

تاثیر اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ در افزایش مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش اسمزی^۱ و^۲

قباد آذری تاکامی^۳ امیدطبیعی^۴ مهدی شکوری^۵ ناصر آق^۶

چکیده

در این پژوهش مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش اسمزی بررسی شده است. بچه میگوهای یک روزه (PL-۱) حاصل از تکثیر مولدین وحشی میگوی سفید هندی به مدت ۱۵ روز با ناپلیوس‌های غنی شده آرتمیا ارومیانا با سطح‌های مختلف از اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۵۳ تغذیه شدند. در روزهای ۱۰ و ۱۵ پرورش مقاومت بچه میگوها با انتقال یکباره آنها از شوری ۳۳ در هزار پرورش به شوری ۶ و ۰ در هزار، در دو دوره زمانی ۳۰ و ۶۰ دقیقه‌ای مطالعه شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تغذیه بچه میگوهای سفید هندی با آرتمای غنی شده با سطح ۳۳/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA و نسبت دکوزاهگزانوئیک اسی ۶ (DHA:۲۲: ۶n-۳) به ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA:۲۰: ۵n-۳) معادل ۲/۵، موجب افزایش مقاومت بچه میگوها در برابر کاهش ۸۰ درصد و ۱۰۰ درصد شوری می‌شود. همچنین بین نسبت DHA به EPA در آرتمای غنی شده و مقاومت بچه میگوها در تنش اسمزی (شوری ۰ در هزار) در PL-۱۰ ($P < 0/05, r = 0/99$) و PL-۱۵ ($P < 0/01, r = 0/96$) رابطه مستقیم و همبستگی معنی داری وجود دارد. از سوی دیگر بین مقدار مقاومت PL-۱۰ در برابر تنش اسمزی (شوری ۶ در هزار و شوری ۰ در هزار) به مدت ۳۰ دقیقه و بازماندگی به دست آمده در پایان آزمایش در تیمارهای مشابه رابطه همبستگی معنی داری برقرار است ($P < 0/05, r = 0/87$ و $P < 0/05, r = 0/85$). این نتایج نشان می‌دهد که بررسی مقاومت بچه میگوها به کمک اندازه گیری مقدار بازماندگی آنها در برابر تنش حاصل از کاهش شوری یک شاخص سریع، ارزان و قابل قبول در مطالعات مربوط به نیازهای غذایی و همچنین در کنترل کیفی بچه میگوها است.

واژه‌های کلیدی: تنش اسمزی، بچه میگو، غنی‌سازی، آرتمیا ارومیانا، مقاومت در برابر تنش، اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳.

^۱ - تاریخ دریافت: ۸۱/۵/۶، تاریخ پذیرش: ۸۲/۱۰/۲۹

^۲ - هزینه های انجام این طرح از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه تهران تامین شده است

^۳ - استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

^۴ - عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان (E-mail: Tabiee@iaua.ac.ir)

^۵ - عضو هیات علمی شیلات ایران، اداره تکثیر و پرورش میگو

^۶ - عضو هیات علمی مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه

مقدمه

امروزه هرچند مراکز تکثیر از نظر کمی قادر به تولید لارو و بچه میگوهای مورد نیاز مراکز پرورشی می‌باشند، اما همواره کیفیت پایین لاروها و بچه میگوهای تولیدی به‌عنوان یک معضل بزرگ و از طرفی یک عامل تاثیرگذار در تولید مطرح است. با این وجود هنوز روش مناسبی برای کنترل کیفی لاروها که مورد پذیرش همگان باشد وجود ندارد، اما جمعی از محققین بر این باورند که بررسی مقاومت لاروهای میگو در برابر تنش‌های محیطی (عمدتاً تنش شوری) روشی مفید و قابل قبول در کنترل کیفی این لاروها است (۴،۱۷،۱۶،۷،۶،۳،۲،۱۸). در این قبیل آزمایش‌ها (تنش) با بررسی واکنش و پاسخ یک موجود زنده به شرایط جدیدی که جاندار در آن قرار داده شده است قادر خواهیم بود وضعیت فیزیولوژیکی و زیستی آن را مورد مطالعه قرار دهیم (۷). از طرفی در سیستم‌های متراکم پرورشی، تراکم یک عامل موثر و ایجادکننده تنش مطرح است و در صورت مناسب نبودن وضعیت تغذیه‌ای و به تبع آن عدم دسترسی لاروها به انرژی مورد نیاز برای مقابله با این شرایط تولیدات این مراکز به‌علت کاهش رشد و مرگ و میرهای وسیع کاهش می‌یابد. بنابراین کاهش آثار تنش‌های حاصل از پرورش متراکم به کمک بهینه‌سازی شرایط تکنیکی و تغذیه‌ای و در نهایت بهبود کیفیت و افزایش مقاومت لاروها ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا بهبود کیفی غذاهای مصرفی و تامین مواد مغذی مورد نیاز لاروها در افزایش مقاومت آنها نقش اساسی دارد. از سوی دیگر مطالعات تغذیه‌ای و بررسی نیازهای غذایی و روند تاثیر مواد مغذی مورد مطالعه نیازمند آزمایش‌های پیچیده و صرف زمان نسبتاً طولانی است. بنابراین استفاده از یک روش سریع و کاربردی در خصوص چگونگی تغذیه و ارزیابی کیفی آبزیان و در نتیجه تاثیر آن در روند بازماندگی می‌تواند راهگشا و مفید باشد. بر همین اساس روش سنجش و بررسی مقاومت لاروها در

برابر تنش‌های محیطی از یک سو در تعیین اثر مواد غذایی و بخصوص تاثیر n-3HUFA^۱ بر مقدار مقاومت لاروها در آبزیان دریایی و از سوی دیگر به جهت کنترل کیفی لاروها در مراکز تکثیر روش‌های مناسب و قابل اعتماد می‌باشند (۱۶،۷،۶،۸،۳،۱۸). بنابراین در مطالعات کمی و کیفی میگوها بخصوص در بررسی نیازهای غذایی آنها به n-3HUFA و یا سایر مواد مغذی این قبیل آزمایشات اطلاعات مفیدی را در اختیار پژوهشگران و محققین قرار می‌دهند (۷،۱۶،۱۸). در آزمایشات تنش عموماً با قرار دادن لاروها یا بچه میگوها در معرض یک وضعیت نامتعادل زیستی، فیزیکی و یا شیمیایی و در یک دوره زمانی کوتاه مقاومت آنها در برابر تنش ایجاد شده بررسی می‌شود. معمولاً آزمایشات تنش با قرار دادن بچه میگوها در محیط‌های آبی با شوری‌های مختلف انجام می‌شود. مقدار شوری آب به نوع گونه و همچنین به مراحل زیست آنها وابسته است. میگوهای آب شور معمولاً در آب‌های رقیق شده و میگوهای آب شیرین عموماً در آب‌های شور بالاتر قرار داده شده و سپس مقاومت آنها به‌وسیله شمارش تعداد میگوهای زنده در شرایط جدید بررسی و مطالعه می‌شود. در حقیقت شوری یکی از فاکتورهای محیطی بسیار مهم و تاثیرگذار بر رشد و بازماندگی میگوهای خانواده پنائیده بخصوص در مراحل نوزادی (PLS) است (۱۰). به همین دلیل در بررسی مقاومت میگوهای پنائیده در برابر تنش‌های محیطی، تنش شوری و یا تنش اسمزی یکی از متداول‌ترین آزمایش‌ها در مطالعات تغذیه‌ای و همچنین در کنترل کیفی آنها است. در خصوص میگوی سفید هندی مشخص شده است که حداقل شوری قابل تحمل در مراحل نوزادی این گونه شوری ۱۰ در هزار است. بنابراین شوری بحرانی این گونه در مراحل نوزادی شوری ۱۰ در هزار بوده و

^۱ - n-3Highly Unsaturated Fatty Acid ($\geq 20c$); HUFA

مقاومت و به تبع آن شانس بازماندگی بیشتر در آنها می شود. در نتیجه لاروهای ضعیف بیشتر و سریعتر از لاروهای سالم و قوی به شرایط جدید واکنش نشان داده و سرانجام لاروهای ضعیف و بیمار به سرعت از لاروهای سالم متمایز می شوند. بنابراین مشخص می شود که تعیین درصد بازماندگی حاصل از مقاومت لاروها و بچه میگوها در برابر تنش های محیطی یک روش سریع، ارزان و کاربردی در بررسی تاثیر مواد غذایی و در کنترل کیفی لاروها و بچه میگوهای تولیدی است (۱۸، ۲، ۳، ۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹). در نتیجه از اوایل دهه ۱۹۹۰ میلادی به بعد روش اندازه گیری و بررسی مقاومت لاروها و بچه ماهیان و میگوها در برابر تنش های محیطی در مطالعات تغذیه ای و همچنین در کنترل کیفیت آنها در مراکز تکثیر توصیه شده اند. با این وجود در خصوص کاربرد روش بررسی و تعیین مقاومت لاروها و بچه میگوها در برابر تنش های محیطی و از سوی دیگر اهمیت و تاثیر اسیدهای چرب بلند زنجیره بر مقاومت بچه میگوها در ایران سابقه علمی وجود ندارد. این مطالعه به هدف بررسی مقدار مقاومت بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با سطوح مختلف از n-3HUFA و با نسبت های متفاوت از DHA به EPA از طریق کاربرد تنش اسمزی بررسی و تجزیه و تحلیل شده است.

مواد و روش ها

برای کاهش خطا و افزایش ضریب اطمینان، در اردیبهشت ماه ۸۱ بچه میگوهای یک روزه (PL-۱) حاصل از تکثیر مولدین وحشی میگوی سفید هندی از ۳ حوضچه بتونی پرورش لارو مرکز تکثیر میگوی کلاهی (بندر کلاهی، میناب، بندر عباس) که به صورت تصادفی از بین حوضچه های پرورش لارو انتخاب شده بودند برداشت شدند. بچه میگوها پس از مخلوط گردیدن با یکدیگر به صورت تصادفی در مخازن پلاستیکی مکعب مستطیل

پایین تر از این شوری برای آنها کشنده است (۱۴، ۱۰). مطالعات انجام شده در میگوهای پنائیده بیانگر این مطلب است که تغذیه و موقعیت سنی میگوها دو فاکتور تاثیرگذار در مقدار مقاومت بچه میگوها در برابر تنش های اسمزی و یا شیمیایی است. هر چند مقاومت بچه میگوها در برابر تنش های محیطی با افزایش سن بیشتر می شود، اما در افزایش مقاومت و بهبود کیفی بچه میگوها تغذیه نقش مهم تری را بازی می نماید (۱۷، ۱۳، ۸، ۱۸). از سوی دیگر در ارتباط با اهمیت تغذیه در مقاومت میگوهای دریایی مطالعات انجام شده نشان می دهد که یکی از فاکتورهای غذایی بسیار مهم و تاثیرگذار در افزایش مقاومت آبزیان دریایی بخصوص در دوران نوزادی آنها n-3HUFA به خصوص DHA^۱ و EPA^۲ است. این دسته اسیدهای چرب بلند زنجیره در اعمال زیستی و فیزیولوژیکی میگوهای پنائیده نقش و تاثیر به سزایی دارند (۱۲). از آنجا که در مقدار مقاومت بچه میگوها در برابر تنش های محیطی وضعیت و شرایط زیستی و فیزیولوژیکی آنها تعیین کننده شانس بازماندگی و مقاومت بیشتر است، در نتیجه افزودن این مواد غذایی به جیره غذایی لاروها به جهت افزایش مقاومت آنها در مراکز تکثیر میگو اهمیت بسزایی دارد. از طرفی با کاربرد روش بررسی مقاومت لاروها در برابر تنش میتوان تاثیر ماده غذایی مورد مطالعه را در وضعیت زیستی و فیزیولوژیکی آبزیان بررسی و مشخص نمود. استدلال قابل قبول در توصیه این روش از این قرار است؛ زمانی که لاروهای حاصل از تیمارهای مختلف در معرض آزمایش تنش قرار می گیرند تحت تاثیر شرایط جدید لاروها دستخوش یکسری تغییرات فیزیولوژیکی می شوند و در مقابله با تنش ایجاد شده شرایط زیستی و تغذیه ای مناسب لاروها موجب افزایش

^۱ - Docosahexaenoic Acid; DHA

^۲ - Eicosapentaenoic Acid; EPA

اجازه می‌دهد که تحت شرایط یکسان به مقدار قابل قبول و استاندارد در آزمایشات تنش اسمزی و شوری برای بررسی میگوهای پرورشی با شوری‌های مختلف دسترسی پیدا نمائیم. در زمان اجرای آزمایش در طول دو دوره زمانی ۳۰ و ۶۰ دقیقه، بازماندگی بچه میگوهای منتقل شده هر ۵ دقیقه یکبار کنترل شدند، بچه میگوهای که دارای فعالیت آبششی و یا فعالیتی در ضمامن حرکتی بدن نبودند و همچنین به فشار آرام و ملایم ایجاد شده به وسیله برس نرم واکنشی نشان نمی‌دادند مرده تشخیص داده شدند. در نهایت پس از اتمام هر دوره آزمایش شاخص کل مرگ و میر^۶ با جمع مرگ و میرهای به دست آمده در فواصل زمانی هر ۵ دقیقه یکبار و در طول دو دوره زمانی ۳۰ و ۶۰ دقیقه‌ای آزمایش بر اساس دستورالعمل ریس و همکاران (۱۵، ۱۶) و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد. از سوی دیگر به جهت بررسی رابطه افزایش مقاومت بچه میگوها در دوران پرورش و بازماندگی نهایی آنها از رابطه رگرسیون خطی به جهت بررسی و تعیین همبستگی بین این دو عامل استفاده شده است. در پایان دوره پرورش بازماندگی نهایی در تیمارهای آزمایشی پس از شمارش تعداد بچه میگوهای زنده مانده در هر تکرار محاسبه شدند.

رابطه (۱)

$$CMI = D5 + D10 + \dots + Dx + D30 \text{ or } D60$$

که در آن:

CMI = شاخص مرگ و میر،

Dx = تعداد مرگ و میر در X دقیقه در هر تکرار،

X = فواصل زمانی ۵ دقیقه یکبار،

D30 or D60 = مرگ و میر در زمان ۳۰ و ۶۰ دقیقه.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، نتایج آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه^۱ و آزمون چند دامنه‌ای

شکل ۳۰ لیتری و با تراکم ۲۰ قطعه بچه میگو در لیتر ذخیره‌سازی شدند و بر اساس طرح کاملاً تصادفی (۱) به مدت ۱۵ روز در پنج تیمار و چهار تکرار در سالن مرکز تکثیر میگوی کلاهی پرورش یافتند. هر تیمار با یک سطح از آرتمایارومیانای غنی شده با n-3HUFA بر اساس دستورالعمل یا شیرو (۲۰) تغذیه شدند. یک تیمار از پنج تیمار نیز به عنوان تیمار شاهد با ناپلی تازه تخم‌گشایی شده تغذیه شدند. برای غنی‌سازی بر اساس دستورالعمل لگر و همکاران (۱۱) و کاتیو و سار جلوس (۵)، آرتمایارومیانای به مدت ۲۴ ساعت با امولسیون‌های استاندارد آزمایشی اسید چرب (ICES^۱، ICES^۰، ICES³⁰، ICES⁵⁰)^۲ و امولسیون تجاری سوپر سلکو^۵ غنی‌سازی شدند. سپس ناپلیوس‌های غنی شده برداشت و پس از شتشو با آب شیرین به تغذیه بچه میگوها رسیدند. مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی و شوری در روزهای ۱۰ و ۱۵ پرورش بررسی شد. برای بررسی مقدار مقاومت تعداد ۴۰ قطعه بچه میگو (۱۰ قطعه از هر تکرار) از هر تیمار به صورت تصادفی برداشت شدند و پس از حذف آب محیط پرورش به کمک یک صافی پارچه‌ای بچه میگوها سریعاً در سه تکرار (هر تکرار ۴۰ قطعه از هر تکرار) به ظروف آزمایش، محیط‌های آبی با شوری ۶ در هزار و شوری 0 در هزار (آب مقطر) منتقل شدند (۷، ۱۸). در این آزمایش ترجیحاً از یک مقدار کاهش شوری در ۱۰-PL و ۱۵-PL استفاده شده است. کاهش یکسان شوری به ما

^۱ - شورای بین المللی تحقیق و بررسی بر روی دریا که یکسری

امولسیونهای استاندارد آزمایشی جهت بررسی اسیدهای چرب ارائه نموده است (International Council for the Exploration of the sea)

^۲ - امولسیون بدون n-3HUFA

^۲ - امولسیون با ۳۰ درصد n-3HUFA

^۲ - امولسیون با ۵۰ درصد n-3HUFA

^۵ - Super Selco (INVE; Aquaculture; Gent; Belgium)

^۶ - Cumulative Mortality Index

دانکن با کمک نرم افزار SPSS ننگارش ۱۰ در دو سطح اعتماد ۰/۰۵ و ۰/۰۱ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

مقدار اسیدهای چرب بلند زنجیره در آرتمیا:

مقدار اسیدهای چرب بلند زنجیره در آرتمیا ارومیانا پس از غنی سازی با امولسیون های اسید چرب به نحو چشمگیری افزایش یافته است ($P < 0/01$). مقدار n-3HUFA و نسبت DHA به EPA در ناپلی تازه

تخم گشایی شده به ترتیب ۲/۸ میلیگرم بر گرم وزن خشک آرتمیا و ۰/۰۴ بوده است. این مقدار پس از غنی سازی آرتمیا ارومیانا به مدت ۲۴ ساعت به ترتیب به ۲۹ میلیگرم بر گرم وزن خشک و ۰/۰۴ در ICES0، ۲۹ میلیگرم و ۱/۴ در ICES30، ۴۵/۵ میلیگرم و ۰/۱۶ در ICES50 و ۳۳/۸ میلیگرم و ۲/۵ در سوپر سلکو افزایش یافته است. نتایج اسیدهای چرب بلند زنجیره در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱- میانگین اسیدهای چرب بلند زنجیره در آرتمیا ارومیانا بر اساس میلیگرم بر گرم وزن خشک ((M(SD), n=۲)

DHA/EPA	n-3 HUFA	DHA	EPA	اسید چرب تیمار
۰/۰۴	d ۲/۸(۱/۶)	c ۰/۱(۰/۱)	c ۲/۷(۱/۵)	شاهد
۰/۰۴	d ۳/۰(۰/۱)	c ۰/۱(۰/۰)	c ۲/۹(۰/۱)	ICES0
۱/۴	c ۲۹(۲/۷)	b ۱۶/۸(۱/۵)	b ۱۲/۲(۱/۲)	ICES30
۰/۶	a ۴۵/۵(۲/۷)	b ۱۷/۱(۱/۰)	a ۲۸/۴(۱/۷)	ICES50
۲/۵	b ۳۳/۸(۱/۹)	a ۲۴/۲(۱/۲)	b ۹/۶(۰/۷)	سوپر سلکو

در جدول فوق در هر ستون به صورت مجزا اعداد با حروف مشابه معنی دار نیستند ($P < 0/01$).

خشک آرتمیا n-3HUFA و نسبت DHA به EPA بر ابر ۲/۵، مقاومت بیشتری در برابر تنش اسمزی از خود نشان داده اند و دارای شاخص مرگ و میر پایین و در نتیجه درصد بازماندگی بیشتری نسبت به سایر تیمارها می باشند ($P < 0/01$).

مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی

نتایج شاخص مرگ و میر بچه میگوها در PL-۱۰ و PL-۱۵ در جدول (۲) نشان داده شده است. در روزهای ۱۰ و ۱۵ پرورش تفاوت آماری معنی داری در مقدار مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی مشاهده شده است ($P < 0/01$). بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با سوپر سلکو و با سطح ۳۳/۸ میلیگرم بر گرم وزن

جدول ۲- شاخص مرگ و میریچه میگوها در آزمایش تنش اسمزی

۳۰ دقیقه (PL-۱۵) ۶۰ دقیقه				۳۰ دقیقه (PL-۱۰) ۶۰ دقیقه				CMI تیمار
۰ در هزار	۶ در هزار	۰ در هزار	۶ در هزار	۰ در هزار	۶ در هزار	۰ در هزار	۶ در هزار	
۱۲۰	۶۳/۰	۸۱/۶	۴۱/۰۴	۱۲۰	۵۷/۰	۹۶/۰	۵۲/۸	شاهد
۱۱۸/۸	۳۶/۰	۷۵/۰	۳۲/۴	۱۲۰	۵۱/۰	۷۸/۰	۳۰/۰	ICES0
۱۰۵/۰	۲۴/۰	۳۴/۸	۱۳/۲	۱۱۲/۸	۳۳/۶	۳۶/۰	۱۶/۸	ICES30
۱۱۷/۰	۳۳/۶	۴۸/۰	۲۱/۰	۱۱۸/۸	۴۳/۲	۴۸/۰	۲۷/۰	ICES50
۱۰۲	۱۵/۶	۲۷/۰	۸/۴	۱۰۸	۱۸/۰	۳۲/۴	۱۳/۲	سوپر سلکو

سوپر سلکو در PL-۱۰ و PL-۱۵ به ترتیب ۱۰ درصد و ۱۵ درصد بوده است، درحالی که در تیمار شاهد مرگ و میر کامل و ۱۰۰ درصد بوده است ($P < 0.01$). درصد بازماندگی PL-۱۰ و PL-۱۵ در تیمارهای مختلف پس از قرار گرفتن در معرض تنش شوری و تنش اسمزی در جداول (۳ و ۴) نشان داده شده است.

هنگامی که PL-۱۰ و PL-۱۵ در معرض تنش حاصل از کاهش ۸۰ درصد (شوری ۶ در هزار) و ۱۰۰ درصد شوری (شوری ۰ در هزار) قرار داده شدند تفاوت‌های معنی‌داری در مقدار مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در بین تیمارهای غذایی مشاهده شد ($P < 0.01$ ، اشکال ۱ تا ۴). پس از ۶۰ دقیقه آزمایش بچه میگوها در شوری ۰ در هزار (آب مقطر) درصد بازماندگی در تیمار تغذیه شده با

جدول ۳- میانگین درصد بازماندگی PL-۱۰ در تنش اسمزی پس از ۳۰ و ۶۰ دقیقه، (SD)

شوری ۰ در هزار		شوری ۶ در هزار		تیمار
۶۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۶۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	
۰(۰/۰) b	۲۰(۰/۰۲) d	۵۲/۵(۰/۰۲) d	۶۶(۰/۱) d	شاهد
۰(۰/۰) b	۳۵(۰/۰۳) c	۵۷/۵(۰/۰۲) dc	۷۳(۰/۰۳) Cd	ICES0
۶(۰/۰۲) a	۷۰(۰/۰۵) a	۷۲(۰/۰۳) b	۸۶(۰/۰۵) ab	ICES30
۱(۰/۰۱) b	۵۷(۰/۰۶) b	۶۴(۰/۰۵) c	۷۷/۵(۰/۰۲) cb	ICES50
۱۰(۰/۰۳) a	۷۳(۰/۰۳) a	۸۵(۰/۰۵) a	۸۹(۰/۰۶) a	سوپر سلکو

در جدول فوق در هر ستون اعداد یا حروف مشابه معنی دار نیستند ($P < 0.01$)

جدول ۴- میانگین درصد بازماندگی PL-۱۵ در تنش اسمزی پس از ۳۰ و ۶۰ دقیقه (SD)

شوری ۰ در هزار		شوری ۶ در هزار		تیمار
۶۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	۶۰ دقیقه	۳۰ دقیقه	
۰(۰/۰) b	۳۲(۰/۰۶) c	۵۵(۰/۰۶) c	۶۶(۰/۰۳) c	شاهد
۱(۰/۰) b	۳۷/۵(۰/۰۱) c	۷۰(۰/۰۵) b	۷۵(۰/۰۵) C	ICES0
۱۲/۵(۰/۰۲) a	۷۱(۰/۰۸) a	۸۰(۰/۰۲) ab	۸۹(۰/۰۱) ab	ICES30
۲/۵(۰/۰۱) b	۶۰(۰/۰۲) b	۷۲(۰/۰۸) b	۸۲/۵(۰/۰۵) b	ICES50
۱۵(۰/۰۳) a	۷۷/۵(۰/۰۵) a	۸۷(۰/۰۵) a	۹۳(۰/۰۲) a	سوپر سلکو

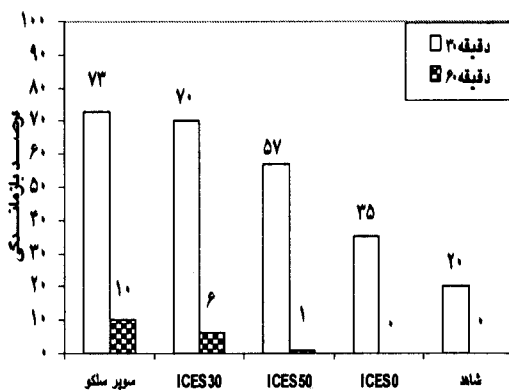
در جدول فوق در هر ستون اعداد با حروف مشابه معنی دار نیستند ($P < 0.01$)

بازماندگی بچه میگوها: میانگین بازماندگی نهایی بچه میگوها در تیمارهای مختلف آزمایشی در جدول (۵) نشان داده شده است.

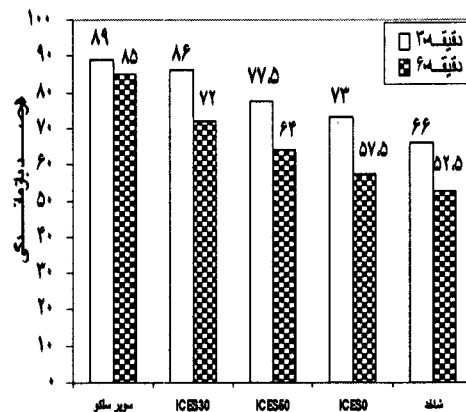
جدول ۵- میانگین درصد بازماندگی بچه میگوها در تیمارهای مختلف

درصد بازماندگی	تیمار
۵۵	شاهد
۵۷	ICES0
۶۹/۵	ICES30
۶۰	ICES50
۶۶	سوپر سلکو

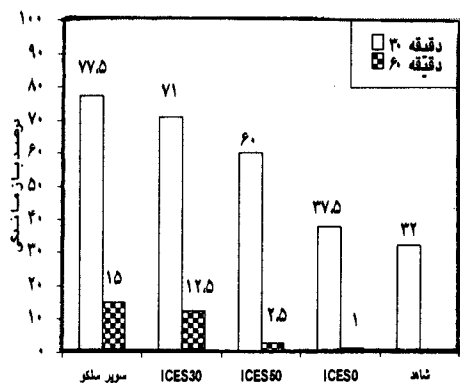
در جدول فوق اعداد با حروف مشابه معنی دار نیستند ($P < 0.01$)



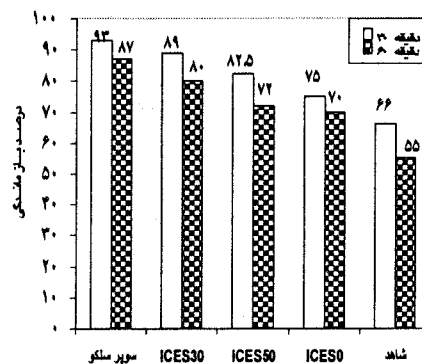
شکل ۲- مقاومت PL-۱۰ در برابر تنش اسمزی (0ppt)



شکل ۱- مقاومت PL-۱۰ در برابر تنش شوری (۶ppt)



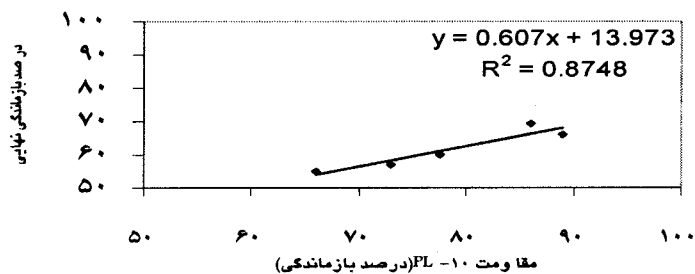
شکل ۴- مقاومت PL-۱۰ در برابر تنش اسمزی (0ppt)



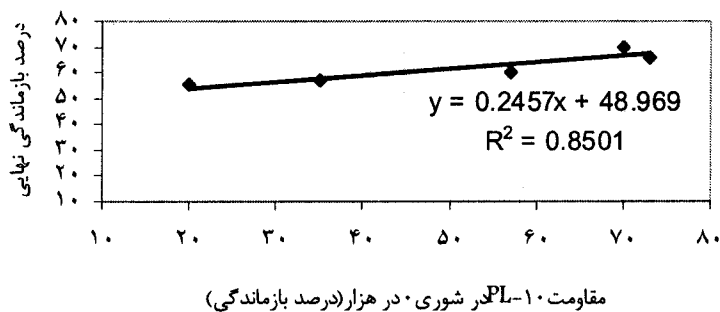
شکل ۳- مقاومت PL-۱۰ در برابر تنش شوری (6ppt)

پرورش در هر تیمار برقرار است. روابط همبستگی مقدار مقاومت بچه میگوها و بازماندگی نهایی در تیمارهای مشابه در شکل‌های (۵ و ۶) نشان داده شده است.

روابط بین افزایش مقاومت و بازماندگی همبستگی معنی‌داری بین افزایش مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی و بازماندگی نهایی در پایان دوره



شکل ۵- رابطه همبستگی بین مقاومت PL-۱۰ در شوری ۶ در هزار و بازماندگی نهایی



شکل ۶- رابطه همبستگی بین مقاومت PL-۱۰ در شوری ۰ در هزار و بازماندگی

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تغذیه بچه میگوهای سفید هندی با آرتمیای غنی شده با n-3HUFA موجب افزایش مقاومت آنها در برابر تنش اسمزی و یا تنش شوری می‌شود. در این پژوهش بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیا ارومیانی حاوی ۳۳/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA نسبت به بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای با سطح ۲/۸-۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA در برابر تنش اسمزی مقاومت بیشتری داشته‌اند ($P < 0.01$ ، نمودار ۱ تا ۴). در مطالعه ریس و همکاران (۱۵) PL-۱۰ تغذیه شده میگوی ببری سیاه (*P. mondon*) با آرتمیای غنی شده با سطح ۱۲/۵ میلی‌گرم بر وزن خشک n-3HUFA نسبت به بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای با سطح ۲/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک n-3HUFA در برابر تنش اسمزی (شوری 0 در هزار «آب شیرین») مقاومت بیشتری داشته‌اند ($P < 0.05$). نتایج مشابهی توسط وتر^۱ و همکاران (۱۹) در افزایش مقاومت PL-۱۰ میگوی سفید ربی (*Litopenaeus vannamei*) تغذیه شده با آرتمیای حاوی ۲۳/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA گزارش شده است. در مطالعات ریس و همکاران (۱۵) در مقدار مقاومت PL-۱۵ میگوی ببری سیاه در برابر تنش اسمزی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است ($P < 0.05$). در حالی که در این تحقیق مقدار مقاومت PL-۱۵ میگوی سفید هندی در برابر تنش اسمزی در تیمارهای مختلف اختلاف آماری معنی‌داری برقرار است ($P < 0.01$). همچنین در مطالعات وتر و همکاران (۱۹) در مقدار مقاومت بچه میگوهای ۱۵ تا ۳۵ روزه میگوی سفید غربی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است. این اختلافات بیانگر این مطلب است که مقاومت

میگوهای پنائیده در مراحل مختلف زیستی متفاوت بوده و به شرایط تغذیه‌ای، موقعیت سنی و به نوع گونه وابسته است. در نتیجه تفاوت آماری معنی‌دار در مقدار مقاومت و بازماندگی PL-۱۰ و PL-۱۵ میگوی سفید هندی بیانگر اهمیت تغذیه و تاثیر n-3HUFA در افزایش مقاومت و بهبود کیفی لاروها و بچه میگوهای سفید هندی است. بنابراین جهت بهبود کیفی بچه میگوهای سفید هندی تغذیه آنها تا PL-۱۵ به وسیله جایگزینی n-3HUFA در رژیم غذایی اهمیت دارد. همان‌گونه که در نتایج بازماندگی بچه میگوها در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است، در بین تیمارهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با سوپر سلکو (۳۳/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA و نسبت DHA به EPA برابر ۲/۵) و آرتمیای غنی شده با امولسیون استاندارد ICES30 (۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA و نسبت DHA به EPA برابر ۱/۴) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ($P < 0.01$). بنابراین چنین استنباط می‌شود که نسبت ۱/۴ از DHA به EPA و سطح ۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک آرتمیا n-3HUFA جهت افزایش مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش مناسب است. در نتیجه افزایش اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ با نسبت بیش از یک DHA به EPA موجب بهبود شرایط فیزیولوژیکی و در نهایت بهبود کیفی بچه میگوهای سفید هندی می‌شود ($P < 0.01$). البته تاثیر و نقش n-3HUFA در افزایش مقاومت لاروها در برابر تنش نامشخص است. افزایش مقاومت لاروها ممکن است نتیجه افزایش تغییرات در متابولیسم چربی‌ها و از طرف دیگر تاثیر آنها بر وضعیت فیزیولوژیکی لاروها به علت تامین اسیدهای چرب بلند زنجیره و تامین انرژی مورد نیاز لاروها در زمان تنش باشد. از سوی دیگر ممکن است افزایش مقاومت لاروها به دلیل تاثیر مستقیم n-3HUFA در فیزیولوژی تنظیم اسمزی و به علت تغییر در ترکیبات

¹-Wouters

غشا و یا تغییر در ساختار آبشش‌ها باشد (۹). از آنجاکه هدف از این تحقیق بررسی مکانیسم و چگونگی تاثیر n-3HUFA در سلول‌ها و افزایش مقاومت لاروها و بچه میگوها ناست، اما بهبود کیفیت و افزایش مقاومت بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با n-3HUFA بیانگر بهینه‌سازی و بهبود وضعیت زیستی و شرایط فیزیولوژیکی بچه میگوهای سفید هندی است. از سوی دیگر بین نسبت DHA به EPA در آرتمیای غنی شده و مقاومت بچه میگوها در PL-10 ($P < 0.05$, $r = 0.99$) و PL-15 ($P < 0.01$, $r = 0.96$) در تنش اسمزی (شوری 0 در هزار) پس از ۶۰ دقیقه یک رابطه مستقیم و همبستگی معنی‌داری برقرار می‌باشد. همبستگی معنی‌دار ما بین مقدار مقاومت PL-10 در تنش اسمزی (شوری ۶ در هزار و شوری 0 در هزار) پس از ۳۰ دقیقه و بازماندگی نهایی به‌دست آمده در تیمارهای مشابه (اشکال ۵ و ۶) نشان می‌دهد که رابطه خطی معنی‌داری بین افزایش مقاومت لاروها و بازماندگی آنها وجود دارد. به عبارت دیگر با افزایش مقاومت بچه میگوها در برابر تنش‌های محیطی بازماندگی بچه میگوها نیز به طور خطی افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه نوسان شوری در حوضچه‌ها و استخرهای پرورشی محدود بوده و یک عامل موثر در مرگ و میر میگوها نمی‌باشد، افزایش مقاومت بچه میگوهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده در برابر کاهش سریع شوری بیانگر حیاتی بودن اسیدهای چرب بلند زنجیره امگا ۳ در تغذیه بچه میگوهای سفید هندی و اهمیت آنها در بهبود شرایط فیزیولوژیکی بچه میگوها است. با توجه به همبستگی‌ها و روابط معنی‌دار به‌دست آمده در این تحقیق چنین استنباط می‌شود که نسبت بیش از یک DHA به EPA در جیره غذایی موجب بهبود شرایط فیزیولوژیکی، افزایش مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و در نهایت بهبود کیفی بچه میگوهای سفید هندی می‌گردد. از سوی دیگر معنی‌دار بودن همبستگی‌ها علاوه

بر تأیید تاثیر و اهمیت اسیدهای چرب بلند زنجیره بخصوص EPA و DHA در بهبود کیفی بچه میگوها نشان می‌دهد که بررسی مقدار مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی یا تنش کاهش شوری یک روش مناسب و قابل اعتماد در مطالعات مربوط به برآورد نیازهای غذایی و همچنین به جهت کنترل کیفی لاروها و بچه میگوهای خانواده پنائیده است. با توجه به آثار مثبت مربوط به افزایش مقاومت بچه میگوها در برابر تنش‌های محیطی و بهبود کیفی آنها چنین نتیجه‌گیری می‌شود که افزودن این ترکیبات حیاتی به جیره غذایی بچه میگوها و به‌خصوص غنی‌سازی آرتمیا با n-3HUFA در بهبود وضعیت فیزیولوژیکی بچه میگوها نقش اساسی دارد. در نتیجه به‌علت وجود انواع تنش‌های محیطی و آثار حاکم بر میگوها در دوران پرورش و از آنجائی‌که تنش‌های محیطی یک فاکتور تاثیرگذار بر اقتصاد آبرزی پروری است کاهش این آثار به‌وسیله افزایش مقاومت لاروها و بهبود کیفی بچه میگوها امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است. معمولاً تنش‌های محیطی از طریق تراکم، جابه‌جایی، حمل و نقل، وضعیت‌های بد تغذیه، کیفیت نامناسب آب پرورش و در نهایت اعمال مدیریت‌های ضعیف به لاروها و بچه میگوها منتقل شده و باعث ایجاد بیماری و مرگ و میرهای وسیع در آبزیان پرورشی می‌شود. بنابراین می‌توان با افزایش مقاومت بچه میگوها مقدار مرگ و میر و عواقب ناشی از تنش‌های محیطی مربوط به زمان حمل و نقل، تولید متراکم و بخصوص تنش‌های حاصل از زمان انتقال و ذخیره سازی بچه میگوها به استخرهای پرورشی را کاهش داد. همان‌گونه که در نتایج این پژوهش نشان داده شده است تغذیه بچه میگوهای سفید هندی با آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب بلند زنجیره نقش چشمگیری در افزایش مقاومت بچه میگوها در برابر تنش اسمزی و تنش حاصل از کاهش شوری به‌عنوان یکی از متداول‌ترین آزمایشات بررسی تنش در میگوهای خانواده پنائیده و در

۱/۴) مقاومت بچه میگوهای سفید هندی در برابر تنش‌های محیطی افزایش یابد. آزمایشات بررسی مقاومت لاروها و بچه میگوها در برابر تنش اسمزی در مطالعات تغذیه‌ای و بخصوص در کنترل کیفی بچه میگوها به هنگام خرید و قبل از ذخیره سازی آنها در استخرهای پرورشی در مراکز تحقیقاتی و اجرایی کشور ترویج و کاربری یابد.

تقدیر و تشکر

به این وسیله از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران در فراهم ساختن امکانات مالی و همچنین همکاری کلیه پرسنل مراکز تکثیر و پرورش میگو کلاهی و مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه که در به ثمر رسیدن این مجموعه نقش داشته اند تشکر و قدردانی می شود.

نهایت درصد بازماندگی آنها داشته است. در نتیجه به علت شرایط گوناگون آب و هوایی در مناطق مختلف تکثیر و پرورش میگو در کشور و همچنین نیاز به انتقال طولانی مدت لاروها و بچه میگوها تا مراکز پرورش میگو افزایش مقاومت لاروها و تولید بچه میگوهای سفید هندی با کیفیت عالی امری ضروری است. در پایان به علت اهمیت موضوع و با توجه به اینکه در ایران معمولاً میگوها در مراحل PL-۱۲ تا PL-۱۵ به استخرهای پرورشی معرفی می‌شوند، به دلیل بهبود کیفیت بچه میگوها و افزایش مقاومت آنها در زمان حمل و نقل، ذخیره‌سازی و در نهایت افزایش تولید در مراکز تکثیر و پرورش میگوی کشور پیشنهاد می‌شود که: با کاربرد روش غنی‌سازی آرتمیا و یا با استفاده از جیره‌های غذایی متعادل شده با مقدار قابل قبول از اسیدهای چرب بلند زنجیره (۳۰-۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و نسبت‌های بالاتر از یک DHA به EPA (۲/۵-

منابع

- ۱-یزدی صمدی، بهمن، عبدالمجید رضایی، مصطفی ولی زاده، ۱۳۷۹. طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی. انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۲۳۴۶، تهران، ص ۷۶۴.
- 2-Bauman, R.H., Jamandre, D.R., 1990. A Practical Method for Determining Quality of *Penaeus monodon* (Fabricus) Fry for Stocking in Grow-out Ponds, Technical and Economic Aspects of Shrimpfarming, Proceeding of the Aquatec90, Conference, Kualalumpure, Malaysia, INFOFISH, 124-137
- 3-Bauman, R.H; Scura, E.D., 1990. Determining the Quality of *Penaeus monodon* Postlarvae, Abstracts World- Aquaculture 90, National Research Council Canada, Ottawa, Ontario, Canada, 101/T30.2
- 4-Cavali, R.O., Hernandez-Herrera, R., Racotta, I.S., Lavens, R., and Sorgeloos, P., 2001. The use of an Ammonia Stress Test as a Tool to Evaluate Larval Quality, Larvi2001. Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Aquaculture Society, Special Publication, No.30, Oostende, Belgium. Pp.125-128
- 5-Coutteau, P., and Sorgeloos, P., 1997. Manipulation of Dietary Lipids, Fatty Acids and Vitamins in Zooplankton Cultures. Freshwater Biology, 38, 501-512.
- 6-Dhert, Ph., Lavens, P., and Sorgeloos, P., 1992. A simple Test for Quality Evaluation of Cultured Fry of Marine Fish, Med, Landbou, Univ. Gent, 57/4b. 2135-2142.

- 7-Dhert, Ph., Lavens, P., and Sorgeloos, P., 1994. Stress Evaluation: a Tool for Quality Control of Hatchery-Produced Shrimp and Fish Fry, *Aquaculture, Europe*, 2, 6-10.
- 8-Gomez, R.O., Rodrigues, J.M., and Morales, J., 1991. Stress-Test: a Practical Tool to Control Postlarval Shrimp quality, Larvi91, Fish & Shellfish Larviculture Symposium, 27-30 August, Gent, Belgium. Special Publication, European Aquaculture Society, 15, pp.358-360.
- 9-Kontara, E.K.M., Coutteau, P., and Sorgeloos, P., 1997. Effect of Dietary Phospholipid on Requirements for and Incorporation of n-3 Highly Unsaturated Fatty Acids in Postlarval *Penaeus Japonicus* Bate. *Aquaculture* 158, 305-320.
- 10-Kumlu, M., Jonnes, D.A., 1995. Salinity Tolerance of Hatchery-Reared Postlarvae of *Penaeus Indicus* H. milne Edwards Originating From India, *Aquaculture* 130, 287-296.
- 11-Leger, P., Naessens-Foucuaert, E., and Sorgeloos, P., 1987. International Study on Artemia: XXXV. Techniques to Manipulate the Fatty Acid Profile in Artemia Nauplii and the Effect on Its Nutritional Effectiveness' for the Marine Crustacean Mysidopsis Bohia (M.), Artemia Research and its Application, Vol., 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, Universa Press, Wetteren, Belgium. pp.411-424.
- 12-Leger, Ph., and Sorgeloos, P., 1992. Optimized Feeding Regimes in Shrimp Hatcheries, Culture of Marine Shrimp: Principles and Practices, Elsevier Science Publishers, New York, pp.225-244.
- 13-Lignot, J.H., Cochard, J.G., Soyez, C., Lemarine, P., and Charmantier, G., 1999. Hemolymph Osmolality According to Nutritional Status, Molting Stage and Body Weight of *Penaeus Stylirostris*, *Aquaculture* 170, 79-92.
- 14-Parado-Esteba, F.D., Feraris, R.P., Ladja, J.M., and Dejensus, E.G., 1987. Responses of Intermolt *Penaeus indicus* to Large Fluctuations in Environmental Salinity. *Aquaculture* 64, 175-184.
- 15-Ress, J.F., Cure, K., Piyatiratitivorakul, S., Sorgeloos, P., and Menasveta, P., 1994a. Highly Unsaturated Fatty Acid Requirements of *Penaeus Monodon* Postlarvae, An Experimental Approach Based on Artemia Enrichment, *Aquaculture* 122, 193-
- 16-Ress, J.F., Cure, K., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., and Sorgeloos, P., 1994b. Osmotic Stress Resistance as a Quality Diagnostic for Penaeid Postlarvae, The Third Asian Forum, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. pp.1025-1028.
- 17-Samocho, T.M., Guajardo, H., Lawrence, A.L., Castle, F.L., Speed, M., Mckee, D.A., and Page, K.I., 1998. A Simple Stress Test for *Penaeus vannamei* Postlarvae, *Aquaculture* 165, 233-242.
- 18-Tackaert, W., Abeline, P., Dhert, Ph., and Sorgeloos, P., 1989. Stress Resistance in Postlarval Penaeid Shrimp Reared Under Different Feeding Procedure, *J. World Aquaculture, Soc.*, 20:74A.
- 19-Wouters, R., Hauwaert, A.V., Naessens, E., Ramos, X., Pedrazzoli, A., and Lavens, P., 1997. The Effect of Dietary n-3HUFA and 22:6n-3/20:5n-3 Ratio on White Shrimp Larvae and Postlarvae, *J. Aquaculture International*, 5, 113-126.
- 20- Yashiro, R., 1987. The Effect of Artemia Fed With Different Diets on the Growth and Survival of *Penaeus Monodon* Fabricius Postlarvae, Artemia Research and its Application, Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, Universa press, Wetteren, Belgium. pp.447-457.

The Effects of n-3HUFA on the Osmotic Stress Resistance of Postlarval *Fenneropenaeus indicus*

Gh.Azari Takami¹O.Tabiee²M.Shakouri³N.Agh⁴

Abstract

This study was conducted to determine the resistance of *Fenneropenaeus indicus* to osmotic stress. PL-1 of *Fenneropenaeus indicus* were reared for 15 days on *Artemia urmiana* nauplii enriched with various levels of n-3HUFA. On days 10 and 15, their resistance to osmotic stress, transfer from 33 ppt to 0 and 6 ppt, for 30 and 60 minutes were analyzed. In PL-10 and PL-15, Postlarvae fed with *Artemia* containing 33/8 mg/g DW n-3 HUFA and DHA/EPA ratio of 2/5, had a significantly higher resistance in 80% and 100% reduced salinity ($P < 0.001$). Also, there is positive and significant correlation observed between DHA/EPA ratio in *Artemia* and osmotic stress resistance (Oppt) in PL-10 ($r = 0.99$, $P < 0.05$) and PL-15 ($r = 0.96$, $P < 0.01$). On the other hand, a significant correlation was found between the osmotic stress resistance of PL-10 in 6 and 0 ppt for 30 minutes as well as the survival recorded in five days later in each tank ($r = 0.87$, $P < 0.05$; $r = 0.85$, $P < 0.05$). It is concluded that resistance to osmotic stress is a rapid, inexpensive and valuable quality indicator for postlarval penaeidae shrimp.

Keywords: Osmotic stress, Postlarvae, Enrichment, *Artemia urmiana*, Stress resistance, HUFA.

¹ - Professor, Aquaculture, Faculty of Veterinary, University of Tehran

² - Instructor, Azad University of Arsanjan, Fars, Iran (E-mail: Tabiee@jaua.ac.ir)

³ - Member, scientific Board, Iranian Fisheries

⁴ - Instructor, Artemia and Aquatic Animals Research Center, University of Urmia