

اثر غنی سازی آرتمیای فرانسیسکانا با اسیدهای چرب بلند زنجیره و ویتامین E بر میزان رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس های دما و شوری در لارو ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*)

محمدرضا زاهدی^۱، امیر هوشنگ بحری*^۱، مازیار یحوی^۱، فلورا محمدی زاده^۲، مهران یاسمی^۴

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۷۹۱۵۸۹۳۱۴۴

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREO)،

بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۷۹۱۴۵۱۵۹۷

۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران، صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۴- موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، صندوق پستی: ۱۳۱۴۵۱۷۸۳

تاریخ پذیرش: ۵ مهر ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۲۹ اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) غنی شده با روغن کبد ماهی کاد و ویتامین E بر روی میزان رشد، بازماندگی و مقاومت لاروهای ماهی مرکب ببری در برابر تنش دمایی و شوری در ایستگاه نرمتان خلیج فارس بندرلنگه در آذر ماه ۱۳۹۳ انجام گردید. لاروهای ماهی مرکب ببری ۲۵ روز پس از تخم‌گشایی با میانگین طول $0.15 \pm 0.15/97$ میلی متر و میانگین وزن $0.03 \pm 0.03/53$ گرم در ۵ تیمار، همراه با سه تکرار با تراکم 20 لارو به مخازن پرورش 20 لیتری با میانگین دمای آب 26.95 ± 0.19 C°، شوری 37.56 ± 0.18 ppt و pH 7.65 ± 0.02 منتقل شدند. تیمارهای آزمایشی شامل آرتمیا غنی شده با روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین E (به ترتیب گروه‌های E1، E2، E3)، روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین (گروه HUFA) و آرتمیا غنی نشده (گروه شاهد) بود. تعداد ۱۰ عدد آرتمیای بالغ در لیتر در روز جهت غذاهای لاروها استفاده شد. در پایان دوره آزمایش به منظور ارزیابی مقاومت در برابر استرس، سه گروه از لاروها در برابر تنش‌های شوری ۵ ppt، ۱۵ و ۲۵ و تنش دمایی ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت یک ساعت قرار داده شدند و میزان مرگ و میر ناشی از استرس ثبت شدند. بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی در پایان دوره آزمایش نشان داد تغذیه لارو ماهی مرکب با آرتمیای غنی شده با ویتامین E باعث افزایش رشد و بازماندگی گردید ولی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$) در صورتی که تیمار تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد (گروه HUFA) در همه فاکتورهای رشد و همچنین درصد بازماندگی بیشترین میزان را نشان داد و با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌دار به لحاظ آماری داشت ($P < 0.05$). نتایج میزان بازماندگی پس از اعمال تنش‌های شوری و دمایی نیز نشان داد که اگرچه بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$) ولی تیمار تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین E بقاء بالاتری را نشان دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دهنده آن است که غنی سازی آرتمیا با روغن کبد کاد به عنوان منبع اسیدهای چرب غیراشباع می‌تواند موجب افزایش رشد و بازماندگی لارو ماهی مرکب ببری شود که از نظر اقتصادی، گونه حائز اهمیتی می‌باشد، ولی ویتامین E تأثیر معنی‌داری روی رشد و بازماندگی و مقاومت در برابر استرس ندارد.

کلمات کلیدی: ماهی مرکب ببری، اسیدهای چرب، ویتامین E، آرتمیا فرانسیسکانا.

مقدمه

ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) از سرپایان دارای ارزش اقتصادی بالا در آب‌های جنوب کشور است که از دریای عمان تا خلیج فارس گسترش دارد. این موجودات در زنجیره‌های غذایی دریاها نقش بسیار مهمی را ایفا می‌نمایند و لارو آنها منبع عظیم غذایی برای بسیاری از بی‌مهرگان و مهره‌داران است (O'Oor *et al.*, 1982; Paine, 1996). در برخی نواحی مانند جنوب و جنوب شرقی آسیا بخش قابل توجهی از صید تجاری سفالوپودها را به خود اختصاص می‌دهد. گوشت آن از درصد پروتئین بالا ۱۸/۵ درصد برخوردار است که در کشورهایمانند ژاپن، چین، مالزی، تایلند، اسپانیا، ایتالیا، آمریکای شمالی و ... منبع غذایی مهمی را تشکیل می‌دهد (Jereb and Roper, 2005). از صدف داخلی آن در پزشکی، داروسازی، برای صیقل کاری در خمیردندان و به عنوان کود در کشاورزی استفاده می‌شود (خدادادی، ۱۳۸۹). ماهی مرکب (cuttle fish) از آبزیان با ارزش خلیج فارس است. گونه موجود در خلیج فارس از بهترین گونه‌های شناخته شده جهان می‌باشد (ولی‌نسب، ۱۳۷۲). تکثیر و پرورش ماهی مرکب در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. یکی از مشکلات موجود در پرورش آبزیان خصوصاً گونه‌های دریایی پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی است که همراه با تلفات بالا می‌باشد. پرورش موفقیت آمیز ماهیان به قابلیت دسترسی به غذای مناسب جهت تغذیه بستگی دارد تا بتواند سلامت و رشد را بخصوص در مراحل نوزادی تضمین نماید (Girri *et al.*, 2002). آرتمیا به دلیل اندازه کوچک در زمان تفریح ناپلی، تغذیه غیرانتخابی و کیفیت بالای غذایی می‌تواند به عنوان غذای آغازین بسیاری از

گونه‌های ماهیان بخصوص در مراحل اولیه زندگی باشد (Sorgeloos *et al.*, 2001).

با وجود کیفیت غذایی بالای آرتمیا، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در آن‌ها پایین است. به دلیل تغذیه غیرانتخابی در آرتمیا، توانایی انتقال مواد مختلف در مقادیر گوناگون به آبزیان وجود دارد. بنابراین با غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و خوراندن آن‌ها به لاروها و بچه ماهیان، مکانیسم غیراختصاصی مقاومت عمومی در ماهیان توسعه و مقاومت آن‌ها در برابر بیماری‌ها، غیر طبیعی شدن بدن و تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر غنی‌سازی با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره باعث افزایش رشد و بازماندگی در برخی از گونه‌های آبزیان می‌شود (Sorgeloos *et al.*, 2001; Gapasin *et al.*, 1998; Lim *et al.*, 2002). هرچه میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در جیره غذایی بیشتر باشد، به همان نسبت نیاز به آنتی‌اکسیدان‌ها به ویژه ویتامین E نیز بیشتر خواهد بود. چون این ویتامین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موجب جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌شود. ویتامین E به عنوان یک ماده ضروری برای لارو ماهیان مطرح است و به صورت آنتی‌اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و آرتمیا را می‌توان توسط آن غنی نمود (Sargent *et al.*, 1997). همچنین ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان نقش مهمی در بالا بردن مقاومت بدن در برابر عفونت و نیز در افزایش مقاومت ماهی در برابر شرایط استرس‌زا ایفا می‌نماید. فاکتورهایی مانند میزان کورتیزول و گلوکز خون به عنوان شاخص‌هایی برای تشخیص استرس در ماهی مطرح می‌باشند و افزایش هر کدام از فاکتورهای فوق شرایط بد محیطی

آرتمیای قبل از تخم گشایی به روش Treece (۲۰۰۰) انجام گرفت. پس از هچ شدن و گذراندن مراحل ناپلیوس، ناپلی اینستار ۲ با تراکم ۷-۸ ناپلی در میلی لیتر در تانک های ۳۰۰ لیتری فایبرگلاس ذخیره سازی شدند (Maldonado-Montiel and Rodríguez-Canché, 2005). تغذیه ناپلیوس های آرتمیای از روز دوم تا روز چهارم به مدت ۳ روز با استفاده از محلول سبوس برنج (۳ گرم سبوس برنج خرد شده با غربال ۱۰۰ میکرون را در یک لیتر آب دریا حل نموده و در ادامه با همزن برقی آن را مخلوط و به صورت هموژنیزه در آورده و سپس از غربال ۳۰ میکرون فیلتر و جهت تغذیه در یخچال نگهداری شد) انجام گرفت (D'gostino, 1980). در ادامه از روز پنجم تا انتهای روز ۱۵ ام به مدت ۱۱ روز با جلبک تک سلولی *Tetraselmis suecica* کشت داده شد و در محیط کشت TMRL با تراکم ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر تغذیه شدند. نگهداری آرتمیای به مدت ۱۵ روز به طول انجامید و از رژیم نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به میزان ۱۵۰۰ لوکس جهت نوردی استفاده شد (Maldonado-Montiel and Rodríguez-Canché, 2005) اندازه آرتمیای در پایان دوره پرورش به حدود ۱۰ میلی متر و وزن ۸ میلی گرم رسید، به جهت ساینز دهان لاروها از آرتمیای بالغ جهت غنی سازی استفاده گردید. غنی سازی آرتمیای با توجه به تیمارهای متفاوت غنی سازی در ظروف ۲ لیتری صورت گرفت. ماده غنی سازی مطابق روش Leger و همکاران (۱۹۸۷) تهیه گردید و در دو مرحله با فاصله زمانی ۱۲ ساعت به محیط غنی سازی، به ازای هر لیتر آب ۲ سی سی اضافه گردید. به دلیل اینکه عمل غنی سازی در مقدار pH بالا بهتر انجام می شود

و وضعیت استرسی در ماهیان را نشان می دهد. ویتامین E تأثیر تنظیم کنندگی مثبتی بر روی واکنش های مربوط به استرس در ماهی دارد. گزارش های مختلفی در خصوص تأثیر افزودن ویتامین ها به خصوص C و E به جیره غذایی ماهیان پرورشی تاکنون منتشر شده است. از جمله این گزارش ها می توان به مطالعات عدلو و متین فر (۱۳۸۴) در ماهی شانک زرد باله، Mehrad و Sudagar (۲۰۱۰) در ماهی گوپی، Mercy Onivie و همکاران (۲۰۱۰) در ماهی *Heterobranchus* و همکاران (Hernández-Cruz *longifilis*) (۲۰۱۵) در ماهی *Sparus aurata* اشاره نمود.

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر غنی سازی آرتمیای با ویتامین E و اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره بر روی شاخص های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس در لارو ماهی مرکب ببری انجام گردیده است، که می تواند جهت بالا بردن میزان بازماندگی و تسریع رشد بچه ماهیان این گونه در مراکز تکثیر نرمتنان علی الخصوص سرپایان مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

این تحقیق در ایستگاه نرمتنان خلیج فارس بندرلنگه در آذر ماه ۱۳۹۳ انجام گرفت. جیره های غذایی شامل ۵ تیمار و برای هر تیمار ۳ تکرار مشتمل بر آرتمیای فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین E (آلفا-توکوفرول استات، ساخت شرکت Sigma به ترتیب گروه های E1، E2 و E3)، آرتمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین E (گروه HUFA) و آرتمیای غنی نشده (شاهد) در نظر گرفته شد. کپسول زدایی سیستم های

(Leger, 1986)، در طی غنی‌سازی، pH محیط غنی‌سازی مرتباً اندازه‌گیری و با اضافه کردن کربنات سدیم بر روی ۸، ثابت نگه داشته شد. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت، ناپلی‌های غنی شده برداشت و شستشو گردید تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با هوادهی ملایم نگهداری شد. پس از غنی‌سازی و جدا کردن آرمیا از محیط کشت غنی‌سازی، آرمیای غنی‌شده توسط صافی به آرامی شست و شو داده شد تا امولسیون چربی از روی بدن آن‌ها شسته شود (Naessens *et al.*, 1997).

تخم ماهی مرکب بیری از آب‌های ساحلی روستای گشه در شرق بندرلنگه که به گرگور صیادی چسبیده بود، جدا شده، درون سطل حاوی آب دریا به کارگاه ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتان بندرلنگه انتقال داده شد و توسط آب دریای فیلتر شده و تمیز، شستشو داده شدند. تخم‌ها جهت انکوباسیون در سبد، درون تانک یک تنی قرار داده شدند. تانک تفریح حاوی آب دریای فیلتر شده (از فیلتر شنی و فیلتر ۲۰، ۱۰ و ۵ میکرون) و از لامپ ماوراء بنفش (UV) گذشته که دمای آن با میانگین $27/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۷-۳۸ قسمت در هزار با هوادهی ملایم و دائمی بود و روشنایی توسط لامپ مهتابی به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انجام گردید (Nabhitabhata *et al.*, 1999). تخم‌ها حدوداً بین ۱۰ تا ۱۲ روز پس از نگهداری هیچ شدند. تغذیه فعال نوزادان تازه تفریح شده از روز دوم آغاز گردید (Nabhitabhata *et al.*, 2005). تغذیه تا روز ۲۵ ام بوسیله پست لارو میگوی خانواده پنائیده و مایسید تاحد سیری صورت گرفت (Nabhitabhata *et al.*, 1999). پس از روز ۲۵ به ظروف پرورش ۲۰ لیتری انتقال داده

شدند. این ظروف پرورش محتوی ۲۰ لیتر آب دریای تمیز که از فیلترهای شنی، ۲۰، ۱۰ و ۵ میکرون و فیلترکربن فعال عبور داده شده و سپس UV زده شده، می‌باشد. تراکم نوزادان در هر تانک پرورش به صورت ۱ قطعه به ازاء یک لیتر در نظر گرفته شد. دمای آب تانک پرورش همانند دمای آب تفریح تخم‌ها $27/5 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد و شوری آن ۳۷-۳۸ قسمت در هزار بود (ساربان و همکاران، ۱۳۹۳). جهت ایجاد تلاطم در آب و تأمین اکسیژن، از هوادهی ملایم و به صورت دائم بوسیله یک سنگ هوا در انتهای ظرف استفاده شد. لاروهای ماهی مرکب بیری ۲۵ روز پس از تخم‌گشایی با میانگین طول $15/97 \pm 0/15$ میلی‌متر و میانگین وزن $3/53 \pm 0/03$ گرم به صورت تصادفی به مخازن پرورش با میانگین دمای آب $19C \pm 0/19C$ ، شوری $37/56 \pm 0/18$ ppt و pH $7/65 \pm 0/2$ منتقل شدند و تعداد ۱۰ عدد آرمیای بالغ در لیتر در روز جهت تغذیه لاروها به مخازن منتقل گردید (Anil *et al.*, 2005).

زیست‌سنجی لاروهای ماهی مرکب بیری در پایان دوره یعنی روز پانزدهم صورت پذیرفت. براساس داده‌های به‌دست آمده شاخص‌های افزایش وزن، درصد افزایش وزن، افزایش طول، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه مورد بررسی قرار گرفت (Tacon, 1990).

به منظور ارزیابی مقاومت لاروها در برابر استرس، در پایان روز پانزدهم، سه گروه بچه ماهی از هر تکرار جمع‌آوری و در معرض دمای ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۵، ۱۵ و ۲۵ گرم در لیتر به مدت یک ساعت قرار داده شدند و تلفات ماهیان ثبت گردید. جهت بررسی وجود اختلاف معنی‌داری بین

دوره آزمایش نشان داد تغذیه لارو ماهی مرکب با آرتمیای غنی شده با ویتامین E باعث افزایش رشد گردید ولی تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$) در صورتی که تیمار تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد بدون ویتامین E (گروه HUFA) در همه فاکتورهای رشد بیشترین میزان را نشان داد و با دیگر تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی دار به لحاظ آماری داشت ($P < 0.05$) فقط در فاکتور نرخ رشد ویژه با اینکه گروه HUFA بیشترین میزان را نشان داد ولی تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P > 0.05$).

تیمارها، نتیجه تحلیل داده‌ها بر پایه طرح کاملاً تصادفی و آزمون واریانس یک طرفه (One Way Anova) و دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶) و Excel انجام گردید.

نتایج

به منظور بررسی اثر اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین E در رشد لارو ماهی مرکب بیری، شاخص‌های رشد شامل افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن، افزایش طول، فاکتور وضعیت و نرخ رشد ویژه در هر یک از تیمارها مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). بررسی شاخص‌های رشد در پایان

جدول ۱: فاکتورهای رشد مورد بررسی بر روی لارو ماهی مرکب بیری در تیمارهای مختلف در انتهای دوره آزمایش

تیمار	SGR	WG	WG%	LG	CF
E1	۰/۷۷±۰/۰۱ ^a	۰/۲۱±۰/۰۳ ^a	۶/۱۶±۱/۰۳ ^a	۱/۵±۰/۱۳ ^a	۰/۰۸۲±۰/۰۰۱ ^a
E2	۰/۹۸±۰/۰۲ ^a	۰/۲۵±۰/۰۳ ^a	۷/۱۴±۱/۰۹ ^a	۱/۳۵±۰/۱۳ ^a	۰/۰۸۵±۰/۰۰۲ ^a
E3	۰/۶۶±۰/۰۲ ^a	۰/۲۳±۰/۰۲ ^a	۶/۶۷±۰/۶۴ ^a	۱/۰۶±۰/۱۶ ^a	۰/۰۸۹±۰/۰۰۲ ^a
HUFA	۱/۱۴±۰/۰۱ ^a	۰/۴۴±۰/۰۶ ^b	۱۲/۴۹±۰/۷۷ ^b	۲/۷۵±۰/۲۷ ^b	۰/۰۰۷±۰/۰۰۲ ^b
شاهد	۰/۷۶±۰/۰۱ ^a	۰/۱۸±۰/۰۲ ^a	۵/۳۵±۱/۷۳ ^a	۱/۳۲±۰/۱۷ ^b	۰/۰۸۴±۰/۰۰۲ ^a

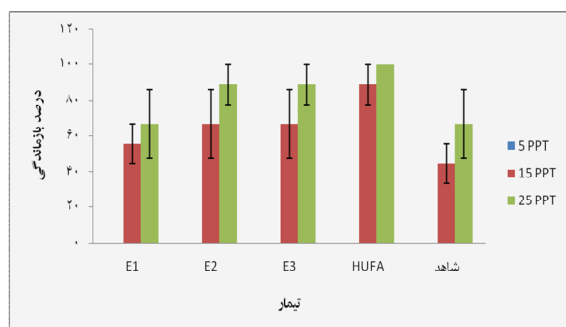
اعداد یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی داری هستند ($P < 0.05$).

E1: آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد حاوی ۵ درصد ویتامین E، E2: آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد حاوی ۱۰ درصد ویتامین E، E3: آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد حاوی ۱۵ درصد ویتامین E، HUFA: آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد بدون ویتامین، شاهد: آرتمیای غنی نشده.

با تیمارهای E1، E2 و E3 به لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشت ($P > 0.05$).

جهت بررسی اثر استفاده از مقادیر مختلف ویتامین E و روغن کبد ماهی کاد در برابر نوسانات محیطی در انتهای دوره آزمایش از شوک‌های دمایی ۱۰، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و تنش شوری ۵، ۱۵ و ۲۵ ppt استفاده شد. بررسی نتایج میزان بازماندگی لاروها در برابر تنش دمایی نشان داد که لاروها در ۱۰ درجه

تغذیه لاروهای ماهی مرکب بیری از آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد، باعث افزایش میزان بازماندگی لاروها گردید (شکل ۱). به طوری که تیمار HUFA با $3/8 \pm 59/44\%$ بیشترین میزان بازماندگی را نشان داد که با دیگر تیمارها به لحاظ آماری اختلاف معنی دار داشت ($P < 0.05$). کمترین میزان بازماندگی هم با $4/1 \pm 33/33\%$ مربوط به تیمار شاهد بود که البته

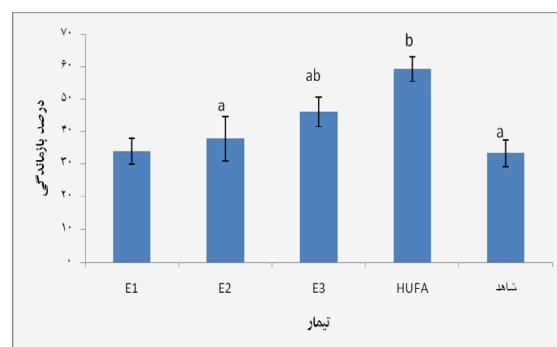


شکل ۳: میزان بازماندگی لاروهای ماهی مرکب ببری در برابر تنش شوری

بحث

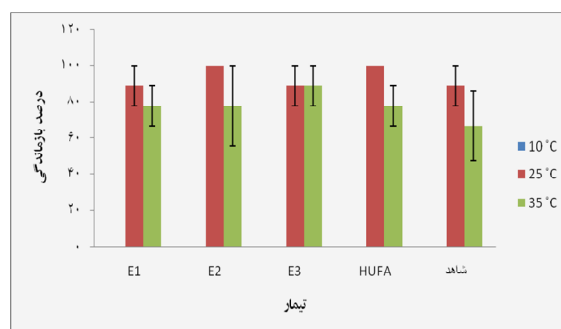
در این تحقیق اثر استفاده از اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (روغن کبد ماهی کاد) و ویتامین E روی شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر دو نوع استرس بر روی لاروهای ماهی مرکب ببری مورد بررسی قرار گرفت. از مقایسه نتایج تیمار HUFA (آرتمیا غنی شده با روغن کبد ماهی کاد) با سایر تیمارها مشخص گردید که شاخص‌های رشد و بازماندگی افزایش یافته است و دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد و تیمارهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با درصدهای مختلف ویتامین E، بوده است که مربوط به تأثیر مثبت اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره روی شاخص‌های فوق بوده. مطابق با نتایج این تحقیق، مطالعه‌ای که بر روی ماهی مرکب گونه *Sepia officinalis* صورت گرفت که ماهیان جوان به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند و از غذاهای غنی‌سازی شده با اسیدهای چرب به آن‌ها داده شد. گروه‌هایی که از غذای غنی‌سازی شده استفاده کردند بقاء بالاتری را از گروه شاهد داشتند. همچنین میزان رشد در گروهی که از اسیدهای چرب غیر اشباع استفاده کردند سریع‌تر بوده و اثر تحریک‌کنندگی اسیدهای چرب غیر اشباع در رشد در طی مراحل اولیه

سانتی‌گراد هیچ مقاومتی را از خود نشان ندادند و همگی تلف شدند ($P < 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۱: درصد بازماندگی لاروهای مرکب ببری در تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش

در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد نیز تیمارهای آزمایشی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P > 0.05$). نتایج میزان بازماندگی حاصل از تنش شوری لاروها نیز نشان داد که در شوری ۵ ppt لاروها همه تلف شدند ($P < 0.05$)، در شوری ۱۵ ppt و ۲۵ ppt نیز تیمارهای آزمایشی هیچ گونه اختلاف معنی‌داری به لحاظ آماری با تیمار شاهد نشان ندادند ($P > 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۲: میزان بازماندگی لاروهای ماهی مرکب ببری در برابر تنش دمایی

ماهی شانک زرد باله تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی نشده نسبت به لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس غنی شده با روغن کبد کاد به همراه ویتامین E تفاوت معنی داری در رشد نیافتند. در بررسی که بر روی گونه شانک اروپایی *Sparus aurata* انجام گرفت واز آنتی اکسیدان E هم استفاده گردید، تأثیر معناداری در افزایش رشد و مقاومت به استرس در بچه ماهیان مشاهده نگردید (Hernández-Cruz et al., 2015). پژوهشی بر روی نیاز ویتامین E بر بازماندگی و تولید مثل در ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) انجام گرفت و مقدار ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در جیره، ویتامین E به تیمارها داده شد. نتایج به دست آمده نشان داد، در میزان بازماندگی و نسبت جنسی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (Mehrad and Sudagar, 2010).

Mercy Onivie و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی بر روی بچه ماهی *Heterobranchus longifilis* نشان دادند که سطوح صفر، ۵۰ و ۴۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم) ویتامین E به لحاظ آماری تاثیری بر میزان بازماندگی نداشته است.

در تحقیق فضایی و همکاران (۱۳۹۱) اضافه نمودن ویتامین E به جیره غذایی اثر معنی داری بر درصد بقاء بچه ماهیان قزل آلا رنگین کمان نشان نداد. تحقیقات پیشین نشان دادند که کاربرد ویتامین E می تواند باعث پایداری بافت های بدن در مقابل فعالیت های اکسایشی شود. چون این ویتامین باعث جلوگیری از تجزیه اکسیدی اسیدهای چرب غیر اشباع و تأثیر بر رادیکال های آزاد می شود (Cay and King, 1980). همچنین ویتامین E می تواند از طریق جلوگیری از تغییرات هورمونی و حفظ توان سیستم

جوانی و مراحل بعد از آن مشخص شد. این مطالعه اهمیت PUFA، DHA و EPA در غذای سرپایان جوان را نشان داد (Koueta et al., 2002).

نتایج تحقیق دیگری که به مدت ۱۵ روز بر روی سایه ماهی (از خانواده شوریده ماهیان) *Argyrosomus regius* صورت گرفت نشان داد که افزایش میزان HUFA به بالای ۳ درصد به طور محسوسی رشد لارو و جذب چربی را افزایش می دهد (El Kertaoui et al., 2015). جهت پی بردن به اثرات نسبت های متفاوت اسید چرب های غیر اشباع n3/n6 بر روی میگوی سفید هندی تحقیقی انجام داد و نشان داد که شاخص رشد میگو با غذای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع کارایی بالاتری را داشته است (غفله مرضی و همکاران، ۱۳۸۰). در یک بررسی که به تأثیر غنی سازی آرتمیای به وسیله اسیدهای چرب بر روی ماهی کفال انجام گرفت، تأثیر استفاده از این ماده غنی ساز بر روی رشد، بازماندگی و رشد ویژه مورد مطالعه قرار گرفت، نتایج حاصله نشان داد که شاخص های مذکور با افزایش میزان اسیدهای چرب در دسترس افزایش و با کاهش در اختیار گذاشتن اسیدهای چرب روند نزولی داشته است. همچنین میزان اسیدهای چربی که وارد بدن گردید با افزایش میزان اسیدهای چرب بدن در غنی سازی افزایش و با کاهش در معرض قرار گرفتن آن روند نزولی داشته است (El Dahhar et al., 2013).

مشابه با نتایج تحقیق حاضر، کاربرد آلفا-توکوفرول استات به عنوان ویتامین E، باعث افزایش رشد و بازماندگی در تیمارهای آزمایشی شد ولی اختلاف معنی داری به لحاظ آماری با تیمار شاهد مشاهده نگردید، عدلو و متین فر (۱۳۸۴) بین لاروهای

بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی تیمار تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با روغن کبد کاد بدون ویتامین E، هم در تنش دمایی ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد و هم در تنش شوری ۱۵ و ۲۵ بیشترین بازماندگی را نسبت به سایر تیمارها نشان داد. میزان بازماندگی در شوری ۲۵ ppt و همچنین میزان بازماندگی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به طور متوسط بیشتر بوده است که دلیل آن می‌تواند علاوه بر اینکه مقاومت بدن لاروها بخاطر رژیم تغذیه‌ای غنی‌سازی شده افزایش یافته است، نزدیک بودن دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۲۵ ppt به شرایط نرمال زیستی لاروها به افزایش بازماندگی آن‌ها کمک کرده است. ولی در شوری ۵ ppt و دمای ۱۰ درجه همگی لاروها تلف شدند که این امر به دلیل فیزیولوژی بدن لاروها و عدم تحمل استرس با تفاوت زیاد شوری و دمای نرمال زیستی آن‌ها می‌باشد. دریک تحقیق که بر روی تأثیر آراشیدونیک اسید بر روی رشد و مقاومت و استرس‌های دستکاری و حمل و نقل بر روی لارو ماهی *Sparus aurata* از لارو ۵ تا ۳۵ روزه با مقادیر متفاوت DHA/AA غنی‌سازی شدند صورت گرفت نشان داده شد که استفاده از آراشیدونیک اسید قبل از حمل و نقل و دستکاری می‌تواند مقاومت لاروها را بالا برده و بازماندگی را افزایش بخشد همچنین اهمیت تغذیه مناسب بچه ماهیان و ماهیان انگشت قد را قبل از مواجهه با استرس‌های تراکم و حمل و نقل و دسته‌بندی کردن تأیید کرد (Koven *et al.*, 2001).

همچنین مشابه با نتایج تحقیق حاضر، در بررسی عدلو و همکاران (۱۳۸۴)، بر روی شانک زرد باله، لاروهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع حاوی ۵ و ۱۰ درصد ویتامین

ایمنی به مواد مغذی این اجازه را بدهد که صرف رشد ماهی شوند (Dabrowski *et al.*, 1995). اما با توجه به دوز ویتامین افزوده شده جهت غنی‌سازی (امولسیون روغن کبد ماهی کاد حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد ویتامین E) در تحقیق کنونی، ویتامین E با این دوز تأثیری بر عملکرد رشد و بقاء لارو ماهیان مرکب ببری نداشت. در تأثیر ویتامین بر رشد و بقاء ماهیان، گونه ماهی مورد آزمایش نیز مهم است به طوری که آزمایشی با دو نژاد از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان که دارای اختلاف رشد بودند نشان داد که نرخ رشد بالاتر، نیاز ویتامینی بالاتری در جیره غذایی جهت افزایش رشد دارد (Matusiewicz *et al.*, 1994). سن ماهیان مورد آزمایش یکی دیگر از فاکتورهای دخیل در تأثیر ویتامین افزوده شده به جیره غذایی بر عملکرد رشد و بقاء ماهی در مطالعات مختلف می‌باشد و از آنجاکه ویتامین E نیز به عنوان یک ماده ضروری برای لارو ماهیان مطرح است و به صورت یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی عمل کرده و به خوبی می‌توان آرتمیا را توسط آن غنی‌سازی نمود (Sargent *et al.*, 1997) دیده شده که ماهی توربوت در مرحله لاروی در مقایسه با مرحله نوزادگاهی نیاز ویتامینی بالاتری جهت افزایش رشد و بقاء دارد (Merchie *et al.*, 1993). شاید تیمارهای مخلوط ویتامین و HUFA نتوانسته‌اند بین آنتی‌اکسیدان E و اسیدهای چرب در اندام‌ها تعادل مناسبی برقرار کنند و شاید بخاطر یک سیستم آنتی‌اکسیدانی داخلی کارآمد در بدن این ماهیان در این سبب است که این ناهماهنگی ایجاد شده است (Martins *et al.*, 2007).

در این تحقیق بررسی نتایج میزان بازماندگی پس از اعمال تنش‌های شوری و دمایی، نشان داد که اگرچه

E در برابر استرس نوسانات شوری و دما اختلاف معنی داری نشان ندادند. Gapasin و همکاران (۱۹۹۸) نیز وقتی لاروهای خامه ماهی ۲۵ روزه را در برابر استرس شوری قرار دادند، میزان مرگ و میر کمتری را در آنهایی که با آرتمیا و روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع تغذیه شده بودند، نسبت به گروه شاهد در سطح ۹۵ درصد مشاهده کردند.

ماهیان دریایی برخلاف ماهیان آب شیرین، قدرت اشباع زدایی و تولید EPA و DHA از لینولنیک اسید و آراشیدونیک اسید و از لینولیک اسید را ندارند (Halver, 2002). به همین دلیل ضروری به نظر می رسد که برای پرورش لارو آبزیان دریایی از آرتمیای غنی شده به وسیله اسیدهای چرب غیراشباع استفاده شود. به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان دهنده آن است که غنی سازی آرتمیا با روغن کبد کاد به عنوان منبع اسیدهای چرب غیراشباع می تواند موجب افزایش رشد و بازماندگی لارو ماهی مرکب ببری شود که از نظر اقتصادی، گونه حائز اهمیتی می باشد، ولی ویتامین E تأثیر معنی داری روی رشد و بازماندگی و مقاومت در برابر استرس ندارد.

سپاسگزاری

از همکاران ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتان بندرلنگه بخصوص جناب مهندس حسین رامشی و مهندس غلامرضا ارگنجی و همچنین دکتر محمدنبی عدلو و سرکار خانم مهندس قاسم پور در انجام طرح یاری ام نمودند سپاسگزاری می نمایم.

منابع

۱. خدادادی، ر.، یحیوی، م.، قربانی، ر.، شعبانی، م.، ۱۳۸۹. میزان هماوری و فصل تخمیزی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در آب های استان بوشهر. مجله علمی شیلات ایران، ۲ (۱۹)، ۱۵۰-۱۶۰.
۲. ساریان، ح.، رامشی، ح.، اسماعیلی، ع.، موحدی نیا، م.، صید مرادی، ش.، ارگنجی، غ.، ۱۳۹۳. چرخه زندگی ماهی مرکب ببری (*Sepia pharaonis*) در شرایط آزمایشگاهی. مجله علمی شیلات ایران، ۲ (۲۳)، ۶۹-۷۷.
۳. عدلو، م.ن.، متین فر، ع.، ۱۳۸۴. تأثیر ناپلیوس آرتمیا فرانسسکانا و ویتامین E بر میزان رشد، مرگ و میر و مقاومت در برابر استرس لارو شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*). مجله علمی شیلات ایران، ۴ (۲۰)، ۹۵-۱۰۷.
۴. غفله مرضی، ج.، چیروز، ب.، نیک خواه، ع.، ۱۳۸۰. تأثیر نسبت های مختلف اسیدهای چرب غیراشباع n3/n6 بر شاخص های رشد میگوی سفید هندی (*Penaeus indicus*) در مرحله جوانی. مجله پژوهش و سازندگی، ۳ (۱۴)، ۲۸-۳۵.
۵. فضایی، ز.، سجادی، م.، سوری نژاد، الف.، اسعدی، ر.، ۱۳۹۱. اثر پرورش در تراکم های مختلف و افزودن ویتامین E به جیره غذایی بر شاخص های رشد، بقاء و ترکیبات لاشه بچه ماهی قزل آلائی رنگین کمان. مجله بوم شناسی آبزیان، ۲ (۲)، ۴۴-۵۵.
۶. ولی نسب، ت.، ۱۳۷۲. گزارش نهایی پروژه بررسی بیولوژی ماهی مرکب و شناسایی گونه ای سرپایان، موسسه تحقیقاتی و آموزشی شیلات ایران، ۶۵ صفحه.
7. Anil, M.K., Andrews, J., Unnikrishnan, C., 2005. Growth, behavior, and mating of pharaoh cuttlefish (*Sepia pharaonis* Ehrenberg) in captivity. *Aquaculture*. 12, 3-11.
8. Cay, P.B, King, M.M., 1980. Vitamin E: It's role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed function oxidase system. *In: (L.J. Machlin ed.)*,

2001. The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n- 6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193, 107-122.
20. Leger, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as food source. *Occagr. Mar. Biol. Ann.* 24, 521-623.
 21. Leger, Ph., Naessens-Foucquaert, E., Sorgeloos, P., 1987. International study on *Artemia*. Techniques on manipulate fatty acid profile in *Artemia nauplii* and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *mysidopsis Bahia* (m.). In: *Artemia Research and its Application*, Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, eds P. Sorgeloos, D.A.Bengeston, W. Decleir and E. Jaspers. Univesa Press, Wattern. Belgium, 411-24.
 22. Lim, L.C., Dhert, P., Chew, W.Y., Dermaux, V., Nelis, H., Sorgeloos, P., 2002. Enhancement of stress resistance of guppy *Poecilia reticulata* through feeding with vitamin C supplement. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33-40.
 23. Maldonado-Montiel, T., Rodríguez-Canché, L.G., 2005. Biomass production and nutritional value of *Artemia* sp.(Anostraca: Artemiidae) in Campeche, México. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 53, 447-454.
 24. Martins, D.A., Afonso, L.O.B., Hosoya, S., Lewis-McCrea, L.M., Valente, L.M.P., Lall, S.P., 2007. Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the stress response in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 272, 573-580.
 25. Matusiewicz, M., Dabrowski, K., Volker, L., Matusiewicz, K., 1994. Regulation of saturation and depletion of AA in Rainbow Trout. *Journal of Nutrition. Biochem.* 6, 204-212.
 26. Mehrad, B., Sudagar, M., 2010. Dietary vitamin E requirement, fish performance and reproduction of guppy (*Poecilia reticulata*). *AAFL Bioflux*, 3, 239-246.
 27. Merchie, G., Lavens, P., Nelis, H., De Leenheer, A., Sorgeloos, P., 1993. Effect of vitamin C incorporation in live food on the larviculture success of aquaculture species. *mededelingen van de faculteit landbouwwetenschappen universiteit gent*, 58, 1999-1999.
 28. Mercy Onivie, I.L., Olutimilehin, A.J., Sunday, O.J., Titus, M.Ch., 2010. The influence of supplement vitamins C and E in maternal diets on growth and survival of *Heterobranchus* Vitamin E, a comprehensive treatise: Basic and clinical nutrition. Marcel Dekker, New York, USA. pp.289-317.
 9. Dabrowski, K., Matusiewicz, M., Matusiewicz, K., Hoppe, P., Ebeling, J., 1995. Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, 2, 3-10.
 10. D'agostino, A., 1980. The vital requirements of artemia: physiology and nutrition. *The Brine Shrimp. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology*, 2, 474.
 11. El-Dahhar, A., Salama, A., El-Greesy, Z., Shaheen, S.A., 2013. Effect of Live Food Enrichment and Temperature on Growth performance Survival and Digestive Tract Development of Grey Mullet, *Liza ramada* Larvae. *Journal of the Arabian aquaculture society*, 8, 87-103.
 12. El Kertaoui, N., Hernández-Cruz, C.M., Montero, D., Caballero, M.J., Saleh, R., Afonso, J.M., Izquierdo, M., 2015. The importance of dietary HUFA for meagre larvae (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) and its relation with antioxidant vitamins E and C. *Aquaculture Research*, 1-15.
 13. Gapasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P., Nelis, H.J., 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish. (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture*, 162, 269-285.
 14. Girri, S.S., Sahoo, S.K., SHU, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.N., Mohanty. P.K., Ayyappan, S., 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light light. Photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture*, 213, 157-161.
 15. Halver, J.E., Hardy, R.W., 2002. *Fish Nutrition*. Academic Press, 3, 61.141
 16. Hernández-Cruz, C., Mesa-Rodríguez, A., Betancor, M., Haroun-Izquierdo, A., Izquierdo, M., Benítez-Santana, T., Torrecillas, S., Roo, J., 2015. Growth performance and gene expression in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed microdiets with high docosahexaenoic acid and antioxidant levels. *Aquaculture Nutrition*, 21, 881-891.
 17. Jereb, P., Roper, C.F.E., 2005. *Cephalopods of the world. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*, 262.
 18. Koueta, N., Boucaud-Camou, E., Noel, B., 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture*, 203, 293-310.
 19. Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A.,

- illecebrosus*, and effect of temperature on development rates. Journal of North-west Atlantic Fishery Science, 3, 41-45.
33. Paine, R.T., 1996. Food web complexity and species diversity. American Naturalist, 100, 65-75.
 34. Sargent, J.R., McEvoy, L.A., Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larve feeds. Aquaculture, 155, 117-127.
 35. Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001. Use of brine shrimp *Artemia* spp., In marine fish larviculture. Aquaculture, 200, 147-159.
 36. Tacon, A.G., 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Feeding methods. Agent Laboratories Press, Redmond, Taoka. 3, 208.
 37. Treece, G.D., 2000. *Artemia* production for marine larvae fish culture. SRAC Publication No. 702.
 - longifilis* fry outdoor. Nature and Science. 8, 75-80.
 29. Nabhitabhata, J., Nilphat, P., 1999. Life cycle of cultured cuttlefish, *Sepia pharaonis*, Ehrenberg. 1831. Phuket, Marine Biology center special publication, 19, 25-40.
 30. Nabhitabhata, J., Nilaphat, P., Promboon, P., Jaroongpattananon, C., Nilaphat, G., & Reunreng, A. (2005). Performance of simple large-scale cephalopod culture system in Thailand. *Phuket Mar Biol Cent Res Bull*, 66, 337-350.
 31. Naessens, E., Lavens, P., Gomez, L., Browdy, C., McGovern-Hopkins, K., Spencer, A., Kawahigashi, D., Sorgeloos, P., 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. Aquaculture, 155, 87-101.
 32. O'Oor, R.K., Balch, N., Foy, E.A., Hirtle, R.W.M., Johnston D.A., Amaratunga, T., 1982. Embryonic development of the squid, *Illex*