استفاده از آرتمیای غنی شده با LC-PUFA بر بازماندگی و مقاومت به تنش pH در نوزاد فرشته ماهی (*Peterophylum scalar*)

عیسی ابراهیمی[1*]، ناصر آق[2]، مهران یعقوبی[1]

*e_ebrahimi@cc.iut.ac.ir

۱-گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲-گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیا و آبزیان، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۳

چکیده

اثر تغذیه با ناپلیوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده و ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (LC-PUFA) بر بازماندگی و مقاومت در برابر تنش pH در نوزاد فرشته ماهی (*Peterophylum scalar*) در دو بازه زمانی ۲۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله اول آزمایش لاروها با وزن متوسط ۰/۰۳± ۰/۸۶ میلی‌گرم (پس از جذب کیسه زرده) به مدت ۲۰ روز با تیمارهای غذایی(۱. ناپلیوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده و ۲. ناپلیوس آرتمیای غنی شده با LC-PUFA) تغذیه شدند. میزان بازماندگی لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده در طی ۲۰ روز اول آزمایش (٪ ۹۰/۶۶) نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی نشده (٪۸۳/۶۶) بشکل معنی داری (p<۰/۰۵) بیشتر بود. در مرحله دوم آزمایش تغذیه لاروها با وزن متوسط ۳/۷۳± ۲۰/۰۳ میلی‌گرم به مدت ۲۰ روز با غذای تجاری ادامه یافت. در پایان ۲۰ روز دوم آزمایش لاروهای باقی مانده، تحت تنش pH، (۵/۵ ، ۶/۵ ، ۸/۵ و ۹/۵) به مدت ۹۶ ساعت قرار گرفتند. درنهایت، نتایج حاصل نشان داد که لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با LC-PUFA هم در طی دوره پرورش و هم تحت تاثیر تنش pH بازماندگی بیشتری را نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی نشده داشتند. بر اساس یافته‌های این تحقیق استفاده از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با LC-PUFA در تغذیه نوزاد فرشته‌ماهی در مراحل اول چرخه زندگی برای بازماندگی بیشتر و مقاومت نسبت به شرایط نامناسب pH توصیه می‌شود.

لغات کلیدی : ناپلیوس آرتمیا، LC-PUFA، فرشته ماهی، pH، بقاء

*نویسنده مسئول

مقدمه

فرشته ماهی (*Pterophyllum altum*) از زمان ورود به آکواریوم‌ها در سال ۱۹۱۱ میلادی موفقیت منحصر به‌فردی را در جلب علاقه مندان به ماهیان آکواریومی به دست آورد. این ماهی در تجارت ماهیان زینتی آب شیرین بیش ازسایر گونه‌ها مورد توجه قرار گرفته و سلطان آکواریوم‌ها نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این ماهی رودخانه آمازون در شمال برزیل بوده و به دلیل داشتن رنگ زیبا، شکل مناسب بدن و ارزش تجاری بالا به یکی از مهمترین گونه‌های تجاری خانواده Cichlidae تبدیل شده است. نام علمی این ماهی در برگیرنده صفات بارز آن است. Pterophyllum به معنی باله برگی و Scalare به معنی شبیه پرنده می‌باشد. این نام به دلیل باله‌های بزرگ و برگ مانند پشتی آن، به این ماهی اطلاق گردیده است (Ghanadshooshtari., 2007).

بهره مندی از غذاهای زنده در تغذیه آغازین بسیاری از گونه‌های آبزیان پرورشی جهت بهبود شرایط غذایی، رشد و کاهش تلفات لاروی از پیشرفت‌های قابل توجه در آبزی پروری به شمار می‌رود. در بین مواد مغذی، اسیدهای چرب غیر اشباع از اهمیت بیشتری برخوردار بوده و در طول ۲۰ سال گذشته به طور گسترده مورد تحقیق و بررسی واقع شده است (Watanabe, 1993; Watanabe *et al.*, 1989; Sargent *et al.*, 1997). مطالعات انجام شده نشان دهنده تاثیر فراوان اسیدهای چرب EPA[1] و DHA[2]، بر ارزش غذایی آرتمیا به عنوان یک منبع غذایی مهم برای لارو ماهیان می باشد (Leger *et al.*, 1987).

اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع، (LC-PUFAs[3]) قادرند از طریق فعال کردن گیرنده‌های ویژه‌ای که در هسته وجود دارد (PPAR-Þ,-ß,γ)، مستقیماً بر ژنوم تاثیر گذاشته و باعث انجام فرایندهای بیولوژیکی، رشد اسکلت در دوران لاروی، خودپایداری چربی‌ها، تنظیم سوخت و ساز چربی، نقل و انتقال چربی، اکسیداسیون چربی و گلوکز، افزایش مقاومت در برابر بیماری، تقسیمات سلولی و همچنین تمایز سلول‌های پوششی و مخاطی شوند (Avella *et al.*, 2007). در مقابل کمبود آن سبب صدمات جبران ناپذیری از جمله کاهش رشد (Furuita *et al.*, 1999; Copeman *et al.*, 2002)، تغییر در رنگدانه‌ها (Bell *et al.*, 2003)، کاهش فعالیت‌های شنا و تغذیه (Benitez-Santana *et al.*, 2007) می‌شود. در حقیقت HUFA یکی از ضروریترین ترکیبات جیره غذایی در دوران لاروی ماهیان به شمار می رود (Sargent *et al.*, 1997).

از آنجایی که بیشتر نژادهای آرتمیا در مراحل اولیه زندگی از نظر برخی مواد مغذی بخصوص اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره از گروه (n-3) فقیر می‌باشند (Arulvasu and Munuswamy., 2009)، به کمک روش غنی سازی می‌توان مقادیر مشخصی از این مواد را به شکل سوسپانسیون‌های معلق یا اجزاء بسیار ریز به بدن متاناپلیوس آرتمیا وارد کرد. به این ترتیب آرتمیا برای رفع نیازهای غذایی مصرف کننده، بیش از پیش تقویت می‌شود (Sorgeloos *et al.*, 2001). تاثیر مثبت این فناوری بر رشد، بازماندگی و درصد افزایش وزن بدن در لارو ماهی قزل آلای رنگین کمان (Abedian Kenari *et al.*, 2005)، لارو ماهی *Hippoglossus hippoglossus* (Hamre and Harboe., 2008) و لارو ماهی *Amphiprion ocellaris* (Avella *et al.*, 2007) به اثبات رسیده است. این در حالی است که مطالعات مشابه در خصوص تغذیه لارو ماهی آزاد دریای خزر با آرتمیای غنی شده با HUFA تفاوت معنی داری را در میزان بازماندگی این لاروها نسبت به لاروهای شاهد نشان نداد (Javaheri babeli *et al.*, 2006).

در پژوهش حاضرتلاش شد تا اثر تنش pH به عنوان یک پارامتر مهم و متغییر در آکواریوم‌ها بر بازماندگی لارو فرشته ماهی تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا ارومیه غنی شده با LC-PUFA مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

لاروهای مورد استفاده از یک کارگاه تکثیر فرشته ماهی در اصفهان تهیه شده و به کمک کیسه‌های نایلونی دو جداره (۱ حجم آب و ۳ حجم اکسیژن) به سالن پرورش ماهی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شد.

تیمارها و توزیع لاروها در واحدهای آزمایشی

این تحقیق در غالب طرح کاملاً تصادفی در دو بازه زمانی ۲۰ روزه طراحی و اجرا گردید. مرحله اول آزمایش شامل تغذیه لاروهای فرشته ماهی (۰/۰۳± ۰/۸۶ میلی‌گرم) با

۱-)- ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA: 20:5n-3)

۲- - دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA: 22:6n-3)

۳- Long-Chain polyunsaturated Fatty acids (HUFA)

دو تیمار غذایی ۱: ناپلی آرتمیای تازه هچ شده و ۲: ناپلی آرتمیای غنی شده با LC-PUFA به مدت ۲۰ روز بود. در مرحله دوم آزمایش (که هدف آن بررسی اثر کیفیت غذای آغازین لاروها بر سایر مراحل چرخه زندگی بود)، لاروها با میانگین وزن ۳/۷۳± ۲۰/۰۳ میلی‌گرم با غذای تجاری پودر شده (۵۹٪ پروتئین، ۱۵٪ چربی، ۱۱٪ کربوهیدرات، ۱/۵٪ فیبر و ۹٪ رطوبت)، به مدت ۲۰ روز دیگر تغذیه شدند. در طی آزمایش در مجموع ۶ ظرف ۴ لیتری (با حجم مفید ۳ لیتر، هوادهی ملایم و تعویض ۵۰٪ آب در روز) به عنوان واحدهای آزمایشی در نظر گرفته شد. تعداد ۲۴۰ قطعه لارو به هر یک از ظروف پرورش انتقال یافت و در شرایط نور طبیعی (۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) پرورش داده شد. مقادیر میانگین دما، میزان pH واکسیژن محلول در طول دوره پرورش به ترتیب برابر ۱±۲۸ درجه سانتیگراد، ۰/۳± ۷/۵۱و ۰/۱ ± ۶/۲ میلیگرم در لیتر برآورد گردید.

غنی سازی ناپلی آرتمیا

سیست آرتمیای مورد استفاده بر اساس روش‌های استاندارد ضدعفونی و پوسته زدایی شد و در دمای ۲۸ تا۳۰ درجه سانتیگراد و شوری ۳۳ در هزار تخم گشایی گردید (Sorgeloos *et al*., 2001). برای آماده سازی امولسیون مورد نیاز برای غنی سازی، از روغن کبد ماهی کاد و لسیتین استفاده شد (Clawson and Lovell, 1992). تعداد ۵۰۰۰۰ ناپلی به هر یک از ظروف غنی سازی انتقال یافت و با توجه به غلظت امولسیون (۲ میلی لیتر به ازای هر ۲۰۰۰۰۰ ناپلی) ، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط غنی سازی به ظروف حاوی ناپلی‌ها اضافه گردید و عمل غنی سازی انجام شد (Coutteau *et al*., 1997). ناپلی های غنی شده به کمک صافی‌هایی با قطر روزنه ۱۵۰ میکرومتر به آرامی با آب شیرین شستشو داده شده و در فواصل منظم زمانی در همان روز برای تغذیه لاروها استفاده شد. دما و pH در زمان غنی سازی در محدوده ۲۶ درجه سانتی‌گراد و ۷/۸ تا ۸/۲ تنظیم گردید.

تغذیه لاروها

در طول آزمایش لاروها با تناوب چهار بار در روز و در حد سیری (۲۰ روز اول با ناپلیوس آرتمیای تازه هچ شده و ناپلیوس آرتمیای غنی شده و در ۲۰ روز دوم با غذای تجاری پودر شده) تغذیه شدند. در پایان مرحله اول آزمایش تعداد ۹۰ لارو از هرتیمار (۳۰ لارو از هر تکرار) تحت تنش pH قرار گرفتند و نتایج حاصل ثبت گردید. در مرحله دوم آزمایش، لاروها در همان شرایط با غذای تجاری تغذیه شدند. در پایان مرحله دوم آزمایش نیز لاروها تحت تنشpH قرار گرفتند.

آزمایش مقاومت در برابر تنش pH

در این آزمایش از چهار آکواریوم که در هریک شش عدد ظرف دو لیتری (سه تکرار برای هر تیمار) با هوادهی آرام جا سازی شده بود استفاده شد. دمای آب برای همه تیمارها ثابت و برابر ۲۸ درجه سانتی‌گراد (دمای مطلوب برای پرورش فرشته ماهی) در نظر گرفته شد. pH آب ظروف آزمایش در هریک از آکواریوم ها بترتیب در حد ۵/۵، ۶/۵، ۸/۵ و ۹/۵ تنظیم شد. تعداد ۳۰ عدد لارو بصورت تصادفی از هر واحد آزمایش (تکرار) صید و به ظروف دو لیتری متناظر هر تکرار با pHهای جدید انتقال داده شد و تلفات آن‌ها در تناوب‌های زمانی مشخص (با در نظر گرفتن شدت تنش و مشاهده تلفات) تا ۴۸ ساعت پس از شروع تنش ثبت گردید.

جمع آوری داده ها

بررسی میزان تلفات لاروها

با شمارش روزانه تعداد تلفات لاروهای فرشته ماهی در طول دوره پرورش در تیمارهای مختلف درصد تلفات لاروها از روز اول تا روز ۲۰ و از روز ۲۰ تا روز ۴۰ بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

تلفات (٪) = ۱۰۰ × n۲ / n۱

در این رابطه، n۲ و n۱ به ترتیب تعداد لارو تلف شده و تعداد لارو اولیه می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج حاصل به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگورف- اسمیرنف و همگنی واریانس‌ها با آزمون لون، مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد و وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح اعتماد ۹۵ درصد بررسی گردید.

نتایج

ترکیب اسیدهای چرب ناپلیوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده و آرتمیای غنی شده در جدول ۱ نشان داده شده است. پس از غنی سازی آرتمیای ارومیه با محلول غنی سازی حاوی روغن کبد ماهی کاد، مقدار اسیدهای چرب EPA ,DHA و n-3 LC-PUFA افزایش یافت و به ترتیب از مقادیر ۰/۰۳± ۱/۱۲، ۰/۰۰ و ۰/۹۴± ۲/۳۲ به مقادیر ۰/۹۳± ۵/۵۸ ، ۰/۰۶± ۱/۵۳ و ۱/۵۵± ۸/۸۲ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک آرتمیا افزایش یافت.

جدول۱: ترکیب اسیدهای چرب ناپلیوس آرتمیای تازه تخم گشایی شده و آرتمیا غنی شده(میلی‌گرم برگرم) (میانگین ± انحراف معیار) (n=۳).

اسیدهای چرب	ناپلی‌آرتمیای غنی‌نشده	ناپلی‌آرتمیای غنی‌شده
۱۴:۰	۶/۵۵ ±۰/۶۸	۷/۵۲ ±۰/۸۸
۱۴:۱n-۵	۰/۳۸ ±۰/۰۴	۲/۱۶ ±۰/۸۰
۱۶:۰	۱۵/۸۰ ±۲/۴۶	۲۰/۲۱ ±۳/۰۵
۱۶:۱n-۷	۸/۱۰ ±۱/۲۲	۱۳/۱۲ ±۱/۵۹
۱۸:۰	۵/۶۸ ±۱/۰۲	۴/۲۶ ±۰/۶۵
۱۸:۱n-۹	۱۸/۳۳ ±۲/۸۹	۱۷/۱۰ ±۲/۱۷
۱۸:۱n-۷	۱۴/۳۹ ±۲/۳۳	۹/۱۱ ±۱/۲۱
۱۸:۲n-۶	۶/۲۶ ±۰/۹۰	۳/۱۹ ±۰/۷۵
۱۸:۳n-۶	۰/۷۷ ±۰/۰۱	۰/۰۰
۱۸:۳n-۳	۸/۱۹ ±۱/۱۸	۱۰/۲۶ ±۱/۷۹
۲۰:۱n-۹	۶/۵۸ ±۰/۸۵	۴/۰۸ ±۰/۹۱
۲۰:۴n-۶	۱/۲۰ ±۰/۰۵	۱/۷۱ ±۰/۰۳
(EPA) (۳-۲۰:۵n)	۱/۱۲ ±۰/۰۳	۵/۵۸ ±۰/۹۳
(DHA) (۳-۲۲:۶n)	۰/۰۰	۱/۵۳ ±۰/۰۶
∑ SFA	۲۸/۰۳ ±۴/۵۷	۳۱/۹۹ ±۳/۹۵
∑MUSFA	۴۷/۷۸ ±۳/۸۲	۴۵/۵۷ ±۴/۳۳
∑PUFA	۱۵/۲۲ ±۲/۶۵	۱۳/۴۵ ±۲/۲۸
∑ LC-PUFA	۲/۳۲ ±۰/۹۴	۸/۸۲ ±۱/۵۵

SFA (Saturated Fatty Acid): اسیدهای چرب اشباع؛ MUFA (Mono unsaturated Fatty Acid): اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند مضاعف؛ PUFA (Poly unsaturated Fatty Acid): اسیدهای چرب غیر اشباع با ۲تا۴ پیوند مضاعف؛ LC-PUFA (Long-Chain polyunsaturated Fatty acids): اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره با بیش از ۳ پیوند مضاعف.

اثر تنش pH بر لاروها

نتایج حاصل از اثر تنش pH بر تعداد تلفات در تیمارهای آزمایشی در طی دو دوره آزمایش به ترتیب در جداول ۲ و ۳ گزارش شده است.

جدول۲: تلفات حاصل از اثر تنش pH بر لاروها در دوره اول آزمایش (برحسب درصد)

زمان، پس از قرار گرفتن در معرض تنش (ساعت)	**تلفات لاروهای تغذیه شده با ناپلی‌آرتمیا** (در مقاطع زمانی مشخص شده)	**تلفات لاروهای تغذیه شده با ناپلی‌آرتمیا غنی شده** (در مقاطع زمانی مشخص شده)
pH =۵/۵		
۰/۵	۳۳/۳۳ ±۱۲/۵۷ a	۶/۶۶ ±۵/۷۷b
۱	۹۰/۳۳ ±۶/۲۸ a	۱۰/۳۳ ±۵/۷۷b
۱/۵	۹۴/۶۶ ±۵/۷۷ a	۳۷/۶۶ ±۵/۷۷b
۲	-	۶۵/۳۳±۶/۲۸
۲/۵	-	۷۵/۳۳ ±۵/۷۷
۳	-	۹۸/۶۶ ±۵/۷۷
pH=۶/۵		
۴	۴۰ ±۰/۰	۴۰ ±۰/۰
۸	۶۵/۶۶ ±۵/۷۷ a	۴۶/۶۶ ±۵/۷۷b
۱۲	۹۸/۳۳ ±۵/۷۷ a	۵۶/۳۳ ±۵/۷۷b
۱۶	-	۹۶/۶۶ ±۳/۲۸
pH=۸/۵		
۱۲	۴۰ ±۱۰a	۱۰ ±۰/۰b
۲۴	۵۰ ±۰/۰	۲۰±۰/۰
۳۶	۶۶/۶۶ ±۵/۷۷ a	۳۰ ±۰/۰ b
۴۸	۷۸/۳۳ ±۵/۷۷a	۴۴/۳۳ ±۵/۷۷ b
pH=۹/۵		
۰/۵	۶/۶ ±۵/۷۷ a	۳/۳۳ ±۵/۷۷ b
۱	۶/۶ ±۵/۷۷ a	۳/۳۳ ±۵/۷۷ b
۱/۵	۴۹/۳۳ ±۵/۷۷ a	۳۳/۳۳ ±۵/۷۷b
۲	۹۹/۳۳ ±۰/۳۳ a	۴۴/۳۳ ±۱۰b
۲/۵	-	۹۴/۶۶ ±۵/۷۷
۳	-	۹۹/۳۳ ±۳/۳۳

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.

بر اساس داده‌های جدول ۲، مجموع تلفات لاروها در pH ۵/۵ در تیمار تغذیه شده با آرتمیا غنی شده طی ۳ ساعت و در تیمار تغذیه شده با آرتمیا غنی نشده طی ۱/۵ ساعت به ۱۰۰ درصد رسید. در pH ۶/۵ لاروهای تغذیه شده با آرتمیا غنی شده طی ۱۶ ساعت و لاروهای تغذیه شده با آرتمیا غنی نشده طی ۱۲ ساعت تلف شدند. در pH ۸/۵ میزان تلفات لاروها پس از ۴۸ ساعت (پایان زمان کنترل لاروها) در تیمار تغذیه شده با آرتمیا غنی شده برابر ۴۳/۳۳ ±۵/۷۷ درصد و در تیمار تغذیه شده با آرتمیا غنی نشده برابر۷۶/۶۶ ±۷/۳۳ درصد بود و در pH ۹/۵ کلیه لاروهای تغذیه شده با آرتمیا غنی شده طی ۳ ساعت و لاروهای تغذیه شده با آرتمیا غنی نشده طی ۲ ساعت تلف شدند.

جدول۳: تلفات حاصل از اثر تنش pH بر لاروها در دوره دوم آزمایش (برحسب درصد)

زمان، پس از قرار گرفتن در معرض تنش (ساعت)	تلفات لاروهای تغذیه شده با ناپلی‌آرتمیا (در مقاطع زمانی مشخص شده)	تلفات لاروهای تغذیه شده با ناپلی‌آرتمیا غنی شده (در مقاطع زمانی مشخص شده)
	pH =۵/۵	
۰/۵	۰	۰
۱	۵۶/۷۷ ±۵/۷۷ a	۴۰ ±۰/۰ b
۱/۵	۹۶/۳۳ ±۵/۷۷ a	۷۳/۳۳ ±۵/۷۷ b
۲	-	۹۹/۳۳ ±۳/۳۳
	pH=۶/۵	
۴	۴۰ ±۰/۰ a	۲۶/۶۶ ±۵/۷۷ b
۸	۵۰ ±۰/۰ a	۴۶/۶۶ ±۵/۷۷ b
۱۲	۶۶/۶۶ ±۵/۷۷	۷۵/۳۳ ±۵/۷۷
۱۶	۹۹/۳۳ ±۳/۳۳	۹۸/۶۶ ±۱/۷۷
	pH=۸/۵	
۱۲	۲۳/۳۳ ±۵/۷۷ b	۳۰ ±۰/۰ a
۲۴	۳۵/۳۳ ±۲/۶۶	۴۰ ±۰/۰
۳۶	۵۲/۷۷ ±۳/۳۳	۵۳/۳۳ ±۵/۷۷
۴۸	۶۵/۳۳ ±۲/۳۳	۶۴/۳۳ ±۳/۳۳
	pH=۹/۵	
۰/۵	۰	۰
۱	۵۶/۷۷ ±۵/۷۷ a	۵۰ ±۰/۰ b
۱/۵	۶۹/۳۳ ±۵/۷۷	۷۰ ±۰/۰
۲	۱۰۰ ±۰/۰ a	۸۷/۳۳ ±۲/۳۳ b

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.

همانگونه که داده‌های جدول۳ نشان می‌دهد، در pHهای ۵/۵، ۶/۵ و ۹/۵ میزان تلفات در لاروهای تغذیه شده با ناپلی آرتمیا غنی نشده در زمانهای مشابه بیشتر بوده است. در pH، ۸/۵ مجموع تلفات لاروها پس از ۴۸ ساعت در تیمارهای مورد آزمایش تفاوت معنی داری نشان نداد.

بحث

استفاده از ناپلی آرتمیا به طور گسترده به عنوان غذای زنده برای گونه‌های مختلف آبزیان پرورشی ازجمله ماهیان زینتی معمول می باشد. این موجود از نظر اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره از گروه (n-۳) فقیر است. این نقیصه به کمک روش زیست غشایی برطرف شده وناپلی آرتمیا پس از غنی سازی با اسیدهای چرب HUFA به عنوان یک غذای بسیار با ارزش مورد استفاده واقع شده است (Sorgeloos *et al*., 2001).

نتایج این تحقیق افزایش مقادیر DHA و EPA در ترکیب اسیدهای چرب ناپلیوس آرتمیا پس از غنی سازی را نشان داد که ضمن مطابقت با یافته‌های سایر محققین (Gapasin *et al*., 1998)، صحت عمل غنی سازی را تایید کرد. علاوه بر این مقادیر لینولئیک‌اسید، لینولنیک‌اسید، دکوزا هگزانوئیک اسید، ایکوزا پنتانوئیک اسید و مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در آرتمیا غنی شده به طور معنی داری بیش از آرتمیا شاهد بود ($p<۰/۰۵$). نتایج بدست آمده از این پژوهش، همچنین بیانگر باز ماندگی و مقاومت بیشتر لاروهای فرشته ماهی تغذیه شده با ناپلی آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره در مقابل تنش pH نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلی آرتمیا غنی نشده می‌باشد. دلیل این امر را می‌توان به وجود LC-PUFA در آرتمیا غنی شده نسبت داد. ارتباط بین استفاده از آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع در تغذیه لارو و افزایش رشد و بازماندگی در تحقیقاتی که بر روی برخی ماهیان از جمله *Limanda ferruginea* انجام شده نیز به اثبات رسیده است (Rajkumar *et al*., 2006). مطالعات انجام

شده نشان داد که مهمترین عامل موثر بر ارزش غذایی آرتمیا به عنوان یک منبع غذایی برای لارو ماهیان میزان اسیدهای چرب ضروری، EPA(20:5n-3) و DHA (22:6n-3) است (Leger *et al*., 1987). محققین دیگر نیز HUFA را به عنوان یکی از ضروری ترین ترکیبات جیره غذایی لارو ماهیان معرفی نموده اند (Avella *et al*., 2007). مشاهده بیشترین میزان بازماندگی در لاروهای تغذیه شده با ناپلی غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع، ناشی از تامین بهتر احتیاجات غذایی به منظور رشد و سلامت ماهیان این تیمار می‌باشد. در همین ارتباط مطالعات لایم و همکاران «۲۰۰۳» نشان داد که جهت دست یابی به تولید موفق ماهیان زینتی در تفریخگاه‌ها، تولید ماهیان انگشت قد و سرانجام داشتن مولدین مناسب جهت تکثیر، دسترسی به غذای زنده مناسب برای تغذیه در زمان لاروی بسیار مهم است.

از سوی دیگر یکی از عواملی که باعث بروز تلفات در دوران لاروی ماهیان می‌شود، آلودگی‌ها و تنش‌های محیطی است. در تحقیق حاضر به‌نظر می‌رسد لاروهای تغذیه شده با ناپلی غنی شده، غذای با ارزشتری را دریافت کرده و در نتیجه در مقابل تنش pH مقاومت بیشتری از خود نشان دادند. تحقیقات نشان داده است که LC-PUFA (HUFA) قادر است از طریق فعال کردن گیرنده‌های ویژه‌ای که در هسته وجود دارد، مستقیماً بر ژنوم تاثیر گذاشته و باعث انجام چندین فرایند بیولوژیکی شود که یکی از آن‌ها افزایش مقاومت در برابر شرایط محیطی است (Avella *et al*., 2007). در مقابل کمبود LC-PUFA سبب صدمات جبران ناپذیری از جمله کاهش رشد (Copeman *et al*., 2002: Furuita *et al*., 1999)، کاهش تحمل تنش (Vagelli, 2004)، تغییر در رنگدانه‌ها (Bell *et al*., 2003)، کاهش فعالیت‌های شنا و تغذیه (Benitez-Santana *et al*., 2007) می‌شود. مطالعات مشابه در خصوص تاثیر ناپلی آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع بر بازماندگی لارو ماهی *Limanda ferruginea*، (Rajkumar and Kumaraguru vasagam, 2006) و لارو ماهی *Latris lineate*، (Bransden and Battaglene, 2005) یافته های حاصل از این تحقیق را تأیید می‌کند.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه ثابت کرد تغذیه لارو فرشته ماهی با آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع باعث افزایش مقاومت لاروها در مقابل تنش‌های محیطی از جمله pH می‌شود. افزایش مقاومت لارو در برابر تنش‌های محیطی با تغذیه از آرتمیا غنی شده در کفال *Mugil cephalus*، (Ako et al., 1994)، قزل‌آلا (Abedian Kenari *et al*., 2005)، بس آسیایی *Lates calcarifer*، (Dhert *et al*., 1990) نیز گزارش شده است. اما تاکنون گزارشی مبنی بر افزایش مقاومت در لارو فرشته ماهی تغذیه شده با آرتمیا غنی شده ارائه نشده است. بر این اساس و با توجه به یافته‌های سایر محققین، افزایش مقاومت لاروها در مقابل تنش‌های محیطی می‌تواند ناشی ازتاثیر LC-PUFA بر غشای سلولی و بهبود عملکرد فیزیولوژیک لارو باشد.

در این ارتباط کوون و همکاران«۲۰۰۱» طی مطالعات خود در خصوص نقش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره بر رشد لارو ماهیان بیان نمود که در کنار DHA، نه تنها اسیدهای چرب غیر اشباع (n–3) بلکه اسید آراشیدونیک ARA (20:4n-6) نیز نقش مهمی در بهبود رشد و همچنین رنگ گیری بهتر لاروهای گونه‌های مختلف ماهیان داشته و موجب فراهم شدن پیش در آمدهایی برای تولید ایکوزانوئیدها می‌شود. براین اساس با توجه به افزایش میزان LC-PUFA در آرتمیا غنی شده در این تحقیق، این امکان وجود دارد که در اینجا نیز تغذیه لاروها با LC-PUFA منجر به ایجاد ماهیان مقاومتر در مقابل تنش‌های محیطی و زیباتر از نظر رنگ خواهد شد، که می‌تواند در بازارپسندی و بقاء آنها نقش داشته باشد.

سپاسگزاری

از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه به دلیل در اختیار قرار دادن مواد و امکانات آزمایشگاهی، همچنین از کارشناسان محترم آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان و معاونت پژوهشی آن دانشگاه جهت در اختیار قرار دادن امکانات و تجهیزات لازم تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abedian Kenari, A. and Mirzakhani, M. K., 2005. Effects of Using Artemia urmiana Enriched with n-3 HUFA in First Feeding of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Larvae. Caspian J. Env. Sci, 3, 123-129.

Arulvasu, C. and Munuswamy, N., 2009. Survival, growth and composition of Poecilia latipinna fry fed enriched Artemia nauplii. Current Science. 96, 114-119.

Avella, M.A., Olivotto, I., Gioacchini, G., Maradonna, F. and Carnevali, O., 2007. The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish Amphipriod ocellaris. Aquaculture, 273: 87-95.

Amini, M., 2006. Breeding and cultivation of decorative fishes. Naghshemehr, Tehran, 214p.

Bell, J.G. and Sargent, J.R., 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture*, 218: 491-499.

Bransden, M.P. and Battaglene, S.C., 2005. Effect of dietary 22:6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae fed enriched Artemia. Aquaculture, 243: 331–344.

Copeman, L.A., Parrish, C.C., Brown, J.A. and Harel, M., 2002, "Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (Limanda ferruginea): live food enrichment experiment". Aquaculture, 210: 285-304.

Coutteau, P., Sorgeloos, P. and Leger, P., 1997. Manipulation of dietary lipids. Fatty acid and vitamin in zooplankton cultures. Freshwater Biology, 38: 501-512.

Dhert, P., Lavens, P., Duray, M. and Sorgeloos, P., 1990. Improved larval survival at metamorphosis of Asian seadass (*Lates calcarifer*) using ω3-HUFA enriched live food. Aquaculture, 90: 63-74.

Farkas, T. and Sandor, H., 2009. The effect of environmental temperature on the fatty acid composition of crustacean plankton. Journal of Lipidresearch, 4: 369-373.

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 oliaceus*)", *Aquaculture*, 170: 59-69.

Ghanadshooshtari, E.R., 2007. Breeding and cultivation of Angel fish. Tarava, Tehran, 128p.

Gapasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P. and Nelis, H., 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. Aquaculture, 162: 269–286.

Greene, D.H.S. and Selivonchick, D.P., 1990. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and haematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 89: 165–182.

Hamre, K. and Harboe, T., 2008. Artemia enriched with high n-3 HUFA may give a large improvement in performance of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. Aquaculture, 277: 239–243.

Javaheri babeli, M., Matinfar, A. and Agh, N., 2006. The biological effect of enriched Artemia as in life food on Caspian salmon larvae (*Salmo trutta caspius*), Invironmental science, 11: 55-64.

Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P. and Tandler, A., 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in

gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture, 193: 107-122.

Leger, P., Bengston, D.A. and Sorgeloos, P., 1987. The nutritional value of Artemia. Artemia research and its application, Universa press wettern, Belgium, 3: 357-370.

Patil, V., Kallqvist, T., Olsen, E., Vogt, G. and Gislerod, H.R., 2007. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. Aquaculture Int, 15: 1-9.

Rajkumar, M. and Kumaraguru vasagam, K.P., 2006. Suitability of the copepod, Acartia clausi as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live-food organisms with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture, 261: 649–658.

Sargent, J.R., McEvoy, L.A. and Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Aquaculture, 155: 85–101.

Sorgeloos, P., Dhert, P. and Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, Artemia spp., on marine fish larviculture. Aquaculture, 200: 147-159.

Watanabe, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. Journal of the World Aquaculture Society, 24: 152–161.

Watanabe, T., Izquierdo, M.S., Takeuchi, T., Satoh, S. and Kitajima, C., 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi, 55: 1635–1640.

Effects of enrichment of *Artemia urmiana* with LC-PUFA on survival and resistance to pH stress in larvae of Angel fish (*Peterophylum scalar*)

Ebrahimi E.[1*]; Agh N.[2]; Yaghoubi M.[1]

[*] e_ebrahimi@cc.iut.ac.ir

1-Department of Natural Resources, Isfahan university of Technology, Isfahan, I.R. Iran.
2-Department of Aquaculture, Artemia & Aquatic Animals Research Institute, Urmia University, Urmia, I.R. Iran

Keywords: *Artemia nauplii*, LC-PUFA, *Peterophylum scalar*, pH, Survival

Abstract

The effects of using n-3 LC-PUFA -enriched Artemia nauplii and newly hatched Artemia on survival and resistance to pH stress in larvae of angel fish (*Peterophylum scalar*) were examined In tow 20 days period. In the first step of the experiment the larvae with an average weight of 0.86 ±0.03mg were fed with tow diets (enriched Artemia nauplii and newly hatched Artemia) for 20 days. At the end of the first step of the experiment, the significantly ($p<0.05$) higher survival rate was observed in larvae fed with enriched Artemia (90.66%) than the larvae fed with newly hatched Artemia (83.66%). In the second step of the experiment the larvae with an average weight of 20. 03 ±3.73mg were fed only with commercial diet for 20 days. At the end of the second 20th days of the experiment, larvae exposed at pH stress (including 5.5, 6.5, 8.8 and 9.5) for 96 hours. The Result showed that the larvae were fed with n-3 LC-PUFA-enriched Artemia have a higher significant survival rate than other group in the period of the experiment and pH stress ($p<0.05$). Therefore, using of n-3 LC-PUFA-enriched Artemia recommended for increasing survival rate and the resistance to pH stress.

[*]Corresponding author