بررسی مقاومت به استرس‌های شوری و فرمالین درپست لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع(DHA , EPA) و ویتامین C

مازیار یحیوی[۱] ، قباد آذری تاکامی[۲] و غلامحسین وثوقی[۲]

چکیده

تست‌های استرس به طور معمول در هچری‌های میگو جهت ارزیابی کیفیت پست لاروها (PL) در طی پرورش مورد استفاده قرار می‌گیرند . در این تحقیق لاروهای میگوی سفید هندی با ناپلی تازه تخم گشائی شده آرتمیا (تیمار شاهد) ؛ روتیفرهای پرورش یافته روی جلبک کلرلا (تیمار ۱)، روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد (تیمار ۲) و روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد و ویتامین C (تیمار ۳) تغذیه گردیدند . به‌طوری‌که درمرحلهPL1 در تست‌های استرس شوری(۱۰و۲۰ قسمت درهزار) بیشترین میزان بقا در تیمار۳ (به ترتیب ۵۶/۶۶۷ و۹۰/۰۰ درصد) مشاهده شد . بعد ازآن تیمار ۲ (۴۳/۳۳۳ و۷۶/۶۶۷ درصد) قرار داشته که با تیمار۳ تفاوت معنی دار($P < ۰/۰۵$) داشت . اختلاف این دو تیمار با تیمارهای ۱ و شاهد نیز معنی دار بود. درتست فرمالین (۱۰۰ قسمت در میلیون) در این مرحله تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار۳(۸۶/۶۶۷ درصد) و۲(۸۰/۰۰ درصد) که بالاترین میزان بقا را نشان دادند مشاهده نگردید، اما اختلاف آنها با تیمارهای ۱ (۶۰/۰۰ درصد) و شاهد (۵۳/۳۳۳ درصد) معنی‌دار بود . در مرحله PL5 نیز در تست‌های استرس شوری (۱۰ و۲۰ قسمت درهزار) بالاترین میزان بقا در تیمار۳ (۵۶/۶۶۷ و۸۳/۳۳۳ درصد) مشاهده گردید و بعد از آن تیمار ۲ (۴۰/۰۰ و۷۰/۰۰ درصد) قرار داشته که تفاوت آنها معنی‌دار ($P <۰/۰۵$) بود . دراین مرحله میزان بقا در تیمار شاهد (۶۰/۰۰ و ۸۶/۶۶۷ درصد) با تیمار۳ تفاوت معنی‌دار نداشته و با تیمارهای ۱ و۲ دارای تفاوت معنی‌دار ($P <۰/۰۵$) بود. کمترین میزان بقا در تیمار۱ (۲۶/۶۶۷و۵۶/۶۶۷ درصد) مشاهده شد. در تست استرس فرمالین(۱۰۰قسمت درمیلیون) دراین مرحله بیشترین میزان بقا به ترتیب در تیمارهای شاهد، ۳ و ۲ (۷۶/۶۶۷ ، ۷۳/۳۳۳ و۷۰/۰۰ درصد) مشاهده گردید که تفاوت معنی داری ما بین آنها دیده نشد . درصورتی که اختلاف این سه تیمار با تیمار۱ (۵۳/۳۳۳ درصد) معنی‌دار بود .

واژه‌های کلیدی: تست استرس، پست لاروی، میگو، روتیفر، غنی سازی، اسیدهای چرب غیراشباع ، ویتامین C

۱. دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران

۲. استادان بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه تهران

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

مقدمه

یکی از روش‌های مناسب جهت ارزیابی کیفیت پست لاروهای میگوهای خانواده پنائیده که به سادگی نیز در هچری‌ها قابل انجام است استفاده از استرس‌های محیطی از جمله استرس شوری می‌باشد (۲، ۱۵، ۲۸ و ۳۱). دهرت و همکاران (۸) در سال ۱۹۹۲ استفاده از تست‌های استرس را به عنوان یک ابزار در ارزیابی کیفیت لارو ماهیان و سخت پوستان پیشنهاد نموده‌اند. هم‌چنین عده‌ای از پژوهندگان گزارش کرده‌اند که پست لاروهایی که در شرایط تست‌های استرس بقا بالاتری از خود نشان می‌دهند دارای کیفیت بهتری می‌باشند (۱۱، ۲۸ و ۳۰). چندین مطالعه شامل جیره‌های غذایی با میزان فراوان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره جهت بازماندگی بالاتر لاروها در تست‌های استرس در مرحله پست لاروی گزارش و پیشنهاد شده است (۱۴، ۱۶، ۲۸ و ۳۱).

افزایش بقای لاروها در تست‌های استرس شوری به سبب شرایط فیزیولوژیکی بهتر که تحت تاثیر وضعیت تغذیه‌ای به‌ویژه اثرات اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره روی مکانیسم‌های تنظیم اسمزی می‌باشد قرار دارد. که نتیجه افزایش پاسخ در مکانیسم‌های تنظیم اسمزی به ویژه فعالیت پمپ Na^+/K^+ - ATPase موجود در آبشش‌ها می‌باشد (۳۲)، زیرا اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره موجود در جیره های غذایی بر روی ترکیب اسیدهای چرب بافت‌های مختلف بدن به‌ویژه بر آبشش‌ها اثر می‌گذارند. اختلاف در تناسب اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره با اسیدهای چرب اشباع شده غشاهای سلولی، فعالیت پمپ Na^+/K^+ -ATPase را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۵) .گزارش شده است که اسیدهای چرب آزاد می‌توانند بر فعالیت این پمپ در *Artemia salina* اثر بگذارند (۲۱). به‌علاوه، ترکیب لیپیدی غشاهای سلولی می‌توانند مستقیماً بر روی نفوذپذیری آبشش ها نیز اثر گذارند (۱، ۱۸و۳۲). بنابراین، پست لاروهایی که در معرض شوری قرار می‌گیرند می‌توانند نسبت اسیدهای چرب حاضر در غشاهای سلولی را به عنوان اولین قدم برای کاهش نفوذ پذیری اصلاح نمایند. ترکیب اسیدهای چرب غشاهای سلولی موجود در آبشش‌ها را می‌توان توسط جیره‌های غذایی اصلاح نمود و این تغییرات بر مکانیسم‌های تنظیم اسمزی و در نهایت بر بازماندگی لاروها در یک تست استرس شوری مؤثر می‌باشند (۲۴ و ۳۳). دیگر تست‌های استرس نیز مانند در معرض قرار گرفتن با فرمالین، ترکیبی از دما و شوری پایین و اکسیژن محلول کم جهت مراحل پست لاروی به‌کار گرفته می‌شوند (۴، ۹، ۱۳ و ۳۰).

ویتامین C نیز بر بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی آبزیان تأثیر مثبت دارد (۱۲و۲۹). وودوارد (۳۴) در سال ۱۹۹۴ گزارش کرده است که ویتامین C موجب افزایش مقاومت در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و استرس‌های محیطی می‌گردد. از آنجایی که اکثر موجودات قادر به سنتز اسید آسکوربیک(AA) از اسید گلوکورنیک می باشند، اما بر اساس مطالعات انجام شده مشخص گردیده که سخت پوستان از جمله میگوها فاقد آنزیم اکسیدازگلونولاکتون ضروری برای اولین مرحله از این بیوسنتز می‌باشند (۶)، بنابراین، آنها به ذخایر این ویتامین در غذاها وابسته هستند. بنابراین به منظورتأمین ویتامین C مورد نیاز لاروهای میگوهای پرورشی که درشروع تغذیه میبایستی از غذاهای زنده استفاده نمایند، غنی سازی این غذاها یکی از فرایندهای ضروری در به‌کارگیری آنها می‌باشد (۶، ۱۹و۲۰).

از آنجایی که پرورش میگو در مرحله لاروی بسیار حساس و مهم بوده و اغلب تلفات عمده ای در این مرحله دیده می شود، بنابراین یکی از مواردی که می‌تواند به افزایش رشد و بازماندگی لاروی های میگو کمک نماید دقت در رساندن مواد غذایی غنی‌تر در تغذیه آنها می‌باشد. روتیفر از جمله غذاهای زنده ایست که در اغلب مزارع پرورش میگوی سایر کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد و غنی‌سازی روتیفر با ویتامین C و اسیدهای چرب غیر اشباع (DHA , EPA) می‌تواند سبب افزایش فاکتورهای رشد و بازماندگی و ایجاد مقاومت در برابر استرس‌های محیطی لاروی‌های میگو گردد (۵). روتیفر بنا به خصوصیاتی که دارد از اهمیت ویژه‌ای در آبزی پروری برخوردار است که از آن‌جمله می توان به سرعت تکثیر و رشد

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

فوق‌العاده زیاد آنها، اندازه کوچک (۷۰ تا ۳۳۰ میکرون)، حرکت نسبتاً ملایم، ریزه خوار بودن، کافی بودن ترکیبات غذایی و اقتصادی بودن تولید آنها اشاره نمود که می‌تواند جایگزین مناسبی برای آرتمیا باشد. بنابراین با توجه به موارد ذکر شده در این تحقیق سعی گردید که از روتیفر غنی شده در مراحل پرورش لاروی میگوی سفید هندی استفاده شده و نتایج آن در مقایسه با آرتمیا بررسی شود.

مواد و روش‌ها

۱. پرورش و غنی سازی روتیفر

روتیفرهای (*Brachionus plicatilis*) مورد نیاز جهت تغذیه لاروی میگوی سفید هندی ابتدا در ظروف ۱/۵ و سپس ۲۰ لیتری کشت داده شده و در نهایت جهت تولید انبوه به مخازن فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری و۴ تنی در فضای آزاد انتقال داده شده و با جلبک های کلرلا و تتراسلمیس تغذیه شدند. پس از افزایش تعداد روتیفرها در ظروف پرورشی به حدود ۲۰۰ – ۳۰۰ روتیفر در میلی‌لیتر، آنها را به ظروف ۵ /۱ لیتری انتقال داده و بر اساس روش دهرت (۷) غنی سازی کرده و متناسب با تیمارها مورد استفاده قرار گرفتند .

جهت غنی‌سازی روتیفرها از جلبک های حاوی مقادیر بالای اسیدهای چرب ضروری مانند : جلبک کلرلا و امولسیون روغن تهیه شده از روغن کبد ماهی کادکه سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (HUFA) می باشند استفاده گردید. تراکم جلبک کلرلا جهت غنی‌سازی درحدود ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی لیتردر نظر گرفته شد. جهت تهیه امولسیون روغن برای غنی‌سازی روتیفرها از روغن کبد ماهی کادکه محصول شرکت Seven Seas انگلستان می‌باشد استفاده شد. امولسیون حاصل شامل مخلوطی از آب دریا (۱۰۰ میلی لیتر)، روغن کبد ماهی کاد (۵ میلی لیتر) وزرده تخم مرغ (۱ گرم) بوده و همچنین مولتی ویتامین و ویتامین E نیز بترتیب در حدود ۰/۵ و۰/۱ درصد وزن یا حجم مخلوط روغن اضافه شده وسپس به مدت ۲ دقیقه توسط همزن به خوبی مخلوط گشته تا به صورت امولسیون قابل مصرف آماده شود (۸). این امولسیون به مدت یک هفته در یخچال قابل نگه‌داری خواهد بود.

میزان به‌کارگیری امولسیون روغن ۱۵۰ – ۲۵۰ قسمت در میلیون با توجه به تراکم روتیفرها (۲۰۰ – ۳۰۰ عدد در میلی لیتر) تعیین گردید. روتیفرها پس از ۱۲ ساعت غنی سازی، برداشت و شستشو شده و جهت تغذیه لاروها به کار گرفته شدند.

همچنین جهت غنی‌سازی روتیفرها با ویتامین C ازآسکوربیل پالمیتات با توجه به خاصیت پایداری و چربی دوست بودن آن به عنوان مکمل این ویتامین استفاده شد. روش تغلیظ امولسیون خودبخودی با استفاده از آسکوربیل پالمیتات یکی از بهترین روش‌ها در غنی‌سازی روتیفرها می‌باشد (۲۲). بنابراین بدین منظور اقدام به تهیه امولسیون ۲۰ درصدی آسکوربیل پالمیتات گردید. برای تهیه امولسیون ابتدا ۲۰ گرم آسکوربیل پالمیتات را به ۵۰ سی سی روغن کبد ماهی کاد و ۵۰ سی سی آب ولرم اضافه و توسط همزن برقی مخلوط گردید. هم‌چنین حدود ۳ – ۵ سی سی پلی سوربات سدیم به آن مخلوط اضافه و مجدداً اقدام به همزدن آنها کرده تا قطرات ریز روغن تشکیل گردد. سپس این امولسیون قابل استفاده گردید. میزان و زمان غنی‌سازی با این امولسیون در حدود ۰/۶ گرم به ازای هر لیترآب و به مدت ۱۲ ساعت بود. به‌طوری‌که در نهایت امولسیونی حاوی آسکوربیل پالمیتات به همراه روغن کبد ماهی کاد در اختیار روتیفرها قرار گرفت .

۲. پرورش لارو

به علت غیرقابل پیش بینی بودن تخم‌ریزی مولدین، تخم‌های مورد نیاز جهت شروع آزمایش از ۳ مولد مختلف از مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی تأمین و استفاده گردید. به‌طوری‌که ناپلی‌های تازه تخم گشائی شده میگوی سفید هندی تا رسیدن به مرحله زوآ (I) در همان مخازن ۳۰۰ لیتری تخم ریزی نگه‌داری شده و سپس از مرحله زوآ (II) در سطل‌های پلاستیکی ۲۰ لیتری که از قبل آب فیلتر شده دریا با شوری

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

۳۰ – ۳۲ قسمت در هزار که هوادهی نیز در آن برقرار بوده و به میزان ۱۵ لیتر آبگیری شده بودند به نسبت ۱۰۰ لارودر لیتر ذخیره‌سازی شدند. ازاین مرحله لاروها از روتیفرها و ناپلی‌های آرتمیا بر اساس تیمارهای طراحی شده بلافاصله بعد از آماده‌سازی در تراکم ۵ – ۲۰ عدد در میلی لیتر برحسب مرحله لاروی و چهار ساعت یک‌بار (۶ نوبت در روز) تا مرحله PL5 تغذیه گردیدند. این ظروف در چهار تیمار و برای هرتیمار۳ تکراردر قالب یک طرح کاملاً تصادفی به شرح ذیل آماده شده و با تیمارهای غذایی مورد نظر پرورش داده شدند .

۱. تیمار شاهد – لاروهای تغذیه شده از ناپلی های تازه تخم گشایی شده آرتمیا (روش جاری هچری‌های میگو)

۲. تیمار ۱ آزمایش – لاروهای تغذیه شده از روتیفرهای پرورش یافته بر روی جلبک کلرلا

۳. تیمار۲ آزمایش – لاروهای تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد

۴. تیمار ۳ آزمایش – لاروهای تغذیه شده از روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد و آسکوربیل پالمیتات

۳. تست‌های استرس

تست‌های استرس شوری و فرمالین در مرحله PL1 و PL5 برروی لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش اجرا گردید. بدین منظور۳۰ لارو از هر تکرار مربوط به هر تیمار برداشت نموده و در تشت های کوچک ومجددا در۳ تکرار ۳۰ تائی در معرض شوری‌های ۱۰ و۲۰ قسمت در هزار و فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون به مدت۶۰ دقیقه قرار گرفتند (۱۵، ۱۶ و ۲۶). در پایان هر مرحله تلفات لاروها شمارش و ثبت شده و درصد بقا محاسبه گردید.

۴. آنالیزهای بیوشیمیایی

جهت مشخص شدن پروفیل ومقدار اسیدهای چرب (برحسب میلی گرم / گرم وزن خشک) و میزان اسید آسکوربیک (برحسب میکروگرم / گرم وزن خشک) در تیمارهای غذایی و لاروی های تغذیه شده در هرمرحله به طور منظم اقدام به نمونه برداری گردید .نمونه‌های برداشت شده تا زمان آنالیزهای مربوطه در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر جهت آنالیز متیل استر اسیدهای چرب به روش لیپاژوروی (۱۷) و اسید آسکوربیک به روش نلیس و همکاران (۲۳) نگه‌داری و سپس بدین منظور به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه ابتدا استر اسیدهای چرب مربوطه تهیه و سپس به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) از نوع Shimadzu – 8A با ستون FID تزریق گردید و برای تعیین میزان اسیدآسکوربیک نیز از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد (۳، ۱۷و۲۳).

۵. آنالیزهای آماری

میزان اسیدهای چرب و اسید آسکوربیک غذاهای مختلف مورد آزمایش و لاروهای تغذیه شده و هم‌چنین درصد بقا لاروها در تست‌های استرس شوری و فرمالین تحت آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) قرارگرفته و سپس توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، اختلافات دربین آنها در سطح (۰/۰۵) تعیین گردید. همه آنالیزها با استفاده از برنامه‌های EXCEL ، STATGRAPH و SPSS انجام گرفت .

نتایج

۱. میانگین اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک(EPA)، دکوزاهگزانوئیک (DHA)، نسبت‌های DHA/EPA و n–۳/n–۶ (نسبت اسیدهای چرب خانواده n – ۳ به n – ۶ موجود در پروفیل اسیدهای چرب استخراج شده که اسیدهای چرب عمده آن شامل : اسید لینولنیک (n – ۳) ۱۸:۳ ، ایکوزاپنتانوئیک اسید (n – ۳) ۲۰:۵ ؛ دکوزاهگزانوئیک اسید (n– ۳)۲۲:۶ ، آراشیدونیک اسید (n – ۶) ۲۰:۴ و اسید لینولئیک (n – ۶) ۱۸:۲ می باشند) مربوط به غذاهای مختلف در جدول ۱ ارائه گردیده است.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

جدول ۱ . میانگین اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره (mg / g DW) در غذایی متفاوت

غذاهای مختلف	EPA	DHA	DHA / EPA	n – 3 / n - 6
آرتمیا (شاهد)	۸/۰۰ ± ۰/۵۲۰ [a]	۰/۱۰۰ ± ۰/۰۰ [c]	۰/۰۱۰ ± ۰/۰۰ [b]	۴/۲۳۰ ± ۱۳۰۰ [a]
روتیفر+ جلبک (۱)	۸/۳۰۰ ± ۱/۲۰۰ [a]	۰/۴۰۰ ± ۰/۰۵۰ [c]	۰/۰۵۰ ± ۰/۰۰ [b]	۱/۸۴۰ ± ۰/۳۲۰ [b]
روتیفر+ روغن (۲)	۴/۳۰۰ ± ۰/۰۲۰ [b]	۲/۸۰۰ ± ۰/۳۰۰ [a]	۰/۶۵۰ ± ۰/۰۷۰ [a]	۱/۶۷۰ ± ۰/۱۴۰ [bc]
روتیفر+روغن + ویتامین (۳)	۳/۰۳۰ ± ۰/۱۵۰ [c]	۲/۱۹۰ ± ۰/۳۸۰ [b]	۰/۷۲۰ ± ۰/۰۹۰ [a]	۱/۴۴۰ ± ۰/۰۹۰ [c]

(میانگین ± انحراف معیار . اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P < ۰/۰۵))

(تعداد نمونه‌ها در هر گروه n = ۳ می باشد)

میزان EPA در بین غذاهای متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین مقدار آن مربوط به غذای ۱ (۸/۳ میلی گرم / گرم وزن خشک) می‌باشد که با غذای شاهد (۸/۰ میلی گرم / گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری (P <۰/۰۵) نداشت. از طرفی مقدار DHA نیز در بین غذاهای متفاوت دارای تفاوت معنی دار بوده و بیشترین میزان آن مربوط به غذای شماره ۲ (۲/۸ میلی‌گرم/ گرم وزن خشک) بود که با غذای شاهد (۰/۱ میلی گرم/ گرم وزن خشک) اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) داشت. نسبت DHA / EPA نیز در بین غذاهای مختلف دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین مقدار این نسبت در غذای شماره ۳ (۰/۷۲) مشاهده گردید که با غذای شاهد (۰/۰۱) دارای تفاوت معنی‌دار (P <۰/۰۵) بود. هم‌چنین نسبت n – ۳ / n – ۶ نیز در بین غذاهای متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان آن در غذای شاهد (۴/۲۳) مشاهده شد که اختلاف آن با غذاهای ۳ (۱/۴۴) ، ۲ (۱/۶۷) و ۱ (۱/۸۴) معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بود.

۲. میانگین اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک (EPA)، دکوزاهگزانوئیک (DHA)، نسبت‌های DHA / EPA و n – ۳ / n – ۶ دربافت لاروهای میگودر مراحل PL1 و PL5 در جدول ۲ مشاهده می‌گردد. همان‌طور که مشاهده می‌شود در مرحله PL1 میزان EPA در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌دار (P <۰/۰۵) بود. بیشترین میزان آن در تیمار۱ (۵/۸ میلی گرم / گرم وزن خشک) بوده که با تیمار شاهد (۵/۷ میلی گرم / گرم وزن خشک) تفاوت معنی داری نداشت. هم‌چنین میزان DHA نیز دربین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین آن درتیمار ۲ (۱/۵ میلی گرم / گرم وزن خشک) مشاهده شد و با تیمار شاهد (۰/۰۶ میلی گرم / گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی‌دار (P۰/۰۵ >) بود .نسبت DHA / EPA نیز در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان آن نسبت در تیمار ۳ (۰/۵۴) مشاهده گردید که با تیمار شاهد (۰/۰۱) دارای تفاوت معنی‌داری (P < ۰/۰۵) بود. یکی دیگر از نسبت‌هایی که در این تحقیق مورد توجه قرار گرفته نسبت n – ۳ / n – ۶ می‌باشد. این نسبت نیز در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر بوده به طوری که بیشترین میزان این نسبت در تیمار۱ (۳/۴۸) مشاهده شد که با تیمار شاهد (۴/۷۸) تفاوت معنی‌داری (P < ۰/۰۵) داشت.

در مرحله PL5 نیز میزان EPA در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی دار(P < ۰/۰۵) می‌باشد. به‌طوری‌که بیشترین میزان آن در تیمار ۱ (۴/۳ میلی گرم / گرم وزن خشک) بوده که با تیمار شاهد (۴/۳ میلی گرم / گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی‌داری نبود. هم‌چنین میزان DHA نیزدر بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان آن در تیمار ۲ (۲/۵ میلی گرم / گرم وزن خشک) مشاهده گردید که با تیمار شاهد (۰/۰۷ میلی گرم / گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) بود. نسبت DHA / EPA نیزدر

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

جدول۲. میانگین اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (mg / g DW)دربافت لاروهای میگودرمراحل PL1 و PL5

تیمارها	EPA	DHA	DHA / EPA	n – 3 / n – 6
مرحله PL1				
تیمار شاهد	۵/۷ ± ۰/۱ [a]	۰/۰۶ ± ۰/۰۱ [c]	۰/۰۱ ± ۰/۰۰ [c]	۴/۷۸ ± ۰/۳۳ [a]
تیمار ۱	۵/۸ ± ۰/۱ [a]	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ [c]	۰/۰۲ ± ۰/۰۱ [c]	۳/۴۸ ± ۰/۳۵ [b]
تیمار ۲	۳/۳ ± ۰/۰۱ [b]	۱/۵ ± ۰/۰۵ [a]	۰/۴۵ ± ۰/۰۱ [b]	۲/۹۱ ± ۰/۰۷ [c]
تیمار ۳	۲/۴ ± ۰/۱۵ [c]	۱/۳ ± ۰/۱۱ [b]	۰/۵۴ ± ۰/۰۱ [a]	۲/۶۸ ± ۰/۰۲ [c]
مرحله PL5				
تیمار شاهد	۴/۳ ± ۰/۱ [a]	۰/۰۷ ± ۰/۰۱ [d]	۰/۰۲ ± ۰/۰۱ [c]	۳/۴۴ ± ۰/۲۳ [a]
تیمار ۱	۴/۳ ± ۰/۱ [a]	۰/۳۶ ± ۰/۰۱ [c]	۰/۰۸ ± ۰/۰۱ [c]	۳/۸۵ ± ۱/۲۵ [a]
تیمار ۲	۲/۱ ± ۰/۰۵ [b]	۲/۵ ± ۰/۱ [a]	۱/۱۹ ± ۰/۰۲ [b]	۱/۸۶ ± ۰/۱۵ [b]
تیمار ۳	۱/۳ ± ۰/۰۵ [c]	۲/۱ ± ۰/۰۶ [b]	۱/۶ ± ۰/۱ [a]	۲/۱۸ ± ۰/۲۱ [b]

(میانگین ± انحراف معیار . اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P < ۰/۰۵)
(تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد.)

جدول ۳ . میانگین اسیدآسکوربیک (µg / g DW) درغذاهای متفاوت

غذاهای مختلف	Mean ± SD
آرتمیا (غذای شاهد)	۵۲۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰ [c]
روتیفر + جلبک (غذای ۱)	۷۸۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰ [b]
روتیفر + روغن (عذای ۲)	۴۵۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰ [d]
روتیفر + روغن + ویتامین (غذای ۳)	۱۸۶۰/۰۰ ± ۲۰/۰۰ [a]

(میانگین ± انحراف معیار . اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند (P <۰/۰۵))
(تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۳ = n می باشد.)

بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان این نسبت در تیمار ۳ (۱/۶) مشاهده شد که با تیمار شاهد (۰/۰۲) تفاوت معنی‌دار (P ۰/۰۵ >) داشت. نسبت n – ۳ / n – ۶ نیز در این مرحله در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان در تیمار ۱ (۳/۸۵) مشاهده گردید که با تیمار شاهد (۳/۴۴) دارای تفاوت معنی‌دار نبود.

۳. میزان اسیدآسکوربیک (برحسب میکروگرم / گرم وزن خشک) غذاهای مختلف مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها (جدول۳) نشان داد که غذاهای آزمایشی تفاوت معنی داری از نظر میزان اسید آسکوربیک با یکدیگر داشتند. به‌طوری‌که بیشترین میزان آن مربوط به غذای شماره ۳ (۱۸۶۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) بوده و با غذای

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

جدول ۴ . میانگین اسید آسکوربیک (µg / g DW) دربافت لاروهای میگو تغذیه شده با غذاهای متفاوت درمراحل PL1 وPL5

تیمارها	مرحله PL1	مرحله PL5
تیمار شاهد	۴۵۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ [c]	۴۱۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ [c]
تیمار ۱	۷۱۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ [b]	۶۷۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ [b]
تیمار ۲	۳۸۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ [d]	۳۵۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ [d]
تیمار ۳	۱۶۳۶/۶۷۰ ± ۵/۷۷۳ [a]	۱۵۶۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ [a]

(میانگین ± انحراف معیار . اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی دار هستند (P< ۰/۰۵))

(تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۳ = n می باشد.)

شاهد (۵۲۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) بود.

۴. میزان اسید آسکوربیک (میکرو گرم / گرم وزن خشک) در بافت لاروهای میگو تغذیه شده با غذاهای مختلف در مراحل PL1 و PL5 در جدول ۴ ارائه گردیده است. در مرحله PL1 میزان اسید آسکوربیک در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر بوده و بیشترین میزان مربوط به تیمار ۳ (۱۶۳۶/۶۷۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) بود که با تیمار شاهد (۴۵۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) تفاوت معنی دار (P < ۰/۰۵) داشت. در مرحله PL5 نیز میزان اسید آسکوربیک در بین تیمارها دارای تفاوت معنی داری با یکدیگر بوده و بیشترین میزان در تیمار ۳ (۱۵۶۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) مشاهده شد که با تیمار شاهد (۴۱۳/۳۳۳ میکروگرم / گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی دار (P < ۰/۰۵) بود.

۵. میانگین درصد بقای لاروها در مرحله PL1 در تست شوری ۱۰ و۲۰ قسمت در هزار وفرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون در زمان ۶۰ دقیقه در جداول ۵ ارائه گردیده است. میانگین بقای لاروها در تست استرس شوری ۱۰ قسمت در هزار در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری با یکدیگر بوده و بیشترین آن در تیمار۳ (۵۶/۶۶۷ درصد) مشاهده گردید که با تیمارشاهد (۳۳/۳۳۳ درصد) دارای تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) بود. در تست استرس شوری۲۰ قسمت در هزارنیزدر بین تیمارها تفاوت معنی دار دیده شد. به نحوی که بیشترین بقا در تیمار ۳ (۹۰/۰۰ درصد) وجود داشته که با تیمار شاهد (۵۶/۶۶۷ درصد) دارای تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) بود. در تست استرس فرمالین در این مرحله نیز تفاوت معنی‌دار در بین تیمارها مشاهده گردید. در این تست استرس بیشترین بقا در تیمار ۳ (۸۶/۶۶۷ درصد) دیده شد که با تیمار شاهد (۵۳/۳۳۳ درصد) تفاوت معنی‌دار (P < ۰/۰۵) داشت .

۶. میانگین درصد بقای لاروها در مرحله PL5 در تست شوری ۱۰ و۲۰ قسمت در هزار و در فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون در زمان ۶۰ دقیقه در جداول شماره ۵ ارائه گردیده است. در این مرحله نیز در تست استرس شوری ۱۰ قسمت در هزار در بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. که بیشترین بقا در تیمار شاهد (۶۰ درصد) وجود داشته که با تیمار آزمایشی ۳ (۵۶/۶۶۷ درصد) تفاوت معنی‌دار نداشت. در حالی که تفاوت تیمار شاهد با تیمارهای۱ (۲۶/۶۶۷درصد) و۲ (۴۰/۰۰درصد) معنی‌دار (P <۰/۰۵) بود. در تست استرس شوری ۲۰ قسمت در هزار نیز در بین تیمارها تفاوت معنی‌دار دیده شد که بیشترین میزان بقا در تیمار شاهد (۸۶/۶۶۷ درصد) مشاهده گردید که با تیمار۳ (۸۳/۳۳۳ درصد) دارای تفاوت معنی‌دار نبود. اما تیمار شاهد با تیمارهای ۱ (۵۶/۶۶۷درصد) و۲ (۷۰/۰۰درصد) تفاوت معنی دار (P <۰/۰۵) داشت. در تست استرس فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون نیز در بین تیمارها

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

جدول ۵ . میانگین بقا لاروها (درصد) درمراحل PL1 و PL5 درتست‌های استرس شوری و فرمالین

تیمارها	مرحله PL1 (Mean ± SD)	مرحله PL5 (Mean ± SD)
شوری ۱۰ قسمت در هزار		
تیمار شاهد	۳۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ c	۶۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ a
تیمار ۱	۳۰/۰۰۰ ± ۰/۰۰۰ c	۲۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ c
تیمار ۲	۴۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ b	۴۰/۰۰۰ ± ۰/۰۰۰ b
تیمار ۳	۵۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ a	۵۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ a
شوری ۲۰ قسمت در هزار		
تیمار شاهد	۵۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ c	۸۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ a
تیمار ۱	۶۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ c	۵۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ c
تیمار ۲	۷۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ b	۷۰/۰۰۰ ± ۰/۰۰۰ b
تیمار ۳	۹۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ a	۸۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ a
فرمالین ۱۰۰ قسمت در میلیون		
تیمار شاهد	۵۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ b	۷۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ a
تیمار ۱	۶۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ b	۵۳/۳۳۳ ± ۱۱/۵۴۷ b
تیمار ۲	۸۰/۰۰۰ ± ۰/۰۰۰ a	۷۰/۰۰۰ ± ۱۰/۰۰۰ a
تیمار ۳	۸۶/۶۶۷ ± ۵/۷۷۳ a	۷۳/۳۳۳ ± ۵/۷۷۳ a

(میانگین ± انحراف معیار . اعداد در یک ستون با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($P < ۰/۰۵$))
(تعداد تکرار در هر گروه ۳ = n می باشد)

تفاوت معنی‌دار دیده شد که بیشترین بقا در تیمار شاهد (۷۶/۶۶۷ درصد) مشاهده گردید که با تیمار۳ (۷۳/۳۳۳ درصد) و ۲ (۷۰/۰۰درصد) تفاوت معنی دار نداشت در حالی‌که تفاوت آن با تیمار۱(۵۳/۳۳۳درصد) معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$) بود .

بحث و نتیجه‌گیری

تست‌های استرس شوری به طور معمول در ارزیابی کیفیت پست لاروهای میگوهای پرورشی با جیره های غذایی متفاوت به‌کار گرفته می‌شوند (۲۷). به طور معمول، جیره‌های غذایی که سبب رشد و بقا بالاتردر پست لاروها می‌شوند منجربه افزایش مقاومت آنها به تست‌های استرس نیز می‌گردند (۱۰، ۱۴، ۲۶، ۲۸ و ۳۶). آذری تاکامی و همکاران (۱) نشان دادند که تغذیه بچه میگوهای سفید هندی با آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از خانواده امگا سه (n–3HUFA)

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

موجب افزایش مقاومت آنها در برابر تنش اسمزی و یا تنش شوری می شود. به‌طوری که در این تحقیق بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیا ارومیانای حاوی ۳۳/۸ میلیگرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA نسبت به بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای با سطح ۳ – ۲/۸ میلیگرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA در برابر تنش شوری مقاومت بیشتری داشته اند به نحوی که تفاوت آنها معنی‌دار ($P <$ ۰/۰۱) بوده است. هم‌چنین در مطالعه ریس و همکاران (۲۸) پست لاروهای مرحله ۱۰ میگوی ببری سیاه (*P.monodon*) تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از خانواده امگا سه نسبت به بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای غنی نشده در برابر استرس اسمزی (شوری ۰ درهزار یا آب شیرین) مقاومت بیشتری داشته اند ($P <$ ۰/۰۵). نتایج مشابهی توسط وتر و همکاران (۳۵) در افزایش مقاومت پست لاروهای مرحله ۱۰ میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با آرتمیای حاوی سطوح بالای از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره گزارش شده است. از طرف دیگر، دریک بررسی به اثبات رسیده است که پست لاروهای *Litopenaeus vannamei* تغذیه شده با میزان بالایی از ویتامین C (معادل ۲۰۰۰ میلی گرم اسید آسکوربیک در هر کیلوگرم جیره غذایی) نسبت به تست استرس شوری (۰ قسمت در هزاردر مدت یک ساعت) مقاومت بیشتری ازخود نشان داده‌اند به طوری‌که تلفات در این گروه ۱۰ درصد بوده اما گروهی که در جیره غذایی آنها اسید آسکوربیک وجود نداشت میزان تلفات ۶۷ درصد ثبت گردیده است.

در این مطالعه که تست استرس شوری (۱۰ قسمت درهزار) در مرحله PL1 اجرا گردید، بیشترین بقا در تیمار ۳ (۵۶/۶۶۷ درصد) و بعد در تیمار۲ (۴۳/۳۳۳ درصد) مشاهده شد، که افزایش بقا در این دو تیمار به سبب غنی سازی آنها با اسیدهای چرب غیراشباع بوده به‌طوری‌که بیشترین میزان DHA و نسبت DHA / EPA نیز مربوط به تیمارهای۲ و۳ می باشد(جدول۲). تفاوت معنی دار این دو تیمار در سطح ($P <$ ۰/۰۵) مربوط به غنی سازی تیمار ۳ با آسکوربیل پالمیتات بوده که میزان اسید آسکوربیک آن (۱۶۳۶/۶۷۰ میکروگرم / گرم وزن خشک) بوده در صورتی که در تیمار ۲ میزان آن (۳۸۳/۳۳۳ میکروگرم/ گرم وزن خشک) ثبت گردیده است. بنابراین با توجه به خاصیت همیاری (synergestic) ویتامین C، مشاهده می‌گردد که درصد بقاء در تیمار ۳ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۲ می باشد. تیمارهای ۱ و شاهد نیز به علت عدم غنی‌سازی و میزان کم اسید چرب DHA و نسبت DHA / EPA دارای کمترین درصد بقا هستند. در تست استرس شوری (۲۰ قسمت در هزار) در مرحله PL1 نیز بیشترین بقا در تیمار۳ (۹۰/۰۰ درصد) و بعد در تیمار ۲ (۷۶/۶۶۷ درصد) رویت گردید که به سبب غنی‌سازی آنها می‌باشد. کمترین بقاء در تیمارهای ۱ (۶۳/۳۳۳ درصد) و شاهد (۵۶/۶۶۷ درصد) ثبت شد. درتست استرس فرمالین (۱۰۰ قسمت در هزار) نیز بیشترین بقاء در تیمارهای ۳ (۸۶/۶۶۷ درصد) و ۲ (۸۰/۰۰ درصد) وجود داشته و کمترین آن در تیمارهای ۱ (۶۰/۰۰ درصد) و شاهد (۵۳/۳۳۳ درصد) مشاهده گردید.در این مرحله (PL1) تیمارهای۳ و۲ به علت غنی سازی با اسیدهای چرب غیر اشباع و ویتامین C درصد بقای بالاتری از خود نشان می‌دهند. هم‌چنین این تیمارها از نظر اندازه نیز مناسب تر از تیمار شاهد در این مرحله می‌باشند.

در مرحله PL5 نیز بیشترین بقا در تست استرس شوری (۱۰ قسمت در هزار) در تیمارهای شاهد (۶۰/۰۰ درصد) و ۳ (۵۶/۶۶۷ درصد) مشاهده گردید و بین این دو تیمار تفاوت معنی‌داری دیده نشد. تیمار ۳ توسط اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C غنی‌سازی شده است. در این مرحله تیمار شاهد به جهت اندازه مناسب‌تر سبب رشد و بقا بالاتر لاروها شده که در نتیجه در تست‌های استرس نیز درصد بقا بالاتری نشان می دهد. بعد از دو تیمار بالا به ترتیب تیمارهای ۲ (۴۰/۰۰ درصد)و۱ (۲۶/۶۶۷ درصد) قرار دارند که با یکدیگر و با دو تیمار بالادر سطح ($P <$ ۰/۰۵) دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند. بقای تیمار۲ به جهت غنی سازی

[Downloaded from jstmar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره بالاتر از تیمار ۱ می‌باشد. در تست استرس شوری (۲۰ قسمت در هزار) در این مرحله نیز بیشترین بقا در تیمارهای شاهد (۸۶/۶۶۷ درصد) و ۳ (۸۳/۳۳۳ درصد)رویت گردیدکه با هم دارای تفاوت معنی‌داری نیستند. در اینجا نیزغنی‌سازی تیمار ۳ و اندازه مناسب‌تر تیمار شاهد منجر به افزایش بقا در آنها شده است. بعد از آنها تیمارهای ۲ (۷۰/۰۰ درصد) و ۱ (۵۶/۶۶۷ درصد) قرار داشته که اختلاف آنها معنی‌دار است. هم‌چنین با دو تیمار قبلی نیز تفاوت معنی‌داری دارند. تیمار ۱ به علت عدم غنی‌سازی کمترین بقا را نشان داد. در تست استرس فرمالین (۱۰۰ قسمت در هزار) بیشترین درصد بقا در تیمارهای شاهد، ۳ و۲ مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند، اما تفاوت آنها با تیمار ۱ که کمترین درصد بقا را دارد معنی‌دار است. در مرحله PL5 به غیر از غنی سازی تیمارها، اندازه آنها نیز بر بقا لاروها تأثیر دارد. زیرا با افزایش اندازه لاروهای پرورشی دست‌رسی به غذاهای کوچک‌تر مشکل‌تر بوده و آنها غذاهای بزرگ‌تر را می‌پسندند. به‌طوری که تیمار شاهد که همان ناپلی‌های تازه تخم گشایی شده آرتمیا (بزرگ‌تراز۳۸۰ میکرون) بوده به جهت اندازه بزرگ‌تر از تیمارهای آزمایشی که روتیفرها (کوچک‌تراز۳۳۰ میکرون) هستند در مرحله پرورشی PL5 مناسب‌تر می‌باشند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات بی‌دریغ آقایان دکتر محمد صدیق مرتضوی معاون تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، مهندس سعید مسندانی معاون تکثیر و پرورش آبزیان شیلات هرمزگان، مهندس منصورآزاد کارشناس ارشد شیلات هرمزگان و کلیه پرسنل مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند قدردانی می‌گردند.

منابع مورد استفاده

۱. آذری تاکامی ، ق .، ا . طبیعی ، م . شکوری و ن . آق . ۱۳۸۴ . تأثیر اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ در افزایش مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش اسمزی . منابع طبیعی ایران ۵۸ (۱) : ۴۵۵- ۴۶۶ .

2. Abi – ayad, S.-M.E.-A., C. Melard and P. Kestemont. 1997. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian Perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. Aquaculture. Int. 5: 161 – 168.
3. Alvarez, A. L., I. S. Racotta, O. Arjona and E. Palacios. 2004. Salinity stress test as a predictor of survival during growout in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture 237: 237 – 249 .
4. Bligh, E. G. and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911 – 917.
5. Cliford , H. C. 1992 . Marine shrimp pond management : a review . PP. 110 – 137. *In :* J . Wyban (Ed.), Proceeding of the special sessin on shrimp farming. The World Aquaculture Society, Baton Rouge , Belgium.
6. Coutteau, P. and P. Sorgeloos. 1997. Manipulation of dietary lipids , fatty acids and vitamins in zooplankton culture. Freshwater Biol. 38: 501 – 512.
7. Dabrowski, K. and J. H. Blom. 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos. Comp. Biochem. Physiol. 108A: 129 – 135.
8. Dherţ P. 1996. Rotifers. PP. 49 – 78. *In :* P. Sorgeloos and P. Lavens (Eds.) , Manual on the Production and Use of Live Food for aquaculture . Fisheries technical paper No. 361. Food and Aqriculture Organization of the United Nations, Rome.
9. Dherţ P., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1992. Stress evaluation a tool for quality control of hatchery produced shrimp and fish fry. Aquaculture. Europ. 17: 6 – 10.
10. Fegan, D. F. 1992 . Recent developments and issues in the penaeid shrimp hatchery industry . PP. 55 – 70. *In :* J. Wyban (Ed.) , Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming . The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Belgium.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

11. Gallardo, P. P., E. Alfonso, G . Gaxiola, L . A. Soto and C. Rosas. 1995. Feeding schedule for Penaeus setiferus larvae based on diatoms (Chaetoceros ceratosporum) , flagellates (*Tetraselmis chuii*) and Artemia nauplii. Aquaculture 131: 239 – 252.
12. Gapasin R. S. J., R . Bombeo, P. Lavens, P. Sorgeloos and H. Nelis. 1998. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (Chanos chanos) larval performance. Aquaculture, 162: 269 – 286.
13. Halver, E. J. 1989. Fish Nutrition. 2nd ed., Academic Press Inc. , San Diego, New York Boston, London , Sydney , Tokyo , Toronto , PP. 798.
14. Iberra, A. M. , E. Palacios, C. I. Perez - Rostro, J. L. Ramirez, R. Hernandez - Herrera and I. S. Racotta. 1998. Effect of family variance for resistance to low oxigen and low salinity of pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, postlarvae. World Aquaculture Society, Las Vegas, USA.
15. Kontara, E . K . M . 1997 . Nutritional requirements of penaeid shrimp postlarvae for essential fatty acids , phospholipids and vitamin C . PhD thesis , University of Ghent , Belgium.
16. Kontara, E., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1997. Dietary effects of DHA/EPA on culture performance and fatty acid composition of Penaeus monodon postlarvae . PP. 204 – 208. *In:* P. Lavens, E. Jaspers and I. Roeland (Eds.), Larvi 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium . European Aquaculture Society , Ghent , Belgium.
17. Kumlu, M. and D. A. Jones. 1995. Salinity tolerance of hatchery – reared postlarvae of *Penaeus indicus*. Aquaculture 130: 287 – 296.
18. Lavens, P. and P. Sorgeloos. 2000. Experiences on importance of diet for shrimp postlarval quality. Aquaculture 191: 169 – 176.
19. Lepage, G. and C. C. Roy. 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J. Lipid Res. 25: 1391 – 1396.
20. Mantel, L. H. 1985. Neurohormonal integration of osmotic and ionic regulation . Amer. Zool 25: 253– 263.
21. Merchie, G. , E. Kontara , P. Lavens , R. Robles , K. Kurmaly and P. Sorgeloos. 1998. Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp *penaeus monodon* (Fabricius), Aquaculture Res. 29: 579 – 585.
22. Merchie, G., P. Lavens and P. Sorgeloos. 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae : A review. Aquaculture 155: 165 – 181.
23. Morohashi, M., K. Tsuchiya, T. Mita and M. Kawamura. 1991. Identification of (Na ,K) ATPase inhibitor in brine shrimp, *Artemia salina*, as long – chain fatty acids. Comp. Biochem. Physiol. 161B: 69 – 72.
24. Mourente, G. and A. Rodriguez. 1997. Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. Mar. Biol. 128: 289 – 298.
25. Nelis, H., G. Merchie, P. Lavens, P. Sorgeloos and A. De Leenheer. 1997. Liquid chromatographic determination of vitamin C in aquatic organisms. J. Chromatographic Sci. 35: 337 – 341.
26. Palacios, E., A. Bonilla, A. Perez, I. S. Racotta and R. Civera. 2004. Influence of highly nusaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity. J. Experimental Marine Biol. and Ecol. 299: 201 – 215.
27. Poon , R., J. M. Richards and W. R. Clark. 1981. The relationship between plasma membrane lipid composition and physical – chemical properties : II . Effect of phospholipid fatty acid modulation on plasma membrane physical properties and enzymatic activities . Biochim. Biophys. Acta 649: 58 – 66.
28. Racotta, I. S., E. Palacios, R. Hernandez-Herrera, A. Bonilla, C. I. Perez -Rostro and J. L. Ramirez. 2004. Criteria for assessing larval and postlarval quality of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone). Aquaculture 233: 181 – 195.
29. Racotta, I. S., E. Palacios and A. M. Ibarra. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture 227: 107 – 130.
30. Rees, J. F., K. Cure, S. Piyatiratitivorakul, P. Sorgeloos and P. Menasveta. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae : an experimental approach based on Artemia enrichment. Aquaculture 122: 193 – 207.
31. Ruff, N., P. Lavens, J. Z. Huo, P. Sorgeloos, H. J. Nelis and A. De Leenheer. 2001. Antioxidant effect of dietary tocopherol and ascorbic acid on growth and survival of Litopenaeus vannamei postlarvae. Aquaculture Intern. 9: 115 – 126.
32. Samocha, T. M., H. Guajardo, A. L. Lawrence, F. L. Castille, M. Speed, D. A. Mckee and K. I. Page. 1998 . A simple stress test for *penaeus vannamei* postlarvae. Aquaculture 165: 233 – 242
33. Tackaert, W., P. Abelin, P. Leger and P. Sorgeloos. 1992. Stress resistance as a criterium to evaluate quality of postlarval shrimp reared under different feeding procedures. PP. 393 – 403. *In:* J. Pessoa (Ed.), proc. III simposio Brasileiro sobre cultivo de camarao, MCR Aquaculture, Brasil,

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]

34. Tocher, D. R., J. D. Castell, J. R. Dick and J. R. Sargent. 1995. Effects of salinity on the fatty acid composition of total lipid and individual glycerophospholipid classes of Atlantic salmon *(Salmo salar*) and turbot (*Scophtalmus maximus*) cells in culture. Fish Phisiol. Biochem. 14: 125 – 137.
35. Towle, D. W. 1981. Role of $Na^+ + K^+$ - ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. Mar. Biol. Lett. 2: 107 – 122.
36. Woodward, B. 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish , with emphasis on quantitative estimates for salmonids. Aquaculture 124: 133 – 168.
37. Wouters, R., A. V.Hauwaert, E. Naessens, X. Ramos, A. Pedrazzoli and P. Lavens. 1997. The effect of dietary n-3 HUFA and 22:6 n-3 / 20:5 n-3 ratio on white shrimp larvae and postlarvae. Aquaculture Intern. 5: 113 – 126.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1385.10.4.40.1]