



مقاله علمی - ترویجی:

غنی سازی تخم ماهیان با اسکوربیک اسید

مریم مددی^۱، بهرام فلاحتکار^{*۲}

*falahatkar@guilan.ac.ir

- ۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان
 ۲- گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی دریای خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۱

چکیده

موفقیت در آبزی پروری و از جمله پرورش ماهیان زینتی به تولید انبوه و با کیفیت ماهیان وابسته است. با این حال، شماری از گونه‌های ماهی در طول مراحل توسعه ابتدایی دچار تلفات بالایی می‌شوند. بنابراین، برای به حداقل رساندن تلفات، تولید لاروهای سالم و با کیفیت از مسائل اساسی است. از سویی، یکی از ریزمغذی‌هایی که می‌تواند در سلامت لاروها موثر واقع شود، اسکوربیک اسید است. این ویتامین، طی دوره جنینی و لاروی موجب سرعت در رشد، مقاومت در برابر استرس و بهبود کارایی انکوباسیونی می‌شود، اما توانایی سنتز این ویتامین در بسیاری از ماهیان وجود ندارد و باید از روش‌های دیگر وارد بدن ماهیان از جمله ماهیان زینتی شود. بنابراین، یافتن روش‌های نوین مانند غنی‌سازی می‌تواند منجر به افزایش غلظت این ویتامین در گنادها و تخم ماهیان و به تبع آن تولید مثل موفق‌تر شود. از این رو، مطالعه حاضر به بررسی چگونگی غنی‌سازی تخم ماهیان با اسکوربیک اسید و اثرات این غنی‌سازی بر بهبود روند تولیدمثل و کاهش استرس در ماهیان پرداخته است.

کلمات کلیدی: تولیدمثل، غوطه‌وری، غنی‌سازی، اسکوربیک اسید

مقدمه

مختلف باعث افزایش نرخ لقاح در تخم ماهیان شود و به عبارتی، لقاح را بهبود بخشد (Gammanpila *et al.*, 2007). همچنین اسکوربیک اسید قادر است سبب افزایش نرخ تخم‌گذاری (Gammanpila *et al.*, 2007) و بقا (Dabrowski, 2001) شود. از سوی دیگر، این ریزمغذی در ماهیان زینتی باعث افزایش کیفیت و کمیت همآوری می‌شود (غیاثوند و همکاران، ۱۳۹۵)، بنابراین، اسکوربیک اسید نقش به‌سزایی در رشد و سلامت جنینی دارد و می‌تواند با عملکرد خاص خود در بهبود عملکرد کارگاه‌های تکثیر و رفع مشکلات مذکور موثر واقع شود (Shahkar *et al.*, 2015).

یکی از دیگر معضلات صنعت آبی‌پروری، استرس و اثرات مخرب آن است. در ماهیان زینتی، به علت شرایط مختلف حاکم بر آکواریوم و استرس‌های مربوطه، امکان ابتلا به انواع بیماری‌ها افزایش می‌یابد. امروزه باید با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی، مقاومت ماهیان زینتی را در برابر بیماری‌های عفونی بیشتر کرد. اسکوربیک اسید با اثرات ضد استرس خود می‌تواند منجر به کاهش تاثیرات منفی استرس در این ماهیان و افزایش ایمنی در آنها شود (Ai *et al.*, 2006). هورمون کورتیزول که در پاسخ به استرس ترشح می‌شود، با اثرگذاری بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) باعث کاهش غلظت استروئیدهای جنسی و ویتلوزین و نیز کاهش غلظت گنادوتروپین‌ها در هیپوفیز و پلاسمای خون شود که در نهایت منجر به کاهش کیفیت گامت (Falahatkar *et al.*, 2012) و کاهش درصد بقا در لاروهای تولیدی می‌شود (Valdebenito, 2021). از این‌رو، ارائه راهکارهایی در جهت کاهش اثرات مخرب استرس می‌تواند بر افزایش راندمان کارگاه‌های تکثیر تاثیرات مثبتی داشته باشد.

یکی از دلایل اصلی ترشح کورتیزول هنگام استرس، مقابله بدن با رادیکال‌های آزادی است که در اثر استرس به‌وجود آمده‌اند. در صورت وجود غلظت کافی اسکوربیک اسید در بافت ماهی، بدن با استفاده از این ویتامین به مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌پردازد. بنابراین، سطح کورتیزول بافت‌ها کاهش می‌یابد (Mortiz *et al.*, 2020). علاوه‌براین، اسکوربیک اسید با ممانعت از تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع به استرهای کلسترول که نقش مهمی در ساختار کورتیزول

با توجه به افزایش جمعیت و رشد روز افزون، نیاز به غذا و اهمیت آبیان در سبد غذایی، موفقیت در امر تکثیر و پرورش آبیان و رهاسازی بچه‌ماهیان با هدف بازسازی ذخایر، یک امر مهم محسوب می‌شود. در صنعت آبی‌پروری، فرآیند متغیر و غیر قابل پیش‌بینی تولیدمثل ماهیان یک عامل محدود کننده در تولید لاروهای سالم است (Luo *et al.*, 2015) و رمز موفقیت در این ورطه، تولید تخم‌های با کیفیت و با راندمان بالا و به دنبال آن تولید انبوه بچه ماهیان جوان و سالم است. بنابراین، کاهش تلفات لاروها طی فرآیند تکثیر مصنوعی یک امر مهم تلقی می‌شود (Eckes *et al.*, 2015).

یکی از مشکلات اساسی در تکثیر انواع گونه‌های ماهیان، مناسب نبودن نرخ لقاح، تخم‌گذاری و بقا در تخم‌ها و لاروهای حاصله است. به بیان دیگر، تلفات در دوره جنینی و لاروی یکی از اساسی‌ترین مشکلات در مراکز تکثیر می‌باشد (Bardi *et al.*, 1998). بنابراین، تلاش‌های زیادی برای افزایش بقا و بهبود کارایی انکوباسیون در ماهیان صورت می‌گیرد. دستیابی به تکنیک ایده‌آل در افزایش بقا لارو ماهیان می‌تواند بهبود تکنیک‌های پرورش و نیز مدیریت بهینه کارگاه‌های تکثیر را به دنبال داشته باشد (Dabrowski *et al.*, 1985).

ویتامین‌ها اثرات شگرفی بر تقویت سیستم ایمنی ماهیان دارند (Montero *et al.*, 1999). از بین ویتامین‌های مختلف، اسکوربیک اسید نقش کلیدی به عنوان یک عامل مشترک در بسیاری از عملکردهای بیولوژیک مانند هیدروکسیلاسیون و تشکیل کلاژن، تولیدمثل، مقاومت در برابر بیماری و استرس و پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند (Dabrowski, 2001). اثرات کمبود اسکوربیک اسید در ماهی می‌تواند به صورت کاهش سرعت رشد، بدشکلی‌های فیزیکی (اسکولیوزیز و لوردوزیز)، تأخیر در بهبود زخم، کاهش مقاومت در برابر عفونت‌ها، آلودگی‌های محیطی و سایر استرس‌ها بروز پیدا کند (Dabrowski, 2001; Halver, 2002).

علاوه بر فواید مذکور، اسکوربیک اسید یکی از موادی است که می‌تواند با عملکرد خاص خود منجر به افزایش کارایی انکوباسیون (افزایش نرخ لقاح، تخم‌گذاری و بقا) شود. از سوی دیگر، این ویتامین می‌تواند از طریق مکانیسم‌های

رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Blom and Dabrowski, 1995b) دیده شده است. در مطالعات اشاره شده است که در صورت وجود این ویتامین در جیره ماهی مولد، تولید مثل با کیفیت تری در گونه‌های مختلفی نظیر قزل آلی رنگین کمان (Blom and Dabrowski, 1995a)، تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) (Soliman et al., 1986)، کاد (Mangor-Jensen and Holm, 1994) و سوف زرد (Lee and Dabrowski, 2004) مشاهده می‌شود. در مطالعه Waagbø و همکاران (۱۹۸۹) مشاهده شد ماهیانی که جیره غذایی آنها فاقد اسکوربیک اسید بود، دچار کاهش تولید ۱۷ تا-استرادیول و ویتلوژنین در تخمدان شدند که این امر بیانگر اهمیت این ویتامین در مراحل تکامل تخمدان است. استفاده از جیره‌های حاوی اسکوربیک اسید احتمال دستیابی که ماهیان ماده را به مرحله رسیدگی افزایش می‌دهد در حالی که در ماهیان تغذیه شده با جیره فاقد این ویتامین، احتمال دستیابی به رسیدگی لازم برای استحصال تخم کمتر است (Dabrowski and Ciereszko, 2001). نکته مهم این که اسکوربیک اسید از طریق انتقال فعال از ذخایر زرده به بدن لارو منتقل می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که با توجه به سابقه والدین (وجود اسکوربیک اسید در جیره غذایی طی دوره گنادوژنز)، میزان این ویتامین می‌تواند در تخم لقاح نیافته و پس از آن در بدن لارو افزایش یابد (Bell et al., 1997). به دنبال افزایش غلظت اسکوربیک اسید در تخم و لاروها در بعضی از گونه‌ها به دلیل متابولیسم این ویتامین طی دوره جنینی و تغذیه فعال، میزان آن در این دوران می‌تواند ۲۰-۵۰ درصد کاهش یابد (Blom and Dabrowski, 1998).

شایان ذکر است، اسکوربیک اسید باعث کاهش اثرات استرس می‌شود و این امر به خاطر آن است که رهاسازی هورمون‌های استرسی به وسیله سلول‌های بین کلیوی و کرومافین توأم با مصرف بالای اسکوربیک اسید است. بنابراین، در صورت حضور قابل توجه این ریزمغذی در جیره غذایی ماهیان، اثرات مثبت ضد استرسی آن قابل مشاهده است (Falahatkar et al., 2015). در مطالعات متعددی اقدام به افزودن اسکوربیک اسید به جیره ماهیان جهت مشاهده اثرات ضد استرسی آن شده است. در واقع، این ویتامین هنگام وقوع استرس به صورت یک

ایفا می‌کنند، منجر به کاهش میزان کورتیزول در هنگام وقوع استرس می‌شود (Montero et al., 1999).

اغلب ماهیان به علت فقدان آنزیم ال-گلونولاکتون-اکسیداز (GLO) قادر به سنتز اسکوربیک اسید نمی‌باشند. با توجه به اثرات مثبت متعدد این ریزمغذی در بخش‌های مختلف از جمله بهبود روند تولیدمثل و کاهش اثرات مخرب استرس، لزوم افزایش غلظت آن در بدن ماهیان وجود دارد. پس برای وقوع این امر می‌توان از طرق مختلفی عمل کرد. یکی از این طرق، تغذیه ماهی با جیره غنی از اسکوربیک اسید و راه دیگر غنی‌سازی تخم‌های لقاح یافته با این ویتامین است.

روش‌های افزایش اسکوربیک اسید در بدن ماهیان

تغذیه با جیره‌های حاوی اسکوربیک اسید

در مطالعات متعددی اقدام به افزودن مقادیر متفاوتی از اسکوربیک اسید به جیره ماهیان برای مشاهده چگونگی عملکرد این ویتامین شده است. طی بلوغ گنادی، ماهی ماده نیازمند جیره‌های غنی از مواد مغذی است تا بتواند بقا و سلامت لاروهای حاصل را در زمان تغذیه داخلی آنها تضمین کند (Lavens et al., 1999). تجمع مواد غذایی ضروری در تخم ماهی، به مواد مغذی ذخیره شده در بدن ماهی ماده و به تبع آن به جیره غذایی آن طی بلوغ گنادی بستگی دارد (Bell et al., 1997). میزان غلظت بالای اسکوربیک اسید در گناد ماهی ارتباط به خصوص این ماده را با تولیدمثل نشان می‌دهد. یافته‌ها نشان می‌دهند که غلظت اسکوربیک اسید گناد طی فرآیند گامتوژنز تغییر می‌کند، هرچند که این تغییرات همیشه یکسان نیست. برای مثال، هنگام گامتوژنز این ویتامین در کپورماهیان افزایش (Seymour, 1981) و در ماهیانی مانند سوف زرد (*Perca flavescens*) (Dabrowski and Ciereszko, 1996)، ماهی کاد (*Gadus morhua*) (Sandnes and Braekkan, 1984) و کفشک (*Limanda limanda*) (Saborowski et al., 1997) کاهش می‌یابد. در صورت افزایش میزان این ویتامین در جیره، میزان آن در گناد نیز افزایش می‌یابد که این امر در ماهی کاد (Mangor-Jensen and Holm, 1994) و قزل‌آلی

غنی‌سازی تخم با استفاده از اسکوربیک اسید

یکی از روش‌های ممکن برای غنی‌سازی تخم با ویتامین‌ها در مراحل اولیه رشد و نمو، غوطه‌وری تخم در حمامی با غلظت بالای این ترکیبات است. در روش غوطه‌وری زمانی که تخم ماهی در حال جذب آب است، می‌تواند قبل از سفت شدن موادی مانند ویتامین‌ها و مواد معدنی یا حتی هورمون‌ها را به صورت محلول در آب به خود جذب کند (Falahatkar et al., 2006; Alinezhad et al., 2020). مکانیسم عملکرد روش غوطه‌وری به این صورت است که مواد از طریق انتشار غیرفعال در غشاء چربی تخم‌ها جذب می‌شوند (Cagauan et al., 2004). غلظت بالای اسکوربیک اسید در تخم‌ها، سبب انتقال این ویتامین به جنین و لاروها می‌شود (Blom and Dabrowski, 1995a). بنابراین، استفاده از روش غنی‌سازی می‌تواند منجر به مشاهده اثرات مثبت اسکوربیک اسید طی دوره جنینی و لاروی ماهیان شود.

در مطالعات مختلف تکنیک غنی‌سازی تخم ماهیان با استفاده از مواد متنوعی و با اهداف متعددی صورت گرفته که در جدول ۱ شرح این مطالعات ارائه شده است.

با توجه به مطالعات متعدد، غنی‌سازی تخم ماهی با اسکوربیک اسید می‌تواند باعث افزایش غلظت این ماده در تخم و به تبع آن، افزایش کیفیت گامت، بهبود بقا و افزایش رشد لاروهای حاصل شود. همچنین افزایش میزان این ویتامین در تخم و به دنبال آن عملکرد این ویتامین در بدن لارو، می‌تواند باعث کاهش اثرات مخرب استرس در لارو ماهی شود. در واقع، تولید لاروهایی با میزان بالای اسکوربیک اسید در بدن، احتمالاً سبب افزایش کارایی انکوباسیونی و نهایتاً بهبود عملکرد مراکز تکثیر می‌شود. بنابراین، استفاده از این ویتامین جهت غنی‌سازی تخم ماهیان توصیه می‌شود.

جهت غنی‌سازی تخم ماهیان با استفاده از اسکوربیک اسید، ابتدا محلول غنی‌سازی با استفاده از اختلاط پودر اسکوربیک اسید و آب با غلظت مناسب ساخته می‌شود. سپس برای خنثی‌سازی pH محلول غنی‌سازی که در اثر خاصیت اسیدی اسکوربیک اسید به وجود می‌آید، از NaOH تا رسیدن به pH ۷ استفاده می‌شود.

حفاظت‌کننده از بدن در برابر افزایش بیش از حد مقدار کورتیزول عمل می‌کند. نشان داده شده است که وقتی ماهیان در معرض استرس مزمن (هایپوکسی، ازدحام، تراکم و دمای نامتعارف) قرار می‌گیرند، اگر با دوزهای بالای اسکوربیک اسید تغذیه شوند، مقاومت ایمنی بیشتری نشان می‌دهند و در نتیجه واکنش بهتری به همراه خواهند داشت (Ren et al., 2008). در مطالعه Ishibashi (۱۹۹۲) بیان شد که وجود مقادیر مشخصی از این ویتامین در جیره می‌تواند موجب کاهش تلفات هنگام وقوع استرس‌های ناشی از کمبود اکسیژن شود. Henrique و همکاران (۱۹۹۸) در مطالعه‌ای اثرات تغذیه ماهی سیم دریایی (*Sparus aurata*) با جیره حاوی اسکوربیک اسید را بررسی و مشاهده کردند که رابطه‌ای بین اسکوربات جیره و استرس در شرایط هایپوکسی وجود دارد و ماهیانی که جیره غذایی فاقد مکمل اسکوربیک اسید دریافت می‌کنند، افزایش گلوکز پلاسما و تمایل به تغییرات بیشتر کورتیزول پلاسما را به نسبت ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی مکمل نشان می‌دهند. Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه خود نشان دادند که تغذیه لارو سوف والای (*Stizostedion vitreum*) با ناپلی آرتیمیای غنی‌شده با اسکوربیک اسید منجر به بهبود پاسخ‌های استرسی در این ماهی می‌شود. علاوه بر این، در مطالعه Peng و همکاران (۲۰۱۳) نیز تایید شد که افزایش اسکوربیک اسید در جیره ماهی حلوا سفید (*Pampus argenteus*) منجر به کاهش کورتیزول و گلوکز در سرم خون ماهیان می‌شود. Falahatkar و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه خود مبنی بر افزودن اسکوربیک اسید به جیره فیل‌ماهی (*Huso huso*) بیان کردند که ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا بیشتر از اسکوربیک اسید، سطح کمتری از کورتیزول را به نسبت ماهیان تغذیه نشده با این ویتامین در خون خود دارند و به تبع آن بهتر می‌توانند در مقابل استرس از خود محافظت کنند. نتایج مشابهی مبنی بر اثر کاهنده اسکوربیک اسید بر استرس در ماهی باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Islam et al., 2021) و تیلاپپای نیل (Hathout et al., 2021) نیز دیده شده است.

جدول ۱: تجارب غنی‌سازی تخم یا جنین و لارو ماهیان با ترکیبات مختلف

منبع	نتیجه	نحوه استفاده	ماده مورد استفاده	گونه ماهی
Caguan و همکاران (۲۰۰۴)	موفقیت در ایجاد تغییر جنسیت در ماهی	غوطه‌وری در هورمون با دوزهای صفر، ۰٫۲۰۰، ۰٫۴۰۰، ۰٫۶۰۰ و ۸۰۰ µg/L	۱۷- α متیل تستوسترون	تیلاپای نیل
Brown و همکاران (۲۰۰۵)	افزایش غلظت تیامین در تخم	در معرض قرارگیری با غلظت‌های صفر، ۰٫۱۰، ۰٫۲۵۰، ۰٫۵۰۰ و ۷۵۰ mg/L	تیامین محلول در آب	قزل‌آلای جویباری (<i>Salvelinus namaycush</i>) و ماهی آزاد کوهو
Falahatkar و همکاران (۲۰۰۶)	افزایش بقا در تیمارهای غنی‌شده	غنی‌سازی با دوزهای صفر، ۰٫۵۰۰، ۱۰۰۰ mg/L از ویتامین به همراه سود (NaOH) برای تنظیم pH و دوز ۱۰۰۰ mg/L از ویتامین بدون استفاده از NaOH	اسکوربیک اسید	قزل‌آلای رنگین کمان
Taati و همکاران (۲۰۱۰)	افزایش میزان چشم‌زدگی و نرخ هج در تیمارهای غنی‌شده، عدم تاثیرگذاری بر رشد و مقاومت در برابر استرس دمایی	غنی‌سازی با دوزهای صفر، ۰٫۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ mg/L	اسکوربیک اسید	ماهی کاراس (<i>Carassius gibelio</i>)
Farahi و همکاران (۲۰۱۱)	افزایش مقاومت در برابر استرس دمایی در لاروهای حاصله از تخم‌های غنی‌شده، عدم اثرگذاری معنی‌دار بر نرخ بقا و رشد	غنی‌سازی با دوزهای صفر، ۰٫۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ mg/L	اسکوربیک اسید	ماهی آنجل (<i>Pterophyllum scalare</i>)
Francis و همکاران (۲۰۱۲)	افزایش نرخ هج، افزایش تکثیر سلولی و رشد سوماتیک در طی دوره جنینی	در معرض قرارگیری با ۶-۱۲ mM از لیپولیتیک‌اسید و ۱۰۰-۱۲ mM از ویتامین	آنتی‌اکسیدان لیپوئیک-اسید و اسکوربیک اسید	جنین ماهی زبرا (<i>Danio reiro</i>)
Ghasemi و همکاران (۲۰۱۳)	افزایش درصد تخم‌های چشم‌زده و نرخ هج، ایجاد مقاومت مناسب در برابر تنش غلظت بالای آمونیاک	غنی‌سازی با دوزهای صفر، ۰٫۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ mg/L	اسکوربیک اسید	ماهی آمور (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)
Leonardo و همکاران (۲۰۱۳)	افزایش رشد، عدم تاثیر بر نرخ هج و بقا	غنی‌سازی با دوزهای صفر، ۰٫۰۱، ۰٫۱ mg/L، ۰٫۱۰۵	هورمون تری‌یدوتیرونین	ماهی <i>Brycon amazonicus</i>

منبع	نتیجه	نحوه استفاده	ماده مورد استفاده	گونه ماهی
Alinezhad و همکاران (۲۰۲۰)	افزایش کارایی تخم‌گشایی و همچنین بهبود نرخ بقا	غوطه‌وری در دوزهای صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ mg/L	هورمون تیروکسین	جنین و لاروهای ماهی استرلیاد (Acipenser ruthenus)
مددی، ۱۴۰۰	افزایش نرخ بقا در طی دوره جنینی و در هنگام بروز استرس	در معرض قرارگیری با دوزهای صفر، ۱۰۰، ۱۰۰۰ mg/L	اسکوربیک اسید	تاسماهی سبیری (Acipenser baerii)

حلب (*Schwanenfeldii Barbonymus*). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۹: ۳۱۸-۳۲۶.

مددی، م.، ۱۴۰۰. غنی‌سازی تخم لقاح یافته تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) با سطوح مختلف اسکوربیک اسید و اثر آن بر عملکرد انکوباسیونی، تجمع بافتی و پاسخ‌های استرسی در مراحل لاروی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان، ۱۰۱ ص.

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Wei, X., Zhang, W., Hongming, M. and Liufu, Z., 2006. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture*, 261:327-336.

Alinezhad, S., Abdollahpour, H., Jafari, N. and Falahatkar, B., 2020. Effects of thyroxine immersion on Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) embryos and larvae: Variations in thyroid hormone levels during development. *Aquaculture*, 519:734-745.

Bardi, R.W., Chapman, F.A. and Barrows, F.T., 1998. Feeding trials with hatchery produced Gulf of Mexico sturgeon larvae. *Progressive Fish-Culturist*, 60:25-31.

Bell, J.G., Farndale, B.M., Bruce, M.P., Navas, J.M. and Carillo, M., 1997. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 149:107-119.

در مرحله بعد، تخم ماهیان پس از انجام مراحل لقاح و رفع چسبندگی، جهت جذب ویتامین برای یک بازه زمانی ۴۵ دقیقه‌ای در معرض محلول غنی‌سازی قرار می‌گیرند. اسکوربیک اسید هنگام جذب آب به‌وسیله تخم‌ها به صورت محلول وارد دیواره تخم می‌شود و منجر به افزایش غلظت این ویتامین در ساختار تخم خواهد شد.

علاوه بر غنی‌سازی، روش‌های نوینی نیز جهت انتقال اسکوربیک اسید و افزایش غلظت آن در تخم ماهیان وجود دارد. از جمله این روش‌ها می‌توان به تزریق ویتامین به مولدین ماده پیش از تکثیر آنها اشاره کرد. به‌نظر می‌رسد، با استفاده از تزریق اسکوربیک اسید به طور متعدد و در فواصل مشخص، امکان افزایش غلظت آن در تخم ماهیان وجود دارد.

توصیه ترویجی

استفاده از روش غنی‌سازی جهت بهبود روند تکثیر مصنوعی گونه‌های ارزشمند و در معرض انقراض ماهیان از جمله ماهیان خاویاری مفید واقع می‌شود و می‌تواند به عنوان یک شیوه کاربردی در عملیات تکثیر مورد توجه قرار گیرد. استفاده از دوزهای در محدوده ۱۰۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسکوربیک اسید جهت غنی‌سازی تخم ماهیان به منظور افزایش درصد بقا، افزایش مقاومت در شرایط وقوع استرس حاد و نیز بهبود روند رشد در لاروهای حاصله توصیه می‌شود.

منابع

غیاثوند، ز.، احمدی، ز.، علامه، م.، چنگیزی، ر.، ۱۳۹۵. اثر سطوح مختلف ویتامین C بر رشد، تغذیه، بازماندگی و برخی پارامترهای خونی و ایمنی ماهی آکواریومی بارب

- Blom, J.H. and Dabrowski, K., 1995a.** Dietary ascorbyl phosphate results in high ascorbic acid content in eggs of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112A:75-79
- Blom, J.H. and Dabrowski, K., 1995b.** Reproductive success of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biology of Reproduction*, 52:1073-1080.
- Blom, J.H. and Dabrowski, K., 1998.** Continuous of "pulse-and-withdraw" supply of ascorbic acid in the diet: a new approach to altering the bioavailability of ascorbic acid, using teleost fish as a scurvy-prone model. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 68:88-93.
- Brown, S.B., Brown, L.R., Brown, M., Moore, K., Villella, M., Fitzsimons, J.D., Williston, B., Honeyfield, D.C., Hinterkopf, J.P., Tillitt, D.E., Zajicek, J.L. and Wolgamood, M., 2005.** Effectiveness of egg immersion in aqueous solutions of thiamine and thiamine analogs for reducing early mortality syndrome. *Journal of Aquatic Animal Health*, 17:106-112.
- Cagauan, A.G., Baleta, F.N. and Abucay, J.S., 2004.** Sex reversal of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. by egg immersion technique: the effect of hormone concentration and immersion time. 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture Philippine International Convention Center Roxas Boulevard, Manila, Philippines.
- Dabrowski, K., Kaushik, S.J. and Fauconneau, B., 1985.** Rearing of sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt) larvae: I. Feeding trial. *Aquaculture*, 47:185-192.
- Dabrowski, K., 2001.** Ascorbic Acid in Aquatic Organisms: Status and Perspectives. CRC Press, Boca Raton, FL, 288 p.
- Dabrowski, K. and Ciereszko, A., 2001.** Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. *Aquaculture Research*, 32:623-638.
- Eckes, O.T., Aloisi, D.B. and Sandheinrich, M.B., 2015.** Egg and larval development index for Lake sturgeon. *North American Journal of Aquaculture*, 77:211-216.
- Falahatkar, B., Akhavan, S.R., Efatpanah, I. and Meknatkhah, B., 2012.** Primary and secondary responses of juveniles of a teleostean, Pikeperch *Sander lucioperca*, and a chondrosteian, Persian sturgeon *Acipenser persicus*, to handling during transport. *North American Journal of Aquaculture*, 74: 241-250.
- Falahatkar, B., Dabrowski, K., Arslan, M. and Rinchar, J., 2006.** Effects of ascorbic acid enrichment by immersion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) eggs and embryos. *Aquaculture Research*, 37:834-841.
- Falahatkar, B., Soltani, M., Abtahi, B., Kalbassi, M.R. and Pourkazemi, M., 2015.** The role of dietary L-ascorbyl-2-polyphosphate on the growth and physiological functions of beluga, *Huso huso* (L innaeus, 1758). *Aquaculture Research*, 46:3056-3069.
- Farahi, A., Kasiri, M., Sudagar, M. and Talebi, A., 2011.** The effect of ascorbic acid on hatching performance and tolerance against environmental stressor (high temperature) by immersion of angel fish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823) fertilized eggs. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3:121-125.

- Francis, S., Delgoda, R. and Young, R., 2012. Effects of embryonic exposure to α -lipoic acid or ascorbic acid on hatching rate and development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Research*, 43:777-788.
- Gammanpila, M., Yakupitiyage, A. and Bart, A.N., 2007. Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and zinc supplementation on reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science*, 12:39-60.
- Ghasemi, R., Yazdanparast, T., Esfahani, H.K., Razavi, S.P. and Keley, M.M.T., 2013. Evaluation the influence of ascorbic acid on hatching performance and tolerance Against High Ammonia Concentration by Immersion of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fertilized eggs. *Science Series Data Report*, 5:91-98.
- Halver, J.E., 2002. The vitamins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.). *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, 62-141
- Hathout, H.M., Sobhy, H.M., Abou-Ghanima, S. and El-Garawani, I.M., 2021. Ameliorative role of ascorbic acid on the oxidative stress and genotoxicity induced by acetamiprid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 21:1-13.
- Henrique, M.M.F., Gomes, E.F., Gouillou-Coustans, M.F., Oliva-Teles, A. and Davies, S.J., 1998. Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 161:415-426.
- Ishibashi, Y., Kato, K., Ikeda, S. J., Murata, O., Nasu, T. and Kumai, H., 1992. Effects of dietary ascorbic acid on tolerance to intermittent hypoxic stress in Japanese parrot Fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 11:2147-2152.
- Islam, M.J., Kunzmann, A., Henjes, J. and Slater, M.J., 2021. Can dietary manipulation mitigate extreme warm stress in fish? The case of European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 545:1-18.
- Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., Cihla, F., Mahan, D. and Dabrowski, K., 2000. The effect of vitamins C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artemia* nauplii on growth, survival, and stress resistance of fresh water walleye *Stizostedion vitreum* larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6:199-206.
- Lavens, P., Lebegue, E., Jaunet, H., Brunel, A., Dhert, P. and Sorgeloos, P., 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on egg quality in turbot broodstocks. *Aquaculture International*, 7:225-240.
- Lee, K.J. and Dabrowski, K., 2004. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture*, 230:377-389.
- Leonardo, A.F.G., Hoshiba, M.A., Urbinati, E.C. and Senhorini, J.A., 2013. Improvement of matrinxã, *Brycon amazonicus*, larviculture by exposing eggs to triiodothyronine. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44:141-147.
- Luo, L., Ai, L., Li, T., Xue, M., Wang, J., Li, W. and Liang, X., 2015. The impact of dietary DHA/EPA ratio on spawning performance, egg and offspring quality in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Aquaculture*, 437:140-145.
- Mangor-Jensen, A., Holm, J.C., Rosenlund, G., Lie, Ø. and Sandnes, K., 1994. Effects of dietary vitamin C on maturation and egg quality of cod

- Gadus morhua* L. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25:30-40.
- 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 gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, 171:269-278.
- Moritz, B., Schmitz, A.E., Rodrigues, A.L.S., Dafre, A.L. and Cunha, M.P., 2020.** The role of vitamin C in stress-related disorders. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 85:108-178.
- Peng, S.M., Shi, Z.H., Fei, Y., Gao, Q.X., Sun, P. and Wang, J.G., 2013.** Effect of high dose vitamin C supplementation on growth, tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation stress in juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 29:1337-1341.
- 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. *Aquaculture Nutrition*, 14:416-422.
- Sandnes, K., Ulgenes, Y., Braekkan, O.R. and Utne, F., 1984.** The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 43:167-177.
- Shahkar, E., Yun, H., Kim, D.J., Kim, S.K., Lee, B.I. and Bai, S.C., 2015.** Effects of dietary vitamin C levels on tissue ascorbic acid concentration, hematology, non-specific immune response and gonad histology in brood stock Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, 438:115-121.
- Soliman, A.K., Jauncey, K. and Roberts, R.J., 1986.** The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 52:1-10.
- Taati, M.M., Mehrad, B. and Shabani, A., 2010.** The effect of ascorbic acid on hatching performance and tolerance against environmental stressor (high temperature) by immersion of Prussian carp (*Carassius gibelio*) fertilized eggs. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation*, 3:219-225.
- Valdebenito, I.I., Gallegos, P.C. and Effer, B.R., 2021.** Gamete quality in fish: evaluation parameters and determining factors. *Zygote*, 23:177-197.
- Waagbø, R., Thorsen, T. and Sandnes, K., 1989.** Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 80:301-314.

Enrichment of fish eggs with ascorbic acid

Madadi M.¹; Falahatkar B.^{1,2*}

*falahatkar@guilan.ac.ir

1-Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran

2-Department of Marine Sciences, The Caspian Sea Basin Research Center, University of Guilan, Rasht, Guilan, Iran

Abstract

Success in aquaculture depends on the mass production and quality of juveniles. However, many fish species suffered high losses during the early stages of development. Therefore, in order to decrease mortality, produce a large number of healthy larvae is a fundamental issue. On the other hand, one of the micronutrients that can be effective in larvae health is ascorbic acid. During the embryonic and larval periods, this vitamin causes accelerate growth, stress resistance and improving incubation performance. But the ability to synthesize this vitamin does not exist in many fishes and it must enter the fish body through another ways. Therefore, finding new methods such as enrichment can lead to an increase in the concentration of this vitamin in gonads and fish eggs and consequently more successful reproduction. Accordingly, the present study investigated how to enrich fish eggs with ascorbic acid and the effects of enrichment on improving the reproduction process and reducing stress in fishes.

Keywords: Reproduction, Immersion, Enrichment, Ascorbic acid