

تاثیر ناپلیوس آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد و ویتامین C بر رشد، مرگ و میر و مقاومت در برابر استرس لارو شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

محمد نبی عدلو^۱، عباس متین فر^۲ و مهدی شمسایی مهرجان^۳

^۱ کارشناسی ارشد رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران. نویسنده مسوول مکاتبات: mnaqua@gmail.com

^۲ موسسه تحقیقات شیلات ایران.

^۳ استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۰/۰۳/۱۹

تاریخ دریافت: ۸۹/۰۹/۲۹

چکیده

این آزمایش در مدت ۳۶ روز به منظور بررسی تاثیر ناپلیوس آرتمیای فرانسیسکانای (*Artemia franciscana*) غنی شده با ویتامین C (آسکوربیل-۶-پالمیتات) بر روی میزان رشد، بازماندگی و مقاومت لاروهای ماهی شانک زردباله در برابر استرس انجام گردید. لاروهای شانک زردباله با میانگین طولی 0.8 ± 0.08 میلی‌متر و میانگین وزنی 0.1 ± 0.05 میلی‌گرم در ۵ تیمار، همراه با سه تکرار به مخازن پرورش منتقل شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ناپلیوس آرتمیای فرانسیسکانای غنی شده با روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵ و ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین C (به ترتیب گروه‌های C₁، C₂ و C₃)، روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین (گروه HUFA) و ناپلیوس آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد) بوده که تمام این تیمارها به مدت ۵ روز از روتیفر و به مدت ۱۰ روز از ناپلیوس غنی نشده و پس از آن تا روز سی و ششم با ناپلیوس آرتمیای غنی نشده و غذای کنسانتره تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش به منظور ارزیابی مقاومت در برابر استرس، دو گروه از لاروها به مدت ۲ ساعت در برابر تنش‌های شوری صفر گرم در لیتر و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و میزان مرگ و میر استرس دمایی و ماهی‌هایی که تحت استرس شوری قرار گرفتند، ثبت شدند. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که ویتامین C تاثیری بر روی رشد نداشته، ولی موجب بهبود مقاومت لاروهای شانک زردباله در برابر استرس دمایی گردید. همچنین تاثیر معنی داری را در سطوح کورتیزول، گلوکز و پروتئین کل، بین تیمارها نشان ندادند ($p > 0.05$). این در صورتی است که تفاوت معنی داری را در بازماندگی، هنگام آغاز تیمارهای تغذیه‌ای، از روز هفدهم نشان دادند. نتایج این آزمایش نشان دهنده آن است که غنی‌سازی آرتمیای با اسیدهای چرب ضروری می‌تواند موجب بازماندگی لارو ماهی شانک زردباله گردد.

واژه‌های کلیدی: غنی‌سازی، ویتامین C، اسیدهای چرب، آرتمیای فرانسیسکانا، لارو شانک زردباله.

مقدمه

با موفقیت تکثیر گردیده و در شرایط مصنوعی پرورش داده شده و حتی به مرحله تولید و بهره‌برداری رسیده‌اند. یکی از این گونه‌ها ماهی شانک زردباله با نام علمی *Acanthopagrus latus* بوده که از با ارزش‌ترین ماهیان خوراکی می‌باشد که از ابتدای تفریخ و گذراندن مراحل لاروی و بچه ماهی، تا زمانی که این ماهی را جهت پرورش پرواری به قفس‌های دریایی معرفی می‌کنند تلفات

تکثیر و پرورش ماهیان دریایی در مقایسه با ماهیان آب شیرین به دلیل پیچیدگی سیستم بیولوژیک و همچنین حساسیت‌های خاص این گونه ماهیان در گذشته کمتر موفقیت‌آمیز بوده است. ولی اکنون با پیگیری و جدیتی که کارشناسان مختلف دنیا خصوصاً کشورهای جنوب شرق آسیا به عمل آورده‌اند برخی گونه‌ها

بالای ناشی از استرس تراکم و عادت‌پذیری تغذیه‌ای موجب بازماندگی پایین این ماهی می‌شود (سقاوی و همکاران، ۱۳۸۱).

یکی از مشکلات موجود در پرورش لارو ماهیان، پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی است که دارای رشدی کند همراه با تلفات می‌باشد (Girri *et al.*, 2002). از این رو تکنیک‌ها و وسایلی که بتوانند توانایی نوزادان ماهیان را در بالا بردن تغذیه آغازین بهبود بخشند، بسیار مهم و ضروری‌اند (Appelbaum & Giri *et al.*, 2002; MacGeer, 1998). در همین راستا، ناپلیوس تازه تفریخ شده آرتیمیا عمدتاً به دلیل اندازه کوچک به عنوان حامل مناسب ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها باعث گردیده تا این موجود از جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبی‌پروری برخوردار باشد و روز به روز بر اهمیت و دامنه استفاده از آن افزوده شود (Bengston *et al.*, 1991). در نتیجه با توجه به توانایی آرتیمیا در ذخیره‌سازی و انتقال مواد شیمیایی خاص (Watanabe *et al.*, 1987; Smith *et al.*, 2002) و عدم مشاهده اثر مضر، ابزار دلخواهی برای انتقال مواد شیمیایی از قبیل انواع ویتامین‌ها و پادزیست‌ها خواهند بود.

میزان اسیدهای چرب ضروری مثل EPA و DHA در غذاهای زنده که در مراحل اولیه زندگی لارو مورد استفاده قرار می‌گیرند به طور طبیعی کم است. بنابراین غنی‌سازی آنها با امولسیون اسیدهای چرب غیراشباع امری مهم می‌باشد (Copeman *et al.*, 2002). استفاده از غذای زنده در پرورش آبزیان از چند جنبه مورد توجه می‌باشد. نخست آنکه در مرحله لاروی برخی از گونه‌های آبی، امکان استفاده از غذای مصنوعی وجود ندارد که دلیل آن عدم تناسب اندازه دهان

لارو با ذرات غذایی است. دوم آنکه استفاده از غذای کنسانتره در این مرحله از زندگی لارو، نیازهای غذایی لارو را برآورده نمی‌نماید و سبب کاهش رشد، سوء تغذیه و بروز مشکلات ناشی از کاهش قدرت دفاعی بدن در برابر عوامل محیطی و بیماری‌زا می‌گردد. بدین ترتیب استفاده از غذاهای زنده در پرورش آبزیان مختلف، نیازهای غذایی آنها را تامین نموده و با رژیم غذایی آبزیان هم‌خوانی و تناسب دارد.

ویتامین C به عنوان کوفاکتور در برهم کنش‌های هیدروکسیلاسیون متعددی نقش داشته و در شکل‌گیری کلاژن موثر می‌باشد (Sato *et al.*, 1982). همچنین در متابولیسم آهن (Sandnes *et al.*, 1990) و تحمل استرس (Wedemeyer, 1969) نیز تاثیرگذار است. کمبود آن در جیره غذایی منجر به کاهش رشد (Lim & Lovell, 1978; Dabrowski, 1992)، کاهش عملکرد سیستم ایمنی و افزایش آسیب‌پذیری نسبت به بیماری‌های باکتریایی (Lim & Lovell, 1978) می‌شود. در همین رابطه اعلام شده است که در برخی از گونه‌ها مکمل کردن جیره‌های غذایی با مقادیر بالای اسید اسکوربیک باعث کاهش استرس‌های محیطی ناشی از دست‌کاری، تراکم، کیفیت پایین آب (کمبود اکسیژن و سمیت فلزها) و استرس‌های فیزیولوژیکی شده است (Ishibashi *et al.*, 1992; Dabrowski, 1992; Merchie *et al.*, 1996). از طرف دیگر ماهیان استخوانی که تقریباً ۹۶ درصد ماهیان را تشکیل می‌دهند توانایی ساخت اسید اسکوربیک را ندارند (Dabrowski *et al.*, 1996). بنابراین جیره غذایی تنها منبع تامین‌کننده ویتامین C محسوب می‌شود. درحالی‌که بسیاری از مهره‌داران ویتامین C را می‌توانند سنتز کنند و بعضی از آنها این توانایی را

به دلیل وابستگی به منبع غذایی ندارند (جواهری بابلی، ۱۳۸۶).

با توجه به این موارد، هدف از این تحقیق غنی سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) با ویتامین C و اسیدهای چرب غیراشباع و تعیین اثرات آن بر روی شاخص های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس در لارو ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) می باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی، در اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ انجام گرفت. جیره های غذایی شامل ۵ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار مشتمل بر ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین C (آسکوربیل پالمیتات، Serva، به ترتیب گروه های C₁، C₂ و C₃)، ناپلیوس آرتمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین C (گروه HUFA) و ناپلیوس آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد) در نظر گرفته شد. کپسول زدایی سیستم های آرتمیای قبل از تخم گشایی، به روشی که توسط Treece، در سال ۲۰۰۰ عنوان شد، انجام گرفت. ماده غنی سازی مطابق روش (Leger et al., 1987) تهیه گردید و در دو مرحله با فاصله زمانی ۱۲ ساعت به محیط غنی سازی، به ازای هر لیتر آب ۲ سی سی اضافه گردید. به دلیل اینکه عمل غنی سازی در مقدار pH زیاد بهتر انجام می شود (Leger, 1986)، در طی غنی سازی، pH محیط غنی ساز مرتباً اندازه گیری و با اضافه کردن کربنات سدیم، بر روی ۸، ثابت نگه داشته شد. پس از گذشت مدت زمان

۲۴ ساعت، ناپلی های غنی شده برداشت و شستشو گردید تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتیگراد، با هوادهی ملایم نگهداری گردند.

پنج روز قبل از اجرای تیمارهای تغذیه ای، تعداد ۳۵۱۰ قطعه لاروهای ۲۸ روزه ماهی شانک زردباله با میانگین وزنی 0.1 ± 0.053 میلی گرم و میانگین طولی 0.8 ± 0.084 میلی متر، با تراکم ۱۳۰ قطعه لارو برای هر مخزن (تقریباً ۴ قطعه در لیتر) شمارش و انتقال داده شدند. مخازن پلاستیکی مورد استفاده دارای گنجایش ۵۰ لیتر بوده که به میزان ۴۰ لیتر از آب دریای فیلتر و ضد عفونی شده توسط کلر، با میانگین اکسیژن محلول 13 ± 0.844 میلی گرم در لیتر، دمای 28 ± 0.07 درجه سانتیگراد، شوری 81 ± 0.675 گرم در لیتر و pH 7.91 ± 0.04 آبیگری شدند. دوره نوری به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برقرار گردید. لارو ماهیان به مدت ۵ روز با روتیفر به میزان ۲۰ عدد در هر سی سی، سپس تا روز پانزدهم از آن ناپلیوس آرتمیای غنی نشده به میزان ۱۰ عدد ناپلی در هر سی سی، همراه با روتیفر تغذیه شدند. پس از آن به مدت ۸ روز با ناپلی غنی شده تغذیه و از آن به بعد تا پایان دوره آزمایش با ناپلی غنی نشده و غذای کنسانتره ۳۰۰ میکرونی، محصول شرکت بیومار، ویژه لارو ماهیان دریایی تغذیه شدند. عمل سیفون کردن به صورت یک روز در میان انجام و باقیمانده غذایی، مدفوع لاروها و سایر ضایعات و تلفات از مخازن خارج و تعداد آنها ثبت گردید.

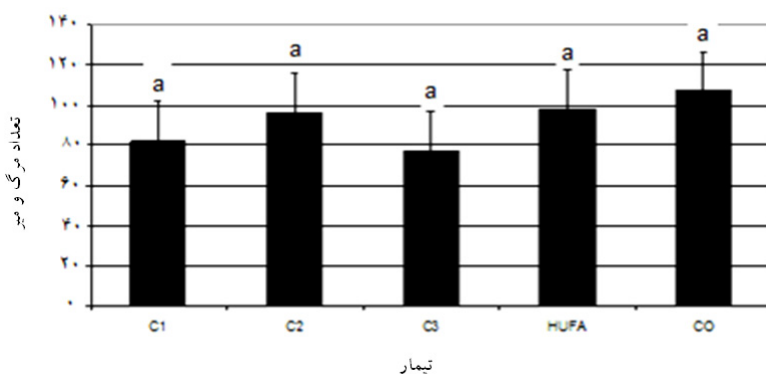
به منظور ارزیابی مقاومت لاروها در برابر استرس، در پایان روز سی و ششم سه گروه بچه ماهی به صورت تصادفی از هر تکرار جمع آوری و در معرض دمای ۱۵ درجه سانتیگراد، شوری صفر گرم در لیتر قرار داده

آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون چند دامنه دانکن در سطح اعتماد ۰/۰۵ با کمک نرم افزار SPSSV16 مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

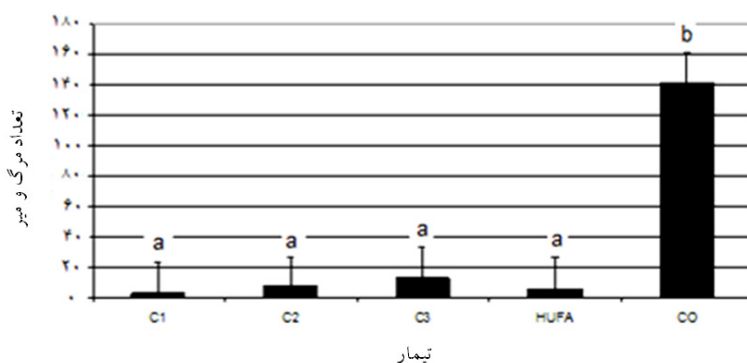
نتایج

تغذیه لاروهای ماهی شانک زردباله از ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد موجب کاهش مرگ و میر لاروها گردید. کمترین میزان تلفات مربوط به تیمار C₁ بوده و بیشترین میزان تلفات در تیمار شاهد مشاهده گردید (شکل ۱ و ۲). بنابراین تفاوت در بازماندگی معنی دار بود ($P < 0/05$).

شدند. تلفات ماهیان ثبت و از هر گروه جهت آنالیزهای بیوشیمیایی نمونه برداری شد. به منظور آنالیزهای بیوشیمیایی، بچه ماهی‌ها در نیتروژن مایع منجمد و بافت آنها توسط دستگاه هموژنیزر به خوبی هموژن گردید. سپس عصاره سلولی به وسیله سانتیفریوژ یخچال دار از سوسپانسیون جداسازی گردید. هورمون کورتیزول به وسیله RIA، پروتئین کل به روش (1951) *Lowry et al.* و گلوکز با روش فتومتریک، توسط کیت تشخیص کمی (GOD) GLUCOSE شرکت پارس آزمون، سنجیده شد. نتایج و داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش با استفاده از



شکل ۱. تعداد مرگ و میر ماهی‌ها از آغاز آزمایش تا روز هفدهم



شکل ۲. تعداد مرگ و میر ماهی‌ها از روز هجدهم تا پایان دوره پرورش

کبد کاد تغذیه شده بودند در جدول ۱ قابل مشاهده است ($P > 0/05$).

بیشترین رشد در تیمار شاهد و کمترین میزان رشد در تیماری که از ناپلیوس غنی شده با روغن

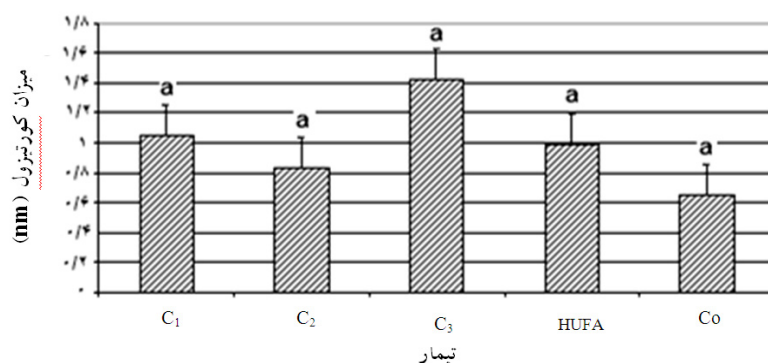
بیشترین میزان گلوکز مربوط به تیمار C₃ و کمترین آن مربوط به C₂ می باشد (شکل ۴).

نتایج حاصل از آنالیزهای بیوشیمیایی، پس از دو نوع استرس، حاکی از آن است که بیشترین میزان کورتیزول مربوط به تیمار C₃ و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود (شکل ۳).

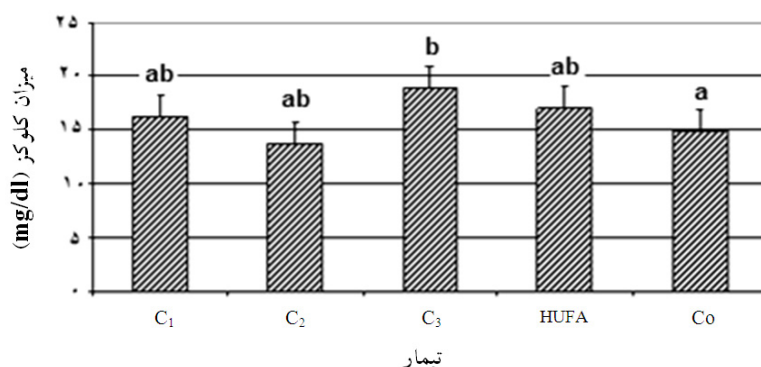
جدول ۱. میانگین فاکتور های مربوط به رشد ماهیان در پایان آزمایش

شاخص وضعیت	معیار*				تیمار
	شاخص وزن بدن	درصد رشد روزانه	شاخص رشد روزانه	نرخ رشد ویژه	
۱/۶۱±۰/۲۹ ^a	۲/۸۳±۰/۷ ^a	۰/۴۱±۰/۰۴ ^a	۰/۵۵±۰/۱۱ ^a	۶/۶۱±۰/۷۶ ^a	C ₁ (۵٪ ویتامین C)
۱/۷۵±۰/۲۲ ^a	۳/۶۶±۰/۴۷ ^{bc}	۰/۵۱±۰/۰۵ ^{bc}	۰/۷۶±۰/۰۹ ^a	۶/۴۳±۰/۷۲ ^a	C ₂ (۱۰٪ ویتامین C)
۱/۸۱±۰/۱۹ ^a	۳/۴۷±۰/۴۵ ^{ab}	۰/۵۱±۰/۰۶ ^{bc}	۰/۶۹±۰/۱۵ ^a	۷/۱۶±۱/۰۴ ^a	C ₃ (۱۵٪ ویتامین C)
۱/۶±۰/۲۹ ^a	۳/۳۵±۰/۵۴ ^{ab}	۰/۴۵±۰/۰۳ ^{abc}	۰/۶۵±۰/۱۳ ^a	۶/۶۳±۱/۱۸ ^a	HUFA
۱/۶۹±۰/۱۶ ^a	۴/۳۷±۰/۴۵ ^c	۰/۶۳±۰/۰۴ ^d	۰/۶۵±۰/۳۸ ^a	۷/۲۳±۰/۶۸ ^a	شاهد

* اعدادی که در یک ستون با حروف مشابه مشخص گردیده اند، اختلاف آماری معنی داری ندارند (P>۰/۰۵)



شکل ۳. میزان کورتیزول پس از اعمال تنش شوری

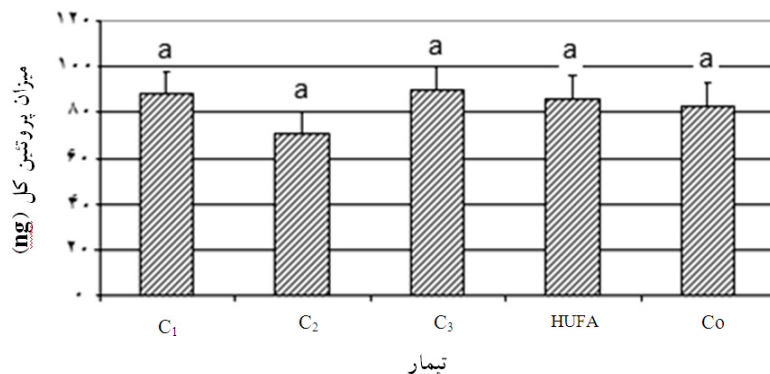


شکل ۴. میزان گلوکز، پس از اعمال تنش شوری

فوق تفاوت آماری معنی داری (P>۰/۰۵) مشاهده نگردید (شکل ۵).

بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل مربوط به تیمار C₃ و C₂ بوده است که در تمامی موارد

در نهایت، بیشترین میزان بازماندگی در اثر تنش، مربوط به تیمار C₃ بوده که در جدول ۲



شکل ۵. میزان پروتئین کل، پس از اعمال تنش شوری

جدول ۲. میزان مرگ و میر ماهی‌ها پس از دو نوع تنش دمایی و شوری

معیار*		تیمار
تنش شوری	تنش دمایی	
۰	۰/۳۳±۰/۵۷ ^a	C ₁ (۵٪ ویتامین C)
۰	۱±۱/۷۳ ^a	C ₂ (۱۰٪ ویتامین C)
۰	۰	C ₃ (۱۵٪ ویتامین C)
۰	۰/۶۶±۰/۵۷ ^a	HUFA
۰	۱±۱/۷۳ ^a	شاهد

* اعدادی که در یک ستون با حروف مشابه مشخص گردیده‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵)

نمودند که کاربرد اسیدهای چرب غیراشباع EPA و DHA موجب افزایش رشد لارو فلاندر (*Limanda ferruginea*) شد.

تاثیر ناپلیوس آرتیمیای غنی شده با روغن کبد کاد، ویتامین C بر روی گونه‌های مختلف آبزیان در سطح جهان مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق نیز تاثیر دریافت اسیدهای چرب غیراشباع (روغن کبد ماهی کاد) و ویتامین C بر روی شاخص‌های رشد، بقا و مقاومت در برابر سه نوع استرس در لاروهای ماهی شانک زردباله مورد بررسی قرار گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق تاثیر دریافت اسیدهای چرب غیراشباع (روغن کبد ماهی کاد) و ویتامین C بر روی شاخص‌های رشد، بقا و مقاومت در برابر دو نوع استرس در لاروهای ماهی شانک زردباله نشان داد که غنی‌سازی با روغن کبد کاد موجب افزایش بازماندگی لارو ماهی شانک زردباله می‌شود.

در پژوهشی توسط Stephan et al. (1995) بر روی ماهی کفشک (*Scophthalmus maximus*) انجام گرفت مشخص گردید که اسیدهای چرب چند غیراشباعی تاثیر معنی‌داری بر روی رشد ندارد. اما Copeman et al. (2002) نیز عنوان

chanos) تغذیه شده با روتیفر و آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به لاروهای تغذیه شده با اسیدهای چرب غیراشباع به همراه ۲۰ درصد ویتامین C اختلاف رشد معنی داری وجود ندارد. از طرف دیگر محمدزاده (۱۳۸۲) نشان داد که اختلاف رشدی (وزن تر، طول کل) بین لاروهای قزل‌آلای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تفریخ شده و لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در روز ۱۳ و ۱۹ مشاهده نشد. همچنین ایمان‌پور (۱۳۸۴) در بررسی لارو ماهی سفید (*Rutilus frissi kutum*) اختلاف معنی داری بین تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تفریخ شده و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسید چرب غیراشباع و ویتامین C پیدا نکرد که با نتایج حاصل از این تحقیق منطبق می‌باشد. در همین رابطه Koven *et al.* (1993) و نیز (1997) *Rainuzzo et al.* به اثبات رساندند که مقادیر زیاد از HUFA موجب افزایش نرخ رشد بسیاری از لاروهای دریایی مثل شانک سر طلایی (*Sparus aurata*) می‌شود. (2002) *Copeman et al.* نیز عنوان کردند که کاربرد اسیدهای چرب غیر اشباع EPA و DHA موجب افزایش رشد لارو فلاندر (*Limanda ferruginea*) شد.

در این تحقیق غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا به وسیله روغن کبد ماهی کاد، حاوی ویتامین C، به مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت که در نتیجه آن میزان بازماندگی در تمام تیمارها، نسبت به تیمار کنترل افزایش معنی دار یافت ($p < 0/5$). طی تحقیقی که (1991) *Fermin & Bolivar* بر روی لاروهای گربه ماهی آب شیرین (*Clarias macrocephalus*) انجام دادند، دریافتند که تغذیه لاروهای این گونه، با ناپلیوس غنی شده با

مطابق نتایج این تحقیق (2000) *Kolkovski et al.* بین لاروهای Walley تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای تازه تفریخ شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده توسط روغن کبد کاد و امولسیون اسید چرب با نسبت‌های بالای EPA/DHA به همراه ویتامین C تفاوت معنی داری در رشد نیافتند.

(1995) *Merchie et al.* نشان دادند که رشد لاروهای میگوی آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) که با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع و ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیراشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد ویتامین C تغذیه شده بودند بعد از ۲۵ روز اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0/05$).

همچنین (1996) *Merchie et al.* در بررسی احتیاجات ویتامین C لارو کفشک دریافتند که رشد ماهی‌های تغذیه کرده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با صفر، ۵ و ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز هشتم و بیستم اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0/05$). (1995) *Merchie et al.* نشان دادند که تغذیه باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) از ناپلیوس آرتمیای غنی شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بعد از ۲۰ و ۳۵ روز، اختلاف معنی داری در رشد نیافتند که مشابه نتایج این تحقیق می‌باشد. اما برای لارو گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) مکمل کردن اسید آسکوربیک رژیم غذایی، اثر مثبت معنی داری بر رشد داشت و تیماری که ۲۰ درصد اسکوربیل پالمیتات دریافت کرده بود، ۳۰ درصد بیشتر از گروه شاهد وزن داشت (1998) *Appelbaum & MacGeer*. از طرف دیگر (1998) *Gapasin et al.* دریافتند که اختلاف رشدی بین لارو خامه ماهی (*Chanos*)

غذای کنسانتره تجاری و لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع در پایان روز ۲۰ اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد مشاهده نمود که این امر با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

Merchie *et al.* (1995) دریافتند که مقاومت لاروهای گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) که ناپلیوس آرتمیای غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات دریافت کردند بعد از قرار گرفتن در برابر نوسانات شوری ۲۵ ppt، بعد از ۱ ساعت، از لاروهایی که ناپلیوس آرتمیای غنی شده با صفر و ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات تغذیه کرده بودند، بیشتر بود.

Gapasin *et al.* (1998) نیز وقتی لاروهای خامه ماهی ۲۵ روزه را در برابر استرس شوری قرار دادند، میزان مرگ و میر کمتری را در لاروهای تغذیه شده با آرتمیا و روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C نسبت به گروه شاهد در سطح ۹۵ درصد مشاهده کردند.

از طرف دیگر Merchie *et al.* (1995) دریافتند که پست لاروهای میگوی آب شیرین که ناپلیوس آرتمیای غنی شده با ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات را دریافت کرده بودند نسبت به نوسان شوری ۶۵ ppt در یک ساعت دارای مقاومت بالاتری بودند. Chen *et al.* (2003) در بررسی مقاومت لاروهای شاینر طلایی (*Notemigons crysoleucas*) به استرس حرارتی (۳۴-۳۵/۵) تحت تاثیر جیره‌های مختلف ویتامین C، دریافتند که لاروهایی که ۴۰/۳ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم جیره تغذیه کردند بقاء بالاتری نسبت به لاروهایی که صفر یا ۱۹/۵ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم را تغذیه کردند، داشتند. همچنین آذری تاکامی (۱۳۷۹)

اسیدهای چرب غیراشباع و ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع حاوی ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز ۱۵، اختلاف معنی‌داری از نظر بقاء ندارند.

Merchie *et al.* (1997) در بررسی تغذیه لارو گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) با آرتمیا غنی شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز هشتم از نظر بقاء بین این تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد نیافتند.

Kolkovski *et al.* (2000) بین لاروهای Walley تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای تازه تفریخ شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده توسط امولسیون اسید چرب با نسبت‌های بالای EPA/DHA از نظر بقاء اختلاف معنی‌داری بعد از ۴۰ روز نیافتند، اما بقاء لاروهای تغذیه کرده از آرتمیا غنی شده با نسبت‌های بالا EPA/DHA به همراه ویتامین C تفاوت معنی‌داری با این تیمارها داشتند. (1995) Merchie *et al.* بین بقاء پست لاروهای میگوی

آب شیرین تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در روز ۲۸ اختلاف معنی‌داری نیافتند. همچنین Merchie *et al.* (1995) در تغذیه باس اروپایی (*Dicentrachus labrax*) با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات پس از روزهای ۲۰ و ۳۵ اختلاف معنی‌داری در بقاء نیافتند. Kolkowski *et al.* (2000) آرتمیا را با اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین‌های C غنی نموده و لاروهای سوف *Stizostedion vitreum* را توسط آن تغذیه نمودند که نتیجه آن عدم تاثیر معنی‌دار در بازماندگی بوده است. از طرف دیگر میرزاخانی (۱۳۸۳) در مقایسه‌ای بین بقای لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با

خزر *Salmo trutta caspius*. رساله دکتری رشته شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات. ۹۴ صفحه.

(۴) سقاوی، ح.، معاضدی، ج.، مزرعه، ش.، امیری، ف.، و نجف‌آبادی، م.، ۱۳۸۱. تهیه و نگهداری مولدین شانک و صیبتی. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات آبی پروری جنوب کشور، ۶۴ صفحه.

(۵) محمدزاده، ن.، ۱۳۸۲. تاثیر تغذیه با ناپلی آرتمیا غنی شده از روغن ماهی و ویتامین C، بر رشد، ماندگاری و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر استرس آمونیاک و نیتريت. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته شیلات. ۱۰۵ صفحه.

(۶) میرزاخانی، م.، ۱۳۸۳. اثرات استفاده از آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و آرتمیا غنی نشده بر رشد و بازماندگی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد رشته شیلات، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ۵۲ صفحه.

7) Appelbaum, S., and MacGeer, J. C. 1998. Effect of diet and light regime on growth and survival of African catfish, *Clarias gariepinus* larvae and early juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 4: 157-164.

8) Bengston, D. A., Leger, P., and sorgeloos, P., 1991. Use of Artemia as a food source for aquaculture. In: *Artemia Biology*. Brower, R.A., Sorgeloos, P., and Trotina, C. M. A., (Eds). CRC Press. Inc. Bo ca. Ratann: 255-285.

9) Chen R., Lochman, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K., Lee, J. K., 2003. Alternative complement activity and resistance to heat stress in Golden shiners (*Notemigonus cryoleucas*) are increased by dietary vitamin C levels in excess of requirement for prevention of deficiency signs. *American society for nutritional sciences*, 133: 2286-2981.

10) Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A., and Harel, M., 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): A live food enrichment

بیشترین درصد بقا و مقاوم‌ترین لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان به شوک دمایی را در گروه تغذیه شده با ۱۰۰ درصد ناپلیوس آرتمیای غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات تغذیه کردند، یافتند. در این تحقیق لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد آسکوربیل پالمیتات، در برابر نوسانات شوری و دما اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

اکثر ماهیان آب شیرین بر خلاف ماهیان دریایی قدرت اشباع‌زدایی و طول‌سازی اسیدهای چرب برای تولید 20:5 n-3 و 22:6 n-3 از 18:3 n-3 و 20:4n-6 از 18:2n-6 را دارند (Halver, 2002). به همین دلیل ضروری به نظر می‌رسد که برای پرورش لارو ماهیان دریایی از ناپلیوس آرتمیای غنی شده به وسیله اسیدهای چرب غیراشباع استفاده شود. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که غنی‌سازی با روغن کبد کاد موجب افزایش بازماندگی لارو ماهی شانک زرد باله می‌شود، ولی ویتامین C تاثیر معنی‌داری بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس ندارد.

منابع

(۱) آذری‌تاکامی، ق.، ۱۳۷۹. بررسی پایداری اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیر بلند طی غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی مختلف و دوره‌های گرسنگی. گزارش نهایی طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی. ۳۱ صفحه.

(۲) ایمان‌پور، م. ر.، ۱۳۸۴. اثرات طیف نور، دوره‌های نوری و غنی‌سازی روی پرورش لاروی و تنظیم اسمزی بچه ماهیان سفید. رساله دکتری رشته شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۰۸ صفحه.

(۳) جواهری‌بابلی، م.، ۱۳۸۶. بررسی تأثیر ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C بر رشد، بقا و مقاومت لارو ماهی آزاد دریای

- walleye *Stizostedion vitreum* larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6: 199-206.
- 20) Koven, W. M., Tandler, A., Sklan, D., and Kissil, G. W., 1993. The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different-age *Sparus aurata* larvae with growth. *Aquaculture*, 116: 71-82.
 - 21) Leger, Ph., Naessens-Foucquaert, E., and Sorgeloos, P., 1987. International study on *Artemia*. Techniques on manipulate fatty acid profile in *Artemia* nauplii and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean mysidopsis bahia. In: *Artemia* Research and its Application, 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, eds P. Sorgeloos, D. A. Bengston, W., Decler and E., Jaspers., Univesa Press, Watern. Belgium, 411-24.
 - 22) Leger. P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as food source. *Occagr. Mar. Biol. Ann*, 1: 521-623.
 - 23) Lim, C., and Lovell, R. T., 1978. Patology of vitamin C deficiency syndrome in chanel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Nutrition*, 108: 1137-1146.
 - 24) Lowry, O., Resoen, N. S., Farr, Al., and Randall R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *Biol chem*, 123: 265-275.
 - 25) Merchie, G., Lavens, P., and Sorgeloos, P., 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: A review. *Aquaculture*, 155: 165-181.
 - 26) Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P., Dehasque, M., Nelis, H., Deleenheer, A., and Sorgeloos, P., 1995. Varition of ascorbic acid content in different live food oganisms. *Aquaculture*, 134: 325-337.
 - 27) Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P., Pector, R., Mai soni, A. F., Abes, M., Nelis, H., Olliver, F., De-Leenheer, A., and Sorgeloos, P., 1995. Live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. *Applied Ichthyology*, 11: 336-341.
 - 28) Merchie, G., Lavens, P., Dhert, Ph., Dehasque, M., Nelis, H., Deleenheer, A., and Sorgeloos, P., 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. *Aquaculture*, 134: 325-337.
 - 11) Dabrowski, K., 1992. Ascobate concentration in fish ontogeny. *J. Fish Biology*, 40:273-279.
 - 12) Dabrowski, K., Moreau, R., El-Saidy, D., and Ebeling, J., 1996. Ontogenetic sensitivity of channel catfish to ascorbic acid deficiency. *Journal of Aquat Anim Health*, 8: 22-27.
 - 13) Merchie, G., Lavens, P., Dhert, Ph., Dehasque, M., Nelis, H., De-Leenheer, A., and Sorgeloos, P., 1996. Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. *J. Fish Biol.*, 49: 573-583.
 - 14) Fermin, A. C., and Bolivar, M. E., 1991. Larval rearing of the Philippine freshwater catfish *Clarias macrocephallus* fed zooplankton and artificial diet: A preliminary study. *The Israeli J. of aquaculture Bamidgeh*, 43 (3): 87-94.
 - 15) Gapasin, R. S. J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P., and Nelis, J., 1998. Enrichment of live food with Essential faty acids and vitamin C: effect on milkfish, *chanos chanos* larval performance. *Aquaculture*, 162: 269-286.
 - 16) Giri, S. S., Sahoo, S. K., Sahoo, B. B., Sahu, A. K., Mohanty, S. N., Mohanty, P. K., and Ayyappan, S., 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): Effects of light, photoperiod and feeding regims. *Aquaculture*, 213: 157-161.
 - 17) Halver, J. E. 2002. The vitamins. In Halver J. E., Hardy, R. W. (Eds), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA, 61-141.
 - 18) Ishibashi, Y., Kato, K., Ikeda, S., Murata, O., Nasu, T., and Kumai, H., 1992. Effect of dietary ascorbic acid on tolerance to intermittent hypoxic stress in Japanes Parrot fish. *Nippon Suisan Gakk*, 58, 2147-2152.
 - 19) Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., Cihla, F., and Mahan, D., 2000. The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artemia* nauplii on growth, survival and stress resistance of freshwater

- formation in Rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish, 48: 553-556.
- 33) Smith, G. G., Ritar, A. J., Phleger, C. F., Nelson, M. M., Money, B., Nichols, P. D., and Hart, P. R., 2002. Changes in gut content and composition of juvenile artemia after oil enrichment and doing starvation. *Aquaculture*, 208: 137-158.
- 34) Stephan, G., Guillaume, J., and Lamour, F., 1995. Lipid proxidation in turbot tissue: Effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130: 251-268.
- 35) Treece, G. D., 2000. Artemia production for marine larvae fish culture. SRAC Publication No. 702.
- 36) Watanabe, T., Owa, F., Kitajima, C., and Fujita, S., 1987. Nutritional quality of Brine shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acid for fish. *Jop. Soc. Fish* 44, 1115-1121.
- 37) Wedemeyer, G., 1969. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Physiol Biochem*, 29: 1247-1251.
- Leenheer, A., and Sorgeloos, P., 1996. Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. *J. Fish Biology*, 49: 573-583.
- 29) Merchie, G., Lavens, P., Radull, J., Nelis, H., Leenheer, A. D., and Sorgeloos, P., 1995. Evaluation of vitamin C-enriched Artemia Nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. *Aquaculture International*, 3: 335-363.
- 30) Rainuzzo, J. S., Reitan, K. I., and Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review. *Aquaculture*, 155: 103-115.
- 31) Sandnes, K., Hansen, T., Killie, J-E. A., Waagbb, R., 1990. Ascorbate-2-sulfate as a dietary vitamin C source for Atlantic salmon *Salmo salar* L. growth, bioactivity, haematology and haemoral immune response. *Fish Physiology Biochemistry*, 8: 419-427.
- 32) Sato, M., Kondo, T., Yashinaka, R., Ikeda, S., 1982. Effect of dietary ascorbic acid levels on collagen

Effect of Cod Liver Oil and Vitamin C Enriched *Artemia* on Growth, Survival and Stress Resistance of Yellowfin Seabream (*Acanthopagrus latus*) Larvae

M. Nabi Adloo^{1*}, A. Matinfar², and M. Shamsaei Mehrjan³

1*) Former M. Sc. Student, Fishery Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Corresponding Author: mnaqua@gmail.com

2) Iran Fishery Research Institute.

3) Assistant Professor, Fishery Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

A 36-day rearing trial was conducted to examine the enrichment of *Artemia franciscana* nauplii with fatty acid and C (Ascorbyl-6-palmitate) on growth performance, survival and stress resistance of yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus* larvae. Yellowfin seabream larvae at the first exogenous feeding with 53 ± 0.01 mg body weight and 0.84 ± 0.08 mm length were randomly distributed into 5 treatments and three replicate were assigned to each diet. The test treatments were as follows: larvae fed Cod liver oil + 5 %, 10 % and 15 % (w/w) vitamin C enriched *Artemia* nauplii (C1, C2 and C3 groups, respectively); larvae fed fatty acid without vitamin (HUFA group) and non-enriched *Artemia* (control). All treatments fed Rotifer for 5 days and then fed non-enriched *Artemia* for 10 days after first feeding and then fed enriched *Artemia* and commercial artificial feed for 21 days. At day 36, submersion in salt water (0 ppt for 2 hours) and cold water (15 °C for 2 hours) was performed to evaluate larvae resistance to salinity and temperature stress. Growth parameters were analyzed at the end of the experiment. The highest growth was found in control group at the end of the experimental trial, but growth factors were not significantly different between groups ($P < 0.05$). Survival was significantly different between control and other group from day 17 that fed enriched *Artemia* ($P < 0.05$). Stress tolerance was not significantly different at 0 ppt and 15°C. There was no comparable different in cortisol, total protein and glucose under stress conditions ($P < 0.05$). These results indicated that the enrichment of *Artemia* with essential fatty acids and vitamins C can affect survival in Yellowfin seabream *Acanthopagrus latus* larvae.

Keywords: Enrichment, Vitamin C, Fatty Acid, *Artemia franciscana*, Yellowfin Seabream Larvae.