نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۶۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲
۳۳۱

تاریخ دریافت: ۰*3*.4,,
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۱۹

تأثیر ویتامین C در میزان بقا و شاخص‌های رشد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

❖ **نرگس عرب***: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیلات، صندوق پستی ۱۴۵۱۵/۷۷۵، تهران، ایران
❖ **هومن رجبی اسلامی:** دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیلات، صندوق پستی ۱۴۵۱۵/۷۷۵، تهران، ایران
❖ **مهدی شمسایی مهرجان:** دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه شیلات، صندوق پستی ۱۴۵۱۵/۷۷۵، تهران، ایران

چکیده

آزمایشی برای ارزیابی میزان مناسب ویتامین C در رشد، بقا و شاخص کبدی در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) طراحی شد. پنج جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک شامل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا برای تیمارهای مختلف آزمایشی تهیه شد. تعداد ۶۰۰ بچه‌ماهی با وزن ابتدایی ۰/۶±۹/۶ گرم به ۵ تیمار با ۳ تکرار تقسیم شدند و ۴۰ عدد بچه‌ماهی به صورت تصادفی در هر فضای آزمایشی قرار گرفتند. بچه‌ماهیان ۹ هفته از طریق جیره‌های غذایی تغذیه شدند. شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و شاخص کبدی با نمونه‌برداری از بچه‌ماهیان هر ۳ هفته یک بار تعیین و بین تیمارهای آزمایشی مقایسه شدند. نتایج نشان داد که میزان بقای بچه‌ماهیان در همهٔ تیمارهای آزمایشی برابر ۱۰۰ درصد بوده است و هیچ اختلال ظاهری نظیر تغییر شکل سرپوش آبششی، شنای غیرعادی همراه انحنای افقی و عمودی ستون فقرات در بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر طی ۹ هفته دورهٔ پرورش مشاهده نشد. همچنین، تفاوت معنی‌داری در میزان وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و شاخص کبدی بین تیمارهای آزمایشی مشاهده شد ($P<0.05$). طبق نتایج این تحقیق مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد در مقایسه با سایر تیمارها می‌شود ($P<0.05$)؛ در حالی که، هیچ تفاوت معنی‌داری در میزان رشد بچه‌ماهیان بین تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا دیده نشد. بنابراین، نتایج این پژوهش نشان داد که میزان بهینهٔ اسید آسکوربیک برای رشد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر برابر ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک به ازای هر کیلوگرم غذای مصرفی است. همچنین، مقدار بهینهٔ ویتامین C برای افزایش وزن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر بر اساس آزمون پاسخ به سطح برابر با ۲۴۸/۵۲ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذاست.

واژگان کلیدی: بقا، رشد، شاخص کبدی، ماهی آزاد دریای خزر، ویتامین C.

* نویسندهٔ مسئول
Email: n.arab@srbiau.ac.ir

۱. مقدمه

ویتامین C (اسید آسکوربیک) یکی از ویتامین‌های ضروری است که نقش مهمی در حفظ فرایندهای فیزیولوژیکی جانوران مختلف از جمله ماهیان ایفا می‌کند (Nelson and Cox, 2005; Tolbert, 1979). بیشتر ماهیان استخوانی به علت فقدان آنزیم ال-گلونولاکتون اکسیداز (L-gulonolactone oxidase) قادر به ساخت اسید آسکوربیک نیستند و به منابع خارجی این ویتامین نیاز دارند (Wilson, 1973; Fracalossi *et al.*, 2001). مقادیر پایین اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی به نتایجی از جمله تغییر شکل در ستون مهره‌ها، اختلال در تشکیل کلاژن، خون‌ریزی داخلی، تأخیر در رشد، گوشه‌گیری و بی‌تمایلی به جذب غذا در ماهیان منجر می‌شود (Al-Goullou-Coustans *et al.*, Amoudi *et al.*, 1992; Oikawa *et al.*, 2008; 1998).

تأمین مقدار مناسب اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی ماهیان، به خصوص در مراحل ابتدایی زندگی، در مقاومت در برابر بیماری‌ها، بقا و سلامتی ماهیان نقش بسزایی خواهد داشت (Ortuno *et al.*, 2001; Lin and Shiau, 2005). نیاز به اسید آسکوربیک و تأثیرات آن در سلامتی در گونه‌های مختلف آبزیان متغیر است، به طوری که مقادیر متنوعی در مطالعات مختلف برای آن پیشنهاد شده است (Lim *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2007; Azad *et al.*, 2007). این اختلافات را می‌توان به عواملی نظیر فیزیولوژی ماهیان، گونهٔ ماهی، اندازه، ترکیب جیرهٔ غذایی، مرحلهٔ رسیدگی، تراکم و سیستم پرورشی ارتباط داد (Ai *et al.*, 2004; Ortuno *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 1995). بنابراین، تعیین نیازهای غذایی در موارد مرتبط با رشد و ایمنی از اهمیت ویژه‌ای در حفظ بقا و افزایش جمعیت آبزیان برخوردار است.

ماهی آزاد دریای خزر با نام علمی *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877) از گونه‌های متعلق به آزادماهیان است که در نواحی جنوبی دریای خزر پراکنش دارد و برای تخم‌ریزی به آب شیرین رودخانه‌ها مهاجرت می‌کند (Berg, 1949; Nikolskii, 1961). آلودگی‌های مختلف، تخریب زیستگاه‌های طبیعی، انسداد مسیرهای مهاجرت و از همه مهم‌تر صید بی‌رویه طی سال‌های اخیر بقای نسل این ماهی باارزش شیلاتی را در معرض خطر قرار داده است. مطالعات متعددی برای حفظ و بازسازی ذخایر ماهی آزاد دریای خزر انجام گرفته است (Saber *et al.*, 2005; Sayyad Burani *et al.*, 2006; Zamani *et al.*, 2007; Rahbar *et al.*, 2009).

به‌رغم مطالعات مختلف در زمینهٔ تغذیهٔ ماهی آزاد دریای خزر (Ramezani, Saber *et al.*, 2005; Sotoudeh *et al.*, 2011; 2009)، تحقیق مدونی در خصوص نیازهای ویتامینی این ماهی، از مهم‌ترین عوامل کمکی رشد، انجام نگرفته است. بر این اساس و با توجه به اهمیت ویتامین C در رسیدن به وزن مناسب، تحقیق حاضر به بررسی تأثیر مقادیر مختلف اسید آسکوربیک جیرهٔ غذایی در میزان بقا، رشد و شاخص کبدی در بچه‌ماهی آزاد دریای خزر می‌پردازد.

۲. مواد و روش‌ها

۲(۱. آماده‌سازی جیرهٔ غذایی

۵ جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک در این تحقیق برای تیمارهای مختلف آزمایشی تهیه شد (جدول ۱). غذای پایه به‌منزلهٔ شاهد طبق جیرهٔ پیشنهادی (Saber *et al.*, 2005) برای رشد بهینهٔ

ماهی آزاد دریای خزر با اعمال برخی تغییرات تهیه شد (جدول ۱). جیره‌های مختلف آزمایشی نیز با افزودن اسید آسکوربیک با فرمول شیمیایی L-Ascorbyl-2-Polyphosphate (SAMP, China) با مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به هر کیلوگرم غذای پایه، به جای ماسهٔ بادی (به‌منزلهٔ پرکننده)، تهیه شد. بنابراین، تفاوتی بین جیره‌های غذایی به استثنای میزان اسید آسکوربیک وجود نداشت. مقدار رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر هر یک از جیره‌های غذایی طبق روش AOAC (AOAC, 1990) تعیین شد.

جدول ۱. ترکیب جیرهٔ غذایی آزمایشی بر حسب درصد برای ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) اقتباس از (Saber *et al.*, 2005) با برخی تغییرات

	شاهد	تیمار ۵۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک	تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک	تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک	تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک
پودر ماهی	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴	۶۶/۵۴
کنجالهٔ سویا	۸	۸	۸	۸	۸
آرد گندم	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴	۳/۸۴
روغن ماهی	۷	۷	۷	۷	۷
آب پنیر خشک‌شده	۳	۳	۳	۳	۳
پودر گاماروس	۲	۲	۲	۲	۲
[a]مکمل ویتامین و مواد معدنی (به استثنای ویتامین C)	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵	۵/۵
مقدار ویتامین C (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)	۰	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰
ماسهٔ بادی (پرکننده)	۴/۱ [b]	~۴/۱	~۴/۱	~۴/۱	~۴/۱
رطوبت (درصد وزن تر)	۵/۲۳±۰/۳۵	۵/۵۷±۰/۳۲	۵/۵۶±۰/۲۸	۵/۶۲±۰/۳۰	۵/۶۴±۰/۳۲
پروتئین (درصد وزن خشک)	۴۹/۶±۰/۲۵	۴۹/۷±۰/۲۴	۴۹/۶±۰/۳۱	۴۹/۵±۰/۲۳	۴۹/۶±۰/۴۹
چربی (درصد وزن خشک)	۱۵/۰۱±۰/۵۷	۱۴/۸۰±۰/۴۸	۱۵/۲۰±۰/۳۵	۱۴/۸۸±۰/۴۳	۱۴/۹۳±۰/۳۹
خاکستر (درصد وزن خشک)	۱۷/۴۰±۰/۱۳	۱۷/۳۳±۰/۰۹	۱۷/۵۶±۰/۱۴	۱۷/۴۳±۰/۱۸	۱۷/۷۸±۰/۱۷
[c]مقدار ویتامین C سنجشی (میلی‌گرم در کیلوگرم غذا)	۹/۸±۲/۶	۴۳/۸±۳/۱	۸۹/۴±۳/۷	۱۸۸/۵±۱۹/۴	۳۸۴/۲±۲۶/۵

[a] مکمل ویتامین (میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا به استثنای اسید آسکوربیک): تیامین ۲۵؛ ریبوفلاوین ۴۵؛ پیرودوکسین ۲۰؛ پانتونوئیک اسید ۶۰؛ نیاسین ۲۰۰؛ ویتامین B_{12} ۰/۱؛ ویتامین K_3 ۱۰؛ اینوسیتول ۸۰۰؛ اسید فولیک ۲۰؛ بیوتین ۱/۲۰؛ کولکلسیفرول ۵؛ رتینول استات ۳۲؛ آلفا توکوفرول ۱۲۰؛ اتوکسی کوئین ۱۵۰.

مکمل معدنی (میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا): سولفات آهن ۸۰؛ سولفات منگنز ۶۰؛ سولفات مس ۱۰؛ کلسیم دی هیدروژن فسفات ۳۰۰؛ کولین کلراید ۲۵۰۰؛ فلوئورید سدیم ۲؛ یدید پتاسیم ۰/۸؛ سولفات روی ۵۰؛ کلرید کبالت (۱٪) ۵۰؛ سولفات منیزیم ۱۲۰۰.

[b] جیره‌های غذایی در سایر تیمارها با اضافه‌کردن ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک به ازای هر کیلوگرم غذای پایه به جای ماسهٔ بادی تهیه شد.

[c] تیمارهای آزمایشی برای سهولت کار بر اساس مقدار اسید آسکوربیک اضافه‌شده به هر جیرهٔ غذایی (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی) نام‌گذاری شدند.

مواد اولیهٔ هر یک از جیره‌های غذایی پس از توزین با همزن الکتریکی به خوبی مخلوط شد. سپس، خمیر حاصله با کمک دستگاه پلت‌ساز به پلت‌های ۲ میلی‌متری تبدیل شد. غذای آماده‌شده تا شروع آزمایش در فریزر با دمای ۱۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. ساخت غذا هر ۳ هفته یک بار انجام می‌گرفت و اندازهٔ غذا با توجه به زیست‌سنجی بچه‌ماهیان و متناسب با اندازهٔ دهان آن‌ها بود.

۲(۲. طراحی آزمایش و شیوهٔ غذادهی

تعداد ۶۰۰ بچه‌ماهی آزاد دریای خزر به صورت تصادفی از مرکز تحقیقات ماهیان سردآبی کشور، تنکابن، استان مازندران تهیه و به محل آزمایش در مزرعهٔ قزل کوثر واقع در جادهٔ دو هزار تنکابن منتقل شدند. بچه‌ماهیان پس از سازگاری اولیه به شرایط محیطی استخرها برای مدت ۲ هفته به غذای دستی، ساخت کارخانهٔ بهپرور تهران استفاده‌شده در مزرعه، عادت داده شدند. میانگین وزن بچه‌ماهیان در شروع آزمایش ۹/۶±۰/۶ گرم بود. آب مصرفی طی پرورش از یک چشمه با دبی ۶ لیتر بر ثانیه تأمین شد.

آزمایش در ۵ استخر کانالی (raceway) به ابعاد ۵×۱×۰/۸ متر هر یک با دبی ورودی ۱ لیتر بر ثانیه انجام گرفت. استخرها به وسیلهٔ توری‌های پارچه‌ای با چشمهٔ ریز به ۳ قسمت مساوی تقسیم و ۴۰ عدد بچه‌ماهی به صورت تصادفی در هر یک از ۱۵ فضای آزمایشی توزیع شدند. آزمایش به مدت ۹ هفته در تیمارهای آزمایشی هر یک با ۳ تکرار انجام شد. بلوک‌ها به شکل تصادفی به ۵ تیمار شامل مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا همراه با تیمار شاهد تقسیم شدند. غذادهی در حد سیری و روزانه ۳ نوبت در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ در هر یک از تیمارها انجام و مقدار غذای مصرفی برای هر استخر یادداشت شد. خاطرنشان می‌شود که مصرف غذای بچه‌ماهیان بسیار سریع بود و غذایی در آب باقی نمی‌ماند.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب شامل دما، اکسیژن محلول، مقدار pH و هدایت الکتریکی هر ۳ هفته یک بار تعیین شدند. بیشینه و کمینه دمای آب چشمه طی دورهٔ آزمایش به ترتیب برابر ۱۰/۲ و ۹/۶ درجهٔ سانتی‌گراد به دست آمد و تغییرات اندکی (۰/۶ درجهٔ سانتی‌گراد) را نشان داد. میانگین اکسیژن محلول نیز طی دورهٔ آزمایش برابر ۱۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بود. تغییرات pH بسیار اندک بود و میانگین آن طی دورهٔ آزمایش در محدودهٔ خنثی قرار داشت. هدایت الکتریکی با میانگین ۲۴۹/۷ میکروموس بر سانتی‌متر دارای نوسانی بین ۲۴۸/۳ – ۲۵۲/۸ میکروموس بر سانتی‌متر بود. به طور کلی، آب چشمهٔ استفاده‌شده طی ۹ هفته آزمایش دارای تغییرات اندکی بود و شرایط مناسبی برای رشد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر داشت.

۲(۳. آنالیز اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی

مقدار اسید آسکوربیک با توجه به احتمال حضور اسید آسکوربیک در اجزای جیرهٔ غذایی با خردکردن ۱–۳ گرم از غذاهای آماده‌شده برای تیمارهای آزمایشی طبق روش (Shiau and Hsu, 1999) با برخی تغییرات در ۳ تکرار مشخص شد. به طور خلاصه، نمونه‌های خردشده با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم، ۳۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۵ درصد و میزان ۱۲ قسمت در میلیون دی‌تی‌تریتول (Dithithreitol) به مدت ۲۵ دقیقه مخلوط و برای ۲۵ دقیقه ثابت باقی ماندند. ۳۰ میلی‌لیتر از محلول فوقانی در ادامه جدا و

به مدت ۳۰ دقیقه با ۲۷۳۹×g سانتریفیوژ شدند. مایع فوقانی از طریق فیلتر سرنگی با چشمه ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده شد و مقدار اسید آسکوربیک در ۲۰ میکرولیتر از نمونه به وسیلهٔ دستگاه HPLC مجهز به ستون C_{18} مشخص شد. اسید فسفریک ۰/۰۵ مولار (با سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه) به‌منزلهٔ فاز متحرک دستگاه تعیین و pH برابر با ۳ تنظیم شد. میزان سیال خروجی نیز با کمک آشکارساز UV طی موج ۲۵۴ نانومتر ارزیابی شد.

۴.۲. نمونه‌برداری و جمع‌آوری اطلاعات

شاخص‌های رشد شامل وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی، ضریب چاقی و شاخص کبدی با نمونه‌برداری از بچه‌ماهیان هر ۳ هفته یک بار تعیین و بین تیمارهای آزمایشی مقایسه شدند. غذادهی به بچه‌ماهیان یک روز قبل از زیست‌سنجی قطع شد. ۵ نمونه ماهی از هر ۱۵ فضای آزمایشی به این منظور خارج و میزان وزن و طول پس از بی‌هوشی با ۲۵۰ قسمت در میلیون اسانس گل میخک (Soltani *et al.*, 2001) به ترتیب از طریق کولیس دیجیتال (با دقت ۰/۱ میلی‌متر) و ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، کبد هر ماهی پس از کالبدشکافی با ترازوی دیجیتالی وزن شد.

شاخص‌های رشد و کارایی تغذیه شامل افزایش وزن (WG)، ضریب رشد ویژه (SGR)، ضریب چاقی (CF)، نرخ کارایی پروتئین (PER) و ضریب تبدیل غذایی (FCR) همراه با شاخص کبدی (HSI) در فواصل ۳ هفته‌ای طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند. طول در همهٔ فرمول‌ها بر اساس سانتی‌متر و وزن بر اساس گرم محاسبه شد.

افزایش وزن (WG) = میانگین وزن در انتهای دوره − میانگین وزن در ابتدای دوره — Sotoudeh *et al.*, 2010

$$\text{ضریب رشد ویژه (SGR)} = \frac{\text{لگاریتم میانگین وزن اولیه}-\text{لگاریتم میانگین وزن نهایی}}{\text{دوره پرورش به روز}}\times ۱۰۰$$ — Kumari and Sahoo, 2005

$$\text{ضریب چاقی (CF)} = \frac{\text{وزن}}{(\text{طول کل})^3}\times ۱۰۰$$ — Hung and Lutes, 1987

$$\text{ضریب تبدیل غذایی (FCR)} = \frac{\text{افزایش وزن بدن}}{\text{مقدار غذای خورده شده}}$$ — Sotoudeh *et al.*, 2010

$$\text{شاخص کبدی (HSI)} = \frac{\text{وزن کبد}}{\text{وزن بدن}}\times ۱۰۰$$ — Moon *et al.*, 1989

$$\text{نرخ کارایی پروتئین (PER)} = \frac{\text{افزایش وزن بدن}}{\text{میزان پروتئین جیره غذایی}}\times ۱۰۰$$ — Sotoudeh *et al.*, 2010

۵.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات به‌دست‌آمده در نرم‌افزار Excel مرتب و از طریق نرم‌افزار SPSS-16 تجزیه و تحلیل شد. داده‌ها پس از تأیید نرمال‌بودن از طریق آزمون کلوموگروف–اسمیرنوف، و اختلاف بین میانگین‌ها از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) تعیین و از آزمون Tukeys HSD برای تعیین محل اختلافات استفاده شد. سطح اطمینان کمتر از ۵ درصد نیز به‌منزلهٔ سطح اختلاف معنی‌داری مشخص شد. نمودار آزمون پاسخ به سطح (Robbins *et al.*, 1979) برای تعیین میزان نیاز واقعی بچه‌ماهی آزاد دریای خزر به اسید آسکوربیک به کار رفت.

۳. نتایج

۱.۳. میزان بقا و رشد

میزان بقای ماهیان در تمامی تیمارهای آزمایشی همراه با تیمار شاهد برابر ۱۰۰ درصد به دست آمد. به علاوه اختلال ظاهری نظیر تغییر شکل سرپوش آبششی، شنای غیرعادی یا انحنای افقی و عمودی ستون فقرات در بچه‌ماهی آزاد دریای خزر طی ۹ هفته دورهٔ پرورش مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان داد که در نهمین هفتهٔ آزمایش، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا باعث افزایش معنی‌دار رشد در مقایسه با تیمارهای شاهد و ۵۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا شده است (P<0/05)؛ در حالی که، تفاوت معنی‌داری در میزان رشد ماهیان بین تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا در هفتهٔ نهم مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲. تغییرات وزن (خطای استاندارد±میانگین) ماهی آزاد دریای خزر طی ۹ هفته آزمایش با جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۱۲/۴۵±۰/۵۹b	۱۶/۳۹±۰/۹۰b	۲۲/۶۴±۰/۷۵b
۵۰ میلی‌گرم	۱۳/۹۷±۰/۴۱ab	۱۸/۱۱±۱/۹۴ab	۲۵/۴۹±۲/۴۲b
۱۰۰ میلی‌گرم	۱۴/۲۰±۱/۰۶ab	۱۹/۰۸±۱/۷۹ab	۲۶/۲۱±۲/۰۴ab
۲۰۰ میلی‌گرم	۱۵/۷۳±۰/۹۲a	۲۰/۲۱±۲/۴۶a	۲۹/۷۴±۳/۵۲a
۴۰۰ میلی‌گرم	۱۴/۴۲±۱/۴۰a	۱۸/۷۶±۰/۹۵a	۲۷/۶۷±۱/۵۳a

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

بچه‌ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ شاهد دارای پایین‌ترین میزان تغییرات در افزایش وزن در همهٔ مقاطع زمانی بودند، در صورتی که تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا دارای بیشترین میزان افزایش وزن در هفته‌های سوم و ششم پس از شروع آزمایش بود (جدول ۳). بیشترین میزان افزایش وزن پس از ۹ هفته از شروع آزمایش در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا (۸/۹۰±۰/۸۱) به دست آمد، اگرچه میزان آن با تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>0/05).

جدول ۳. افزایش وزن (خطای استاندارد±میانگین) ماهی آزاد دریای خزر بر حسب گرم طی ۹ هفته آزمایش با جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۲/۸۱±۰/۳۵c	۳/۹۴±۰/۸۱b	۶/۲۵±۰/۱۰c
۵۰ میلی‌گرم	۴/۳۳±۰/۳۴b	۴/۱۴±۱/۱۲b	۷/۳۸±۳/۱۳b
۱۰۰ میلی‌گرم	۴/۵۶±۰/۱۴b	۴/۸۸±۱/۳۵a	۷/۱۴±۱/۶۳b
۲۰۰ میلی‌گرم	۶/۰۹±۰/۲۳a	۵/۱۱±۲/۹۰a	۸/۲۵±۴/۰۹a
۴۰۰ میلی‌گرم	۴/۷۸±۰/۴۹b	۴/۳۳±۰/۶۴b	۸/۹۰±۰/۸۱a

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

ضریب رشد ویژه نیز دارای تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف بود ($P<0.05$)، به طوری که کمترین میزان آن در تمامی مقاطع نمونه‌برداری در تیمار شاهد مشاهده شد. میزان ضریب رشد ویژه در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا در هفته‌های سوم و نهم آزمایش بیشتر از سایر تیمارها به دست آمد. علاوه بر این، بیشترین میزان تغییرات ضریب رشد ویژه در هفتهٔ ششم آزمایش در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا مشاهده شد، اگرچه این مقدار تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا نداشت (جدول ۴).

جدول ۴. درصد تغییرات ضریب رشد ویژه (خطای استاندارد±میانگین) ماهی آزاد دریای خزر بر حسب گرم طی ۹ هفته آزمایش با جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۰/۵۲±۰/۰۳a	۰/۵۴±۰/۰۹a	۰/۶۰±۰/۷۵a
۵۰ میلی‌گرم	۰/۶۰±۰/۱۳ab	۰/۷۱±۰/۲۶b	۰/۷۶±۰/۰۵b
۱۰۰ میلی‌گرم	۰/۶۷±۰/۱۴b	۰/۶۸±۰/۱۴ab	۰/۸۰±۰/۱۴b
۲۰۰ میلی‌گرم	۰/۷۱±۰/۲۸b	۰/۷۲±۰/۳۸b	۱/۰۱±۰/۲۸c
۴۰۰ میلی‌گرم	۰/۶۴±۰/۰۷b	۰/۷۹±۰/۰۴b	۰/۸۳±۰/۰۶b

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

تفاوت معنی‌داری بین میزان تغییرات نرخ کارایی پروتئین در دوره‌های مختلف زمانی مشاهده شد ($P<0.05$). پایین‌ترین و بالاترین میزان نرخ کارایی پروتئین به ترتیب در تیمار شاهد و ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا پس از ۳ هفته آزمایش مشاهده شد (جدول ۵). همچنین، بیشترین میزان نرخ کارایی پروتئین در هر یک از مقاطع زمانی آزمایش در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد، هرچند که این میزان تفاوت معنی‌داری با تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا نداشت.

جدول ۵. درصد تغییرات نرخ کارایی پروتئین (خطای استاندارد±میانگین) بچه‌ماهی آزاد دریای خزر طی ۹ هفته آزمایش با استفاده از جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۱/۱۸±۰/۰۱c	۱/۱۰±۰/۱۰b	۱/۳۲±۰/۱۲b
۵۰ میلی‌گرم	۱/۸۲±۰/۰۵b	۱/۱۳±۰/۱۳b	۱/۴۸±۰/۲۶b
۱۰۰ میلی‌گرم	۱/۹۲±۰/۰۲b	۱/۱۵±۰/۱۴b	۱/۴۴±۰/۱۴b
۲۰۰ میلی‌گرم	۲/۳۱±۰/۰۳a	۱/۳۵±۰/۲۸a	۱/۹۷±۰/۳۸a
۴۰۰ میلی‌گرم	۲/۰۱±۰/۰۶a	۱/۳۱±۰/۰۷a	۱/۸۰±۰/۰۴a

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

بچه‌ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ غذایی شاهد در این تحقیق دارای بیشترین میزان ضریب تبدیل غذایی در همهٔ مقاطع زمانی آزمایش در مقایسه با جیره‌های دارای اسید آسکوربیک بودند (جدول ۶). بهترین میزان ضریب تبدیل غذایی پس از گذشت ۹ هفته از شروع آزمایش با مقادیر ۱/۱۱±۰/۰۹ و ۱/۱۸±۱/۴۴ به ترتیب در تیمارهای ۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا دیده شد.

جدول ۶. میزان ضریب تبدیل غذایی (خطای استاندارد±میانگین) بچه‌ماهی آزاد دریای خزر طی ۹ هفته آزمایش با استفاده از جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۱/۶۹±۰/۴۳a	۱/۸۳±۰/۶۲a	۱/۵۲±۰/۰۲a
۵۰ میلی‌گرم	۱/۱۰±۰/۰۹b	۱/۷۶±۰/۵۰a	۱/۳۵±۳/۱۴a
۱۰۰ میلی‌گرم	۱/۰۶±۰/۰۳b	۰/۹۳±۰/۳۸b	۱/۳۹±۰/۳۵a
۲۰۰ میلی‌گرم	۰/۷۸±۰/۰۳c	۱/۲۰±۱/۲۳b	۱/۱۸±۱/۴۴b
۴۰۰ میلی‌گرم	۱/۰۰±۰/۰۹b	۱/۱۶±۰/۲۷b	۱/۱۱±۰/۰۹b

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

بررسی میزان شاخص کبدی نشان داد که با افزایش مقدار اسید آسکوربیک و طول دوره، افزایش معنی‌داری در این شاخص بین گروه‌های مختلف آزمایش دیده می‌شود (جدول ۷). بیشترین میزان شاخص کبدی در همهٔ دورهٔ آزمایشی با ۱/۵۵±۰/۰۵ در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا دیده شد که البته فاقد اختلاف معنی‌دار با تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا بود.

جدول ۷. درصد تغییرات شاخص کبدی (خطای استاندارد±میانگین) بچه‌ماهی آزاد دریای خزر طی ۹ هفته آزمایش با استفاده از جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۱/۰۵±۰/۰۴c	۱/۲۳±۰/۰۵b	۱/۳۵±۰/۰۸c
۵۰ میلی‌گرم	۱/۰۹±۰/۰۷b	۱/۲۶±۰/۰۶b	۱/۴۰±۰/۱۲b
۱۰۰ میلی‌گرم	۱/۱۵±۰/۰۶b	۱/۲۸±۰/۰۵b	۱/۴۴±۰/۰۷b
۲۰۰ میلی‌گرم	۱/۲۲±۰/۱۲a	۱/۳۷±۰/۲۰a	۱/۵۵±۰/۰۵a
۴۰۰ میلی‌گرم	۱/۱۷±۰/۱۷ab	۱/۳۱±۰/۲۰a	۱/۴۶±۰/۰۳ab

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.

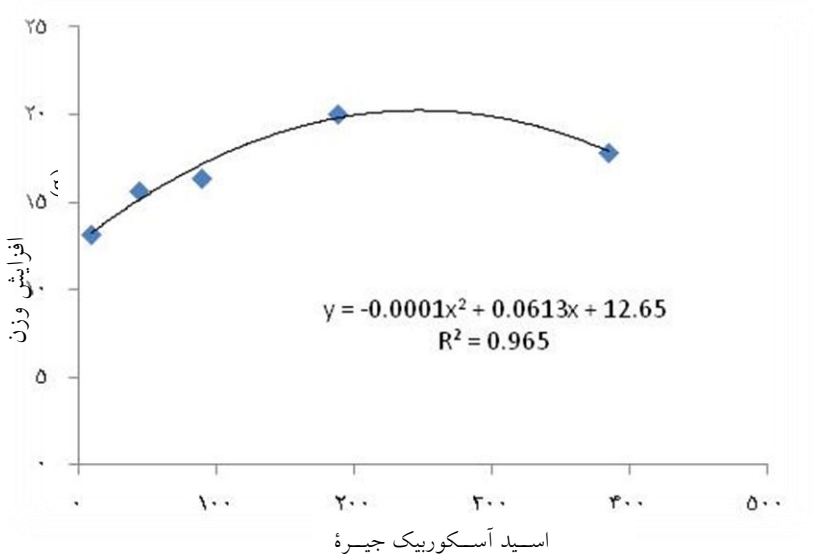
نتایج ضریب چاقی نیز بیانگر تفاوت معنی‌دار در میزان این متغیر میان تیمارهای آزمایشی در هفته‌های سوم و ششم بود (جدول ۸). بهترین میزان ضریب چاقی در هفته‌های سوم و ششم به ترتیب با مقادیر ۱/۱۳±۰/۵۰ و ۱/۱۲±۰/۰۳ در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا دیده شد که به شکل معنی‌داری بیش از تیمار شاهد بود ($P<0/05$). با وجود این، تفاوت معنی‌داری در میزان ضریب چاقی طی هفتهٔ نهم آزمایش دیده نشد.

آزمون پاسخ به سطح برای تعیین میزان نیاز واقعی بچه‌ماهی آزاد دریای خزر به اسید آسکوربیک فقط برای هفتهٔ نهم آزمایش استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان افزایش وزن در مقایسه با مقدار اسید آسکوربیک از معادلهٔ $y=-0.0001x^2+0.0613x+12.65$ با شیب $R^2=0.965$ تبعیت می‌کند (شکل ۱). حداکثر مقدار اسید آسکوربیک مورد نیاز برای افزایش وزن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر بر این اساس ۲۴۸/۵۲ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم جیرهٔ غذایی به دست آمد.

جدول ۸. تغییرات ضریب چاقی (خطای استاندارد±میانگین) بچه‌ماهی آزاد دریای خزر بر حسب گرم بر سانتی‌متر طی ۹ هفته آزمایش با استفاده از جیرهٔ غذایی حاوی مقادیر مختلف اسید آسکوربیک

	هفتهٔ سوم	هفتهٔ ششم	هفتهٔ نهم
شاهد	۱/۰۳±۰/۰۱b	۱/۰۲±۰/۰۳b	۱/۰۱±۰/۰۴
۵۰ میلی‌گرم	۱/۰۷±۰/۰۴b	۱/۰۷±۰/۰۱b	۱/۰۲±۰/۰۲
۱۰۰ میلی‌گرم	۱/۰۷±۰/۰۳b	۱/۰۳±۰/۰۴b	۱/۰۲±۰/۰۵
۲۰۰ میلی‌گرم	۱/۱۳±۰/۵۰a	۱/۱۲±۰/۰۳a	۱/۰۳±۰/۰۴
۴۰۰ میلی‌گرم	۱/۰۸±۰/۰۲b	۱/۰۶±۰/۰۱b	۱/۰۲±۰/۰۳

*حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در زمان معین است.



شکل ۱. مقدار اسید آسکوربیک مورد نیاز برای افزایش وزن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر در هفتهٔ نهم آزمایش

۴. بحث و نتیجه‌گیری

وزن رهاسازی یکی از مهم‌ترین عوامل در میزان بازگشت شیلاتی آزادماهیان به حساب می‌آید؛ به طوری که، وزن بالاتر موجب افزایش نرخ مهاجرت به رودخانه‌ها می‌شود (Thrope, Baranikova, 1979; Isaksson, 1988; 1980). طبق یک اصل پذیرفته‌شده ماهیان با سرعت رشد بالاتر، از قدرت بقای بیشتری برخوردار خواهند بود، زیرا با سرعت بیشتری از شکار به شکارچی تبدیل می‌شوند (Bergenius, 2002). تحقیق حاضر نشان داد که ویتامین C به‌منزلهٔ یکی از اجزای ضروری جیرهٔ غذایی موجب افزایش رشد بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر می‌شود. وزن بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر در تیمار شاهد پس از ۳ هفته از شروع آزمایش به شکل معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. این روند همچنان در میان تیمارهای آزمایشی با گذشت زمان به سمت انتهای آزمایش حاکم بود و فقط شاهد افزایش میزان اختلاف وزن بین تیمارهای حاوی اسید آسکوربیک (به ویژه تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا) در مقایسه با تیمار شاهد

بودیم. با توجه به نرخ نمایی رشد در بچه‌ماهیان طی دوره‌های ابتدایی رشد و اهمیت وزن رهاسازی در بازسازی ذخایر ماهیانی نظیر آزاد دریای خزر می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که استفاده از تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی می‌تواند به افزایش وزن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر و در نتیجه احتمال بازگشت شیلاتی آنها منجر شود.

مطالعهٔ کارایی پروتئین یکی از شاخص‌های مناسب برای تشخیص اهمیت اسید آسکوربیک در سوخت‌وساز پروتئین‌هاست (Soliman *et al.*, 1994) که می‌تواند به‌منزلهٔ کوآنزیم ضروری در اکسیداسیون اسید آمینه‌های تایروزین و فنیل آلانین دخالت کند (Faramarzi, 2012; Brander and Pugh, 1977). بنابراین اختلاف معنی‌دار در نرخ کارایی پروتئین ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ فاقد اسید آسکوربیک و جیره‌های مقادیر بالای اسید آسکوربیک (تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا) را می‌توان در ارتباط با چنین فرایندهای بیوشیمیایی در بدن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر دانست. همچنین، اسید آسکوربیک قادر است با تأثیر در سنتز کلاژن در حکم پروتئین ساختمانی علاوه بر افزایش وزن موجب افزایش محتوای پروتئینی در بچه‌ماهی آزاد دریای خزر شود (Terova Smedsrød *et al.*, 1993; *et al.*, 1998).

مطالعات بسیاری مبنی بر تغییر مقدار اسید آسکوربیک مورد نیاز برای رشد ماهیان طی دورهٔ پرورش و ارتباط بین فرایندهای تنظیم‌کنندهٔ گردش اسید آسکوربیک و مراحل تکاملی آبزیان انجام شده است (Sandens, 1991; Hilton *et al.*, 1978; Merchie *et al.*, Matusiewcz *et al.*, 1994; 1996;). تحقیق حاضر نیز در تأیید یافته‌های فوق نشان داد که میزان افزایش وزن در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک به شکل معنی‌داری بیشتر از تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بود. این در حالی است که تفاوت معنی‌داری در میزان افزایش وزن بین تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا با ادامهٔ روند آزمایش به سمت هفتهٔ نهم مشاهده نشده است و حتی افزایش وزن در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم کمی بیشتر از تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بود. بنابراین، تعیین میزان مناسب اسید آسکوربیک برای ماهی آزاد دریای خزر نیازمند مطالعه در بازه‌های زمانی طولانی‌تر و تعیین سطح نیاز متناسب با فعالیت فیزیولوژیکی و شرایط رشد ماهی آزاد دریای خزر است.

تغذیهٔ مداوم با اسید آسکوربیک می‌تواند مانع از بروز علائم کمبود اسید آسکوربیک در بچه‌ماهیان شود (Lin and Shiau, Thompson *et al.*, 1993; Tewary and Patra, 2008; 2005;)، به طوری که، حذف یا حتی کاهش اسید آسکوربیک در ذخایر بافتی می‌تواند به بروز عوارض متعددی نظیر تغییر شکل سرپوش آبششی، انحنای ستون مهره‌ها، خون‌ریزی داخلی و بی‌تمایلی به جذب غذا و حتی مرگ بسیاری از ماهیان منجر شود (Matusiewicz *et* Ibiyo *et al.*, Xie and Niu, 2006; *al.*, 1995 2007;). بروزندادن عوارض ظاهری ناشی از کمبود اسید آسکوربیک در این تحقیق نظیر یافته‌های پیشین (Soltani *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2007) می‌تواند با ذخایر قبلی ویتامین C در جیرهٔ غذایی بچه‌ماهیان پیش از آغاز این مطالعه ارتباط داشته باشد. ادامهٔ روند آزمایش در مقاطع زمانی طولانی‌تر با توجه به کاهش رشد بچه‌ماهیان در تیمار شاهد می‌تواند به بروز علائم کمبود اسید آسکوربیک در بچه‌ماهیان نیز منجر شود (Ai *et al.*, 2006).

الگوی مشابهی در تغییرات شاخص کبدی بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر طی دوره‌های مختلف آزمایش مشاهده شد، به طوری که افزایش مقدار اسید آسکوربیک طی دورهٔ آزمایشی به افزایش میزان شاخص کبدی در تیمارهای آزمایشی منجر شد. پایین‌ترین میزان شاخص کبدی در تمامی مقاطع زمانی با کمترین تغییرات در تیمار شاهد دیده شد. بیشترین میزان شاخص کبدی نیز در همهٔ مقاطع زمانی در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا به دست آمد. میزان بالاتر شاخص کبدی در تیمار حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا بیانگر مقادیر بالاتر ذخایر گلیکوژنی در نتیجهٔ وضعیت مناسب‌تر بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر برای حفظ انرژی، مقابله با شرایط استرس‌زا و دفاع غیراختصاصی در مقابل عوامل بیماری‌زاست (Sampaio and Criscuolo, Moon *et al.*, 1989; 2006). از سوی دیگر، نبود اختلاف معنی‌دار در شاخص کبدی بین تیمارهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم غذا نیز می‌تواند با اشباع‌شدن کبد از ذخایر گلیکوژنی در ارتباط باشد.

این پژوهش با تأیید مطالعات پیشین (Ibiyo *et* Adewolu and Soltani *et al.*, 2008; *al.*, 2007; Aro., 2009) نشان می‌دهد که اسید آسکوربیک می‌تواند در میزان ضریب تبدیل غذایی تأثیرگذار باشد. بهترین ضریب تبدیل غذایی بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی به دست آمد که البته تفاوت معنی‌داری با میزان ۴۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک نشان نمی‌داد. بنابراین، میزان ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذا را می‌توان مقدار بهینهٔ این ویتامین برای رشد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر در نظر گرفت، زیرا علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا به سبب مصرف غذای کمتر و رشد بالاتر، از آلودگی‌های ثانویهٔ آب محیط پرورشی جلوگیری می‌کند.

نتایج این پروژهٔ تحقیقاتی نشان می‌دهد که مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی از تأثیر معنی‌داری در نرخ رشد ویژهٔ بچه‌ماهی آزاد دریای خزر برخوردار است. در مقابل تحقیقات روی سایر ماهیان آزاد بیانگر آن است که مقادیر مشابه یا بالاتر اسید آسکوربیک تأثیری در نرخ رشد ویژه ندارد (Thompson *et* Dabrowski, 1991; *al.*, 1993). این تفاوت در نتایج می‌تواند به وزن اولیهٔ ماهیان آزمایشی، دما، تراکم و شرایط پرورشی بستگی داشته باشد (Ai *et al.*, Dabrowski, 2001; Handeland *et al.*, 2008; 2006). ماهیان استفاده‌شده در این تحقیق دارای میانگین وزن ابتدایی برابر ۹/۶±۰/۶ گرم بودند که مقدار آن پایین‌تر از وزن اولیهٔ ماهیان در مقایسه با تحقیقات مشابه بود. وزن اولیه یکی از عوامل تأثیرگذار در میزان نرخ رشد ویژه محسوب می‌شود، به طوری که ماهیانی با وزن پایین‌تر دارای نرخ رشد ویژهٔ بالاتری خواهند بود (Medawar, 1945; Minot, 1908). بنابراین، نرخ رشد ویژهٔ بالاتر بچه‌ماهیان دریای خزر در این تحقیق را می‌توان به وزن پایین‌تر و قابلیت بیشتر آنها برای استفادهٔ بهتر از فاکتورهای کمکی نظیر اسید آسکوربیک در سوخت‌وساز طبیعی بدن و افزایش وزن نسبت داد.

ضریب چاقی یکی از فاکتورهایی است که برای تعیین اختلاف در شرایط پرورشی و به ویژه محیط نگهداری آبزیان استفاده می‌شود. بنابراین، اختلاف معنی‌دار در میزان ضریب چاقی طی هفته‌های سوم و ششم آزمایش و نبود اختلاف

معنی‌دار در این میزان در هفتهٔ نهم آزمایش را می‌توان به ناسازگاری ماهیان با محیط پرورشی نسبت داد. هر چند ضریب چاقی تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های تغذیه‌شده با اسید آسکوربیک در هفتهٔ نهم آزمایش نشان نداد، اما ضریب چاقی بالاتر از ۱ در بچه‌ماهیان در تیمارهای این پژوهش نشان می‌دهد که افزایش مقدار اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی باعث بهبود شرایط رشد بچه‌ماهی آزاد دریای خزر شده که نتایج این پژوهش مشابه مطالعات قبلی است (Ibiyo *et al.*, 2007; Adewolu and Aro, 2008; Soltani *et al.*, 2009).

تغییر سطح نیاز موجودات زنده به ویتامین‌ها طی دورهٔ زندگی مانع از ارائهٔ میزان استاندارد برای مصرف ویتامین C در جیره‌های غذایی می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار بهینهٔ اسید آسکوربیک برای افزایش وزن بچه‌ماهی آزاد دریای خزر بر اساس آزمون پاسخ به سطح برابر با ۲۴۸/۵۲ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم غذاست. با وجود این، تعیین مقدار مناسب اسید آسکوربیک به عوامل دیگری نظیر سن، وزن، ترکیب جیرهٔ غذایی، شرایط فیزیکی محیط پرورش و مرحلهٔ رسیدگی جنسی ماهیان نیز بستگی دارد (Ibiyo *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2002; Ai *et al.*, 2006; Dabrowski, 1986). تحقیقات تکمیلی در این زمینه و به ویژه در خصوص تأثیر اسید آسکوربیک در فاکتورهای دفاع غیراختصاصی در دوره‌های زمانی طولانی‌تر می‌تواند به ارائهٔ مبنای دقیق‌تر در خصوص میزان نیاز ماهی آزاد دریای خزر به اسید آسکوربیک در جیرهٔ غذایی کمک کند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان از زحمات همهٔ کارکنان و متخصصان مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات به ویژه مهندس رضا عصاره طی پژوهش حاضر تشکر می‌کنند. همچنین، از مساعدت‌های آقای مهندس مجید کاظمی در بخش اجرای میدانی این تحقیق قدردانی می‌شود.

References

[1]. Adunni Adewolu, M., Olakunle Aro, O.O., 2009. Growth, feed utilization and hematology of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings fed diets containing different levels of vitamin C. American Journal of Applied Science Publication 6, 1675-1681.

[2]. Ai, Q., Mai, K.S., Zhang, C.X., Xu, W., Duan, Q.Y., Tan, B.P., Liufu, Z.G., 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture 242, 489-500.

[3]. Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Zhang, W., Ma, H., Liufu, Zh., 2006. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture 261, 327-336.

[4]. Al-Amoudi, M.M., El-Nakkadi, A.M.N., El-Nouman, B.M., 1992. Evaluation of optimum dietary requirement of vitamin C for the growth of *Oreochromis spilurus* fingerlings in water from the Red Sea. Aquaculture 105, 165-173.

[5]. Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 1990. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International. Washington, DC, 1263 p.

[6]. Azad, I.S., Dayal, J.S., Poornima, M., Ali, S.A., 2007. Supra dietary levels of vitamins C and E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish, *Chanos chanos* to formalin-killed Vibrio vulnificus. Fish Shellfish and Immunology 23, 154-163.

[7]. Baranikova, l.A., 1979. Sturgeon culture and problems of today. In: Berdichevskiy, L.S., (Eds.), Biological Basis of Sturgeon Culture Development in the USSR. Nauka, Moskva, pp. 49-58.

[8]. Berg, L.S., 1949. Freshwater fishes of the USSR and adjacent countries. Izdatelstvo akademii Nauk SSSR, Moskva Leningrad, pp. 175-283.

[9]. Bergenius, M., Meekan, M., Robertson, D., McCormick, M., 2002. Larval growth predicts the recruitment success of a coral reef fish. Oecologia 131, 521-525.

[10].Brander, G.C., Pugh, D.M., 1977. Veterinary applied pharmacology and therapeutics. The English language book Society and Bailliere Tindall, London, 536 p.

[11].Dabrowski, K., 1986. Ontogenetic aspects of nutritional requirements in fish. Comparative Biochemistry and Physiology 85A, 639-655.

[12].Dabrowski, K., 1991. Administration of gulonolactone does not evoke ascorbic acid synthesis in teleost fish. Fish Physiology and Biochemistry 9, 215-221.

[13].Dabrowski, K., 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC press, Boca Raton, Florida, 288 p.

[14].Faramarzi, M., 2012. Effect of dietary vitamin C on growth and feeding parameters, carcass composition and survival rate of common carp (*Cyprinus carpio*). Global Veterinaria 8, 507-510.

[15].Fracalossi, D.M., Allen, M.E., Yuyama, L.K., Oftedal, O.T., 2001. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. Aquaculture 192, 321-332.

[16].Garcia, F., Pilarski, F., Onaka, E.M., De 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, 39-46.

[17].Gouillou-Coustans, M.F., Bergot, P., Kaushik, S.J., 1998. Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. Aquaculture 161, 453-461.

[18].Handeland, S.O., Imsland, A.K., Stefansson, S.O., 2008. The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. Aquaculture 283, 36-42.

[19].Hilton, J.W., Cho, C.Y., Slinger, S.J., 1978. Effects of graded levels of supplemental ascorbic

acid in practical diets fed to rainbow trout (Salmon gairdneri). Journal of the Fisheries Research Board of Canada 35, 431-436.
[20].Hung, S.S.O., Lutes, P.B., 1987. Optimum feeding rate of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) at 20. Aquaculture 65, 307-317.
[21].Ibiyo, L.M.O., Atteh, J.O., Omotosho, J.S., Madu, C.T., 2007. Vitamin C (ascorbic acid) requirements of *Heterobranchus longifilis* fingerlings. African Journal Biotechnology 6, 1559-1567.
[22].Isaksson, A., 1988. Salmon ranching. A world review. Aquaculture 75, 1-33.
[23].Kumari, J., Sahoo, P.K., 2005. High dietary vitamin C affects growth, non-specific immune responses and disease resistance in Asian catfish, *Clarias batrachus*. Molecular and Cellular Biochemistry 280, 25-33.
[24].Li, X., Bickerdike, R., Nickell, D., Campbell, P., Dingwall, A., Johnston, I., 2007. Investigations on the effects of growth rate and dietary vitamin C on skeletal muscle collagen and hydroxylysyl pyridinoline cross-link concentration in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 55, 510-515.
[25].Lim, L.C., Dhert, P., Chew, W.Y., Dermaux, V., Nelis, H., Sorgeloos, P., 2002. Enhancement of stress resistance of the guppy, *Poecilia reticulate* through feeding with vitamin C supplement. Journal of the World Aquaculture Society 33, 32-40.
[26].Lin, M.F., Shiau S.Y., 2005. Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture 244, 215-221.
[27].Matusiewicz, M., Dabrowski, K., Volker, L., Matusiewicz, K., 1994. Regulation of saturation and depletion of AA in rainbow trout. Journal of Nutritional Biochemistry 6, 204-212.
[28].Matusiewicz, M., Dabrowski, K., Volker, L., Matusiewicz, K., 1995. Ascrobate polyphosphate as a bioavailable vitamin C source in juvenile rainbow trout: Tissue saturation and compartmentalization model. Journal of Nutrition 125, 3055-3061.
[29].Medawar, P.B., 1945. Size, shape and age. In Essays on Growth and Form Presented to D'Arcy Wentworth Thompson. Oxford University Press, 168 p.
[30].Merchie, G., Lavens, P., Storch, V., Ubel, U., De Nelis, H., Leenheer, A., Soregeloos, P., 1996. Influence of dietary vitamin C dosage on turbot (*Scophthalmus maxmus*) and European sea bass (*Dicentrachus labrex*) nursery stages. Comparative Biochemistry and Physiology 11, 336-341.
[31].Minot, C.S., 1908. The problem of Age, Growth and Death. Murvey, London, 280 p.
[32].Moon, T.W., Foster, G.D., Plisetskaya, E.M., 1989. Changes in peptide hormones and liver enzymes in the rainbow trout deprived of food 6 weeks. Canadian Journal of Zoology 67, 2189-2193.
[33].Nelson, D.L., Cox M.M., 2005. Lehninger's principles of biochemistery. Freeman, W.H. and Company, New York, 1100 p.
[34].Nikolskii, G.V., 1961. Special Ichthyology. The National Science Foundation. Washington DC, USA, 358 p.
[35].Oikawa, D., Ando, H., Mishiro, K., Miyake, K., Furuse, M., 2008. Dietary hydroxyproline improves collagen contents of the fillet in tiger puffer (*Takifugu rubripes*). Journal of Fisheries International 3, 49-51.
[36].Ortuno, J., Cuesta, A., Esteban, A., Meseguer, J., 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata L.*) innate immune system. Veterinary Immunology and Immunopathology 79, 167-180.
[37].Rahbar, M., Nezami, Sh.A., Khara, H., Rezvani, M., 2009. Determine the relationship between age and Reproduction Efficiency Parameters in Caspian Salmo (*Salmo trutta caspious*, Kessler 1877) spawners females. Journal of Fisheries Azadshahr 4, 99-104. (In Persian)

[38].Ramezani, H., 2009. Effects of different protein and energy levels on growth performance of Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). Journal of Fisheries and Aquatic Science 4, 203-209.

[39].Roberts, M.L., Davies, S.J., Pulsford, A.L., 1995. The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Fish and Shellfish Immunology 5, 27–38.

[40].Robbins, K.R., Norton, H.W., Baker, D.H., 1979. Estimation of nutrient requirements from growth data. Journal of Nutrition 109, 1710-1714.

[41].Saber, A., Abedian kinari, A.M., Hayati, F., 2005. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Journal of Marine Sciences 4, 45-54. (In Persian)

[42].Sampaio, J., Criscuolo, E., 2006. Physiological responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*) fed different levels of vitamin C and submitted to air exposure. Acta Amazonica 36, 519-524.

[43].Sandnes, K., 1991. Vitamin C in fish nutrition-a review. Fisk. Dir. Ser. Ernaering 4, 3-32.

[44].Sayyad Burani, M., Abtahi, B., Bahmani, M., Kazemi, R., Dazhandian, S., Daghigh Ruhi, J., Amiri, A., 2006. Effects of weight on osmoregulatory ability of *Salmo trutta caspius* juvenile. Iranian Scientific Fisheries Journal 14, 81-96. (In Persian)

[45].Shiau, S.Y., Hsu, T.S., 1999. Quantification of vitamin C requirement for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*, with L-ascorbyl-2 monophosphate-Na and L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg. Aquaculture 175, 317-326.

[46].Smedsrød, B., Gjøen, T., Sveinbjørnsson, B., Berg, T., 1993. Catabolism of circulating collagen in the Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of Fish Biology 42, 279-291.

[47].Soliman, A.K., Jauncey, K., Roberts, R.J., 1994. Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research 25, 269-278.

[48].Soltani, M., Omidbeigi, R., Rezvani, S., Mehrabi, M.R., Chitsaz, H., 2001. Study of anaesthetic effects induced by clove flower (*Eugina caryophillata*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under various quality condition. Journal of the Faculty of Veternary Medicine 56, 85-89. (In Persian)

[49].Soltani, M., Falahatkar, B., Pourkazemi, M., Abtahi, B., Kalbasi, M.R., Mohseni, M., 2008. Effects of dietary L-ascorbyl-2-polyphosphate as a source of vitamin C on growth indices in Beluga sturgeon (*Huso huso* L.). Iranian Scientific Fisheries Journal 17, 107-120. (In Persian)

[50].Sotoudeh, E., Abedian kenari, A., Habibi Rezaei, M., 2010. Growth response, body composition and fatty acid profile of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) juvenile fed diets containing different levels of soybean phosphatidylcholine. Aquaculture International 19, 611-623.

[51].Terova, G., Saroglia, M., Papp, Z.G., Cecchini, S., 1998. Dynamics of collagen indicating amino acids, in embryos and larvae of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*), originated from broodstocks fed with different vitamin C content in the diet. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 121, 111-118.

[52].Tewary, A., Patra, B.C., 2008. Use of vitamin C as an immunostimulant. Effect on growth, nutritional quality, and immune response of *Labeo rohita* (Ham.). Fish Physiology and Biochemistry 34, 251-259.

[53].Thompson, I., White, A., Fletcher, T.C., Houlihan, D.F., Secombes, C.J., 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. Aquaculture 114, 1-18.

[54].Thorpe, J. E., 1980. Salmon ranching. Academic Press, London, 441 p.

[55].Tolbert, B.M., 1979. Ascorbic acid metabolism and physiological function. International Journal for Vitamin and Nutrition Research 19, 127-142.

[56].Xie, Z., Niu, C., 2006. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile ayu (*Plecoglossus altivelis*). Aquaculture Nutrition 12, 151-156.
[57].Wang, X., Kanggwoong, K., Sungchul, C., 2002. Effects of different dietary levels of L-ascorbyl-2-polyphosphate on growth and tissue vitamin C concentrations in juvenile olive flounder, (*Paralichthys olivaceus*, Temminck et Schlegel 1846). Aquaculture Research 33, 261-267.
[58].Wilson, R.P., 1973. Absence of ascorbic acid synthesis in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and blue catfish (*Ictalurus furcatus*). Comparative Biochemistry and Physiology 46, 635-638.
[59].Zamani, A., Hajimoradloo, A., Madani, R., Golchinfar, F., 2007. Comparison of some digestive enzymes activity in the stomach, pyloric caeca and intestine of the Parr and Smolt Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*). Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources 14, 73-80. (In Persian)