University of Tehran

Journal of Fisheries

Home Page: https://jfisheries.ut.ac.ir

Online ISSN: 2423-7809

Effect of light conditions during the incubation period on eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brooders fed with different levels of dietary ascorbic acid

Zohreh Ghaderi Fahliani[1] | Bahram Falahatkar[1]✉ | Abdolali Rahdari[3]

1. Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran. Email: ghaderifz@yahoo.com
2. Corresponding author, Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Guilan, Iran. Email: falahatkar@guilan.ac.ir
3. Department of Fisheries, Hamoun International Wetland Research Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Sistan and Baluchistan, Iran. Email: rahdari67@gmail.com

ARTICLE INFO

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 02 November 2023
Revised: 11 February 2024
Accepted: 18 February 2025
Published online: 25 March 2025

Keywords:
Incubation,
Light,
Rainbow trout egg,
Reproduction,
Vitamin C.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of different levels of dietary-ascorbic acid and dark-light periods on incubation indices of rainbow trout eggs. For this purpose, 54 breeders (812 ± 50.5 g) were introduced into the fish tanks with dimensions of 1.5×1.5×1 m with the holding capacity of 910 liters of water (6 fish per tank). Fish brooders were fed with three diets containing 0, 100 and 1000 mg/kg of L-ascorbyl-2-polyphosphate as treatments in triplicates for sixteen weeks. At the end of the experimental period, the oocytes of four female brooders were striped and fertilized with sperm and incubated under absolute darkness or constant light. The results showed that ascorbic acid significantly affecting on working fecundity (P<0.05). Fertilization rates in 100 and 1000 mg/kg had significant differences compared to control (P<0.05). The highest hatching rates and eyed eggs were observed in fish fed 1000 mg ascorbic acid and incubated under darkness (P<0.05). Dietary ascorbic acid had not significant effect on mortality during stages of eyed eggs to swim-up of larvae (P>0.05), but the lowest amount (9.6 ± 0.6%) was observed in 1000 mg/kg diet. Regarding the degree-day up to the eyed stage, the results showed no interaction among treatments (P= 0.777). However, there was an interaction between ascorbic acid and light in the percentage of eyed eggs (P<0.001). Moreover, in relation to the degree-day up to the stage of alevin, the results showed no interaction among treatments (P=0.145). The results of this study showed that feeding with a diet containing 1000 mg/kg ascorbic acid compare to control and 100 mg/kg ascorbic acid leads to improved reproductive indices. The results of this study indicate the necessity to feed rainbow trout breeders with high levels of ascorbic acid and egg incubation away from light to achieve higher reproductive efficiency.

Cite this article: Ghaderi Fahliani, Z., Falahatkar, B., Rahdari, A. (2025). Effect of light conditions during the incubation period on eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) brooders fed with different levels of dietary ascorbic acid. *Journal of Fisheries*, 78 (1), 15-26. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2022.337019.1309

© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2022.337019.1309

دانشگاه تهران

شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

سایت نشریه: https://jfisheries.ut.ac.ir

شاپا الکترونیکی: ۷۸۰۹-۲۴۲۳

اثر شرایط نوری دورهٔ انکوباسیون بر تخم مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید اسکوربیک

زهره قادری فهلیانی[۱] | بهرام فلاحتکار[۲*] | عبدالعلی راهداری[۳]

۱. گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران. رایانامه: ghaderifz@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه شیلات، دانشکدهٔ منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، گیلان، ایران. رایانامه: falahatkar@guilan.ac.ir

۳. گروه شیلات، پژوهشکدهٔ تالاب بین‌المللی هامون، پژوهشگاه زابل، زابل، سیستان و بلوچستان، ایران. رایانامه: rahdari67@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۱/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۳۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۱/۰۵

کلیدواژه:
انکوباسیون،
تولیدمثل،
قزل‌آلای رنگین‌کمان،
نور،
ویتامین C.

چکیده

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر شرایط نوری بر انکوباسیون تخم مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسید اسکوربیک انجام شد. به این منظور، تعداد ۵۴ عدد مولد مادهٔ قزل‌آلا با وزن متوسط ۸۱۲±۵۰/۵ گرم به حوضچه‌هایی با ابعاد ۱×۱/۵×۰/۷۵ متر و حجم آبگیری ۹۱۰ لیتر (هر حوضچه ۶ مولد) معرفی گردیدند. مولدین به‌مدت ۱۶ هفته با سه جیرهٔ غذایی حاوی صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم غذا اسید اسکوربیک از نوع ال–اسکوربیل–۲–پلی فسفات تغذیه شدند. در پایان هفتهٔ ۱۶، تعداد ۴ مولد از هر تکرار تخم‌کشی و لقاح انجام شد. تخم‌ها در هر سه تیمار تقسیم و تحت شرایط تاریکی و نور کامل (۴۷۰ لوکس) دوره انکوباسیون را سپری کردند. نتایج به‌دست آمده حاکی از معنی‌دار بودن اثر اسید اسکوربیک بر هم‌آوری کاری ($P<۰/۰۵$) بود. درصد لقاح در تیمارهای حاوی ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک در کیلوگرم، با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). بالاترین درصد چشم‌زدگی در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک و شرایط تاریکی کامل و کمترین مقدار آن در تیمار صفر و شرایط نوری دائم مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). همچنین، در جیرهٔ ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اسکوربیک و تاریکی، درصد تخم چشم‌زده نسبت به دو تیمار دیگر و شرایط نور دائم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). اسید اسکوربیک جیره تأثیر معنی‌داری بر میزان تلفات از مرحلهٔ چشم‌زدگی تا شنای عمودی نداشت ($P>۰/۰۵$) ولی کمترین مقدار (۹/۶±۰/۶ درصد) در جیرهٔ ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد. در خصوص درجه–روز تا مرحلهٔ چشم‌زدگی، نتایج بیانگر عدم وجود اثر متقابل بود ($P= ۰/۷۷۷$)، ولی بین اسید اسکوربیک و نور در شاخص درصد چشم‌زدگی بود اثر متقابل وجود داشت ($P<۰/۰۰۱$). همچنین، در رابطه با درجه–روز تا مرحلهٔ تبدیل به آلوین نیز نتایج نشان از عدم وجود اثر متقابل و تفاوت معنی‌دار بود ($P= ۰/۱۴۵$). نتایج این مطالعه نشان داد تغذیهٔ مولدین قزل‌آلا با جیرهٔ حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اسکوربیک نسبت به جیره‌های شاهد و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اسکوربیک منجر به بهبود شاخص‌های تولیدمثل می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان‌دهندهٔ ضرورت تغذیهٔ مولدین قزل‌آلا با مقادیر بالای اسید اسکوربیک و انکوباسیون تخم در شرایط دور از نور جهت دستیابی به کارایی تولیدمثل بالاتر است.

استناد: قادری فهلیانی؛ زهره، فلاحتکار؛ بهرام، راهداری؛ عبدالعلی (۱۴۰۴). اثر شرایط نوری دورهٔ انکوباسیون بر تخم مولدین قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با سطوح مختلف اسید اسکوربیک. *نشریهٔ شیلات، مجله منابع طبیعی ایران*، ۷۸ (۱)، ۲۶–۱۵. DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2022.337019.1309

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: http//doi.org/10.22059/jfisheries.2022.337019.1309

۱. مقدمه

پیشرفت‌ها و بهبود روش‌های پرورشی، خصوصاً روش‌های تولید تخم، نوزاد و بچه‌ماهی، باعث شده است که تولید جهانی آبزی‌پروری به‌طور متوسط ۵/۳ درصد در سال در بازهٔ زمانی ۲۰۱۸–۲۰۰۱ رشد داشته باشد (FAO, 2020). در این بین، مطالعات متعدد در زمینهٔ شناخت الگوهای تولیدمثلی و رفتارهای مربوطه طی سال‌های اخیر رو به رشد بوده و استفـاده از فناوری‌ها و روش‌های جدید علمی عامل مؤثری در تسریع این روند بوده است. حضور عوامل مهمی چون دما، نور و شوری در دورهٔ انکوباسیون آبزیان می‌تواند در توسعهٔ جنینی و کیفیت لاروهای تولید شده نقش داشته باشد. در ماهیان استخوانی، نور در طول چرخهٔ زندگی آنها از مراحل توسعهٔ جنینی تا رسیدگی جنسی در بالغین تأثیر فراوانی دارد (Migaud *et al.*, 2010). در گونه‌های متعدد ماهیان از قبیل هالیبوت اطلس *Hippoglossus hippoglossus* (Forsell *et al.*, 2001)، هامور *Epinephelus strariatus* (Ellis *et al.*, 1997)، هادوک *Melanogrammus aeglefinus* (Downing and Litvak, 2002)، کفشک *Paralichthys dentatus* (Watanabe and Feeley, 2004)، گربه‌ماهی آسیایی *Clarias macro* و گربه‌ماهی آفریقایی *C. gariepinus* (Mino *et al.*, 2008)، ماهی سرخو *Lutignus guttatus* (Duncan *et al.*, 2008)، تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* (Poursaeid *et al.*, 2012) و همچنین قزل‌آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Pornsoping *et al.*, 2007; Atasever and Bozkurt, 2015; Dadfar *et al.*, 2017)، تـأثیر رژیم‌های مختلف نوری بر مراحل رشد و نمو جنینی و درصد تخم گشایی به اثبات رسیده است.

زمان و مدت دورهٔ نوری برای رسیدگی جنسی ماهی‌هایی که فصل خاص تولیدمثلی دارند بسیار مهم است (Miranda *et al.*, 2009; Pham *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2014). مدت زمان روشنایی و تاریکی تأثیر قابل توجهی در رشد و رسیدگی گنادها دارد، به‌طوری که در گونه‌هایی از قبیل قزل‌آلای رنگین‌کمان، روزهای با طول مدت روشنایی زیاد، در رسیدگی ابتدایی و رشد اولیه گنادها و روزهای با طول مدت روشنایی کم، در رسیدگی و رشد نهایی گنادها مؤثر هستند (Bromage *et al.*, 1992; Teears *et al.*, 2020).

تولیدمثل در ماهی پدیده‌ای کاملاً زمان‌بندی شده و در بازهٔ زمانی مشخصی صورت می‌گیرد و عوامل محیطی مـانند دوره‌های نوری و دما، سیستم زمان‌بندی داخلی را تنظیم و همزمان می‌کنند (Bromage *et al.*, 2001). اندام صنوبری (غدهٔ پینه‌آل) احتمالاً نقش میانجی‌گری بین چرخه‌های محیطی و محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–گناد (HPG) را ایفا کرده و زمان تولیدمثل را کنترل می‌کند (Falcón *et al.*, 2007).

با وجود عملکردهای مثبتی که در رابطه با اثر نور بر تولیدمثل ماهی‌ها ذکر شد این عامل می‌تواند در برخی مراحل از زندگی ماهی نقش زیان‌بار داشته باشد. مولد مادهٔ قزل‌آلا تخم‌های خود را در فصل پاییز تا زمانی که جنین رشد و توسعه پیدا کند در لابلای شن‌ها پنهان می‌کند. تخم ماهی قزل‌آلا بایستی دور از نور و به‌خصوص نور مستقیم خورشید قرار گیرد. مطالعات نشان داده است اگر تخم ماهی قزل‌آلا بیش از چند دقیقه تحت تابش مستقیم نور خورشید قرار گیرد، از بین خواهد رفت. نور حاوی اشعهٔ ماورای بنفش است که این اشعه باعث کاهش بقای تخم قزل‌آلا می‌شود و حتی بقای لاروها را کاهش می‌دهد (Hader *et al.*, 2007; Hickford and Schiel 2011; Teears *et al.*, 2020). امروزه در انکوباتورهای مدرن، تخم‌ها در چند ردیف و در طبقات متعدد قرار می‌گیرند تا به‌خوبی از نور محافظت شوند. همچنین، آلوین‌ها تا مرحلهٔ بعد از تخم‌گشایی کامل و جذب کیسهٔ زرده، در بین شن و سنگ‌ها باقی می‌مانند که این خود یک استراتژی برای دور بودن از نور در زمان تخم‌گشایی است. در این مرحله، آلوین‌ها به‌طور شدیدی نورگرایی منفی دارند (Brannas, 1987).

یکی از مؤثرترین اجزای غذایی شناخته شده در تغذیهٔ مولدین، اسید اسکوربیک است. این ویتامین به‌رغم ناپایداری بالایی که در مواجهه با آب، حرارت طی عمل‌آوری و نگهداری غذا در انبار دارد، یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی محلول در آب محسوب می‌شود (Dabrowski, 2001). در ماهی هم همانند سایر مهره‌داران، اسید اسکوربیک نقشی حیاتی در کیفیت گامت‌ها دارد (Ciereszko and Dabrowski, 2000). غلظت اسید اسکوربیک در بافت‌های مختلف به‌میزان قابل توجهی متفاوت است، اما غلظت آن در اندام‌های جنسی بسیار زیاد و حتی چندین برابر بالاتر از پلاسمای خون است (Blom and Dabrowski, 1995;

Ciereszko and Dabrowski, 1995). غلظت بالای اسید اسکوربیک در گنادهای ماهی ارتباط ویژه آن با تولیدمثل را نشان می‌دهد. رژیم غذایی فاقد اسید اسکوربیک باعث کاهش مقدار این ویتامین در تخمدان ماهی می‌شود و در نتیجه تعداد تخمک و میزان تخم‌گشایی کاهش و از طرف دیگر، تعداد لاروهای دچار بدشکلی و نیز تلفات آنها افزایش می‌یابد (Navarro *et al*., 2009).

نظر به ضرورت نگهداری تخم قزل‌آلا در مرحلهٔ انکوباسیون به دور از نور، می‌بایست اثرات منفی نور با استفاده از مواد آنتی‌اکسیدانی از قبیل اسید اسکوربیک کاهش یابد. به‌همین دلیل، استفاده از موادی که بتوانند مقاومت تخم را نسبت به شرایط نور و رادیکال‌های آزاد طی دورهٔ انکوباسیون افزایش دهند از ضروریات جیرهٔ مولدین تلقی می‌گردد. بنابراین، در این تحقیق تأثیر سطوح مختلف اسید اسکوربیک جیره بر شاخص‌های مختلف انکوباسیون تخم ماهی قزل‌آلا تحت شرایط نوری تاریکی و نور دائم مورد بررسی قرار گرفت.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲–۱. ماهی و شرایط پرورش

این پژوهش در کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌کمان فارس در منطقهٔ شش پیر واقع در شهرستان سپیدان استان فارس انجام گرفت. مولدین مادهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان با سن ۲/۵ سال سن و وزن ۵۰/۵±۸۱۲ گرم که سال اول تکثیرشان بود، مورد استفاده قرار گرفتند. این ماهیان در حوضچه‌هایی به ابعاد ۰/۷۵×۱/۵×۱ متر با حجم آبگیری ۹۱۰ لیتر با ۳ تیمار غذایی در ۳ تکرار توزیع گردیدند. در مجموع، ۵۴ عدد ماهی به حوضچه‌ها منتقل گردید (هر حوضچه ۶ مولد). در طول دوره دمای آب ۰/۸±۷/۳ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول، نیترات، نیتریت و آمونیاک به‌ترتیب ۰/۲±۷/۲، ۱/۲±۱۱/۶، ۰/۰۳±۰/۹ و کمتر از ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بودند.

۲–۲. ساخت غذا و غذادهی

در مرحلهٔ اول، ماهیان به‌مدت دو هفته با جیره‌های آزمایشی فاقد اسید اسکوربیک که به‌صورت دستی ساخته شده بودند سازگاری یافتند. بعد از ۲ هفته، ماهیان با سه جیرهٔ غذایی حاوی صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک (L-ascorbyl-2-polyphosphate (EASF- Belgium)) با درصد خلوص ۹۵ درصد به‌ازای هر کیلوگرم غذا و سه تکرار به‌مدت ۱۶ هفته مورد تغذیه قرار گرفتند (NRC, 2011). غذادهی در دو وعدهٔ صبح و عصر براساس اشتها انجام می‌گرفت. ساخت غذا هر ۳ هفته یک بار انجام می‌گرفت. مواد اولیه مورد نیاز با توجه به فرمولاسیون تجاری غذای قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌صورت کاملاً خشک تهیه و به‌مدت ۱۰ دقیقه توسط همزن مخلوط و سپس آسیاب و بعد از آن روغن ماهی و آب (۲۵ درصد) به آنها اضافه و دوباره کاملاً مخلوط شدند. سپس با استفاده از چرخ گوشت با چشمهٔ مناسب، غذای ساخته شده روی سینی‌های مخصوص و در سالنی به دور از نور، رطوبت و حرارت در حضور یک فن با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. برای ساخت جیره‌های حاوی اسید اسکوربیک نیز به‌همین ترتیب عمل شد، با این تفاوت که بعد از مخلوط شدن کامل مواد اولیهٔ خشک و قبل از اضافه شدن روغن ماهی و آب، حجم کمی از مواد مخلوط شده (قسمت پر کننده) با میزان مورد نظر اسید اسکوربیک جایگزین و مجدداً با مخلوط‌کن، مخلوط شد. ترکیب مواد مورد استفاده و آنالیز تقریبی جیره در جدول ۱ ارائه شده است.

۲–۳. تعیین مرحله رسیدگی جنسی مولدین و تولیدمثل

بعد از ۱۶ هفته پرورش و نزدیکی به فصل تکثیر، مولدین معاینه شدند. ماهیان با عصارهٔ گل میخک با مقدار ppm ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیهوش (Mehrabi, 1998) و با فشار نسبتاً آرام ناحیهٔ شکم به‌طرف منفذ تناسلی، مورد معاینه قرار گرفتند و با پی بردن به آمادگی ماهی برای تخم‌کشی، به سالن تکثیر منتقل و بعد از ۲۴ ساعت که استرس ناشی از انتقال رفع شد، تخم‌کشی انجام شد. رسیدگی جنسی مولدین و تخم‌ریزی همزمان بود. لازم به ذکر است مولدین قبل از تخم‌کشی به‌مدت ۷۲ ساعت قطع غذا گردیدند. کل تخمک‌های استحصال شده از هر ماهی وزن شد تا هم‌آوری کاری تعیین گردد. تخمک‌های استحصال شده هر

مولد ماده به‌طور مجزا با اسپرم ۲ تا ۳ مولد نر (۶۸۰±۴۵ گرم) بارور شدند. به این منظور، تخمک و اسپرم به آرامی بدون اضافه نمودن آب با هم مخلوط شدند. سپس مقدار کمی آب تازه جهت فعال شدن اسپرم به ظرف حاوی تخمک اضافه و به مدت دو دقیقه هم زده شد، سپس، به آرامی آب تازه به ظرف تخم‌ها افزوده شد و با تعویض نمودن آب، تخم‌ها شستشو داده شدند تا نهایتاً آب کاملاً شفاف شود. در طول مدت شستشو، تخم‌های نامناسب و لقاح نیافته (سفید) حذف شدند. بعد از شستشو و تمیز کردن، تخم‌ها به تراف‌های کالیفرنیایی منتقل شدند (Bromage *et al.*, 1992).

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهندهٔ جیره و ترکیب تقریبی جیره‌های 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
اسید اسکوربیک[۲] یا پرکننده	۰/۱
ترکیب تقریبی	
پروتئین	۴۶/۲ ± ۰/ ۹
رطوبت	۹ ± ۰/۲
چربی	۱۲/۱ ± ۰/۲
فیبر	۳ ± ۰/۱
خاکستر	۸/۵ ± ۰/۱

[۱]ساخت شرکت VDS بلژیک با مواد معدنی و سایر ویتامین‌های مورد نیاز قزل‌آلا به‌جز اسکوربیک اسید

[۲]L-ascorbyl-2-polyphosphate (EASF-Belgium)

۲-۴. دورهٔ روشنایی-تاریکی در دورهٔ انکوباسیون و اندازه‌گیری شاخص‌های انکوباسیونی

برای بررسی اثر نور بر کارایی انکوباسیون و درصد تفریخ، شدت نور در دو حالت روشنایی دائم با استفاده از نور زرد (۴۷۰ لوکس) و تاریکی دائم با پوشاندن سینی‌های انکوباتور تحت کنترل قرار گرفت. تیمارهای نوردهی همزمان اعمال شد. تخم استحصالی از هر تیمار، به دو بخش تقسیم و درون انکوباتورهای کالیفرنیایی تحت تیمارهای روشنایی و تاریکی قرار داده شدند. برای تعیین درجه-روز مراحل مختلف، زمان شروع انکوباسیون تا چشم‌زدگی و تخم‌گشایی ثبت شد. همچنین، دمای آب درون سینی‌های تخم هر دو ساعت یک بار ثبت گردید. متعاقب آن، با نمونه‌برداری از سینی‌های تخم درصد لقاح، درصد چشم‌زدگی، درجه-روز تا هر مرحله و درصد تلفات تعیین شد. مقدار تلفات از زمان آغاز چشم‌زدگی تا مرحلهٔ شنای آزاد آلوین‌ها ثبت شد.

درصد لقاح = (تعداد تخم‌های لقاح یافته / تعداد کل تخم) × ۱۰۰

درصد چشم زدگی = (تعداد تخم‌های چشم زده / تعداد کل تخم) × ۱۰۰

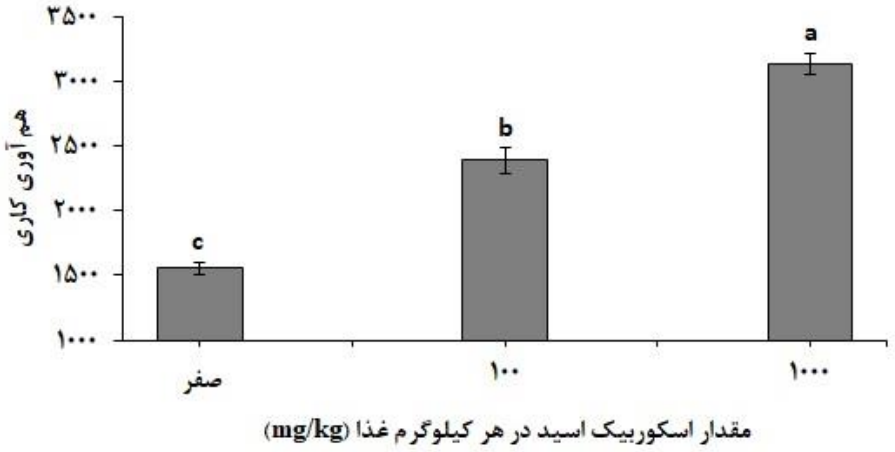
۲-۵. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا گردید. داده‌ها پس از کنترل همگنی آنها به‌وسیلهٔ Kolmogorov-Smirnov با استفاده ازتجزیه واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و تست Tukey به‌عنوان post hoc، جهت مقایسهٔ میانگین‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اختلاف بین میانگین‌ها در کلیهٔ موارد با سطح اطمینان $P<۰/۰۵$ تعیین گردید. تجزیه و تحلیل با نرم‌افزار SPSS 13 (Chicago, IL, USA) انجام پذیرفت.

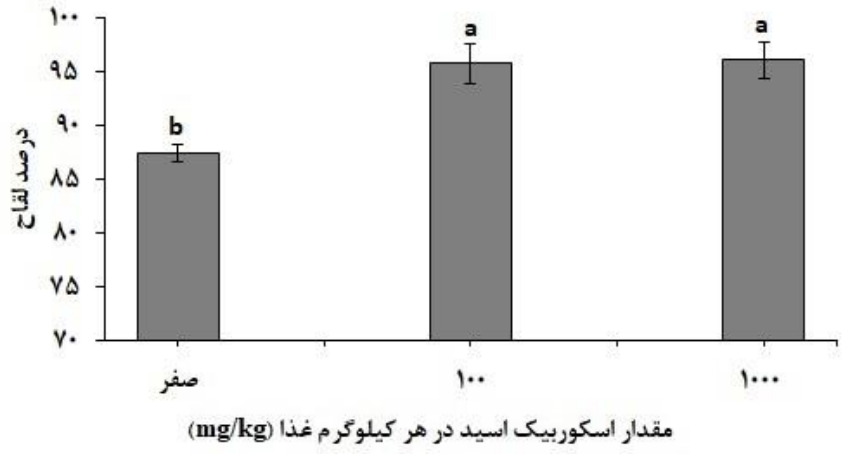
۳. یافته‌های پژوهش

براساس نتایج، بیشترین هم‌آوری کاری در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک در کیلوگرم جیرهٔ غذایی و کمترین آن در تیمار صفر (فاقد اسید اسکوربیک) ملاحظه گردید که این اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$؛ شکل ۱). درصد لقاح در مولدین تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک در کیلوگرم جیره اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ($P<۰/۰۵$؛ شکل ۲). بیشترین درصد چشم‌زدگی در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک و شرایط تاریکی کامل و کمترین مقدار آن در تیمار صفر و شرایط نوری دائم مشاهده شد و بین هر سه تیمار تغذیه‌ای این اختلاف معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$؛ شکل ۳).

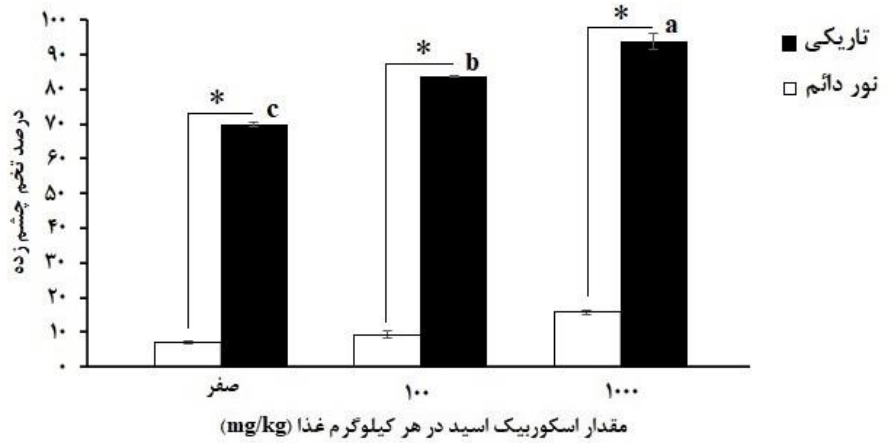
درجه–روز تا مرحلهٔ چشم‌زدگی و درجه–روز تا تبدیل به مرحلهٔ تخم‌گشایی بیشترین مقدار را در تیمار صفر و شرایط تاریکی کامل و کمترین مقدار را در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اسکوربیک و شرایط نوری دائم نشان داد که اختلاف بین سطوح مختلف اسید اسکوربیک و نور به تنهایی و بدون اثر متقابل با همدیگر معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$؛ شکل‌های ۴ و ۵). میزان تلفات از مرحلهٔ چشم‌زدگی تا شنای عمودی تحت تأثیر اسید اسکوربیک جیره قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$) ولی کمترین میزان تلفات (۰/۶±۹/۶ درصد) در جیرهٔ حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره مشاهده شد.



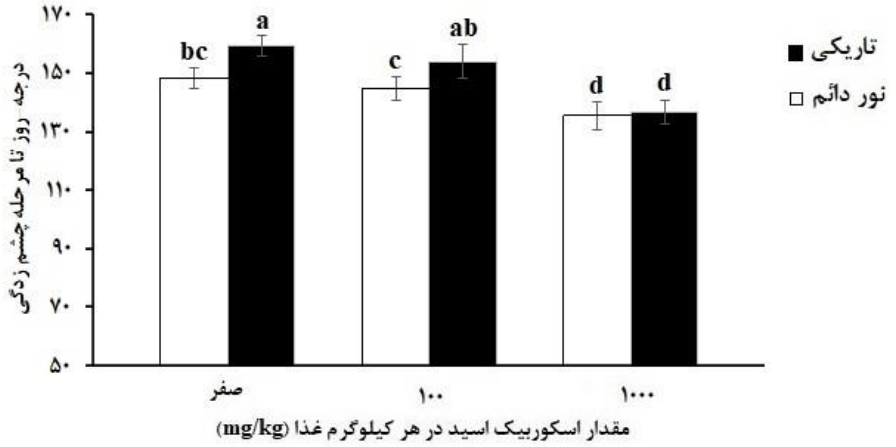
شکل ۱– اثر سطوح مختلف اسید اسکوربیک جیره بر هم‌آوری کاری مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از ۱۶ هفته غذادهی (حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار هستند ($P<۰/۰۵$))



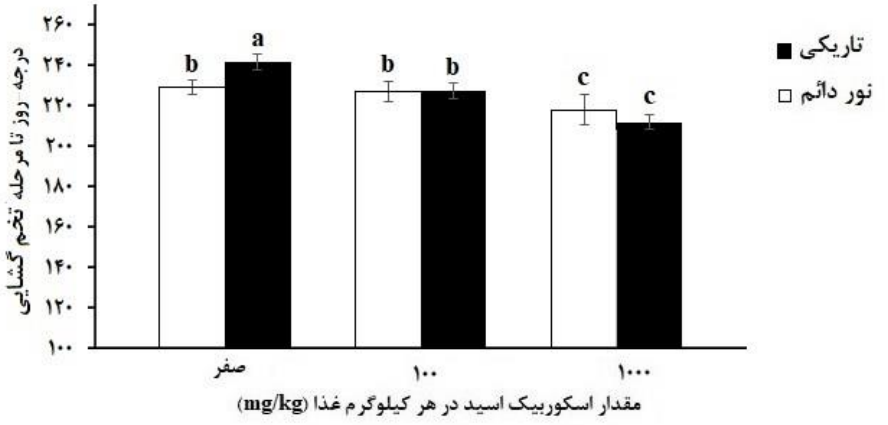
شکل ۲– اثر سطوح مختلف اسید اسکوربیک جیره بر درصد لقاح مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از ۱۶ هفته غذادهی



شکل ۳- اثر متقابل اسید اسکوربیک جیره و نور بر درصد چشم‌زدگی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)
(حروف متفاوت و علامت * به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین سطوح مختلف اسید اسکوربیک و شرایط متفاوت نوری (تاریکی و نور دائم) هستند ($P<۰/۰۵$)



شکل ٤- اثر اسید اسکوربیک جیره و نور بر درجه-روز تا مرحلهٔ چشم‌زدگی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)
(حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار هستند ($P<۰/۰۵$))



شکل ۵- اثر اسید اسکوربیک جیره و نور بر درجه-روز تا مرحلهٔ تخم‌گشایی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)
(حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ اختلاف معنی‌دار هستند ($p<۰/۰۵$))

۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

اسید اسکوربیک یا ویتامین C یکی از مواد تغذیه‌ای ضروری برای رشد، تولیدمثل و سیستم ایمنی ماهی است (Ibrahim *et al.*, 2020). یکی از پارامترهای مهم در تولیدمثل، هم‌آوری و درصد لقاح می‌باشد. در مطالعهٔ حاضر، تأثیر تغذیهٔ مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان با ۱۰۰۰ mg/kg اسید اسکوربیک بر هم‌آوری معنی‌دار بود؛ اگرچه درصد لقاح بین دو تیمار ۱۰۰ mg/kg و ۱۰۰۰ اسید اسکوربیک تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به شاهد معنی‌دار بود. در مطالعهٔ Gammanpila و همکاران (۲۰۰۷) روی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) که با ۱۰۰۰ mg/kg اسید اسکوربیک تغذیه شده بودند، اثر معنی‌داری بر هم‌آوری مشاهده نشد. در خامه‌ماهی (*Chanos chanos*) نیز تعداد کل تخم استحصال شده تحت تأثیر تغذیهٔ مولدین با ۱۰۰۰ mg/kg اسید اسکوربیک قرار نگرفت (Emata *et al.*, 2000). هر چند نتایج اشاره شده در تضاد با مطالعهٔ حاضر می‌باشند که می‌تواند به‌دلیل تفاوت گونه‌ای باشد، ولی در تیلاپیای نیل، اسید اسکوربیک بر میزان تخم‌گشایی و درصد بقا تأثیر مثبتی را نشان داد (Gammanpila *et al.*, 2007). براساس مطالعات، مقادیر بالای اسید اسکوربیک به تخم‌های مولدین منتقل می‌شود و در مراحل زرده‌سازی و تشکیل جنین تأثیر مثبت خود را نشان می‌دهد (Sandnes *et al.*, 1984; Soliman *et al.*, 1986).

در تحقیق حاضر، تخم‌های استحصال شده از مولدین تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک به‌ازای هر کیلوگرم جیره، در مدت زمان کوتاه‌تری نسبت به سایر تیمارها به مرحلهٔ چشم‌زدگی رسیدند (۱۳۶ و ۱۳۵/۵ درجه–روز به‌ترتیب برای شرایط تاریکی و نور). در مطالعهٔ صورت گرفته روی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*)، درصد چشم‌زدگی و تخم‌گشایی در تخم‌هایی که در معرض ۸۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید اسکوربیک قرار گرفته بودند به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، البته روش مورد استفاده در این تحقیق غیرخوراکی بود ولی تأثیر این ویتامین را به‌خوبی نشان داد (Ghasemi *et al.*, 2013). براساس مطالعهٔ Gavriilidou و همکاران (۲۰۰۳)، افزودن ۱۲۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک در هر کیلوگرم غذای مولدین قزل‌آلا، نه تنها میزان تخم‌گشایی را افزایش داد، بلکه باعث افزایش بقای لارو و میزان کل لارو استحصالی گردید. در مطالعهٔ حاضر نیز کمترین میزان تلفات تا مرحلهٔ لاوری در جیرهٔ حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید اسکوربیک مشاهده شد.

در ارتباط با تأثیر نور، در تیمارهایی که به‌صورت مداوم در معرض تاریکی قرار داشتند، میزان درجه–روز از مرحلهٔ لقاح تا چشم‌زدگی نسبت به تیمارهایی که در معرض نور مداوم بودند، به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. در مقابل، تعداد تخم‌هایی که در معرض نور به مرحلهٔ چشم‌زدگی رسیدند (درصد چشم‌زدگی) به‌طور معنی‌داری پایین بود. در زمان تخم‌گشایی، پوستهٔ تخم به‌وسیلهٔ آنزیم‌های مربوط به تخم‌گشایی ضعیف شده و به‌وسیلهٔ حرکات جنین شکسته می‌شود و این حرکات در حضور نور افزایش می‌یابد (Knight, 1963). به‌همین دلیل، در تحقیق حاضر مدت زمان تخم‌گشایی در حضور نور کاهش یافت و همین کاهش زمانی، احتمالاً باعث ناتمام ماندن دورهٔ رشد جنینی و افزایش تلفات در تخم‌ها شد. Brannas (۱۹۸۷) اثر نور و دما را بر میزان تخم‌گشایی ماهی آزاد اطلس (*Salmo salar*) بررسی کرد. نتایج تحقیق وی نشان داد مدت انکوباسیون در تاریکی نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری طولانی‌تر بود که مشابه با تحقیق حاضر بود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نور اثرات منفی بر توسعه و نمو جنین ماهیان استخوانی حقیقی از جمله هالیبوت *Hippoglossus stenolepis* (Liu *et al.*, 1994) و آزادماهیان (Dey and Damkaer, 1990; Novales Flamarique and Harrower, 1999) دارد. این تأثیر منفی به‌ویژه در مرحلهٔ قبل از چشم‌زدگی به اثبات رسیده است (Teears *et al.*, 2020). اشعهٔ ماورای بنفش موجود در نور باعث تخریب مولکول‌های زیستی از قبیل DNA و پروتئین‌های ضروری برای حیات سلول می‌گردد (Hader *et al.*, 2007). از طرفی، مطالعات متعددی با الهام از طبیعت و اکولوژی آبزیان نشان از نورگرایی منفی آزادماهیان در زمان تخم‌ریزی دارد که این مطلب با توجه به تخم‌ریزی آنها در لابلای شن‌ها و بدون حضور نور به اثبات رسیده است (Soulsby *et al.*, 2001).

در تحقیق حاضر، مدت زمان انکوباسیون در تاریکی نسبت به شرایط روشنایی طولانی‌تر بود که مطابق با یافته‌های Downing و Litvak (۲۰۰۲) می‌باشد. آنها مطالعه‌ای در زمینهٔ اثرات شدت نور و دورهٔ نوری در توسعه و تخم‌گشایی جنین‌های ماهی هادوک انجام دادند. در این تحقیق، تخم‌های لقاح یافته در معرض تیمارهای مختلف نوری با شدت متفاوت و دوره‌های متفاوت نوری (۲۴ ساعت روشنایی کامل، ۱۸ ساعت روشنایی: ۶ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی) قرار

گرفتند. نتایج آنها نشان داد جنین‌های انکوباسیون شده تحت شرایط نوری مداوم، زودتر تخم‌گشایی شدند ولی از نظر اندازه، لاروهای تولید شده در این شرایط کوچکتر بودند و در مقابل، جنین‌های در تاریکی مداوم به‌طور معنی‌داری انکوباسیون طولانی‌تری داشتند.

در تحقیق حاضر در رابطه با درصد چشم‌زدگی مشخص شد که تمام متغیرها (جیره، نور و اثرات متقابل آنها) اثرات معنی‌داری بر این عامل دارند. براساس مطالعهٔ Blom و Dabrowski (۱۹۹۵)، شاخص‌های تولیدمثلی (درصد تخم‌گشایی، بقای جنین و غیره) در مولدین قزل‌آلای تغذیه شده با جیرهٔ حاوی اسید اسکوربیک نسبت به بقیهٔ مولدین بالاتر بود. نتیجهٔ مشابهی توسط Sandnes و همکاران (۱۹۸۴) با تغذیهٔ قزل‌آلای رنگین‌کمان از جیره‌های غذایی حاوی مقادیر صفر تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک به‌ازای هر کیلوگرم جیرهٔ غذایی به‌دست آمد، به‌طوری‌که تخم‌های استحصال شده از ماهیانی که جیرهٔ فاقد اسید اسکوربیک خورده بودند، کاهش در توانایی تفریخ را در مقایسه با گروه‌های شاهد نشان دادند. در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) قابلیت تفریخ تخم‌های حاصل از ماهیانی که غذای فاقد مکمل خورده بودند به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ۱۲۵۰ mg/kg اسید اسکوربیک پایین‌تر بود و همچنین درصد فراوانی لاروهای ناقص در این گروه از ماهیان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Soliman *et al.*, 1986). مجموع مطالعات اشاره شده در زمینهٔ تأثیر اسید اسکوربیک بر تولیدمثل نشان می‌دهد که مقدار اسید اسکوربیک مورد نیاز در مرحلهٔ تولیدمثلی بیشتر از مقدار مورد نیاز آن در مرحلهٔ رشد ماهی می‌باشد (Blom and Dabrowski, 1995).

در مطالعهٔ حاضر، میزان بقا تا مرحلهٔ شنای عمودی در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بیشتر از بقیهٔ تیمارها بود. آسکوربات فعالانه از ذخیرهٔ زردهٔ تخم ماهی به بدن لارو منتقل می‌شود و اثرات مثبت آن در رشد و نمو لارو نیز ظهور پیدا می‌کند. علاوه بر آن، اسید اسکوربیک موجود در زردهٔ تخم ماهی، جهت ساخت کلاژن‌ها و هیدروکسیلاسیون آمینواسیدهای پرولین و لایزین در حین مراحل توسعهٔ جنینی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ghasemi *et al.*, 2013) و به این ترتیب تلفات تخم را کاهش می‌دهد. مطالعهٔ Terova و همکاران (۱۹۹۸) نشان داد غلظت آسکوربات به‌طور معنی‌داری از مرحلهٔ تخمک‌های لقاح نیافته تا مرحلهٔ لاروهای دارای کیسهٔ زرده افزایش یافت. در برخی گونه‌ها تقریباً ۲۰ تا ۵۰ درصد آسکوربات در مرحلهٔ توسعهٔ جنینی مصرف می‌شود (Knox *et al.*, 1988; Blom and Dabrowski, 1998). اجزای سیستم ضد اکسیدانی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مانع آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شوند. استفاده از منابع خارجی مانند ویتامین‌های C و E که موجب تحریک و القای فعالیت پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌شوند، می‌توانند به محافظت از سلول‌ها و بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو کمک کنند (Winston and Digiulio, 1991). تأثیر ویتامین‌های مذکور در تضعیف استرس اکسیداتیو در چندین گونه ماهی به اثبات رسیده است (Tocher *et al.*, 2003; Gao *et al.*, 2013; Fatima *et al.*, 2019).

نور نقش کلیدی در روند ریتم‌های زیستی به‌خصوص تولیدمثل در ماهیان دارد (Blanco-Vives *et al.*, 2011). تغییر دوره‌های نوری باعث تأخیر یا تسریع تخم‌ریزی در آزادماهیان می‌شود (Bromage *et al.*, 1992). در مطالعهٔ حاضر، تأثیر مثبت شرایط تاریکی در انکوباسیون تخم قزل‌آلا مشاهده گردید. در ماهی، ترشح ملاتونین رابطهٔ نزدیکی با چرخهٔ تاریکی–روشنایی دارد و مقدار آن به‌شدت نور موجود در محیط بستگی دارد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در شرایط تاریکی ترشح می‌شود. مطالعات نشان داده است ملاتونین می‌تواند موجب رشد و نمو لارو، تکثیر سلول‌های جنینی و توسعه و نمو ماهی گردد (Kalamarz *et al.*, 2009).

در محیط‌های طبیعی، ماهی‌ها در عمقی تخم‌ریزی می‌کنند که تا حد ممکن در معرض نور خورشید که حاوی اشعهٔ ماوراء بنفش است، قرار نگیرند. ثابت شده است که نور ماوراء بنفش خورشید به DNA تخم‌های ماهی کاد اطلس (*Gadus morhua*) آسیب وارد می‌کند (Browman *et al.*, 2003). همچنین، تخم‌های ماهی سوف زرد (*Perca flavescens*) که در معرض مقادیر بالای نور ماوراء بنفش قرار گرفتند، قبل از تخم‌گشایی به‌طور کامل از بین رفتند (Huff *et al.*, 2004). بنابراین، تأثیر اشعهٔ ماوراء بنفش موجود در نور خورشید نشان می‌دهد که در شرایط مصنوعی نیز باید تخم از تابش نور مصون بماند. در مطالعهٔ حاضر، این اثر به‌خوبی مشاهده شد و تخم‌هایی که در شرایط تاریکی قرار داشتند به‌طور معنی‌داری بیشتر از تخم‌های موجود در

شرایط نوری، چشم‌زده شدند. در ماهی هالیبوت، نور وضعیت شناوری تخم‌های ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mangor-Jensen and Waiwood, 1995). این امر نشان می‌دهد اثرات مضر نور از طرق مختلف بر تخم ماهی اعمال می‌شود.

۵. نتیجه‌گیری نهایی

با در نظر گرفتن نتایج به‌دست آمده در مطالعهٔ حاضر و نیز سایر مطالعاتی که به آنها اشاره گردید، می‌توان عنوان کرد که برای بهبود شاخص‌های تولیدمثلی نیاز است که مقدار اسید اسکوربیک جیرهٔ مولدین قزل‌آلا نسبت به جیرهٔ ماهیان در مرحلهٔ پرواری افزایش داده شود. به‌نظر می‌رسد افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک به‌ازای هر کیلوگرم غذا، برخی پارامترهای تولیدمثلی قزل‌آلا از قبیل درصد لقاح، میزان تخم‌گشایی و بقای لاروها را به‌طور معنی‌داری بهود می‌بخشد. همچنین، با توجه به اثر متقابل اسید اسکوربیک و نور، برای دستیابی به حداکثر کارایی تکثیر مصنوعی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، تغذیهٔ مولدین با سطوح بالای اسید اسکوربیک و انجام انکوباسیون تحت شرایط مصون از نور لازم و ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از آقایان مهندس عطاءالدین تقوی مدیریت کارگاه تکثیر و پرورش قزل‌کمان فارس، دکتر رضا امیری فهلیانی، دکتر مجدی، مهندس عبدالمجید مشتاقیان، مهندس شهرام اسدی و سایر همکاران محترم که در این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Atasever, M., Bozkurt, Y., 2015. Effect of different photoperiod regimes on sperm quality, fecundity and fertilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 15(2), 517-523. DOI: 10.4194/1303-2712-v15_2_39

Blanco-Vives, B., Aliaga-Guerrero, M., Cañavate, J.P., Muñoz-Cueto, J.A., Sánchez-Vázquez, F.J., 2011. Does lighting manipulation during incubation affect hatching rhythms and early development of sole? *Chronobiology International* 28(4), 300-306. DOI: 10.3109/07420528.2011.560316

Blom, J.H, Dabrowski, K., 1998. Continuous or '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 of Vitamin and Nutritional Research* 68(2), 88-93.

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(5), 1073-1080. DOI: 10.1095/biolreprod52.5.1073

Brannas, E., 1987. Influence of photoperiod and temperature on hatching and emergence of Baltic salmon (*Salmo salar* L.). *Canadian Journal of Zoology* 65(6), 1503-1508. DOI: 10.1139/z87-232

Bromage, N., 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(1-3), 141-166. DOI: 10.1016/0044-8486(92)90355-O

Bromage, N., Porter, M., Randall, C., 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197(1-4), 63-98. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00583-X

Browman, H.I., Vetter, R.D., Rodriguez, C.A., Cullen, J.J., Davis, R.F., Lynn, E., Pierre, J.F.St., 2003. Ultraviolet (280-400 nm)-induced DNA damage in the eggs and larvae of *Calanus finmarchicus* G. (Copepoda) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Photochemistry and Photobiology* 77(4), 397-404. DOI: 10.1562/0031-8655(2003)077<0397:unddit>2.0.co;2

Ciereszko, A., Dabrowski, K., 1995. Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across-season study. *Biology of Reproduction* 52(5), 982-988. DOI: 10.1095/biolreprod52.5.982

Ciereszko, A., Dabrowski, K., 2000. Effect of ascorbic acid supplement in vitro on rainbow trout sperm viability. *Aquaculture International* 8: 1-8. DOI: 10.1023/A:1009253330451

Dabrowski, K., 2001. History, present and future of ascorbic acid research in aquatic organism. In: Dabrowski, K (Editor). Ascorbic Acid in Aquatic Organisms–Status and Perspectives. CRC Press, Boca Raton, 280 p. DOI: 10.1201/9781420036312

Dadfar, F., Bahaoddini, A., Esmaeili, H.R., Fopp-Bayat, D., 2017. The effects of different artificial light colours on the growth rate of embryo and juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Polish Journal of Natural Sciences* 32(1), 179-189.

Dey, D.B., Damkaer, D.M., 1990. Effects of spectral irradiance on the early development of Chinook salmon. *The Progressive Fish-Culturist* 52(3), 141-154. DOI: 10.1577/1548-8640(1990)052<0141:EOSIOT>2.3.CO;2

Downing, G., Litvak, M.K., 2002. Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) embryos. *Aquaculture* 213(1-4), 265-278. DOI: 10.1016/S0044-8486(02)00090-X

Duncan, N.J., Ibarra-Castro, L., Alvarez-Villasenor, R., 2008. Effect of the dusk photoperiod change from light to dark on the incubation period of eggs of the spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner). *Aquaculture Research* 39(4), 427-433. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01851.x

Ellis, E.P., Watanabe, W.O., Ellis, S.C., Ginoza, J., Moriwake, A., 1997. Effects of turbulence, salinity, and light intensity on hatching rate and survival of larval Nassau grouper, *Epinephelus striatus*. *Journal of Applied Aquaculture* 7(3), 33-43. DOI: 10.1300/J028v07n03_04

Emata, A.C., Bohongan, I.G. Damaso, J.P., 2000. Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milk fish Chanos *chanos* Forsskai. *Aquaculture Research* 31(7), 557-564. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2000.00467.x

Falcón, J., Besseau, L., Sauzet, S., Boeuf, G., 2007. Melatonin effects on the hypothalamo-pituitary axis in fish. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 18(2), 81-88. DOI: 10.1016/j.tem.2007.01.002

FAO., 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020 (in brief). 26 p.

Fatima, M., Afzal, M., Shah, S.Z.H., 2019. Effect of dietary oxidized oil and vitamin E on growth performance, lipid peroxidation and fatty acid profile of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture Nutrition* 25(2), 281-291. DOI: 10.1111/anu.12851

Forsell, J., Ekstrom, P., Flamarique, I.N., Holmqvist, B., 2001. Expression of pineal ultraviolet-and green-like opsins in the pineal organ and retina of teleosts. *Journal of Experimental Biology* 204(14), 2517-2525. DOI: 10.1242/jeb.204.14.2517

Gammanpila, M., Yakupitiyage, A., Bart, A.N., 2007. Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and zinc supplementation on reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences* 12, 39-60. DOI: 10.4038/sljas.v12i0.2213

Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B.T., Mamauag, R.E., 2013. Effect of dietary oxidized fish oil and vitamin C supplementation on growth performance and reduction of oxidative stress in Red Sea Bream *Pagrus major*. *Aquaculture Nutrition* 19(1), 35-44. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2011.00921.x

Gavriilidou, I., Fotis, G., Batzios, C., 2003. Reproduction output of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fed increasing levels of ascorbic acid. *Pakistan Journal of Biological Information* 6(19), 1664-1671. DOI: 10.3923/pjbs.2003.1664.1671

Ghasemi, R., Yazdanparast, T., Koohpayehzadeh Esfahani, H., Pouri Razavi, S., Taati Keley, M.M., 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(5), 91-98.

Hader, D.P., Kumar, H., Smith, R., Worrest, R., 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystem and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Sciences* 6(3), 267-285. DOI: 10.1039/b700020k

Hickford, M.J., Schiel, D.R., 2011. Synergistic interactions within disturbed habitats between temperature, relative humidity and UVB radiation on egg survival in a diadromous fish. *PloS One* 6(9), e24318. DOI: 10.1371/journal.pone.0024318

Huff, D.D., Grad, G., Williamson, C.E., 2004. Environmental constraints on spawning depth of yellow perch: the roles of low temperature and high solar ultraviolet radiation. *Transactions of the American Fisheries Society* 133(3), 718-726.

Ibrahim, R.E., Ahmed, S.A.A., Amer, S.A., Al-Gabri, N.A., Ahmed, A.I., Abdel-Warith A.W.A., Younis, E.M.I., Metwally, A.E., 2020. Influence of vitamin C feed supplementation on the growth, antioxidant activity, immune status, tissue histomorphology, and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Reports* 18, 100545. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100545

Kalamarz, H., Nietrzeba, M., Fuentes, J., Martinez-Rodriguez, G., Mancera, J., Kulczykowska, E., 2009. Melatonin concentrations during larval and postlarval development of Gilthead Sea bream *Sparus auratus*: More than a time-keeping molecule? *Journal of Fish Biology* 75(1), 142-155. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2009.02272.x

Knight, A.E., 1963. The embryonic and larval development of the rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 92(4), 344-456. DOI: 10.1577/1548-8659(1963)92[344:TEALDO]2.0.CO;2

Knox, D., Bromage, N.L.R., Cowey, C.B., Springate, J.R.C., 1988. The effect of broodstock ration size on the composition of rainbow trout eggs (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 69(1-2), 93-104. DOI: 10.1016/0044-8486(88)90189-5

Liu, H.W., Stickney, R.R., Dickhoff, W.W., Mecaughran, D.A., 1994. Effects of environmental factors on egg development and hatching of pacific halibut *Hippoglossus stenolepis*. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(2), 317-321. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1994.tb00197.x

Mangor-Jensen, A., Holm, J.C., 1994. Effect of dietary vitamin C on maturation and egg quality of cod *Gadus morhua* L. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(1), 30-40. DOI: 10.1111/j.1749-7345.1994.tb00801.x

Mangor-Jensen, A., Waiwood, K.G., 1995. The effect of light exposure on buoyancy of halibut eggs. *Journal of Fish Biology* 47(1), 18-25. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1995.tb01869.x

Mehrabi, Y., 1998. A preliminary study on the anesthetic effect of clove flower powder in rainbow trout. *Veterinary Research & Biological Products* 11(3-4), 160-162. DOI: 10.22092/vj.1998.112953

Migaud, H., Davie, A., Taylor, J., 2011. Current knowledge on the photoneuroendocrine regulation of reproduction in temperate fish species. *Journal of Fish Biology* 76(1), 27-68. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2009.02500.x

Mino, S.A., Metillo, E.B., Tobias, E.G., 2008. Effects of photoperiod on egg hatching and growth and survival of larvae fed with different diets in the Asian catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunther) and the African catfish, *C. gariepinus* (Burchell). *The Philippine Agricultural Scientist* 91(4), 431-438.

Miranda, L.A., Strussmann, C.A., Somoza, G.M., 2009. Effects of light and temperature conditions on the expression of GnRH and GtH genes and levels of plasma steroids in *Odontesthes bonariensis* females. *Fish Physiology and Biochemistry* 35(1), 101-108. DOI: 10.1007/s10695-008-9232-3

National Research Council (NRC)., 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: The National Academies Press. 392 p. DOI: 10.17226/13039

Navarro, R.D., Filho, O.P.R., Ferreira, W.M., Pereira, F.K.S. 2009. The importance of the vitamin E, C and A in the reproduction of fishes: literature review. *Animal Reproduction* 33(1), 20-25.

Novales Flamarique, I., Harrower, W.L., 1999. Mortality of sockeye salmon raised under light background of different spectral composition. *Environmental Biology of Fishes* 55(3), 279-293. DOI: 10.1023/A:1007528603387

Pham, H.Q., Elin, K., Nguyen, A.T., Nguyen, M.D. Arukwe, A., 2010. Reproductive cycle in female Waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*) reared under different salinity levels and the effects of dopamine antagonist on steroid hormone levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 383(2), 137-145. DOI: 10.1016/j.jembe.2009.12.010

Pornsoping, P., Unsrisong, G., Vearasilp, T., Wessels, S., Hörstgen-Schwark, G., 2007. Reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) kept under water temperatures and photoperiods of 13° and 51°N latitude. *Aquaculture Research* 38(12), 1265-1273. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01785.x

Poursaeid, S., Falahatkar, B., Efatpanah, I., 2012. The effect of different light regimes on incubation indices of Persian sturgeon eggs *Acipenser persicus*. *Journal of Marine Science and Technology* 11(2), 25-35.

Sandnes, K., Ulgenes, Y., Braekkan, O.R., Utne, F., 1984. The effect of AA supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 43, 167-177. DOI: 10.1016/0044-8486(84)90019-X

Soliman, A.K., Jauncey, K., Roberts, R.J., 1986. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture* 59(3), 197-208. DOI: 10.1016/0044-8486(86)90004-9

Soulsby, C., Youngson, A., Moir, H., Malcolm, I., 2001. Fine sediment influence on salmonid spawning habitat in a lowland agricultural stream: a preliminary assessment. *Science of the Total Environment* 265(1-3), 295-307. DOI: 10.1016/S0048-9697(00)00672-0

Teears, T.D., Baedke, S.J., Downey, D.M., Studio, J.A., May, C.L., 2020. Water chemistry and light effects on survival of hatching salmonids in spring channels. *Journal of Freshwater Ecology* 35(1), 13-28. DOI: 10.1080/02705060.2019.1710584

Tocher, D.R., Mourente, G., Van Der Eecken, A., Evjemo, J.O., Diaz, E., Wille, M., Bell, G.C., Olsen, Y., 2003. Comparative study of antioxidant defence mechanisms in marine fish fed variable levels of oxidised oil and vitamin E. *Aquaculture International* 11(1), 195-216. DOI: 10.1023/A:1024127003997

Watanabe, W.O., Feeley, M.W., 2004. Light intensity effects on embryos, prolarvae, and first-feeding stage larvae of the summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *Journal of Applied Aquaculture* 14(3-4), 179-200. DOI: 10.1300/J028v14n03_14

Winston, G.W., Digiulio, R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* 19(2), 137-161. DOI: 10.1016/0166-445X(91)90033-6

Zhu, D.M., Yang, K., Gul, Y., Song, W., Zhang, X., Wang, W., 2014. Effect of photoperiod on growth and gonadal development of juvenile top mouth gudgeon *Pseudorasbora parva*. *Environmental Biology of Fishes* 97(2), 147-156. DOI: 10.1007/s10641-013-0133-7