

بررسی غنی سازی آرتمیای فرانسیسکانا با غلظت های مختلف سدیم فلوراید

پریسا امیری^{۱*}، قباد آذری تاکامی^۲، عباسعلی زمینی^۳، فاطمه شریعتی^۴

۱- ۳- دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲- دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه دامپزشکی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۴۵۳

۴- دانشگاه آزاداسلامی واحد لاهیجان، دانشکده منابع طبیعی، گروه محیط زیست، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴ بهمن ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: ۱۰ آبان ۱۳۹۱

چکیده

در پرورش لارو ماهیان اصلی ترین مسئله، تامین غذای با کیفیت بالا است که به راحتی توسط لارو ماهی پذیرفته و هضم شود. امروزه از غذای زنده و به خصوص نائوپلئوس آرتمیای غنی شده با مواد مختلف در تغذیه آغازین بسیاری از گونه های پرورشی ماهی و میگو، در سطح وسیعی استفاده می شود. فلوراید ماده معدنی بسیار مهمی است که از طریق آب آشامیدنی و غذاهای دریایی نظیر ماهی و میگو به انسان می رسد. در این تحقیق غنی سازی آرتمیای فرانسیسکانا (*A. franciscana*)، با سدیم فلوراید در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت انجام گرفت. سیست آرتمیا پس از پوسته زدایی و ۳۰ ساعت بعد از تخم گشایی و در مرحله Instar II، با سدیم فلوراید در غلظت های ۴۰ و ۸۰ و ۱۶۰ mg/L و شاهد (بدون غنی سازی)، هر کدام با سه تکرار غنی سازی گردید، ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از غنی سازی از تیمارها نمونه برداری به عمل آمد و پس از انجماد و خاکستر نمودن، اندازه گیری میزان سدیم فلوراید جذب شده نمونه ها توسط دستگاه الکتروود یون گزین انتخابی صورت گرفت. بر طبق نتایج آزمون آماری، اثر متقابل زمان با فلوراید در سطح ۱٪ معنی دار بود ($p < 0.01$). تمامی تیمارهای غنی سازی شده، با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی داری داشتند. بیشترین میزان جذب سدیم فلوراید در تیمار ۴۰ میلی گرم در لیتر در زمان ۲ ساعت بود و دوز ۱۶۰ mg/L، با توجه به جذب فلوراید بیشتر نسبت به دوز ۴۰ mg/L، باعث مرگ نائوپلئوس آرتمیا گردید. همچنین با گذشت زمان از ۲ ساعت به ۶ ساعت، از میزان فلوراید جذبی کاسته شده و در واقع آرتمیا آن را دفع می کند. بر اساس نتایج حاصله، تیمار ۴۰ mg/L سدیم فلوراید با زمان ۲ ساعت بهترین دوز برای غنی سازی آرتمیا با سدیم فلوراید است.

کلمات کلیدی: نائوپلئوس آرتمیا، سدیم فلوراید، غنی سازی، دستگاه الکتروود یون گزین.

مقدمه

استفاده از غذای زنده در تغذیه آغازین بسیاری از گونه‌های پرورشی ماهی و میگو جهت بهبود وضعیت تغذیه‌ای، ضریب رشد و کاهش تلفات لاروها از پیشرفت‌های شایان توجه در امر آبرزی پروری به شمار می‌رود (سیف آبادی و همکاران، ۱۳۸۱). استفاده از غذای زنده در پرورش آبزیان از چند جنبه مورد توجه می‌باشد. نخست آن که در مرحله لاروی برخی از گونه‌های آبرزی امکان استفاده از غذای مصنوعی به دلیل عدم تناسب اندازه دهان لارو و ذرات غذایی وجود ندارد. دوم آن که استفاده از غذای کنسانتره حداقل در این مرحله از زندگی کفاف نیازهای غذایی لاروها را ندارد و باعث کاهش رشد، سوءتغذیه و بروز مشکلات ناشی از کاهش قدرت دفاعی بدن در مقابل عوامل محیطی و بیماری‌زا می‌گردد. در حالی که استفاده از غذاهای زنده در پرورش لارو آبزیان مختلف نه تنها نیازهای غذایی جانور را تامین می‌کند، بلکه به دلیل همخوانی این نوع غذاها با رژیم غذایی طبیعی ماهی، بیشتر قابل پذیرش و استفاده است. مهمتر از همه این‌ها آن است که می‌توان با تکنیک غنی سازی (Enrichment)، میزان برخی از مواد غذایی ضروری از جمله اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و غیره را در غذای زنده افزایش داده و یا از آن به عنوان حاملی برای انتقال برخی مواد چون داروها، واکسن‌ها، رنگدانه‌ها و هورمون‌ها به لارو شکارچی استفاده کرد (Sorgeloos, et al., 1993).

امروزه در بین غذاهای زنده مورد استفاده در پرورش لارو ماهیان و سخت پوستان از جمله میگوها، ناپلی میگوی آب شور (آرتمیا) در سطح وسیعی به عنوان غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد در واقع ویژگی

بی نظیر این جانور سخت پوست کوچک و ظریف، شکل جنینی و در حال کمون و نهفته آن می‌باشد که سیست (Cyst) نامیده شده و برای انتشار آن در سطح وسیعی مناسب به نظر می‌رسد و منبع غذایی لاروی بسیار خوبی است که خیلی مطمئن و قابل اعتماد می‌باشد. مهمترین عامل استفاده از آرتمیا به عنوان غذای زنده، ارزش غذایی آن به خصوص در مرحله ناپلئوس است که دارای حداکثر ۶۶ درصد پروتئین و ۱۴ درصد چربی بوده و همچنین کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب را در حد مطلوب دارا می‌باشد (Ahmadi, et al., 1990). آرتمیا از بدو تولد تا مرگ حدود ۴ ماه، فعالیت تنفسی و تغذیه‌ای به صورت پالایش‌گری غیر انتخابی دارد. در مرحله instar II آرتمیا شروع به تغذیه خارجی از ذرات ۴۰-۱ میکرون می‌کند، که این نوع تغذیه در آرتمیا به نام پالایش‌گری غیر انتخابی non_selective filter_feeding معروف است و در همین مرحله غنی سازی انجام می‌گیرد (آذری تاکامی، ۱۳۸۴).

فلوراید حدود ۰/۰۳ درصد از پوسته زمین را تشکیل می‌دهد (Towrt, 2000). فلوراید عنصری است که نقش آن در استحکام و مقاومت سخت بدن جانداران از جمله انسان به اثبات رسیده است (Polusem, 1984). به دلیل نقش محافظتی سدیم فلوراید از پوسیدگی دندان‌ها، این ترکیب به مقدار ۰/۷ تا ۱/۲ میلی گرم در لیتر در آب آشامیدنی اضافه می‌شود (Yiamoniannis, 1995).

۱ تا ۲ میلی گرم فلوراید در روز برای جلوگیری از پوسیدگی دندان توصیه می‌شود. مصرف روزانه ۲۰ تا ۸۰ میلی گرم فلوراید در انسان منجر به کلسیم دارشدن ماهیچه‌ها و لیگامنت‌ها می‌شود (Gulik, 1987).

دوز ۴۰ mg/L با سه تکرار، دوز ۸۰ mg/L با سه تکرار، دوز ۱۶۰ mg/L با سه تکرار و تیمار شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شد.

ابتدا نمونه‌های سیست آرتمیای فرانسیسکانا پوسته-زدایی نشده، با ترازو به میزان ۲۵ گرم برای هر مخزن توزین گردید. سپس برای تفکیک آرتمیاهای سالم از خراب، هر کدام از نمونه‌های آرتمیای وزن شده به مدت ۴۰ دقیقه آبگیری شد. پس از آبگیری سیست‌ها، آرتمیاهای خراب یا پوسته‌های آرتمیا را از سطح آب جمع‌آوری کرده و آرتمیاهای سالم باقیمانده را مجدداً وزن کرده، که در نهایت وزن مرطوب هر کدام از نمونه‌های آرتمیا به حدود ۶۵ گرم رسید.

سپس آرتمیاهای را با سود سوزآور و آب ژاول ۶٪ پوسته‌زدایی (کپسول زدایی) کرده و آن‌ها را با محلول تیوسولفات شست و شو داده شد تا بوی وایتکس کاملاً از بین برود. سپس آن‌ها به ۱۲ زوک که با ۱۰ لیتر آب با شوری ۳۳ ppt و pH آب بین ۷/۵ تا ۸ آبگیری شده بودند انتقال داده شدند. دمای سالن ۲۸-۲۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود تا هیچ و تخم‌گشایی سیست‌های آرتمیای فرانسیسکانا آغاز شود. پس از گذشت ۳۰ ساعت که لاروها در مرحله اینستار ۲ (Instar II) دومین مرحله لاروی قرار گرفتند، غنی‌سازی آرتمیاهای با نمک سدیم فلوراید NaF با دوزهای تعیین شده انجام گرفت (Malde, et al., 2000).

سپس جهت یکنواخت شدن محلول در تمام سطوح مخزن، آن‌ها را هم زده و مخلوط گردید تا نمک سدیم فلوراید (NaF) ساخت شرکت Merck آلمان، به صورت یکنواخت و یکسان در دسترس آرتمیاهای قرار گیرد البته عملاً نائوپلئوس‌ها از محلول نمک سدیم فلوراید تغذیه نمی‌کنند چون به صورت

فلوراید یک ماده معدنی بسیار مهم است. این ماده بیشتر از راه آب آشامیدنی و کمتر با غذاهای دریایی مثل ماهی و میگو به بدن انسان می‌رسد و به عنوان یک ماده میکروالمنت برای رشد و ایجاد سلامت و جلوگیری از عفونت‌ها و بیماری‌ها مهم است (Hoffman, 1981).

روش استفاده از اندازه‌گیری ساده پتانسیل الکتروود برای تعیین غلظت یک جزء یونی در محلول را پتانسیومتری مستقیم و تیتراسیون را که در آن، از اندازه‌گیری‌های پتانسیل به منظور تعیین نقطه پایانی استفاده می‌شود تیتراسیون پتانسیومتری نامیده می‌شود (Camargo, 2003).

الکتروود نشان‌دهنده سلول، الکتروودی است که پتانسیل آن به فعالیت و به غلظت یک جزء یونی خاص که غلظت آن باید تعیین شود بستگی دارد.

حال با توجه به نقش آرتمیا به عنوان غذای زنده در تغذیه ماهی و میگو و خصوصیات منحصر به فرد آن در انتقال مواد معدنی، هورمون‌ها، ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه در رشد و بازماندگی لارو ماهیان و اهمیت فلوراید در تغذیه و رشد ماهی در این تحقیق سعی در غنی‌سازی آرتمیا با سدیم فلوراید شده و امکان غنی‌سازی آرتمیا با سدیم فلوراید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در شهریور ۱۳۸۹ در مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت اجرا شد. اندازه‌گیری میزان فلوراید جذب شده نیز در آزمایشگاه شرکت کیمیفام تهران انجام شد.

در این تحقیق، به وسیله دستگاه الکتروود یون انتخابی (ISE) مدل Metrohm 905 titrando ساخت سوئیس از الکتروود مخصوص یون فلوراید برای تشخیص میزان غلظت فلوراید در نمونه‌های خاکستر شده آرتما استفاده گردید.

در تحقیق حاضر ابتدا میزان غلظت فلوراید در آرتما توسط روش اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد چون اعداد به دست آمده از دستگاه، کوچک‌تر از محدوده تشخیص روش بود، اندازه‌گیری نمونه‌ها با استفاده از این روش امکان‌پذیر نبود. بنابراین از روش الکتروود یون انتخابی استفاده گردید و میزان غلظت فلوراید اندازه‌گیری گردید، در واقع الکتروود انتخابی دستگاهی برای اندازه‌گیری فلوراید در محلول‌های آبی است. Malde و همکاران در سال ۲۰۰۰، اندازه‌گیری فلوراید در غذا را به وسیله گداختگی قلیا و الکتروود انتخابی یون مورد تحقیق قرار دادند که ثابت شد، الکتروود انتخابی یون برای اندازه‌گیری غلظت یون فلوراید در محلول‌های آبی یک روش موثر و مناسب است و برای تجزیه و تحلیل فلوراید در نمونه‌های آبی می‌باشد.

برای تجزیه داده‌های حاصل از این آزمایش از طرح آماری تکرار دار اسپلیت پلات در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی استفاده گردید. مقایسه میانگین‌های تیماری و سطوح فاکتورهای مختلف نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۱ درصد انجام پذیرفت. تجزیه‌های فوق با استفاده از نرم‌افزارهای MSTAT_C انجام شد. نمودارهای مربوطه نیز توسط نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ ترسیم گردید.

ذرات میکرونی قابل پالایش نیست بلکه به طریق جلدی یا وارد شدن محلول به داخل دستگاه گوارش (خوردن آب) آن‌ها را جذب می‌کنند (Malde, et al., 2000).

پس از گذشت ۴،۲ و ۶ ساعت، نمونه برداری از تمام تیمارها و تکرارها انجام گرفت و آرتماها به همراه مقداری از آب مخزن در داخل قوطی‌های پلاستیکی ریخته و سریعاً در ۲۰- درجه سانتیگراد منجمد گردید و به آزمایشگاه جهت خاکستر کردن در کوره انتقال داده شد (Malde et al., 2000).

۸ گرم از نائوپلئوس‌ها توزین گردید و به ازای هر ۰/۵ گرم آرتما، ۵mL هیدروکسید سدیم ۸ مولار اضافه شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها روی صفحه داغ (Hot plate)، قرار داده شد تا تبخیر و خشک شوند (Malde, et al., 2000).

پس از خشک شدن، در بوتله‌های آلومینیومی ریخته و در داخل کوره به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Malde, et al., 2000).

پس ۱۹ ساعت نمونه‌ها از کوره خارج شد و درون بوتله‌های آلومینیومی در دسیکاتور سرد شدند. به هر بوتله خاکستر ۱۵ mL آب مقطر اضافه شد و روی صفحه داغ Hot plate قرار گرفت تا خاکسترها حل شد. بعد از ۲ ساعت محلول حاصله را به حجم ۵۰cc رسانده و در لوله‌های پلاستیکی درب‌دار (فالکون) ریخته و به آزمایشگاه کیمیا تست فام جهت اندازه‌گیری میزان فلوراید در بافت آرتمای غنی شده و مقایسه آن با دوزهای تیماری منتقل شدند (Malde, et al., 2000).

نتایج

بر طبق این تحقیق سطح فلوراید دریافتی در ۲ ساعت اولیه با غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر بهترین غلظت برای غنی‌سازی آرتمیا با سدیم فلوراید می‌باشد که در کمترین زمان و غلظت، بیشترین جذب فلوراید را مشاهده می‌کنیم.

همچنین این تحقیق نشان می‌دهد که فلوراید دریافتی به مرور زمان دفع می‌گردد و میزان شدت دفع فلوراید نیز وابستگی مستقیم به زمان در معرض قرار گرفتن فلوراید دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت زمان غنی‌سازی مطلوب با سدیم فلوراید در نائوپلئوس Instar II، ۲ ساعت با غلظت ۴۰ mg/L است که در کمترین زمان و غلظت بیشترین میزان غنی‌سازی صورت می‌گیرد که از نظر زمان و هزینه نیز مقرون و به صرفه است.

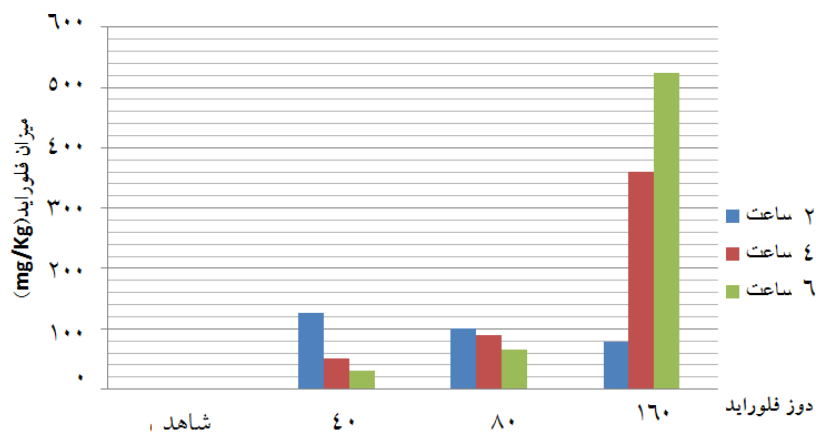
از طرفی به علت مرگ و میر نائوپلئوس Instar II در زمان‌های ۴ و ۶ ساعت غلظت ۱۶۰ mg/L فلوراید، می‌توان آرتمیا را به عنوان یک شاخص زیستی (Bioindicator) برای تعیین میزان سمیت فلوراید آب LC₅₀ معرفی نمود.

مسئله دیگر این که افزایش جذب فلوراید در بدن آرتمیا با افزایش غلظت آن در آب و همین‌طور مدت زمان مواجهه در آب دارای رابطه خطی و مستقیمی نیست، در حالی که میزان دفع فلوراید در بدن آرتمیا با افزایش غلظت و زمان دارای یک رابطه خطی و مستقیم است. طبق نتایج میزان فلوراید مربوط به تیمار ۱۶۰ mg/L در زمان ۶ ساعت (۵۲۴/۴۴±۰/۳۲) میلی‌گرم در کیلوگرم و سپس زمان ۴ ساعت (۳۶۰/۴۹±۰/۲۵) میلی‌گرم در کیلوگرم و ترکیب تیماری ۴۰ mg/L در زمان ۲ ساعت (۱۲۶/۱۵±۰/۷۸) میلی‌گرم در کیلوگرم، به عنوان مناسب‌ترین ترکیب تیماری تعیین گردید. ترکیبات تیماری ۱۶۰ mg/L در زمان ۶ ساعت و ۱۶۰ mg/L در زمان ۴ ساعت باعث مرگ آرتمیا گردید؛ که در نتیجه عملاً قابل توصیه نمی‌باشند و کمترین میزان فلوراید نیز مربوط به تیمار شاهد و در زمان ۶ ساعت (۰/۷۴±۰/۳۷) میلی‌گرم در کیلوگرم است. نامطلوبترین ترکیبات تیماری نیز تیمار شاهد بود (جدول ۱).

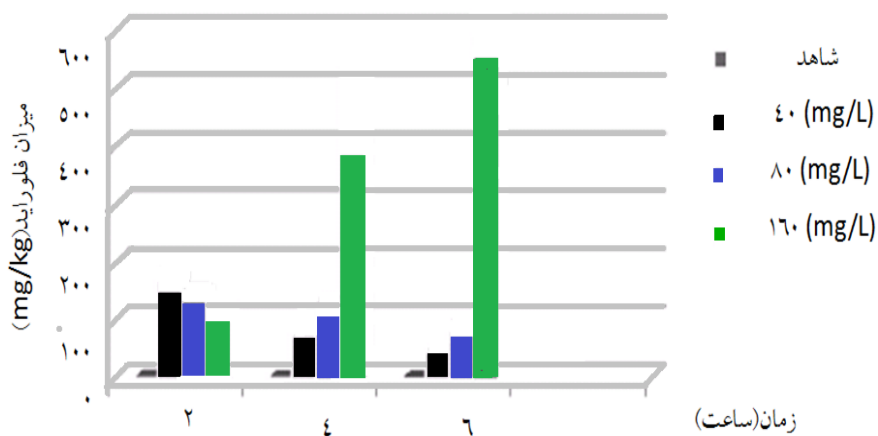
جدول ۱: مقایسه میانگین‌های غلظت فلوراید در ترکیبات تیماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح یک درصد

تیمار (mg/L)	زمان‌های نمونه برداری	غلظت فلوراید (mg/Kg)
شاهد	۲ ساعت	۱/۴۷±۰/۲۶ ^d
	۴ ساعت	۱/۰۳±۰/۰۳ ^d
	۶ ساعت	۰/۷۴±۰/۰۳ ^d
۴۰	۲ ساعت	۱۲۶/۱۵±۰/۷۸ ^c
	۴ ساعت	۵۰/۳۳±۰/۴۱ ^{cd}
	۶ ساعت	۳۱/۱۱±۰/۲۱ ^{cd}
۸۰	۲ ساعت	۱۰۱/۳۶±۰/۳۲ ^{cd}
	۴ ساعت	۸۸/۸۹±۰/۳۷ ^{cd}

تیماار (mg/L)	زمان های نمونه برداری	غلظت فلوراید (mg/Kg)
۱۶۰	۶ ساعت	۶۵/۴۴± ۰/۳۳ ^{cd}
	۲ ساعت	۷۷/۸۸± ۰/۴۳ ^{cd}
	۴ ساعت	۳۶۰/۴۹± ۰/۲۵ ^b
	۶ ساعت	۵۲۴/۴۴± ۰/۳۲ ^a



شکل ۱: مقایسه زمان های مختلف نمونه برداری در هر غلظت از فلوراید



شکل ۲: مقایسه غلظت های مختلف فلوراید در هر یک از زمان های تاثیر

بحث

غذاها دارای فلوراید بیشتری می باشند (Polusem, 1984). مقدار فلوراید دریافتی به ناحیه جغرافیایی و رژیم غذایی بستگی دارد (Towrt, et al., 2000). به

فلوراید عنصری است که به طور طبیعی در آب، خاک و هوا وجود دارد. غذاهای دریایی به نسبت سایر

طوری که بالاترین غلظت فلوراید در بخش ساحلی قطب جنوب یافت می‌شود (Camargo, 2003).

تغذیه ماهی از آرتمیای غنی شده با فلوراید می‌تواند به عنوان یکی از منابع نوین تامین فلوراید برای انسان محسوب گردد. این فلوراید نقش بسزایی در سلامت و استحکام اسکلت انسان و بخصوص دندان‌ها ایفا می‌کند (Hoffman, 1981). بنابراین افزودن سدیم فلوراید برای تامین فلوراید مورد نیاز انسان با استفاده از افزودن آن به جیره غذایی ماهیان از طریق غذای زنده مانند آرتمیا، روشی نوین به نظر می‌رسد. آرتمیا دارای خاصیت Osmoregulation (تنظیم نمک‌های بدن) بسیار بالایی است و همیشه می‌تواند غلظت خون خود را تا حد ۹ppt ثابت نگه دارد ولو این که غلظت نمک محیط تا حدود حتی بالاتر از ۲۰۰ ppt باشد. این دفع و جذب‌ها از سدیم فلوراید نیز به خاطر همین عامل تنظیم نمک‌های بدن می‌باشد.

Moren و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مقاله‌ای با عنوان انباشتگی فلورین در سالمون اطلس، کاد اطلس، قزل‌آلای رنگین کمان و هالیبوت اطلس با جیره‌های غذایی با وعده‌های krill و وعده‌های غذایی ماهی غنی شده با سدیم فلوراید، به این نتیجه رسیدند که با افزایش میزان فلوراید در جیره غذایی، میزان فلوراید دفعی نیز در مدفوع افزایش پیدا می‌کند (Moren, et al., 2007).

بر طبق نتایج این تحقیق با گذشت زمان و افزایش جذب فلوراید توسط نائوپلتوس آرتمیا، موجود شروع به دفع فلوراید می‌کند به طوری که در ۲ ساعت اول نائوپلتوس آرتمیا حداکثر جذب فلوراید مشاهده گردید اما با گذشت زمان، در ۴ ساعت از میزان فلوراید کاسته می‌شود و در ۶ ساعت به پایین‌ترین میزان خود

می‌رسد که این امر نمایان‌گر دفع فلوراید اضافه توسط آرتمیا می‌باشد. در ۲ ساعت اولیه غلظت ۴۰mg/L به علت غلظت پایین‌تر فلوراید، میزان دریافتی فلوراید آرتمیا بیشتر از نیاز و گنجایش (ظرفیت) خود می‌باشد و آرتمیا قدرت پالایش (فیلتراسیون) بیشتری دارد و توانایی آرتمیا در دریافت فلوراید حل شده در آب، در این غلظت بیشتر است. ولی بعد از گذشت چند ساعت آرتمیا نیز شروع به دفع مازاد فلوراید دریافتی خود می‌نماید و چون در ۲ ساعت اولیه میزان بیشتری دریافت کرده روند دفع فلوراید نیز شدیدتر بوده و کاهش بیشتری مشاهده می‌کنیم.

خلاف این روند را در غلظت ۱۶۰mg/L به وضوح مشاهده گردید. به طوری که در این غلظت دقیقاً عکس روند کاهش یا دفع فلوراید نسبت به زمان، مشاهده شد. به دلیل این که در این غلظت به خاطر میزان بالای فلوراید در آب در ۲ ساعت اولیه، ضعف در جذب فلوراید توسط آرتمیا مشهود است و پس از گذشت زمان به ۴ و ۶ ساعت آرتمیاها توان تحمل غلظت بالا و سمی فلوراید را از دست داده و در نتیجه پالایشگری غیر انتخابی آرتمیا از بین رفته و نتیجه مرگ آن‌ها، ورود نامحدود فلوراید به درون بدن آرتمیا است که همین سبب بالاتر بودن سطوح فلوراید غلظت ۱۶۰mg/L در زمان‌های ۴ و ۶ ساعت نسبت به زمان‌های مشابه در تیمارهای ۴۰ و ۸۰mg/L می‌باشد.

اتحادیه اروپا (EU, 2005) سطح ماکزیمم برای فلوراید در غذاها و مواد تشکیل‌دهنده غذا را ۱۵۰mg/L تعیین کرد. بنابراین غلظت نهایی رژیم غذایی می‌بایست زیر ۱۵۰mg/L باشد (EC/2005/87, دستوریه اتحادیه اروپا). سمیت فلورین با افزایش سختی (CaCO₃ (mg/L)، افزایش غلظت کلر و کاهش دما، کاهش

خزر (*Rutilus frisii Kutum*). علوم دریایی ایران، شماره

چهارم ۸۳-۷۷.

3. Ahmadi, M. R., Leibovitz, H., Simpson, K.L., 1990. Characterization of Uromiah Lake *Artemia (Artemia urmiana)* by isoelectrofocusing of Oisozyme patterns. *Comp Biochem. Physiol*, 95 B: 115-118.
4. Camargo, J. A., 2003. Fluoride toxicity to aquatic organisms: a review. *Chemosphere* 50, 251-264.
5. EU, 2005. Commission directive 2005/87/EC of 5 December 2005 amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and the Council of 7 March 2002 on undesirable substances in animal feed as regards to lead, fluorine and cadmium. *Grave, H.*, 1981. Fluoride content of salmonids fed on Antarctic krill. *Aquaculture* 24, 191-196.
6. Gulik, B., 1987. Fluoride turnover in adelic penguins (*pygoscelis adeliae*) and other bird species. *po:ar BioL.*, 7: 179.
7. Hoffman, A., 1981. Textbook of the history of dentistry. ch 12.
8. Malde, M. K., Bjorvan, K., Julshamn, K., 2000. Determination of fluoride in food by use of alkali fusion and fluoride ion selective electrode ELSEVIR, food chemistry 73_2001 P: 373-379.
9. Moren, M., Malde, M.K., Olsen, R.E., Hemer, G.I., Dahli, L., Karlsen, Q., Julshamn, K., 2007. Fluoride accumulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*), rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and Atlantichalibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets with krill or amphipod meals and fish meal based diets with sodium fluoride (NaF) inclusion. *Aquaculture* 269 (2007) 525-531.
10. Polusem, J., 1984. The early history of fluorides as anticaries agent. *Br Dent J*, 157(11):112-5.
11. Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, Ph., Tackaert, W., 1993. The use of *Artemia* in marine fish larve culture TML Conference Proceeding, 3:73-86.
12. Towrt, A.L., 2000. *Water supply*, 5th ed. Arnold Publishing Co. London.
13. Yiamanyiannis, S. A., 1995. Water fluoridation and decay: Result from 1986-1987, national survey of us school children *Fluorida*, 23:55-60.

می‌باید (Camargo, 2003). چون غلظت ۱۶۰ میلی گرم در لیتر در این تحقیق نیز بیش از حد مجاز و آستانه تحمل موجود می‌باشد، این غلظت را می‌توان غلظت سمی برای آرتمیا در نظر گرفت که ابتدا سبب ضعف در قدرت جذب فلوراید در ۲ ساعت اولیه می‌گردد، در واقع آرتمیا در غلظت بالای فلوراید شروع به مقاومت در مقابل ورود بیش از حد فلوراید به بدنش می‌کند اما با افزایش زمان به ۴ و ۶ ساعت، مرگ آرتمیا رخ می‌دهد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری صمیمانه مدیریت مرکز تکثیر و پرورش و بازسازی ذخایر ماهیان خاویاری شهید دکتر بهشتی رشت، جناب آقای دکتر عباسعلی زاده و پرسنل موسسه خصوصاً آقایان افکاری و صفرپور تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. از شرکت کیمیا فام تهران و پرسنل محترم آن و بخصوص جناب آقای دکتر نظری-نیا، به پاس همکاری بی‌شائبه در انجام کارهای آزمایشگاهی این پژوهش، نهایت تشکر و سپاس را دارم.

منابع

۱. آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات تغذیه‌ای ناپلئوس‌های *Artemia urmiana* غنی شده با ویتامین C روی رشد، درصد بقاء و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در لاروهای قزل‌آلای رنگین کمان، پژوهش و سازندگی، شماره ۶۶، صفحه ۳۳-۲۵.
۲. سیف‌آبادی، س. ج.، اورجی، ح.، و نظری، م.، ۱۳۸۱. تاثیر ال- کارنیتین روی مراحل اولیه رشد ماهی سفید دریای