture Nutrition* 11(3), 183-189.

Mehrabi, Y. 1998. A preliminary study on the anesthetic effect of clove flower (*Syzygium aromaticum*) powder in rainbow trout. *Veterinary Journal* 11(3,4), 160-162 (In Persian).

Melotti, P., Roncarati, A., Angellotti, L., Dees, A., Magi, G.E., Mazzini, C., Bianchi, C. Casciano, R. 2004. Effects of rearing density on rainbow trout welfare, determined by plasmatic and tissue parameters. *Italian Journal of Animal Science* 3(4), 393-400.

Misra, K., Das, B.K., Mukherjee, S.C., Pradhan, J. 2007. Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of Indian major carp *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture Nutrition* 13(1), 35-44.

Moreau, R., Dabrowski, K. 2001. Gulonolactone oxidase presence in fish: activity and significance. In: Dabrowski, K. (Ed.), Ascorbic Acid in Aquatic Organisms. Status and Perspectives. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, pp. 13-32.

National Research Council. 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press, Washington, DC. 392 p.

Ortuno, J., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2003. The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 14(2), 145-156.

Pankhurst, N.W. 2011. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. *General and Comparative Endocrinology* 170(2), 265-275.

Peng, S.M., Shi, Z.H., Fei, Y., Gao, Q.X., Sun, P., Wang, J.G. 2013. Effect of high-dose vitamin C supplementation on growth, tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation stress in juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*. *Journal of Applied Ichthyology* 29(6), 1337-1341.

Pickering, A.D. 1993. Growth and stress in fish production. *Aquaculture* 111(1-4), 51-63.

Rasmussen, R.S., Larsen, F.H, Jensen, S. 2007. Fin condition and growth among rainbow trout reared at different sizes, densities and feeding frequencies in high temperature re-circulated water. *Aquaculture International* 15(2), 97-107.

Saha, S., Kaviraj, A. 2009. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere* 74(9), 1254-1259.

Schereck, C.B. 2010. Stress and fish reproduction: the roles of allostasis and hormesis. *General and Comparative Endocrinology* 165(3), 549-556.

Sealey, W.M., Gatlin, D.M. 2002. Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* female × *M. saxatilis* male) but have limited effect on immune responses. *The Journal of Nutrition* 132(4), 748-755.

Wallat, G.K., Tiu, L.G., Rapp, J.D., Moore, R. 2004. Effect of stocking density on growth, yield and costs of producing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in cages. *Journal of Applied Aquaculture* 15(3-4), 73-82.

Wang, C.C., Huang, C.H. 2015. Effects of dietary vitamin C on growth, lipid oxidation, and carapace strength of soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Aquaculture* 445, 1-4.

Wang, X., Kim, K.W., Bai, S.C., Huh, M.D., Cho, B.Y. 2003b. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture* 215(1-4), 203-211.

Wang, X., Kim, K.W., Park, G.J., Choi, S.M., Jun, H.K., Bai, S.C. 2003a. Evaluation of l-ascorbyl-2-glucose as the source of vitamin C for juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research* 34(14), 1337-1341.

Zhou, Q., Wang, L., Wang, H., Xie, F., Wang, T. 2012. Effect of dietary vitamin C on the growth performance and innate immunity of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Fish and Shellfish Immunology* 32(6), 969-975.