اثر سطوح مختلف ویتامین B_{12} در پرورش توام ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و گیاه زعفران (*Crocus sativus*) و بررسی تاثیر آن بر عملکرد گیاه و شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی خون ماهی

- **سینا جوانمردی**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- **کامران رضایی‌توابع***: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- **رعنا بهادری**: گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر افزودن سطوح مختلف ویتامین B_{12} به آب در یک سازگان توام ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و گیاه زعفران (*Crocus sativus*)، تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی تیلاپیای نیل ۱/۵±۱۲/۵ گرمی و ۱۲۰ عدد پیاز گیاه زعفران به شکل کاملاً تصادفی به ۱۲ واحد آزمایشی وارد شدند و تحت تاثیر تیمارهای هفتگی ۰، ۱۰، ۲۰، و ۳۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} در هر لیتر آب به‌مدت ۶۰ روز قرار گرفتند. در پایان، شاخص‌های رشد ماهی از قبیل درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین تغییر معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایش نشان نداد ($P\geq0/05$). وزن ریشه گیاه زعفران در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین به شکل معنی‌داری از سایر تیمارها بیش‌تر بود و طول برگ گیاه زعفران در تیمارهای ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین به‌ترتیب کاهش معنی‌دار داشت. سنجش برخی شاخص‌های بیوشیمیایی خون ماهی نیز نشان داد محتوای پروتئین کل، گلوکز و کورتیزول موجود در سرم خون ماهی در تمام تیمارها از نظر آماری برابر بود ($P\geq0/05$). اما محتوای آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز سرم خون ماهی، در تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین از سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P\leq0/05$). نتایج بیان‌گر این است که افزودن ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} به آب سازگان کشت توام گیاه زعفران و ماهی تیلاپیای نیل، می‌تواند سبب بهبود رشد و عملکرد گیاه زعفران شود.

کلمات کلیدی: آکواپونیک، کوبالامین، گیاه زعفران، ویتامین ب۱۲، ماهی آب‌شیرین

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: krtavabe@ut.ac.ir

مقدمه

در صنعت آبزی‌پروری، به‌منظور حفظ کیفیت آب برای رشد ماهی نیاز به تعویض آب روزانه امری ضروری است. مطالعات نشان داده است که فاضلاب آبزی‌پروری شامل مواد دفعی ماهی، متابولیت‌ها، خوراک باقی‌مانده، علف‌کش‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و غیره است (Klinger و Naylor، ۲۰۱۲). در صورت عدم مدیریت هوشمندانه، بار زیادی از مواد آلی باعث آلودگی محیط‌های پرورشی و در نهایت آسیب به محیط‌های آبی دریافت‌کننده پساب پرورش ماهی و آبزیان می‌شود. به‌منظور جلوگیری از تشدید مشکلات زیست‌محیطی، روش‌ها و سازگان‌های زیادی برای کاهش بار آلودگی ارائه‌شده است. دراین‌میان سیستم‌های آکواپونیک (Aquaponics) به‌عنوان مهم‌ترین سیستم‌های این مقطع زمانی تعریف شده‌اند (Rakocy و همکاران، ۲۰۰۳). سازگان پرورش توام گیاه و آبزیان یا "آکواپونیک" به‌عنوان عاملی تعریف‌شده است که به‌طور موثر بر کاهش اثرات نامطلوب آبزی‌پروری بر محیط زیست تاثیر دارد (Rafiee و Saad، ۲۰۰۵). آکواپونیک به هرگونه سامانه اطلاق می‌شود که فعالیت‌های کشاورزی را با پرورش هرگونه حیوان (اعم از دام یا آبزی) در یک محیط محدود شده آبی ترکیب کند، که در واقع تلفیقی از سیستم آب‌کشت (کشت گیاه در آب) و آبزی‌پروری می‌باشد. در سیستم آکواپونیک، آب حاوی مواد مغذی و فضولات آبزیان، به‌عنوان مواد مغذی به مصرف گیاهان می‌رسد و در نهایت پساب تولیدی ماهی با تصفیه شدن، دوباره برای ماهی‌های پرورشی استفاده می‌شود (Zou و همکاران، ۲۰۱۶؛ Rafiee و Saad، ۲۰۰۵). یکی از اصلی‌ترین مزیت‌های سیستم پرورش آکواپونیک صرفه اقتصادی این سیستم برای پروش آبزیان و گیاهان به شکل توام می‌باشد. برآورد شده است که در این سیستم حدود ۲۳ درصد هزینه‌های برق و ۱۱ درصد هزینه‌های غذای ماهی کاهش می‌یابد (Blidariu و Grozea، ۲۰۱۱). یکی از گونه‌های آبزی که خصوصیات مناسبی جهت پرورش در سازگان آکواپونیک دارد ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) می‌باشد. تیلاپیا یک نام رایج است که حدود ۱۰۰ گونه از سیچلاید ماهیان را در بر می‌گیرد. تیلاپیا یک ماهی اصطلاحاً گرمابی و ساکن آب‌شیرین است که عمدتاً ساکن نهرهای کم عمق، آبگیرها، رودخانه‌ها و دریاچه‌ها می‌باشد و به‌صورت محدود در آب‌های لب‌شور نیز دیده می‌شود (Suresh و Lin، ۱۹۹۲). تیلاپیا دومین ماهی از نظر میزان پرورش در سراسر جهان است و تولید آن طی دهه گذشته به‌دلیل استفاده از آن در سیستم‌های گوناگون آبزی‌پروری، قابلیت فروش و قیمت بازار پایدار، چهار برابر شده‌است (Wang و Lu، ۲۰۱۶). در بین گونه‌های مختلف تیلاپیا، تیلاپیای نیل(*O. niloticus*) به‌دلیل عملکرد رشد بهتر و مقاومت بیش‌تر علیه بیماری‌ها، گونه مهم‌تری تلقی می‌شود و میزان پرورش آن بیش‌تر است(Abd El-Rhman و همکاران، ۲۰۰۹). جهت پاسخ به نیاز روزافزون جهانی به آبزیان پرورشی خوراکی، می‌بایست صنعت آبزی‌پروری به سمت بالابردن تراکم پرورش متمایل گردد. تیلاپیا ازجمله ماهیانی است که تراکم بالا را در پرورش به‌خوبی می‌پذیرد اما تراکم زیاد در پرورش می‌تواند نرخ رشد، عملکرد تولیدمثلی و میزان مقاومت به بیماری‌ها را دستخوش تغییرات زیادی سازد (Telli و همکاران، ۲۰۱۴). سوق دادن این تغییرات به سمتی که بیش‌ترین بازده در پرورش تیلاپیا ایجاد گردد یک امر بسیار ضروری است. تاکنون در ارتباط با کشت زعفران در سیستم آب‌کشت‌کار علمی چندانی صورت نگرفته است. داده‌ها نشان می‌دهد که این گیاه را می‌توان به‌عنوان گونه گیاهی مناسب جهت کشت توام گیاه و آبزی به‌کار برد. با توجه به شرایط محیطی مناسب برای کشت گیاه زعفران، به‌خصوص شرایط دمایی مناسب، این گیاه می‌تواند بسیار مطلوب برای معرفی در سازگان آب‌کشت در گلخانه باشد. لذا، به‌عنوان یکی از گزینه‌های مناسب جهت پرورش در سازگان کشت توام آکواپونیک قابل طرح است (Souret و Weathers، ۲۰۰۰). زعفران گیاهی علفی چند ساله، از تیره زنبق‌یان (Iridaceae) بوده که نام علمی آن *Crocus sativus* می‌باشد و از طریق پیاز تکثیر می‌شود. پیاز زعفران جز ریشه آن محسوب نمی‌شود و جز ساقه‌های زیرزمینی محسوب شده و در اصطلاح گیاه‌شناسی به بنه مرسوم است. اما زعفران با وجود قدمت کشت زیاد، در مقایسه با بسیاری از گیاهان زراعی رایج در کشاورزی در سطح دنیا، از فناوری‌های نوین سهم کم‌تری دارد و تولید آن بیش‌تر متکی بر دانش بومی است (Zuo و Zhang، ۲۰۱۱). باکتری‌های تولید کننده کوبالامین در دستگاه گوارش انسان، از دهان و لثه و حلق تا روده بزرگ، زندگی می‌کنند (Graham و همکاران، ۲۰۰۹). اما تعداد این باکتری‌ها در بدن آبزیان به نسبت کم‌تر از بدن انسان می‌باشد (Sugita و همکاران،۱۹۹۱) که همین امر اهمیت دسترسی آبزیان به این ویتامین را افزایش می‌دهد. ویتامین B_{12} در منابع حیوانی مانند جگر گوسفند، شیر، پنیر و تخم‌مرغ وجود دارد و دارای ۴ درصد کبالت است و کمبود آن منجر به بیماری کم‌خونی وخیم (آنمی) و غیرطبیعی شدن گویچه‌های قرمز خون می‌شود (Yamada، ۲۰۱۳). هم‌چنین این ویتامین در تولید یاخته‌های بدن نقش دارد و وظیفه آن همانند اسیدفولیک، شرکت در همانندسازی ژن‌های هسته سلول می‌باشد و در تکثیر سلول‌ها در بافت عصبی (تولید رشته‌های عصبی این بافت) و دستگاه گوارش و مغز استخوان نقش دارد (Fenech، ۲۰۰۱). در راستای افزایش کارایی رشد گیاه و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آب، استفاده از ویتامین‌های مختلف در سازگان آکواپونیک نیز می‌تواند امری بسیار مفید و ضروری تلقی گردد، زیرا هم گونه آبزی و هم گونه گیاهی نیاز به این ویتامین‌ها دارند. یکی از ویتامین‌های مهم

جهت پرورش گیاه و آبزی ویتامین B_{12} می‌باشد. ویتامین B_{12} یا کوبالامین یک ویتامین حساس و مهم برای بدن است. این ویتامین که برای تکثیر سلولی (خون‌سازی) و عملکرد سیستم عصبی بسیار ضروری می‌باشد یک ویتامین بسیار حساس است و قابلیت تحمل نور، مواد اسیدی و قلیایی را ندارد (Miller و همکاران، ۲۰۰۵). تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرافزودن سطوح مختلف ویتامین B_{12} به‌آب در یک سازگان توام ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و گیاه زعفران (*Crocus sativus*) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

واحد آزمایش و طرح آزمایش: هر واحد آزمایش شامل یک مخزن نگه‌داری ماهی به حجم نگه‌داری ۲۲۰ لیتر آب و یک مخزن پرورش گیاه به حجم ۳۰ لیتر بود که در بالای مخزن پرورشی قرار داده شد و از طریق یک پمپ مکش‌آب، آب از مخزن پرورش ماهی وارد مخزن نگه‌داری گیاه گردید. روی هر مخزن گیاه، یک درپوش یونولیتی قرار گرفت و در هر درپوش ۱۰ حفره جهت قرار گرفتن گلدان‌های کشت گیاه زعفران تعبیه شد. در هر حفره یک عدد گلدان پلاستیکی که جهت ورود آب به گلدان‌ها، منفذهایی در آن تعبیه شده بود قرار گرفت و سپس هر گلدان با خاکی به فرمول ۱۵ درصد ماسه بادی، ۳۰ درصد کوکوپیت و ۵۵ درصد پرلیت پر گردید (جهت دستیابی به فرمول مذکور به‌عنوان پیش آزمون گیاهان زعفران در ۲۴ گلدان حاوی نسبت‌های مختلف از ماسه‌بادی، کوکوپیت و پرلیت کشت گردید که گیاهان زعفران کشت شده فرمول خاک استفاده شده در این مطالعه بهترین عملکرد را نشان داد) سپس در عمق ۷سانتی‌متری هر گلدان ۳ عدد پیاز گیاه زعفران با وزن ۰/۱۲±۳/۷ گرم کشت گردید. به گونه‌ای که وقتی درپوش بر روی مخزن کوچک‌تر قرار گرفت ۳ سانتی‌متر از انتهای گلدان‌ها درون آب مخزن کوچک‌تر فرو می‌رفت. در طی یک دوره ۶۰ روزه آزمایش، هیچ‌گونه تعویض آبی در هیچ‌یک از مخازن صورت نگرفت. تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی تیلاپیای نیل با وزن متوسط ۱/۵±۱۲/۵ گرم تهیه گردید و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال یافت. بعد از سازگاری ۱۵ روزه ماهیان با شرایط محیطی جدید، ماهی‌ها به‌طور تصادفی به ۱۲ واحد پرورشی وارد شدند (۲۰ قطعه ماهی در هر واحد آزمایش). پس از آماده‌سازی شرایط اجرای آزمایش، آزمایش در ۴ تیمار و۳ تکرار، به‌شرح زیر اجرا شد:

تیمار ۱ (شاهد): عدم افزودن B_{12} به مخازن آزمایش، تیمار ۲: افزودن ۱۰ میلی‌گرم B_{12} در هر لیتر آب پرورشی (به‌صورت هفتگی)، تیمار ۳: افزودن ۲۰ میلی‌گرم B_{12} در هر لیتر آب پرورشی (به‌صورت هفتگی) و تیمار ۴: افزودن ۳۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} در هر لیتر آب پرورشی (به‌صورت هفتگی)

ویتامین و غذادهی: کوبالامین (ویتامین B_{12}) مورد استفاده در این تحقیق از شرکت داروسازی Merck آلمان تهیه گردید. سطوح مختلف ویتامین به‌صورت هفتگی به‌آب افزوده شد. هم‌چنین به‌منظور تغذیه ماهی‌ها، از غذای پلت طراحی شده ویژه ماهیان گرمابی با ۳۹ درصد پروتئین استفاده گردید (شرکت ساخت غذای آبزیان فرادانه، شهرکرد). از آن‌جاکه تمامی ویتامین‌های گروه B به شکل ترکیب (B complex) به‌علاوه B_{12} به غذای ماهی افزوده می‌شد، این ویتامین تنها ویتامین گروه B بود که به شکل جداگانه به جیره اضافه می‌گردید و به‌همین دلیل حذف آن از جیره به‌راحتی امکان‌پذیر بود. در نتیجه شرکت غذاسازی (به شکل سفارشی) از افزودن مکمل ویتامین B_{12} به جیره خودداری کرد. غذادهی دوبار در روز در ساعات ۷ و ۱۹ و به‌میزان روزانه ۴ درصد وزن بدن انجام پذیرفت و میزان غذای مصرفی برای هر واحد آزمایش در هر روز یادداشت گردید.

روش‌های سنجش

شاخص‌های رشد: در پایان دوره ۶۰ روزه آزمایش، غذادهی برای مدت ۲۴ ساعت متوقف گردید و پس از آن تمام ماهیان هر مخزن برداشت شدند و جهت آرام‌سازی به‌مدت ۵ دقیقه در محلول ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک قرار گرفتند. در انتها وزن و طول تمام ماهی‌ها اندازه‌گیری شد و عملکردهای رشد و بقا توسط فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

= درصد افزایش وزن (گرم)

۱۰۰× [میانگین وزن اولیه / (میانگین وزن اولیه − میانگین وزن نهایی)]

= ضریب رشد ویژه (درصد در روز)

تعداد روزها / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه−لگاریتم طبیعی وزن نهایی) × ۱۰۰

گرم افزایش وزن / گرم غذای خورده شده = ضریب تبدیل غذایی

گرم پروتئین دریافتی / گرم افزایش وزن = ضریب کارایی پروتئین

۱۰۰ × (تعداد اولیه ماهیان / تعداد نهایی ماهیان) = درصد بقا

شاخص‌های رشد گیاه زعفران: در پایان دوره ۶۰روزه آزمایش تمامی لیوان‌ها از آب مخازن خارج گردید، خاک درونشان تخلیه شد و به وسیله آب‌شویی به شکل بسیار آرام و با احتیاط کامل، خاک اطراف پیازهای گیاه زعفران حذف گردید. به شکلی که بدون ضربه زدن و آسیب رسیدن به ریشه‌ها و بنه‌ها تمامی خاک اطرافشان شست‌شو شد. سپس وزن پیاز (بنه)، وزن ریشه‌ها و طول برگ‌ها اندازه‌گیری گردید. هم‌چنین در طول آزمایش، پس از شکوفایی کامل گل‌ها، کلاله گل‌ها (زعفران) جداسازی شد و طول دقیق آن‌ها توسط کولیس (با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر) مورد سنجش قرار گرفت.

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم‌خون ماهی: پس از محاسبه عملکرد رشد ماهی، جهت اندازه‌گیری پروتئین کل، گلوکوز، کورتیزول، آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترنسفراز موجود در سرم خون ماهی، ۵ قطعه ماهی از هر مخزن برداشت گردید و به‌مدت ۱۰ دقیقه ماهی‌ها در محلول ۲۰ گرم بر لیتر پودر گل میخک قرار گرفتند و پس از بی‌هوشی کامل خون‌گیری از ساقه دمی توسط سرنگ‌های استریل ۲ میلی‌لیتری انجام شد. نمونه‌ها پس از ۶ ساعت نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و لخته شدن کامل، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۷ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس سرم خون توسط سمپلر از روی نمونه‌ها برداشته شد. نمونه‌های سرم توسط دستگاه سنجش‌گر خودکار شاخص‌های بیوشیمیایی (شرکت هیتاچی، ساخت کشور ژاپن) و کیت‌های ضمیمه‌ای (شرکت پارس آزمون، ساخت ایران) مورد ارزیابی قرار گرفت. کورتیزول نیز به‌روش الیزا توسط کیت‌های تجاری (شرکت آی بی ال، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد (Wotton و Freeman، ۱۹۸۲)

تجزیه‌و‌تحلیل‌های آماری: ابتدا نرمال بودن تمام داده‌ها توسط آزمون کلموگروف – اسمیرنوف سنجش گردید و سپس با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA موردبررسی‌قرارگرفت. هم‌چنین از آزمون چنددامنه‌ای‌دانکن با سطح‌معنی‌داری($P\leq$۰/۰۵)برای‌مقایسه میانگین بین تیمارها استفاده شد. تمام داده‌های موجود در این مقاله به‌صورت میانگین±انحراف‌معیارارائه گردیدوجهت انجام‌تمام‌تجزیه‌وتحلیل‌های آماری، از نرم‌افزار تحت ویندوز SPSS نسخه ۲۴ استفاده گردید.

نتایج

عملکرد رشد و بقا ماهی: شاخص‌های رشد از قبیل درصد افزایش وزن و نرخ رشد ویژه، میانگین وزن انفرادی ماهیان تغییر معنی‌داری را در بین تیمارهای آزمایش نشان نداد ($P\geq$۰/۰۵). نرخ تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین نیز در هیچ‌یک از تیمارها تغییرات معنی‌داری را نشان نداد($P\geq$۰/۰۵). میزان تلفات در طول دوره آزمایش بسیار ناچیز و در تمامی تیمارها کم‌تر از ۵ درصد بود و تیمارها از نظر درصد بقا فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱).

عملکرد رشد گیاه زعفران: با افزایش سطوح ویتامین B_{12} در آب، وزن پیازها تغییر معنی‌داری نشان نداد و از نظر آماری همواره مقداری‌ثابت‌بود($P\geq$۰/۰۵). وزن خشک ریشه در تیمارهای شاهد، ۱، ۲ و۳ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد اما در تیمار ۴ وزن ریشه به شکل معنی‌داری از سایر تیمارها بیش‌تر بود ($P\leq$۰/۰۵). طول برگ در تیمار ۲ با تیمار شاهد برابر بود اما در تیمارهای ۳ و ۴ طول برگ‌ها به‌ترتیب کاهش معنی‌دار داشت. طول کلاله نیز در تمام تیمارها فاقد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۲).

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی: در پایان آزمایش برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی‌ها اندازه‌گیری شد (جدول ۳). پروتئین کل سرم خون در تمام تیمارها از نظر آماری برابر بود و تحت تاثیر سطوح مختلف ویتامین B_{12}، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ($P\geq$۰/۰۵). هم‌چنین سطح گلوکز و کورتیزول موجود در سرم خون ماهی نیز تحت تاثیر سطوح مختلف ویتامین B_{12} در آب مخازن‌پرورش گیاه قرار نداشت و همواره در تمام تیمارها از نظر آماری مقداری ثابت بود. محتوای آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز سرم خون ماهی،در تیمار شاهد به شکل معنی‌داری از تیمارهای ۲ و ۳ بیش‌تر بود، با این‌حال در تیمار ۴ محتوای این دو آنزیم از سایر تیمارها هم‌چنین از تیمار شاهد نیز بیش‌تر بود ($P\leq$۰/۰۵).

جدول ۱: شاخص‌های رشد ماهی تیلاپیای نیل در بین تیمارهای آزمایش، در پایان دوره ۶۰ روزه

تیمارها	وزن اولیه (گرم)	وزن نهایی (گرم)	درصد افزایش وزن نهایی	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	ضریب تبدیل غذایی	نرخ کارایی پروتئین	درصد بقا
۱	۱۲/۴۹ ± ۰/۵۳	۴۴/۲۲ ± ۵/۲۵	۲۷۵/۲ ± ۱۹/۴۳	۲/۱۱ ± ۰/۱۴	۱/۲۷ ± ۰/۱۵	۲/۴۴ ± ۰/۱۹	۹۶/۶۶ ± ۲/۸۸
۲	۱۲/۴۱ ± ۰/۲۳	۴۴/۴۸ ± ۳/۸۷	۲۶۹/۹ ± ۶۷/۱۳	۲/۱۸ ± ۰/۳۱	۱/۲۴ ± ۰/۱۷	۲/۵ ± ۰/۱۴	۹۶/۶۶ ± ۲/۸۸
۳	۱۲/۵۵ ± ۰/۶۱	۴۵/۰۸ ± ۴/۱۱	۲۸۱/۵۹ ± ۲۵/۷۱	۲/۲۲ ± ۰/۰۸	۱/۲۱ ± ۰/۰۴	۲/۵۸ ± ۰/۰۵	۹۸/۳۳ ± ۲/۸۸
۴	۱۲/۴۸ ± ۰/۶۹	۴۶/۷۴ ± ۲/۷	۲۸۶/۳۲ ± ۱۷/۶۶	۲/۳۱ ± ۰/۱۷	۱/۱۸ ± ۰/۱۱	۲/۶۳ ± ۰/۲۱	۹۶/۶۶ ± ۲/۸۸

داده‌ها به شکل میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

جدول ۲: شاخص‌های رشد گیاه زعفران در بین تیمارهای آزمایش در پایان دوره ۶۰ روزه

تیمارها	وزن اولیه پیاز (گرم)	وزن نهایی پیاز (گرم)	وزن ریشه (گرم)	طول برگ (سانتی‌متر)	طول کلاته (میلی‌متر)
۱	۳/۶۷ ± ۰/۱۱	۳/۳۱ ± ۰/۲۹	۱/۰۹ ± ۰/۲۱^{a}	۶/۷۱ ± ۱/۵۴^{c}	۳۱/۲۷ ± ۴/۲
۲	۳/۷۳ ± ۰/۱۹	۳/۳۴ ± ۰/۲۵	۱/۲ ± ۰/۲^{a}	۶/۵۹ ± ۱/۱۳^{c}	۳۰/۹۴ ± ۲/۸۸
۳	۳/۷۸ ± ۰/۰۸	۳/۲۹ ± ۰/۳	۱/۲۴ ± ۰/۵۶^{a}	۶/۰۸ ± ۰/۹۱^{b}	۳۲/۱۴ ± ۴/۶۱
۴	۳/۶۹ ± ۰/۲۱	۳/۳۸ ± ۰/۱۷	۲/۳۳ ± ۱/۰۴^{b}	۵/۶۷ ± ۲/۱۱^{a}	۳۱/۹۳ ± ۴/۶

داده‌ها به شکل میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P<$۰/۰۵).

جدول ۳: شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی تیلاپیای نیل در بین تیمارهای آزمایش در پایان دوره ۶۰ روزه

تیمارها	پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر)	گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	کورتیزول (میکروگرم بر دسی‌لیتر)	آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر)	آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر)
۱	۴/۸ ± ۰/۲۵	۱۳۱/۵۲ ± ۱۱/۶	۲۳۳/۵۴ ± ۳۱/۴۵	۲۹/۸۸ ± ۴/۲۷[b]	۲۴۲/۱۹ ± ۲۹/۷۱[b]
۲	۴/۷۴ ± ۰/۷۶	۱۵۲/۱۱ ± ۳۹/۲۱	۲۲۶/۵۷ ± ۱۲/۲۶	۱۹/۲۴ ± ۳/۶۱[a]	۲۰۵/۷۸ ± ۱۸/۱۱[a]
۳	۴/۸۹ ± ۰/۵	۱۴۹/۷ ± ۱۸/۵۴	۲۵۱/۴ ± ۴۱/۷۷	۱۸/۱۲ ± ۶/۰۴[a]	۲۱۲/۶۳ ± ۴۱/۴۱[a]
۴	۴/۳۶ ± ۲/۱۶	۱۴۰/۶۹ ± ۹/۹	۲۳۷/۱۳ ± ۹/۴۴	۳۶/۱۶ ± ۱/۵۶[c]	۲۶۹/۳۳ ± ۳۴/۷۴[c]

داده‌ها به شکل میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P<0/05$).

بحث

در تحقیق حاضر افزودن سطوح مختلف ویتامین B_{12} تاثیری بر شاخص‌های رشد و نرخ تبدیل غذایی نداشت که با نتایج آزمایش فضایی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی ویتامین E نیز هم‌خوانی داشت به‌طوری که افزودن ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ویتامین E به جیره غذایی ماهی، تأثیری بر افزایش رشد، کاهش ضریب تبدیل غذایی و ترکیبات لاشه بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نداشت. هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط رحیمی و همکاران (۱۳۹۱) انجام شد نشان داده شد که سطوح مختلف ویتامین C نیز تاثیری بر شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی و پاسخ به استرس دمایی در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) ندارد، که یافته‌های حاصل از بررسی اثرات این ویتامین نیز با نتایج مطالعه‌حاضر هم‌خوانی دارد. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که این گروه از ویتامین‌ها در کوتاه مدت تاثیر چندانی بر شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی ندارند و می‌بایست در تمام طول دوره پرورش (از دوران لاروی تا زمان برداشت) استفاده گردند زیرا ویتامین‌ها گروهی مشتق از ترکیبات آلی هستند که به‌عنوان اجزای ضروری جیره‌های غذایی ماهی‌ها و میگوها جهت رشد، تکثیر و سلامتی آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرندو موجب تسریع فعالیت‌های زیستی می‌گردند. هم‌چنین یکی از ویتامین‌های مهم‌جهت پرورش گیاه‌وآبزی‌ویتامین B_{12}می‌باشد. Alkobaby (۲۰۰۸) اظهار داشت که عملکرد تولیدمثل تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) ممکن است با تزریق توکسوپلاسموز با دوز کم ویتامین B_{12} و فسفر آلی (به ترتیب ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم) بهبود یابد که سبب بهبود متابولیسم ماهی، افزایش تولید تخم و بهبود عملکرد تولیدمثل ماهیان ماده شود که با مقایسه این یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر، این‌گونه به‌نظر می‌رسد که ویتامین B_{12} در ماهی تیلاپیای نیل بیش‌تر در دوران مولدی و بر فاکتورهای تولیدمثلی اثرگذار است. پس از گذشت دوره ۶۰روزه آزمایش و قرار دادن ماهی‌ها در معرض سطوح مختلف ویتامین B_{12} و سپس سنجش برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی‌ها نشان داد که هنگام افزودن ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین B_{12} به آب مخازن پرورش ماهی تیلاپیای نیل سطوح آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد و از آن‌جاکه آلکالین فسفاتاز یک آنزیم با چند عملکرد است که در شرایط قلیایی به‌عنوان ترانس فسفوریلاز عمل کرده و نقش اساسی در معدنی کردن اسکلت جانوران آبزی ایفا می‌کند. هم‌چنین دو آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز در متابولیسم پروتئین و آمینواسیدها نقش دارند (Roque و همکاران، ۲۰۰۸). آنزیم آلکالین فسفاتاز توسط سلول‌های انتروسیت‌بالغ غشای لبه مسواکی تولید می‌شود که شاخص عملکرد سلول‌های انتروسیت روده است. این سلول‌ها دارای آنزیم‌های گوارشی برای هضم مواد غذایی و پروتئین‌های حامل برای جذب مواد غذایی هضم شده هستند (Krogdahl و Bakke-McKellep، ۲۰۰۵). و در نهایت افزایش عملکرد این سلول‌ها و ترشح بیش‌تر آنزیم‌ها به خصوص آنزیم آلکالین فسفاتاز سبب رشد بیش‌تر موجود می‌شود (Nya و Austin، ۲۰۱۱). اما در مطالعه حاضر افزایش آنزیم آلکالین فسفاتاز تاثیری در میزان رشد نداشته است که احتمالاً دلیل این عدم تطابق بین یافته‌ها می‌تواند به‌دلیل تفاوت در سیستم گوارشی ماهیان مختلف باشد که با توجه به رژیم همه‌چیزخواری ماهی تیلاپیای‌نیل و تمایل بیش‌تر این ماهی به رژیم گیاه‌خواری احتمالاً آنزیم آلکالین فسفاتاز نقش کم‌رنگ‌تری در فرایند هضم این گونه دارد. از طرف دیگر، Molina و همکاران (۲۰۰۵) اذعان داشتند که بالا رفتن میزان دو آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارتات آمینوترانسفراز در خون نشان دهنده آسیب به بافت کبد در ماهی است و دهقان‌زاده و همکاران (۱۳۹۲) مشاهده کردند که افزودن ویتامین D (۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی) به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) سبب افزایش میزان آلکالین فسفاتاز در خون می‌شود. در نتیجه با استناد بر تحقیقات انجام شده می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که احتمالاً سطح ۳۰ میلی‌گرم برلیتر ویتامین B_{12} برای ماهی زیاد و مضر بوده و باعث ایجاد آسیب بافتی می‌شود ولی سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم ویتامین مناسب می‌باشد و حتی نسبت به تیمار شاهد نیز مناسب‌تر

است زیرا میزان این دو آنزیم در تیمار شاهد نیز از تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین بیش‌تر بوده است.

یکی دیگر از اثرات افزودن ویتامین B_{12} به سیستم پرورش توام ماهی تیلاپیا و گیاه زعفران کاهش طول برگ‌ها در گیاه زعفران بود که این کاهش طول برگ‌ها از دیدگاه کشاورزی دارای مزایا و معایبی می‌باشد. بررسی اثر مقادیر مختلف کمپوست قارچ بر طول برگ زعفران توسط رضوانی مقدم و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد بهبود رشد زعفران در شرایط استفاده از مقدار مناسب کمپوست منجر به افزایش رشد و بهبود خصوصیات رشدی ازجمله افزایش سطح فتوسنتز کننده زعفران می‌شود که افزایش سطح برگ زعفران سبب فتوسنتز بیش‌تر گیاه و بهبود تولید گل می‌شود. در مطالعه حاضر استفاده از ویتامین B_{12} به میزان ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم سبب کاهش معنی‌دار طول برگ شده است که با نتایج رضوانی مقدم و همکاران (۱۳۹۲) هم‌خوانی ندارد. اما کاهش طول برگ در اثر استفاده از ویتامین B_{12} می‌تواند یک عامل مثبت نیز تلقی گردد زیرا اگرچه افزایش سطح برگ سبب افزایش میزان فتوسنتز در گیاه می‌شود اما جهت افزایش سطح برگ مقدار بیش‌تری از مواد غذایی در دسترس گیاه مصرف می‌شود و انرژی و مواد در دسترس گیاه به‌جای گل‌دهی کـه هدف اصلی از کشت گیاه می‌باشد، صرف برگ‌دهی می‌گردد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کاهش طول در اثر ویتامین انرژی را که گیاه صرف تولید برگ کرده را کاهش داده و آن انرژی در دسترس گیاه برای تولید گل و زعفران قرار می‌گیرد.

کاربرد کود دامی و محلول پاشی زعفران از طریق افزایش رشد رویشی موجب افزایش وزن خشک اندام‌های رویشی شده و سبب افزایش تولید زعفران می‌شود (Asadi و همکاران، ۲۰۱۴). در این تحقیق افزودن ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ویتامین B_{12} سبب افزایش وزن خشک ریشه شد. بنابراین گمان بر این است که افزایش میزان تولید ریشه می‌تواند سبب جذب بیش‌تر عناصر معدنی از خاک شده و در نتیجه سبب افزایش رشد گیاه می‌شود که با نتایج تحقیق Lee و George (۲۰۰۵) هم‌خوانی دارد، که اعلام می‌کند هم‌زیستی گیاه زعفران با قارچ‌های میکوریزا سبب افزایش وزن ریشه و در نتیجه افزایش جذب عناصر معدنی مانند فسفر می‌شود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ویتامین B_{12} به‌عنوان محرک ریشه‌زایی در گیاه زعفران عمل کرده و باعث افزایش وزن خشک ریشه شده که عاملی مثبت تلقی شده و باعث می‌شود گیاه مواد غذایی را به‌میزان بیش‌تر و راحت‌تر ازمحیط دریافت کرده و توان تولیدش افزایش می‌یابد.

در نهایت به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی به‌نظر می‌رسد افزودن ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12} به آب مخازن پرورش توام ماهی تیلاپیای نیل و گیاه زعفران، باعث بهبود کارایی گیاه زعفران می‌گردد، درحالی‌که هیچ‌گونه اثر منفی بر فعالیت زیستی ماهی ندارد. هم‌چنین از آن‌جاکه زعفران به‌عنوان گران‌ترین محصول کشاورزی و دارویی جهان (Kafi و همکاران، ۲۰۰۲) جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صادراتی ایران دارد (Koocheki، ۲۰۱۳).علی‌رغم قدمت کاشت زعفران در مقایسه با بسیاری از محصولات کشاورزی رایج در کشور، این گیاه از فناوری‌های نوین سهم کم‌تری داشته و تولید آن بیش‌تر بر دانش بومی متکی می‌باشد (Koocheki، ۲۰۰۴). با توجه به مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و بروز مشکلات زیست‌محیطی از یک‌طرف و عدم‌وجود سیستم ریشه‌ای گسترده این گیاه، استفاده از روش‌های نوین ازجمله کشت آکواپنیک همراه با استفاده از ویتامین‌ها می‌تواند روش موثری در جهت افزایش تولید این گیاه ارزشمند باشد، بنابراین لازم است تحقیقات بیش‌تری در این زمینه صورت گیرد.

تقدیر وتشکر

نگارندگان این مقاله علمی- پژوهشی وظیفه خود می‌دانند که از تمامی مسئولین واساتید گروه شیلات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و هم‌چنین آقای ماهان معتمدیان جهت نقطه نظرات علمی ایشان، صمیمانه مراتب تقدیر و تشکر ویژه خود را به‌عمل آورند.

منابع

۱. **دهقان‌زاده، س.؛ زمینی، ع. و خارا، ح.، ۱۳۹۲.** تاثیرات اضافه نمودن ویتامین D در جیره غذایی بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)بر روی سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی. فصلنامه آبزیان و شیلات. دوره ۱۶، شماره ۴، صفحات ۳۳ تا ۴۴.

۲. **رحیمی، م.؛ سوداگر، م.؛ اورجی، ح.؛ حسینی، س.ع. و تقی زاده، و.، ۱۳۹۱.** تاثیر ویتامین C بر پارامترهای خونی، رشد و پاسخ به استرس دمایی در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، شماره ۴، صفحات ۳۷۳ تا ۳۸۰.

۳. **رضوانی‌مقدم، پ.؛ کوچکی، ع.ر.؛ فیلابی، ع. و سیدی، س.م.، ۱۳۹۲.** اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد گل و بنه‌های دختری زعفران (*Crocus sativus*). مجله علوم زراعی ایران. دوره ۱۵، شماره ۳، صفحات ۲۳۴ تا ۲۴۶.

۴. **فضایی، ز.؛ سجادی، م.؛ سوری‌نژاد، ا. و اسدی، ر.، ۱۳۹۱.** اثر پرورش در تراکم‌های مختلف و افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، بقاء و ترکیبات لاشه بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بوم شناسی آبزیان. دوره ۲، شماره ۲، صفحات ۴۴ تا ۵۵.

۵. **Alkobaby, A.I., 2008.** Effects of maternal injection with organic phosphorus and vitamin B12 on reproductive performance and newely hatched offspring of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In from the pharaohs to the future. Eighth International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Proceedings. Cairo, Egypt, Aquafish Collaborative Research Support Program. pp: 375-386.

۶. **Asadi, G.A.; Rezvani Moghaddam, P. and Hassanzadeh Aval, F., 2014.** Effects of soil and foliar applications of nutrients on corm growth and flower yield of saffron (*Crocus sativus L.*) in six year- old farm. Saffron Agronomy and Technology. Vol. 2, No. 1, pp: 31-44.

۷. **Blidariu, F. and Grozea, A., 2011.** Increasing the economical efficiency and sustainability of indoor fish farming by means of aquaponics-review. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies. Vol. 44, No. 2, pp: 1-8.

۸. **El-Rhman, A.M.A.; Khattab, Y. Aand Shalaby, A.M., 2009.** Micrococcus luteus and Pseudomonas species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & Shellfish Immunology. Vol. 27, No. 2, pp: 175-180.

۹. **Fenech, M., 2001.** The role of folic acid and vitamin B12 in genomic stability of human cells. Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. Vol. 475, No. 1, pp: 57-67.

۱۰. **Graham, R.M.; Deery, E. and Warren, M.J., 2009.** Vitamin B_{12}: Biosynthesis of the corrin ring. In *Tetrapyrroles*. Springer, New York, NY. pp: 286-299.

۱۱. **Kafi, M.; Rashed Mohasel, M.H.; Koocheki, A. and Mollafilabi, A., 2002.** Saffron, Production and Processing. Zaban va Adab Press, Iran. pp: 276-278.

۱۲. **Klinger, D. and Naylor, R., 2012.** Searching for solutions in aquaculture: charting a sustainable course. Annual Review of Environment and Resources. Vol. 37, pp: 247-276.

۱۳. **Koocheki, A., 2004.** Indigenous knowledge in agriculture with particular reference production in Iran. Acta Horticulture. Vol. 650, pp: 175-182.

۱۴. **Koocheki, A., 2013.** Research on production of Saffron in Iran: Past trend and future prospects. Saffron Agronomy and Technology. Vol. 1, No. 1, pp: 3-21.

۱۵. **Krogdahl, Å. and Marie Bakke-McKellep, A., 2005.** Fasting and refeeding cause rapid changes in intestinal tissue mass and digestive enzyme capacities of Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). Comparative Biochemistry and Physiology Part a Molecular and Integrative Physiology. Vol. 141, pp: 450-460.

۱۶. **Lee, Y.J. and George, E., 2005.** Contributions of mycorrhizal hyohae to the uptake of metalcations by cucumber plants at two levels of phosphorous supply. Plant Soil. Vol. 278, pp: 361-370.

۱۷. **Miller, A.; Korem, M.; Almog, R. and Galboiz, Y., 2005.** Vitamin B_{12}, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis. Journal of the neurological sciences. Vol. 233, No. 1-2, pp: 93-97.

۱۸. **Molina, R.; Moreno, I.; Pichardo, S.; Jos, A.; Moyano, R., Monterde, J.G. and Cameán, A., 2005.** Acid and alkaline phosphatase activities and pathological changes induced in Tilapia fish (*Oreochromis* sp.) exposed subchronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions. Toxicon. Vol. 46, No. 7, pp: 725-735.

۱۹. **Nya, E.J. and Austin, B., 2011.** Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed trout, (*Oncorhynchus mykiss*) Walbaum additives to Rainbow Aquaculture Nutrition. Vol. 17, pp: 459-466.

۲۰. **Rafiee, G. and Saad, C.R., 2005.** Nutrient cycle and sludge production during different stages of red tilapia (*Oreochromis* sp.) growth in a recirculating aquaculture system. Aquaculture. Vol. 244, No. 1-4, pp: 109-118.

۲۱. **Rakocy, J.; Shultz, R.C.; Bailey, D.S. and Thoman, E.S., 2003.** Aquaponic production of tilapia and basil: comparing a batch and staggered cropping system. In South Pacific Soilless Culture Conference-SPSCC 648, pp: 63-69.

۲۲. **Roque, A.; Yildiz, H.Y.; Carazo, I. and Duncan, N., 2010.** Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H2O2) exposure. Aquaculture. Vol. 304, pp: 104-107.

۲۳. **Souret, F.F. and Weathers, P.J., 2000**. The growth of saffron (*Crocus sativus L.*) in aeroponics and hydroponics. Journal of herbs, spices and medicinal plants. Vol. 7, No. 3, pp: 25-35.

۲۴. **Sugita, H.; Miyajima, C. and Deguchi, Y., 1991.** The vitamin B12-producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish. Aquaculture. Vol. 92, pp: 267-276.

۲۵. **Suresh, A.V. and Lin, C.K., 1992.** Tilapia culture in saline waters: a review. Aquaculture. Vol. 106, No. 3-4, pp: 201-226.

۲۶. **Telli, G.S.; Ranzani-Paiva, M.J.T.; de Carla Dias, D.; Sussel, F.R.; Ishikawa, C.M. and Tachibana, L., 2014.** Dietary administration of Bacillus subtilis on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. Fish and shellfish immunology. Vol. 39, No. 2, pp: 305-311.

۲۷. **Wang, M. and Lu, M., 2016.** Tilapia polyculture: a global review. Aquaculture Research. Vol. 47, No. 8, pp: 2363-2374.

۲۸. **Yamada, K., 2013.** Cobalt: its role in health and disease. In Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. Springer, Dordrecht. pp: 295-320.

۲۹. **Zou, Y.; Hu, Z.; Zhang, J.; Xie, H.; Liang, S., Wang, J. and Yan, R., 2016.** Attempts to improve nitrogen utilization efficiency of aquaponics through nitrifies addition and filler gradation. Environmental Science and Pollution Research. Vol. 23, No. 7, pp: 6671-6679.

۳۰. **Zuo, Y. and Zhang, F., 2011.** Soil and crop management strategies to prevent iron deficiency in crops. Plant and Soil. Vol. 339, pp: 83-93.