

بررسی اثرات تغذیه‌ای با آرتمیای بالغ فرانسیسکانای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین C بر رشد، بازماندگی و مقاومت (در برابر تنش شوری و دمایی) در لارو ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*)

چکیده

این پژوهش باهدف بررسی تغذیه آرتمیای فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین C بر روی میزان رشد، بازماندگی و مقاومت لاروهای ماهی مرکب ببری در برابر تنش شوری و دمایی، در ایستگاه نرم‌تنان خلیج فارس بندرلنگه انجام گرفت. لاروهای ماهی مرکب ببری، بیست‌وپنج روز پس از هج با میانگین طول $0/15 \pm 15/97$ میلی‌متر و میانگین وزن $0/03 \pm 3/53$ گرم در ۵ تیمار، همراه با سه تکرار به مخازن پرورش منتقل شدند. تیمارهای آزمایشی شامل آرتمیای بالغ فرانسیسکانای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین C (به ترتیب گروه‌های C1، C2 و C3)، روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین (گروه HUFA) و آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد) بود. در هر تکرار، ۲۰ قطعه لارو ماهی مرکب به‌صورت تصادفی به مخازن ۲۰ لیتری معرفی گردید و تعداد ۱۰ عدد آرتمیای بالغ در لیتر در روز جهت غذادهی لاروها استفاده شد. در پایان دوره پانزده‌روزه تحقیق، به‌منظور ارزیابی مقاومت لاروهای ماهی مرکب ببری در برابر تنش، سه گروه از لاروها به مدت یک ساعت در برابر تنش‌های شوری ۵، ۱۵ و ۲۵ قسمت در هزار و تنش دمایی ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و میزان مرگ‌ومیر ناشی از استرس ثبت شد. نتایج پژوهش نشان داد که تغذیه با ویتامین C و اسیدهای چرب غیراشباع باعث افزایش فاکتورهای رشد و بازماندگی در لاروهای ماهی مرکب ببری شد، به‌طوری‌که بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده گردید ($P < 0/05$). همچنین بررسی نتایج میزان بازماندگی پس از اعمال تنش‌های شوری و دمایی، نشان داد که اگرچه بین تیمارهای آزمایشی (به‌جز شاهد) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی میزان بازماندگی در شوری ۲۵ قسمت در هزار و همچنین میزان بازماندگی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر بود. به‌طورکلی غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب ضروری و ویتامین C موجب افزایش رشد و بازماندگی در لاروهای ماهی مرکب ببری گردید.

واژگان کلیدی: ویتامین C، اسیدهای چرب، آرتمیا فرانسیسکانا، لارو ماهی مرکب ببری، غنی‌سازی.

محمدرضا زاهدی^۱

امیر هوشنگ بحری^{۲*}

مازیار یحیوی^۳

فلورا محمدی زاده^۴

مهران یاسمی^۵

۱. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREO)، بندرعباس، ایران
۲. گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
۳. باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران
۴. موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات:

amirbahri52@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۹

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۴۰۳۷۴

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی است.

مقدمه

نرم‌تنان سهم قابل‌توجهی از آبزیان را در بازارهای جهانی به خود اختصاص داده‌اند و صید و تکثیر و پرورش جهانی آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به طوری که بیش از ۲۰ درصد از بازار تجارت آبزیان به این گروه از جانوران تعلق دارد که از این میزان ۱۰ تن مربوط به تکثیر و پرورش آن‌ها است. میزان صید سرپایان از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴، از ۳۶۵۲۶۳۲ به ۴۷۷۹۰۹۱ تن افزایش یافته است (FAO, 2016). نرم‌تنان به‌عنوان نمایه‌ای از میزان کل تولیدات و شاخصی برای کیفیت آب محسوب می‌شوند. یکی از زیرمجموعه‌های نرم‌تنان، سرپایان می‌باشند که در برخی نواحی مانند جنوب و جنوب شرق آسیا بخش قابل‌توجهی از صید تجاری را به خود اختصاص می‌دهد (Gabr et al., 1998). از سرپایان دارای ارزش اقتصادی بالا، می‌توان به ماهی مرکب بیری (*Sepia pharaonis*) اشاره نمود که در آب‌های جنوب کشور از دریای عمان تا خلیج فارس گسترش دارند. این موجودات در زنجیره‌های غذایی دریاها نقش بسیار مهمی را ایفا می‌نمایند و لارو آن‌ها منبع عظیم غذایی برای بسیاری از بی‌مهرگان و مهره‌داران است (Paine et al., 1996; O'Oor et al., 1982). با توجه به همزمانی مهاجرت این گونه در فصول تخم‌ریزی به مناطق ساحلی و صید میگو تعداد زیادی از مولدین این گونه در زمان صید میگو مورد صید ضمنی قرار می‌گیرند. از این رو ضروری است نسبت به تکثیر این گونه و بازسازی ذخایر آن اقدامی صورت گیرد. استفاده از غذای زنده در تغذیه لاروی بسیاری از گونه‌های آبزیان دریایی جهت بهبود وضعیت تغذیه‌ای، ضریب رشد و کاهش میزان تلفات لاروها از پیشرفت‌های قابل‌توجهی در امر آبروی‌پروری به شمار می‌رود. آرتمیا می‌تواند به‌عنوان حامل برخی مواد مغذی مانند اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره، ویتامین‌ها، خصوصاً ویتامین C مورد استفاده قرار گیرد (آذری تاکامی و همکاران، ۱۳۸۲). بررسی‌ها نشان داده‌اند اسیدهای چرب نقش مهمی در فعالیت‌های زیستی و فیزیولوژیک آبزیان ایفا می‌نماید (یحیوی و آذری تاکامی، ۱۳۸۶). نقش حیاتی این اسیدهای چرب دخالت در ساختار غشایی و حفظ خاصیت ارتجاعی بدن، تنظیم سیستم اسمزی، سنتز هورمون‌های غدد درون‌ریز و رسیدگی گنادها و همچنین فعال نمودن سیستم ایمنی بدن آبزیان است (جوهری بابل و همکاران، ۱۳۸۵). ویتامین C نیز به میزان زیادی در افزایش و تداوم واکنش‌های ایمنی و سازگاری نقش داشته و فعالیت‌های بیولوژیک، مانند جلوگیری از تغییر شکل بدن، رشد و ضریب بازماندگی و فیزیولوژیک مانند مقاومت در برابر استرس، مسمومیت‌ها و فعالیت‌های ایمنی در لاروهای گونه‌های مختلف آبزیان با به‌کارگیری مکمل‌های ویتامین C بهبود می‌یابد (جوهری و همکاران، ۱۳۸۵). تحقیقات زیادی در زمینه اثر غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب بلند زنجیر برای لارو سرپایان صورت نگرفته است اما بررسی‌هایی به‌منظور اثر مثبت اسیدهای چرب غیراشباع و اسید آسکوربیک بر رشد و بازماندگی آبزیان مختلف انجام شده است، از جمله: لارو میگو سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) (Citarasu et al., 1998)، ماهی مرکب گونه *Sepia officinalis* (Koueta et al., 2002)، گونه *Astacus leptodactylus* (Koca et al., 2015) و لارو سایه ماهی از خانواده شوریده ماهیان (*Argyrosamus regius*) (El Kertaouie et al., 2015). بنابراین در این پژوهش، اثرات اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع ویتامین C بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش‌های شوری و دمایی در لاروهای ماهی مرکب بیری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات نرم‌تنان خلیج فارس واقع در بندرلنگه در آذرماه ۱۳۹۳ انجام گرفت. تخم ماهی مرکب بیری از آب‌های ساحلی روستای گشه در شرق بندرلنگه که به گرگور صیادی چسبیده بود، جدا شده و درون سطل حاوی آب دریا به کارگاه ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرم‌تنان بندرلنگه انتقال داده شد و توسط آب دریای فیلتر شده و تمییز، شستشو داده شدند. تخم‌ها جهت آنکوباسیون، در سبد، درون تانک یک تنی قرار داده شدند. تانک تفریح حاوی آب دریای فیلتر شده از فیلتر شنی و فیلتر ۲۰، ۱۰ و ۵ میکرون و از لامپ ماوراءبنفش (UV) گذشته که دمای آن با میانگین $27/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۷-۳۸ قسمت در هزار با هوادهی ملایم و دائمی بود و روشنایی توسط لامپ

میهتابی به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انجام گردید (Nabhitabhata and Nilphat, 1999). تخم‌ها بین ۱۰ تا ۱۲ روز پس از نگهداری تفریخ شدند. نوزادان تازه تفریخ شده تا روز سوم در بستر به‌صورت ساکن بوده و تغذیه نداشتند. از روز سوم به بعد به میزان ۶-۱۰ عدد در لیتر آرتیمیا به لاروها داده شد. پس از روز ۲۵ ام به ظروف پرورش ۲۰ لیتری انتقال داده شدند. این ظروف پرورش محتوی ۲۰ لیتر آب دریای تمیز می باشد که از فیلترهای شنی، ۲۰، ۱۰، ۵ میکرون و فیلترکربن فعال و سپس UV عبور داده شده است. تراکم نوزادان در هر تانک پرورش به‌صورت ۱ نوزاد به ازای یک لیتر در نظر گرفته شد (Nabhitabhata et al., 2005). دمای آب تانک پرورش همانند دمای آب تفریخ تخم‌ها $27/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد و شوری آن ۳۷-۳۸ قسمت در هزار بود. جهت ایجاد تلاطم در آب و تأمین اکسیژن، از هوادهی ملایم و به‌صورت دائم به‌وسیله ۳ سنگ هوا در انتهای ظرف استفاده شد. در هر تکرار تعداد ۲۰ قطعه نوزاد ماهی مرکب با متوسط وزن $3/53 \pm 0/3$ گرم به‌صورت تصادفی معرفی گردید و تعداد ۱۰ عدد آرتیمیا در لیتر در روز جهت تغذیه لاروها به مخازن منتقل گردید (Anil et al., 2005).

جیره‌های غذایی شامل ۵ تیمار بود که برای هر تیمار ۳ تکرار مشتمل بر آرتیمیا فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین C آسکوربیل پالمیتات، ساخت شرکت Serva به ترتیب گروه‌های (C1، C2 و C3)، آرتیمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین C (گروه HUFA) و آرتیمیای غنی نشده (شاهد) در نظر گرفته شد. کپسول زدایی سیستم‌های آرتیمیا قبل از تخم‌گشایی به روش Treece (۲۰۰۰) انجام گرفت. پس از تفریخ شدن و گذراندن مراحل ناپلیوس، ناپلی اینستار ۲ با تراکم ۷-۸ ناپلی در میلی‌لیتر در تانک‌های ۳۰۰ لیتری فایبرگلاس ذخیره‌سازی شدند (Maldonado-Montiel and Rodríguez-Canché, 2005). تغذیه ناپلی‌های آرتیمیا از روز دوم تا روز چهارم به مدت ۳ روز با استفاده از محلول سبوس برنج انجام گرفت (۳ گرم سبوس برنج خردشده با غربال ۱۰۰ میکرون را در یک لیتر آب دریا حل نموده و در ادامه با همزن برقی آن را مخلوط و به‌صورت هموژنیزه درآورده و سپس با غربال ۳۰ میکرون فیلتر کرده و جهت تغذیه در یخچال نگهداری شد (D'agostino, 1980). در ادامه از روز پنجم تا انتهای روز ۱۵ ام به مدت ۱۱ روز با جلبک تک‌سلولی *Tetra selmissuecica* کشت داده شد و در محیط کشت TMRL با تراکم ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر تغذیه شدند. نگهداری آرتیمیا به مدت ۱۵ روزه طول انجامید و از رژیم نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به میزان ۱۵۰۰ لوکس جهت نوردهی استفاده شد (Maldonado-Montiel and Rodríguez-Canché, 2005). اندازه آرتیمیا در پایان دوره پرورش به حدود ۱۰ میلی‌متر و وزن ۸ میلی‌گرم رسید، به جهت سایز دهان لاروها از آرتیمیای بالغ جهت غنی‌سازی استفاده گردید. غنی‌سازی آرتیمیا با توجه به تیمارهای متفاوت غنی‌سازی در ظروف ۲ لیتری صورت گرفت. ماده غنی‌سازی مطابق روش (Lerger et al., 1987) تهیه گردید و در دو مرحله بافاصله زمانی ۱۲ ساعت به محیط غنی‌سازی، به ازای هر لیتر آب ۲ سی‌سی اضافه گردید. به دلیل اینکه عمل غنی‌سازی در مقدار PH بالا بهتر انجام می‌شود (Lerger, 1986)، در طی غنی‌سازی، PH محیط غنی‌سازی مرتباً اندازه‌گیری و با اضافه کردن کربنات سدیم بر روی ۸، ثابت نگه‌داشته شد. پس از گذشت مدت‌زمان ۲۴ ساعت، آرتیمیای غنی‌شده برداشت و شستشو گردید و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با هوادهی ملایم نگهداری شد. پس از غنی‌سازی و جدا کردن آرتیمیا از محیط کشت غنی‌سازی، آرتیمیای غنی شده توسط صافی به‌آرامی شست‌وشو داده شد تا امولسیون چربی از روی بدن آن‌ها شسته شود (Naessens et al., 1997).

زیست‌سنجی لاروهای ماهی مرکب ببری در پایان دوره یعنی روز پانزدهم صورت گرفت (El Kertaouie et al., 2015). بر اساس داده‌های به‌دست‌آمده شاخص‌های افزایش وزن (WG)، درصد افزایش وزن (WG درصد)، افزایش طول (LG)، فاکتور وضعیت (CF) و نرخ رشد ویژه (SGR) مورد بررسی قرار گرفت (Facon, 1990). در ذیل به‌طور مختصر نحوه محاسبه هر کدام از شاخص‌ها ارائه می‌گردد.

وزن اولیه - وزن نهایی = افزایش وزن

{متوسط وزن اولیه / (متوسط وزن اولیه - متوسط وزن نهایی)} × ۱۰۰ = درصد افزایش وزن

بررسی اثرات تغذیه‌ای با آرتمیای بالغ فرانسسیسکانای غنی شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین ... / زاهدی و همکاران

میانگین طول اولیه - میانگین طول ثانویه = افزایش طول

$100 \times \text{طول (میلی‌متر)} \times \text{وزن (میلی‌گرم)} = \text{شاخص وضعیت}$

$= \text{ضریب رشد ویژه Ln} - \text{Ln (وزن نهایی (میلی‌گرم))} \times 100 \times \text{Ln (تعداد روزها)} \times \text{وزن اولیه (میلی‌گرم)}$

به منظور ارزیابی مقاومت لاروها در برابر تنش‌های محیطی، در پایان روز پانزدهم، سه گروه بچه ماهی از هر تکرار جمع‌آوری و در معرض دمای ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۵، ۱۵ و ۲۵ گرم در لیتر به مدت یک ساعت قرار داده شدند و تلفات ماهیان ثبت گردید (Adloo et al., 2012). جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارها، نتیجه تحلیل داده‌ها بر پایه طرح کاملاً تصادفی و آزمون واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۶) و Excel انجام گردید.

نتایج

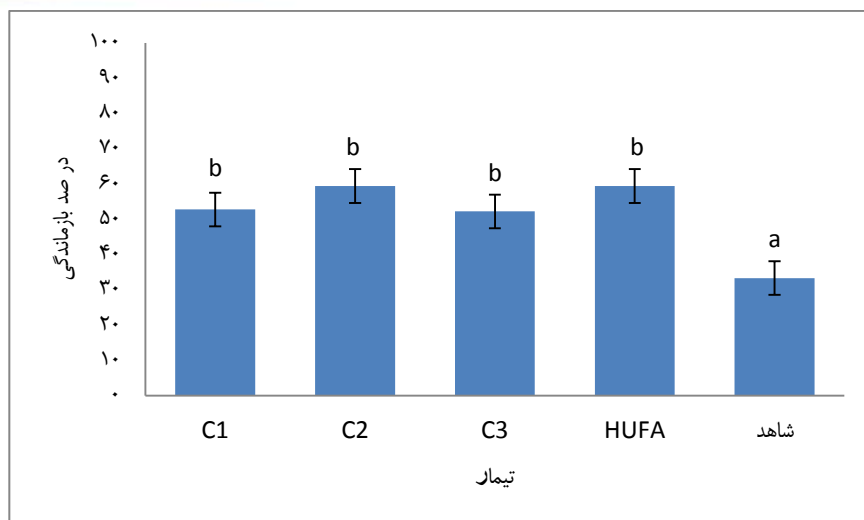
به منظور بررسی اثر اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C در رشد لارو ماهی مرکب ببری شاخص‌های رشد: افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، افزایش طول، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه در هر یک از تیمارها مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). بررسی شاخص‌های رشد در پایان دوره آزمایش نشان داد تغذیه لارو ماهی مرکب با آرتمیای غنی شده با ویتامین C و روغن کبد کاد به طور معنی‌داری سبب افزایش آن‌ها شد ($P < 0.05$) و همه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند ($P < 0.05$). تیمارهای آزمایشی C1، C2، C3 و HUFA در شاخص‌های افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند ($P > 0.05$) اما در بررسی افزایش طول بدن لارو ماهیان، تیمار C3 با HUFA اختلاف معنی‌دار به لحاظ آماری نشان داد ($P < 0.05$) ولی سه تیمار C1، C2، C3 به لحاظ آماری باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$).

جدول ۱: فاکتورهای رشد لارو ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در تیمارهای مختلف در انتهای دوره آزمایش.

تیمار	شاخص رشد ویژه	افزایش وزن	درصد افزایش وزن	افزایش طول	فاکتور وضعیت
C1	$^{a}11/24 \pm 0.02$	$^{b}0.42 \pm 0.02$	$^{b}11/92 \pm 0.71$	$^{bc}2/57 \pm 0.14$	$^{a}0.71 \pm 0.01$
C2	$^{a}0.89 \pm 0.02$	$^{b}0.36 \pm 0.04$	$^{b}10/35 \pm 1/24$	$^{bc}2/25 \pm 0.12$	$^{a}0.74 \pm 0.01$
C3	$^{a}11.07 \pm 0.01$	$^{b}0.31 \pm 0.05$	$^{b}9/0.3 \pm 1/62$	$^{b}2/13 \pm 0.18$	$^{a}0.75 \pm 0.01$
HUFA	$^{a}11/14 \pm 0.01$	$^{b}0.44 \pm 0.06$	$^{b}12/49 \pm 0.77$	$^{c}2/75 \pm 0.27$	$^{a}0.70 \pm 0.01$
شاهد	$^{a}0.76 \pm 0.01$	$^{a}0.18 \pm 0.02$	$^{a}5/35 \pm 1/73$	$^{a}1/32 \pm 0.17$	$^{b}0.84 \pm 0.01$

اعداد یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

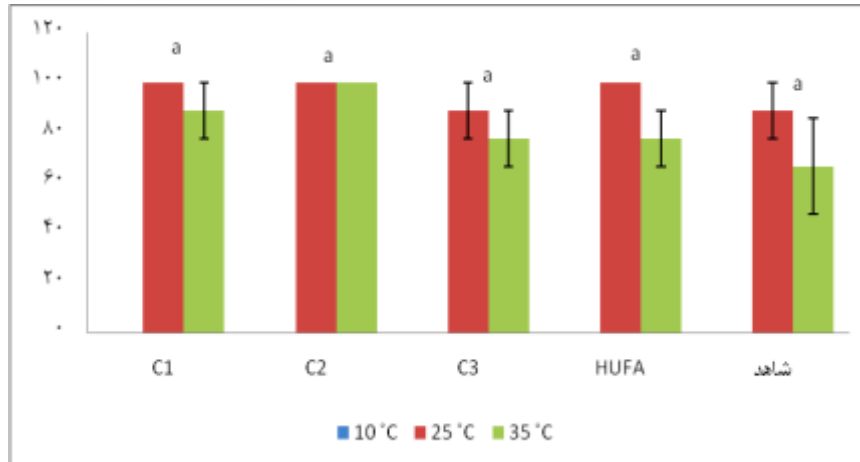
درصد بازماندگی در روز پانزدهم در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). تغذیه لاروهای ماهی مرکب ببری از آرتمیای غنی شده با ویتامین C و روغن کبد کاد افزایش درصد بازماندگی را نشان داد. بیشترین درصد بازماندگی مربوط به تیمارهای C2 و HUFA و کمترین درصد بازماندگی مربوط به تیمار شاهد بود. تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری نشان داد ($P < 0.05$)، اما مابقی تیمارها اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.05$).



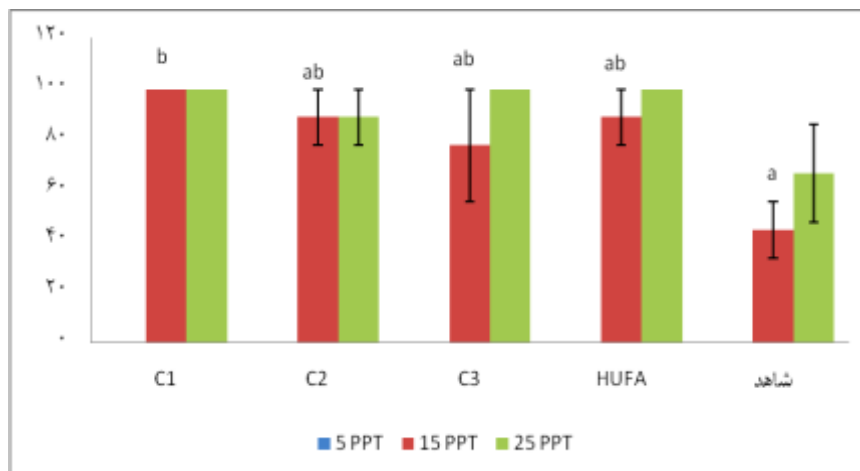
شکل ۱: درصد بازماندگی لاروهای مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش. اعداد ستون‌ها با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0/05$).

جهت بررسی اثر استفاده از دوزهای مختلف ویتامین C و روغن کبد ماهی کاد در برابر نوسانات محیطی در انتهای دوره آزمایش از شوک‌های دمایی ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و تنش شوری ۵، ۱۵ و ۲۵ قسمت در هزار استفاده شد. بررسی نتایج میزان بازماندگی لاروها در برابر تنش دمایی نشان داد که لاروها در ۱۰ درجه سانتی‌گراد هیچ مقاومتی را از خود نشان ندادند و همگی تلف شدند ($P < 0/05$). در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد تیمار C2 با ۱۰۰ درصد بیشترین میزان بازماندگی را داشت و در کل تیمارهای آزمایشی هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P > 0/05$). (شکل ۲). نتایج میزان بازماندگی حاصل از تنش شوری لاروها نیز نشان داد که در شوری ۵ قسمت در هزار لاروها همه تلف شدند، در شوری ۱۵ قسمت در هزار تیمار C1 با ۱۰۰ درصد بیشترین میزان بازماندگی را داشته ولی به لحاظ آماری با تیمار C2، C3 و HUFA اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). ولی تیمار C1 با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار به لحاظ آماری نشان داد ($P < 0/05$). در شوری ۲۵ قسمت در هزار نیز تیمارها هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P > 0/05$) (شکل ۳).

بررسی اثرات تغذیه‌ای با آرتمیای بالغ فرانسسیسکانای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین ... / زاهدی و همکاران



شکل ۲: میزان درصد بازماندگی لاروهای ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در برابر تنش دمایی. اعداد ستون‌ها با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).



شکل ۳: میزان درصد بازماندگی لاروهای ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در برابر تنش شوری. اعداد ستون‌ها با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات متعددی مبنی بر اثرات غذاهای زنده غنی‌سازی شده با ویتامین‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع بر عملکرد رشد و بازماندگی گونه‌های مختلف آبزیان پرورشی انجام شده است، اما تاکنون بر روی ماهی مرکب ببری چنین مطالعاتی صورت نگرفته است. در این تحقیق تأثیر دریافت اسیدهای چرب غیر اشباع (روغن کبد ماهی کاد) و ویتامین C بر روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری و دما در لاروهای ماهی مرکب ببری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در پایان دوره آزمایش، فاکتورهای رشد، شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، افزایش طول، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه و همچنین درصد بازماندگی در تیمارهای آزمایشی افزایش یافته و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند که این موضوع حاکی از آن است که لاروهای ماهی مرکب ببری نیاز به اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین C

در جیره غذایی خوددارند و آرتمیا دچار فقر این مواد در بدن خود بوده و نمی‌تواند این مواد را برای لارو ماهی مرکب ببری تأمین نماید. همچنین کمترین میزان رشد و بازماندگی لاروها مربوط به تیمار شاهد بوده که نشان از عدم تأمین اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین C در جیره غذایی (آرتمیای غنی نشده) لاروهای ماهی مرکب می‌باشد. همچنین از مقایسه تیمار HUFA با تیمار شاهد مشاهده گردید که شاخص‌های رشد افزایش‌یافته و دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد بوده که مربوط به تأثیر مثبت اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره روی شاخص‌های فوق بوده است که می‌تواند مرتبط با افزایش فسفولیپیدها و به تبع آن تعادل در نفوذپذیری غشاء سلول‌ها و بهبود مکانیسم‌های تنظیم اسمزی باشد.

مطابق با نتایج این تحقیق، مطالعه‌ای بر روی ماهی مرکب گونه (*Sepia officinalis*) صورت گرفت که ماهیان جوان به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند و از غذاهای غنی‌سازی شده با اسیدهای چرب تغذیه شدند. گروه‌هایی که از غذای غنی‌سازی شده استفاده کردند بقاء بالاتری را از گروه شاهد داشتند. همچنین میزان رشد در گروهی که از اسیدهای چرب غیراشباع استفاده کردند سریع‌تر بوده و اثر تحریک‌کنندگی اسیدهای چرب غیراشباع در رشد در طی مراحل اولیه جوانی و مراحل بعداز آن مشخص شد. این مطالعه اهمیت PUFA، DHA و EPA در غذای سرپایان را نشان داد (Koueta et al., 2002).

در تحقیق حاضر تیمارهای آزمایشی C1، C2 و C3 (تغذیه‌شده با آرتمیای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد و اسید آسکوربیک ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد به ترتیب) و هم تیمار HUFA (تغذیه‌شده با آرتمیای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد)، نتایج قابل قبولی کسب گردید، به‌طوری‌که تیمار HUFA بیشترین میانگین را در بررسی اکثر فاکتورهای رشد نشان داد. همه تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد داشتند ولی بین تیمارهای مذکور اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده نشد و بیشترین میزان نرخ رشد ویژه مربوط به تیمار C1 بود که نشان از کارایی بهتر این تیمار در نوع تغذیه بوده است که تأمین اسیدهای چرب غیراشباع و همچنین میزان مکفی ویتامین C در جیره غذایی مذکور بوده است که می‌تواند مرتبط با تأثیر متقابل مثبت (Synergistic) بین اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین C در جهت افزایش رشد و بازماندگی باشد که با تحقیقات قبلی مطابقت دارد. از جمله Sergent و همکاران (۱۹۹۹) تأثیر مثبت ناپلی آرتمیا غنی‌شده با روغن کبد ماهی و آسکوربیل پالمیتات را بر روی رشد و بازماندگی لاروهای میگو نشان دادند، Immanuel و همکاران (۲۰۰۱) نیز بالاترین میزان رشد در پست لارو میگو سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) را در سطح ۳ درصد از امولسیون روغن کبد *Odonusniger* ثبت نمودند. همچنین Smith و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که ناپلی آرتمیا غنی‌شده با ویتامین C پس از گذشت حدود ۲۴ ساعت به‌طور معنی‌داری دارای ویتامین C بالاتری نسبت به ناپلی آرتمیای غنی نشده بوده است. تحقیقی بر روی اهمیت اسیدهای چرب HUFA و ارتباط آن با آنتی‌اکسیدان‌های ویتامین C بر روی لارو سایه ماهی *Argyrosamus regius* (از خانواده شوریده ماهیان) به مدت ۱۵ روز انجام گرفت. افزایش رژیم غذایی HUFA تا ۳ درصد و افزایش ویتامین C به‌طور قابل توجهی وزن را افزایش می‌دهند و نقش این ویتامین برای محافظت از اسیدهای چرب در مقابل اکسیداسیون را نشان دادند (El Kertaouie et al., 2015).

بر اساس مطالعات انجام‌شده بیشتر ماهیان، اسید آسکوربیک را نمی‌توانند سنتز کنند و تعدادی محدودی نیز اسید آسکوربیک را از ابتدا در کلیه می‌توانند تولید کنند. لارو ماهی بخصوص به کمبود ویتامین C حساس می‌باشد (Dabrowski et al., 1996). رشد سریع در مرحله لاروی نیاز ویتامینی بالاتر از مراحل جوانی و بلوغ را طلب می‌کند (Dabrowski, 1991) و اضافه کردن ویتامین C به رژیم غذایی لاروها، بقاء، عملکرد رشد، نمو اسکلتی، تحمل استرس و پاسخ ایمنی را بهبود می‌بخشد (Merchie et al., 1996). هرچند، یافته‌های پاسخ ایمنی همیشه برای تمامی گونه‌ها یکسان نیست (Kaattari and Leith, 1989; Lall et al 1991). همان‌طور که در نتایج این تحقیق مشاهده گردید، تیمار C2 با ۱۰ درصد ویتامین C و تیمار HUFA بیشترین میزان بازماندگی را داشتند.

بررسی اثرات تغذیه‌ای با آرتمیای بالغ فرانسسیسکانای غنی‌شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین ... / زاهدی و همکاران

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده، Adloo و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تغذیه لاروهای ماهی شانک زرد باله از ناپلیوس غنی‌شده با روغن کبد کاد موجب کاهش مرگ‌ومیر لاروها گردید. کمترین میزان تلفات مربوط به تیمار دریافت‌کننده آرتمیای غنی‌شده با ۵ درصد ویتامین C بوده و بیشترین میزان تلفات در تیمار شاهد مشاهده گردید. بیشتر ماهیان برای به دست آوردن رشد نرمال خود نیازمند ویتامین C هستند، همچنین ماهیان توانایی تبدیل ال - گلوکولاکتون به ۲ - کتو - ال گلوکولاکتون را ندارند و نمی‌توانند گلوکز را به اسید اسکوربیک تبدیل کنند، بنابراین باید به مقدار کافی در جیره وجود داشته باشد (Ibiyo et al., 2007). با توجه به اینکه ویتامین C یکی ویتامین‌های ضروری رشد بوده و همچنین اثر متقابل جهت جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب را دارد به نظر می‌رسد افزایش آن در این تحقیق در جیره غذایی باعث بهبود فاکتورهای رشد گردید همچنین ویتامین C می‌تواند از طریق جلوگیری از تغییرات هورمونی و حفظ توان سیستم ایمنی به مواد مغذی این اجازه را بدهند که صرف رشد ماهی شوند (Kolkovski et al., 2000).

در بررسی استفاده از آرتمیای غنی‌شده بر روی گونه (*Astacus leptodactylus*)، نشان داد که استفاده از آرتمیای غنی‌شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره بر روی وزن، رشد ویژه و بازماندگی آن‌ها تأثیر معناداری داشته است (Koca et al., 2015). در سال ۱۳۸۸ اکبری و همکاران تأثیر آرتمیای غنی‌شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر و ویتامین C را بر روی لاروهای قزل‌آلا بررسی کردند، نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بیشترین بقا را بچه ماهیان تغذیه‌شده با ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده دارا بودند.

همچنین تیمار تغذیه‌شده با آرتمیای غنی‌شده با ۱۰ درصد ویتامین C، در تنش دمایی ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین بازماندگی را نسبت به سایر تیمارها نشان داد و در تنش شوری قسمت در هزار ۱۵ و ۲۵ نیز تیمار C1 با ۱۰۰ درصد بیشترین بازماندگی را نشان داد. بررسی نتایج میزان بازماندگی پس از اعمال تنش‌های شوری و دمایی، نشان داد که اگرچه بین تیمارهای آزمایشی (به جز شاهد) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی میزان بازماندگی در شوری قسمت در هزار ۲۵ و همچنین میزان بازماندگی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر بوده است که دلیل آن می‌تواند علاوه بر بالا رفتن مقاومت بدن لاروها به خاطر رژیم تغذیه‌ای غنی‌سازی شده باشد، نزدیک بودن دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری قسمت در هزار ۲۵ به شرایط نرمال زیستی لاروها به افزایش بازماندگی آن‌ها کمک کرده است. ولی در شوری قسمت در هزار ۵ و دمای ۱۰ درجه همه لاروها تلف شدند که این امر می‌تواند به دلیل فیزیولوژی بدن لاروها و عدم تحمل استرس با تفاوت زیاد شوری و دمای نرمال زیستی آن‌ها می‌باشد. در تحقیق حاضر وجود ویتامین C و اسیدهای چرب بلند زنجیر در جیره غذایی موجب بهبود مقاومت در برابر استرس محیطی گردید زیرا ویتامین C علاوه برافزایش بقا و رشد و نمو اسکلتی، عملکرد سیستم ایمنی را در برخورد با شرایط استرس یا عوامل بیماری‌زا را نیز افزایش می‌دهد (Merchie et al., 1997). همچنین به اثبات رسیده است که غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر و ویتامین C و استفاده در تغذیه لاروها مکانیسم‌های غیراختصاصی مقاومت عمومی بدن در ماهیان را توسعه داده و مقاومت آن‌ها را در برابر بیماری و تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد (Lim et al., 2002). اسیدهای چرب امگا ۳ نیز پیش ماده مهمی در تولید ایکوزانوئیدها هستند که خود واسط مهمی در واکنش‌های التهابی و تنظیم پاسخ به ایمنی بدن هستند، اگر میزان امگا ۳ در حد مطلوب نباشد قدرت مقاومت بدن ماهیان در برابر شرایط نامساعد محیطی کاهش می‌یابد (Kiron et al., 1995). یکی از نقش‌های اصلی دیگر اسیدهای چرب تنظیم فشار اسمزی در شرایط تغییرات فیزیکی شیمیایی محیط خود است (Borlongan and Benitez, 1992). همچنین حضور اسیدهای چرب غیراشباع در حد مناسب می‌تواند مرتبط به افزایش فسفولیپیدها و به تبع آن تعادل در نفوذپذیری غشاء سلول هال و بهبود مکانیسم‌های تنظیم اسمزی باشد (Sistani et al., 2011).

Merchie و همکاران (۱۹۹۵) دریافتند که پست لاروهای میگوی آب شیرین که ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات را دریافت کرده بودند، نسبت به نوسان شوری ۶۵ قسمت در هزار در یک ساعت دارای مقاومت بالاتری بودند. Chen و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی مقاومت شانیر طلایی (*Notemigonscryps oleucos*) به استرس حرارتی ۳۵/۵ - ۳۴ درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر

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 بیشترین درصد بقاء و مقاوم‌ترین لاروهای قزل‌آلا رنگین‌کمان به شوک دمایی را در گروه تغذیه‌شده با ۱۰۰ درصد ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات تغذیه کرده بودند، یافتند. به نظر می‌رسد تغذیه لاروها از آرتمیای غنی‌شده سبب افزایش متابولیسم در لوله گوارشی آن‌ها شده است. اکثر ماهیان آب شیرین برخلاف ماهیان دریایی قدرت اشباع غذایی و تولید اسیدهای چرب امگا ۵ و امگا ۶ برای تولید EPA و DHA از لینولنیک اسید و آراشیدونیک اسید و از لینولئیک اسید رادارند (Halver and Hardy, 2002). به همین دلیل ضروری به نظر می‌رسد که برای پرورش لارو آبزیان دریایی از ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده به‌وسیله اسیدهای چرب غیراشباع استفاده‌شده و جهت جبران کمبود آرتمیا در تأمین ویتامین‌های موردنیاز لاروها از مکمل‌های ویتامینی بهره برد. پرورش لاروی ماهی مرکب ببری در مقیاس تجاری به دلیل محدودیت‌هایی که در دانش فیزیولوژی غذایی این گونه وجود دارد می‌تواند روند رو به بهبودی داشته باشد. انجام آزمایش‌های مختلف جهت بررسی نحوه تغذیه و افزایش کارایی و بازده لاروی این گونه می‌تواند کمک شایانی به سازمان‌ها و ارگان‌های مربوطه و علاقه‌مندان در این زمینه جهت افزایش تولید این گونه با ارزش اقتصادی کند. با توجه به نتایج حاصل از رشد و درصد بقاء در بین گروه‌های تیمارهای مختلف بررسی‌شده در این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که استفاده توأم از آرتمیای غنی‌شده با ویتامین C و اسیدهای چرب غیراشباع HUFA به‌عنوان غذای لاروهای ماهی مرکب ببری به دلیل داشتن اثرات مثبت بر فاکتورهای ذکرشده قابل توصیه می‌باشد.

منابع

- اکبری، پ، حسینی، س.ع، ایمان پور، م. ر، سوداگر، م. و مخدومی، ن. م، ۱۳۸۸. اثر ناپلیوس آرتمیا غنی‌شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C روی رشد، بقای لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان. نشریه علوم کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۱، صفحات ۵۳-۴۲.
- آذری تاکامی، 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 ص.
- آذری تاکامی، ق، مشکینی، س، رسولی، ع. و امینی، ف، ۱۳۸۲. بررسی اثرات تغذیه‌ای ناپلیوس آرتمیا ارومیا غنی‌شده با ویتامین C روی رشد، درصد بقاء و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در لاروهای قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله پژوهش و سازندگی، ۶۶: صفحات ۳۲-۲۵.
- جواهری بابلی، م، متین فر، ع. و آق، ن، ۱۳۸۵. بررسی اثرات زیستی ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره به‌عنوان غذای آغازین برای لارو ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo Trutta Caspius*). مجله علوم محیطی، ۱۱: صفحات ۶۴-۵۵.
- حسین زاده صحافی، س، ۱۳۸۰. نگهداری تخم و بررسی مراحل رشد ماهی مرکب (*Sepia Pharaonis*) به‌منظور رهاسازی در دریا در سواحل هرمزگان. مجله علمی شیلات ایران، شماره ۳، صفحات ۱۳۵-۱۲۷.
- یحیوی، م. و آذری تاکامی، ق، ۱۳۸۶. بررسی اثرات تغذیه لارو میگو سفید هندی (*FenneroPenaes indicus*) از روتیفر غنی‌شده با اسیدهای چرب غیراشباع (EPA و DHA) و ویتامین C. مجله پژوهش و سازندگی، ۲۴: صفحات ۱۴۹-۱۴۰.
- Adloo, M. N., Matinfar, A. and Sourinezhad, I., 2012. Effects of feeding enriched *Artemia fransiscana* with HUFA, vitamin C and E on growth performance, survival and stress resistance of yellowfin seabream larvae. *Aquaculture research and development*, 3:157 – 161.
- Anil, M. K., Andrews, J. and Unnikrishnan, C., 2005. Growth, behavior, and mating of pharaoh cuttlefish (*Sepia Pharaonis* Ehrenberg) in Captivity. *The Israeli of Aquaculture – Bamidgeh*, 57: 25-31.
- Borlongan, I. G. and Benitez, L. V., 1992. Lipid and fatty acid Composition of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) grown in freshwater and seawater. *Aquaculture*, 104(1): 79-89.

- Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K. and Lee, K. J., 2003.** Alternative complement activity and resistance to heat stress in golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) are increased by dietary vitamin C levels in excess of requirements for prevention of deficiency signs. *The Journal of nutrition*, 133(7), pp.2281-2286.
- Citarasu, T., Immanuel, G. and Marian, M. P., 1998.** Effect of feeding artemia enriched with stresssol and cod liver oil on growth and stress resistance in the indian white shrimp (*Penaeus indicus*) Postlarvae. *Asian Fisheries Science*, 12: 65-75.
- Dabrowski, K., 1991.** Administration of gulonolactone does not evoke ascorbic acid synthesis in teleost fish. *fish Physiology and Biochemistry*, 9: 215.
- Dabrowski, K., Moreau, R. EL-Saidy D. and Ebelin, J., 1996.** Ontogenetic sensitivity of channel cat fish ascorbic acid deficiency. *Journal of Aquatic Animal Health*, 8:22- 27.
- D'agostino, A., 1980.** The vital requirements of artemia: Physiology and nutrition. the brine shrimp. Vol. 2. *Physiology, Biochemistry, Molecular Biology*, 474.
- El Kertaoui, N., Hernández-Cruz, C. M., Montero, D., Caballero, M. J., Saleh, R., Afonso, J. M. and Izquierdo, M., 2015.** The importance of dietary HUFA for meagre larvae (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) and its relation with antioxidant vitamins E and C. *Aquaculture Research*. 1-15.
- FAO Yearbook. 2016.** Fishery Statistics (capture production). 100: 1.
- Gabr, H. R., Hanlon, R. T., Hanafy, M. H. and El-Etreby, S. G., 1998.** Maturation, fecundity and seasonality of reproduction of two commercially valuable cuttlefish, *Sepia Pharaonis* and *Sepia dollfusi*, in the Suez Canal. *Fisheries Research*, 36: 99-115.
- Halver, J. E., and Hardy, R.W., 2002.** *Fish Nutrition*. Academic Press.
- Ibiyo, L. M. O., Atteh, J. O., Omotosho, J. S. and Madu, C. T., 2007.** Vitamin C (ascorbic acid) requirements of *Heterobranchus longifilis* fingerlings. *African Journal of Biotechnology*, 6(13).
- Immanuel, G., Palaveam, A. and Petermarian, M., 2001.** Effects of feeding lipid enriched artemia nauplii on survival, growth, fatty acids and stress resistance of Post larval (*Penaeus indicus*). *Asian Fisheries Science*. 14: 377-388.
- Kiron, V., Fukuda, H., Takeuchi, T. and Watanabe, T., 1995.** Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Onchorynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology part A: Physiology*, 111(3), 361-367.
- Koca, B., Uzunmehmetoglu, O. and Yazicioglu, B., 2015.** Effects of enriched artemia on growth and survival of juvenile freshwater cray fish (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 14, 87-98.
- 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 walleye *stizostedion vitreum* larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6, 199.
- Koueta, N., Boucaud-Camou, E. and Noel, B., 2002.** Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture*, 203, 293-310.
- Lall, S. P., Olivier, G., Weerakoon, D. E. M. and Hines, J. A., 1989,** August. The effect of vitamin C deficiency and excess on immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). In *Proceedings of the Third International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish* (Vol. 28).
- Léger, P., Bengtson, D. A., Simpson, K. L. and Sorgeloos, P., 1986.** The use and nutritional value of Artemia as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev*, 24, pp.521-623.
- Léger, P., Bengtson, D. A., Sorgeloos, P., Simpson, K. L. and Beck, A. D., 1987.** The nutritional value of Artemia: a review. *Artemia research and its applications*, 3, pp.357-372.

- Leith, D. and Kaatari, S., 1989.** Effects of vitamin nutrition on the immune response of hatchery-reared salmonids. Final report. U.S. Department of energy, Bonneville Power Administration, Div. of Fish and Wildlife, Portland, Oregon.
- Lim, L. C., Dhert, P., Chew, W. Y., Dermaux, V., Nelis, H. and Sorgeloos, P., 2002.** Enhancement of stress resistance of the guppy *Poecilia reticulata* through feeding with vitamin C supplement. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(1), 32-40.
- Maldonado-Montiel, T. and Rodríguez-Canché, L. G., 2005.** Biomass Production and nutritional value of *Artemia* sp. (Anostraca: Artemiidae) in Campeche, México. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 53, 447-454.
- 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.
- Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P., Dehasque, M. and Nelis, H., 1996.** Dietary ascorbic acid requirements during the hatchery production of turbot larvae. *Fish Biology* 49: 573-583.
- Merchie, G., Lavens, P., Storch, V., Übel, U., Nelis, H., De Leenheer A. and Sorgeloos P., 1997.** Influence of dietary vitamin C dosage on turbot (*Scophthalmus maximus*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) nursery stages. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 114, 123-133.
- Nabhitabhata, and Nilphat, P., 1999.** Life cycle of cultured cuttle fish (*Sepia pharaonis* Ehrenberg. 1831). *Phuket, Mar. Biol. Cent. spl. publ. 19:25-40.*
- Nabhitabhata, J., NilaPhat, P., Promboon, P., Jaroongpattananon, C., Nilaphat, G. and Reunreng, A., 2005.** Performance of simple large-scale cephalopod culture system in Thailand. *Phuket Mar. Biol. Cent. Res. Bull.* 6, 337-350.
- Naessens, E., Lavens, P., Gomez, L., Browdy, C., McGovern-HoPkins, K., Spencer, A., Kawahigashi, D. and Sorgeloos, P., 1997.** Maturation Performance of *Penaeus vannamei* co-fed artemia biomass preparations. *Aquaculture*, 155, 87-101.
- O'Oor, R. K., Balch, N., Foy, E. A., Hirtle, R. W. M., Johnston, D. A. and Amaratunga T., 1982.** Embryonic development of the squid, (*Illex illecebrosus*) and effect of temperature on development rates. *Journal of North-west Atlantic Fishery Science*, 3: 41-45.
- Paine, R.T., 1996.** Food web complexity and species diversity. *American Naturalist*, 100: 65-75.
- Sergent, J., Bell, G., Lesley, M., Tocher, D. and Estévez, A., 1999.** Recent development in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177:191-199.
- Sistani, M. A., Yahyavi, M., Bahri, A. H. and Azhdehakosh, A., 2011.** Effects of Artemia enriched with vitamin C and highly unsaturated fatty acids on growth and survival of post-larval western white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *ISFJ*, 20(4), pp.71-80.
- Smith, G. G., Brown, M. R. and Ritar, A. J., 2004.** Feeding juvenile Artemia enriched with ascorbic acid improves larval survival in the spiny lobster *Libinia edwardsii*. *Aquaculture Nutrition*, 10(2):105-112.
- Tacon, A.G., 1990.** Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. *Feeding methods.* Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka. Vol.3. 208 P.
- Treece, G. D., 2000.** Artemia Production for marine larvae fish culture. SRAC Publication No. 702.