اثر افزودن ویتامین ث به جیره غذایی بر عملکرد رشد، میزان بازماندگی و برخی شاخص‌هاي خونی ماهی پاکوی قرمز (*Piaractus brachypomus*)

- **سیدحامد حسینی:** دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، صندوق‌پستی: 3995
- **ایمان سوری‌نژاد*:** گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، صندوق پستی: 3995
- **صدیقه آشوری:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس

تاریخ دریافت: بهمن 1392 تاریخ پذیرش: اردیبهشت 1393

چکیده

ویتامین ث از مواد مغذی مهم در تغذیه آبزیان بوده و در بالا بردن مقاومت آبزی در برابر عوامل استرس‌زا و افزایش رشد آن‌ها اهمیت زیادی دارد. تأثیر افزودن مقادیر متفاوت ویتامین ث به‌شکل ال اسکوربیل-2- پلی فسفات در جیره غذایي به‌مدت 10 هفته بر رشد، بازماندگی و برخی شاخص‌هاي خونی پاکوی قرمز *Piaractus brachypomus* بررسی شد. تعداد 240 قطعه بچه‌ماهي با میانگین وزن اولیه 3/51±0/22 گرم (تعداد 20 ماهی در هر آکواریوم و هر کدام در سه تکرار) با چهار جیره غذایی حاوی سطوح 0، 200، 400 و 800 میلی‌گرم ویتامین ث در کیلوگرم جیره تغذیه شدند. نتایج نشان داد ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ویتامین ث دارای میزان و درصد افزایش وزن بدن و میانگین رشد روزانه بالاتری نسبت به تیمار شاهد بودند ($p<0/05$). افزایش نرخ رشد ویژه و بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده از ویتامین ث نسبت به تیمار شاهد مشخص بود، هرچند از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبودند ($p>0/05$). هموگلوبین و پروتئین کل خون ماهیان تیمارهای مختلف از اختلاف معنی-داری برخوردار نبود، ولی ماهیان تغذیه شده با 400 و 800 میلی‌گرم ویتامین ث، هماتوکریت بیش‌تری نسبت به ماهیان تیمار شاهد داشتند ($p<0/05$). استفاده از ویتامین ث در جیره غذایی ماهی پاکوی قرمز به‌دلیل بهبود شاخص‌های رشد و افزایش میزان هماتوکریت قابل توصیه می‌باشد.

کلمات کلیدی: ویتامین ث، شاخص‌های رشد، خون‌شناسی، پاکوی قرمز *Piaractus brachypomus*

مقدمه

ماهي پاکوی قرمز *Piaractus brachypomus* از خانواده Characidae و بومی آمریکای جنوبی در مناطق آمازون و حوضه رودخانه اورینوکو می‌باشد (Nascimento و همکاران، 2010). این ماهی یک گونه با اهمیت در آبزی‌پروری و صید در مناطق آمریکای جنوبی و مرکزی و هم‌چنین شرق و جنوب‌شرقی آسیا به‌شمار آمده و از نظر صنعت ماهیان زینتی هم جزو ماهیان گران قیمت به‌خصوص در جنوب‌شرقی آسیا می‌باشد (Lochmann و همکاران، 2009). پاکوی قرمز همه-چیزخوار بوده و از منابع غذایی گیاهی، بی‌مهرگان، میوه‌های بومی و مواد پوده‌ای تغذیه می‌کند (Fernandes و همکاران، 2004). در خانواده Characidae، ماهیان جنس *Piaractus* به‌علت رشد بالا، قابلیت پرورش متراکم، سازگاری بالا به غذاي دستي و مصنوعی و تحمل شرایط فیزیکی و شیمیایی به‌طور وسیعی پرورش داده می‌شوند (Fernandes و همکاران، 2004؛ Lochmann و همکاران، 2009). با توجه به سابقه پرورش این ماهی در بسیاری از کشورها، می‌توان از این گونه به‌عنوان یک گونه پرورشی در صنعت آبزی‌پروری در ایران جهت بالابردن توان تولید مزارع پرورش

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Sourinejad@hormozgan.ac.ir

ماهی استفاده نمود. این گونه اخیراً توسط سازمان شیلات ایران وارد کشور شده است و تحقیقات اولیه برای ارزیابی قابلیت معرفی آن به مزارع درحال انجام است.

شکل 1: ماهی پاکوی قرمز *Piaractus brachypomus*

در صنعت آبزي‌پروري بهينه-سازی رشد و افزایش بازماندگی و در نتیجه تولید ماهي بیشتر با حفظ وضعیت سلامتی ماهیان از اهداف اصلی است. برای افزایش تولید در آبزی‌پروری، معمولاً ماهیان به‌صورت متراکم پرورش داده می‌شوند اما پرورش ماهي به‌صورت متراکم زماني مي‌تواند اقتصادي باشد که ماهي از سرعت رشد مناسب و میزان بازماندگی بالايي برخوردار باشد تا بتواند هزينه‌هاي مصرفي را جبران کند. هم‌چنین جهت پیشگیري از خسارت‌هاي اقتصادي و تاثیر نامطلوبي که احتمالاً شرایط محیطي در اثر تراکم بالاي ماهیان بر ساختار فیزیولوژیکي ماهي وارد مي‌سازند، تقویت مکانیزم دفاعي بدن به‌منظور مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در آبزی‌پروری امري ضروري است (Blazer، 1992؛ Barton و Iwama، 1991). کیفیت غذا، یک فاکتور مهم در عملکرد رشد، بازماندگی و نگه‌داري وضعیت سلامت ماهي و تقویت آن است. ویتامین‌ها ترکیبات آلی هستند که براي رشد و بازماندگی بیشتر و براي بالا بردن سطح سلامتي در جیره غذایي ماهیان در شرایط پرورش متراکم استفاده مي‌گردند (Abbas و همکاران، 2008؛ Panush و Delafuente، 1985). ویتامین ث که اسید آسکوربیک نیز نامیده می‌شود، ناپایدارترین ویتامین محلول در آب است و یکی از مواد مغذی مهم در پرورش ماهی به‌حساب می‌آید. این ویتامین در ساخت هورمون‌های استروئیدی مؤثر بوده و مقاومت بدن را در برابر استرس و عفونت‌ها افزایش می‌دهد (Trenzado و همکاران، 2006؛ Dabrowski، 2001). بیشتر ماهیان از جمله ماهي پاکوی قرمز توانایی سنتز این ویتامین را در بدن ندارند و حتماً باید این‌ماده مغذي در جیره غذایی‌شان وجود داشته باشد. در این ماهیان آنزیم سازنده این ویتامین یعنی ال- گلونولاکتون اکسیداز وجود ندارد و در نتیجه به‌طور کامل به منابع خارجی این ویتامین وابسته می‌باشند (Dabrowski، 2001؛ Dabrowski و همکاران، 1996). بنابراین با اعمال تغذیه درست که با درك صحیح از نیازهاي غذایی ماهی و تنظیم یک فرمول غذایی متعادل و متناسب با نیاز آبزیان پرورشی انجام می‌شود، می‌توان به رشد بالا، افزایش تولید و در نتیجه به یک تولید اقتصادي دست یافت (Lovell، 1991). اثرات مثبت افزودن ویتامین ث به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی برخی گونه‌های ماهیان در مطالعات مختلف گزارش شده است. درگربه‌ماهی روگاهی *Ictalurus punctatus* (Wilson و همکاران، 1989؛ Miyasaki و همکاران، 1985) و گونه‌هایي نظیر طوطي ماهي *Oplegnathus fasciatus* (Wang و همکاران، 2003) افزایش رشد پس از تغذیه با مقادیر مختلف ویتامین ث مشاهده گردیده است. اضافه نمودن این ویتامین به جیره غذایی ماهی کپور هندی *Labeo rohita* پرورش یافته در شرایط متراکم باعث افزایش رشد و بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهی‌ها شد (Misra و همکاران، 2006). در قزل‌آلای رنگین کمان نیز تأثیر مثبت ویتامین ث بر شاخص‌های رشد در برخی مطالعات (Dabrowski و همکاران، 1996) و عدم تأثیر آن بر شاخص‌های رشد در مطالعات دیگر (Trenzado و همکاران، 2006) گزارش شده است. در بررسی تاثیر تغذیه ماهیان شانک سرطلایی *Sparus aurata* نگه‌داری شده در شرایط متراکم با جیره حاوی ویتامین ث نیز مشخص گردید که

افزودن ویتامین در جیره غذایی تأثیری بر رشد و ضریب تبدیل غذایی در این گونه دریایی ندارد (Montero و همکاران، 1999). در خصوص شاخص های خون شناسی نیز در ماهي کپور هندي *Labeo rohita* از لحاظ تعداد گلبول‌هاي سفيد خون و ميزان هموگلوبين تفاوت معني‌داري در تيمارهاي تغذيه شده با سطح متوسط ويتامين ث مشاهده شد ولي از لحاظ ميزان پروتئين‌کل خون و آلبومين تفاوت معني‌دار آماري بين تيمارها مشاهده نگرديد (Misra و همکاران، 2006). در مقابل، عدم تأثير ويتامين C در جيره غذايي بر مقدار هموگلوبين خون در ماهي شانک سر طلايي (Ortuno و همکاران، 2001؛ Montero و همکاران، 1999) و طوطي ماهي *Oplegnathus fasciatus* (Wang و همکاران، 2003) گزارش شده است. افزودن ویتامین ث به جیره غذایی نتایج متفاوتی درخصوص شاخص‌های رشد، خون‌شناسی و ایمنی در گونه‌های مختلف ماهیان نشان داده است. با توجه به معرفی گونه جدید وارداتی پاکوی قرمز *Piaractus brachypomus* به تحقیقات آبزی‌پروری کشور ایران و این نکته که اطلاعات زیادی از عملکرد رشد و بازماندگی آن در شرایط پرورشی در کشور در دسترس نیست هدف از این مطالعه بررسی عملکرد رشد، میزان بازماندگی و برخی شاخص‌هاي خونی بچه‌ماهیان پاکوی قرمز تغذیه شده با جیره حاوی ویتامین ث می‌باشد. نتایج تحقیق حاضر می‌تواند اطلاعات مفیدی را در اختیار مسئولین آبزی‌پروری کشور به‌منظور آشنایی با جنبه‌های مختلف زیستی گونه پاکوی‌قرمز و توسعه پرورش آن قرار دهد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر از اردیبهشت ماه 1392 در کارگاه تکثیر ماهیان زینتی آبی شهرستان اسلام آباد غرب در استان کرمانشاه به‌مدت 10 هفته انجام شد. به این منظور از آکواریوم‌های با ابعاد 50×40×70 سانتی‌متر به‌منظور سازگار نمودن و پرورش بچه‌ماهیان استفاده شد. پس از سازگاری کامل بچه‌ماهیان با شرایط پرورشی، تعداد 240 قطعه بچه‌ماهی پاکوی قرمز با میانگین وزن اولیه 0/22±3/51 گرم با تعداد 20 قطعه در هر آکواریوم و در 12 آکواریوم توزیع شدند. آزمایش در قالب 4 تیمار با سطوح مختلف ویتامین ث و سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. یک جیره غذایی پایه بدون افزودن ویتامین ث به‌عنوان جیره شاهد و سه جیره آزمایشی براساس مقادیر 200 (تیمار 1)، 400 (تیمار 2) و 800 (تیمار 3) میلی‌گرم ویتامین ث درکیلوگرم جیره غذایی به‌عنوان تیمارهای آزمایشی در نظر گرفته شدند (جدول 1).

جدول 1: اجزاء جیره غذایی (گرم بر کیلوگرم) و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی (درصد ماده خشک) بچه‌ماهیان پاکوی قرمز طی 10 هفته پرورش

اجزاء جیره غذایی (گرم بر کیلوگرم)	تیمار			
	شاهد	تیمار1	تیمار2	تیمار3
پودر ماهی کیلکا	50	50	50	50
آرد گندم	15	15	15	15
آرد سویا	10	10	10	10
نشاسته	18	18	18	18
مکمل معدنی (شامل مواد معدني مس، آهن، روي، منگنز)	1/5	1/5	1/5	1/5
آنتي اکسیدان (ازنوع بوتیل هیدروکسي تولوئن Butylated hydroxytoluene (BHT))	0/25	0/25	0/25	0/25
ضد قارچ (توکسي‌بان پریمیکس و ترکیبات آن شامل آلومینوسیلیکات، زئولیت، بنتونایت، پروپیونات آمونیوم)	0/25	0/25	0/25	0/25
پرکننده (بنتونیت تهیه شده از کانی رس)	5	5	5	5

ویتامین ث (میلی‌گرم بر کیلوگرم) (ال اسکوربیل-2- پلی فسفات)	0	200	400	800
مکمل ویتامینی (شامل K_3، B_6، B_2، B_1، E، D_3 و A)	1	1	1	1
ترکیب شیمیایی جیره (%)				
پروتئین	31/28	31/34	31/57	31/40
چربی	11/05	11/02	11/15	11/07
خاکستر	12/63	12/38	12/29	12/75
انرژی (مگاژول بر کیلوگرم جیره)	18/02	18/12	18/15	18/45

ویتامین ث به‌شکل ال اسکوربیل-2- پلی‌فسفات از شرکت F. Hoffman-La Roche (بازل- سوئیس) خریداری شد. پس از تهیه مقدار لازم از ترکیبات غذایی، نمونه‌هایی از این ترکیبات به آزمایشگاه آنالیز شیمیایی مواد غذایی براي تعیین مقدار ماده خشک، پروتئین، چربی و انرژی ارسال شد تا با سنجش مقدار مواد مغذي در این ترکیبات غذایی بتوان با حداقل‌خطا جیره‌هاي غذایی را فرموله نمود. جیره‌های غذایي از نظر انرژی و پروتئین اختلاف معنی‌داری نداشته و از این نظر دارای پروتئین و انرژی تقریباً یکسان (ایزونیتروژنیک و ایزوکالریک) بودند. پس از بالانس کردن جیره‌ها، مقادیر تعیین شده از اقلام غذایی وزن شده و مخلوط گردیدند. سپس با اضافه نمودن تدریجی آب، مخلوط خمیری شکلی به‌دست آمد و با استفاده از چرخ گوشت به‌صورت پلت‌هایی با قطر سه میلی‌متر شکل داده شدند. پلت‌های خارج شده از چرخ گوشت روی پلاستیک گسترده و در دمای اتاق کاملاً خشک شدند. در طول مدت خشک شدن، غذاهای پلت شده مرتب به‌هم زده شدند تا به‌صورت یکنواخت مخلوط شوند. پس از خشک شدن، جیره‌های غذایی در کیسه‌های پلاستیکی ضخیم بسته‌بندی و شماره‌گذاری شده و در فریزر در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگه‌داری شدند.

بچه‌ماهیان به‌مدت 70 روز با غذاي آزمایشي در فواصل زماني منظم در دو نوبت (ساعت 9/00 و 17/00) و براساس سیري ظاهری تغذیه شدند. غذا به آرامی به آکواریوم‌های پرورش ماهی اضافه می‌شد و هنگامی‌که ماهیان دیگر غذا نمی‌خوردند به‌عنوان سیر شدن ماهیان تلقی شده و غذادهی قطع می‌گردید. زیست سنجي ماهیان یکبار در اول دوره و یکبار در انتهای دوره انجام شد. وزن با ترازوي دیجیتال با دقت 0/1 گرم اندازه‌گیري شد و شاخص‌های رشد نظیر افزایش وزن بدن (BWI)، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، نرخ رشد ویژه (SGR) و پارامترهاي تغذیه‌اي شامل ضریب تبدیل‌غذایي (FCR) و نسبت کارایي‌پروتئین (PER) مورد بررسی قرار گرفتند (Wang و همکاران، 2003).

میانگین وزن ابتداي دوره به گرم – میانگین وزن انتهاي دوره به گرم = افزایش وزن بدن
100× (میانگین وزن انتهاي دوره به گرم / (میانگین وزن ابتداي دوره به گرم – میانگین وزن انتهاي دوره به گرم)) = درصد افزایش وزن بدن
(تعداد روز آزمایش / (میانگین وزن ابتداي دوره به گرم – میانگین وزن انتهاي دوره به گرم)) = میانگین رشد روزانه
100×{تعداد روز آزمایش/ (لگاریتم طبیعي میانگین وزن اولیه به گرم – لگاریتم طبیعي میانگین وزن نهایي به گرم)}= نرخ رشد ویژه
(وزن اولیه به گرم – وزن نهایی به گرم)/مقدار غذاي خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایي
مقدار مصرف پروتئین (گرم) / افزایش وزن بدن (گرم) = نسبت کارایي پروتئین
100× (تعداد بچه ماهیان ابتداي دوره / تعداد بچه ماهیان باقیمانده در انتهاي دوره) = درصد بازماندگی

بعد از هفته دهم، ماهیان هر تیمار با استفاده از پودر گل میخک بی‌هوش شده و خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان با برش کامل ساقه

دمی انجام شد. نمونه‌هاي خونی وارد لوله‌های آزمایش حاوی ماده ضدانعقاد EDTA شده تا برای بررسی شاخص‌های خونی مورد استفاده قرار گیرند. سپس نمونه‌ها به‌همراه یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. جهت تعیین شاخص‌هاي خونی از روش‌هاي متداول آزمایشگاهي استفاده شد. مقدار هموگلوبین به‌روش سیان مت هموگلوبین و هماتوکریت هم با سانتریفیوژ خون در دور 3000g به‌مدت 5 دقیقه مورد سنجش قرار گرفت. مقدار پروتئین کل خون (Blood Total Protein) نیز به‌روش فتومتریک با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر SINNOWA D- 280 اندازه‌گیری شد (Houston، 1990). تجزیه و تحلیل داده‌ها در ارتباط با شاخص‌هاي رشد و خون‌شناسی براساس آزمون دانکن Duncan در قالب طرح کاملاً تصادفي با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way-ANOVA) در نرم‌افزار SPSS در سطح 0/05 انجام گردید.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و بازماندگی و هم‌چنین پارامترهاي تغذیه‌ای در بچه‌ماهیان پاکوی قرمز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد از لحاظ میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن و میانگین رشد روزانه، ماهیانی که از جیره حاوی ویتامین ث تغذیه شده بودند نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). ماهیان تیمار شماره 3 که با جیره حاوی 800 میلی‌گرم ویتامین ث مورد تغذیه قرار گرفته بودند بیشترین افزایش وزن بدن، بیشترین درصد افزایش وزن بدن و بیشترین میانگین رشد روزانه را داشتند (جدول 2). هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد از لحاظ نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و نسبت کارایی پروتئین بین تیمارهای مختلف تغییراتی وجود دارد. افزایش نرخ رشد ویژه و بهبود ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه شده از ویتامین نسبت به تیمار شاهد مشخص بود ولی از لحاظ آماری این تغییرات دارای اختلاف معنی‌داری نبود ($p>0/05$). تمامی تیمارهای آزمایشی بازماندگی 100 درصد نشان دادند و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول 2). نتایج حاصل از اندازه‌گیري شاخص‌هاي خون‌شناسي بچه ماهیان پاکوی قرمز تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در جدول 3 ارائه گردیده است. براساس نتایج به‌دست آمده از لحاظ هموگلوبین و پروتئین کل‌خون بین تیمارهای مختلف از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

جدول 2: مقایسه میانگین شاخص‌هاي رشد و پارامترهاي تغذیه‌ای ماهي پاکوی قرمز در تیمارهاي مختلف طي 10 هفته پرورش

شاخص مورد بررسی	پارامتر			
	شاهد	تیمار 1	تیمار 2	تیمار 3
وزن اولیه (گرم)	3/52±0/11[a]	3/42±0/16[a]	3/73±0/12[a]	3/39±0/15[a]
وزن نهایی (گرم)	21/35±0/42[a]	22/68±1/35[ab]	24/34±1/14[b]	24/15±1/85[b]
افزایش وزن بدن (گرم)	17/0±83/51[a]	19/26±1/32[b]	20/61±1/09[bc]	20/76±1/63[c]
درصد افزایش وزن بدن	83/0±51/71[a]	84/1±92/14[b]	84/1±67/23[b]	85/1±96/78[c]
میانگین رشد روزانه	0/25±0/02 [a]	0/27±0/03 [b]	0/29±0/02[c]	0/29±0/04 [c]
نرخ رشد ویژه	3/60±0/26[a]	3/64±0/18[a]	3/74±0/21[a]	3/75±0/31[a]
ضریب تبدیل غذایی	1/0±95/26[a]	1/89 ± 0/21[a]	1/75 ± 0/17[a]	1/76 ± 0/09[a]

نسبت کارایی پروتئین	2/11±0/05[a]	2/13±0/11[a]	2/09±0/08[a]	2/14±0/04[a]
بازماندگی (درصد)	100[a]	100[a]	100[a]	100[a]

میانگین و انحراف از معیار (Mean ± S.D) با حروف متفاوت در ردیف‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشند (P<0/05)

جدول 3: مقادیر شاخص‌های خونی هموگلوبین، پروتئین کل خون و هماتوکریت ماهی پاکوی قرمز تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین ث در جیره

شاخص‌های خونی	تیمار			
	شاهد	تیمار 1	تیمار 2	تیمار 3
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	9/31 ± 0/46[a]	±53/9 0/29[a]	9/58 0±/35[a]	9/0±66/15[a]
پروتئین کل خون (گرم بر دسی‌لیتر)	2/66 ± 0/12[a]	2/59 ± 0/26[a]	2/72 ± 0/18[a]	2/62 ± 0/34[a]
هماتوکریت (%)	30/28 ± 0/62[a]	30/59 ± 0/32[ab]	±15/31 0/28[bc]	31/62 ± 0/17[c]

میانگین و انحراف از معیار (Mean ± S.D) با حروف متفاوت در ردیف‌های یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در تیمارها می‌باشند (P<0/05)

ماهیان تغذیه شده با تیمارهای مختلف فاقد و حاوی ویتامین ث از لحاظ درصد هماتوکریت دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند ($p<0/05$). بدین‌صورت که تیمارهای 2 و 3 دارای اختلاف معنی‌دار آماری با تیمار شاهد بودند ($p<0/05$). بین تیمار شاهد و تیمار 1 اختلاف معنی‌داری از نظر میزان هماتوکریت مشاهده نشد ($p>0/05$) ولی ماهیان تیمار 1 که از جیره حاوی 200 میلی‌گرم ویتامین ث در کیلوگرم جیره تغذیه نموده بودند به‌طور معنی‌داری دارای میزان هماتوکریت کم‌تری نسبت به ماهیان تیمار 3 بودند که از جیره 800 میلی‌گرم ویتامین ث تغذیه شده بودند ($p<0/05$).

بحث

در تحقیق حاضر، بچه‌ماهیان پاکوی قرمز تغذیه شده با سطوح مختلف ویتامین ث در جیره غذایی، از لحاظ میزان افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن و میانگین رشد روزانه نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول 2). نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزودن ویتامین ث به جیره غذایی ماهی پاکوی‌قرمز، تأثیر زیادی در بهبود شاخص‌های رشد این ماهی دارد. ویتامین ث نقش مهمی را در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بدن ماهی ایفا می‌کند و در مطالعات مختلف به نقش مثبت این ویتامین در عملکرد رشدی ماهیان اشاره شده است. در ماهی بنی *Barbus sharpeyi* میانگین رشد روزانه و میزان نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با ویتامین ث به‌میزان 800 و 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم غذا اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (جواهرزاده و همکاران، 1390). هم‌چنین در ماهی کپورهندی *Labeo rohita* (Misra و همکاران، 2006) و قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Dabrowski و همکاران، 1996) نیز به تأثیر مثبت ویتامین ث بر وزن نهایی ماهیان و میانگین رشد روزانه اشاره شده است. افزایش‌رشد پس از تغذیه با جیره حاوی مقادیر مختلف ویتامین ث در گربه‌ماهی روگاهی *Ictalurus punctatus* (Wilson و همکاران، 1989؛ Miyasaki و همکاران، 1985) و طوطی ماهی *Oplegnathus fasciatus* (Wang و همکاران، 2003) نیز گزارش شده است. اضافه نمودن این ویتامین به جیره غذایی ماهی کپورهندی *Labeo rohita* پرورش‌یافته در شرایط متراکم نیز باعث افزایش وزن نهایی و درصد افزایش وزن بدن در ماهی‌ها شد (Misra و همکاران، 2006). در مقابل، گزارش‌هایی هم در خصوص عدم تأثیر ویتامین ث اضافه شده در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و وزن

نهایی و افزایش وزن بدن در ماهیان شانک سرطلایی *Sparus aurata* (Montero و همکاران، 1999) و قزل‌آلای رنگین‌کمان (Trenzado و همکاران، 2006) وجود دارد. به‌طورکلی ویتامین ث از ترکیبات ضروری جیره غذایی در بسیاری از گونه‌های ماهیان بوده و در فرایندهای متابولیسمی از جمله سوخت و ساز مواد معدنی شرکت می‌کند. این ویتامین می‌تواند از طریق جلوگیری از تغییرات هورمونی و حفظ توان سیستم ایمنی که به‌واسطه نقش آن به‌عنوان یک آنتی اکسیدان قوی زیستی در حفاظت سلول‌ها در برابر آسیب اکسایشی و هم‌چنین کاهش استرس ناشی از تراکم و دستکاری می‌باشد، به مواد مغذی این اجازه را بدهد که صرف تولید پروتئین و افزایش رشد ماهی و درصد بالای بازماندگی شوند (Adham و همکاران، 2000؛ Ikeda و همکاران، 1997؛ Merchie و همکاران، 1996؛ Dabrowski، 1990). ویتامین ث اصولاً در تشکیل پروکلاژن و در نتیجه کلاژن که جزء ترکیبات استخوان است دخالت داشته و برای تشکیل، ترمیم و کلسیم‌دار شدن بافت استخوان ضروری است (Adham و همکاران، 2000؛ Ikeda و همکاران، 1997). مطالعات نشان داده‌اند که کمبود ویتامین ث در جیره غذایی باعث تشکیل ناقص کلاژن در ماهیان می‌شود که برای مثال می‌توان به مطالعات انجام شده در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Sato و همکاران، 1978)، گربه‌ماهی روگاهی *Ictalurus punctatus* (Mustin و Lovell، 1992) و گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* (Eya، 1996) اشاره نمود. بنابراین جیره‌های غذایی فاقد ویتامین ث علائم کمبود ویتامینی مثل بدشکلی‌های استخوانی و هم‌چنین کاهش اشتها و رشد را نشان می‌دهند. به‌هر حال، تأثیر ویتامین‌هاي موجود در جیره‌هاي غذایی بر عملکرد رشد ماهیان می‌تواند به‌عوامل مختلفی از جمله دوز ویتامین‌هاي افزوده شده به جیره‌هاي غذایی، گونه و نژاد، سن، وزن ماهی، عوامل و شرایط محیطی و طول مدت غذادهی بستگی داشته باشد (Dabrowski، 2001؛ Merchie و همکاران، 1996). در مسائل پرورشی یکی از مهم‌ترین عوامل نشان‌دهنده بازده اقتصادی عامل ضریب تبدیل غذایی می‌باشد. در تحقیق حاضر افزایش نرخ رشد ویژه و بهبود ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با سطوح 400 و 800 میلی‌گرم ویتامین ث در کیلوگرم نسبت به تیمار شاهد مشخص بود، هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود. در ماهی بنی *Barbus sharpeyi* میزان ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با ویتامین ث به میزان 800 و 1000 میلی‌گرم در کیلوگرم غذا اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (جواهرزاده و همکاران، 1390). گزارش‌هایی نیز از تأثیر ویتامین ث بر بهبود ضریب تبدیل غذایی در قزل‌آلای رنگین‌کمان منتشر شده است (Dabrowski و همکاران، 1996). در تیلاپیای نیل *Oreochromis niloticus* نیز کمبود ویتامین ث در جیره باعث افزایش ضریب تبدیل غذایی و کاهش کارایی پروتئین شد (Soliman و همکاران، 1994). گزارش‌هایی نیز درخصوص عدم تأثیر ویتامین‌های اضافه شده در جیره بر ضریب تبدیل غذایی در ماهی شانک سر طلایی *Sparus aurata* وجود دارد (Ortuno و همکاران، 2001؛ Montero و همکاران، 1999). طول مدت غذادهی با جیره حاوی ویتامین در بروز تأثیرات بر شاخص‌های رشد ماهیان نقش مهمی دارد (Lim و همکاران، 2000؛ Wahli و همکاران، 1998؛ Matusiewicz و همکاران، 1994). با توجه به تحقیق حاضر و آشکار شدن نسبی تفاوت در نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای تغذیه شده از جیره حاوی ویتامین ث، به‌نظر می‌رسد با افزایش طول دوره تغذیه از ویتامین متناسب با طول دوره پرورش بازاری پاکوی قرمز بهبود معنی‌دار ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه مشاهده گردد. در مورد شاخص بازماندگی و تأثیر تغذیه با جیره حاوی ویتامین ث بر این شاخص، با توجه به بازماندگی 100 درصد بچه ماهیان در تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی

نمی‌توان به‌طور قطعی نتیجه‌گیری نمود. نتایج تحقیق بیان‌کننده این مطلب بود که میزان استفاده از ویتامین در جیره در حد قابل تحمل ماهیان بوده است و اثرات سمیت در دوز بالا مشاهده نگردیده است. مروری بر مطالعات پیشین نیز نشان می‌دهد که رژیم غذایی حاوی ویتامین ث اثر معنی‌داری بر میزان بازماندگی بچه‌ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان نداشته است (Wahli و همکاران، 1998؛ Dabrowski و همکاران، 1996). در مقابل، تأثیر ویتامین ث بر میزان بازماندگی در کپورهندی *Labeo rohita* (Misra و همکاران، 2006) اثبات شده است. با افزودن ویتامین ث به جیره غذايي بچه‌ماهیان پاکوی قرمز در مطالعه حاضر، از لحاظ میزان هموگلوبین و پروتئین کل خون بین تیمارهای مختلف از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. عدم تأثیر ویتامین‌ث در جیره غذايي بر مقدار هموگلوبین خون در ماهي شانک سرطلايي (Ortuno و همکاران، 2001؛ Montero و همکاران، 1999) و طوطي ماهي *Oplegnathus fasciatus* (Wang و همکاران، 2003) گزارش شده است. گزارشاتي نيز از تأثير ويتامين‌هاي موجود در جيره غذايي بر هموگلوبين خون ماهيان كپور هندي *Labeo rohita* (Misra و همكاران، 2006) و قزل آلاي رنگين‌كمان (Dabrowski و همكاران، 1996) وجود دارد. شرايط محيطي بر مقدار هموگلوبين خون ماهي مؤثر است. نگه‌داري ماهي در شرايط نامساعد محيطي و تراكم بيش از حد منجر به كاهش اكسيژن محلول آب و به‌دنبال آن كاهش اكسيژن‌رساني به بافت‌هاي بدن مي‌شود. در اين شرايط افزايش ميزان هموگلوبين خون به‌عنوان يک واكنش كه مي‌تواند باعث افزايش ظرفيت اكسيژن‌رساني در خون گردد محسوب مي‌شود. به‌همين علت با بروز شرايط نامطلوب محيطي و افزايش تراكم، ماهي جهت سازگاري و تطابق با شرايط ايجاد شده مجبور به افزايش هموگلوبين براي حمل بيش‌تر اكسيژن خون جهت مقابله با كمبود اكسيژن است (Hoseinifar و همكاران، 2011؛ رفعت‌نژاد و همكاران، 1389؛ سوری‌نژاد و همكاران، 1386). ميزان پروتئين كل خون نيز در تحقيق حاضر تحت تاثير افزودن ويتامين ث به جيره غذايي قرار نگرفت. در تطابق با نتايج تحقيق حاضر ويتامين‌هاي افزوده شده به جيره غذايي ماهي قزل‌آلاي رنگين‌كمان با دوزهاي متفاوت تأثيري بر ميزان پروتئين كل خون نداشت (Misra و همكاران، 2006؛ Trenzado و همكاران، 2006). به‌طوركلي، كاهش پروتئين كل خون نشان‌دهنده وضعيت بد تغذيه‌اي و شرايط نامساعد محيطي است. در ماهيان نگه‌داري شده در تيمارهاي با تراكم بيش از حد و شرايط نامساعد محيطي، دسترسي محدود به غذا و كاهش سطح تغذيه به ازاي هر ماهي باعث ايجاد طبقات مختلف وزني و در نتيجه نامساوي شدن سهم هر ماهي در گرفتن غذا و در نهايت افزايش نوسان در وزن و كاهش ميزان كارآيي و ثمربخشي غذا مي‌شود. بنابراين ماهيان از لحاظ شرايط تغذيه‌اي در وضعيت نامناسبي قرار داشته و هم‌چنين مشكلاتي از قبيل كاهش اكسيژن محلول آب، توليد فضولات و مدفوع ماهيان و هم‌چنين توليد آمونياک پيش مي‌آيد و در نتيجه در اين شرايط نامساعد محيطي ميزان پروتئين كل خون كاهش مي‌يابد (Ramesh و Saravanan، 2008؛ Adham و همكاران، 2000). در تحقيق حاضر، با توجه به شرايط مطلوب محيطي در آكواريوم محل پرورش بچه‌ماهيان و تراكم مناسب و جمع‌آوری روزانه ضايعات غذايی و مدفوع ماهيان، ميزان هموگلوبين خون و ميزان پروتئين كل خون تغييرات معنی‌داری را در تيمارهای مختلف شاهد و ويتامينی نشان نداد. در تحقيق حاضر ماهيان تغذيه شده با سطح بالای ويتامين ث به‌ميزان 800 ميلی‌گرم در كيلوگرم جيره دارای ميزان هماتوكريت بيشتری نسبت به ماهيان تيمار فاقد ويتامين ث بودند كه اين اختلاف معنی‌دار بود. در طوطي‌ماهي *Oplegnathus fasciatus* پس از يازده هفته تغذيه با جيره حاوی ويتامين ث در سطوح 0،

60، 120، 240، 480 و 2000 میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، تفاوت معنی‌داری بین میزان هماتوکریت در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید (Wang و همکاران، 2003). در ماهی شاینر طلایی *Notemigonus crysoleucas* نیز ویتامین ث در جیره غذایی با مقادیر 23، 43، 98 و 222 میلی‌گرم در کیلوگرم جیره، تأثیری بر میزان هماتوکریت خون پس از 19 هفته غذادهی نداشت (Chen و همکاران، 2004). برخلاف نتایج فوق، در گربه‌ماهی روگاهی *Ictalurus punctatus* (Lim و Lovell، 1978)، تیلاپیای دورگه (*Tilapia nilotica* × *Tilapia aurea*) (Shiau و Jan، 1992)، گربه‌ماهی آفریقایی *Clarias gariepinus* (Adham و همکاران، 2000) و ماهی دم زرد *Seriola quinqueradiata* (Ren و همکاران، 2008) کمبود ویتامین ث باعث کاهش میزان هماتوکریت خون و کم‌خونی گردید و با افزایش سطح ویتامین، میزان هماتوکریت خون افزایش یافت. نقش کمبود ویتامین ث در بروز کم‌خونی در ماهیان به قطعیت مشخص نشده است اما کاهش همزمان دریافت غذا با کاهش ویتامین ث جیره و نقش این ویتامین در سوخت و ساز آهن از دلایل بروز کم‌خونی عنوان شده است (Adham و همکاران، 2000). در تحقیق حاضر نیز چنین روندی مشاهده شد و با افزایش سطح ویتامین ث در جیره، میزان هماتوکریت خون نیز پس از ده هفته تغذیه با ویتامین ث افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد با افزایش طول دوره تغذیه از ویتامین متناسب با طول دوره پرورش بازاری پاکوی‌قرمز این اختلاف در میزان هماتوکریت آشکارتر گردد. با توجه به نتایج شاخص‌های خونی به‌نظر می‌رسد اضافه نمودن ویتامین ث در سطوح 400 و 800 میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره تأثیر مثبتی بر این شاخص‌ها و بنابراین ارتقاء سیستم ایمنی بدن با تأثیر بر تعداد سلول‌های خونی و افزایش آن در پاکوی‌قرمز داشته باشد هرچند شاخص‌هاي خونی ماهیان به‌عوامل مختلف دیگری از قبیل اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی و شرایط محیطی نیز بستگی دارد که بررسی تأثیر همزمان این عوامل می‌تواند در تحقیقات آینده در این گونه مورد توجه قرار گیرد. در جمع‌بندی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از ویتامین ث به‌شکل ال اسکوربیل-2-پلی‌فسفات در جیره غذایی گونه ماهي پاکوی‌قرمز که به تازگی به صنعت آبزی‌پروری تجاری و زینتی کشور معرفی شده است دارای آثار مثبتی بر شاخص‌های رشد و خون‌شناسی می‌باشد. درخصوص عملکرد رشد ماهیان، بهبود شاخص‌های رشد مثل میزان و درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، نرخ رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف ویتامین ث در مقایسه با جیره فاقد ویتامین ث مشخص بود. هم‌چنین اضافه نمودن ویتامین ث به جیره غذایی ماهی پاکوی قرمز به میزان 400 و به‌ویژه 800 میلی‌گرم در کیلوگرم جیره باعث افزایش میزان هماتوکریت نسبت به تیمار فاقد ویتامین ث شد. در کل، استفاده از ویتامین ث در جیره غذایی ماهی پاکوی قرمز توسط پرورش‌دهندگان با توجه به بهبود شاخص‌های رشد و میزان هماتوکریت قابل توصیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان لازم می‌دانند از آقای احسان محسنی مدیرمحترم کارگاه تکثیر ماهیان زینتی اسلام آباد غرب تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. **جواهرزاده، ف.؛ علیشاهي، م.؛ دزفولي‌نژاد، م. و جواهري، م.، 1390.** بررسي تاثير سطوح مختلف ويتامين C بر شاخص‌هاي رشد ماهي بني (*Barbus sharpeyi*). مجله پژوهش‌های نوین سازندگی. سال 3، شماره 10، صفحات 17 تا 26.
2. **رفعت‌نژاد، س.؛ فلاحتکار، ب.؛ طلوعي‌گيلاني، م.ح.؛ ابراهيم‌زاده-شيخاني، م. و حيدري‌قادي‌كلايي، م.، 1389.** اثر تراكم‌هاي مختلف ذخيره‌سازي بر برخي پارامترهاي كيفي آب و فاكتورهاي رشد فيل‌ماهي

(*Huso huso*) در مخازن‌پرورشي. مجله دامپزشكي ايران. دوره 6، شماره 4، صفحات 38 تا 45.

3. **سوری‌نژاد، ا.؛ کلباسی، م.ر. و سلطان‌کریمی، س.، 1386.** بررسي تاثير القاء تريپلوئيدي بر تغييرات برخي شاخص‌هاي خون‌شناسي ماهيان تمام ماده قزل‌آلاي رنگين كمان در فصل زمستان. فصلنامه علمي پژوهشي ژنتيک نوين. دوره 2، شماره 2، صفحات 53 تا 60.

4. **Abbas, S.; Ahmed, I.; Hafeez-UR-Rahman, M. and Mateen, A., 2008.** Replacement of fish meal by canola meal in diet for major carp in fertilized ponds. Pak. Vet. J. Vol. 28, pp: 111-114.
5. **Adham, K.G.; Hashem, H.O.; Abu-Shabana, M.B. and Kamel, A.H., 2000.** Vitamin C deficiency in the catfish Clarias gariepinus. Aquac. Nutr. Vol. 6, pp: 129-139.
6. **Barton, B.A. and Iwama, G.K., 1991.** Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Aquaculture. Vol. 10, pp: 3-26.
7. **Blazer, V.S., 1992.** Nutrition and disease resistance in fish. Annu. Rev. Fish Dis. Vol. 2, pp: 309-323.
8. **Chen, R.; Lochmann, R.; Goodwin, A.; Praveenb, K.; Dabrowski, K. and 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 *Notemigonus crysoleucas*. Aquaculture. Vol. 242, pp: 553-569.
9. **Dabrowski, K., 1990.** Absorption of ascorbic acid and ascorbic sulfate and ascorbate metabolism in Common carp. J. Comp. Physiol. B. Vol. 160, pp: 549-561.
10. **Dabrowski, K., 2001.** Ascorbic acid in aquaticorganisms. CRC press. 288 p.
11. **Dabrowski, K.; Matusiewics, K.; Matusiewics, M.; Hoppe, P.P. and Ebeling, J., 1996.** Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout. Aquac. Nutr. Vol. 2, No. 1, pp: 3-10.
12. **Eya, J., 1996.** Broken-skull disease in *Claria gariepinus* is related to a dietary deficiency of ascorbic acid. J. World Aquacult Soc. Vol. 27, pp: 493-498.
13. **Fernandes, B.J.K.; Lochmann, R. and Bocanegra, F.A., 2004.** Apparent digestible energy and nutrient digestibility coefficients of diet ingredients for Pacu. J. World Aquacult Soc. Vol. 35, pp: 237-244.
14. **Hoseinifar, S.H.; Mirvaghefi, A.; Merrifield, D.L.; Mojazi Amiri, B.; Yelghi, S. and Darvish Bastami, K., 2011.** The study of some hematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga fed oligofructose. Fish Physiol. Biochem. Vol. 37, pp: 91-96.
15. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation, In: Shreck CB, Moyle PB (Editors). Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. pp: 273-322.
16. **Ikeda, S.; Takasu, M.; Matsuda, T.; Kakinuma, A. and Horio, F., 1997.** Ascorbic acid deficiency decreases the renal level of kidney fatty acid-binding protein by lowering the a2u-globulin gene expression in liver in scurvy-prone ODS rats. J. Nutr. Vol. 127, pp: 2173-2178.
17. **Lim, C.; Klesius, P.H.; Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of *Ictalurus punctatus* to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture. Vol. 185, pp: 313-327.
18. **Lim, C. and Lovell, R.T., 1978.** Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in *Ictalurus punctatus*. J. Nutr. Vol. 108, pp: 1137-1146.
19. **Lochmann, R.; Chen, R.; Chu-Koo, F.W.; Camargo, W.N.; Kohler, C.C. and Kasper, C., 2009.** Effects of carbohydrate-rich alternative feedstuffs on growth, survival, body composition, hematology, and nonspecific immune response of black Pacu and red Pacu. J. World Aquacult Soc. Vol. 40, pp: 33-44.
20. **Lovell, R.T., 1991.** Nutrition of aquaculture species. J Anim Sci. Vol. 69, pp: 4193-4200.
21. **Matusiewicz, M.; Dabrowski, K.; Volker, L. and Matusiewicz, K., 1994.** Regulation of saturation and depletion of AA in Rainbow trout. J. Nutr Biochem. Vol. 6, pp: 204-212.
22. **Merchie, G.; Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1997.** Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture. Vol. 155, pp: 165-181.
23. **Merchie, G.; Lavens, P.; Storch, V.; Nelis, H.; De Leenheer, A. and Sorgeloos, P., 1996.** Influence of dietary vitamin C dosage on *Scophthalmus maximus* and *Dicentrarchus labarax* nursery stage. Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol. Vol. 114, pp: 123-133.
24. **Misra, C.K.; Mukherjee, S.C. and Pradhan, J., 2006.** Effects of dietary vitamin C on immunity, growth and survival of *Labeo rohita*. Aquac. Nutr. Vol. 13, pp: 35-44.
25. **Miyasaki, T.; Plumb, J.A.; Li, Y.P. and Lovell, R.T., 1985.** Histopathology of broken back syndrome in channel catfish. J. Fish Biol. Vol. 26, pp: 647-655.
26. **Montero, D.; Tort, L.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L. and Vergara, J.M., 1999.** Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of *Sparus aurata* juveniles subjected to crowding stress. Aquaculture. Vol. 171, pp: 269-278.
27. **Mustin, W.G. and Lovell, R.T., 1992.** Na-L-ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. Aquaculture. Vol. 105, pp: 95-100.
28. **Nascimento, A.F.; Maria, A.N.; Pessoa, N.O.; Carvalho, M.A.M. and Viveiros, A.T.M., 2010.** Out of season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). Anim. Reprod. Sci. Vol. 118, pp: 324-329.
29. **Ortuno, J.; Cuesta, A.; Esteban, M.A. and Meseguer, J., 2001.** Effect of oral administration of high dietary vitamin C and E dosages on *Sparus aurata* innate immune system. Aquaculture. Vol. 79, pp: 167-180.
30. **30- Panush, R.S. and Delafuente, J.C., 1985.** Vitamins and immuno competence. J. Nutr. Vol. 45, pp: 97-123.
31. **Ramesh, M. and Saravanan, L.M., 2008.** Hematological and biochemical responses in a fresh water fish, (*Cyprinus carpio*) exposed to chlorpyrifos. J. Fish Biol. Vol. 3, pp: 80-83.
32. **Ren, T.; Koshio, S.; Teshima, S.; Ishikawa, M.; Panganiban JR, A.; Uyan, O. and Alam, M.S., 2008.** Effectiveness of l-ascorbyl-2-monophosphate Na/Ca as a vitamin C source for yellowtail *Seriola quinqueradiata* juveniles. Aquac. Nutr. Vol. 14, pp: 416-422.
33. **Sato, M.; Yoshinaka, R.; Yamamoto, Y. and Ikeda, S., 1978.** Dietary ascorbic acid requirement of rainbow trout for growth and collagen formation. B. Jpn. Soc. Sci. Fish. Vol. 44, pp: 1029-1035.
34. **Shiau, S.Y. and Jan, F.L., 1992.** Dietary Ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aurea*. B. Jpn. Soc. Sci. Fish. Vol. 58, pp: 671-675.
35. **Soliman, A.K.; Jauncey, K. and Roberts, R.J., 1994.** Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia. Aquacult. Fish Manage. Vol. 25, No. 3, pp: 269-278.
36. **Trenzado, C.E.; De la Higuera, M. and Morales, A.E., 2006.** Influence of dietary vitamins E and C and HUFA on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance under crowding conditions. Aquaculture. Vol. 263, pp: 249-258.
37. **Wahli, T.; Verlhac, V.; Gabaudan, J.; Schuep, W. and Meier, W., 1998.** Influence of combined vitamin C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout. J. Fish Dis. Vol. 21, pp: 127-137.
38. **Wang, X.; Kim, K.W.; Bai, S.C.; Huh, M.D. and Cho, B.Y., 2003.** Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid change in *Oplegnathus fasciatus*. Aquac. Vol. 215, pp: 203-211.
39. **Wilson, R.P.; Poe, W.E. and Robinson, E.H., 1989.** Evaluation of Lascorbyl-2- polyphosphate (C2PP) as a dietary ascorbic acid source for channel catfish. Aquaculture. Vol. 81, pp: 29-136.