مجلة العلوم الحديثة والتراثية ، 2013 ، 1 (2) : 219 – 224 .
http://www.jmsh.eu

تأثير أضافة فيتامين C على حيوية حيامن أسماك الكارب العادي (*Cyprius carpio* L.)

مريم جاسم العلكاوي و علي عباس فاضل و خلود جميل عبد الحسين
و سليمان داود محمد
مركز الثروة الحيوانية والسمكية / دائرة البحوث الزراعية / وزارة العلوم والتكنولوجيا / العراق.

الخلاصة

تم تحديد ثلاث تراكيز من فيتامين C (250 و 500 و750) ملغم فيتامين C / كغم غذاء لتقدير حيوية الحيامن لأسماك الكارب العادي *Cyprius carpio* L. بالاضافة الى عليقة السيطرة الخالية من فيتامين C . أشارت النتائج الى أن أفضل تركيز كان 750 فيتامين C / كغم غذاء ، أذ أعطى نتائج أيجابية في تقدير حيوية الحيامن (تركيز الحيامن ، حركة الحيامن ، فعالية الحيامن والاس الهيدروجيني) مع ذلك لوحظ زيادة في حركة الحيامن للتركيزين الاخرين مقارنة بمجموعة السيطرة لكن التأثير كان غير معنوي ($P < 0.05$) .

Effect of vitamin C on the sperm vitality of common carp fish (*Cyprius carpio* L.)

Mariam J. Al-Algawy, Ali A. Fadhl, Kulood J. Abd-Alhussan and Sulaman D. Mohamad
Center of Animal Resources and Fisheries, Agricultural Research Service, Ministry of Science and Technology, Iraq.

Abstract

Three concentrations were identified of vitamin C (250, 500 and 750) mg vitamin C / kg diet to estimate vital sperm of common carp fish *Cyprius carpio* L. in addition to diet-free control of vitamin C. The results indicated that the best concentration was 750 vitamin C/kg diet, as gave positive results in estimating vital sperm (concentration sperm, movement sperm, effective sperm and pH) with the observed increase in the movement of sperm for concentrations other Comparison range control, but the effect was not moral ($P <0.05$).

المقدمة

أن الصفات الحياتية للسائل المنوي من المتطلبات المهمة لتطوير تقنيات التلقيح الاصطناعي للأسماك . كما أن العديد من المواد المغذية كالأحماض الدهنية والاحماض الامينية والبروتينات والمعادن والفيتامينات لها تأثير واضح على دلائل النمو كذلك لها تأثير على التكاثر وعلى نوعية وكمية الامشاج الذكرية والانثوية كما أن العوامل البيئية والوراثية لها تأثير أيضا (1) . فيتامين C من الفيتامينات التي تحتاجها الاسماك بكميات قليلة لكنها تلعب دورا" هاما" في حياة وصحة الاسماك وتأتي أهمية دراسة خصائص السائل المنوي لغرض فهم العمليات التي تحدث أثناء التكثير الاصطناعي (2) وكذلك لغرض تقييم قابلية التكاثر لمختلف أنواع الاسماك (3). مع ذلك متطلبات التغذية للاسماك

تختلف حسب أحتياج الاسماك سواء لأغراض النمو أو التكاثر ومنها الفيتامينات كفيتامين C والذي لم يدرس تأثيره بشكل واسع على ذكور الاسماك فقط بعض الدراسات التي أشارت الى زيادة مقدرته على حركة وسعة الاخصاب لحيامن اسماك الكارب العشبي أذ زادت الحركة وسعة الاخصاب بزيادة فيتامين C لمستوى 800 ملغم / غم غذاء (4) وبينت دراسة (5) أن لفيتامين C دور مهم في الحصول على نسبة أخصاب عالية وعلى يرقات بمواصفات وراثية عالية للاستزراع ، كما أن الخصائص المظهرية للحيامن وحركتها والمدة الزمنية للحركة من العوامل المهمة في نجاح عملية أخصاب البيض (6). من المعروف أن معظم الاسماك العظمية لا تستطيع تصنيع فيتامين C في خلاياها كونها لا تستطيع تكوين أنزيم L-Gulonolacton Oxidase (GLO) الذي يخلق فيتامين C من الكلوكوز وهو الانزيم المسؤول عن تصنيع فيتامين C في الجسم (7) ويعمل فيتامين C كمانع للتأكسد للمناسل الذكرية (8) كما أنه يحمي الخلايا الجرثومية ضد تحطم DNA وأكسدة بروتين البلازما المنوية (9) . كما أشار دحام وجماعته (10) الى أمكانية استخدام المواصفات الطبيعية للسائل المنوي في عدة تطبيقات أهمها تقنية التكثير الاصطناعي للاسماك وحفظ النواتج الجنسية والتي تمثل الخطوة الاولى في تنمية الثروة السمكية في العراق .هدفت الدراسة الحالية الى أهمية استخدام فيتامين C في غذاء الاسماك وبالأخص في زيادة حيوية ذكور الاسماك للاستفادة من نشاطها في عمليات التكثير الاصطناعي للأسماك لتقليل النقص الحاصل في نوعية وكمية اليرقات في مفاقس الاسماك .

المواد وطرائق العمل

الاسماك وتكوين العليقة :

الاسماك المستخدمة في هذه الدراسة ذكور أسماك الكارب العادي *Cyprius carpio* L. التي تم شراؤها من الاسواق المحلية عدد 16 سمكة وبوزن يتراوح من 1200 - 1600 غم وبعمر 2^{+}- 3 $^{+}$سنة ، طبقت التجربة في مركز الثروة الحيوانية والسمكية وبدأ العمل عليها لمدة ثلاثة أشهر أبتداءاً" من شهر شباط 2012 ، وضعت خلالها الاسماك في أحواض بلاستك لغرض تعقيمها بمادة الفورمالين بتركيز 10 مل / 100 لتر لمدة 15 دقيقة على درجة حرارة المختبر(18-22) م° لمدة أسبوع لمعالجة الذكور من أي أثار أصابة مترتبة جراء عملية الصيد (11) بعدها نقلت الاسماك الى أحواض زجاجية (3 ×2 ×1) سم^{3} . قسمت الاسماك عشوائيا" بواقع 2 سمكة لكل تركيز وبمكررين ، تم شراء فيتامين C من الاسواق المحلية (باودر 0.5 كغم / صنع في الاردن) وتم عمل العليقة كما موضح في جدول رقم (1) وقسمت العليقة الى أربعة أقسام :

1- عليقة خالية من فيتامين C (عليقة سيطرة).
2 -عليقة تحتوي على 250 ملغم فيتامين C /كغم غذاء .
3-عليقة تحتوي على 500 ملغم فيتامين C /كغم غذاء .
4-عليقة تحتوي على 750 ملغم فيتامين C /كغم غذاء .

وكان حجم الغذاء 6 ملم ويعطى مرتان باليوم (8 صباحا" و2 ظهرا") وحسب الغذاء بتركيز 8% من وزن الجسم . كما تم التحليل الكيمياوي للعليقة ، جدول (2) .

جمع الحيامن :

تم جمع السائل المنوي من الاسماك لكل تركيز بعد أن غذيت على التراكيز المختلفة من فيتامين C أذ تم تحفيز أطلاق السائل المنوي بوساطة الحقن الهرموني لمستخلص الغدة النخامية لاسماك الكارب العادي بتركيز 3 ملغم / كغم وأستحصل على السائل المنوي من الذكور بعد تخديرها بمادة القرنفل (190 ملغم / لتر) لمدة 15 ثانية (12) والغرض من الجمع لتقدير حجم السائل المنوي في وعاء الجمع حيث تم قياس عدد الحيامن بأستخدام شريحة عد كريات الدم Haemocytometer وبعد تخفيف السائل المنوي المستخرج وبنسبة (1: 2000) تؤخذ قطرة من السائل المخفف بعد وضعها على شريحة زجاجية Slide وتغطى بغطاء الشريحة Cover slip ويتم العد تحت المجهر بقوة تكبير X 400 وبتطبيق المعادلة الخاصة بعدد المربعات يستخرج عدد الحيامن لكل سم^3 (9) وأستخراج التركيز (عدد الحيامن ×10^9/ مل) وذلك بملء أنبوبة شعرية دقيقة بحجم من السائل المنوي (0.02) مللتر ووضعها في جهاز الطرد المركزي Haemosermatocrit لمدة ثلاث دقائق وبواسطة قرص خاص لهذا الغرض وفيه تدريج يتم حساب حجم الخلايا المترسبة في قعر الانبوبة نسبة الى السائل الذي يكون بالأعلى . وحسبت فعالية الحيمن وحركته (Motility) وهي نسبة الحيامن التي تتحرك باتجاه الامام اعتمادا" على طريقة (13) وحساب مدة الفعالية (Duration of Motility) باستخدام ساعة توقيت رقمية (لأقرب ثانية) لتقدير الوقت الذي تتوقف فيه أكبر نسبة من الحيامن 90 % عن الحركة باتجاه الامام وذلك بأخذ قطرة من السائل المنوي وتوضع فوق شريحة زجاجية ثم يضاف لها قطرة من ماء الحوض ويوضع فوقها غطاء الشريحة وتفحص تحت المجهر على قوة تكبير400 X ونلاحظ الحركة الجماعية للحيامن ونسبة المتحرك منها وكذلك حيويتها (4) .

الاس الهيدروجيني pH :

يتم حساب درجة الاس الهيدروجيني للسائل المنوي بأستخدام ورق البتموس ولاقرب 0 .2 درجة (10).

التحليل الاحصائي :

استخدمت طريقة التجارب العاملية بتحليل بيانات التجربة وأستخدم البرنامج الاحصائي الجاهز Statistical Analysis System (SAS) لتحليل البيانات (14) وتم تشخيص الفروق بين العينات باستخدام أختبار دنكن متعدد الحدود (Duncans multiple range test).

جدول (1) : تركيب العليقة الغذائية (15) .

المادة	النسبة المئوية %
كسبة فول الصويا	20
مسحوق كسبة القطن	25
مسحوق القمح	20
مسحوق الشعير	25
مسحوق السمك	9
فيتامينات	1

*** فيتامينات / كغم غذاء : فيتامين A (10 الاف وحدة دولية) ، فيتامين E (100 ألف وحدة دولية) ، فيتامين B_2 (10 ملغم) ،حامض النيكوتينيك (28 ملغم) ، حامض البانثونيك (35 ملغم)، فيتامين B_6 (5 ملغم)، أينوسيتول (440 ملغم).**

النتائج و المناقشة

معايير الحيامن وحيويتها للمعاملات الثلاث مع مجموعة السيطرة موضحة في جدول (3) ، أذ يوضح الجدول أن لفيتامين C تأثير واضح على حيوية الحيامن وحركتها فقد زاد تركيز الحيامن مع أزدياد تركيز الفيتامين في العليقة وبلغ أعلاها عند تركيز 500 ملغم فيتامينC / كغم غذاء (11.46×10^{9} ± 0.35 $\times10^{6}$) / مل وكان الانخفاض واضحا" في معاملة السيطرة ، وأزدادت حركة الحيامن مع أزدياد تركيز الفيتامين لتصل الى (86.50 ± 2.46) % عند تركيز 500 ملغم فيتامين C / كغم غذاء . كما بلغت قابلية الاخصاب للحيامن مداها (87.24 ± 2.03) عند تركيز 750 ملغم فيتامين C / كغم غذاء ، في حين بلغ أتجاه حركة الحيامن نحو الامام الى (38.2 ± 1.54) ثانية عند تركيز 750 ملغم فيتامين C / كغم غذاء . ولوحظ أختلافات معنوية بين المعاملات للمعايير المأخوذة ، عدد الحيامن زاد مع أزدياد تركيز الفيتامين في العليقة فقد بلغ (26.5 ± 0.95) % عند تركيز 750 ملغم فيتامين C / كغم غذاء كما زاد العدد أيضا" عند تركيز 500 ملغم فيتامين C / كغم غذاء ولا توجد فروقات معنوية بين المعاملات المضاف لها الفيتامين مقارنة مع مجموعة السيطرة .

دلت النتائج على أن المواصفات الحيوية للسائل المنوي لذكور أسماك الكارب العادي قد تحسنت بأضافة فيتامين C للعليقة وبالاخص التراكيز العالية وأن لهذه النتيجة أهمية في التكثير الاصطناعي للاسماك وأدارة المفاقس .فقد أشارت النتائج الى أن أضافة الفيتامين ضرورية في علائق الاسماك لما له دور هام في تطور الخلايا الجنسية الذكرية (16) حيث زاد من تركيز الحيامن وحركتها وبالتالي يزيد من قابليتها على الاخصاب مع زيادة تركيز الفيتامين في العليقة مقارنة بعليقة السيطرة ، فقد أكدت عدد من الدراسات زيادة تركيز الحيامن وحركتها مع أزدياد تركيز فيتامين C ومنها دراسة (4) التي بينت أزدياد تركيز الحيامن وحركتها (12.45×10^{9} خلية / مل) ، (83.25±1.33) على التوالي مع زيادة تركيز الفيتامين في علائق ذكور أسماك الكارب العشبي . كما سجل معدل حركة الحيامن 91.42 % عند تركيز 800 ملغم فيتامين C / كغم غذاء لذكور أسماك التراوت القزحي *Onchorynchus mykiss* مقارنة مع تركيز 300 ملغم فيتامين C / كغم ومجموعة السيطرة الخالية من الفيتامين (81% و78%) على التوالي (17) ، كذلك زاد عدد الحيامن مع أزدياد تركيز الفيتامين ليصل الى (25.80 ± 0.99 %) عند تركيز 800 ملغم فيتامين C / كغم غذاء لذكور أسماك البني *Barbus sharpeyi* (18) ونتائج الدراسة الحالية أشارت الى زيادة معنوية لمعايير الحيامن وهذا يدل على أن أضافة فيتامين C في علائق الاسماك تحسن من قابلية الحيامن على الحركة والبقاء وبالتالي زيادة نشاطها بالاخص في التراكيز العالية لذا ينصح بزيادة تركيزه في العلائق التجارية للمحافظة على مستوى الفيتامين بالجسم وأستفادة الاسماك منه قدر الامكان .كما أظهرت الدراسة أن صفة الاس الهيدروجيني لا تتأثر بشكل واضح عند أضافة الفيتامين في العليقة وربما يعود السبب الى أن هذه الصفة تكون أقرب للقاعدية للسائل المنوي عموما" حيث تكون الحيامن فيها نشطة وفعالة (9) .

جدول (2) : التحليل الكيمياوي للمواد العلفية .

التركيب الكيمياوي	النسبة المئوية %
بروتين خام	35.3
دهن خام	16.4
الكربوهيدرات الذائبة	31.9
الرطوبة	16
الرماد	12
الطاقة الممثلة (كيلوسعرة / كغم)	3800

جدول (3) : تأثير فيتامين C على حيامن ذكور أسماك الكارب العادي.*Cyprius carpio* L

الصفات المدروسة	المعاملات (ملغم فيتامين C / كغم غذاء)			
	0	250	500	750
تركيز الحيامن (خلية / مل)	$9.25^{b}\times10^{9}$	$10.52^{b}\times10^{9}$	$11.46^{a}\times10^{9}$	$10\times11.23^{a}10^{9}$
عدد الحيامن (%)	$75^{c}\pm3.20$	$80^{b}\pm2.22$	$86^{a}\pm2.46$	$92^{a}\pm2.41$
زمن الفعالية (ثانية)	$70^{b}\pm1.50$	$72^{b}\pm1.46$	$86^{a}\pm1.48$	$88^{a}\pm1.58$
حجم السائل (مل)	0.4^{c}	0.6^{b}	0.7^{b}	1.0^{a}
الاس الهيدروجيني(pH)	7^{a}	7^{a}	7.2^{a}	7.3^{a}

* الاحرف المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى معنوية (P<0.05). * N= 2 ، (المتوسط ± الخطأ القياسي) .

المصادر

1. Izquierdo, M.S., Femandez-Padcios, H. Tacon, A.G.J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproduction performance of fish. Aquaculture, 197: 25-42.
2. Ingermann, R., Holcomb, M., Robinson, M.L. and Cloud, J.G. 2002. Carbondioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (Acipenser transmontanus). J. Exp. Biol., 205: 2885 -2890.
3. Rurangwa, E., Kime, D.E.,Ollevier, F. and Nash, J.P. 2004. Measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture, 234: 1-28.
4. Metvally, M.A.A and Fouad, I.M. 2009. Effect of L-ascorbic acid on sperm viability in male grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Global Veterinaria, 3(2): 132-136.
5. Zhukinskiy, V.N. and Bilko, V.P. 1948. Effect of semen pH on embryo viability in some cyprinid fishes. J. Ichthyol., 24(3): 64-76.
6. Jezierka, B. and Witeska, M. 1999. The effect of time and temperature on motility of spermatozoa of common and grass carp. J. Polish Agricultural. Uni. Fi. 2(2): 1-8.
7. العلكاوي ، مريم جاسم ، 2005. تأثير أضافة فيتامين C في بعض الصفات الفسلجية والمرضية النسجية الى علائق أسماك الكارب العادي Cyprius carpio L. والكارب العشبي *Ctenopharyngodon idellus* ، أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.
8. Ciereszko, A. and Dabrowski, K. 1995. Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: An across – season study. Biol. Report, 52: 982-988.

9. الاعرجي ، عباس سعد وصالح ، خليل أبراهيم 2009. العوامل المؤثرة في صفات السائل المنوي لاسماك الكارب العادي *Cyprius carpio* L. . مجلة الفرات للعلوم الزراعية ، 1 (2) : 123- 128 .
10. دحام ، حداوي محمد ؛ حلمي ، نمير محمود ؛ كاظم ، حازم جواد وعبد الحسين ، خلود جميل ، 2005. بعض المواصفات الطبيعية للسائل المنوي لسبعة أنواع من الاسماك المحلية . مجلة أبن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية ، 18 (2) : 37-43.
11. بدير ، علي طارق غفوري ن 2006. العوامل المؤثرة على حيوية السائل المنوي في الاسماك ، رسالة دبلوم عالي ، الكلية التقنية ، المسيب ، 71 صفحة .
12. الجشعمي ، خلود جميل ؛البياتي ، نمير محمود ؛ العبيدي ، حازم جواد والجبوري ، أزهار غازي ،2002. أستخدام القرنفل لتخدير أسماك الكارب العادي *Cyprius carpio* L. . مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص) ، المجلد (7) ، العدد (1) : 111- 116.
13. Hara, S., Canto, T. and Alemenders, E. 1982. Acomparative study of various extenders for milk fish sperm preservation .Aquaculture, 28: 339-346.
14. SAS, 2000. SAS Users Guide: Statistics SAS. Inst. Inc. Cary. NC. USA.
15. Lovell, R.T. 1975. Fish feed analysis and fish nutrition studies. Department of fisheries and allied Aquaculture, Auburn University.
16. الزيدي ، فالح موسى ؛ النور ، ساجد سعد والمختار ، مصطفى أحمد ، 2009. تققيم السائل المنوي لذكور أسماك الكارب العادي *Cyprius carpio* L. المعاملة بمستحضر الاوفابريم ومستخلص الغدة النخامية لاغراض التلقيح الاصطناعي . المجلة العراقية للاستزراع المائي، المجلد (6) ، العدد(1) : 11-24 .
17. Mehmet, A.C.and Suleyman, A. 2008. Effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish J. Fisheries Aquatic Sci., 8: 171-175.
18. المختار ، مصطفى أحمد ؛ النور ، ساجد سعد والزيدي ، فالح موسى ، 2008. ملاحظات أولية حول الصفات الحياتية للسائل المنوي لاسماك البني *Barbus sharpeyi* مع الحقن الهرموني للحفظ . المجلة العراقية للاستزراع المائي ، العدد(1) ، المجلد (5) : 29-32.