# بررسی تحمل شوری در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با ویتامین C

**محمود حافظیه*[۱] و حمیرا حسین پور[۲]**

jhafezieh@yahoo.com

۱-موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۲- اداره کل آموزش و پرورش منطقه ۵، تهران صندوق پستی: ۱۴۳۵-۱۴۱۵۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۱

## چکیده

**در این تحقیق، تحمل شوری در لارو تاسماهی ایرانی تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی شده با HUFA و ویتامین C، با در معرض قرار دادن آنها در شوری‌های مختلف، مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور سیست آرتمیا ارومیانا در شرایط استاندارد تفریخ و توسط امولسیون تجاری ICES30/4 همراه با سه سطح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد ویتامین C هر کدام با سه تکرار غنی و به مدت ۲۰ روز لارو تاسماهی ایرانی با آنها تغذیه شدند. گروه کنترل لاروهایی بودند که با آرتمیا غنی نشده تغذیه شدند. در پایان دوره آزمایش با اندازه‌گیری طول و وزن، چربی، اسیدهای چرب غیراشباع و ویتامین C در لارو ماهی و با ایجاد تنش شوری ۶، ۱۲ و ۱۸ گرم در لیتر، میزان تحمل شوری آنها تا ۱۲۰ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که درصد بازماندگی بعنوان شاخص تحمل به شوری در تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. ICES30/4 همراه با ۲۰ درصد ویتامین C بیشترین تحمل به تنش شوری ۱۲ گرم در لیتر (۱/۰۰±۹۹/۰۰) را در لارو ماهیان داشت اما در ۱۸ گرم در لیتر شوری همه لاروها از بین رفتند. این افزایش بازماندگی بدلیل افزایش میزان اسیدهای چرب امگا ۳ و ۶ در لارو ماهی تغذیه شده از آرتمیای غنی شده با ICES30/4 می‌باشد. بنظر می‌رسد با این روش امکان رهاسازی مستقیم بچه ماهی تاسماهی ایرانی به دریا وجود دارد.**

**لغات کلیدی:** تغذیه، استرس، ماهیان خاویاری

*نویسنده مسئول

## مقدمه

تاثیر استفاده از روغن‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C در تحمل تنش‌های محیطی در ماهی کفال خاکستری *Mugil cephalus* (Ako *et al*., 1994)، سی باس *Lates calcarifer* (Boonyaratpalin *et al*., 1994)، ماهی چشم دیواری (*Stizostedion vitreum* Walleye) (Kolkovski *et al*., 2000)، میگوی آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii* (Merchie *et al*., 1995) و سی‌باس اروپایی و توربوت (*Dicentrarchus labrax* و *Scophthalmus maximus*) (Merchie *et al*., 1996) و همچنین تاثیر آنها بر سیستم ایمنی گربه ماهی کانالی (Li & Lovell, 1985) گزارش شده است. ماهیان خاویاری بدلیل ارزش تجاری و تنوع زیستی در دریای خزر دارای اهمیت بالایی می‌باشند. در دهه‌های اخیر آلوده شدن آب رودخانه‌ها با فاضلاب شهری و صنعتی و تخریب بستر آنها به منظور برداشت شن و ماسه، خشکسالی‌های مکرر و بسیاری عوامل دیگر، باعث از بین رفتن جایگاه اصلی تخم‌ریزی ماهیان مولد و عدم تفریخ و رشد اولیه مناسب در مراحل لاروی این ماهیان شده و روند تولید مثل طبیعی آنها را با مخاطرات جدی همراه ساخته است. توسعه صید مولدین این ماهیان از دریا به منظور تکثیر مصنوعی و بازسازی ذخایر بعنوان یک استراتژی مهم مورد توجه کشورهای حاشیه این دریا قرار گرفته و سهم ایران در رهاسازی بچه ماهیان خاویاری سهم قابل توجهی است حال آنکه براساس پروژه‌هایی مانند نصب تگ و مطالعات ارزیابی ذخایر در ایران نسبت صید بچه ماهیان علامت‌دار رهاسازی شده به تعداد کل در روند بازسازی ذخایر کمتر از ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۰۸ درصد می‌باشد (توکلی و همکاران، ۱۳۷۵) که به هیچ عنوان از اصل صرفه اقتصادی (Parsimony) تبعیت نمی‌نماید. متخصصین شیلاتی و زیستی مرگ و میر بیش از اندازه این بچه ماهیان، در زمان رهاسازی و در مسیر تکامل در رودخانه‌ها را دلیل اصلی این عدم صرفه اقتصادی می‌دانند که متاثر از مشکلات بیان شده در رودخانه‌ها از یک طرف و عدم وجود کیفیت مناسب بچه ماهیان تولیدی از طرف دیگر می‌باشد. نتایج حاصل از تحقیقات بعمل آمده توسط بهمنی و یوسفی (۱۳۸۷) از طریق بررسی و ارزیابی مقاومت به شوری، رشد و بقاء و مطالعه شاخص‌های اسمزی و تغییرات اسموتیک بدن لاروهای تاسماهی ایرانی، برای اولین بار در کشور، نشان داد که لاروهای تاسماهی ایرانی قابلیت بقاء و امکان معرفی مستقیم (رهاسازی) به آب سواحل دریای خزر (رهاسازی مستقیم) را دارا می‌باشند.

از آنجا که امکان کنترل آلودگی رودخانه‌ها با توجه به عوامل مختلف اجتماعی و اقتصادی بسیار ضعیف بنظر می‌رسد (که در صورت امکان، مشکل خشکسالی نیز هنوز به قوت خود باقی است)، دستیابی به روشهایی که با افزایش کیفیت و مقاومت به تنش‌هایی مانند تنش شوری، امکان رهاسازی مستقیم بچه ماهیان تولیدی به دریا را میسر سازد نه تنها به حذف مسیر پر مخاطره رودخانه‌ها و کاهش میزان مرگ و میر ناشی از آن کمک می‌کند بلکه امکان افزایش رشد و بازماندگی طبیعی را در آنها بالا خواهد برد و حداقل نتیجه نهایی آن، افزایش صید و افزایش درآمد خانوارهای صیاد منطقه خواهد بود و با تولید بچه ماهیان با کیفیت، زمینه تکثیر و پرورش بهینه آنها را در استخرهای خاکی مهیا خواهد ساخت.

هدف از انجام این تحقیق، بررسی احتمال دستیابی به بچه تاسماهیان ایرانی با کیفیت و مقاوم به تنش شوری می‌باشد که ممکن است از طریق تغذیه با ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی‌شده با ویتامین C و اسیدهای چرب فوق غیراشباع HUFA (Highly unsaturated Fatty acid) بدست آیند، که با بررسی رشد، بازماندگی و تحمل شوری آنها تایید خواهند شد و این قابل توصیه به سازمان شیلات ایران است تا در حین بازسازی ذخایر از این روش استفاده نماید. این ماهی با سهمی حدود ۹۰ درصد از میزان رهاسازی سالانه در دریای خزر بیشترین هزینه را در بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری ایران بخود اختصاص داده است و هر گونه تلاش در برای بهینه‌سازی روند بازسازی ذخایر می‌تواند حائز اهمیت باشد.

## مواد و روش کار

سیست آرتمیا ارومیانا در شرایط انکوباسیون استاندارد (دمای آب ۲۸ درجه سانتیگراد، شوری ۳۰ گرم در لیتر، pH معادل با ۸ و شدت نور مناسب) (Van Sttapen, 1996) در تانک‌های مخروطی ۳۰۰ لیتری با هوادهی شدید تفریخ گشته و بعد از ۲۴ ساعت با کمک روش جذب نوری ناپلیوس‌ها جمع‌آوری، شسته و بلافاصله در ظروف مخروطی ۲ لیتری (۳۰۰

ناپلیوس در هر میلی‌لیتر) مخلوط ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر امولسیون ICES30/4 با درصدهای مختلف آسکوربیل پالمیتات (۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) با روش استاندارد (Von Eler, 2002) بمدت ۲۴ ساعت غنی شدند. محلول غنی‌ساز با امولسیون پلی سوربات امولسیون و آب شیرین طبق روش Ako و همکاران (۱۹۹۴) و سپس اضافه کردن میزان درصد آسکوربیل پالمیتات نسبت به کل میزان محلول بصورت روزانه آماده گردید.

لارو تاسماهی ایرانی در مرحله خوابیده سه روزه بعد از تفریخ (در کیسه‌های ۵ لیتری محتوی یک سوم آب و دو سوم اکسیژن با تراکم ۵۰۰ عدد) از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید بهشتی، سد سنگر، به سالن آبزی‌پروری مرکز تحقیقات آرتمیا دانشگاه ارومیه منتقل و پس از شروع تغذیه فعال به مدت سه روز از ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی نشده تغذیه و بعد از آن تا پایان روز بیستم با گروه‌های تیماری از ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی شده با ICES30/4 همراه با درصدهای سه گانه ویتامین C و گروه کنترل از ناپلیوس غنی نشده هر کدام با سه تکرار در مجموع در ۱۲ تانک روزانه چهار بار تغذیه شدند (Kolkovski *et al*., 2000). لارو ماهیان با میانگین (± انحراف معیار) وزن اولیه ۳/۰۳±۴۶/۸۰ میلی‌گرم و طول کل ۰/۰۴±۲۱/۲ میلیمتر بطور تصادفی در گروههای ۲۵۰ عددی در ۱۲ تانک مستطیل شکل فایبرگلاس محتوی ۲۵ لیتر آب (۱۰ عدد لارو به ازای هر لیتر آب) قرار داده شدند. هر تانک با یک لوله ۱/۲۵ سانتیمتر با جریان ۰/۸ لیتر بر دقیقه آبگیری و تعویض آب گشت. هوادهی مستمر به منظور تامین ۷/۴ میلی‌گرم بر لیتر اکسیژن محلول انجام شد. کیفیت آب بطور متناوب بررسی، بطوریکه میزان pH در حدود ۷/۵ تا ۷/۸ و دمای آب حدود ۲۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. ناپلیوس آرتمیا روزانه تفریخ و غنی شدند تا همواره غذای تازه در اختیار لارو تاسماهیان قرار گیرد.

ICES30/4 یک امولسیون تجاری ساخت شرکت INVE کشور بلژیک است که بدلیل وجود اسیدهای چرب امگا ۳ بالا (DHA و EPA) و امگا ۶ (آراشیدونیک اسید ARA) مورد استفاده قرار گرفت.

در پایان روز بیستم ترکیبات شیمیایی بچه ماهیان خاویاری (تیمارها و کنترل) آنالیز گردید. میزان ویتامین C با کمک دستگاه HPLC مدل Kenauer ساخت کشور آلمان با ستون ۳۰ سانتیمتر و قطر ۴ میلیمتر، دتکتور k-2500 با طول موج ۲۵۴ نانومتر، پمپ k-1001 و جریان یک میلیمتر بر دقیقه و اندازه‌گیری اسیدهای چرب با استخراج چربی از آرتمیا و لارو ماهی از طریق فرآیند صابونی شدن با ۲ گرم NaOH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (Folch *et al*., 1957) و آماده‌سازی متیل استر اسیدهای چرب (FAME) بوسیله ترانس استریفیکاسیون با بور نیتروفلوراید (BF3) در متانول (Metcalfe & Schmitz, 1961) و اندازه‌گیری FAME با کمک دستگاه GC مدل DANI-1000 و دتکتور FID. ستون مورد استفاده BPX 70 با طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود. از گاز هلیم بعنوان ناقل و تحت فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال استفاده شد. دمای دتکتور و انژکتور بترتیب ۲۶۰ و ۲۵۰ درجه سانتیگراد انتخاب و شیب دمایی ۱۸۳ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه با افزایش ۴ درجه در هر دقیقه، تا مرز ۲۶۰ درجه سانتیگراد رسانده و به مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگهداشته شد. سپس منحنی‌های بدست آمده از اسیدهای چرب مختلف روی مونیتور اتصالی به دستگاه TGC با استاندارد داخلی C18:0 مقایسه گردید.

تحمل شوری هر گروه از لارو ماهیان با قرار دادن در شوری‌های صفر، ۶ ، ۱۲ و ۱۸ گرم در لیتر و شمارش تعداد لاروهای مرده در زمانهای از یک ساعت تا ۱۲۰ ساعت و تعیین درصد از کل اندازه‌گیری گردید. فواصل زمانی شمارش نمونه‌های مرده ۱، ۲، ۸، ۲۴، ۳۶، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت بود. ولی از آنجا که موضوع تحمل واقعی شوری بعد از ۷۲ ساعت قابل اطمینان خواهد بود، در جدول نتایج فقط داده‌های مربوط به ۱۲۰ ساعت که تقریباً در آن تمام لارو ماهیان گروه شاهد از بین رفته درحالیکه درصد بقا در گروه‌های تیماری در حد بسیار بالایی است آورده شده است.

نرمال بودن داده‌ها با کمک PP plot در برنامه SPSS نسخه ۱۴ مورد تایید قرار گرفت و به منظور تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه One- way ANOVA استفاده شد و برای مقایسه میانگین گروههای تیماری که دارای اختلاف معنی‌دار بودند از آزمون توکی در سطح ۹۵ درصد، با کمک برنامه آماری SPSS نسخه ۱۴ استفاده گردید.

## نتایج

میزان اسیدهای چرب در امولسیون در جدول ۱ آمده است. متوسط بازماندگی در شوری ۱۲ گرم در لیتر بعد از ۱۲۰ ساعت،

طول کل برحسب میلیمتر و وزن کل برحسب میلی‌گرم، چربی کل برحسب درصد وزن خشک، ویتامین C برحسب میکروگرم بر گرم وزن خشک و اسیدهای چرب غیراشباع برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گروه‌های تیماری و کنترل لارو تاسماهی در جدول ۲ آورده شده است.

آنالیز واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که غنی‌سازی با امولسیون و ویتامین C بر طول کل لارو ماهی اثر معنی‌داری نداشتند ($P>0.05$, $F= 1.1$, $df= 11$) ولی وزن تر متاثر از سطوح ویتامین C در امولسیون افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P<0.05$, $F= 8.1$, $df= 11$) تیمار ۲۰ درصد ویتامین C در امولسیون تجاری بیشترین وزن تر (۴۶/۲۶±۷۵۲/۰۴ میلی‌گرم) را در لارو تاسماهی ایرانی ایجاد نمود.

امولسیون ICES30/4 با ویتامین C تاثیر بسیار فزاینده‌ای بر میزان تحمل لارو تاسماهی ایرانی به شوری‌های بالا نشان داد ($P<0.05$, $F= 7.0$, $df= 11$) بازماندگی در لارو این ماهی که به شدت نسبت به شوری بالا حساسیت نشان می‌دهد، با تغذیه از ناپلیوس آرتمیا غنی‌شده با امولسیون ICES30/4 و سطوح مختلف ویتامین C افزایش معنی‌داری را با گروه کنترل نشان دادند. لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی‌شده با امولسیون تجاری و ویتامین C و غنی نشده در شوری ۶ گرم در لیتر تا زمان ۱۲۰ ساعت (بغیر از گروه کنترل که ۶۳ درصد بازماندگی نشان دادند) همگی ۱۰۰ درصد بازماندند. در شوری ۱۲ گرم در لیتر تا ۱۲۰ ساعت بازماندگی بالای ۹۰ درصد را نشان دادند حال آنکه همه افراد گروه کنترل بعد از ۳۶ ساعت در این شوری از بین رفتند. در شوری ۱۸ گرم در لیتر همه تیمارها بعد از ۲۴ ساعت از بین رفتند. امولسیون با ۲۰ درصد ویتامین C بیشترین درصد بازماندگی لارو تاسماهیان را در شوری ۱۲ گرم در لیتر بعد از ۱۲۰ ساعت نشان داد میانگین (± انحراف معیار)(۱/۰۰±۹۹/۰۰ درصد).

اختلاف معنی‌داری در تجمع ویتامین C بین گروه‌های تیماری لارو تاسماهی و گروه کنترل بدست آمد ($P<0.05$, $F= 5.01$, $df= 11$). تیمار امولسیون با ۲۰ درصد ویتامین C، بیشترین و بهترین میزان انباشتگی ویتامین C را در لارو ماهی بدست دادند (۱۴/۸۶ ±۱۲۳/۵۲ میکروگرم ویتامین C بر گرم وزن خشک) هر چند با تیمار امولسیون همراه با ۳۰٪ ویتامین C اختلاف معنی‌دار نداشت ($P>0.05$, $F= 1.1$, $df= 11$). میانگین (± انحراف معیار) میزان ویتامین C در گروه کنترل (۵/۱۱ ±۴۱/۲۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) کمترین تجمع را نشان داد.

تیمار ۱۰ درصد ویتامین C در امولسیون حداکثر درصد چربی کل را در لارو ماهی تاسماهی ایرانی بدست داد (۲/۳۷±۱۶/۳۸ درصد) که با سایر گروه‌های تیماری و کنترل اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0.05$, $F= 28.1$, $df=11$). تیمارکنترل با ۰/۵۲±۱۴/۳۷ درصد بدون اختلاف آماری با گروه امولسیون همراه با ۳۰ درصد ویتامین C کمترین درصد چربی کل را در بین گروه‌ها بخود اختصاص داده است.

بیشترین میانگین (± انحراف معیار) نسبت ω3/ω6 (۰/۴۹±۵/۰۳) در امولسیون همراه با ۲۰ درصد ویتامین C با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0.05$, $F= 3.1$, $df= 29$) در حالیکه بیشترین نسبت DHA/EPA (۰/۰۳±۰/۶۸) در تیمار امولسیون با ۲۰ درصد ویتامین C بجز با گروه ۱۰ درصد ویتامین C ($P>0.05$, $F= 0.13$, $df= 11$) با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0.05$, $F= 4.13$, $df= 11$).

**جدول ۱: آنالیز آزمایشگاهی میزان اسیدهای چرب در امولسیون ICES30/4 (درصد از چربی کل)**

| | ICES 30/4 |
|---|---|
| چربی کل (درصد) | ٦٠ |
| C20:4n6(ARA) | ۰/۷۸ |
| C20:5n3(EPA) | ٦/۲۹ |
| C22:6n3(DHA) | ۲۰/۹۰ |
| DHA/EPA | ۳/۳۲ |
| مجموع اسیدهای چرب اشباع | ۳۲/۱۷ |
| مجموع اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند دوگانه | ۲۱/۸۷ |
| مجموع اسیدهای چرب امگا ٦ | ۰/۷۸ |
| مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ | ۲۷/۱۹ |
| ω -3/ω-6 | ۳٤/۸۵ |

**جدول ۲: میانگین و انحراف معیار بازماندگی (درصد) در شوری ۱۲ گرم در لیتر، طول کل (میلیمتر)، وزن تر(میلی‌گرم)، میزان چربی کل، ویتامین C و اسیدهای چرب غیراشباع در تیمارهای مختلف لارو تاسماهی بعد از ۲۰ روز آزمایش**

| | درصد ویتامین C در امولسیون ICES30/4 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۱۰ درصد | ۲۰ درصد | ۳۰ درصد | کنترل |
| بازماندگی(درصد)، شاخص تحمل ۱۲ گرم بعد از ۱۲۰ ساعت | ۹۲/۰۰±۱/۰۰$^{b}$ | ۹۹/۰۰±۱/۰۰$^{c}$ | ۹۸/۰۰±۱/۰۰$^{c}$ | ۰.۰۰$^{a}$ |
| طول کل (میلیمتر) | ۵۱/۲۲±۰/۹۲$^{a}$ | ۵۲/۲۲±۲/۳۲$^{a}$ | ۵۰/۴۴±۰/۹۷$^{a}$ | ۴۹/۴۴±۰/۹۷$^{a}$ |
| وزن کل (میلی‌گرم) | ۶۹۸/۲۷±۵۰/۲۸$^{b}$ | ۷۵۲/۰۴±۴۶/۲۶$^{c}$ | ۶۶۲/۷۷±۴۴/۷۱$^{b}$ | ۶۰۰/۰۴±۴۶/۲۶$^{a}$ |
| چربی کل (درصد وزن خشک) | ۱۶/۳۸±۲/۳۷$^{b}$ | ۱۵/۹۷±۰/۵۲$^{b}$ | ۱۴/۵۶±۰/۷۳$^{a}$ | ۱۴/۳۷±۰/۵۰$^{a}$ |
| ویتامین C (میلی‌گرم در گرم وزن خشک) | ۹۹/۳۷±۱۴/۵۹$^{b}$ | ۱۲۳/۵۲±۱۴/۸۶$^{c}$ | ۱۱۵/۶۲±۱۴/۸۶$^{c}$ | ۴۱/۲۰±۵/۱۱$^{a}$ |
| **اسیدهای چرب (میلی‌گرم در گرم وزن خشک)** | | | | |
| C20:4n6 (ARA) | ۱/۳۴±۰/۱۶$^{c}$ | ۱/۰۹±۰/۳۴$^{b}$ | ۱/۰۹±۰/۶۴$^{b}$ | ۰/۴۷±۰/۰۷ $^{a}$ |
| C20:5n3 (EPA) | ۲/۸۵±۰/ ۹۳$^{b}$ | ۲/۶۱±۱/۴۰$^{b}$ | ۲/۹۱±۱/۵۳$^{b}$ | ۱/۹۷±۰/۱۲ $^{a}$ |
| C22:6n3 (DHA) | ۱/۸۴±۰/۹۸$^{c}$ | ۱/۷۹±۰/۸۳$^{c}$ | ۱/۵۸±۰/۷۶$^{b}$ | ۱/۳۰±۰/۱۷ $^{a}$ |
| DHA/EPA | ۰/۶۴±۰/۰۳$^{c}$ | ۰/۶۸±۰/۰۳$^{c}$ | ۰/۵۴±۰/۰۲$^{b}$ | ۰/۴۳±۰/۰۲$^{a}$ |
| **مجموع اسیدهای چرب غیراشباع(میلی‌گرم در گرم وزن خشک)** | | | | |
| با یک باند دو گانه | ۳۳/۵۶±۵/۳۱$^{b}$ | ۳۶/۱۷±۱/۸۳$^{b}$ | ۳۵/۰۶±۱/۹۲$^{b}$ | ۲۹/۳۱±۰/۹۲ $^{a}$ |
| مجموع اسیدهای چرب امگا ۳ | ۴/۶۸±۰/۳۷$^{b}$ | ۵/۳۹±۰/۴۸$^{c}$ | ۴/۴۷±۰/۳۶$^{b}$ | ۳/۷۶±۰/۵۱$^{a}$ |
| ω- 3/ ω- 6 | ۳/۶۱±۰/۵۰$^{b}$ | ۵/۰۳±۰/۴۹$^{d}$ | ۴/۴۰±۰/۴۶$^{c}$ | ۲/۸۵±۰/۸۷ $^{a}$ |

**میانگین در ردیف بین گروه‌های تیماری با حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (N=3, P<0.05)**

## بحث

تحقیقات تغذیه بخصوص در مرحله لاروی در ماهیان خاویاری بسیار محدود می‌باشد. تنها تحقیق در زمینه استفاده از مواد غنی‌ساز در تغذیه لارو ماهیان خاویاری مربوط به Fauconneau و همکاران (۱۹۸۶)، Deng و همکاران (۲۰۰۳) و در رابطه با اثر ویتامین C مربوط به Reddy و Ramesh (۱۹۹۶)، Papp و همکاران (۱۹۹۷) و Sadowski و همکاران (۲۰۰۰ و ۱۹۹۹) می‌باشند.

Sadowski و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که استفاده از ویتامین C در غذا اثر معنی‌داری بر رشد ماهی خاویاری سیبری نداشت. چنین نتیجه مشابهی نیز توسط Reddy و Ramesh (۱۹۹۶)، Sadowski و همکاران (۱۹۹۹) در گونه‌های دیگر ماهیان خاویاری بدست آمد. Dabrowski (۱۹۹۴) نشان داد که ماهیان خاویاری با داشتن آنزیم گلونولاکتون اکسیداز قادر به سنتز ویتامین C هستند ولی نیاز ماهی به این ویتامین بخصوص در کشت متراکم به حدی است که وجود ویتامین C را در جیره غذایی آن ضروری می‌نماید و همچنین استرس‌های محیطی (تراکم بالا یا تغذیه مفرط، افزایش شوری محیط و .. میزان تقاضا برای این ویتامین را افزایش می‌دهد). Papp و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که نبود ویتامین C در هیبرید حاصل از ماهی خاویاری استر و سیبری ناهنجاری‌های ریختی را در آنها

بوجود می‌آورد. از طرف دیگر ارزش غذایی سطوح بالای امگا ۳ اسیدهای چرب فوق غیراشباع (HUFA) باعث افزایش رشد در بسیاری از ماهیان دریایی چون فلوندر ژاپنی (Izquierdo *et al.*, 1989)، بریم دریایی (Rainuzzo *et al.*, 1997) شده است. در تحقیق حاضر اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره تاثیر مثبتی بر رشد تاسماهی ایرانی نشان نداد که دلایلی مانند اختلاف گونه‌ای و طبیعتاً تفاوت در نرخ متابولیکی (Jobling, 1985)، اندازه ماهی، تفاوت در فرم ویتامین C مورد استفاده (Dabrowski, 1994) و شرایط مختلف آزمایشی (Dhert *et al.*, 1993) را می‌توان برای آن در نظر گرفت.

افزودن ویتامین C به امولسیون مورد بررسی باعث افزایش تحمل به شوری درلارو تاسماهی ایرانی گردید. چنین پدیده‌ای در باس دریایی اروپایی (*Dicentrachus labrax*) نیز گزارش شده است (Merchie *et al.*, 1995b). همچنین Merchie و همکاران (۱۹۹۷) از اثرات تحریکی سطوح بالای ویتامین C در سیستم ایمنی لارو ماهی توربوت بعد از تماس با باکتری ویبریو گزارش مفصلی ارائه دادند. در گربه ماهی، میگو و میگوی آب شیرین نیز افزودن ویتامین C باعث افزایش تحمل شوری و بازماندگی گردیده است (Merchie *et al.*, 1995a; 1996, 1997). این تحقیق در تایید تحقیقات گذشته، این تئوری را تقویت می‌بخشند که تنش‌ها نیاز به افزایش اسید آسکوربیک را در لارو ماهی بوجود می‌آورد که این ویتامین اثرات مفیدی بر پارامترهای ایمنولوژیک مانند لیزوزیم و فعالیت‌های مکمل، فعالیت‌های فاگوسیتیک و قطع تنفسی دارد (Li & Lovell, 1985; Verlhac *et al.*, 1998; Ortuno *et al.*, 1999, 2001) و باعث افزایش مقاومت به بیماری‌ها می‌گردد (Montero *et al.*, 1999).

مشابه با نتایج کارهای Sadowski و همکاران (۲۰۰۰) روی ماهی خاویاری سیبری، این تحقیق نیز اثرات مثبت اسیدهای چرب فوق غیراشباع (HUFA) همراه با ویتامین C بر افزایش میزان ویتامین C، چربی کل و اسیدهای چرب در لارو تاسماهی را نشان داد. Boonyaratpain و همکاران (۱۹۹۴)؛ Merchie و همکاران (۱۹۹۵a، ۱۹۹۵b، ۱۹۹۶ و ۱۹۹۷) و Kolkovski و همکاران (۲۰۰۰) از افزایش اسیدهای چرب امگا ۳ در لارو ماهیانی که توسط غذای زنده غنی شده با روغن ماهی و ویتامین C تغذیه شده بودند، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد..

از مجموع نتایج و مطالعات مقایسه‌ای چنین می‌توان نتیجه‌گیری و پیشنهاد نمود که در صورت تغذیه لارو ماهیان تاسماهی ایرانی در یک مدت زمان کوتاه (۲۰ روزه) از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با امولسیون و ویتامین C طی ۲۴ ساعت، لاروهای با کیفیت و با تحمل بالا به شوری ۱۲ گرم در لیتر که معادل شوری دریای خزر می‌باشد، بدست خواهد آمد و از این طریق امکان رهاسازی آنها بطور مستقیم به دریا با حذف حد واسط رودخانه‌های آلوده و خطرات زیستی آنها را میسر خواهد نمود. از طرف دیگر با افزایش بازماندگی و مقاومت به تنش شوری ضمن بالا رفتن احتمال ضریب بازگشت شیلاتی زمینه برخوردار شدن بخش‌های خصوصی از لاروهای با کیفیت در امر تکثیر و پرورش مصنوعی این ماهیان با ارزش در استخرهای خاکی فراهم خواهد شد.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله از موسسه تحقیقات شیلات ایران بدلیل حمایت مالی این پروژه، مرکز تکثیر ماهیان خاویاری شهید بهشتی رشت به جهت تهیه لارو ماهیان تاسماهی ایرانی مورد نیاز و مرکز تحقیقات آرتمیا و سایر ابزیان دانشگاه ارومیه بخصوص آقای مهندس ایرانی که کمک وافری به اینجانب در اجرای این پروژه نموده‌اند کمال قدردانی را دارم.

## منابع

**بهمنی، م. و یوسفی، ا.، ۱۳۹۰.** قابلیت سازگاری لاروهای ۲۰ روزه تاسماهی ایرانی در شوری‌های مختلف. مجله زیست‌شناسی ایران، شماره ۲۴، صفحات ۲۵ تا ۳۶.

**توکلی، م.؛ پورکاظمی، م، و حدادی مقدم، ک.، ۱۳۷۵.** بررسی میزان صید بازگشتی از تاسماهیان ایرانی تگ زده شده. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۸۷ صفحه.

**دفتر آمار مدیریت طرح و توسعه شیلات ایران، ۱۳۸۷.** داده‌های آماری شیلات ایران. سازمان شیلات ایران، معاونت طرح و توسعه. ۸۹ صفحه.

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

**Boonyaratpalin M., Boonyaratpin S. and Supamataya K., 1994.** Ascorbyl-phosphate-Mg as a dietary vitamin C source for sea bass *Lates calcarifer*. *In*: (L.M. Chou, A.D. Munro, T.J. Lam, T.W. Chen, L.K.K. Cheong, J.K. Ding, K.K. Hooi, H.W. Khoo, V.P.E. Phang, K.F. Shim and C.H. Tan eds.), Proc. 3rd Asian Fisheries Forum, pp.725-728. Asian Fisheries Society, Manila, Philippine.

**Dabrowski K., 1994.** Primitive Actinopterigian fishes can synthesize ascorbic acid. Experientia, 50:745-748.

**Dhert Ph., Sorgeloos P. and Devresse B., 1993.** Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Bruchionus plicatilis* and *Artemia* sp. *In*: (H. Reinertsen, L.A. Dahle, L. Jorgensen, and K. Tvinnereim eds.), Fish Farming Technology. BaIkema, Rotterdam, Netherlands. pp.109-115.

**Deng D.F., Hemre G.I., Koshio S., Yokoyama S., Bai S.C., Shao Q., Cui Y. and Hung S.S.O., 2003.** Effects of feeding rate on growth performance of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. Aquaculture, 217:589-598.

**Fauconneau B., Aguirre P., Dabrowski K. and Kaushik S.J., 1986.** Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae: 2. Protein metabolism: Influence of fasting and diet quality. Aquaculture, 51:117-131.

**Folch J., Lees M. and Stanely G.H.S., 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biology Chemistry, 226:497-509.

**Izquierdo M.S., Watanabe T., Takeuchi T., Arakawa T. and Kitajima C., 1989.** Requirement of larval red sea bream *Pagrus major* for essential fatty acids. Nippon Suisan Gakk., 55:859-867.

**Jobling M., 1985.** Growth. *In*: (P. Tylter, and P. Calow, eds.). Fish energetics: New perspective. Croom Helm, London, UK. pp. 213– 230.

**Kolkovski S., Czesny S., Yackey C., Moreau R., Cihla F., Mahan D. and Dabrowski K., 2000.** The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acid-enriched Artemia nauplii on growth, survival, and stress resistance of freshwater walleye (*Stizostedion vitreum*) larvae. Aquaculture Nutrition, 6:199-20.

**Li Y. and Lovell R.T., 1985.** Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. Journal of Nutrition, 115:123–131.

**Merchie G., Lavens P., Radull J., De Nelis H., Leenheer A. and Sorgeloos P., 1995.** Evaluation of vitamin C-enriched Artemia nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. Aquaculture International, 3:355-363.

**Merchie G., Lavens P., Dhert Ph., Dehasque M., Nelis H., De Leenheer A. and Sorgeloos P., 1995a.** Variation of ascorbic acid content in

different live food organisms. Aquaculture, 134:325-337.

**Merchie G., Lavens P., Dhert Ph., Pector R., Mai Soni A.F., Abbs M., Nelis H., De Ollevier F., Leenheer A. and Sorgeloos P., 1995b.** Live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. Journal of Applied Ichthyology, 11:336-341.

**Merchie G., Lavens P., Storch V., Ubel U., De Nelis H., Leenheer A. and Sorgeloos P., 1996.** Influence of dietary vitamin C dosage on turbot *Scophthalmus maximus* and European sea bass *Dicentrarchus labrax* nursery stages. Comparative Biochemistry and Physiology, 114:123-133.

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

**Metcalfe L.D. and Schmitz A.A., 1961.** The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry, 33:363-364.

**Montero D., Marrero M., Izquierdo M.S., Robaina L., Vergara J.M. and Tort L., 1999.** Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. Aquaculture, 171:269-278.

**Ortuno J., Esteban A. and Meseguer J., 1999.** Effects of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Fish and Shellfish Immunology, 9:429– 443.

**Ortuno J., Cuesta A., Esteban A. and Meseguer J., 2001.** Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Veterinary Immunology and Immuno-pathology, 79:167–180.

**Papp G.Z., Saroglia M., Jeney Z.G. and Terova J.G., 1997.** Effects of vitamin C on collagen status of sturgeon hybrid (*Acipenser ruthenus* L. × *Acipenser baeri* L.). III International Symposium on Sturgeon, Piacenza, Italy, My 8-11 1997. Booklet of abstracts.

**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.

**Reddy H.R. and Ramesh T.J., 1996.** Dietary essentiality of ascorbic acid for common carp *Cyprinus carpio* L. Indian Journal of Experimental Biology, 34(11):1144-1146.

**Sadowski J., Filipiak J., Trzebiatowski R. and Plust M., 1999.** Preliminary studies on effects of diet enrichment with propiscin, bio-immuno, and ascorbyl sulphate on cage culture of carp (*Cyprinus carpio* L.) juveniles in cooling water. Folia Universitatis Agriculture Stetinensis. 192 Piscaria, (25):71-77.

**Sadowski J., Trzebiatowski R. and Wielopolska M., 2000.** Effects of ascorbic acid and glucose applied as food supplements on selected indices of Siberian sturgeon (*Acipenser baeribandt*, 1858) culture in cooling water. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 30(2):13-20.

**Van Stappen G., 1996.** Introduction, biology and ecology of artemia. *In*: (P. Lavens and P. Sorgeloos eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, 361:79-163.

**Verlhac V., Obach A., Gabaudan J., Schuep W. and Hole R., 1998.** Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 8:409– 424.

**Von Elert E., 2002.** Determination of limiting polyunsaturated fatty acid in *Daphnia galeata* using a new method enriches food algae with single fatty acid. Limnology and Oceanography, 46:1764-1773.

# A survey of salinity tolerance of Persian sturgeon larvae (*Acipencer persicus*) fed with enriched live food containing HUFA and vitamin C

**Hafezieh M.*(1) and Hosseinpour H.(2)**

jhafezieh@yahoo.com

1-Iranian Fisheries Research Organization, P.O.Box: 14155-6116 Tehran, Iran

2-Main Office of Teaching & Training, Area 5, P.O.Box: 14156-1435 Tehran, Iran

Received: September 2011 Accepted: September 2012

**Keywords:** Nutrition, Stress, Sturgeon fish

## *Abstract*

Salinity tolerance in Persian sturgeon larvae (*Acipenser persicus*) fed with enriched *Artemia urmiana* nauplii were investigated when exposed to different salinity. For this purpose, cyst of *Artemia urmiana* hatched and enriched with a commercial emulsion, ICES30/4 supplemented with three levels of vitamin C (10, 20 and 30%) each with 3 replications according to standard condition and fed to Persian sturgeon larvae during 20 experimental days. At the end of this period, total length, weight, lipid, unsaturated fatty acids contents and vitamin C in fish larvae were measured. Fish larvae were exposed to 6, 12 and 18ppt salinity, and salinity tolerance were surveyed after 120h. The results showed that survival percentage as salinity tolerance indicator increased compared to control group that are larvae fed un-enriched *Artemia nauplii*. ICES40/3 with 20% vitamin C led to the highest salinity tolerance at 12ppt in Persian sturgeon larvae (99±1) but in 18ppt all larvae were died. The increase in salinity tolerance is likely due to omega 3 and 6 increase in fish larvae fed with Artemia enriched with ICES30/4.

*Corresponding author