

ارزیابی تحمل به شوری لارو ماهی قره برون (*Acipenser persicus*) تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا (*Artemia urmiana*) غنی شده با ویتامین ث و HUFA وارداتی و داخلی

- محمود حافظیه*: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- حمید رضایی: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- دانیل اژدری: موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- سیامک یوسفی سیاهکلرودی: دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۲

چکیده

تاثیر اسیدهای چرب فوق غیراشباع با دو منبع وارداتی و داخلی و سطوح مختلف ویتامین ث بر تحمل شوری لارو ماهی قره برون مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت. سیست آرتمیا ارومیا در شرایط استاندارد تفریح و توسط یک امولسیون وارداتی و یک روغن ماهی داخلی همراه با سه سطح ویتامین ث غنی و به مدت ۲۰ روز لارو ماهی قره برون از آن‌ها تغذیه نمود. در پایان دوره آزمایش با اندازه گیری اسیدهای چرب در آرتمیا و لارو ماهی و تحمل شوری لاروهای تیمار شده با قرار دادن آن‌ها در شوری‌های مختلف و زمان‌های متفاوت مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بازماندگی و تحمل به شوری‌های بالا در کلیه لاروهای تیماری در مقایسه با گروه شاهد که از آرتمیا غنی نشده تغذیه نموده بودند به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش نشان داد. کلیه فاکتورهای اصلی بر تحمل شوری لارو ماهی قره برون در شوری ۱۲ گرم در لیتر و پس از ۱۲۰ ساعت تاثیر معنی‌داری نشان دادند ($P < 0.05$) ولی بین تیمارهای ترکیبی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$). از بین فاکتورهای اصلی ICES30/4 ($1.00 \pm 0.10/100$ درصد) سطح ۲۰ درصد ویتامین ث ($1.00 \pm 0.10/99$ درصد) و زمان ۲۴ ساعت غنی‌سازی غذای زنده ($1.00 \pm 0.10/99$ درصد) بیش‌ترین افزایش بقاء در لارو ماهی‌های تحت استرس را به‌وجود آوردند. هم‌چنین میزان اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶ چه در آرتمیا غنی شده و چه در لارو ماهی تغذیه شده از آرتمیای غنی شده به‌خصوص با امولسیون تجاری افزایش معنی‌داری با گروه شاهد نشان داد ($P < 0.05$).

کلمات کلیدی: اسیدهای چرب، ویتامین ث، قره برون، تحمل شوری، آرتمیا ارومیا

مقدمه

ماهیان خاویاری از با ارزش ترین گونه ماهیان موجود در جهان می باشند که نه تنها به دلیل تولید خاویار بلکه از منظر تنوع زیستی بسیار مورد توجه می باشند. در دهه های اخیر آلوده شدن آب رودخانه ها با فاضلاب شهری و صنعتی و تخریب بستر آن ها به منظور برداشت شن و ماسه، خشکسالی های مکرر و بسیاری عوامل دیگر، باعث از بین رفتن جایگاه اصلی تخم ریزی ماهیان مولد، تفریح و رشد اولیه مراحل لاروی این ماهیان گشته و روند تولید مثل طبیعی آن ها را با مخاطرات جدی همراه ساخته است (حافظیه و حسین پور، ۱۳۹۱). گزارشات سال های گذشته روند نزولی تولیدمثل و متعاقب آن، کاهش صید را به خوبی نشان می دهند. در دریای خزر که مهم ترین زیستگاه طبیعی برخی ماهیان خاویاری است، روند کاهش CPUE به وسیله تور انتظاری در سال های گذشته توسط دفتر آمار مدیریت طرح و توسعه شیلات ایران (۱۳۷۸) به دست آمده که افزایش بی رویه فشار صیادی نیز علاوه بر موضوعات مطرح شده، سهم قابل توجه در کاهش میزان صید داشته است. توسعه صید مولدین این ماهیان از دریا به منظور تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر به عنوان یک استراتژی مهم مورد توجه کشورهای حاشیه این دریا قرار گرفته و سهم ایران در رهاسازی بچه ماهیان خاویاری به طور متوسط ۱۰ میلیون قطعه در سال می باشد. از دید اقتصادی تولید این میزان بچه ماهی نه تنها سهم قابل توجهی از اعتبارات شیلات ایران را به خود اختصاص داده بلکه توان بسیاری از نیروهای متخصص و کارشناسی را به خود معطوف ساخته است. در یک تحلیل سطحی اقتصادی، هزینه تولید هر قطعه بچه ماهی خاویاری بیش از ۵۰۰۰ ریال می باشد که با احتساب هزینه های جاری پرسنلی، عمرانی و غیره، سالانه بیش از ۳۰ میلیارد تومان در این زیر بخش شیلات کشور هزینه می شود (دفتر آمار مدیریت طرح و توسعه شیلات ایران، ۱۳۷۸) حال آن که بر اساس پروژه هایی چون نصب تگ و مطالعات ارزیابی ذخایر در ایران درصد نسبت صید به تعداد علامت گذاری کم تر از ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۰۸ درصد برآورد شده است (توکلی و همکاران، ۱۳۷۵) که به هیچ عنوان از اصل صرفه اقتصادی تبعیت نمی نماید. متخصصین شیلاتی و زیستی مرگ و میر بیش از اندازه این بچه ماهیان، چه در زمان رهاسازی و چه در مسیر تکامل در رودخانه ها را دلیل اصلی این عدم صرفه اقتصادی می دانند که متاثر از

مشکلات بیان شده در رودخانه ها از یک طرف و عدم وجود کیفیت مناسب بچه ماهیان تولیدی از طرف دیگر می باشد (بهمنی و یوسفی، ۱۳۸۷). از آن جا که امکان کنترل آلودگی رودخانه ها با توجه به عوامل مختلف اجتماعی و اقتصادی بسیار ضعیف به نظر می رسد (که در صورت امکان، مشکل خشکسالی نیز هنوز به قوت خود باقی است)، دستیابی به تکنیک هایی که با افزایش کیفیت و مقاومت به تنش هایی چون تنش شوری، امکان رهاسازی مستقیم بچه ماهیان تولیدی به دریا را میسر سازد نه تنها به حذف مسیر پر مخاطره رودخانه ها و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از آن کمک می کند بلکه امکان افزایش رشد و بازماندگی طبیعی را در آن ها بالا خواهد برد و حداقل نتیجه نهایی آن، افزایش صید و افزایش درآمد خانوارهای صیاد منطقه خواهد بود هر چند که با تولید بچه ماهیان با کیفیت، زمینه تکثیر و پرورش بهینه آن ها را در استخرهای خاکی مهیا خواهد ساخت.

ویتامین ث به عنوان یک ماده لازم و ضروری بدن همه موجودات و از جمله ماهیان، نقش مهمی در افزایش رشد، بازماندگی، تکوین سیستم استخوانی، افزایش مقاومت موجود نسبت به تنش های محیطی و پاسخ های سیستم ایمنی را ایفا می کند (Merchie و همکاران، ۱۹۹۶) لذا به عنوان یک فاکتور موثر در این پروژه به کار گرفته شده است تا در کنار اسیدهای چرب فوق غیراشباع، اثر گذاری آن بر رشد و تحمل شوری لارو ماهی قره برون مورد بررسی قرار گیرد.

هدف از انجام این پروژه دستیابی به بچه ماهیان قره برون با کیفیت از طریق تغذیه از ناپلیوس آرمیا ارومیا غنی شده با ویتامین ث و اسیدهای چرب فوق غیراشباع با دو منبع وارداتی و داخلی می باشد که به بررسی اثرات آن بر رشد، بازماندگی و تحمل شوری بچه ماهیان تیمار شده این گونه بومی ایرانی که سهمی حدود ۹۰ درصد از میزان رها سازی سالانه را به خود اختصاص داده است خواهد پرداخت و در نهایت امکان رهاسازی مستقیم در دریا را بررسی خواهد نمود.

مواد و روش ها:

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در کارگاه پرورشی مرکز تحقیقات آرمیا و سایر آبزیان دانشگاه ارومیه اجرا گردید. بدین منظور سیستم آرمیا ارومیا از مرکز تحقیقات آرمیا وابسته به موسسه تحقیقات شیلات ایران تهیه و در شرایط



دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزا پنتاتونیک اسید (EPA) جزء سری اسیدهای چرب امگا ۳ و آراشیدونیک اسید (ARA) جزء سری اسیدهای چرب امگا ۶ می‌باشند. محلول غنی‌ساز با امولسیون پلی سوربات روغن‌ها و آب شیرین طبق روش (Ako و همکاران، ۱۹۹۴) و سپس اضافه کردن میزان درصد آسکوربیل پالمیتات نسبت به کل میزان محلول به صورت روزانه آماده شد تا در طی روزهای آزمایش محلول غنی‌ساز تازه در اختیار باشد. تیمارهای آرمیا غنی شده شامل: آرمیا غنی شده با ICES30/4 به ترتیب همراه با ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد آسکوربیل پالمیتات طی دو زمان غنی‌سازی ۱۲ و ۲۴ ساعت (شش گروه)، آرمیا غنی شده با روغن تخمدان ماهی خاویاری با همان درصدهای آسکوربیل پالمیتات طی دو زمان غنی‌سازی ۱۲ و ۲۴ ساعت (شش گروه) و یک گروه شاهد که ناپلیوس آرمیا غنی نشده گرسنه بود. همه تیمارهای آزمایشی و شاهد با سه تکرار انجام گردید و سپس میزان چربی کل، ویتامین ث و اسیدهای چرب در آنها اندازه گیری شد.

انکوباسیون استاندارد (دمای آب ۲۸ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۰ گرم در لیتر، pH=8 و شدت نور مناسب) (Van Sttapien, ۱۹۹۶) در تانک‌های مخروطی ۳۰۰ لیتری با هوادهی شدید تفریخ گشته و بعد از ۲۴ ساعت با کمک روش جذب نوری ناپلیوس ها جمع‌آوری، شسته و بلافاصله به ۳۹ عدد ظروف غنی‌ساز مخروطی ۲ لیتری (۳۰۰ ناپلیوس در هر میلی‌لیتر آب)، محتوی مخلوط روغن‌های مورد استفاده (امولسیون ICES30/4 و روغن تخمدان ماهی خاویاری) و درصدهای مختلف آسکوربیل پالمیتات (۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) به عنوان ویتامین ث محلول در چربی منتقل گشته، طی روش استاندارد غنی‌سازی (Von Elert, ۲۰۰۲) به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت غنی شدند. ICES30/4 یک امولسیون تجاری ساخت شرکت INVE کشور بلژیک است که به دلیل وجود اسیدهای چرب امگا ۳ بالا (DHA و EPA) با روغن تخمدان ماهی خاویاری که یک روغن ماهی با قابلیت تولید آسان در سالن‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری و میزان بالای EPA و ARA است قابل مقایسه می‌باشد. میزان اسیدهای چرب در این دو روغن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: میزان اسیدهای چرب در امولسیون ICES30/4 و روغن تخمدان ماهی خاویاری

روغن تخمدان ماهی خاویاری	ICES 30/4	
۵۴٪	۶۰٪	چربی کل
۵/۰۰	۰/۷۸	C20:4n6(ARA)
۷/۵۵	۶/۲۹	C20:5n3(EPA)
۲/۷۶	۲۰/۹۰	C22:6n3(DHA)
۰/۳۶	۳/۳۲	DHA/EPA
۲۸/۸۰	۳۲/۱۷	مجموع اسیدهای چرب اشباع
۴۱/۲۸	۲۱/۸۷	مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند دو گانه
۵/۰۰	۰/۷۸	مجموع اسیدهای چرب امگا ۶
۱۰/۳۱	۲۷/۱۹	مجموع اسیدهای چرب امگا ۳
۲/۰۶	۳۴/۸۵	ω-3/ω-6



و انژکتور به ترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب و شیب دمایی ۱۸۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با افزایش ۴ درجه در هر دقیقه، تا مرز ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگاه داشته شد. سپس منحنی‌های به دست آمده از اسیدهای چرب مختلف بر روی مونیتور اتصالی به دستگاه TGC با استاندارد داخلی C18:0 مقایسه گردید.

به منظور تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس سه فاکتوریل استفاده شد و برای مقایسه میانگین گروه‌های تیماری که دارای اختلاف معنی‌دار بودند از آزمون توکی در سطح ۹۵ درصد، با کمک برنامه آماری SPSS نسخه ۱۴ استفاده گردید.

نتایج

متوسط چربی کل بر حسب درصد وزن خشک، ویتامین ث بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک و اسیدهای چرب بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ناپلیوس آرتمیا غنی شده با روغن‌ها، غلظت‌های مختلف ویتامین ث طی دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت در جدول ۲ آورده شده است.

اختلاف معنی‌داری بین روغن‌ها در تجمع ویتامین ث در آرتمیا به دست آمد ($P < 0.05$). امولسیون ICES30/4 حداکثر میزان ویتامین را در پیکره ناپلیوس آرتمیا پدید آورد ($67/00 \pm 767/46$ میکروگرم بر گرم وزن خشک). بین سطوح مختلف ویتامین ث ($P < 0.05$) و دوزمان غنی‌سازی ($P < 0.05$) نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. غلظت ۲۰ درصد ویتامین ث بهترین غلظت ($839/33 \pm 81/13$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و زمان ۲۴ ساعت بهترین زمان غنی‌سازی ($56/31 \pm 824/96$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) برای انباشتگی ویتامین ث در آرتمیا به دست آمد. تیمار ترکیبی امولسیون ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین ث و طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی با انباشتگی ماکزیمم ویتامین ث ($48/00 \pm 1063/76$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) به عنوان بهترین تیمار انتخاب که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد. میزان ویتامین ث در گروه شاهد با حداقل میزان ($35/21 \pm 294/30$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نشان داد ($P < 0.05$).

روغن‌ها به عنوان فاکتور اصلی بر میزان چربی در پیکره ناپلیوس آرتمیا تاثیر معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$) و روغن تخمدان ماهی خاویاری ($19/63 \pm 1/36$ درصد) حداکثر میزان

لارو ماهی قره‌برون در مرحله خوابیده (در کیسه‌های محتوی یک سوم آب و دو سوم اکسیژن) از سالن تکثیر ماهیان خاویاری شهید بهشتی سد سنقر، به سالن آبی‌پروری مرکز تحقیقات آرتمیا و سایر آبیان دانشگاه ارومیه منتقل و پس از شروع تغذیه فعال به مدت سه روز از ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی نشده تغذیه و بعد از آن تا پایان روز بیستم، تحت تیمارهای جداگانه از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با روغن‌ها، درصد‌های مختلف ویتامین ث که دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت غنی‌سازی شده بودند، روزانه چهار بار (Kolkovski و همکاران، ۲۰۰۰) تغذیه شدند. تیمارهای لارو ماهی شامل گروه‌های تغذیه شده از تیمارهای مختلف ناپلیوس آرتمیا و تیمار شاهد شامل لاروهایی بودند که از ناپلیوس غنی نشده تغذیه نمودند. لارو ماهیان با وزن اولیه $46/80 \pm 3/03$ میلی‌گرم و طول کل $21/2 \pm 0/04$ میلی‌متر به طور تصادفی در گروه‌های ۲۵۰ عددی در ۳۹ تانک مستطیل شکل فیبرگلاس محتوی ۲۵ لیتر آب (۱۰ عدد لارو به ازای هر لیتر آب) قرار داده شدند. هر تانک با یک لوله ۰/۵ اینچ با جریان ۰/۸ لیتر بر دقیقه آب‌گیری و تعویض آب گشت. هوادهی مستمر به منظور تامین ۷/۴ میلی‌گرم بر لیتر اکسیژن محلول انجام شد. کیفیت آب به طور متناوب بررسی، به طوری که میزان pH در حدود ۷/۵ تا ۷/۸ و دمای آب حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. در پایان روز بیستم، نرخ رشد با اندازه‌گیری وزن تر و طول کل، نرخ بازماندگی با شمارش افراد مرده و تعیین درصد از کل، بررسی تحمل شوری با قرار دادن لارو ماهیان در شوری‌های صفر، ۶، ۱۲، ۱۸ گرم در لیتر و شمارش تعداد لاروهای مرده در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و تعیین درصد از کل، میزان ویتامین ث با کمک دستگاه HPLC مدل Kenauer ساخت کشور آلمان با ستون ۳۰ سانتی‌متر قطر ۴ میلی‌متر، دتکتور k-2500 با طول موج ۲۵۴ نانومتر، پمپ k-1001 و جریان یک میلی‌متر بر دقیقه و اندازه‌گیری اسیدهای چرب با استخراج چربی از آرتمیا و لارو ماهی از طریق فرآیند صابونی شدن با ۲ گرم NaOH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (Folch و همکاران، ۱۹۵۷) و آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب (FAME) بوسیله ترانس استریفیکاسیون با بور نیتروفلوراید (BF3) در متانول (Schmitz و Metacalf، ۱۹۶۱) و اندازه‌گیری FAME با کمک دستگاه GC مدل DANI-1000 و دتکتور FID. ستون مورد استفاده BPX 70 با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود. از گاز هلیوم به عنوان ناقل و تحت فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال استفاده شد. دمای دتکتور



چرب بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک لارو ماهی خاویاری ایرانی تغذیه شده با آرتمیا غنی شده با روغن‌ها، غلظت‌های مختلف ویتامین ث طی دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت در جدول ۳ آورده شده است.

اختلاف معنی‌داری بین روغن‌ها، سطوح ویتامین ث و زمان‌های غنی‌سازی به‌عنوان فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی در تجمع ویتامین ث در لارو ماهی قره‌برون به‌دست آمد ($P < 0.05$). امولسیون ICES30/4 با ایجاد $17/33 \pm 144/95$ میکروگرم بر گرم وزن خشک، سطح ۲۰ درصد ویتامین ث با ایجاد $14/86 \pm 123/52$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و زمان ۲۴ ساعت با ایجاد $16/31 \pm 127/00$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) بیش‌ترین میزان انباشتگی ویتامین ث را در لارو ماهی به‌دست دادند. تیمار ترکیبی امولسیون ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین ث و طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی با انباشتگی ماکزیمم ویتامین ث در لارو ماهی $7/43 \pm 175/20$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) به‌عنوان بهترین تیمار ترکیبی انتخاب که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). میزان ویتامین ث در گروه شاهد با حداقل میزان $5/11 \pm 41/20$ میکروگرم بر گرم وزن خشک) اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نشان داد ($P < 0.05$).

روغن‌ها و سطوح ویتامین ث به‌عنوان فاکتورهای اصلی بر میزان چربی لارو ماهی تاثیر معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). امولسیون ICES30/4 $19/62 \pm 11/36$ درصد) و سطح ۲۰ درصد ویتامین ث $16/38 \pm 2/37$ درصد) حداکثر میزان چربی را در لارو ماهی قره‌برون به‌دست دادند حال آن‌که فاکتور اصلی دیگر یعنی زمان‌های غنی‌سازی اختلاف معنی‌داری را در میزان چربی لارو به‌دست نداد ($P > 0.05$).

تیمار ترکیبی ICES30/4 همراه با ۱۰ درصد ویتامین ث طی زمان ۱۲ ساعت غنی‌سازی با ایجاد میزان $2/00 \pm 0/65$ درصد) ضمن اختلاف معنی‌دار با بقیه تیمارهای ترکیبی به عنوان بهترین تیمار انتخاب گردید.

اگر چه روغن‌ها به عنوان فاکتور اصلی بر میزان اسیدهای چرب اشباع لارو ماهی تاثیر معنی‌داری نشان ندادند ($P < 0.05$) ولی سطوح ویتامین ث، زمان‌های غنی‌سازی به‌عنوان دیگر فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی تاثیر معنی‌داری بر میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع ناپلیوس آرتمیا نشان دادند ($P > 0.05$) به‌طوری که سطح ۲۰ درصد ویتامین ث $28/52 \pm 1/84$ میلی گرم بر گرم وزن خشک)، زمان ۲۴ ساعت $28/29 \pm 1/84$ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و تیمار ترکیبی

چربی را در ناپلیوس آرتمیا نشان داد حال آن‌که دو فاکتور اصلی دیگر یعنی درصدهای ویتامین ث و زمان‌های غنی‌سازی و هم‌چنین تیمارهای ترکیبی اختلاف معنی‌داری را در میزان چربی ناپلیوس به‌دست نداد ($P > 0.05$).

روغن‌ها، سطوح ویتامین ث، زمان‌های غنی‌سازی و تیمارهای ترکیبی هیچ کدام تاثیر معنی‌داری بر میزان مجموع اسیدهای چرب اشباع ناپلیوس آرتمیا نداشتند ($P > 0.05$).

جدول آنالیز واریانس نشان داد که روغن‌ها بر میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند دوگانه تاثیر معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$) ولی سطوح ویتامین ث، زمان‌های غنی‌سازی و تیمارهای ترکیبی بر میزان مجموع این اسیدهای چرب تاثیر معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$) به‌طوری که ۱۰ درصد ویتامین ث به‌عنوان بهترین سطح $46/85 \pm 1/77$ میلی گرم بر گرم وزن خشک)، ۱۲ ساعت به‌عنوان بهترین زمان غنی‌سازی $47/40 \pm 2/56$ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و تیمار ترکیبی روغن تخمدان ماهی خاویاری همراه با ۱۰ درصد ویتامین ث طی ۱۲ ساعت غنی‌سازی بهترین تیمار $51/48 \pm 2/80$ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند دوگانه را در بدن ناپلیوس آرتمیا ارومیانا نشان دادند.

روغن‌ها، زمان‌های غنی‌سازی به عنوان فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی بر نرخ DHA/EPA تاثیر معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$) ولی سطوح ویتامین ث تاثیر معنی‌داری بر این نسبت در آرتمیا نشان نداد. امولسیون ICES30/4 با ایجاد نسبت $0/49 \pm 0/03$ به‌عنوان بهترین منبع روغن، زمان ۲۴ ساعت با ایجاد نسبت $0/42 \pm 0/03$ به‌عنوان بهترین زمان غنی‌سازی و تیمار ترکیبی امولسیون ICES30/4 همراه با ۳۰ درصد ویتامین ث طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی بهترین تیمار ترکیبی تشخیص داده شد ($0/60 \pm 0/03$).

همه فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی بر نرخ $03/06$ در ناپلیوس آرتمیا تاثیر معنی‌دار نشان دادند ($P < 0.05$). ICES30/4 با ایجاد نسبت $5/70 \pm 0/24$ ، سطح ۳۰ درصد ویتامین ث با ایجاد نسبت $4/63 \pm 0/13$ ، زمان ۲۴ ساعت با ایجاد نسبت $4/73 \pm 0/20$ و تیمار ترکیبی ICES30/4 همراه با ۳۰ درصد ویتامین ث طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی با ایجاد نسبت $6/29 \pm 0/24$ به‌عنوان بهترین فاکتورهای اصلی و تیمار ترکیبی به‌دست آمدند.

متوسط چربی کل بر حسب درصد وزن خشک، ویتامین ث بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک و اسیدهای



دوگانه را در بدن لارو ماهی قره‌برون به‌دست داد. دو فاکتور اصلی روغن‌ها و سطوح ویتامین‌ها و تیمارهای ترکیبی تاثیر معنی‌دار افزاینده‌ای بر نسبت DHA/EPA و نسبت $\omega3/\omega6$ در لارو ماهی خاویاری ایجاد نمودند ($P < 0.05$). امولسیون ICES30/4 بیش‌ترین نسبت DHA/EPA (0.162 ± 0.04) و بیش‌ترین نسبت $\omega3/\omega6$ (0.506 ± 0.082)، سطح ۱۰ درصد ویتامین‌ها بیش‌ترین نسبت DHA/EPA (0.161 ± 0.03)، سطح ۲۰ درصد ویتامین‌ها بیش‌ترین نسبت $\omega3/\omega6$ (0.502 ± 0.084)، تیمار ترکیبی ICES30/4 همراه با ۱۰ درصد ویتامین‌ها طی ۱۲ ساعت غنی‌سازی بیش‌ترین نسبت DHA/EPA (0.191 ± 0.06) و تیمار ترکیبی ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین‌ها طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی بیش‌ترین نسبت $\omega3/\omega6$ (0.777 ± 0.098) را در لارو ماهی خاویاری ایرانی به‌دست دادند ولی فاکتور اصلی زمان غنی‌سازی تاثیر معنی‌داری بر این نسبت‌ها نشان ندادند ($P < 0.05$).

ICES30/4 همراه با ۱۰ درصد ویتامین‌ها طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی ($32/34 \pm 1/89$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بیش‌ترین میزان این اسیدهای چرب اشباع را در لارو ماهی ایجاد نمودند.

جدول آنالیزها نشان دادند که همه فاکتورهای اصلی و تیمارهای ترکیبی بر میزان مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند دوگانه لارو ماهی قره‌برون تاثیر معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$).

به‌طوری که روغن تخمدان ماهی خاویاری ($36/01 \pm 2/74$) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، سطح ۲۰ درصد ویتامین‌ها ($36/16 \pm 1/83$) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و زمان ۲۴ ساعت ($35/97 \pm 3/08$) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به‌عنوان بهترین فاکتورهای اصلی و تیمار ترکیبی روغن تخمدان ماهی خاویاری همراه با ۱۰ درصد ویتامین‌ها طی ۲۴ ساعت غنی‌سازی بهترین تیمار ترکیبی ($40/24 \pm 2/71$) میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار میزان چربی کل، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف ناپلیوس آرتمیا ارومیان

زمان‌های غنی‌سازی	درصدهای ویتامین‌ها				منابع روغن		چربی کل (% وزن خشک)
	۱۲ ساعت	۳۰ درصد	۲۰ درصد	۱۰ درصد	روغن تخمدان خاویاری	ICES30/4	
۱۸/۳۲ ± ۱/۹۶	۱۷/۷۲ ± ۲/۱۰	۱۷/۶۸ ± ۲/۱۸	۱۸/۵۴ ± ۲/۴۲	۱۷/۸۵ ± ۱/۴۱	۱۹/۶۳ ± ۱/۳۶	۱۶/۴۷ ± ۱/۰۵	ویتامین‌ها (میکروگرم بر گرم وزن خشک)
۸۴۳/۰۰ ± ۵۶/۳۱	۶۰۰/۱۰ ± ۳۷/۳۹	۷۸۷/۶۰ ± ۷۰/۲۰	۸۳۹/۳۳ ± ۸۱/۱۳	۵۳۷/۸۵ ± ۵۴/۲۳	۶۷۵/۶۰ ± ۵۵/۱۱	۷۶۷/۵۰ ± ۶۷/۰۰	اسیدهای چرب (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)
۲/۱۱ ± ۰/۲۰	۲/۰۹ ± ۰/۱۸	۲/۰۲ ± ۰/۲۱	۲/۲۴ ± ۰/۱۷	۲/۰۵ ± ۰/۱۵	۱/۸۵ ± ۰/۲۲	۲/۳۵ ± ۰/۲۱	C20:4n6 (ARA)
۶/۶۸ ± ۰/۲۹	۵/۴۲ ± ۰/۱۸	۶/۴۲ ± ۰/۲۰	۵/۵۶ ± ۰/۲۱	۵/۱۷ ± ۰/۳۰	۵/۱۶ ± ۰/۳۷	۶/۹۴ ± ۰/۳۵	C20:5n3 (EPA)
۲/۹۱ ± ۰/۱۸	۲/۱۴ ± ۰/۲۳	۲/۶۶ ± ۰/۲۴	۲/۷۴ ± ۰/۲۳	۲/۱۸ ± ۰/۱۶	۱/۵۸ ± ۰/۲۸	۳/۴۷ ± ۰/۳۵	C22:6n3 (DHA)
۰/۴۲ ± ۰/۰۳	۰/۳۷ ± ۰/۰۲	۰/۳۹ ± ۰/۰۳	۰/۴۰ ± ۰/۰۳	۰/۴۰ ± ۰/۰۲	۰/۳۰ ± ۰/۰۲	۰/۴۹ ± ۰/۰۳	DHA/EPA
۳۳/۰۸ ± ۱/۵۱	۳۱/۲۸ ± ۱/۷۱	۳۲/۱۹ ± ۱/۴۱	۳۲/۹۷ ± ۲/۲۲	۳۱/۳۸ ± ۱/۲۱	۳۲/۹۸ ± ۲/۰۳	۳۱/۳۸ ± ۲/۱۰	مجموع اسیدهای چرب اشباع
۴۴/۱۷ ± ۲/۲۰	۴۷/۴۰ ± ۲/۵۶	۴۴/۲۷ ± ۲/۲۴	۴۵/۲۴ ± ۲/۱۲	۴۷/۸۵ ± ۱/۷۷	۴۶/۷۶ ± ۳/۲۴	۴۴/۸۱ ± ۳/۹۰	مجموع اسیدهای چرب غیراشباع
۹/۶۵ ± ۰/۴۸	۷/۵۶ ± ۰/۴۲	۹/۰۹ ± ۰/۴۴	۹/۳۶ ± ۰/۴۴	۷/۳۶ ± ۰/۴۶	۶/۷۵ ± ۰/۶۵	۱۰/۴۶ ± ۰/۷۰	با یک باند دو گانه
۴/۷۳ ± ۰/۲۰	۳/۸۸ ± ۰/۲۱	۴/۶۲ ± ۰/۱۵	۴/۳۷ ± ۰/۱۳	۳/۹۱ ± ۰/۱۵	۲/۹۱ ± ۰/۲۱	۵/۷۰ ± ۰/۲۴	مجموع اسیدهای چرب امگا ۳
							$\omega-3/\omega-6$



جدول ۳: میانگین و انحراف معیار میزان چربی کل، ویتامین ث و اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف لارو ماهی قره برون

منابع روغن	درصد های ویتامین ث					زمان های غنی سازی	
	روغن تخمدان خاویاری	۱۰ درصد	۲۰ درصد	۳۰ درصد	۱۲ ساعت		۲۴ ساعت
ICES30/4	۱۶/۰۸±۲/۰۲	۱۵/۲۰±۰/۹۶	۱۶/۳۸±۲/۳۷	۱۵/۹۷±۰/۵۲	۱۴/۵۶±۰/۷۳	۱۵/۸۴±۲/۱۳	۱۵/۴۴±۰/۸۸
چربی کل (% وزن خشک)	۱۴۴/۹۵±۱۷/۳۳	۸۰/۷۶±۱۷/۰۱	۹۹/۳۷±۱۴/۵۹	۱۲۳/۵۲±۱۴/۸۶	۱۱۵/۶۲±۱۴/۸۶	۹۸/۰۳±۱۸/۳۹	۱۲۷/۰۰±۱۶/۳۱
ویتامین ث (میکروگرم بر گرم وزن خشک)	۱/۴۱±۰/۳۵	۰/۹۴±۰/۳۹	۱/۳۴±۰/۱۶	۱/۰۹±۰/۳۴	۱/۰۹±۰/۶۴	۱/۲۹±۰/۵۱	۱/۰۶±۰/۳۲
اسیدهای چرب (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	۴/۲۴±۰/۸۶	۲/۰۱±۰/۴۶	۲/۸۵±۰/۹۳	۳/۶۱±۱/۴۰	۲/۹۱±۱/۵۳	۳/۰۰±۱/۲۲	۳/۲۵±۱/۴۴
C20:4n6 (ARA)	۲/۵۲±۰/۴۰	۱۴۰/۹۵±۰/۱	۱/۸۴±۰/۹۸	۱/۷۹±۰/۸۳	۱/۵۸±۰/۷۶	۱/۷۶±۰/۹۱	۱/۷۱±۰/۸۰
C20:5n3 (EPA)	۰/۶۲±۰/۰۴	۰/۴۹±۰/۰۳	۰/۶۲±۰/۰۳	۰/۴۹±۰/۰۳	۰/۵۷±۰/۰۲	۰/۵۲±۰/۰۲	۰/۵۳±۰/۰۲
C22:6n3 (DHA)	۲۶/۷۹±۳/۹۰	۲۷/۷۶±۱/۹۶	۲۸/۱۱±۳/۳۵	۲۸/۵۳±۱/۸۴	۲۵/۱۹±۱/۱۱	۲۶/۷۶±۲/۱۶	۲۸/۲۹±۲/۸۴
DHA/EPA	۳۳/۸۴±۳/۹۰	۳۶/۰۱±۲/۷۴	۳۳/۵۶±۵/۳۱	۳۶/۱۷±۱/۸۳	۳۵/۰۶±۱/۹۲	۳۳/۸۸±۳/۶۶	۳۵/۹۷±۳/۰۸
مجموع اسیدهای چرب اشباع	۶/۷۵±۰/۸۶	۲/۹۵±۰/۳۵	۴/۶۸±۰/۳۷	۵/۳۹±۰/۴۸	۴/۴۷±۰/۳۶	۴/۷۵±۰/۲۱	۴/۹۴±۰/۲۱
مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع	۵/۰۶±۰/۸۲	۳/۶۳±۰/۴۶	۳/۶۱±۰/۵۰	۵/۰۳±۰/۴۹	۴/۴۰±۰/۴۶	۳/۹۳±۰/۲۳	۴/۷۶±۰/۲۲
با یک باند دو گانه							
مجموع اسیدهای چرب امگا ۳							
ω-3/ω-6							

جدول ۴ نتایج اندازه گیری طول کل، وزن تر، بازماندگی و درصد بقا لارو ماهی قره برون در شوری ۱۲ گرم در لیتر پس از ۱۲۰ ساعت را نشان می دهد. آنالیز واریانس داده ها نشان می دهد که فاکتورهای اصلی یعنی روغن ها، سطوح ویتامین ث و زمان های مختلف بر طول کل لارو ماهی اثر معنی داری نداشتند ($P>0.05$) ولی تیمار ترکیبی ماهی تغذیه شده از آرتمیا غنی شده با امولسیون ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین ث طی ۱۲ ساعت غنی سازی، ضمن اختلاف معنی دار با سایر تیمارهای ترکیبی ($P<0.05$) بیشترین طول کل در ماهی را سبب گردید ($54/30 \pm 5/61$ میلی متر).

وزن تر متاثر از سطوح ویتامین ث و زمان های مختلف غنی سازی، افزایش معنی داری را نشان داد ($P<0.05$). ۲۰ درصد ویتامین ث و زمان غنی سازی ۲۴ ساعت به ترتیب بیشترین وزن تر ($752/04 \pm 46/26$ و $689/35 \pm 35/69$ میلی گرم) را در لارو ماهی قره برون ایجاد نمودند.

در خصوص بازماندگی در لارو ماهی قره برون پس از بیست روز آزمایش، فاکتور اصلی روغن ها و تیمارهای ترکیبی تاثیر معنی داری را نشان دادند ($P<0.05$) که ICES30/4 ($87/06 \pm 1/39$ درصد) و تیمار ترکیبی ماهی قره برون که از آرتمیا غنی شده با امولسیون ICES30/4 به همراه

۲۰ درصد ویتامین ث طی ۲۴ ساعت ($91/30 \pm 0/44$ درصد) بیشترین بازماندگی را در لارو ماهی القا نمودند. فاکتورهای اصلی دیگر شامل سطوح ویتامین ث و زمان های غنی سازی غذای زنده بر بازماندگی لارو قره برون تاثیر معنی داری نداشتند ($P<0.05$). اضافه کردن ویتامین ث با روغن های حاوی HUFA تاثیر افزاینده ای بر میزان تحمل لارو ماهی قره برون به شوری های بالا نشان داد ($P<0.05$). بازماندگی در لارو این ماهی که به شدت نسبت به شوری حساسیت نشان می دهد، با تغذیه از کلیه تیمارهای ناپلیوس آرتمیا غنی شده با روغن ها و سطوح مختلف ویتامین طی دو زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت افزایش معنی داری را با گروه شاهد نشان دادند به طوری که گروه شاهد در شوری ۶ گرم در لیتر پس از ۷۲ ساعت از بین رفتند ولی کلیه تیمارهای آزمایشی نه تنها در شوری ۶ بلکه در شوری ۱۲ گرم در لیتر تا ۱۲۰ ساعت آزمایش در این پروژه، بازماندگی بالای ۹۰ درصد را نشان دادند (گروه شاهد بعد از ۳۶ ساعت در این شوری از بین رفتند). در شوری ۱۸ گرم در لیتر همه تیمارها بعد از ۲۴ ساعت از بین رفتند.

کلیه فاکتورهای اصلی بر تحمل شوری لارو ماهی قره برون در شوری ۱۲ گرم در لیتر و پس از ۱۲۰ ساعت تاثیر معنی داری نشان دادند ($P<0.05$) ولی بین تیمارهای ترکیبی اختلاف



زنده (۱۰۰/۰۰±۱/۰۰ درصد) بیشترین افزایش بقاء در لارو ماهی‌های تحت استرس را به وجود آوردند.

معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0.05$). از بین فاکتورهای اصلی ICES30/4 (۱۰۰/۰۰±۱/۰۰ درصد) سطح ۲۰ درصد ویتامین ث (۱۰۰/۰۰±۱/۰۰ درصد) و زمان ۲۴ ساعت غنی‌سازی غذای

جدول ۴: طول (میلی‌متر)، وزن تر (میلی‌گرم)، بازماندگی لارو ماهی قره‌برون پس از ۲۰ روز آزمایش و بقاء در شوری ۱۲ گرم در لیتر (ppt) پس از ۱۲۰ ساعت

تیماها	طول کل	وزن تر	بازماندگی	بقا در ppt (۱۲h) (۱۲۰h)
گروه روغن‌ها				
ICES30/4	۵۰/۹۱±۱/۷۱ ^A	۷۰/۱۲۴±۴۶/۱۳ ^A	۸۷/۰۶±۱/۳۹ ^B	۱۰۰/۰۰±۱/۰۰ ^B
روغن تخمدان خاویاری	۵۱/۲۲±۰/۹۴ ^A	۷۰/۵۱۷±۴۱/۲۷ ^A	۸۱/۱۹±۴/۰۹ ^A	۹۵/۰۰±۱/۰۰ ^A
سطوح ویتامین				
۱۰ درصد ویتامین ث	۵۱/۲۲±۰/۹۳ ^M	۶۹۸/۲۷±۵۰/۲۸ ^M	۸۴/۶۰±۲/۷۱ ^M	۹۲/۰۰±۱/۰۰ ^M
۲۰ درصد ویتامین ث	۵۲/۲۲±۲/۳۳ ^M	۷۵۲/۰۴±۴۶/۳۶ ^N	۸۴/۶۰±۲/۴۳ ^M	۹۹/۰۰±۱/۰۰ ^N
۳۰ درصد ویتامین ث	۵۰/۴۴±۰/۹۷ ^M	۶۶۲/۷۷±۴۴/۷۱ ^M	۸۳/۴۶±۳/۹۶ ^M	۹۸/۰۰±۱/۰۰ ^N
زمان‌های غنی‌سازی				
۱۲ ساعت	۵۲/۲۶±۲/۱۲ ^X	۷۱۹/۳۷±۵۸/۴۷ ^X	۸۳/۳۰±۳/۶۹ ^X	۹۰/۰۰±۱/۰۰ ^X
۲۴ ساعت	۵۰/۳۱±۰/۶۲ ^X	۶۸۹/۳۵±۳۵/۶۹ ^Y	۸۵/۱۴±۲/۳۸ ^X	۱۰۰/۰۰±۱/۰۰ ^Y

میانگین در هر ستون بین گروه‌ها با حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار است ($N=3, p<0.05$)

هیبرید ماهی خاویاری استرلت X سیبرین ناهنجاری‌های ریختی را در آن‌ها به وجود می‌آورد. از طرف دیگر ارزش غذایی سطوح بالای امگا ۳ اسیدهای چرب فوق غیراشباع (HUFA) به افزایش رشد در بسیاری از ماهیان دریایی چون فلوندر ژاپنی (Izquierdo و همکاران، ۱۹۸۹)، بریم دریایی (Rainuzzo و همکاران، ۱۹۹۷) انجامیده است. در پروژه حاضر اسیدهای چرب فوق غیراشباع تاثیر مثبتی بر رشد ماهی خاویاری نشان نداد که دلایلی هم‌چون اختلاف گونه‌ای و طبیعتاً تفاوت در نرخ متابولیسم (Jobling، ۱۹۸۵)، اندازه ماهی، تفاوت در فرم ویتامین ث مورد استفاده (Dabrowski و همکاران، ۱۹۹۴) و شرایط مختلف آزمایشی (Dhert و همکاران، ۱۹۹۳) را می‌توان برای آن متصور بود.

افزودن ویتامین ث به روغن‌ها مورد مطالعه باعث افزایش درصد بازماندگی در لارو ماهی قره‌برون و هم‌چنین افزایش تحمل به شوری در آن‌ها گردید. چنین پدیده‌ای در باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) نیز گزارش شده است (Merchie و همکاران، ۱۹۹۵b) هم‌چنین ایشان و همکاران (۱۹۹۷) از اثرات تحریکی سطوح بالای ویتامین ث در سیستم ایمنی لارو ماهی توربوت بعد از تماس با باکتری ویبریو گزارش مفصلی ارائه داده‌اند. در گربه ماهی، میگو و

بحث

مطالعات تغذیه متعددی در خصوص مرحله لاروی ماهیان خاویاری در دنیا انجام شده است که می‌توان به موارد زیر اشاره نمود. استفاده از مواد غنی‌ساز در تغذیه لارو ماهیان خاویاری Fauconneau و همکاران (۱۹۸۶) و Deng و همکاران (۲۰۰۳) و اثر ویتامین ث بر رشد و بازماندگی لارو ماهیان خاویاری مربوط به Reddy and Ramesh (۱۹۹۶)، Papp و همکاران (۱۹۹۷) و Sadowski و همکاران (۲۰۰۰ و ۱۹۹۹) که نشان دادند ویتامین ث در غذا اثر معنی‌بر رشد ماهی خاویاری سیبری نداشت. چنین نتیجه مشابهی نیز توسط Reddy و Ramesh (۱۹۹۶)، Sadowski و همکاران (۱۹۹۹) در گونه‌های دیگر ماهیان خاویاری به‌دست آمد. Dabrowski (۱۹۹۴) نشان داد که ماهیان خاویاری با داشتن آنزیم گلوکونلاکتون اکسیداز قادر به سنتز ویتامین ث هستند ولی نیاز ماهی به این ویتامین به‌خصوص در کشت متراکم به‌حدی است که وجود ویتامین ث را در جیره غذایی آن ضروری می‌نماید و هم‌چنین استرس‌های محیطی (تراکم بالا یا تغذیه مفرط، افزایش شوری محیط و ... میزان تقاضا برای این ویتامین را افزایش می‌دهد. Papp و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که نبود ویتامین ث در



تشکر و قدردانی را دارد.

منابع:

۱. بهمنی، م. و یوسفی، ا.، ۱۳۹۰. قابلیت سازگاری لاروهای ۲۰ روزه تاسماهی ایرانی در شوری‌های مختلف. مجله زیست‌شناسی ایران، شماره ۲۴، صفحات ۲۵ تا ۳۶.
۲. حافظیه، م. و حسین پور، ح.، ۱۳۹۱. بررسی تحمل شوری در لارو تاسماهی ایران تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با ویتامین ث. مجله علمی شیلات ایران، دوره ۲۱، شماره ۳، صفحات ۴۵ تا ۵۵.
۳. دفتر آمار مدیریت طرح و توسعه شیلات ایران، ۱۳۷۸. داده‌های آماری شیلات ایران. سازمان شیلات ایران، معاونت طرح و توسعه. ۸۹ صفحه.
4. **Ako, H.; Tamaru, C.S.; Bass, P. and Lee, C.S., 1994.** Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding enriched *Artemia nauplii*. *Aquaculture*, 122:81-90
5. **Boonyaratpalin, M.; Boonyaratpin, S. and Supamataya, K., 1994.** Ascorbyl-phosphate-Mg as a dietary vitamin C source for sea bass *Lates calcarifer*. In: *Proc. 3rd Asian Fisheries Forum* (Chou, L.M., Munro, A.D., Lam, T.J., Chen, T.W., Cheong, L.K.K., Ding, J.K., Hooi, K.K., Khoo, H.W., Phang, V.P.E., Shim, K.F. and C.H. Tan, eds), pp. 725-728. Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines.
6. **Folch, J.; Lees, M. and Stanely, G.H.S., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biology Chemistry*. 226:497-509.
7. **Dąbrowski, K., 1994.** Primitive Actinopterigian fishes can synthesize ascorbic acid. *Experientia*, 50:745-748.
8. **Dhert, P.H.; Sorgeloos, P. and Devresse, B., 1993.** Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Bruchionus plicatilis* and *Artemia* sp. In: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jorgensen, L. and K. Tvinnereim (eds.), *Fish Farming Technology*. Balkema, Rotterdam, Netherlands. pp.109-115

میگوی آب شیرین نیز افزودن ویتامین ث باعث افزایش تحمل شوری و بازماندگی گردیده است (Merchie و همکاران، ۱۹۹۶؛ ۱۹۹۷؛ ۱۹۹۵a). این مطالعه در تایید مطالعات گذشته، این تئوری را تقویت می‌بخشد که تنش‌ها نیاز به افزایش آسکوربیت‌ها را در لارو ماهی و حتی مرحله جوان به وجود می‌آورد و همچنین نشان می‌دهد که ویتامین ث اثرات مفیدی بر پارامترهای ایمنولوژیک هم‌چون لیوزوزیم و فعالیت‌های مکمل، فعالیت‌های فاگوسیتیک و قطع تنفسی دارد (Li و Lovell، ۱۹۸۵؛ Verlhac و همکاران، ۱۹۹۸؛ Ortuno و همکاران، ۲۰۰۱؛ ۱۹۹۹) و یا باعث افزایش مقاومت به بیماری‌ها می‌گردد (Montero و همکاران، ۱۹۹۹).

مشابه با نتایج کارهای Sadowski و همکاران (۲۰۰۰) بر روی ماهی خاویاری سیبرین، این پروژه نیز اثرات مثبت روغن‌های حامل اسیدهای چرب فوق‌غیراشباع (HUFA) همراه با ویتامین ث برافزایش میزان ویتامین ث، چربی کل و اسیدهای چرب در لارو ماهی قره‌برون (خاویاری ایرانی) را نشان داد هم‌چنین Boonyaratpalin و همکاران، ۱۹۹۴؛ Merchie و همکاران، ۱۹۹۷؛ ۱۹۹۵a؛ ۱۹۹۵b؛ Kolkovski و همکاران، ۲۰۰۰) از افزایش اسیدهای چرب امگا سه در لارو ماهیانی که توسط غذای زنده غنی‌شده با روغن ماهی و ویتامین ث تغذیه شده بودند خبر دادند که نتایج این تحقیق نیز در راستا و موافق با نتایج آن‌ها ارزیابی شده است.

نتیجه‌گیری کلی نشان می‌دهد که هزینه کرد در یک مدت زمان کوتاه، به‌منظور غنی‌سازی لارو تاسماهی ایرانی با امولسیون وارداتی و یا روغن‌های داخلی به همراه ویتامین ث می‌تواند تحمل شوری این ماهی را تا سطح شوری دریای خزر بالا برده، رهاسازی مستقیم بدون خطر را برای این ماهی فراهم نماید و از این طریق مخاطرات مسیر رودخانه‌ای را حذف نماید. هم‌چنین به افزایش کیفی لاروهای تولیدی مراکز تکثیر سازمان شیلات که در آینده آبی‌پروری این ماهیان نقش خواهند داشت اقدام نمود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از مرکز تکثیر ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت به جهت تهیه لارو ماهیان قره‌برون مورد نیاز و آقایان دکتر آق و مهندس ایرانی از مرکز تحقیقات آرتمیا و سایر آبیان دانشگاه ارومیه به‌عنوان همکاران ارزشمند طرح کمال



- Nelis, H.; De Ollevier, F.; Leenheer, A. and Sorgeloos, P., 1995b. Live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. J. Appl. Ichthyol., 11:336-341.
19. **Merchie, G.; Lavens, P.; Storch, V.; Ubel, U.; De Nelis, H.; Leenheer, A. and Sorgeloos, P., 1996.** Influence of dietary vitamin C dosage on turbot *Scophthalmus maximus* and European sea bass *Dicentrarchus labrax* nursery stages. Comp. Biochem. Physiol., 114:123-133.
 20. **Merchie, G.; Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1997.** Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture, 155:165-181.
 21. **Metcalf, L.D. and Schmitz, A.A., 1961.** The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry, 33:363-364.
 22. **Montero, D.; Marrero, M.; Izquierdo, M.S.; Robaina, L.; Vergara, J.M. and Tort, L., 1999.** Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. Aquaculture, 171:269-278.
 23. **Ortuno, J.; Esteban, A. and Meseguer, J., 1999.** Effects of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology, 9:429-443.
 24. **Ortuno, J.; Cuesta, A.; Esteban, A. and Meseguer, J., 2001.** Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Vet. Immunol. Immunopathol, 79:167-180
 25. **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.
 26. **Van Stappen, G., 1996.** Introduction, biology and ecology of artemia. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. Lavens, P. and P. Sorgeloos, (Eds.). FAO Fisheries technical paper, 361:79-163.
 27. **Von Elert, E., 2002.** Determination of
 9. **Deng, D.F.; Hemre, G.I.; Koshio, S.; Yokoyama, S.; Bai, S.C.; Shao, Q.; Cui, Y. and Hung, S.S.O., 2003.** Effects of feeding rate on growth performance of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. Aquaculture, 217:589-598.
 10. **Fauconneau, B.; Aguirre, P.; Dabrowski, K. and Kaushik, S.J., 1986.** Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae: 2. Protein metabolism: Influence of fasting and diet quality. Aquaculture, 51:117-131.
 11. **Izquierdo, M.S.; Watanabe, T.; Takeuchi, T.; Arakawa, T. and Kitajima, C., 1989.** Requirement of larval red sea bream *Pagrus major* for essential fatty acids. Nippon Suisan Gakk., 55:859-867.
 12. **Jobling, M., 1985.** Growth. In: Tylter, P. and P. Calow, (Eds.), Fish Energetics: New Perspective. Croom Helm, London, pp.213-230.
 13. **Kolkovski, S.; Czesny, S.; Yackey, C.; Moreau, R.; Cihla, F.; Mahan, D. and Dabrowski, K., 2000.** The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acid-enriched Artemia nauplii on growth, survival, and stress resistance of freshwater walleye (*Stizostedion vitreum*) larvae. Aquaculture Nutrition, 6:199-20.
 14. **Li, Y. and Lovell, R.T., 1985.** Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. J. Nutr., 115:123-131.
 15. **Merchie, G.; Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1997.** Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review. Aquaculture, 155:165-181.
 16. **Merchie, G.; Lavens, P.; Radull, J.; De Nelis, H.; Leenheer, A. and Sorgeloos, P., 1995.** Evaluation of vitamin C-enriched artemia nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. Aquaculture, Int. 3:355-363.
 17. **Merchie, G.; Lavens, P.; Dhert, P.H.; Dehasque, M.; Nelis, H.; De Leenheer, A. and Sorgeloos, P., 1995a.** Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. Aquaculture, 134:325-337.
 18. **Merchie, G.; Lavens, P.; Dhert, P.H.; Pector, R.; Mai Soni, A.F.; Abbs, M;**



- supplements on selected indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baeribandt*, 1858) culture in cooling water. *Acta Ichthyol. Piscat.* Vol.30, No.2, pp.13-20.
31. **Sadowski, J.; Filipiak, J.; Trzebiatowski, R. and Plust, M., 1999.** Preliminary studies on effects of diet enrichment with propiscin, bio-immuno, and ascorbyl sulphate on cage culture of carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in cooling water. *Folia Univ. Agric. Stetin.*, 192 Piscaria, 25: 71-77.
 32. **Verlhac, V.; Obach, A.; Gabaudan, J.; Schuep, W. and Hole, R., 1998.** Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 8:409- 424.
 - limiting polyunsaturated fatty acid in *Daphnia galeata* using a new method enriches food algae with single fatty acid. *Limnology and Oceanography*. 46: 1764-1773.
 28. **Papp, G.Z.; Saroglia, M.; Jeney, Z.G. and Terova, J.G., 1997.** Effects of vitamin C on collagen status of sturgeon hybrid (*Acipenser ruthenus* L. \times *Acipenser baeri* L.). III International Symposium on Sturgeon, Piacenza, Italy, My 8-11 1997. Booklet of abstracts.
 29. **Reddy, H.R. and Ramesh, T.J., 1996.** Dietary essentiality of ascorbic acid for common carp *Cyprinus carpio* L. *Indian J. Exp. Biol.* Vol.34, No.11, pp.1144-1146.
 30. **Sadowski, J.; Trzebiatowski, R. and Wielopolska, M., 2000.** Effects of ascorbic acid and glucose applied as food



Evaluation of salinity tolerance in *Acipenser persicus* larvae fed *Artemia urmiana* nauplii enriched with imported and inland HUFA and vitamin C

- **Mahmoud Hafezieh***: Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O.Box: 14155-6116, Tehran, Iran
- **Hamid Ramezani**: Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O.Box: 14155-6116, Tehran, Iran
- **Daniel Azhdari**: Iranian Fisheries Research Organization (IFRO), P.O.Box: 14155-6116, Tehran, Iran
- **Siamak Yousefi Siahkalroodi**: Faculty of Biological Sciences, Islamic Azad University, Varamin- Pishva Branch, Pishva, Iran

Received: March 2013

Accepted: May 2013

Key words: *Acipenser persicus*, Salinity tolerance, *Artemia urmiana*, vitamin C, HUFA

Abstract:

The effects of Highly Unsaturated Fatty Acid (HUFA) and different vitamin C levels were investigated on salinity tolerance in Persian Sturgeon larvae. *Artemia urmiana* cysts were hatched with standard method and the nauplii were enriched with a imported emulsion (ICES30/4), homemade sturgeon ovary oil both supplemented with three vitamin C levels and fed to the fish larvae as live food for 20 days. At the end of experiments, fatty acids profile in *Artemia* nauplii and fish larvae, salinity tolerance in fish larvae exposed in different water salinities during different times were determined. Results showed that, the survival rate and salinity tolerance of fish in high water salinity were increased significantly ($P < 0.05$) in all treatments compared to the control fish larvae which were fed *Artemia* nauplii unenriched. All the main factors have significantly effects ($P < 0.05$) on salinity tolerance of sturgeon fish larvae when exposed in 12 ppt salinity after 120 h but there are not any differences in fishes salinity tolerance between the HUFA and vitamin C combination treatments ($P > 0.05$). Survival rate in the main treatments IES30/4, vitamin C (20%) and 24 h enrichment period were $100\% \pm 1.00$, $99\% \pm 1.00$, $99\% \pm 1.00$ respectively which caused the highest salinity tolerance in fish larvae. Also, omega 3 and omega 6 fatty acids in all *Artemia* nauplii and sturgeon fish larvae treatment especially those enriched with the commercial emulsion increased significantly compared to control groups ($P < 0.05$).

