View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Aquatic Commons

دانشگاه آزاد اسلامی

واحد علوم و تحقیقات تهران

رساله دکتری رشته شیلات (ph.D)

موضوع:

بررسی تأثیر ناپلیوس آرتمیای غنی‌سازی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C بر رشد، بقا و مقاومت لارو ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius*

استاد راهنما:

دکتر عباس متین‌فر

استاد مشاور:

دکتر امین کیوان

دکتر غلامحسین وثوقی

نگارنده

مهران جواهری بابلی

سال تحصیلی ۸۶-۱۳۸۵

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

مقدمه ۲

بخش اول: کلیات

۱-۱- ماهی آزاد دریای خزر ٦

۱-۲- جایگاه آرتمیا در آبزی پروری و نقش غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا ۸

۱-۳- نقش اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در پرورش لارو آبزیان ۱۱

۱-٤- نقش اسید آسکوربیک در پرورش لاروآبزیان ۱۳

۱-۵- مرور منابع ۱۵

بخش دوم: مواد و روشها ۲۱

۲-۱- مواد مصرفی ۲۱

۲-۲- مواد غیرمصرفی ۲۱

۲-۳- روش انجام لاروها ۲۱

۲-۳-۱- انتقال لاروها ۲۱

۲-۳-۲- محل انجام طرح ۲۱

۲-۳-۳- آماده‌سازی مخازن پرورش لارو ۲۱

۲-۳-٤- هم دمایی آب تانلها و کیسه‌ها ۲۲

۲-۳-۵- شمارش و انتقال لاروها به تانکها ۲۳

۲-۳-٦- غنی‌سازی ناپلی آرتمیا ۲۳

۲-۳-٦-۱- خالص‌سازی سیستهای آرتمیا ۲۳

۲-۳-٦-۱-۱- جداسازی به کمک شناوری در سطح ۲۳

۲-۳-٦-۱-۲- جداسازی به کمک وزن مخصوص در آب شیرین ۲۳

۲-۳-٦-۲- ضدعفونی سیستها ۲٤

۲-۳-٦-۳- تخم‌کشایی سیستهای آرتمیا و جمع‌آوری ناپلیوس ۲٤

۲-۳-٦-۵- غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا ۲۵

۲-۳-۷- تیمارهای غذایی ۲۵

۲-۳-۸- تعیین مقدار غذای لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۲٦

۲-۳-۹- اقدامات انجام شده روزانه در تانکهای پرورش لارو ۲۷

۲-۳-۱۰- جمع‌آوری داده‌ها ۲۷
۲-۳-۱۱- تجزیه شیمیایی نمونه‌ها ۲۸
۲-۳-۱۱-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها ۲۸
۲-۳-۱۱-۲-آنالیز اسیدهای چرب ۲۹
۲-۳-۱۱-۲-۱- استخراج چربی از نمونه‌ها ۲۹
۲-۳-۱۱-۲-۲-تهیه متیل استر اسیدهای چرب از چربی استخراج شده ۳۰
۲-۳-۱۱-۲-۳- تزریق نمونه‌ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی ۳۰
۲-۳-۱۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری ویتامین C ۳۱
۲-۳-۱۱-۳-۱- استخراج ویتامین C ۳۱
۲-۳-۱۱-۳-۲- اندازه‌گیری ویتامین C ۳۱
۲-۳-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها ۳۲
بخش سوم نتایج
۳-۱- مشخصات فیزیکوشیمیایی آب ۳۵
۳-۲- ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای غذایی مورد آزمایش ۳۵
۳-۳- ترکیب اسیدهای چرب در آرتمیا نگهداری شده در شرایط سرما ۳۸
۳-٤- ترکیب اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه ٤۰
۳-۵- ترکیب اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روزه ٤۵
۳-٦- میزان اسید آسکوربیک تیمارهای غذایی مورد آزمایش ٤۷
۳-۷- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ٤۷
۳-۷-۱- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ ..... ٤۷
۳-۷-۲- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ ..... ٤۸
۳-۸- نتایج آزمایشات رشد لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ٤۹
۳-۸-۱- وزن خشک وتر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه ٤۹
۳-۸-۲- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ ..... ۵۲
۳-۸-۳- ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ ..... ۵۲
۳-۸-٤- وزن خشک و تر بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ ..... ۵۳
۳-۸-۵- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ ..... ۵۷
۳-۸-٦- ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ ..... ۵۸
۳-۹- نتایج بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۵۸
۳-۹-۱- نتایج درصد بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در مرحله اول ۵۸

۳-۹-۲- نتایج درصد بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در مرحله دوم..... ٦٠
۳-۱۰- نتایج مقاومت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ٦٠
۳-۱۰-۱- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ٢٦،٢٤و ٢٨ درجه سانتی‌گراد در روز پانزدهم..... ٦٢
۳-۱۰-۲- بازماندگی لاروهای ماهی ازاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ٢٤، ٢٦ و ٢٨ درجه سانتی‌گراد در روز سی و پنجم..... ٦٤
بخش چهارم: بحث و نتیجه‌گیری..... ٧٨
منابع ٧٩

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

۱-۱- میزان رهاسازی به بچه ماهی انگشت قدماهی آزاد دریای خزر به منظور بازسازی ذخایر سالانه ۱۳۸۳-۱۳۷۲..... ۸

۳-۱- میزان میانگین مشخصات فیزیکوشیمیایی آب دوره پرورش ۳۵

۳-۲- ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای غذایی مورد آزمایش..... ۳۷

۳-۳- پایداری EPA، DHA در ناپلیوس آرتمیا و متاناپلیوسهای غنی‌شده در شرایط گرسنگی و نگهداری در حرارت زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد..... ۳۹

۳-٤- میانگین اسید چرب در بافتهای لاروماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه..... ٤۱

۳-۵- میانگین اسید چرب در بافتهای لاروماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روزه..... ٤٦

۳-٦- میانگین اسید آسکوربیک تمیارهای غذایی مورد آزمایش..... ٤۷

۳-۷- میانگین اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵..... ٤۸

۳-۸- میانگین اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵..... ٤۹

۳-۹- میانگین وزن تر و وزن خشک لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵..... ۵۰

۳-۱۰- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵..... ۵۲

۳-۱۱- میانگین ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵.... ۵۳

۵۳-۱۲- میانگین وزن تر و وزن خشک بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵..... ٥٤

۳-۱۳- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵..... ٥٦

۳-۱٤-میانگین ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ ..... ۵۷

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

۳-۱- تغییرات EPA در تمیارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه..... ٤۲

۳-۲- تغییرات DHA در تمیارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد..... ٤۲

۳-۳- تغییرات n-3HUFA در تمیارهای غذایی و در بافت داروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه.....٤۳

۳-٤- تغییرات DHA /EPA در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه ٤۳

۳-۵- تغییرات DHA /EPA در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه ٤٤

۳-٦- مقایسه تغییرات وزن تر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از روز اول تا پانزدهم در تمیارهای مختلف تغذیه‌ای..... ۵۱

۳-۷- مقایسه تغییرات وزن تر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از روز پانزدهم تا سی و پنجم ۵۵

۳-۸- بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر تا روز ۱۵..... ۵۹

۳-۹- بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از روز ۱۵ تا ۳۵..... ۵۹

۳-۱۰- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲٦ روز ۱۵..... ٦۱

۳-۱۱- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲۷ در روز ۱۵..... ٦۱

۳-۱۲- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲٦ در روز ۳۵..... ٦۳

۳-۱۳- بازماندگی لاروماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲۸ در روز ۳۵..... ٦۳

چکیده:

این پژوهش به بررسی تاثیر استفاده از ناپلیوس آرتمیا ارومیانا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C بر رشد، بقا و مقاومت لارو ماهی آزاد دریای خزر *(Salmo trutta caspius)* پرداخته است. آزمایش با ۵ گروه غذایی: (۱) غذای کنسانتره تجاری (۲) ناپلیوس آرتمیای تازه تخم‌گشایی شده (۳) ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (٤) ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات و (۵) ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات به مدت ۱۵ روز انجام پذیرفت و سپس تمام تیمارها با غذای کنسانتره تجاری به مدت ۲۰ روز تغذیه شدند.

در پایان روز پانزدهم رشد و بقای لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با غذای زنده غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P>0/05$) ولی همه گروههایی که از غذای زنده تغذیه کردند، میزان رشد و بقای بهتری را نسبت به لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجارتی داشتند ($P<0/05$).

لاروهای ماهی آزاد تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان بازماندگی را در دمای ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد داشتند. اختلاف بازماندگی در بین تیمار اول با تیمار دوم و سوم و همین طور بین تیمار دوم و سوم با تیمار

چهارم و پنجم با احتمال ۹۵ درصد وجود داشت. در پایان روز سی و پنجم، وزن تر و خشک لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) و میزان آن بیشتر بود و تیمار تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسید چرب غیر اشباع نسبت به دو تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) ولی بین دو تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

همین‌طور اختلاف میانگین درصد بقا در بین لاروهایی که از غذای کنسانتره تجاری تغذیه کردند با دیگر تیمارها وجود داشت (P<۰/۰۵) و کمتر بود و سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. (P>۰/۰۵)

لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره کمترین میزان مقاومت در دماهای ۲۶ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد را داشتند از طرف دیگر اختلاف میانگین درصد بازماندگی در دمای ۲۶ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد بین کلیه تیمارها وجود نداشت (P>۰/۰۵).

لغات کلیدی: ماهی آزاد دریای خزر، آرتمیا، اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره، ویتامین C، غنی‌سازی

مقدمه:

دریاچه خزر با وسعتی در حدود ٤٠٠ هزار کیلومتر مربع بزرگترین دریاچه جهـان و یـک اکوسیسـتم آبی بسته است که به لحاظ دارا بودن ویژگیهای منحصر به فرد اکولوژیکی، زیستگاه مناسبی برای زندگی ماهیان به حساب می‌آید (Abdurakhmanov, 1962).

وجود ١١٤ گونه از انواع ماهیان نشانگر استعداد بالقوه این دریاچه است که در حال حاضر ٢٥ نوع از ماهیان از نظر اقتصادی قابل بهره‌برداری می‌باشند (جواهری، ١٣٨٠).

ماهی آزاد دریای خزر *(Salmo trutta caspius)* یکی از ماهیان اقتصادی این اکوسیستم می‌باشـد کـه در قسمت غربی دریاچه خزر از رودخانه ترک[1] تا سفید رود و در قسمت شمالی دریـای خـزر پـراکنش دارد.

این ماهی دریازی رود کوچ[2] بوده و برای تخم‌ریزی به رودخانه‌ها استان گیلان، مازندران و گلستان از جمله رودخانه‌های چالوس، بابلرود، سفید رود، سرد آبرود، تنکابن، شفا رود و ... وارد می‌شود (عباسـی و همکاران، ١٣٧٨، Armantrtout, 1980، Kiabi et al., 1999). بر طبق مطالعات Ranold و walczak, 1970 و Walczak, 1972، تغییرات زیستگاه که شامل نوسانات سطح دریای خزر، تشکیل لجن، آلودگی، سدها، کانالهای آبگیری و مهمتر از همه صید بی‌رویه... از دلایل مهم کاهش ایـن گونـه در دریـای خـزر می‌باشد که بر طبق مطالعات کیابی و همکاران (١٩٩٩) و نظامی و همکـاران (٢٠٠٠) مـاهی آزاد دریـای خزر بر طبق قوانین IUCN در قسمت جنوبی دریای خزر در لیست گونـه‌هـای در معـرض خطـر قـرار گرفته است.

به همین جهت، تکثیر و پرورش مصنوعی این گونه با ارزش از اهمیت خاصی برخـوردار اسـت کـه بعنوان اصلی‌ترین راه حل در افزایش ذخایر ماهی آزاد دریای خزر مطرح گردیده است.

مشکل اصلی تکثیر و پروش ماهی آزاد دریای خزر در ایران تلفات ٢٠ درصدی در مراحـل اولیـه یـا نوزادی است که لاروهای نورس شروع به تغذیه فعال خارجی می‌نمایند (شـکیبی دریـا کنـاری، ١٣٧٩). پرورش موفقیت‌آمیز ماهیان به قابلیت دسترسی به غذای مناسـب جهـت تغذیـه بسـتگی دارد تـا بتوانـد

[1]- Terek
[2]- Anadromous

سلامتی و رشد را به خصوص در مراحل نوزادی تضمین نماید (Girri et al., 2000). از طرف دیگر در پرورش لارو ماهیان اصلی‌ترین مسئله تامین غذایی مناسب با کیفیت بالا است که به راحتی توسط لارو ماهی پذیرفته و هضم شود (Kim et al., 1996). موجودات زنده ریز بخصوص زئوپلانکتونها به عنوان غذای لاروی برای بسیاری از گونه‌های آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد که در این میان در طول دو دهه گذشته آرتمیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است و همچنان به عنوان یک ماده غذایی بدون جانشین در مراکز تکثیر و پرورش میگو ماهیان دریایی کاربرد دارد (Sorgeloos et al., 2001).

مهم‌ترین عامل برای استفاده ار آرتمیا به عنوان غذای زنده، ارزش غذایی آن بخصوص در مرحله ناپلیوس است که دارای ٦٦ درصد پروتئین و ١٤ درصد چربی بوده و همچنین کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب را در حد مطلوب دارا می‌باشد (Ahmadi et al., 1990).

با وجود میزان بالای پروتئین و چربی، نتایج تحقیقات انجام شده بیانگر این موضوع می‌باشد که اکثر گونه‌های آرتمیا منجمله آرتمیا اورمیانا *(Artemia urmiana)* دارای مقادیر اندک از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری امگا ٣ به خصوص اسید ایکوز اپنتاانوئیک[3] بوده و فاقد اسید چرب دوکوزاهگزا انوئیک[4] هستند.

نقش فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در نگهداری ساختار اصلی غشاءهای سلولی و همچنین به عنوان پیش ماده ایکوز انویدها[5] می‌باشند (Sargent et al., 1999. Sargent, 1995).

بنابراین با توجه به نقش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و بخصوص اسید ایکوز اپنتاانوئیک و اسید دوکوزا هگزانوئیک در رشد و نمو، بقا و کیفیت لاروی اهمیت افزودن این ترکیبات حیاتی در جیره غذایی لاروها مشخص می‌شود (Lisac et al., 1986).

از طرف دیگر ماهیان استخوانی که تقریباً ٩٦ درصد ماهیان موجود را تشکیل می‌دهند توانایی ساخت اسید آسکوربیک را ندارند (Dabrowski, 1996) و بنابراین جیره غذایی تنها منبع تامین کننده ویتامین C محسوب می‌شود. لارو ماهی به خصوص به کمبود ویتامین C حساس می‌باشد (Dabrowski et al.,

[1]- Eicosapentaenoic cid
[2]- Docosahexaenoic acid
[3]- Eicosanoids

(1996 و اضافه کردن ویتامین C به رژیم غذایی لاروها، بقا، عملکرد رشد، نمواسکلتی، تحمل استرس و پاسخ ایمنی را بهبود می‌بخشد (Merchie et al., 1996).

از طرف دیگر بهره‌گیری از ویژگی تغذیه‌ای ناپلیوس آرتمیا که به صورت فیلتر کننده غیر انتخابی[6] است امکان دستکاری در ارزش غذایی ناپلیوس در شرایط فقدان اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامین C را فراهم نموده است که به روش غنی‌سازی[7] یا کپسول گذاری زیستی[8] معروف می‌باشد.

با استفاده از روش غنی‌سازی بهبود قابل ملاحظه‌ای در کیفیت غذایی آرتمیا و برطرف نمودن نیازمندی لارو ماهیان دریایی و آب شیرین به اسید ایکوزاپنتاانوئیک و اسید دوکوزا هگزاانوئیک ایجاد شده است (Takeuchi et al., 1982) در نتیجه انتقال اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C به لاروها از طریق غنی‌سازی آرتمیا به دلیل اثرات مستقیم و غیر مستقیم اسیدهای چرب و غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C در فرآیندهای زیستی و فیزیولوژیکی موجب بهبود رشد، افزایش وزن، افزایش بازماندگی، مقاومت در برابر نوسانات محیطی لارو ماهی آزاد دریای خزر می‌تواند بشود. تحقیق حاضر با توجه به اهداف ذیل انجام شده است:

۱- افزایش درصد بازماندگی لارو ماهی آزاد دریای خزر از طریق تغذیه با ناپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C

۲- افزایش نرخ رشد لارو ماهی آزاد دریای خزر از طریق تغذیه با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C

۳- افزایش مقاومت در لارو ماهی آزاد دریای خزر نسبت به شوکهای دمایی از طریق تغذیه ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C

٤- معرفی روش بهینه پرورش لارو ماهی آزاد خزر با غذای زنده در مراحل اولیه لاروی

[1]- Non selevtive filter feeder
[2]- Enrichment
[3]- Bioencapsulation

بخش اول

کلیات

۱-۱- ماهی آزاد دریای خزر ***(Salmo trutta Caspius)***

۱-۲- جایگاه آرتمیا در آبزی پروری و نقش غنی سازی ناپلیوس آرتمیا

۱-۳- نقش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در پرورش لارو آبزیان

۱-٤- نقش اسید آسکوربیک در پرورش لارو آبزیان

۱-۵- مرور منابع

۱-۱- ماهی آزاد دریای خزر *(Salmo trutta caspius)*:

ماهی آزاد دریای خزر از راسته Salmoniformes، خانواده Salmonidae و با نام علمی (*Salmo trutta caspius* Kessler 1877) در واقع نوعی قزل‌آلا قهوه‌ای است که در قسمت غربی دریای خزر از رودخانه ترک[9] تا سفید رود و در قسمت شمالی دریای خزر پراکنش دارد. ماهی آزاد دریای خزر از ماهیان پر ارزش این اکوسیستم بوده و دارای ارزش اقتصادی فراوان میباشد.

این ماهی دریازی رود کوچ[10] بوده و برای تخم‌ریزی به رودخانه‌های استان‌های گیلان، مازندران و گلستان از جمله رودخانه‌های چالوس، بابلرود، سفید رود، سردآبرود، تنکابن، شفا رود و ... وارد می‌شود (عباسی و همکاران ۱۳۷۸، Kiabi et al.,1999, Armantrout, 1980)

مهاجرت ماهی آزاد دریای خزر بسته به نژاد آنها در دو فصل پاییز و بهار انجام می‌شود.

در ماهی آزاد نژاد مهاجر پاییزه رشد تخمکها در تخمدان ماهی زمانی که ماهی در دریا به سر می‌برد انجام می‌شود و حدود ۱ الی ۲ ماه قبل از تخم‌ریزی، دریا را به قصد رودخانه‌ها ترک می‌کند.

پس از عبور از رودخانه و طی نمودن مسیر رودخانه، به محل دلخواه خود برای تکثیر و تخم‌ریزی یعنی، جایی که آب رودخانه زلال و خنک (۱۰-٤ درجه سانتی‌گراد و سرشار از اکسیژن و فاقد هر گونه آلودگی و دارای بستر سنگریزه‌ای و شنی می‌رسند (شکیبی دریاکناری، ۱۳۷۹).

میزان هم‌آوری مطلق در این ماهی طبق بررسیهای انجام شد بین ۱۲٤۰۰-۲۱۰۰ عدد و به طور متوسط ۳٤۰۰ عدد می‌باشد. قطر تخم‌های این ماهی به طور متوسط ۵/۱ میلی‌متر است که حداقل و حداکثر قطر تخم‌ها ٤/۳ و ٦/۱ میلی‌متر می‌باشد (وثوقی و مستجیر، ۱۳۷۳).

لاروها پس از بیرون آمدن از تخم و جذب کیسه زرده مدت ۱ الی ۲ سال در رودخانه زیست نموده و سپس وارد دریا می‌شود. مواد غذایی این ماهی در سنین پایین لارو حشرات و بچه ماهیان و در سنین بالا انواع ماهیان را تشکیل می‌دهد.

از آنجا که از هر ۱۰۰ ماهی مهاجر در رودخانه تعداد ۲ الی ٤ قطعه موفق به تخمریزی می‌شوند و برای اینکه چنین پدیده‌ای سبب نابودی و در نتیجه انقراض نسل این گونه نشود، به این جهت، شرکت سهامی شیلات ایران با اقدامات لازم در سال ۱۳۵۸ اقدام به تاسیس مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان

---

[1]- Terek
[2]- Anadromus

شهید با هنر در شهرستان چالوس منطقه کلاردشت نمود. این مرکز هر ساله تعدادی مولد را صید و پس از تکثیر و تولید بچه ماهی، آنها را برای بازسازی ذخایر به دریای خزر رهاسازی میکند. مرکز مذبور توانست در سال ۱۳۸۳، ۳۵۰ هزار بچه ماهی ۲۰-۱۰ گرمی را به محیط طبیعی رهاسازی نماید (شرکت سهامی شیلات ایران، ۱۳۸٤). این مرکز هر ساله با استقرار گروههای صید در زمان مهاجرت ماهی آزاد دریای خزر به داخل رودخانه‌ها مناسب از جمله رودخانه تنکابن که مهمترین آنها می‌باشد، اقدام به صید مولدین نر و ماده از نواحی مصبی کرده و سپس آنها را به کارگاه واقع در کلاردشت انتقال می‌دهند. معمولاً صید مولدین از اوایل مهر و تا اواسط آبان به پایان می‌رسد. ماهیان انتقال یافته به کارگاه داخل استخرها نگهداری می‌شوند و در فصل تکثیر ماهی آزاد که از اواسط آبان هر سال آغاز می‌گردد، پس از کاهش آب استخر و انتقال مولدین به داخل سالن تکثیر، ماهیهای مولد را بیهوش کرده و پس از تخم‌کشی و اسپرم کشی، لقاح با نسبت جنسی نر به ماده ۱ به ۲ یا حدود ۱۰ سی سی اسپرم به ازای یک کیلوگرم تخم انجام می‌شود (شکیبی دریاکناری، ۱۳۷۹).

دمای مناسب برای تفریخ تخم‌ها در حدود ۸ الی ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در این دما، تخم‌ها در حدود ۲۵ الی ۳۰ روز به مرحله چشم‌زدگی می‌رسند و لاروها ۵۵ الی ٦۰ روز پس از لقاح لاروها از تخم بیرون می‌آیند.

در این زمان چون لاروها دارای کیسه زرده می‌باشند به آلوین معروفند. پس از جذب حدود $\frac{۲}{۳}$ کیسه زرده لاروها شروع به شنا کردن و پیدا نمودن غذا می‌کنند. زمان جذب کامل کیسه زرده لاروها ۲۰ تا ۲۵ روز بطول می‌انجامند. از این زمان باید آنها را با غذاهای مطلوب و با کیفیت عالی تغذیه نمود.

بچه ماهیان آزاد پس از سپری نمودن یک تابستان به مرحله پار[11] (۳ تا ۵ گرم) می‌رسند و در این مرحله بدلیل عمل هم جنس‌خواری اقدام به رقمبندی[12] می‌شود.

پس از آن مرحله اسملت[13] است. اسملت مرحله‌ای از زندگی ماهی است که به دلیل تکامل سلولهای بدن، تنظیم اسمزی به خوبی در آنها انجام می‌شود. در این مرحله بچه ماهیان به وزن ۱۵ گرم و یا بیشتر می‌رسند، و آن‌ها را میتوان رهاسازی نمود هر چند که در اوزان پایین‌تر از ۵ گرم هم رهاسازی انجام می‌شود (ویلکی، ۱۳۷۵).

---

[1]- Parr
[2]- Sort
[1]- Smolt

جدول ۱-۱: میزان رهاسازی بچه ماهی انگشت ماهی آزاد دریای خزر به منظور بازسازی ذخایر سالانه ۱۳۸۳-۱۳۷۲ (شرکت سهامی شیلات ایران، ۱۳۸٤) (هزار عدد)

سال	۱۳۷۲	۱۳۷۳	۱۳۷٤	۱۳۷٥	۱۳۷٦	۱۳۷۷	۱۳۷۸	۱۳۷۹	۱۳۸۰	۱۳۸۱	۱۳۸۲	۱۳۸۳
میزان رهاسازی (هزار عدد)	۳۳٥	٦٤۰	۸۰۰	٤۲٤	۳٤۹	٥۱۰	٤۱۲	٤٥۰	۳٦۳	۳٦٤	۳٥۲	۳٥۰

۱-۲- جایگاه آرتمیا در آبزی پروری و نقش غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا:

آرتمیا سخت پوست کوچکی است که به زندگی در آبهای لب شور تا آبهای خیلی شور که میزان املاح آنها ممکن است تا چند برابر آب دریا باشد سازش یافته است.

از دیدگاه رده‌بندی آرتمیا جزء شاخه بندپایان[۱٤]، زیر شاخه سخت پوستان[۱٥]، رده آبشش پایان[۱٦]، راسته راسته بی‌پوششان[۱۷]، خانواده آرتمیده[۱۸]، و جنس آرتمیا[۱۹] می‌باشد (Paul and Megilistsch, 1991).

آرتمیا در دنیا در دو گروه آرتمیا دو جنسی[۲۰] و آرتمیا بکراز[۲۱] مورد شناسایی قرار گرفته است. از گروه آرتمیا دو جنسی چند گونه مهم در دنیا شناخته شده است که آرتمیا دریاچه ارومیه (*Artemia urmiana*) یکی از آنها می‌باشد (Triantaphylids et al., 1995). دریاچه ارومیه با وسعتی حدود ٥۷٥۰ کیلومتر مربع در شمال غربی ایران بزرگترین زیستگاه طبیعی گونه خاص آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) می‌باشد همچنین وجود جمعیت های بکرزای آرتمیا در دریاچه‌های مهارلو، بختگان، تشک، اینچه، شورگل، دریاچه نمک قم، ورمال و چندین نقطه دیگر ایران گزارش شده است (Agh et al., 2001).

از میان غذاهای زنده‌ای که برای پرورش لارو ماهی و سخت پوستان و صدف داران مورد استفاده قرار می‌گیرد، ناپلیوس آرتمیا دارای گستره‌ی مصرف وسیعی است.

---

[2]- Arthropod
[3]- Crustacea
[4]- Branchiopoda
[5]- Anostraca
[6]- Artemidae
[7]- Artemia
[8]- Bisexual Artemia
[9]- Artemia Parthenogenetica

با وجود اینکه آرتمیا قرنها برای بشر شناخته شد بود، اما استفاده از آن به عنوان غذای زنده، در پرورش لارو آبزیان از سال ۱۹۳۰ زمانی که برخی محققین آرتمیا را به عنوان یک غذای عالی برای لاروهای از تخم بیرون آمده معرفی کردند، آغاز شد (Lavens and Sorgeloos, 1996).

از زمان گسترش پرورش تجارتی ماهیان دریای در اواخر ۱۹۷۰، تقاضا برای سیستهای آرتمیا به تدریج تا حدود ۸۰۰ تن در سال افزایش یافته بود که تقریباً ٤٠ درصد کل احتیاج آبزی پروری برای تغذیه مراحل اولیه بود (Sorgeloos et al., 2001).

در اواخر دهه ۱۹٦۰ و اوایل دهه ۱۹۷۰، چندین محقق مشکلاتی را در پرورش لارو ماهیان دریازی و گونه‌های سخت پوستان وقتی که منابع آرتمیا به غیر از آرتمیا خلیج سانفرانسیسکو بکار می‌بردند را گزارش کردند (Leger et al., 1986. Sorgeloos et al., 1980).

در ابتدا مقادیر بالای ترکیبات سمی مثل هیدروکربن‌های کلره[۲۲] و عناصر سنگین در مورد علت ارزش غذایی ناچیز آرتمیا از دریاچه بزرگ نمک و جمهوری چین مورد توجه قرار گرفت. مطالعات مقایسه‌ای در ارتباط با اندازه‌گیری و تاثیر ترکیبات آرتمیا انجام پذیرفت و سرانجام مشخص شد که فاکتور اصلی تاثیرگذار ارزش غذایی آرتمیا مقدار اسید چرب غیر اشباع (HUFA)[۲۳] اسید ایکوزاپنتاانوئیک (۲۰:۵n–۳) می‌باشد.

(Kanazawa et al., 1979. Watanabe, 1978. Kelin- Mcphee et al., 1980. 1982. Leger et al., 1985. 1987)

وقتی آرتمیا به دومین مرحله ناپلی (InstarII) پوست‌اندازی می‌کند (یعنی حدود ۸ ساعت بعد تخم‌گشایی) شروع به فیلتر کردن ذرات کوچکتر از ۲۵ میکرومتر صرف نظر از ماهیت آنها می‌کند (Sorgeloos et al., 2001. Makridis and Vadstien, 1999. Gellabert Hernandez, 2001).

در هر حال بهره‌گیری از مزیت و ویژگی تغذیه‌ای آرتمیا (فیلتر کننده غیر انتخابی[۲٤]) امکان دستکاری در ارزش غذایی آرتمیا در فقدان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره را فراهم نموده است. روش افزایش ارزش غذایی آرتمیا از نظر اسیدهای چرب بلند زنجیره و همچنین سایر ترکیبات غذایی یا

[1]- Chlorinated
[2]- Highly unsatuarated fatty acid
[24]- Non- Selective Filter Feeder

دارویی و درمانی به روش کپسول‌گذاری زیستی[۲۵] یا غنی‌سازی[۲۶] یا تقویت[۲۷] معروف می‌باشد و در حال حاضر در مراکز تکثیر ماهیان و میگوها کاربری پیدا نموده است.

محققان انگلیسی، ژاپنی، و بلژیکی محصولات غنی‌سازی و روش غنی‌سازی را با کاربرد جلبک، محصولات با کپسول گذاری میکرو[۲۸]، مخمر، محلولهای امولسیون شده، کنسانتره‌های خود تعلیق[۲۹] و محصولات با اجزا میکرو[۳۰] هر کدام به تنهایی و یا در ترکیب با هم گسترش داده‌اند (Leger et al., 1986).

در دهه ۱۹۸۰ بیشترین توجه اختصاص به حضور اسید ایکوزاپنتاانوئیک (EPA) (۲۰:۵n-۳) در آرتمیا به عنوان یک تضمین برای تولید موفق لارو ماهیان دریایی بود (Watanabe et al., 1983. Leger et al., 1985).

در اواخر دهه ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰، توجهات به سطح اسید دوکوزاهگزاانوئیک (DHA) بیشتر جلب شد و بقا با اسیدایکوزا پنتاانوئیک مرتبط شد اما اسید دوکوزاهگزاانوئیک رشد و کیفیت لاروی را بهبود بخشید (Lisac et al., 1986) اهمیت اسید دوکوزاهگزاانوئیک به خصوص نیاز برای نسبتها بالا

در ترقی رشد، تحمل استرس و تجمع رنگدانه در بافتها، آشکار شد (Lavens et al., 1995. Kraul, 1993. Reitan et al., 1994. Morente et al., 1993) در گذشته، نتایج رضایت بخشی با نسبتهای اسید ایکوزاپنتانوئیک کمتر از یک بدست آورده شد اما تاکید کنونی برای بدست آوردن سطوح ۲ و بالاتر است.(Dhert et al., 1993. Sargent et al., 1993)

تجربیات اخیر بوسیله Koven و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که در کنار اسید دوکوزاهگزاانوئیک نه فقط اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا-۳ مهم هستند بلکه اسید آراشیدونیک (ARA)[۳۱] (۲۰:٤n-٦) هم نقش معنی‌داری ممکن است داشته باشد.

۱-۳- نقش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در پرورش لارو آبزیان

[25]- Bioencapsulation
[26]- Enrichment
[27]- Boosting
[28]- Micro- particulate products
[29]- Self- emulsifing concentrates
[30]- Micro- particulate products
[31]- Arachidonic

اهمیت اسیدهای چرب غیر اشباع[۳۲] بلند زنجیره در تغذیه لارو ماهیان بطور گسترده در طول ۲۰ سال گذشته تحقیق شده است (Wantanabe, 1993. Watanabe and Kiron, 1994. Sargentet et al., 1999).

اسید ایکوزاپنتانوئیک، اسید دوکوزاهگزاانوئیک و اسید آراشیدونیک، اسیدها چرب ضروری[۳۳] برای ماهیان می‌باشند. نقشهای فیزیولوژیکی، سلولی و بیوشیمیایی این سه اسید چرب غیر اشباع بلند زنجیره، بطور وسیع در ماهیان و دیگر مهره‌داران مشابه هستند و به دو مقوله تقسیم می‌شوند (Sargent, 1999):

۱) نقش کلی در نگهداری ساختار و تمامیت اصلی غشاءهای سلولی

۲) نقش مخصوص که بیشتر به عنوان پیش‌ساز هورمونهای پاراکرینی[۳۴] فعال زیستی که به عنوان ایکوزانویدها شناخته شده‌اند.

ایکوزانویدها یک گروه مولکولهای فعال زیستی هستند که به عنوان هورمونهای پاراکرینی شناخته شده‌اند که شامل پروستاگلندین‌ها[۳۵]، ترومبوکسان‌ها[۳۶] و لئوکوترین‌ها[۳۷] هستند (Copeman, 2002).

ایکوزانویدها نقشهای فیزیولوژیکی گوناگونی را در ماهی ایفا می‌نماید که از تنظیم یونی تا تخم‌ریزی در ماده‌های رسیده متغیر می‌باشند (Sargent, 1995).

بافتهای ماهی به طور کلی غلظتهای بالاتر اسید دوکوزاهگزاانوئیک و اسید ایکوزاپنتاانوئیک را نسبت به اسید آراشیدونیک دارند و ماهی به همان نسبت احتیاجات غذایی بالاتری برای اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری امگا- ۳ دارند.

با وجود اینکه اسید آراشیدونیک کمترین جزء دیواره‌های سلولی ماهی می‌باشد اما نقش ساختار سلولی در ماهی را انجام می‌دهد و جزئی نمی‌باشد. پیش ماده اصلی ایکوزانوید در ماهی همانند پستانداران اسید آراشیدونیک است.

البته ایکوزانویدها از اسید ایکوزپنتاانوئیک هم شکل می‌گیرد که از لحاظ بیولوژیکی فعالیت کمتری از ایکوزانویدهای شکل گرفته از اسیدآراشیدونیک دارند.

---

[32]- poly unsaturated fatty acid
[33]- essential fatty acid
[34]- Paracrine
[35]- prostaglandin
[36]- Thromboxanes
[37]- Leukotrienes

علاوه بر این اسیدایکوزاپنتانوائیک به طور رقابتی از شکل‌گیری ایکوزانویدها توسط اسید آراشیدونیک جلوگیری می‌کند و ایکوزانویدهای شکل گرفته از اسیدایکوزاپنتاانوئیک بطور رقابتی با عمل ایکوزانویدهای شکل گرفته از اسید آراشیدونیک مداخله می‌کند.

بنابراین عمل ایکوزانوید در بدن بوسیله نسبت اسید آراشیدونیک / اسید ایکوزاپنتانوئیک تعیین می‌شود.

میزان مطلوب اسید آراشیدونیک / اسید ایکوزاپنتانوئیک در مهره‌داران خشکی نامعلوم است اگرچه نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری ۶ / سری ۳ در حدود ۵:۱ است که به احتمال نسبت اسید آراشیدونیک / اسید ایکوزاپنتانوئیک مشخص می‌کند.

چنین وضعیتی در ماهی می‌تواند کمتر باشد و نسبت بافتی اسید آراشیدونیک / اسید ایکوزاپنتانوئیک خیلی پایینتر در مقایسه پستانداران باشد. نیاز مناسب بافتی برای هیچیک از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به طور معنی‌داری جداگانه نمی‌تواند مورد توجه قرار گیرد بلکه نسبتهای کلی هر سه اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (DHA: EPA: AA) بایستی مورد توجه قرار گیرد.

این امر در عمل مشکل می‌باشد و وقتی تشدید می‌شود که تعداد زیادی از گونه‌های ماهیان آب شیرین توانایی تولید اسید ایکوزاپنتاانوئیک و اسید دوکوزاهگزاانوئیک از اسید لینولنیک (LNA)[38] (۳-۱۸:۳n) و اسید آراشیدونیک از اسید لینولئیک (LA)[39] (۶-۱۸:۲n) را دارند. (Sargent et al., 1999)

همین طور، روابط رقابتی اسید لینولنیک و اسید لینولئیک و همچنین دیگر اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ۲۰ و ۲۲ کربنه و اسیدهای چرب تک غیر اشباع در تبدیل این اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ۱۸ کربنه به محصولات نهایی ۲۰ کربنه و ۲۲ کربنه اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره وجود دارد و بنابراین نتیجه نهایی بافت از نسبت غذایی اسید آراشیدونیک / اسید لینولنیک برای گونه‌های مشکل می‌باشد.

در دیگر گونه‌ها که شامل همه ماهیان دریایی که تاکنون مطالعه شده‌اند، میزان تبدیل اسید لینولنیک به اسید ایکوزاپنتاانوئیک و اسید دوکوزاهگزاانوئیک و اسید لینولئیک به اسید آراشیدونیک بطور ناچیز یا صفر می‌باشد و بدین لحاظ در این گونه‌ها اسید دوکوزاهگزاانوئیک و اسید ایکوزاپنتاانوئیک و اسید آراشیدونیک، اسیدهای چرب ضروری غذایی هستند.

---

[38]- Linolenic acid
[39]- Linoleic acia

۱-٤- نقش اسید آسکوربیک در پرورش لاروآبزیان:

ویتامین C، اسید ال- آسکوربیک[٤٠] و مشتقاتی که فعالیت اسید آسکوربیک در حیوانات مختلف را دارند را شامل می‌شود (Dobrowski, 2000). اسید آسکوربیک (ویتامین C) به عنوان یک ماده، مغذی کم مصرف[٤١] ضروری برای ماهیان استخوانی و بی‌مهرگان در آبزی پروری شناخته شده است. در حالیکه بسیاری از مهره‌داران ویتامین C را می‌توانند سنتز کنند بعضی از آنها این توانایی را ندارند و وابسته به منبع غذایی می‌باشند. اسید آسکوربیک از دی- گلوکز[٤٢] یا دی- گالاکتوز[٤٣] سنتز می‌شود که به عنوان قسمتی از میسر اسید گلوکورونیک[٤٤] می‌باشد. بخشی از ال- گولونیک اسید[٤٥] مسیر ساخت اسید آسکوربیک در سه مرحله متوالی مقایسه می‌شود. ابتدا، لاکتونیزیشن آنزیمی[٤٦] ال- گلولونیک اسید بوسیله ال- گلونولاکتون هیدرولاز[٤٧] (ECB.1.1.18) کاتالیز میشود (Stubbs and Haufrect, 1968). دوم اکسید شدن ال- گلونولاکتون بوسیله ال- گلونولاکتون اکسیداز[٤٨]- (GLO, EC1.1.3.8) کاتالیز می‌شود و سوم ایزومریزیشن[٤٩] خود بخودی ۲- کتو- ال- گلونولاکتون به اسید آسکوربیک هدایت می‌شود (Chaterjee, 1960).

چون ال- گلونولاکتون اکسیداز تنها آنزیم غایب در پستاندارانی که کمبود ویتامین C داشتند بود (Sato et al., 1994) بنابراین ال- گلونولاکتون اکسیداز آنزیم کلیدی در سنتز اسید آسکوربیک در حیوانات می‌باشد.

براساس مطالعات انجام شده ماهیان استخوانی که تقریباً ۹٦ درصد ماهیان موجود را شامل می‌شوند (Nelson, 1994) اسید آسکوربیک را نمی‌توانند سنتز کنند و ٤ درصد باقیمانده که شامل ماهیان دودمی (Touhata et al., 1995. Dykhuizen et al., 1980)، کوسه‌ها و سفره ماهیان (Touhata et al., 1995. Mdelnd et al., 1998) استروژن[٥٠] و پاره پوزه نماها[٥١]، bowfin (*Amia calva*)، *(lepisosteus osseus)*

40- L- ascorbic acid
41- Micronutrient
42- D- glucose
43- D- galactose
44- Glucuronic acid
45- L- gulonic acid
46- Enzymatic lactonization
47- L- gulonolacton hydrolase
48- L- gulonolacton oxidas
49- Isomerization
50- Storgeon
51- Puddlefishes

gars، *(Polypterus senegalus)* (Moreau et al, 1999) و لامپری‌ها *(petromyzon marinus, lampetra japonica)* (Moreau et al., 1998. Touhata, 1995) اسید آسکوربیک را از ابتدا در کلیه می‌توانند تولید کنند.

لارو ماهی به خصوص به کمبود ویتامین C حساس می‌باشد (Dabrowski et al., 1996).

رشد سریع در محله لاروی نیاز ویتامینی بالاتر از مراحل جوانی و بلوغ را طلب می‌کند (Dabrowski, 1991) و اضافه کردن ویتامین C به رژیم غذایی لاروها بقا، عملکرد رشد و نمو اسکلتی، تحمل استرس و پاسخ ایمنی را بهبود می‌بخشد (Merchie et al., 1996) بعلاوه، غلظتهای بالای اسید آسکوربیک در تخم‌های ماهی مشخص شده است، برای مثال تخم قزل‌آلای رنگین کمان ۳۱۶-۲۶۷ میکروگرم بر گرم وزن تر ویتامین C دارد که اهمیت این ماده مغذی کم مصرف را در طول نمو اولیه تعیین می‌نماید. (Dabrowski and Blom, 1994)

ترکیب بیوشیمیایی زئوپلانکتون و در نتیجه ارزش غذایی آن می‌تواند کاملاً متغیر باشد و بطور زیادی بوسیله رژیم غذایی تحت تاثیر قرار میگیرد (Sandnes et al., 1994. Whyt and Nagata, 1990. Frolov, 1991. Dhont and Laven, 1996. Fukusho, 1980) تحقیقات اخیر در روشهای غنی‌سازی اسید آسکوربیک در زئوپلانکتون درک بهتر نیاز اسید آسکوربیک مناسب در طول دوره رشد[52] لاروی سخت پوستان و ماهیها را به همراه داشته است.

در حال حاضر، فن‌آوریهایی برای غنی سازی زئوپلانکتون بوسیله اسید آسکوربیک از طریق تغذیه آنها با امولسیون چربی که شامل Lypophylic ascorbyl palmitate (Merchie et al., 1995) می‌باشد بر مبنا روشهای بکار رفته برای غنی‌سازی اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره زئوپلانکتون گسترش یافته است.

آسکوربیل پالمیتات شکل قابل دسترس زیستی اسید آسکوربیک در امولسیونها می‌باشد که به سرعت به اسید آسکوربیک فعال بوسیله زئوپلانکتونها در بدن جذب می‌شوند (Merchie et al., 1995).

این روش، نه تنها یک روش موثر افزایش غلظت اسید آسکوربیک در زئوپلانکتون می‌باشد و بالقوه ارزش تغذیه آنها را بهبود می‌بخشد بلکه این امکان را ایجاد می‌کند که غلظتهای مختلف اسید

[52]- ontogeny

آسکوربیک در غذای زنده بطور ضروری مستقل از مواد مغذی دیگر باشد و از این رو فـن‌آوری مفیـدی برای مطالعه اثر غلظتهای مختلف اسید آسکوربیک در رشد، بقا و مقاومت استرس لاروها می‌باشد.

۱-۵- مرور منابع:

در سال ۱۳۷۷ شعبانپور و ۲۰۰٤ کمالی و شعبانپور نقش مهم نـاپلیوس آرتمیـا در تغذیـه لارو تـاس ماهی ایرانی *Aciperser persicus* را نشان دادند و بیشترین میزان رشد و بقا را در لاروهای تغذیه شـده با ناپلیوس آرتمیا مشاهده کردند. در سال ۱۳۷۹ مطالعات اولیه آذری و همکاران نشان داد که میزان اسید ایکوزاپنتاانوئیک، اسید دوکوزاهگزا انوئیک و مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ در طی غنی سازی ناپلیوس آرتمیا اورمیانا در زمانهای ۹,٦,۳ ساعت با هر سه نوع امولسیون روغن کبـد ماهی کاد، کیلکا و دانه سویا افزایش یافت. آنها همچنین یافتند که تغییرات اسـید دوکـوزاهگزا انوئیـک، اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ در طی ۷۲ ساعت گرسنگی تابعی از زمان بود، و بـا گذشت زمان کاهش یافت در حالیکه میزان اسید ایکوزاپنتانوائیک در طی دوران گرسـنگی تـابعی از زمـان نبوده و افزایش نشان داد. در سال ۱۳۷۹ یک دوره غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا ارومیانا با امولسیون اسـیدهای چرب ICES ۳۰/٤ ICES ۵۰/۰/٦ بصورت مقایسه در مدت ۱۲ و ۲٤ ساعت انجـام گرفـت کـه بهتـرین نتیجه در غنی‌سازی با امولسیون ICES ۳۰/٤ در مدت ۲٤ ساعت حاصـل شـد (آق و نـوری ۱۳۷۹). در سال ۱۳۸۰ نظری و یوسفیان با تحقیق نقش ناپلی آرتمیای ارومیه بر بقا و نرخ رشد تـاس مـاهی ایرانـی *Aciperser persicus* گزارش کردند که در صورت استفاده از آرتمیا به عنوان ماده غـذایی در لاروهـای قره برون، نرخ رشد و وزن نهایی افزایش می‌یابد و از ضریب تبدیل غذا کاسته می‌شود. در سـال ۱۳۸۰، منافی فر گزارش کرد که آرتمیا ارومیانا اسید ایکوزاپنتاانوئیک بسیار کم و اسید دوکـوزا هگزاانوئیـک در حد صفر دارا می‌باشد و بنابراین غنی‌سازی آن قبل از آنکه به مصـرف آبزیـان برسـد ضـروری اسـت و بالاترین بازده غنی‌سازی در نمونه‌های غنـی شـده بـا امولسـیون (ICES) مشـاهده شـد. در سـال ۱۳۸۳ میرزاخانی نشان داد که لاروهای قزل‌آلا رنگین کمان تغذیه شده با آرتمیا غنی شـده از اسـیدهای چـرب غیر اشباع بلند زنجیره سری امگا ۳ با افزایش وزن برابر ۹/٤ ± ۱۰٤/٤ درصد بالاترین وزن را نشان دادند. در سال ۱۳۸۳ سلیمی با مطالعه بررسی مقایسه‌ای اثرات تغذیه‌ای لارو قزل‌آلای رنگین کمان بـا سیسـت دکپسوله و ناپلی آرتمیا نشان داد که میزان رشد ماهیان تغذیه شده با ناپلی آرتمیا بالاترین بوده و اختلاف

معنی‌داری با سایر تیمارهای غذایی دارند. همین طور بالاترین درصد بازماندگی مربوط به گروههای تغذیه نموده با ناپلی آرتمیا و مخلوط کنسانتره+ ناپلی آرتمیا بود. در سال ۱۳۸۲، محمدزاده نشان داد که تغذیه لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان با ناپلی غنی شده از روغن ماهی و ویتامین C در مقایسه با تغذیه آنها از ناپلی غنی نشده اختلاف معنی‌دار رشد نشان نداد اما گروه تغذیه با غذای کنسانتره رشد کمتری نسبت به بقیه گروهها داشت. از طرف دیگر بیشترین درصد بقا و بالاترین مقاومت در لاروهای تغذیه شده با روغن ماهی و ویتامین C بدست آمد. در سال ۱۳۸٤ آذری تاکامی و همکاران بیشترین درصد بقا و مقاوم‌ترین لاروهای قزل‌الای رنگین کمان را با تغذیه لاروها از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بدست آوردند. میزان رشد لاروها در گروه تغذیه شده با مخلوط غذای کنسانتره و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با آسکوربیل پالمیتات نسبت به سایر گروهها به جزء گروه تغذیه شده با غذای کنسانتره شده به طور معنی‌داری بالاتر بود و تغذیه ۱۰۰٪ با ناپلیوس آرتمیا باعث کاهش رشد لاروها گردید.

در سال ۱۹۹۳ اثرات سودمند آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا ۳ به عنوان غذای برای لارو Palmetto bass (*M.Chrysops×Morone saxatilis*) توسط Tuncer و همکاران مورد بررسی قرار گرفت.

٦ سطح اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره، کوچکتر از ۰/۰۳ درصد (رژیم شاهد)، ۰/۳۳ درصد، ۰/٦۳ درصد، ۰/۸۷ درصد، ۱/۲٦ درصد و ۲/۲۷ درصد وزن آرتمیا خشک بودند.

پیشرفت رشد با جذب اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا ۳ رژیم غذایی افزایش یافت بطوریکه رشد لاروهایی که بالاترین جیره غذایی اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا ۳ را داشتند دو برابر جیره غذایی شاهد بودند. در سال ۱۹۹۷ مطالعات Merchie و همکاران نشان داد که ویتامین C می‌تواند میزان رشد را در لارو *Clarias gariepinus* افزایش دهد. در سال ۱۹۹٤ Ako و همکاران در بررسی تحت عنوان بالا بردن مقاومت استرس فیزیکی در لارو کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) بوسیله تغذیه با ناپلی آرتمیا غنی شده اثر ٤ تیمار ناپلی تازه تخم‌گشایی شده، ترکیب ناپلی و روتیفر،

ناپلی غنی شده و ترکیب ناپلی غنی شده با روتیفر را با هم مقایسه کردند. آنها دریافتند که اختلاف رشد و بقا در میان تیمارها دیده نشد اما اختلاف معنی‌داری در توانایی تحمل دستکاری فیزیکی مشاهده شد که بیشترین مرگ و میر در تیمار اول اتفاق افتاد.

در سال ۱۹۹۵، Merchie و همکاران، ارزیابی ناپلی آرتمیا غنی شده با ویتامین C، برای لارو میگوی آب شیرین *Macrobrachium rosenbergii* را انجام دادند. آنها آزمایشهای تغذیه‌ای را با کاربرد یک شاهد (۵۰۰ میکرو گرم اسید آسکوربیک در وزن خشک) و در دو سطح غنی‌سازی مختلف (۱۳۰۰ و ۲۷۵۰ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در گرم وزن خشک) انجام دادند و هیچ اختلاف رشد و بقا را مشاهده نکردند اما اثر مثبت معنی‌داری در شرایط فیزیولوژی پست لارو با آزمایش شوری متناسب با افزایش ویتامین C دیده شد. بقا هم در میان چهار گروهی که بالاترین اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره امگا ۳ را داشتند مشابه بود. Kim و همکاران در سال ۱۹۹٦ آرتمیا بالغ را به عنوان غذایی برای تغذیه آغازین Coho Salmon *(oncorhynchus kisutch)* معرفی کردند و عنوان کردند که لاروهای نورسی که آرتمیا بالغ را به میزان زیاد مصرف کردند از دیگر گروهها رشد سریعتر داشتند و این تفاوت بعد از معرفی غذای تجارتی نیز باقی ماند. در سال ۱۹۹۷ Wirth and Steffens بیان کردند که کمبود اسید دوکوزاهگزانوئیک کاهش رشد لارو قزل‌آلای رنگین کمان *oncorhynchus mykiss* را سبب می‌شود. و بنابراین اسید دوکوزاهگزاانوئیک برای لارو قزل‌آلای رنگین کمان می‌تواند ضروری باشد. در سال ۱۹۹۸ Gapasin و همکاران غنی‌سازی غذای زنده با اسیدهای چرب ضروری و ویتامین C و تاثیرات آن بر عملکرد لارو خامه ماهی *(Chanos chanos)* را مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند لاروهایی که با روتیفر و آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (٤٨-۳۲ میلی‌گرم وزن خشک) یا اسید چرب غیر اشباع بلند زنجیره + ویتامین C (٤٥-۳۳ میلی‌گرم وزن خشک تغذیه کردند نسبت به لاروهایی که غذای زنده غنی نشده دریافت کردند (۲۷-۲٤ میلی‌گرم وزن خشک) رشد بالاتری را بعد ٤۰ روز نشان دادند.

همین طور در مطالعه استرس شوری در روز ۲۵، مرگ و میر لاروهایی که اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره + ویتامین C و اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره را تغذیه کردند از ماهیها گروه شاهد کمتر بود.

در سال ۱۹۹۹ Czesny و همکاران در بررسی خود تحت عنوان رشد، بقا و کیفیت ماهی جوان Walley *(Stizostedion vitreum)* تحت تاثیر آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا ۳ دریافتند که افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در ناپلی آرتمیا رشد، بقا، مقاومت و ترکیب اسید چرب لاشه بدن ماهیان جوان Walleye را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

لاروهایی که از ناپلی آرتمیا غنی شده با ۱۰۰ درصد روغن کبد کاد تغذیه کردند بقا بهتر از دیگر تیمارها داشتند و لاروهایی که از آرتمیا غنی شده با ترکیب روغن کبد کاد و اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره تغذیه کردند رشد بالاتری از دیگر تیمارها داشتند.

در سال ۲۰۰۰ Kolkovski و همکاران اثر ویتامین C و E با آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره بر رشد، بقا و مقاومت به استرس را در لارو Walleye آب شیرین *(Stizostedion vitreum)* مورد مطالعه قرار دادند، آنها دریافتند لاروهای walleye که آرتمیا غنی شده با امولسیون EPA/DHA را تغذیه کردند در مقایسه با لاروهایی که آرتمیا غنی نشده خوردند نزدیک به میانگین ٦٥٠ درصد افزایش سطوح اسید دوکوزاهگزاانوئیک و اسید ایکوز اپنتانوئیک را نشان دادند و همین طور افزایش معنی‌داری در ویتامین C و E نشان دادند.

در سال ۲۰۰۲، lim و همکاران و در سال ۲۰۰۵، نوری و همکاران گزارش کردند که غنی‌سازی با اسید آسکوربیک و اسیدهای چرب غیر اشباع بر افزایش مقاومت در برابر استرس از جمله شوری موثر است اما بین بقا بچه ماهیان تغذیه شده با آرتمیا غنی شده و غنی نشده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در سال ۲۰۰٦ نوشیروانی و آذری تاکامی در بررسی تحت عنوان پایداری اسید آسکوربیک در آرتمیا

اورمیانا تحت غنی سازی و گرسنگی بعدی دریافتند که ناپلی آرتمیا اورمیانا سطوح بالای اسید آسکوربیک در بافت بدن را دارد (۱٦٦ ± ۱۵۳٤ میکروگرم وزن خشک) و غلظت اسید آسکوربیک تحت غنی‌سازی افزایش یافت. بالاترین سطح غنی‌سازی در ناپلی آرتمیا در ۱۸ ساعت غنی‌سازی انجام شد و در دوره گرسنگی در سرما مقدار اسید آسکوربیک در تمام گروهها افزایش پیدا نمود.

بخش دوم

مواد و روشها

۲- مواد و روشها:

موادی که در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند به دو دسته مواد مصرفی و غیر مصرفی تقسیم‌بندی گردیده‌اند:

۲-۱- مواد مصرفی:

سیست آرتمیا ارومیانا *(Artemia armiana)* (تهیه شده از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه)، لارو ماهی آزاد دریای خزر، غذای کنسانتره تجاری SFT00 و SFT01 ساخت شرکت چینه- محلول هیپوکلریت سدیم (Naocl)، لوگول، کاغذ صافی، آب مقطر، امولسیون اسید چرب (ICES) (ساخت شرکت INVE بلژیک)، اسید استیک، اسید متافسفریک، EDTA، ایزو اکتان، هیدروکسید پتاسیم، آسکوربیل پالمیتات (ساخت شرکت مرک آلمان)

۲-۲- مواد غیر مصرفی:

مخازن پرورش لارو (٤٠ لیتری)، زوکهای پلی اتیلنی ۱۲۰ لیتری، زوکهای شیشه‌ای ۹ لیتری، آکواریوم مخصوص قرار دادن زوکهای شیشه‌ای، سیستم نوردهی با لامپ فلورسنت، سیستم هواده مرکزی و شلنگهای رابط، لوپ، دستگاه رفراکتومتر (شوری سنج)، اکسیژن متر، دماسنج دیجیتالی و معمولی، پی‌پت، شمارشگر، میکروسمپلر، ترازوی حساس آزمایشگاه با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم.

دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC: DANI-1000)، دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC).

۲-۳- روش انجام آزمایش:

۲-۳-۱- انتقال لاروها:

لاروهای ماهی آزاد دریای خزر *Salmo trutta caspius* که به طور تقریبی $\frac{۲}{۳}$ کیسه زرده را جذب کردند از مرکز تکثیر و پرورش آزاد ماهیان شهید باهنر واقع در منطقه کلاردشت شهرستان چالوس تهیه گردید و بوسیله کیسه‌های پلاستیکی همراه با اکسیژن خالص حمل گردید. برای این کار، در کیسه‌های پلاستیکی دو جداره‌ای $\frac{۱}{۴}$ آب ریخته شد و بعد از قرار دادن لاروها در داخل کیسه $\frac{۳}{۴}$ باقیمانده توسط کپسول اکسیژن از اکسیژن خالص پر شد و سپس کیسه‌ها محکم بسته شدند. کیسه‌های پلاستیکی در داخل جعبه‌های یونولیتی همراه با یخ قرار گرفتند. پس از حرکت هر ۲ ساعت، رفتار لاروها و دمای محیط مورد بررسی قرار گرفت (Shepherd and Bromage, 1992).

۲-۳-۲- محل انجام طرح:

محل انجام طرح پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه انتخاب گردید.

۲-۳-۳- آماده‌سازی مخازن پرورش لارو:

جهت نگهداری، پرورش و انجام تیمارهای تغذیه‌ای لاروهای ماهی آزاد از مخازن مکعب مستطیلی پلی اتیلنی ٤٠ لیتری با حجم مفید ۲۵ لیتر استفاده گردید.

جریان آب مخازن پرورش توسط لوله‌های PVC که از بالا آب را با جریان ثابت و یکنواختی به مخازن می‌ریختند برقرار گردید.

آب مورد استفاده برای پرورش لاروهای ماهی آزاد از یک حلقه چاه موجود در محوطه دانشگاه ارومیه تامین گردید.

آب چاه پس از ورود به سالن تکثیر و پرورش آبزیان، به ترتیب وارد دو منبع آب ۳۰۰۰ لیتری جهت ذخیره و هوادهی شد. پس از خروج از منبع دوم از طریق لوله‌های رابط به طرف تانکهای پرورش هدایت شد. هر کدام از لوله‌های PVC تامین کننده آب تانکها دارای یک شیر فلکه بود که میزان آب و امکان قطع و وصل مجدد آب را امکان‌پذیر ساخت. و هر یک از تانکها مجهز به یک لوله هوا ده بود که هوا آن توسط یک لوله مرکزی هوا ده که به یک دستگاه هواده وصل بود تامین می‌شد.

۲-۳-٤- هم دمایی آب تانکها و کیسه‌ها:

به دلیل تفاوت دمای آب مخازن پرورش با آب درون کیسه‌های حمل لارو ماهی آزاد، کیسه‌های پلاستیکی حدود یکساعت درون آب کارگاه در داخل تانکهای ۳۰۰ لیتری جهت همدمایی قرار داده شد تا به تدریج تفاوت دما به حداقل برسد. پس از این کار لاروها داخل کیسه‌ها که هیچگونه تلفاتی در حین انتقال نداشتند به تانک پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری تخلیه شدند تا پس از جذب کامل کیسه زرده، شروع به تغذیه خارجی، شمارش و به تعداد لازم به تانکهای پرورش انتقال یابند.

۲-۳-۵- شمارش و انتقال لاروها به تانکهای پرورش:

دو روز قبل از اجرای تیمارهای تغذیه‌ای لاروهای ماهی آزاد دریای خزر که بیشتر از $\frac{۲}{۳}$ کیسه زرده را جذب کرده بودند به تعداد ۳۵۰ قطعه با میانگین وزنی (۱٦,۱ ±۷۸ میلی‌گرم) و با تراکم ۱٤ قطعه لارو در هر لیتر برای هر تانک (تکرار) شمارش و انتقال داده شدند.

۲-۳-٦- غنی‌سازی ناپلی آرتمیا:

۲-۳-٦-۱- خالص‌سازی سیستمهای آرتمیا:

سیست آرتمیا دریاچه ارومیه مورد استفاده در این تحقیق از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. ابتدا با استفاده از یک الک با چشمه‌های ٤۰۰ میکرومتر سیستها را از ناخالصی‌های درشت جدا شدند. پس سیستها را به روش شناوری در سطح[۵۳] از مواد سنگین و به کمک غوطوری در آب شیرین[۵٤] از پوسته‌های خالی جداسازی شدند (Vanstappen, 1996).

۲-۳-٦-۱-۱- جداسازی به کمک شناوری در سطح:

بدین ترتیب که سیستها درون ظرف حاوی آب نمک اشباع قرار داده شدند و به آرامی به مدت ۲٤ ساعت از پایین هوادهی شدند. پس از ۲٤ ساعت هوادهی سیستهای سالم در سطح آب جمع شده و مواد زاید در ته ظرف ته نشین شدند. سیستهای جمع شده در سطح آب جمع‌آوری و به طور کامل در آب شیرین شسته و آب‌کشی شدند تا نمک روی آنها بطور کامل حذف گردد.

۲-۳-٦-۱-۲- جداسازی به کمک وزن مخصوص در آب شیرین:

سیستهای حاصل از مرحله اول در ظرف استوانه‌ایی ته مخروطی حاوی آب شیرین قرار داده شد و به مدت ده دقیقه هوادهی شدند. بعد از این مدت سیستهای کامل حاوی جنین در کف ظرف ته نشین شده و پوسته و سیستهای ترک خورده از سطح آب دور ریخته و سیستهای سالم به کمک صافی ۱۰۰ میکرومتری جمع‌آوری شدند.

---

[53]- Flotation separation method
[54]- Density separation in freshwater

۲-۳-٦-۲- ضد عفونی سیستها:

سیستها معمولاً دارای بار آلودگی باکتریایی و قارچی در سطح خارجی هستند. بـرای برطـرف کـردن آلودگی قبل از تخم‌گشایی ضد عفونی شدند. برای این کار سیستها در محلول ۲۰۰ppm هیپوکلریت قرار گرفته و به مدت ۲۰ دقیقه به ملایمت هوادهی شدند سپس به کمک الک ۱۰۰ میکرونی جدا و به مـدت چند دقیقه با آب شیرین شسته شدند (Lavens and Sorgeloos, 1996).

۲-۳-٦-۳- تخم‌گشایی سیستهای آرتمیا و جمع‌آوری ناپلیوس:

سیستها جداسازی شده طبق روشهای ذکر شده توسـط Bengtson و همکـاران ۱۹۹۱، Lavens and Sorgeloos, 1996 بطور روزانه تخم‌گشایی شدند. مراحل تخم‌گشایی سیستها طبق روشهای ذکر شده به قرار زیر می‌باشد:

ابتدا آب دریاچه را با افزودن آب شیر یا آب مقطر رقیق و به شوری ۳۳ppt رسانده شـد. شـوری آب به کمک دستگاه شوری سنج[55] به طور مرتب اندازه‌گیری شد. PH آب دریا با افـزودن مقـداری کربنـات سدیم به بالای هشت رسانده شد و سپس بوسیله فیلتر ۰/٤٥ میکرومتری فیلتر شدند و در زوکهـای پلـی اتلینی ۱۲۰ لیتری در حدود ۱۰۰ لیتر آب ریخته شد.

دمای آب داخل زوکها بوسیله بخارهایی آکواریوم حدود ۳۰-۲۸ درجه سـانتی‌گـراد نگهداشـته شـد. هوادهی از ته زوکها به کمک یک لوله پلاستیکی بلند که به لوله مرکزی هوادهی وصل بود انجام شد تـا مقدار اکسیژن آب در طی روند تخم‌گشایی از ۲ میلی‌گرم در هر لیتر به بالا بـاقی بمانـد. نـور لازم بـرای تفریخ توسط دو لامپ مهتابی معادل ۲۰۰۰ لوکس که در فاصله ٤۰ سانتی‌متری بالای زوکهای تفریح قرار داشته تامین شد. در هر یک از ظروف تفریخ در حدود ۳-۲ گرم در لیتر سیست ریخته شـد و بـه مـدت ۲٤-۲۰ ساعت تحت انکوباسیون قرار گرفتند.

پس از این مدت عمل هوادهی ا زپایین و نوردهی از بـالا قطـع و نـاپلیوس بـا اسـتفاده از خاصـیت نورگرایی مثبتشان از پوسته سیستها و دیگر مواد زاید احتمـالی جداسـازی و در کـف زوک جمـع‌آوری شدند. حجم ظروف حاوی ناپلیوس به حد معینی رسانیده و از هر ظرف مقـدار ۲ میلـی‌لیتـر بـه کمـک میکروسمپلر برداشته و درون میکروپلیت منتقل گردید و با لوگل تثبیت نموده و با استفاده از لوپ تعـداد

[55]- Saliniometre

ناپلی‌ها را در نمونه‌های جدا شده شمارش و پس از تعیین تعداد متوسط ناپلی‌ها در هر میلی‌لیتر، تعداد کل ناپلی‌ها محاسبه شد.

۲-۳-٦-٤- تهیه محلول غنی‌سازی

امولسیون اسیدهای چربی که مورد استفاده قرار گرفت با نام تجاری ICES30/4/C و دارای نسبت ٤ به ۱ از اسیدهای چرب $\frac{DHA}{EPA}$ بود. اسیدهای چرب غیر اشباع ۳۰ درصد وزن خشک امولسیون را تشکیل می‌داد. این امولسیون اسید چرب ساخت شرکت INVE بلژیک بود.

جهت آماده‌سازی امولسیون استاندارد براساس دستورالعمل (Leger, 1986) مقدار ۵ سی‌سی از امولسیون آزمایشی به ۵۰ سی‌سی آب ضد عفونی شده شیرین اضافه شده و جهت تهیه یک امولسیون همگن، به مدت سه دقیقه با همزن برقی خانگی بخوبی مخلوط شدند. پس از تزریق گاز نیتروژن برای جلوگیری از اکسید شدن درب محلول آماده شده محکم بسته شده و تا زمان استفاده درون یخچال نگهداری شدند.

براساس دستورالعمل (Merchie et al., 1995. 1997) و (Agh and sorgeloos, 2005) بعد از آماده‌سازی امولسیون اسید چرب آسکوربیل پالمیتات (ساخت شرکت مرک[٥٦] آلمان) را به میزان ۱۰ درصد و ۲۰ درصد (نسبت وزنی) امولسیون اسید چرب اضافه کرده و جهت تهیه یک امولسیون همگن، به مدت ۳ دقیقه با همزن برقی خانگی بخوبی مخلوط شدند. پس از تزریق گاز نیتروژن درب محلولها بسته شده و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شدند.

۲-۳-٦-٥- غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا:

ناپلیوسهای تازه تخم‌گشایی شده با تراکم ۲۰۰/۰۰۰ ناپلی در لیتر به ظروف غنی‌سازی ۱۱ لیتری پر شده از آب ضد عفونی شده با شوری ۳۳ در هزار، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و تحت هوادهی شدید معرفی شدند (Leger et al., 1987. Coutteau and Sorgeloos, 1997). جهت شمارش ناپلیوسها با استفاده از یک میکروسمپلر ۲۵۰ میکرولیتری، تعداد شش نمونه از جاهای مختلف از ظروف ناپلیوسها جمع‌آوری شده و سپس نمونه‌ها به میکروپلیت انتقال داده شدند. به هر یک از آنها جهت کشتن و

[56]- Merck

رنگ‌آمیزی ناپلیوسها چند قطره لوگل اضافه شده و سپس با کمک لوپ آزمایشگاه شمارش ناپلیوسها انجام پذیرفت.

پس از انتقال و شمارش ناپلیوس به ظروف غنی‌سازی، امولسیونهای تهیه شده در دو مرحله زمانی، یعنی در زمان شروع غنی‌سازی (بلافاصله پس از انتقال ناپلیوس) و ۱۲ ساعت پس از آغاز غنی‌سازی و با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر (مقدار ۲ سی‌سی از امولسیونهای تهیه شده) در هر مرحله به ظروف غنی‌سازی اضافه شدند (Leger et al., 1987. Coutteau and Sorgeloos, 1997). پس از ٢٤ ساعت از آغاز غنی‌سازی، ناپلیوس آرتمیا غنی شده برداشت و با آب شیرین شستشو داده شدند. پس از برداشت جهت حفظ ارزش غذایی و کاهش سوخت و ساز و مصرف اسیدهای چرب به خصوص اسید دوکوزاهگزاانوئیک، ناپلیوس غنی شده در دمای پایین‌تر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Cotteau and Sorgeloos, 1997).

۲-۳-۷- تیمارهای غذایی:

در طی این تحقیق ابتدا ۱۵ مخزن کوچک ٤٠ لیتری حاوی ۲۵ لیتر آب چاه در یک سیستم پرورشی مدار باز آماده شد و تعداد ۳۵۰ لارو به تغذیه افتاده ماهی آزاد دریای خزر به هر تانک انتقال داده شدند.

تیمارها توسط گروههای غذایی در ۳ تکرار در دو مرحله ۱۵ روزه و ۲۰ روزه تغذیه شدند.

در مرحله ۱۵ روزه تیمارهای تغذیه‌ای به شرح زیر بودند:

تیمار یک: غذای کنسانتره تجاری (برای لارو ماهی آزاد تازه به تغذیه افتاده از شرکت چینه، SFTO1، SFTOO)

تیمار دو: ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده

تیمار سه: ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره

تیمار چهار: ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره + ۱۰٪ آسکوربیل پالمیتات

تیمار پنج: ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره + ۲۰٪ آسکوربیل پالمیتات

در پایان مرحله اول (۱۵ روز) و شروع مرحله دوم (۲۰ روز)، سازش پـذیری تیمارهـای تغذیـه‌ای ۲ الی ۵ نسبت به تغییر رژیم غذایی به غذای کنسانتره تجاری به مدت ۳ روز انجام شد. برای این منظور در تیمارها ۲ الی ۵ از ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده به عنوان غذای زنده استفاده شـد و در سـه روز متوالی با نسبتهای: ۷۵ درصد ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده + ۲۵ درصد غذای کنسانتره تجـارتی، ۵۰ درصد ناپلیوس آرتمیای تازه تخم‌گشـایی شـده + ۵۰ درصـد غـذای کنسـانتره تجـارتی، ۲۵ درصـد ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده، + ۷۵ درصد غذای کنسانتره تجارتی تغذیه شدند و در روز چهارم تمام تیمارها ۱۰۰ درصد با غذای کنسانتره تا پایان روز بیستم تغذیه شدند.

۲-۳-۸- تعیین مقدار غذای لاروهای ماهی آزاد دریای خزر:

مقدار غذادهی روزانه هر گروه بـا توجـه بـه دمـای متوسـط آب مخـازن پـرورش و انـدازه ماهیـان (Stickney, 1991) طبق رابطه ۲-۱ محاسبه و تعیین شد و در ۱۲ نوبت روزانـه در اختیـار لاروهـا قـرار گرفتند.

رابطه ۲-۱:

مقدار غذا بر حسب درصد وزن بدن × وزن متوسط لاروها × تعداد لاروهای موجود= مقـدار غـذای مقدار سیست مورد نیاز روزانه برای کشت در هر روز، با توجه بـه وزن خشـک انفـرادی هـر نـاپلیوس آرتمیا ارومیه که حدود ۳-۲/۷ میکروگرم (طیبی، ۱۳۸۲) و نیـز کـارایی تخـم‌گشـایی سیسـت آرتمیـای استفاده شده محاسبه گردید (محمدزاده، ۱۳۸۲).

۲-۳-۹- اقدامات انجام شده روزانه در تانکهای پرورش لارو:

هر روز صبح قبل از شروع تغذیه لاروها ابتدا تلفات احتمالی لاروها در هـر تانـک شـمارش و ثبـت شدند و سپس لاروها مرده از مخازن به آرامی خارج شدند.

در طول روز دمای آب، میزان اکسیژن محلول و نیز PH آب مخازن دو بار مـورد انـدازه‌گیـری قـرار گرفت. فیلترها یا توریهای خارجی آب مخازن هر روز تمیز شدند.

۲-۳-۱۰- جمع‌آوری داده‌ها:

جهت بررسی اثر تغذیه ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C از تیمارهای مورد آزمایش، ۱۰ لارو بطور تصادفی انتخاب و زیست سنجی شدند که در ۷ مرحله وزن تر، طول کل[۵۷] لاروها با دقت مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

جهت تعیین وزن خشک، لاروها را بطور جداگانه به مدت ۲٤ ساعت تحت دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و به طور مجدد وزن شدند (Gapasin et al., 1998). درصد بازماندگی لاروها در روز پانزدهم در تیمارهای مختلف بررسی شدند.

درصد افزایش وزن[۵۸] و ضریب رشد ویژه[۵۹] از فرمولهای زیر محاسبه گردید (Turchini et al., 2003):

درصد افزایش وزن = (وزن نهایی–وزن اولیه) × (وزن اولیه)$^{-1}$×۱۰۰

ضریب رشد ویژه = [Ln (وزن نهایی) – Ln (وزن اولیه)] × (تعداد روزها)$^{-1}$×۱۰۰

به منظور تعیین مقاومت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر شوکهای دمایی، این نوسانات در پایان مرحله اول و دوم لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر شوکهای دمایی ۲٤، ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای این منظور تعداد ۱۰ لارو به طور تصادفی از هر تکرار انتخاب شده و در داخل سبدهای مخصوص به درون تانک ۹۰ لیتری منتقل شدند. اکسیژن محیط با استفاده از یک پمپ هواده ثابت شد و با استفاده از بخاریهای آکواریم تحت دمایی ۲٤، ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و میزان تلفات هر ۳۰ دقیقه ثبت و با توجه به میزان مرگ و میر در تیمارها، زمان مشخصی انتخاب و مقایسه شد (Fry, 1971).

در پایان مرحله اول و دوم طرح میزان و پروفیل اسیدهای چرب و ویتامین C نیز در ۳ تکرار از هر تیمار توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی و HPLC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۲-۳-۱۱- تجزیه شیمیایی نمونه‌ها:

۲-۳-۱۱-۱ آماده‌سازی نمونه‌ها

جهت بررسی پروفیل اسیدهای چرب در آرتمیا و لارو ماهی، میزان ۲ گرم وزن تر در هر تکرار از ناپلیوسهای تازه تخم‌گشایی شده (اینستار I) و همچنین ناپلیوسهای غنی شده با امولسیونهای مختلف و

---

[57]- Totoal length
[58]- Weight gain
[59]- Specipic growth rate

لارو ماهی برداشت شد (سه تکرار از هر تیمار). جهت آماده‌سازی، ناپلیوسها در صافی پارچه‌ای قرار داده شده و با دستمال کاغذی خشک شدند. سپس ناپلیوسیها در کف پتری دیش بصورت یک لایه نازک پخش شده و به مدت ٢٤ ساعت در آون با درجه حرارت ٦٠ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. پس از خارج نمودن توده خشک شده از آون ناپلیوسها خشک شده در هاون بصورت پودر در آمده و تا زمان استخراج اسیدهای چرب در ویالهای شیشه‌ای با درپوش تفلون در برودت ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. (لاروهای ماهی هم طبق همین روش خشک و نگهداری شدند)

جهت بررسی میزان اسید آسکوربیک در آرتمیا و لارو ماهی نیز میزان ۲ گرم وزن تر در سه تکرار از ناپلیوسیها تازه تخم‌گشایی شده (اینتسار I) و همچنین ناپلیوسهای غنی شده با امولسیونهای مختلف و لارو ماهی (سه تکرار از هر تیمار) برداشت شد. پس از آبگیری آب نمونه‌ها به ویالهای شیشه‌ای منتقل و در برودت ۸۰ – درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۳-۱۱-۲- آنالیز اسیدهای چرب:

آنالیز اسیدهای چرب با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگراف DANI-۱۰۰۰ مطابق روش ذیل انجام پذیرفت:

۲-۳-۱۱-۲-۱- استخراج چربی از نمونه‌ها:

ابتدا نمونه‌ها در داخل یک هاون شیشه‌ای کوچک و ظریف کاملاً پودر و همگن شدند و سپس با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با دقت هزارم (۰/۰۰۱) گرم، دقیقاً یک گرم از هر نمونه، وزن شده و به درون لوله‌های آزمایش شیشه‌ای با در پیچ تفلونی منتقل و بر روی هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر اتر اضافه شد. سپس در ظروف کاملاً بسته شده و به مدت ۱۲ ساعت در آنکوباتور ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در طول این مدت چربی موجود در نمونه توسط اتر حل می‌شود. بعد از این مدت اتر حاوی چربی به درون ظرف دیگر که قبلاً وزن شده بود منتقل شدند و مجدداً مقدار ۱۰ میلی لیتر اتر به ظروف اضافه شده و به مدت ۱۲ ساعت دیگر در داخل انکوباتور نگهداری شدند، با انجام این روش تمام چربی از نمونه استخراج شد. برای جدا نمودن ذرات معلق که به شکل سوسپانسیون در داخل فاز اتری باقی مانده بودند تمام نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هم زن برقی بخوبی مخلوط شده و سپس به مدت ۵

دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. با تبخیر اثر چربی باقی مانده در کف ظرف وزن شده و درصد چربی تام در هر نمونه محاسبه شد (Lieboritz et al., 1987).

۲-۳-۱۱-۲-۲- تهیه متیل استر اسیدهای چرب از چربی استخراج شده:

برای آنالیز اسیدهای چرب ابتدا می‌بایست اسیدهای چرب موجود در ساختمان مولکولی تری اسیل گلیسرولها از سایر مولکولها جدا شده و متیله شوند. بدین منظور بر روی چربیهای استخراج شده که در ظروف در پیچ دار هستند به ازاء هر ۰/۱ گرم چربی ۱ میلی‌لیتر ایزواکتان و ۰/۰۵ میلی‌لیتر هیدوکسید پتاسیم دو نرمال (۵/٦ گرم پتاسیم در ۵۰ میلی‌لیتر متانول) افزوده شده و به شدت و به مدت ۱۵ دقیقه بهم زده شدند. پس از آن ظروف نمونه برای مدتی ثابت نگهداشته شد تا گلیسرول آزاد شده رسوب نماید. بدین ترتیب لایه شفاف بالایی که شامل متیل استر اسیدهای چرب محلول در ایزوکتان می‌باشد توسط پی‌پت پاستور برداشت و پس از انتقال به ویالهای کوچک شیشه‌ای زمان تزریق به دستگاه گاز کروماتوگرافی در دمای ۲۵- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

۲-۳-۱۱-۲-۳- تزریق نمونه‌ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی:

آنالیز اسیدهای چرب بوسیله دستگاه گاز کروماتوگراف مدل ۱۰۰۰- DANI انجام گرفت. طول ستون دستگاه ۳۰ متر و دارای قطر ۲۵-۳ میلی‌متر می‌باشد. آشکار ساز دستگاه از نوع FID می‌باشد که دمای شعله از سوخت مستقیم دو گاز هیدروژن و هوای فشرده تامین می‌شود، گاز حامل در این دستگاه هلیوم بود و فشار تمامی گازها از خروجی دستگاه روی ٤ بار تنظیم می‌شد. ابتدا با تزریق مکرر از استاندارد متیل استرهای اسید چرب بهترین روش برای آنالیز اسیدهای چرب بدست آمده که در این آزمایش دمای آشکار ساز[60] ۲۸۰ و دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. روش تنظیم دمایی ستون از این قرار بود که ابتدا با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد شروع شده و به مدت ٤ دقیقه در آن دما ثابت ماند. سپس با آهنگ ۳۰ درجه در دقیقه تا ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافته و بدون توقف و با سرعت ۵۰ درجه به دمای ۲۰۰ درجه افزایش یافت، در این دما به مدت یک دقیقه ثابت مانده و با آهنگ ۱۰ درجه در دقیقه تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد افزایش و برای سه دقیقه در این دما ثابت بود. بطور کلی زمان آنالیز بر هر نمونه ۳٦/۱٦ دقیقه بطول انجامید. آشکار ساز دستگاه به گونه‌ای به اسیدهای چرب حساس شده است که در ازاء هر اسید چربی که از ستون خارج میشود یک منحنی برابر مقدار آن در کامپیوتر دستگاه ثبت می‌شود. با مقایسه زمانهای خروج هر اسید چرب نمونه با زمانهای خروج اسیدهای چرب استاندارد و

[60]- Detector

همچنین مقایسه سطح زیر منحنی نمودارها رسم شده، تک تک اسیدهای چرب شناسایی و مقدار آنها محاسبه شد.

مایع موجود در جدار داخلی ستون کپیلاری GC است. بالطبع هر چه بر هم کنش شدیدتر باشد میزان بازداری در ستون افزایش یافته و ترکیب دیرتر خارج خواهد شد. (Noori et al., 2005)

۲-۳-۱۱-۳- استخراج و اندازه‌گیری ویتامین C

۲-۳-۱۱-۳-۱- استخراج ویتامین C

نمونه‌های مورد نظر جهت آنالیز ویتامین C از عضله ماهیها برداشت و با آب شیر بخوبی شستشو شد سپس با کاغذ صافی آبگیری و به قطعات کوچک تقسیم گردید. یک گرم از نمونه به یک لوله پلاستیکی منتقل و به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر استاندارد (ایزو آسکوربیک اسید) و ۲ میلی‌لیتر محلنول استاندارد به آن اضافه شد. ترکیب محلول استاندارد عبارت است از یک میلی مول EDTA و ۲ میلی مول هموسیستئین در ۵۰۰ میلی‌متر آب مقطر دو بار تقطیر فیلتر شده می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۲-۱ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد هموژنیزه شدند. محلول شفاف بالایی به یک لوله آزمایش تمیز منتقل و مجدداً ۲ میلی‌لیتر محلول استاندارد به نمونه اضافه و عمل فوق تکرار شد. بدین ترتیب ۵ میلی‌لیتر محلول شفاف فوقانی به دست آمد و به مدت ۱۰-۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. قسمت رویی محلول به یک لوله آزمایش تمیز منتقل و محلول بدست آمده با عبور از کارتریج C-18 کاندیشن شده فیلتر گردید. برای کاندیشن کردن کارتریژ، متانول، آب مقطر دوبار تقطیر فیلتر شده و محلول استاندارد به ترتیب از آن عبور داده شد. نمونه‌ها در این حالت برای تزریق آماده هستند.

۲-۳-۱۱-۳-۲- اندازه‌گیری ویتامین C

قبل از تزریق نمونه‌های اصلی به دستگاه HPLC، استانداردهای اسید آسکوریک و ایزو آسکوربیک اسید به دستگاه تزریق و منحنی استاندارد رسم شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر نمونه را به دستگاه HPLC تزریق گردید. شناسایی آسکوربیک اسید با توجه به زمان بازداری و محاسبه مقدار آن با توجه به مقدار استاندارد داخلی اضافه شده به نمونه‌ها انجام گرفت (ایمانپور، ۱۳۸٤. Noor et al, 2005).

۲-۳-۱۲- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

نتایج و داده‌های حاصل از مراحل مختلف آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون چند دامنه دانکن در سطح اعتماد ۰/۰۵ با کمک نرم‌افزار SPSS مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تصویر ۲-۱- مخازن پرورش لارو ماهی آزاد دریای خزر

تصویر ۲-۲- سبدها و مخازن ۹۰ لیتری برای سنجش مقاومت لارو ماهی آزاد دریای خزر به شوک دمایی

بخش سوم

نتایج

۳-۱- مشخصات فیزیکو شیمیایی آب:

میزان میانگین مشخصات فیزیکو شیمیایی آب شامل دما (درجه سانتی‌گراد)، اکسیژن محلول (میلی‌گرم در لیتر)، PH در جدول ۳-۱ نشان داده شده است.

جدول ۳-۱: میزان میانگین مشخصات فیزیکو شیمیایی آب دوره پرورش:

مشخصات فیزیکو و شیمیایی	دما (سانتی‌گراد)	اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	PH
میزان میانگین	۱٤/٥ ± ۰/٦	۷/۸ ± ۰/٥	۷/٥۷ ± ۰/۳

۳-۲- ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای غذایی مورد آزمایش:

نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب در ناپلیوس تازه تخم گشایی شده (ناپلیوس اینستار **I**) و متاناپلیوسهای غنی شده با امولسیون‌های اسید چرب و ویتامین C در جدول ۳-۲ نشان داده شده است.

همانگونه که ملاحظه می‌شود EPA (۲۰:٥n-۳) و DHA (۲۲:٦n-۳) و مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری ۳ ($\sum n-3$ HUFA) در ناپلیوس اینستار (تیمار ۲) به ترتیب ۰/۰۳ ± ۰/۳۱، صفر و ۰/۰۲ ± ۰/۳۱ درصد از کل اسیدهای چرب می‌باشد. و نسبت DHA به EPA و EPA به AA به ترتیب ۰ و ۰/۰۲ ± ۰/۳۸ می‌باشد.

پس از غنی‌سازی میزان EPA و DHA و مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره سری ۳ ($\sum n-3$ HUFA) در متاناپلیوسهای غنی شده با امولسیون اسید چرب به ترتیب ۰/۱٤ ± ٤/٤۷، ۰/۲۳ ± ٦/۲٦ و ۰/۳۷ ± ۱۰/۷۳ درصد از کل اسیدهای چرب افزایش یافت. نسبت DHA به EPA و EPA به AA به ترتیب ۱/۳۹ و ٥/۱ افزایش یافت.

در متاناپلیوسهای غنی شده با امولسیون اسید چرب به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات مقدار EPA به ترتیب ۰/۰۷ ± ٤/۱۳ و ۰/۰۱ ± ٤/٤۲ درصد از کل اسید چرب افزایش یافت. مقدار DHA نیز به ترتیب در دو تیمار فوق به ترتیب ۰/۱۷ ± ٦/۹۳ و ۰/۰٤ ± ٦/٦٦ درصد از کل اسید چرب افزایش یافت.

نسبت DHA به EPA برای دو تیمار فوق به ترتیب ۰/۰۷ ± ۱/٦۷ و ۱/٥ و نسبت EPA به AA به ترتیب ۰/۰۹ ± ٥/۳ و ۰/۰۷ ± ٥/۹۳ افزایش یافت.

بررسی ترکیب اسید چرب در غذای کنسانتره تجاری بیانگر این موضوع بود که مقدار EPA و DHA به ترتیب ۰/۰۲ ± ۵/۴۲ و ۰/۱۲ ± ۵/۹۱ درصد از کل اسید چرب بود و نسبت DHA به EPA و EPA به AA به ترتیب ۰/۰۲ ± ۱/۰۸ و ۵/۷۷ ± ۸/۸۶ بود.

مقایسه میانگین EPA در تیمارهای غذایی از طریق آزمون دانکن نشان داد که مابین دو تیمار آرتمیا غنی شده با امولسیون اسید چرب (تیمار ۳) و آرتمیا غنی شده با امولسیون اسید چرب به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (تیمار ۵) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵) و بقیه تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

میانگین DHA در آرتمیا غنی شد با امولسیون اسید چرب به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (تیمار ٤) از دیگر تیمارها بیشتر بود و بجز با تیمار غنی شده با امولسیون اسید چرب به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (تیمار ۵) با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

از مقایسه میانگین مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره چنین نتیجه‌گیری شد که میان تیمارهای ۳، ٤ و ۵ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

نتایج تجزیه و تحلیل آماری اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در جدول ۳-۳ نشان داده شده است.

جدول ۳-۲- ترکیب اسیدهای چرب تیمارهای غذایی مورد آزمایش (درصد از کل اسید چرب)

تیمار / اسید چرب	تیمار ۱ کنسانتره	تیمار ۲ ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده	تیمار ۳ ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	تیمار ٤ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد ویتامین c	تیمار ٥ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد ویتامین c
۱٤:۰۰	۲/۷٤ ± ۰/۲۷	۱/۲٦ ± ۰/۰۲	۰/۹۸	۰/۸۸ ± ۰/۰۲	۰/۸۸ ± ۰/۰۱
۱٤:۱n-٥	۰/۱	۱/۱٥ ± ۰/۰۲	۰/۷۷ ± ۰/۰۲	۰/٦۸ ± ۰/۰۲	۰/٦٥ ± ۰/۰۲
۱٥:۰۰	۰/۳۲ ± ۰/۰۲	۰/٤۸ ± ۰/۰۷	۰/۳۳ ± ۰/۰٤	۰/۳ ± ۰/۰٥	۰/۲٥
۱٥:۱n-٥	۰	۰/۹۹ ± ۰/۰۳	۰/۷۸	۰/٦٥	۰/٦٤ ± ۰/۰۱
۱٦:۰۰	۱۰/٥٥	۱۰/۸٥ ± ۰/۲۲	۹/۲ ± ۰/۳۷	۱۰/٥٦ ± ۰/۲٦	۱۱/۷ ± ۰/۲
۱٦:۱n-۷	۳/۰۹ ± ۰/۰۳	٥/٤٤	٤/٤۹ ± ۰/۰۲	۳/۸۸ ± ۰/۰٤	۳/۷٥ ± ۰/۱۱
۱۷:۰۰	۰/٤٤ ± ۰/۰٤	۰/۰۱ ± ۰/۰٦	۰/۷۳ ± ۰/۰۳	۰/٤۷ ± ۰/۰۲	۰/٥ ± ۰/۰۲
۱۷:۱n-۷	۰/۳٥ ± ۰/۰٤	٤/۱٦ ± ۰/۰۲	۳/۰۸ ± ۰/۱۱	۲/۷۳ ± ۰/۰۷	۲/٥۸ ± ۰/۰۷
۱۸:۰۰	٤/۳۳ ± ۰/۰۲	٦/۰٥ ± ۰/۰۱	۷/۰۱ ± ۰/۱۷	٦/۱۱ ± ۰/۰۸	٦/۰۸ ± ۰/۱۱
۱۸:۱n-۹	۲۸/۲۹ ± ۰/۷۹	۱۸/۸٦ ± ۰/۲٦	۱۸/۱٥ ± ۰/۲۳	۱۷/۹۷ ± ۰/۰٦	۱۷/٦۲ ± ۰/۲
۱۸:۱n-۷	٤/۹۱ ± ۰/٤۹	۳/۱۸ ± ۰/۲٤	۳/٥۷ ± ۰/۱٥	٤/۲۲ ± ۰/۰۲	٤/۳۱ ± ۰/۱٦
۱۸:۲n-٦	۱٦/۳۷ ± ۰/۱٦	۹/٦۹ ± ۰/۱٤	۸/۰۷ ± ۰/۱۱	۷/٤۹ ± ۰/۰۱	٦/۹۹ ± ۰/۱٦
۱۸:۳n-۳	٦/٤۹ ± ۰/۱۷	۲۰/٥۲ ± ۰/۰٤	۱٥/۹۲ ± ۰/٤۳	۱۷/۲٥ ± ۰/۰۲	۱۷/۸٦ ± ۰/۰۷
۲۰:۰۰	۰/۰۹ ± ۰/۱۲	۰/۰۷	۰	۰	۰
۲۰:۱n-۹	۰/۲۲	۰/۰٦	۰/۰۹	٥/۱٤ ± ۰/۰۲	٤/۷۲ ± ۰/۰۲
۲۰:۲n-٦	۰/۱٤	۰/۳۲	۰/٤٤ ± ۰/۰۲	۰/۳۹	۰/۳۷
۲۰:۳n-۳	۰/۲٥ ± ۰/۰۱	۰/۸۸ ± ۰/۰۲	۰/۷۳	۰/٦۷	۰/٦۳ ± ۰/۰۱
۲۰:٤n-٦	۰/۷۷ ± ۰/٥	۰/۸۱ ± ۰/۰۱	۰/۸۷ ± ۰/۰۳	۰/۷۸	۰/۷٤
۲۰:٥n-۳	٥/٤۲ ± ۰/۰۲b	۰/۳۱ ± ۰/۰۳ c	٤/٤۷ ± ۰/۱٤ a	٤/۱۳ ± ۰/۰۷ d	٤/٤۲ ± ۰/۰۱ a
۲۲:۰۰	۰/۱۳ ± ۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۸	۰	۰
۲۲:۱n-۹	۰/۲۷ ± ۰/۰۲	۰	۰	۰/٦٥ ± ۰/۰۷	۰/٦
۲۲:٦n-۳	٥/۹۱ ± ۰/ ۱۲ d	۰ a	٦/۲٦ ± ۰/۲۳ c	٦/۹۳ ± ۰/۱۷ b	٦/٦٦ ± ۰/۰٤ b
مجموع اسید چرب اشباع	۱۸/٦۱ ± ۰/۱۹	۱۹/۸٤ ± ۰/۳۲	۱۸/۳٦ ± ۰/۱۹	۱۸/۳۲ ± ۰/۲۳	۱۹/٤۲ ± ۰/۳
مجموع اسید چرب غیر اشباع تک زنجیره	۳۷/۲۱ ± ۰/۱٤	۳۳/۸۷ ± ۰/۰٥	۳۰/۹٥ ± ۰/۲٥	۳٥/۹۳ ± ۰/۰٦	۳٤/۸۹ ± ۰/٥۱
$\sum n-6$	۱۷/٤۱ ± ۰/٤۸	۱۰/۸۳ ± ۰/۱٦	۹/۳۹ ± ۰/۱٦	۸/٦٦ ± ۰/۰۱	۸/۱ ± ۰/۰۲
$\sum n-3$	۱۸/۰۸	۲۱/۷۲	۲۷/۳۹ ± ۰/۰٥	۲۸/۹۹ ± ۰/۱۳	۲۹/٥۷ ± ۰/۰۲
HUFA $\sum n-3$	۱۱/۳۳ ± ۰/۱٤ b	۰/۳۱ ± ۰/۰۲ c	۱۰/۷۳ ± ۰/۳۷ a	۱۱/۰۷ ± ۰/۰۹ b	۱۱/۰۸ ± ۰/۰٥ ab
DHA/EPA	۱/۰۸ ± ۰/۰۲ b	۰ a	۱/۳۹ c	۱/٦۷ ± ۰/۰۷ d	۱/٥ e
EPA/AA	۸/۸٦ ± ٥/۷۷ b	۰/۳۸ ± ۰/۰۲ a	٥/۱ ± ۰/۰٤ b	٥/۳ ± ۰/۰۹ b	٥/۹۳ ± ۰/۰۷ b
n-۳/n-٦	۱/۰۳ ± ۰/۰۲	۲ ± ۰/۰۲	۲/۸۸ ± ۰/۰۹	۳/۳٤	۳/٦۲ ± ۰/۰۳

اعدادي كه داراي حروف مشابه ميباشند داراي اختلاف

۳-۳- ترکیب اسیدهای چرب در آرتمیا نگهداری شده در شرایط سرما (زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد):

نتایج تغییرات EPA و DHA در متاناپلیوسهای نگهداری شده تا مدت ۲٤ ساعت در محدوده دمایی زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۳-۳ آورده شده است.

با توجه به نتایج جدول ۳-۲ و بررسی نتایج EPA، DHA، نسبت DHA به EPA و نسبت EPA به AA در متاناپلیوسهای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ویتامین C و نگهداری آنها در شرایط سرما به مدت ۲٤ ساعت نشان می‌دهد که در آرتمیا ارومیانا تغییرات EPA و DHA در این شرایط تا حدودی قابل اغماض می‌باشد.

همانطوریکه از بررسی نتایج مشخص می‌شود قادر خواهیم بود ارزش غذایی آرتمیا ارومیانا غنی شده را در دمای زیر ۱۰ درجه سانتی گراد حفظ نمود و بنابراین مصرف آنها به لاروهای آبزیان دریایی تا ۲٤ ساعت پس از غنی سازی امکان‌پذیر می‌باشد.

جدول ۳-۳- پایداری EPA و DHA در ناپلیوس آرتمیا و متاناپلیوسهای غنی شده در شرایط گرسنگی و نگهداری در درجه حرارت زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد (بر حسب درصد از کل اسید چرب)

اسید چرب / تیمارها	EPA	DHA	DHA/EPA	EPA/AA
ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده (۲٤ ساعت گرسنگی)	b ۰/۲۵ (۰/۰۱)	c ۰	a ۰	b ۰/۳۸
ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (۲٤ ساعت گرسنگی)	a ٦/٦۱ (۰/۰۵)	a ۵/٦۵ (۰/۰۷)	b ۰/۸۵ (۰/۰۱)	a ٦/۹
ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (۲٤ ساعت گرسنگی)	a ۵/۷۹ (۰/۱۳)	b ٦/۳۱ (۰/۱۹)	c ۱/۰۸	a ٦/۸۹ (۰/۰٤)
ناپلیوس آرتمیا غنی شد با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (۲٤ ساعت گرسنگی)	c ۵/۸۹ (۰/۳)	ab ۵/۹۱ (۰/۲۳)	d ۱ (۰/۰۱)	a ٦/۸۱ (۰/۳۲)

اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند ($P<۰/۰۵$)

۳-٤- ترکیب اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه (درصد از کل اسید چرب):

نتایج بررسی ترکیبات اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه در جدول ۳-٤ نشان داده شده است.

مقایسه میانگین EPA در تیمارهای مختلف از طریق آزمون دانکن نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده با ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ویتامین C اختلاف معنی‌داری ندارند. (P>۰/۰۵).

میانگین DHA در تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره از دیگر تیمارها بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به جز تیمار تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع داشت (P<۰/۰۵).

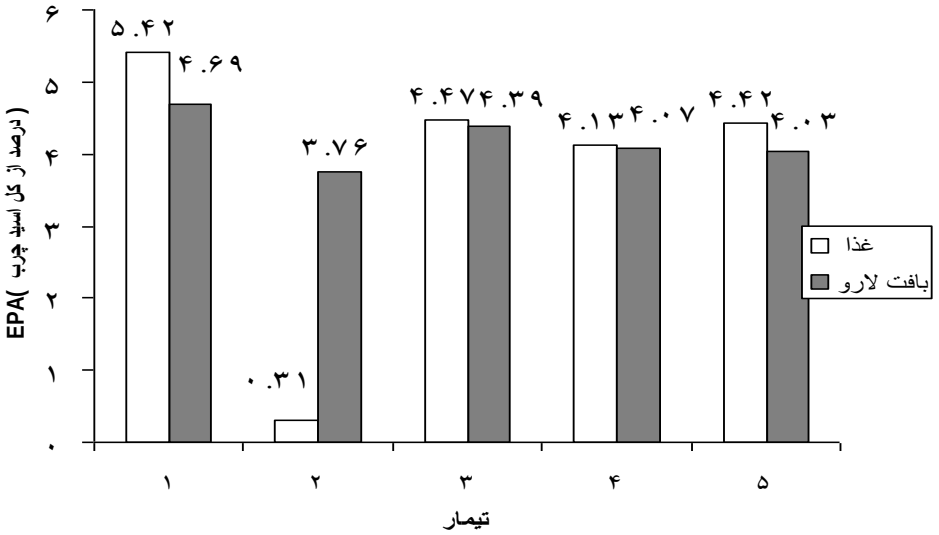
مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره از دیگر تیمارها بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بجز تیمار تغذیه شده با آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع داشت (P< ۰/۰۵)

از مقایسه میانگین نسبت DHA به EPA بین همه تیمارها، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و همین طور از مقایسه میانگین نسبت EPA به AA چنین برآورد شد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات وجود نداشت و این تیمارها با تیمار تغذیه کرده از ناپلیوس تازه هچ شده و غذای کنسانتره تجاری اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). (نتایج جدول ۳-٤)

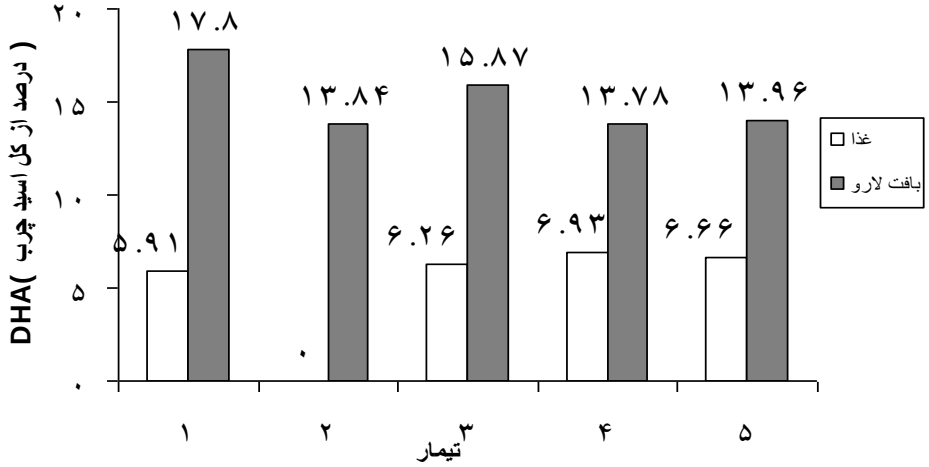
جدول ۳-٤- میانگین اسید چرب در بافتهای لارو ماهی آزاد دریای خزر ۱۵ روزه (بر حسب درصد از کل اسید چرب)

تیمار / اسید چرب	لارو ماهی آزاد قبل از تغذیه خارجی	تیمار ۱ کنسانتره	تیمار ۲ ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده	تیمار ۳ ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	تیمار ٤ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد ویتامین c	تیمار ۵ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد ویتامین c
۱٤:۰۰	۱/٦ ± ۰/۰۹	۱/۲۱ ± ۰/۰۷	۰/۸۵ ± ۰/۰۱	۰/۸۸ ± ۰/۰۲	۰/۷۹ ± ۰/۰۲	۰/۷۹ ± ۰/۰۲
۱٤:۱n-۵	۰/۰۳ ± ۰/۰٤	۰	۰/۳۷	۰/۲۹ ± ۰/۰۲	۰/۳۲	۰/۳۲ ± ۰/۰۲
۱۵:۰۰	۰/۳۷ ± ۰/۰٦	۰/۲۹ ± ۰/۰۱	۰/۲۷ ± ۰/۰٤	۰/۱۸ ± ۰/۱۲	۰/۳۸ ± ۰/۱۹	۰/۲٤
۱۵:۱n-۵	۰	۰	۰/۳٤ ± ۰/۰۲	۰/۲۳ ± ۰/۱۲	۰/۳۵ ± ۰/۰۵	۰/۲۹ ± ۰/۰۳
۱٦:۰۰	۱۳/۲٦ ± ۲/۲۱	۱۳/٤۷ ± ۰/۵	۱۲/۵ ± ۱/۲۷	۱۲/۱ ± ۱/۱۵	۱۲/٦٦	۱۲/۱٤ ± ۰/۱۹
۱٦:۱n-۷	٤/۵۸ ± ۰/۰۷	۲/۹۲ ± ۰/۳۳	۳/۷۳ ± ۰/۲۲	۳/۹٤ ± ۰/٤۸	۳/۳۳ ± ۰/۰۵	۳/۸۳ ± ۰/۰۷
۱۷:۰۰	۰/۵ ± ۰/۱۷	۰/٤۷ ± ۰/۰۵	۰/۳۷ ± ۰/۰۷	۱/۰۵ ± ۰/۲۱	۰/۹۵ ± ۰/۳	۰/۵٤ ± ۰/۳٦
۱۷:۱n-۷	۰/٦٦ ± ۰/۰۹	۰/۳٤ ± ۰/۰۷	۱/۹۱ ± ۰/۰۱	۰/۹۹ ± ۱/۰۸	۱/۷۱	۱/٦۵ ± ۰/۱٤
۱۸:۰۰	٦/۲ ± ۰/۱۱	٦/۳۱ ± ۰/۲٤	٦/۵۲ ± ۰/۰۳	۷/۵۹	٦/۹۹ ± ۰/۲۱	٦/۹۹ ± ۰/۰۹
۱۸:۱n-۹	۲۱/۰٦ ± ۰/٦۳	۲٦/٦۳ ± ۱/۵۷	۲۰/۱۵ ± ۱/۱٤	۲۰/۸ ± ۱/٦۸	۱۹/۸ ± ۰/۰٤	۱۸/۵۵ ± ۱/٤٦
۱۸:۱n-۷	٤/۵۳ ± ۰/۳۵	٤/۰٤ ± ۰/۲٦	۳/۹٦ ± ۰/۳٦	٤/۵۵ ± ۰/٤۸	٤/۱ ± ۰/۳۱	٤/۲۲ ± ۰/۰۷
۱۸:۲n-٦	۱/۷۹ ± ۰/۱۹	۷/۰۹	٤/۹۵ ± ۰/۱٤	٤/۸۱ ± ۰/٤۲	٤/۷۱ ± ۰/۱٤	٤/۵۵ ± ۰/۱۹
۱۸:۳n-۳	۱/۳ ± ۰/٤۳	۱/۹٦ ± ۰/۰۳	۸/۳۱ ± ۰/۰۵	۸/۵ ± ۰/۹۳	۸/۹۲ ± ۰/۰۲	۸/۵۷ ± ۰/٦۲
۲۰:۰۰	۰	۰/۱۹ ± ۰/۰۱	۰	۰	۰	۰
۲۰:۱n-۹	۰/۲۳ ± ۰/۰۳	۰/۲۷ ± ۰/۰۲	۰/۱۵ ± ۰/۰۲	۰/۱٦ ± ۰/۰۲	۰/۱٦ ± ۰/۰۲	۰/۱٤
۲۰:۲n-٦	۰/۳۵ ± ۰/۰٤	۰/٤٦ ± ۰/۰۲	۰/٤۳ ± ۰/۰۵	۰/٤۸ ± ۰/۰٦	۰/٤۷ ± ۰/۰۲	۰/٤۳
۲۰:۳n-۳	۲/۳۸ ± ۰/۱٦	۲/۱۱ ± ۰/۱۹	۰/۳۸ ± ۰/۳٦	۰/۱٤ ± ۰/۰۲	۰/۱۸ ± ۰/۰۱	۰/۱۵ ± ۰/۰۱
۲۰:٤n-٦	۱ ± ۰/۰۵	۱/۰۳ ± ۰/۰٦	۲/۳٤	۱/٦۳ ± ۰/۱۹	۱/٦۳	۱/۵٤ ± ۰/۰٦
۲۰:۵n-۳	۷/۵۸ ± ۰/۳۳	٤/٦۹ ± ۰/٤۱b	۳/۷٦ ± ۰/۱٦ a	٤/۳۹ ± ۰/۲۵ ab	٤/۰۷ ± ۰/۰۷ ab	٤/۰۳ ± ۰/۰۵ a
۲۲:۰۰	۰/۰۹ ± ۰/۱۳	۰/۰۸ ± ۰/۱۱	۰/۰۹ ± ۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۷ ± ۰/۰٤	۰/۰٦ ± ۰/۰۹
۲۲:۱n-۹	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۲۲:٦n-۳	۲٤/۰۵ ± ۱/۸۳	۱۷/۸ ± ۲/۸۹ b	۱۳/۸٤ ± ۱/۳ a	۱۵/۸۷ ± ۰/۹ ab	۱۳/۷۸ a	۱۳/۹٦ ± ۰/۳۵ a
مجموع اسید چرب اشباع	۲۱/۵۸ ± ۲/۵٤	۲۲/۰۲ ± ۰/۱۳	۲۰/٦۱ ± ۱/٤۹	۲۱/۹۷ ± ۱/۰۹	۲۱/۹۵ ± ۰/۰۵	۲۰/۷۸ ± ۰/۳٤
مجموع اسید چرب غیر اشباع تک زنجیره	۳۱/۱ ± ۰/۹۳	۳۳/۹۵ ± ۱/۲٦	۳۱/۸۳ ± ۰/۰٤	۳۰/۹۷ ± ۲/۹۳	۲۹/۷۹ ± ۰/۱٦	۲۹/۰۳ ± ۱/۸۱
$\sum n-۶$	۳/۱٤ ± ۰/۲۸	۸/۵۹ ± ۰/۰۸	۷/۷۲ ± ۰/۱۹	٦/۹۳ ± ۰/٦۷	٦/۷	٦/۵۳ ± ۰/۲۵
$\sum n-۳$	۳۵/۳ ± ۲/۷۵	۲٦/۵۷ ± ۳/۵٤	۲٦/۲۹ ± ۱/۰۵	۲۸/۹٦ ± ۲/۰۵	۲٦/۹٦ ± ۰/۰۵	۲٦/٤٤ ± ۰/۹۳
$\sum n-۳$ HUFA	۳۱/٦۳ ± ۲/۱۷	۲۲/٤۹ ± ۳/۳۱ b	۱۷/٦ ± ۱/٤۷ a	۲۰/۳۱ ± ۱/۰۹ ab	۱۷/۸۵ ± ۰/۰٦ a	۱۷/۷۲ ± ۰/۲۹ a
DHA/EPA	۳/۱٦ ± ۰/۱	۳/۷۷ ± ۰/۲۸ b	۳/٦۷ ± ۰/۱۸ b	۳/٦۲ ± ۰/۰۲ b	۳/۳۸ ± ۰/۰٦ ab	۳/۳۹ ± ۰/۱۳ ab
EPA/AA	۷/۷۳ ± ۰/۱۲	٤/۵۳ ± ۰/۱۲ c	۱/۵۷ ± ۰/۱ a	۲/٦۹ ± ۰/۱۵ b	۲/٤۸ ± ۰/۰٤ ab	۲/٦ ± ۰/۱٤ ab
n-۳/n-٦	۱۱/۲۲ ± ۰/۱٦	۳/۰۸ ± ۰/۳۸	۳/٤ ± ۰/۰۵	٤/۱۸ ± ۰/۱۱	٤/۰۱	۰/۰٤ ± ۰/۰۱

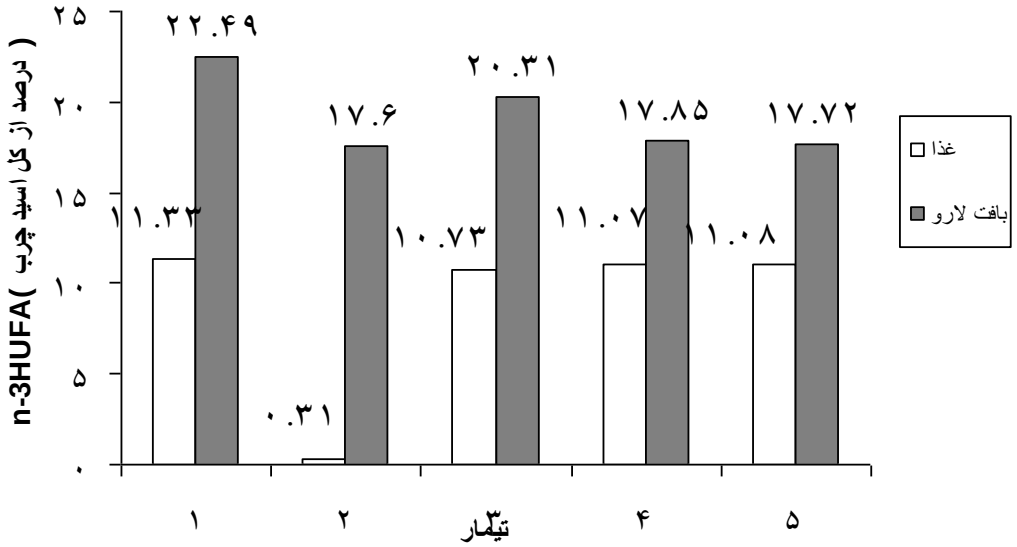
اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند ($P<۰/۰۵$)



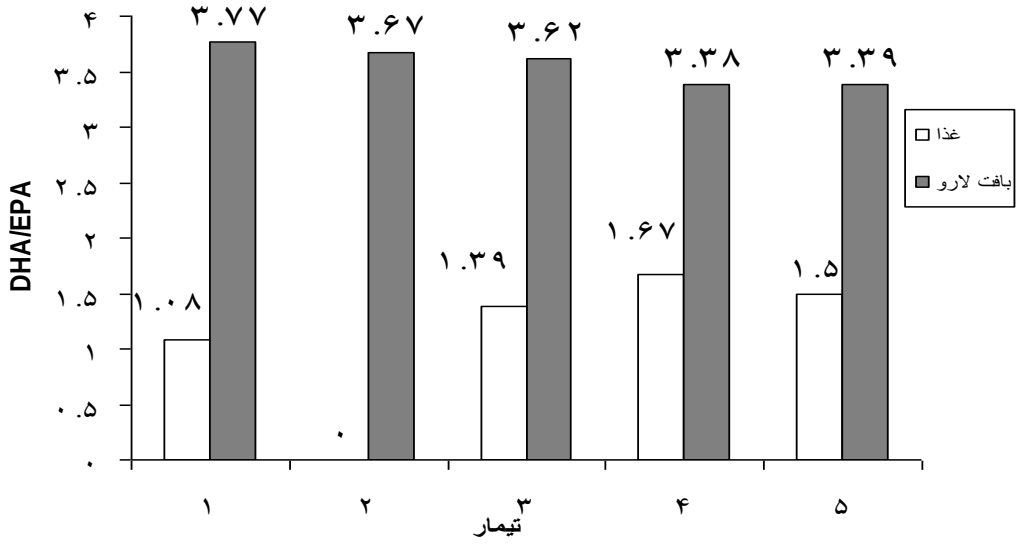
نمودار ۳-۱- تغییرات EPA (درصد از کل اسید چرب) در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه



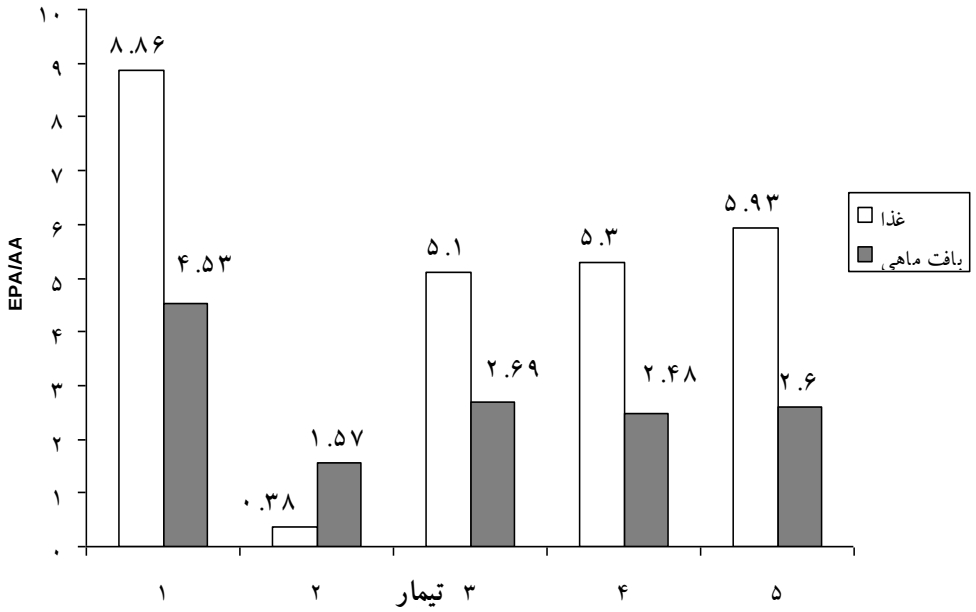
نمودار ۳-۲- تغییرات DHA (درصد از کل اسید چرب) در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد



نمودار ۳-۳- تغییرات n-3HUFA (درصد از کل اسید چرب) در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه



نمودار ۳-٤- تغییرات DHA/EPA در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه



نمودار ۳-۵- تغییرات EPA/AA در تیمارهای غذایی و در بافت لاروهای ماهی آزاد ۱۵ روزه

۳-۵- ترکیب اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روزه (درصد از کل اسید چرب):

نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روز در جدول ۳-۵ نشان داده شده است.

مقایسه میانگین اسید چرب EPA در تیمارهای مختلف از طریق آزمون دانکن نشان داد که بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P> ۰/۰۵)

میانگین اسید چرب DHA نیز در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری نبودند (P>۰/۰۵).

مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره نیز در تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری نبودند (P>۰/۰۵).

از مقایسه میانگین نسبت DHA به EPA بین همه تیمارها، چنین برآورد شد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد وجود نداشت ولی نسبت EPA به AA اختلاف معنی‌داری بین تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری با سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵).

۳-۵- میانگین اسید چرب در بافتهای لارو ماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روزه (بر حسب درصد از کل اسید چرب)

تیمار / اسید چرب	تیمار ۱ کنسانتره	تیمار ۲ ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده	تیمار ۳ ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	تیمار ٤ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد ویتامین c	تیمار ٥ ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد ویتامین c
۱٤:۰۰	۱/٤٥ ± ۰/۰۱	۱/۳۱ ± ۰/۰۹	۱/۳۷ ± ۰/۰۲	۱/۳۸ ± ۰/۰۷	۱/۳٤ ± ۰/۰٤
۱٤:۱n-٥	۰/۰٥ ± ۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۱ ± ۰/۰۲	۰/۱ ± ۰/۰۲	۰/۰۸
۱٥:۰۰	۰	۰/۲	۰/۲۳	۰/۱	۰/۲
۱٥:۱n-٥	۰	۰	۰	۰/۰٦ ± ۰/۰٤	۰
۱٦:۰۰	۱۲/۳۲ ± ۰/۳۳	۱۱/۸ ± ۰/۷	۱۳/۳٥ ± ۲/۱٦	۱۱/۳ ± ۰/۷	۱۱/٦۸ ± ۰/۱٦
۱٦:۱n-۷	۲/٤٤ ± ۰/۳٦	۲/٥٦ ± ۰/۷۹	۲/٥۲ ± ۰/٤٤	۲/۲٤ ± ۰/۰٥	۳/۰۸ ± ۰/۰۱
۱۷:۰۰	۰/۱۸ ± ۰/۰۸	۰/۱ ± ۰/۰۲	۰/۳۹ ± ۰/۰٤	۰/۲۸ ± ۰/۱٦	۰/۱
۱۷:۱n-۷	۰/۲۱ ± ۰/۰۲	۰/٤۷ ± ۰/۰٥	۰/٤۷ ± ۰/۱	۰/٥۲ ± ۰/۰۲	۰/۳٦ ± ۰/۰۹
۱۸:۰۰	٤/۷۳ ± ۰/۲٤	۳/۷ ± ۲/۰۲	٥/٦۷ ± ۰/۹٦	٥/٤۲ ± ۰/۲٤	٤/۸۷ ± ۰/۲۱
۱۸:۱n-۹	۲٤/٦٥ ± ۰/٤٥	۲۳/٥٦ ± ۱/۲۳	۲٥/۷۷ ± ٤/۳	۲۲/۹ ± ۱/۲۲	۲٥/۸۹ ± ۲/۸
۱۸:۱n-۷	٥/۳۲ ± ۰/٤۷	٤/۲ ± ۰/٦۲	٥/٦۲ ± ۰/۹٤	۳/۹۳ ± ۰/۲۰	۲/۰٥ ± ۲/۷٦
۱۸:۲n-٦	۱۹/۸٥ ± ۰/۷	۱۸/۲۱ ± ۰/۰۹	۲۰/۲۹ ± ۲/۸٦	۱۷/۸٥ ± ۰/٤٦	۱۸/۱۹ ± ۰/۰۹
۱۸:۳n-۳	۳/۳۳ ± ۰/۰۷	٤/۲٦ ± ۰/۸۳	۹/٤۹ ± ٦/٥۹	٥/۱٥ ± ۰/۰۸	٤/۲۱ ± ۰/٤۷
۲۰:۰۰	۰/۱٤ ± ۰/۱۹	۰/۱٦ ± ۰/۰۸	۰	۰	۰/۰۳ ± ۰/۰٤
۲۰:۱n-۹	۰/۲٦	۰/۲٦ ± ۰/۰۱	۰/۲٥	۰/۲٦	۰/۲٤ ± ۰/۰۲
۲۰:۲n-٦	۱/۱۹	۱/۲٥ ± ۰/۰۲	۱/۳۲ ± ۰/۱	۱/۳٤ ± ۰/۰٤	۰/٦۸ ± ۰/۸۳
۲۰:۳n-۳	۰	۰/۱۹ ± ۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۰۹
۲۰:٤n-٦	۰/۳	۲	۱/۷۹ ± ۰/۰۹	۱/۸۲ ± ۰/۰۹	۱/۸٤ ± ۰/۱٤
۲۰:٥n-۳	۱/۸۸ ± ۰/۲٤a	۲/۳۱ ± ۰/۲۱ a	۲/۱۸ ± ۰/۰۹ a	۲/۱۸ ± ۰/۲۲ a	۱/۹۸ ± ۰/۰۱ a
۲۲:۰۰	۰	۰/۰٦ ± ۰/۰۸	۰	۰/۰٦ ± ۰/۰۹	۰/۱۱ ± ۰/۱٥
۲۲:۱n-۹	۰/۰۸ ± ۰/۱۱	۰/۲۱ ± ۰/۰٤	۰/۲۱ ± ۰/۰۱	۰/۲۷ ± ۰/۱۷	۰/۰۷ ± ۰/۱
۲۲:٦n-۳	۸/٦۱ ± ۱/۳۱ a	۱۰/٦۱ ± ۰/٤٤ a	۹/۹۱ ± ۰/۰۱ a	۱۰/۹۲ ± ۱/٥۱ a	۹/٤۳ ± ۰/۷ a
مجموع اسید چرب اشباع	۱۸/۸۲ ± ۰/۳٦	۱۷/۳٥ ± ۲/٦	۲۱ ± ۳/۱۸	۱۸/٦٦ ± ۰/٤٤	۱۸/۳٥ ± ۰/٥۲
مجموع اسید چرب غیر اشباع تک زنجیره	۳۳/۰۳ ± ۰/۲۱	۳۱/۳۷ ± ۰/۲۹	۳٤/۹٦ ± ٤/۹۱	۳۰/۳ ± ۰/٦٥	۳۱/۷۸ ± ۰/۰٤
$\sum n-۶$	۲۱/۰٥ ± ۰/۷	۲٤/٤٦ ± ٦/۸۸	۲۳/٤۱ ± ۲/۸۷	۲۱/۰۱ ± ۰/٥۲	۲۰/۷۱ ± ۰/۸۷
$\sum n-۳$	۱۳/۸۲ ± ۱/٦۳	۱۷/۳٥ ± ۰/۰۲	۲۱/۷ ± ٦/٤۷	۱۸/۳۸ ± ۱/٦٥	۱٥/٤٥ ± ۱/٥۸
HUFA $\sum n-۳$	۱۰/٤٦ ± ۱/٥۲ a	۱۲/۹۲ ± ۰/٦٥ a	۱۲/۰۹ ± ۰/۱۱ a	۱۳/۱ ± ۱/۷۳ a	۱۱/٤۱ ± ۰/۷۲ a
DHA/EPA	٤/٥۷ ± ۰/۱۱ a	٤/٦ ± ۰/۲۲ a	٤/٥ ± ۰/۱٤ a	٤/۹۹ ± ۰/۱۷ a	٤/۷٥ ± ۰/۳۱ a
EPA/AA	٦/۲٦ b	۱/۱٥ ± ۰/۱٤ a	۱/۳۱ ± ۰/۰۲ a	۱/۱۹ ± ۰/۱۹ a	۱/۳٤ ± ۰/۲۸ a
n-۳/n-٦	۰/٦٥ ± ۰/۰۹	۰/۸	۰/۹٤ ± ۰/۳۸	۰/۸۷ ± ۰/۰۹	۰/۷٤ ± ۰/۱

اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند ($P<۰/۰٥$)

۳-٦- میزان اسید آسکوربیک تیمارهای غذایی مورد آزمایش (بر حسب میکروگـرم در گرم وزن خشک)

میزان اسید آسکوربیک (بر حسب میکروگرم در گرم وزن خشک) تیمارهای غذایی مورد آزمـایش در جدول ۳-٦ نشان داده شده است.

جدول ۳-٦- میانگین اسید آسکوربیک تیمارهای غذایی مورد آزمایش (بر حسب میکروگرم در گرم وزن خشک)

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
اسید آسکوربیک (میکروگرم در گرم وزن خشک)	a ۱۱۸/۷٦ ± ۱/٤	b ٤۸۸/۱٤ ± ۱۹/٦۹	b ٤۷٦ ± ۱۹/٦۹	c ۱٤۳٤/۵۳ ± ٤/۱	d ۲٤۱٦ ± ۱٤/٤

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین تیمارها غذایی بجز تیمار ۲ و ۳ در سـطح ۹۵ درصـد اخـتلاف معنی‌داری از نظر میزان اسید آسکوربیک با یکدیگر وجود داشت.

کمترین میزان اسید آسکوربیک مربوط به غذای کنسانتره تجاری با ۱/٤ ±۱۱۸/۷٦ میکروگرم در گـرم وزن خشک و بیشترین میزان اسید آسکوربیک مربوط به ناپلیوس غنی شد با اسیدهای چرب غیر اشـباع به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات با ۱٤/٤ ±۲٤۱٦ میکروگرم در گرم وزن خشک بود.

۳-۷- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاورهای ماهی آزاد دریای خزر (میکروگـرم در گرم وزن خشک):

۳-۷-۱- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ (میکروگرم در گرم وزن خشک)

میانگین اسید آسکوربیک لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمـایش در روز پـانزدهم در جدول ۳-۷ ارائه شده است.

جدول ۳-۷- میانگین اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ (میکروگرم در گرم وزن خشک)

تیمار	قبل از شروع تغذیه فعال	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه غنی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
اسیدآسکوربیل (میکروگرم در گرم وزن خشک)	± ۲ ۲۵۲/۴۳	a ۱۸۷/۹۳ ± ۲/۲۱	b ۳۹۲/۷۳ ± ٦/۷	b ± ٦/٥ ۳۷۷/٤	c ٤٨٢/٦١ ± ١٦/٠١	c ٤٨٨/٢١ ± ٩/٠٨

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

بیشترین میزان اسید آسکوربیک در بافت لارو ماهی آزاد دریای خزر در تیمار ۵ وجود دارد که مقدار آن ۹/۰۸ ± ٤٨٨/٢١ میکروگرم در گرم وزن خشک و کمترین میزان اسید آسکوربیک در بافت لارو ماهی آزاد دریای خزر مربوط به تیمار تغذیه کرده از غذای کنسانتره شده تجاری بود که میزان آن ۲/۲۱ ± ۱۸۷/۹۳ میکروگرم در گرم وزن خشک بود.

میانگین اسید آسکوربیک در تیمار تغذیه کرده با غذای کنسانتره تجاری نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) همین طور تیمارهای ۲ و ۳، و همچنین ٤ و ۵ در سطح ۹۵ درصد با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند و هر دو تیمار ۲ و ۳ با هر دو تیمار ٤ و ۵ تفاوت معنی‌داری را نشان داد.

۳-۷-۲- میزان اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵

میانگین اسید آسکوربیک بافت لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش در روز سی و پنجم در جدول ۳-۸ ارائه شده است.

جدول ۳-۸- میانگین اسید آسکوربیک در بافت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ (میکروگرم در گرم وزن خشک)

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
اسید آسکوربیک (میکروگرم در گرم وزن خشک)	۱۳۲/۳ ± ٦/۳٥	a ۱٤٥ ± ٤/۸	a ۱۳۹/۰۹ (۱/۹۷)	a ۱٦٦/٦٦ ± ۳/۷	a ۱۷۳/٤ ± ٤/۹

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰٥)

بیشترین میزان اسید آسکوربیک در این مرحله در تیمار ٥ وجود داشت که مقدار آن ۱۷۳/٤ ± ٤/۹ میکروگرم در گرم وزن خشک بود و کمترین مقدار آن ۱۳۲/۳۱ ± ٦/۳٥ میکروگرم در گرم وزن خشک بود. که مربوط به تیمار شماره ۱ یعنی تغذیه شده با غذای کنسانتره بود.

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۹٥ درصد بین هیچیک از تیمارها وجود نداشت.

۳-۸- نتایج آزمایشات رشد لاروهای ماهی آزاد دریای خزر:

۳-۸-۱- وزن خشک وتر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۱٥ روزه (میلی‌گرم):

نتایج بررسی میزان وزن ترو وزن خشک بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱٥ در جدول ۳-۹ آورده شده است.

لاروهای تیمار تغذیه کرده از ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان وزن تر که برابر با ۲٥۳/٤ ± ۱۱/٦ میلی‌گرم بود را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند.

کمترین میزان وزن تر لاشه در این مرحله مربوط به لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری (۱٥۷/۷٦ ± ۳۰ میلی‌گرم) بود.

مقایسه میانگین‌های وزن تر بدن لاروهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این مسئله بود که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

به علاوه میزان وزن خشک تیمار تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان وزن خشک که برابر با ۱۵/۰٤ ±۵۱/۷٦ میلی‌گرم بود را نسبت به سایر تیمارها نشان داد.

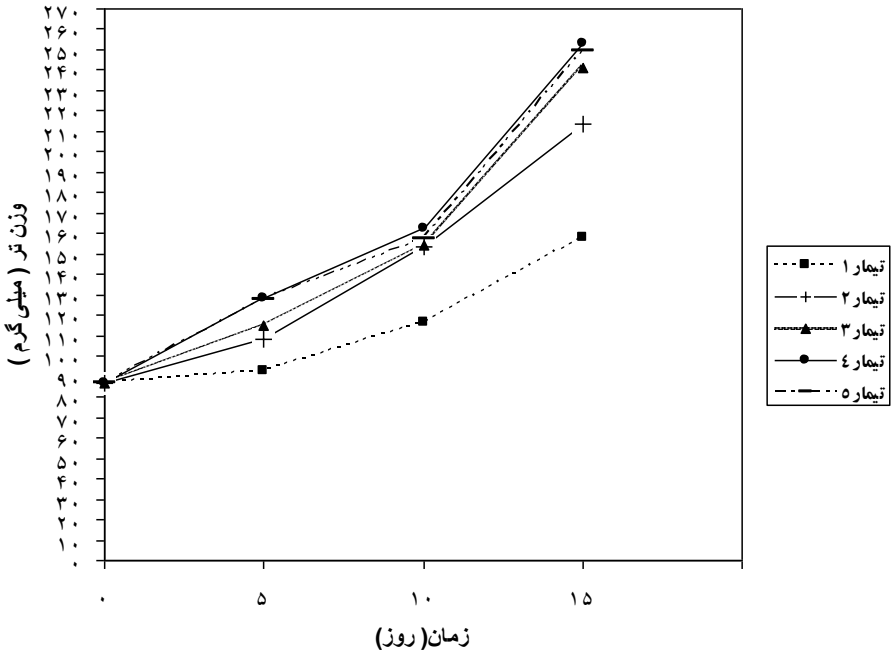
کمترین میزان وزن خشک بدن در این روز مربوط به لاروهای تغذیه شده از غذای کنسانتره تجاری ۱۳/۰۵ ±۲٦/۰۳ بود.

مقایسه میانگین‌های وزن خشک بدن لاروهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره با تیمار تغذیه شده با ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع اختلاف معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵).

جدول ۳-۹- میانگین وزن تر و وزن خشک لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ (میلی‌گرم)

تیمار	قبل از شروع تغذیه فعال	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه‌تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس‌آرتمیا غنی شده با اسیدهای‌چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
وزن تر (میلی‌گرم)	۷۸ ± ۱٦/۱	a ۱۵۷/۷٦ ± ۳۰	b ۲۱۳ /۸٦ ± ۱٤/۱۵	b ۲٤۰ /۹٦ ± ٤۰/٦۳	b ۲۵۳/٤ ± ۱۱/۱٦	b ۲٤۹/٤۳ ± ۷/۸۳
وزن خشک (میلی‌گرم)	۱۲ /٤۸ ± ۹/۵	a ۲٦ /۰۳ ± ۱۳/۰۵	ab ۳٤/٤ ± ۸/٦۲	ab ٤۳/۷۳ ± ۷/۰۹	b ۵۱/۷٦ ± ۵/۰٤	b ٤۷/٦ ± ۷/۱

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)



نمودار ۳-٦- مقایسه تغییرات وزن‌تر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از روز اول تا پانزدهم (میلی‌گرم) در تیمار تغذیه‌ای مختلف

۳-۸-۲- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ (میلی‌متر)

نتایج بررسی طول کل بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در قبل از شروع تغذیه فعال و روز ۱۵ در جدول ۳-۱۰ آورده شده است.

لاروهای تیمار تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان طول کل برابر با ۰/۳٤ ± ۳۲/۹ میلی‌متر داشتند.

کمترین میزان طول کل بدن مربوط به لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری (۱/٦۱ ± ۲۸/٤۳ میلی‌متر) بود.

مقایسه میانگین‌های طول کل بدن لاروهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این مورد بود که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

جدول ۳-۱۰- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵ (میلی‌متر)

تیمار	قبل از شروع تغذیه فعال	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
طول کل (میلی‌متر)	۲۰/۲ ± ۰/٦	a ۲۸/٤۳ ± ۱/٦۱	b ۳۱/٦٦ ± ۰/۸	b ± ۱/۳۵ ۳۲/۲۳	b ۳۲/۹ ± ۰/۳٤	b ۳۲/۱٦ ± ۱/۲۸

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

۳-۸-۳- ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵:

نتایج بررسی ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در جدول ۳-۱٤ آورده شده است.

همانطور که ملاحظه می‌شود، لاروهای تیمار تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکورپیل پالمیتات، بیشترین میزان ضریب رشد ویژه برابر ۰/۲۹ ± ۷/۱۵ بود.

مقایسه میانگین‌های ضریب رشد ویژه لارهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این مسئله بود که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

بیشترین میزان درصد افزایش وزن بدن برابر ۱۹۰ درصد مربوط به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بود.

مقایسه میانگین‌های درصد افزایش وزن بدن بیانگر این مسئله بود که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود (P<۰/۰۵) و اما بقیه تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

جدول ۳-۱۱- میانگین ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۱۵

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	a ۳/۹۲ ± ۱/۲۵	b ٦/۰۹ ± ۰/٤۸	b ٦/۷٦ ± ۱/۰۹	b ۷/۱۵ ± ۰/۲۹	b ۷/۰۵ ± ۰/۲۱
افزایش وزن (درصد)	a ۸۱/۳۳ ± ۳۵/۳۵	b ۱٤۵/۸۲ ± ۱٦/۲۷	b ۱۷٦/۹٦ ± ٤٦/۷	b ۱۹۰ ± ۱۳/۳٦	b ۱۸٦/۷ ± ۹

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

۳-۸-٤- وزن خشک و تر بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ (میلی‌گرم):

نتایج بررسی میزان وزن تر و خشک بدن لاورهای ماهی آزاد در روز ۳۵ در جدول ۳-۱۲ورده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود در روز سی و پنجم، لاروهای تیمار تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان وزن تر که برابر با

(۷/۱ ± ۶۰۳/۷ میلی‌گرم) بود. کمترین میزان وزن تر بدن در این مرحله مربوط به لاروهای تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری (۲۱/۴۲ ± ۴۴۴/۲۶ میلی‌گرم) بود.

مقایسه میانگین‌های وزن تر بدن لارو ماهی آزاد در روز ۳۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این مسئله بود که دو تیماری که در ابتدا از ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات تغذیه کردند نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵) و تیمار تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسید چرب نسبت به دو تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد داشت ولی بین دو تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

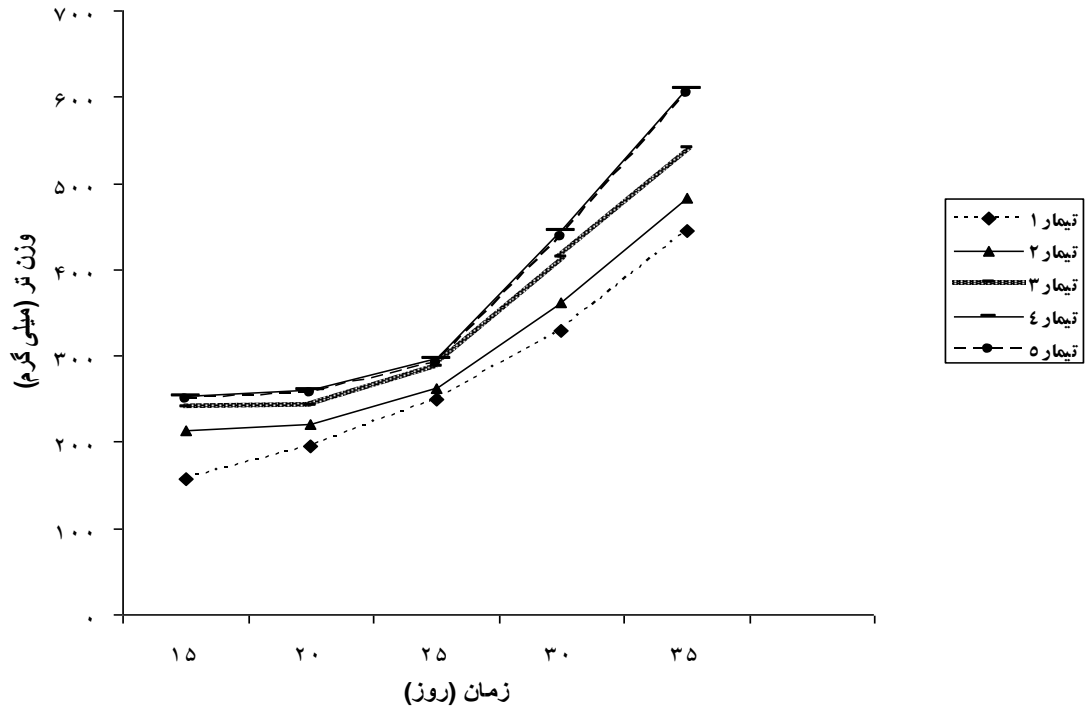
بیشترین و کمترین میزان وزن خشک به ترتیب برابر ۹/۵ ± ۱۱۵ و ۳/۸۵ ± ۷۹/۹۶ مربوط به تیمار تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات و لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری بود.

مقایسه میانگین‌های وزن خشک بدن لاروهای ماهی آزاد در روز ۳۵ در تیمارهای مختلف روند مقایسه‌ای مانند وزن تر را نشان داد.

جدول ۳-۱۲- میانگین وزن تر و وزن خشک بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ (میلی‌گرم)

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
وزن تر (میلی‌گرم)	a ۲۱/۴۲ ± ۴۴۴/۲۶	a ۱۰/۰۱ ± ۴۸۳/۶۶	b ۶ ± ۵۴۰/۱	c ۴۹/۰۷ ± ۵۹۲/۳۳	c ۷/۱ ± ۶۰۳/۷
وزن خشک (میلی‌گرم)	a ۳/۸۵ ± ۷۹/۹۶	a ۱/۷۶ ± ۸۵/۲	b ۰/۹۲ ± ۹۸/۲۶	c ۹/۵ ± ۱۱۵/۴۶	c ۱/۳۶ ± ۱۱۴/۶۶

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)



نمودار ۳-۷- مقایسه تغییرات وزن تر لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از روز پانزدهم تا سی و پنجم (میلی‌گرم)

۳-۸-۵- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵:

نتایج بررسی طول کل بدن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر ۳۵ روزه در جدول ۳-۱۳ آورده شده است.

همانطور که ملاحظه می‌شود در روز سی و پنجم، لاروهای تیمار تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشترین میزان طول کل برابر (۰/٦۱ ±٤۱/۹٦ میلی‌متر) داشت. کمترین میزان طول کل بدن در این مرحله مربوط به لاروهای تغذیه شده از غذای کنسانتره تجاری (۱/۱٤ ± ۳۷/۳٤ میلی‌متر) بود.

مقایسه میانگین طول کل بدن لاروهای ماهی آزاد در روز ۳۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این موضوع بود که تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره شده تجاری و ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده و ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره اختلاف معنی‌داری نداشت. (P>۰/۰۵)

در ضمن تیمار ۵،۳ و ٤،۵ هم در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت. (P>۰/۰۵)

جدول ۳-۱۳- میانگین طول کل لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵ (میلی‌متر)

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
طول کل (میلی‌متر)	a ۳۷/۳٤ ± ۱/۱٤	a ۳۹/۷۳ ± ۰/۲	b ٤۰/۵٦ ± ۰/۲	c ٤۱/۹٦ ± ۰/٦	c ٤۱/۵٦ ± ۰/۰۵

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

۳-۸-٦- ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵:

نتایج بررسی ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد در روز ۳۵ درجه اول ۳-۱٦ آورده شده است.

همانطور که ملاحظه می‌شود لاروهای تیمار تغذیه کرده با غذای کنسانتره تجاری بیشترین میزان ضریب رشد ویژه که برابر با ۱/۰۸ ± ۵/۵ بود را نسبت به سایر تیمارها نشان دادند.

مقایسه میانگین ضریب رشد ویژه لاروهای ماهی آزاد در روز ۱۵ در تیمارهای مختلف بیانگر این مورد بود که تیمارهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند (P<۰/۰۵) ولی نسبت به دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌داری دارد.

همین طور لاروهای تیمار تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری بیشترین میزان درصد افزایش وزن بدن که برابر با ۹٦/۵ ± ۲۰۵/۷۸ درصد را از خود نشان داد.

مقایسه میانگین‌های درصد افزایش وزن بدن لاروها روند مشابه‌ای مانند ضریب رشد ویژه لارو بود.

جدول ۳-۱٤- میانگین ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز ۳۵

تیمار	لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰درصدآسکوربیل پالمیتات	لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه۲۰درصد آسکوربیل‌پالمیتات
ضریب رشد ویژه (درصد در روز)	b ۵/۵ ± ۱/۰۸	a ٤/۲۳(۰/٦۸)	a ٤/۱۸(۰/٦۱)	ab ٤/۳۸(۰/٤۳)	ab ٤/۲۸(۰/۳۷)
افزایش وزن بدن (درصد)	b ۲۰۵/۷۸ ± ۹٦/۵	a ۱۲۵/۹۹ ± ۱۹/۹۷	a ۱۲۷/۹ ± ۳۳/۹۳	ab ۱٤۱/۱۸ ± ۲۱/۰۹	ab ۱٤۲ ± ۹/٦۳

* اعدادی که دارای حروف مشابه میباشند دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (P<۰/۰۵)

۳-۹- نتایج بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر (درصد):

۳-۹-۱- نتایج درصد بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در مرحله اول (شروع تغذیه فعال تا روز ۱۵)

نتایج میانگین درصد بقا لاروهای ماهی آزاد تا روز پانزدهم در نمودار ۳-۸ نشان داده شده است. بیشترین میزان درصد بقا تا روز پانزدهم آزمایش ۰/۷۳ ± ۹۸/۸۳ درصد مربوط به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بود.

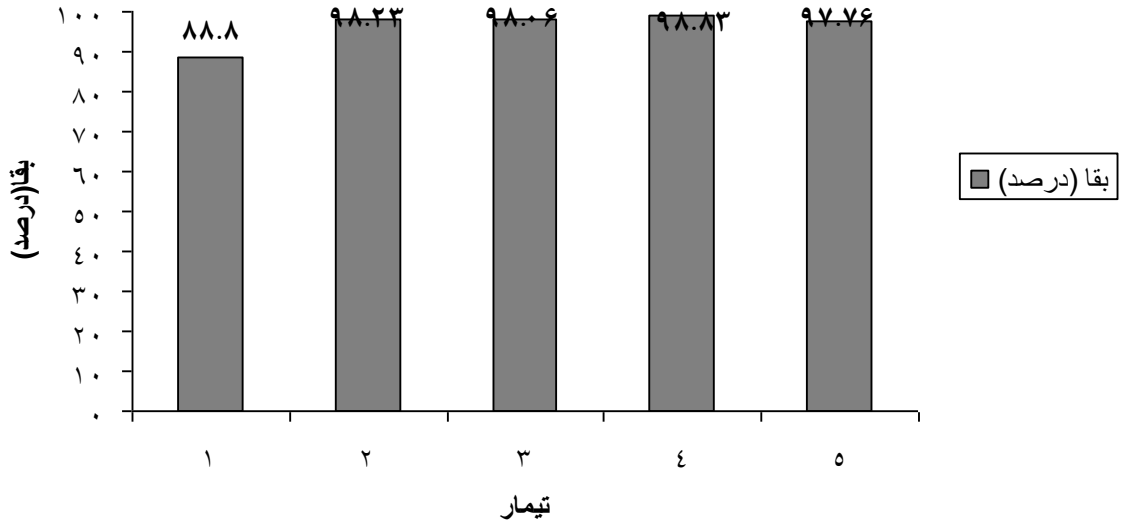
بین درصد بقای در بین لاروهایی که از غذای کنسانتره تجاری تغذیه کردند با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$) اما سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند:

۳-۹-۲- نتایج درصد بقا لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در مرحله دوم (از روز پانزدهم تا سی و پنجم):

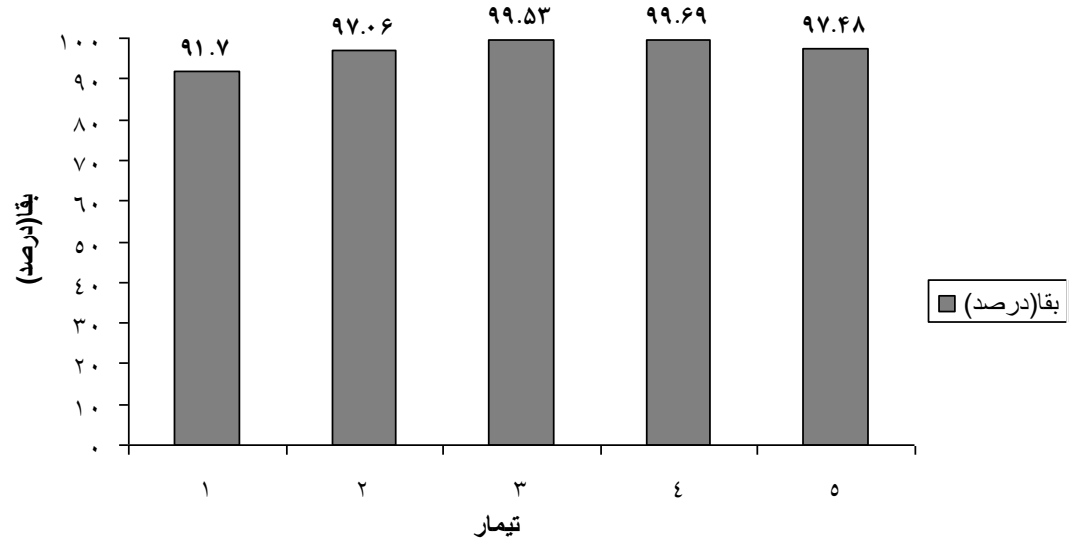
میانگین درصد بقا لاروهای ماهی آزاد از روز پانزدهم تا سی و پنجم در نمودار ۳-۹ نشان داده شده است.

بیشترین میزان درصد بقا مربوط به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بود که میزان آن ۰/۲۶ ± ۹۹/۶۹ بود.

اختلاف میانگین درصد بقا در بین لاروهایی که از غذای کنسانتره تجاری تغذیه کردند از دیگر تیمارها وجود داشت ($P<۰/۰۵$) و سایر تیمارها با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P<۰/۰۵$).



نمودار ۳-۸- بقا لاروهاي ماهي آزاد درياي



نمودار ۳-۹- بقا لاروهاي ماهي آزاد درياي خزر از روز ۱۵ تا ۳۵ (درصد)

۳-۱۰- نتایج مقاومت لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی:

۳-۱۰-۱- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ۲٤، ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد در روز پانزدهم:

برای بررسی اثر استفاده از تیمارهای مختلف غذا در مقاومت لاروهای ماهی آزاد در برابر نوسانات محیطی از شوکهای دمایی ۲٤، ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

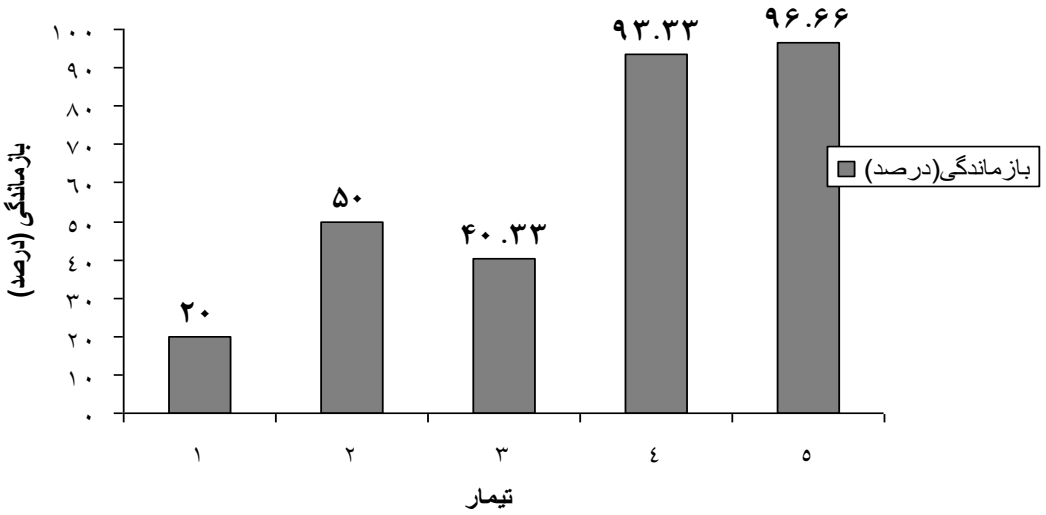
لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز پانزدهم نسبت به شوکهای دمایی ۲٤ درجه سانتی‌گراد کاملاً مقاوم بوده و بعد از ۲٤ ساعت هیچگونه تلفاتی در کلیه تیمارها مشاهده نشد.

نتایج میزان بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در نوسان ۲٦ درجه سانتی‌گراد و ۲۸ درجه سانتی‌گراد در نمودار ۳-۱۰ و ۳-۱۱ آمده است.

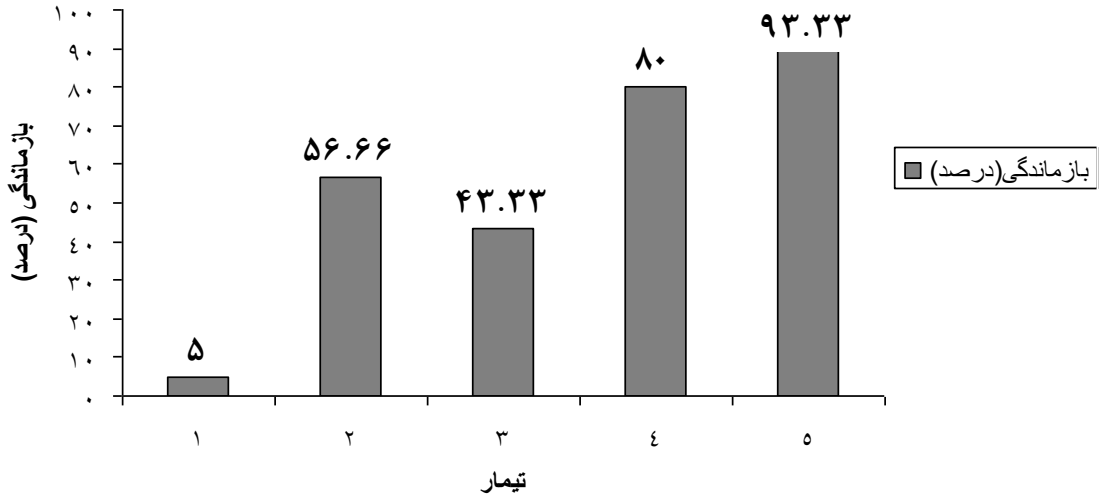
همانطور که ملاحظه می‌شود لاروهای تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری با ۱۰ ± ۲۰ درصد بازماندگی و ۵ ± ۵ درصد بازماندگی به ترتیب در دماهای ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد، کمترین مقاومت را نشان داده‌اند.

اختلاف میانگین درصد بازماندگی لاروها در دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد بین تیمار اول با تیمار دوم و سوم وجود داشت ($P<۰/۰۵$) و همین طور بین تیمارهای دوم و سوم با تیمار چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد وجود داشت.

از طرف دیگر اختلاف میانگین درصد بازماندگی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بین تیمارهای اول با تیمار دوم و سوم وجود داشت ($P<۰/۰۵$) و همین طور بین تیمارهای دوم و سوم با تیمار چهارم و پنجم اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد وجود داشت.



نمودار ۳-۱۰- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲۶ در روز ۱۵



نمودار ۳-۱۱- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲۸ در روز ۱۵

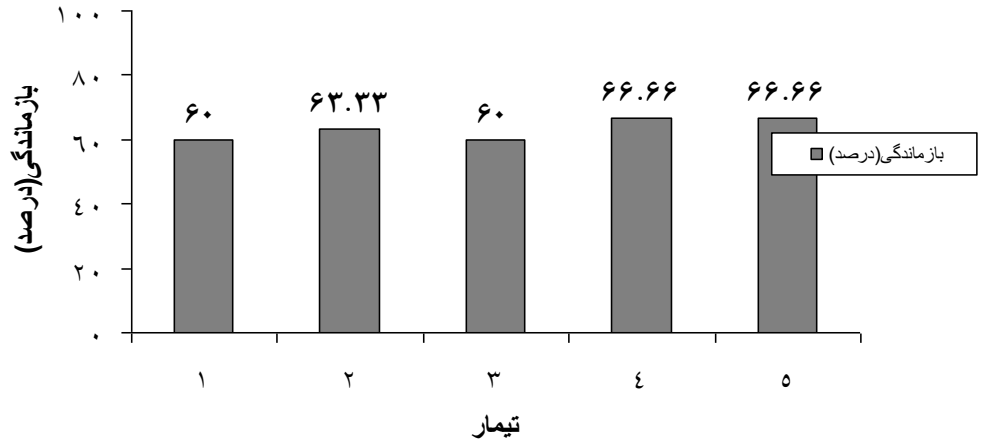
۳-۱۰-۲- بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ۲٤، ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد در روز سی و پنجم:

لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در روز سی و پنجم در برابر شوکهای دمایی ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد کاملاً مقاوم بودند و بعد از ۲٤ ساعت هیچگونه تلفاتی در کلیه تیمارها مشاهده نشد.

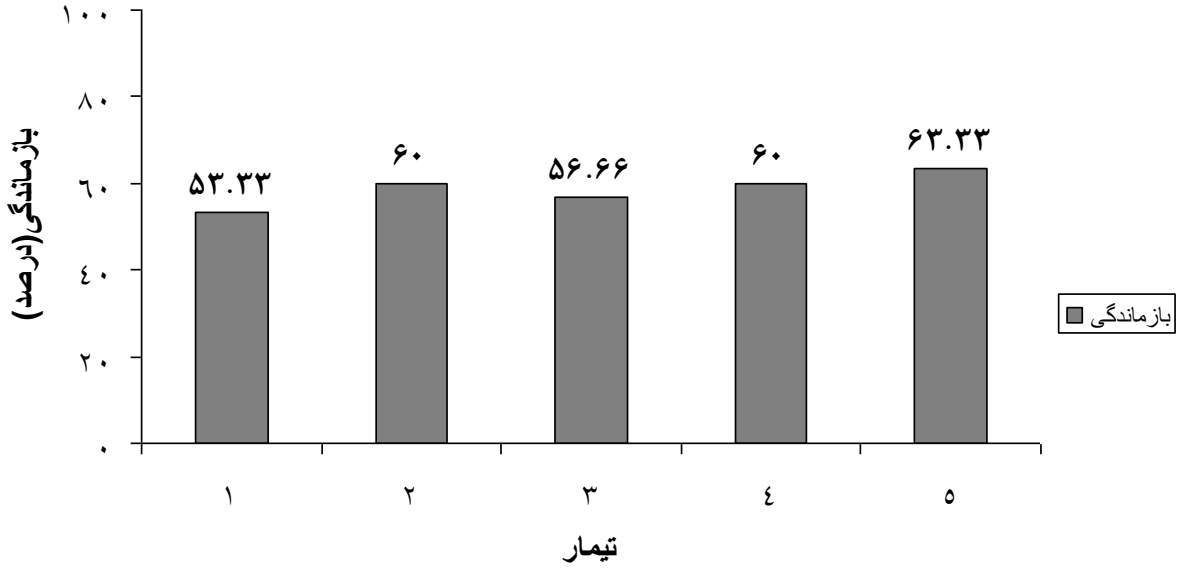
نتایج میزان بازماندگی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در برابر نوسانات دمایی ۲٤ و ۲٦ درجه سانتی‌گراد در نمودار ۳-۱۲ و ۳-۱۳ آمده است.

همانطور که ملاحظه می‌شود لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره با ٦۰ درصد و ۵/۷ ± ۵۳/۳۳ درصد بازماندگی به ترتیب در دماهای ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد، کمترین مقاومت را داشتند.

بازماندگی در دمای ۲٦ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد بین کلیه تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>۰/۰۵$).



نمودار ۳-۱۲- بازماندگی لارو ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲٦ در روز ۳۵



نمودار ۳-۱۳- بازماندگی لارو ماهی آزاد دریای خزر در شوک دمایی ۲۸ در روز ۳۵

بخش چهارم

بحث، نتیجه‌گیری

٤-١- بحث

اثرات ارزش تغذیه‌ای ارگانیزم‌های اصلی غذای زنده که در آبزی پروری بطور رایج استفاده می‌شوند (جلبک، روتیفر و آرتمیا) بخصوص در مورد اسیدهای چرب غیر اشباع بخوبی مورد نظر قرار گرفته است (Lovens et al; 1995 ،Volkman et al., 1989 ،Leger et al., 1986).

میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ناپلیوس آرتمیا ارومیه در سالهای مختلف و در مناطق مختلف دریاچه متفاوت می‌باشد (پورجعفر، ۱۳۷۸) و به طور عمده در حد پایینی گزارش شده است.

در چندین کار تحقیقاتی سعی شده با روشهای متفاوتی نسبت به افزایش این اسیدهای چرب در ناپلیوس آرتمیا ارومیه اقدام گردد. در این آزمایش غنی سازی با استفاده از امولسیون ICES/30/4 به مدت ٢٤ ساعت انجام گردید. نتایج حاصله نشان می‌دهد که میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در حد قابل قبول افزایش یافت. بطوریکه میزان EPA و DHA پس از غنی سازی با امولسیون به ترتیب ٤/٤٧-٤/١٣ و ٦/٩٣-٦/٢٦ درصد از کل اسیدهای چرب در متانایلیوسهای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ویتامین C افزایش نشان داد.

این افزایش در EPA و DHA با نتایج تحقیقاتی دیگری که اقدام به غنی سازی ناپلیوس آرتمیا با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره با استفاده از امولسیون ICES/30/4 نمودند، که در آنها مقدار EPA و DHA به ترتیب ١٤-١٢/٢ و ١٧/٥-١٦/٨ میلی‌گرم در گرم وزن خشک افزایش یافت، هماهنگی دارد.

(منافی فر،١٣٨٠، طبیعی، ١٣٨١). مقایسه افزایش میزان EPA و کاهش DHA در تمامی گزارشات در دوره گرسنگی با یکدیگر مشابه می‌باشد. از طرف دیگر مقدار اسید آسکوربیک در ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده آرتمیا بطور قابل ملاحظه‌ای از مجموعه‌ای به مجموعه دیگر و در بین نژادهای گوناگون می‌باشد (٥٢٤-٣١٠ میکروگرم در گرم وزن خشک) و غلظت‌های اسید آسکوربیک ٢ سولفات را منعکس می‌کند.

میزان اسید آسکوربیک در ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده آرتمیا ارومیه در این تحقیق ٢/٥٤ ± ٤٨٨/١٤ میکروگرم در گرم وزن خشک بدست آمده، در صورتی که Noshirvani و همکاران (2006) مقدار اسید آسکوربیک را در ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده آرتمیا ارومیه ١٦٦ ± ١٥٣٤. بدست آوردند.

این تغییرپذیری در غلظت اسید آسکوربیک ۲ سولفات ممکن است وابسته به اختلافات در تغذیه آرتمیا بالغ در طول روند تولید مثلی باشد که در مورد مقدار اسید چرب بوسیله Lavens و همکاران (1989) ذکر شد.

بکار بستن امولسیون اسید چرب به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (نسبت وزنی) سطوح دو برابر و چهار برابر اسید آسکوربیک را به ترتیب، نسبت به سطح ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده افزایش می‌دهد (سطح اولیه ۵۵۰ میکروگرم در گرم وزن خشک).

در این پژوهش نیز بعد از ٢٤ ساعت غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا با امولسیونهای اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات سطوح ٤/٧ ±١٤٣٤/٥٣ و ١٤/٤ ±٢٤١٦ میکروگرم در گرم وزن خشک بدست آمد.

تاثیر ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین c بر گونه‌های مختلف آبزیان در سطح جهان مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این بررسی هم تاثیر دریافت اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین c روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر نوسانات محیطی در لاروهای ماهی آزاد دریای خزر مورد بررسی قرار گرفت.

در پایان روز پانزدهم، رشد (وزن تر، طول کل، ضریب رشد ویژه و افزایش وزن) لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

Kolkovski و همکاران در سال ۲۰۰۰ بین لاروهای Walley (*stizostedion vitreum*) تغذیه کرده از ناپلیوس تازه تخم گشایی شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از روغن کبد کاد و امولسیون اسید چرب با نسبتهای پالاکوزاپنتا اسید انوئیک تفاوت معنی‌داری رشد نیافتند.

اکثر ماهیان آب شیرین مانند آزاد ماهیان، برخلاف ماهیان دریایی قدرت اشباع‌زدایی و طویل سازی اسیدهای چرب برای تولید n-٣ ٢٠:٥ و n-٣ ٢٢:٦ از n-٣ ١٨:٣ و n-٦ ٢٠:٤ از n-٦ ١٨:٢ را دارند (Halver and Hardy, 2002).

این تفاوت بین ماهیان آب شیرین و آب شور توسط رژیم غذایی طبیعی، گونه و نوع تغذیه (گیاهخواری) همه چیز خواری یا گوشتخواری می‌تواند بیان شود.

غذای طبیعی پارهای آزاد ماهیان (Bell et al., 1994) که شامل سخت پوستان آب شیرین و حشرات می‌باشند بطور عمومی سطحهای بالای ۳–۱۸:۳n و ٦–۱۸:۲n و سطحهای پایین ۳–۲۲:٦n را دارند.

از طرف دیگر پارها آزاد ماهیان همانند قزل‌آلا، بخوبی توانایی طویل‌سازی و اشباع‌زدایی اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه به اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ۲۰ و ۲۲ کربنه را دارند که بازتاب فراوان اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه در رژیم غذایی طبیعی آنها می‌باشد.(Bell et al., 1994)

با توجه به این نتایج، با وجود مقدار اندک اسید ایکوزاپنتاانوئیک (۰/۰۳ ± ۰/۳۱ درصد از کل اسید چرب) و نبود اسید دوکوزاهگزانوئیک در ناپلیوس آرتمیا ارومیه تازه هچ شده در مقابل مقادیر بسیار بیشتر این دو اسید چرب ۰/۱٤ ± ٤/٤۷ (درصد از کل اسید چرب) و ۰/۲۳ ± ٦/۲٦ (درصد از کل اسید چرب) به ترتیب در ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع و نقشهای این دو اسید چرب در رشد بقا و کیفیت لارو آبزیان، این طور به نظر می‌رسد که وجود مقادیر اسید لینولینک (۳–۱۸:۳n) به میزان ۰/۱٤ ± ۹/٦۹ (درصد از کل اسید چرب) و اسید لینوئیک (٦–۱۸:۲n) به میزان ۰/۱٤ ± ۹/٦۹ (درصد از کل اسید چرب)، با توجه به نیاز این دو اسید چرب ضروری به میزان یک درصد وزن خشک جیره برای آزاد ماهیان کافی می‌باشد.

از طرف دیگر با توجه به نتایج جدول ۳–٤، میانگین اسید چرب EPA و DHA بافت لارو ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (P>۰/۰۵) و بنابراین لاروهای ماهی آزاد دریای خزر توانایی طویل‌سازی و اشباع‌زدایی این دو اسید چرب را دارند.

از طرف دیگر در پایان روز پانزدهم، رشد (وزن تر، وزن خشک، ضریب رشد ویژه و افزایش وزن) لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

Kolkovski و همکاران در سال ۲۰۰۰ هم بین لاروهای (Walley) تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده از روغن کبد کادو امولسیون اسید چرب با نسبتهای بالا ایکوزاپنتا انوئیک اسید به همراه ویتامین C و E تفاوت معنی‌دار رشد نیافتند.

از طرف دیگر Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که تغذیه لاروهای میگوی آب شیرین با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع و ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد ویتامین C بعد از ۲۵ روز اختلاف معنی‌دار رشد نداشتند.

از طرف دیگر Merchie و همکاران در سال ۱۹۹٦ در بررسی احتیاجات اسید آسکوربیک لارو کفشک ماهی (Torbot) دریافتند که رشد لاروهای تغذیه کرده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با صفر، ۵ و ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز هشتم و بیستم اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵).

اما برای لارو و گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) تکمیل اسید آسکوربیک رژیم غذایی اثر مثبت بر رشد (معنی‌دار در سه تا از ٤ آزمایش) داشت و تیماری که ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات دریافت کردند ۳۰ درصد بیشتر از گروه شاهد وزن داشتند.

Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ در تغذیه باس اروپایی *(Dicentrachus labrax)* با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بعد از ۲۰ و ۳۵ روز اختلاف معنی‌داری در رشد نیافتند.

از طرف دیگر Gapasin و همکاران در سال ۱۹۹۸ دریافتند که اختلاف رشدی بین لارو خامه ماهی *(Chanos chanos)* تغذیه شده با روتیفر و آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به لاروهای تغذیه شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد ویتامین C اختلاف رشد معنی‌داری وجود ندارد.

از طرف دیگر محمدزاده در سال ۱۳۸۲ نشان داد که اختلاف رشدی (وزن تر، طول کل) بین لاروهای قزل‌آلا تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در روز سیزدهم و نوزدهم مشاهده نشد.

همچنین در سال ۱۳۸٤ ایمانپور در بررسی لارو ماهی سفید *(Rutilus frissi kutum)* اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسید چرب غیر اشباع و ویتامین C پیدا نکرد.

بطور نسبی سطوح بالای اسید آسکوربیک که در غذاهای زنده روتیفر و آرتمیا وجود دارد، تعیین احتیاجات حداقل برای ویتامین C را در بیشتر ماهیان و سخت پوستان دچار اشکال می‌کند چونکه این نیازها بوسیله میزان اسید آسکوربیک ابتدایی در غذای زنده بدون غنی‌سازی نیز مطابق شرایط می‌باشد.

بعلاوه تحت شرایط پرورش سطحهای اسید آسکوربیک که بطور طبیعی در ناپلیوس آرتمیای تازه تخم‌گشایی شده (۵۵۰ میکروگرم در گرم وزن خشک) وجود دارد که برای جلوگیری از کاهش سطحهای اولیه اسید آسکوربیک در لارو ماهی کیسه زرده دار می‌باشد (merchie et al., 1996).

از طرف دیگر مقدار ۱/٤ ±۱۱۸ (میکروگرم در گرم وزن خشک) اسید آسکوربیک در غذای کنسانتره تجاری کافی نبود تا غلظت اسید آسکوربیک در لارو ماهی آزاد قبل از تغذیه فعال (۲/ ±۲۵۲/٤۳ میکروگرم در گرم وزن خشک) را نگهداری نماید و میزان اسید آسکوربیک در لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری در روز پانزدهم به ۲/۲۱ ±۱۸۷/۹۳ میکروگرم در گرم وزن خشک رسید.

این نتایج نشان داد که در مورد لاروهای ماهی آزاد دریای خزر، احتیاجات ویتامین C در طول مرحله تخم‌گشایی از مقادیر مرحله جوانی و در حال رشد بالاتر می‌باشد.

این احتیاج بالاتر ممکن است به میزان رشد و متابولیسم بالاتر لارو در مقایسه با مراحل جوانی و بلوغ وابسته باشد. در این رابطه Matusiewicz و همکاران در سال ۱۹۹٤ پیشنهاد کردند که احتیاجات اسید آسکوربیک موجودات خونسرد با میزان متابولیسم در ارتباط می‌باشد.

از طرف دیگر در پایان روی پانزدهم میزان رشد (وزن تر، ضریب رشد ویژه و افزایش وزن) لاروهای تغذیه شده از غذای کنسانتره تجاری در مقایسه با سایر تیمارها در سطح ۹۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری بود و کمتر بود.

استفاده از غذای کنسانتره در تغذیه لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در مرحله شروع تغذیه فعال نسبت به تغذیه این لاروها از ناپلیوس غنی نشده و غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C باعث کندی رشد و کاهش وزن در پایان ۱۵ روز شد.

در سال ۱۳۸۲ محمدزاده اختلاف معنی‌داری را از نظر وزنی بین لاروهای قزل‌الا تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا و ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ویتامین C بدست آورد.

همچنین در سال ۱۳۸۳ میرزاخانی و در سال ۱۳۸۳ سلیمی از نظر میزان رشد بین لاروهای قزل‌آلا تغذیه شده با غذای کنسانتره و لاروهای قزل‌آلا تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا اختلاف معنی‌داری بدست آوردند. از طرف دیگر Kaiser و همکاران در سال ۲۰۰۳ بین لاروهای ماهی حوض Gold fish *(Carassius auratus)* تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری و ناپلیوس آرتمیا از نظر رشد اختلاف معنی‌داری پیدا کردند.

بقا و رشد لاروهای ماهی بطور زیاد وابسته به سن شروع تغذیه فعال می‌باشد که با مقدار، کیفیت و پذیرش غذا ارتباط تنگاتنگ دارد (wootton, 1990. Nicolsky, 1976).

استفاده از غذاهای کنسانتره تجاری در مرحله تغذیه فعال ماهیها به خصوص در مورد لارو ماهی آزاد دریای خزر از چند جنبه می‌تواند مورد توجه باشد.

نخست آنکه لارو ماهی آزاد دریای خزر در این مرحله از زندگی به شدت وحشی می‌باشد و همین امر موجب تغذیه ناکافی آنها از غذای کنسانتره تجاری در هنگام غذادهی و باقی ماندن رسوب غذا و غیر قابل دسترس بودن آن می‌شود.

از طرف دیگر باقی ماندن غذای کنسانتره تجاری در آب باعث از دست رفتن مواد مغذی ذرات غذایی (۰/۲-۰/۰۵ میکرومتری در قطر) می‌شود و از طرف دیگر ذرات غذایی کوچکتر از ۲۰ میکرومتر هم غیر قابل دسترس می‌شوند (kamler, 1995).

از طرف دیگر غذاهای تجارتی با کمبود مواد ضروری همچون اسیدهای چرب، آمینواسیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی، هر کدام به تنهایی یا ترکیب با هم مواجه هستند.

از طرف دیگر نمو اولیه لوله گوارشی و تولید پایین آنزیم‌های گوارشی، هضم غذا بخصوص غذای کنسانتره را محدود می‌کند از طرف دیگر نداشتن اطلاعات در مورد ترکیبات غذایی مورد نیاز این گونه سبب می‌شود که با به کار بردن بعضی از ترکیبات غذایی مغذی بطور غیر مناسب اثرات منفی بر عملکرد رشدی لارو ماهی آزاد دریای خزر ایجاد شود. بطور مثال سطحهای بالا EPA در رژیم غذایی اثرات منفی بر عملکرد لارو ماهی دارد بطوریکه czensy و همکاران در سال ۱۹۹۹ یافتند که سطحهای بالا EPA در رژیم غذایی اثرات منفی بر عملکرد لارو ماهی *(strzostedion vitreum)* walley دارد.

بطوریکه نسبتهای اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (AA, DHA, EPA) نشانه وضعیت فیزیولوژیکی ماهی می‌باشد (castell et al., 1994)بطوریکه میزان EPA/AA برای گونه‌های آب شیرین پایین‌تر از ۳ می‌باشد.

در این پژوهش ما یافتیم که نسبت EPA/AA در غذای کنسانتره تجارتی ۵/۷۷ ±۸/۸۶ بود که برای لارو ماهی آزاد دریای خزر که در این مرحله از زندگی در آب شیرین زندگی می‌کند نامناسب می‌باشد.

از طرف دیگر وجود آنزیم‌های پروتئو لیتیک در ناپلیوس آرتمیا موید این نکته است که آنزیم‌هایی با منشاء خارجی در ناپلیوس آرتمیا نقش مهمی در هضم و جذب ناپلیوس در لوله گوارش لارو ماهی آزاد دارد. با توجه به هضم سریع ناپلیوس آرتمیا، معده لارو سریعتر خالی گشته و فعالیت تغذیه‌ای زودتر شروع می‌شود. لارو ماهی آزاد از آن دسته از ماهیان می‌باشد که غذا را از طریق دیدن تشخیص می‌دهد و با توجه به رنگ نارنجی و روشن ناپلیوس آرتمیا نسبت به غذای کنسانتره تجارتی و تحرک آن لارو ماهی آزاد آسانتر می‌تواند آنرا پیدا کرده و تغذیه بیشتری از آن داشته باشد.

تغییر رژیم غذایی لاروهای ماهی آزاد دریای خزر از غذای زنده به غذای کنسانتره تجاری در پایان روز پانزدهم و تغذیه این تیمارها با غذای کنسانتره تجارتی تا پایان روز سی و پنجم باعث تغییر آهنگ رشد لاروهای ماهی آزاد دریای خزر در این مرحله شد.

بطوریکه تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری در مرحله دوم (روز پانزدهم تا سی و پنجم) دارای بالاترین ضریب رشد ویژه (۱/۰۸ ±۵/۵) و درصد افزایش وزن بدن (۹۶/۵ ±۲۰۵/۷۸) بود و ضریب رشد سایر تیمارها نسبت به مرحله اول (روز ابتدا تا پانزدهم) کمتر بود.

با این حال وزن تر و خشک لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز سی و پنجم نسبت به سایر تیمارها بیشتر بوده و اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵).

میرزاخانی در سال ۱۳۸۳ نشان داد که تغییر رژیم غذایی لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در روز بیستم از غذای زنده به غذای کنسانتره تا روز پنجاهم، باعث شد که لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع که دارای بیشترین وزن و طول بودند در پایان روز پنجاهم نسبت به تیماری که در مرحله اول ۵۰ درصد غذای کنسانتره تجاری و ۵۰ درصد ناپلیوس آرتمیا غنی شده دریافت کرد وزن و طول کمتر داشته باشد.

Fermin و همکاران در سال ۱۹۹۱ از تغییر رژیم غذایی گربه ماهی آب شیرین (*Clarias macrocephalus*) از غذای زنده (آرتمیا) به غذای کنسانتره خشک، کاهش آهنگ رشد از روز هفتم تا روز ١٤ مشاهده کردند.

بقای لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع و ناپلیوس غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان ۱۵ روز اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۷ در بررسی تغذیه لارو گربه ماهی (*clarias gariepinus*) با آرتمیا غنی شده از صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در پایان روز هشتم از نظر بقا بین این تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد نیافتند.

Kolkovski و همکاران در سال ۲۰۰۰ بین لاروهای Walley (*stizostedion vitlevm*) تغذیه کرده از ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسید آسکوربیل پالمیتات بالا از نظر بقا اختلاف معنی‌داری بعد از ٤٠ روز نیافتند اما بقا لاروهای تغذیه کرده از آرتمیا غنی شده با نسبتهای بالای اسید آراشیدونیک به همراه ویتامین C اختلاف معنی‌داری با این تیمارها داشتند. از طرف دیگر Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ بین بقا پست لاروهای میگوی آب شیرین

تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در روز ۲۸ اختلاف معنی‌داری نیافت.

از طرف دیگر Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ در تغذیه باس اروپایی *(Dicentrachus labrax)* با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بعد از ۲۰ و ۳۵ روز اختلاف معنی‌داری در بقا نیافتند.

از طرف دیگر Gapasin و همکاران نیز در سال ۱۹۹۸ دریافتند که بقا بین لاروهای خامه ماهی (Chanos chanos) تغذیه کرده از روتیفر و آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در سطح ۹۵ درصد اختلاف وجود ندارد.

از طرف دیگر محمدزاده در سال ۱۳۸۲ نشان داد که بین لاروهای قزل‌آلای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در روز نوزدهم از نظر بقا اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

همچنین در سال ۱۳۸٤ ایمانپور در بررسی بقا بچه ماهیان سفید *(Rutilus frissi kutum)* اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه کرده از ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس غنی شده از اسید چرب و ویتامین C پیدا نکرد.

میرزاخانی در سال ۱۳۸۳ نیز اختلاف معنی‌دار بقا بین لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره از نظر بقا اختلاف معنی‌داری پیدا نکرد.

به نظر می‌رسد با توجه به توانایی طویل‌سازی و اشباع زدایی اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه به اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ۲۰ و ۲۲ کربنه و نقشهای اسیدهای ۲۰ و ۲۲ کربنه بخصوص DHA در بقا لارو و با توجه به سطوح اسیدهای چرب ۱۸ کربنه و اسید آسکوربیک در ناپلیوس آرتمیای ارومیه تازه تخم‌گشایی شده آرتمیا ارومیه، بقا یکسان بین تیمارهای غنی شده و غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و اسیدهای چرب غیر اشباع به همراه ویتامین c توجیه پذیر باشد.

از طرف دیگر بقا لاروهای تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری (٤/۹۲ ± ۸۸/۸ درصد) در ۱۵ روز نسبت به سایر تیمارها کمترین بود و دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد بود.

میرزاخانی در سال ۱۳۸۳ نیز بین بقای لاروهای قزل‌الا تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری با لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس تازه تخم‌گشایی شده و ناپلیوس آرتمیا غنی شده از اسیدهای چرب غیر اشباع در پایان روز بیستم اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد مشاهده نمود.

سلیمی در سال ۸۳ نیز لاروهای قزل‌آلا تغذیه کرده از غذای کنسانتره تجاری با لاروهای تغذیه کرده از ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده از نظر بقا اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد مشاهده نمود.

از طرف دیگر با بررسی بقا بین روزهای پانزدهم و سی و پنجم (مرحله دوم) مشخص می‌شود که لاروهایی که از ابتدا غذای کنسانتره تجاری را تغذیه کردند در مرحله دوم نیز دارای کمترین میزان بقا (۹۱/۷± ۲/۱۸) می‌باشد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها در سطح ۹۵ درصد دارند ولی بقا در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

میرزاخانی در سال ۱۳۸۲ نشان داد که بیشترین درصد بقا لاروهای قزل‌آلا در روز پنجاهم آزمایش در لاروهایی که از ابتدای دوره (تا روز بیستم آزمایش) از ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع تغذیه کرده بودند، دیده شد ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها تغذیه کرده از غذای کنسانتره با دیگر تیمارها غذای زنده غنی شده و نشده مشاهده نکرد.

از طرف دیگر استفاده از تیمارهای مختلف غذا مقاومت لاروها را نسبت به نوسانات دمایی بالا در پایان ۱۵ روز تحت تاثیر قرار داد. بطوریکه لاروهای ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده از ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات در دمای ۲۶ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد به ترتیب بعد از ۶/۵ ساعت و یک ساعت دارای بیشترین بازماندگی بودند.

مقاومت این تیمارها نسبت به تیمارهایی که ناپلیوس آرتمیا بدون ویتامین c دریافت کردند و همین طور نیست به تیمار تغذیه شده با غذای کنسانتره تجارتی در سطح ۹۵ درصد بیشتر بود.

Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ نیز دریافتند که لاروهای گربه ماهی Claria gariepinus که ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات دریافت کردند، مقاومت آنها بعد از قرار گرفتن در برابر نوسانات شوری ppt ۲۵ بعد از یکساعت از لاروهایی که ناپلیوس آرتمیا غنی شده با صفر و ۱۰ درصد آسکوربیل پالمیتات بیشتر بود.

Gapasin و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز وقتی لاروهای خامه ماهی ۲۵ روزه را در برابر استرس شوری قرار دادند، میزان مرگ و میر کمتری را در لاروهایی تغذیه شده با آرتمیا و روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C و لاروهای تغذیه شده با آرتمیا و روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به گروه شاهد در سطح ۹۵ درصد مشاهده کردند.

از طرف دیگر Merchie و همکاران در سال ۱۹۹۵ دریافتند که پست لاروهای میگوی آب شیرین که ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات را دریافت کردند نسبت به نوسان شوری ٦٥ در هزار در یکساعت دارای مقاومت بالاتری بودند.

از طرف دیگر لاروهای ماهی آزاد که از غذای کنسانتره تجاری تغذیه شدند دارای مقاومت کمتری (۲۰ درصد) نسبت به لاروهای تغذیه کرده از غذای زنده غنی شده و غنی شده بودند.

میرزاخانی در سال ۱۳۸۲ نیز بیان کرد که لاروهای قزل‌آلا تغذیه شده با غذای کنسانتره تجاری با ۳۳/۳ درصد بازماندگی در برابر شوک دمایی ٢٤ درجه سانتی‌گراد کمترین مقاومت را داشتند.

Chen و همکاران در سال ۲۰۰۳ در بررسی مقاومت لاروهای Golden shiners (*Notemigons crysoleucas*) به استرس حرارتی (۳۵/۵-۳٤) تحت تاثیر جیره‌های مختلف ویتامین c دریافتند که لاروهایی که ٤۰/۳ میلی گرم اسید آسکوربیک در کیلو گرم جیره تغذیه کردند بقا بالاتر نسبت به لاروهایی که ۰ یا ۱۹/۵ میلی‌گرم اسید آسکوربیک در کیلوگرم را تغذیه کردند داشتند.

از طرف دیگر آذری تاکامی و همکاران در سال ۱۳۸٤ بیشترین درصد بقا و مقاوم‌ترین لاروها قزل‌آلا رنگین کمان به شوک دمایی را در گروه تغذیه شده با ۱۰۰ درصد ناپلیوس آرتمیا غنی شده از ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات تغذیه کردند یافتند.

این طور می‌توان نتیجه گرفت که بالا رفتن مقدار اسید آسکوربیک رژیم غذایی در ناپلیوس آرتمیا غنی شده با ۱۰ و ۲۰ درصد آسکوربیل پالمیتات (٤/۱ ± ۱٤۳٤/۵ و ۱٤/٤ ± ۲٤/٦ میکروگرم در گرم وزن خشک) به ترتیب نه تنها سطوح اسید آسکوربیک را در بافت لارو ارتقاء می‌دهد بلکه همچنین شرایط فیزیولوژیکی آنرا تحت تاثیر قرار می‌دهد که نقش مهم اسید آسکوربیک را در مواجهه با نوسانات محیطی آشکار می‌کند.

به همین دلیل اختلاف میانگین درصد بازماندگی در دمای ۲۶ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد بین کلیه تیمارها در روز سی و پنجم در سطح ۹۵ درصد وجود نداشت.

٤-٢- نتیجه‌گیری:

نتایج بدست آمده در این پژوهش بیانگر این موضوع می‌باشد که لارو ماهی آزاد دریای خزر توانایی سنتز و اشباع زدایی و طویل‌سازی اسید چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه به اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره ۲۰ و ۲۲ کربنه را دارد و با توجه به میزان مناسب اسیدهای چرب ۱۸:۳n-۳ و ۱۸:۲n-٦ در ناپلیوس آرتمیا ارومیه (۱٤ ± ۲۰/۵۲ درصد از کل اسید چرب و ۰/۱٤ ± ۹/٦۹ درصد از کل اسید چرب) به ترتیب، لارو ماهی آزاد دریای خزر با تغذیه ناپلیوس تازه تخم گشایی شده آرتمیا ارومیه EPA و DHA مورد نیاز خود را می‌تواند تامین نماید.

میزان بالای اسید آسکوربیک (۲/٥٤ ± ٤۸۸/۱٤) در ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده برای این دوره رشدی کافی به نظر می‌رسد.

با توجه به عملکرد لاروهای ماهی آزاد دریای خزر تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا تازه تخم‌گشایی شده از لحاظ رشد و بقا در پایان روز پانزدهم نسبت به سایر تیمارها و هزینه‌های مکانی، کاری و اقتصادی غنی سازی، ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده غذایی مناسب برای مرحله تغذیه فعال لاروهای ماهی آزاد دریای خزر تشخیص داده شد.

این طور به نظر می‌رسد که برای جلوگیری از کاهش رشد در مرحله تغییرپذیری از غذای زنده (به خصوص ناپلیوس آرتمیا تازه تخم گشایی شده) به غذای کنسانتره اصول و روشهای ترکیبی دیگر باید در نظر گرفته شود تا روند رشد در این گروه تغذیه‌ای را کاهش ندهد.

۳- پیشنهادات:

۱- پیشنهاد می‌گردد اثرات سایر جیره‌های غذایی مثل ترکیب سیست پوسته‌زدایی شده + ناپلی آرتمیا، ناپلی آرتمیا + غذای کنسانتره تجارتی، سیست پوسته‌زدایی شده + غذای کنسانتره تجارتی مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

۲- پیشنهاد می‌گردد اثرات نسبتهای مختلف EPA/AA در غذا کنسانتره تجاری مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

۳- با توجه به دمای پرورش در محیط پیشنهاد می‌گردد که دماهای بالاتر (۱۹-۱۲) درجه سانتی‌گراد برای پرورش لارو ماهی آزاد دریای خزر مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

٤- پیشنهاد می‌گردد که روشهای ترکیبی مختلف در طول دوره پرورش لاروی از ابتدا تا دوره تغییر غذای زنده به غذای کنسانتره مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد.

۵- پیشنهاد می‌گردد اثر منابع مختلف لیپید را در سایر مراحل زیستی ماهی آزاد دریای خزر بویژه دوره پارواسمولت مورد ارزیابی قرار گیرد.

منابع:

۱- آذری تاکامی، ق. ۱۳۷۹. بررسی پایداری اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیر بلند طی غنی سازی آرتمیا با روغن ماهی مختلف و دوره‌های گرسنگی. گزارش نهایی طرح پژوهشی، معاونت پژوهشی دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی، ۳۱ صفحه

۲- آذری تاکامی، ق. مشکینی، س. رسولی، علی. امینی، ق. ۱۳۸۳. بررسی اثرات تغذیه‌ای ناپلیوس *Artemia urmiana* غنی شده با ویتامین C روی رشد، درصد بقا و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان، پژوهش و سازندگی، ٦٦، ۳۲-۲۵

۳- آق، ن. نوری، ف. ۱۳۷۹. غنی‌سازی آرتمیا راهی برای افزایش ارزش غذایی آن جهت مصرف لارو آبزیان دریایی. (زیر چاپ مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان).

٤- ایمانپور. م. ر. ۱۳۸٤. اثرات طیف نوری، فتوپریود و غنی سازی بر پرورش لارو و اسمور و گلیشن ماهی انگشت قد *Rutilus frisii kutum*. رساله دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۱۷ صفحه.

۵- پورجعفر، م. ۱۳۷۷. ارزیابی میزان کل چربی، نوع و میزان اسیدهای چرب در ناپلیوس آرتمیا دریاچه ارومیه از ایستگاههای مهم صید سیست آرتمیا در طول یک سال، پایان نامهٔ دوره دکترای دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ۸٦ صفحه.

٦- جواهری، م. ۱۳۸۰. تولید فرآورده از کیلکا به روش اسمز پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان. ۹۱ صفحه.

۷- سلیمی، ب. ۱۳۸۳. بررسی مقایسه‌ای اثرات تغذیه‌ای لارو قزل‌آلای رنگین کمان با سیست دِکپسوله و ناپلی آرتمیا، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه ارومیه، ٦۹ صفحه.

۸- شرکت سهامی شیلات ایران. ۱۳۸٤. سالنامه آماری شیلات ۱۳۸۳-۱۳۷۳، اداره آمار و انفورماتیک دفتر طرح و توسعه شیلات.

۹- شکیبی دریاکناری، ع. ۱۳۷۹. بررسی بیوتکنیک تکثیر ماهی آزاد دریای خزر *(salmo trutta caspius)* سمینار کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس تهران، ۳۵ صفحه.

۱۰- شعبان‌پور، ب. ۱۳۷۷. تعیین ضرایب تبدیل دافنی و ناپلیوس آرتمیا در تغذیه لاروتاس ماهی ایرانی قره برون. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۷۱ ص.

۱۱- شفرد، ج، بروپیچ، ن. ۱۹۹۱. پرورش تراکم ماهی (ترجمه: تاری، م. معتمد، م). انتشارات دانشگاه گیلان، ۸۸-,۸۷

۱۲- طبیعی، الف. ۱۳۸۱. اثر تغذیه آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت پست لاروهای میگوی سفید هندی در برابر تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. ٦۳ صفحه.

۱۳- طیبی، ن. ۱۳۸۲. بررسی اثرات دما و زمان برداشت بر قابلیت تخم گشایی و ارزش غذایی آرتمیا ارومیه *(Artemia urmiana)*. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ٦۲ صفحه.

۱٤- عباسی، ک. ولی‌پور، ع. طالبی حقیقی، د. سرپناه، ع. نظامی، ش. ۱۳۷۸. اطلس ماهیان ایران آبهای داخلی گیلان. مرکز تحقیقات شیلات گیلان، بندر انزلی، ۱۱۳ صفحه.

۱۵- محمدزاده، ن. ۱۳۸۲. تاثیر تغذیه با ناپلی آرتمیا غنی شده از روغن ماهی و ویتامین C، بر رشد ماندگاری و مقاومت لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در برابر استرس آمونیاک و نیتریت. ۱۰۵ص.

۱٦- مناف‌فر، ر. ۱۳۸۰. غنی‌سازی *Artemia urmiana* با امولسیون اسید چرب و جلبک دونالیلا و بررسی متابولیسم HUFA تحت انکوباسیون سرد. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه

مدرس تهران، ۷۹ ص.

۱۷- میرزاخانی، م. ۱۳۸۳. اثرات استفاده از آرتمیا غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و

آرتمیا غنی نشده بر رشد و بازماندگی لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان *oncorhynchus mykiss*.

پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس تهران، ۵۲ صفحه.

۱۸- نظری، ر. م. یوسفیان، م. ۱۳۸۰. نقش ناپلی آرتمیا ارومیه روی بقا و نرخ رشد تاس ماهی ایرانی *Acipenser persicus* همایش آرتمیا، ارومیه.

۱۹- وثوقی، غ. مستجیر، ب. ۱۳۷۳. ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۱۷ صفحه.

۲۰- ویلکی، ا.س. ۱۳۷۵. ماهی آزاد دریای خزر. آبزی پرور، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان شیلات ایران ۱۶، ۱۶-۳,

21- Abdurakhmanov, YU. A., 1962. Fish of freshwater bodies of Azerbaijan. Azerbaijan. SSRASP, P.89-96.

22- Agh, N., Sorgeloos, P. Abatzopoulos, T., Razavi Rouhani, S.M. and Lotfi, G.V. 2001. Artemia resourses in Iran. International Workshop on Artemia. Artemia and Animal Research, Urmia University- Iran.

23- Agh, N., Sorgeloos, P., 2005. Handbook of protocols and Guidelines for culture and enrichment of live food for use in larviculture, 1st Regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture, 7-11 university, urmia, Iran, 26.

24- Ahmadi, M.R., Leibovitz, H., Simpson, K.L., 1990. Nutrient composition of Iranian brine shrimp *(Artemmia urmiana)*. Comp, Biochem. Physiol. Vol 95 B. No. 2, pp: 225-228.

25- Ako, H., Tamaru, C.S., Bass, P., Lee, C.S., 1994. Enhancing the ressitance to physical stress in larvae of *mugil cephalus* by the feeding of enriched Artemia Nauplii. Aquaculture 122, 81-90.

26- Armantrout, N. B., 1980. The freshwater fishes of Iran. Ph. D. thesis Oregon state university, Oregon. xx + 472 pp.

27- Bell, J.G. Ghioni, C., Sargent, J.R., 1994. Fatty acid compositions of ten freshwater invertebrates which are natural food organisms of Atlantic salmon parr *(salmo salar)*: a comparison with commercial diets, Aquaculture 128, 301-313.

28- Bengston, D.A., leger, P.H. and sorgeloos, P., 1991. use of Artemia as food source for aquaculture, pp: 250-280: Artemia Biology. Brown, R.A., sorgeloos, p., Trotman, C.N.A (Eds). CRC Press, Inc, Boca Rotan Florida, USA, 347p.

29- Castell, J.D., Bell, J.G., Tocher, D.R., sergeant, J.R., 1994. Effects of purified diet containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turhot *(Scophthalmus maximus)*, Aquaculture 128, 315-333.

30- Chatterjee, I. B., Chatterjee, G.C., Ghosh, N.C., Ghosh, J.J., and Guha, B.C., 1960. Biological synthesis of L- ascorbic acid in animal tissues conversion of L-gulonolactone in to L- ascorbic acid. Biochem. J. 74, 193.

31- Chen, R., Lochman, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K., and Lee, J.K., 2003. Alternative complement Activity and Resistance to heat stress in Golden shiners *(Notemigonus cryoleucas)* Are Increased by dietary vitaminc levels in Excess of Requirement for prevention of Deficiency signs. American society for nutritional sciences, 2981-2286.

32- Copeman, L.A., Parrich, C.C. Brown, J.A., Harel, M., 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail floundel *(limanda ferrvginea)*: alive food enrichment experiment. Aquavulture 210, 285-304.

33- Coutteau, P. sorgeloos, P., 1997. Manipolation of dietary lipius. Fatty acid and vitamin in zooplankton cultures. Freshwater Biology, 38, 501-512.

34- Czesny, S., Kolkovski, S., Dabrowski, K., Culver, D., 1999. Growth, survival and quality of juvenile walleye *(stizostedion vitreuml)* as influenced by n-3 HUFA enriched Artemia nauplii. Aquaulture 178, 103-115.

35- Dabrowski, K., 1991. Administration of gulonolactone dos not evoke ascorbic acid syntesis in teleost fish, fish physiol. Biochem., 9. 215.

36- Dabrowski, K., 1994. Primitives Actinopterigian fishes can synthesize ascorbic acid,
experiential, 50, 745.
37- Dabrowski, K., Blom, J.U., 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout *(oncorbynchus mikiss)* egg and survival of embryos. Biochem. Physiol, 108A. 129-135.
38- Dabrowski, K., Moreau, R., EL-Saidy, D., Ebelin, J., 1996. ontogenetic sensitivity of
channel cat fish ascorbic acid deficiency. J. Afuat. Anim. Heatth, 8, 22-27.
39- Dabrowski, K., 2000. Ascorbic Acid in Aquatic organism, status and perspectives, CRC press, 188.
40- Dhert, P., Sorgeloos, P., Devresse, B., 1993. contribution towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and Artemia SP. In: Reinertsen,
H., Dahle, L.A, Jorgensen, L., Tvinnereim, K. (Eds)., Fish farming technology. Balkema, Rotterdam, Netherlands, pp. 109-115.
41- Dhont, J. and lavens, P., 1996. Tank production and use of ongrown Artemia in manual
on the production use of live food for Aquaculture, lavens, P. and sorgeloos, P. Eds, FAO Fisheries Technical paper No. 361, Rome, Italy, 161.
42- Dykhuizen, D.E., Harrison, K. M., and Richardson, B.J., 1980. Evolutionary implication of ascorbic acid production in the Australian lungfish, Experian, 36, 945.

43- Fermin A.C., Bolivar M.E., 1991. Larval reaving of the Philippine freshwater catfish

clarias macroce phallus fed zooplankton and Artificial diet: A preliminary study.

The Israeli J. of Aquaculture. Bamidgeh 43 (3), 87, 94.

44- Frolov, A.V., Pankov, So.L., Geradze, S.A., Pankova, S.A. and Spektorova, L.V., 1991. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*, Aquawlture, 97, 181.

45- Fry, F.E.J., 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. ed. Fish physiology. Academic press, san Diego. Vol VI,

pp 1-98.

46- Fukusho, K., Arakawa, T. and watanabe, T., 1980. food value of a copepod, Tigriopus

japonicus, cultured with W-Yeast for larvae and juveniles of mud dab *limand yokohamae*, Bull. Jap. Soc. Scient. Fish, 46, 625.

47- Gapasin, R.S.J., Bambeo, R., Lavens, P., sorgeloos, P., 1998. Enrichment of live food

with essential fatty acids and vitamin C on milkfish *(chanos chanos)* larval performance. Aquaculture 162, 269-286.

48- Gelabert Hernandez, R., 2001. Artemia bioencapsolation I. effect of particles sized on

the filtering behavior of Artemia franciscana. J. crustacean Biol., 21, 435-442.

49- Girri, S.S., Sahoo, S.K., Sahu, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.N., Mohanty, P.K. and Ayyappan, S., 2002. larval survival and growth in *wallago attu* (Bloch and Schneider): effect of light, photoperiod and feeding regime. Aquaculture, 213, 157-161.

50- Halver, J. E., Hardy, R.W., 2002, Fish Nutrition. Academic press, New York, 182-246.

51- Kamali, A., Shabanpur, B., 2004. Effects of Daphnia magna and artemia naupli on growth performance in Persian sturgeon *Acipenser persicus* larvae, Iranian journal of Fisheries science, 4 (1), 103-115.

52- Kamler, E., 1995. Early life history of fish. An energetic approach. Chapman and Hall, England.

53- Kanazawa, A., Teshima, S.I., Ono, K., 1979. Relationship between fatty acid requirement of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid highly unsaturated fatty acids. Comp. Biochem. Phyoiol. 638, 295-298.

54- Kiabi, B.H., Abdoli, A.,Naderi, M., 1999. status of fish fauna in south Caspian Basin of Iran. Zoology in the middleeast, 18, 57-65.

55- Kim, J., Massee, K.C., Hardy, R.W., 1996. Adult Artemia as food for first feeding coho salmon *(oncorhynchus kisutch)*. Aquaculture 144, 277-226.

56- Klein- mcphee, G., Howell, W. Beck, A.D., 1980. Nutritional value of five geographical strains of Artemia to winter flounder *pseudopleuronectes americanus*

larvae. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds)., The brine shrimp Artemia, Ecology, culturing, use in Aquaculture, Vol. 3. universa press, wetteren, pp. 306-312.

57- Klein- Mcphee, G., Howell, W., Beck, A.D., 1982. comparision of a reference strain and four geographical strains of Artemia as food for winter flounder *(pseudopleuronectes americanus)* larvae. Aquaculture 29. 279-2888.

58- Kolkovski, S., Czesny, S., Yackey, C., Moreau, R., CiHla, F., Mahan, D., 2000. The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids- enriched Artemia

Nauplii on growth, survival and stress resistance of freshwater walleye *stizostedion*

vitreum larvae. Aquaculture Nutrition, 6, 199-206.

59- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben- Atia, I. Harel, M., Behrens, P., Weiss, R., tandler, A. 2000. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth and survival prior to and following handling stress in the larvae of gilthend seabream

(sparos aurata). Abstracts of contributions presented at the international conference Aqua 20002, European Aquaculture society, special publication No. 28,

ostende, Belgium, p. 346.

60- Kraul, S., 1993. Larviculture of mahimahi *coryphaena nipparus* in Hawaii, USA. J. world Aquacult. Soc. 24 (3), 410-421.

61- Lavens, P. leger, ph. Sorgeloos, P., 1989. Manipulation of the fatty acid profile in Artemia offspring produced in intensive culture system. In: De Pauw, N., Jasper,

E., Ackefors, H., Wilkins, N. (Eds)., Aquaculture: A Biotechnology in progress. European Aquaculture society. Bredene. Belgium, pp, 131-739.

62- Lavens, P., Coutteau, P., Sorgeloos, P. 1995. Laboratory and field variation in HUFA enrichment of Artemia nauplii: In: lavens, P., Jaspers, E., Roelants, I. (Eds.1, larvi'95, European Aquaculture society, special publication No. 24, Gent, Belgium, pp. 137-140).

63- Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. (Eds) Food and Agriculture Organization of the United Nations. PP: 118-140.

64- Leger, P., Sorgeloos, P., Millamena, O.M., Simpson, K.L., 1985. International study on Artemia: XXV. Factors determining the nutritional effectiveness of Artemia: the relative impact of chlorinated bydrocarbons and essential fatty acids in san Francisco Bay and san bablo Bay Artema. J. EXP. Mar. Ecol. 93, 71-82.

65- Leger. P., 1986. The use and nutritional value of Artemia as food source. Occagr. Mar. Biol. Ann. Rev, 24 pp. 521-623.

66- Lger, P., Bengtson, D.A., Sorgeloos, P., Simpson, K.L., Beck, A.D., 1987. the Nutritional Value of Artemia: a review. In: sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Decleir, W. Jaspers, E. (Eds)., Artemia research and its application. Ecology, culturing,

use

in Aquaculture, Vol 3. universa press, wetteren, pp. 357-372.

67- Leger, P., Bengtson, D. A., Simpson, K.L., Sorgeloos, D., 1989. The use and nutritional value of Artemia as a food source. oceanogr. Mar. Biol. 24, 521-623.

68- Liebaritz. H.E., Bengston, D.A., Maugle, P.D., and simpson, K.L., 1987. Effect of Artemia lipid fraction ongrowth and survival of larval inland silversides. In: sorgeloos, P., Bengston, D.A., Delleir, W., Jasper, E. (Eds)., Artemia research and

its application Ecology, culturing, use in aquaculture, Vol, 3. universa press, wetteren, pp, 469-479.

69- Lim, L. C., Dhert, P., Chew, w.K., Dermaux, V., Nelis, H., and sorgeloos, P., 2002. Enhancement of stress resistance of guppy *poecilia reticulate* through feeding with

vitamin C supplement. J. of the word Aquaclture society. 33, 32-40.

70- Lisac, D., Franicevic, V., Vejmelka, Z., Buble, J., leger, P., Sorgeloos, P., 1986. Intermational study on Artemia: XL III. The effect of live food fatty acid content

on growth and survival of sea bream *(Sparus aurata)* larvae. PP. 1-10 paper presented at the conference Ich Thyopathology in Aquaculture, 21-24 october 1986, Dobrovnik, Yogoslavic.

71- Makridis, P., Vadstein, O., 1999. Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three

developmental stages. J. Plankton Res. 21, 2191-2201.

72- Matusiewicz, M., Dabrowski, K., Volker, L., Matusiewicz, K., 1994. Regulation of saturation and depletion of ascorbic acid rainbow trout. J. Nutr. Biochem. 5, 204-212.

73- Mdeland, A., Waagb, ϕ. R., 1998. Examination of the qualitative ability of some cold water marine teleosts to synthesise ascorbic acid, comp. Biochem. Physiol. 121 A. 249.

74- Merchie, G, Lavens, P., Dhert, Ph., Pector, R., Mai soni, A.F., Abbes, M., Nelis, H., Ollevier, F., De leenheer, A., sorgeloos, P., 1995. live food mediated vitamin C transfer to *Dicentrarchus labrax* and *clarias gariepinus*. J. Appl. Ichthyol. 11. 336-341.

75- Merchie, G., Lavens, P., Dhert, Ph., Dehasque, M., Nelis, H., De leenheer, A., and sorgeloos, P., 1995. Variation of ascorbic acid content in different live food organism, Aquaculture, 134, 325.

76- Merchie. G., Lavens, P., Radull, J., Nelis, H., Leenheer, A.D., sorgeloos, P., 1995. Evaluation of vitamin C- enriched Artemia Nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. Aquaculture international 3, 335-363.

77- Merchie, G., Lavens, P., Storch, V., ubel, U., De Nelis, H., Leenheer. A., Sorgeloos. P., 1996. Influence of dietary vitamin C dosage on turbot *(Scophthalmus maximus)* and European sea bass *(Dicentrarchus labrax)* nursery stages. Comp Biochem. Physiol., 11, 336-341.

78- Merchie, G. Lavens, P. Sorgeloos, P., 1997. optimization of dietary vitamin C in fish
and crustacean larvae a review. Aquaculture 155, 165-181.
79- Merchie, G. Lavens, P., verreh, J., ollevier, F., Nelis, H., Leenheer, A.D., Storch, V.,
sorgeloos, P., 1997. the effect of supplement ascorbic acid in enriched live food for
clarias gariepinus larvae at start feeding. Aquaculture 151, 243-258.
80- Moreau, R., Kaushik, S. J., and Dobrowski, K., 1996. Ascorbic acid status as affected
by dietary treatment in Siberian sturgeon *(Acipenser baeri Brandt)*: tissue concentration, mobilization and L- gulonolacton oxidase activity, fish. Physiol. Biochem., 15, 431.
81- Moreau, R., Dabrowski, K., 1998. Body Pool and synthesis of ascorbic acid in adult sea lamprey *(petromyzon marinus)*: An agnathan fish with gulonolactone oxidase
activity, proc. Natl. Acad. Sci. USA., 95, 10279.
82- Moreua, R., Dabrowski, K., 2000. Biosynthesis of as corbic acid by extant Actinopterygians. J. Fish. Biol, 57, 733.
83- Mourente, G., Rodriguez, A., Sargent, J.R. 1993. Effects of dietary docosahexaenoic
acid (DHA: 22: 6n-3) on lipid and fatty acid composition and growth in gilthead

sea bream *(sparus aurata l.)* larvae during frist feeding. Aquaculture 112, 79-98.

84- Nelson, J.S., 1944. fish of the world. John wiley and sons, New York, 600p.

85- Nezami, B.Sh., Savari, A., Sakari, M., Alizadeh, M. 2000. National Report of Biodiversity in Caspian coastal zone. Research Department, Gilan Provicid office,

Department of the Enviroment conservation, Iran (TACIS (Technical) Assistance

to the commonwealth of Independent states, European union), caspia Enviromental (poogramme). Vit 97 pp.

86- Nicolsky, G.V., 1976. The ecology of fishes. 6th edition. Academic press. London and

New York.

87- Noori, F. Azari Takami, G., and sorgeloos, P., 2005. Enrichment of Artemia with essential fatty acids, lipid emulsions and vitamin C and its effect on the performace of Acipenser persicus larvae under the effect of salinity stress, 5th international symposium on storgeun, Ramsar, Iran, 9-13.

88- Noshirvani, M., Takami, A.Gh., Rassouli, A., and Bokaee, S., 2006. the stability of ascorbic acid in *Artemia urmiana* following enrichment and subsequent starvation. J. appl. Ichthyol., 22, 85-88.

89- Paul, A., Megilitsch, R. 1991. Invertebrate Zoology Third Edition. New Yourk Oxford

University Press.

90- Ralond, R. and walczak, P. 1970. summary of fisheries of Iran Report of the fisheries
Research Institute. Bandar Anzali. MS, 9pp.
91- Reitan, K. T., Rainuzzo, J.R., olsen, Y., 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. Aquacult. Int. 2, 33-48.
92- Sandnes, K., Lie, ϕ., Haaland, H., and olsen, Y., 1994. vitamin content of rotifer Brachiouns plicatilis. Fish. Dir. Sky. Erndering, 6. 117.
93- Sargent, J.R., Bell, M.V., Tocher, D.R., 1993. Docosaheyaenoic acid and the development of brown and retina in marine fish. In: Drevon, C.A., Baksaas, I., Krokan, H.E. (Eds)., omega- 3 fatty acid: metabolism and biological Effects. Birkhaeuser Verlag, Basel, Switerland, pp. 139-149.
94- Sargent, J.R., 1995. origins and functions of egg lipids nutritional implications. In: Bromage, N.R., Roberts, J.R. (Eds)., Broodstock mangament and egg and larval quality. Oxford unniv. Press, uk, pp. 353-372.
95- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., Estevez, A., 1999. Recent development
in the essential fatty acid nutrition of fish. Aquaculture 177, 191-199.
96- Sargent, J., McEvoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D., 1999. lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions, Aquaculture 179, 217-229.
97- Sato, P., Nishikimi, M., and udenfriend, S., 1976. Is L-golonolacton oxidase the only
enzyme missing in animal subject to scurvy., Biochem. Biophys. Res. Com., 71, 293.

98- Sorgeloos, P., 1980. The use of brie shrimp Artemia in aquaculture. in: persoone, G.,
sorgeloos, P., Roeds, O., Jasper, E. (Eds)., The brine shrimp Artemia. Ecology, culturing, use in Aquaculture, Vol. 3. Universa Press, Wetteren, pp. 25-46.

99- Sorgeloos, P., Dhert, P., can dreva, P., 2001. Use of the brine shrimp Artemia, Artemia
SPP., in marine fish larviculture. Aquaculture 200, 147-159.

100- Stickney, R.R., 1991. culture of salmonids fishes. CRC press, Inc 18, 44pp.

101- Stubbs, D.W., Haufrect, D.B., 1968. Effect of actinmycin D and Promycin on induction of gulonactone hydrolase by somatot rophin hormone, Arch. Biochem.
Biophys., 124, 365.

102- Takeuchi, T., Watanabe, T., 1982. Effect of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acid compositions of Rainbow trout, coho salmon and chom salmon. Bulletin of the japans society of scientific fisheries, vol 48, pp: 145-1752.

103- Touhata. K., Toyohara, H., Mitani, T., Kinoshita, M. satou, M. and skaguchi, M., 1995. Distribution of L- gulono- 1, 4 Lacton oxidase among fishes, fish. Sci, 61, 729.

104- Triantaphylids, G.V., Coutteau, P., Miasa, E. Sorgeloos, P. 1995. Artemia from Madagascar reveal avexptionally high n-3 highly unsaturated fatty acid content. In:
lavens, P., Jasper, E. Roelants, I. (Eds). Larvi 95 Fish a Shellfish Symposium. European Aquaculture society, special publication, 24pp. 154-158.

105- Tuncer, H., Harrel, R.M., chai, T.J., 1993. Beneficial effect of n-3 HUFA enriched Artemia as food for larval palmetto bass *(Morone saxatilis M. chryops)*. Aquaculture, 110, 341-359.

106- Turchini, G.M., Mentasti, T., Frϕyland, L., orban, E., caprino, F., Morett, V.M., Valfer, F., 2003. Effects of alternative dietary lipid source on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout *(salmo trutta L)*. aquaculture 222, 251-267.

107- Vanstappen, G., 1996. Artemia. in : manual on the production and use of live food for aquaculture, Eds, P. and sorgeloos, P., FAO publications, pp: 101-318.

108- Walczak, P. 1972. A brief review of salmonidae in Iran fisheries Research Institute, Bandar Anzali, Iran. MS, 7 pp.

109- Wantanabe, T., 1993. Importance of docosaheraenoic acidin marine carval fish.J. world Aquacult. Soc. 24, 152-161.

110- Watanabe, T., Oowa, F., Kitajima, C., Fujita, S., 1978. Nutritional quality of brine shrimp. Artemia salina, as a living feed from the view point of essential fatty acids for fish. Bell.JPn. Soc. Sci. fish. 44, 1115-1121.

111- Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used

in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture 34, 115-143.

112- Watanabe, T., Kiron, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. Aquaculture 124, 223-251.

113- Wirth, M., Steffens, W., 1997. significance of docosahexaenoic acid for rainbow trout *(oncorhynchus mykiss)* larvae. Fetty lipid 99, Nr 7.S. 251-253.

114- Wolkman, J.K., Jeffery, S.W., Rogers, G.I., Nichols, P.D., 1989. Fatty acids and lipid classes of ten species of microalgae used in aqriculture. J. expmar. Biol. Ecol. 128, 219-240.

115- Wootton, R.J., 1990. Ecology of Teleost fishes. Chapman and Hall, london.

116- Whyte, J.N.C. and Nagata, W.D., 1990. carbohydrate and fatty acid com position of

rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed mono specific diets of yeast or phytoplankton,

Aquaculture, 89, 263.

Summary:

This experiment was conducted to investigate the effect of using n-3 HUFA and Vitamin C enriched *Artemia urmiana* Nauplii Five difference treament were tested: for Caspian salmon *(Salmo trutta caspius)* larvae compare with artificial food in five treatment: (1) Artificial food, (2) Newly hatched Artemia (3) n-3 HUFA enriched Artemia (4) n-3 HUFA + 10% Ascorbyl Palmitate enriched Artemia (5) n-3 HUFA+20% Ascorbyl palmitate enriched Artemia during 15 days then all treatment were fed with artificial food during 20 days.

In days of 15, larvae fed with newly hatched Artemia didn't show significant difference of growth rate and survival compared to larvae fed with n-3 HUFA and Vitamn C enriched live food ($p<0.05$), However all treatment which fed live food have better growth rate and survival compred to larvae fed artificial food.

Larvae fed with enriched Artemia with n-3 HUFA + 20% Ascorbyl palmitate has best result of temperature resistance at 26° and 28°. There is not significant difference between treatment (1) and (2), (3) and in this manner between (2), (3) and (4), (5) ($P>0.05$).

In days of 35, larvae fed n-3 HUFA + 10% and 20% Ascorbyl pamlitate show better wet weight and dry weight compared to other treatmen ($P<0.05$). Larvae fed n-3 HUFA Artemia showed significant difference compared to treatment (1) and (2), However there is not significant difference between treatment (1) and (2). Larvae fed artificial food show less and significant difference of survival compared to other treatment ($P<0.05$).

Larvae fed artificial food show least of temprature resistance at 26° and 28°, However, there is not significant difference between all treatment ($P<0.05$).

Key Words: Caspian Salmon, Artemia, HUFA, Vitamin C, Enrichment.