بررسی اثر ناپلئوسهای آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C روی مقاومت در برابر تنشهای محیطی دما و کمبود اکسیژن در لاروهای قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

پریا اکبری*[۲،۱]، سید عباس حسینی[۱]، محمد رضا ایمانپور[۱]، محمد سوداگر[۱] و فردین شالویی[۲،۱]

[۱] گرگان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده شیلات

[۲] خمینی شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، باشگاه پژوهشگران جوان

تاریخ: دریافت۸٦/۳/۱۳ پذیرش: ۸٦/۷/۱٤

چکیده

استفاده از غذای زنده در بهبود کیفیت در آبزی پروری حائز اهمیت است. آرتمیای غنی شده با مواد مغذی ضروری خصوصاً اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامین C جهت افزایش رشد و درصد بقاء و مقاومت در برابر تنشهای محیطی و بیماریهای عفونی در گونه های مختلف آبزیان مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی مقاومت لاروهای قزل آلای رنگین کمان به تنشهای محیطی از طریق تغذیه با آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره است که در ٤ گروه مختلف و با سه تکرار در هر تیمار بمدت ۲ هفته انجام گرفت. لاروهای تازه به تغذیه افتاده ماهی قزل آلا بصورت تصادفی از حوضچه های پرورش انتخاب شدند و در ٤ تیمار غذایی بشرح زیر: غذای کنسانتره تجاری ، ناپلئوس آرتمیای اینستار I، آرتمیای غنی شده، مخلوط آرتمیای غنی شده و غذای کنسانتره (۱۰ درصد آرتمیای غنی شده و ۹۰ درصد غذای کنسانتره) تغذیه شدند. در پایان آزمایش لاروهای تیمار سوم که از آرتمیای غنی شده تغذیه کرده بودند با ۱/۵۲±۹۱/۳٤ درصد بازماندگی در شرایط تنش دمای بالا (۲٤ درجه سانتی گراد) و ۱±۷۷ درصد بازماندگی در شرایط کمبود اکسیژن بمدت ۵ دقیقه، مقاوم ترین لاروها در مقایسه با سایر تیمارها بودند ($p<۰/۰۵$).

واژه های کلیدی: غذای لاروی،آرتمیای غنی شده ، اسیدهای چرب غیر اشباع، ویتامین C، قزل آلا ی رنگین کمان، تنش

* نویسنده مسئول، تلفن تماس:۰۳۱۲-۵۲۵٤٤۷۹ ، پست الکترونیک:Paria.akbary@gmail.com

مقدمه

یکی از مشکلات موجود در پرورش ماهیان (از جمله قزل آلای رنگین کمان) پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی است که دارای رشد بطئی همراه با تلفات بالا می باشد (۱۳). پرورش موفقیت آمیز ماهیان به قابلیت دسترسی به غذای مناسب جهت تغذیه بستگی دارد تا بتواند سلامتی و رشد را بخصوص در مراحل نوزادی تضمین نماید (۱۳). آرتمیا بدلیل اندازه کوچک در زمان تفریخ ناپلی، تغذیه غیر انتخابی و کیفیت بالای غذایی می تواند بعنوان غذای آغازین بسیاری از گونه های ماهیان بخصوص در مراحل اولیه زندگی باشد (۲٤).

با وجود کیفیت غذایی بالای آرتمیا، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C در آنها پایین است. بدلیل تغذیه غیر انتخابی در آرتمیا، توانایی انتقال مواد مختلف در مقادیر گوناگون به آبزیان وجود دارد. بنابراین با غنی سازی آرتمیا با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C و خوراندن آن به لاروها و بچه ماهیان،

Archive of SID

www.SID.ir

مکانیسمهای غیر اختصاصی مقاومت عمومی در ماهیان توسعه و مقاومت آنها در برابر بیماریها، غیر طبیعی شدن بدن و تنشهای محیطی افزایش می یابد. از سوی دیگر غنی سازی با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C باعث افزایش رشد، و نرخ ماندگاری در برخی از گونه های ماهیان می شود (۱۲، ۱۸ و ۲۲).

آزمایش مقاومت در برابر تنش با قرار دادن لاروها در معرض یک وضعیت نامتعادل فیزیکی ، شیمیایی و یا زیستی و در یک دوره زمانی کوتاه استوار است (۷) . در این مطالعات با اندازه گیری مقاومت لاروها و بررسی میزان بازماندگی آنها در مقابله با تنش ایجاد شده، می توان تأثیر مواد غذایی تغذیه شده و در نهایت کیفیت لاروهای تولیدی را با استفاده از یک آزمایش سریع و ساده مشخص نمود.

اثر جیره غذایی حاوی مکمل ویتامین C بر مقاومت در برابر بیماریها و تقویت سیستم ایمنی قزل آلای رنگین کمان توسط Navarre و همکاران (۱۹۸۹) و Wahli و همکاران (۱۹۹۸) ارزیابی و گزارش شده است(۲۱، ۲۹) Gapasin و همکاران درسال ۱۹۹۸ اثر غنی سازی غذای زنده با اسیدهای چرب و ویتامین C روی خامه ماهی (*Chanos chanos*) و نقش آنها را در افزایش مقاومت بچه ماهیان در برابر تنش و Ashraf و همکاران در سال ۱۹۹۳ (۹) اثر غذای غنی شده با اسیدهای چرب را بر میزان بازماندگی و تنش در برابر شوری در ماهی سیلور ساید(*Menidia beryllina*) مورد بررسی قرار دادند. در ایران نیز Noori و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب و ویتامین C روی مقاومت در برابر تنش شوری در تاس ماهی ایرانی(*Acipencer persicus*) مورد مطالعه قرار دادند(۲۲) .

در پژوهش حاضر از آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامینC بعنوان غذای آغازین لارو قزل آلای رنگین کمان استفاده شده و با غذای کنسانتره تجاری (بیومار) از نظر تأثیر بر میزان مقاومت لاروها در برابر شرایط تنش، مقایسه شد.

مواد و روشها

پرورش لارو: این طرح در بهمن ماه سال ۱۳۸۵ در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی واقع در منطقه آق قلا شهرستان گرگان به اجرا در آمد. از حوضچه ها ی پلاستیکی به شکل دایره با قطر ۳۰ سانتیمتر و ارتفاع ۱۵ سانتیمتر و حجم آبی ۲۰ لیتر با دبی آب ۰/۵ لیتر در دقیقه استفاده شد. حوضچه ها ی پرورشی در ٤ تیمار با ۳ تکرار چیده شد پس از استقرار هر حوضچه روی پایه فلزی جریان آب توسط لوله PVC دو اینچی قرار داده شده در حوضچه، برقرار گردید. جهت برقراری آب بصورت بارانی (آب پاش) برای افزایش میزان اکسیژن هوا دیواره این لوله ها از چندین قسمت سوراخ شد. آب مورد استفاده برای پرورش لاروهای قزل آلا از یک حلقه چاه موجود درمجتمع تکثیر و پرورش مرجانی (گرگان)، استخر ذخیره و رودخانه با درجه حرارت ۱/۳٦±۹/۳ درجه سانتی گراد ، pH=۸/۱±۰/۰٦، و میزان اکسیژن محلول ۰/۳۳±۷/۸۹ قسمت در میلیون تأمین گردید دو روز قبل از شروع تیمارهای غذایی، لاروهای قزل آلای رنگین کمان خریداری شده از مر کز تکثیر ماهیان سردابی ضمیری (۳۰ کیلومتری آق قلا) که حدود دو سوم کیسه زرده آنها جذب شده بود به تعداد ۱۰۰ قطعه برای هر حوضچه (ده عدد در هر لیتر) به حوضچه ها منتقل شد. تیمارها عبارت بودند از:

تیمار یک : غذای کنسانتره تجاری مخصوص لارو قزل آلا تهیه شده از شرکت بیومار فرانسه

تیمار دوم : ناپلئوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده (اینستار I)

تیمار سوم : آرتمیای غنی شده با محلول غنی ساز تریس

Archive of SID

www.SID.ir

تیمار چهارم : مخلوط ۱۰ درصد آرتمیای غنی شده و ۹۰ درصد غذای کنسانتره

مقدار غذای روزانه هر گروه از لاروها با توجه به دمای متوسط آب حوضچه ها و با استفاده از جداول تغذیه ای مربوطه تعیین و در٦ نوبت در اختیار لاروهای قزل آلا قرار گرفت(٢٦). مقدار سیست مورد نیاز برای کشت در هر روز ، با توجه به وزن خشک انفرادی هر عدد ناپلئوس آرتمیای ارومیه که حدود ۲/۷ میکرو گرم است (۵) و نیز کارایی تخم گشایی سیستهای مورد استفاده در تحقیق، محاسبات لازم انجام گرفت. بدیهی است که با توجه به حساسیت لاروهای قزل آلا بمیزان اکسیژن محلول آب و برای اینکه فرصت کافی به لاروها جهت استفاده و تغذیه از ناپلئوسهای آرتمیا داده شود در هر وعده غذایی، بمدت نیم ساعت جریان آب را قطع کرده و غذای مورد نیاز در اختیار هر گروه قرار می گرفت و پس ازآن جریان آب مجدداً برقرار شد.

آماده سازی و غنی سازی آرتمیا: سیست آرتمیای مورد استفاده در این طرح، *Artemia urmiana* از مرکز بهره برداری آرتمیای دریاچه ارومیه (با ۸۰ درصد تخم گشایی)، تهیه و طبق روشهای استاندارد ،پوسته زدایی و تخم گشایی شد (٢٤ و ١٥). ناپلئوسهای تازه تخم گشایی شده آرتمیا با تراکم ۲۰۰،۰۰۰ ناپلئوس در هر لیتر به ظروف مخروطی شکل شیشه ای حاوی آب شور با شوری ۲۵ در هزار ، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و با هوادهی شدید به کمک پمپ آکواریم، منتقل شدند .

غنی سازی آرتمیا با استفاده از فرمول ساده شده ۲۰۰۰، Treece انجام شد (۲۸). این ماده غنی ساز، محتوی ژلاتین ۸۰۰، میلی لیتر آب جوش غیر یونیزه، ١٦٠ میلی لیتر روغن ماهی کاد، ١٦ گرم آسکوربیل پالمیتات و ٤ زرده تخم مرغ است که قابلیت نگهداری بمدت یک هفته در یخچال را داراست. ۰/۵ میلی لیتر از ماده غنی ساز به هر لیتر آب آرتمیای تازه تخم گشایی شده ریخته شد. ۱۰ الی ۱۲ ساعت ۰/۵ میلی لیتر دیگر از این ماده به هر لیتر آب اضافه گردید. پس از گذشت ٢٤ ساعت از اولین غنی سازی هوادهی قطع و به سرعت با استفاده از الکهای با روزنه های ۱۵۰ میکرومتری عبور داده شد و به آرامی با آب شیرین شستشو داده و دوباره در آب با شوری ۲۵ در هزار در حال هوادهی، تا زمان تغذیه لاروهای قزل آلا در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۱۷،۲۸). ترکیب اسیدهای چرب موجود در امولسیون تریس در بررسی ایمانپور سال ١٣٨٤ آمده است(٤).

تعیین میزان اسیدهای چرب در غذا: برای تعیین ترکیب اسیدهای چرب در ناپلئوسهای آرتمیای غنی شده، غنی نشده و لاروهای قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف (سه نمونه از هر تیمار) از دستگاه گاز کروموتوگراف (مدل DANI-4600، ایتالیایی) استفاده شد نمونه ها ی آرتمیا (هر تکرار شامل ۲۰۰ هزار ناپلی آرتمیا) و لاروها (هر تکرار ۱۰ عدد) ابتدا در آون در دمای ٦٠ درجه سانتی گراد بمدت ٢٤ ساعت خشک شد (۸) و سپس تا زمان استخراج اسید چرب در ظروف در بسته و در فریزر نگهداری شد. لازم بذکر است که میزان ویتامین C بدلیل در دسترس نبودن دستگاه HPLC اندازه گیری نشد.

مقاومت در برابر تنش دما: جهت بررسی میزان مقاومت پس از دوره ۲۰ روزه پرورش لاروها، آزمایش تنش با استفاده از دماهای ۲۰ و ٢٤ درجه سانتی گراد بعنوان تنش دمای بالا و دمای ۳ درجه سانتی گراد بعنوان تنش دمای پایین انجام شد. از هر تکرار ۲۰ عدد لارو بطور تصادفی انتخاب، به حوضچه های پلاستیکی با دمای تعیین شده منتقل، و سپس بازماندگی لاروها در طول دوره زمانی ۱ ساعت کنترل شد (۳ و۷).

آزمایش مقاومت در برابر تنش کمبود اکسیژن: همانند تنش حرارتی، تعداد ٦٠ لارو از هر گروه تیماری بطور تصادفی انتخاب و ابتدا بمدت ۲ دقیقه و سپس بمدت ۵

Archive of SID

www.SID.ir

دقیقه تحت تنش کمبود اکسیژن قرار گرفت. بدین ترتیب که لاروهای برداشته از هر گروه را در خارج از آب و در هوا در داخل توری (ساچوک) نگهداشته، و پس از مدت مذکور به آب تازه برگردانده می شد تا تلفات لاروها و در نتیجه میزان مقاومت لاروها در هر گروه تیماری نسبت به تنش کمبود اکسیژن مورد مقایسه قرار گیرد (۳ و۷).

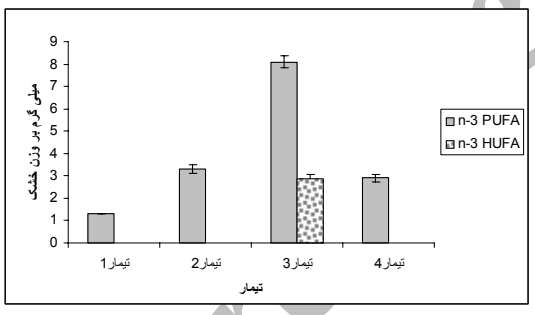
آنالیز آماری: برای تجزیه وتحلیل آماری ، از روش آنالیز واریانس یک طرفه(one way ANOVA) استفاده شد و مقایسه میانگین داده ها با کمک آزمون دانکن(test Duncan) انجام و میزان اختلاف معنی دار در سطح اعتماذ ۹۵ درصد تعیین گردید. همچنین آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت.

نتایج

نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب ناپلئوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده، و آرتمیای غنی شده و نگهداری شده در یخچال در جدول ۱ نشان داده شده است . همانگونه که ملاحظه می شود میزان ایکوزا پنتانوئیک اسید (Eicosapentaenoic acid (EPA.20:5n-3) و میزان اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره Poly unsaturated Fatty Acids (PUFA) در ناپلئوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده برابر۰/٤۳±۲/۸۰و ۱/۸٤±۲۷/۱۸ میلی گرم در هر گرم وزن خشک آرتمیا و میزان دیکوزا هگزانوئیک اسید Dicosahexaenoic acid (DHA .22:6n-3) در حد ناچیز است. پس از غنی سازی آرتمیای ارومیه با محلول غنی ساز تریس، که حاوی روغن ماهی کاد است میزان DHA,EPAو n-3 HUFA افزایش یافت که بترتیب ۰/۳۲±۷/۷۲ ، ۰/۲۵±۱/۲۷ و ۰/۲۸±۸/۹۹ میلی گرم در هر گرم وزن خشک آرتمیا می باشد. لازم بذکر است که میزان اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع بعد از نگهداری ناپلیهای آرتمیای غنی شده در یخچال کاهش می یابد ولی با وجود این از ناپلئوس آرتمیای تخم گشایی شده بیشتر می باشد. همچنین نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب بدن لاروهای قزل آلای رنگین کمان در تیمارهای مختلف نیز در جدول ۳ نشان داده شده است.

نتایج بررسی ترکیب اسید های چرب در لاروهای قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با تیمارهای مختلف غذایی در جدول ۲ نشان می دهد که EPA و DHA بترتیب بمیزان ۰/۰۳۲±۲/۹۸ ، ۰/۱۰±۰/۳٦ میلی گرم در هرگرم وزن خشک لارو فقط در لاروهای تیمار سوم تغذیه شده با آرتمیای غنی شده، دیده شد و در سایر تیمارها EPAو DHA مشاهده نگردید.

مقایسه میانگین اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره سریPUFA n-۳ در لاروها نشان داد که در بین تیمارها اختلاف معنی دار است (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار آن، برابر با ۰/۲٦±۸/۱٤ میلی گرم در هرگرم وزن خشک لارو می‌باشد که در تیمار سوم مشاهده شد (نمودار ۱).



نمودار ۱- میانگین میزان n -۳HUFA- و n-۳ PUFA در بدن لاروهای قزل آلای رنگین کمان

از نظر میزان کل اسیدهای چرب غیر اشباع (USFA) کمترین میزان در لاروهای تیمار دوم تغذیه شده با ناپلی اینستار I (غنی نشده) می باشد. اختلاف سایر تیمارها با هم معنی دار است (p<۰/۰۵).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- – میانگین میزان اسید های چرب در ناپلی آرتمیا (بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک)

اسیدهای چرب	آرتمیا غنی نشده	آرتمیا غنی شده
١٤:٠	۱/۳۰±۰/۱۰	۱/۳۰±۰/۲۰
١٦:٠	۱۵/۷۹±۰/۳۹	۱۵/۵۰±۱/۹۵
١٨:٠	۳/۹۹±۰/۷۸	٤/٥٣±٠/٠٧
(١٨:n-٩)	۱۸/۳۵±۰/٤۷	١٦/٦٧±٠/٤٣
(١٨:٢n-٦)	۱۰/۱۲±۱/۹۵	١١/٣٣±٠/٥٤
(١٨:٣n-٣)	۳۰/٤٨±۱/۸۳	٣٦/٤٣±٠/٣٧
(٢٠:٥n-٣)	۲/۸۰±۰/٤۳	٧/٧٢±٠/٣٢
(٢٢:٦n-٣)	t r	۱/۲۷±۰/۲۵
SFA	۲۱/٤۱±۰/۸٤	۲۲/۵۹±۰/۳۰
USFA	٦٢/٥١±٠/٥٧	٦٧/٨٣±٠/٣٧
PUFA	۲۷/۱۸±۱/۸٤	٤٣/٤٢±٣/٥
HUFA	۲/۸۰±۰/٤۳	۸/۹۹±۰/۲۸

tr= مقدار ناچیز SFA=مجموع اسیدهای چرب اشباع USFA= مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع PUFA=مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره ای HUFA= مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره

نتایج مقاومت لاروهای قـزل آلا در برابـرتنش دمـا: در لاروهای انتخاب شده از هر تیمار تحت تنش دمایی ۲۰و۳ درجه سانتی گراد بمدت یکسـاعت بترتیـب بعنـوان تـنش دمای بالا و پایین، هیچ تلفاتی مشاهده نشد. سپس دمـا بـه ٢٤ درجه سانتی گراد رسید نتایج میزان بازماندگی لاروهای تحت تنش در دمای ٢٤ درجـه سـانتی گـراد در جـدول ۳ آورده شده است . همانطور که ملاحظه می شود لاروهـای تیمار سوم بـا ۱/۵±۳۳/ ۹۹ درصـد بیشـترین مقاومـت و لاروهای تیمار اول تغذیه شده با غذای کنسانتره، بـا ١±٦٦ درصد بازماندگی کمترین مقاومت را نشان دادند . اختلاف درصـد بازمانـدگی در بـین تیمارهـا معنـی دار اسـت ($p<۰/۰۵$).

نتایج آزمایش مقاومت لاروهای قزل آلا در برابر استرس کمبود اکسیژن: بـرای بررسـی اثـر اسـتفاده از تیمارهـای مختلف غذا در مقاومت لاروهای قزل آلا در برابـر شـرایط تنش کمبود اکسیژن، ابتدا بمدت دو دقیقه لاروهـای تیمـار مختلف تحت استرس کمبود اکسیژن قرار گرفت. لاروهای قزل آلا در این تحقیق نسبت بـه تـنش کمبـود اکسـیژن دو دقیقه ای کاملاً مقاوم بوده و هیچ گونه تلفاتی در گروههای تیمار مشاهده نشد. اما در مقاومت به تنش کمبـود اکسـیژن پنج دقیقه ای تفاوت معنی داری مشاهده گردید که کمترین تلفات مربوط به گروه لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده (تیمار ۳) می باشد (جدول۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- میانگین میزان اسیدهای چرب در لاروهای قزل آلای رنگین کمان (برحسب میلی گرم بر گرم وزن خشک)

اسید های چرب	تیمار۱	تیمار۲	تیمار۳	تیمار ٤
١٤:٠	٣/٤٩±٠/١٧^{a}	٠/٦٩±٠/٠٣^{c}	٠/٨٥±٠/٠٩٤^{c}	٣/١٢±٠/٠٦^{b}
١٦:٠	٢٣/٨٦±٠/٢٥^{b}	٢٢/٦٨±٠/١٥^{c}	١٩±٠/١٩^{d}	٢٨/٤٤±٠/١١^{a}
١٨:٠	١/٨±٠/١٦^{d}	٦/٢٣±٠/٢٥^{a}	٥/٨٢±٠/١١^{b}	٤/٢٢±٠/١٨^{c}
(١٨:n-٩)	١٤/٩٩±٠/٠٨^{c}	١٤/٦٧±٠/٠٨^{d}	١٦/٦١±٠/١٤^{a}	١٥/٤٨±٠/١٩^{b}
(١٨:٢n-٦)	١٨/٠٧±٠/١١^{b}	١٣/٩٥±٠/٢١^{c}	١٢/٢٣±٠/١٢^{d}	١٩/٥٥±٠/٢٦^{a}
(١٨:٣n-٣)	١/٣٦±٠/٠٦٩^{d}	٣/٢٦±٠/٢٠^{b}	٥/٣١±٠/٠٨^{a}	٢/٦±٠/١٥^{c}
(٢٠:٥n-٣)	-	-	٢/٩٨±٠/٠٣٢	-
(٢٢:٦n-٣)	-	-	٠/٣٦±٠/١٠	-
SFA	١٩/١٤±٠/١١^{b}	١٧/٨٤±٠/٠٦^{d}	٢١/٠١±٠/٠٣٢^{a}	١٨/٨٤±٠/٢٠^{c}
USFA	٣٩/١٥±٠/١٩^{b}	٣٤/١٠±٠/١٩^{d}	٣٧/٩١±٠/٠٣٢^{c}	٤١/١٥±٠/١٢^{a}
PUFA	١/٢٩±٠^{d}	٣/٣٠±٠/٢١^{b}	٨/١٤±٠/٢٦^{a}	٢/٩١±٠/١٦^{c}
HUFA	-	-	٣/٤٤±٠/٢٣	-

تذکر : در هر ردیف اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند اختلاف معنی دار دارند ($p < ٠/٠٥$) SFA=مجموع اسیدهای چرب اشباع USFA= مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع PUFA=مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیره ای HUFA= مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره

جدول ۳- نتایج تنش دمای بالا (٢٤ درجه سانتی گراد) و کمبود اکسیژن (بمدت ٥ دقیقه) در لاروهای قزل آلای رنگین کمان

تیمار	درصد بقاء در دمای بالا	درصد بقاء در کمبود اکسیژن
اول	٦٦±١^{c}	٢٢±١^{c}
دوم	٨٥±١^{b}	٧٠±١^{b}
سوم	٩٩/٣٣±١/٥^{a}	٧٧±١^{a}
چهارم	٨٤±١^{b}	٦٥/٦٦±٢/٠٨^{b}

تذکر : در هر ردیف اعدادی که دارای حروف غیر مشابه هستند اختلاف معنی دار دارند ($p < ٠/٠٥$)

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

در بافتهای ماهی قزل آلای رنگین کمان ، اسیدهای چرب لینولنیک (n–۳) نسبت به خانواده لینولئیک (n–٦) از ارزش زیادتری برخوردارند (۲۵). نیاز ماهی قزل آلا و سایر آبزیان به اسیدهای چرب غیر اشباع بلندزنجیره (n–۳HUFA) جهت بهبود رشد به اثبات رسیده است (۲۷). با وجود این، لارو ماهیان قزل آلا قادر به تبدیل اسیدهای چرب خانواده لینولنیک Linolenic acic (18:2n-3) به اسیدهای چرب بلند زنجیره مثل ایکوزا پنتانوئیک اسید و دیکوزا پنتانوئیک اسید نمی باشند (۲۵) بنابراین افزودن اسیدهای چرب غیر اشباع بخصوص ایکوزا پنتانوئیک اسید و دیکوزا پنتانوئیک اسید به جیره غذایی ماهیان بویژه در دوران لاروی، امری حیاتی و ضروری بنظر می رسد.

تأثیر آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (n–۳HUFA) و ویتامین C بر گونه های مختلف ماهی و میگو به کرات در سطح جهان ارزیابی شده است . نتایج تحقیق حاضر ثابت می کند که تغذیه ماهی قزل آلای رنگین کمان با رژیم غذایی زنده و حاوی اسیدهای چرب بلند زنجیره بمقدار زیاد موجب افزایش مقاومت لاروها در برابر شرایط تنش زای حاصل از تغییرات درجه حرارت آب محیط پرورش و کمبود اکسیژن بمدت ۵ دقیقه می‌شود(جدول ۲) که با نتایج بدست آمده توسط گاپاسین و همکاران در سال ۱۹۹۸ همخوانی دارد. ایشان گزارش کردند که علی رغم وجود سطوح بالای آسکوربات در جیره غذایی خامه ماهی (*Chanos chanos*) موارد بسیار زیادی از نقص سرپوش آبششی در این ماهی مشاهد می شود، و علت این امر را به پایین بودن نسبت DHA:EPA دانسته و پیشنهاد نمودند استفاده همزمان از اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C اثر بیشتری در افزایش مقاومت بچه ماهیان در برابر تنش و جلوگیری از غیر طبیعی شدن آنها دارد(۱۲). تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تحمیل تنش در آبزیان بوسیله واکنشهای عصبی و هورمونی هدایت می‌شود فعالیت سیستم نوروآندوکرینی در ماهیان ترشح هورمون کورتیکوستروئیدی را از سلولهای کرومافین و بافت بین کلیوی بر می انگیزد. افزایش ترشح آدرنو کورتیکو تروپیک هورمون (ACTH) و کورتیکو ستروئیدها، باعث حفظ یونهای Na^+ و Cl^+ می شود در حالیکه ترشح یونهای k^+ افزایش می یابد ، قند خون زیاد شده و سوخت وساز نیتروژن بالا می رود. تیروئید تحریک شده و مقدار تیروکسین مترشحه افزایش می یابد . در خون کاهش لمفوسیتها و افزایش نوتروفیل ها دیده می شود. سیستم عصبی سمپاتیک بمیزان زیادی فعال شده که نتیجه آن افزایش ضربان تنفس و افزایش خون است(۱٦). تحقیقات Gapasian و همکاران ۲۰۰۲، Lim و همکاران ۱۹۹۸، نشان داد که سطوح بالای ویتامین C و اسیدهای چرب می تواند باعث مقاومت در برابر تنش و پاسخ ایمنی ماهیان در برابر عوامل تنش زا بخصوص در مراحل نوزادی و جوانی ماهیان گردد زیرا تا حدودی می توانند از تغییرات متابولیکی تحمیل شده ناشی از تنش جلوگیری کرده و باعث کاهش حساسیت ماهی به بیماریها گردند. Dabrowski و همکاران در سال ۲۰۰٤ با مطالعه روی نقش اسید آسکوربیک روی استرس اکسیژنی در روی ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* دریافتند که با کاهش اکسیژن در محیط زندگی قزل آلای رنگین کمان، میزان هماتوکریت بالا می رود و از میزان اسید آسکوربیک در بدن کاسته می شود آنها همچنین دریافتند که میزان هماتوکریت در قزل آلای رنگین کمان تحت تأثیر سطوح مختلف اکسیژن قرار دارد و نه اسید آسکوربیک (۱۱).

بررسی مقاومت لاروها در این تحقیق(جدول۳) نشان می دهد استفاده از آرتمیای اینستار I (غنی نشده) نسبت به غذای کنسانتره تا حدودی باعث افزایش مقاومت به تنش شده ولی استفاده از اسیدهای چرب بلند زنجیره در غذای روزانه (تیمار ۳ و٤) مقاومت لاروها را بسیار بیشتر افزایش می دهد علت آن هم احتمالاً بدلیل فراهم بودن و

Archive of SID

www.SID.ir

دخالت n-HUFA۳ در غشای سلولی لاروهاست که از لحاظ فیزیولوژیکی باعث بهبود وضعیت آنها می شود .نمی توان گفت که کدام یک از اسیدهای چرب در مقاومت به استرس نقش اصلی را دارند زیرا تقریباً مقادیر تمامی آنها در اثر غنی سازی افزایش می یابد اند. با وجود این، در نتایج سایر تحقیقات DHA بعنوان عامل افزایش مقاومت به استرس اعلام شده است (۷).

اسید های چرب امگا ۳ پیش ماده مهمی در سنتز ایکوزانوئیدها هستند که در حقیقت واسطه های مهمی در واکنشهای التهابی و تنظیم پاسخ ایمنی بدن می باشند، در نتیجه هنگامی که جیره غذایی کمبود اسید چرب امگا ۳ ضروری داشته باشد، فعالیت ضد باکتریایی سلولهای ماکروفاژ کاهش می یابد. ماکروفاژهای ماهیانی که اسید لینولنیک دریافت می کنند قدرت باکتری کشی بالاتری دارند (١٤).

در میگوی دراز آب شیرین(*Macrobrachium rosenbergii*) نیز بین گروههای تغذیه شده با غذای زنده غنی شده از ویتامین C نسبت به تنش شوری تفاوت معنی دار است (۱۹) و در خامه ماهی (*Chanos chanos*) تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با HUFA و ویتامین C نیز تفاوت معنی داری در رشد لاروها و مقاومت به تنش (تلفات کمتر) و وقوع بدشکلی سرپوش آبششی در مقایسه با گروه کنترل دیده شده است(۱۳). در گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) حساسیت به تنش کمتر و از روز ٦ به بعد دوره تیماری (در یک دوره پرورشی ۱۰ روزه) در رشد لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده تفاوت معنی دار است (۲۰). البته نمی توان گفت که کدام یک از اسیدهای چرب در مقاومت به تنش نقش اصلی را داشته است زیرا تقریبا تمامی آنها در اثر غنی سازی افزایش یافته با وجود این در نتایج سایر تحقیقات DHA بعنوان عامل افزایش مقاومت به تنش اعلام شده است (۷) .

مقدار اسیدهای چرب ناپلی تازه تخم گشایی شده و غنی شده آرتمیا در جدول ۱ نشان می دهد که مقدار DHAو EPA پس از غنی سازی آرتمیا افزایش می یابد که با مطالعات صورت پذیرفته توسط Gapasin و همکاران ۱۹۹۸ در این زمینه همخوانی دارد (۱۲). طی این بررسی مقادیر اسید لینولنیک ، لینولئیک ، دکوزا هگزانوئیک اسید ، ایکوزاهگزانوئیک اسید ، ومجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در آرتمیای غنی شده بطور معنی داری بیشتر از آرتمیای شاهد است ($p<۰/۰۵$). در آرتمیای شاهد میزان اسیدهای چرب DHA و EPA پایین می باشد که با مطالعات صورت گرفته در این زمینه (جدول ۳) همخوانی دارد (۲ و۱۲) و با توجه به جدول ۲ مشخص می شود که در نوزادهای ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) غنی شده مقادیر اسید لینولنیک، اسید لینولئیک، دکوزا هگزانوئیک اسید، ایکوزاهگزانوئیک اسید و مجموع اسیدهای چرب بلند زنجیره نسبت به تیمار۱ بطور معنی داری ($p<۰/۰۵$) افزایش نشان می‌دهد (جدول۲). تمامی اسید های چرب ١٤، ١٦ ، ١٨ و ٢٠ کربنه در نوزادهای ماهی قزل آلای رنگین کمان تیمار ۱ وجود دارد و میزان اسیدهای چرب DHAو EPA در حد پایینی است. که بعد از غنی سازی در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بعد از غنی سازی میزان اسیدهای چرب ١٤ و١٦ کربنه کاهش و اسیدهای ۲۰ و۲۲ کربنه افزایش می یابد (جدول ۲) که با مطالعات صورت پذیرفته توسط محققین دیگر در مورد سایر آبزیان پرورشی همخوانی دارد (۲ و ۱۲). لازم بذکر است که در این بررسی حاضر موفق به اندازه گیری ویتامین C نشده ولی اسید آسکوربیک در گروه کثیری از فعا لیتهای شیمیایی زنده شرکت می کند و مقادیر آن در تخم ماهی بالا است که نشان از اهمیت بالای این ریز مغذی در مراحل اولیه زندگی ماهیان دارد (۱ و۱۰). اما در ادامه بدلیل آنکه ماهی قادر به ساختن آن نمی باشد و باید آنرا از غذا دریافت نمود که البته مقدار آن در غذای زنده و کنسانتره

Archive of SID

www.SID.ir

محدودیتهایی دارد با کمبودهایی مواجه می شود بعلاوه مقدار ۲۵ تا ۵۰ میلی گرم اسید آسکوربیک (AA) در هر کیلوگرم جیره غذایی اسید آسکوربیک گزارش شده توسط تحقیقات ملی در سال ۱۹۹۳ مربوط به میزان نیازمندی ماهیان جهت رشد بهینه و ایمنی در شرایط طبیعی است و در سیستم متراکم و اصولا پرورشی میزان عوامل تنش زا در محیط بالاست و تحقیقات زیادی نشان دادند که مقادیر بالاتر ویتامین C ایمنی بالاتری در ماهیان ایجاد می کند (٦ و ۱۱).

با نتایج بدست آمده، از آنجا که نوسانات دمای آب در محیط پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در کارگاههایی که از آب رودخانه استفاده می کنند زیاد است، تغذیه با آرتمیای غنی شده با اسید های چرب و ویتامین C در مدت کوتاهی از دوران آغازین لارو می تواند موجب بهبود و افزایش مقاومت آنها در برابر تنش دمای و کمبود اکسیژن آب شودف و درنتیجه با افزایش مقاومت لاروها، میزان بازماندگی و در نهایت میزان تولید افزایش می یابد .بنابراین برای دستیابی به تولید بالا، بهینه سازی وضعیت تغذیه لاروهای قزل آلا استفاده از آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در مراکز تکثیر وپرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان توصیه می شود .

تشکر وقدر دانی: بدینوسیله از همکاری مدیریت مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید مرجانی (آق قلا)، آقای مهندس علی محمدی و جناب آقای مهندس مخدوم کارشناس آزمایشگاه این مرکز و سایر پرسنل محترم آن مرکز و همچنین آقای مهندس صفافر کارشناس آزمایشگاه کنترل کیفی غذا و دارو تهران که در انجام این تحقیق ما را بسیار مورد لطف قرار دادند تشکر و قدردانی می شود.

منابع

۱-ابراهیم زاد موسوی ، ح.، ۱۳۷۳. نقش ویتامین C در تولید مثل ماهی . ماهنامه آبزیان ، شماره سوم و چهارم ، ٤٠-٤٤.

۲-آذری تاکامی ، ق. ، طبیعی، ا. ، شکوری، م.و آق، ن. ۱۳۸۳ . تأثیر اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ در افزایش مقاومت بچه میگوی سفید هندی در برابر تنش اسمزی. مجله منابع طبیعی ایران ، جلد ۵۷ ، شماره ۳ ، ٤٦٧-٤٥٥

۳- آذری تاکامی ، ق. ، مشکینی ، س . ، رسولی ، ع و امینی ، ف . بررسی اثرات تغذیه ای ناپلئوسهای *Artemia urmiana* غنی شده با ویتامین C روی رشد ، درصد بقاء ، مقاومت در برابر استرسهای محیطی در لاروهای قزل آلای رنگین کمان ، مجله پژوهش و سازندگی ، شماره ٦ ، بهار ۱۳۸٤ صفحه ۳۲-۲۵ .

٤-ایمانپور،م.ر، ۱۳۸٤. اثرات طیف نور، دوره های نوری و غنی سازی روی پرورش لاروی و تنظیم اسمزی بچه ماهیان سفید . رساله دکترای تخصصی رشته شیلات . دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۵- طیبی، ا.۱۳۸۱. اثرات تغذیه آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره بر روی رشد ، باز ماندگی و مقاومت پست لاروهای میگوی سفید هندی ، در برابر تنش شوری، پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات ، دانشگاه منابع طبیعی دانشگاه تهران ، ٦۳ ص.

٦- مشکینی ، س. ۱۳۸۲ . بررسی اثرات تغذیه آغازی قزل آلای رنگین کمان با آرتمیای غنی شده از ویتامین C بر رشد ، ماندگاری و مقاومت در برابر استرسهای محیطی ، رساله دکترای تخصصی دامپزشکی گرایش آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، ۱۳۹ ص.

7- Ako, h; Tamani, C.S; Bass, P and Lee, C.S. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugical cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii Aquaculture, 122:81-90

8- AOAC .1990.In:W.Horwitz(Ed). Official Methods of Analysis of Official analytical Chemists (AOAC).Vol.1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemists, Washington DC, 1963 pp

9- Ashraf,M.,Bengtson,D.A.and Simpson,K.L.,1993.Effects of dietary fatty acid enrichment on survival, growth and salinity stress –test performance of inland silversides .The progressive fish culturist 55,280-283.

10-Dabrowski, K., Blom, J.H., 1994.Ascorbic acid deposition in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* eggs and survival of embryos ,Comp.Biochem.Physiol.108 A,139-135.

Archive of SID
www.SID.ir

11-Dabrowski,K; Kyeong-Jun,L;Leszek,G;Vivane,V and Jacques ,G,2004.Effects of dietary ascorbic acid in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Aquaculture 233,383-392.

12-Gapasin,R.S.J.,Bombeo,R.,Lavens,P.,Sorgeloos, P.,Nelis,H.J.(1998).Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish.*(Chanos chanos*) larval performanace,Aquaculture 162:269-285.

13-Girri,S.S.,S.K.Sahoo,B.B.,SHU,A.K,Sahu.,S.n,Mohanty..,P.k,Mohanty and S.Ayyappan.,2002.Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider):effects of light light. Photoperiod and feeding regims.Aquaculture 213,157-161

14- *Kiron, V., Fukuda, H., Takeuchi, T. and Watanabe, T., 1995* .Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout. Comp. Biochem. Phisiol., 361-367.

15- Lavens, P. and P. Sorgeloos (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture (Eds) food and agriculture organization of the United Nations pp: 101-248.

16-, Leatherland J.F and Woo, P.T.K. (1998.) Fish diseases and disorders, Volume 2: Non-intentions disorders, CAB International pp: 279-302

17- Leger,P.,D.A Benngston,andP.Sorgeloos.,1987.The nutritional value of *Artemia*.*Artemia* research and its application, Vol,3.universa press wettern,Belgium,pp:357-370.

18-Lim,L.C;Dhert,P;Chew,W.Y;Dermaux,V.;Nelis, Hand Sorgeloos,P.2002.Enhancment of stress resistance of goppy *Poecilia reticulate* through feeding with vitamin C supplement .Journal of the World Aquaculture Society.Vol.33-40.

19-Merchie,G.,Lavens,P;Dhert,Ph;Dehasque,M;Nelis,H;Deleenheer,A and Sorgeloos ,P.(1995a)Variation of ascorbic acid content in different live food organisms Aquaculture 134:325-337.

20-Merchie,G; Lavens,P;Verreth,J; Ollevier,F;Nelis,H; Deleeheer,A;Storch,v and Sorgeloos,P(1997) The effects of supplemental ascorbic acid in enriched live food for *Clarias gariepinus* larvae of start feeding .Aquaculture 151:245-258.

21-Navarre, O, and Halver, J., 1989, Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels vitamin C.Aquaculture.79:207-221.

22- Noori,F;Azari Takami,G and Sorgeloos,P.2005 Enrichment of *Artemia* with essential fatty acids ,lipid emulsion and vitamin C and its effect on the performance of *Acipenser persicus* larvae under the effect of salinity stress ,5th international symposium on sturgeon ,Ramsar,Iran,9-13.

23-Segner, H., R.Roesch. J, Verreth, and U., Witt.1993. Larval nutritional physiology studies *with Clarias garepinus*, *Coregonus lavaratus* and *Scophthalmus maximus*. J.World Aquaculture.Soc.24, 121-134

24-Sorgeloos, P; Dhert, P and Candreva, P.2001. Use of brine shrimp *Artemia* spp., In marine fish larviculture. Aquaculture 200:147-159.

25-Sedgwick, S.D. (1990).Trout farming handbook, 5thed.Fishing News books.pp:101-113

26-Takon, A.G.J.1990.Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp, Argent laboratories press, Vol1 the Essential NutRIENS.117PP

27-Takeuchi,T and Watanabe,T.1976.Nutritive value of omega three highly unsaturated fatty acids in Pollock liver oil for rainbow trout Bulletin of the Japan .Society of Scientific fisheries Vol. 42,pp:907-919.

28—Treece , G.D .2000. *Artemia* production for marine larvae Fish Culture.SRAC publication NO.702.

29-Wahli,T.,Velhac,V.,Gabaudan,J.,Schuep,W.,and Meier,W.1998.Influence of combined vitamin C and E on non-specific immunity and disease resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).J.Fish DIS.21,127-137.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of n-3HUFA and vitamin C- enriched *Artemia urmiana* nauplii resistance to environmental stresses of temperature and O2 shortage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae

Akbary P.[1,2], Hosseini S.A.[1], Imanpoor M.[1], Sudagar M.[1] and Shaluei F.[1,2]

[1] Fisheries Faculty, University of Agriculture Sciences and Natural, Gorgan, I.R. of IRAN

[2] Researcher of young researchers club in Islamic Azad University, Khomeini Shahr, I.R. of IRAN

Abstract

The use of live food is important in larviculture. In aquaculture enriched *Artemia* nauplii with essential nutrients particularly HUFA and vitamin C has been used in order to increase growth, survival rate, and resistance to various environmental stresses as well as infectious diseases. The objective of this study was to investigate the resistance to environmental stress in larvae of rainbow trout by feeding n-3 HUFA and vitamin C enriched *Artemia* nauplii. Larvae were reared until 2 weeks in 4 treatments: 1= artificial food, (commercial starter pellet for trout) 2= newly hatched *Artemia*, 3= enriched *Artemia* and 4= 10%enriched *Artemia* and 90% artificial food. The best result of resistance to temperature (up 24 ºC) and O2 shortage (for five minute) was observed in larvae that reared on treatment 3 respectively with 91.34±1.52 and 77±1 percent ($p<0.05$).

Key words: larval feed enriched *Artemia*, Highly Unsaturated Fatty Acids, vitamin C, *Oncorhynchus mykiss*. Stress

Archive of SID

www.SID.ir