



University of Hormozgan

Journal of Aquatic Ecology

ISSN Print: 2322-2751 ISSN Online: 2980-9355

Homepage: <https://jae.hormozgan.ac.ir>



Enrichment of chironomidae larvae with different levels of vitamin C and its effect on growth performance of Oscar (*Astronotus ocellatus*)

Navid Ebrahimzadeh¹, Majidreza Khoshkholgh^{1✉}, and Bahram Falahatkar¹

1. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeih Sara, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 19 May 2025

Accepted: 27 October 2025

Published: 6 November 2025

✉ Corresponding Author:

majidreza@guilan.ac.ir

Keywords:

Ascorbic acid,

Larviculture,

Velvet cichlid,

Blood worm.

ABSTRACT

Vitamin C is an essential micronutrient in teleost fish, contributing to growth, immune function, and the prevention of skeletal deformities. Therefore, identifying effective strategies to deliver this nutrient through the food chain is of particular importance. This study evaluated the effects of enriching chironomid larvae with different levels of vitamin C on the growth performance of Oscar (*Astronotus ocellatus*). Larvae were reared under five enrichment treatments containing 0, 250, 500, 750, and 1000 mg vitamin C per kilogram of poultry manure. After 10 days of rearing at 25.87 ± 0.62 °C, the maximum larval biomass reached 83.17 g/m^2 , and the greatest individual length and weight were 1.52 cm and 7.79 mg, respectively. However, larval growth indices did not differ significantly among treatments ($p > 0.05$). In the feeding trial, Oscar juveniles (initial mean weight: $0.26 \pm 0.01 \text{ g}$) were fed the enriched larvae for 14 days at 27.1 ± 0.51 °C. Fish fed larvae enriched with 750 and 1000 mg vitamin C showed significant increases in final weight, weight gain, specific growth rate (weight), daily weight gain, condition factor, and body weight increase compared to the control ($p < 0.05$). Additionally, larvae enriched with 1000 mg vitamin C uniquely produced the highest specific growth rate (length) and daily length gain. Overall, while vitamin C enrichment did not influence chironomid larval growth, its use as a live feed markedly enhanced both weight- and length-related growth performance in Oscar juveniles without affecting survival.



Publisher: University of Hormozgan

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

The Oscar (*Astronotus ocellatus*), a widely valued ornamental cichlid native to the Amazon, Paraguay, and Venezuela river systems, is known for its vibrant coloration, distinctive behavior, and advanced cognitive abilities, including recognizing its owners. Like other teleosts, Oscars lack L-gulonolactone oxidase and therefore cannot synthesize vitamin C endogenously. Dietary vitamin C deficiency can lead to reduced growth, hemorrhages, spinal deformities, fin erosion, exophthalmia, and skin darkening. As a potent antioxidant, vitamin C supports immune function, stress resistance, and disease prevention, making adequate dietary provision essential for growth, reproduction, and overall health.

Live feeds—particularly Chironomidae larvae (bloodworms) are commonly recommended due to their high protein and vitamin content, palatability, and ability to mimic natural diets. Enriching live feeds with vitamin C can improve their nutritional value and enhance health, coloration, and behavior in ornamental fish. This study investigated the potential of vitamin C-enriched Chironomidae larvae as a nutritional strategy for improving growth performance in Oscar juveniles.

Materials and Methods

The experiment was conducted in two phases: (1) cultivation of Chironomidae larvae in substrates enriched with different concentrations of stable vitamin C (L-ascorbyl-2-polyphosphate, Stay-C) and (2) feeding enriched larvae to Oscar juveniles. Larvae were reared in plastic containers on 126 g of milled poultry manure supplemented with 0, 250, 500, 750, or 1000 mg vitamin C/kg. Rearing conditions included continuous aeration, a 12:12 light–dark cycle, and routine monitoring of physicochemical parameters. Larvae were harvested at 1–1.5 cm, separated by density, and stored at 80°C.

Fifteen Oscar juveniles (initial weight 0.26 ± 0.01 g; length 2.54 ± 0.03 cm) were acclimated for 5 days and then fed enriched larvae three times daily for 14 days. A completely randomized design included five treatments with three replicates each. Fish were maintained in 40-L glass tanks under stable conditions (24–27°C; 12:12 light–dark cycle). Biometric measurements were recorded at the beginning and end of the trial. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's test ($p < 0.05$), after verification of normality (Kolmogorov–Smirnov test) and homogeneity of variance (Levene's test).

Results

Vitamin C enrichment had no significant effects ($p > 0.05$) on Chironomidae larval growth parameters, including specific growth rate, length, weight, and biomass production. In contrast, Oscar juveniles fed larvae enriched with 750 and 1000 mg vitamin C/kg showed significant improvements ($p \leq 0.05$) in final weight, weight gain, specific weight growth rate (SGR_w), average daily weight gain (ADG_w), condition factor (CF), and body weight increase (BWI) compared with fish fed unenriched larvae. No significant differences ($p > 0.05$) were observed between the control and the 250 or 500 mg/kg groups, nor between the 750 and 1000 mg/kg treatments.

Length-related indices including specific length growth rate, final length, length gain, and average daily length gain showed no significant differences ($p > 0.05$) among the control, 250, 500, and 750 mg/kg treatments, whereas the 1000 mg/kg group exhibited significant

improvements ($p \leq 0.05$). Feed efficiency (FE) did not differ significantly between the control and the 250 or 500 mg/kg treatments, nor between the 500 and 750 mg/kg groups. However, FE was significantly higher ($p < 0.05$) in the 750 and 1000 mg/kg groups compared with the control.

Conclusion

Vitamin C enrichment of Chironomidae larvae did not influence larval growth or survival. However, feeding Oscar juveniles with vitamin C enriched larvae particularly at 750 and 1000 mg/kg significantly enhanced weight- and length-based growth performance without affecting survival rates. Fish fed larvae enriched with 1000 mg vitamin C/kg achieved an average weight of 410 mg, compared to 310 mg in fish fed unenriched larvae. These findings demonstrate that vitamin C-enriched Chironomidae larvae serve as an effective live feed supplement for improving growth in Oscar juveniles, supporting their application in ornamental aquaculture.

غنی‌سازی لارو شیرونومیده (DIPTERA) با سطوح مختلف ویتامین C و تاثیر آن بر عملکرد رشد ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*)

نوید ابراهیم زاده^۱، مجیدرضا خوش خلق^{۱*}، بهرام فلاحتکار^۱

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	ویتامین C به عنوان یک ریزمغذی ضروری در ماهیان استخوانی نقش کلیدی در رشد، ایمنی و پیشگیری از ناهنجاری‌های اسکلتی دارد، ازاین‌رو بررسی روش‌های کارآمد انتقال آن به زنجیره غذایی اهمیت ویژه‌ای دارد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر غنی‌سازی لارو شیرونومیده با سطوح مختلف ویتامین C بر عملکرد رشد ماهی اسکار (<i>Astronotus ocellatus</i>) انجام شد. بدین منظور، لاروها در پنج تیمار حاوی صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کود مرغی پرورش یافتند. لاروها در دمای میانگین $25/87 \pm 0/62$ درجه سانتی‌گراد پرورش و پس از ۱۰ روز برداشت شدند. بیشترین میزان زیتوده $83/17$ گرم بر مترمربع و بیشترین طول و وزن هر لارو به ترتیب $1/52$ سانتی‌متر و $7/79$ میلی‌گرم بود. با این حال شاخص‌های رشد آن‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان ندادند ($p > 0/05$). در مرحله دوم، ماهی‌های اسکار با وزن اولیه $0/1 \pm 0/26$ گرم طی ۱۴ روز در میانگین دمای $27/1 \pm 0/51$ درجه سانتی‌گراد با این لاروها تغذیه شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با لاروهای غنی‌سازی شده با ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C بهبود معنی‌داری در شاخص‌های وزنی شامل وزن نهایی، وزن کسب شده، نرخ رشد ویژه وزنی، میانگین رشد روزانه وزنی، فاکتور وضعیت و افزایش وزن بدن نسبت به تیمار شاهد داشتند ($p < 0/05$)، درحالی‌که تیمار تغذیه شده با لاروهای غنی‌سازی شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C به طور منحصربه‌فرد بالاترین مقادیر شاخص‌های رشد طولی ویژه و روزانه را ثبت کرد. در مجموع، این تحقیق نشان داد که اگرچه غنی‌سازی لارو شیرونومیده با ویتامین C تاثیر معنی‌داری بر رشد خود لاروها نداشت، اما استفاده از آن‌ها به عنوان غذای زنده در پرورش اسکار موجب بهبود قابل توجه شاخص‌های رشد گردید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۰۵ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۸/۱۵	
✉ نویسنده مسئول: majidreza@guilan.ac.ir کلیدواژه‌ها: آسکوربیک اسید، پرورش لاروی، velvet cichlid، کرم خونی.	



ناشر: دانشگاه هرمزگان.

مقدمه

ماهی اسکار (*A. ocellatus*)، گونه‌ای برجسته از خانواده سیکلیدها (Cichlidae)، به دلیل رنگ‌های جذاب و رفتارهای پیچیده‌اش یکی از محبوب‌ترین ماهیان زینتی در میان آکواریوم داران است (Loiselle, 2010). این گونه بومی رودخانه‌های آمازون، پاراگوئه و ونزوئلا بوده و به دلیل هوش بالا و توانایی شناسایی صاحب خود، مورد توجه قرار گرفته است (Loiselle, 2010). نگهداری این ماهی در آکواریوم‌های بزرگ نیازمند رعایت شرایط محیطی خاص، از جمله کیفیت آب و تغذیه مناسب است (Axelrod and Vorderwinkler, 2007).

ماهیان استخوانی، از جمله اسکار، به دلیل فقدان آنزیم L-gulonolactone oxidase قادر به سنتز ویتامین C (اسید آسکوربیک) از گلوکز نیستند و در نتیجه این ویتامین برای آن‌ها یک ماده مغذی ضروری محسوب می‌شود (Burns, 1957; Dabrowski, 2001). کمبود ویتامین C موجب کاهش رشد، خونریزی، ناهنجاری‌های اسکلتی، فرسایش باله، اگزوفتالمی و تیرگی پوست می‌شود (Saleh et al., 2022) و از آنجا که این ویتامین یک آنتی‌اکسیدان قوی است، نقش مهمی در تقویت سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها و استرس‌های محیطی دارد (Dabrowski, 2001; Saleh et al., 2022). در ماهی اسکار، این کمبود می‌تواند به بروز سندرم فرسایش سر و خط جانبی (HLLE) منجر شود (Roberts, 2012)، در حالی که افزودن مکمل‌های ویتامین C سبب بهبود سلامت عمومی، رشد و موفقیت تولیدمثل، به‌ویژه در ماهیان مولد با نیاز تغذیه‌ای بالاتر می‌گردد (Fracalossi et al., 1998; Gouveia et al., 2012).

تغذیه ماهیان زینتی، به‌ویژه گونه‌های گوشت‌خوار مانند اسکار، نیازمند رژیم‌های غذایی متنوع و غنی از نظر مواد مغذی است (De Silva and Anderson, 1995). غذاهای زنده به دلیل ترکیبات شیمیایی غنی، شامل پروتئین‌هایی باکیفیت، اسیدهای چرب ضروری، آنزیم‌ها و ویتامین‌ها، گزینه‌ای ایده آل برای تأمین نیازهای تغذیه‌ای این ماهیان محسوب می‌شوند (Mousavi Sabet, 2014). غذاهای زنده رایج در آکواریوم داری شامل اینفوزوئرها، فیتوپلانکتون‌ها، سخت پوستان (مانند آرتمیا و روتیفر)، کرم‌های کم‌تار (مانند کرم سفید)، کرم‌های پرتار (مانند نرئیس)، کرم خاکی و لاروهای حشرات، به ویژه لاروهای شیرونومیده هستند (Mousavi Sabet, 2014).

برای اسکارهای مولد، استفاده از غذاهای زنده مانند لاروهای رودخانه‌ای، بچه قورباغه‌ها و آبزیان بزرگ توصیه می‌شود، هرچند غذاهای فرآوری شده مانند پولکی و پلت نیز می‌توانند مکمل رژیم غذایی باشند (Emadi, 2010). با این حال، غذاهای زنده به دلیل شباهت به رژیم طبیعی ماهیان در زیستگاه‌های بومی، تأثیر بیشتری بر سلامت، رنگ و رفتار ماهی دارند (De Silva and Anderson, 1995). تولید غذاهای کنسانتره در مزارع پرورشی با چالش‌هایی نظیر هزینه بالا و پیچیدگی‌های فنی مواجه است، که این امر توجه به پرورش غذاهای زنده را افزایش داده است (Mousavi Sabet, 2014).

لاروهای شیرونومیده یا کرم‌های خونی، لاروهای پشه‌های خانواده Chironomidae هستند که به دلیل محتوای بالای پروتئین، ویتامین‌ها و آهن حاصل از هموگلوبین بدنشان، به‌عنوان یکی از بهترین گزینه‌های غذای زنده برای ماهیان زینتی مانند اسکار شناخته می‌شوند (Pinder, 1986; Sahandi, 2011). این لاروها در طبیعت منبع غذایی مهمی برای بسیاری از گونه‌های آبزی بوده و به دلیل تحرک و جذابیت بصری، موجب افزایش میل تغذیه، رشد و سلامت ماهیان می‌گردند (Pinder, 1986; Merritt and Cummins, 1996). پرورش آن‌ها در جنوب شرق آسیا، به‌ویژه چین، به صنعتی گسترده و با اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای تبدیل شده است (Sahandi, 2011)؛ هرچند این فرایند نیازمند شرایط محیطی بهینه از جمله کیفیت مناسب آب، دما و بستر غذایی مطلوب است (Hamidaoghli et al., 2013).

یکی از رویکردهای نوین در تغذیه آبزیان، غنی سازی غذاهای زنده با مواد مغذی ضروری مانند ویتامین C است. تحقیقات نشان داده‌اند که لاروهای شیرونومیده قابلیت جذب و ذخیره ویتامین C را در صورت پرورش در بسترهای غنی شده با این ویتامین دارند (Hamidaoghli et al., 2013). این ویژگی امکان انتقال ویتامین C به ماهیان مصرف کننده، مانند اسکار، را فراهم می‌کند، که به ویژه برای گونه‌هایی که به دریافت این ویتامین از رژیم غذایی وابسته‌اند، اهمیت دارد (Hamidaoghli et al., 2013). غنی سازی لاروهای شیرونومیده نه تنها کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها را ارتقا می‌دهد، بلکه به بهبود رشد، مقاومت در برابر بیماری‌ها و کاهش علائم کمبود ویتامین C در ماهیان کمک می‌کند (Fracalossi et al., 1998; Gouveia et al., 2012).

بر اساس مطالعات انجام شده، ماهی اسکار نیاز حیاتی به ویتامین C دارد که باید از طریق جیره غذایی تأمین شود (Burns, 1957; Fracalossi et al., 1998). همچنین لارو شیرونومیده به دلیل ارزش غذایی بالا، به عنوان یک غذای زنده در پرورش ماهیان زینتی مانند اسکارمورد توجه قرار گرفته است. غنی سازی این لاروها با مواد مغذی مانند ویتامین C می‌تواند کیفیت تغذیه‌ای آنها را بهبود بخشیده و به طور بالقوه بر عملکرد رشد، بقا و سلامت ماهی تأثیر مثبت بگذارد. ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی، نقش مهمی در تقویت سیستم ایمنی، کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود متابولیسم ماهیان ایفا می‌کند (Fracalossi et al., 1998). با این حال، اطلاعات محدودی در مورد سطوح بهینه ویتامین C برای غنی سازی لارو شیرونومیده و تأثیر آن بر رشد ماهی اسکار وجود دارد، که ضرورت انجام تحقیقات هدفمند را برجسته می‌کند.

مطالعه حاضر می‌تواند به بهینه سازی کارایی تغذیه‌ای و رشد ماهی اسکار کمک کند و راهکارهایی برای بهبود روش‌های تغذیه در آبی پروری ارائه دهد. نتایج این تحقیقات نه تنها به ارتقای سلامت و عملکرد این گونه زینتی منجر می‌شود، بلکه با کاهش هزینه‌های تولید، پایداری اقتصادی و زیست محیطی پرورش ماهیان زینتی را تقویت می‌کند (De Silva and Anderson, 1995; Mousavi Sabet, 2014). علاوه بر این، بررسی نقش ویتامین C در زنجیره غذایی آبزیان، به ویژه از طریق غنی سازی غذاهای زنده مانند لاروهای شیرونومیده، درک عمیق‌تری از اثرات مستقیم و غیرمستقیم این ماده مغذی بر سلامت، رشد و مقاومت ماهیان فراهم می‌آورد (Dabrowski, 2001; Hamidaoghli et al., 2013; Saleh et al., 2022). این یافته‌ها می‌توانند به توسعه استراتژی‌های نوین تغذیه‌ای، از جمله فرمولاسیون رژیم‌های غذایی غنی شده و پایدار، در صنعت آبی‌پروری کمک کنند، که در نهایت به بهبود بهره‌وری و کاهش اثرات زیست محیطی منجر خواهد شد (Fracalossi et al., 1998; Gouveia et al., 2012).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو مرحله تولید لارو شیرونومیده در بسترهای حاوی غلظت‌های مختلف ویتامین C و تغذیه ماهی اسکار با استفاده از لاروهای شیرونومیده پرورش داده شده به انجام رسید. در این پژوهش، از فرم پایدار ویتامین C (آل-آسکوربیل-۲-پلی فسفات) با نام تجاری stay-C (DSM, Wilhelminasingel, Maastricht, Netherlands) برای غنی سازی بستر استفاده شد. غنی سازی بستر با سطوح مختلف ویتامین C در کود مرغی انجام گردید. لاروهای شیرونومیده در بسترهای حاوی ویتامین C مورد پرورش قرار گرفتند و سپس ماهی‌های اسکار با لاروهای غنی شده تغذیه شدند.

پس از جمع آوری تخم‌ها از محیط طبیعی از طریق ایجاد محیط مناسب به وسیله قرار دادن ریسمان‌های سبک پلاستیکی روی سطح آب استخر پرورش ماهی، آن‌ها با دقت جدا و ۱۴ کوکون به هر ظرف کشت منتقل شد. در مرحله بعدی، توده‌های تخم صید شده به هر یک از جعبه‌های پلاستیکی زرد رنگ با ابعاد ۳۴ × ۵۴ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر که حاوی ۱۲۶ گرم (۶۸۷ گرم به ازای هر متر مربع) کود مرغی آسیاب و الک شده (چشمه ۱ میلی متر) و مقادیر متفاوت ویتامین C به عنوان بستر بودند،

معرفی شدند. این جعبه‌ها تا ارتفاع ۱۰ سانتی متر با آب پر شده و هوادهی می‌شدند. هوادهی به صورت مداوم و ۲۴ ساعته انجام می‌گرفت و در طول دوره پرورش، فاکتورهای فیزیکی‌وشیمیایی آب به طور منظم کنترل می‌شدند. شرایط فیزیکی‌وشیمیایی پرورش لارو شیرونومیده در جدول ۱ آمده است.

تمام مراحل در کارگاه تکثیر و پرورش و در محیط سرپوشیده انجام شد. برای جلوگیری از ورود موجودات دیگر که ممکن بود با لاروها رقابت کنند، مانند پشه‌های معمولی، روی تمامی ظروف با پوشش توری پشه بندی (چشمه ۱ میل متر) محافظت شد. هوادهی در این مخازن برای تامین نیاز اکسیژن لاروها به کمک سنگ‌های هوای متصل به پمپ هوای مرکزی برای هر ظرف به صورت جداگانه انجام می‌شد. علاوه بر این، رژیم نوری به شکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی از طریق سیستم روشنایی مجهز به تایمر برقرار بود. برای تغذیه لاروها، از کود مرغی خشک و الک شده که در ظروف وجود داشت، استفاده شد (Hamidaoghli et al., 2013).

غنی سازی بستر با سطوح مختلف ویتامین C شامل صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم کود مرغی انجام گردید (Hamidaoghli et al., 2013). پودر ویتامین C به صورت خشک و با دقت به کود مرغی که از قبل آسیاب و الک شده بود، اضافه و درون تشتک ۸ لیتری به وسیله یک قاشقک کاملاً خشک به خوبی با آن مخلوط و سپس ۱۲۶ گرم از کود محتوی ویتامین C جدا و به ظروف پرورش اضافه شد. بعد از اینکه کود به ظروف پرورش اضافه شد و آگیری تا ارتفاع ۱۰ سانتی متری جعبه به میزان حدود ۱۸/۴ لیتر انجام گرفت، ۱۴ کوکون به محیط کشت معرفی شدند. طراحی آزمایش به صورت تصادفی و شامل ۵ تیمار با ۳ تکرار برای هر تیمار بود. لاروها پس از تخم‌گذاری، ابتدا از مایع ژلاتینی تخم‌ها به عنوان منبع غذایی بهره بردند. با اکتساب رشد اولیه، لاروها شروع به مهاجرت به بستر کردند و به صورت غیر انتخابی و مداوم به تغذیه از بستر پرداختند که این فرآیند مصرف ویتامین C رسوب کرده در بستر را توسط کرم‌ها به همراه داشت.

برداشت لاروهای شیرونومیده پس از اطمینان از رسیدن به رشد مطلوب، زمانی که طول لاروها بین ۱ تا ۱/۵ سانتی متر بود، پس از حدود ۱۰ روز انجام شد. ابتدا آب داخل ظروف پرورش تا حد ممکن تخلیه شد، بدون اینکه محتویات خارج شود. سپس تمامی محتویات ظروف پرورش به داخل یک سطل بزرگ منتقل گردید. در مرحله بعد لاروها به همراه محتویات بستر با یک ساچوک با چشمه ۲ میلی متر به آرامی بالا آورده و تکان داده شدند تا محتویات ریز بستر تخلیه گردد. سپس، با قرار دادن توده باقی مانده در مخزن ده لیتری آب و نمک به غلظت ۴۰ گرم بر لیتر به مدت حدود ۲۰ ثانیه، با استفاده از اختلاف چگالی لاروها از بستر جدا شده و به سطح آب آمدند. لاروهای جدا شده به کمک توری با چشمه‌های ریز (۱ میلی متر) جمع آوری شده، شسته و خالص سازی شدند و سپس روی کاغذ صافی منتقل شدند. این فرآیند به منظور اطمینان از استخراج تمام لاروهای موجود در بستر چندین بار تکرار شد (Hamidaoghli et al., 2013).

تمام مراحل برای هر یک از ۱۵ جعبه کشت به طور دقیق انجام شد. پس از جداسازی و خالص سازی، لاروها وزن شده و در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار قرار گرفتند. این کیسه‌ها پس از برچسب گذاری در یک مخزن کائوچویی با دمای صفر درجه سانتی گراد قرار داده شدند و سپس به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند (Hamidaoghli et al., 2013).

تمام زیتوده استحصال شده پس از انتقال به کاغذ صافی، با استفاده از ترازوی با دقت ۱ میلی گرم وزن شد. برای ارزیابی شاخص‌های رشد شامل میانگین نرخ رشد (AGR) و مقدار زیتوده (B)، از فرمول‌های زیر بهره گرفته شد (Hamidaoghli et al., 2013):

نرخ رشد متوسط (Average growth rate) برای تعیین میزان وزن‌گیری بر حسب روزهای آزمون مورد استفاده قرار می‌گیرد و از طریق فرمول ۱ محاسبه می‌شود:

(رابطه ۱)

$$\text{AGR (mg/day)} = (\text{میلی گرم}) / (\text{روز}) \times (\text{میزان افزایش وزن مرطوب})$$

شاخص زیستوده حاصله (Biomass) پس از اندازه‌گیری زیستوده کل با استفاده از فرمول ۲ محاسبه می‌گردد:

(رابطه ۲)

$$\text{B (g/m}^2\text{)} = (\text{گرم}) / (\text{متر مربع}) \times (\text{زیتوده کل})$$

این مرحله از آزمایش در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی (گیلان، ایران) به مساحت ۱۲ متر مربع انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ۱۵ عدد ماهی اسکار با میانگین وزن 0.01 ± 0.26 گرم و میانگین طولی 0.03 ± 2.54 سانتی متر تهیه و به مخازن شیشه‌ای با ابعاد $45 \times 50 \times 50$ سانتی متر که تا ۴۰ لیتر آبگیری شده بودند، معرفی گردیدند. مخازن روی پایه‌های فلزی در محیطی بسته قرار داشتند و دمای محیط بین ۲۴ تا ۲۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در ابتدا، ماهی‌ها به مدت ۵ روز با شرایط محیط پرورش سازگار شدند که در این زمان با آرتمیا و کرم خونی خشک شده تغذیه می‌شدند. دما و pH به شکل روزانه (۳ نوبت در روز) اندازه‌گیری می‌شدند و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال گردید (جدول ۱). هوادهی به وسیله پمپ هوای مرکزی و از طریق ترمینال‌های هوا و شیلنگ هوادهی به شکل جداگانه به هر مخزن انجام می‌شد و دمای تمامی مجموعه در یک اتاقک عایق بندی شده به وسیله یک بخاری مرکزی تثبیت گردید.

تغذیه با لارو شیرونومیده زمانی شروع شد که ماهی‌ها توانستند آن‌ها را بلعند. ماهی‌ها در ۵ تیمار و هر کدام با ۳ تکرار با لاروهای شیرونومیده که بر اساس غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم کود مرغی غنی شده بودند، تغذیه شدند. عملیات تغذیه سه بار در روز، در زمان‌های مشخص (ساعت‌های ۶، ۱۲، ۱۸) و به اندازه اشتتهای ماهی‌ها تا بروز سیری ظاهری و عدم تمایل به ادامه تغذیه انجام شد. فرایند پرورش به مدت ۱۴ روز ادامه یافت. در پایان، ماهی‌ها برای انجام آزمایش‌های بعدی صید شده و به فریزر با دمای -80 درجه سانتی گراد منتقل گردیدند.

جدول ۱ شرایط فیزیکی‌شیمیایی برای پرورش لاروهای شیرونومیده و ماهی‌های اسکار. داده‌ها بر حسب میانگین ($\pm$ خطای استاندارد)

عامل	لاروهای شیرونومیده	ماهی‌های اسکار
دما ($^{\circ}\text{C}$)	25.87 ± 0.62	27.11 ± 0.51
دوره نوری (ساعت)	۱۲D : ۱۲L	۱۲D : ۱۲L
pH	7.30 ± 0.72	8.01 ± 0.03

زیست سنجی ماهی‌ها در ابتدا و انتهای دوره پرورش انجام شد. به منظور سنجش وزن از ترازوی دیجیتال با دقت ۱ میلی گرم و برای سنجش طول از تخته بیومتری با دقت ۱ میلی متر استفاده شد. تغذیه ماهی‌ها ۲۴ ساعت قبل از شروع فرایند

بیومتری متوقف شد. تمامی ماهی‌ها مورد زیست سنجی قرار و جهت انتقال به فریزر با قرار دادن در کیسه‌های پلاستیکی زیپ دار درون مخزن کائوچویی با دمای صفر درجه سانتی گراد آماده شدند. شاخص‌های رشد در تیمارهای مختلف از طریق فرمول‌های محاسبه گردید (Falahatkar, 2018):

شاخص وزن کسب شده (Weight gain) طبق فرمول ۳ محاسبه شد:

(رابطه ۳)

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

شاخص طول کسب شده (Length gain) از طریق اندازه گیری طول نهایی و طول اولیه و از طریق فرمول ۴ محاسبه گردید:

(رابطه ۴)

$$LG (mm) = \text{طول نهایی (میلی متر)} - \text{طول اولیه (میلی متر)}$$

افزایش وزن بدن (Body weight increase) پس از اندازه گیری وزن نهایی و اولیه با استفاده از فرمول ۵ به دست آمد:

(رابطه ۵)

$$BWI (\%) = 100 \times (\text{وزن اولیه (گرم)} / \text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)})$$

شاخص نرخ رشد روزانه (Daily growth rate) با تعداد روزهای پرورش و وزن اولیه و ثانویه دارای ارتباط است. برای محاسبه آن از فرمول ۶ استفاده گردید:

(رابطه ۶)

$$DGR (\%) = 100 \times (\text{روزهای پرورش} / \text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه})$$

برای محاسبه نرخ رشد ویژه وزنی ($\text{Specific growth rate}_w$) از فرمول ۷ استفاده شد:

(رابطه ۷)

$$SGR_w (\%/day) = 100 \times [\text{طول دوره پرورش} / \text{وزن اولیه (گرم)} - \text{وزن نهایی (گرم)}]$$

شاخص نرخ رشد ویژه طولی ($\text{Specific growth rate}_L$) برای تعیین و سنجش درصد رشد طولی روزانه مورد استفاده قرار می‌گیرد و از طریق فرمول ۸ محاسبه می‌شود:

(رابطه ۸)

$$SGR_L (\%/day) = 100 \times [\text{طول دوره پرورش} / \text{طول اولیه (گرم)} - \text{طول نهایی (گرم)}]$$

شاخص وضعیت به عنوان فاکتور وضعیت (Condition factor) محاسبه می‌گردد. جهت برآورد آن از فرمول ۹ استفاده می‌شود:

رابطه ۹)

$$CF = [100 \times (\text{طول کل}^3 \text{ (سانتی متر)} / \text{وزن ماهی (گرم)})]$$

شاخص بازده غذایی (Food efficiency) که با وزن تر به دست آمده و مقدار غذای مصرفی رابطه دارد از طریق فرمول ۱۰ محاسبه می‌شود:

رابطه ۱۰)

$$FE = [100 \times (\text{مقدار غذای مصرفی (گرم)} / \text{وزن تر به دست آمده (زیتوده) (گرم)})]$$

شاخص درصد بقا (Survival rate) با بررسی تعداد نمونه‌ها در ابتدا و انتهای دوره از طریق فرمول ۱۱ محاسبه می‌گردد:

رابطه ۱۱)

$$SR (\%) = [100 \times (\text{تعداد ماهیان در ابتدای دوره} / \text{تعداد ماهیان در انتهای دوره})]$$

داده‌ها ابتدا با استفاده از تست Levene از نظر همگنی واریانس‌ها بررسی شدند و برای ارزیابی توزیع نرمال، از آزمون Kolmogorov-Smirnov استفاده گردید. در مرحله بعد، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) تحلیل شده و میانگین داده‌ها از طریق آزمون Tukey در سطح اطمینان $p < 0.05$ مقایسه شدند. داده‌ها در نرم افزار SPSS (IBM SPSS Statistics V. 5, Armonk, USA) ثبت شده و تمامی اعمال مذکور در این نرم افزار انجام گردید. در طول تمام مراحل پژوهش، داده‌ها پس از جمع‌آوری در نرم افزار Excel به ثبت رسیدند و برای انجام تحلیل‌های پیچیده تر به SPSS منتقل شدند.

نتایج

نتایج بررسی فاکتورهای مربوط به لاروهای شیرونومیده از جمله نرخ رشد ویژه، طول و وزن لارو و زیتوده تولیدی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج اختلاف معنی‌داری را در فاکتورهای رشد نشان نداد ($p > 0.05$). جدول ۲ عملکرد رشد و تولید لاروهای شیرونومیده در محیط کشت حاوی ویتامین C و کود مرغی پس از ۱۰ روز پرورش. داده‌ها بر حسب میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) سه تکرار ارائه شده‌اند.

سطوح ویتامین C (mg/kg)					شاخص
AA ₁₀₀₀	AA ₇₅₀	AA ₅₀₀	AA ₂₅₀	AA ₀	
۱۳/۹۶ $\pm$ ۳/۲۸	۱۳/۸۸ $\pm$ ۲/۷۳	۱۳/۵۲ $\pm$ ۰/۴۸	۱۴/۲۵ $\pm$ ۳/۲۴	۱۴/۹۷ $\pm$ ۳/۴	وزن کل (g)
۷/۷۹ $\pm$ ۰/۴۴	۷/۷۳ $\pm$ ۰/۵۷	۷/۷۷ $\pm$ ۰/۵۹	۷/۳۲ $\pm$ ۰/۶۷	۷/۱۳ $\pm$ ۰/۲۴	وزن هر لارو (mg)
۱/۵۰ $\pm$ ۰/۰۴	۱/۵۲ $\pm$ ۰/۰۴	۱/۴۸ $\pm$ ۰/۰۵	۱/۵۱ $\pm$ ۰/۰۴	۱/۴۹ $\pm$ ۰/۰۵	طول هر لارو (cm)

۷۷/۵۷ ± ۱۸/۲۱	۷۷/۱۳ ± ۱۵/۱۷	۷۵/۱۱ ± ۲/۶۶	۷۹/۱۷ ± ۱۷/۹۹	۸۳/۱۷ ± ۱۸/۹۴	(g/m ²) B
۰/۷۸ ± ۰/۰۴	۰/۷۷ ± ۰/۰۶	۰/۷۸ ± ۰/۰۶	۰/۷۳ ± ۰/۰۷	۰/۷۱ ± ۰/۰۲	(mg/day) AGR
۱۷۶۰ ± ۳۰۶	۱۸۷۵ ± ۵۱۸	۱۷۶۴ ± ۱۶۳	۱۹۰۱ ± ۲۶۵	۲۱۴۰ ± ۵۶۲	تعداد لارو هر جعبه
۹۸۰۵ ± ۱۷۳۲	۹۹۰۹ ± ۱۲۴۷	۹۸۳۵ ± ۵۱۰	۱۰۶۰۴ ± ۱۴۸۰	۱۱۵۹۵ ± ۲۳۴۰	تعداد لارو در هر متر مربع
۱۲۶ ± ۲۲	۱۳۴ ± ۳۷	۱۲۶ ± ۱۲	۱۳۶ ± ۱۹	۱۵۳ ± ۴۰	تعداد لارو حاصله از هر کوکون

AA₀: تیمار غنی‌سازی نشده؛ AA₂₅₀: تیمار غنی‌سازی شده با ۲۵۰ میلی گرم ویتامین C، AA₅₀₀: تیمار غنی‌سازی شده با ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C، AA₇₅₀: تیمار غنی‌سازی شده با ۷۵۰ میلی گرم ویتامین C، AA₁₀₀₀: تیمار غنی‌سازی شده با ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C، AGR: میانگین نرخ رشد، B: زیتوده تولید شده در متر مربع

نتایج حاصل از بررسی عملکرد رشد ماهی اسکار پس از ۱۴ روز تغذیه با لارو شیرونومیده غنی‌سازی شده با ویتامین C در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار تغذیه شده با لارو شیرونومیده غنی‌سازی نشده و تیمارهای تغذیه شده با لارو شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۷۵۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی در شاخص‌های وزن نهایی، وزن کسب شده، نرخ رشد وزنی و ویژه (SGR_w)، رشد وزن متوسط روزانه (ADG_w)، فاکتور وضعیت (CF) و افزایش وزن بدن (BW_I) بود ($p \leq 0.05$). همچنین به طور کلی اختلاف معنی‌داری بین تیمار تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی نشده و تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی در شاخص‌های یاد شده مشاهده نشد ($p > 0.05$). وضعیت مشابهی نیز برای تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی و تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی برقرار بود ($p > 0.05$).

در شاخص‌های نرخ رشد ویژه طولی (SGR_L)، طول نهایی، رشد طولی، رشد طولی متوسط روزانه (ADG_L)، و طول نهایی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی نشده و شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۲۵۰ و ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی مشاهده نشد ($p > 0.05$). با این وجود، تیمارهای ذکر شده در مقایسه با تیمار تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی در فاکتورهای یاد شده اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($p \leq 0.05$).

در شاخص کارایی تغذیه (FE)، تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی نشده و تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($p > 0.05$). همین وضعیت بین تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی برقرار بود ($p \leq 0.05$). همچنین تیمار تغذیه شده با لارو شیرونومیده غنی‌سازی شده با ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی با هیچ کدام از تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت ($p > 0.05$). با این وجود بین تیمار تغذیه شده با

شیرونومیده غنی نشده و تیمارهای تغذیه شده با شیرونومیده غنی شده با ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در هر کیلوگرم بستر کود مرغی تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$).

جدول ۳ شاخص‌های رشد مربوط به ماهی اسکار (*A. ocellatus*) تغذیه شده با لارو شیرونومیده غنی سازی شده با سطوح مختلف ویتامین C پس از ۱۴ روز پرورش. داده‌ها بر حسب میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) سه تکرار ارائه شده‌اند.

شاخص	سطوح ویتامین C (mg/kg)				
	AA ₁₀₀₀	AA ₇₅₀	AA ₅₀₀	AA ₂₅₀	AA ₀
وزن ابتدایی (g)	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۷ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۱	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۱
طول ابتدایی (cm)	۲/۵۱ $\pm$ ۰/۰۱	۲/۶۰ $\pm$ ۰/۰۲	۲/۵۰ $\pm$ ۰/۰۱	۲/۵۸ $\pm$ ۰/۰۱	۲/۵۴ $\pm$ ۰/۰۴
وزن انتهایی (g)	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۴۰ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۳۶ $\pm$ ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۳۴ $\pm$ ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^b
طول انتهایی (cm)	۳/۳ $\pm$ ۰/۱۱ ^a	۲/۸۶ $\pm$ ۰/۰۶ ^b	۲/۸۲ $\pm$ ۰/۰۴ ^b	۲/۸۲ $\pm$ ۰/۰۲ ^b	۲/۷۴ $\pm$ ۰/۰۵ ^b
CF	۱/۱۴ $\pm$ ۰/۱۵ ^a	۱/۷۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۱/۶۱ $\pm$ ۰/۰۶ ^{ab}	۱/۵۲ $\pm$ ۰/۰۵ ^{ab}	۱/۵۱ $\pm$ ۰/۰۷ ^b
WG (g)	۰/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^a	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۰۹ $\pm$ ۰/۰۳ ^{ab}	۰/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱ ^{ab}	۰/۰۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^b
LG (cm)	۰/۷۹ $\pm$ ۰/۱۱ ^a	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۵ ^b	۰/۳۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۰/۲۰ $\pm$ ۰/۰۱ ^b
SGR _w (%/day)	۳/۲۷ $\pm$ ۰/۱۳ ^a	۳/۱۹ $\pm$ ۰/۵۳ ^a	۲/۰۵ $\pm$ ۰/۲۹ ^{ab}	۱/۹۲ $\pm$ ۰/۱۵ ^{ab}	۱/۳۵ $\pm$ ۰/۲۵ ^b
SGR _L (%/day)	۱/۹۶ $\pm$ ۰/۲۶ ^a	۰/۶۹ $\pm$ ۰/۱۳ ^b	۰/۸۵ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۰/۶۳ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۰/۵۴ $\pm$ ۰/۰۳ ^b
ADG _w (mg/day)	۱۰/۷۷ $\pm$ ۰/۷۴ ^a	۱۰/۳۰ $\pm$ ۱/۹۰ ^a	۶/۴۳ $\pm$ ۱/۱۰ ^{ab}	۵/۹۳ $\pm$ ۰/۴۷ ^{ab}	۳/۸۳ $\pm$ ۰/۶۲ ^b
ADG _L (mm/day)	۰/۵۶ $\pm$ ۰/۰۸ ^a	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۰۳ ^b	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^b	۰/۱۴ $\pm$ ۰/۰۱ ^b
BWI (%)	۵۷/۸۵ $\pm$ ۲/۹۶ ^a	۵۶/۶۸ $\pm$ ۱۱/۴۰ ^a	۳۳/۳۱ $\pm$ ۵/۵۹ ^{ab}	۳۰/۸۵ $\pm$ ۲/۶۹ ^{ab}	۲۱/۱۵ $\pm$ ۴/۳۳ ^b
FE (%)	۱۷/۹۴ $\pm$ ۱/۲۳ ^a	۱۷/۱۸ $\pm$ ۳/۱۳ ^{ab}	۱۰/۷۱ $\pm$ ۱/۸۲ ^{abc}	۹/۵۲ $\pm$ ۰/۶۹ ^{bc}	۶/۳۵ $\pm$ ۱/۰۵ ^c
SR (%)	۹۳/۳۱ $\pm$ ۳/۸۷	۹۵/۵۵ $\pm$ ۲/۲۲	۹۵/۵۳ $\pm$ ۴/۴۷	۹۱/۰۷ $\pm$ ۴/۴۷	۹۱/۰۹ $\pm$ ۲/۲۴

حروف انگلیسی غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($p \leq 0.05$). AA₀: تیمار تغذیه شده با لارو غنی سازی نشده؛ AA₂₅₀: تیمار تغذیه شده با لارو غنی سازی شده با ۲۵۰ میلی گرم ویتامین C، AA₅₀₀: تیمار تغذیه شده با لارو غنی سازی شده با ۵۰۰ میلی گرم ویتامین C، AA₇₅₀: تیمار تغذیه شده با لارو غنی سازی شده با ۷۵۰ میلی گرم ویتامین C، AA₁₀₀₀: تیمار تغذیه شده با لارو غنی سازی شده با ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C، CF: شاخص وضعیت، WG: وزن کسب شده، LG: طول کسب شده، SGR_w: نرخ رشد ویژه وزنی، SGR_L: نرخ رشد ویژه طولی، ADG_w: میانگین رشد روزانه وزنی، ADG_L: میانگین رشد روزانه طولی، BWI: افزایش وزن بدن، FE: کارایی غذا، SR: نرخ بقا

بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که غنی‌سازی بستر پرورش لاروهای شیرونومیده با سطوح مختلف ویتامین C، تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد این لاروها نداشت. این یافته با نتایج برخی از مطالعات پیشین همخوانی دارد که نشان داده‌اند

لاروهای شیرونومیده اگرچه قادر به تجمع مواد مغذی محلول از بستر هستند، اما ظرفیت جذب ویتامین C در این گونه‌ها محدود است و این ترکیب بیشتر در نقش ذخیره‌ای در بدن آن‌ها باقی می‌ماند. در واقع، فرآیند متابولیک این لاروها به گونه‌ای است که استفاده مستقیم از ویتامین C برای رشد سلولی محدود بوده و در نتیجه، افزایش سطح ویتامین C در بستر، الزاماً به بهبود رشد یا افزایش زیتوده منجر نمی‌شود (Hamidoghli *et al.*, 2014).

از دیدگاه فیزیولوژیک، رشد لاروهای شیرونومیده تا حد زیادی به ترکیب مواد آلی بستر، حضور میکروارگانیسم‌ها و شرایط فیزیکی محیط از جمله دما و اکسیژن وابسته است (Maier *et al.*, 1990; Fonseca and Rocha, 2004; Kiyashko *et al.*, 2004; Habashy, 2005). بنابراین می‌توان فرض کرد که در این پژوهش، سطح ویتامین C افزوده شده به بستر در محدوده‌ای نبوده است که بتواند مسیرهای متابولیک مؤثر بر سنتز پروتئین یا افزایش انرژی در لاروها را فعال کند. از این رو، عدم وجود تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های رشد، مؤید آن است که ویتامین C به‌طور مستقیم در رشد لارو شیرونومیده نقشی ندارد؛ هرچند ممکن است در کیفیت تغذیه‌ای آن برای مصرف‌کنندگان ثانویه مؤثر باشد.

در بخش دوم پژوهش، بررسی اثر تغذیه ماهی اسکار با لاروهای غنی‌شده با ویتامین C، نشان داد که افزایش سطوح ویتامین C در بستر پرورش لاروها، بهبود قابل توجهی در شاخص‌های رشد ماهی اسکار از جمله شاخص وضعیت، وزن کسب شده، نرخ رشد ویژه وزنی و میانگین رشد روزانه ایجاد کرد. این نتایج با یافته‌های Fracalossi و همکاران (1998)، Gouveia و همکاران (2012) و Saleh و همکاران (2022) مطابقت دارد که نقش حیاتی ویتامین C را در رشد و سلامت ماهیان استخوانی، به‌ویژه گونه‌های زینتی، گزارش کرده‌اند. همچنین، در مطالعه Wang و همکاران (2003) بر روی ماهی پرت (*Oplegnathus fasciatus*) و Yousefi و همکاران (2013) بر روی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) نیز نشان داده شد که افزایش ویتامین C در جیره غذایی موجب افزایش معنی‌دار در رشد و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک می‌شود. در مقابل، در برخی گونه‌های ماهیان خاویاری مانند فیل‌ماهی (*Huso huso*) مشاهده شد که سطوح مختلف ویتامین C تأثیر قابل توجهی بر رشد نداشتند (Falahatkar *et al.*, 2006). این تفاوت احتمالاً ناشی از ویژگی‌های فیزیولوژیک متفاوت ماهیان استخوانی و غضروفی-استخوانی است (Hamidoghli *et al.*, 2014). ماهیان استخوانی به دلیل فقدان آنزیم آل-گلونولاکتون اکسیداز قادر به سنتز ویتامین C در بدن خود نیستند، در حالی که برخی از ماهیان غضروفی-استخوانی تا حدی توانایی جبرانی در مسیرهای سنتز دارند (Burns, 1957; Dabrowski, 2001). بنابراین نیاز تغذیه‌ای به این ویتامین در ماهیان استخوانی مانند اسکار، به‌مراتب بیشتر است و همین امر می‌تواند علت مشاهده تفاوت معنی‌دار در رشد این گونه در پژوهش حاضر باشد. علاوه بر این، نقش ویتامین C در مسیرهای متابولیک متعددی از جمله سنتز کلاژن و هیدروکسیلاسیون پرولین و لایزین نیز مورد توجه است. وجود این ویتامین در جیره می‌تواند به بهبود ساختار بافت همبند، استخوان و عضله کمک کند (Masumoto *et al.*, 1991) و از این طریق موجب افزایش کارایی رشد و بهبود وضعیت فیزیولوژیک ماهی شود. همچنین Chatterjee (1973) اشاره کرده است که ویتامین C در تنظیم متابولیسم پروتئین نقش دارد و می‌تواند بازده استفاده از مواد مغذی جیره را افزایش دهد. در مجموع، بهبود عملکرد رشد ماهی اسکار در این پژوهش احتمالاً ناشی از ترکیب اثرات تغذیه‌ای مستقیم و تنظیم مسیرهای متابولیک توسط ویتامین C بوده است. در مورد شاخص بازماندگی، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. یافته‌های مشابهی توسط Arab و همکاران (2013) در بچه‌ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) و Rahimi و همکاران (2012) در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) گزارش شده است. این پژوهش‌ها نشان دادند که ویتامین C در دوره‌های کوتاه‌مدت ممکن است تأثیر بارزی بر بقا نداشته باشد، اما در دوره‌های طولانی‌تر کمبود آن منجر به بروز ناهنجاری‌های اسکلتی، خون‌ریزی و کاهش بازماندگی می‌شود (Fracalossi *et al.*, 1998). در واقع، حفظ سطح کافی ویتامین C برای پایداری بافت‌ها و عملکرد طبیعی سیستم ایمنی حیاتی است و کمبود آن ابتدا در شاخص‌های رشد و سپس در نرخ بقا نمایان می‌شود. در مجموع، یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اگرچه غنی‌سازی لاروهای شیرونومیده با ویتامین C مستقیماً منجر به رشد بیشتر لاروها نمی‌شود، اما این فرآیند از طریق انتقال ویتامین C به زنجیره غذایی،

رشد ماهی اسکار را بهبود می‌بخشد. بنابراین، لاروهای غنی‌شده می‌توانند به‌عنوان حاملان زیستی مواد مغذی، در بهبود وضعیت تغذیه‌ای و رشد ماهیان استخوانی نقش مؤثری ایفا کنند. این نتیجه با دیدگاه Mousavi Sabet (2014) و Ringo و همکاران (2010) مبنی بر اینکه غنی‌سازی لاروها با ویتامین C می‌تواند به‌عنوان روشی کارآمد و پایدار برای افزایش کارایی رشد، سلامت و بازده اقتصادی در پرورش ماهیان زینتی مورد استفاده قرار گیرد مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

غنی‌سازی لاروهای شیرونومیده با غلظت‌های مختلف ویتامین C تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد این لاروها، شامل وزن، طول بدن، و نرخ بقا، نداشت. این یافته نشان‌دهنده عدم اثرگذاری معنی‌دار جذب ویتامین C بر پارامترهای رشدی لاروها است. با این حال، نتایج قابل توجهی در مرحله تغذیه ماهی اسکار (*A. ocellatus*) با لاروهای غنی‌شده مشاهده شد. ماهی‌های اسکار تغذیه‌شده با لاروهای شیرونومیده غنی‌شده با ویتامین C بهبود معنی‌داری در شاخص‌های زیستی، به ویژه افزایش وزن و طول بدن، نشان دادند. بررسی‌های دقیق‌تر حاکی از آن بود که تغذیه با لاروهای غنی‌شده، اگرچه تأثیری بر نرخ بقای ماهی‌ها نداشت، به طور معنی‌داری برخی شاخص‌های رشد، به خصوص وزن‌گیری را بهبود بخشید. به طوری که ماهی‌های تغذیه‌شده با لاروهای غنی‌شده با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C بر کیلوگرم بستر به میانگین وزن ۴۱۰ میلی گرم در مقایسه با ۳۱۰ میلی گرم در گروه تغذیه‌شده با لاروهای غنی‌نشده دست یافتند. بنابراین، نتایج نشان داد غنی‌سازی لاروها با ویتامین C اگرچه بر رشد خود لاروها اثر معنی‌داری نداشت، اما در ماهی اسکار موجب بهبود وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد وزنی و بهره‌وری روزانه وزنی، فاکتور وضعیت و افزایش وزن بدن گردید. با این حال، این فرآیند تأثیر معنی‌داری بر درصد بقا نداشت.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش کد اخلاق را به شماره IR.GUILAN.REC. 1403.168 از کمیته اخلاق دانشگاه گیلان دریافت کرده است.

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این پژوهش علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنهاست.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب دکتر میرمسعود سجادی بابت همراهی و راهنمایی‌های بی دریغشان کمال تشکر و امتنان را داریم و از تمام عزیزانی که در طول این پژوهش ما را یاری کردند قدردانی به عمل می‌آوریم.

References

- Arab, N., Rajabi Eslami, H. and Shamsaei Mehrjan, M., 2013. The effect of vitamin C on survival rate and growth indices of juvenile Caspian Sea trout (*Salmo trutta caspius*). *Iranian Journal of Natural Resources*, 66(3), pp.331-346. <https://doi.org/10.22059/jfisheries.2013.36008> (In Persian)
- Axelrod, H.R. and Vorderwinkler, W., 2007. *Encyclopedia of Tropical Fishes*. TFH Publications, United States of America, New Jersey.
- Chatterjee, I.B., 1973. Evolution and the biosynthesis of ascorbic acid. *Science*, 182, pp.1271-1272. <https://doi.org/10.1126/science.182.4118.1271>
- Dabrowski, K., 2001. *Ascorbic Acid in Aquatic Organisms*. CRC Press, United States of America, Florida. <https://doi.org/10.1201/9781420036312>

- De Silva, S.S. and Anderson, T.A., 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall, London.
- Emadi, H., 2010. *Aquarium and Breeding of Freshwater Aquarium Fish*. Aquatic Animals Scientific Publications. (In Persian)
- Falahatkar, B., 2014. *Feeding and Feed Formulation in Aquatic Organisms*. Jihad Agriculture, Tehran. (In Persian)
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M., Pourkazemi, M. and Yasemi, M., 2006. Effect of vitamin C on some growth parameters, survival and hepatosomatic index in juvenile cultured beluga, *Huso huso*. *Pazhuhesh va Sazandegi*, 72, pp.98-103.
- Fonseca, V.L.C. and Rocha, O., 2004. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 16, pp.123-131.
- Fracalossi, M., Bora, D., Allen, M.E., Nichols, D.K. and Oftedal, O.T., 1998. Oscars, *Astronotus ocellatus*, have a dietary requirement for vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 128, pp.1745-1751. <https://doi.org/10.1093/jn/128.10.1745>
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S. and Mamauag, R., 2014. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. *Aquaculture*, 422, pp.84-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.031>
- Gouveia, A., Rema, P. and Pires, M.A., 2012. Effects of dietary ascorbic acid on growth, survival, and disease resistance of juvenile Oscar (*Astronotus ocellatus*). *Aquaculture*, 368, pp.166-172.
- Habashy, M.M., 2005. Culture of chironomid larvae (Insecta-Diptera Chironomidae) under different feeding systems. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 31, pp.403-418.
- Hamidaoghli, A., Falahatkar, B., Khoshkholgh, M. and Sahragard, A., 2013. Production and enrichment of Chironomidae larvae with different levels of vitamin C and its effect on the larval nutrition of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Aquaculture Development*, 7, pp.13-24.
- Hamidoghli, A., Falahatkar, B., Khoshkholgh, M. and Sahragard, A., 2014. Production and enrichment of chironomid larva with different levels of vitamin C and effects on performance of Persian sturgeon larvae. *North American Journal of Aquaculture*, 76, pp.289-295. <https://doi.org/10.1080/15222055.2014.911224>
- Kiyashko, S.I., Imbs, A.B., Narita, T., Svetashev, V.I. and Wada, E., 2004. Fatty acid composition of aquatic insect larvae *Stictochironomus pictulus* (Diptera: Chironomidae): evidence of feeding upon methanotrophic bacteria. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139, pp.705-711. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.08.013>
- Loiselle, P.V., 2010. *The Cichlid Aquarium*. Tetra Press, Germany, Melle.
- Maier, K.J., Kosalwat, P. and Knight, A.W., 1990. Culture of *Chironomus decorus* (Diptera: Chironomidae) and the effect of temperature on its life history. *Environmental Entomology*, 19, pp.1681-1688. <https://doi.org/10.1093/ee/19.6.1681>
- Masumoto, T., Hidetuyo, H. and Shimeno, S., 1991. Ascorbic acid's role in aquaculture nutrition. Proceedings of the *Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop*, 25, pp.42-48.
- Merritt, R.W. and Cummins, K.W., 1996. *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa.
- Mousavi Sabet, S.H., 2014. *Principles of Nutrition in Aquaculture*. Ayizh Publications. <https://doi.org/10.2307/1467288> (In Persian)

- Pinder, L.C.V., 1986. Biology of freshwater Chironomidae. *Annual Review of Entomology*, 31, pp.1-23. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.31.010186.000245>
- Rahimi, M., Sodagar, M., Ouraji, H., Hosseini, S. and Taghizadeh, V., 2012. The effect of vitamin C on growth performance, survival rate, hematological parameters and response to heat stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Research*, 6(4), pp.373-380. (In Persian)
- Ringo, E., Olsen, R.E., Gifstad, T., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I. and Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: A review. *Aquaculture Nutrition*, 16, pp.117-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x>
- Roberts, R., 2012. *Fish Pathology*. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey. <https://doi.org/10.1002/9781118222942>
- Sahandi, J., 2011. Natural food production for aquaculture: cultivation and nutrition of chironomid larvae (Insecta, Diptera). *Advance in Environmental Science*, 3, pp. 268-271.
- Saleh, N.E., Wassef, E.A., Kamel, M.A., El-Haroun, E R. and El-Tahan, R A., 2022. Beneficial effects of soybean lecithin and vitamin C combination in fingerlings gilthead seabream (*Sparus aurata*) diets on fish performance, oxidation status and genes expression responses. *Aquaculture*, 546, pp.45-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737345>
- Wang, X., Kim, K., Bai, S., Huh, M. and Cho, B., 2003. Effects of the different levels of dietary vitamin C on the growth and tissue vitamin C changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture*, 215, pp.203-211. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00042-X)
- Yousefi, P., Yavari, V., Aakeri, M., Salati, A. P. and Keyvanshokoo, S., 2013. Effect of dietary supplementation of vitamin C on growth performance, feed utilization and carcass composition of *Barbus sharpeyi* fingerlings. *Journal of the Persian Gulf (Marine Science)*, 4, pp.23-31. (In Persian)