دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد اول، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۱
http://japu.gau.ac.ir

مقایسه درصد اسیدهای چرب در نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده به‌وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزو کرایسیس گالبانا

سما کرمی‌فر[1]*، قباد آذری‌تاکامی[2]، حسین خارا[3] و محمود حافظیه[4]

[1]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، [2]استاد گروه دامپزشکی، دانشگاه تهران،
[3]استادیار گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، [4]استادیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات شیلات ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲٤

چکیده

به‌منظور بهینه‌سازی ترکیب غذایی آرتمیا ارومیانا و به‌دنبال آن افزایش ارزش غذایی آن به‌عنوان غذای زنده مورد استفاده در آبزی‌پروری، غنی‌سازی به‌خصوص در مرحله نائوپلیوس بسیار رایج بوده است. این پژوهش با هدف تأثیر جلبک‌های نانوکلروپسیس اکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) و ایزوکرایسیس گالبانا (*Isochrysis galbana*) بر افزایش درصد اسیدهای چرب غیر اشباع به‌خصوص اسیدهای چرب EPA و DHA در آرتمیای ارومیه (*Artemia urmiana*) انجام شد. در این آزمایش نتایج تأثیر استفاده از دو نوع ریز جلبک بالا با توجه به ترکیب غذایی آن‌ها، در بازه‌های زمانی مختلف (۲، ٤ و ٦ ساعت) بر افزایش ارزش غذایی نائوپلیوس آرتمیا ارومیانا با تاکید 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 نائوپلیوس آرتمیا با جلبک‌های مورد نظر دو ساعت پس از جذب کیسه زرده می‌باشد. هم‌چنین بهترین گونه جلبک برای افزایش میزان EPA ایزوکرایسیس گالبانا با میزان ۱/۷٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و در مورد افزایش DHA جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا با میزان ۰/۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک می‌باشد و نسبت بین DHA/EPA:۰/۱۲ می‌باشد.

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

* مسئول مکاتبه: sama.karamifar@gmail.com

مقدمه

به‌دلیل محدودیت‌هایی که در مورد بهره‌برداری از آبزیان در دریاها و منابع آب‌های شیرین وجود دارد ذخایر طبیعی به تنهایی نمی‌تواند تقاضای روز افزون محصولات دریایی را برآورده سازد. به همین خاطر در چند دهه اخیر صنعت آبزی‌پروری به‌عنوان مکملی برای بهره‌برداری از منابع طبیعی، مورد توجه است. یکی از مهم‌ترین مسایل مورد توجه در آبزی‌پروری، تأمین غذای مناسب برای آبزیان به‌ویژه در دوره‌های لاروی می‌باشد. آرتمیا[1] به‌عنوان غذای زنده در پرورش آبزیان به‌خاطر دارا بودن حدود ۵۵ درصد پروتئین، ۲۰-٤ درصد چربی، همه اسیدهای آمینه اصلی و بیش‌تر اسیدهای چرب در حد مطلوب بهترین غذا به‌شمار می‌رود (احمدی و همکارن، ۱۹۹۰).

کاربردهای مختلف آرتمیا از جمله استفاده از آن به‌عنوان حامل واکسن‌ها، ویتامین‌ها، مواد مغذی و رنگدانه‌ها و استفاده از آن به‌عنوان غذای مغذی در تغذیه طیور، آبزیان و حتی انسان بر اهمیت این سخت‌پوست کوچک بیش از پیش می‌افزاید. اما بدون شک یکی از مهم‌ترین موارد مصرف آرتمیا، در پرورش انواع ماهی و میگو می‌باشد به‌طوری‌که می‌توان آرتمیا را جزو تفکیک‌ناپذیر صنعت پرورش آبزیان به‌حساب آورد.

به‌دلیل پایین بودن میزان اسیدهای چرب ضروری در آرتمیای بعضی نواحی (مانند آرتمیای دریاچه ارومیه) و حیاتی بودن نقش اسیدهای چرب در بازماندگی و تلفات مرحله نوزادی آبزیان و هم‌چنین نقش اساسی اسیدهای چرب در رشد و نمو ماهیان، پژوهشگران از چند سال پیش اقدام به غنی‌سازی آرتمیا برای بالا بردن ارزش غذایی آن‌ها نموده‌اند. غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا باعث می‌شود که میزان اسیدهای چرب ضروری که در مقادیر پایینی بودند توسط این روش افزایش یابند، لازم به یادآوری است کمبود این اسیدهای چرب ضروری باعث آسیب‌های بافتی، عصبی شده و غیر نرمال بودن رفتارهای حرکتی و تغذیه‌ای را به‌دنبال دارد (آذری‌تاکامی، ۲۰۰۸).

در حال حاضر مشهورترین گونه‌های جلبکی و رایج‌ترین ریزجلبک‌هایی که برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرند براساس اندازه، ارزش غذایی، راحتی کشت و شرایط اقلیمی انتخاب می‌شوند و شامل نانوکلروپسیس اکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) (٤-۲ میکرون) ایزوکرایسیس گالبانا (*Isochrysis galbana*) (۷-۵ میکرون)، تتراسلمیس چوئی (*Tetraselmis chuii*) (۱۰-۷ میکرون)، کیتوسروس گراسیلیس (*Chaetoceros gracilis*) (۸-٦ میکرون) دونالیلا تریولکتا (*Dunaliellateriolecta*) (۹-۷ میکرون) و چندین گونه ازکلرلاها (قطر ۹-۳ میکرون) می‌باشند.

1- *Artemia*

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. نانوکلروپسیس اکولاتا دارای مقدار زیادی ویتامین B12 است. از نظر درصد اسیدهای چرب دارای EPA:۳۰/۵ (درصد) میزان کل چربی و امگا (۳) ٤۲/۷ درصد میزان کل چربی است.

بنابراین هدف از این بررسی استفاده از دو گونه جلبک نانو کلروپسیس اکولاتا و ایزوکریسیس گالبانا برای غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا به‌منظور افزایش اسیدهای چرب ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف- مراحل کشت و پرورش جلبک

۱- **سترون کردن:** همه ابزارآلات شیشه‌ای و فلزی به‌مدت ۲ ساعت در دمای ١٦٥ درجه سانتی‌گراد آون قرار داده شدند تا پس از خشک شدن سترون گردند. برای سترون نمودن محیط‌های کشت جلبکی از دستگاه اتوکلاو که در فشار ١/٦ اتمسفر ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد حرارت تولید می‌کند استفاده گردید.

۲- **تهیه و نگهداری کشت ذخیره:** کشت ذخیره یا استوک جلبک که بر روی محیط کشت جامد قرار داشت در شدت نور حدود ۱۰۰۰ لوکس و دمای اتاق نگه‌داری می‌شد و به‌طورتقریبی هر ماه به محیط کشت جامد جدیدی منتقل می‌گشت.

۳- **تهیه کشت ذخیره جدید:** محیط کشت مورد استفاده برای این دو نوع جلبک محیط کشت F2 بود که این محیط کشت شامل سه محلول به‌نام‌های مواد مغذی، سیلیکات و ویتامین‌ها با غلظت‌های متفاوت می‌باشد.

٤- **اضافه کردن جلبک به محیط کشت جدید:** کشت جلبک با افزودن جلبک از ذخیره خالص جلبکی به‌ازای یک میلی‌گرم ماده خشک گونه‌های یاد شده در هر لیتر محیط کشت جدید می‌باشد. شرایط محیطی مطلوب برای رشد جلبک‌ها و انجام فتوسنتز آن‌ها، نور سفید تک‌رنگ با روشنایی ۳۵۰±۳۵۰۰ لـوکس و با تناوب نوری ١٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی، درجه حرارت ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و pH ۸-۷/۵ می‌باشد.

جلبک‌های رشدیافته پس از گذشت ۹٦ ساعت در حالی‌که در انتهای مرحله رشد لگاریتمی قرار دارند و در اوج ارزش غذایی و تراکم‌اند برای غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا مورد استفاده قرار می‌گیرند.

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

٦- **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 تعداد شمارش شده برای جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا 22×10^{8}٦ cell در هر میلی‌لیتر و برای جلبک ایزوکرایسیس گالبانا 18×10^{8}٦ cell در هر میلی‌لیتر بود.

ب- آماده‌سازی نائوپلیوس آرتمیا: سیست‌های آرتمیا در شرایط آب با شوری ۱۵-۱۰ گـرم در لیتر، دمای ۲٦-۲۵ سلسیوس، pH۸/۵-۸، نور ۲۰۰۰ لوکس در دو ظرف استوانه‌ای- مخروطی ۱۸ و ۱۵ لیتری با تراکم ۱۸ و ۱۵ گرم سیست در هر لیتر در مدت ۲٤ ساعت تفریخ شدند، سپس جداسازی نائوپلیوس‌ها 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 ٦ 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 نائوپلیوس آرتمیا وجود داشت.

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

ج- مراحل غنی‌سازی: در این مرحله (ابتدای مرحله اینستار II) غنی‌سازی به‌وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا با تراکم ۲۰۹ میلی‌لیتر (مناف‌فر، ۲۰۰۱) به‌ازای هر لیتر (۱۰۰۰۰۰ نائوپلیوس آرتمیا) در سه تکرار و نمونه شاهد انجام شد و در فواصل ۲، ٤ و ٦ ساعت پس از غنی‌سازی نمونه‌ها طبق روش بیان شده برداشت و نگه‌داری شدند (جدول ۱).

جدول ۱- تیمارهای مورد آزمایش

شماره تیمار	نوع تیمار	زمان
۱	نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله بعد از تخم‌گشایی	-
۲	نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله بعد از جذب کیسه زره	۱۲ ساعت پس از تخم‌گشایی
۳	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
٤	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
٥	نائوپلیوس آرتمیا به‌عنوان نمونه شاهد	۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده
٦	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	٤ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۷	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	٤ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۸	نائوپلیوس آرتمیا به‌عنوان نمونه شاهد	٤ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۹	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا	٦ ساعت پس از جذب کیسه زرده
۱۰	نائوپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا	٦ 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 دارای 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 تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و سایر مولکول‌ها جدا شده که به این منظور به‌ازای هر ۰/۱ گرم چربی ۱ میلی‌لیتر هپتان نرمال و ۰/۰۵ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیو متانولی دو نرمال افزوده گردید و میزان اسیدهای چرب در ۳ تکرار برای هر تیمار توسط دستگاه GC اندازه‌گیری شد. (محل انجام آزمایش‌ها، آزمایشگاه پاسارگاد می‌باشد).

ه- 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 یاد شده با در نظر گرفتن زمان از آزمون فاکتوریل در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شده است. آنالیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

مقادیر اسیدهای چرب با تاکید 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

تیمارها	C20:5ω3	C22:6ω3	C18:3ω3	C18:4ω3	C20:3ω3	C20:4ω3
۱	۱/۳۷۳±۰/۲۷۸^{a}	۰/۱۳۷±۰/۰۳٤^{b}	۲۰/۰٦±۱/۱۳^{a}	۱/۱٤±۰/۱۵^{a}	۰/۲۰۸±۰/۰۵۷^{a}	۰/۳۲۷±۰/۰۵۵^{a}
۲	۱/۲۱۸±۰/۰۸۲^{a}	۰/۱۹۷±۰/۰۲۹^{a}	۱٤/۵۸±۳/۳۲^{b}	۰/۹۷۷±۰/٤۳^{a}	۰/۲۱۹±۰/۰۱۵^{a}	۰/۲۵±۰/۰۷۱^{a}
۳	۰^{b}	۰^{c}	۱۱/۹۵±۰/٦۵^{b}	۰/۷۳۲±۰/۲۳^{b}	۰/۱۱±۰/۰۰۷c	۰/۰۷٤±۰/۰٦۵^{b}
٤	۱/۲±۰/۱^{a}	۰^{c}	۲۰/۸۸±۰/۳۳^{a}	۱/۱۱۳±۰/۰۰۳^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۱^{b}	۰/۲۷±۰/۰۲^{a}
۵	۰^{b}	۰^{c}	۱۲/۳±۰/۱۳^{b}	۱/۰۲۳±۰/۰۱٤^{a}	۰/۰۵۳±۰/۰۰۹^{c}	۰^{b}

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد در هر ستون می‌باشد.

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

۱) تیمار غنی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا
۲) تیمار غنی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا
۳) تیمار شاهد
٤) تیمار نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از هچ
۵) تیمار نائوپلیوس آرتمیا ۱۲ ساعت پس از هچ

همان‌طور که از جدول ۲ برداشت می‌شود بیش‌ترین میزان اسید چرب EPA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا و هم‌چنین بیش‌ترین میزان DHA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا می‌باشد و مقایسه افزایش این دو نوع اسید چرب در نمونه‌های غنی‌سازی شده نسبت به تیمارهای بدون غنی‌سازی در مقایسه با اسیدهای چرب انواع دیگر قابل توجه می‌باشد. هم‌چنین بیش‌ترین میزان اسید چرب مربوط به اسید چرب C18:3ω3 در تیمار نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی می‌باشد.

بررسی 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 آورده شده است.

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

تیمارها	C20:5ω3	C22:6ω3	نسبت DHA/EPA
۱	۱/۷٤ ± ۰/۰٤٦[a]	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۹[b]	۰/۱[c]
۲	۱/۲ ± ۰/۰۵۵[c]	۰/۱۲ ± ۰/۰۱[c]	۰/۱[c]
۳	۱/۱۸ ± ۰/۰۱۸[c]	۰/۱۱ ± ۰/۰۱[c]	۰/۰۹[c]
٤	۱/۳۱۳ ± ۰/۰۳۵[c]	۰/۲۲ ± ۰/۰۰۹[a]	۰/۱٦[c]
۵	۱/۱٤ ± ۰/۰۳٦[c]	۰/۲۱ ± ۰/۰۰۹[a]	۰/۱۸[a]
٦	۱/۲ ± ۰/۰۳٦[c]	۰/۱٦ ± ۰/۰۰٦[b]	۰/۱۳[b]
۷	۰[d]	۰[d]	۰
۸	۰[d]	۰[d]	۰
۹	۰[d]	۰[d]	۰

حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد در هر ستون می‌باشد.

داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

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

۲) تیمار غنی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ٤ ساعت پس از غنی‌سازی

۳) تیمار غنی شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ٦ ساعت پس از غنی‌سازی

٤) تیمار غنی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ۲ ساعت پس از غنی‌سازی

۵) تیمار غنی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ٤ ساعت پس از غنی‌سازی

٦) تیمار غنی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ٦ ساعت پس از غنی‌سازی

۷) تیمار شاهد ۲ ساعت بعد برداشت

۸) تیمار شاهد ٤ ساعت بعد برداشت

۹) تیمار شاهد ٦ ساعت بعد برداشت

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 بیش‌ترین میزان اسید چرب DHA مربوط به نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا در ٤ ساعت پس از غنی‌سازی می‌باشد و همان‌طورکه مشاهده می‌شود مقادیر دو نوع اسید چرب بالا در تیمارهای شاهد صفر می‌باشد. 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. همان‌طورکه در جدول بالا مشاهده می‌شود بیش‌ترین میزان نسبت DHA/EPA مربوط به تیمار شماره ۵ یعنی نمونه غنی‌سازی شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا ٤ ساعت پس از غنی‌سازی می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در این آزمایش غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیای ارومیه به‌منظور افزایش اسیدهای چرب غیراشباع به‌خصوص EPA و DHA با استفاده از جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و جلبک ایزوکرایسیس گالبانا به‌مدت ٦ ساعت پس از جذب کیسه زرده انجام گردید و در فاصله‌های ۲، ٤ و در نهایت ٦ 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 ۱/۷٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک نائوپلیوس 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 نائوپلیوس رسید. قابل‌توجه است که مقادیر این دو نوع اسید چرب در نمونه شاهد در فواصل زمانی مختلف صفر بود و از نظر آماری بین همه تیمارها از نظر میزان اسید چرب اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌گردد. نکته قابل توجه از نتایج به‌دست آمده به‌این‌صورت 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 ٦-٤ ساعت) کاهش می‌یابد.

نتایج پژوهش‌هایی که در جهت افزایش اسیدهای چرب EPA و DHA به‌وسیله جلبک‌های مختلف انجام پذیرفت به‌شرح زیر 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، ۲۰۰۱).

تغییرات در مقادیر EPA و DHA در تمامی نمونه‌ها نشان می‌دهد که DHA سریع‌تر از اسیدهای چرب دیگر مصرف می‌شود زیرا طبق پژوهش‌های انجام شده این اسید چرب اولین اسید چربی است که برای تولید انرژی سلولی به‌طور مستقیم به‌مصرف می‌رسد (سورگلوس و همکاران، ۱۹۸٦). بنابراین می‌توان به اهمیت این اسید چرب پی برد.

در غنی‌سازی نائوپلیوس آرتمیا که به‌وسیله سه نوع جلبک کیتوسروس[1]، کلرلا سالینا[2] و نانو کلروپسیس سالینا[3] در فاصله‌های زمانی ۳، ٦، ۸ و ٢٤ ساعت پس از تخم‌گشایی انجام شد در مورد اسید چرب EPA بیش‌ترین میزان مربوط به غنی‌سازی با جلبک *N. salina* در ۸ ساعت پس از تخم‌گشایی با میزان ۸/۰۵ درصد بود اما در مورد اسید چرب DHA غنی‌سازی با جلبک *N. salina* در ۸ ساعت پس از تخم‌گشایی با میزان ۰/۱ درصد بود (ریکاد 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 ٢٤-٤ ساعت پس از تخم‌گشایی به‌طور میانگین به‌ترتیب ۲/٤٥، ۳/٤۳، ۱/۳ و ۱/۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک می‌باشد (زاکی و همکاران، ۲۰۱۰).

در نمونه‌های غنی‌سازی شده به‌وسیله جلبک‌ها میزان EPA و DHA نسبت به نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی و هم‌چنین نائوپلیوس آرتمیا ۱۲ ساعت پس از تخم‌گشایی افزایش یافت. هم‌چنین مقایسه بین نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی و هم‌چنین نائوپلیوس آرتمیا ۱۲ ساعت پس از تخم‌گشایی و نمونه‌های شاهد در مورد اسیدهای چرب EPA و DHA نشان داد که فقط اسید چرب EPA در نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی ۱/۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک می‌باشد و در مورد تیمارهای دیگر مقادیر دو نوع اسید چرب بالا صفر می‌باشد.

در پژوهشی که به‌وسیله ریکاد و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد میزان EPA در نمونه‌های غنی‌سازی شده نسبت به نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی افزایش نشان داد ولی افزایش در میزان DHA بسیار ناچیز بود.

در پژوهشی که به‌وسیله مناف‌فر (۲۰۰۱) انجام پذیرفت میزان EPA در نمونه غنی‌سازی شده نسبت به نائوپلیوس آرتمیا بلافاصله پس از تخم‌گشایی و نائوپلیوس آرتمیا ۱۲ ساعت پس از جذب کیسه زرده افزایش یافت ولی در مورد اسید چرب DHA هیچ افزایشی در نمونه غنی‌سازی شده نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده نگردید.

قابل‌توجه است که غنی‌سازی به‌وسیله جلبک‌های نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا در افزایش درصد اسیدهای چرب C18:3ω3، C18:4ω3، C20:3ω3 و C20:4ω3 تأثیر به‌سزایی دارد.

1- *Chaetoceros calcitrans*
2- *Chlorella salina*
3- *Nannochloropsis salina*

در پژوهشی که به‌وسیله ریکاد و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد و نائوپلیوس آرتمیا به‌وسیله جلبک کیتوسروس و کلرلا و نانوکلروپسیس سالینا غنی‌سازی شد و در پژوهش دیگری که به‌وسیله زاکی (۲۰۱۰) انجام شد و نائوپلیوس آرتمیا به‌وسیله جلبک‌های کلرلا سالینا، نانوکلروپسیس سالینا، دونالیلا سالینا و تترا سلمیس چوئی غنی‌سازی شد افزایش درصد اسیدهای چرب C18:4ω3، C18:3ω3 نسبت به جلبک‌های نانوکلروپسیس و ایزوکرایسیس کم‌تر ولی افزایش درصد اسیدهای چرب C20:3ω3 و C20:4ω3 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 نائوپلیوس 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 C18:3ω3، C18:4ω3، C20:3ω3 و C20:4ω3 مؤثر واقع شود.

سپاسگزاری

به این وسیله از مسئولان 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 بندر لنگه و آزمایشگاه پاسارگاد تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

منابع

1. Ahmadi, M. 1990. Nutrient composition of the Iranian Brine shrimp (*Artemia urmiana*). Comb. Biochem. Physiol 95: 225-228.
2. Azari Takami, Gh. 2008. Reproduction and breeding live food and plankton. Tehran University, 217p.
3. Fujita, S., Wayanabe, T. and Kitajima, C. 1980. Nutritional quality of *Artemia* from different localities as a living feed for marine fish from the viewpoint of essential fatty acid, Fishers Science, Pp: 315-345.

4.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. Resour 31: 54-69.
5.Monaf Far, R. 2001. Enriched *Artemia urmiana* Nauplii with emulsion of fatty acid and Donallela Algea. Tarbiat Modaress University. 345p.
6.Rekhad, Ch. 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. Resour 18: 295-389.
7.Piri, S. and Robert Andersen, H. 1998. Algal culturing Techniques. Academic. Pp: 408-439.
8.Sorgeloos, P., Lavens, P., Legar, P., Tcakaert, S. and Verisichale, D. 1986. Manual for the culture and use of Brine Shrimp *Artemia* in Aquaculture, *Artemia* Reference Center, State University of Gent, Belgium. 647p.
9.Zaki, M.I. 2010. Comparative study on growth and survival of larval and juvenile dicentrachus labrax rearing on Rotifer and *Artemia* enriched with four different microalgae speciescan. Afri. J. Biotech. Resour 19: 3680-3684.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Utilization and Cultivation of Aquatics, Vol. 1(4), 2012
http://japu.gau.ac.ir

Comparison of fatty acids in enriched Artemia by two types of algae *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* Algae

***S. Karamifar[1], Gh. Azari Takami[2], H. Khara[3] and M. Hafezieh[4]**
[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Lahijan Branch,
[2]Professor, Dept. of Veterinary Medicine, University of Tehran,
[3]Assistant Prof., Dept. of Fisheries, Islamic Azad University, Lahijan Branch,
[4]Research Assistant Prof., Iranian Fisheries Research Organization
Received: 01/11/2012; Accepted: 05/13/2012

Abstract

The study of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* percentage of unsaturated fatty acids, especially EPA and DHA fatty acids in Urmia Artemia (*Artemia urmiana*) was performed. In this experiment the effect of two types of micro algae with regard to food components and, at various time intervals (2, 4 and 6 hours) on increasing the nutritional value *Nauplius Artemia urmiana* with emphasis on EPA and DHA study (Group of hunger during the treatments enrichment), *Artemia Nauplii* Immediately after the hatched *Artemia Nauplii* after yolk sac absorption were compared. The results showed that the best time of *Artemia nauplii* for enrichment with algae was 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. Regarding DHA, *Nannochloropsis oculata* with the 0.22 mg/g dry weight and ratio between DHA/EPA.

Keywords: *Artemia Urmia*, Enrichment, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*

*Corresponding Author; Email: sama.karamifar@gmail.com