

اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر کارایی تفریح و بازماندگی ناپلیوس آرتمیای دریاچه مهارلو (*Artemia parthenogenetica*) در درجه حرارت‌های مختلف

بهرام فلاحتکار*، سعیده رفعت نژاد

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۹/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱/۱۶

چکیده

در این مطالعه، سطوح مختلف ویتامین C (ال-آسکوربیل-۲- پلی فسفات) بر عملکرد تفریح و بازماندگی ناپلیوس‌های حاصله در دماهای مختلف آزمایش شد. آزمایش اول به منظور بررسی اثر مقادیر مختلف (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) ویتامین C از نوع ال-آسکوربیل-۲- پلی فسفات بر درصد تفریح سیستم آرتمیای دریاچه مهارلو در ۶ تکرار صورت گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد تفریح آرتمیا اثر معنی‌دار دارد. آزمایش دوم به منظور بررسی تاثیر دماهای مختلف (۱، ۴، ۱۶°C) بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای حاصل از تفریح سیستم‌های آزمایش اول انجام شد. در این بخش ناپلی‌های حاصل از قرارگیری در مقادیر مختلف ویتامین C (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) با ۶ تکرار در سه دمای مختلف به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و درصد بازماندگی ناپلی‌ها به دست آورده شد. نتایج آزمایش دوم نشان داد که اثر متقابل مقدار ویتامین C و درجه حرارت همچنین اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیا معنی‌دار نیست. مقادیر مختلف ویتامین C اختلاف معنی‌داری بر روی درصد بقای ناپلی آرتمیا نشان نداد؛ اما دماهای مختلف اثر معنی‌داری بر روی درصد بقا داشت. افزایش مقدار ویتامین C بر روی درصد تفریح ناپلی‌های آرتمیای مهارلو اثر معنی‌داری دارد اما اثر معنی‌داری بر روی نرخ بقای ناپلی‌ها ندارد. اثر دماهای مختلف بر درصد بازماندگی ناپلی‌ها معنی‌دار بود و درصد بازماندگی ناپلی آرتمیا در دمای ۱۶°C بیش از دماهای ۱ و ۴°C بود. نتایج این تحقیق نشان داد درصد بازماندگی مستقل از مقدار ویتامین C در دمای نگهداری ۱۶°C می‌تواند نسبت به سایر دماهای تست شده مناسب‌تر باشد.

واژگان کلیدی: اسکوربیک اسید، درجه حرارت، آرتمیای پارتنوژنز

۱. مقدمه

ویتامین C یکی از ویتامین‌های حساس است که دارای نقش‌های متابولیک متعددی از جمله اثر بر رشد، بازماندگی و جلوگیری از مرگ و میر، بهبود زخم، کاهش اثرات استرس و مقاومت در برابر عوامل پاتوژن و بهبود عملکرد تولیدمثل می‌باشد (Dabrowski, 2001). ماهیان در مراحل آغازین رشد نظیر لاروی، بیش از ماهیان جوان و بالغ به ویتامین C نیاز دارند (Kolkovski et al., 2000).

در سیستم‌های آرتمیا، ویتامین C به صورت اسیدآسکوربیک ۲-سولفات (AAS) وجود دارد که ترکیبی بسیار پایدار اما با توان بهره‌گیری زیستی پایین است. در طول تفریح، AAS به اسید آسکوربیک (AA) آزاد تبدیل می‌شود که پایداری کم‌تری دارد؛ اما از طریق ناپلی به طور مستقیم برای لارو قابل دسترس است. کپسول زدایی سیستم‌ها باعث هیدرولیز سولفات آسکوربیک نمی‌شود و با وجود اینکه چندین نوع ماهی آب شیرین در مرحله لاروی با موفقیت به وسیله سیستم‌های کپسول زدایی شده پرورش داده شده‌اند، ممکن است به این نحو مطرح شود که سیستم‌های کپسول زدایی شده، چنانچه طی مدت طولانی برای تغذیه لارو استفاده شوند، در مواردی که لارو شکارگر فاقد آنزیم-های سولفاتاز مورد نیاز برای شکستن AAS باشد، سبب کمبود ویتامین C شود (Lavens and Sorgeloos, 1996). غلظت AA در ناپلی آرتمیای تازه تفریح شده به طور قابل توجهی بیشتر از روتیفر تغذیه شده با مخمر و حتی چندین برابر بیشتر از زئوپلانکتون‌های آب شیرین است. این در حالی است که غلظت ویتامین C در گروه‌ها و نژادهای مختلف آرتمیا از 0.22 تا 0.66 mg g^{-1} متغیر است (Brown and Lavens, 2001). Merchie و همکارانش در سال ۱۹۹۵ اثر تغذیه از زئوپلانکتون‌های غنی شده با اسید آسکوربیک را در چندین ماهی آب شیرین و ماهی دریایی شامل گربه

ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*)، باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*)، توربوت (*Scophthalmus maximus*) و همچنین میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) بررسی کردند. در مطالعه‌ای گزارش شد مقدار AA در لاروهای تغذیه شده با آرتمیای غنی‌سازی شده با AA، افزایش قابل توجهی داشته و این افزایش نشان دهنده یک شبکه انتقال این فرم از ویتامین C به لارو مصرف کننده است. بنابراین مقدار AA در لارو برحسب غلظت آن در آرتمیا افزایش می‌یابد (Merchie et al., 1995). محققان پیشنهاد کردند زمانی که لارو در جایی با سطح غذایی تقریباً $1/4 \text{ mg g}^{-1}$ AA تغذیه شود، بافت لاروی از لحاظ ویتامین C اشباع می‌شود (Merchie et al., 1995). بنابراین آرتمیا با محتوای 0.56 mg g^{-1} AA باید احتیاج لارو را تامین نماید (Brown and Lavens, 2001). غنی‌سازی غذای زنده زئوپلانکتونی با AA و مطابق آن افزایش AA بافت لارو تا حد اشباع شاید در ارتباط با مقاومت به استرس و بیماری در شرایط نامساعد پرورش در تفریخگاه‌ها مفید و موثر باشد (Merchie et al., 1995).

درصد تفریح سیستم به نژاد، فصل و روش برداشت (Vanhaecke and Sorgeloos, 1983; Vanhaecke and Sorgeloos, 1989) هوادهی (Michael et al., 2007) و درجه حرارت (Lavens and Sorgeloos, 1996) وابسته است. درجه حرارت مناسب برای تفریح و غنی‌سازی آرتمیا $26-28^\circ\text{C}$ است (Lavens and Sorgeloos, 1996). مطالعه اثر پارامترهای کیفی مختلف بر درصد تفریح و بازماندگی آرتمیا به منظور بالا بردن کیفیت و کمیت آرتمیای تولید شده می‌باشد، به طوری که بتوان با یافتن عوامل موثر بر افزایش تفریح و بازماندگی، بهترین راندمان را با بهره‌گیری از نرم‌های پرورش، به دست آورد؛ لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر سطوح مختلف ویتامین C بر درصد تفریح

انکوباسیون، در هر ۱۰ دقیقه از هر تکرار ۳ نمونه اخذ و تعداد سیست و ناپلی تفریخ شده شمارش گردید.

آزمایش دوم

آزمایش دوم به منظور بررسی تاثیر دماهای مختلف (۱، ۴ و ۱۶°C) بر میزان بازماندگی ناپلیوس های آزمایش قبل با ۳ تیمار در ۶ تکرار انجام شد. در این بخش ۵ml محلول حاوی ناپلی آرتمیا با ۵ml محلول تازه آماده شده ویتامین C با دوزهای ذکر شده قبلی را به درون ظروف پتری دیش اضافه کرده و در دماهای مربوطه در محیط های یخدان (۱°C)، یخچال (۴°C) و انکوباتور (۱۶°C) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. سپس میزان بازماندگی ناپلی ها با شمارش تعداد ناپلی های زنده به تعداد کل ناپلی های موجود در هر نمونه بدست آورده شد.

تجزیه تحلیل داده ها

داده های حاصل از هر دو آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (Version 11. Chicago, IL) آنالیز شد. داده های حاصل از هر دو آزمایش در قالب طرح فاکتوریل انجام شد و داده های حاصل از آزمایش اول با استفاده از آزمون One-Way ANOVA و داده های حاصل از آزمایش دوم از طریق General Linear Model و با استفاده از آزمون Univariate در سطح اطمینان ۹۵٪ آنالیز شد. داده های درون متن به صورت میانگین \pm انحراف معیار آورده شده است.

۳. نتایج

آزمایش اول

نتایج آزمایش اول نشان داد که مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد تفریخ آرتمیا اثر معنی دار دارد ($F=5/37$ ، $df=2$ ، $P=0/017$) و درصد تفریخ مقادیر ۵۰۰ و ۱۰۰۰ppm ویتامین C با هم اختلاف داشتند. (جدول ۱).

سیست آرتمیا صورت گرفته و در ادامه با نگهداری ناپلیوس های حاصله در دماهای مختلف درصد بازماندگی ناپلیوس ها تعیین گردید.

۲. مواد و روش ها

سیستم پرورش آرتمیا

۱۸ بطری ۱/۵ لیتری با محتوای ۸۰۰ میلی لیتر آب و شوری ۳۰ppt درون یک آکواریوم به ابعاد (۷۸/۵×۳۴/۵×۳۹cm) به میزان یک سوم آب با درجه حرارت تنظیم شده بر روی ۲۷°C به وسیله بخاری اتوماتیک (Model: RS-520)، قرار گرفت. سپس از ویتامین C نوع پایدار در آب (L- ascorbyl-2-polyphosphate) با خلوص ۳۵ درصد (ساخت شرکت F.Hoffman-La Roche Basel سوئیس)، برای تهیه دوزهای مختلف صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ppm در شش تکرار استفاده شد و درون بطری ها ریخته شد. pH سه محلول ویتامین C با استفاده از کیت تجاری (Visicolor ECO, MACHEREY-) اندازه گیری شد و به ترتیب برای تیمارهای اول تا سوم ۸، ۷/۵ و ۷ به دست آمد. پس از آماده سازی محیط پرورش، مقدار ۲ گرم در لیتر سیست آرتمیای مهارلو محصول شرکت شگفت سازان فارس (دارای قابلیت تفریخ ۷۰ درصد و تعداد ۲۳۰۰۰۰-۲۲۰۰۰۰ سیست در هر گرم) به بطری ها وارد شد. هر بطری به طور جداگانه از طریق لوله متصل به پمپ هوا (Model: ACQ-008) (VoLT: 220) هوادهی شد. نور مورد نیاز سیستم از طریق لامپ مهتابی به میزان ۱۰۰۰Lux تامین گردید.

آزمایش اول

آزمایش اول به منظور بررسی اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد تفریخ سیست آرتمیای مهارلو در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار در ۶ تکرار انجام شد. در انتها برای تعیین نرخ تفریخ از شروع انکوباسیون تا آزاد شدن اولین ناپلیوس (T_0) و ۹۰ درصد از تمامی ناپلیوس ها (T_{90}) پس از ۴۸ ساعت از

جدول ۱. اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد تفریح سیست آرتمیای دریاچه مهارلو

| درصد تفریح | مقدار ویتامین C (ppm) |
|-----------------|-----------------------|
| | صفر |
| | ۵۰۰ |
| 73 ± 0.09^a | ۱۰۰۰ |

آزمایش دوم

C به ترتیب 0.13 ± 0.055 ، 0.11 ± 0.16 و 0.09 ، $76.05 \pm$ حاصل شد (نمودار ۱). اثر دماهای مختلف ۱، ۴ و 16°C بر درصد بازماندگی ناپلی‌ها معنی‌دار بود به طوری که میزان بازماندگی در دمای 16°C با دماهای ۱ و 4°C تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۳؛ $F=20.06$ ، $df=2$ ، $P<0.0001$). درصد بازماندگی دماهای ۱، ۴ و 16°C به ترتیب $0.3 \pm 73/11$ ، $0.4 \pm 74/33$ و $0.13 \pm 89/33$ درصد حاصل شد (نمودار ۲).

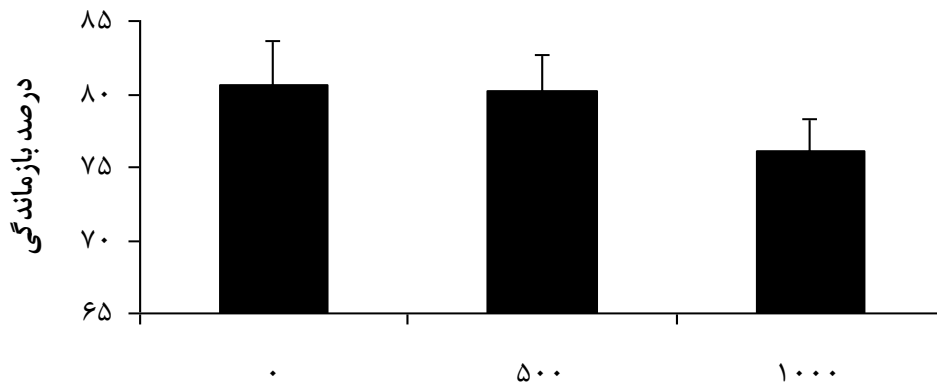
نتایج آزمایش دوم نشان داد که اثر متقابل مقدار ویتامین C و درجه حرارت بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای آزمایش دوم معنی‌دار بود (جدول ۲؛ $F=0.73$ ، $df=4$ ، $P=0.57$). همچنین مقادیر مختلف ویتامین C بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای آزمایش دوم اثر معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳؛ $F=1/52$ ، $df=2$ ، $P=0.22$). به طوری که درصد بازماندگی مقادیر صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm ویتامین

جدول ۲. اثر متقابل مقدار ویتامین C و درجه حرارت بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای دریاچه مهارلو

| درصد بازماندگی | درجه حرارت ($^\circ\text{C}$) | مقدار ویتامین C (ppm) |
|------------------|---------------------------------|-----------------------|
| $72/0 \pm 0/0$ | ۱ | صفر |
| $75/0 \pm 0/04$ | ۴ | |
| $94/66 \pm 0/14$ | ۱۶ | |
| $76/16 \pm 0/05$ | ۱ | ۵۰۰ |
| $75/16 \pm 0/07$ | ۴ | |
| $89/16 \pm 0/11$ | ۱۶ | |
| $71/16 \pm 0/0$ | ۱ | ۱۰۰۰ |
| $72/83 \pm 0/01$ | ۴ | |
| $84/16 \pm 0/14$ | ۱۶ | |

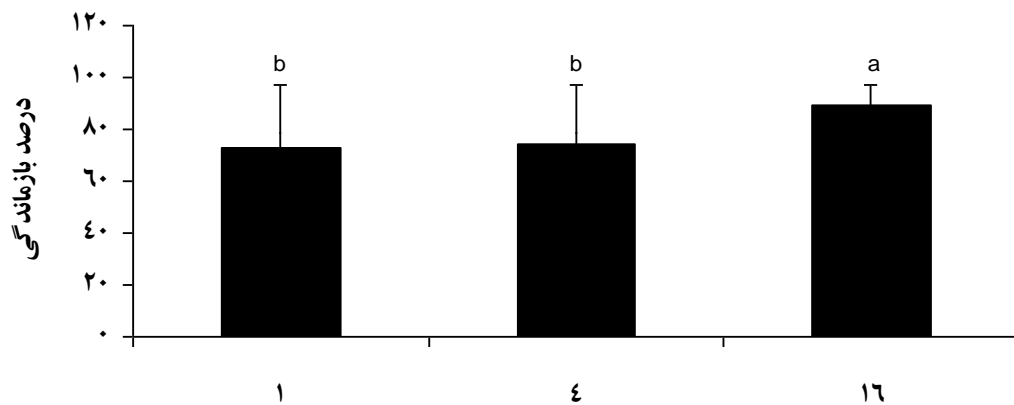
جدول ۳. نتایج آماری حاصل از اثر مقادیر ویتامین C، درجه حرارت و اثر متقابل آنها بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای دریاچه مهارلو

| P- value | F | df | پارامترها |
|----------|-------|----|---|
| | | | مقدار ویتامین C (ppm) |
| ۰/۲۲ | ۱/۵۲ | ۲ | درجه حرارت ($^\circ\text{C}$) |
| ۰/۰۰ | ۲۰/۰۶ | ۲ | اثر متقابل مقدار ویتامین C و درجه حرارت |
| ۰/۵۷ | ۰/۷۳ | ۴ | |



میزان ویتامین C (میلیگرم بر لیتر)

نمودار ۱. اثر مقدار ویتامین C بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای آزمایش دوم مستقل از دما



درجه حرارت (°C)

نمودار ۲. اثر درجه حرارت بر درصد بازماندگی ناپلی‌های آرتمیای آزمایش دوم مستقل از ویتامین C

۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین سطح صفر و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C در درصد هج آرتمیای مهارلو وجود ندارد؛ اما با افزایش دما در دوره نگهداری پس از تفریح مستقل از مقدار ویتامین C، بازماندگی افزایش یافت. با توجه به فیلترکننده بودن آرتمیا، مقدار غذای ارائه شده می‌تواند با تاثیر

بر نرخ فیلتراسیون، نرخ هضم و یا جذب غذایی، بر رژیم غذایی، رفتار تغذیه‌ای و حرکتی آرتمیا اثر داشته باشد. ناپلیوس آرتمیا قادر است مقادیر بیشتر AA آزاد را جذب کند؛ لذا با استفاده از فرم پالمیتاتی AA (پالمیتات آسکوربیک) به عنوان غنی ساز، می‌توان میزان AA را به بالاتر از ۵ درصد اضافه کرد (Sorgeloos and Lavens, 1996). مطالعات

ترتیب ۳ و ۶ برابر افزایش می دهند (Lavens and Sorgeloos, 1998).

در تحقیق حاضر در دمای 16°C توانایی حرکت ناپلی‌ها سریع تر از دماهای ۱ و 4°C مشاهده شد که این وضعیت، احتمالاً به دلیل نزدیکی دمای 16°C به دامنه دمایی زیست ناپلی آرتمیا نسبت به دماهای پایین تست شده است. درجه حرارت به طور قابل توجهی روی بقا و رشد آرتمیا موثر است (Lavens and Sorgeloos, 1998). اثر درجه حرارت بر افزایش نرخ رشد در نژادهای مختلف آرتمیا ثابت شده است (Reeve, 1963; Hentig, 1971). همچنین درجه حرارت به عنوان یک متغیر محیطی است که روی نرخ متابولیک اثر دارد (Hernandorena, 1976). اطلاعات قابل دسترسی درباره عملکرد درجه حرارت بر میزان بهره‌وری از مواد مغذی تولید کننده انرژی و متابولیسم انرژی وجود دارد (Hernandorena, 1976)، به طوری که اثر تحریکی افزایش دما بر نرخ رشد با میانجی‌گری متابولیسم آدنوزین مونوفسفات انجام می شود. یک مطالعه نشان داد که نرخ رشد آرتمیا در یک محیط پرورشی یکنواخت در دمای 30°C سریع تر از 25°C است (Hernandorena, 1976).

طبق مطالعات مختلف، متابولیسم آرتمیا در مواجهه با مقادیر مختلف ویتامین C و درجه حرارت متغیر است. بنابراین محتوای ویتامین C و درجه حرارت می تواند انرژی آرتمیا را به لحاظ میزان حرکت، تحت تاثیر قرار دهد. همانطور که در این آزمایش مشاهده شد با کاهش دما خارج از محدوده طبیعی زیست آرتمیا، سرعت حرکت آن کندتر شد و احتمالاً بیشتر انرژی آرتمیا صرف نگهداری و بقای بدن در دمای پایین می شود. افزایش ویتامین C بر درصد تفریح اثر معنی دار داشته، این امر شاید به این دلیل باشد که سهم جذب سیست از ویتامین C افزایش می یابد. طبق مطالعات پیشین، ناپلی آرتمیا قادر است ویتامین C را جذب کند؛ اما ممکن است نقش ویتامین C در میزان بازماندگی ناپلی‌های آرتمیا در دماهای مختلف

زیادی وجود دارد که اهمیت ویتامین C را در تغذیه ماهی و میگو خصوصاً در سنین جوانی نشان می دهد. استفاده از آرتمیا غنی شده با ویتامین C همراه با اسیدهای چرب به شدت غیر اشباع (HUFA) منجر به افزایش رشد، افزایش مقاومت در برابر استرس شوری و ناهنجاری‌های ساختاری سرپوش‌های برانشی در ماهی‌ها می شود؛ ولی اثر چندانی بر ماندگاری ندارد (Sorgeloos et al., 1998). همچنین استفاده از آرتمیای غنی شده با ویتامین C در تغذیه میگوی بزرگ آب‌شیرین منجر به افزایش مقاومت آن در برابر استرس شوری گردید. لاروهای خامه ماهی (*Chanos chanos*) که با آرتمیای غنی شده (ویتامین C + HUFA) تغذیه شدند، بیشترین رشد و کمترین میزان ناهنجاری را در سرپوش برانش نشان دادند (Sorgeloos, 1995). همچنین در سن ۲۶ روزگی موجب افزایش مقاومت در برابر استرس شوری گردید (Sorgeloos et al., 1998). در تحقیقی که Azad و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام دادند متوجه شدند که در خامه ماهی‌هایی که ویتامین E و C بیشتری در جیره‌شان داشتند، بقا و پاسخ ایمنی ماهی (پاسخ آنتی بادی) به باکتری تزریق شده بهتر بود.

تاکنون آزمایش‌های زیادی برای غنی سازی AA در غذای زنده انجام شده است. با استفاده از یک روش غنی سازی استاندارد و به کار بردن کنسانتره‌های خود تعلیق حاوی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد (بر مبنای وزن خشک) پالمیتات اسکوربیل به اضافه تری گلیسریدها، مقدار زیادی آسکوربیک آزاد را می توان به ناپلیوس آرتمیا تلقیح کرد. زمانی که محلول حاوی ۱۰٪ پالمیتات اسکوربیل است، AA در ناپلیوس تازه تخم-گشایی شد، آرتمیا به میزان ۵۰ درصد مقدار طبیعی افزایش می یابد (۵۰۰ میکروگرم در هر گرم وزن خشک). با این وجود، با افزایش ۲۰ تا ۳۰ درصدی پالمیتات اسکوربیل، میزان آسکوربیک آزاد را پس از ۲۴ ساعت غنی‌سازی در ۲۷ درجه‌سانتیگراد به

and stress resistance of freshwater walleye, *Stizostedion vitreum* larvae. *Aquacult. Nutr.* 6: 199-206.

Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Lavens, P., and Sorgeloos, P. 1998. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries technical paper I, 361p.

Merchie, G., Lavens, P., Dhert, P., Dehasque, M., Nelis, H., De Leenheer, A., and Sorgeloos, P. 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. *Aquaculture* 134: 325-337.

Michael Babu, M., Sivaram, V., Immanuel, G., Citarasu, T., and Punitha, S. M. J. 2007. Effects of herbal enriched artemia supplementation over the reproductive performance and larval quality in spent spawners of the tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 8: 301-307.

Reeve, M. R. 1963. Growth efficiency in *Artemia* under laboratory conditions. *Biol. Bull.* 125: 133-145.

Sorgeloos, P. 1995. Live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *Clarias gariepinus*. *J. Appl. Ichthyol.* 11: 336-341.

Sorgeloos, P., and Lavens, P. 1996. Manual of the production and use of live food for aquaculture. FAO Published. 260p.

Sorgeloos P., Coutteau P., Dhert P., Merchie G., and Lavens P. 1998. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in larval crustacean nutrition: a review. *Rev. Fish. Sci.* 6: 55-68.

Vanhaecke, P., and Sorgeloos, P. 1983. International Study on *Artemia*. XXX. Bio-economical evaluation of the nutritional value for carp (*Cyprinus carpio* L.) larvae of nine *Artemia* strains. *Aquaculture* 32: 285-293.

Vanhaecke, P., and Sorgeloos, P. 1989. International study on *Artemia*: 48. The effect of temperature on cyst hatching larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp., *Ann. Soc. Roy. Zool. Bel.* 119: 7-23.

این آزمایش بی‌تاثیر بوده باشد. این مطالعه ثابت کرد با افزایش دما مستقل از مقدار ویتامین C، نرخ بازماندگی ناپلی‌ها افزایش می‌یابد. البته مکانیسم عمل آرتمیا در دماهای مختلف و چگونگی بقا باید مورد مطالعه بیشتری قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این تحقیق یاری‌رسان ما بودند خانم‌ها منصف، حیدری، طورچی، حشمت‌صولتی و آقای باقری تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از آقای دکتر آق و حافظیه نیز به خاطر راهنمایی‌هایشان تشکر می‌شود.

منابع

- Azad, I. S., Syama Dayal, J., Poornima, M., and Ali, S. A. 2007. Supra dietary levels of vitamins C and E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) to formalin-killed *Vibrio vulnificus*. *Fish Shellfish Immun* 23: 154-163.
- Brown, M., and Lavens, P. 2001. Critical review of the concentration, interactions with other nutrients, and transfer of ascorbic acid in algae, crustaceans, and fish. In: *Ascorbic acid in aquatic organisms*, Dabrowski, K. (Ed.). CRC Press, pp: 167-189.
- Dabrowski, K. 2001. *Ascorbic acid in aquatic organisms*. CRC Press. 288p.
- Hentig, R. V. 1971. Einfluss von Salzgehalt und Temperature auf Entwincklung, Wachstum, Fortpflanzung und Energiebilanz von *Artemia salina*. *Mar. Biol.* 9: 145-182.
- Hernandorena, A. 1976. Effect of temperature on the nutritional requirement of *Artemia salina* (L). *Biol. Bull.* 151: 314-321.
- Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., Cihla, F., Mahan, D., and Dabrowski, K. 2000. The effect of vitamin C and E (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artemia nauplii* on growth, survival,

Effects of different levels of vitamin C on hatching efficiency and survival of Maharloo Lake *Artemia* nauplii (*Artemia parthenogenetica*) at different temperatures

Falahatkar Bahram* and Rafatnezhad Saeedeh

Fisheries Department, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, 1144, Guilan, Iran

Abstract

In this study, different levels of vitamin C (L-ascorbyl-2-polyphosphate) on the hatching efficiency and obtained *Artemia* nauplii survival were examined at different temperatures. In the first experiment, the effect of different amounts of vitamin C (0, 500 and 1000 ppm) on hatching percentage of the Maharloo Lake *Artemia* cyst was examined with 6 replicates. Results of the first experiment showed that different amounts of vitamin C had significant effect on hatching percentage. In the second experiment, the effect of different temperatures on the percentage of survival of *Artemia* nauplii was studied. In this experiment, obtained nauplii from first experiment were put in 3 different temperatures (1, 4 and 16°C) with 6 replicates for 48 hours, then percentage of survival of *Artemia* nauplii was determined. Result of the second experiment showed that interaction of vitamin C and different temperatures had no significant effect on the survival rate of *Artemia* nauplii. Different amounts of vitamin C had no significant difference on the percentage of survival of *Artemia* nauplii, but different temperatures had significant effect on survival rate. Results of these experiments showed that increase of the amount of vitamin C had significant difference on hatching percentage of the Maharloo *Artemia* cyst, but no significant effect on survival rate of *Artemia* nauplii during holding at different temperatures. Also it is found that survival rate of *Artemia* nauplii at 16°C temperatures was more than 1 and 4°C temperatures. The results showed independent of the amount of vitamin C, holding temperature of 16°C could be suitable compared with the other examined temperatures.

Keywords: Ascorbic acid, Temperature, Hatching, Survival, Parthenogenesis *Artemia*

*Corresponding author, E-mail: falalatkar@guilan.ac.ir