

"مقاله پژوهشی"

پارامترهای بیوشیمیایی *Artemia franciscana* تغذیه شده با ریز جلبک‌های *Tetraselmis suecica* و *Isochrysis galbana* کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات

فاطمه نساء وجدانی^۱، علیرضا سالارزاده^{۱*}، مازیار یحیوی^۱، سجاد پورمظفر^۲

۱- گروه شیلات، واحد بندرعباس، دانشگاه آزاد اسلامی، بندرعباس، ایران

۲- ایستگاه تحقیقات نرمتان خلیج فارس، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۳۰

چکیده

در این مطالعه پارامترهای بیوشیمیایی *Artemia franciscana* تغذیه شده با ریزجلبک‌های *Tetraselmis suecica* و *Isochrysis galbana* کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات بررسی گردید. از قندهای گلوکز، ساکاروز و فروکتوز به عنوان منابع مختلف کربنی استفاده شد. کشت آرتمیاها در شرایط استاندارد، در ۲۴ مخزن مدور پلی اتیلنی (۸ تیمار و سه تکرار) با حجم ۳۰۰ لیتر و تراکم هزار ناپلی به ازای هر لیتر آب انجام گردید. طول دوره پرورش ۳۰ روز بود. نتایج نشان داد بین تیمارهای مختلف، ریزجلبک‌های کشت داده با منابع مختلف کربوهیدراتی از نظر پارامترهای بیوشیمیایی اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0/05$)، و بین تیمارها ریزجلبک تتراسلمیس کشت داده شده با ساکاروز از نظر میزان پروتئین، چربی، خاکستر و کربوهیدرات اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد ($p < 0/05$). در ریزجلبک ایزوکرایسیس نیز منابع ساکارز و فروکتوز باعث بیشترین میزان پروتئین شدند ($p < 0/05$). آنالیز مقادیر بیوشیمیایی در آرتمیای تغذیه شده با دو گروه ریزجلبک نشان داد بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0/05$)؛ و بین تیمارها، آرتمیای تغذیه شده با ریزجلبک‌های تتراسلمیس و نیز ایزوکرایسیس کشت داده شده با ساکاروز نسبت به سایر تیمارها وضعیت مطلوبتری را نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیاهای تغذیه شده در وهله اول به نوع جلبک و در مرحله دوم به منبع تغذیه‌ای جلبک‌ها مرتبط می‌باشد. لذا استفاده از هر دو گونه جلبکی مورد مطالعه رشد یافته در منابع مختلف کربوهیدراتی می‌تواند موجب بالا رفتن ارزش غذایی آرتمیا گردد؛ اما در مجموع تیمار تتراسلمیس حاوی قند ساکارز بالاترین ارزش غذایی را در مقایسه با سایر تیمارها در آرتمیا موجب گردید.

کلمات کلیدی: *Artemia franciscana*، *Tetraselmis suecica*، *Isochrysis galbana*، کربوهیدرات

* عهده‌دار مکاتبات: reza1375bandar@yahoo.com

مقدمه

از میان غذاهای زنده‌ای که برای پرورش لارو ماهی‌ها، سخت پوستان و صدف‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، استفاده از آرتمیا دارای گستره مصرف وسیعی می‌باشد (Jobling, 2016). قدرت تولید مثل بالا و پرورش آسان در محیط‌های آزمایشگاهی این موجود را به عنوان یکی از جالب توجه‌ترین موجودات جهت بررسی الگوهای تولید مثلی و تکاملی تبدیل نموده است (Coutteau *et al.*, 1992). سالانه نزدیک به ۵۰ تن سیست خشک شده در ایران و بیش از ۲۰۰۰ تن آرتمیا در جهان مصرف می‌شود. توانایی منحصر به فرد آرتمیا در تشکیل جنین‌های غیرفعالی است که سیست نامیده می‌شود و امکان معرفی آن به عنوان یک منبع غذایی آسان و عالی فراهم نموده است (Agh *et al.*, 2007). سیست‌های آرتمیا را می‌توان برای دوره‌های زمانی طولانی درون قوطی نگهداری کرده و سپس در موقع نیاز با یک دوره انکوباسیون ۲۴ ساعته تفریح نمود (Sorgeloos *et al.*, 2001). با توجه به اهمیت غذای زنده در تکثیر و پرورش لارو انواع آبزیان، پرورش انواع مختلفی از غذاهای زنده همچون آرتمیا، روتیفر و سیکلوپس مورد توجه واقع شده است. لذا جهت پرورش چنین موجوداتی و حتی لارو بسیاری از سخت پوستان در مراحل ابتدایی، دسترسی به انواع جلبک‌های تک سلولی یک امر حیاتی است (Lavens and Sorgeloos, 1996). از نظر ترکیبات و تأمین نیازهای غذایی، تمامی اسیدهای آمینه اصلی در آرتمیا موجود بوده و مقدار پروتئین، چربی و هیدرات‌های کربن بترتیب در حدود ۶۰، ۱۰ و ۶ درصد از وزن خشک آرتمیا را تشکیل می‌دهند که نشان دهنده ارزش غذایی

بسیار بالای آن می‌باشد (Bengtson and Léger, 1991).

جلبک‌ها دارای نقش مهمی در تثبیت کیفیت آب، تغذیه لاروها و کنترل میکروبی هستند. البته تمام گونه‌های جلبکی برای رشد و بقای موجوداتی که تغذیه پالیده خواری دارند کاربرد ندارند. براساس توان بالقوه کشت توده‌ای، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی گونه‌های موفق و مناسب جلبکی انتخاب شده‌اند. تکنیک‌های مختلفی نیز برای رشد این گونه‌ها توسعه یافته است تا در مقیاس‌های بزرگ به صورت کشت متراکم کنترل شده و در کشت منفرد گونه‌ای متراکم از آنها استفاده نمود (Lavens and Sorgeloos, 1996). جلبک *Tetraselmis* تتراسلمیس متعلق به شاخه Chlorophyta، خانواده Chlorodendraceae و جنس *Tetraselmis*، یک ریز جلبک سبز متحرک رایج برای کشت روتیفر، اویستر و لارو میگوها می‌باشد (آذری تاکامی، ۱۳۶۹). جلبک ایزوکرایسیس متعلق به شاخه Haptophyta، خانواده Isochrysidaceae و جنس *Isochrysis*، به عنوان یک گونه سریع‌الرشد در برابر آلودگی‌های باکتریایی مقاوم بوده و متداولترین ارگانسیم‌های غذایی برای یک دوره طولانی پرورش لارو در شرایط حاره‌ای و نیمه حاره‌ای محسوب می‌شود (Robert *et al.*, 1997). بسیاری از آبزیان مانند ماهی کپور، صدف‌ها، مرحله بعد از لاروی میگو، تاس ماهیان و ده‌ها نوع دیگر از آبزیان در دوران اولیه زندگی‌شان قادر به گرفتن غذاهای کنسانتره نیستند، لذا وجود غذای زنده و متحرک در جیره غذایی آنها الزامی بنظر می‌رسد. کاربردهای مختلف آرتمیا موجب می‌شود که به عنوان یک جزء تفکیک‌ناپذیر صنعت پرورش آبزیان محسوب شود و استفاده از منابع کربن

ظروف شیشه‌ای توسط اسید کلریدریک و لوازم شوینده به خوبی شسته شدند و سپس با آب مقطر، الکل و مجدداً با آب مقطر شسته گردیدند. پس از خشک شدن توسط اتوکلاو استریل (ضد عفونی) شدند.

تهیه محیط کشت گیلارد

محیط کشت Gillard (F2) برای کشت ریز جلبک استفاده شد که شامل انواع موادی می‌باشد که جهت تهیه محیط کشت مورد استفاده قرار می‌گیرند. محلول استوک مواد غذایی از ترکیب ۱۸ گرم اسید سیتریک، ۲۰ گرم سترات آهن، ۳۳۲/۴ گرم نترات سدیم، ۲۰ گرم اورتوفسفات دی هیدروژن سدیم به همراه ۳/۸ لیتر آب مقطر تشکیل می‌گردد (عبدالعلیان، ۱۳۸۶). محلول استوک ویتامین بیوتین از حل نمودن مقدار ۵۰ میلی گرم بیوتین در ۴۸۰ میلی لیتر آب مقطر استریل بدست می‌آید. محلول استوک ویتامین B₁₂، از حل نمودن مقدار ۵۰ میلی گرم ویتامین B₁₂ (سیانوکوبالامین) در ۴۴/۵ میلی لیتر آب مقطر تهیه خواهد گردید. محلول ویتامین این محلول از حل نمودن ۸۰۰ میلی گرم ویتامین B₁ در ۱۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر استریل تهیه شده، که به این محلول مقدار ۴۰ میلی لیتر محلول استوک بیوتین و ۴ میلی لیتر استوک ویتامین B₁₂ اضافه می‌شود.

جهت تامین آب با شوری مناسب (۲۴-۲۰ قسمت در هزار) از روش عبدالعلیان (۱۳۸۶) استفاده گردید، به همین منظور ابتدا آب دریا از فیلترهای ۲۰، ۱۰ و ۱ میکرون عبور داده شده، سپس تحت تاثیر اشعه UV قرار گرفته تا هیچ نوع مشکلی جهت کشت جلبک‌ها نداشته باشد، همچنین به منظور جلوگیری از هر نوع کمبود املاح مورد نیاز رشد جلبک‌ها به محیط کشت

در تغذیه جلبک‌ها و ایجاد یک جیره غذایی مناسب جهت آرتمیا سهم موثری در افزایش درآمد داشته باشد. تاکنون مطالعات متعددی در ایران (ضیائی نژاد، ۱۳۹۳؛ محمدی نافچی، ۱۳۹۵؛ عشقی، ۱۳۹۶؛ نور عشقی و همکاران، ۱۳۹۶؛ عدلو و همکاران، ۱۳۹۶؛ امیراسدی و همکاران، ۱۳۹۶) و سایر نقاط جهان (Karthik et al., 2015; Le et al., 2019; Balachandar and Rajaram, 2019; Jaseera et al., 2021) در خصوص غنی سازی آرتمیا صورت گرفته است. با توجه به گستردگی بالای استفاده از آرتمیا به عنوان غذای زنده ضرورت بهینه سازی ترکیبات بدن این موجود تغذیه ایی به افزایش بقاء و کیفیت مناسب تر لارو آبزبان تغذیه کننده از آرتمیا کمک به سزایی خواهند نمود و یکی از این روش‌ها بهبود ترکیب بیوشیمیایی آرتمیا با استفاده از منابع مختلف کربوهیدراتی است. هدف از این مطالعه بررسی پارامترهای بیوشیمیایی *Artemia franciscana* تغذیه شده با میکرو جلبک‌های *Isochrysis galbana* و *Tetraselmis suecica* کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه استوک مورد نیاز برای کشت ریز جلبک

استوک مایع مورد نیاز جلبک ایزوکرایسیس از موسسه CSIRO کشور استرالیا خریداری شد و توسط پست هوایی ایران به ایستگاه بندرلنگه ارسال گردید. جهت تکثیر و ازدیاد جلبک ایزوکرایسیس گالابانا (*Isochrysis galbana*) (CS-1۷۷) و تتراسلمیس سوشیا (*Tetraselmis suecica*) (CS-۱۸۷) مراحل کشت در محیط کشت گیلارد یا F2 صورت گرفت. ابتدا کلیه لوازم مورد نیاز برای کشت جلبک‌ها از جمله

نیز ۲ میلی لیتر محلول فلزات کمیاب و ۰/۲ میلی لیتر محلوله ویتامینی نیز اضافه گردید.

کشت جلبک

برای انجام آزمایش، هر ظرف محتوی ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت f/۲ اتوکلاو شده با منابع مختلف کربن استریل شده (گلوکز، فروکتوز، ساکارز، ترکیب نموده و با حرکات چرخشی کاملاً در آن حل گردید. ۲۴ ظرف پلاستیکی با حجم ۴ لیتر را ابتدا با اسید کلریدریک و لوازم شوینده، خوب شسته و سپس به میزان ۳ لیتر با آب فیلتر شده پر می کنیم. در ۱۲ ظرف جلبک تتراسلمیس و ۱۲ ظرف دیگر جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شد. از محیط کشت ترکیب شده با هر یک از قندها (گلوکز، ساکارز، فروکتوز)، به میزان ۲/۳ سی سی به هر یک از ظروف پلاستیکی حاوی آب فیلتر شده اضافه گردید. سپس مرحله ترکیب کردن جلبک به هر یک از ظروف بوده، جلبک تتراسلمیس و ایزوکرایسیس به میزان ۳۰۰ سی سی اضافه گردید؛ که شامل سه تیمار و هر تیمار از سه تکرار تشکیل شده است. یک تیمار شاهد بدون قند در نظر گرفته می شود تا افزایش یا کاهش احتمالی جلبک مورد بررسی قرار گیرد. در کشت های داخل آزمایشگاه نور توسط لامپ های فلورسنت و ۱۲:۱۲ تأمین می گردد (عبدالعلیان، ۱۳۸۶). شدت نور برای کشت مناسب جلبک ها ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ لوکس بوده که اپتیمم آن ۲۵۰۰-۵۰۰۰ لوکس می باشد. درجه حرارت محیط کشت جلبک ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد و pH آب محیط ۲/۷-۸/۸ تنظیم گردید (Fulks and Main, 1991).

شمارش جلبک

جلبک تتراسلمیس و ایزوکرایسیس پس از طی مراحل کشت در ظروف ۴ لیتری به رشد لگاریتمی در روز هفتم رسیده، مورد استفاده قرار می گیرد. فاز لگاریتمی رشد جلبک تتراسلمیس و ایزوکرایسیس در شرایط بندرلنگه به ترتیب ۱ تا ۲ میلیون و ۵ تا ۷ میلیون سلول در هر میلی لیتر می باشد. جلبک ابتدا توسط لام هموسیترمتر و به کمک میکروسکوپ نوری (Olympus، مدل CX21 ساخت ژاپن) با عدسی شیئی ۱۰ شمارش شد. مقدار ۰/۵ سی سی از جلبک را توسط سمپلر (eppendorf ساخت کشور آلمان) در لوله آزمایش ریخته و جهت جلوگیری از تغییرات احتمالی در تعداد سلول ها و همچنین سهولت و دقت کار در هنگام شمارش، به میزان یک قطره فرمالین ۵ درصد به آن تزریق نمودیم.

تعیین آنالیز تقریبی جلبک

برای اندازه گیری وزن خشک جلبک های ایزوکرایسیس و تتراسلمیس ابتدا جلبک های از کاغذ صافی عبور داده شدند تا تغلیظ شوند. سپس نمونه ها به مدت ۸ ساعت در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در پایان از هر تیمار حدود ۳۵ گرم جلبک خشک استحصال شد. نمونه ها در فریزر تا زمان آزمایش پروتئین نگهداری شدند (Uslu et al., 2011). کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت آلمانی مرک (Merck) تهیه گردید. میزان خاکستر به روش خشک (بر حسب درصد ماده خشک) با تجزیه مواد آلی نمونه توسط حرارت و اندازه گیری مقدار عناصر باقیمانده تعیین شد. میزان فیبر به روش وزنی (بر حسب ماده خشک) با هضم نمونه ها توسط اسید و باز،

صاف کردن، خشک کردن، توزین و محاسبه گردید (Horwitz and Latimer 2005). میزان چربی به روش سوکسله (بر حسب درصد ماده خشک) با جدا کردن چربی نمونه‌ها توسط حلال آلی، تبخیر حلال و توزین مقدار چربی نمونه‌ها تعیین شد (AOAC, 2005). میزان پروتئین به روش کلدال Kjeldahl (بر حسب درصد ماده خشک) با هضم نمونه‌ها با استفاده از اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزور، تبدیل ازت نمونه‌ها به سولفات آمونیوم، تعیین میزان ازت تام و محاسبه درصد پروتئین با در نظر گرفتن ضریب پروتئینی نمونه‌ها سنجش گردید (Coca et al., 2014). میزان کربوهیدرات به روش Kochert (بر حسب درصد ماده خشک) با استفاده از فنل و اسید سولفوریک غلیظ و اندازه گیری کمی قندها و مشتقات متیله آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۸۵ نانومتر بر حسب میلی گرم بر لیتر سنجش شده، همچنین از از منحنی استاندارد گلوکز و معادله زیر میزان کمی قندها محاسبه گردید (Kochert, 1978).

$$C = (OD + 3.985) / 36.62 \text{ (میزان کمی قند)}$$

تهیه سیست آرتیمیا، خالص سازی آن، جدا سازی لاروها و آماده سازی نمونه

در این تحقیق سیست آرتیمیای از مرکز پرورش آرتیمیا واقع در شهرستان رفسنجان، استان کرمان خریداری شد. گونه آرتیمیای استفاده شده در این پژوهش *Artemia franciscana* می‌باشد. در این آزمایش ۲۴ عدد مخزن مدور پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری با قطر یک متر برای ذخیره سازی در نظر گرفته شد. هر یک از این مخازن با حدود ۲۵۰ لیتر آب با شوری ۳۰ گرم در لیتر پر شد. جهت هوادهی و تأمین نیاز اکسیژنی

آبی درون هر یک از مخازن از سه انشعاب لوله هواده که به منبع هواده متصل بود، استفاده گردید. هوادهی در دو روز اول ذخیره سازی به صورت ملایم و سپس با شدت بیشتری انجام شد. برای تخم گشایی سیستمها از ظروف مخروطی-استوانه‌ای شکل ۱/۵ لیتری استفاده شد (Lavens and Sorgeloss, 1996). ابتدا آب مورد نیاز با شوری ۳۰ قسمت در هزار با استفاده از آب دریا تهیه شد. سپس از فیلتر عبور داده شد و pH آن نیز با افزودن مقداری بیکربنات سدیم در حدود ۸ تنظیم شد. ظروف مخروطی-شیشه‌ای مخصوص تخم گشایی سیست آرتیمیا تحت دمای ۲۸ درجه سانتی-گراد در درون یک آکواریوم قرارداد شده شدند. ۱ لیتر آب شور فیلتر شده به درون هر یک از ظروف ریخته و به آرامی هوادهی گردید. تراکم سیستمها برای تخم گشایی در حد یک گرم در هر لیتر آب در نظر گرفته شد. میزان روشنایی با استفاده از لامپ‌های مهتابی نصب شده در فاصله ۴۰ سانتیمتری بالای آکواریوم تنظیم شد و هوادهی از ته ظرف مخروطی-استوانه‌ای انجام گرفت بطوریکه سیستمهای داخل ظرف به خوبی با هم مخلوط شوند. دمای انکوباتورها هر چند ساعت توسط دماسنج کنترل گردیده و آنکوباسیون سیستمها تحت این شرایط به مدت ۲۴-۳۶ ساعت انجام گرفت (Lavens and Sorgeloss, 1996). برای جدا سازی ناپلی‌ها از ویژگی نورگرائی مثبت آنها استفاده شد. بدین ترتیب که با نور دهی مخروطها به کمک یک منبع نوری لاروهایی که بطرف نور جمع می‌شوند با پیپت جمع آوری کرده و در ظرف دیگری انتقال یافتند. پس از جمع آوری به تعداد ۱۰۰۰ ناپلی به ازای هر لیتر آب، به تانک‌های ۳۰۰ لیتری که از قبل برای انجام آزمایش آماده شده بودند معرفی گردید

(Vanhaecke and Sorgeloos, 1989). برای هر یک از تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد. شرایط فیزیکی محیط برای تفریح سیستمها و پرورش آرتمیا درجه حرارت 1 ± 28 درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول $17 \pm 0.5/7$ میلی گرم بر لیتر، شوری 33 ± 0.35 گرم بر لیتر و pH نیز $8 \pm 0.8/8$ و نور ۲۵۰۰ لوکس اندازه گیری گردید.

غذادهی آرتمیا به طور روزانه در ۲ نوبت طبق جدول استاندارد انجام گرفت (Coutteau et al., 1992). در انتهای فاز لگاریتمی (۷ روز) جلبکها به منظور تغذیه آرتمیاها برداشت شدند. قبل از غذادهی تراکم جلبکها در تیمارهای مختلف با استفاده از لام هموسیتومتر اندازه گیری شد. میزان جلبک برای تغذیه آرتمیا حدود ۶۰۰۰ تا ۶۵۰۰ سلول جلبکی به ازای هر عدد آرتمیا در نظر گرفته شد (Vanhaecke and Sorgeloos, 1989) (جدول ۱). تعویض آب نیز در روزهای ۸، ۱۱، ۱۴ و ۱۷ پرورش صورت گرفت.

جدول ۱. برنامه غذادهی تیمارهای مختلف آرتمیا توسط جلبکهای *Tetraselmis suecica* و *Isochrysis galbana* در طی دوره آزمایش

جدول استاندارد انجام گرفت (Coutteau et al., 1989) (جدول ۱). تعویض آب نیز در روزهای ۸، ۱۱، ۱۴ و ۱۷ پرورش صورت گرفت.

جدول ۱. برنامه غذادهی تیمارهای مختلف آرتمیا توسط جلبکهای *Tetraselmis suecica* و *Isochrysis galbana* در طی دوره آزمایش

<i>Tetraselmis suecica</i>	<i>Isochrysis galbana</i>	نوع جلبک
تراکم در ۱ میلی لیتر	تراکم در ۱ میلی لیتر	شروع کشت
134250 ± 35656	931250 ± 35656	اوایل هفته دوم
931250 ± 135000	5712750 ± 139006	

پارامترهای بیوشیمیایی از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. مقایسه میانگین بین تیمارها نیز از طریق آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت.

داده شده با ساکاروز در مقایسه با سایر تیمارها وضعیت مطلوبتری را نشان داده و اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت ($p < 0.05$). از نظر میزان خاکستر هیچ نوع اختلاف معنی داری بین تیمارها با شاهد مشاهده نگردید ($p > 0.05$) (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری دادهها، نرمال بودن توزیع دادهها با آزمون گلموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. دادههای به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تحلیل

نتایج

نتایج بدست آمده نشان داد بین تیمارهای مختلف ریز جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات از نظر پارامترهای بیوشیمیایی با تیمار شاهد اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0.05$)؛ بین تیمارهای مورد مطالعه ریز جلبک تتراسلمیس کشت

جدول ۲. مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی جلبک‌های تتراسلمیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات (Mean ± SE)

تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	کربوهیدرات
شاهد	۴۲/۶۰ ± ۳/۱۰ ^c	۲۱/۳۰ ± ۴/۸۹ ^d	۱۸/۲ ± ۲/۰۱ ^a	۱۷/۳۶ ± ۴/۰۵ ^c
گلوکز	۵۴/۸۴ ± ۳/۰۵ ^b	۳۴/۵۳ ± ۴/۶۰ ^b	۱۸/۹۸ ± ۲/۰۵ ^a	۶۵/۰۲ ± ۴/۰۴ ^a
فروکتوز	۵۷/۳۰ ± ۳/۰۵ ^b	۲۳/۵۸ ± ۴/۴۷ ^c	۱۸/۹۰ ± ۲/۰۱ ^a	۵۳/۷۰ ± ۴/۰۲ ^b
ساکاروز	۷۴/۰۶ ± ۳/۱۱ ^a	۳۸/۱۷ ± ۴/۵۷ ^a	۱۸/۹۲ ± ۲/۱۱ ^a	۶۴/۵۸ ± ۴/۰۴ ^a

* حروف غیر همنام در هر ستون نشان‌دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p < 0/05$)

میزان کربوهیدرات در سایر پارامترهای بیوشیمیایی نسبت به سایر تیمارها وضعیت مطلوبتری را نشان داده است. از نظر میزان خاکستر نیز بین تیمارهای مختلف و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). از نظر کربوهیدرات نیز تیمار ریز جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با گلوکز اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشته است ($P < 0/05$) (جدول ۳).

بر اساس مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات، بین تیمارهای مختلف با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). تیمار ریز جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع ساکاروز و فروکتوز از نظر میزان پروتئین اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشته ($p < 0/05$)، اما تیمار ریز جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با ساکاروز به جز در

جدول ۳. مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات (Mean ± SE)

تیمار	پروتئین	چربی	خاکستر	کربوهیدرات
شاهد	۳۰/۳۰ ± ۰/۲۴ ^b	۱۷/۲۰ ± ۰/۴۴ ^c	۱۳/۵ ± ۰/۱۴ ^a	۱۶/۲۰ ± ۴/۴۶ ^b
گلوکز	۳۲/۱۰ ± ۰/۳۱ ^b	۲۵/۰۱ ± ۰/۲۲ ^b	۱۴/۱۹ ± ۰/۰۴ ^a	۴۹/۰۲ ± ۴/۰۳ ^a
فروکتوز	۳۶/۲ ± ۰/۲۸ ^a	۲۳/۴ ± ۰/۲۵ ^b	۱۴/۱۲ ± ۰/۰۶ ^a	۴۲/۲۰ ± ۴/۱۱ ^c
ساکاروز	۳۶/۳ ± ۰/۳۵ ^a	۲۹/۲۰ ± ۰/۳۱ ^a	۱۴/۱۵ ± ۰/۰۲ ^a	۴۷/۱۰ ± ۴/۰۱ ^b

* حروف غیر همنام در هر ستون نشان‌دهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p < 0/05$)

شده با ساکاروز و فروکتوز اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان دادند ($p < 0/05$). از نظر کربوهیدرات نیز بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشته ($p < 0/05$)، و تیمار تغذیه شده با ریز جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با گلوکز از وضعیت مطلوبتری برخوردار بوده است (جدول ۴).

بر اساس پارامترهای بیوشیمیایی آرمیای تغذیه شده با جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات، به جز میزان خاکستر و چربی بین مقادیر پروتئین و کربوهیدرات تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). از نظر میزان پروتئین دو تیمار تغذیه شده با ریز جلبک تتراسلمیس کشت داده

جدول ۴. پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیای تغذیه شده با جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات (Mean ± SE)

نوع جلبک	تیمار	پارامترها		
		پروتئین	چربی	خاکستر
تتراسلمیس	شاهد	^b ۵۱/۲±۰۶/۳۴	^a ۱۳/۳±۱۰/۲۰	^a ۷/۱±۰۷/۰۳
	گلوکز	^b ۵۱/۴±۰۶۳/۱۷	^a ۱۲/۱±۰۶۳/۵۶	^a ۶/۰±۰۲۷/۸۱
	ساکارز	^a ۵۳/۳±۰۷/۵۱	^a ۱۲/۲±۰۸۵/۳۵	^a ۷/۱±۰۴۰/۳۱
	فروکتوز	^a ۵۲/۳±۰۷/۷۷	^a ۱۳/۱±۰۶۶/۱۰	^a ۷/۰±۰۸۱/۵۳
کربوهیدرات				^b ۲۷/۶±۰۵۵/۰۸
				^a ۲۸/۳±۰۸۸/۱۹
				^b ۲۶/۳±۰۳/۹۷
				^c ۲۴/۴±۰۳۸/۶۵

* حروف غیر همنام در هر ستون نشاندهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p < 0/05$)

بر اساس پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات، به جز میزان چربی بین مقادیر پروتئین، خاکستر و کربوهیدرات تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). از نظر میزان پروتئین دو تیمار تغذیه شده با ریزجلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با ساکاروز و فروکتوز اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان دادند ($p < 0/05$). از نظر خاکستر نیز بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشته ($p < 0/05$)، و کمترین میزان خاکستر به تیمار تغذیه شده با ریزجلبک ایزوکرایسیس کشت داده با ساکاروز تعلق داشته است. از نظر کربوهیدرات نیز بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشته ($p < 0/05$)، و تیمار تغذیه شده با ریز جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با گلوکز از وضعیت مطلوبتری برخوردار بوده است (جدول ۵).

جدول ۵. پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات (Mean ± SE)

نوع جلبک	تیمار	پارامترها		
		پروتئین	چربی	خاکستر
ایزوکرایسیس	شاهد	^b ۵۲/۰±۰۹۸/۹۸	^a ۱۴/۱±۰۵۳/۶۳	^a ۸/۰±۰۵۳/۸۴
	گلوکز	^b ۵۲/۳±۰۶۰/۱۸	^a ۱۳/۱±۰۱۴/۱۵	^a ۸/۱±۰۷۹/۶۱
	ساکارز	^a ۵۵/۳±۰۷/۹۶	^a ۱۴/۲±۰۲/۰۰	^b ۷/۰±۰۲۱/۸۵
	فروکتوز	^a ۵۵/۱±۰۱۸/۷۸	^a ۱۵/۲±۰۳۱/۳۱	^a ۹/۰±۰۳۰/۸۶
کربوهیدرات				^b ۲۲/۱±۰۷۳/۰۲
				^a ۲۴/۳±۰۸۹/۷۰
				^b ۲۳/۵±۰۵/۴۳
				^c ۱۸/۴±۰۳۶/۵۸

* حروف غیر همنام در هر ستون نشاندهنده معنی دار بودن در سطح ۵ درصد خواهد بود ($p < 0/05$)

بر اساس پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با منابع مختلف کربوهیدرات، به جز میزان چربی بین مقادیر پروتئین، خاکستر و کربوهیدرات تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده گردید ($p < 0/05$). از نظر میزان پروتئین دو تیمار تغذیه شده با ریزجلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با ساکاروز و فروکتوز اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان دادند ($p < 0/05$). از نظر خاکستر نیز بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشته ($p < 0/05$)، و کمترین میزان خاکستر به تیمار تغذیه شده با ریزجلبک ایزوکرایسیس کشت داده با ساکاروز تعلق داشته است. از نظر کربوهیدرات نیز بین تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشته ($p < 0/05$)، و تیمار تغذیه شده با ریز جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده با گلوکز از وضعیت مطلوبتری برخوردار بوده است (جدول ۵).

استفاده از ریز جلبکها در آبی پروری با فعالیت های بیولوژیک و تغذیه ای آنها در ارتباط است (Raja and Hemaiswarya, 2010). کرین از جمله ترکیباتی است برای رشد ریزجلبکها ضروری بوده و همچنین برای تولید چربی مورد نیاز است (Cordilea et

بحث

Lee, 2011; Martinez and Orus, 1999)، که در نهایت در چندین مسیر از جمله تحریک رشد سریع جلبکها خواهد شد، همچنین براحتی توسط سلوهای جلبکها جذب و استیل کولین را تولید خواهد نمود (Lee, 2011; Martinez and Orus, 1999)، که در نهایت در چندین مسیر از جمله

همچنین برای تولید چربی مورد نیاز است (Cordilea et

گالاکتوز) یک روش مناسب جهت تولید چربی با محتوای بالا در ریزجلبک‌ها در مقیاس‌های بزرگ و نیز مصارف تجاری خواهد بود (Velu et al., 2015).

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه، منابع مختلف کربوهیدراتی بر میزان پروتئین در جلبک تتراسلمیس مؤثر بوده‌است و ساکارز موجب بیشترین میزان پروتئین در این جلبک شده‌است. در مطالعه حسنی و همکاران (۱۳۹۷) مقدار پروتئین جلبک تتراسلمیس برابر با $3/9 \pm 0/08$ برآورد گردید. با این حال، شواهدی مبنی بر تأثیر معنی‌دار منابع مختلف کربوهیدراتی بر مقدار پروتئین در جلبک ایزوکرایسیس در تیمارهای مختلف مشاهده نشد و بیشترین مقدار پروتئین در این جلبک در تیمار شاهد بود. در نتایج مطالعات Marchetti و همکاران (۲۰۱۳) و Mishra و همکاران (۲۰۱۹) بیشترین مقدار میانگین پروتئین اندازه‌گیری شده از جلبک ایزوکرایسیس در منابع مختلف (نیتريت، نیترات و اوره) به ترتیب $1/02 \pm 35/52$ و $4/81 \pm 0/40$ بود. در تحقیق Fidalgo و همکاران (۱۹۹۸) مشخص گردید که بین تیمارهای مختلف (نیتريت، نیترات و اوره) در مقدار پروتئین اختلاف معنی‌دار وجود دارد که بیشترین مقدار آن معادل $44/96 \pm 0/83$ بود. این نتیجه با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت ندارد. مقدار اندازه‌گیری شده پروتئین از این جلبک در تحقیق حاضر از مقدار آن در مطالعه Marchetti و همکاران (۲۰۱۳) بیشتر و از مطالعه‌های Fidalgo و همکاران (۱۹۹۸) و Mishra و همکاران (۲۰۱۹) کمتر بود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان برداشت کرد که میزان پروتئین در جلبک تتراسلمیس به طور معنی‌داری به منبع تغذیه‌ای کربوهیدراتی وابسته‌است.

سنتز اسیدهای چرب مورد استفاده قرار خواهد گرفت (Huang et al., 2010). گلوکز و فروکتوز از نظر تعداد کربن مشابه هستند، اما توسط آنزیم‌های متفاوتی تجزیه خواهد شد. گلوکز می‌تواند به گلوکز ۶- فسفات تبدیل شده که محصول کلیدی در چرخه گلیکولیز و نیز پنتوز فسفات به شمار خواهد آمد (Xiong et al., 2010). البته فروکتوز نمی‌تواند مستقیماً در ریزجلبک‌ها به گلوکز ۶- فسفات تبدیل گردد (Martinez and Orus, 1991). در نتیجه زمانی که فروکتوز به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار می‌گیرد رشد ریزجلبک‌ها نیز کمی کاهش می‌یابد. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که از بین تیمارهای مورد مطالعه، تجمع چربی زمانی که گلوکز و ساکاروز به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار گرفتند، در مقایسه با فروکتوز معنی‌دار بوده‌است. قندهایی مانند گلوکز و ساکاروز باعث ایجاد رشد بیشتر و نیز تنفس سلولی بالاتر در ریزجلبک‌ها شده چون دارای میزان بالاتری انرژی در مول هستند (Cordilea et al., 2013)؛ این قندها قادرند تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد نموده و در مسیرهای متابولیکی (جذب کربن) موجب بزرگ شدن اندازه سلول و نیز تجمع ترکیباتی مانند نشاسته، ذرات چربی و نیز ساخته شدن پروتئین خواهند گردید (Martinez and Orus, 1991). مطالعه‌ای که توسط Nzayisenga و همکاران (۲۰۱۸) بر روی ریزجلبک‌های *Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis*, *Nitzschia* انجام شده نشان داده‌اند با رشد این ریزجلبک‌ها بر روی منابع مختلف کربن میزان کلروفیل و نیز ویتامین‌ها نیز در ریزجلبک‌ها مذکور افزایش یافته‌است. بنابراین کشت ریزجلبک‌ها بر روی منابع مختلف کربن (گلوکز، فروکتوز، ساکاروز، لاکتوز و

(۱۳۹۴). نتایج نشان داد که مقادیر خاکستر در جلبک تتراسلمیس به منابع مختلف کربوهیدراتی وابسته است هر چند اختلاف معنی‌داری بین میزان خاکستر در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. زمانیان و همکاران (۱۳۹۴) دریافتند که کمترین میزان خاکستر مرتبط با جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با ویتامین C بود.

بین مقدار کربوهیدرات در دو جلبک تتراسلمیس و ایزوکرایسیس و تأثیر منابع مختلف کربوهیدراتی بر آن رابطه معنی‌داری وجود داشت و گلوکز موجب بیشترین میزان کربوهیدرات در هر دو جلبک مورد مطالعه شد. در پژوهش پوربزرگی رودسری و همکاران (۱۳۹۷) نیز بیان شد که در میزان کربوهیدرات جلبک سبز - آبی بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت که با نتایج مطالعه حاضر تقریباً همسو است. بنابراین گلوکز موجب بیشترین مقدار کربوهیدرات در هر دو جلبک مورد مطالعه شد و مقدار آن وابسته به نوع جلبک و منبع تغذیه‌ای بود. نتایج مطالعه Velu و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که مقدار کربوهیدرات در جلبک تتراسلمیس کشت داده شده با منبع گلوکز نسبت به سایر منابع کربنی در وضعیت مطلوب‌تری قرار دارند.

آرتمیا گسترده‌ترین غذای زنده در صنعت آبزی پروری است؛ و به شکل‌های مختلف مانند ناپلی، بالغ، منجمد و یا خشک شده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Lavens and Sorgeloos, 1991). کیفیت ریزجلبک‌های استفاده شده برای رشد آرتمیا در مطالعات مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است (محبی و همکاران، ۱۳۹۵؛ وجودزاده و همکاران، ۱۳۸۶؛ کرمی‌فر و همکاران، ۱۳۹۱؛ نهالی و همکاران، ۱۳۹۷؛ Karthik et al., 2015؛ Cordilea et al., 2013).

مقدار چربی در جلبک تتراسلمیس با منابع مختلف کربوهیدراتی دارای نوساناتی بود و بیشترین مقدار چربی این جلبک در منبع ساکارز مشاهده گردید. در مطالعه حاضر نتایج مقدار چربی در جلبک تتراسلمیس با یافته‌های Smith و همکاران (۲۰۲۱) همسو بود. همچنین در پژوهش Kim و همکاران (۲۰۱۶) هنگامی که جلبک تتراسلمیس با عصاره مخمر کشت داده شد، بالاترین میزان چربی (۳۶ میلی‌گرم بر لپید در روز) را نشان داد. نتایج تحقیق Moheimani (۲۰۱۳) نشان داد که بیشترین چربی اندازه‌گیری شده در جلبک تتراسلمیس در $pH = 7$ به مقدار $99 \pm 17/2$ میلی‌گرم بود. شواهدی مبنی بر تأثیر قابل توجه منابع کربوهیدراتی بر مقدار چربی در جلبک ایزوکرایسیس مشاهده نشد و بیشترین مقدار چربی در این جلبک در تیمار فروکتوز اندازه‌گیری شد. Sun و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند که بیشترین مقدار چربی در جلبک ایزوکرایسیس برابر با $0/35$ گرم بر لیپید در روز بود که این مقدار از میزان اندازه‌گیری شده در پژوهش حاضر کمتر است. یافته‌های Lai و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داد که میزان چربی جلبک ایزوکرایسیس کشت داده شده در تیمارهای مختلف (سه نوع آنتی بیوتیک) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارد. با توجه به مطالب گفته شده می‌توان دریافت که میزان چربی تولید شده در وهله اول به نوع جلبک و بعد از آن به منبع مختلفی که از آن تغذیه می‌کنند بستگی دارد.

مقادیر خاکستر به‌عنوان شاخصی به‌منظور نشان دادن میزان از دست رفتن ماده آلی در اثر فساد می‌باشد. به گونه‌ای که با گذشت زمان در هنگام نگهداری مقدار خاکستر افزایش می‌یابد که علت این امر از دست رفتن ماده آلی در نتیجه فساد است (زمانیان و همکاران،

توده زنده آرتمیا انعکاسی از نوع مدیریت در جیره غذایی مورد استفاده آن خواهد بود.

با توجه به مطالب عنوان شده می‌توان نتیجه گرفت، منابع تغذیه‌ای مختلف بر میزان فاکتورهای بیوشیمیایی گونه‌های ریز جلبک مورد مطالعه دارای تاثیر معنی‌داری بوده‌اند که در این راستا منبع ساکارز موجب بیشترین مقادیر پروتئین، چربی و خاکستر در جلبک تتراسلمیس و منابع ساکارز و فروکتوز به ترتیب باعث بیشترین مقدار پروتئین در جلبک ایزوکرایسیس شده‌اند. به طور کلی نوع جلبک مورد استفاده و منبع تغذیه‌ای جلبک بر مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی تاثیرگذار هستند. بنابراین می‌توان از منابع مختلف کربوهیدراتی به منظور پرورش جلبک‌های ایزوکرایسیس و تتراسلمیس استفاده نمود. به خصوص منبع ساکارز می‌تواند به منظور بالا بردن ارزش غذایی جلبک تتراسلمیس و منبع ساکارز و فروکتوز برای افزایش ارزش غذایی جلبک ایزوکرایسیس استفاده گردد. نتایج آنالیز مقادیر بیوشیمیایی در آرتمیای تغذیه شده با دو گونه جلبک تتراسلمیس و ایزوکرایسیس نیز مشخص نمود که مقدار پارامترهای بیوشیمیایی آرتمیای تغذیه شده با دو ریزجلبک مختلف باهم متفاوت بوده و این تفاوت در مقادیر پروتئین، چربی و نیز خاکستر بود. بنابراین مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی بدن آرتمیای تغذیه شده در وهله اول به نوع جلبک و در مرحله دوم به منبع تغذیه‌ای جلبک‌ها مرتبط بود. لذا استفاده از هر دو گونه جلبکی مورد مطالعه رشد یافته در منابع مختلف کربوهیدراتی می‌تواند موجب بالا رفتن ارزش غذایی آرتمیا گردد؛ اما در مجموع تیمار تتراسلمیس حاوی قند ساکارز بالاترین ارزش غذایی را در مقایسه با سایر تیمارها در آرتمیا موجب گردید.

(and Rajaram, 2019)؛ که نتایج مختلفی بستگی به نوع گونه ریزجلبک، شرایط کشت آنها و حتی نوع گونه آرتمیا استفاده شده در مطالعات بدست آمده است. مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه آرتمیا با میکروجلبک کشت داده شده با ساکاروز در مقایسه با سایر تیمارها موجب کیفیت بهتر ترکیب بیوشیمیایی در آرتمیا شده است. برای تولید آرتمیا با کیفیت بالا، رژیم غذایی مناسب نقش عمده ای ایفا می‌کند (Herawati *et al.*, 2012). Huang و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میکروجلبک تتراسلمیس کشت داده شده با منبع کربوهیدراتی ساکاروز به عنوان رژیم غذایی باعث بهبود ترکیب مواد مغذی در آرتمیا خواهد شد. طبق تحقیقات انجام شده توسط Amin (۲۰۰۹) قندهایی مانند ساکاروز باعث ایجاد رشد بیشتر و نیز تنفس سلولی بالاتر در ریزجلبک شده و علت اصلی این مسئله میزان بالای انرژی است که توسط این قند تولید می‌گردد؛ ساکاروز قادر است با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی در مسیرهای متابولیکی (جذب کربن) موجب بزرگ شدن اندازه سلول و نیز تجمع ترکیباتی مانند نشاسته، ذرات چربی و نیز ساخته شدن پروتئین گردیده و همین مسئله موجب شده بعد از استفاده شدن این منابع ریز جلبکی توسط ارگانسیم‌هایی مانند آرتمیا باعث بهبود ترکیبات بیوشیمیایی ساختار بدن آنها گردد (Martinez *et al.*, 1991). نتایج این مطالعه منطبق با نتایجی است که Vanhaecke and Sorgeloos (۱۹۸۰) و Smith (۱۹۸۹) و (۲۰۲۱) گزارش نموده‌اند؛ طبق نتایج مطالعه مزبور نوع منابع کربوهیدراتی مورد استفاده در کشت ریزجلبک تاثیر به سزایی در میزان ترکیبات بیوشیمیایی ریز جلبک‌ها ایفا خواهد نمود. Sakamoto و همکاران (۱۹۸۲) نیز اظهار نمودند ترکیب بیوشیمیایی

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت همه کسانی که در مراحل اجرایی این پروژه ما را یاری نمودند، سپاسگزاری می-نمایم.

منابع

- آذری تاکامی، ق.، ۱۳۶۹. *Artemia* به عنوان غذای با ارزش جهت تغذیه ماهیان خاویاری. مجموعه مقالات کنفرانس ملی بهره برداری مناسب از ذخایر آبزیان دریای مازندران، بابلسر، مهرماه ۱۳۶۹. صفحه های ۵۰۹-۵۲۴.
- امیراسدی، ح.، جوانشیر خوئی، آ.، پورباقر، ه.، ۱۳۹۶. اثر دما و غلظت جلبک *Dunaliella salina* بر بقاء *Artemia urmiana* بالغ در طول دوره های مختلف حیات در شرایط آزمایشگاهی. آبزیان زینتی، ۴(۳)، ۶-۱.
- پوربزرگی رودسری، ن.، مددکار حق جو، م.، غیاثوند، ع.، ۱۳۹۷. بررسی مقایسه ای تاثیر وانیلین بر ویژگیهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی جلبک سبز-آبی *Spirulina platensis* در دو محیط کشت غذایی Zarrouk و Johnson. مجله زیست شناسی گیاهی ایران، ۱۰(۴)، ۸۱-۱۱۰.
- حسنی، ا.، محمدی، م.، محبی، غ.، ۱۳۹۷. تعیین میزان پروتئین تام و بررسی میزان اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری در ریزجلبک دریایی تتراسلمیس چویی، *Tetraselmis chuii*. اولین همایش ملی توسعه پایدار خلیج فارس (اکوسیستم های حساس)، بوشهر، صفحات ۱-۱۱.
- زمانیان، ف.، رفیعی، ف.، عابدیان کناری، ع.، ۱۳۹۴. تغلیظ کشت جلبکی تتراسلمیس (*Tetraselmis suecica*) به روش سانتریفیوژ و تاثیر ویتامین-های C و E بر میزان بازماندگی و شاخص های آنالیز تقریبی. مجله علوم و فنون شیلات، ۴(۳)، ۶۱-۷۶.
- ضیائی نژاد، س.، ۱۳۹۳. غنی سازی آرتمیا، *Artemia franciscana* با استفاده از پروبیوتیک های باکتریایی باسیلوس. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۴)، ۶۷-۵۷.
- عبدالعلیان، ع.، ۱۳۸۶. بررسی میزان فیلتراسیون صدفچه های صدف مروارید ساز لب سیاه بر روی گونه های فیتوپلانکتون *Isochrysis affgalbana* و *Chaetoceros calcitrans* در دماهای مختلف. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد واحد بندرعباس. ۶۷ صفحه.
- عدلو، م. ن.، سالارزاده، ع. ل.، آق، ن.، بحری، ا. ه.، ۱۳۹۶. تاثیر بیومس آرتمیای غنی سازی شده توسط اسیدهای چرب HUFA، PUFA و MUFA بر روی ترکیبات اسیدهای چرب، رشد و شاخص های کمی تولید مثلی میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vanna*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۲)، ۷۹-۹۰.
- عشقی، ش.، ۱۳۹۶. اثرات جایگزینی جلبک های تک سلولی با محصولات جانبی کشاورزی روی رشد و بقاء آرتمیا فرانسیسکانا. مجله علمی-پژوهشی زیست شناسی جانوری تجربی، ۵(۴)، ۶۹-۷۷.
- کریمی فر، س.، آذری تاکامی، ق.، خارا، ح.، حافظیه، م.، ۱۳۹۱. مقایسه درصد اسیدهای چرب در نائوپلیوس آرتمیا غنی سازی شده به وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزو کرایسیس

- گالابانا. نشریه بهره برداری و پرورش آبزیان، ۱(۴)، ۴۵-۵۶.
۱۱. محبی، ف.، صیدگر، م.، حافظیه، م.، احمدی، ر.، محبی قرالو، پ.، ۱۳۹۵. اثر تغذیه با جلبک های تک سلولی بر رشد، بازماندگی، سیست زایی و ارزش غذایی آرتمیا اورمیانا در شرایط آزمایشگاهی. مجله زیست شناسی جانوری تجربی، ۱(۱)، ۳۹-۴۹.
۱۲. محمدی نافچی، ف.، ۱۳۹۵. اثر تغذیه ای جلبک (*Nannochloropsis oculata*) و کنسانتره سبوس برنج غنی شده با مخمر ساکارومیسس سرویزیه بر رشد و بازماندگی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia anciscana*). فصلنامه علوم تکثیر و آبی پروری، ۳(۹)، ۸۵-۹۶.
۱۳. نورعشقی، ش.، ایمانی، ا.، نوری، ف.، آق، ن.، ۱۳۹۶. اثرات جایگزینی جلبکهای تک سلولی با محصولات جانبی کشاورزی روی رشد و بقا آرتمیا فرانسیسکانا. مجله زیست شناسی جانوری تجربی، ۴(۴)، ۶۹-۷۷.
۱۴. نهالی، ش.، احمدی فرد، ن.، آق، ن.، صمدی، ن.، ۱۳۹۷. تاثیر جلبک *Dunaliella salina* غنی شده با روی معدنی بر رشد، بازماندگی و فاکتورهای تولید مثلی *Artemia parthenogenetica* اطراف دریاچه ارومیه. نشریه علوم آبی پروری، ۸(۶)، ۱-۱۰.
۱۵. وجودزاده، ح.، قزلباش، ف.، ریاحی، ح.، مناف فر، ر.، ۱۳۸۶. بررسی میزان رشد و بقا سه گونه مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبکهای تک سلولی *Dunaliella tertioleta* و *Tetraselmis Nannochloropsis oculata*.
- suecica*. مجله علمی شیلات ایران، ۱۶(۴)، ۱۵۲-۱۴۳.
16. Amin, S., 2009. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. Energy Conversion and Management, 50, 1834-1840.
17. Agh, N., Abatzopoulos, T. J., Kappas, I., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S. M., Sorgeloos, P., 2007. Coexistence of sexual and parthenogenetic *Artemia* populations in Lake Urmia and neighbouring lagoons. International Review of Hydrobiology, 92(1), 48-60.
18. AOAC., 2005. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 18th edition. Washington, D.C., USA.
19. Balachandar, S., Rajaram, R., 2019. Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellog, 1906). Aquaculture Research, 50(2), 376-389.
20. Bengtson, D.A., Léger, P., 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture—In: *Artemia Biology* (Eds) RA Broune, P. Sorgeloos, CNA Trotman. (CRC Press, Florida, USA), pp: 256-285.
21. Coca, M., Barrocal, V. M., Lucas, S., González-Benito, G., García-Cubero, M. T., 2015. Protein production in *Spirulina platensis* biomass using beet vinasse-supplemented culture media. Food and Bioproducts Processing, 94, 306-312.
22. Cordilea, H., Mathumathi, M., Rengasamy, R., 2013. Evaluation of the biochemical composition of four marine algae and its nutritional value for brine shrimp. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 6 (3), 47-51.
23. 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. Hydrobiologia, 234(1), 25-32.
24. Fidalgo, J.P., Cid, A., Torres, E., Sukenik, A., Herrero, C., 1998. Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga

- florfenicol, and thiamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis chui*. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72(2), 329-334.
35. Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of livefood for aquaculture. Lab. of Aquaculture and *Artemia* Reference Center, Uni. of Ghent, Belgium. Published by: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), pp: 19-250.
36. Le, T.H., Hoa, N.V., Sorgeloos, P., Van Stappen, G., 2019. *Artemia* feeds: a review of brine shrimp production in the Mekong Delta, Vietnam. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1169-1175.
37. Lee, D.H., 2011. Algal biodiesel economy and competition among biofuels. *Bioresource Technology*, 102, 43-49.
38. Marchetti, J., Bougaran, G., Jauffrais, T., Lefebvre, S., Rouxel, C., Saint-Jean, B., Lukomska, E., Robert, R., Cadoret, J.P., 2013. Effects of blue light on the biochemical composition and photosynthetic activity of *Isochrysis* sp. (T-iso). *Journal of Applied Phycology*, 25(1), pp.109-119.
39. Martinez, F., Orus, M.I., 1991. Interactions between glucose and inorganic carbon metabolism in *Chlorella vulgaris* strain UAM101. *Plant Physiology*, 95, 1150-1155.
40. Mishra, N., Prasad, S. M., Mishra, N., 2019. Influence of high light intensity and nitrate deprivation on growth and biochemical composition of the marine microalgae *Isochrysis galbana*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62.
41. Moheimani, N.R., 2013. Inorganic carbon and pH effect on growth and lipid productivity of *Tetraselmis suecica* and *Chlorella* sp. (Chlorophyta) grown outdoors in bag photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*, 25(2), 387-398.
42. Nzayisenga, J.C., Eriksson, K., Sellstedt, A., 2018. Mixotrophic and heterotrophic production of lipids and carbohydrates by a locally isolated microalga using wastewater as a growth medium. *Bioresource Technology*, 257, 260-265.
- Isochrysis galbana*. *Aquaculture*, 166(1-2), 105-116.
25. Fulks, W., Main, K. L., 1991. The design and operation of commercial-scale live feeds production systems. *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. The Oceanic Institute, Honolulu, HI, 3-52.
26. Herawati, V.E., Johannes, H., Budi, P., 2012. The effect of essential amino acid profile, fatty acid profile and to growth of *Skeletonema costatum* using technical media culture guillard and double walne. *Journal of Coastal Development*, 10, 48-54.
27. Horwitz, W., Latimer, G. W., 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (1984). AOAC, Virginia, USA.
28. Huang, G.H., Chen, F., Wei, D., Zhang, X.W., Chen, G., 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*, 87, 38-46.
29. Jaseera, K.V., Ebenezar, S., Sayooj, P., Nair, A.V., Kaladharan, P., 2021. Dietary supplementation of microalgae, *Aurantiochytrium* sp. and co-feeding with *Artemia* enhances the growth, stress tolerance and survival in *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798) post larvae. *Aquaculture*, 533, 736-766.
30. Jobling, M., 2016. Fish nutrition research: past, present and future. *Aquaculture international*, 24(3), 767-786.
31. Karthik, R., Pushpam, A.C., Ramalingam, K., Yuvaraj, D., Vanitha, M.C., 2015. Attenuation of negative impacts by microalgae and enriched *Artemia salina* on *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* larval culture. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(5), 347.
32. Kim, G., Mujtaba, G., Lee, K., 2016. Effects of nitrogen sources on cell growth and biochemical composition of marine chlorophyte *Tetraselmis* sp. for lipid production. *Algae*, 31(3), 257-266.
33. Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. *Handbook of phycological methods, Phycological and biochemical methods.*, 95 p.
34. Lai, H.T., Hou, J.H., Su, C.I., Chen, C.L., 2009. Effects of chloramphenicol,

- different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp. *Annals of Society of Royal Zoology*, 118, 7–23.
52. Velu, P., Peter, M.J., Sanniyasi, E., 2015. Effect of various carbon sources on biochemical production in marine microalgae *Nannochloropsis salina* (Eustigmatophyceae), *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) and *Tetraselmis suecica* (Chlorodendrophyceae). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(3), 207-215.
53. Xiong, W., Gao, C., Yan, D., Wu, C., Wu, Q., 2010. Double CO₂ fixation in photosynthesis fermentation model enhances algal lipid synthesis for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 101, 2287-93.
43. Raja, R., Hemaiswarya, S., 2010. Microalgae and Immune Potential. In: Watson R., Zibadi S., Preedy V. (eds) *Dietary Components and Immune Function. Nutrition and Health*. Humana Press, Totowa, NJ.
44. Robert, R., Trintignac, P., 1997. Substitutes for live microalgae in mariculture : A review. *Aquatic Living Resource*, 10, 315-327.
45. Sakamoto, M., Holland, L., Jones, D. A., 1982. Modification of the nutritional composition of *Artemia* by incorporation PUFAs using micro-encapsulated diets. *Aquaculture*, 28, 311–320.
46. Smith, J. P., Hughes, A.D., McEvoy, L., Thornton, B., Day, J. G., 2021. The carbon partitioning of glucose and DIC in mixotrophic, heterotrophic and photoautotrophic cultures of *Tetraselmis suecica*. *Biotechnology Letters*, 43(3), 729-743.
47. Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200(1-2), 147-159.
48. Sun, Z., Wei, H., Zhou, Z.G., Ashokkumar, M., Liu, J., 2018. Screening of *Isochrysis strains* and utilization of a two-stage outdoor cultivation strategy for algal biomass and lipid production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 185(4), 1100-1117.
49. Uslu, L., İçik, O., Koç, K., Göksan, T., 2011. The effects of nitrogen deficiencies on the lipid and protein contents of *Spirulina platensis*. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 386-389.
50. Vanhaecke, P., Sorgeloos, P., 1980. International study on *Artemia*, IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin. In G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, & E. Jaspers (Eds.), *The brine shrimp Artemia*, Vol. 3: Ecology, culturing and use in aquaculture (pp. 357–372). Wetteren, Belgium: Universa Press.
51. Vanhaecke, P., Sorgeloos, P., 1989. International study on *Artemia*. XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for

Study of biochemical parameters of *Artemia franciscana* fed with microalgae *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica* cultured with different carbohydrate sources

Vojdani, F.¹, Salarzadeh, A.R.^{1*}, Yahyavi, M.¹, Pourmozaffar, S.²

1-Department of Fishery, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.

2- Persian Gulf Mollusks Research Station, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e-Lengeh, Iran,

Received: 21 November 2023

Accepted: 18 January 2023

Abstract

In this study, the biochemical parameters of *Artemia franciscana* fed with *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica* microalgae cultured with different carbohydrate sources were investigated. Glucose, sucrose and fructose were used as different carbon sources. *Artemia* was cultured under standard conditions in 24 circular polyethylene tanks (8 treatments and three replications) with a volume of 300 liters and a density of 1000 nauplii per liter of water. The breeding period was 30 days. The results showed that there was a significant difference between different treatments of cultured microalgae with different carbohydrate sources in terms of biochemical parameters ($p < 0.05$), and between treatments of tetraslimas microalgae cultured with sucrose in terms of protein, fat, Ash and carbohydrates showed significant differences with other treatments ($p < 0.05$). In *Isochrysis* microalgae, sources of sucrose and fructose caused the highest amount of protein ($p < 0.05$). Analysis of biochemical values in *Artemia* fed with two groups of microalgae showed that there is a significant difference between different treatments ($p < 0.05$); Among the treatments, *Artemia* fed with *Tetraselmis* microalgae and *Isochrysis* cultured with sucrose showed a better condition than other treatments. Therefore, it can be concluded that the values of biochemical parameters of *Artemia* fed are related in the first place to the type of algae and in the second stage to the nutritional source of algae. Therefore, the use of both studied algae species grown in different carbohydrate sources can increase the nutritional value of *Artemia*; But in general, the treatment of *Tetraselmis* containing sucrose has the highest nutritional value compared to other treatments in *Artemia*.

Keywords: *Artemia franciscana*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, carbohydrate

* Corresponding Author: reza1375bandar@yahoo.com