معرفی پروتکل استاندارد غنی‌سازی ناپلی *Artemia urmiana* با روغن کلزا

سروه قادرپور[۱]، ناصر آق[۲]، فرزانه نوری [۲]، اسلام احمدیان[۱]

۱. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه
۲. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه

چکیده

این پژوهش با هدف ارائه پروتکل استاندارد غنی‌سازی *Artemia urmiana* با روغن کلزا انجام شد. غنی‌سازی ناپلی *A.urmiana*در سه تراکم ناپلی و با سه غلظت روغن کلزا صورت گرفت که اثرات آن بر درصد بقا، طول کل و میزان اسیدهای چرب ناپلی *A.urmiana* در زمان‌های ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ساعت بعد از غنی‌سازی مورد ارزیابی قرار گرفت. سیست‌های *A.urmiana* طبق روش استاندارد تخم‌گشایی شدند و ناپلیوس‌های حاصله با تراکم‌های ۵۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به زوک‌های هفت لیتری منتقل شدند. امولسیون روغن کلزا در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر در دو زمان صفر و ۱۲ ساعت پس از شروع غنی‌سازی به زوک‌های حاوی آرتمیا افزوده شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر استفاده از غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کلزا تحت تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به مدت ۱۸ ساعت، بهترین روش برای غنی‌سازی *A.urmiana* بود. ناپلی آرتمیا غنی شده تحت این تیمار، از لحاظ میزان اسیدهای چرب PUFA(n-3) و درصد بقا به طور معنی‌داری بیشتر و از لحاظ رشد به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد و اکثر تیمارهای آزمایشی بودند. همچنین این تیمار از لحاظ میزان اسیدهای چرب PUFA(n-6) به طور معنی‌داری نسبت به همه تیمارها به جز تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی بیشتر بود.

واژگان کلیدی: *Artemia urmiana* ، روغن کلزا، اسیدهای چرب، پروتکل استاندارد غنی‌سازی.

۱. مقدمه

یکی از مشکلات موجود در پرورش ماهیان، پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی آن‌ها است که رشد کند همراه با تلفات بالا دارند (Girri *et al*., 2002). در پرورش لارو ماهیان و سخت پوستان، اصلی‌ترین مسئله تامین غذایی مناسب با کیفیت بالاست که به راحتی توسط لارو ماهی پذیرفته و هضم شود (Kim *et al*., 1996). پرورش موفقیت‌آمیز آبزیان، به قابلیت دسترسی به غذای مناسب بستگی دارد تا بتواند رشد و خصوصاً سلامتی را در مراحل نوزادی و لاروی تضمین نماید (Girri *et al*., 2002). طعمه‌های مورد استفاده در آبزی‌پروری بایستی اندازه مناسب و پروفایل غذایی بالا، همچنین توانایی شنا و زنده ماندن در محیط پرورشی گونه‌های هدف را داشته باشند (McConaugha, 1985; Beck and Turingan, 2007). رایج‌ترین طعمه پرورشی مورد استفاده، ناپلی آرتمیا و روتیفر هستند زیرا به آرامی شنا می‌کنند و می‌توان با اطمینان بالایی آن‌ها را در تراکم بالا پرورش داد (Narciso, 2000; Beck and Turingan, 2007).

ناپلیوس آرتمیا به دلیل اندازه کوچک در زمان تخم-گشایی و کیفیت بالای غذایی می‌تواند به عنوان غذای آغازین بسیاری از گونه‌های ماهیان مورد استفاده قرار گیرد (Sorgeloos *et al*., 2001). با وجود کیفیت بالای غذایی آرتمیا، میزان اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند در برخی از گونه‌های آرتمیا پایین است (اکبری و همکاران، ۱۳۸۷). ویژگی تغذیه‌ای آرتمیا به عنوان فیلترکننده غیرانتخابی، این امکان را فراهم می‌آورد تا بتوان آرتمیا را با مواد مختلف از جمله اسیدهای چرب ضروری غنی‌سازی کرد و به لارو ماهی یا سخت پوستان پرورشی انتقال داد. غنی‌سازی آرتمیا با اسیدهای چرب ضروری می‌تواند رشد، بقا، میزان رنگدانه‌ها و مقاومت بسیاری از گونه‌ها را نسبت به بیماری و استرس تحت تاثیر قرار دهد (Copeman *et al*., 2002; Kim *et al*., 2003).

در ایران، بخش مهمی از صنعت آبزی‌پروری به تکثیر و پرورش *قزل آلای رنگین کمان* و ماهیان خاویاری اختصاص یافته است. متأسفانه امروزه تلفات لاروی بالایی در اکثر کارگاه‌های تکثیر و پرورش این ماهیان دیده می‌شود که از نظر اکثر کارشناسان، یکی از دلایل اصلی آن مربوط به تغذیه آغازین است (کاظمی و آق، ۱۳۹۱). بنابراین استفاده از روش‌های مختلف برای کاهش تلفات و تولید لاروهای مقاوم ضروری به نظر می‌رسد (کاظمی و آق، ۱۳۹۱).

طی بررسی‌های کاظمی و آق در سال ۱۳۹۱ در مورد استفاده از روغن‌های گیاهی جهت غنی‌سازی ناپلی *A.urmiana* برای تغذیه لارو ماهی *قزل آلای رنگین کمان* مشاهده شد که بالاترین درصد بازماندگی لاروها تحت کلیه استرس‌های اعمال شده (جز در یک مورد) مربوط به تیمار تغذیه شده با ناپلی غنی شده با روغن کلزا (کانولا) بود که به طور معنی‌داری نسبت به لاروهای تغذیه شده با غذای کنسانتره بالاتر بود ولی در اکثر موارد با لاروهایی که از آرتمیای غنی شده با روغن ماهی تغذیه کرده بودند اختلاف معنی‌داری نداشت. بر اساس تحقیقات آن‌ها از لحاظ شاخص‌های رشد و بازماندگی بین تیمارهای تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با روغن ماهی و روغن‌های گیاهی مشاهده نشد. لازم به ذکر است که دوره غنی‌سازی با روغن-های گیاهی به میزان ۵۰ درصد کمتر از غنی‌سازی با روغن ماهی بوده و این عامل خود از لحاظ کاهش هزینه‌های غنی‌سازی و دسترسی سریع‌تر به آرتمیای غنی شده، از ارزش و اهمیت خاصی برای مراکز تکثیر برخوردار است. بنابراین می‌توان به طور کامل از روغن های گیاهی به عنوان جایگزین روغن ماهی در غنی-سازی ناپلی آرتمیا برای تغذیه لارو قز ل‌آلا استفاده کرد.

با توجه به نقش استفاده از آرتمیای غنی شده با روغن و امولسیون‌های حاوی اسیدهای چرب در کاهش تلفات و بهبود رشد لارو ماهی و سخت پوستان و اهمیت جایگزینی روغن‌ها و امولسیون‌های گران قیمت وارداتی با منابع داخلی، در پژوهش حاضر

سعی شد روش استاندارد برای غنی‌سازی ناپلی *A.urmiana* با روغن کلزای بومی ارائه شود و اهمیت این نوع غنی‌سازی در تغذیه لارو ماهیان آب شیرین مورد ارزیابی قرار گیرد.

۲. مواد و روش ها

تخم‌گشایی و ضدعفونی سیست آرتمیا

سیست‌های *A.urmiana* از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا دانشگاه ارومیه تهیه و برای این مطالعه مورد-استفاده قرار گرفتند. لایه کوریون سیست‌ها به روش شیمیایی و با به کارگیری هیپوکلریت سدیم طی فرآیند کپسول‌زدایی جدا شد (Van Stappen, 1996). تخم‌گشایی سیست‌های کپسول‌زدایی‌شده در زوک‌های شیشه‌ای هفت لیتری با استفاده از آب رقیق و اتوکلاو شده دریاچه ارومیه با شوری ۳۵ ppt و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و تحت هوادهی شدید انجام پذیرفت (Sorgeloos *et al*., 1986). بعد از ۲۱ ساعت ناپلیوس‌های تازه تخم‌گشایی‌شده با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت، از سیست‌های تخم‌گشایی‌نشده جدا و با استفاده از صافی با چشمه ۱۵۰ میکرون، با آب شیر شستشو و به زوک تمیز حاوی آب تازه ۳۵ ppt منتقل شدند و به خوبی هوادهی شدند تا همگن شوند. سپس ناپلیوس‌ها شمارش شدند و در سه تراکم ۵۰،۰۰۰، ۱۰۰،۰۰۰ و ۲۰۰،۰۰۰ ناپلی در هر لیتر به زوک‌های ۷ لیتری منتقل شدند.

تهیه محلول غنی‌سازی

برای تهیه سوسپانسیون غنی‌سازی ابتدا لسیتین، روغن و آب به ترتیب با نسبت ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی لیتر درون بشر توسط همزن همزده شد تا گلبول‌های ریز چربی بین ۱۰ الی ۳۰ میکرون تشکیل شوند. سپس برای جلوگیری از اکسیدشدن چربی، مقداری گاز ازت به داخل سوسپانسیون تهیه شده تزریق و درب آن با پارافیلم محکم بسته شد و تا موقع استفاده در داخل یخچال نگهداری شد.

غنی‌سازی ناپلی آرتمیا با روغن کلزا

زوک‌های شیشه‌ای ۷ لیتری بدین منظور مورد استفاده قرار گرفت. به هر کدام از زوک‌ها آب شور ۳۵ ppt اتوکلاوشده افزوده شد. زوک‌ها درون یک آکواریوم قرار گرفتند که دمای آب درون آکواریوم توسط دو بخاری آکواریوم در ۲۸ درجه سانتیگراد تنظیم شد. درب زوک‌ها محکم بسته شده و هوادهی آن‌ها توسط لوله‌های پلاستیکی متصل به شیلنگ هوادهی انجام گرفت.

ناپلیوس‌ها در سه تراکم ۵۰،۰۰۰، ۱۰۰،۰۰۰ و ۲۰۰،۰۰۰ با سه غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن کلزا در لیتر غنی‌سازی شدند. اولین دز سوسپانسیون غنی‌سازی در زمان صفر (بلافاصله بعد از انتقال ناپلیوس‌ها به زوک‌های غنی‌سازی)، و دومین دز ۱۲ ساعت بعد از شروع غنی‌سازی به زوک‌ها افزوده شدند. نمونه‌برداری‌ها برای بررسی میزان بازماندگی، رشد و پروفیل اسیدهای چرب در ۵ زمان (۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ساعت بعد از شروع غنی‌سازی) با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد.

محاسبه میزان بقا و طول کل

با استفاده از یک سمپلر دقیق تعداد ۱۰ نمونه ۲۵۰ میکرولیتری از هر زوک در زمان‌های ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ساعت برداشته شد و به داخل میکروپلیت‌های ۲۴ خانه منتقل گردید و درصد بقای آن‌ها در زمان موردنظر محاسبه شد. همچنین در زمان‌های گفته شده تعداد ۲۰ عدد ناپلی زنده به طور تصادفی از هر زوک جدا شد و طول کل آن‌ها با استریومیکروسکوپ مجهز به لوله رسم و دستگاه Digitizer اندازه‌گیری شد.

محاسبه میزان اسیدهای چرب

در پنج زمان مورد نظر از هر زوک به میزان ۰/۵ گرم ناپلی (معادل ۵۰۰۰۰ ناپلی) نمونه‌برداری شد و بعد از شستشو با آب شیر به درون میکروتیوب منتقل و تا زمان آنالیز در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای تعیین پروفیل و میزان اسیدهای چرب، ابتدا متیل استرهای اسیدهای چرب با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم (Lepage and

Roy, 1984)، استخراج شدند. آنالیز نمونه‌ها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی (مدل Agilent technologies 7890A، ساخت آمریکا) انجام گرفت. میزان اسیدهای چرب اشباع SFA روغن کلزا طبق برچسب کارخانه (شرکت فرآورده‌های روغنی Sirco)، ۸-۶٪ و اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه MUFA ۶۹-۵۶٪ و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه PUFA ۳۳-۲۵٪ اعلام شده است. در جدول ۱ نام اسیدهای چرب مهم و علامت اختصاری آن‌ها ارائه شده است.

آنالیز آماری

قبل از مقایسه میانگین‌ها، ابتدا نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و یکسان‌سازی شد. برای تجزیه و تحلیل آماری، از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶) به روش آنالیز واریانس دوطرفه (Multivariate) استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها با کمک آزمون دانکن (Duncan test) صورت گرفت. میزان اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید.

۳. نتایج

نتایج مربوط به تاثیر غنی‌سازی *A.urmiana* بر بقا و طول کل تحت تاثیر هر سه فاکتور تراکم، زمان و غلظت در همه تیمارها در جدول ۲ نشان داده شده است. همچنین نتایج مربوط به میزان اسیدهای چرب زنجیره بلند (LA، ALA، ARA، EPA و DHA) تحت تاثیر هر سه فاکتور در جدول ۳ آمده است. نتایج حاصل از داده‌های مربوط به مجموع اسیدهای چرب (SFA، MUFA، PUFA، TFA) در جدول ۴ و نتایج مربوط به PUFA (n-6) و PUFA (n-3) در جدول ۵ ارائه شده است.

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مربوط به بقا و طول کل تحت تاثیر هر سه فاکتور تراکم ناپلی، مدت زمان غنی‌سازی و غلظت روغن کلزا در جدول ۲ ارائه شده است. کمترین مقدار طول کل را تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت داشت که با تراکم‌های ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$)، ولی با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$).

بیشترین میزان بقا در تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۱ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت دیده شد که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۲ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان LA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس به ترتیب با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت بود که با تراکم ۵۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر کلزا اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$)، ولی با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P<0/05$) (جدول ۳). کمترین میزان LA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت تعیین گردید که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی-دار داشت ($P<0/05$). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان ALA در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($P<0/05$). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد. کمترین میزان ALA در تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۵ ساعت غنی‌سازی بود که با تیمارها و گروه-های دیگر اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳، $P<0/05$).

بیشترین میزان ARA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۵

ساعت بود که با تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت و هر سه غلظت روغن (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر) در تراکم ۵۰۰۰۰ به مدت ۱۸ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، ولی با سایر تیمارها و گروه‌ها به طور معنی‌داری متفاوت بود (P<۰/۰۵). کمترین میزان ARA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی-سازی بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان EPA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۵ ساعت بود که با همین تراکم با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر در همان مدت زمان اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳، P>۰/۰۵) اما با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). کمترین میزان EPA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۲ ساعت غنی‌سازی بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان DHA مربوط به تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳، P>۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۳ قابل مشاهده می‌باشد. کمترین میزان DHA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت مشاهده شد که با غلظت ۰/۱ گرم روغن کلزا در لیتر به مدت ۶ و ۱۲ ساعت در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر و همین غلظت به مدت ۱۸ ساعت در تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلی، غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ و ۱۵ ساعت در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی به طور معنی‌داری با بقیه تیمارها متفاوت بود (P<۰/۰۵).

نتایج نشان دادند که روتیفر و آرتمیا می‌توانند به آسانی DHA را به EPA و 22:5n6 را به ARA از طریق فرایندβ -اکسیداسیون تبدیل کنند (Stoffel *et al*., 1970; Kunau and Couzens, 1971; Kunau and Bartnik, 1974; Hagve and Christopherson, 1986). این فرایند در پراکسیموس میتوکندری اتفاق می‌افتد که دو واکنش را شامل می‌شود: ۱)کاهش تعداد پیوندهای دوگانه که توسط آنزیم ردوکتاز ۴-انول-کوآنزیم A صورت می‌گیرد در حالی که طول زنجیره کربنی بدون تغییر می‌ماند ۲) سپس کوتاه کردن زنجیره کربنی اتفاق می‌افتد (Kunau and Bartnik, 1974). بنابراین DHA ابتدا به 22:5n3 و سپس به EPA تبدیل می‌شود. متشابهاً 22:5n6 ابتدا به 22:4n6 و سپس به ARA تبدیل می‌شود. ARA می‌تواند از طریق اکسیداسیون به انواع ایکوزانوئیدها تبدیل شود (Garcia *et al*., 2008) که تبدیل آن توسط EPA تعدیل می‌یابد (Sargent, 1995).

بیشترین میزان SFA در تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی دیده شد که با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۱ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها و گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). کمترین میزان SFA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان MUFA در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر و تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت اندازه-گیری شد که با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری

داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان MUFA مربوط به گروه شاهد (آرتمیا غنی‌نشده)، تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۱ و ۰/۲ گرم روغن در لیتر به ترتیب به مدت ۶ و ۹ ساعت و تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۶ و ۱۵ ساعت غنی‌سازی بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی-دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان PUFA در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۱ گرم روغن در لیتر و تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت تعیین گردید که با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان PUFA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۵ ساعت بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی-دار نشان داد (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان TFA را تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی داشت که با هر سه غلظت (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر) در تراکم ۵۰۰۰۰ به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی با روغن کلزا اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵) ولی با بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). کمترین میزان TFA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی‌سازی با روغن کلزا بود که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۴ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان PUFA (n-6) مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۱ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۸ ساعت بود که با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر در تراکم‌های ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر به مدت ۱۸ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۵، P>۰/۰۵)، ولی دارای اختلاف معنی‌دار با بقیه گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). کمترین میزان PUFA (n-6) را تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی‌سازی داشت که با اکثر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و گروه‌های مختلف در جدول ۵ قابل مشاهده می‌باشد.

بیشترین میزان PUFA (n-3) مربوط به تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی بود که با بقیه گروه‌ها و تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۵، P<۰/۰۵). کمترین میزان PUFA (n-3) در *A.urmiana* در تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلی با غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر به مدت ۱۵ ساعت غنی‌سازی دیده شد که با بقیه تیمارها و گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵).

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد ناپلی *A.urmiana* در اکثر تیمارها از درصد بقای بالایی برخوردار بودند و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند که این نشانگر این مطلب است که افزایش مدت زمان غنی‌سازی و تراکم‌های مختلف ناپلی و غلظت‌های مختلف روغن کلزا تاثیر زیادی روی میزان بقای آن‌ها نداشته است.

کمترین میزان طول کل در ناپلی *A.urmiana* در تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به مدت زمان ۶ ساعت با غلظت ۰/۲ گرم روغن کلزا در لیتر دیده شد که با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ گرم روغن در لیتر در تراکم‌های ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی‌سازی اختلاف معنی‌دار نداشت. در تشابه با آن، مطالعات دیگر افزایش میزان طول کل را با افزایش مدت زمان غنی‌سازی گزارش دادند(Smith *et al*., 2002; Figueiredo *et al*., 2009). این مشاهده با نتایج مطالعه (Agh and Noori, 2005) نیز موافق می‌باشد که تا ۳۶ ساعت غنی‌سازی میزان طول کل افزایش پیدا کرد. ناپلی آرتمیا با اندازه

کوچک در تغذیه لارو ماهیان دریایی، میگو و ماهیان زینتی که معمولاً دهان کوچکی دارند از اهمیت خاصی برخوردار است (Figueiredo *et al*., 2009). لذا اگر تکنیک غنی‌سازی بتواند ناپلی غنی‌شده با اندازه کوچک فراهم آورد مزیت آن تکنیک محسوب می‌شود. ولی در صورتی که هدف از غنی‌سازی استفاده از ناپلی برای ماهیان خاویاری و اکثر ماهیان آب شیرین که دهان نسبتاً بزرگی دارند باشد، اندازه بزرگتر ناپلی نه تنها پارامتر منفی محسوب نمی‌شود بلکه محققین مختلفی استفاده از ناپلی بزرگ با میزان بیشتر انرژی را توصیه نموده‌اند زیرا گونه هدف انرژی کمتری را برای صید تعداد کمتر طعمه صرف می‌کند تا نیازش به انرژی برطرف شود (Narciso, 2000). با محاسبه ضریب همبستگی پیرسون (۰/۳۹۴-) در این مطالعه، این نتیجه گرفته شد که بقا و طول کل با هم رابطه معکوس دارند بنابراین، افزایش رشد همزمان با کاهش درصد بقا در این تیمارها قابل توجیه می‌باشد ($P<۰/۰۱$).

میزان اسیدهای چرب، خصوصاً اسیدهای چرب ضروری طعمه برای پرورش موفق لارو آبزیان اهمیت خاصی دارد (Monroig *et al*., 2006). اگر هدف از غنی‌سازی با اسیدهای چرب، استفاده از ناپلی غنی-شده برای لارو ماهیان دریایی باشد، بدین منظور از امولسیون اسیدهای چرب یا روغن کبد ماهی استفاده می‌شود ولی در صورتی که هدف از غنی‌سازی، استفاده از ناپلی غنی‌شده برای تغذیه لارو ماهیان آب شیرین و یا لب شور (نظیر ماهیان خاویاری) باشد، افزایش میزان اسیدهای چرب ۱۸ کربنه لینولئیک اسید (LA) و لینولنیک اسید (ALA) نیازهای آن‌ها را تامین می‌نماید (Yone, 1978; Kanazawa, 1985; Noori *et al*., 2011). در این مطالعه با توجه به اینکه از روغن گیاهی کلزا (که فاقد اسیدهای چرب DHA و EPA است) برای غنی‌سازی استفاده شد، عمدتاً بهبود غلظت همین اسیدهای چرب با هدف آتی استفاده از چنین آرتمیای غنی‌شده‌ای در تغذیه لارو ماهیان آب شیرین و لب شور مد نظر قرار گرفت و نتایج حاصله نیز در این راستا بود. لازم به ذکر است که اگر میزان اسید چربی در تیمارها نسبت به شاهد تفاوتی نداشته باشد نشان دهنده این است که آن اسیدچرب مورد استفاده قرار نگرفته است و در بافت-ها محفوظ مانده است اما اگر کاهش یابد یعنی به طور انتخابی کاتابولیز شده است که این مشاهدات در مطالعه حاضر و Garcia و همکارانش (۲۰۰۸) نیز دیده شد.

میزان اسیدچرب در ناپلی آرتمیا حاصل فرآیند متابولیک پیچیده و سریع جذب، اتصال به چربی‌های بدن و کاتابولیسم است (Han *et al*., 2000). در مهره‌داران دریایی از جمله ماهیان نشان داده شده است که میزان n-3 HUFA در ماهیان به مقدار آن در جیره وابسته است (Sargent *et al*., 1993) بنابراین با توجه به اینکه روغن کلزای مورد استفاده فاقد اسیدچرب DHA است، عدم اختلاف معنی‌دار در میزان DHA بین اکثر تیمارهای آزمایشی و البته در مقایسه با تیمار شاهد (ناپلی غنی‌نشده) یک امر بدیهی است ($P>۰/۰۵$) که مشابه نتایج Morais و همکارانش در سال ۲۰۰۴ است، علیرغم اینکه آن‌ها از Super HUFA به عنوان محیط غنی‌سازی استفاده کردند. متابولیسم n-3 HUFA در *A.franciscana* مغایر با اغلب مهره‌داران دریایی و حتی بی‌مهرگان دریایی از جمله پاروپایان است، به نظر می‌رسد که آرتمیا DHA را به شکل تری گلیسیرید ذخیره کند زیرا در مدت نگهداری با سرعت بالایی کاتابولیز می-شود (Barclay and Zeller, 1996; Coutteau and Mourente, 1997; Estevez *et al*., 1998; Navarro *et al*., 1999) و این می‌تواند در ناپلی *A.urmiana* نیز رخ دهد. Navarro و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که ۲۰٪ از میزان DHA رادیواکتیویته با کربن ۱۴ بعد از ۲۴ ساعت غنی‌سازی آرتمیا به EPA تبدیل شد و ۶۷٪ به همان صورت باقی ماند.

بیشترین میزان EPA در ناپلی *A.urmiana* مربوط به تیمار با تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به مدت ۱۵ ساعت با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کلزا می‌باشد

که نسبت به ناپلی غنی‌نشده اختلاف معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). با توجه به اینکه روغن کلزا مورد استفاده فاقد اسیدهای چرب زنجیره بلند مانند EPA می‌باشد، بنابراین افزایش EPA در طول زمان غنی‌سازی می‌تواند به دلیل تبدیل دیگر اسیدهای چرب به EPA باشد. آرتمیا، قدرت ساخت اسیدهای چرب زنجیره بلند از اسیدهای چرب زنجیره کوتاه را دارد ولی قادر به بیوسنتز DHA نمی‌باشد، از سوی دیگر افزایش میزان EPA می‌تواند حاکی از کاتابولیزم DHA به EPA باشد (Triantaphyllidis *et al*., 1995; Furuita *et al*., 1996) و نمی‌توان تشخیص داد که منشا EPA از تبدیل DHA یا مستقیماً از جیره حاصل شده است (Han *et al*., 2000). با افزایش مدت زمان غنی‌سازی، تغییرات نامنظمی در میزان EPA مشاهده می‌شود ولی روند کاملاً کاهشی نداشت. افزایش EPA در *A.urmiana* نسبت به *Artemia franciscana* غنی شده با روغن کلزا (قادرپور و همکاران، در دست چاپ) احتمالاً می‌تواند به دلیل اختلاف گونه‌ها در تبدیلات زیستی و همچنین مصارف متابولیکی و حفظ ترجیحی اسید چرب معین باشد. در اکثر مطالعات انجام شده با وجود منبع غنی از اسیدهای چرب امگا ۳ میزان EPA و DHA اختلاف معنی‌داری نسبت به آرتمیا غنی نشده ندارد و میزان ALA، LA، ARA، n-3 و n-6 به طور معنی‌داری بیشتر است (Gapasin *et al*., 2001) که در اینجا نیز تقریباً همین نتایج مشاهده شد. بیشترین غلظت امولسیون و زمان طولانی‌تر بر میزان EPA و DHA در ناپلی *A.urmiana* غنی شده به طور معنی داری موثر بود (Hafezieh *et al*., 2008) که این می‌تواند به دلیل نوع امولسیون متفاوت باشد که نتیجه‌اش در تناقض با این پژوهش بود. منشا جغرافیایی گونه آرتمیا، جیره و شرایط غنی‌سازی (مرحله رشد اولیه ناپلی، مدت زمان، میزان و نوع امولسیون غنی‌سازی) واضح‌ترین عوامل موثر بر نتایج غنی‌سازی هستند (Leger *et al*., 1987) با این حال به نظر می‌رسد عوامل ناشناخته دیگری نیز دخالت داشته باشند.

بیشترین میزان EPA در آرتمیا غنی شده با امولسیون اسیدچرب به مدت ۴۸ ساعت و در زمان صفر دیده شد (Agh and Noori, 2005). بنابراین با توجه به نتایج این دو پژوهش و (Abedian Kenari and Mirzakhani, 2005) می‌توان گفت که بهتر است از این گونه برای افزایش DHA و EPA استفاده نکنیم و در موجوداتی که توانایی سنتز DHA و EPA را از اسیدهای چرب دیگر دارند این گونه مورد استفاده قرار گیرد.

بیشترین میزان ARA در تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۵ ساعت دیده شد. با افزایش مدت زمان غنی‌سازی در این دو تیمار با تراکم ۲۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر میزان ARA کاهش یافت که می‌تواند به دلیل مصرف آن توسط ناپلی، استرس ناشی از تراکم زیاد و یا عواملی نظیر تجمع متابولیت‌ها در محیط و افزایش نیاز موجود برای مقابله با آن‌ها باشد، که البته این مطلب نیازمند بررسی بیشتری است. اکسیداسیون خود به خود در غلظت بالای روغن غنی‌سازی سبب کاهش دسترسی به HUFA در محیط غنی‌سازی می‌شود (McEvoy *et al*., 1995) که کاهش ARA در این غلظت‌ها می‌تواند به این دلیل نیز باشد.

بنابراین با توجه به میزان کم DHA، EPA و ARA در ناپلی *A.urmiana* غنی‌شده با روغن کلزا محلی که می‌تواند به دلیل فقدان این اسیدهای چرب در روغن کلزا باشد، در این پژوهش از در نظر گرفتن میزان اسیدهای چرب DHA، EPA و ARA به عنوان ملاک برای انتخاب بهترین تیمار صرفنظر شد.

زمانی که تغذیه ماهی با روغن‌های گیاهی از جمله کلزا، سویا، بزرک، نخل و زیتون صورت می‌گیرد به دلیل تجمع C20:3n-6 در درون بدن ماهی میزان ARA کاهش می‌یابد (Bell *et al*., 1991, 1993)، و این جای بررسی دارد که آیا در ناپلی غنی‌شده با روغن کلزا نیز همین اتفاق افتاده است زیرا میزان

ARA در اکثر تیمارهای ناپلی غنی‌شده کمتر از ناپلی غنی‌نشده بود (P<۰/۰۵).

حداکثر مقدار LA در تراکم‌های ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر به ترتیب با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت مشاهده گردید که به طور معنی‌داری بیشتر از میزان آن در تیمار شاهد بود (P<۰/۰۵). از مزایای بالقوه LA این است که می‌تواند به عنوان منبع انرژی در دسترس باشد (D'Souza, 1998; Glencross, 2009) یا به عنوان پیش ساز ARA مورد استفاده قرار گیرد، برخی از گونه‌ها مانند ماهیان قزل آلا و خاویاری که توانایی طویل سازی زنجیره اسیدچرب را دارند (Sorgeloos *et al*., 1993; Noori *et al*., 2011) قادر به این تبدیلات هستند (Sargent, 1995). در هر سه غلظت روغن در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر بیشترین میزان LA در مدت زمان ۱۸ ساعت تعیین گردید (البته میزان LA در غلظت ۰/۲ گرم روغن در لیتر با مقادیر آن در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۹ ساعت غنی‌سازی اختلاف معنی‌دار نداشت). این یافته می‌تواند مؤید این نکته باشد که در این تراکم و مدت زمان با توجه به تعداد کم ناپلی و مدت زمان طولانی-تر، دسترسی ناپلیوس‌ها به ذرات روغن بیشتر بوده است.

بیشترین میزان ALA در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی مشاهده شد که با تیمار شاهد (آرتمیا غنی‌نشده) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). ولی میزان ALA در اکثر تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که برای افزایش میزان ALA در ناپلی *A.urmiana* نیازی به غنی‌سازی با غلظت‌های بالای روغن کلزا نیست بلکه تراکم آرتمیا تاثیر گذارترین عامل به شمار می‌رود. بیشترین میزان لینولنیک اسید در ناپلی *A.urmiana* غنی شده با امولسیون اسیدچرب در طولانی‌ترین زمان غنی‌سازی به مدت ۲۴ ساعت دیده شد، در حالی که بیشترین میزان DHA در زمان صفر غنی سازی بود که به مرور زمان کاهش یافت (Agh and Noori, 2005) و این در توافق با نتایج بدست آمده در این پژوهش است.

بر اساس گزارشی میگوی ژاپنی *Penaeus japonicus* بهترین رشد و بقا را با ۱٪ اسید لینولئیک یا اسید لینولنیک دارد (Kanazawa *et al*., 1979) که در این پژوهش میزان این اسیدهای چرب در تیمار منتخب بیش از ۱٪ است بنابراین می‌توان از ناپلی غنی شده با روغن کلزا برای تغذیه این موجود به منظور رشد و بقای بهتر استفاده کرد.

بیشترین میزان PUFA کل در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن و تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (P>۰/۰۵)، ولی با تیمار شاهد به طور معنی‌داری متفاوت بودند که نشان‌دهنده افزایش میزان آن در طول فرآیند غنی‌سازی بود. این یافته در راستای نتایج Gholami در سال ۲۰۱۰ است که بیشترین مقادیر PUFA در مدت زمان ۹ ساعت (حداکثر زمان غنی‌سازی) در دافنی غنی شده با n-3 HUFA دیده شد. این یافته با توجه به میزان نسبتاً بالای PUFA (۳۳-۲۵٪) در روغن کلزای مورد استفاده قابل توجیه است.

همانگونه که نتایج نشان دادند حداکثر میزان (n-6) PUFA مربوط به تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی است که حداکثر مقدار PUFA کل را داشت. تراکم‌های ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت نیز با حداکثر مقدار PUFA (n-6) اختلاف معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵)، ولی با تیمار شاهد (آرتمیا غنی‌نشده) به طور معنی‌داری تفاوت نشان دادند که حاکی از افزایش میزان PUFA (n-6) در طول فرآیند غنی‌سازی می‌باشد. همچنین بیشترین مقادیر PUFA (n-6) در زمان ۱۸ ساعت غنی‌سازی در همه تراکم‌ها دیده می‌شود که می‌تواند به این معنا

باشد که ناپلی *A.urmiana* برای ذخیره بیشتر این اسیدهای چرب به مدت زمان و بلع بیشتر ذرات روغن نیاز دارد.

اسیدهای چرب سری n-6 به عنوان منبع مطلوب انرژی (جهت حفظ سایر اسیدهای چرب و یا پروتئین) در آبزیان (لارو و ماهیان زینتی) به شمار می‌روند (Glencross, 2009). نظر به اینکه روغن‌های گیاهی به میزان زیادی دارای این نوع اسیدهای چرب هستند، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از این روغن‌ها به عنوان محیط غنی‌سازی برای ناپلی آرتمیا و استفاده از این ناپلیوس‌ها برای تغذیه آبزیان مذکور می‌تواند بسیار سودمند واقع شود.

بیشترین مقدار PUFA (n-3) مربوط به تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی است که این تیمار از لحاظ میزان PUFA (n-6) نیز با حداکثر مقدار آن در تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ و غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی اختلاف معنی‌داری نداشت و از میزان PUFA کل بالایی نیز برخوردار است.

اگرچه ناپلی *A.urmiana* با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی و غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی میزان نسبتاً بالایی از PUFA (n-3) (۵/۳۹۶±۰/۵۴۸) و بیشترین مقدار PUFA (n-6) (۴/۸۲۵±۰/۵۹۴)، درنتیجه میزان بالایی از PUFA کل (۱۰/۲۲۱±۱/۱۴۲) دارد ولی از آن جا که رسیدن به چنین شرایطی برای پرورش دهندگان مستلزم تامین امکانات بیشتری است این تیمار به عنوان بهترین تیمار توصیه نمی‌شود. بنابراین می‌توان تیمار با تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کلزا به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی را به عنوان بهترین تیمار ناپلی *A.urmiana* غنی‌شده با روغن کلزا محلی از لحاظ میزان اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند با چند پیوند دوگانه معرفی کرد.

بیشترین میزان SFA در تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی دیده شد که با میزان آن در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی اختلاف معنی-داری نشان نداد (P>۰/۰۵)، این تیمارها به طور معنی‌داری با تیمار شاهد متفاوت بودند.

بیشترین میزان MUFA نیز در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر و تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت دیده شد، قابل ذکر است که این تیمارها از حداکثر مقدار SFA نیز برخوردار بودند. این یافته نشان دهنده تاثیر غنی‌سازی بر افزایش میزان MUFA و SFA در ناپلی *A.urmiana* بود. با توجه به اینکه میزان MUFA در روغن کلزا بسیار بالاست (۶۹-۵۶٪)، بنابراین انتظار می‌رود که با افزایش مدت زمان غنی‌سازی میزان آن در ناپلیوس‌ها نیز افزایش یابد، البته کاهش آن در بعضی از تیمارها می‌تواند به دلیل تبدیل آن به اسیدهای چرب با زنجیره بلندتر و مصرف آن توسط خود ناپلی به عنوان منبع انرژی باشد.

بیشترین میزان TFA در تیمار با تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی مشاهده شد که با هر سه غلظت (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر) در تراکم ۵۰۰۰۰ به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی با روغن کلزا اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). افزایش کل اسیدهای چرب در ساعات انتهایی غنی‌سازی با توجه میزان بلع بیشتر روغن توسط ناپلیوس‌ها قابل توجیه است.

مصرف کم مواد غنی سازی در آرتمیا جوان (به دلیل میزان بالای چربی درون بدنش) نشان می‌دهد که افزایش تراکم آرتمیا یا کاهش میزان استفاده از امولسیون چربی نمی‌تواند میزان مصرف چربی را به طور قابل ملاحظه‌ای تغییر دهد (Smith *et al.*, 2002) که این نتیجه در تناقض با نتایج حاصل و مطالعه (Bransden *et al.*, 2005) می‌باشد چون این

دو فاکتور بر میزان اسیدهای چرب در بدن ناپلی تاثیر گذاشتند.

میزان ARA، DHA، PUFA، SFA و TFA در تیمار با تراکم ۱۰۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی نسبت به تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلیوس در لیتر با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی‌سازی بیشتر بود، ولی از لحاظ میزان این اسیدهای چرب بین دو تیمار اختلاف معنی‌داری دیده نشد (P>۰/۰۵)، اما میزان PUFA (n-3) در تیمار ۱۰۰۰۰۰ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار ۵۰۰۰۰ تعیین گردید (P<۰/۰۵). هر چند که میزان DHA و EPA در این تیمار کم است ولی میزان بالای MUFA نیز می‌تواند به عنوان منبع انرژی خوبی عمل کند بنابراین ماهی تغذیه کننده از آن‌ها قادر است میزان اسیدهای چرب غیراشباع بالاتر را برای تشکیل غشا و یا تبدیل به ایکوزانوئید اختصاص دهد که این نتایج در بررسی Garcia و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز مشاهده شد. اگرچه میزان اسیدهای چرب LA، ALA، EPA، (n-6) PUFA و MUFA در تیمار ۵۰۰۰۰ بیشتر از تیمار ۱۰۰۰۰۰ بود ولی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). بنابراین بهترین تیمار برای پرورش *A.urmiana* در حد وسیع و غنی‌سازی با روغن کلزای محلی و استفاده در تغذیه آبزیان، تیمار اول بود چرا که برای اجرای این تیمار نسبت به تیمار دوم به امکانات کمتری نیاز است و هزینه‌ها به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (تا ۵۰٪). میزان بقا در این تیمار ۹۳/۴۰٪ و میزان طول کل ۰/۷۲۳ میلی-متر است که برای اندازه دهان ماهیان لب شور و آب شیرین مناسب است. نسبت فضای دهانی به طعمه در گونه‌های مختلف معمولاً ۶۰-۲۵٪ مشخص شده است (Shirota 1970; Fernández-Díaz *et al*., 1994; Busch 1996; Cunha and Planas 1999; Østergaard *et al*., 2005) که طبق نتایج بدست آمده اندازه دهان لارو تاسماهی ایرانی در زمان تغذیه از ناپلی آرتمیا ۲/۴۳ میلی متر (ایمانی، ۱۳۹۲) و اندازه دهان لارو فیل ماهی در روز اول تغذیه فعال ۱۰/۹۰ میلی متر است (نوری، در دست چاپ).

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری ریاست پژوهشکده آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه و سایر پرسنل محترم آن مرکز که در انجام این پژوهش ما را بسیار مورد لطف قرار دادند بی‌نهایت سپاسگزاریم.

منابع

اکبری، پ.، حسینی، س.ع.، ایمانپور، م.ر.، سوداگر، م.، شالویی، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثر ناپلیوس‌های *آرتمیا ارومیانا*(*Artemia urmiana*) غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلنده و ویتامین C روی مقاومت در برابر تنش‌های محیطی دما و کمبود اکسیژن در لاروهای *قزل آلای رنگین کمان* (*Oncorhynchus mykiss*). مجله زیست شناسی ایران جلد ۲۱(۴): ۶۱۰ – ۶۰۰.

ایمانی، م. ۱۳۹۲. تغییرات مورفولوژیک و تکامل مراحل لاروی تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). دانشکده منابع طبیعی- دانشگاه گیلان.

قادرپور، س.، آق، ن.، نوری، ف.، احمدیان، ا. ۱۳۹۲. نشریه آبزی‌پروری.

کاظمی، ا.، آق، ن. ۱۳۹۱. تاثیر تغذیه لارو *قزل آلای رنگین کمان* (*Oncorhynchus mykiss*) با ناپلی *Artemia urmiana* غنی شده با روغن‌های گیاهی بر مقاومت در برابر تنش دما، شوری و کمبود اکسیژن. مجله علوم و فنون دریایی ۱۱(۳): ۵۱-۴۲.

کاظمی، ا.، آق، ن.، نوری، ف.، اعلمی فر، ح.، آدینه، ح.، راستیان نسب، ا. ۱۳۹۱. غنی‌سازی ناپلی *Artemia urmiana* با روغن‌های گیاهی و تاثیر آن بر رشد و بازماندگی لارو *قزل آلای رنگین کمان* (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران ۲۱(۲): ۹۷-۸۹.

Abedian Kenari, A. and Mirzakhani, M.K. 2005. Effects of using *Artrmia urmiana* enriched with n-3 HUFA in first feeding of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. Caspian J. Env. Sci. 3(2): 123-129.

Agh, N. and Noori, F., 2005. Enrichment of Artemia urmiana with highly unsaturated fatty acids (HUFA) emulsions , fish oils, vitamin C and antibiotics: Applications in larviculture. 1st Regional workshop on Techniques for Enrichment of Live food for use in Larviculture-2005, AAARC, Urmia, Iran.

Barclay, W. and Zeller, S. 1996. Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and Artemia nauplii by feeding spray-dried Schizochytrium sp. J. World Aquacult. Soc. 27: 314–322.

Beck, J.L. and Turingan, R. 2007. The effects of zooplankton swimming behavior on preycapture kinematics of red drum larvae, Sciaenops ocellatus. Mar. Biol. 151: 1463–1470.

Bell, J.G., Dick, J.R., McVicar, A.H., Sargent, J.R., Thompson, K.D. 1993. Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon (Salmo salar). Prostaglandins, Leukot. Essential Fatty Acids 49: 665–673.

Bell, J.G., McVicar, A.H., Park, M.T., Sargent, J.R. 1991. High dietary linoleic acid affects fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (Salmo salar): association with stress susceptibility and cardiac lesion. J. Nutr. 121: 1163– 1172.

Bransdena, M.P., Battaglene, S.C., Morehead, D.T., Dunstan, G.A., Nichols, P.D. 2005. Effect of dietary 22:6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae fed enriched *Artemia*. Aquaculture 243: 331– 344

Busch , A. 1996. Transition from endogenous to exogenous nutrition: larval size parameters determining the start of external feeding and size of prey ingested by Ruegen spring herring Clupea harengus . Mar. Ecol-Prog. Ser. 130 : 39 – 46 .

Copeman, L. A., Parnish, 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 yellow tail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. Aquaculture 210: 285–304.

Coutteau, P. and Mourente, G. 1997. Lipid classes and their content of ny3 highly unsaturated fatty acids_HUFA. in Artemia franciscana after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. Mar. Biol. 130: 81–91.

Cunha , I. and Planas , M. 1999. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. Aquaculture 175 : 103 – 110 .

D'Souza, F.M.L. 1998. The nutritional value of microalgae to penaeid prawn larvae. PhD thesis, Queensland University of Technology, Queensland, Australia.

Este´vez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G., Sargent, J.R. 1998. Effects of temperature and starvation time on the pattern and rate of loss of essential fatty acids in *Artemia* nauplii previously enriched using arachidonic acid and eicosapentaenoic acid-rich emulsion. Aquaculture 165: 295–311.

Fernández - Díaz, C., Pascual , E., Yúfera , M. 1994. Feeding behaviour and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae fed on inert and live food . Mar. Biol. 118 : 323 – 328 .

Figueiredo, J., Woesik, R.V., Lin, J., Narciso, L. 2009. *Artemia franciscana* enrichment model — How to keep them small, rich and alive? Aquaculture 294: 212-220.

Furuita, H., Takeuchi, T., Toyota, M., Watanabe, T. 1996. EPA and DHA requierments in early juvenile red Sea bream using HUFA enriched *Artemia* nauplii. Fish. Sci. 62(2): 246-251.

Gapasin, R.S.J. and Duray, M.N. 2001. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milk fish (*Chanos chanos*). Aquaculture 193: 49-63.

Garcia, A.S., Parrish, C.C., Brown, J.A. Johnson, S.C. Leadbeater, S. 2008. Use of differently enriched rotifers, *Brachionus plicatilis*, during larviculture of haddock, *Melanogrammus aeglefinus*: effects on early growth, survival and body lipid composition. Aquacult. Nutr. 14: 431-444.

Gholami, M. 2010. Effects of n-3 HUFA enriched Daphnia magna on growth, survival, stress resistance and fatty acid composition of White fish fry (*Rutilus frisii kuttum*). J. Fish. Aquat. Sci. 7p.

Artemia XXXV. Techniques to manipulate the fatty acid profile in *Artemia* nauplii and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* M.. In: Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Decleir, W., Jaspers, E. Eds.., Artemia Research and its Applications, Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 411–424.

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

McConaugha, J.R. 1985. Nutrition and larval growth. In: Wenner, A.M. (Ed.), Larval Growth – Crustacean Issues, AA Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands. 2: 127–154p.

McEvoy, L.A., Navarro, J.C., Bell, J.G., Sargent, J.R. 1995. Autoxidation of oil emulsion during the *Artemia* enrichment process. Aquaculture 134: 104–112.

Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., González, P., Bermejo, A., Hontoria, F. 2006. Enrichment of *Artemia* nauplii in essential fatty acids with different types of liposomes and their use in the rearing of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. Aquaculture 257: 382–392.

Morais, S., Narciso, L., Dores, E., Pousao-Ferreira, P. 2004. Lipid enrichment for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. Aquacult. Int. 12: 281-298.

Narciso, L. 2000. Biologia e Cultivo de Artemia sp. (Crustacea, Branchiopoda): sua Utilização em Aquacultura. Prémio do Mar Rei D. Carlos 1998. Câmara Municipal de Cascais. 94 p.

Navarro, J.C., Henderson, R.J., McEvoy, L.A., Bell, M.V., Amat, F. 1999. Lipid conversion during enrichment of *Artemia*. Aquaculture 174: 155–166.

Noori, F., Takami, G.A., Van Speybroeck, M., Van Stappen, G., SHiri-Harzevili, A-R., Sorgeloos, P. 2011. Feeding *Acipenser persicus* and *Huso huso* larvae with *Artemia urmiana* nauplii enriched with highly unsaturated fatty acids and vitamin C: effect on growth, survival and fatty acid profile. J. Appl. Ichthyol. 27, 781-786.

Østergaard, P., Munk, P., Janekarn , V., 2005. Contrasting feeding patterns among species of

Girri, S.S., Sahoo, S.K., SHU, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.n., Mohanty, P.k *et al*. 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light. Photoperiod and feeding regimes. Aquaculture 213: 157-161.

Glencross, B.D. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. Rev. Aquaculture. 1(2): 71–124.

Hafezieh, M., Kamarudin, M.S., Agh, N. 2008. Nutritional enhancement of total lipid, n-3 and n-6 fatty acids in *Artemia urmiana* nauplii by enriching with ICES/30/4. Pak. J. Biol. Sci. 11(17): 2167-2170.

Hagve, T. A. and Christopherson, B. O. 1986. Evidence for peroxisomal retroconversion of adrenic acid (22:4(n-6)) and docosahexaenoic acids (22:6(n-3) in isolated liver cells. Biochim. Biophys. Acta. 6:165-173.

Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P. 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids. Aquaculture 183: 335-347.

Kanazawa, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Eds.), Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press, London, 281–298p.

Kanazawa, A., Teshima, S.I., Ono, K. 1979. Relationship between fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. Comp. Biochem. Phys. B. 63: 295–298.

Kim, J., Massee, K.C., Hardy, R. W. 1996. Adult *Artemia* as food for first feeding coho salmon (*oncorhynchus kisutch*). Aquaculture 144: 277-226.

Kim, K. D., Lee, S. M., Park, H. G., Bai, S. C., Lee, Y. H. 2003. Essentiality of dietary n–3 highly unsaturated fatty acids in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. J. World Aquacult. Soc. 33: 432–440.

Kunau, W. F. and Bartnik, F. 1974. Studies on the partial degradation of polyunsaturated fatty acids in rat-liver mitochondria. Eur. J. Biochem. 48:311-318.

Kunau, W. F. and Couzens, B. 1971. Studies on the partial degradation of polyunsaturated fatty acids in subcellular fractions of rat liver. H-S. Z. Physiol. Chem. 352:1297-1305.

Le´ger, Ph., Naessens-Foucquaert, E., Sorgeloos, P. 1987. International study on

fish larvae from the tropical Andaman Sea. Mar. Biol. 146 : 595 – 606 .

Sargent, A.R. 1995. Origins and functions of egg lipids: nutritional implications. In: Bromage N.R. and Roberts R.J. (Eds.) Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwood Science, Oxford, 353-372pp.

Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J., Tocher, D.R. 1993. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. In: Lahlou, B., Vitiello, P., Eds.., Aquaculture: Fundamental and Applied Research. Coastal and Estuarine Studies. American Geophysical Union, Washington, DC, 103–124 pp.

Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 36 : 353 – 368 .

Smith, G.G., Ritar, A.J., Phleger, C.F., Nelson, M.M., Mooney, B., Nichols, P.D. *et al*. 2002. Changes in gut content and composition of juvenile *Artemia* after oil enrichment and during starvation. Aquaculture 208: 137-158.

Sorgeloos, P., Dehert, P., Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in: marine fish larviculture. Aquaculture 200: 147-759.

Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W., Versichele, D. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. State University of Ghent, Belgium, 319p.

Sorgeloos P., Leger P., Tackaert W. 1993. The use of *Artemia* in marine fish larviculture. TML Conference Proceedings, 3:73-86.

Triantaphyllidis, G.V., Poulopoulou, K., Abatzopoulos, T.J., Perez, C.A.P., 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: 215-227p.

Van Stappen, G. 1996. *Artemia*. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture, Eds. Lavens, P. and Sorgeloos, P., FAO publications, 101-130.

Yone, Y., 1978. Essential fatty acid requirements of marine fish. Jpn. Soc. Sci. Fish. Dietary Lipids in Aquaculture. Koseisha-Koseik-Abu, Tokyo, 43– 59p.

Introducing standard protocol for enrichment of *Artemia urmiana* nauplii with Canola oil

Abstract

This research was performed to introduce a standard protocol for enrichment of *Artemia urmian* with Canola oil. *Artemia urmiana* nauplii were enriched at three densities (50000, 100000 and 200000 nauplii L^{-1}) and three concentrations of Canola oil (0.1, 0.2 and 0.3 g L^{-1}). Their effects were evaluated on survival, total length and profile of fatty acids at 6, 9, 12, 15 and 18 hours after the onset of enrichment. Cysts of *A.urmiana* were hatched according to the standard method. *A.urmiana* nauplii were stocked at above densities in 7 L cylindrical containers. Canola oil emulsion was added at concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3 g L^{-1} at the beginning and 12 hours after the onset of enrichment. The results of analysis showed that enrichment of *A.urmiana* with 0.3 g L^{-1} Canola oil at 100000 nauplii L^{-1} for 18 hours was considered as the best treatment. *Artemia* nauplii enriched in this treatment had significantly higher levels of (n-3) PUFA and survival and minimum total length comparing to other treatments. The treatment had significantly higher levels of (n-6) PUFA than all treatments except treatment with a density of 50,000 nauplii L^{-1} with 0.۱ g L^{-1} Canola oil for 18 hours.

Keywords: *Artemia urmiana*, Canola oil, Fatty acids, Standard protocol for enrichment.