

مقاله کوتاه

اثرات ال-اسکوربیل-۲-پلی فسفات به عنوان منبع ویتامین C بر شاخص‌های تولید مثلی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

زهره قادری فهلیانی^۱، بهرام فلاحتکار^{۱*}، حمید علاف نویریان^۱ و آریا شفائی پور^۲

^۱ صومعه سرا، دانشگاه گیلان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

^۲ یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۲

چکیده

با توجه به اثرات مختلف اسکوربیک اسید بر شاخص‌های گوناگون بدن، این مطالعه با هدف بررسی اثرات این ماده بر عملکرد تولید مثلی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. سه تیمار شامل سطوح مختلف غذایی با مقادیر صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید از نوع ال-اسکوربیل-۲-پلی فسفات در کیلوگرم غذا در سه تکرار و به مدت ۱۶ هفته جهت پرورش مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان در نظر گرفته شد. ماهیان مولد با وزن متوسط $1/5 \pm 812$ گرم با غذای ساخته شده به مدت دو هفته عادت دهی شدند. بعد از ۱۶ هفته تغذیه و با انجام معاینه، تکثیر به شیوه معمول صورت گرفت. پارامترهای مربوط به تکثیر از جمله همآوری، تعداد در گرم تخمک، درصد لقاح و درصد چشم زدگی تخم‌ها و درجه روز تا مرحله چشم زدگی و همچنین درجه روز تا تبدیل به مرحله آلوین بررسی شد. نتایج بدست آمده حاکی از این بود که در کلیه پارامترهای ذکر شده تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد. در پارامترهای درجه روز تا مرحله چشم زدگی و درجه روز تا مرحله تبدیل به آلوین، بیشترین مقدار مربوط به جیره غذایی فاقد اسکوربیک اسید و کمترین مقدار مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در کیلوگرم جیره بود. همچنین بیشترین همآوری مربوط به جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید بود ($p < 0/05$). نتایج این مطالعه نشان داد این ویتامین با عملکرد مطلوب خود قادر است بر تولید مثل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به نحو مناسبی اثر گذاشته لذا می‌بایست به تکمیل جیره مولدین با سطوح بالای اسکوربیک اسید در قبل از تکثیر توجه داشت.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، اسکوربیک اسید، تولید مثل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۳۷۴۲۸، پست الکترونیکی: falahatkar@guilan.ac.ir

مقدمه

ماهیان استخوانی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان بدلیل عدم وجود آنزیمی تحت عنوان ال-گلونولاکتون اکسیداز قادر به سنتز اسکوربیک اسید از ال-گلوکز نبوده، لذا ضروری است که مقدار مورد نیاز این ویتامین را از راه تغذیه خارجی تامین نماید (۲ و ۱۱).

زمان رسیدن به بلوغ جنسی در ماهی‌ها مانند هر حیوان

وجود بسیاری از ویتامین‌ها به عنوان میکرونوترینت‌ها در جیره آبزیان ضروری است (۱۰ و ۱۳). در این بین، اسکوربیک اسید یکی از ویتامین‌های حساس بوده که دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی و کاهش تلفات، بهبود زخم، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولید مثل می‌باشد (۱۲). مطالعات نشان می‌دهند که اکثر

صبح و عصر در ساعات ۸ صبح و ۱۸ عصر غذایی می‌شدند. پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب در طول دوره پرورش مورد سنجش قرار می‌گرفت به طوری که در طول دوره پرورش دمای آب $0/8 \pm 7/31$ درجه سانتی‌گراد، pH آب برابر $0/6 \pm 7/3$ ، میزان اکسیژن محلول $0/2 \pm 7/17$ میلی‌گرم در لیتر، مقدار نیترات $1/2 \pm 11/6$ میلی‌گرم در لیتر و مقدار نیتريت $0/009 \pm 0/027$ میلی‌گرم در لیتر محاسبه گردید.

جدول ۱- ترکیبات جیره مورد استفاده در تحقیق حاضر

اجزای جیره	درصد
پودر ماهی	۶۰
گلوتن گندم	۴/۹
آرد گندم	۱۸
آرد سویا	۱۰
مخلوط مکمل معدنی و ویتامینی ^۱	۵
روغن ماهی	۲
اسکوربیک اسید ^{۲*} و حامل	۰/۱

آنالیز تقریبی	درصد (n=۲)
پروتئین	$46/2 \pm 0/9$
رطوبت	$9 \pm 0/2$
چربی	$12/1 \pm 0/2$
فیبر	$3 \pm 0/1$
خاکستر	$8/5 \pm 0/1$

^۱ ساخت شرکت VDS بلژیک

^۲ (EASF- Belgium) L-ascorbyl – 2 polyphosphate

* در جیره پایه (فاقد اسکوربیک اسید) به جای اسکوربیک اسید، ۰/۱ درصد به گلوتن گندم به عنوان حامل اضافه شد. برای جیره حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم ۰/۰۱ درصد و برای ۱۰۰۰ میلی‌گرم، ۰/۱ درصد اسکوربیک اسید به جیره اضافه شد.

بعد از ۱۶ هفته پرورش و مشاهده رفتارهای تولیدمثلی و رسیدن به دمای مناسب در فصل تکثیر، ماهیان طبق روش‌های معمول مورد معاینه قرار گرفتند. عمل معاینه پس از بیهوشی با عصاره گل میخک (۱۵۰ ppm) انجام گرفت (۳). لازم به ذکر است که ۲۴ ساعت قبل از معاینه قطع غذایی صورت گرفت. ماهیان آماده تکثیر، به سالن تکثیر منتقل شدند و در هفته هفدهم و ۲۴ ساعت بعد از انتقال،

دیگری یکی از بحرانی‌ترین دوره‌های زندگی بوده و در این موقع بایستی حداکثر دقت و مواظبت در نگهداری آنها به عمل آید. به منظور به دست آوردن تخم با کیفیت خوب، بایستی مولدین با غذای مناسب و کاملی مورد تغذیه قرار بگیرند. هرچه تغذیه ماهی قزل‌آلا بهتر انجام گیرد، تولید تخم بهتری از آنها می‌توان انتظار داشت. با توجه به اثرات مختلف اسکوربیک اسید به عنوان یک ویتامین حساس و مهم در عملکردهای گوناگون و نیز نظر به اهمیت گونه قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* از نظر تجاری (۴) و سهولت در امر تکثیر و پرورش و اختصاص ۱۰۰ درصدی کارگاه‌های تکثیر و پرورش سردآبی در کشور، این مطالعه با هدف بررسی اثر این ویتامین بر شاخص‌های تولید مثلی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد.

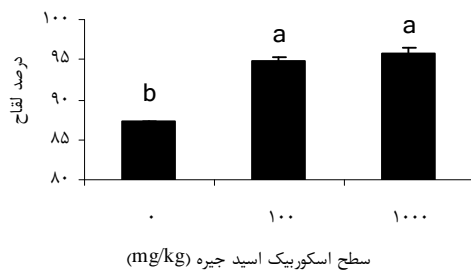
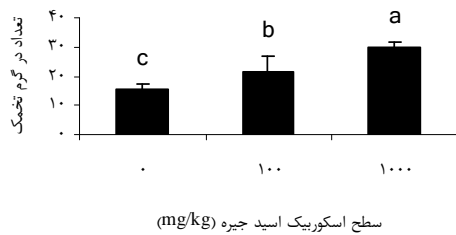
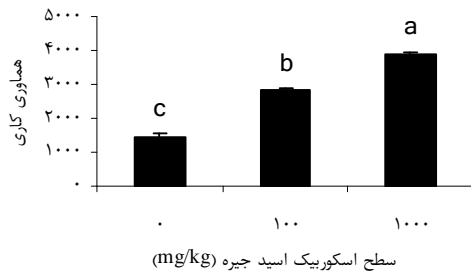
مواد و روشها

طرح مورد نظر در کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌کمان فارس واقع در منطقه شش پیر استان فارس در شهریور ۱۳۸۸ به مدت ۶ ماه انجام گرفت. مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن $1/5 \pm 812$ گرم (میانگین \pm SD) و سن ۲/۵ سال، پس از دو هفته عادت دهی به غذای دستی مورد استفاده در تحقیق حاضر که فاقد اسکوربیک اسید بود به حوضچه‌های مورد نظر به ابعاد $1 \times 1/5 \times 0/75$ متر با حجم آبیگری ۹۱۰ لیتر منتقل شدند. در هر حوضچه ۶ عدد ماهی نگهداری شدند و جمعا ۵۴ عدد ماهی به ۹ حوضچه معرفی شدند.

سه جیره غذایی با سطوح مختلف اسکوربیک اسید از نوع ال-اسکوربیل-۲- پلی فسفات با مقادیر صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذا به مدت ۱۶ هفته مورد استفاده قرار گرفت. ترکیبات مورد استفاده و آنالیز تقریبی جیره در جدول ۱ آورده شده است.

ماهیان به صورت دستی بر اساس اشتها و در دو وعده

این ارتباط تفاوت معنی‌داری در کلیه تیمارها در خصوص تعداد تخمک در گرم نیز مشاهده شد. همچنین درصد لقاح و درصد چشم‌زدگی بیشترین مقدار خود را در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و کمترین را در تیمار صفر داشتند که در پارامتر درصد لقاح بین تیمار ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در کیلوگرم غذا اختلاف معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) در صورتیکه در درصد چشم‌زدگی بین هر سه تیمار اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$). درجه روز تا مرحله چشم‌زدگی و درجه روز تا تبدیل به مرحله آلودین بیشترین مقدار خود را در تیمار صفر و کمترین مقدار را در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم داشتند که اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۱).



اولین مرحله تکثیر انجام شد. وزن کل تخم‌های خارج شده از شکم ماهی اندازه‌گیری شد و سپس مقداری از تخم را برداشته در یک مقیاس ۳۰ گرمی وزن و شمارش و تعداد به دست آمده به کل تخم‌ها بسط داده شد تا بر اساس آن هم‌آوری کاری تعیین گردد (۷). برای انجام عمل لقاح، با توجه به هم‌آوری کاری به ازای هر مولد ماده از یک مولد نر استفاده شد. وقتی اسپرم و تخمک با هم مخلوط شدند حدود ۵ دقیقه با یک پر نرم به آرامی هم زده شد و سپس با سرم نمکی (به نسبت حجمی تخم:سرم نمکی ۱:۱) ضدعفونی شد. پس از شستشو با آب، تخم‌ها درون آب قرار داده شد تا آب جذب نمایند. پس از آن و با انتقال تخم‌های لقاح یافته به انکوباتورها، درصد لقاح، درجه-روز تا مرحله چشم‌زدگی، درصد چشم‌زدگی و درجه-روز تا مرحله تبدیل به آلودین در زمان‌های مورد نظر سنجش و ثبت گردید. ۱۲ ساعت پس از لقاح با غوطه‌ور کردن نمونه‌های ۵۰ عددی تخم در محلول شفاف سازی (آب:متانول:اسیداستیک:۱:۱:۱) و شمارش تعداد تخمی که دارای چین و چروک هستند درصد لقاح تعیین شد (۳). شاخص‌های مورد نظر از ۴ مولد در هر تیمار اندازه‌گیری و ثبت شد.

داده‌ها پس از کنترل همگنی بوسیله تست Kolmogorov-Smirnov، با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و تست Tukey به عنوان post hoc جهت مقایسه میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اختلاف بین میانگین‌ها در کلیه موارد در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان $p < 0.05$ تعیین گردید. تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳ انجام پذیرفت.

نتایج

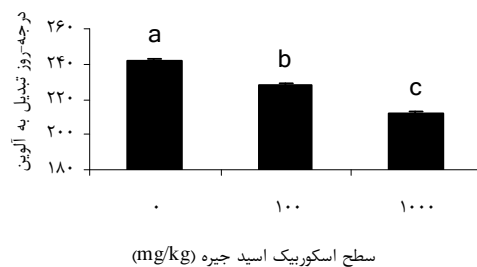
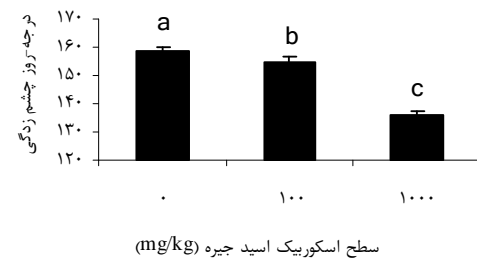
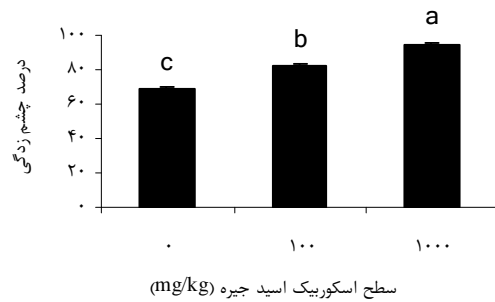
بالاترین مقدار هم‌آوری کاری در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسکوربیک اسید در کیلوگرم جیره غذایی و کمترین آن در تیمار صفر (فاقد اسکوربیک اسید) ملاحظه گردید که این اختلاف معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

کیلوگرم غذا و کمترین مقدار مربوط به جیره فاقد اسکورییک اسید بود.

Blom و Dabrowski در سال ۱۹۹۵ با بررسی تاثیر سطوح مختلف اسکورییک-۲-مونو فسفات در مقادیر صفر، ۳۰، ۱۱۰، ۲۲۰، ۴۴۰ و ۸۷۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی به مدت ۱۰ ماه در مولدین ماده قزل آلائی رنگین کمان ۲ ساله به این نتیجه رسیدند که میزان همآوری در مولدین تغذیه شده با جیره حاوی ۸۷۰ میلی گرم اسکورییک اسید دارای بیشترین مقدار و در مولدین تغذیه شده با جیره کنترل یعنی جیره فاقد اسکورییک اسید کمترین مقدار بود (۶).

در رابطه با درصد چشم زدگی در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد که بالاترین مقدار مربوط به تخم های استحصال شده از مولدین تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم اسکورییک اسید به ازای هر کیلوگرم غذا و کمترین مقدار مربوط به جیره فاقد اسکورییک اسید بود. Dabrowski و همکاران در سال ۱۹۹۴ در تحقیقی مولد ماده قزل آلائی رنگین کمان را با جیره غذایی فاقد اسکورییک اسید و جیره حاوی اسکوربات مونوفسفات با غلظت ۳۰۰ mg/kg طی یک دوره زمانی ۸ ماهه مورد تغذیه قرار دادند. در پایان، از تمام مولدین ماده تغذیه شده با اسکوربات مونوفسفات تخم استحصال شد، در حالیکه تنها نیمی از مولدین گروه فاقد اسکورییک اسید به رسیدگی رسیدند. درصد جنین های تفریخ شده و نیز غلظت اسکورییک اسید در تخم ها و آلون های تازه تفریخ شده در گروه تغذیه شده با جیره غذایی فاقد اسکورییک اسید کمترین مقدار بود و همچنین قابلیت تفریخ در این گروه پایین بود (۹).

در خصوص درصد لقاح در آزمایش حاضر، نتایج نشان داد که بین تخم های بدست آمده از مولدین تغذیه شده با جیره های حاوی ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم اسکورییک اسید به ازای هر کیلوگرم غذا تفاوت معنی داری وجود ندارد



شکل ۱- شاخص های تولید مثلی در ماهیان قزل آلائی تغذیه شده با سطوح مختلف اسکورییک اسید (n=۱۲). حروف غیر مشابه بر روی هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد (p<۰/۰۵).

بحث

نتایج کسب شده طی ۱۶ هفته غذایی و به دنبال آن تکثیر مشخص ساخت که اسکورییک اسید اثر معنی داری بر شاخص های تولید مثلی از جمله درصد لقاح، همآوری، تعداد تخمک در هر گرم و درصد چشم زدگی در مولدین ماده قزل آلائی رنگین کمان دارد. در این آزمایش بیشترین مقدار هم آوری مطلق در مولدین تغذیه شده با جیره حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم اسکورییک اسید به ازای هر

موجود در تخم‌ها می‌شود و تاثیر منفی روی رشد و بلوغ مولدین خواهد داشت (۹). نتایج کسب شده در مورد گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی از جمله قزل‌آلای رنگین‌کمان مشخص ساخت که نیاز به اسکوربیک اسید در مولدین در برخی شاخص‌های تولید مثلی با توجه به نقش مثبت آن، افزایش می‌یابد (۱۲ و ۱۴). همچنین با افزایش میزان اسکوربیک اسید در جیره غذایی مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان، هم‌آوری و بازماندگی جنین‌ها، افزایش می‌یابد (۶ و ۸). با توجه به اثرات مثبت این ریز ماده مغذی در جیره آبزیان در موارد مختلف فیزیولوژیک و تولید مثل و همچنین ضرورت بکار بردن دوزهای مناسب این ویتامین در جیره مولد بویژه در اشکال فسفات‌ه و پایدار آن، نتایج حاصله نشان دادند که مقدار حداقل اسکوربیک اسید مورد نیاز در جیره‌های مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان حدود ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم غذا می‌باشد و پیشنهاد می‌شود برای دست‌یافتن به فاکتورهای مناسب تولید مثلی از نظر کمی و کیفی، نیاز به استفاده از این ویتامین بیشتر از حد مورد نیاز ماهی در نظر گرفته شود.

ولی هر دوی آنها با تخم‌های بدست‌آمده از مولدین تغذیه شده با جیره فاقد اسکوربیک اسید تفاوت معنی‌دار داشتند و مقدار درصد لقاح در آن دو بالاتر بود. در این رابطه همانطور که سایر مطالعات در زمینه تاثیر اسکوربیک اسید بر تولید مثل نشان داده است مقدار مورد نیاز به اسکوربیک اسید در مرحله تولید مثلی بیشتر از مقدار مورد نیاز آن برای رشد می‌باشد (۶).

Blom و Dabrowski در سال ۱۹۹۴ با بررسی تاثیرات جیره‌های فاقد اسکوربیک اسید و حاوی اسکوربیک اسید و اسکوربات مونو فسفات در سه گروه مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان با سن ۲ سال و متوسط وزنی 220 ± 977 گرم به این نتیجه رسیدند که میزان هج تخم‌های بدست‌آمده از مولدین تغذیه شده با جیره فاقد اسکوربیک اسید $6/6 \pm 16$ درصد و درصد هج تخم‌های مولدین تغذیه شده با جیره‌های اسکوربات مونو فسفات $10/7 \pm 36$ درصد بود که تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. آنها پیشنهاد دادند که کاهش اسکوربیک اسید در جیره مولدین برای چندین ماه پیش از تخم‌ریزی به طور قابل ملاحظه‌ای باعث حذف شدن اسکوربیک اسید

منابع

- عبدالحی، ح.، سیدی قمی، م.، مهرابی، ی. ۱۳۸۳. تولید مثل قزل‌آلای رنگین‌کمان. انتشارات موسسه نقش بیان. ۸۳ صفحه.
- فلاح‌تکار، ب. ۱۳۸۶. ساخت اسکوربیک اسید در سه گونه از ماهیان خاویاری (Acipenseriformes) و نقش آن در پارامترهای کمی رشد. مجله زیست‌شناسی ایران، دوره ۲۰، شماره ۱. صفحات ۱۳۷-۱۲۸.
- مهرابی، ی. ۱۳۸۷. مطالعه مقدماتی اثر بیهوشی گل‌درخت میخک بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه پژوهش و سازندگی، دوره ۴۲، شماره ۱۲. صفحات ۱۶۲-۱۶۰.
- نقیسی بهابادی، م. ۱۳۹۳. تغییر شاخص‌های رشد و پاسخ‌های هورمونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در سازش با شوری‌های مختلف محیط پرورشی. مجله پژوهش‌های جانوری، دوره ۲۷، شماره ۳. صفحات ۴۲۹-۴۱۷.
- Beisel, W.R., 1982. Single nutrients and immunity. American Journal of Clinical Nutrition, 35: 417-468.
- Blom, J.H., Dabrowski, K., 1995. Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. Biology of Reproduction 52: 1073-1080.
- Bromage, N.R., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 100:141-166.
- Dabrowski, K., 2001. Ascorbic acid in aquatic organisms. CRC Press. 288p.

9. Dabrowski, K., Blom, J.H., 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108: 129-135.
10. Dabrowski, K., Matusiewicz, K., Matusiewicz, M., Hoppe, P.P., Ebeling, J., 1996. Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition* 2: 3-10.
11. Falahatkar, B., Dobrowski, K., Arslan, M., Rinchar, J., 2006. Effect of ascorbic acid enrichment by immersion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs and embryos. *Aquaculture Research* 37: 834-841.
12. Li, M.H., Robinson, E.H., 1999. Dietary ascorbic acid requirement for growth and health in fish. *Journal of Applied Aquaculture* 9: 53-79.
13. Matusiewicz, M., Dabrowski, K., Ludwig, V., Matusiewicz, K., 1994. Regulation of saturation and depletion of ascorbic acid in rainbow trout. *Journal of Nutritional Biochemistry* 5: 204-211.
14. Sandnes, K., 1991. Vitamin C in fish nutrition. A review. *Fiskeridirektoratet Skrifter. Shavundersokelser*, 4: 3-32.
15. Waagbø, R., Thorsen, T., Sandnes, K., 1989. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 301-314.

Short paper

Effects of L-ascorbyl-2-polyphosphate as vitamin C source on reproductive indices in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*

Ghaderi Z.¹, Falahatkar B.¹, Noveirian H.¹ and Shafaeipoor A.²

¹ Fisheries Dept., Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, I.R. of Iran

² Biology Dept., Faculty of Science, Yasouj University, Yasouj, I.R. of Iran

Abstract

Considering to different effects of ascorbic acid on special body parameters, this study was conducted to investigate the effect of ascorbic acid on reproductive function in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Three diets supplemented with 0, 100 and 1000 mg/kg L-ascorbyl-2-polyphosphate as vitamin C, were fed to rainbow trout broodstocks in three replicates for 16 weeks. Broodstocks with average weight of 812 ± 1.5 g were acclimated to experimental diet for two weeks. After 16 weeks, with the reproductive examination, some parameters including fecundity, percentage of egg fertilization, percentage of eyed egg, degree days to the eyed stage and degree days to alevin stage were measured. Results showed that in all parameters, significant differences were observed among the treatments ($P < 0.05$). Degree days to the eyed stage and degree days to alevin stage had the highest values in fish fed diet without ascorbic acid and the minimum values were related to the diet containing 1000 mg/kg ascorbic acid. Also the highest amount of fecundity was observed in fish fed the diet containing 1000 mg ascorbic acid/kg ($P < 0.05$). With having suitable effect on reproductive performance with feeding of dietary ascorbic acid, the results of the present study recommend that this vitamin should be added with the high level in rainbow trout broodstock diet at least before propagation.

Key words: Rainbow trout, Ascorbic acid, Reproduction