بهبود ترکیب اسیدهای چرب دافنی (*Daphnia longspina*) با استفاده از غنی سازی زیستی

فروزان چوبیان[1*]، زهره رمضانپور [1]، محمدرضا نوروز فشخامی[1]، کوروش حدادی مقدم [1]،ذبیح اله پژند[1]، جلیل جلیل پور[1]

[1] موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

چکیده

هدف از انجام این تحقیق جداسازی و کشت ریزجلبک‌های بومی غنی از اسیدهای چرب به منظور بهبود ترکیب اسیدهای چرب دافنی بود. جلبک‌های *Scenedesmus dimorphus* و *Chlorella vulgaris* جداسازی و کشت شدند. برای این تحقیق ۲ تیمار و یک گروه شاهد (با ۳ تکرار) در نظر گرفته شد. دافنی‌ها در تیمارهای ۱ و ۲ به ترتیب با جلبک‌های *S. dimorphus* و *C. vulgaris* تغذیه شدند و دافنی‌های گروه شاهد هیچ جلبکی دریافت نکردند. تراکم ریز جلبک‌ها برای غنی سازی دافنی ۵×۱۰^{۷} عدد سلول در میلی‌لیتر بود. غنی‌سازی به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. طبق نتایج بدست آمده مقدار PUFA درجلبک‌های *S. dimorphus* و *C. vulgaris* به ترتیب ۱۶ و ۲۶/۳ درصد بود. مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع C20:5 (اکوزاپنتانوئیک اسید) و C22:6 (دوکوزاهگزانوئیک اسید) در *S. dimorphus* به ترتیب ۰/۸ و ۱/۱ در صد بود. مقدار اسیدهای چرب لینولئیک (C18:2) و لینولنیک (C18:3) در *C. vulgaris* به ترتیب ۸/۶ و ۱۶/۹ درصد بود. مقدار PUFA به ترتیب در گروه شاهد و دافنی‌های غنی شده با *S. dimorphus* و دافنی‌های غنی شده با *C. vulgaris* ۱۵/۱، ۱۷/۶ و ۱۹/۸ درصد بود. طبق نتایج کسب شده غنی سازی دافنی‌ها با جلبک‌های مورد نظر در بهبود ترکیب اسیدهای چرب دافنی‌ها موثر بود.

کلمات کلیدی: ریز جلبک، اسیدهای چرب، *Daphnia longspina*، غنی سازی زیستی،PUFA

* نویسنده مسئول:Fchubian_59@yahoo.com

مقدمه

غذای زنده بخصوص دافنی در تغذیه لارو تاسماهیان نقش اساسی دارد. دافنی از زئوپلانکتون‌های آب‌های شیرین و متعلق به زیر شاخه سخت‌پوستان، رده آبشش‌پایان و راسته کلادوسرها است و در مقایسه با پاروپایان و روتیفرها دارای چرای قوی‌تری است و به همین دلیل از نرخ بالای افزایش جمعیت برخوردار است. دافنی به دلیل داشتن ارزش غذایی زیاد و فیلتراسیون غیرانتخابی برای پرورش لارو آبزیان بسیار سودمند است (Lavens and Sorgelos, 1996). در اکوسیستم‌های آب شیرین گونه‌های *Daphnia magna*، *Daphnia pulex* و *Daphnia longspina* از جمله فراوانترین گونه‌های دافنی می‌باشند. اسیدهای چرب غیر اشباع PUFA[1] برای پرورش انواع زئوپلانکتون‌ها بخصوص آنتن منشعب‌ها ضروری هستند (Nandini & Sarma, 2003; Pratoomyot *et al*, 2005). از آنجایی که میزان اسیدهای چرب ضروری DHA[2] و EPA[3] در دافنی‌ها کم است لذا استفاده از تکنیک‌هایی که بتواند سبب افزایش میزان اسیدهای مذکور در آنها گردد بسیار مهم و ضروری است (Appelbaum *et al*., 1998; Girri *et al*., 2002). یکی از مسایلی که استفاده از دافنی‌ها را حائز اهمیت می‌سازد امکان غنی‌سازی راحت با موادی نظیر اسیدهای چرب ضروری، اسیدهای آمینه ضروری و ویتامین‌ها است. جلبک‌های تک‌سلولی، باکتری‌ها و پروتوزوآها منابع غذایی مناسبی برای دافنی‌ها به شمار می‌روند. ریزجلبک‌ها به عنوان منبعی سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع، رنگیزه‌هایی نظیر بتاکاروتن و دیگر متابولیت‌های غذایی و دارویی مورد توجه محققان زیستی هستند (فرامرزی و همکاران، ۱۳۸۹). ریزجلبک‌ها به عنوان تولیدکنندگان اولیه زنجیره غذایی آبزیان نقش بسزایی را در توسعه صنعت آبزی‌پروری ایفاء می‌کنند و برای تغذیه روتیفرها، دافنی‌ها، کوپه‌پودا، آرتمیا، سخت‌پوستان و لارو ماهیان استفاده می‌شوند (Richmond, 2004). ریز جلبک‌ها ترکیبی از اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع ۱۲ الی ۱۴ کربنه را تولید می‌کنند که برخی از آن‌ها متعلق به خانواده‌های امگا ۳ و امگا ۶ هستند (Mata *et al*,. 2010) و به همین دلیل استفاده از ریزجلبک‌ها در تهیه غذای انسان، غذای دام و آبزیان در حال افزایش است. تاکنون مطالعات زیادی در خصوص غنی‌سازی غذای زنده از جمله روتیفر آب شیرین با ویتامین C (روفچایی و همکاران،۱۳۹۴)، تاثیر ویتامین C و اسید چرب غیراشباع بر روی لارو میگوی وانامی (سیستانی و همکاران ،۱۳۹۰)، غنی‌سازی دافنی به کمک عصاره مخمر *Saccharomyces cerevisiae* (لشکر-بلوکی و همکاران،۱۳۹۰)، غنی‌سازی دافنی با استفاده از سه رژیم غذایی جلبکی *Chlorella vulgaris*، *Spirulina inbottal* و *Tetraselmis suecica* (ذبیحی و همکاران، ۱۳۹۰)، تاثیر جلبک‌های *Chlorella* sp. و *Isochrysis galbana* بر روی رشد و تولید مثل لارو *Ostera edulis* (Sefa Acarh & Aynur Lok, 2011)، غنی‌سازی دافنی با ویتامین B (Fallahi *et al*, 2011) و غنی‌سازی دافنی ماگنا با استفاده از روغن کانولا (Esmaeili Fereidouni *et al*, 2013) انجام شده است. پرورش گونه‌های وارداتی جلبک‌ها به دلیل عدم سازگاری با شرایط محیطی کشورمان از کارآیی بالایی برخوردار نیست لذا جداسازی و استفاده از گونه‌های بومی جهت افزایش راندمان تولید دارای اهمیت ویژه‌ای است. از طرفی همه ریز جلبک‌ها جهت تغذیه موجودات فیلترکننده مناسب نمی‌باشند و گونه‌های مناسب بر اساس پتانسیل کشت توده‌ای، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی انتخاب می‌شوند. با توجه به پتانسیل بالای دافنی در تغذیه لارو تاسماهیان ، مطالعه هر چه بیشتر این غذای زنده ارزشمند ضروری است، لذا این تحقیق با هدف جداسازی و کشت ریزجلبک‌های بومی غنی از اسیدهای چرب به منظور بهبود ترکیب اسیدهای چرب دافنی جهت تغذیه لارو تاسماهیان انجام شد.

[1] Polyunsuturated fatty acids
[2] Docosahexaenoic acid
[3] Ecosahexaenoic acd

مواد و روش ها

جهت جمع‌آوری جلبک‌ها، نمونه‌برداری از اکوسیستم‌های آبی طبیعی و با استفاده از تورپلانکتون با چشمه ۲۵ میکرون انجام شد. نمونه‌های جلبک با استفاده از میکروسکوپ اینورت[۴] بررسی و شناسایی گردیدند (Prescott and Brown, 1969). جلبک‌ها به مقدار نیمه انبوه پرورش یافتند. محیط کشت مورد استفاده جهت پرورش جلبک‌ها Z8 بود (Miller *et al*, 1978). سنجش نور اتاق کشت با استفاده از نورسنج (TES-1336A) و pH محیط کشت با pH متر (pH 523WTW) انجام شد. در تمامی مراحل پرورش میزان نور اتاق کشت ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس، دما ۲۶ درجه سانتی‌گراد و pH محیط کشت ۷/۲ بود.

دافنی‌ها از استخرهای پرورش مرکز بازسازی و حفظ ذخایر ژنتیکی تاسماهیان شهید دکتر بهشتی جمع‌آوری شدند و به ظروف شیشه ای استوانه ای شکل با حجم ۲ لیتر حاوی آب مقطر و مجهز به سیستم هوادهی انتقال یافتند. جهت انجام این آزمایش ۲ تیمار و یک گروه شاهد (هر یک با سه تکرار) در نظر گرفته شد. دافنی‌ها در تیمار اول با جلبک *S. dimorphus* و در تیمار دوم با جلبک *C. vulgaris* تغذیه شدند. دافنی‌ها در تیمار شاهد هیچ جلبکی دریافت نکردند. غنی‌سازی دافنی‌ها با استفاده از جلبک‌های مذکور به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (حافظیه، ۱۳۸۸). تغذیه دافنی‌ها روزانه در ۳ نوبت و در هر نوبت با ۲۰۰ میلی‌لیتر جلبک با تراکم ۵×۱۰^{۷} سلول در میلی‌لیتر صورت گرفت. جهت تعیین پروفیل اسیدهای چرب ۳ گرم از ریزجلبک‌ها و دافنی‌های مورد آزمایش تا زمان سنجش در فریزر ۲۲- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. استخراج اسیدهای چرب و همچنین تعیین پروفیل اسید چرب در پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی ارومیه انجام شد. جهت بررسی پروفیل اسیدهای چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Unicam 4600) استفاده گردید. به منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. به منظور مقایسه آماری بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (ویرایش ۲۰) انجام شد.

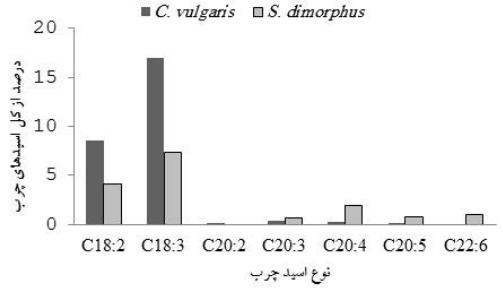
نتایج

طبق نتایج کسب شده بیشترین مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباع MUFA در جلبک *S. dimorphus* و بیشترین مقدار اسیدهای چرب چند غیر اشباع PUFA در جلبک *C. vulgaris* برآورد گردید (جدول ۱).

اسید لینولئیک (C18:2) و اسید لینولنیک (C18:3) در جلبک *C. vulgaris* دارای میزان بیشتری بود. میزان اسید اکوزادینوئیک (C20:2) در *S. dimorphus* و *C. vulgaris* به ترتیب صفر و ۰/۱ درصد بود. مقدار اسید اکوزاترینوئیک (C20:3) و اسید آراشیدونیک (C20:4) در *S. dimorphus* به ترتیب ۰/۷ و ۱/۹ درصد، همچنین مقدار اسید اکوزاپنتانوئیک (C20:5) و اسید دوکوزاهگزانوئیک (C22:6) در *S. dimorphus* به ترتیب ۰/۸ و ۱/۱ درصد برآورد گردید (شکل ۱).

جدول ۱: مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع جلبک‌های مورد استفاده (درصد از کل اسید چرب)

جلبک	MUFA	PUFA
S. dimorphus	۳۲/۲	۱۶
C. vulgaris	۲۱/۵	۲۶/۳



شکل ۱: مقدار اسید چرب غیر اشباع PUFA در ریز جلبک های مورد بررسی (درصد از کل اسیدچرب)

[۴] Inverted microscope

مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع MUFA و PUFA در دافنی‌های گروه شاهد کمتر از دو تیمار مورد بررسی بود (جدول ۲). اسید مریستیک و اسید پالمیتیک دافنی‌ها در دو تیمار فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بودند (P>۰/۰۵) در حالیکه میزان اسیدهای مذکور نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود (P<۰/۰۵). اسید استئاریک در دافنی‌های تیمارهای مورد بررسی و گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود (P<۰/۰۵). اسید آراشیدیک دو تیمار دارای اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) و میزان اسید مذکور در گروه شاهد شناسایی نشد. اسید واکسینیک در دافنی‌های تیمارهای مورد بررسی و گروه شاهد از اختلاف معنی‌دار آماری برخوردار بود و کمترین مقدار در گروه شاهد مشاهده گردید (P<۰/۰۵). اسید دوکوزاهگزانوئیک در تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ و گروه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود (P<۰/۰۵). اسید مریستولئیک و اسید اکوزادینوئیک فقط در دافنی‌های تیمارهای ۱ و ۲ شناسایی شدند که فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بودند (P>۰/۰۵). مقادیر اسید آراشیدونیک در دافنی‌های تیمارهای ۱ و ۲ به صورت معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند (P<۰/۰۵). مقدار اسید ایکوزاپنتانوئیک در تیمارهای مورد بررسی و شاهد فاقد اختلاف معنی‌دار آماری بود (P>۰/۰۵). مقدار اسید دوکوزاهگزانوئیک در تیمار ۱ به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار ۲ و گروه شاهد بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه میانگین (خطای استاندارد ± میانگین) اسیدهای چرب دافنی در تیمارهای آزمایشی(درصد از کل اسید چرب)

اسید چرب		شاهد	تیمار ۱[۱]	تیمار ۲[۲]
0:C14	اسید مریستیک	۲/۳۰±۰/۰۴ a	۱/۰±۰/۱۱ b	۰/۹±۰/۰۵ b
C16:0	اسید پالمیتیک	۲۸/۶±۰/۲۳ a	۲۴/۱±۰/۵۲ b	۲۵/۰±۰/۲۹ b
C18:0	اسید استئاریک	۱۲/۶±۰/۲۳ c	۱۳/۳±۰/ ۲۳b	۱۵/۴±۰/۱۱ a
C20:0	اسید آراشیدیک	nd*	۰/۲±۰/۰۲ a	۰/۳±۰/۰۱ a
C14:1	اسید مریستولئیک	nd	۰/۳±۰/۰۲ a	۰/۱±۰/۰۱ a
C16:1	اسید پالمینولئیک	۳/۳±۰/۲۲ a	۲/۴±۰/۱۷ a	۳/۲±۰/۱۲ a
C18:1	اسید واکسینیک	۱۶/۲±۰/۰۶ c	۲۰/۴±۰/۰۳ b	۲۶/۰±۰/۸۷ a
C20:1	اسید ایکوسینوئیک	۲/۹±۰/۰۶ a	۱/۲±۰/۰۳ b	۱/۶±۰/۰۰۳ b
C22:1	اسید دوکوزنوئیک	۲/۰±۰/۰۶ a	۱/۲±۰/۱۱ b	۱/۴±۰/۱۴ b
C18:2	اسید لینولئیک	۳/۹±۰/۲۸ a	۴/۹±۰/۰۶ a	۴/۱±۰/۰۲ a
C18:3	اسید آلفا لینولنیک	۴/۲±۰/۳۷ a	۴/۰±۰/۰۶ a	۳/۹±۰/۱۷ a
C20:2	اسید اکوزادینوئیک	nd	۰/۲±۰/۰۱ a	۰/۴±۰/۰۳ a
C20:3	اسید ایکوزاترینوئیک	۱/۳±۰/۰۹ a	۰/۵±۰/۰۳ b	۰/۴±۰/۰۲ b
C20:4	اسید آراشیدونیک	۲/۰±۰/۱۲ b	۴/۱±۰/۰۱ a	۴/۴±۰/۱۱ a
C20:5	اسید اکوزاپنتانوئیک	۲/۸±۰/۰۸ a	۳/۵±۰/۰۹ a	۳/۰±۰/۱۱ a
C22:6	اسید دوکوزاهگزانوئیک	۰/۹±۰/۰۶ c	۲/۶±۰/۰۳ a	۱/۴±۰/۰۶ b
MUFA[۳] جمع کل		۲۴/۴	۲۵/۵	۳۲/۳
PUFA[۴] جمع کل		۱۵/۱	۱۷/۶	۱۹/۸
MUFA+ PUFA		۳۹/۵	۴۳/۱	۵۲/۱
n-3 جمع کل		۹/۲	۸/۷	۱۰/۶
n-6 جمع کل		۵/۹	۸/۹	۹/۲

* Not detectable

حروف غیر همنام کوچک در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری است

۱تیمار ۱ : تغذیه دافنی‌ها با جلبک *S. dimorphus* انجام شد.

۲تیمار ۲: تغذیه دافنی‌ها با جلبک *C. vulgaris* انجام شد.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر تغذیه دافنی‌ها از ریز جلبک‌های کلرلا و سندسموس در بهبود ترکیب اسیدهای چرب آنها موثر بودند به طوری که مقدار اسید آراشیدیک، اسید مریستولئیک و اسید اکوزادینوئیک در دافنی‌های تغذیه شده با جلبک‌های مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد مشهود بود. بر اساس نتایج بدست آمده اسیدهای چرب تک غیر اشباع MUFA در جلبک *S. dimorphus* و اسیدهای چرب چند غیر اشباع PUFA در جلبک *C. vulgaris* دارای بیشترین مقدار بودند که این یافته‌ها بیانگر ارتقاء میزان اسیدهای چرب دافنی در تیمارهای آزمایشی بود. در بررسی انجام شده توسط Makulla (۲۰۰۰) مقدار اسیدهای چرب MUFA و PUFA در جلبک *Scenedesmus obliquus* به ترتیب ۳۱/۷۲ و ۲۳/۳۱ درصد گزارش شده است. در تحقیق انجام شده توسط احمدی‌فرد و همکاران (۱۳۸۷) تجمع اسید چرب PUFA در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک *Chlorella* sp. دارای افزایش بود. Flores-Burgos و همکاران (۲۰۰۳) جلبک کلرلا را از نظر دارا بودن پروتئین و اسیدهای چرب قابل توجه بیان نمودند. طبق نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز بیشتر بودن مقدار اسید چرب PUFA در جلبک *C. vulgaris* نشان دهنده این موضوع است. میزان اسید لینولنیک در جلبک‌های آب شیرین بیش از جلبک‌های آب شور است و حشرات آب شیرین نیز دارای مقدار قابل ملاحظه‌ای از اسید آراشیدونیک و اسید ایکوزاپنتانوئیک نسبت به اسید دوکوزاهگزانوئیک در چربی بدنشان هستند اما اسید دوکوزاهگزانوئیک اغلب بسیار اندک است یا اصلاً وجود ندارد (Halver and Hardy, 2002). در تحقیق حاضر میزان اسید آراشیدونیک و اسید ایکوزاپنتانوئیک در دافنی‌های گروه شاهد کمتر از دو تیمار آزمایشی دیگر بود که این موضوع حاکی از اهمیت استفاده از جلبک‌های مورد بررسی در بهبود پروفیل اسیدهای چرب غیر اشباع دافنی بود. فرامرزی و همکاران (۱۳۸۹) بیان نمودند که سلول‌های جانوری قادر به بیوسنتز تمامی اسیدهای چرب غیر اشباع نیستند، در حالی که سلول‌های گیاهی و جلبک‌ها قادرند سری کاملی از اسیدهای چرب غیراشباع را تولید نمایند. در تحقیق حاضر اسید آراشیدونیک در دافنی‌های تیمار ۲ مقدار بیشتری را به خود اختصاص داد. با توجه به این که اسید آراشیدونیک عمدتاً از اسید لینولئیک موجود در غذا تامین می‌گردد و جلبک مذکور نیز دارای بیشترین مقدار اسید لینولئیک بود لذا این امر بیانگر اهمیت این جلبک در بهبود ترکیب اسیدهای چرب است. طبق گزارش Weers و همکاران (۱۹۹۷) کلادوسرها به ترتیب دارای توانایی تبدیل اسید لینولئیک به اسید آراشیدونیک و همچنین اسیدلینولنیک به اسید اکوزاپنتانوئیک هستند، هر چند ممکن است نرخ تبدیل پایین باشد و تامین کننده تمامی نیازهای متابولیکی نباشد. طبق نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مقدار اسید آراشیدونیک، اسید اکوزاپنتانوئیک و اسید دوکوزاهگزانویک در تیمارهای آزمایشی نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود و اختلاف معنی‌دار آماری نیز مشاهده گردید که با نتایج بدست آمده از تحقیق Sevas و همکاران (۲۰۱۰) مغایرت داشت. زیرا در این تحقیق در دافنی‌های غنی شده با *Scenedesmus acuminatus* وجود EPA گزارش نشد و همچنین مقدار DHA نیز بسیار ناچیز بود. از طرفی از آنجایی که دافنی‌ها دارای توانایی تبدیل اسید آلفا لینولنیک به اسید اکوزاپنتانوئیک هستند،لذا به نظر می‌رسد که در شرایط کمبود اسید اکوزاپنتانوئیک، اسید آلفا لینولنیک جایگزین مناسبی برای غنی‌سازی دافنی باشد اما با توجه به عدم توانایی دافنی‌ها در تبدیل اسید اکوزاپنتانوئیک به اسید آلفا لینولنیک، در شرایط کمبود اسید آلفا لینولئیک اسید چرب اکوزاپنتانوئیک جایگزین مناسبی جهت تامین اسید آلفا لینولئیک نیست و نمی‌توان از اسید اکوزاپنتانوئیک به تنهایی جهت غنی‌سازی دافنی استفاده نمود (Von Elert, 2002). گونه *Daphnia galeata* نیز توانایی تبدیل اسید دکوزا هگزانوییک (DHA) و اسیدهای چرب غیر اشباع ۱۸ کربنه (C18-PUFAs) را به اسید اکوزاپنتانوییک (EPA) دارا است (Von Elert, 2002). Navarro و همکاران (۱۹۹۹) بیان نمودند که

Artemia fransiskana و *Brachionus plicatilis* نیز به هنگام گرسنگی می‌توانند DHA را به EPA تبدیل کنند. Dantagnan و همکاران (۲۰۰۹) بیان کرده‌اند که علی رغم وجود چربی کم در جلبک دریایی *Microcystis pyrifera* تنها با افزودن ۶ درصد از این جلبک به جیره غذایی ماهی قزل‌آلا می‌توان سطح اسیدهای چرب غیراشباع PUFA را در ماهی قزل‌آلا افزایش داد.

توصیه ترویجی

در کارگاه‌های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری از دافنی‌ها برای تغذیه لارو ماهیان مذکور استفاده می‌شود لذا ارتقای کیفیت دافنی‌های مورد استفاده از جمله بهبود پروفیل اسیدهای چرب غیر اشباع آنها از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا اسیدهای چرب غیر اشباع از طریق کنترل استرس، تکامل سیستم ایمنی و افزایش مقاومت در مقابل بیماری‌ها نقش مهمی را در افزایش بازماندگی لارو اکثر ماهیان ایفاء می‌نمایند. برای بهبود پروفیل اسیدهای چرب غیر اشباع دافنی‌ها می‌توان از برخی از جلبک‌ها استفاده نمود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد استفاده از جلبک‌های سندسموس و کلرلا در ارتقای پروفیل اسیدهای چرب غیر اشباع دافنی ها موثر است. با توجه به اینکه در صنعت تکثیر، افزایش بازماندگی لاروها بسیار حائز اهمیت است و نیز کیفیت مناسب لارو های پرورشی ماهیان خاویاری می‌تواند بهره وری بالای بازگشت شیلاتی آن‌ها را بدنبال داشته باشد، لذا توصیه می‌شود از جلبک‌های مذکور جهت غنی سازی دافنی‌های مورد تغذیه لاروهای انواع ماهیان از جمله ماهیان خاویاری استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با مساعدت مالی و اداری موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران در موسسه تحقیقات بین‌المللی تاسماهیان دریای خزر انجام شد لذا از تمامی مسئولین و کارشناسان آن موسسه و همچنین از جناب آقای مهندس عباسعلیزاده ریاست وقت مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری شهید بهشتی سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

احمدی فرد، ن. عابدیان کناری، ع. و فلاحی کپورچالی، م. ۱۳۸۷. اثر غلظت های مختلف جلبک سبز *Chlorella* sp. بر ترکیب اسیدهای چرب روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* تالاب انزلی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۸۱، صفحات ۵۳ تا ۵۸.

حافظیه، م. صالحی، م. حدادی مقدم، ک. مناف زاده، ر. آق، ن. سپهداری، ا. و نوری، ف. ۱۳۸۸. بررسی مقایسه‌ای آرتمیا ارومیانا غنی شده با (HUFA و Vit.C) دافنی و غذای فرموله بر رشد و بقا و مقاومت لارو ماهیان خاویاری (قره‌برون و فیل‌ماهی) قبل از رهاسازی به دریا. موسسه تحقیقات شیلات ایران، ۶۸ صفحه.

ذبیحی، ع. رحیمی،ک. صمدی، س. و مظلومی، ن.۱۳۹۰. تعیین میزان خوش خوراکی و ترجیح غذایی دافنی (*Daphnia magna*) بر روی سه نوع رژیم غذایی جلبکی *Chlorella vulgaris*، *Spirulina inbotal* و *Spirulina inbotal* و تاثیر فاکتور نور و درجه حرارت بر نرخ فیلترینگ دافنی. دومین کنفرانس علوم شیلات و آبزیان ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

روفچایی، ر. فلاحی کپورچالی، م. پروانه مقدم، د. و چوبیان، ف. ۱۳۹۴. تاثیر روتیفر آب شیرین غنی شده با ویتامین C بر شاخصهای رشد لارو تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). مجله علمی شیلات ایران، سال بیست و چهارم، شماره ۱، صفحات ۱۳۹ تا ۱۴۴.

سیستانی، م. ع. یحیوی، م. بحری، ا. ه. و اژدهاکش، ا. ۱۳۹۰. تاثیر آرتمیای غنی شده با ویتامین C و اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (HUFA) روی رشد و بازماندگی پست لارو میگوی وانامی. مجله

علمی شیلات ایران. سال بیستم، شماره ۴، صفحات ۷۱ تا ۸۰.

فرامرزی، م. ع. فروتن‌فر، ح. و شکیبایی، م. ۱۳۸۹. بیوتکنولوژی ریزجلبک‌ها. دانشگاه علوم پزشکی تهران، اداره انتشارات و علم سنجی. ۳۹۸ صفحه.

لشکر بلوکی، م. جعفریان، ح. و کرامت، ع.۱۳۹۰. بررسی تاثیر دافنی ماگنای (*Daphnia magna*) غنی شده با عصاره مخمر ساکارومایسیس سرویزیا (*Saccharomyces cerevisiae*) بر رشد و مقاومت لاروهای تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در برابر عوامل استرس زا. نشریه علمی پژوهشی شیلات، شماره ۴، صفحه ۳۴۵ تا ۳۵۵.

Appelbaum, S. and Macgeer, J. C., 1998. Effect of diet and light regime on growth and survival of Africancatfish, *Clarias gariepinus* larvae and early juvaniles. Aquaculture Nutrition, 4, 157-64.

Dantagnan, P., Hernandez, A., Borquez, A. and Mansilla, A., 2009. Inclusion of Macroalgae meal (*Macrocystis pyrifera*) as food Ingredient for rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect on flesh fatty acid composition. Aquaculture Research, 41 (1), 87-94.

Esmaeili Fereidouni, A., Fati, N. and Khalesi, M. K., 2013. Enrichment od *Daphnia magna* with Canola oil and its Effects on the Growth, Survival and Stress Resistance of the Caspian Kutum (*Rutilus frisii Kutum*) Larvae. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, (13), 1-2.

Fallahi, M., Azari Takami, G., Vossoughi, G. H., Mashinchian, A. and Mehdipour, N., 2011. Effects of *Daphnia magna* fed with B group vitamins-enriched *Chlorella sp*. and *Scenedesmus obliquus* on the growth rate of *Rutilus frisii Kutum* fry. International Journal of Environmental Research, 5(3), 763-768

Flores-Burgos, J., Sarma, S. S. S. and Nandini, S., 2003. Population growth of zooplankton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 31, 240-248.

Girri, S. S., Sahoo, S. K., Saha, A. K., Mohanty, S. N., Mohanty, P. K. and Ayyappan, S., 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schnider): effect of light, photoperiod and feeding regime. Aquaculture, 213, 157-161.

Halver, J. E. and Hardy, R.W., 2002. Fish Nutrition. In: Sargent, J. R., Tocher, D. R. and Bell, G., Eds., The Lipids, 3rd Edition, Academic Press, California, 182-246.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO.

Makulla, A., 2000. Fatty acid composition of *scenedesmus obliquus*: Correlation to dilution rates. Limnologica, 30,162-168.

Mata, T. M., Martins, A. A. and Caetano, N. S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14 (1), 217-232.

Miller, W. E., Greene, J. C. and Shiroyama, T., 1978. The *Selenastrum capricornatum* Printz Algae assay bottle test experimental design, application and data interpretation protocol. USEPA-600/9-78-018, 125 p.

Nandini, S. and Sarma, S. S. S., 2003. Population growth of some genera of cladocerans in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. Hydrobiologia, 491, 211-219.

Navarro, J. C., Henderson, R. J., McEvoy, L. A., Bell, M.V. and Amat, F., 1999. Lipid conversions during enrhichment of Artemia. Aquaculture, 174, 155-166

Pratoomyot, J., Srivilas, P. and Noiraksar, T., 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. Songklanakarin Journal of Science Technology, 27, 1179-1187.

Prescott G.W.and Brown, M. C., 1969. Algae of the western great lake areas, Company Pub.

Sefa, A. and Aynur, L., 2011. Comparison of *Isochrysis galbana* and *Chlorella* sp. microalgae on growth and survival rate of European flat oyster (*Ostera edulis*, Linnaeus 1758) larvae. Indian Journal of Geo-Marine Science, 40 (1), 55-58.

Sevas, S., Demir, O., Gumus, E. and Olmez, M., 2010.The fatty acid composition of *Daphnia magna* fed with various feeds. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9 (20), 2561-2564.

Richmond, A., 2004. Biological principles of mass cultivation. In: Richmond, A., (ed) Handbook of microalgal mass culture. Biotechnology and applied phycology. Blackwell, Oxford. 566P.

Von Elert, E., 2002. Determination of limiting polyunsaturated fatty acids in *Daphnia galeata* using a new method to enrich food algae with single fatty acids. Limnology and Oceanography, 47, 1764–1773.

Weers, P. M. M. and R. D. Gulati., 1997. Effect of the addition of polyunsaturated fatty acids to the diet on the growth and fecundity of *Daphnia galeata*. Freshwater Biology, 38, 721 - 729.

Improve the composition of Daphnia (*Daphnia longspina*) Fatty Acids using bioenrichment

[*]Chubian F.[1]; Ramezanpour Z.[1]; Nowruzfashkhami M.R.[1]; Haddadi Moghadam K.[1]; Pajand Z.[1]; Jalilpour J.[1]

[1]International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Abstract

The purpose of this study was to isolate and cultivate of microalgae enrich of fatty acids in order to improve the composition of fatty acids in daphnia. *Scenedesmus dimorphus* and *Chlorella vulgaris* were isolated and cultivated. For this study two treatment groups and one control group (with three replicates) were considered. Daphnia in treatments 1 and 2 were fed with *S. dimorphus* and *C. vulgaris*, respectively and control group didn't feed any algae. The microalgae density to enrich of daphnia was 5×10^7 cells/ml. Daphnia enrichment was carried out for 24 hours. On the basis of results, the amounts of PUFA in *S. dimorphus* and *C. vulgaris* were %16 and %26.3 respectively. The amounts of unsaturated fatty acids of Eicosapentaeonic acid (C20:5) and Docosahexaenoic acid (C22:6) in *S. dimorphus*, were %0.8 and %1.1 respectively. The amounts of the Linoleic acid (C18: 2) and Linolenic acid (C18:3) in *C. vulgaris* were %8.6 and %16.9 respectively. The PUFA amounts in control group, daphnia enriched with *C. vulgaris* and daphnia enriched with *S. dimorphus* were %15.1, %17.6 and %19.8 respectively. Enrichment of Daphnia with the mentioned algae was effective in improving fatty acids composition of daphnia.

Keywords: microalgae, fatty acids, *Daphnia longspina* ,bioenrichment, PUFA

*Corresponding author: Fchubian_59@yahoo.com