DOR: 20.1001.1.20080026.1400.15.3.4.8

غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا ارومیانا با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا

سما کرمی‌فر[1*]، قباد آذری‌تاکامی[2]، محمود حافظیه[4]

[1] نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان کیلان، رشت، ایران

[2] گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[3] موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۱۰

چکیده

این پژوهش با هدف تأثیر جلبک‌های نانوکلروپسیس اکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) و ایزوکرایسیس گالبانا (*Isochrysis galbana*) بر افزایش درصد اسیدهای چرب غیراشباع به‌خصوص اسیدهای چرب EPA (ایکوزاپنتانوئیک اسید) و DHA (دیکوزا هگزانوئیک اسید) در آرتمیای ارومیه (*Artemia urmiana*) انجام شد. به‌منظور بهینه‌سازی ترکیب غذایی آرتمیا ارومیانا و به دنبال آن افزایش ارزش غذایی آن به‌عنوان غذای زنده مورد استفاده در آبزی‌پروری، غنی‌سازی به‌خصوص در مرحله نائوپلیوس بسیار رایج است. در این آزمایش نتایج تأثیر استفاده از دو نوع ریز جلبک بالا با توجه به ترکیب غذایی آن‌ها، در بازه‌های زمانی مختلف (۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از جذب کیسه زرده نائوپلیوس آرتمیا) به‌منظور افزایش ارزش غذایی نائوپلیوس نام‌برده (در شرایط فیزیکوشیمیایی: شوری ۱۵-۱۰ گرم در لیتر، دمای ۲۶-۲۵ درجه سانتی‌گراد، pH ۸/۵-۸ و نور ۲۰۰۰ لوکس) با تأکید بر EPA و DHA مورد بررسی و با گروه شاهد (گروه گرسنگی داده شده در هنگام غنی‌سازی تیمارها)، نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله بعد از تخم‌گشایی و همچنین بلافاصله بعد از جذب کیسه زرده مقایسه گردید. نتایج غنی‌سازی نشان می‌دهد که بهترین زمان برای غنی‌سازی نائوپلی آرتمیا با جلبک‌های مورد نظر ۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده می‌باشد. نتایج نشان داد که میزان EPA و DHA به‌ترتیب در گونه ایزوکرایسیس گالبانا ۱/۷۴ و ۰/۱۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و در گونه نانوکلروپسیس اکولاتا به‌ترتیب ۱/۲۱۸ و ۰/۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود. به این ترتیب بهترین گونه جلبک برای افزایش میزان EPA ایزوکرایسیس گالبانا با میزان ۱/۷۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و در مورد افزایش DHA جلبک نانو کلروپسیس اکولاتا با میزان ۰/۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک می‌باشد و نسبت بین DHA/EPA: ۰/۱۲ می‌باشد که بین نمونه‌های بالا در مورد EPA و DHA و نسبت بین آن‌ها در مقایسه با نمونه شاهد از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آرتمیای ارومیه، غنی‌سازی، نانوکلروپسیس اکولاتا، ایزوکرایسیس گالبانا

مقدمه

به‌دلیل محدودیت‌هایی که در مورد بهره‌برداری از آبزیان در دریاها و منابع آب‌های شیرین وجود دارد ذخایر طبیعی به تنهایی نمی‌تواند تقاضای روزافزون محصولات دریایی را برآورده سازد (Ahmadi و همکاران، ۱۹۹۰). به همین خاطر در چند دهه اخیر صنعت آبزی‌پروری به‌عنوان مکملی برای بهره‌برداری از منابع طبیعی، مورد توجه قرار گرفته است (Ahmadi و همکاران، ۱۹۹۰). یکی از مهم‌ترین مسایل مورد توجه در آبزی‌پروری، تأمین غذای مناسب برای آبزیان به‌ویژه

*مسئول مکاتبه: sama.karamifar@gmail.com

در دوره‌های لاروی می‌باشد (Ahmadi و همکاران، ۱۹۹۰). آرتمیا[1] به‌عنوان غذای زنده در پرورش آبزیان به‌خاطر دارا بودن حدود ۵۵ درصد پروتئین، ۲۰-۴ درصد چربی، همه اسیدهای آمینه ضروری و بیش‌تر اسیدهای چرب در حد مطلوب، بهترین غذا به‌شمار می‌رود (Ahmadi و همکاران، ۱۹۹۰).

به‌دلیل پایین بودن میزان اسیدهای چرب ضروری در آرتمیای بعضی نواحی (مانند آرتمیای دریاچه ارومیه) (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۴) و حیاتی بودن نقش اسیدهای چرب در بازماندگی و تلفات مرحله نوزادی آبزیان (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۴) پژوهشگران از چند سال پیش اقدام به غنی‌سازی آرتمیا برای بالا بردن ارزش غذایی آن‌ها نموده‌اند (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۴) غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا باعث می‌شود که میزان اسیدهای چرب ضروری که در مقادیر پایینی بودند توسط این روش افزایش یابند (آذری‌تاکامی، ۱۳۸۴).

در حال حاضر مشهورترین گونه‌های جلبکی و رایج‌ترین ریزجلبک‌هایی که برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند براساس اندازه، ارزش غذایی و راحتی کشت و شرایط اقلیمی انتخاب می‌شوند و شامل نانوکلروپسیس اکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) (۴-۲ میکرون) ایزو کرایسیس گالبانا (*Isochrysis galbana*) (۷-۵ میکرون)، تتراسلمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*) (۱۰-۷ میکرون)، کیتوسروس گراسیلیس (*Chaetoceros gracilis*) (۸-۶ میکرون) دونالیلا تریولکتا (*Dunaliella teriolecta*) (۹-۷ میکرون) و چندین گونه از کلرلاها (قطر ۹-۳ میکرون) می‌باشند (Soknic Vanen، ۱۹۹۱).

ایزوکرایسیس گالبانا هم دارای رشد زیاد می‌باشد و از نظر مقدار اسیدهای چرب دارای EPA: ۳/۵ (درصد) میزان کل چربی و همچنین امگا (۳) ۲۲/۵ درصد میزان کل چربی و میزان کل چربی آن ۷/۰ می‌باشد و به‌عنوان یکی از گونه‌های مهم جلبکی برای پرورش در نظر گرفته شده است (Soknic Vanen، ۱۹۹۱).

نانوکلروپسیس اکولاتا دارای مقدار زیادی ویتامین B_{12} است (سوکنیک و همکاران، ۱۹۹۳) از نظر درصد اسیدهای چرب دارای EPA: ۳۰/۵ (درصد) میزان کل چربی و ω_3: ۴۲/۷ درصد میزان کل چربی است (Soknic و همکاران، ۱۹۹۳).

بنابراین هدف از این بررسی به‌کار بردن بهترین گونه جلبکی در جهت افزایش درصد اسیدهای چرب ضروری نائوپلیوس آرتمیا به‌منظور تامین غذای مناسب برای آبزیان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف- مراحل کشت و پرورش جلبک که اولین بار توسط پژوهشگری به‌نام Piri (۱۹۹۸) ابداع شده است به‌شرح ذیل می‌باشد (Ordog، ۱۹۸۱؛ Piri، ۱۹۹۸).

۱- سترون کردن

۲- تهیه و نگهداری کشت ذخیره

۳- تهیه کشت ذخیره جدید: محیط کشت مورد استفاده برای این دو نوع جلبک محیط کشت F_2 بود.

۴- اضافه کردن جلبک به محیط کشت جدید: جلبک‌های رشدیافته پس از گذشت ۹۶ ساعت در حالی‌که در انتهای مرحله رشد لگاریتمی قرار دارند و در اوج ارزش غذایی و تراکم هستند برای غنی‌سازی نائوپلی آرتمیا مورد استفاده قرار می‌گیرند.

۵- جمع‌آوری و برداشت جلبک: هر گاه غلظت جلبک‌ها به حداکثر خود رسید (کاملاً تیره شد) عمل هوادهی را قطع کرده و جلبک موجود در آن را به کمک سانتریفیوژ یا سرد کردن محیط پرورش و به کمک یخچال جدا می‌شوند.

۶- تعیین کمیت توده زنده جلبک: جلبک غلیظ شده باید قبل از استفاده در غنی‌سازی آرتمیا شمارش شده و تعداد سلول در هر میلی‌لیتر مشخص شود که این شمارش با استفاده از لام نئوبار انجام گرفت و

۱- *Artemia*

تعداد شمارش شده برای جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا cell ۶^۱۰×۲۲ در هر میلی‌لیتر و برای جلبک ایزوکرایسیس گالبانا cell ۶^۱۰×۱۸ در هر میلی‌لیتر بود.

ب- آماده‌سازی نائوپلی آرتمیا: سیست‌های آرتمیا در شرایط آب با شوری ۱۵-۱۰ گرم در لیتر، دمای ۲۶-۲۵ سلسیوس، pH ۸/۵-۸ نور ۲۰۰۰ لوکس در دو ظرف استوانه‌ای- مخروطی ۱۸ و ۱۵ لیتری با تراکم ۱۸ و ۱۵ گرم سیست در هر لیتر در مدت ۲۴ ساعت تخم‌گشایی شدند و سپس جداسازی نائوپلی‌ها از پوسته آن‌ها با توجه به خاصیت نورگرایی مثبت آن‌ها انجام شد و با توجه به بالا بودن تعداد آن‌ها در هر لیتر برای شمارش سیست‌ها از روش تناسب استفاده گردید. به این ترتیب که ۶ نمونه ۲۵۰ میکرولیتری از بخش‌های مختلف برداشت و پس از شمارش با استفاده از تناسب تعداد آن‌ها در هر میلی‌لیتر و سپس در هر لیتر به‌دست آمد که در هر لیتر به تعداد ۱۰۰۰۰۰ نائوپلی آرتمیا وجود داشت.

برداشت ۱۰۰۰۰۰ نائوپلی آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی (در مرحله اینستار I) در ۳ تکرار و خشک نمودن و نگهداری آن‌ها درون فریزر در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیز اسیدهای چرب. برداشت ۱۰۰۰۰۰ نائوپلی آرتمیا ۱۲ ساعت پس از تخم‌گشایی بعد از جذب کیسه زرده (در ابتدای مرحله اینستار II) در ۳ تکرار طبق روش ذکر شده برداشت و نگهداری شدند.

ج- مراحل غنی‌سازی: در این مرحله (ابتدای مرحله اینستار II) غنی‌سازی به‌وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا cell ۶^۱۰×۲۲ در هر میلی‌لیتر و ایزوکرایسیس گالبانا با تراکم cell ۶^۱۰×۱۸ در هر میلی‌لیتر (مناف‌فر، ۱۳۸۰) به‌ازای هر لیتر (۱۰۰۰۰۰ نائوپلی آرتمیا) در ۳ تکرار و نمونه شاهد انجام شد و در فاصله‌های ۲، ۴ و ۶ ساعت پس از غنی‌سازی نمونه‌ها طبق روش ذکر شده برداشت و نگهداری شدند.

جدول ۱- تیمارهای مورد آزمایش.

شماره تیمار	نوع تیمار	زمان
۱	نائوپلی آرتمیا بلافاصله بعد از تخم‌گشایی	-
۲	نائوپلی آرتمیا بلافاصله بعد از جذب کیسه زرده	۱۲ ساعت پس از تخم‌گشایی
۳	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۴	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۵	نائوپلی آرتمیا به‌عنوان نمونه شاهد	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۶	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	۴ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۷	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	۴ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۸	نائوپلی آرتمیا به‌عنوان نمونه شاهد	۴ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۹	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	۶ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۱۰	نائوپلی آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	۶ ساعت پس از جذب کیسه زرده

د- آنالیز اسیدهای چرب: برای استخراج چربی به‌منظور آنالیز اسیدهای چرب به‌ازای هر ۱ گرم از هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر اتر اضافه شد و به‌مدت ۱۲ ساعت داخل انکوباتور نگهداری شد سپس اتر شامل چربی برداشت شده و با تبخیر اتر درصد چربی کل هر نمونه محاسبه شد. سپس این چربی‌ها متیله شده

یعنی اسیدهای چرب موجود در ساختمان مولکولی تری‌آسیل گلیسرول‌ها و سایر مولکول‌ها جدا شده که به این منظور به‌ازای هر ۰/۱ گرم چربی ۱ میلی‌لیتر هپتان نرمال و ۰/۰۵ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی دو نرمال افزوده گردید و میزان اسیدهای چرب در ۳ تکرار برای هر تیمار توسط دستگاه GC گازکروماتوگراف مدل DANI-1000، اندازه‌گیری شد. طول ستون این دستگاه ۳۰ متر با قطر ۳/۲۵ میلی‌لیتر است. آشکارساز دستگاه از نوع FID می‌باشد که دمای شعله از سوخت مستقیم دو گاز هیدروژن و هوای فشرده تامین می‌شود. گاز حل شده در این دستگاه هلیوم بوده و فشار تمامی گازها از خروجی دستگاه روی ۴bar و همچنین دمای اینجکتور روی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای دیتکتور روی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

هـ- تجزیه و تحلیل آماری: نتایج و داده‌های به‌دست آمده از مراحل مختلف آزمایش ابتدا برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk's استفاده گردید. به‌دلیل نرمال بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه هر یک از فاکتورها اسید چرب محاسبه شده در تیمارهای مورد بررسی بدون در نظر گرفتن زمان از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (Oneway ANOVA) و برای بررسی تیمارهای ذکر شده با در نظر گرفتن زمان از آزمون فاکتوریل در سطح اطمینان ۵ درصد استفاده شده است. آنالیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS17 و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

مقادیر اسیدهای چرب با تأکید بر اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) مربوط به تیمارهای غذایی در جدول ۲ به‌طور خلاصه آورده شده است.

جدول ۲- مقادیر اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک.

تیمارها	$C_{۲۰}:۵\omega_۳$	$C_{۲۲}:۶\omega_۳$	$C_{۱۸}:۳\omega_۳$	$C_{۱۸}:۴\omega_۳$	$C_{۲۰}:۳\omega_۳$	$C_{۲۰}:۴\omega_۳$
۱	a ۱/۳۷۳ ± ۰/۲۷۸	b ۰/۱۳۷ ± ۰/۰۳۴	a ۲۰/۰۶ ± ۱/۱۳	a ۱/۱۴ ± ۰/ ۱۵	a ۰/۲۰۸ ± ۰/۰۵۷	a ۰/۳۲۷ ± ۰/۰۵۵
۲	a ۱/۲۱۸ ± ۰/۰۸۲	a ۰/۱۹۷ ± ۰/۰۲۹	b ۱۴/۵۸ ± ۳/۳۲	a ۰/۹۷۷ ± ۰/۴۳	a ۰/۲۱۹ ± ۰/۰۱۵	a ۰/۲۵ ± ۰/۰۷۱
۳	b ۰	c ۰	b ۱۱/۹۵ ± ۰/۶۵	b ۰/۷۳۲ ± ۰/۲۳	c ۰/۱۱ ± ۰/۰۰۷	b ۰/۰۷۴ ± ۰/۰۶۵
۴	a ۱/۲ ± ۰/۱	c ۰	a ۲۰/۸۸ ± ۰/۳۳	a ۱/۱۱۳ ± ۰/۰۰۳	b ۰/۱۵ ± ۰/۰۱۱	a ۰/۲۷ ± ۰/۰۲
۵	b ۰	c ۰	b ۱۲/۳ ± ۰/۱۳	a ۱/۰۲۳ ± ۰/۰۱۴	c ۰/۰۵۳ ± ۰/۰۰۹	b ۰

میانگین ± SD در ۳ تکرار، اعداد در یک ستون با حروف یکسان اختلاف معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

۱) تیمار غنی‌شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا

۲) تیمار غنی‌شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا

۳) تیمار شاهد

۴) تیمار نائوپلی آرتمیا بلافاصله پس از هچ

۵) تیمار نائوپلی آرتمیا ۱۲ ساعت پس از هچ

همان‌طورکه از جدول ۲ برداشت می‌شود بیش‌ترین میزان اسید چرب EPA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا و در مورد اسید چرب DHA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا می‌باشد.

مقادیر اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) در نمونه‌های غنی‌سازی شده با جلبک‌ها و نمونه شاهد با در نظر گرفتن فاکتور زمان در جدول ۳ به‌طور خلاصه آورده شده است.

جدول ۳- مقادیر اسیدهای چرب EPA و DHA و نسبت‌های آن‌ها در تیمارهای مختلف غنی‌سازی شده و تیمار شاهد.

تیمارها	$C_{۲۰:۵ω_۳}$	$C_{۲۲:۶ω_۳}$	نسبت DHA/EPA
۱	a ۱/۷۴ ± ۰/۰۴۶	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۹	c ۰/۱
۲	c ۱/۲ ± ۰/۰۵۵	c ۰/۱۲ ± ۰/۰۱	c ۰/۱
۳	c ۱/۱۸ ± ۰/۰۱۸	c ۰/۱۱ ± ۰/۰۱	c ۰/۰۹
۴	b ۱/۳۱۳ ± ۰/۰۳۵	a ۰/۲۲ ± ۰/۰۰۹	a ۰/۱۶
۵	c ۱/۱۴ ± ۰/۰۳۶	a ۰/۲۱ ± ۰/۰۰۹	a ۰/۱۸
۶	c ۱/۲ ± ۰/۰۳۶	b ۰/۱۶ ± ۰/۰۰۶	b ۰/۱۳
۷	d ۰	d ۰	d ۰
۸	d ۰	d ۰	d ۰
۹	d ۰	d ۰	d ۰

میانگین ± SD در ۳ تکرار، اعداد در یک ستون با حروف یکسان اختلاف معنی‌دار ندارند (P>۰/۰۵).

۱) تیمار غنی‌شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ۲ ساعت پس از غنی‌سازی

۲) تیمار غنی‌شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ۴ ساعت پس از غنی‌سازی

۳) تیمار غنی‌شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ۶ ساعت پس از غنی‌سازی

۴) تیمار غنی‌شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ۲ ساعت پس از غنی‌سازی

۵) تیمار غنی‌شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ۴ ساعت پس از غنی‌سازی

۶) تیمار غنی‌شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ۶ ساعت پس از غنی‌سازی

۷) تیمار شاهد ۲ ساعت پس از غنی‌سازی

۸) تیمار شاهد ۴ ساعت پس از غنی‌سازی

۹) تیمار شاهد ۶ ساعت پس از غنی‌سازی

همان‌گونه که از جدول ۳ برداشت می‌شود بیش‌ترین میزان اسید چرب EPA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا در ۲ ساعت پس از غنی‌سازی و در مورد اسید چرب DHA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا در ۴ ساعت پس از غنی‌سازی

می‌باشد. شایان ذکر است در منابع مختلف به اهمیت نسبت DHA/EPA اشاره شده است که از اهمیت غذایی بسیار حتی بیش‌تر از میزان DHA یا EPA به تنهایی برخوردار است. در پژوهش انجام شده بیش‌ترین میزان نسبت DHA/EPA مربوط به تیمار ۵ یعنی نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ۴ ساعت پس از غنی‌سازی می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این آزمایش غنی‌سازی نائوپلی آرتمیای ارومیه به‌منظور افزایش اسیدهای چرب غیراشباع به‌خصوص EPA و DHA با استفاده از جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و جلبک ایزوکرایسیس گالبانا به‌مدت ۶ ساعت پس از جذب کیسه زرده انجام گردید و در فاصله‌های ۲، ۴ و در نهایت ۶ ساعت پس از جذب کیسه زرده از هر یک از تیمارهای غنی‌سازی شده به‌وسیله جلبک‌های بالا و تیمار شاهد نمونه برداشت شد.

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد بیش‌ترین میزان اسید چرب EPA مربوط به نمونه غنی‌سازی به‌وسیله جلبک ایزوکرایسیس گالبانا در ۲ ساعت پس از غنی‌سازی به‌میزان ۱/۷۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک نائوپلی رسید و بیش‌ترین میزان اسید چرب DHA مربوط به نمونه غنی‌سازی به‌وسیله جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا در ۲ ساعت پس از غنی‌سازی به‌میزان ۰/۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک نائوپلی رسید. شایان ذکر است که مقادیر این دو نوع اسید چرب در نمونه شاهد در فاصله‌های زمانی مختلف صفر بود و از نظر آماری بین همه تیمارها از نظر میزان اسید چرب اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌گردد. نکته قابل‌توجه از نتایج به‌دست آمده به این صورت می‌باشد که میزان EPA و DHA در هر دو نوع نمونه غنی‌سازی شده با جلبک با گذشت زمان پس از ۲ ساعت (یعنی در فاصله‌های ۶-۴ ساعت) کاهش می‌یابد.

نتایج پژوهش‌هایی که در جهت افزایش اسیدهای چرب EPA و DHA به‌وسیله جلبک‌های مختلف انجام پذیرفت به‌شرح ذیل می‌باشد:

در یک کار تحقیقاتی به‌وسیله غنی‌سازی با جلبک دونالیلا تریکولکتا میزان EPA، ۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد ولی میزان DHA نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان نمی‌دهد و مقدار آن صفر می‌باشد (مناف‌فر، ۱۳۸۰).

در غنی‌سازی نائوپلی آرتمیا که به‌وسیله سه نوع جلبک کیتوسروس ۱، کلرلا سالینا[1] و نانو کلروپسیس سالینا[2] در فاصله‌های زمانی ۳، ۶، ۸ و ۲۴ ساعت پس از تخم‌گشایی انجام شد در مورد اسید چرب EPA بیش‌ترین میزان مربوط به غنی‌سازی با جلبک نانو کلروپسیس سالینا در ۸ ساعت پس از تخم‌گشایی با میزان ۸/۰۵ درصد بود اما در مورد اسید چرب DHA غنی‌سازی با جلبک نانو کلروپسیس سالینا در ۸ ساعت پس از تخم‌گشایی با میزان ۰/۱ درصد بود (Rekha و همکاران، ۲۰۰۷).

در پژوهش دیگری که به‌وسیله جلبک‌های کلرلا سالینا، نانوکلروپسیس سالینا، دونالیلا سالینا و تترا سلمیس چوئی انجام شد میزان اسیدهای چرب غیراشباع در طی ۲۴-۴ ساعت پس از تخم‌گشایی به‌طور میانگین به‌ترتیب ۲/۴۵، ۱/۳،۳/۴۳ و ۱/۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک می‌باشد (Zaki و Saad، ۲۰۱۰).

شایان ذکر است که غنی‌سازی به‌وسیله جلبک‌های نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا در افزایش درصد اسیدهای چرب $C_{18}:3\omega_3$، $C_{18}:4\omega_3$، $C_{20}:3\omega_3$ و $C_{20}:4\omega_3$ تأثیر به‌سزایی دارد.

در پژوهشی که به‌وسیله Rekha و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد و نائوپلی آرتمیا به‌وسیله جلبک

1- Chlorella Salina
2- Nannochloropsis Salina

کیتوسروس و کلرلا و نانوکلروپسیس سالینا غنی‌سازی شد و در پژوهش دیگری که به‌وسیله Zaki (۲۰۱۰) انجام شد و نائوپلی آرتمیا به‌وسیله جلبک‌های کلرلا سالینا، نانوکلروپسیس سالینا، دونالیلا سالینا و تترا سلمیس چوئی غنی‌سازی شد افزایش درصد اسیدهای چرب $C_{18}:3\omega_3$ و $C_{18}:4\omega_3$ نسبت به جلبک‌های نانوکلروپسیس و ایزوکرایسیس کم‌تر ولی افزایش درصد اسیدهای چرب $C_{20}:3\omega_3$ و $C_{20}:4\omega_3$ نسبت به دو نوع جلبک نانو و ایزو بیش‌تر بود.

بنابراین می‌توان در یک نتیجه‌گیری کلی عنوان نمود که بهترین زمان در مورد افزایش EPA برای غنی‌سازی نائوپلی آرتمیا ۸ ساعت پس از تخم‌گشایی می‌باشد و بهترین گونه جلبک نانوکلروپسیس سالینا می‌باشد و در مورد افزایش DHA بهترین جلبک مورد نظر از جلبک نانو کلروپسیس اکولاتا در زمان ۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده می‌باشد.

همچنین می‌توان نتیجه گرفت که غنی‌سازی با دو نوع جلبک نانو و ایزو می‌تواند در جهت افزایش میزان EPA و DHA در آرتمیا ارومیانا مفید واقع شود زیرا بین دو نوع تیمار غنی‌سازی شده نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار از نظر آماری مشاهده می‌شود.

غنی‌سازی به‌وسیله جلبک‌های نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا می‌تواند در افزایش درصد اسیدهای چرب $C_{18}:3\omega_3$، $C_{18}:4\omega_3$، $C_{20}:3\omega_3$ و $C_{20}:4\omega_3$ مؤثر واقع شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین و اساتید محترم دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، گروه شیلات، معاونت پژوهشی دانشگاه، مرکز تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات آرتمیای ارومیه، مرکز تحقیقات بندرلنگه و آزمایشگاه پاسارگاد تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

منابع

اچ‌هوف، ف.، و دابلیواسنل، ت.، ۱۳۸۷. تکثیر و پرورش غذای زنده دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون‌ها، ترجمه آذری‌تاکامی، امینی‌چرمهینی، انتشارات دانشگاه تهران، ۳۴۲ ص، صفحات ۱۲۶-۵۱ و ۵۸-۵۲.

آذری‌تاکامی، ق.، مشکینی، س.، رسولی، ع.، و امینی، ف.، ۱۳۸۴. بررسی اثرات تغذیه‌ای نائوپلیوس‌های *Artemia urmiana* غنی‌شده با ویتامین C روی رشد، بقا و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در نائوپلی‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان، فصلنامه پژوهش و سازندگی، شماره ۶۶، بهار، ۲۵ ص.

مناف‌فر، ر.، ۱۳۸۰. غنی‌سازی نائوپلیوس *Artemia urmiana* با امولسیون اسیدهای چرب و جلبک دونالیلا و بررسی متابولیسم HUFA تحت انکوباسیون سرد، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تربیت مدرس. صفحات ۳۱-۲۰.

Ahmadi, M.R., Leibovitz, H., and Simpson, K.L., 1990. Nutrient composition of the Iranian Brine shrimp (*Artemia urmiana*). Compo Biochem. Physiol. 95 (2), 225-228.

Azari Takami, G., Mohmoodzadeh, H., and Gerailou, Z., 2007. Survey and the stability and n-3 highly unsaturated fatty acids following enrichment and Artemia by various oil and subsequent starvation. 16, 2065-2069.

Fujita, S., Wayanabe, T., and Kitajima, C., 1980. Nutritional quality of *Artemia* from different localities as a living feed for marine fish from the viewpount of essential fatty acid.

Han, K., Guerdon, I., and Sorgeloos, P., 2000. Comparison of docosahexanoic acid (22:6n-3) levels in various *Artemia* starins during enrichment and subsequent starvation. J. World Aqua. Soc. 31, 460-475.

Piri, and Andersen, R., 1998. Algal culturing Techniques. Academic Press. pp. 408-439.

Rekha, D., and Chakraborty, M., 2007. Variation in Fatty Acid Composition of *Artemia* salina

Nauplii Enriched with Microalgae and Baker's Yeast for Use in Larviculture. J. Agric. Food Chem. pp. 4043-4051.

Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tcakaert, and Versichele, D., 1986. Manual for the culture and use of Brine Shrimp *Artemia* in Aquaculture, *Artemia* Reference Center, State University of Gent, Belgium.

Zaki, M.I., and Saad, H.M., 2010. Comparative study on growth and survival of larval and juvenile dicentrachus labrax rearing on Rotifer and *Artemia* enriched with four different microalgae species. Afric. J. Biotechnol. 19, 3680-3684.

Journal of New Technologies in Aquaculture Development, Islamic Azad University, Azadshahr Branch
Vol. 15, No. 3, Autumn 2021

Enrichment of Artemia Urmiana Nauplii by using *Nannochloropsis oculata* & *Isochrysis galbana* Algae

S. Karamifar[1*], Gh. Azari Takami[2] and M. Hafezyehe[3]
[1] Agricultural and Natural Resources Engineering Organization of Guilan Province, Rasht, Iran
[2] Dept. of Aquatics Health and Diseases, Faculty of Veterinary, Tehran University, Tehran, Iran
[3] Iran Fisheries Research Organization, Tehran, Iran

Abstract

The study of *Nannochloropsis oculata* & *Isochrysis galbana* algae increase the percentage of unsaturated fatty acids, especially EPA and DHA fatty acids in Urmia Artemia (*Artemia urmiana*) was performed. Groups of 10-15 liters salinity, temperature in 25-26 °C, pH 5 / 8-8, 2000 lux light) with emphasis EPA and DHA, on the study and with control group (Group of hunger during the treatments enrichment), were compared. The results show that the best time Artemia nauplii for enrichment with algae about 2 hours after the yolk sac is absorbed. The best species of algae to increase the EPA was *Isochrysis galbana* with the 1.74 mg / g dry weight and increase DHA algae *Nannochloropsis oculata* with the 0.22mg/ g dry weight and ratio between DHA / EPA is: 0.12. The examples above that of the control sample is statistically significant.

Keywords: *Artemia urmiana*; Enrichment; *Nannochloropsis oculata*; *Isochrysis galbana*

[*] Corresponding authors; Email: sama.karamifar@gmail.com