تاثیر غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا و ویتامین E بر میزان رشد، مرگ و میر و مقاومت در برابر استرس لارو شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*)

محمدنبی عدلو*[1] و عباس متین‌فر[2]

mnaqua@gmail.com

۱- واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران صنوق پستی: ۷۷۵-۱٤۱۵۵

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ٦۱۱٦-۱٤۱۵۵

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۰

چکیده

این آزمایش در مدت ۳۶ روز به منظور بررسی تاثیر ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانای (*Artemia fransiscana*) غنی شده با ویتامین E روی میزان رشد، بازماندگی و مقاومت لاروهای ماهی شانک زردباله در برابر تنش‌های دمایی، شوری در اردیبهشت ماه ۱۳۸۸ انجام گردید. لاروهای شانک زردباله با میانگین (± انحراف معیار) طولی ۰/۰۸±۰/۸۴ میلی‌متر و میانگین وزنی (± انحراف معیار) ۰/۰۱±۵۳ میلی‌گرم، با تراکم ۴ عدد به ازای هر لیتر به مخازن پرورش منتقل شدند و پس از پانزده روز آداپتاسیون، به مدت ۸ روز بوسیله‌ی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع حاوی ۵ و ۱۰ درصد ویتامین E (بترتیب گروههای E1 و E2) تغذیه شدند و پس از آن تا روز سی و ششم بوسیله‌ی ناپلیوس آرتمیای غنی نشده و غذای کنسانتره تغذیه شدند. در پایان دوره پرورش، به منظور ارزیابی مقاومت در برابر استرس، دو گروه از لاروها در برابر تنش‌های شوری صفر گرم در لیتر و دمای ۱۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. میزان مرگ و میر استرس دمایی ثبت و ماهی‌هایی که تحت استرس اسمزی قرار گرفتند، برای بررسی میزان هورمون کورتیزول، گلوکز و پروتئین کل در دمای ۲۵- درجه سانتیگراد منجمد گردیدند. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که ویتامین E موجب بهبود رشد لاروهای شانک زردباله گردید ولی تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. این در صورتی است که تفاوت معنی‌داری را در بازماندگی، هنگام آغاز تیمارهای تغذیه‌ای نشان دادند. نتایج این آزمایش نشان دهنده‌ی آن است که غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب ضروری می‌تواند روی رشد و کاهش مرگ و میر، مفید واقع شود.

لغات کلیدی: شانک زرد باله، غنی‌سازی، آرتمیا فرانسیسکانا، ویتامین E، تنش

*نویسنده مسئول

ماهی شانک زردباله یا yellowfin seabream با نام علمی *Acanthopagrus latus*، یکی از با ارزش‌ترین ماهیان خوراکی می‌باشد که از ابتدای تخم‌گشایی و گذراندن مراحل لاروی و نوجوانی، تا زمانی که این ماهی را برای پرورش پرواری به قفس‌های دریایی معرفی کنند، تلفات 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 (Girri *et al.,* 2002; Appelbaum *et al*., 1998). در همین راستا، ناپلیوس تازه تخم‌گشایی کرده آرتمیا، عمدتاً به دلیل اندازه کوچک بعنوان حامل مناسب ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها، آنتی بیوتیک‌ها و هورمون‌ها باعث گردیده تا این ارگانیسم از جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی پروری 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 آرتمیا 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 بطور طبیعی کم است. بنابراین غنی‌سازی آنها با امولسیون اسیدهای چرب غیراشباع امری مهم می‌باشد (Copeman *et al.,* 2002). هرچه میزان اسیدهای چرب غیراشباع در جیره غذایی بیشتر باشد، به همان نسبت نیاز به آنتی‌اکسیدان‌ها بویژه ویتامین E نیز بیشتر خواهد بود. چون این ویتامین بعنوان یک آنتی اکسیدان موجب جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌شود (Sargent *et al*., 1997). ویتامین E بعنوان یک ماده ضروری برای لارو ماهیان مطرح است و بصورت آنتی اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و آرتمیا را می‌توان توسط آن غنی نمود (Sargent *et al*., 1997).

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) با ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس در لارو ماهی شانک زردباله (*Acanthopagrus latus*) انجام گردیده که می‌تواند جهت بالا بردن میزان بازماندگی و تسریع رشد بچه ماهیان این گونه در مراکز تکثیر ماهیان دریایی، مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

این تحقیق در اردیبهشت ماه ۱۳۸۸در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی، واقع در بندر امام خمینی، انجام گرفت. جیره-های غذایی شامل ۴ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار شامل: ناپلیوس آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵ و ۱۰ درصد ویتامین E (آلفا-توکوفرول استات، Sigma، بترتیب گروههای E1 و E2)، ناپلیوس آرتمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین E (گروه HUFA) و ناپلیوس آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد) در نظر گرفته شد. سیست‌های آرتمیا قبل از تخم‌گشایی، به روش Treece (۲۰۰۰) کپسول‌زدایی شدند. ماده غنی‌سازی مطابق روش Leger و همکاران (۱۹۸۷) تهیه گردیده، در دو مرحله با فاصله زمانی ۱۲ ساعت به محیط غنی‌سازی، به ازای هر لیتر آب ۲ سی‌سی اضافه گردید. به دلیل این‌که عمل غنی‌سازی در بالا بهتر انجام می‌شود، طی غنی‌سازی pH محیط غنی‌ساز مرتباً اندازه‌گیری و با اضافه کردن کربنات سدیم، روی ۸ ثابت نگه داشته شد. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت، ناپلی‌های غنی شده برداشت و شستشو و تا زمان استفاده، در دمای ۴ درجه سانتیگراد، با هوادهی ملایم نگهداری گردیدند.

پنج روز قبل از اجرای تیمارهای تغذیه‌ای، لاروهای ۳۵۱۰ عدد ۲۸ روزه ماهی شانک زردباله با میانگین (±انحراف معیار) طولی ۰/۸۴±۰/۰۸ میلی‌متر و میانگین (±انحراف معیار) وزنی ۵۳±۰/۰۱ میلی‌گرم، با تراکم ۱۳۰ عدد لارو برای هر مخزن (تقریباً ۴ عدد در لیتر) شمارش و انتقال داده شدند. مخازن مورد استفاده دارای گنجایش ۵۰ لیتر بود که به میزان ۴۰ لیتر از آب دریای فیلتر و ضد عفونی شده با میانگین (±انحراف معیار) اکسیژن محلول ۴/۸۴±۰/۱۳ میلی‌گرم در لیتر، ۲۸/۸۳±۰/۰۷ درجه سانتیگراد، شوری ۴۵/۶۷±۰/۸۱ گرم در لیتر و pH ۷/۹۱±۰/۰۴ آبگیری شدند. دوره نوری بصورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برقرار گردید. لارو ماهیان به مدت ۵ روز با روتیفر به میزان ۲۰ عدد در هر سی‌سی، سپس تا روز شانزدهم از ناپلیوس آرتمیای غنی نشده به میزان ۱۰ عدد ناپلی

در هر سی‌سی، 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 بصورت یک روز در میان انجام و باقیمانده‌ی 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 دو گروه بچه ماهی بصورت تصادفی از هر تکرار جمع‌آوری و در معرض دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و شوری صفر گرم در لیتر به مدت یک ساعت قرار داده شدند. تلفات ماهیان ثبت و از گروه تحت استرس شوری، جهت آنالیزهای بیوشیمیایی نمونه‌برداری شد.

به منظور آنالیزهای بیوشیمیایی، بچه ماهی‌ها در نیتروژن مایع منجمد و بافت آنها توسط دستگاه هموژنیزر به خوبی هموژن گردید. سپس عصاره سلولی بوسیله سانتریفوژ یخچال‌دار از سوسپانسیون جداسازی گردید. هورمون کورتیزول بوسیله RIA، پروتئین کل به روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) و گلوکز با روش فتومتریک، توسط کیت تشخیص کمی GLUCOSE (GOD) شرکت پارس آزمون سنجیده شد.

نتایج و داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) و آزمون چند دامنه دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد با کمک نرم‌افزار SPSS مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نرمال‌سازی داده‌ها با نرم‌افزار Minitab 14، ازطریق تابع arcsinus انجام 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 E1 و بیشترین میزان تلفات در تیمار شاهد مشاهده گردید بنابراین تفاوت در بازماندگی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بیشترین رشد در تیمار شاهد و کمترین میزان رشد در تیماری که از ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد تغذیه شده بودند مشاهده گردید (P>۰/۰۵).

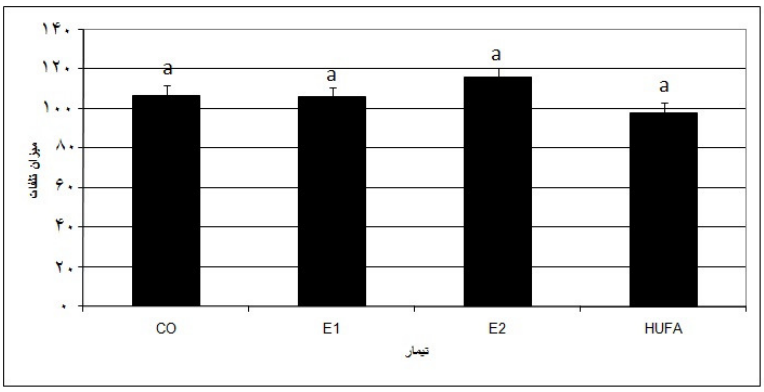
نتایج حاصل از آنالیزهای بیوشیمیایی، پس از استرس شوری حاکی از آن است که بیشترین میزان کورتیزول مربوط به تیمار E1 و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بوده، بیشترین میزان گلوکز مربوط به تیمار E2 و کمترین آن مربوط به E1 بود. بیشترین و کمترین میزان پروتئین کل مربوط به تیمار E2 و E1 بود و در تمامی موارد فوق تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). بیشترین میزان بازماندگی در اثر تنش، مربوط به تیمارهای E1 و HUFA بوده است.

جدول ۱: میانگین (± انحراف معیار) فاکتورهای مربوط به رشد و بازماندگی ماهیان در پایان آزمایش

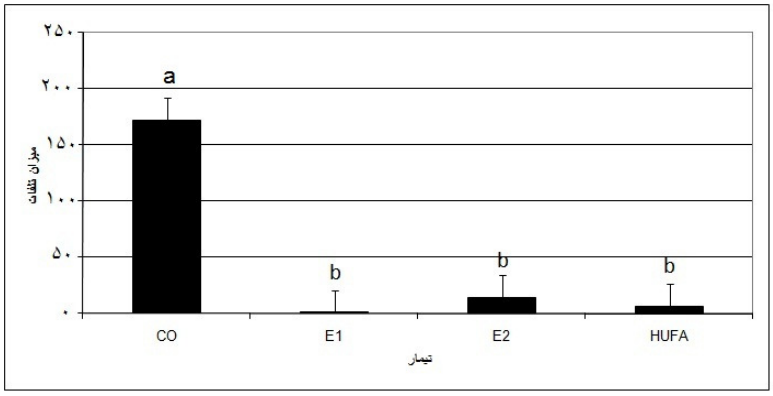
تیمار	معیار			
	نرخ رشد ویژه	شاخص رشد روزانه	شاخص وزن بدن	شاخص وضعیت
E1	٦/٧٣±٠/٧[a]	٠/٦٥±٠/٠٩[a]	٣/١٥±٠/٣٩[ab]	١/٥٥±٠/٢٢[a]
E2	٦/٩٣±٠/٩٥[a]	٠/٧٢±٠/١٤[a]	٣/٥٢±٠/٤٢[abc]	١/٧±٠/٢١[a]
HUFA	٦/٦٣±١/١٨[a]	٠/٦٥±٠/١٣[a]	٣/٣٥±٠/٥٤[ab]	١/٦±٠/٢٩[a]
شاهد	٧/٢٤±٠/٦٨[a]	٠/٦٥±٠/٣٨[a]	٤/٣٧±٠/٤٥[c]	١/٦٩±٠/١٦[a]

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

E1: ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد حاوی ۵ درصد ویتامین E، E2: ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد حاوی ۱۰ درصد ویتامینE ، HUFA: ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد بدون ویتامین



نمودار ۱: میزان مرگ و میر ماهی‌ها از آغاز آزمایش تا روز هفدهم (بارها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار می‌باشند)

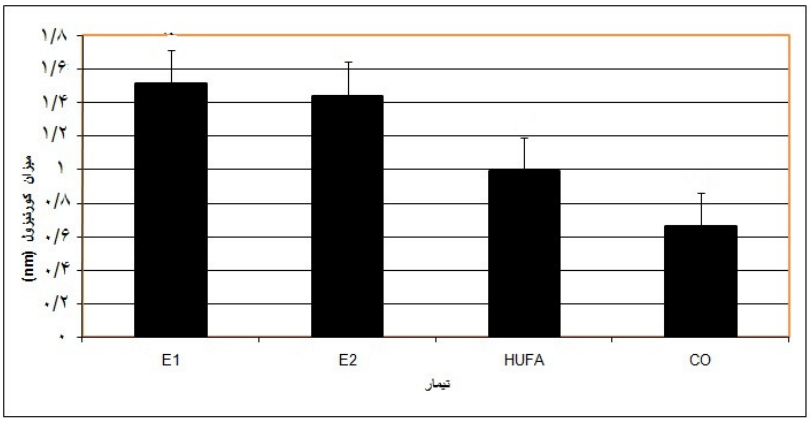


نمودار ۲: میزان مرگ و میر ماهی‌ها از روز هجدهم تا پایان دوره پرورش(بارها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار می‌باشند)

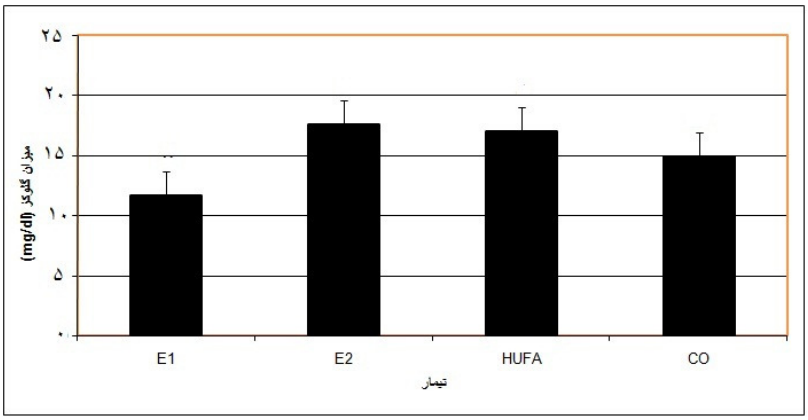
جدول ۲: میزان مرگ و میر ماهی‌ها پس از دو نوع تنش دمایی، شوری

تیمار	معیار	
	تنش دمایی	تنش شوری
E1	۰/۶۶±۱/۱۵ [a]	۰
E2	۱±۱/۷۳ [a]	۰
HUFA	۰/۶۶±۰/۵۷ [a]	۰
شاهد	۱±۱/۷۳ [a]	۰

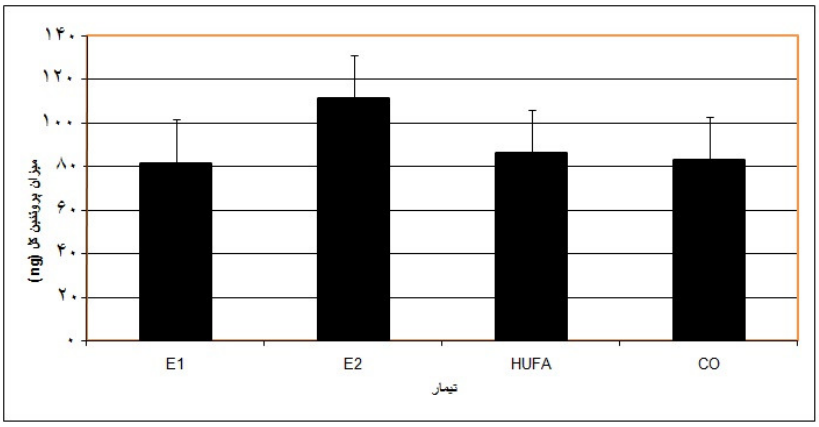
اعدادی که در یک ستون با حروف مشابه مشخص گردیده‌اند اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (P> ۰/۰۵).



نمودار ۳: میزان کورتیزول، پس از اعمال تنش شوری (بارها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار می‌باشند)



نمودار ٤: میزان گلوکز، پس از اعمال تنش شوری (بارها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار می‌باشند)



نمودار ٥: میزان پروتئین کل، پس از اعمال تنش شوری (بارها نشان‌دهنده‌ی انحراف معیار می‌باشند)

بحث

در این تحقیق تاثیر دریافت اسیدهای چرب غیراشباع (روغن کبد ماهی کاد) و ویتامین E روی شاخص‌های رشد، بقا و مقاومت در برابر دو نوع استرس در لاروهای ماهی شانک زردباله مورد بررسی قرار گرفت. کاربرد آلفا-توکوفرول استات، بعنوان منبع ویتامین E، موجب بهبود رشد نگردید. بطوریکه تیمار شاهد که از ناپلی‌های غنی نشده تغذیه کرده بودند، بیشترین نرخ رشد ویژه را بین تیمارها نشان دادند. همچنین استفاده از اسیدهای چرب غیراشباع در این تحقیق تاثیری روی رشد لاروها نداشت. Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) بین لاروهای Walley تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای تازه تخم‌گشایی کرده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده توسط روغن کبد کاد و امولسیون اسید چرب با نسبت‌های بالای EPA/DHA به همراه ویتامین‌های E تفاوت معنی‌داری در رشد نیافتند. از طرف دیگر Merchie و همکاران (۱۹۹۵) نیز نشان دادند که رشد لاروهای میگوی آب شیرین که با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع و ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیراشباع تغذیه شده بودند بعد از ۲۵ روز اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند. در پژوهشی که توسط Stephan و همکاران (۱۹۹۵)، روی ماهی توربوت (*Scophthalmus maximus*) انجام گرفت، دریافتند که تاثیر اسیدهای چرب چند غیراشباعی تاثیر معنی داری روی رشد ندارد. Cowey و همکاران (۱۹۸۱ و ۱۹۸۳) طی تحقیقاتی نشان دادند که تجویز خوراکی اسیدهای چرب غیراشباع حاوی ویتامین E روی رشد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تاثیر معنی‌داری ندارد. همچنین Wilson و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که ویتامین E روی رشد گربه ماهی‌های کانالی انگشت قد تاثیر معنی‌داری ندارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. تحقیقات پیشین نشان دادند که کاربرد ویتامین E می‌تواند باعث پایداری بافت‌های بدن در مقابل فعالیت‌های اکسایشی شود. چون این ویتامین باعث جلوگیری از پروکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و تاثیر رادیکال‌های آزاد می‌شود (Cay & King, 1980). ویتامین E نیز بعنوان یک ماده ضروری برای لارو ماهیان مطرح است و بصورت آنتی اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و آرتمیا را می‌توان توسط آن غنی‌سازی نمود (Sargent *et al.,* 1997). ویتامین E در پایداری غشاهای بیولوژیکی نقش دارد و باعث ممانعت از اتوکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌شود (Zimmer *et al.,* 1993). این ویتامین برای حفظ کیفیت لاشه، افزایش ایمنی بدن، مقاومت گلبول‌های قرمز در برابر همولیز شدن، قابلیت نفوذپذیری و تراوایی عروق و عضلات قلب ضروری می‌باشد (Halver, 2002). این در صورتی است که Koven و همکاران (۱۹۹۳) و نیز Rainuzzo و همکاران (۱۹۹۷) به اثبات رساندند که مقادیر بالایی از HUFA موجب افزایش نرخ رشد بسیاری از لاروهای دریایی مثل شانک سر طلایی می‌شود. Copeman و همکاران (۲۰۰۲) نیز عنوان کردند که کاربرد اسیدهای چرب غیراشباع EPA و DHA موجب افزایش رشد لارو فلاندر (*Limanda ferruginea*) شد. افزودن ویتامین E به جیره غذایی مریگال موجب بهبود رشد گردید (Paul & Megilistsch, 1991).

از طرف دیگر مرگ و میر تیمارهای آزمایشی تغذیه کرده از ناپلیوس غنی شده کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد یافت که در این بین، تیمار E1 کمترین نرخ مرگ و میر را داشته است. Copeman و همکاران (۲۰۰۲) عنوان کردند که کاربرد اسیدهای چرب غیراشباع EPA و DHA موجب افزایش بقای لارو فلاندر (*Limanda ferruginea*) می‌شود. Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) بین لاروهای Walley تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای تازه تخم‌گشایی کرده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده توسط امولسیون اسید چرب با نسبت‌های بالای EPA/DHA از نظر بقا اختلاف معنی‌داری بعد از ۴۰ روز نیافتند اما بقا لاروهای تغذیه کرده از آرتمیا غنی شده با نسبت‌های بالا EPA/DHA تفاوت معنی‌داری با این تیمارها داشتند. طی تحقیقی که Fermin و Bolivar (۱۹۹۱) روی لاروهای گربه ماهی آب شیرین (*Clarias macrocephalus*) انجام دادند، دریافتند که تغذیه لاروهای این گونه، با ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع در پایان روز ۱۵ اختلاف معنی‌داری از نظر بقا نیافتند.

در این تحقیق لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع حاوی ۵ و ۱۰ درصد ویتامین E در برابر استرس نوسانات شوری و دما اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. همچنین سطوح پروتئین کل و گلوکز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. Gapasin و همکاران (۱۹۹۸) نیز وقتی لاروهای خامه ماهی ۲۵ روزه را در برابر استرس شوری قرار دادند، میزان مرگ و میر کمتری را در آنهایی که با آرتمیا و روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع تغذیه شده بودند نسبت به گروه شاهد درسطح ۹۵ درصد مشاهده کردند.

اکثر ماهیان آب شیرین بر خلاف ماهیان دریایی قدرت اشباع‌زدایی و طویل‌سازی 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 بوسیله‌ی اسیدهای چرب غیراشباع استفاده شود. بطور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان دهنده‌ی آن است که غنی‌سازی آرتمیا با روغن کبد کاد بعنوان منبع اسیدهای چرب غیراشباع می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار بازماندگی لارو ماهی شانک زردباله شود که از نظر پرورش این گونه، بخصوص در قفسهای دریایی حائز اهمیت است. ولی ویتامین E تاثیر معنی‌داری روی رشد و مقاومت در برابر استرس ندارد.

منابع

سقاوی، ح.؛ معاضدی، ج.؛ مزرعه، ش.؛ امیری، ف. و نجف-آبادی، م.، ۱۳۸۱. تهیه و نگهداری مولدین شانک و صبیتی. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات آبزی‌پروری جنوب کشور. اهواز، ۶۴ صفحه.

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.

Bengston D.A., Leger P. and Sorgeloos P., 1991. Use of Artemia as a food source for aquaculture. Artemia Biology, pp.255-285.

Cay P.B. and King M.M., 1980. Vitamin E: It's role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed function oxidase system. *In*: (L.J. Machlin ed.), Vitamin E, a comprehensive treatise: Basic and clinical nutrition. Marcel Dekker, New York, USA. pp.289-317.

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*): Live food enrichment experiment. Aquaculture, 210:285–304.

Cowey C.B., Adron J.W., Walton M.J., Murray J., Youngson A. and Knox D., 1981. Tissue distribution, uptake, and requirement for a-tocopherol of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids. Nutrition, 111:1556–1567.

Cowey C.B., Adron J.W. and Youngson A., 1983. The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. Aquaculture, 30:85–93.

Fermin A.C. and Bolivar M.E., 1991. Larval rearing of the Philippin freshwater catfish *Clarias macrocephallus* fed zooplankton and artificial diet: A preliminary study. The Israeli Journal of aquaculture Bamidgeh, 43:87-94.

Gapasin R.S.J., Bombeo R., Lavens P., Sorgeloos P. and Nelis J., 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effect on milkfish, *chanos chanos* larval performance. Aquaculture, 162:269-286.

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 regimes. Aquaculture, 213:157-161.

Halver J.E., 2002. The vitamins. *In*: (J.E. Halver and R.W. Hardy eds), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA, USA. pp.61-141.

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 walleye *Stizostedion vitreum* larvae. Aquaculture Nutrition, 6:199-206.

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.

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*: (P. Sorgeloos, D.A. Bengeston, W. Decleir and E. Jaspers eds). *Artemia* research and its application, ecology, culturing, use in aquaculture. Univesa Press, Wattern. Belgium, pp.411-24.

Lowry Oh., Resoen NS., Farr A. and Randall R.J., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Biology Chemistry, 123:265-275.

Merchie G., Lavens P., Dhert P., Dehasque M., Nelis H., De leenheer A. and Sorgeloos P., 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. Aquaculture, 134:325-337.

Paul A. and Megilistsch R., 1991. Invertebrate Zoology. Third Edition. New York Oxford University Press.

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.

Sargent J.R., McEvoy L.A. and Bell J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larve feeds. Aquaculture, 155:117-127.

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 during starvation. Aquaculture, 208:137-158.

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 polyunsayurated fatty acids. Aquaculture, 130:251-268.

Treece G.D., 2000. Artemia production for marine larvae fish culture. SRAC Publication No. 702.

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. Social Fish, 44:1115-1121.

Wilson R.P., Bowser P.R. and Poe W.E., 1984. Dietary vitamin E requirement of fingerling channel catfish. Nutrition, 114:2053–2058.

Zimmer G., Thurich T. and Scheer, B., 1993. Membrane fluidity and vitamin E. Vitamin E in health and disease, pp.207-222.