

تعیین کمیت پروفایل اسیدهای چرب و ارزیابی بقاء تحت استرس شوری و دمایی در *Artemia franciscana* تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا در شرایط آزمایشگاهی

رضا روشندل^۱، رامین مناففر^{۱*} و سعید مشکینی^۲

^۱ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

^۲ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

چکیده

آرتمیا سخت پوست کوچک‌پوست که به عنوان غذا برای لارو آبزیان مورد استفاده قرار می‌گیرد. سال‌ها پیش روش استاندارد برای پرورش آرتمیا توسط جلبک زنده *Dunaliella* و نوع خاصی از مخمر معرفی شد که در تحقیقات آزمایشگاهی و در برخی مراکز تکثیر و پرورش مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به مشکلات تهیه و کشت غذای زنده برای پرورش آرتمیا در یک تحقیق ۱۴ روزه آرتمیا در چندین تیمار و در شرایط آزمایشگاهی با پودر جلبک اسپیرولینا پرورش داده شده و پروفایل اسیدهای چرب و مقاومت در برابر استرس‌های دمایی و شوری آن مطالعه شد. هدف اصلی تحقیق بررسی امکان تولید آرتمیاهای غنی از PUFA و HUFA است که در شرایط استرسی محیطی بقاء بهتری داشته باشند. بدین منظور ابتدا *Artemia franciscana* در شرایط آزمایشگاهی کشت و با ترکیبی از مخمر و پودر جلبک اسپیرولینا در ۵ تیمارهای مختلف در مقایسه با جلبک *Dunaliella* مجموعاً در ۶ تیمار پرورش داده شد. در انتهای دوره پرورش اسیدهای چرب هر تیمار سنجیده و آرتمیاهای در شرایط کنترل شده تحت استرس‌های شوری و دما قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با پودر اسپیرولینا مقادیر PUFAها به بیش از ۳ افزایش یافته است ($p < 0.05$). همچنین آرتمیاهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف پودر اسپیرولینا دارای بقاء بهتری در مقابل استرس‌های اعمال شده داشتند. با توجه به بهبود ارزش غذایی و افزایش مقاومت به استرس‌های محیطی و همچنین استفاده مقرون بصرفتر و ساده‌تر از پودر اسپیرولینا در تغذیه آرتمیا از این پس می‌توان از پودر جلبک اسپیرولینا در تغذیه آرتمیا بصورت انبوه استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آرتمیا، اسپیرولینا، اسیدهای چرب، استرس دمایی، استرس شوری

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: r.manaffar@urmia.ac.ir

مقدمه

استفاده کرد (۱۰). در حقیقت ارگانوسم‌هایی که به عنوان غذای زنده مورد استفاده قرار می‌گیرند علاوه بر آنکه می‌بایست حاوی تمام مواد مغذی مانند پروتئین‌های ضروری، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب باشند (۳۰)، همچنین می‌بایست هم از نظر اندازه برای لارو آبزیان مناسب باشند و هم اینکه تکثیر و پرورش آنها نسبتاً راحت باشد. آرتمیا به عنوان یک

آرتمیا به عنوان یک غذای زنده مفید و ضروری در تغذیه لارو انواع آبزیان در آبی پروری شناخته می‌شود. این موجود همچنین یک مدل آزمایشگاهی جالب در بوم‌سم‌شناسی می‌باشد (۲۱). آرتمیا ارزش غذایی بالایی دارد و اندازه آن با دهان تقریباً همه انواع ماهیان مطابقت دارد. آرتمیا را می‌توان در انواع سیستم‌های گشایی‌های ماهیان دریایی، سخت‌پوستان، مصرف ماهیان آب شیرین و ماهیان زینتی

فیلتر کننده غیر انتخابی، می‌تواند ذرات غذایی بین ۱ تا ۵۰ میکرون را مورد استفاده قرار دهد (۴۱). با وجود اینکه گونه‌های آرتمیا یکی از رایج‌ترین خوراک‌های زنده مورد استفاده در آبرزی پروری هستند، اما حاوی مقادیر ناکافی مواد مغذی ضروری مورد نیاز لارو ماهی‌ها هستند. اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر (با طول بیشتر از ۲۰ زنجیر) و فسفولیپیدها اغلب در آرتمیا در مرز بحرانی و پائین قرار دارد (۳۴).

گونه‌های آرتمیا از لحاظ میزان اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیر فقیر هستند که لازم است غنی گردند و کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها را می‌توان از طریق غنی‌سازی باریز جلبک‌ها بهبود بخشید (۱). مقدار اسیدهای چرب (HUFA) از شاخص‌های اصلی برای تعیین ارزش غذایی مواد مورد استفاده در لارو آبزبان به شمار می‌رود. این اسیدهای چرب نقش بسیار مهمی در سلامتی، رشد و بقای لارو آبزبان دارند. به طور طبیعی، آرتمیا حاوی سطوح پایین DHA و EPA است. بنابراین هنگامی که به عنوان خوراک استفاده می‌شود باید لیپیدهای سرشار از اسیدهای چرب ضروری نیز غنی شود تا نیازهای غذایی لارو ماهی را برآورده کند (۱۸). بنابراین چنین غنی‌سازی برای تولید خوراک زنده با مشخصات تغذیه‌ای موثر حیاتی است (۱۳). لیپیدها پرانرژی‌ترین مواد مغذی موجود برای ماهیان دریایی هستند و لاروها به سطوح بالایی از مواد خاص مثل آرشیدونیک اسید، دکوزا پنتنوئیک اسید، ایکوزا پنتنوئیک اسید و دکوزا هگزونیک اسید به دلیل ناتوانی در سنتز این اسیدهای چرب از پیش سازهای رایج‌تر، زنجیره کوتاه‌تر و غیراشباع‌تر نیاز دارند (۳۲). اسیدهای چرب ضروری مانند ایکوزانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید نقش مهمی در ساختار غشایی و عملکرد بافت‌ها دارند و همچنین به عنوان منبع انرژی مهم در طول رشد اولیه لارو ماهی به ویژه در گونه‌های دریایی عمل می‌کنند (۳۹).

به همین دلیل می‌باشد که لارو ماهی‌های دریایی نیز به PUFAs (Poly Unsaturated Fattyacid) و HUFA (Highly

میزان اسیدهای چرب ضروری مانند Eicosapentaenoic Acid) EPA و Docosahexaenoic Acid) DHA در غذاهای زنده که در مراحل اولیه زندگی لارو مورد استفاده قرار می‌گیرند به طور طبیعی کم است. بنابراین غنی‌سازی آنها با امولسیون اسیدهای چرب غیراشباع امری مهم می‌باشد (۱۱). اهمیت EPA و DHA نیز توسط Lavens و همکاران ۱۹۹۶ به عنوان ترکیباتی برای تقویت رشد، مقاومت در برابر استرس و رنگدانه توصیف شده است. از آنجایی که بیش‌تر آبزبان معمولاً تحت شرایط استرس‌های محیطی (دما و شوری) قرار می‌گیرند افزایش مقاومت و غنی‌سازی موجودها در برابر استرس‌ها اهمیت بخصوصی دارد. استرس‌حالی است که در آن هموستاز موجود توسط عوامل استرس‌زا درونی یا بیرونی تهدید یا قطع می‌شود. شوری زیستگاه یکی از مهم‌ترین عوامل غیرزیستی است که نه تنها بر توزیع و فراوانی سخت‌پوستان، بلکه بر فیزیولوژی و سلامت عمومی آنها تاثیر می‌گذارد (۲۷). بنابراین، در حال حاضر بیش‌ترین توجه به افزایش حضور (PUFAs) به خصوص EPA و DHA در آرتمیا معطوف شده است. با توجه به ویژگی‌های تغذیه‌ای آرتمیا از جمله فیلترخواری غیر انتخابی ذرات زیر ۵۰ میکرونی، دستکاری ارزش غذایی آن را می‌توان از طریق رژیم غذایی انجام داد.

از جمله جایگزین‌های مناسب برای ترمیم نیازهای غذایی لارو آبزبان و افزایش ارزش غذایی آرتمیا می‌توان مستقیم یا غیر مستقیم از جلبک‌هایی با ارزش غذایی بالا در رژیم

به همین دلیل می‌باشد که لارو ماهی‌های دریایی نیز به PUFAs (Poly Unsaturated Fattyacid) و HUFA (Highly

سانتیگراد کنترل شد. برای جلوگیری از ورود هرگونه آلودگی از طریق هوا، درب ارلن‌ها با پنبه و سپس با فویل مسدود شد. pH محیط پرورش در حدود 1 ± 10 حفظ گردید (۲ و ۵). از محیط کشت زاروک برای پرورش جلبک استفاده شد. ترکیبات مورد استفاده در محیط کشت زاروک بر اساس فرمول نویسنده تهیه شد (۴۲). دوره کشت بر روی ۱۴ روز تنظیم گردید. پس از اتمام دوره و رسیدن بیومس به حداکثر تراکم در انتهای دوره رشد تصاعدی بیومس جلبک توسط توری‌های ۳۰ میکرونی جداسازی و سپس آب شیر شسته شد. بیومس پس از آبیگری کامل در درون دستگاه خشک کن (انکوباتور ویژه) مجهز به فن در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و در مدت ۵ ساعت خشک و آنالیز شد (جدول ۱). بیومس خشک تهیه شده سپس توسط آسیاب دستی کاملاً پودر شد بطوری که اندازه ذرات آن حداقل کوچکتر از ۵۰ میکرون باشد. پودر آماده شده در جای خشک و تاریک تا زمان آزمایش نگهداری شد. جهت تهیه غذای اسپیرولینا ۲ گرم پودر جلبک (شکل ۱) در ۱۵۰ میلی لیتر آب شور ۱۰ گرم درلیتر (محلول D&K) حل شد. محلول در دوره مصرف در یخچال نگهداری شد. استوک تهیه شده هر ۳ روز یکبار بصورت تازه تهیه شد.

کشت جلبک *Dunaliella* و تهیه غذای ویژه آرتمیا:

استوک جلبک *Dunaliella salina* از پژوهشکده آرتمیا و آریان دانشگاه ارومیه تهیه شد. کشت به روش ارائه شده توسط Lavens و Sorgeloos (۱۹۹۶) توسط محیط کشت Conway صورت گرفت. ترکیب شیمیایی و نحوه آماده سازی ترکیب شیمیایی طبق فرمول انجام شد (۱۲ و ۲۵). میزان نور لازم برای پرورش جلبک ثابت نبوده و با افزایش عمق و غلظت محیط پرورش، باید شدت نور افزایش یابد ($15 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ برای ارلن مایر، $75-15 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ برای حجم‌های بیشتر) تا بتواند به عمق محیط نفوذ کند. این نور توسط لامپ‌های فلورسنت تامین شد. برای اینکار لوله‌های ذخیره، لوله‌های آزمایش و ارلن‌های مختلف توسط دو عدد

غذایی استفاده کرد. ریزجلبک‌ها می‌توانند مواد مغذی مطلوبی مانند LC-PUFA را در قالب فسفولیپیدهای بیولوژیکی در خوراکی‌های زنده تقویت کند (۲۴). اسپیرولینا نوعی جلبک کم چرب است که میزان چربی آن تقریباً بین ۶ تا ۹ درصد می‌باشد. اما این جلبک تقریباً حاوی بسیاری از اسیدهای چرب غیر اشباع مهمی است که برای بدن انسان ضروری است. این اسیدهای چرب غیر اشباع مشتمل بر گاما لینولئیک اسید، دوکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید می‌باشد. همچنین اسپیرولینا دارای مقدار قابل توجهی PUFAs است. این امرکنجکاوای بسیاری از محققان را برانگیخته است تا مطالعاتی بر روی PUFAs جهت تعیین مقدار این ماده مغذی در اسپیرولینا انجام دهند. براساس یافته‌های یک مطالعه PUFAs ها حدود ۳۰ درصد از کل چربی‌ها را در اسپیرولینا تشکیل می‌دهند، درحالی که سایر محققان گزارش کرده‌اند که نسبت این اسیدهای چرب بین ۱۹/۴ و ۲۱/۹ درصد از کل اسیدهای چرب متغیر است. شایان ذکر است که اسپیرولینا تنها گیاهی است که در بین اتوتروف-ها غنی از گاما لینولئیک اسید می‌باشد (۲۹). این پژوهش سعی دارد جایگزین غذایی بهتری را برای برنامه غذایی موجود آرتمیا (۱۲) ارائه کند که ضمن حفظ سادگی در پرورش، آرتمیا بتواند مقاومت بیشتری در برابر استرس‌های محیطی داشته و در عین حال آرتمیایی با ارزش غذایی بالاتر از دیدگاه اسیدهای چرب تولید نمایند.

مواد و روشها

کشت اسپیرولینا و تهیه غذای ویژه اسپیرولینا:

استوک جلبک *Spirulina platensis* از شرکت دانش بنیان زیست فن گستر اسپوتا- ارومیه تهیه شد. کشت این جلبک به روش آزمایشگاهی انجام شد. برای این کار ارلن‌های ۵ لیتری در مقابل لامپ‌های فلورسنت از فاصله ۱۵ cm به صورت ۲۴ ساعته با نوری معادل I E M-2- $40 \mu\text{S}$ لوکس نوردهی شدند. هوادهی از طریق لوله‌های هوادهی متصل به پمپ مرکزی انجام گرفت. دمای محیط کشت 28 ± 1 درجه

لامپ فلورسنت از فاصله ۳۰-۴۰ cm نوردهی شدند. دوره نور مصنوعی بصورت ۲۴ ساعته تامین شد (۲۶). دمای محیط کشت مابین $1 \pm 22^{\circ}\text{C}$ متغیر بود. شوری مورد نیاز برای پرورش جلبک بر حسب شوری استوک اولیه ۹۰- ppt ۳۰ تنظیم شد. برای اینکار آب دریاچه ارومیه که قبلاً توسط اتوکلاو استریل شده بود با اضافه کردن آب شیر بر روی این شوری و pH حدوداً ۸/۵-۸ تنظیم گردید. هوادهی در مراحل مختلف توسط لوله‌های هوادهی متصل به پمپ مرکزی انجام شد. برای جلوگیری از ورود هر گونه آلودگی از طریق هوا، یک فیلتر اصلی در ورودی هوا به لوله مادر هوا قرار گرفت (۲۶). هر گاه غلظت جلبک‌ها در ارلن‌ها به حداکثر مقدار خود رسید عمل هوادهی را قطع کرده و جلبک

موجود در آن به کمک سانتریفوژ خالص گردید. طبق فرمول غذاهای Coutteau و همکاران (۱۹۹۲)، جلبک غلیظ شده باید قبل از استفاده در تغذیه آرتمیا تا حد معینی ($1 \times 10^6 \text{ Cell/ml}$) رقیق گردد. جلبک رقیق شده تا زمان مصرف درون یخچال نگهداری شد.

آماده سازی غذای مخمری: همچنین طبق پروتکل جدول غذاهای Coutteau و همکاران (۱۹۹۲) یک گرم پودر مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) در ۱۵۰ میلی لیتر آب شور ۱۰ گرم در لیتر حل زده شد و به عنوان غذا در تیمارهای مختلف استفاده شد (۱۲). استوک مخمر تا زمان استفاده درون یخچال نگهداری شد.

جدول-۱: جدول غذا دهی آرتمیا (Coutteau et al., 1992)

روز پرورش	جلبک <i>Dunaliella</i> (میلی لیتر از استوک جلبک)	مخمر (میلی لیتر از استوک مخمر)	حجم محیط کشت (میلی لیتر)
۱	۰/۰۰۲۰۹	۰/۰۰۲۰۹	۲
۲،۳،۴	۰/۰۰۴۱۳	۰/۰۰۴۱۳	۲
۵،۶	۰/۰۰۶۲۵	۰/۰۰۶۲۵	۲
۷	۰/۰۰۸۲۶	۰/۰۰۸۲۶	۲
۸	۰/۰۱۰۶۰	۰/۰۱۰۶۰	۲
۹	۰/۰۱۷۰۰	۰/۰۱۷۰۰	۳
۱۰،۱۱	۰/۰۲۰۰۰	۰/۰۲۰۰۰	۳
۱۲،۱۳	۰/۰۲۵۰۰	۰/۰۲۵۰۰	۳
۱۴،۱۵	۰/۰۳۰۰۰	۰/۰۳۰۰۰	۴
۱۶،۱۷	۰/۰۳۵۰۰	۰/۰۳۵۰۰	۴
۱۸،۱۹	۰/۰۴۲۵۰	۰/۰۴۲۵۰	۴
۲۰ و بعد	۰/۰۵۰۰۰	۰/۰۵۰۰۰	۴

مراحل تفریح و پرورش آرتمیا: تفریح سیستم آرتمیا و پرورش لاروها تا مرحله بلوغ تحت شرایط استاندارد انجام شد (۲۶ و ۴۰). بدین منظور سیستم‌ها در شرایط آزمایشگاهی استاندارد (نور: $3000 - 2000 \text{ lux}$ ، دما: $1 \pm 27^{\circ}\text{C}$ ، $1 \pm 8 \text{ pH}$ ، هوادهی کافی و شوری ۳۵ گرم در لیتر) از آب رقیق شده دریاچه ارومیه توسط آب شهری (در

صورت استفاده از آب شیر باید به مدت یک تا دو ساعت هوادهی کرد تا کلر آب خارج‌گردد)، تخم‌گشایی شدند. هوادهی برای هج تا ۲۴ ساعت ادامه یافت و نهایتاً لاروهای تفریح شده با استفاده از نورگرایی مثبت توسط پیت از پوسته جدا شدند. در مرحله بعد پرورش لاروها با تراکم ۵۰۰ عدد ناپلیوس در ۱۰۰۰ میلی لیتر آغاز شد. پرورش

با درصدهایی از پودر اسپیرولینا (تصویر-۲) (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ درصد) استفاده شد (جدول-۲). پرورش به مدت ۱۵ روز تا انتهای مرحله بلوغ آرتمیا صورت گرفت. در روز ۱۵ آرتمیاها بهم‌منظور آنالیز پروفایل اسیدهای چرب و اعمال تیمارهای استرسی برداشت شدند.



تصویر-۱: ظروف یک لیتری پلی اتیلنی با هوادهی برای پرورش آرتمیا در آزمایشگاه

آرتمیا در درون مخروط‌های پلاستیکی و بصورت هم‌زمان در تمامی تیمارها و تکرارها انجام شد (تصویر-۱). در تیمار بندی آرتمیاها به غیر از تیمار شاهد که بصورت استاندارد بر اساس فرمول Coutteau و همکاران (۱۹۹۲) صورت گرفت (۱۲) (جدول-۱)، ۵ تیمار غذایی شامل مخمر

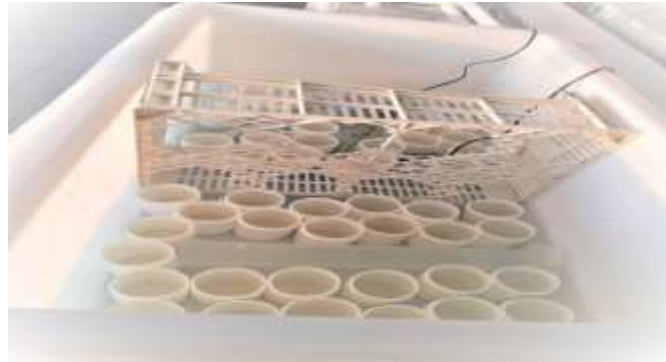
جدول-۲: تیمارهای غذایی اعمال شده در این تحقیق (منظور از درصد همان نسبت مقادیر به جدول استاندارد غذایی Coutteau et al., 1992 می باشد).

تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	تیمار شاهد
۱۰۰٪ پودر	۸۰٪ پودر	۶۰٪ پودر	۴۰٪ پودر	۲۰٪ پودر	۱۰۰٪ جلبک
<i>Spirulina platensis</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Dunaliella salina</i>
۱۰۰٪ طبق فرمول	۱۰۰٪ طبق فرمول	۱۰۰٪ طبق فرمول	۱۰۰٪ طبق فرمول	۱۰۰٪ طبق فرمول	۱۰۰٪ طبق فرمول
غذایی	غذایی	غذایی	غذایی	غذایی	غذایی
(Coutteau et al., 1992)	(Coutteau et al., 1992)	(Coutteau et al., 1992)	(Coutteau et al., 1992)	(Coutteau et al., 1992)	(Coutteau et al., 1992)

تیمارهای استرسی شامل دمای ۳۵ درجه ی سانتیگراد و شوری ۲۳۰ و ۲۸۰ گرم در لیتر اعمال شدند. در انتخاب این شرایط استرسی بر اساس منابع و تجربیات پیشین سعی شد شرایط نزدیک به بحران و مرگ آرتمیا در گونه A. *franciscana* انتخاب شود. میزان تلفات طی هشت ساعت اول هر دو ساعت یکبار، از هشت ساعت الی ۲۴ ساعت اول هر چهار ساعت یکبار و پس از ۲۴ ساعت تا انتهای ۷۲ ساعت هر هشت ساعت یکبار ثبت شده و نهایتاً به درصد محاسبه گردید. آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS ۲۶ ورژن ۶۴ بیتی و آنالیز واریانس دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

اعمال استرس به آرتمیا: در روز ۱۵ و اتمام دوره ی پرورش، تعدادی از آرتمیاهای تغذیه شده در تیمارهای مختلف در درون ظروف پلی اتیلنی ۱۵۰ میلی لیتری تحت استرس قرار گرفتند (تصویر-۲). برای انجام این کار ۳۰ عدد آرتمیا از هر تیمار در هر ظرف پلی اتیلنی که پیشتر برای اعمال استرس آماده شده بودند انتقال داده شدند. برای اینکار بدون اعمال ترجیح این تعداد آرتمیا بصورت تصادفی از سه ظرف پرورشی برداشت و به آرامی درون ظروف پلی اتیلنی که ۲۴ ساعت قبل درون یک بن ماری قرار گرفته بودن انتقال داده شد. مدت زمان شرایط استرس ۷۲ ساعت بوده و

تصویر-۲: ظروف ۱۵۰ میلی لیتری اعمال استرس به آرتمیا در شرایط کنترل شده



نتایج

تصویر فلیکهای (Flake) خشک جلبک اسپیرولینا و پودر این جلبک در تصویر-۳ آورده شده است. همچنین آنالیز کمی و کیفی محصول تولید شده در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است.

بر اساس این نتایج پودر جلبک دارای ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی مورد قبول برای به عنوان غذای آرتمیا را اخذ کرده بود.

تصویر-۳: ساختار فیزیکی پودر اسپیرولینای خشک شده.



(A) بیومس جلبک خشک شده بصورت ورقه (Flake)، (B) پودر تهیه شده از بیومس خشک جلبک

جدول-۳: نتایج آنالیز کمی و کیفی پودر جلبک اسپیرولینا

نوع آنالیز	ویژگی مطلوب بر اساس منابع	نتیجه بررسی
ویژگی ظاهری	پودر سبز	سبز زیتونی
بو/طعم	طعم جلبک دریایی	تائید نظری
خاکستر (درصد در وزن خشک)	$\leq 8,0\%$	۵/۳۰
چربی کل (درصد در وزن خشک)	$\leq 8,0\%$	۶/۸۵
پروتئین کل (درصد در وزن خشک)	$\geq 6,0\%$	۶۲/۸۰
اندازه ذرات	$\geq 1,0\%$	۱۲/۵۰ میکرون
مخمر و کپک	$\leq 1/1000$ Cfu/g	۱۰۰ Cfu/g

مقدار حدود ۳ برابر PUFA در *A. franciscana* تغذیه شده با پودر اسپیرولینا و مخمر نسبت به تغذیه با جلبک *Dunaliella* و مخمر را نشان می‌دهد. همچنین مقدار گاما لینولئیک اسید و الفا لینولئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید نسبت به تیمار شاهد رشد ۳ برابری داشته است. ($p < 0.05$).

جدول نتایج حاصل از آنالیز پروفایل اسیدهای چرب آرتمیاهای رشد یافته در این سیستم پرورش نشان می‌دهد (جدول-۵) که اسیدهای چرب امگا ۳ (الفا لینولئیک اسید، ایکوزا پنتانوئیک اسید، دوکوزاهگزانوئیک اسید) نسبت به تیمار شاهد رشد چند برابری داشته است و در دسترس بودن

جدول-۴: نتایج آنالیز اسیدهای چرب پودر جلبک اسپیرولینا (درصد از کل اسیدهای چرب)

تایچ (مقدار اسید چرب در پودر)	اسم مشترک	پروفایل اسید چرب
اشباع شده		
۱/۰±۱۱/۱۹	میرستیک	C14:0
۱±۲۸,۳۲/۵۵	پالمیتیک	C16:0
۰,۹۸±۶,۸۰	ایستریک	C18:0
Nd	آرشیدیک	C20:0
اسیدهای چرب تک غیر اشباع		
Nd	میریستولنیک	C14:1n5
۳/۰±۲۲/۶۲	پالمیتولنیک	C16:1n7
۵/۱±۵۴/۴۱	اولنیک	C18:1n9
اسیدهای چند غیر اشباع		
۱۱/۲±۴۷/۶۲	لینولنیک	C18:2n6
۳/۰±۷۹/۱۵	الفا-لینولنیک	C18:3n3
۱۲/۱±۳۱/۴۸	گاما-لینولنیک	C18:3n6
۱/۰±۵۵/۳۸	استردونیک	C18:4n3
۰/۰±۴۰/۰۱	آرشیدونیک	C20:4n6
۱/۰±۵۴/۲۷	ایکوزاترینونیک	C20:3n3
۲/۰±۷۰/۴۶	ایکوزاپنتانونیک اسید	C20:5n3
۱/۰±۵۱/۵۱	دوکوزاپنتانونیک اسید	C22:5N3
۲/۰±۳۴/۳۴	دوکوزاهگزانونیک اسید	C22:6N3

جدول-۵: آنالیز اسیدهای چرب تیمارهای غذایی مورد استفاده در این تحقیق (درصد از کل اسیدهای چرب)

نام اسیدهای چرب	درصد گونه‌های جلبک	تیمار					
		تیمار شاهد ۱۰۰٪ جلبک <i>Dunaliella salina</i>	تیمار ۱ ۲۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	تیمار ۲ ۴۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	تیمار ۳ ۶۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	تیمار ۴ ۸۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	تیمار ۵ ۱۰۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>
C12:0	لوریک اسید	۰/۱۲±۰/۰۱b	۰/۳۶±۰/۰۸a	۰/۱۴±۰/۰۴b	۰/۱۲±۰/۰۲b	۰/۱۶±۰/۰۳b	۰/۱۶±۰/۰۴b
C16:0	میرستیک اسید	۰/۹۸±۰/۰۹c	۲/۱۰±۰/۲۱a	۱/۹۲±۰/۱۱b	۱/۴۴±۰/۱۲b	۲/۲۱±۰/۲۱a	۲/۱۲±۰/۲۴a
C14:1	میریستولات	۰/۳۹±۰/۱۵c	۲/۲۷±۰/۴۲b	۲/۰۴±۰/۳۲b	۱/۶۵±۰/۲۱c	۲/۱۱±۰/۱۱b	۳/۳۹±۰/۴۰a
C16:0	پالمیتیک اسید	۱۴/۰۴±۱/۰۱c	۱۷/۴۴±۱/۱۱a	۱۹/۴±۱/۳۱a	۱۵/۸۴±۱/۶۱b	۲۰/۵۸±۱/۲۱a	۱۸/۳۹±۱/۳۱ab
C16:1	پالمیتولنیک اسید	۸/۸۸±۱/۰۱b	۱۰/۶۲±۱/۰۲a	۱۱/۴۹±۱/۳۱a	۷/۲۶±۱/۵۱c	۹/۷۴±۱/۴۱b	۹/۳۲±۱/۷۲b
C17:0	هپتادکانونیک اسید	۹/۶۲±۰/۰۱a	۳/۳۷±۰/۰۱c	۴/۱۳±۰/۰۱b	۴/۱۸±۰/۰۱b	۳/۵۴±۰/۰۱c	۲/۵۳±۰/۰۱d
C17:1	۱۰ هپتادکانونیک اسید cis	۰/۸۵±۰/۲۲b	۰/۴۴±۰/۱۱c	۱/۸۱±۰/۳۱a	۰/۴۲±۰/۰۱c	۰/۴۸±۰/۰۱c	۰/۷۵±۰/۱۱b
C18:0	استئاریک اسید	۱۳/۶۱±۱/۰۱b	۱۵/۲۰±۱/۵۶a	۷/۱۸±۱/۳۰d	۶/۵۴±۱/۰۹e	۸/۹۷±۱/۰۴c	۸/۵۳±۰/۹۲c
C18:1n9c	اولنیک اسید	۱۱/۶۰±۱/۱۱c	۱۲/۴۷±۰/۶۱c	۱۶/۴۷±۱/۵۱a	۱۵/۹۳±۱/۷۱a	۱۴/۶۴±۱/۸۲b	۱۳/۷۶±۱/۳۵b
C18:1n9t	اکتادستونیک اسید trans	۵/۲۰±۰/۶۱b	۶/۹۴±۰/۸۳a	۷/۴۷±۰/۸۸a	۴/۸۵±۰/۳۱c	۵/۷۷±۰/۲۶b	۵/۶۰±۰/۳۳b
C18:3n6	گاما-لینولنیک اسید	۳/۴۶±۰/۵۷e	۶/۸۸±۰/۷۲d	۱۰/۰۹±۰/۸۹c	۱۷/۷۹±۱/۰۱a	۱۱/۸۳±۱/۳۱b	۱۱/۹۰±۰/۷۱b
C18:3n3	الفا-لینولنیک اسید	۱/۲۴±۰/۲۱d	۲/۱۹±۰/۱۲c	۴/۱±۰/۱۱a	۳/۴±۰/۱۱b	۴/۵۳±۰/۳۰a	۴/۹۳±۰/۲۳a
C20:0	آرشیدیک اسید	۱۵/۷۷±۱/۱۱a	۰/۵۷±۰/۰۱c	۰/۲۷±۰/۰۱d	۸/۸۶±۰/۶۱b	۰/۳۲±۰/۰۱d	۰/۰۵±۰/۰۱e
C20:1	ایکوزانونیک اسید cis	۱/۴۵±۰/۰۵a	۰/۵۸±۰/۰۱b	۰/۱۷±۰/۰۲d	۰/۱۸±۰/۰۱d	۰/۰۹±۰/۰۱e	۰/۳۱±۰/۰۶c
C20:4n6	آرشیدونیک اسید	۰/۱۹±۰/۰۲b	۰/۸۲±۰/۰۵a	Nd.	Nd.	۰/۰۷±۰/۰۱c	Nd.

C20:5n3	ایکوزاپنتانویک اسید	۰/۲۸±۰/۰۱c	۱/۳۷±۰/۱۱a	۰/۷۳±۰/۰۸b	۰/۱۵±۰/۰۱d	۰/۲۴±۰/۰۱c	۰/۱۱±۰/۰۱d
C22:1n9	اروسیک اسید	۰/۱۱±۰/۰۱a	Nd.	۰/۲۹±۰/۰۱a	۰/۲۰±۰/۰۱a	۰/۱۶±۰/۰۲a	۰/۱۲±۰/۰۱a
C22:2n6	دوکوزادینوئیک اسید	۰/۲۲±۰/۰۱b	۰/۶۱±۰/۰۱a	۰/۱۸±۰/۰۱c	۰/۱۳±۰/۰۱d	۰/۱۴±۰/۰۱d	۰/۰۴±۰/۰۱e
C22:6n3	دوکوزاهگزانوئیک اسید	۰/۲۲±۰/۰۱c	۰/۷±۰/۰۱a	۰/۸۲±۰/۰۲۰a	۰/۵۱±۰/۰۱b	۰/۷۱±۰/۰۲a	۰/۷۲±۰/۰۲a

• اعداد در هر ردیف با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری می‌باشند.

خاصی در ارگانسیم‌ها مشاهده نشد و تفاوت چندانی در استرس دمایی در بین تیمارها مشاهده نشد و بعد از ۷۲ ساعت بیش‌ترین تلفات مربوط به تیمار شاهد و کم‌ترین تلفات مربوط به تیمار ۵ و ۳ می‌باشد.

در پژوهش حاضر بعد از تغذیه آرتمیا با پودر جلبک اسپیرولینا، مخمر و جلبک *Dunaliella* به مدت ۱۴ روز تیمارهای تحت شرایط استرس دمایی ۳۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. برطبق نتایج بدست آمده تا ۲۴ ساعت تغییرات

جدول-۶: درصد بقاء (نسبت به روز اول) در *A. franciscana* تحت استرس دمای ۳۴ درجه سانتی‌گراد

درصد گونه‌های جلبک زمان (ساعت)	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
	۱۰۰٪ جلبک <i>Dunaliella salina</i>	۲۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۴۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۶۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۸۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۱۰۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>
۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۴	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۶	۹۳/۷۵	۹۳/۷۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۸	۹۳/۷۵	۸۷/۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۱۲	۸۷/۵	۸۱/۲۵	۱۰۰	۹۳/۷۵	۱۰۰	۹۳/۷۵
۱۶	۸۷/۵	۸۱/۲۵	۱۰۰	۸۷/۵	۹۳/۷۵	۹۳/۷۵
۲۰	۸۱/۲۵	۶۸/۷۵	۱۰۰	۸۷/۵	۹۳/۷۵	۹۳/۷۵
۲۴	۸۱/۲۵	۶۲/۵	۱۰۰	۸۱/۲۵	۷۵	۹۳/۷۵
۳۲	۶۲/۵	۶۲/۵	۹۳/۷۵	۷۵	۶۲/۵	۹۳/۷۵
۴۰	۵۰	۵۰	۸۱/۲۵	۷۵	۳۱/۲۵	۸۷/۵
۴۸	۴۳/۷۵	۳۷/۵	۵۶/۲۵	۶۸/۷۵	۲۵	۶۸/۷۵
۵۶	۱۲/۵	۳۱/۲۵	۴۳/۷۵	۶۲/۵	۱۲/۵	۶۸/۷۵
۶۴	۱۲/۵	۲۵	۳۷/۵	۴۳/۷۵	۱۲/۵	۵۰
۷۲	۶/۲۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۵۰	۱۲/۵	۵۰

تیمار شاهد وجود داشت ولی در طی گذشت ۸ ساعت تقریباً تمامی تیمارها تلف شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه اهمیت اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر (امگا ۳) مانند اسید ایکوزاپنتادوئیک (EPA) دوکوزاهگزانوئیک (DHA) و الفالیئوئیک اسید، در

در تحقیق مربوطه پس از تغذیه *A. franciscana* با پودر جلبک اسپیرولینا و مخمر به مدت ۱۴ روز تیمارها تحت شرایط استرس‌های شوری ۲۳۰، ۲۸۰ گرم در لیتر قرار گرفتند. برطبق نتایج بدست آمده بعد از ۱۶ ساعت تمامی تیمارها تلف شدند بیش‌ترین بازماندگی مربوط به تیمار ۵ می‌باشد. در شوری ۲۸۰ در ۴ ساعت اول تفاوت اصلی در

تولید ریزجلبک‌ها و تامین نیاز به این اسیدهای چرب با ارزش از آن‌ها افتاده‌اند (۳۵). از طرفی، استفاده مستقیم غذایی از ریز جلبک‌هایی که تولیدکننده‌های اولیه‌ی این اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر هستند، نیز می‌تواند کارآمدترین روش، برای افزودن این مواد غذایی با ارزش به رژیم غذایی باشد (۲۲).

تغذیه انسان بر کسی پوشیده نیست. این ترکیبات به وفور در روغن ماهی یافت می‌شود. ماهیان سرد ضمن اینکه قادر به تولید این اسیدهای چرب هستند بخش عمده‌ای از این ترکیبات با ارزش را از ریزجلبک‌ها بصورت مستقیم یا غیر مستقیم دریافت می‌کنند. از آنجا که در سال‌های اخیر صید جهانی ماهیان دریایی کاهش یافته است، لذا محققین به فکر ایجاد روش‌های کشت صنعتی برای

جدول-۷: درصد بقاء (نسبت به روز اول) در *A. franciscana* تحت استرس شوری ۲۳۰ گرم در لیتر

تیمارهای غذایی زمان (ساعت)	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
	۱۰۰٪ جلبک <i>Dunaliella salina</i>	۲۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۴۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۶۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۸۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۱۰۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>
۰	۱۰۰٪	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲	۹۳/۷۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۷/۵	۱۰۰
۴	۸۷/۵	۶۲/۵	۸۱/۲۵	۱۰۰	۹۳/۷۵	۸۱/۲۵
۶	۷۵	۵۰	۸۱/۲۵	۸۷/۵	۶۸/۷۵	۶۸/۷۵
۸	۵۶/۲۵	۲۵	۵۰	۳۱/۲۵	۲۵	۲۵
۱۰	۶/۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	۱۸/۷۵	۰	۶/۲۵
۱۲	۰	۰	۰	۰	۰	۶/۲۵
۱۶	۰	۰	۰	۰	۰	۰

جدول-۸: درصد بقاء (نسبت به روز اول) در *A. franciscana* تحت استرس شوری ۲۸۰ گرم در لیتر

درصد گونه‌های جلبک زمان (ساعت)	تیمار شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴	تیمار ۵
	۱۰۰٪ جلبک <i>Dunaliella salina</i>	۲۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۴۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۶۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۸۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>	۱۰۰٪ پودر <i>Spirulina platensis</i>
۰	۱۰۰٪	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۲	۸۱/۲۵	۸۷/۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۳/۷۵	۶۲/۵
۴	۶/۲۵	۱۲/۵	۶۲/۵	۶۸/۷۵	۶۸/۷۵	۶۲/۵
۶	۰	۰	۲۵	۲۵	۰	۰
۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰

افزایش میزان جذب اسیدهای چرب جهت بهبود ارزش غذایی آن مؤثرند، از جمله می‌توان به مواردی نظیر نوع ماده غنی‌سازی‌کننده، مدت زمان غنی‌سازی، شرایط محیطی برای غنی‌سازی اشاره کرد (۳۴).

غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا با اسیدهای چرب غیراشباع زنجیر بلند (HUFA) جهت بالا بردن کیفیت آرتمیا با هدف تقویت لارو میگو و ماهی و تضمین درصد بقای لاروها و افزایش میزان تولید، یکی از فعالیتهای رایج در پرورش آبزیان می‌باشد. عوامل متعددی در غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا و نیز

اغلب گونه‌های آرتمیا از نظر اسیدهای چرب غیر اشباع ضروری به خصوص ایکوزا پنتانوئیک و بویژه اسید دوکوزاهگزانوئیک نسبتاً ضعیف است از سوی دیگر EPA و DHA به عنوان مهم‌ترین اسیدهای PUFA برای بسیاری از گونه‌های لارو دریایی در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین غنی‌سازی یا تغذیه عمومی گونه‌های آرتمیا قبل از استفاده به عنوان طعمه زنده لارو در چند دهه اخیر معمول شده است. با اینکه غلظت DHA، بویژه DHA/EPA، نقش کلیدی در رشد و بقا و محافظت در برابر بیماری‌ها در ماهیان دریایی و سخت‌پوستان دارد (۱۰)، حتی عدم تعادل مناسب ممکن است منجر به پاسخ‌های بیوشیمیایی نامطلوب هنگام تغذیه موجودات پرورشی شود (۳۶).

می‌توان گفت که بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در HUFA ریز جلبک‌ها، می‌تواند عامل موثری در روند رشد محسوب گردد. ریزجلبک اسپیرولینا حاوی مقادیر زیادی مواد مغذی از جمله اسیدهای آمینه مهم، پروتئین‌های با کیفیت بالا، کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و رنگدانه‌های رنگی است. (۲۳). با توجه به ارزش غذایی بالای جلبک اسپیرولینا و رشد روز افزون پرورش این جلبک پژوهش حاضر انجام شد و نتایج مطالعه حاضر در بین تیمار‌های مختلف در این تحقیق، نشان داد که اضافه نمودن پودر اسپیرولینا منجر به افزایش مقادیر اسیدهای چرب امگا ۳ در مقایسه با اضافه نمودن جلبک *Dunaliella* به جیره غذایی آرتمیا می‌شود. توجه به نتایج به دست آمده از افزایش مقاومت در تیمارهای تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا در برابر استرس‌های محیطی و غنی بودن پودر جلبک اسپیرولینا از اسیدهای چرب امگا ۳ و از آنجایی اسیدهای چرب امگا ۳ نقش کلیدی در بقا و مقاومت در برابر بیماری‌ها و استرس‌ها داشته و یکی از دلایل این افزایش مقاومت در برابر استرس‌ها در ارگانسیم‌های تغذیه شده ناشی از اسید‌های چرب امگا ۳ می‌باشد.

ریز جلبک‌ها می‌توانند با دارا بودن انواع آنتی‌اکسیدانها سیستم استرس اکسیداتیو موجودات را تقویت کنند. بر همین اساس از گونه‌های مختلف ریزجلبک‌ها با موفقیت و بصورت وسیعی در تغذیه انواع زئوپلانکتونها استفاده می‌شود (۳) و (۶). از این رو این ارگانسیم‌ها می‌توانند به عنوان منبع بالقوه-ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی کاربردهای زیادی در تغذیه موجودات داشته باشند (۹). از طرفی مشخص شده است که فیکوسیانین موجود در اسپیرولینا رادیکال آلکوکسیل، هیدروکسیل و پراکسیل را مهار کرده، تولید نیتريت را کاهش داده و پراکسیداسیون لیپید در میکروزومهای کبد را مهار می‌نماید، همچنین بسیاری از مطالعات برون و درون تنی نشان می‌دهند که اسپیرولینا به طور موثری استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد. این تاثیرات ناشی از وجود فیکوسیانین، بتاکاروتن، سایر ویتامین‌ها و مواد معدنی موجود در آن می‌باشد (۱۶). بنابراین می‌توان نقش کلیدی فیکوسیانین را عامل دیگر افزایش مقاومت در برابر استرس‌ها در این ارگانسیم‌ها دانست.

در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثر آرتمیا *Artemia urmiana* غنی شده با ریز جلبک *Chaetoceros sp.* بر ترکیب اسید چرب و وضعیت آنتی‌اکسیدانی میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*) انجام شد. نتایج تحقیق نشان داد که تیمارهای تغذیه شده با ناپلیوس آرتمیا غنی شده با تراکم‌های مختلف ریز جلبک *Chaetoceros*، ترکیب اسید چرب و وضعیت آنتی‌اکسیدانی بهتری را در مقایسه با شاهد نشان دادند (۴).

اکبری و همکاران در سال ۱۳۹۹ نشان دادند که ناپلیوس آرتمیا تغذیه شده با سطوح مختلف ریز جلبک *Aphanothece halophytica* ترکیب اسیدهای چرب بهتری را در مقایسه با شاهد نشان داد و بیش‌ترین میزان ایکوزا پنتانوئیک اسید ($3/99 \pm 0/25$) و دوکوزاهگزانوئیک اسید ($1/0 \pm 44/02$) در تیمار تغذیه شده با ریز جلبک با تراکم سلولی 13×10^6 سلول در هر میلی لیتر مشاهده شد (۱).

DHA و اسید نرونیک را به طور قابل توجهی افزایش میداد ($p < 0.05$). علاوه بر این، ماهی قزل آلائی رنگین کمان تغذیه شده با ۱۰ درصد جیره‌های تقویت شده با *Arthrospira platensis* دارای درصد کمتری از اسیدهای چرب تک غیر اشباع (MUFAs) و SFAs و غلظت‌های بالاتر PUFAs نسبت به ماهی‌هایی بود که با جیره شاهد تغذیه می‌شدند.

در خصوص اسپیرولینا نیز گزارش شده است که پودر جلبک اسپیرولینا در جیره کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) منجر به افزایش بقا می‌گردد (۱۹). علاوه بر این افزودن پودر اسپیرولینا در مرحله‌ی لاروی میگوی وانامی *Penaeus vannamei* (۱۷) و میگوی سفید (*Litopenaeus schmitti*) با درصد مختلف و همراه سایر غذاهای استفاده شده، آثار مثبت در شاخص‌های تغذیه و بازماندگی آنها داشته است. در مطالعه‌ای که اثر پودر جلبک اسپیرولینا بر روی اسیدهای چرب لاشه ماهی کفال خاکستری انجام شد، میزان اسید-چرب چند زنجیر غیر اشباع (PUFA) در گروه‌های تغذیه شده با پودر جلبک اسپیرولینا به طور معنی دار بیش‌تر از تیمار شاهد بود ($p < 0.05$). این گزارش‌ها با نتایج حاضر در این تحقیق همخوانی دارد لذا می‌توان تاکید کرد که تغذیه با پودر اسپیرولینا می‌تواند اثر زیادی بر بقاء و مقاومت در مقابل استرس‌های محیط داشته باشد. بنابراین می‌توان گفت که خوراک تقویت شده با اسپیرولینا می‌تواند چربی پروفایل اسیدهای چرب آرتمیا را تغییر داده و موجب شود موجوداتی مقاوم نسبت به استرس‌های محیط تولید شوند اما در خصوص دیگر آبزبان مطالعات مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

از مسئولین آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ارومیه، جهاد دانشگاهی ارومیه و شرکت زیست فن گستر اسپوتا (دانش بنیان) بابت تمامی زحماتشان تشکر و قدردانی می‌گردد.

Millamena و همکاران ۱۹۹۸ با مقایسه عملکرد پست لارو میگوی ببری سیاه تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با سبوس برنج و فاقد اسید چرب غیر اشباع با پست لاروهای تغذیه شده با گونه جلبک *Ulva clathrata* حاوی سطوح مختلف اسیدهای چرب غیر اشباع نشان دادند که پست لاروهایی که به مدت ۱۰ روز با غذای زنده جلبکی تغذیه شده بودند، نسبت به پست لاروهای تغذیه شده با سبوس برنج به علت اسیدهای چرب، رشد بالاتری داشت (۲۸). در پژوهشی دیگر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ماهی قزل آلائی رنگین کمان پس از تغذیه با جلبک اسپیرولینا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این جلبک با افزایش سطح انزیم گلوکوتایون پراکسیداز قادر به بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۳۲). آنها نشان دادند که تغذیه ماهی قزل آلائی رنگین کمان با مقادیر کم *Arthrospira platensis* پروفایل اسیدهای چرب اشباع را با کاهش میزان اسیدهای چرب اشباع نامطلوب و افزایش مقدار برخی از PUFAهای زنجیره بلند مفید که دارای خاصیت ضد ترمبوژن و ضد آتروژنیک هستند، بهبود بخشید. در خصوص تحقیق حاضر نیز پیش از این اثبات شده بود که آنزیمهای گوارشی آرتمیا در تغذیه با رژیمهای غذایی مختلف به سرعت تغییر پیدا نموده و این تغییر بصورت ویژگیهای رشد و بقاء در آرتمیا بروز پیدا می‌کند (۸).

پیش از این گزارش شده بود که جیره‌های حاوی *Arthrospira platensis* قادرند به طور قابل توجهی پروفایل اسیدهای چرب ماهیچه‌ها را در قزل آلائی رنگین کمان تغییر دهند (۳۸). حتی افزایش سطح *Arthrospira platensis* از ۲/۵ به ۱۰ درصد به طور قابل توجهی باعث کاهش ($p > 0.05$) مقدار میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید پالمیتولئیک، اسید اولئیک و اسید لیگنوسریک در ماهیچه‌های ماهی قزل آلائی رنگین کمان شده بود در حالیکه میزان اسید ایکوزانوئیک،

منابع

۱. اکبری، پ.، امینی خویی، ز. و عرفانی فر، ا. ۱۳۹۹. اثر ریزجلبک *Aphanothece halophytica* بر ترکیب اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه ناپلیوس آرتمیا ارومیا (Artemia urmiana). *مجله علمی شیلات ایران*. doi: 10.22092/isfj.2021.12319229(5), 27-3
۲. پاک‌نژاد، م.، ملک‌احمدی، ف. و سلطانی، ن. ۱۳۹۷. بررسی اثر مقادیر مختلف نیتروژن و pH بر تولید بیومس، محتوی لیپید و ترکیب اسیدچرب در اسپیرولینا ماژور. *مجله بوم‌شناسی آریزان*. doi: 20.1001.1.23222751.1397.8.2.2.6.۳۰-۱۴. (۲):۸
۳. پیری، ح. و عنایت غلام پور، ط. ۲۰۱۳. بررسی نقش جلبک‌های سبز آبی آنابنافلوس-آکوا (*Anabaena flos-aquae*) و اسیلاتوریا آفریکانوم (*Oscillatoria africanum*) در تغذیه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*). *مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)*. doi: 20.1001.1.۲۶۵-۲۷۵. (۳):۲۶. [doi: 10.22034/jar.2025.8301.1953](https://doi.org/10.22034/jar.2025.8301.1953)
۴. ریگی گونک، ش. و اکبری، پ. ۱۴۰۰. اثر آرتمیا *Artemia urmiana* غنی‌شده با ریزجلبک کیتوسروس (*Chaetoceros sp.*) بر ترکیب اسیدهای چرب و وضعیت آنتی‌اکسیدانی میگوی پاسبید غربی (*Litopenaeus vannamei*). *مجله علمی شیلات ایران*. ۳۰ (۵): ۱۳-۲۳. doi: 10.22092/isfj.2021.125318
5. شیخی‌نژاد، ع.، لباب‌پور، ع. و معظمی، ن. ۱۳۹۴. افزایش تولید سیانو باکتری اسپیرولینا با کنترل هم‌زدن و ترکیب شیمیایی محیط کشت. *مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)*. (۲): ۳۴۴-۳۵۳. doi: 20.1001.1.23832592.1394.28.2.12.9.۳۵۳
6. فرهادیان، ا.، خرامان‌نیا، ر.، محبوبی صوفیانی، ن. و ابراهیمی، ع. ۱۳۹۴. میزان بلع پاروپای آب شیرین *Eucyclops serrulatus* جلبک‌های سبز *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus quadricauda*. *مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)*. (۴): ۲۸، ۴۹۴-۴۸۱. doi: 20.1001.1.23832614.۱۳۹۴.28.4.10.1
۷. مناف فر، ر.، ابطحی، بهروز، و آق، ناصر. ۱۳۸۴. غنی‌سازی ناپلیوس آرتمیا ارومیا با امولسیون اسیدهای چرب و بررسی متابولیسم HUFA تحت انکوباسیون سرد. *مجله منابع طبیعی ایران (منتشر نمی‌شود)*. (۲): ۵۸
۸. نجدگرمی، ا.، عسگری، ث.، زارع، ص. و مناف فر، ر. ۲۰۱۶. تاثیر مخمر غنی شده با نانو ذرات اکسید مس بر پارامترهای رشد، فعالیت آنزیم‌های گوارشی و متابولیسم چربی در آرتمیا ارومیا (*Artemia urmiana*) و آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*). *مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)*. (۳): ۲۹، ۳۷۹-۳۶۹. doi: 20.1001.1.23832614.1395.29.3.12.8
9. Assunção, M.F.G., Amaral, R., Martins, C.B., Ferreira, J.D., Ressurreição, S., Santos, S.D., Santos, L.M.A. 2017. Screening microalgae as potential sources of antioxidants. *Journal of Applied Phycology*, 29: 865-877. doi:10.1007/s10811-016-0980-7.
10. Bahr, A. S., Isoni, W., Maulida, N. 2021. Hatching and harvesting techniques for *Artemia* cysts with different effects of salinity in the district of Situbondo, East Java. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 718, No. 1, p. 012037). IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/718/1/012037.
11. Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A., Harel, M. 2002. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture*, 210(1-4), 285-304. doi:10.1016/S0044-8486(01)00849-3.
12. Coutteau, P., Brendonck, L., Lavens, P., Sorgeloos, P. 1992. The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. *Journal of Hydrobiologia*, 234, 25-32. doi:10.1007/BF00010776.
13. Fehér, M., Baranyai, E., Simon, E., Bársony, P., Szűcs, I., Posta, J., Stündl, L. 2013. The interactive effect of cobalt enrichment in *Artemia* on the survival and larval growth of barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, 414, 92-99. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.07.031.
14. Furuita, H., Takeuchi, T., Watanabe, T., Fujimoto, H., Sekiya, S., Imaizumi, K. 1996. Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries science*, 62(3), 372-379. doi:10.2331/fishsci.62.372.
15. Glencross, B.D., 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev. Aquacult.* 1, 71-124. doi:10.1111/j.1753-5131.2009.01006.
16. Gupta, M., Dwivedi, U. N., Khandelwal, S. 2011. CPhycocyanin: An effective protective agent against thymic atrophy by tributyltin. *Toxicol Lett.* 204(1). 2-11. doi:10.1016/j.toxlet.2011.03.029.
17. Hanel, H., Broekman, D., De Graaf, S., Schnack, D., 2007. Partial replacement of fishmeal by lyophilized powder of the microalgae *Spirulina platensis* pacific white shrimp diets. *The Open Marine Biology Journal*, 5:1- 10. doi:10.2174/1874450800701010001.
18. Hawkyard, M., Stuart, K., Langdon, C., Drawbridge, M. 2016. The enrichment of rotifers (*B. racionus plicatilis*) and *Artemia franciscana* with taurine

- liposomes and their subsequent effects on the larval development of *California yellowtail* (Seriola lalandi). *Aquaculture Nutrition*, 22(4), 911-922. doi:10.1111/anu.12317.
19. Hironobu, W., Kazuki, O., Asmi, Citra. M., Tassakka, A.R., Toshimitsu, K., Masahiro, S. 2006. Immunostimulatory effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 258, 157-163. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.05.003.
 20. Høj, L., Bourne, D. G., Hall, M. R. 2009. Localization, abundance and community structure of bacteria associated with *Artemia*: Effects of nauplii enrichment and antimicrobial treatment. *Aquaculture*, 293(3-4), 278-285. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.04.024.
 21. Hwang, C. Y., Jung, S., Hwang, Y. S., Cho, B. C. 2010. Lethal effects of pulsed high-voltage discharge on marine plankton and *Escherichia coli*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 213(1), 161-169. doi:10.1007/s11270-010-0375-3.
 22. Isnansetyo, A., Kamei, Y. 2009. Bioactive substances produced by marine isolates of *Pseudomonas*. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, vol. 36(10), pp.1239- 1248. doi:10.1007/s10295-009-0611-2.
 23. Karimzadeh, K. 2022. Synthesis of *spirulina* loaded chitosan nanoparticles from prawn, *Macrobrachium nipponense* shell for extending the shelf life of pike-perch (*Sander lucioperca*) fillet during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.*, 103:92-107. doi:10.1002/jsfa.1211.
 24. Koiso, M., Yoshikawa, M., Kuwada, H., Hagiwara, A. 2009. Effect of maternal diet on survival and life history parameters of next generations in the rotifer *Brachionus plicatilis* sp. complex. *Nippon Suisan Gakkaishi* 75, 828-833. doi:10.2331/suisan.75.828.
 25. Laing, I., Verdugo, C. G. 1991. Nutritional value of spray-dried *Tetraselmis suecica* for juvenile bivalves. *Aquaculture*, 92, 207-218. doi:10.1016/0044-8486(91)90022-Y.
 26. Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO). URL : <ftp://ftp.fao.org/.../w3732e00.pdf>.
 27. Lv, J., Liu, P., Wang, Y., Gao, B., Chen, P., Li, J. 2013. Transcriptome analysis of *Portunus trituberculatus* in response to salinity stress provides insights into the molecular basis of osmoregulation. *PLoS One*, 8(12), e82155. doi:10.1371/journal.pone.0082155.
 28. Millamena, O.M., Bom beo, Rf., Jumalon, Na. and Simpson, K.I. 1998. Effects of various diets on the nutritional value of *Artemia* sp. As food for the prawn *Peneus monodon*. *Marine Biology*, 98: 211- 221. doi: org/10.1007/BF00391197.
 29. Nascimento Sassano, C. E., Gioielli, L. A., Converti, A., de Oliveira Moraes, I., Sato, S., de Carvalho, J. C. M. 2014. Urea increases fed-batch growth and γ -linolenic acid production of nutritionally valuable *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cyanobacterium. *Engineering in Life Sciences*, 14(5), 530-537. doi:10.1002/elsc.201400020.
 30. New, M. B., 1998. New, M. B. 1999. Global aquaculture: current trends and challenges for the 21st century. *World Aquaculture-Baton Rouge*, 30, 8-13.
 31. Olsen, Y., Evjemo, J.O., Kjörsvik, E., Larssen, H., Li, K., Overrein, I., Rainuzzo, J. 2014. DHA content in dietary phospholipids affects DHA content in phospholipids of cod larvae and larval performance. *Aquaculture* 428, 203-214. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.03.002.
 32. Onofrejšová, L., vasickova, J.V., Klejdus, B., Stratil, P., Misurcova, L., Kracmar, S., Kopecky, J., Vacek, J. 2010. Bioactive phenols in algae: the application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51, 464-470. doi:10.1016/j.jpba.2009.03.027
 33. Parrish, C. C., Whiticar, M., Puvanendran, V. 2007. Is ω 6 docosapentaenoic acid an essential fatty acid during early ontogeny in marine fauna?. *Limnology and Oceanography*, 52(1), 476-479. doi:10.4319/lo.2007.52.1.0476.
 34. Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Olsen, Y. 1997. The significance of lipids at early stages of 715 marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-115. doi:10.1016/s0044- 716 8486(97)00121-x.
 35. Robert, S.S., Singh SP., Zhou, X-R., Petrie, JR., Blackburn, SL., Mansour PM. 2005. Metabolic engineering of *Arabidopsis* to produce nutritionally important DHA in seed oil. *Functional Plant Biology*, vol. 32(6), pp. 473-479. doi:10.1071/FP05084.
 36. Sargent, J. R. 1995. Origins and functions of egg lipids: Nutritional implications. In N. Bromage, and R. Roberts (Eds.), *Management and egg and larval quality* (p. 1). Oxford: Blackwell Science. doi:10.2331/fishsci.63.816.
 37. Sorgeloos, P., Min, H. 2001. use of Lipid emulsion for bio encapsulation of highly unsaturated fatty acids in the brine shrimp *Artemia*. *Artemia Reference center, University of Gent*.
 38. Teimouri, M., Yeganeh, S., Amirikolaie, A.K. 2016. The effects of *Spirulina platensis* meal on proximate composition, fatty acid profile and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Aquaculture Nutrition* 22 (3): 559-566. doi:10.1111/anu.12281.
 39. Tocher, R. D. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in *Teleost fish*. *Reviews of Fisheries Science*, 11, 107. doi:10.1080/713610925.
 40. Triantaphyllidis, G.V., Pouloupoulou, K., Abatzopoulos, T.J., Pinto Perez, C.A., Sorgeloos, P. 1995. International Study on *Artemia*. XLIX. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of a bisexual and a parthenogenetic population of *Artemia*. *Hydrobiologia* 302: 215-227. doi:10.1007/BF00032111.
 41. Zarrouk, C., 1966. Contribution to the study of cyanobacteria, influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis in *Spirulina maxima*. PhD thesis, University of Paris.

In vitro quantification of fatty acid profile and evaluation of survival under salinity and temperature stress in *Artemia franciscana* fed with *spirulina* algae powder

Roshandel R., Manaffar R. and Meshkiniy S.

Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

Artemia is a small crustacean that is used as food for aquatic larvae. Years ago, a standard method for breeding *Artemia* was introduced by live *Dunaliella* algae and a special type of yeast, which was used both in laboratory research and in some breeding centers. Considering the difficulties of preparing and cultivating live food for breeding *Artemia*, in a 14-day study, *Artemia* was grown in several treatments and in laboratory conditions with *spirulina* algae powder, and the profile of fatty acids and resistance to temperature and salinity stress of that study. The main goal of this research is to investigate the possibility of producing *Artemia* rich in PUFA and HUFA that can survive better in environmental stress conditions. For this purpose, *Artemia franciscana* was grown in laboratory conditions and with a combination of yeast and *Spirulina* algae powder in 5 different treatments compared to *Dunaliella* algae in a total of 6 treatments. The fatty acids of each treatment were measured, and the *Artemia* were subjected to salinity and temperature stress under controlled conditions. The results showed that the amount of PUFAs increased to more than 3 in the treatments fed with spirulina powder ($p < 0.05$). *Artemia* fed with different treatments of *spirulina* powder had better survival against applied stresses. Considering the improvement of nutritional value, the increase of resistance to environmental stress, as well as the more economical and simple use of *spirulina* powder in *Artemia* feeding, from now on, *spirulina* algae powder can be used in large quantities in *Artemia* feeding.

Keywords: *Artemia*, *Spirulina*, Fatty acids, Temperature stress, Salinity stress