در
امور دام و آبزیان شماره ۷۴، بهار ۱۳۸۶
پژوهش و سازندگی

بررسی اثرات تغذیه لاروی میگوی سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) از روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (EPA و DHA) و ویتامین C

• **مازیار یحیوی**
دانشجوی دکتری شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
• **قباد آذری تاکامی**
استاد گروه بهداشت و بیماریهای آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: دیماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۴

Email: maziar-yahyavi@yahoo.com

چکیده

اثرات روتیفرهای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C بر روی فاکتورهای رشد وبازماندگی در مراحل تغذیه لاروی میگوی سفید هندی مورد بررسی قرار گرفت . لاروها با ناپلی تازه تخم گشائی شده آرتمیا (تیمار شاهد) ؛ روتیفرهای پرورش یافته بر 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 وآسکوربیل پالمیتات (تیمار ۳) تغذیه گردیدند. بیشترین میزان DHA درتیمارهای غذایی مورد آزمایش درتیمارهای ۲ (۲/۸) و ۳ (۲/۱۹) مشاهده شد که درسطح (۰/۰۵) با تیمارهای ۱ (۰/۴) و شاهد (۰/۱) دارای تفاوت معنی دارمی باشند. همچنین نسبت DHA / EPA نیزدربین تیمارهای غذایی دارای تفاوت معنی داربوده وبیشترین آن درتیمارهای ۲ (۰/۶۵) و ۳ (۰/۷۲) رویت گردید. کمترین میزان این نسبت درتیمارهای ۱ (۰/۰۵) و شاهد (۰/۰۱) ثبت شد. میزان EPA و نسبت $n-3 / n-6$ در بین تیمارها درست عکس مقادیر بالامی باشد بطوریکه بیشترین مقداردرتیمارهای ۱ وشاهد مشاهده شده وتیمارهای ۲ و ۳ کمترین میزان را دارا بودند . تغییرات این اسیدهای چرب در بافت لاروهای تغذیه شده با آن تیمارها نیز به همان ترتیب بالا می‌باشد . براین اساس نیز بیشترین رشد و بازماندگی در مرحله PL۱ درتیمارهای ۲ و ۳ که بترتیب با اسیدهای چرب غیراشباع واسیدهای چرب غیراشباع به همراه ویتامین C غنی سازی شده اند مشاهده گردید. که دارای اختلاف معنی داربا تیمار ۱ وشاهد می‌باشند ($p < ۰/۰۵$) . همچنین کمترین رشد وبازماندگی دراین مرحله در تیمارشاهد رویت شد . اما درمرحله PL۵ بیشترین رشد وبازماندگی مربوط به تیمارشاهد بوده که دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها است ودر بین تیمارهای آزمایشی دو تیمار ۲ و ۳ دارای رشد و بازماندگی بالاتری نسبت به تیمار ۱ بوده که تفاوت آنها نیزمعنی داراست ($p<۰/۰۵$).

کلمات کلیدی: لارو؛ میگوی سفید هندی ؛ روتیفر؛ غنی سازی؛ اسیدهای چرب غیراشباع ؛ ویتامین C

Pajouhesh & Sazandegi No 74 pp: 140-149

The study of Indian white shrimp larvae feeding (*Fenneropenaeus indicus*) by enriched rotifer with Unisaturated Fatty Acids (DHA, EPA) and Vitamin C

By: Yahyavi M. . PhD. of Fishery, Bandar abbas nuit Islamic Azad university, Azari Takami GH Professor of Aquatic Health & Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran.

The effects of enriched rotifers with highly unsaturated fatty acids and vitamin C on the growth factors and survivals of fenneropenaeus indicus has been evaluated during larval feed stage. Larvae were fed newly hatched Artemia nauplii (Control); rotifers cultured on Chlorella sp. algae (treatment 1); rotifers enriched with emulsion cod liver oil (treatment 2), and enriched rotifers with emulsion cod liver oil and ascorbyl palmitate (treatment 3). Most concentrations which at a level of (0.05) with treatments 1 (0.4) and control have shown a significant difference. Teh ratio of DHA/EPA among dietary treatments had a significant difference and the most difference occurred in treatment 2 (0.65) and 3 (0.72) and and the least ratio has been recorded for treatment 1 (0/05) and control (0/01). The level of EPA and the ratio of n-3/n-6 among the treatments shows exactly the reciprocal with the values mentioned above so as the most values have been observed in treatments 1 and control while treatment 2 and 3 had the least values. The variation of these fatty acids in the tissues of larvae fed withy dietary treatments are in the same order of the above. Therefore on this basis most of the growth and the survival enhancement observed at postlarval 1 (Pl1) in treatments 2 and 3 have been enriched with unsaturaed faty acids and unsaturated fatty acids with vitamin C respectively. This shows a significant difference with treatment 1 and control ($P<0.05$). Also the lowest growth and survival rates have been experienced in contol treatment. But in postlarval 5 (PL5) the most growth and survival rates with respect to treatment 1 in which their difference has also been significant ($p<0.05$).

Keywords: Larvae, White Indian Shrimp, Rotifer, Enrichment, Unsaturated Fatty Acids

مقدمه

میگــو یکــی از مهمترین غذاهــای دریایی قابل پــرورش در سراسر دنیا بویژه در منطقه آسیا و از جمله ایران می‌باشد.که دارای کیفیت و ارزش غذایی بالایی بوده و طرفداران زیادی دارد.براساس گزارشات سازمان غذا و کشاورزی جهانی ؛ خانواده پنئیده در حدود ۱۱۰ گونه را در بین میگوهای تجاری تشکیل می‌دهدکه ۸۰ درصد تولیــد جهانــی میگو را به خود اختصاص داده انــد (۴) . با توجه به توســعه طرحهای پرورش میگو در مناطق مســتعد کشور؛ نیاز به لاروهــای با کیفیت بالاجهت این صنعت روز به روز افزایش می‌یابد . پــرورش لارو ؛ بویژه تغذیه اولیه آنهــا یکی از تنگناهای اصلی در ارتقــائ صنعت پرورش آبزیان دریایی از جملــه : ماهیان (هامور ؛ سرخو ؛ ...) ؛ سخت پوستان (میگوهای دریایی ؛ خرچنگ ؛ ...) و نرمتنان (اویستر؛ کلم ؛ ...) می‌باشد (۱۸) .

مطالعات مربوط به نیاز سخت پوستان دریایی به اسیدهای چرب ضروری از اواســط دهه ۱۹۷۰ میلادی آغاز شده است. بررسی‌ها نشان داده اند که عدم برخورداری و همچنین عدم ســنتز سریع اســیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره بویژه اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) واسید دکوزاهگزانوئیک (DHA) توســط لاروهای میگوهای دریایی ؛ رشد و بازماندگی آنها را در مراکز تکثیر کاهش می‌دهد . این دسته از اسیدهای چرب نقش مهمی در فعالیت‌های زیستی و فیزیولوژیکی آبزیان دریایی ایفا می‌نمایند. نقش حیاتی اســیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند ازخانواده امگا سه (HUFA n-۳) (دخالت در ساختار غشایی و حفظ خاصیت ارتجاعی غشــاهای بدن ؛ تنظیم سیســتم اســمزی؛ ســنتز هورمون‌های غدد درون ریز و همچنین فعال نمودن سیســتم ایمنی بدن میگوه است (۱۰). در خصوص اهمیت اسیدهای چرب در میگوی ســفید هندی Colvin (۱) و Read (۱۵) ثابت نموده اند که این میگو توانایی اندکی درتبدیل نمودن اســیدهای چرب غیراشباع چند زنجیره ۱۸ کربنه ســری لینولنیک ولینولئیک به اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره امگا-۳ و امگا-۶ با تعداد ۲۰ و ۲۲ کربنه برخوردار می‌باشد Read (۱۵) اهمیت (۲۰:۵ n-۳) EPA و (۲۲:۶ n-۳) DHA را در رژیم غذایی میگوی سفید هندی گزارش نموده است . همچنین نیازمندی میگوی سفید هندی به EPA و DHA نسبت به سایر اسیدهای چرب بیشتر بوده وموجب افزایش رشد و بازماندگی در میگوی سفید هندی می‌گردد (۱۵) . البته ارزش بالاتر DHA در مقایســه با EPA توســط تعــدادی از محققیــن به اثبات رســیده اســت (۵ ، ۷، ۱۳، ۱۷، ۲۲) . ویتامین‌ها نیز از جمله اســید اســکوربیک در اصلاح کیفیت لاروهای تولیــدی مراکز تکثیر میگو نقش حیاتی دارند. این فرضیه که ویتامین C موجود در جیره‌های غذایی؛ شرایط فیزیولوژیکی در پست لاروهای میگو را بهبود بخشــیده به اثبات رســیده است (۶) . ویتامین C به میزان زیــادی در افزایش وتداوم واکنش‌های ایمنی وســازگاری نقش داشته و فعالیتهای بیولوژیکی مانند جلوگیری از تغییرشکل بدن ؛ رشد و ضریب بازماندگی و فیزیولوژیکی مانند مقاومت در برابر اســترس‌ها ؛ مسمومیت‌ها و فعالیت‌های ایمنی در لاروهای گونه‌های مختلف آبزیان توسط بکارگیری مکمل‌های ویتامین C بهبود می‌یابد (۲۰).

مواد و روش کار

۱ – غنی سازی روتیفر

روتیفرهـای (*Brachionus plicatilis*) مورد نیـاز جهت تغذیه لاروی میگوی سـفید هندی در ابتدا در ظروف ۱/۵ و ۲۰ لیتری کشت داده شده و در نهایـت جهـت تولید انبوه به تانک‌های فایبرگلاس ۳۰۰ لیتری و ۴ تنی در فضای آزاد انتقال و با جلبک‌های کلرلا و تتراسـلمیس تغذیه شدند . پس از افزایش تعداد روتیفرها در ظروف پرورشـی به حدود ۲۰۰ – ۳۰۰ روتیفردرمیلی لیتر؛ سپس در ظروف ۱/۵ لیتری بر اساس روش Dhert (۳) غنی سازی شده وبه ترتیب تیمارها مورد استفاده قرار گرفتند . جهت غنی سازی روتیفرها از جلبک‌های حاوی مقادیربالای از اسیدهای چرب ضروری مانند :جلبک کلرلا و امولسـیون روغن تهیه شده ازروغن کبد ماهی کادکه غنی از اسـیدهای چرب غیراشـباع بلندزنجیره(HUFA) می‌باشند استفاده گردید.

تراکم جلبک کلرلا جهت غنی سـازی در حدود $۱۰^{۶} \times ۵$ سـلول در میلی لیتردر نظر گرفته شـد. جهت تهیه امولسیون روغن برای غنی سازی روتیفرها نیز ازروغن کبد کاد که محصول شـرکت Seven Seas انگلستان می‌باشد که مخلوطی ازآب دریا (۱۰۰ میلی لیتر) ، روغن کبد کاد (۵ میلی لیتر) وزرده تخم مرغ (۱گرم) بوده و همچنین مولتی ویتامین‌ها و ویتامین E نیز بترتیب در حدود ۰/۵ و۰/۱ درصدوزن یاحجم مخلوط روغن نیزاضافه شـده و سپس به مدت ۲ دقیقه توسط همزن مخلوط گشته وآماده مصرف می‌باشد. البته این امولسـیون به مدت یک هفته در یخچال قابل نگهداری خواهد بود.

میزان بکارگیری امولسـیون روغن ۱۵۰ – ۲۵۰ قسـمت در میلیون با توجـه به تراکم روتیفرها تعیین گردید . روتیفرها پس از ۱۲ سـاعت غنی سازی ، برداشت و شستشو شده و جهت تغذیه لاروها بکار گرفته شدند.

همچنیـن جهـت غنی سـازی روتیفرها بـا ویتامین C ازآسـکوربیل پالمیتـات با توجه به خاصیت پایداری وچربی دوسـت بـودن آن به عنوان مکمل این ویتامین اسـتفاده شـد. روش تغلیظ امولسـیون خودبخودی با اسـتفاده از آسـکوربیل پالمیتات یکـی از بهترین روش‌ها در غنی سـازی روتیفرها می‌باشـد. لذا بدین منظور اقدام به تهیه امولسـیون ۲۰ درصدی آسـکوربیل پالمیتات گردید.برای تهیه امولسـیون ابتدا ۲۰ گرم آسکوربیل پالمیتات را به ۵۰ میلی لیتر روغن کبد ماهی کاد و ۵۰ میلی لیتر آب ولرم اضافه و توسـط همزن برقی مخلوط گردید. همچنین حدود ۳ – ۵ میلی لیتر پلی سـوربات سدیم به آن مخلوط اضافه ومجددا اقدام به همزدن آنها کرده تا قطرات ریز روغن تشـکیل گردد سپس این امولسیون قابل استفاده می‌باشـد. میزان وزمان غنی سازی با این امولسـیون در حدود ۰/۶ گرم به ازای هر لیترآب و به مدت ۱۲ ساعت مشخص و استفاده گردید. به طوریکه در نهایت امولسـیونی حاوی آسکوربیل پالمیتات به همراه روغن کبد ماهی کاد در اختیار روتیفرها قرار گرفت .

روتیفرهـای متعلق بـه تیمارهای غذایی متفاوت بطـور منظم نمونه برداری شده و در ۳۰ – درجه سانتیگراد جهت آنالیز متیل استر اسیدهای چـرب بـه روش Roy و Lepage (۱۱) و اسـید آسـکوربیک نیـز به روش Nelis (۱۴) نگهداری و سپس بدین منظور به آزمایشگاه انتقال داده شدند. درآزمایشـگاه ابتدا استراسیدهای چرب مربوطه تهیه و سـپس به دستگاه گاز کروماتوگرافـی(GC) از نـوع Shimadzu – ۸A با سـتون FID تزریق گردیدوبرای تعیین میزان اسیدآسکوربیک نیزازدستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) استفاده شد.

۲ - پرورش لاروهای میگوی سفید هندی

به علت غیرقابل پیش بینی بودن تخم ریزی مولدین ؛ تخم‌های مورد نیـاز جهت شـروع آزمایش از ۳ مولـد مختلف از مرکز تکثیر و بازسـازی ذخایر آبزیان کلاهی به صورت تصادفی تامین و اسـتفاده گردید . بطوریکه ناپلی‌های تازه هچ شـده میگوی سفید هندی تا رسـیدن به مرحله زوآ (۱) در همان تانک‌های ۳۰۰ لیتری تخم ریزی نگهداری شده و سپس در سـطل‌های پلاسـتیکی ۲۰ لیتری که از قبل آب فیلتر شده دریا با شوری ۳۰ – ۳۲ قسمت در هزارکه هوادهی نیز در آن بر قرار می‌باشد و به میزان ۱۵ لیتر آبگیری شـده اند به نسبت ۱۰۰ لارو در لیتر ذخیره سازی شدند . تعداد سطل‌های بکار گرفته شده ۱۲ عدد با توجه به وجود چهار تیمار و۳ تکـرار بـرای هر کدام که درقالب یک طرح کاملا تصادفی به شـرح ذیل ایجاد و تغذیه گردیدند :

۱ – تیمارشـاهد – لاروهای تغذیه شده از ناپلی تازه تخم گشائی شده آرتمیا

۲ – تیمار ۱ آزمایش - لاروهای تغذیه شده از روتیفرهای پرورش یافته برروی جلبک کلرلا

۳ – تیمار۲ آزمایش – لاروهای تغذیه شـده ازروتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد

۴ – تیمار۳ آزمایش – لاروهای تغذیه شـده از روتیفرهای غنی شده با امولسیون روغن کبد ماهی کاد و آسکوربیل پالمیتات

دراین مرحله همچنین به طورروزانه فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب شـامل: دما ؛ اکسیژن محلول ؛ pH وشـوری اندازه گیری وثبت گردید. که مقایسه میانگین‌ها حاکی ازعدم معنی‌دار بودن فاکتورهای بیان شده در بین تیمارها درطول دوره پرورش می‌باشد.

بررسی عملکرد رشد و بازماندگی لاروها

در این مرحله از هر سـطل مربوط به تیمارها و تکرارهای مختلف ۱۰ لارو بـه طور تصادفی در مرحلـه PL۱ وبعد درمرحله PL۵ نمونـه برداری نموده و سپس طول کل و طول کاراپاس توسط کولیس و میکرومتر چشمی اندازه گیری و تعداد دندانه‌های بالای روسـتروم شمارش شد.جهت تعیین وزن خشـک ؛ آنها را در دمای ۶۰ درجه سـانتیگراد به مدت ۲۴ سـاعت درکوره قرار داده وسـپس توسط ترازوی حساس با دقت۰/۰۰۰۱ گرم وزن خشـک آنها مشخص گردید . همچنین درهر یک از مراحل یادشده درصد بازماندگـی با توجه به ذخیره سـازی اولیه تعیین گردیـد. نمونه لاروهای برداشت شـده از هر تیمار نیز جهت تعیین پروفیل اسیدهای چرب مطابق روش‌های بکارگرفته شـده بـرای آنالیـز تیمارهای غذایی مـورد آزمایش درآزمایشگاه بررسی گردیدند .

آنالیز آماری

فاکتورهای رشـد شـامل : طول کل ؛ طول کاراپاس ؛ تعداد دندانه‌های بالای روسـتروم و وزن خشک به همراه درصد بازماندگی لاروها ابتدا تحت آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) قرارگرفته وسـپس توسط آزمون‌های

چند دامنه‌ای ؛ اختلافات معنی‌دار در بین تیمارها 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 – ۶ / n – ۳ مربوط به تیمارهای غذایی مورد آزمایش در جدول ۱ ارائه گردیده است. میزان EPA در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین مقدار مربوط به تیمارهای ۱ (۸/۰) و شاهد (۸/۳) بوده که با یکدیگر نیز تفاوت معنی‌دار ندارند وکمترین آن مربوط به تیمار۳ (۳/۰۳) و ۲ (۴/۳) است. که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند . ازطرفی مقدار DHA دربین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده وبیشترین میزان مربوط به تیمار ۲ (۲/۸) وبعد تیمار۳ (۱۹/ ۲) می‌باشد که تفاوت آنها معنی‌دار است . درصورتی که کمترین میزان در تیمارهای ۱ (۰/۴) وشاهد (۰/۱) دیده شده که با یکدیگرنیز اختلاف معنی‌داری ندارند . نسبت DHA / EPA در تیمار ۳ (۰/۷۲) ودر تیمار۲ (۰/۶۵) که بیشترین مقداربوده وبا یکدیگرنیزتفاوت معنی‌داری ندارند. اما درتیمارهای۱ (۰/۰۵) وشاهد (۰/۰۱) کمترین میزان دیده شده که با هم نیزاختلاف معنی‌داری نداشته در صورتی که با تیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری دارند.

همچنین نسبت n – ۶ / n – ۳ نیز در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین میزان در تیمار شاهد (۴/۲۳) مشاهده گردید. تیمارهای۱(۱/۸۴)، ۲ (۱/۶۷) و۳ (۱/۴۴) نیز به ترتیب بعد از تیمار شاهد قرار می‌گیرند. بطوریکه تیمارهای ۱ و ۲ وتیمارهای ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

۲ - میانگین اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک (EPA) ؛ دکوزاهگزانوئیک (DHA) ؛ نسبتهای DHA / EPA و n – ۶ / n – ۳ دربافت لاروهای میگودرمراحل PL۱ وPL۵ درجدول ۲ و۳ مشاهده می‌گردد . همانطورکه مشاهده می‌شود میزان EPA در تیمارهای۱ و شاهد درهردومرحله PL۱ و PL۵ لاروی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته ولی بیشتر از تیمارهای ۲ و ۳ می‌باشند که اختلاف آنها معنی‌دار است. همچنین میزان DHA دربین تیمارها درهردومرحله لاروی دارای تفاوت معنی داربوده وبیشترین آن درتیمار ۲ وبعد تیمارهای ۳ ؛ ۱ و شاهد دیده می‌شود. نسبت DHA / EPA نیز دربین تیمارها درهردومرحله PL۱ , PL۵ دارای تفاوت معنی‌دار بوده وبیشترین میزان آن نسبت درتیمار۳ وبعد در تیمار ۲ دیده می‌شود. کمترین مقدار این نسبت در تیمارهای ۱ و شاهد که با یکدیگرنیزاختلاف معنی‌دار ندارند وجود دارد.

یکی دیگر از نسبتهای که در این تحقیق مورد توجه قرار گرفته نسبت n – ۶ / n – ۳ می‌باشد. این نسبت نیز در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده بطوریکه درمرحله PL۱ بیشترین میزان درتیمارشاهدوبعداز آن درتیمار۱ دیده شده که با یکدیگرنیزتفاوت معنی‌دار دارند. اما کمترین میزان درتیمارهای ۲ و۳ وجود داشته که با هم نیز اختلاف معنی‌داری نداشته ولی با دوتیمارشاهد و۱ دارای اختلاف معنی دارمی باشند. درمرحله PL۵ نیزبیشترین میزان این نسبت درتیمارهای ۱ وشاهد مشاهده شد.که با یکدیگرتفاوت معنی‌دار نداشته ولی با تیمارهای ۲ و۳ که کمترین مقدار آن نسبت را دارا هستند دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. تیمار۲و۳ نیز با یکدیگرتفاوت معنی‌دار ندارند.

۳ – میزان اسیدآسکوربیک (برحسب میکروگرم / گرم وزن خشک)تیمارهای غذایی مورد آزمایش درشکل ۱ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها درجدول۴ نشان داد که در بین تیمارهای غذایی آزمایشی تفاوت معنی‌داری ازنظر میزان اسیدآسکوربیک دیده می‌شود.بطوریکه بیشترین میزان آن مربوط به تیمار۳ (۱۸۶۰) بوده که با آسکوربیل پالمیتات غنی سازی شده اند و کمترین آن مربوط به روتیفرهای تیمار ۲ (۴۵۰) می‌باشد. میزان اسیدآسکوربیک در تیمارشاهد (۵۲۰) بوده ودرروتیفرهای تیمار ۱ که صرفا با جلبک کلرلا تغذیه شده اند (۷۸۰) تعیین گردید .

۴ – میانگین فاکتورهای رشد و بازماندگی لاروهای میگوی تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش در مراحل PL۱ درجداول ۵ ارائه گردیده است . در این بررسی طول کل ؛ طول کاراپاس؛ تعداد دندانه‌های بالای روستروم ؛ وزن خشک و درصد بازماندگی لاروهای هرتیمار اندازه گیری و

جدول ۱ – میانگین اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره در تیمارهای غذایی مورد آزمایش

تیمارها	EPA	DHA	DHA / EPA	n – ۳ / n – ۶
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
تیمار شاهد	۸/۰۰ ± ۰/۵۲۰ a	۰/۱۰۰ ± ۰/۰۰ c	۰/۰۱۰ ± ۰/۰۰ b	۴/۲۳۰ ± ۰/۱۳۰ a
تیمار ۱	۸/۳۰۰ ± ۱/۲۰۰ a	۰/۴۰۰ ± ۰/۰۵۰ c	۰/۰۵۰ ± ۰/۰۰ b	۱/۸۴۰ ± ۰/۳۲۰ b
تیمار ۲	۴/۳۰۰ ± ۰/۰۲۰ b	۲/۸۰۰ ± ۰/۳۰۰ a	۰/۶۵۰ ± ۰/۰۷۰ a	۱/۶۷۰ ± ۰/۱۴۰ bc
تیمار ۳	۳/۰۳۰ ± ۰/۱۵۰ c	۲/۱۹۰ ± ۰/۳۸۰ b	۰/۷۲۰ ± ۰/۰۹۰ a	۱/۴۴۰ ± ۰/۰۹۰ c

سطوح اختلاف توسط حروف d , c , b , a نشان داده شده‌اند

تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد

جدول ۲ - میانگین اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره دربافت لاروهای میگودر مرحله PL۱

تیمارها	EPA	DHA	DHA / EPA	n-۳ / n-۶
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
تیمارشاهد	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

سطوح اختلاف توسط حروف d , c , b , a نشان داده شده‌اند

تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد

جدول ۳ – میانگین اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیره دربافت لاروهای میگودر مرحله PL۵

تیمارها	EPA	DHA	DHA / EPA	n-۳ / n-۶
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
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

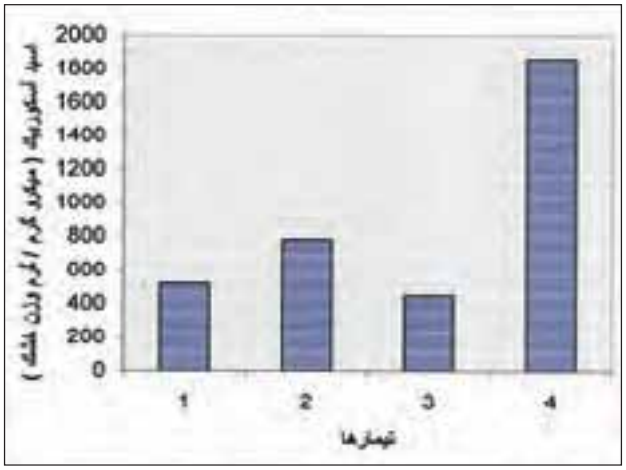
سطوح اختلاف توسط حروف d , c , b , a نشان داده شده‌اند

تعداد نمونه‌ها در هرگروه ۳ = n می‌باشد

ثبت گردید .طول کل دربین تیمارهای ۲ و۳ تفاوت معنی‌داری نداشته ولی با تیمارهای ۱ وشاهد دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند. بیشترین میزان طول کل مربوط به تیمار ۳ وبعد تیمار ۲ بوده که توسط امولسیون روغن غنی سازی شده بودند . طول کاراپاس نیزبین تیمارهای۲ و۳ تفاوت معنی‌داری نداشته و با تیمار۱ و شاهد دارای اختلاف می‌باشند. بیشترین مقدار مربوط به تیمارهای ۳ و۲ بوده وکمترین آن مربوط به تیمارشاهد است.

تعداددندانه‌های بالای روستروم درتیمارهای۲ و۳ بالاترین میزان بوده وتفاوت معنی‌داری با هم نداشته ولی با تیمارهای ۱ و شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بوده وکمترین آن مربوط به تیمار شاهد می‌باشد . وزن خشک درتیمارهای۲ و۳ بالاترین مقدار بوده و دارای تفاوت معنی دارنمی باشند. وازطرفی با تیمارهای ۱ وشاهد دارای اختلاف معنی داربوده و کمترین آن مربوط به تیمارشاهد است. درصد بازماندگی دربین چهار تیمار دارای تفاوت معنی دارمی باشد.بیشترین درصد بازماندگی دربین تیمارها مربوط به تیمار۳ بوده که علاوه برغنی سازی با امولسیون روغن کبد ماهی کاد با آسکوربیل پالمیتات نیزغنی سازی شده است. بعداز آن به ترتیب تیمارهای ۲ ؛ ۱ وشاهد قراردارند. همانطور که مشخص است کمترین مقدارمربوط به تیمار شاهد می‌باشد.

۵ – میانگین فاکتورهای رشد و بازماندگی لاروهای میگوی سفید هندی در مرحله PL۵ تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش در جدول ۶ مشاهده می‌گردد. دراین مرحله ؛ طول کل دارای تفاوت معنی‌دار بوده بطوریکه بیشترین میزان مربوط به تیمار شاهد است . بعدازآن تیمارهای۲ و ۳ قرار گرفته که با یکدیگر نیز اختلاف معنی‌داری



شکل ۱ – میزان اسید آسکوربیک در تیمارهای غذایی مورد آزمایش:
(۱) تیمارشاهد؛ (۲)تیمار۱آزمایش؛ (۳) تیمار۲ آزمایش؛ (۴) تیمار۳ آزمایش

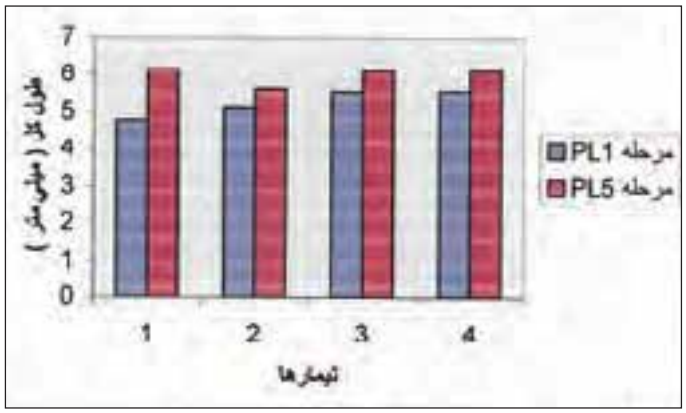
ندارنـد. تیمار ۱ کمترین طول کل را داراسـت . طـول کاراپاس نیز در تیمارشـاهد دارای بیشترین مقدار بوده و با سـایرتیمارها تفاوت معنـی‌دار دارد. اما تیمارهای ۲و۳ تفاوت معنی‌داری با هم نداشـته و در رتبـه دوم قرارگرفته‌اند.کمتریـن میزان نیز مربوط بـه تیمار۱ می‌باشد.

تعـداد دندانه‌های بالای روسـتروم نیزدربیـن تیمارهـا دارای تفاوت معنی داربوده وبیشـترین آن درتیمار شـاهد دیده می‌شـود. بعدازتیمارشـاهد ؛ تیمارهای ۲ و۳ قرار داشـته که بـا یکدیگر نیز اختـلاف معنی‌داری ندارند و کمترین میزان مربـوط به تیمار۱ بوده که این تیمـار نیز با تیمار۲ اختلاف معنی‌داری ندارد. وزن خشـک نیزدر بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. بطوریکه بیشترین مقداردرتیمار شـاهد مشاهده شـده وبعد از آن بترتیب تیمارهای۳ ؛ ۲ و۱ قرارداشـتند.تیمارهای ۲ و۳ اختلاف معنی‌داری با هم نداشته ولی با تیمار۱ که کمترین میزان را دارا است دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند. درصد بازماندگی نیزدربین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشـترین میزان درتیمارشاهدمشـاهده گردید. تیمارهـای۳ و۲ دررتبـه بعدی قرار داشـته وبـا یکدیگرنیزاختلاف معنـی‌داری ندارند.کمترین بازماندگی در تیمار ۱ رویت گردید.

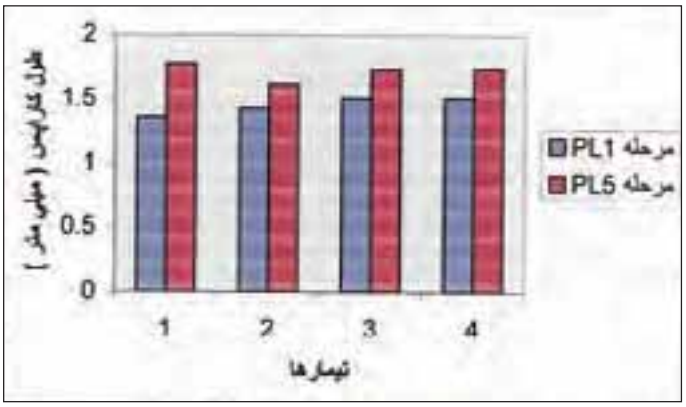
بحث

چندین مطالعه اثرات مثبت غذاهای زنده غنی‌سـازی شـده را بر روی عملکرد رشـد گونه‌های مختلف آبزیان پرورشـی شرح داده اند. لاروهای Striped bass و Palmetto bass تغذیه شـده با ناپلی آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره؛ بهترین رشـد و بازماندگی را نشـان داده اند (۱۹) . لاروهای Gilthead sea bream زمانیکه از روتیفرهای غنی سـازی شـده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره از خانواده امگا – ۳ تغذیه می‌نمایند بیشترین رشد را نشـان می‌دهند (۱۳) . Sorgeloos, leger (۱۰) شرح داده انـد که یک جیـره غذایی حاوی درصد بالای از اسـیدهای چـرب غیراشـباع بلندزنجیره یافته اند که قادراست رشد و بازماندگی لاروها وپست لاروهای میگوی سـفید را اصلاح نماید. نتایج مشابهی توسط Millamena وهمکاران (۱۲) درارتباط با پسـت لاروهای *P.mondon* به‌دست آمده ؛ در حالی که Rees وهمکاران (۱۶) افزایش بازماندگی را به اثبات رسـانده انـد . لاروRed sea bream زمانیکه از روتیفرهای غنی شده با DHA بالا تغذیه نموده است رشد بهترو بازماندگی بالاتر را ازخود نشـان می‌دهد (۲۱) . Mourente وهمـکاران (۱۳) گزارش کرده اند که بهترین نرخ رشد در لارو Gilthead sea bream زمانیکه به آنها روتیفرهای غنی شده با نسبت‌های بالای DHA / EPA داده شده مشاهده می‌شود. Leger و همکاران (۹) شرح داده اند که میزان EPA و DHA درجیرهای غذایی لارو میگو در مرحله زوآ یک فاکتور اصلی برروی رشد وبازماندگی آنها در مراحل بعدی پرورش می‌باشد.

در ایـن مطالعـه نیز میـزان DHA وهمچنین نسـبت DHA / EPA درتیمارهـای غذایی مورد آزمایش دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشـترین آنها مربوط به تیمارهای ۲ و ۳ که غنی سـازی شده اند



شکل ۲ – طول کل لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش :
(۱) تیمارشاهد ؛ (۲) تیمار۱ آزمایش ؛ (۳) تیمار ۲ آزمایش ؛ (۴) تیمار ۳ آزمایش



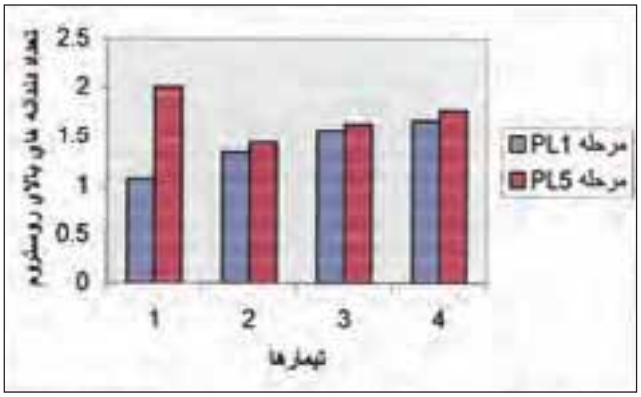
شکل ۳ – طول کاراپاس لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش :
(۱) تیمار شاهد ؛ (۲) تیمار ۱ آزمایش ؛ (۳) تیمار ۲ آزمایش ؛ (۴) تیمار ۳ آزمایش

جدول ۴ - میانگین اسیدآسکوربیک درتیمارهای غذایی مورد آزمایش

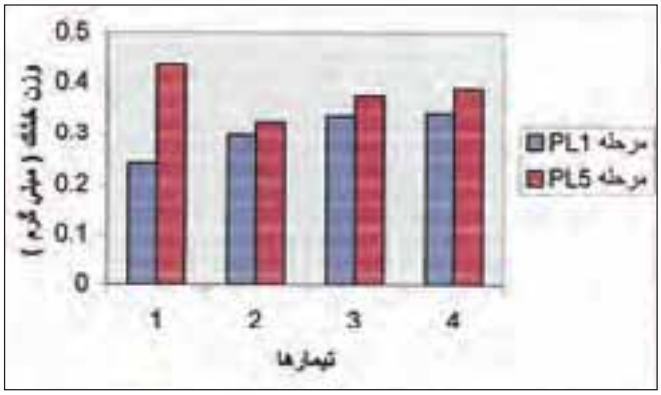
تیمارها	تعداد	Mean ± SD	سطوح اختلاف
تیمار شاهد	۳	۵۲۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰	c
تیمار ۱	۳	۷۸۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰	b
تیمار ۲	۳	۴۵۰/۰۰ ± ۱۰/۰۰	d
تیمار ۳	۳	۱۸۶۰/۰۰ ± ۲۰/۰۰	a

می‌باشد. از طرفی میزان EPA ونسبت n – ۳ / n – ۶ درتیمارهای۱ وشاهد بیشترازتیمارهای ۲ و۳ می‌باشند . برهمین اساس در بافت لاروهای میگوی سفید هندی تغذیه شده از تیمارهای غذایی مورد آزمایش درمراحل PL۱ و PL۵نیز بیشترین میزان DHA ونسبت DHA / EPA درتیمارهای ۲ و۳ مشاهده گردید.ولی بیشترین میزان EPA و نسبت n – ۳ / n – ۶ مربوط به تیمارهای ۱ و شاهد است. ازآنجائیکه بالاترین میزان نسبت DHA / EPA دربافت لاروهای میگو مربوط به تیمارهای ۲ و۳ که غنی سازی شده اند می‌باشد . درحالی که تیمار ۱ کمترین میزان را داراست . این موضوع حاکی از آن است که ارزش بیولوژیکی DHA بالاتر از EPA در گونه‌های دریایی بویژه میگو بوده که این واقعیت با یافته‌های Koven و همکاران (۸) و Watanabe و همکاران (۲۱) مطابقت دارد . ازطرفی بیشترین میزان طول کل؛ طول کاراپاس ؛ تعداد دندانه‌های بالای روسترووم و وزن خشک درمرحله PL۱ لاروی در تیمارهای ۲ و ۳ رویت گردید که دارای تفاوت معنی‌دار با تیمارهای ۱ وشاهد می‌باشند. این وضعیت به سبب غنی سازی تیمار ۲ با امولسیون روغن کبد ماهی کاد وتیمار ۳ با امولسیون روغن کبد ماهی کاد به همراه آسکوربیل پالمیتات است وحاکی از تاثیرمثبت میزان بالایDHA ونسبت DHA / EPA بر فاکتورهای رشد لاروهای میگو در مرحله PL۱ می‌باشد. همچنین بازماندگی لاروها نیز در این مرحله در بین تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین درصد بازماندگی در تیمار ۳ و بعد از آن به ترتیب در تیمارهای ۲ ؛ ۱ و شاهد مشاهده گردید. که این به سبب غنی سازی شدن تیمار ۳ با اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیره بلند و ویتامین C می‌باشد. لذا براین اساس میتوان روتیفر را به عنوان یک غذای زنده مناسب در ابتدای مراحل لاروی میگوبه حساب آورد.

اما در مرحله PL۵ بیشترین طول کل ؛ طول کاراپاس ؛تعداد دندانه‌های بالای روسترووم و وزن خشک مربوط به تیمارشاهد بوده که با سایرتیمارها تفاوت معنی‌دار دارد و بعد از آن به ترتیب تیمارهای ۳ ؛ ۲ و۱ قرار دارند .تیمارهای ۲ و۳ دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگرنبوده ولی تفاوت آنها با تیمار ۱ معنی‌دار می‌باشد. در این مرحله تیمار شاهد به سبب سایز مناسب تر جهت لاروهای پرورشی بیشتر مورد توجه وتغذیه قرار گرفته و سبب تاثیر مثبت بر فاکتورهای رشد و بازماندگی شده است . اما در بین تیمارهای آزمایشی نیز تیمارهای ۳ و۲ به سبب غنی سازی شدن با امولسیون روغن کبدماهی کاد و آسکوربیل پالمیتات دارای فاکتورهای



شکل ۴ – تعداد دندانه‌های بالای روستروم لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش : (۱) تیمار شاهد ؛ (۲) تیمار ۱ آزمایش ؛ (۳) تیمار ۲ آزمایش ؛ (۴) تیمار ۳ آزمایش



شکل ۵ – وزن خشک لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش : (۱) تیمار شاهد ؛ (۲) تیمار ۱ آزمایش ؛ (۳) تیمار ۲ آزمایش ؛ (۴) تیمار ۳ آزمایش

جدول ۵ – میانگین فاکتورهای رشد و بازماندگی لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی موردآزمایش در مرحله PL۱

تیمارها	طول کل (میلی متر)	طول کاراپاس (میلی متر)	تعداددندانه‌های بالای روستروم	وزن خشک (میلی گرم)	بازماندگی (درصد)
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
تیمار شاهد	۴/۷۷۷ ± ۰/۰۴۵ c	۱/۳۶۲ ۰±/۰۱۱ c	۱/۰۶۷ ± ۰/۲۵۴ c	۰/۲۴۱ ± ۰/۰۱۴ c	۵۴/۰۰۰ ± ۲/۰۰۰ d
تیمار ۱	۵/۱۲۲ ± ۰/۰۲۵ b	۱/۴۳۲ ۰±/۰۱۴ b	۱/۳۳۳ ± ۰/۴۷۹ b	۰/۲۹۵ ± ۰/۰۱۰ b	۶۲/۰۰۰ ± ۲/۰۰۰ c
تیمار ۲	۵/۵۲۸ ± ۰/۰۱۰ a	۱/۵۰۹ ۰±/۰۱۲ a	۱/۵۶۷ ± ۰/۵۰۴ a	۰/۳۳۶ ± ۰/۰۱۶ a	۶۶/۳۳۳ ± ۱/۵۲۷ b
تیمار ۳	۵/۵۴۳ ± ۰/۰۳۳ a	۱/۵۱۰ ± ۰/۰۱۱ a	۱/۶۶۷ ± ۰/۴۷۹ a	۰/۳۴۱ ± ۰/۰۱۴ a	۷۳/۶۶۷ ± ۱/۵۲۷ a

سطوح اختلاف توسط حروف a , b , c , d نشان داده شده اند

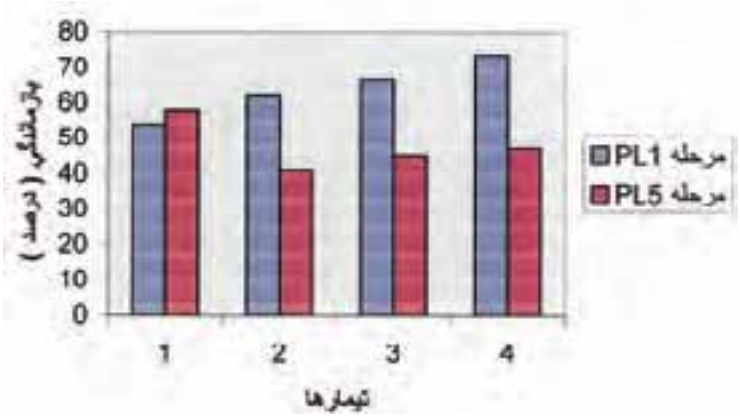
تعداد نمونه‌ها دربررسی فاکتورهای رشد ۳۰ = n و در بازماندگی ۳ = n می‌باشد

جدول ۶ – میانگین فاکتورهای رشد و بازماندگی لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش در مرحله PL۵

تیمارها	طول کل (میلی متر)	طول کاراپاس (میلی متر)	تعداددندانه‌های بالای روستروم	وزن خشک (میلی گرم)	بازماندگی (درصد)
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
تیمار شاهد	۶/۱۴۶ ± ۰/۰۲۴ a	۱/۷۸۳ ± ۰/۰۲۳ a	۲/۰۰۰ ± ۰/۳۷۱ a	۰/۴۳۹ ± ۰/۱۸۶ a	۵۸/۰۰ ± ۱/۷۳۲ a
تیمار ۱	۵/۶۰۵ ± ۰/۰۲۹ c	۱/۶۱۰ ± ۰/۰۱۳ c	۱/۴۳۳ ± ۰/۵۰۴ c	۰/۳۲۴ ± ۰/۰۰۵ c	۴۱/۰۰ ± ۲/۶۴۶ c
تیمار ۲	۶/۰۹۲ ± ۰/۰۲۸ b	۱/۷۲۸ ± ۰/۰۰۷ b	۱/۶۳۳ ± ۰/۴۹۰ bc	۰/۳۷۵ ± ۰/۰۰۹ b	۴۵/۰۰ ± ۱/۰۰ b
تیمار ۳	۶/۱۰۲ ± ۰/۰۱۶ b	۱/۷۳۲ ± ۰/۰۰۸ b	۱/۷۶۷ ± ۰/۴۳۰ b	۰/۳۸۸ ± ۰/۰۰۹ b	۴۷/۰۰ ± ۱/۷۳۲ b

سطوح اختلاف توسط حروف a , b , c , d نشان داده شده اند

تعداد نمونه‌ها دربررسی فاکتورهای رشد ۳۰ = n ودربازماندگی ۳ = n می‌باشد



شکل ۶ – بازماندگی لاروهای تغذیه شده با تیمارهای غذایی مورد آزمایش:
(۱) تیمار شاهد ؛ (۲) تیمار ۱ آزمایش ؛ (۳) تیمار ۲ آزمایش ؛ (۴) تیمار ۳ آزمایش.

رشد وبازماندگی بالاتری نسبت به تیمار ۱ می‌باشند . ویتامین C نیزیکی از مهمترین مواد جهت فعالیت‌های بیولوژیکی آبزیان از قبیل : افزایش مقاومت در برابر استرسهای محیطی وعوامل بیماری زا می‌باشد (۲۳) . از آنجای که ماهیان و سخت پوستان قادر به سنتز این ویتامین نمی باشند (۲) لذا آنها به ذخایراین ویتامین در غذاها وابسته هستند. ویتامین C سبب اصلاح عملکرد رشدوبازماندگی لاروها می‌گردد.اگرچه اسیدهای چرب غیراشباع به تنهایی نیز سبب بهبود پرورش لاروها می‌شوند. اما اثرات سینرژستیک ویتامین C را نیز نمی‌توان در نظر نگرفت همانطورکه در تیمار۳ مشخص می‌باشد. خصوصا اثرات آن برافزایش مقاومت در برابر استرسها به اثبات رسیده است که نتایج آن در مقاله دیگری ارائه خواهد شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات بیدریغ آقایان دکترمحمد صدیق مرتضوی معاون تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس ودریای عمان ؛ مهندس سعید مسندانی معاون تکثیروپرورش آبزیان شیلات هرمزگان ؛ مهندس منصور آزاد کارشناس ارشد شیلات هرمزگان و کلیه پرسنل مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان کلاهی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1 - Colvin , P . M . ; 1976; Nutrition studies on penaeid prawns: Protein requirements compounded diets for juvenile *Penaeus indicus* (Milne Edwards) . Aquaculture , 7 : 315 – 326 .

2 - Dabrowski , K . ; 1990; Ascorbic acid status in the early life of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) . Aquaculture 84 , 61 – 70 .

3 - Dhert , P . ; 1996; Rotifers . In : Sorgeloos , P . ; Lavens P . (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, pp . 49 – 78 .

4– FAO ; 1998; The state of world fisheries and aquaculture Food and Aqriculture Organisation of the United Nations , Rome.

5 - Kanazawa , A . ; 1993 . Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery reared flatfish . Journal of the World Aquaculture Society , 24 , 162 – 166 .

6 - 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, 240 pp .

7 - Koven , W . M . ; Kissil , G . W . & Tandler , A . ; 1989; Lipid and n-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding . Aquaculture 79 , 185 – 191 .

8 - Koven , W . M . ; Tandler , A . ; Sklan , D . and Kissil , G . W . ; 1993; The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different – age *Sparus aurata* larvae with growth . Aquaculture 116 , 71 – 82 .

9 - Leger , P . ; Bieber , G . F . and Sorgeloos , P . ; 1985; International study on Artemia : XXXIII . Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* using a prepared diet as algal Subsitute and for Artemia enrichment . J . World Aquacul. Soc. 16 , 354 – 367 .

10 - Leger , P . & Sorgeloos , P . ; 1992; Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries . Culture of Marine Shrimp . Principles and Practices (Eds A . W . Fast and L . J . Lester) , Elsevier Science Publishers , pp . 225 – 244 .

11 - Lepage , G . and Roy , C . C . ; 1984; Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification . J . Lipid Res . 25 , 1391 – 1396 .

12 - Millamena , O . M . ; Bombeo , R . F . ; Jumalon , N . A . and Simpson , K . L . ; 1988; Effect of various diets on the nutritional value of Artemia sp. as food for the prawn *Penaeus monodon*. Mar . Biol 98 : 217 – 221.

13 - Mourente , G . ; Rodriguez , A . ; Tocher , D . R . & Sargent , J . R . ; 1993; Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:

6n-3) on lipid and fatty acid composition and growth in gillhead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. Aquaculture 112 , 79 – 98 .

14 - Nelis , H . ; Merchie , G . ; Lavens , P . ; Sorgeloos , P . and De Leenheer , A . 1997; Liquid chromatographic determination of vitamin C in aquatic organisms . Journal of Chromatographic Science 35 , 337 – 341 .

15 - Read , G . H . I . ; 1981; The response of *Penaeus indicus* (crusteacea : Penaeidae) to purified and compounded diets of varying fatty acid composition , Aquaculture , 24 : 245 – 256 .

16 - Rees , J . F . ; Cure , K . ; Piyatiratitivorakul , S . ; Sorgeloos, P . and Menasveta , P . ; 1994; Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae : An experimental approach based on Artemia enrichment . Aquaculture , 122 : 193 – 207 .

17 - Sargent , J . R . ; Bell , J . G . ; Bell , M . V . ; Henderson , R. J . & Tocher , D . R . ; 1991; The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish . Proc . of Europ . Soc . Comp . Physiol . Biochem . Experimental aspects of aquaculture. 22 pp .

18 - Sorgeloos , P . ; 1998; Progress in larviculture nutrition of fish and shellfish . XXXIII International Symposium on New Species for Mediterraneah Aquaculture .

19 - Tucker , J . W . ; 1992; Feeding intensively-cultured marine fish larvae . In: Allan , G . L . ; Dall , W . (Eds) ; Proceedings of the Aquaculture Nutrition Workshop , Salamander Bay , 15 – 17 April 1991 . NSW Fisheries , Brackish Water Fish Culture Research Station , Salamander Bay , Australia , pp . 129 – 146 .

20 - Verlhac , V . and Gabodan , J . , 1995; Influence of dietry glucan and vitamin C on non specific and specific immune response of rainbow trout . Aquaculture 143 , 123 – 133 .

21 - Watanabe , T . ; Izquierdo , M . S . ; Takeuchi , T . ; Satoh , S . and Kitajima , C . ; 1989; Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream . Nippon Suisan Gakkaishi 55, 1635 – 1640 .

22 - Watanabe , T . ; 1993; Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish , World Aquaculture Society , Vol . 24 , No. 2: 152 – 161.

23 - Woodward , B . ; 1994; Dietary vitamin requirements of cultured young fish , with emphasis on quantitative estimates for salmonids . Aquaculture 124 : 133 – 168 .