magiran.com

اثر آرتمیا اورمیانای غنی شده با ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع بر میزان رشد، بازماندگی و مقاومت به تنش شوری در لارو فیل ماهی (*Huso huso*)

محمد علی جلالی[1]*؛ سید عباس حسینی[2]؛ محمد رضا ایمانپور[3] و علی اکبر علیمحمدی[4]
jalalifc@gmail.com
۱، ۲ و ۳ - دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۱۵۷۳۹-۴۹۱۳۸
۴- مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی، کد پستی: ۴۹۳۹۱ گرگان

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۷

چکیده

این آزمایش در مدت ۶ هفته به منظور تعیین اثرات ناپلئوس آرتمیا اورمیانا (*Artemia urimiana*) غنی شده با ویتامین E (آلفا- توکوفرول استات) و اسید چرب غیراشباع حاوی ۱۸ درصد EPA و ۱۲ درصد DHA روی میزان رشد، ماندگاری و مقاومت در مقابل تنش شوری در لارو فیل ماهی (*Huso huso*) انجام شده است. لاروهای فیل ماهی با میانگین وزنی ۶/۲±۶۹/۸ میلی‌گرم در زمان تغذیه آغازین در چهار تیمار و سه تکرار با ناپلئوس آرتمیا اورمیانا غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع حاوی ۲۰ و ۵۰ درصد ویتامین E (بترتیب گروه‌های E1 و E2) و اسید چرب فاقد ویتامین E (گروه HUFA) تغذیه شدند. تغذیه ماهیان گروه شاهد (بدون غنی‌سازی) نیز تا پایان آزمایش با استفاده از آرتمیای غنی نشده صورت گرفت. لاروها از روز اول تغذیه خارجی تا روز پنجم با آرتمیای غنی نشده و پس از آن به مدت ۷ روز با آرتمیای غنی شده تغذیه شدند. تمامی تیمارها پس از اتمام غنی‌سازی تا پایان روز چهلم از دافنی تغذیه نموده و سپس نمونه‌هایی از آنها به مدت ۲ روز در معرض تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر قرار گرفتند. نمونه‌های خون ماهیان نیز در پایان استرس شوری جمع‌آوری شد تا برای بررسی شاخص هماتوکریت مورد استفاده قرار گیرد. نتایج بدست آمده از نظر میزان رشد تفاوت آماری معنی‌داری را در بین تیمارها نشان داد. بیشترین رشد در ماهیان گروه E1 (۰/۵۸±۴/۲۹ گرم) و کمترین میزان درگروه شاهد (۰/۲۲±۲/۸۸ گرم) بدست آمد. درصد بقاء در بین گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). پس از گذشت ۴۸ ساعت، هرچند که درصد بازماندگی در مقابل شوری در بین گروه‌های شاهد و HUFA معنی‌دار نبود اما این میزان در سایر تیمارهای غنی‌سازی دارای تفاوت قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با تیمار شاهد بود ($P<0/05$). شاخص هماتوکریت ماهیان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت تنش شوری در تیمارهای غنی شده و غنی نشده از نظر آماری تفاوتی نداشت ($P>0/05$). نتایج این بررسی حاکی از آن است که غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب ضروری و ویتامین E می‌تواند در برخی از واحدهای رشد و مقاومت به تنش شوری لارو فیل ماهی موثر واقع شود.

لغات کلیدی: غنی‌سازی، تنش شوری، آرتمیا اورمیانا، *Artemia urimiana*، لارو فیل ماهی

---

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

مقدمه

ماهیان خاویاری اجداد ماهیان استخوانی اولیه محسوب می‌شوند که از ۲۰۰ میلیون سال پیش منشأ گرفته‌اند (Berg, 1948). متاسفانه صید بی‌رویه، تخریب زیستگاهها و بسترهای تخمریزی همراه با آلودگی‌های محیطی منجر شده است تا این گونه‌ها در معرض خطر انقراض و در لیست قرمز IUCN قرار گیرند. فیل ماهی (*Huso huso*) یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان خاویاری دریای خزر است. این گونه در دریای خزر، دریای سیاه و آزوف و بسیاری از انشعابات این دریاها از جمله رودخانه‌های سفیدرود، تجن و گرگانرود در سواحل جنوبی دریای خزر وجود داشته و برای تولید مثل وارد این رودخانه‌ها می‌شوند (Razavi Sayad, 1988). فیل‌ماهی از بزرگترین گونه‌های تاسماهیان (Acipenseridae) می‌باشد که بطول ۶ متر و وزن بیشتر از یک تن می‌رسد (Berg, 1948) و پرورش گوشتی این گونه در سالهای اخیر بطور قابل توجهی در ایران افزایش یافته است (Bahmani, 1988).

ضعف بقاء و بازدهی در مراکز تکثیر و پرورش ماهی یکی از بزرگترین عوامل مؤثر در جلوگیری از بازسازی مناسب ذخایر ماهیان وحشی می‌باشد (Olla *et al.*, 1998 ;Mesa, 1981; Maynard *et al.*, 1995 ;Sproul & Tominaga, 1992). یکی از مشکلات عمده در بازسازی ذخایر، مربوط به درصد تلفات بچه ماهیانی است که از مراکز تکثیر رها می‌شوند (Olla *et al.*, 1998 ; Suboski & Templeton, 1989). بنابراین ارائه الگوی مناسبی برای کاهش مرگ و میر بعد از رهاسازی ضروری است (Pearcy, 1992) و مراحل اولیه از تکامل ماهیان دوره‌ای بسیار مهم است که مستقیماً روی رشد و بقاء بچه ماهیان حاصله از این نوزادها تأثیرگذار است. در همین راستا، ناپلئوس تازه تفریخ شده آرتمیا عمدتاً به دلیل اندازه کوچک، ارزش غذایی بالا و جذابیت خاصی که دارد مورد توجه پرورش دهندگان ماهی و میگو می‌باشد. قابلیت استفاده از آرتمیا به عنوان منبع مناسب ویتامین‌ها، رنگدانه‌ها، آنتی‌بیوتیکها و هورمونها باعث گردیده تا این موجود از جایگاه ویژه‌ای در صنعت آبزی‌پروری برخوردار باشد و روز به روز بر اهمیت و دامنه استفاده از آن افزوده شود (Bengeston *et al.*, 1991).

یکی از روش‌های کاهش میزان تلفات و بهبود وضعیت رشد بچه ماهیان خاویاری در شروع تغذیه فعال، معرفی غذای مناسب در این مرحله است (فارابی و آذری تاکامی، ۱۳۷۵). از آنجا که کمبود اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌هایی مانند ویتامین E در بدن ماهی موجب کاهش رشد و کارآیی پایین غذا در آنها می‌گردد، جهت رشد و پرورش بچه ماهیان بسیار ضروری هستند و می‌توانند باعث بهبود شاخصهای رشد در بچه ماهیان شوند (Gapasin *et al.*, ;Merchie *et al.*, 1997 1998).

امروزه به دلیل آنکه اسیدهای چرب غیراشباع کمتر در آرتمیا یافت می‌گردد غنی‌سازی آرتمیا توسط این دو ماده امری مرسوم و متداول است (Sorgeloos *et al.*, 2001). غنی‌سازی آرتمیا با مواد ذکر شده می‌تواند با اثر بر روی عواملی نظیر رشد، بقاء و مقاومت لارو تأثیر بسزایی بر افزایش تولیدات آبزی پروری داشته باشد (Van stappen, 1996).

میزان اسیدهای چرب ضروری مانند EPA و DHA در غذاهای زنده‌ای (روتیفر و آرتمیا) که در مراحل اولیه زندگی لارو مورد استفاده قرار می‌گیرند بطور طبیعی کم است. بنابراین غنی‌سازی آنها با امولسیونهای حاوی اسیدهای چرب غیراشباع ضروری به نظر می‌رسد (Copeman *et al.*, 2002). Kiron و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش دادند که اسیدهای چرب امگا۳ (W3) پیش ماده مهمی در سنتز ایکوزانوییدها هستند که در حقیقت واسطه‌های مهمی در واکنش‌های التهابی و تنظیم پاسخ ایمنی بدن می‌باشند.

ماده ضروری دیگر برای لارو ماهیان، ویتامین E (آلفا-توکوفرول) است که بعنوان آنتی‌اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و آرتمیا را می‌توان توسط آن غنی‌سازی نمود. هر چقدر میزان اسیدهای چرب غیر اشباع (HUFA) در جیره غذایی لارو ماهیان بیشتر باشد به همان نسبت نیاز به آنتی‌اکسیدان بویژه ویتامین E نیز بیشتر خواهد بود چون این ویتامین بعنوان یک آنتی‌اکسیدان موجب جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌شود (Sargent *et al.*, 1997). این ویتامین برای حفظ کیفیت لاشه، افزایش ایمنی بدن، مقاومت گلبول‌های قرمز خون در مقابل همولیزه شدن، قابلیت نفوذ پذیری و تراوایی عروق و عضلات قلب ضروری می‌باشد (Halver, 2002).

با توجه به موارد ذکر شده، هدف از این تحقیق غنی‌سازی آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) با ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع و تعیین اثرات آن بر روی شاخص‌های رشد، ماندگاری و مقاومت در مقابل استرس شوری در لارو فیل ماهی (*Huso huso*) می‌باشد.

magiran.com

مواد و روش کار

جیره‌های غذایی مورد استفاده در این بررسی عبارت بودند از: ناپلئوس آرتمیا اورمیانا (*Artemia urmiana*) غنی شده با امولسیون روغن (۱۸ درصد EPA و ۱۲ درصد DHA، ساخت کانادا) حاوی ۲۰ و ۵۰ درصد ویتامین E (آلفا- توکوفرول استات، MERCK، Germany؛ بترتیب گروه‌های E1 و E2)، آرتمیای غنی شده با امولسیون اسید چرب غیر اشباع فاقد ویتامین E (گروه HUFA) و آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد).

سیست‌های آرتمیا اورمیانا قبل از تخمه‌گشایی با استفاده از محلول کلرین پوسته‌زدایی شدند (Treece, 2000). تفریخ سیست‌ها در مخازن ۳۰ لیتری مخروطی شکل محتوی آب نمک (۳۰ گرم در لیتر) با هوادهی شدید و نور رسانی ملایم (۲۰۰۰ لوکس) و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد صورت گرفت و به ازای هر لیتر آب، ۲ گرم سیست در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، ناپلی‌های تازه تفریخ شده با آب نمک شستشو شده و با تراکم ۲۰۰-۱۵۰ هزار عدد ناپلی در هر لیتر در مخازن ۶ لیتری مخروطی شکل با هوادهی ملایم از کف مخزن قرار گرفتند. روش تهیه ماده غنی‌سازی نیز مطابق روش استاندارد Leger و همکاران (1987) صورت گرفت. محلول غنی‌سازی در دو قسمت با فواصل ۱۲ ساعته به میزان ۰/۵ گرم به ازای هر لیتر به محیط اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت غنی‌سازی، ناپلی‌ها با آب (۲۸ گرم در لیتر) شسته شدند تا مواد جذب نشده از سطح بدن آنها زدوده شود. سپس در ظروف جداگانه در دمای ۴ درجه سانتیگراد هوادهی شدند تا در اختیار لارو ماهیان قرار گیرند. در هر روز غنی‌سازی انجام شد تا ناپلی‌های تازه مورد تغذیه ماهیان واقع شوند.

لاروهای فیل ماهی (*Huso huso*) با میانگین وزنی ۳/۱ ±۶۹/۲ میلیگرم در زمان شروع تغذیه خارجی بطور تصادفی به چهار تیمار (E1، E2، HUFA و شاهد) تفکیک شدند که برای هر یک از تیمارها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مخازن مورد استفاده دارای گنجایش ۴۰ لیتر با جریان آب ۰/۶ لیتر در دقیقه و میانگین دمای طبیعی آب محیط پرورشی ۳/۴±۲۲/۷ درجه سانتیگراد بود که به ازای هر لیتر آب ۵ عدد ماهی در نظر گرفته شد. دوره نوری نیز به صورت ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی بود. لاروها همراه با افزایش وزن در مراحل بعدی آزمایش به مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری منتقل شدند. تغذیه ماهیان به تعداد ۶ بار در روز با فواصل ۴ ساعته صورت گرفت. لاروها در ۵ روز آغازین با آرتمیای غنی نشده و پس از آن به مدت ۷ روز با آرتمیای غنی شده تغذیه شدند. پس از اتمام دوره غنی‌سازی تا پایان آزمایش ماهیان براساس ۳۰ درصد وزن بدن از دافنی تغذیه کردند. قبل از هر وعده غذایی مخازن سیفون شده و ماهیان مرده در هر روز حذف و ثبت شدند تا میزان بقاء در پایان آزمایش محاسبه شود.

پس از اتمام دوره غذادهی در روز چهلم و به منظور ارزیابی مقاومت استرس تعداد ۳۰ عدد ماهی بصورت کاملاً تصادفی از هر تکرار گرفته شده و به مدت ۴۸ ساعت در مخازن جداگانه با هوادهی مناسب در معرض تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر قرار گرفتند. دمای طبیعی آب در محیط پرورشی در زمان انجام تست استرس شوری معادل ۲۸ درجه سانتیگراد و شوری آب نیز ۰/۷ گرم در لیتر بود. مرگ و میر ماهیان در هر ساعت شمارش و ثبت شد تا درصد تلفات پس از اعمال استرس محاسبه شود. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تعداد ۵ عدد ماهی ازهر تکرار برداشته شد و خونگیری از آنها با قطع ساقه دمی با استفاده از لوله‌های موئینه هپارینه صورت گرفت. نمونه‌های خون سریعاً به آزمایشگاه منتقل شدند تا برای اندازه‌گیری شاخص هماتوکریت استفاده شوند.

داده‌های بدست آمده توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن از طریق آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) بررسی شدند. نتایج بصورت میانگین± انحراف معیار ارائه شده‌اند. زمانی که $P<0/05$ بود تفاوت‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

استفاده از اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین E در این آزمایش منجر به بهبود فاکتورهای رشد لاروهای فیل ماهی شد. بیشترین و کمترین میزان وزن نهایی به ترتیب در گروه های E1 و شاهد مشاهده گردید ($P<0/05$). از نظر وزن نهایی در بین ماهیان گروه‌های E2 و HUFA هر چند که اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$) ولی میزان رشد روزانه آنها تفاوت معنی‌داری با ماهیان گروه شاهد داشت ($P<0/05$، جدول ۱). مقادیر بقاء در بین تیمارهای آزمایشی نیز پس از پایان آزمایش غذادهی اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد ($P>0/05$ ، جدول ۱).

نتایج حاصل از آنالیز خون ماهیان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت قرارگیری در معرض تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر از نظر

magiran.com

شاخص هماتوکریت اختلاف معنی‌داری را در بین تیمارهای مورد بررسی نشان نداد (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

میزان مرگ و میر و مقاومت ماهیان در تیمارهای آزمایشی پس از گذشت ۲ روز استرس شوری تفاوت قابل توجهی را نشان داد. بطوریکه بیشترین و کمترین میزان تلفات بترتیب در گروههای شاهد و E1 مشاهده گردید (مقادیر۱/۹±۶۷/۱، ۲±۵۲/۱، ۱/۹±۵۱/۱ و ۳/۱ ± ۳۹/۲ درصد بازماندگی بترتیب در گروه‌های E1، E2، HUFA و شاهد پس از ۲۴ ساعت مقابله با تنش شوری؛ نمودار ۱). نرخ مرگ ومیر ماهیان گروه E1 پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت مقابله باتنش شوری در مقایسه با گروه های E2 و HUFA نیز کاهش قابل توجهی را نشان داد (P < ۰/۰۵) اما این میزان تلفات در بین گروه های E2 و HUFA تفاوت آماری معناداری نداشت (P>۰/۰۵). مقادیر مقاومت استرس ماهیان گروه HUFA در پایان روز اول مقابله با استرس شوری تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشت ولی در پایان روز دوم از این نظر اختلاف آماری معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد (مقادیر ۰/۹±۳۶/۱، ۱/۸±۱۶/۰۷، ۲/۳±۱۲/۸ و ۲±۹ درصد بازماندگی بترتیب در گروه‌های E1، E2، HUFA و شاهد پس از ۴۸ ساعت مقابله با تنش شوری؛ نمودار ۲).

جدول ۱ : شاخص‌های رشد و ماندگاری لاروهای فیل ماهی پس از ۴۰ روز تغذیه

	تیمار			
	E1	E2	HUFA	شاهد
وزن اولیه (میلیگرم)	۷۰/۲ ± ۶/۵ [a]	۶۹/۴ ± ۶/۳ [a]	۶۸/۳ ± ۶/۲ [a]	۷۱ ± ۵/۸ [a]
وزن نهایی (گرم)	۴/۲۹ ± ۰/۵۸ [a]	۳/۶۵ ± ۰/۳۲ [b]	۳/۲۷ ± ۰/۳ [c]	۲/۸۸ ± ۰/۲۲ [d]
نرخ رشد ویژه	۱۰/۳ ± ۰/۱۸ [a]	۹/۸۶ ± ۰/۱ [b]	۹/۷۴ ± ۰/۱ [b]	۹/۳ ± ۰/۱۱ [c]
درصد رشد روزانه	۱۰/۶ ± ۰/۷ [a]	۸/۹ ± ۰/۱۷ [b]	۸ ± ۰/۱ [c]	۶/۹ ± ۰/۲ [d]
فاکتور وضعیت	۰/۴۱ ± ۰/۰۲ [a]	۰/۴۴ ± ۰/۰۳ [b]	۰/۴۱ ± ۰/۰۲ [a]	۰/۳۹ ± ۰/۰۳ [a]
درصد بقاء	۸۴ ± ۷ [a]	۸۳/۲ ± ۸/۱ [a]	۸۲/۹ ± ۷/۷ [a]	۸۱/۹ ± ۸/۱ [a]

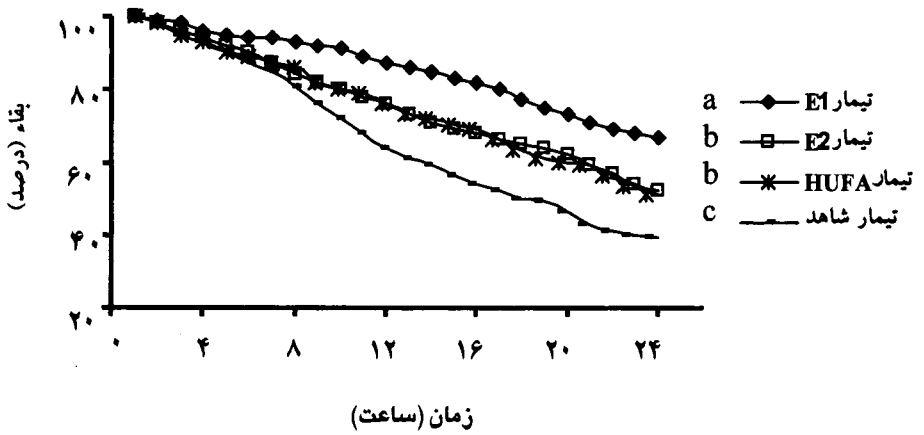
حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار نمی‌باشند (P > ۰/۰۵).

جدول ۲ : شاخص هماتوکریت تیمارهای مختلف پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر

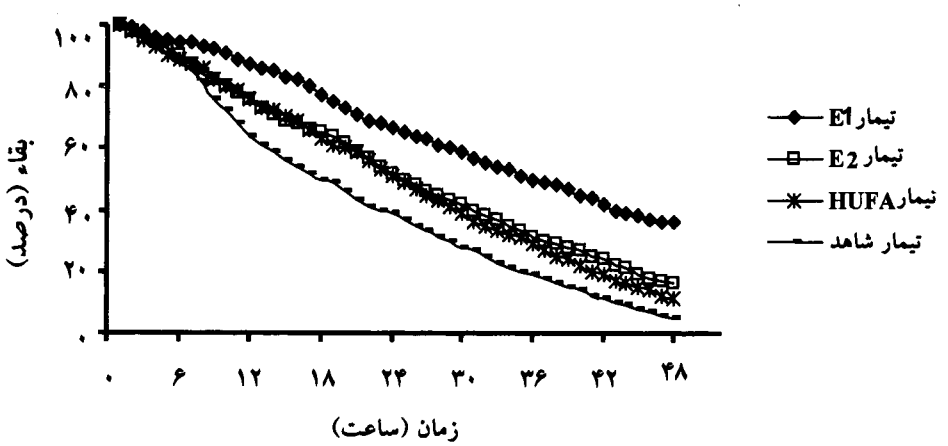
	تیمار			
	E1	E2	HUFA	شاهد
درصد هماتوکریت پس از ۲۴ ساعت	۱۸ ± ۲/۳ [a]	۱۷/۷ ± ۱/۷ [a]	۱۸/۵ ± ۱/۸ [a]	۱۸/۵ ± ۱/۹ [a]
درصد هماتوکریت پس از ۴۸ ساعت	۱۷/۹ ± ۲/۱ [a]	۱۹/۴ ± ۲/۱ [a]	۱۹/۱ ± ۲ [a]	۱۹/۴ ± ۲/۲ [a]

حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف آماری معنی‌دار نمی‌باشند (P > ۰/۰۵).

magiran.com



نمودار ۱: مقادیر بقاء پس از ۲۴ ساعت تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر



نمودار ۲ : مقادیر بقاء پس از ۴۸ ساعت تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر

بحث

کاربرد ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) در این بررسی منجر به بهبود راندمان رشد و مقاومت استرس ماهیان شد. استفاده از آلفا توکوفرول استات بعنوان منبع ویتامین E در غنی‌سازی آرتمیا به همراه اسیدهای چرب ضروری افزایش میزان رشد لاروهای فیل ماهی را در پی‌داشت بطوریکه بیشترین وزن نهایی و بهترین نرخ رشد در گروه E1 مشاهده گردید. اما افزایش میزان ویتامین E در امولسیون غنی‌سازی (به میزان ۵۰ درصد اسید چرب) نتایج مشابهی را در پی نداشت که احتمالاً می‌تواند حاکی از عدم نیاز لاروهای فیل ماهی به مقادیر بالاتر ویتامین E در امولسیون‌های غنی‌سازی باشد. کاربرد اسیدهای چرب ضروری در غنی‌سازی نیز اگرچه در مقایسه با گروه E1 نتایج کمتری را در تیمارهای رشد ایجاد کرد اما

magiran.com

مقادیر رشد حاصل از آن بهبود بهتری را نسبت به گروه شاهد نشان داد. این وضعیت می‌تواند نشاندهندهٔ تاثیر مثبت اسیدهای چرب غیراشباع بر روی رشد لاروهای فیل ماهی باشد. میانگین وزن نهایی ماهیان گروه HUFA اگرچه کمتر از تیمارهای غنی سازی با ویتامین E (گروه E1) بود اما مقادیر رشد آن ها تفاوت قابل توجهی را در مقایسه باگروه E2 نشان نداد. در همین رابطه Koven و همکاران در سال ۱۹۹۳ و همچنین Rainuzzo و همکاران در سال ۱۹۹۷ به اثبات رساندند که مقادیر بالایی از HUFA (n-3) موجب افزایش نرخ رشد بسیاری از لاروهای دریایی مثل سیم دریایی سرطلایی می شود. Copeman و همکاران در سال ۲۰۰۲ نیز عنوان کردند که کاربرد اسیدهای چرب غیر اشباع DHA و EPA موجب افزایش رشد و بقای لارو فلاندر (*Limanda ferruginea*) شده است. تحقیقات پیشین نشان داده که کاربرد ویتامین E می‌تواند باعث پایداری بافتهای بدن در مقابل فعالیت‌های اکسایشی شود چون این ویتامین باعث جلوگیری از پروکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و تاثیر رادیکال‌های آزاد می شود (Cay &;Evstigneeva *et al.*, 1998 King, 1980). موجودات آبزی برای حفظ سیالیت غشاهای سلولی نیازمند به مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند و ویتامین E در این میان می‌تواند نقش مهمی را بر عهده داشته باشد (Blazer, 1992). Liu و همکاران در سال ۲۰۰۷ عنوان کردند که کاربرد ویتامین E در جیره غذایی میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) منجر به افزایش رشد آن شده است. افزودن ویتامین E به جیره غذایی روهو (*Labeo rohita*) و مریگال (*Cirrhinus mrigala*) نیز نتایج مشابهی را در پی داشته است (Paul *et al.*, 2004 ;Sau *et al.*, 2004). از سوی دیگر از نظر مقادیر بقاء در پایان آزمایش غذادهی اختلاف آماری معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی و شاهد مشاهده نشد بطوریکه میزان تلفات ماهیان طی دوره پرورش در تمامی گروه‌ها روند کم و بیش یکسانی را نشان داد. Kolkovski و همکاران در سال ۲۰۰۰ نیز آرتمیا را با اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین E غنی‌سازی کردند که نتایج آنها نشان داد که غنی‌سازی تاثیر معنی‌داری بر روی میزان بازماندگی لارو *Stizostedion vitreum* ندارد. شاخص هماتوکریت نیز معیاری برای تعیین سلامت ماهیان می‌باشد. در این بررسی غنی‌سازی تاثیر آماری معنی‌داری بر روی شاخص هماتوکریت ماهیان طی مقابله با تنش شوری نداشت. مقادیر هماتوکریت ماهیان پس از گذشت ۲۴ ساعت مقابله با شوری اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای غنی شده و غنی نشده نداشت. پس از گذشت ۴۸ ساعت مقابله با شوری نیز نتایج مشابهی حاصل شد و افزایش قابل توجهی در میزان هماتوکریت ماهیان مشاهده نگردید. این نتایج نشان می‌دهند که غنی‌سازی در این آزمایش تاثیر آماری قابل توجهی بر روی شاخص هماتوکریت لاروهای فیل ماهی نداشته است.

مقاومت در برابر استرس شوری تحت تاثیر عواملی مانند میزان شوری، عوامل محیطی، گونه، دستکاری، اندازه، سن، مراحل مختلف زیستی و شرایط تغذیه‌ای قرار دارد (Clarke, 1982 ;Krayushkina & Moiseyenko, 1978). در مطالعه حاضر، مقاومت در مقابل استرس شوری نتایج متفاوتی را در بین تیمارهای غنی‌سازی شده و غنی‌سازی نشده نشان داد. میزان تلفات ماهیان تیمارهای غنی‌سازی پس از گذشت ۲۴ ساعت تنش شوری ۱۲گرم در لیتر کمتر از گروه شاهد بود و بیشترین میزان مقاومت در ماهیان گروه E1 مشاهده شد. طی ۴۸ ساعت تنش شوری نیز نتایج مشابهی حاصل شد با این تفاوت که تیمار HUFA اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و E2 نداشته است. از طرف دیگر ماندگاری بیشتر لاروهای فیل ماهی در گروههای E1 ، E2 و HUFA (بویژه گروه E1) در مقایسه با گروه شاهد در تنش اسمزی را احتمالاً می‌توان ناشی از تاثیر ویتامین E و اسید چرب بر روی میزان رشد یا وزن کسب شده ماهیان دانست. به این صورت که این دو عامل احتمالاً علاوه بر تاثیر بر روی سیستم ایمنی منجر به افزایش رشد و در نهایت افزایش مقاومت به شوری شده‌اند. در همین رابطه برخی از محققین اعلام کرده‌اند که نرخ بازماندگی همراه با افزایش وزن در مراحل بعدی زندگی نیز افزایش می‌یابد (Gall, 1974; Wallace & Asgord, 1984). با مطالعات انجام شده روی آزاد ماهی چام، سوکیو، چینوک، کوهو سالمون و استیل هد مشخص شد که نرخ بازماندگی و تحمل این ماهیان تحت استرس شوری با افزایش وزن بدن بتدریج افزایش می‌یابد (Clarke, 1982). بدون در نظر گرفتن غنی‌سازی در این آزمایش، نتایج مقاومت در مقابل شوری در لارو فیل ماهی نشان می‌دهند که شوری ۱۲ گرم در لیتر می‌تواند اثرات زیادی بر روی میزان تلفات این ماهی داشته باشد بطوریکه میزان تلفات آنها طی چند روز مقابله با این شوری افزایش می‌یابد. Shelukin و همکاران در سال ۱۹۹۰ با بررسی تاسماهی روسی *Acipenser guldenstaedtii* بیان کردند که حتی در درجه حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد و شوری ۱۰/۵ گرم در لیتر هم میزان بازماندگی این گونه در حدود ۹۸ درصد بود. مطالعه صورت گرفته روی سه گروه وزنی تاسماهی

magiran.com

ایرانی *Acipenser persicus* نشان داد که هیچگونه تلفاتی در اوزان ۱/۵، ۳ و ۵ گرمی در شوری ۵ گرم در لیتر وجود ندارد. میزان تلفات تاسماهی ایرانی در شوری ۱۰ گرم در لیتر در اوزان ۱/۵ و ۳ گرم پس از گذشت ۷۲ ساعت ۱۰۰ درصد بود ولی در وزن ۵ گرم طی این مدت تلفاتی گزارش نشد در صورتی که در شوری ۱۵ گرم در لیتر ۱۰۰ درصد هر سه گروه وزنی تلف شدند (Jabbarzadeh Shiadeh *et al.*, 2000). با مقایسه نرخ بازماندگی تاسماهی ایرانی و روسی در شوری ۱۰ گرم در لیتر و اثرات ناشی از شوری بر روی لاروهای فیل ماهی در این بررسی مشخص می‌شود که عملکرد گونه‌ها می‌تواند به شدت با یکدیگر متفاوت باشد و ماهیان مختلف تحت استرس شوری پاسخ‌های متفاوتی را از خود بروز می‌دهند. از طرف دیگر تاثیر دما در بروز تلفات را نمی‌توان نادیده گرفت بطوریکه در زمان انجام آزمون استرس شوری در این بررسی دمای مرکز پرورش ۲۸ درجه سانتیگراد و بیشتر از دمای اپتیمم رشد فیل ماهی بود که همراه با شوری ۱۲ گرم در لیتر می‌تواند بر روی میزان تلفات تاثیرگذار باشد. به طور کلی نتایج بالا نشان می‌دهند که کاربرد ویتامین E به همراه اسیدهای چرب ضروری می‌تواند اثرات مثبتی بر روی برخی از تیمارهای رشد و مقاومت در مقابل شوری‌های بالا در لارو فیل ماهی داشته باشد به طوری که در زمان رهاسازی به دریا به منظور بازسازی ذخایر کاهش میزان تلفات ناشی از استرس‌های محیطی از جمله استرس شوری را در پی‌خواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله ازکارکنان دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و کلیه پرسنل مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی بویژه از آقای فرهمند آخوندزاده که در به ثمر رسیدن این تحقیق نقش داشته‌اند، تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

منابع

فارابی، س.م. و آذری تاکامی، ق. ، ۱۳۷۵. پرواربندی ماهیان خاویاری. نشر دانشگاه تربیت مدرس. ۲۰ صفحه.

Bahmani, M. , 1998. Phylogenic and systematic study on sturgeon. Presented in: Association of the universities of the Caspian region states. Astrakhan, Russia.

Bengeston, D.A. ; Leger, P. and Sorgeloos, P. , 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. *In*: *Artemia* Biology. (eds. R.A. Brower; P. Sorgeloos and C.M.A. Trotina). CRC Press Inc. pp.255–285.

Berg, L.S. , 1948. O. polozhenii Acipenseriformes v sisteme ryb. Trudy Zoological Institute, Vol. 7, pp.7-57. (in Russian).

Blazer, V.S. , 1992. Nutrition and disease resistance in fish. Annu. Rev. Fish Disease, Vol. 2, pp.309–323.

Cay, P.B. and King, M.M. , 1980. Vitamin E: Its role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed function oxidase system. *In*: (ed. L.J. Machlin), Vitamin E, A Comprehensive Treatise: Basic and Clinical Nutrition, Vol. 1. Marcel Dekker, New York, USA. pp.289–317.

Clarke, W. , 1982. Evaluation of the seawater challenge test as an inden of marine survival. Aquaculture, Vol. 28, pp.177-183.

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 experiment. Aquaculture, Vol. 210, pp.285–304.

Evstigneeva, R.P. ; Volkov, I.M. and Chudinova, V.V. , 1998. Vitamin E as a universal antioxidant and stabilizer of biological membranes. Membrane and Cell Biology, Vol. 12, pp.151–172.

Gall, G.A.E. , 1974. Influence of size of egg and age of female on hatchability and growth in rainbow trout. California Fish Game, Vol. 6, pp.26-35.

magiran.com

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: Effects on milkfish, *Chano schanos* larval performance. Aquaculture, Vol. 162, pp.269-286.

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

Jabbarzadeh shiadeh, S.M. ; Mojazi Amiri, T.B. ; Abtahi, B. and Nazari, R.M. , 2000. Study on the changes of some physiological factors during osmoregulation of juvenile Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Iranian Journal of Fisheries Science, Vol. 2, No. 1, pp.61-74.

Kiron, V. ; Fukuda, H. ; Takeuchi, T. and Watanab, T. , 1995. Essential fatty acid nutrition and defense mechanisms in rainbow trout. Comparative Biochemical Physiology, pp.361-367.

Kolkovski, S. ; Czesny, S. ; Yackey, C. ; Moreau, R. ; Cihla, F. ; Mahan, D. and Dabrowski, K. , 2000. The effect of vitamins C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artemia* nauplii on growth, survival, and stress resistance of fresh water walley *Stizostedion vitreum* larvae. Aquaculture Nutrition, Vol. 6, pp.199-206.

Koven, W.M. ; Tandler, A. ; Sklan, D. and Kissil, G.W. , 1993. The association of eicosapentae-noic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different-age *Sparus aurata* larvae with growth. Aquaculture, Vol. 116, pp.71-82.

Krayushkina, L.S. and Moiseyenko, S.N. , 1978. Functional characteristics of osmoregulation in ecologycally different species of sturgeons (*Acipenseridae*) in a hypertonic environment. Journal of Ichthyology, Vol. 17, No. 3, pp.441-447.

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 (m.). *In*: *Artemia* Research and its Application, Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. (eds. P. Sorgeloos ; D.A. Bengeston ; W. Decleir and E. Jaspers). Univesa Press, Wattern. Belgium, pp.411-24.

Liu, Y. ; Wei-Na, W. ; An-Li, W. ; Jian-Mei, W. and Ru-Yong, S. , 2007. Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes. Aquaculture, Vol. 265, pp.351-358.

Maynard, D. ; Flagg, T. and Mahnken, C. , 1995. A review of semi-culture strategies for enhancing the post-release survival of anadromous salmonids . American Fisheries Society Symposium, Vol. 15, pp.307-314.

Merchie, G. ; Lavens, P. and Sorgeloos, P. , 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: A review. Aquaculture, Vol. 155, pp.165-181.

Mesa, M.G. , 1981. Variation in feeding, aggression, and position choice between hatchery and wild cutthroat trout in an artificial stream. Transactions of the American Fisheries Society, Vol. 120, pp.723-727.

Olla, B.L. ; Davis, M.W. and Ryer, C.H. , 1998. Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of

magiran.com

behavioural survival skills. Bulletin of Marine Science, Vol. 62, pp.531-550.

Paul, B.N. ; Sarkar, S. and Mohanty, S.N. , 2004. Dietary vitamin E requirement of mrigal, *Cirrhinus mrigala* fry. Aquaculture, Vol. 242, pp.529-536.

Pearcy, W.G. , 1992. Ocean ecology of north Pacific Salmonids. Seattle. University of Washington Press. Seattle, USA. 176P.

Rainuzzo, J.S. ; Reitan, K.I. and Olsen, Y. , 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review. Aquaculture, Vol. 155, pp.103-115.

Razavi Sayad, B. , 1988. Analysis on great sturgeon stocks in the South Caspian Sea. Iranian Fisheries Research and Training Organization Publications.

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

Sau, S.K. ; Paul, B.N. ; Mohanta, K.N. and Mohanty, S.N. , 2004. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. Aquaculture, Vol. 240, pp.359-368.

Shelukin, G.K. ; Metallov, G.F. and Geraskin, P.P. , 1990. Effect of temperature and salinity of Caspian Sea water on juvenile Russian sturgeon, *Acipenser guldenstaedtii*. Originally published in Voprosy Ichtiologii. Vol. 30, No. 2, pp.269-304.

Sorgeloos, P. ; Dhert, P. and Candreva, P. , 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia sp.* on marine fish larviculture. Aquaculture, Vol. 200, pp.147-159.

Sproul, J.T. and Tominaga, O. , 1992. An economic review of the Japanese flounder stock enhancement project in Ishikari Bay, Hokkaido. Bulletin of Marine Science, Vol. 50, pp.75-88.

Suboski, M.D. and Templeton, J.J. , 1989. Life skills training for hatchery fish: Social learning and survival. Fisheries Research (Amsterdam) Vol. 7, pp.343-352.

Trèece, G.D. , 2000. *Artemia* production for marine larvae fish culture. SRAC Publication. No. 702, pp.4-5.

Van stappen, G. , 1996. *Artemia. In*: manual on the production and live of live food for aquaculture. (eds. P. Lavens and P. Sorgeloos), FAO Publication, Rome, Italy. pp.101-318.

Wallace, J.C. ; Aasgord, D. , 1984. An investigation of the consequences of egg size for the culture of arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L). Journal of Fish Biology, Vol. 24, pp.427-435.

magiran.com

The enrichment influences *of Artemia urmiana* with vitamin E and unsaturated fatty acids on growth, survival and salinity stress resistance in Beluga (*Huso huso*) larvae

Jalali M.A.[(1)*] ; Hosseini S.A.[(2)]; Imanpour M.R.[(3)] and Alimohammadi A.A.[(4)]

jalalifc@gmail.com

1,2,3- Fisheries Dept., Agriculture Sciences and Natural Resources of Gorgan University, P.O.Box: 49138-15739 Gorgan, Iran

4- Shahid Marjani Sturgeon Rearing Center, Zip Cod: 49391 Gorgan, Iran

Received: December 2007 Accepted: July 2008

Keywords: Enrichment, Salinity stress, *Artemia urmiana, Huso huso* larvae

Abstract

We assessed the effects of *Anemia urmiana* nauplii enriched with vitamin E (α-tochopherol acetate, MERCK, Germany) and unsaturated fatty acids (EPA 18% and DHA 12%) on growth, survival and stress resistance of Beluga (*Huso huso*) larvae during six weeks. Beluga larvae (mean body weight 69.8±6.2 mg) at the first feeding were fed in four treatments and yhree replications using *Artemia urmiana* enriched with unsaturated fatty acids (HUFA) containing 20% and 50% vitamin E (El and E2 treatments, respectively) and HUFA without vitamin E (HUFA group). The control group was fed on non-enriched *Artemia*. All treatments were fed with non-enriched *Artemia* for 5 days after the first feeding and then fed with enriched *Artemia* for 7 days. After period of enrichment, the larvae were fed with daphnia from 13th to 40th day. The Beluga larvae were then exposed to salinity stress (12 g/l) for two days after the 40 days feeding trial. Blood samples were obtained at the end of the first and second days in order to evaluate hematocrite index. Growth, survival and stress resistance were compared at the end of experimental period. Growth factors showed significant difference between the groups. The highest and the lowest growth were observed in El and control treatments, respectively ($P<0.05$). The survival was not significantly different between the groups ($P>0.05$). Larvae resistance to salinity stress was comparable between the enriched and control groups ($P<0.05$), whereas stress resistance was not different between HUFA and control after 48 h salinity stress. There was no significant difference in hematocrite index after 24 and 48 hours salinity stress ($P> 0.05$). The results indicated that the enrichment of *Artemia* with essential fatty acids and vitamin E can improve some growth and stress tolerance factors in Beluga sturgeon (*Huso huso*) larvae.

* Corresponding author