تاثیر آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) غنی شده با روغن ماهی و روغن سویا همراه با ویتامین E بر ساختار زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

فاطمه خدابنده[۱]، کوروش سروی مغانلو[۱*]، صابر خدابنده[۲]

*k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، مازندران، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۶

چکیده

در این پژوهش تاثیر غنی سازی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با روغن ماهی و سویا همراه با ویتامین E بر ساختار زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) بررسی شد. بدین منظور ۱۵۰۰ قطعه لارو با میانگین وزنی ۲±۵۱ میلی‌گرم به طور تصادفی در ۱۵ مخزن توزیع گردیدند. سپس لاروها در قالب ۵ تیمار آزمایشی با آرتمیای غنی نشده (گروه شاهد)، آرتمیای غنی شده با روغن سویا و ۱۵ درصد ویتامین E، آرتمیای غنی شده با روغن سویا و ۳۰ درصد ویتامین E، آرتمیای غنی شده با روغن ماهی و ۱۵ درصد ویتامین E ییو آرتمیای غنی شده با روغن ماهی و ۳۰ درصد ویتامین E به مدت ۱۷ روز تغذیه شدند. در انتهای آزمایش از هر تیمار ۱۵ قطعه لارو جهت بررسی‌های بافت شناسی در محلول بوئن تثبیت شدند. نتایج تجزیه و تحلیل آماری بافت‌شناسی کل دوره نشان داد، روغن ماهی و روغن سویا به عنوان عامل اصلی و موثر بر شاخص مساحت لایه پوششی زوائد پیلوریک بوده و غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی و سویا موجب افزایش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) این شاخص نسبت به گروه شاهد گردید و تاثیر روغن ماهی بر مساحت لایه پوششی حدود دو برابر روغن سویا بود. ویتامین E عامل اصلی و موثر بر شاخص تعداد انتروسیت‌های زوائد پیلوریک بود، به طوری که افزایش ویتامین E موجب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) تعداد انتروسیت‌ها نسبت به گروه شاهد شد و در بالاترین مقادیر ویتامین E کمترین تعداد انتروسیت‌ها مشاهده شد. در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی با توجه به مقادیر ویتامین Eمورد استفاده می‌تواند بر انتروسیت‌های زوائد پیلوریک تاثیر مثبت داشته و باعث بهبود تنظیم یونی در لارو تاسماهی ایرانی شود.

لغات کلیدی: آرتمیا، روغن، ویتامین E، زوائد پیلوریک، تاسماهی ایرانی

*نویسنده مسئول

مقدمه

در سالهای اخیر توجه ویژه‌ای به صنعت آبزی‌پروری و توسعه پرورش گونه‌های جدید در ایران شده است که در این میان تاسماهیان به دلیل قدرت سازگاری بوم‌شناسی بالا، توانایی همزیستی با ماهیان استخوانی و توانایی استفاده از بیوتوپ‌های گوناگون (Chehbanov and Billard, 2001) از لحاظ پرورش به شکل سودمندی می توانند در صنعت آبزی‌پروری وارد شوند و توسعه یابند. یکی از مشکلات پرورش این ماهیان در مراکز تکثیر و پرورش، وابستگی بالای آن ها به غذای زنده و تلفات ناشی از استفاده از جیره خشک در مراحل ابتدایی زندگی می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد استفاده از غذای زنده در مراحل اولیه زندگی در پرورش تاس ماهیان الزامی است، بطوریکه غذادهی لاروهای تاسماهی ایرانی (*Acipencer persicus*) که غذاهای مصنوعی را بسختی می‌پذیرند با آرتمیا به عنوان اولین غذا در تفریخگاه ضروری است (Furuita *et al*., 1999).

آرتمیا به علت اندازه متناسب با دهان لارو، غذای مناسبی محسوب می‌شود، ولی میزان مواد مغذی موجود در آن از جمله چربی، پروتئین و ویتامین جهت تامین نیاز غذای لارو حائز اهمیت می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد، آرتمیا به طور طبیعی از لحاظ اسید چرب ضروری نامناسب است و از سویی عامل سنجش ارزش غذایی غذاهای زنده، محتوای اسیدهای چرب ضروری آنهاست (Furuita *et al*., 1999). بنابراین، غنی‌سازی آن با اسید چرب ضروری برای بهبود کیفیت آن به عنوان غذای زنده و همچنین تامین اسیدهای چرب در بدن به دلیل اهمیت نقش آنها در تولید انرژی، تولیدمثل، پاسخ ایمنی، تنظیم و بالانس یونی و ساختار غشاء سلولی ضروری است (Yousefian and Najafpour, 2011).

روغن سویا یکی از مهمترین روغن‌های گیاهی است که در جهان تولید می‌شود. این اهمیت به دلیل فراوانی، ارزانی، کیفیت خوب روغن، محصول پروتئینی با ارزش به جا مانده از روغن کشی و بازده بالا می‌باشد (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2012). روغن سویا از لحاظ اسید چرب لینولئیک غنی بوده و فاقد کلسترول است (Figueiredo-Silva *et al*., 2005). در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی مقدار فسفاتیدها نیز در روغن سویا زیاد است (در حدود ۲ درصد) که با صمغ‌گیری و تصفیه از روغن خارج می‌شود (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2012). با توجه به این موضوع که تاسماهی به اسید چرب n-۶ و اسید چرب n-۳ نیاز داشته و قادر به طویل‌سازی و غیراشباع‌سازی اسید لینولئیک و آلفا-لینولنیک و تبدیل آنها به EPA و DHA است، می‌توان از روغن گیاهی نیز برای غنی سازی آرتمیا استفاده نمود. از مسائل مهم در بحث غنی‌سازی با روغن، اکسیداسیون اسیدهای چرب است. روغن ماهی به خاطر اسید چرب غیراشباع موجود در آن و در نتیجه اکسیداسیون بالا استفاده از آنتی اکسیدان به همراه آن ضروری است. همچنین روغن گیاهی از لحاظ اسید چرب n-۶ غنی بوده و قاعدتاً اکسیداسیون آن نسبت به روغن ماهی کم است. ویتامین E یک اصطلاح عمومی برای گروهی از ترکیبات محلول در چربی (توکوفرول و توکوتری‌انل‌ها) هستند که از چربی‌های اشباع نشده در برابر اکسیداسیون حفاظت می‌نمایند. هر دو گروه توکوفرول و توکوتری انل ها آنتی‌اکسیدان‌های قدرتمندی در جیره و روغن‌های خوراکی هستند، اما در بدن حیوانات فعالیت آلفا توکوفرول نسبت به سایر اشکال ویتامین E بیشتر است. علاوه بر این آلفا-توکوفرول در سنتز ایکوزانوئیدها و جلوگیری از تکثیر برخی از انواع سلول‌های خاص، دخالت می‌کند (Azzi *et al*., 1993). در ماهی‌ها نیز همانند سایر حیوانات، ویتامین E از طریق تعدیل پاسخ‌های ایمنی، مقاومت به بیماری‌ها و سلامتی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Waagbo, 1994; Trichet, 2010). اکسیداسیون کنترل نشده چربی‌ها به طور معمول در داخل بدن کم است اما این نرخ ممکن است در شرایط استرس اکسیداتیو افزایش یابد. در شرایطی که آنتی‌اکسیدان‌ها وجود ندارند، اکسیداسیون چربی‌ها ممکن است تا زمانی که PUFA ها برای اکسیداسیون در دسترس هستند، ادامه داشته باشد (Frankel, 1998).

تعادل یونی در حیوانات آبزی تا حدی توسط اسیدهای چرب ضروری تنظیم می‌شود. در واقع اسیدهای چرب

غشاء سلولی، فعالیت و شدت حضور پروتئین‌های متصل به غشاء را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Huang *et al.*, 2008). ماهیان خاویاری جزء ماهیان لب‌شور محسوب می‌شوند و عدم توانایی این ماهیان در سنتز اسیدهای چرب ضروری، نیاز به دریافت این ماده غذایی از طریق زنجیره غذایی است (Yousefian *and* Najafian, 2011). در تحقیقات بسیاری بیان شده است که زوائد پیلوریک در جذب مواد غذایی و یون‌ها شرکت دارند و اندازه بزرگتر سکوم و انتروسیت‌ها، باعث بهبود عملکرد حیوان در تنظیم اسمزی می‌شود (Loretz and Pollina, 2000).

با توجه به اینکه متخصصین شیلاتی مرگ و میر بیش از اندازه بچه ماهیان خاویاری در زمان رهاسازی را متاثر از مشکلات رودخانه‌ها از یک طرف و عدم وجود کیفیت مناسب بچه ماهیان تولیدی از طرف دیگر می‌دانند، باید از طریق بهبود کارایی اندام‌های موثر در تنظیم اسمزی از جمله زوائد پیلوریک، به افزایش مقاومت بچه ماهیان در مقابل تغییرات شوری و متعاقب آن به افزایش بازگشت شیلاتی این گونه با ارزش کشور کمک کرد. بنابراین عدم وجود گزارش علمی در مورد نقش روغن‌های ماهی و سویا و ویتامین E بر زوائد پیلوریک لارو تاسماهی ایرانی سبب شد که مطالعه حاضر، تاثیر تغذیه با آرتمیا فرانسیسکانا غنی شده با روغن ماهی و روغن سویا و نیز ویتامین E را در ساختار زوائد پیلوریک مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش کار

تهیه ماهی و طراحی آزمایش

تعداد ۱۵۰۰ قطعه لارو تاسماهی ایرانی ۶ روزه (پس از تفریخ) با میانگین وزن اولیه ۲±۵۱ میلی‌گرم از مرکز ماهیان خاویاری شهید رجایی ساری تهیه و بعد به سالن پرورش ماهی دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهرستان نور در استان مازندران، انتقال یافته و در ۱۵ مخزن ۹۰ لیتری فایبرگلاس مدور به صورت تصادفی به میزان ۸۰ عدد لارو در هر مخزن ذخیره شدند. لاروها به مدت ۳ روز با محیط جدید سازگار شدند. سپس اندازه‌گیری وزن و طول آنها صورت گرفت. این مطالعه در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۵ تیمار برای هر تیمار آزمایشی ۳ عدد تانک (۳ تکرار) در نظر گرفته شد (جدول ۱).

جدول ۱: تیمارهای آزمایشی استفاده شده در مطالعه حاضر
Table 1 Experimental treatments in present study.

تیمار	تیمارهای مورد استفاده
۱	آرتمیای غنی‌نشده به عنوان تیمار شاهد (C)
۲	آرتمیای غنی‌شده با روغن ماهی و ۱۵ درصد ویتامین E به صورت درصد وزنی (F15)
۳	آرتمیای غنی شده با روغن ماهی و ۳۰ درصد ویتامین E به صورت درصد وزنی (F30)
۴	آرتمیای غنی‌شده با روغن سویا و ۱۵ درصد ویتامین E به صورت درصد وزنی (S15)
۵	آرتمیای غنی‌شده با روغن سویا و ۳۰ درصد ویتامین E به صورت درصد وزنی (S30)

آماده سازی محلول غنی سازی

روغن ماهی کیلکا (شرکت تعاونی تولیدی پودر و روغن بابلسر، مازنداران) و روغن سویا (کارخانه خوراک دام و آبزیان ساری، مازندران) به عنوان منابع روغن و all-rac-α-Tocopheryl acetate (شرکت Merck آلمان) به عنوان منبع ویتامین E مورد استفاده قرار گرفت. محلول غنی‌سازی با اضافه کردن ۲۰ گرم روغن ماهی کیلکا یا روغن سویا به ۲۰ گرم آب حاوی ۲ میلی لیتر سدیم پلی سوربات به عنوان امولسیفایر تهیه شد. محلول حاصل به وسیله مگنت مغناطیسی در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ویتامین E به صورت درصد وزنی روغن (۳ گرم یا ۶ گرم به عنوان دوزهای ۱۵ و ۳۰ درصد) به محلول فوق اضافه شده و مجددا به مدت ۵ دقیقه هم زده شد (Noshirvani *et al.*, 2006).

کشت و غنی سازی آرتمیا

سیست (*Artemia franciscana*) برای کشت استفاده شد. تخم گشایی سیست آرتمیا در انکوباتورهای یک لیتری و شرایط استاندارد (شوری ۳۵ گرم در لیتر، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد) انجام شد (Sorgeloos *et al.*, 1986). دو لامپ فلورسنت نور مورد نیاز و هواده نیز

اکسیژن مورد نیاز را طی انکوباسیون فراهم کرد. غنی سازی با غلظت ۰/۵ میلی لیتر از محلول غنی سازی به ازای هر لیتر انکوباتور (شوری ۲۸ گرم در لیتر، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، ۳۰۰ عدد ناپلی در هر میلی لیتر) انجام شد و بعد از ۱۲ ساعت غنی سازی، آرتمیا با آب شور برای زدودن چربی‌های اضافی و جذب نشده شسته شد و سپس در اختیار لاروها قرار گرفت (Leger *et al.*, 1987).

پرورش لاروها و پیراسنجه‌های فیزیکوشیمیایی آب

مخازن در سالن کاملا سرپوشیده که روشنایی آن توسط نور فلورسنت تامین می‌شد، قرار گرفتند و لاروها تحت رژیم نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در طی شبانه روزی قرار گرفتند. از ۲ عدد مخزن فایبرگلاس ۲۰۰ لیتری به عنوان مخزن ذخیره آب استفاده شد و سیفون کردن مخازن بصورت روزانه به منظور حفظ کیفیت آب و حذف آرتمیاهای خورده نشده صورت گرفت. از روز دهم پس از تفریخ تغذیه لاروها با آرتمیا غنی‌نشده به مدت ۵ روز انجام گرفت. سپس تغذیه با ۵ تیمار مختلف به مدت ۱۷ روز انجام شد. لاروها روزانه در ۴ نوبت، تا حد اشباع و در ساعات مشخص (۸ صبح، ۱۲ ظهر، ۴ بعد از ظهر و ۸ شب) غذادهی شدند. در طول دوره پرورش دمای آب ۱±۱۹ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول ۰/۳±۸/۵ میلی‌گرم در لیتر و pH آب ۰/۱±۷/۵ بود.

بافت شناسی

آزمایش‌های بافت‌شناسی در آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بدین ترتیب که تعداد ۱۵ قطعه لارو تاسماهی از هر یک از گروه‌های شاهد و تیمار، پس از قطع سر و ساقه دمی به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در محلول بوئن تثبیت و سپس توسط اتانول ۷۰٪ تا خارج شدن کامل بوئن آبکشی شدند. بعد از انجام مراحل آبگیری، قالب‌گیری با پارافین Merck صورت گرفت. برای اطمینان از تمیزی لام و لامل‌ها، ابتدا ۲۴ ساعت در محلول ۹۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۰٪ به‌اضافه ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک قرار گرفتند و سپس لام و لامل‌ها توسط آب مقطر شسته شده و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. با استفاده از میکروتوم مدل Microds 8402 (ساخت شرکت دیدسبز)، برش‌های ۵ میکرومتری از قالب‌ها تهیه و سپس برش‌ها با استفاده از اتانول ۵۰٪ و آب با دمای ۴۰°C باز شده و روی لام قرار داده شدند. سپس لام‌ها در آون با دمای ۲۴°C به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری و به روش هماتوکسیلین-ائوزین-گرین‌لایت رنگ‌آمیزی شد. لام‌های رنگ‌آمیزی شده توسط میکروسکوپ نوری Nikon مورد مطالعه و عکس برداری قرارگرفتند. از عکس های تهیه شده با بزرگنمایی 4x جهت بررسی بخش‌های مختلف زوائد پیلوریک (مساحت کل، مساحت بافت، مساحت فضای خالی و مساحت لایه پوششی) و نیز بزرگنمایی 40x برای شمارش تعداد سلول‌های پوششی (انتروسیت) استفاده شد (فلاح و همکاران،۱۳۹۰؛ Martoja and Martoja–Pierson, 1967).

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای بررسی روابط میان عوامل مختلف جیره‌ای (غنی‌سازی با روغن ماهی، روغن سویا و ویتامین E) بر شاخص‌های بافتی مورد مطالعه از رگرسیون خطی چند متغیره استفاده گردید (Steel *et al.*, 1997). البته پیش از انجام بررسی‌های فوق تمام مفروضات رگرسیون نظیر هم‌خطی، همگنی واریانس و توزیع نرمال داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از Execel 2010 برای رسم نمودار استفاده شد.

نتایج

در بررسی بافت‌شناسی زوائد پیلوریک لارو تاسماهی ایرانی در گروه شاهد در قسمت قدامی روده و در انتهای منطقه پیلوریک معده، زوائد پیلوریک توسط بافت همبندی سازمان دهی شده و ظاهر یک اندام را پیدا کرده‌اند. زائده پیلوریک ساختار برگ مانند حجیمی در سطح شکمی ایجاد نموده است و دارای چین های مخاطی گسترده و پیچیده ای هستند. سلول‌های پوششی انتروسیت‌ها در کنار هم به صورت فشرده، سطح داخلی زوائد پیلوریک رو پوشانده و قسمت انتهایی این سلول‌ها دارای

میکروویلی‌های منظم بود. این سلول‌ها به راحتی قابل شمارش در واحد سطح بودند. در برش طولی ویلی‌ها، انتروسیت‌ها و سلول‌های موکوسی مشهود بودند (شکل ۱). در تیمارهای آرتمیای غنی‌شده با روغن ماهی (شامل ۱۵ و ۳۰ درصد ویتامین E) و نیز روغن سویا (شامل ۱۵ درصد ویتامین E)، ساختار کلی زوائد پیلوریک با تیمار شاهد متفاوت بود (شکل های ۲ الی ۴). زوائد پیلوریک از حالت برگی شکل در ناحیه شکمی خارج شده و بصورت یک توده نسبتا بیضی و کشیده درآمده است. فضای داخلی و سطح بافت پوششی زائده پیلوریک براحتی قابل تشخیص بود.

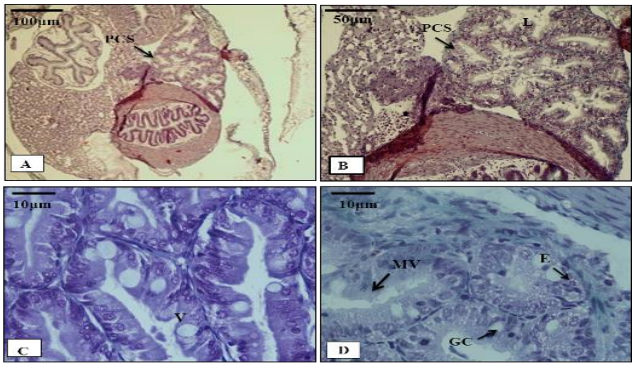
زائده پیلوریک دارای چین‌های مخاطی گسترده و پیچیده‌ای است که این گستردگی و پیچیدگی در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان می‌دهد. سلول‌های پوششی (انتروسیت‌ها) و سلول‌های جامی شکل (سلول‌های موکوسی به راحتی قابل تشخیص و شمارش هستند. افزایش مساحت لایه پوششی در این تیمارها کاملا مشهود بود. در حالی که تیمار آرتیمای غنی شده با روغن سویا (شامل ۳۰ درصد ویتامین E) ساختار زوائد پیلوریک با تیمار شاهد زیاد متفاوت نبود (شکل ۵).

اندازه‌گیری مساحت کل زوائد پیلوریک و مساحت بخش بافتی به روش رگرسیون گام به گام لارو تاسماهی ایرانی نشان داد که روغن ماهی به عنوان عامل اصلی و موثر بر این شاخص ها بوده و غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی موجب افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) این شاخصها گردیده است (جداول ۲ و ۳).

بر اساس نتایج بدست آمده هر دو روغن ماهی و سویا به عنوان عامل اصلی و موثر بر شاخص مساحت لایه پوششی زائده پیلوریک بودند و غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی و سویا موجب افزایش معنی‌دار ($P<0/05$) این شاخص گردید و با توجه به β هر یک از عوامل یاد شده، تاثیر روغن ماهی بر مساحت لایه پوششی حدود دو برابر روغن سویا تشخیص داده شد (جدول ۴).

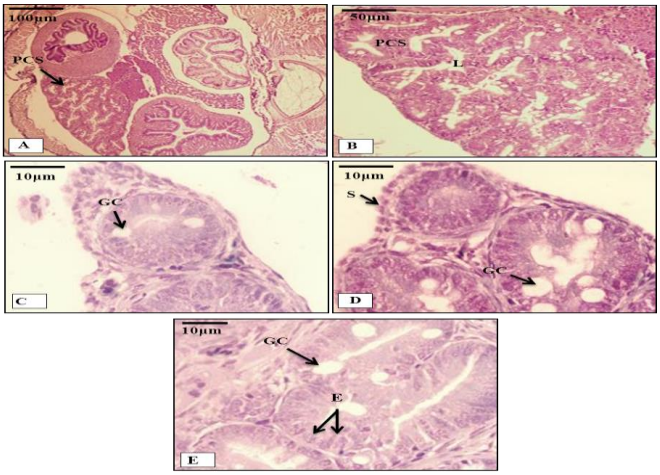
نتایج تعداد انتروسیتها نیز نشان داد که ویتامین E عامل اصلی و موثر بر این شاخص می باشد. به طوری که افزایش ویتامین E موجب کاهش معنی‌دار تعداد انتروسیت‌ها شد و در بالاترین مقادیر ویتامین E کمترین تعداد انتروسیت‌ها مشاهده شد (جدول ۵).

مساحت فضای داخلی (Lumen) در تمامی تیمارهای تحت بررسی، تفاوت چندانی نشان نداد ($P>0/05$) و تحت تاثیر عوامل جیره‌ای قرار نگرفت. (شکل ۶).



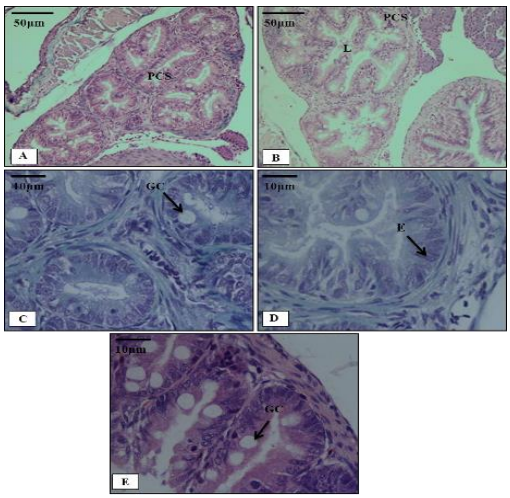
شکل ۱: برش عرضی و طولی زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی، گروه شاهد (رنگ آمیزی با هماتوکسلین-ائوزین-گرین لایت). A: برش عرضی زائده پیلوریک بطور کامل مشاهده می‌شود (۴X). B: برش عرضی زائده پیلوریک با چین های مخاطی گسترده و پیچیده‌ای مشاهده می‌شود(۱۰X). C: برش طولی بخشی از زائده پیلوریک که ویلی‌ها قابل مشاهده هستند (۴۰X).D: سلول‌های جامی و انتروسیت‌ها با هسته مشخص بخوبی مشاهده می‌شود (۴۰X).

Figure 1: Hematoxylin -Eosin-Green light stained longitudinal and cross sections of pyloric caeca from Persian sturgeon in Control treatment. A: cross section of pyloric caeca, (4X). B: cross section of pyloric caeca with mucosal folds, (10X). C: longitudinal section of pyloric caeca with observable villi, (40X). D: Goblet cells and Enterocyte with clear nucleus, (40X). *E: Enterocyte, GC: Goblet cells, L: Lumen, MV: Microvilli, PCS: Pyloric caeca sections, V: Villi*



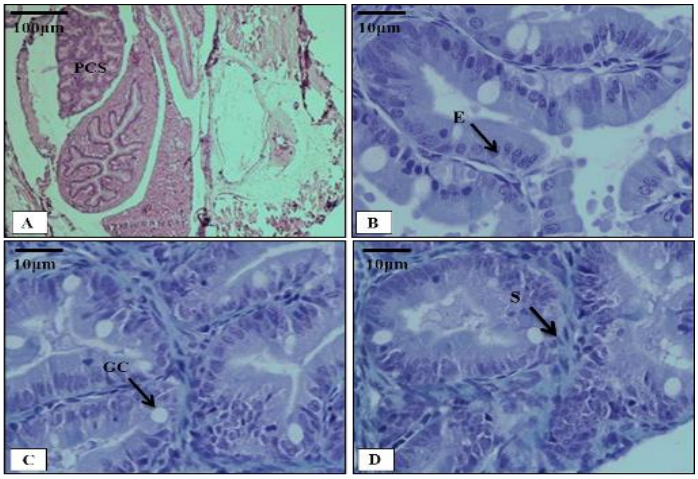
شکل ۲: برش عرضی زائده پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی، تیمار E (F15) (رنگ آمیزی با هماتوکسیلین- ائوزین- گرین لایت). A: برش عرضی زائده پیلوریک بطور کامل دیده می شود (۴X). B: برش عرضی زائده پیلوریک که چین های مخاطی گسترده و پیچیده مشاهده می‌شود(۱۰X). C: برش عرضی قسمت ابتدایی زائده پیلوریک همراه با لایه سروزا کاملا مشاهده می‌شود (۴۰X).D: برش عرضی قسمت انتهای زائده پیلوریک همراه با لایه سروزا کاملا مشاهده می‌شود(۴۰X). E: سلول‌های جامی و انتروسیت‌ها با هسته مشخص بخوبی مشاهده می‌شود (۴۰X).

Figure 2: Hematoxylin - Eosin-Green light stained cross section of pyloric caeca from Persian Sturgeon in (F15)E treatment. A: cross section of pyloric caeca, (4X). B: cross section of pyloric caeca with mucosal folds, (10X). C: cross cestion of proximal pyloric caeca with serous layer, (40X). D: cross section of posterior pyloric caeca with with serous layer, (40X). E: Goblet cells and Enterocyte with clear nucleus, (40X). *E: Enterocyte, GC: Goblet cells, L: Lumen, S: Serose, PCS: Pyloric caeca sections*.



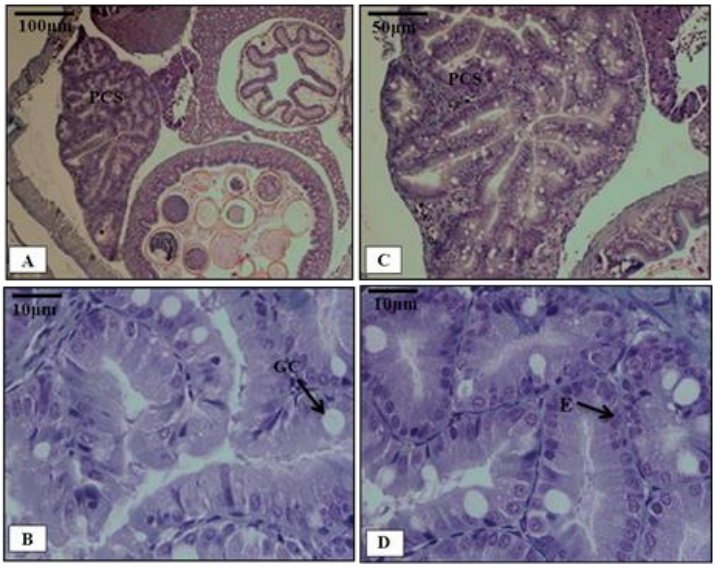
شکل ۳: برش عرضی و طولی زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی، تیمار E (F30) (رنگ‌آمیزی با هماتوکسلین – ائوزین- گرین لایت). A: برش عرضی زائده پیلوریک به طور کامل مشاهده می‌شود (۱۰X). B : برش عرضی زائده پیلوریک با چین‌های مخاطی نسبتا گسترده و پیچیده‌ای مشاهده می‌شود (۴۰X). Cو D : برش عرضی قسمتی از زائده پیلوریک. سلولهای مخاطی و انتروسیتها با هسته مشخص بخوبی مشاهده می‌شود(۴۰X). E: برش عرضی قسمتی از زائده پیلوریک به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسلین- ائوزین مشاهده می‌شود (۴۰X).

Figure 3: Hematoxylin - Eosin-Green light stained longitudinal and cross sections of pyloric caeca from Persian sturgeon in (F30)E treatment. A: cross section of pyloric caeca (10X). B: cross section of pyloric caeca with extended mucosal folds (40X). C, D: cross section of pyloric caeca with Goblet cells and Enterocyte, (40X). E: Hematoxylin - Eosin stained crosscut of pyloric caeca, (40X). *E: Enterocyte, GC: Goblet cells, PCS: Pyloric caeca section*



شکل ۴: برش عرضی و طولی زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی، تیمار E (S15) (رنگ‌آمیزی با هماتوکسلین – ائوزین- گرین لایت). A: برش عرضی زائده پیلوریک بطور کامل مشاهده می‌شود (۱۰X). B : برش طولی زائده پیلوریک که انتروسیتها و ویلی‌ها مشاهده می‌شود (۴۰X). C و D: برش عرضی قسمتی از زائده پیلوریک، سلول‌های جامی و انتروسیت‌ها بخوبی مشاهده می‌شود(۴۰X).

Figure 4: Hematoxylin-Eosin-Green light stained longitudinal and cross section of pyloric caeca from Persian sturgeon in (S15)E treatment. A: cross section of pyloric caeca (10X). B: Longitudinal section of pyloric caeca with Enterocyte and observable microvilli (40X). C,D: cross section of pyloric caeca with Goblet cells and Enterocyte (E) (40X). *E: Enterocyte, GC: Goblet cells, PCS: Pyloric caeca section.*



شکل ۵: برش عرضی زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی، تیمار E (30) (رنگ‌آمیزی با هماتوکسلین – ائوزین- گرین لایت). A: برش عرضی که زائده پیلوریک بطور کامل دیده می‌شود (۴X). B : برش طولی بخشی از زائده پیلوریک (۱۰X). C و D: برش عرضی قسمتی از زائده پیلوریک. سلول‌های جامی و انتروسیت‌ها بخوبی دیده می‌شود(۴۰X).

Figure 5: Hematoxylin-Eosin-Green light stained cross section of pyloric caeca from Persian Sturgeon in (S30)E treatment. A: cross section of pyloric caeca (4X). B: Longitudinal section of pyloric caeca (10X). C,D: cross section of pyloric caeca with observable Goblet cells and Enterocyte, (40X). *E: Enterocyte, GC: Goblet cells, PCS: Pyloric caeca section*

جدول ۲: نتایج رگرسیون گام به گام مساحت کل زوائد پیلوریک لارو تاسماهی ایرانی در برابر عوامل مختلف جیره‌ای مورد بررسی
Table 2: Stepwise regression results for total pyloric caeca area of Persian sturgeon larvae in different treatment.

متغیر وابسته	متغیر مستقل	B (±SE)	Beta	P-value
Constant	Constant	276118.810±88693.340	-	0.000
مساحت کل زوائد پیلوریک	F.O	53022.712±13745.384	0.731	0.002
P-value= 0.002 F (1,13) = 14.880				

جدول ۳: نتایج رگرسیون گام به گام مساحت بخش بافتی زوائد پیلوریک لارو تاسماهی ایرانی در برابر عوامل مختلف جیره‌ای مورد بررسی
Table 3: Stepwise regression results for pyloric caeca histo area of Persian sturgeon larvae in different treatment.

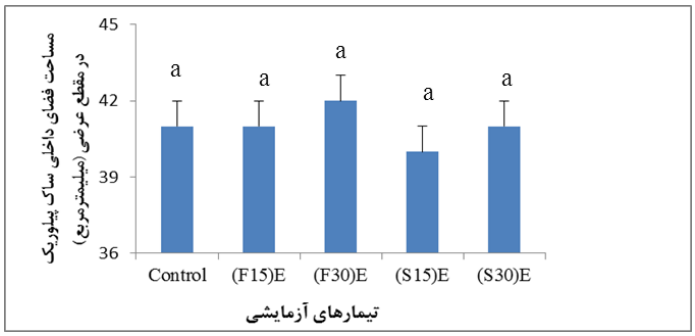
متغیر وابسته	متغیر مستقل	B (±SE)	Beta	P-value
Constant	Constant	2382288.089±8104.196	-	0.000
مساحت بخش بافتی زوائد پیلوریک	F.O	50207.478±12813.859	0.736	0.002
F(1,13)= 15.352 P-value= 0.002				

جدول ۴: نتایج رگرسیون گام به گام مساحت بافت پوششی (انتروسیت) زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی در برابر عوامل مختلف جیره‌ای مورد بررسی
Table 4: Stepwise regression results for pyloric caeca epithelial area of Persian sturgeon larvae in different treatment.

متغیر وابسته	متغیر مستقل	B (±SE)	Beta	P-value
Constant	Constant	166750.700±11526.793	-	0.000
مساحت لایه پوششی زوائد پیلوریک	F.O	68414.783±14117.381	1.073	0.000
	S.O	33971.967±14117.381	0.533	0.033
F(2,12)=12.354 P-value= 0.001				

جدول ۵: نتایج رگرسیون گام به گام تعداد انتروسیت‌ها در واحد سطح زوائد پیلوریک لارو تاسماهی ایرانی در برابر عوامل مختلف جیره‌ای مورد بررسی
Table 5: Stepwise regression results for Enterocyte counts of pyloric caeca from Persian sturgeon larvae in different treatment.

متغیر وابسته	متغیر مستقل	B (±SE)	Beta	P-value
Constant	Constant	1057.152±8.668	-	0.000
تعداد انتروسیت‌های زوائد پیلوریک	Vit.E	-0.035±0.015	-546	0.035
F(1,13)= 5.520 P-value= 0.002				



شکل ۶: میانگین مساحت فضای داخلی (Lumen) زوائد پیلوریک در لارو تاسماهی ایرانی در تیمارهای تحت آزمایش.

Contol: آرتمیای غنی‌نشده به عنوان تیمار شاهد، E(F15): آرتمیای غنی‌شده با روغن ماهی و ۱۵ درصد ویتامین E، E(F30): آرتمیای غنی‌شده با روغن ماهی و ۳۰ درصد ویتامین E، E(S15): آرتمیای غنی‌شده با روغن سویا و ۱۵ درصد ویتامین E، E(S30): آرتمیای غنی‌شده با روغن سویا و ۳۰ درصد ویتامین E.

Figure 6: Average Lumenal area in the pyloric caeca of Persian sturgeon larvae. Control: non-enriched artemia, (F15)E: enriched artemia with fish oil and 15% vitamin E, (F30)E: enriched artemia with fish oil and 30% vitamin E, (S15)E: enriched artemia with soybean oil and 15% vitamin E, (S30)E: enriched artemia with soybean oil and 30% vitamin E.

بحث

در این مطالعه تاثیر غنی‌سازی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با روغن ماهی و سویا همراه با ویتامین E روی ساختار و عملکرد تنظیم یونی زوائد پیلوریک تاسماهی ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت. زوائد پیلوریک نوعی سازگاری و استراتژی تکاملی برای افزایش سطح جذبی روده بدون افزایش طول یا ضخامت خود روده محسوب می‌شود و از لحاظ جنینی از روده قدامی مشتق شده و اپی تلیال مجرایی آنها از نظر ساختاری به قسمت‌های دیگر روده شباهت دارد بر طبق نظریات محققان عملکرد ضمائم پیلوریک روده اساسا متفاوت از روده قدامی نیست و عملا، مهم‌ترین ناحیه از دستگاه گوارش برای گوارش مواد مغذی هستند (Veillette and Young, 2005).

از سویی، بافت پوششی روده (پوشانده شده توسط انتروسیت‌ها) مهم‌ترین متغیر ساختاری، برای تعیین میزان ظرفیت جذب مواد مغذی است. از آنجاییکه سطح جذب نیز بستگی به تعداد و مساحت لایه پوششی انتروسیت‌ها و همچنین طول انتروسیت‌ها، پرزهای توسعه یافته در لومن روده و طول میکروپرزها انتروسیت‌ها دارد، بنابراین اندازه‌گیری این متغیرها کمک به درک بیشتر از میزان جذب در شرایط مختلف دسترسی به غذا می‌کند.

مشاهدات بافت‌شناسی زوائد پیلوریک در تیمارهای روغن ماهی مورد استفاده در این آزمایش نشان داد مساحت کل و بخش بافتی و لایه پوششی زوائد پیلوریک در تیمار روغن ماهی ۳۰٪ ویتامین E و تیمار روغن ماهی ۱۵٪ ویتامین E افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد. بنابراین روغن ماهی به عنوان عامل موثر در این شاخص‌ها بوده و از طرفی تاثیر روغن ماهی بر روی مساحت لایه پوششی دو برابر روغن سویا (عامل موثر دیگر در مساحت لایه پوششی) بود. نتایج بررسی انجام شده در بچه ماهی نورس آزاد دریای خزر نشان داد مساحت لایه پوششی در سطوح بالای n-3 (HUFA) جیره افزایش نشان می‌دهد (ستوده و همکاران، ۱۳۹۴). به نظر می‌رسد تاثیر دو برابر روغن ماهی بر افزایش مساحت لایه پوششی نسبت به روغن سویا به مقادیر بالای اسیدهای چرب بلند زنجیره و چند غیر اشباع n-3 (HUFA) موجود در آن بازمی‌گردد.

از طرفی نتایج بافت‌شناسی مطالعه حاضر نشان داد که ویتامین E عامل اصلی و موثر بر شاخص تعداد انتروسیت‌های زوائد پیلوریک بوده به طوری که افزایش

ویتامین E تاثیر منفی در تعداد انتروسیت‌ها داشته و در بالاترین مقادیر ویتامین E کمترین تعداد انتروسیت‌ها مشاهده می‌شود. چربی‌ها ترکیبات بسیاری حساسی در برابر اکسیداسیون هستند و محصولات اکسیداسیون چربی در نهایت موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشائی، پروتئین‌ها و DNA می‌گردد (Betancor *et al.*, 2015). ویتامین E یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشد که نه تنها از فاسد شدن لیپیدها در جیره غذایی و همچنین دستگاه گوارش ماهی‌ها جلوگیری می‌کند، بلکه از اکسیداسیون اسیدهای چرب بسیار غیراشباع در بافت‌های غشایی بخصوص غشاهای سلولی نیز جلوگیری می‌کند. به طور کلی نتایج بررسی حاضر نشان دهنده این است که افزایش مقدار ویتامین E از ۱۵٪ به ۳۰٪ موجب افزایش معنی‌دار اندازه انتروسیت‌ها (کاهش در تعداد انتروسیت‌ها) شده که این تغییرات بافتی به عنوان مکانیسمی جهت افزایش سطح جذب مواد مغذی در روده عمل کرده و رشد بهتر این تیمارها را می‌تواند به دنبال داشته باشد. مطالعات انجام شده توسط نادری کوشک و عابدیان کناری (۱۳۹۳) نشان داد که ویتامین E به عنوان عامل موثر بر فاکتورهای رشد بوده و افزایش ویتامین E از ۱۵٪ به ۳۰٪ موجب بهبود رشد لارو تاسماهی ایرانی شده که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

به طور کلی مشاهدات بافت‌شناسی روده ابتدایی و زوائد پیلوریک در تیمارهای روغن گیاهی مورد استفاده در این آزمایش نشان داد که تفاوت مورفولوژیکی بسیار محدودی در میان تیمارهای روغن گیاهی و تیمار شاهد وجود دارد. مساحت لایه‌های پوششی در تیمار روغن سویا همراه با ۱۵ و ۳۰ درصد ویتامین E نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد و روغن سویا نیز عامل موثر بر مساحت لایه پوششی شناخته شد. تغییرات بافت‌شناسی روده ماهی اغلب در اثر تغذیه با جیره‌های حاوی مقادیر بالای چربی اتفاق می‌افتد (Kestemont *et al.*, 2001). بنابراین آسیب‌های بافتی در این اندام به میزان بالای چربی که به سختی جذب می‌شوند، از جمله به روغن‌های گیاهی مرتبط است (Parpoura and Alexis, 2001). استفاده از روغن‌های گیاهی مانند روغن سویا و زیتون و کلزا در جیره ماهیان مانند سیم دریایی، قزل آلای رنگین کمان و سایر آزاد ماهیان موجب تجمع چربی در انتروسیت‌ها، بزرگ شدن هسته سلول، تخریب غشای سلولی که منجر به نفوذ ماکروفاژها میگردد و وقوع نکروز سلول‌های کبدی گردیده است (Parpoura and Alexis, 2001; Caballero *et al.*, 2002; Olsen *et al.*, 2003) با این حال تجمع چربی و آسیب سلولی نه تنها به میزان چربی بلکه به ماهیت اسیدهای چرب جیره نیز وابسته است (Olsen *et al.*, 2000). همانطور که قبلا بحث شد یکی از دلایل تجمع چربی انتروسیت‌ها در اثر تغذیه با روغن‌های گیاهی کاهش میزان اسیدهای چرب امگا۳ HUFA و در نتیجه کاهش ساخت لیپوپروتئین‌ها است (Watanabe, 1982; Sargent *et al.*, 1989; Olsen *et al.*, 1999). البته در این مطالعه در تیمارهای روغن گیاهی هیچ گونه آسیب بافتی در روده و تجمع چربی در انتروسیت‌ها و تخریب غشای سلولی مشاهده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت تغذیه لارو تاسماهی با آرتمیای غنی شده با روغن سویا اثرات سوئی بر ساختار روده نداشته و همچنین موجب افزایش مساحت لایه پوششی نسبت گروه شاهد می‌شود. از طرفی تاسماهیان هم به اسیدهای چرب n-۶ و اسیدهای چرب n-۳ نیاز داشته و توانایی غیراشباع سازی اسید لینولئیک و آلفا–لینولنیک طویل سازی آن‌ها و تبدیل آنها به آراشیدونیک اسید، EPA و DHA را دارا می‌باشند. بنابراین Δ-6 desaturase ممکن است در متابولیسم اسید چرب ماهیان خاویاری محدودکننده نباشد (Xu *et al.*, 1993; Deng *et al.*, 1998; Sener *et al.*, 2005).

نتیجه‌گیری کلی

مشاهدات بافت‌شناسی زوائد پیلوریک در تیمارهای روغن ماهی مورد استفاده در این آزمایش نشان داد مساحت کل و بخش بافتی و لایه پوششی ساک پیلوریک در تیمار روغن ماهی با ۳۰ درصد ویتامین E و تیمار روغن ماهی با ۱۵ درصد ویتامین E افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد. بنابراین روغن ماهی به عنوان عامل موثر در این شاخص‌ها بوده است. از طرفی دیگر تاثیر روغن ماهی بر

روی مساحت لایه پوششی دو برابر روغن سویا (عامل موثر دیگر در مساحت لایه پوششی) بود. ویتامین E عامل اصلی و موثر بر شاخص تعداد انتروسیت‌های زوائد پیلوریک بوده به طوری که افزایش ویتامین E موجب کاهش معنی‌دار تعداد انتروسیت‌ها شده و در بالاترین مقادیر ویتامین E کمترین تعداد انتروسیت‌ها مشاهده شد. در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که غنی‌سازی آرتمیا با روغن ماهی همراه با ویتامین E می‌تواند با توجه به افزایش معنی‌دار لایه پوششی و اندازه انتروسیت‌ها و در نتیجه افزایش سطح هضم و جذب مواد غذایی موجب بهبود رشد و نمو روده لارو تاسماهی ایرانی شود.

منابع

ستوده، ا.، عابدیان کناری، ع.، خدابنده، ص. و اوجی فرد، ا.، ۱۳۹۴. تغییرات بافت شناسی دستگاه گوارش و ترکیب اسیدهای چرب ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) در اثر تغذیه با سطوح مختلف اسیدهای چرب ضروری EPA وDHA و ویتامین E جیره. مجله بوم شناسی آبزیان، ۵ (۳): ۱۳۸-۱۲۴.

فلاح، س.، خدابنده، ص.، رجبی، ح. و امیری مقدم، ج.، ۱۳۹۰. اثر چربی گیاهی جیره غذایی بر ساختار سکوم‌های گوارشی بچه ماهیان آزاد خزر (*Salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۰ (۱): ۱۲۲-۱۱۱.

نادری کوشک، م. و عابدیان کناری، ع.، ۱۳۹۳. اثرات آرتمیای غنی شده با روغن‌های ماهی و سویا همراه با ویتامین E بر رشد، مقاومت به استرس، فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون چربی لارو تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus*. مجله علوم و فنون شیلات، ۳ (۲): ۸۵-۷۳.

Azzi, A.M., Bartoil, G., Boscoboinic, D., Hensey C. and Szecwzyk, A., 1993. Alpha-tocopherol protein kinase C regulation of intracellular signaling. In: Packer, L.and Fuchs, J., (Ed) Vitamin E in Health and Disease. Marcel Dekker Inc., New York, USA. pp: 371-384.

Betancor, M.B., Sprague, M., Sayanova, O., Usher, S., Campbell, P.J., Napier, J.A., Caballero, M.J. and Tocher, D.R., 2015. Evaluation of a high-EPA oil from transgenic *Camelina sativa* in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Effects on tissue fatty acid composition, histology and gene expression. Aquaculture, 444:1-12. DOI:10.1016/j.aquaculture.2015.03.020.

Caballero, M., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. and Izquierdo, M., 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 214:253-271. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00852-3.

Chehbanov, M. and Billard, R., 2001. The culuture of sturgeons in Russia production of juveniles for stocking and meat for human consumption. Aquatic Living Resources, 14:375-381. DOI:10.1016/S0990-7440(01)01122-6.

Deng, D., Hung, S. and Conklin, D., 1998. Lipids and fatty acids: White sturgeon (*Acipenser transmontanus*) require both n-3 and n-6 fatty acids. Aquaculture, 161(1):333-335.

Figueiredo-silva, A., Rocha, E., Dias, J., Silva, P., Gomes, E. and Valente, L.M.P., 2005. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass

(*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juvenils. Aquaculture Nutrition, 11(2):147-155. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2004.00337.x.

Frankel, S., 1998. The more distantly related of the action-related protein. In Vale, R. and Kreis, T., (Ed.) Guidbook to the Cytoskeletal and Motor Proteins, Oxford University Press, Oxford, UK. pp: 49-51.

Furuita, H., Konishi, K. and Takeuchi, T., 1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture, 170:59-69. DOI:10.1016/S0044-8486(98)00386-X.

Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F., 2012. Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Springer Science and Business Media, New York, USA. 573P.

Huang, S.S.Y., Fu, C.H.L., Higgs, D.A., Balfry, S.K., Schulte, P.M. and Brauner, C.J., 2008. Effect of dietary canola oil level on growth performance, fatty Acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon parr, (*Oncorhynchus tshawytscha).* Aquaculture, 274:109-117. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.11.011.

Kestemont, P., Vandeloise, E., Melard, C., Fontaine, P. and Brown, P., 2001. Growth and nutritional status of Eurasian perch perca fluviatilis fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. Aquaculture, 203:85-99. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00615-9.

Leger, P., Naessens-Foucquaert, E. and Sorgeloos, P., 1987. Techniques to manipulate the fatty acid profile in Artemia nauplii and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* (M.). Artemia research and its applications, 3:411-424.

Loretz, C.A. and Pollina, C. 2000. Natriuretic peptides in fish physiology. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 125(2):169-187. DOI:10.1016/S1095-6433(99)00178-6.

Martoja, R. and Martoja–Pierson, M., 1967. Initiation aux techniques de l histology animale. Masson et Cie, Paris, France. 345P.

Noshirvani, M., Takami, A.G., Rassouli, A. and Bokaee, S., 2006. The stability of ascorbic acid in *Artemia urmiana* following enrichment and subsequent starvation. Journal of Applied Ichthyology, 22(1):85-88. DOI:10.1111/j.1439-0426.2006.00712.x.

Olsen, R.E., Henderson, R.J. and Ringo, E., 1999. The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, a-tocopherol and spermind on fatty acid composition and indicesof oxidative stress in juvenile Arctic char, *Salvelinus alpines*(L). Fish Physiology and Biochemistry, 20(1):13-29. DOI:10.1023/A:1007767827996.

Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringo, E. and Mayhew, T., 2000. The influences of

dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in Arctic char (*salvelinus alpines* (L.): a quantitative ultrastructural study. Fish Physiology and Biochemistry, 22(3):207-216. DOI:10.1023/A:1007879127182.

Olsen, R.E., Sundell, K., Hansen, T., Hemre, G., Myklebust, R., Mayhew, T. and Ringo, E., 2003. Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *salmo salar* L: An electron microscopical study. Fish Physiology and Biochemistry, 26(3):211-221. DOI:10.1023/A:1026217719534.

Parpoura, A.C.R. and Alexis, M., 2001. Effects of different dietary oils in seabass (*Dicentrarchus labrax*) nutrition. Aquaculture international, 9(6):436-476. DOI:10.1023/A:102059070.

Sargent, J.R., Henderson, R.J. and Tocher, D.R., 1989. The lipids. In: Halver, J. (Ed) Fish Nutrition, 2nd edn. Academic Press, New York, USA. pp: 153-218.

Sener, E., Yildiz, M. and Savas, E., 2005. Effects of dietary lipids on growth and fatty acid composition in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) juveniles. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29(5):1101-1107. DOI: 10.1046/j.1439-0426.2002.00371.x

Sorgeloos, P., Dhert, P. and Candreva, P., 1986. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. Aquaculture, 200(1):147-159. DOI:10.1016/S0044-8486(01)00698-6.

Steel, R.G., Torrie, J.H. and Dickey, D.A., 1997. Principles and procedures of statistics: A biological approach. McGraw-Hill, New York, USA. 672 P.

Trichet, V.V., 2010. Nutrition and immunity: an update. Aquaculture Research, 41(3):356–372. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02374.x.

Veillette, P.A. and Young, G., 2005. Tissue culture of sockeye salmon intestine: functional response of Na^{+}-K^{+}-ATPase to cortisol. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 288(6):R1598-R1605. DOI: 10.1152/ajpregu.00741.2004.

Waagbo, R., 1994. The impact of nutritional factors on the immune system in Atlantic salmon, *salmo salar* L., a review. Aquaculture, 25(2):175-197. DOI: 10.1111/j.1365-2109.1994.tb00573.x.

Watanabe, T., 1982. Lipid nutrition in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 73(1):3-15. DOI: 10.1016/0305-0491(82)90196-1.

Xu, R., Hung, S. and German, J. B., 1993. White sturgeon tissue fatty acid compositions are affected by dietary lipids. The Journal of nutrition, 123(10):1685-1692. DOI: 10.1093/jn/123.10.1685.

Yousefian, M. and Najafpour, S., 2011. Enrichment of artemia using highly unsaturated fatty acid and vitamin C in larval culture of *Acipenser persicus*. World Applied Sciences Journal, 12(8):1266-1268.

Effects of enrichment of *Artemia franciscana* with fish oil and soybean oil accompanied with vitamin E on the structure of pyloric caeca in Persian sturgeon larvae *(Acipenser persicus*)

Khodabandeh F.[1]; Sarvi Moghanlou K.[1*]; Khodabandeh S.[2]

[*]k.sarvimoghanlou@urmia.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran
2 -Department of Marine Biology, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

Abstract

In the present study, the effects of enrichment of *Artemia franciscana* with fish oil and soybean oil accompanied with vitamin E were investigated on the structure of pyloric caeca in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae. A total of 1500 Persian sturgeon larvae (with the average weight of 51±2 mg) were divided into 15 tanks. Larvae were fed for 17 days in 5 experimental treatments including the treatment C (non-enriched artemia), S15 (enriched artemia with soybean oil and 15% vitamin E), S30 (enriched artemia with soybean oil and 30% vitamin E), F15 (enriched artemia with fish oil and 15% vitamin E) and F30 (enriched artemia with fish oil and 30% vitamin E). From each traetment, 15 larvae were collected and were fixed in Bouin's solution for histological studies. Histological results showed that both fish oil and soybean oil were the main and effective factors on the total area and histo area indices of the pyloric caeca and the enrichment of artemia with fish oil and soybean oil was significantly increased this factor as compared to that of the control treatment ($P<0.05$). Fish oil was approximately two times more effective than soybean oil on the total area index of of the pyloric caeca. Furthermore, vitamin E was the main factor that affected the enterocyte numbers of the pyloric caeca. Increasing the amount of vitamin E was significantly decreased the number of enterocytes as compared to that of the control group ($P<0.05$). In conclusion, the enrichment of artemia with fish oil and with the appropriate amounts of vitamine E could have positive effects on the enterocytes of pyloric caeca and could improve ion regulation in the Persian sturgeon larvae.

Keywords: Artemia, Oil, Vitamin E, Pyloric caeca, Persian Sturgeon

[*]Corresponding author