Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

بررسی ارزش غذایی (اسیدهای چرب ضروری) سیکلوپوئید کوپه پود *Acanthocyclops trajani* تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف میکرو جلبکی و گیاهی

رحیمه رحمتی[1*]
ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی[2]
ابوالقاسم روحی[3]

۱ و ۳. پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، ساری، ایران
۲. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ساری، ساری، ایران

***مسئول مکاتبات:**
rahmati764@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۸۰۴۰۷۶۳
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵
این مقاله برگرفته از رساله دکتری است.

چکیده

در این تحقیق که در شهریور ماه سال ۱۳۹۶ انجام گرفت، اثرات جیره‌های متنوع بر ترکیب اسیدهای چرب ضروری سیکلوپوئید کوپه‌پود *Acanthocyclops trajani* جهت بهبود ارزش غذایی بررسی شد. بدین منظور، ابتدا کوپه‌پود در مخازن ۱۲۰ لیتری با تغذیه از جیره‌های مختلف (۳ تیمار، هرکدام در سه تکرار) شامل ترکیب زنده میکرو جلبک‌های *Scenedesmus obliquus* و *Spirulina maxima*، مخلوط خشک‌شده میکرو جلبک‌های مذکور (با نسبت ۱:۱) و ترکیب خشک‌شده سبزیجات (اسفناج، جعفری و گشنیز) به کشت انبوه رسید. نتایج نشان داد که نوع و میزان اسیدهای چرب ضروری در بدن کوپه پود به‌طور معناداری تحت تأثیر نوع جیره غذایی بود ($P< ۰/۰۵$). میزان دوکوزاهگزانوئیک اسید (C22:6n3) DHA در کوپه‌پودهای تغذیه‌شده با مخلوط خشک‌شده میکرو جلبک‌ها به‌طور معناداری بیشتر (۱/۰۸±۳/۷۵ درصد) از سایر تیمارها بود. همچنین، کوپه‌پودهای مورد آزمون سطوح بالاتری از ایکوزاپنتانوئیک اسید EPA (C20:5n3) و DHA را نسبت به جیره‌های مربوطه خود نشان دادند که با توجه به محتوای پایین اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباعی در جیره‌ها، *A.trajani* احتمالاً قادر به تجمع یا تبدیل زیستی اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. بر اساس این مطالعه، همچنین با توجه به سطح بالاتر نسبت اسیدهای چرب ضروری DHA/EPA در تغذیه کوپه پودا با میکرو جلبک‌های خشک‌شده، پتانسیل استفاده از آن‌ها در زمان کمبود یا نزول کشت میکرو جلبک‌های زنده وجود دارد.

واژگان کلیدی: کوپه پود، Acanthocyclops trajani، اسید چرب ضروری، میکرو جلبک خشک.

مقدمه

در سال‌های اخیر کوپه‌پودها به‌عنوان یک غذای زنده مهم (مکمل یا جایگزین کامل) در صنعت آبزی‌پروری موردتوجه ویژه قرارگرفته‌اند (Rasdi and Qin, 2014). برخی از ویژگی‌های مهم کوپه‌پودها شامل فراوانی و تنوع بالا، اندازه متفاوت بدن در مراحل مختلف زندگی متناسب با دهان لارو ماهیان، قابلیت تکثیر در شرایط آزمایشگاهی و ارزش غذایی بالا، آن‌ها را به‌عنوان یک غذای زنده مطلوب در صنعت آبزی‌پروری مطرح کرده است (Rasdi, 2015; Abate *et al.*, 2015). در بسیاری از مطالعات قبلی افزایش میزان تلفات و ناهنجاری‌های لارو ماهیان به کمبود منابع غذایی، عدم تعادل در سه اسید چرب ضروری غیراشباع (PUFA) شامل اسید دوکوزاهگزانوئیک (DHA)، اسید ایکوزاپنتانوئیک (EPA) و اسید آراشیدونیک (ARA) و مشکلات رفتاری لاروها در تغذیه با برخی از غذاهای زنده مانند روتیفر و آرتمیا نسبت داده‌شده است. مهم‌ترین اسیدهای چرب در ساختار بدن کوپه پودها شامل ARA، EPA و DHA می‌باشند، این ۳ عامل به‌عنوان اسیدهای چرب ضروری در نظر گرفته می‌شوند، چرا که این ترکیبات بیوشیمیایی اغلب جهت رشد ارگانیسم ها در مراحل بعدی شبکه غذایی نظیر لارو ماهی ها ضروری می باشند و نمی‌توانند توسط ماهی در مقادیر ضروری برای نیازهای متابولیک سنتز شوند (Watanabe, 1993; Hansen *et al*, 2020). اسیدهای چرب امگا ۳

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

نقش مهمی در تولید زاده‌ها، موفقیت در تفریخ تخم‌ها و رشد کوپه‌پودها دارند که این مسئله در بسیاری از مطالعات قبلی مورد تأکید قرارگرفته است (Dutz *et al*., 2005; Jonasdottir *et al*., 2009). برخی از کوپه پودها قادر به تبدیل اسیدهای چرب اشباع‌نشده بین خانواده اسیدهای چرب می‌باشند (Bell *et al*., 2007; Zeng *et al*., 2018). در دو گونه از *Harpacticoidae* شامل *Tisbe sp*. و *Tisbe holothuriae* سنتز مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای از EPA و DHA در زمان تغذیه از جلبک سبز *Dunaliella tertiolecta* (دارای محدودیت محتوای PUFA ولی حاوی مقادیر بالایی از پیش‌ساز لینولنیک اسید ALA) دیده شد (Lee *et al*, 2005). این مورد همچنین در مطالعه بر کوپه‌پود هارپاکتیکوئید *Attheyella trispinosa* که در آن، EPA و DHA، علی‌رغم مقادیر ناچیز آن‌ها در جلبک *Leptolyngbya foveolarum* در بافت کوپه‌پود شناسایی شد (Caramujo *et al*, 2008). Watanabe و همکاران (۱۹۷۸) در دیگرگونه‌های هارپاکتیکوئید از جنس *Tigriopus* نشان دادند که حتی وقتی با مخمر نان، جیره‌ای با کمبود اسیدهای چرب ضروری، تغذیه شدند، دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب بلند زنجیره اشباع‌نشده از سری ۳ (۱۲ درصد DHA و ۷ درصد EPA) در لیپید بودند. تجمع EPA و DHA از محتویات ALA در سیکلوپوئیدها نیز گزارش شد. Desvilettes و همکاران (۱۹۹۷) بیان کردند که سیکلوپوئید *Paracyclopina nana* زمانی که از *Tetraselmis suecica*، جلبک سبز غنی از ALA تغذیه نمود، قادر به تبدیل ALA به EPA و DHA بود. عملکرد رشد بهتر در *Paracyclopina nana* با تغذیه بر *Tetraselmis suecica* می‌تواند مرتبط با بیوسنتز DHA از ALA باشد. آرتمیا و روتیفر که رایج‌ترین موجودات به‌عنوان غذای زنده به شمارمی روند، توانایی کم و یا فاقد توانایی برای تبدیل اسیدهای چرب اشباع‌نشده n–۳ زنجیره کوتاه (PUFA) به HUFAs بلند زنجیره EPA و DHA هستند (Smith *et al*.,, 2002). آرتمیا حتی ممکن است از طریق یک واکنش معکوس (retroconversion)، DHA حاصل از غنی‌سازی انجام‌شده روی آن را به EPA تبدیل کند (Navarro *et al*, 1999). ازآنجاکه تهیه کوپه پودها به‌عنوان غذای زنده موجب افزایش بقای لارو ماهیان می‌شود، نیاز به غنی‌سازی کوپه پود به‌عنوان یک غذای زنده برتر، جهت بهبود عملکرد رشد و بقای لارو ماهیان وجود دارد. برخلاف روتیفر و ناپلی آرتمیا، کوپه پودها نمی‌توانند با استفاده از فرمول‌های شیمیایی غنی‌سازی شوند، چراکه هر فرم از محرک‌های شیمیایی را در بستر خود رد می‌کنند (Lee *et al*., 2005). کیفیت غذا فاکتور کلیدی تنظیم‌کننده ارزش غذایی و تولید در کوپه پودها محسوب می‌شود، لذا بهترین راه غنی‌سازی کوپه پودها، تغییر ارزش غذایی آن‌ها از طریق رژیم‌های تغذیه‌ای است (Daase *et al*., 2011). در این پژوهش سعی بر آن است تا تأثیر جیره‌های مختلف میکرو جلبکی و گیاهی بر پروفایل اسیدهای چرب ضروری سیکلوپوئید کوپه پود آب شیرین *Acanthocyclops trajani* (شکل ۱) با فرضیه قابلیت تبدیل زیستی اسیدهای چرب ضروری آن، مقایسه و بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در شهریور ماه سال ۱۳۹۶ در سالن آکواریوم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. ۳ رژیم غذایی برای تغذیه و کشت انبوه کوپه‌پود آب شیرین *A. trajani* (شکل ۱) در تیمارهای جداگانه با ۳ تکرار مجموعاً در ۱۲ مخزن (زوک) ۱۲۰ لیتری فراهم شد (جدول ۱). درجه حرارت آب ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۲:۱۲ (روشنایی: تاریکی) برای همه مخازن تنظیم شد. طول دوره پرورش ۳۰ روز بود و الگوی مشابهی از تغذیه، تعویض ۴۰ درصد حجم آب با فواصل ۳ روزه با تور ۲۰ میکرونی برای تیمارها در طول دوره اعمال شد.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

جدول ۱: جیره‌های غذایی مورداستفاده جهت تغذیه کوپه‌پود *Acanthocyclops trajani* (سال ۱۳۹۶).

تیمار	نوع غذا جهت تغذیه کوپه پود
۱	جلبک‌های زنده (۵۰٪) *Scenedesmus obliqus* + (۵۰٪) *Spirulina maxima* (LSS)
۲	جلبک‌های خشک‌شده (۵۰٪) *S. obliqus* + (۵۰٪) *S. maxima* (DSS)
۳	سبزیجات خشک‌شده اسفناج (۳۳/۳٪)، گشنیز (۳۳/۳٪) و جعفری (۳۳/۳٪) (DV)

جهت تهیه میکرو جلبک‌ها، ابتدا کشت میکرو جلبک‌های زنده انجام شد. کشت میکرو جلبک *S. obliquus* در شرایط پرورشی آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، محیط کشت BBM، دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس (نور لامپ مهتابی)، دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی مداوم همراه با هوادهی مداوم انجام شد (Lavens and Sorgeloos, 1996). کشت میکرو جلبک *S. maxima* در شرایط پرورشی آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، محیط کشت Zarrouk، دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس به‌صورت مداوم ۲۴ ساعته با نوردهی توسط لامپ‌های مهتابی، همراه با هوادهی مستمر انجام شد. کشت اولیه این جلبک‌ها در ظروف ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری آغازشده و به‌تدریج به ظروف بزرگ‌تر تا حجم ۱۰ لیتر منتقل شدند (Tarko *et al.*, 2012). جهت خشک نمودن میکرو جلبک‌ها از روش اصلاح‌شده (Schipperus, 2014) استفاده شد. ترکیب خشک برگ سبزیجات شامل اسفناج (*Spinacia oleracea*)، جعفری (*Petroselinum crispum*) و گشنیز (*Coriandrum sativum*) بود که پس از تهیه به کمک آون فن‌دار و از پودر شدن با آسیاب برقی، به نسبت ۱:۱:۱ در آب تانک‌های پرورش کوپه‌پود استفاده شدند (شرفی و همکاران، ۱۳۹۳). میزان مصرف غذا برای تغذیه کوپه‌پودها در تیمارها به‌طور روزانه به مقدار ۴/۱۸ میکروگرم وزن خشک به ازای هر میلی‌لیتر آب (معادل با ۳/۱۶ میکروگرم کربن در هر میلی‌لیتر) بود (Rasdi, 2015).

سیکلوپوئید کوپه‌پود *A. trajani* از استخر خاکی پرورش ماهی با تور زئوپلانکتون‌گیر (۴۰۰ میکرومتر) جمع‌آوری شد. برای شناسایی دقیق گونه کوپه‌پود از کلیدهای شناسایی و منابع علمی معتبر استفاده شد (Arthropoda, 2016; Blaha, 2010). جهت دستیابی به ذخیره خالص کوپه‌پود، جداسازی ماده‌های حامل تخم، تغذیه آن‌ها با میکرو جلبک‌ها و آب سبز، تعویض روزانه آب و درنهایت انتقال به ظروف بزرگ‌تر انجام شد (Lee *et al.*, 2005). برای انبوه‌سازی کوپه‌پود، از روش کشت گروهی (Batch Culture) همراه با تنظیم تراکم و شرایط تغذیه‌ای آن‌ها بر اساس تیمارهای موردمطالعه، استفاده شد.

برای اندازه‌گیری اسید چرب مقدار ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه (جیره‌ها و کوپه پودها) درون ظرف شیشه‌ای درب دار گذاشته شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محلولی شامل ۲/۵ درصد H2SO4 و متانول ۹۸ درصد به هر ظرف اضافه شد (۱/۴۰، v/v) و به مدت یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گشت. بعد از سرد شدن در دمای اتاق، ۵۰۰ میکرو لیتر هگزان با ۱/۵ میلی‌لیتر NaCl ۰/۹ درصد (w/v) مخلوط شده و به نمونه اضافه شد تا اسید چرب متیل استر آن استخراج شود (FAME). سپس نمونه به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۴۰۰۰، سانتریفوژ و بخش بالایی محلول (شامل هگزان–FAME) برداشت شد (این مرحله ۳ مرتبه تکرار شد تا حداکثر استخراج چربی از نمونه‌ها صورت بگیرد). محلول برداشت‌شده به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) به جهت تعیین پروفایل اسید چرب تزریق شد (Miquel and Browse, 1992). لازم به ذکر است که جهت آنالیز اسید چرب در کوپه‌پودهای تولیدشده، نمونه‌ها از هر تیمار با استفاده از تور پلانکتونی با چشمه ۱۰۰ میکرومتر برداشت و جهت آنالیز آماده‌سازی و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد (Nanton and Castell, 1999) قرار گرفتند.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

شکل ۱: تصویر Acanthocyclops trajani (سال ۱۳۹۶).

نتایج مربوط به اندازه‌گیری مقادیر اسیدهای چرب بلند زنجیره به‌صورت میانگین با ذکر خطای معیار ارائه شد. مقایسه مقادیر اسیدهای چرب در تیمارها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) در سطح معناداری ۵ درصد و آزمون‌های چند متغیره Post hoc (LSD) استفاده شد. همه اطلاعات از جهت نرمال بودن، همگن بودن و غیر وابستگی جهت انجام آنالیز واریانس مورد آزمون قرار گرفتند.

نتایج

هفت نوع اسید چرب غیراشباع بلند زنجیره در *A. trajani* شناسایی شد (جدول ۳). مقدار اسید لینولنیک (C18:3n-3) به‌طور معناداری ($P< ۰/۰۵$) میان جیره‌های ترکیبی LSS و DSS متفاوت بود اما این اسید چرب در کوپه‌پودهای تیمار DSS با کوپه‌پودهای تیمار LSS تفاوت معناداری نداشت ($P>۰/۰۵$). تفاوت معناداری در محتوای برخی از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (PUFA) نظیر C20:2n-6، C20:3n-3 و C22:6n-3 در کوپه‌پودها و ترکیب جیره‌های آن‌ها وجود داشت ($P< ۰/۰۵$).

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

جدول ۲: ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره جیره‌های مختلف تغذیه‌ای در طول دوره پرورش کوپه‌پود *Acanthocyclops trajani* (سال ۱۳۹۶).

اسیدهای چرب غیراشباعی بلند زنجیره	ترکیب جلبک‌های زنده	ترکیب جلبک‌های خشک‌شده	ترکیب سبزیجات خشک‌شده
C18:2n6	۷/۳۳±۱۱/۸۶	۱۱/۲۳±۲۲/۴۳	۵/۲۴±۶/۲۴
C18:3n3 (ALA)	b۱/۷۸±۳/۳۳	a۹/۵۳±۱۹/۰۵	–
C20:2n6	۰/۳۷±۰/۶۲	۰/۰۵±۰/۱۱	–
C20:4n6 (ARA)	۰/۷۰±۱/۰۷	۱/۱۰±۲/۲۰	–
C20:3n3	۰/۶۷±۰/۶۷	۰/۶۸±۰/۶۸	–
C20:5n3 (EPA)	۰/۹۲±۱/۱۷	۰/۱۶±۰/۳۳	–
C22:6n3 (DHA)	۰/۲۰±۰/۲۰	۰/۱۳±۰/۲۵	–
مجموع	۱۸/۹۲	۴۵/۰۵	۶/۲۴

همه مقادیر به‌صورت میانگین (±خطای معیار) (n=3) می‌باشند.

علامت – نشان‌دهنده مقدار بسیار ناچیز اسید چرب است. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارها می‌باشد.

آلفا لینولنیک اسید (ALA)، دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)، آراشیدونیک اسید (ARA)

جدول ۳: ترکیب اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره *Acanthocyclops trajani* تغذیه‌شده با جیره‌های مختلف غذایی در طول دوره پرورش (سال ۱۳۹۶).

اسیدهای چرب غیراشباعی بلند زنجیره	تیمار LSS	تیمار DSS	تیمار DV
C18:2n6	۰/۲۶±۰/۲۶	۰/۳۴±۰/۵۹	۵/۸۷±۱۱/۰
C18:3n3 (ALA)	a۰/۷۸±۳/۱۱	a۰/۹۴±۳/۳۷	–
C20:2n6	۰/۷۷±۱/۴۷	۰/۳۱±۱/۶۴	–
C20:4n6 (ARA)	۰/۲۰±۰/۲۰	۱/۲۸±۱/۹۱	–
C20:3n3	b۲/۳۰±۷/۹۵	a۴/۳۱±۱۱/۵۹	–
C20:5n3 (EPA)	a۳/۴۰±۳/۴۹	a۱/۸۴±۲/۴۸	–
C22:6n3 (DHA)	b۱/۰۱±۲/۰۱	a۱/۰۸±۳/۷۵	c۰/۳۴±۰/۶۸
مجموع	۱۸/۴۹	۲۵/۳۳	۱۱/۶۸
DHA/EPA	b۰/۵۷	a۱/۵۱	–

همه مقادیر به‌صورت میانگین (±خطای معیار) (n=3) می‌باشند.

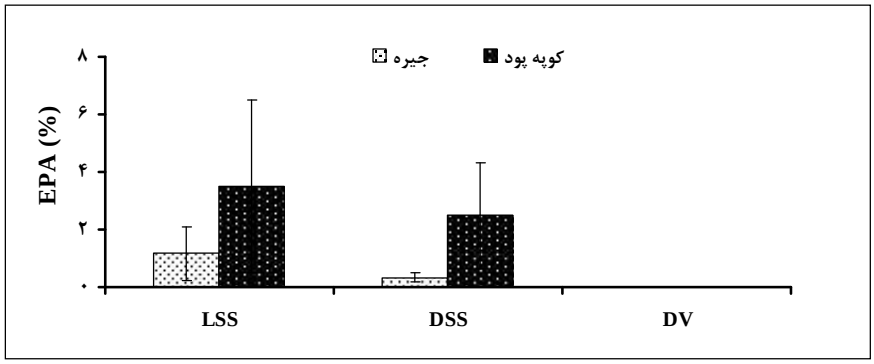
علامت – نشان‌دهنده مقدار بسیار ناچیز اسید چرب است. حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارها می‌باشد.

آلفا لینولنیک اسید (ALA)، دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)، آراشیدونیک اسید (ARA).

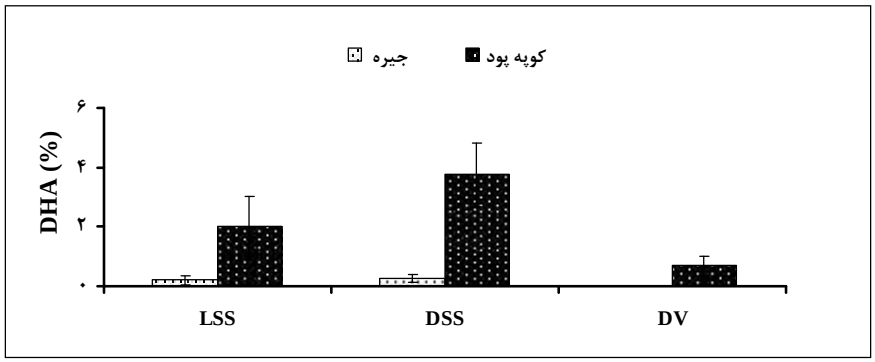
در بررسی مقادیر اسید چرب ARA تفاوت معناداری میان جیره‌ها و کوپه‌پود مشاهده نشد ($P>0/05$). کوپه‌پودهایی که با جیره LSS تغذیه شدند، در مقایسه با جیره DSS به‌طور معناداری شامل درصد بیشتری از اسید چرب EPA نبودند (۳/۴۹±۳/۴۰ درصد) ($P>0/05$). مقدار اسید چرب DHA به‌طور معنادار در کوپه پودهایی که از جیره DSS تغذیه نمودند در مقایسه با سایر جیره‌ها بیشتر بود (۳/۷۵±۱/۰۸ درصد) ($P<0/05$). همچنین، محتوای DHA به‌طور معناداری ($P<0/05$) میان ترکیب جیره‌های LSS و DSS (جدول ۲) با ترکیب بافت کوپه‌پودهای این دو تیمار (جدول ۳) متفاوت بود. علی‌رغم محتوای پایین EPA و DHA در همه جیره‌ها، ترکیب کوپه‌پودها شامل مقادیر بیشتری از این دو اسید چرب بود (شکل‌های ۲ و ۳). بیشترین نسبت DHA/EPA در کوپه‌پودهای تغذیه‌شده با جیره DSS مشاهده شد (جدول ۳) ($P<0/05$).

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020



شکل ۲: مقایسه مقادیر EPA در *Acanthocyclops trajani* و جیره‌های مختلف تغذیه‌ای (سال ۱۳۹۶).



شکل ۳: مقایسه مقادیر DHA در *Acanthocyclops trajani* و جیره‌های مختلف تغذیه‌ای (سال ۱۳۹۶).

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، نوع غذا بر پروفیل اسیدهای چرب غیراشباعی بلند زنجیره (PUFA) در بدن کوپه‌پود *A. trajani* تأثیر داشت. چنین یافته‌ای در دو گونه از سیکلوپوئیدهای آب شیرین (*Mesocyclops aspericornis*،*Thermocyclops hyalinus*) هم قبلاً مشاهده شد؛ به‌طوری‌که پروفیل اسیدهای چرب بدن کوپه‌پود از طریق فراهم نمودن جیره ترکیبی از جلبک‌ها و تأمین بخش مهمی از محتویات مواد مغذی لازم برای نیازهای غذایی گونه‌های هدف بهبود یافت (Kumar *et al.*, 2014). نسبت اسیدهای چرب DHA/EPA به‌طور معناداری در کوپه پودهای تیمار ترکیب میکرو جلبک‌های خشک‌شده (DSS) بالاتر بود و همچنین این گروه از کوپه‌پودها حاوی محتویات بالاتری از اسیدهای چرب ALA، ARA و DHA نسبت به سایر تیمارها بودند که با مطالعات قبلی که از جیره میکرو جلبک خشک (مشابه تیمار DSS) استفاده نمودند، مطابقت داشت (Veloza *et al.*, 2006; Mostary *et al.*, 2010). به‌طورکلی، جلبک‌های دریایی تولیدکنندگان عمده PUFA می‌باشند، درحالی‌که جلبک‌های آب شیرین به‌طور غالب اسیدهای چرب اشباع‌شده یا تک غیراشباعی را تولید می‌کنند (Rasdi, 2015). ترکیب اسیدهای چرب ضروری در میکرو جلبک‌های زنده *S. obliqqus* و *S. maxima* در این مطالعه مشابه با مطالعات دیگر بوده و اسیدهای چرب بلند زنجیره درصد پایینی از پروفایل اسیدهای چرب را تشکیل دادند (Makulla, 2000; Muhling *et al*, 2005). در مطالعه حاضر، برخلاف مطالعات قبلی (Albentosa *et al.*, 1997)، ترکیب اسیدهای چرب میان جیره‌های میکرو جلبکی زنده و خشک متفاوت بود. غیر از

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

EPA، فرم خشک میکرو جلبک‌ها شامل نسبت بالاتری از اسیدهای چرب ضروری (ARA، ALA و DHA) بودند (جدول ۲). به‌طورمعمول، تصور بر این است که میکرو جلبک‌های خشک‌شده به دلیل پروسه خشک نمودن، دچار کمبود کیفیت غذایی می‌شوند؛ بااین‌حال، ارزش غذایی جلبک‌های خشک‌شده برای کوپه‌پودها همچنان موردبحث قرار دارد (Rasdi, 2015; Dobberfuhl and Elser, 1999; Oliveira *et al*,2010). دریکی از مطالعات (Cano *et al.*, 2004) عنوان کردند که برخی از سیکلوپوئیدها قادر به هضم دیواره سخت سلولی میکرو جلبک‌ها نیستند، لذا در میکرو جلبک‌های خشک به دلیل شکننده شدن دیواره سلولی که به دنبال پروسه خشک‌کردن ایجاد می‌شود، دسترسی کوپه‌پودها به ترکیبات داخل سلولی جلبک‌ها احتمالاً بیشتر خواهد شد. در مطالعه Rasdi (۲۰۱۵) کوپه‌پودهایی که از دیاتومه خشک (*Melosira sp.*) تغذیه نمودند، محتویات اسیدهای چرب ضروری بالاتری از سایر جیره‌ها داشتند. همچنین در مطالعه Mostary و همکاران (۲۰۱۰)، اسیدهای چرب ضروری بدن در روتیفرهایی که از جلبک خشک یا فریز شده *Nannochloropsis sp.* تغذیه نمودند مشابه گروه‌های تغذیه کرده از انواع جلبک زنده بود. در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که تتراسلمیس خشک‌شده ارزش غذایی بالایی برای لارو نرم‌تن *Pinctada margaritifera* داشته و در حقیقت رشدی هم‌تراز بالاروهایی داشت که از رژیم تازه جلبکی استفاده نمودند (Southgate *et al.*, 1998). در بررسی روند مقادیر اسید چرب در کوپه‌پودهای تغذیه کرده از جیره مربوط به تیمار ترکیب سبزیجات خشک (DV) در مطالعه حاضر با توجه به آن‌که پروفایل ترکیب سبزیجات خشک، دچار کمبود یا عدم حضور اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره بودند، بدن کوپه‌پودهای تغذیه‌شده نیز درصد پایینی از این ترکیبات را نشان دادند (Park *et a.*,, 2006). یکی از مهم‌ترین یافته‌های این مطالعه وجود اختلاف معنادار در محتویات برخی اسیدهای چرب اشباع‌نشده بلند زنجیره (PUFAs) (C20:2n-6، C20:3n-3، C22:6n-3) در کوپه‌پودها و ترکیب جیره‌های آن‌ها بود. برخی از محققین قبلی پیشنهاد کردند که اسیدهای چرب ضروری مهم (که زنجیره‌های ۲۰ و ۲۲ کربنه می‌باشند) می‌توانند با افزایش طول زنجیره از دیگر بخش‌های مصرف‌شده سنتز شوند. به‌عنوان‌مثال، Hazzard (۲۰۰۱) و Hazzard و Kleppel (۲۰۰۳) مشاهده کردند که میزان تولید تخم توسط *Acartia tonsa* در خلیج فلوریدا می‌تواند تا حد زیادی تحت تأثیر قابلیت دسترسی به جیره‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباعِ ALA (Linolenic acid) قرار گیرد. بسیاری از گونه‌های کوپه‌پودا از راسته *Harpacticoida* و *Cyclopoida* در سنتز مقادیر قابل‌توجه از اسیدهای چرب ضروری نظیر EPA و به‌ویژه DHA از اسید لینولنیک اسید (ALA) مربوط به جیره خود کاملاً شناخته‌شده‌اند (Desvilettes *et al.*, 1997; Anderson and Pond, 2000; Caramujo *et al*, 2008). حضور اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباعی (HUFA) در بافت کوپه‌پود و تداوم تولیدمثل جانور زمانی که از جیره دچار کمبود HUFA تغذیه می‌کند نشان می‌دهد که کوپه‌پودا قادر به تبدیل زیستی اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه‌تر نظیر C18:3n-3 و C18:2n-6 به اسیدهای چرب ضروری ARA، EPA و DHA جهت تأمین نیازهای فیزیولوژیک خود به این اسیدهای چرب می‌باشند (Lee *et al.*, 2005). در هارپاکتیکوئید *Nitokra lacustris* تغذیه‌شده از *Tetraselmis suecica* توانایی تبدیل اسیدهای چرب کوتاه زنجیره ۳-n۳: C18 و C18:2n-6 به EPA، DHA و ARA دیده شد که این موضوع برای تأمین نیازهای فیزیولوژیکی جاندار به این اسیدهای چرب اهمیت فراوانی دارد (Stottrup, 2000). باوجودآنکه DHA در *T. suecica* مشاهده نشد، مقدار آن در کوپه‌پودهای تغذیه‌شده با این جلبک ۸/۲ درصد بود. این نشان می‌دهد که کوپه‌پود *N .lacustris* دارای آنزیم‌های Δ-۵، Δ-۶ دسچوراز و الانگاز بوده که برای تبدیل اسیدهای چربِ کوتاه زنجیره (18:3n3) ALA به اسیدهای چرب ضروری EPA و DHA ضروری‌اند (Stottrup, 2000; Norsker and Statrup, 1994). در مطالعه ای بر تبدیل زیستی اسیدهای چرب بر کوپه پود *Apocyclops royi* نیز نشان داده شد که تغذیه این کوپه پود با دو نوع جلبک غنی (*Isochrysis galbana*) و فقیر (*Dunaliella tertiolecta*) از DHA تفاوت معناداری را در میزان این اسید چرب ضروری در بافت کوپه پود سبب نشد (Nielsen *et al.*, 2019). آزمون بیان ژن نیز در مطالعه بر کوپه پود *A.royi*، به طور معناداری بیان ژن بالاتری از دو آنزیم دسچوراز در کوپه پود، زمانی که از جلبک فقیر از DHA تغذیه نمود، نشان داد (Wu *et al.*, 2018; Kabeya *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، ترکیب لینولنیک اسید (ALA) در جیره میکرو جلبک‌های تازه و به‌ویژه

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

خشک بالاتر بود و تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای میان محتویات DHA در این جیره‌ها و بافت کوپه‌پودهایی که از آن‌ها تغذیه نمودند وجود داشت. کاهش هم‌زمان در ترکیب جیره‌ایِ نسبت اسید چرب ALA و افزایش در نسبت سایر اسیدهای چرب امگا ۳ نشان داد که احتمالاً ALA به سایر اسیدهای چرب امگا ۳ تبدیل شد. در تبدیل زنجیره اسید چرب از C18:2n-6 به ARA از همان آنزیم‌هایی (Δ-۵، Δ-۶ دسچوراز و الانگاز) استفاده می‌شود که ALA را به DHA تبدیل می‌کنند (O'Keefe, 2002). این مسیر تبدیلی فعال‌تر از تبدیل امگا ۳ نیست؛ زیرا هر دو مسیر از آنزیم‌های مشترکی استفاده می‌کنند. در مطالعه حاضر، اختلاف معناداری در مقدار C18:2n-6 و ARA میان جیره‌ها و کوپه‌پودها در هیچ‌کدام از تیمارها مشاهده نشد که ممکن است به این دلیل باشد که مهار رقابتی تبدیل امگا ۳ توانسته تا مقدار تبدیل امگا ۶ را محدود نمود (Okuyama *et al.*, 1996). Rasdi (۲۰۱۵) نشان داد که عدم وجود یا وجود مقادیر بسیار کم از EPA و DHA در *Melosira sp.* خشک، مقادیر بالایی از EPA و DHA را در سیکلوپوئید کوپه‌پود *Cyclopina kasignete* ابقاء کرد که تجمع اسیدهای چرب اشباع‌نشده بلند زنجیره توسط کوپه‌پود را تائید می‌کند. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، کوپه‌پودهای *A. trajani* پس از بلع جلبک‌های آب شیرین با محتوای بالای ALA (به‌ویژه در تیمار DSS) مقادیر بالاتری از EPA و DHA را در خود ابقاء کردند که می‌توان گفت که این کوپه‌پودها ممکن است توانایی تجمع یا تبدیل زیستی ALA در جیره‌های خود را به EPA و DHA دارا می‌باشند. در مطالعه حاضر این روند به‌وضوح در جیره‌های زنده و به‌ویژه جیره‌های خشک میکرو جلبکی مشاهده شد. علی‌رغم مقادیر پایین EPA و DHA در همه جیره‌ها، کوپه‌پودها مقادیر بالاتری از EPA و DHA را با تغذیه از این جیره‌ها نشان دادند. به‌طوری‌که در تیمارهای مختلف میزان اسید چرب EPA در بدن کوپه‌پود ۱ تا ۳ برابر و میزان اسید چرب DHA ۱ تا ۴ برابر شد. پروفایل ترکیب سبزیجات خشک دچار کمبود یا عدم حضور اسیدهای چرب غیراشباعی بلند زنجیره بودند و مانند جیره‌های ترکیب میکرو جلبک‌های زنده (LSS) و خشک (DSS) پیش سازهای لازم جهت تجمع یا تبدیل زیستی اسیدهای چرب ضروری برای کوپه‌پودهایی که از آن‌ها تغذیه نمودند را فراهم نکردند. اگرچه آنالیزهای انجام‌شده، تمایز قابل‌توجهی را میان ترکیب اسیدهای چرب ضروری میان این جیره (DV) و کوپه‌پودها نشان نداد اما میانگین مقادیر اسید چرب DHA در بافت کوپه پودها بالاتر بود.

در این پژوهش کوپه‌پودهایی که با جیره ترکیب میکرو جلبک‌های خشک تغذیه شدند، محتوای اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباعی بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. این یافته‌ها با توجه به محتوای پایین این اسیدهای چرب در جیره‌ها پیشنهاد می‌دهد که این‌گونه موردبررسی احتمالاً قادر به تجمع یا تبدیل زیستی اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. مطالعه حاضر به‌ویژه پتانسیل استفاده از میکرو جلبک‌های خشک را جهت بهبود ترکیب غذایی در کوپه پودها به‌ویژه در زمان کمبود یا نزول کشت میکرو جلبک‌های زنده نشان داده است. اگرچه در اکثر مطالعات آبزی‌پروری با توجه به تولیدات بالاتر، کوپه‌پودهای آب‌شور جهت تغذیه لارو ماهیان دریایی در هچری‌ها بررسی شدند، اما در مطالعه حاضر مشخص شد که کوپه‌پودهای آب شیرین نیز با توجه به بهبود ارزش غذایی آن‌ها به کمک رژیم‌های غذایی، قابلیت استفاده به‌عنوان غذای زنده مکمل به‌ویژه برای بالا بردن ارزش غذایی لارو ماهیان آب شیرین رادارند.

منابع

شرفی، ر.، فرهادیان، ا. و سلیمانی، م.، ۱۳۹۳. پرورش پاروپای آب شیرین *Acanthocyclops robustus* با استفاده از جیره‌های جلبکی و غیر جلبکی در شرایط آزمایشگاهی، مجله علوم و فنون شیلات، ۳(۱): صفحات ۳۱-۱۵.

Abate, T. G., Nielsen, R., Nielsen, M., Jepsen, P. M. and Hansen, B. W., 2015. A cost-effectiveness analysis of live feeds in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) farming: copepods versus Artemia. Aquaculture Nutrition, Early view. DOI: 10.1111/anu.12307.

Albentosa, M., Perez-Camacho, A., Labarta, U. and Fernandez-Reiriz, M. J., 1997. Evaluation of freeze-dried microalgae diets for the seed culture of *Ruditapes decussatus* using physiological and biochemical parameters. Aquaculture, 154: 305-321.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

Anderson, T. R. and Pond, D. W., 2000. Stoichiometric Theory Extended to Micronutrients: Comparison of the Roles of Essential Fatty Acids, Carbon, and Nitrogen in the Nutrition of Marine Copepods. Limnology and Oceanography, 45: 1162-1167.

Arthropoda, A., 2016. Thorp and Covich's freshwater invertebrates, keys to nearctic fauna, Academic press, 291-711.

Bell, M. V., Dick, J. R., Anderson, T. R. and Pond, D. W., 2007. Application of liposome and stable isotope tracer techniques to study polyunsaturated fatty acid biosynthesis in marine zooplankton. Journal of Plankton Research, 29: 417-422.

Blaha, M., 2010. Descriptions of copepodid and adult *Acanthocyclops trajani* (Mirabdullayev & Defaye, 2002) and A. einslei (Mirabdullayev & Defaye 2004) (Copepoda: Cyclopoida) with notes on their discrimination. Fundamental and Applied Limnology, 177(3): 223-240.

Cano, R., Raudez, S. and Hooker, E., 2004. The natural diet of *Apocyclops panamensis* at a shrimp farm on the Pacific Coast of Nicaragua. Zoological Studies, 43: 344-349.

Caramujo, M. J., Boschker, H. T. S. and Admiraal, W. I. M., 2008. Fatty acid profiles of algae mark the development and composition of harpacticoid copepods. Freshwater Biology, 53: 77–90.

Daase, M., Søreide, J. E. and Martynova, D., 2011. Effects of food quality on naupliar development in Calanus glacialis at subzero temperatures. Marine Ecology Progress Series, 429: 111-124.

Desvilettes, C., Bourdier, G. and Breton, J. C., 1997. On the occurrence of a possible bioconversion of linolenic acid into docosahexaenoic acid by the copepod *Eucyclops serrulatus* fed on microalgae. Journal of Plankton Research, 19: 273-278.

Dobberfuhl, D. R. and Elser, J. J., 1999. Use of dried algae as a food source for zooplankton growth and nutrient release experiments. Journal of Plankton Research, 21: 957-970.

Dutz, J., Klein Breteler, W. and Kramer, G., 2005. Inhibition of copepod feeding by exudates and transparent exopolymer particles (TEP) derived from a *Phaeocystis globosa* dominated phytoplankton community. Harmful Algae, 4: 929-940.

Hansen, B. W., Rayner, T. A., Hwang, J. S. and Hogaard, J. K., 2020.To starve or not to starve: Deprivation of essential fatty acids and change in escape behavior during starvation by nauplii of the tropical calanoid copepod *Pseudodiaptomus annandalei*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 524: 1-8.

Hazzard, S. E. and Kleppel, G. S., 2003. Egg production of the copepod *Acartia tonsa* in Florida Bay: role of fatty acids in the nutritional composition of the food environment. Marine Ecology Progress Series, 252: 199-206.

Hazzard, S. E., 2001. Copepod nutrition in Florida Bay: the relationship between the fatty acid composition of the food environment and *Acartia tonsa* egg production. Master's thesis. University of South Carolina, Columbia, South Carolina, USA.

Jonasdottir, S. H., Visser, A. and Jespersen, C., 2009. Assessing the role of food quality in the production and hatching of *Temora longicornis* eggs. Marine Ecology Progress Series, 382: 139-150.

Kabeya, N., Fonseca, M. M., Ferrier, D. E. K., Navarro, J. C., Bay, L. K., Francis, D. S., Tocher, D. R., Castro, L. F. C. and Monroig, Ó., 2018. Genes for de novo biosynthesis of omega-3 polyunsaturated fatty acids are widespread in animals. Science Advances, 4:1-8.

Kumar, V., Venkatachalam, U., Subramaniam, M. and Venkatachalam, R., 2014. The effects of mixed algal diets on population growth, egg productivity and nutritional profiles in cyclopoid copepods (*Thermocyclops hyalinus*) and (*Mesocyclops aspericornis*). The Journal of Basic and Applied Zoology, 67: 58-65.

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Italy.

Lee, C. S., O'Bryen, P. J. and Marcus, N. H., 2005. Copepods in Aquaculture. Blackwell publishing, 269p.

Lee, K. W., Park, H. G., Lee, S. M. and Kang, H. K., 2006. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* Simonov. Aquaculture, 256: 346-353.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

Makulla, A., 2000. Fatty acid composition of *Scenedesmus obliqqus*: Corelation to dilution rates. Limnologica, 30: 162-168.

Miquel, M. and Browse, J., 1992. Arabidopsis mutants deficient in polyunsaturated fatty acid synthesis biochemical and genetic characterization of a plant oleoyl- phosphatidylcholine desaturase. The Journal of Biological Chemistry, 267(3): 1502-1509.

Mostary, S., Rahman, M., Mandal, A., Hasan, K., Rehena, Z. and Basar, S., 2010. Culture of *Brachionus plicatilis* feeding with powdered dried *Chlorella*. Bangladesh Veterinarian, 27: 91–98.

Muhling, M., Belay, A. and Whitton, B. A., 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains, Journal of Applied Phycology, 17: 137-146.

Nanton, D. A. and Castell, J. D., 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods for use as a live food for marine fish larvae. Aquaculture, 175:167-181.

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

Nielsen, B. L. H., Gøtterup, L., Jørgensen, T. S., Hansen, B. W. H., Hansen, L. H., Mortensen, J. and Jepsen, P. M., 2019. n-3 PUFA biosynthesis by the copepod *Apocyclops royi* documented using fatty acid profile analysis and gene expression analysis. The Company of Biologists, doi:10.1242/bio.038331, 8: 1-12

Norsker, N. H. and Statrup, J. G., 1994. The importance of dietary HUFAs for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. Aquaculture, 125: 155-166.

O'Keefe S.F., 2002. Nomenclature and classification of lipids. In Food Lipids, edited by C.C. Akoh and D.B. Min, pp. 1–40. New York, New York, USA: Marcel Dekker, Inc. Oceanography, 29: 949–959.

Okuyama, H., Kobayashi, T. and Watanabe, S., 1996. Dietary fatty acids- The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases. Excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. Progress in Lipid Research, 35: 409–457.

Oliveira, E. G., Duarte, J. H., Moraes, K., Crexi, V. T. and Pinto, L. A. A., 2010. Optimisation of Spirulina platensis convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation, International Journal of Food Science and Technology, 45: 1572-1578.

Park, H. G., Puvanendran, V., Kellett, A., Parrish, C. C. and Brown, J. A., 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil, 63: 285-295.

Rasdi, N. W. and Qin, J. G., 2014. Improvement of copepod nutritional quality as live food for aquaculture: a review. Aquaculture Research, 47(1): 2-11.

Rasdi, N. W., 2015. Growth and reproduction of *Cyclopina kasignete* and its application as a potential live food for fish larvae. Ph.D. thesis, School of Biological Sciences, Faculty of Science and Engineering. Flinders University.

Schipperus, R., 2014. Standard Operating Procedure, Analysis of dry weight algae biomass concentration. Application Centre for Renewable Resources (ACRRES).

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

Southgate, P. C., Beer, A. C., Duncan, P. F. and Tamburri, R., 1998. Assessment of the nutritional value of the three species of the tropical microalgae, dried Tetraselmis and a yeast-based diet for larvae of the blacklip pearl oyster, *Pinctada margaritifera*. Aquaculture, 162:247-257.

Stottrup, J. G., 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. Aquaculture Research, 31:703-711.

Tarko, T., Duda-chodak, A. and Kobus, M., 2012. Influence of growth medium composition on synthesis of bioactive compounds and antioxidant properties of selected strains of *Arthrospira cyanobacteria*. Czech Journal of Food Science, 30(3):258-267.

www.SID.ir

Veloza, A., Chu, F. L. and Tang, K., 2006. Trophic modification of essential fatty acids by heterotrophic protests and its effects on the fatty acid composition of the copepod *Acartia tonsa*. Marine Biology, 148: 779-788.
Watanabe, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. Aquaculture Society, 24: 153-161.
Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C., Fukusho, K. and Fujita, S., 1978. Nutritional quality of living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 44: 1223–1227.
Wu, D. L., Huang, Y. H., Liu, Z. Q., Yu, P., Gu, P. H., Fan, B. and Zhao, Y. L., 2018. Molecular cloning, tissue expression and regulation of nutrition and temperature on Δ6 fatty acyl desaturase-like gene in the red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). Comparative Biochemistry and physiology- part B: Biochemistry & Molecular Biology, 225: 58-66.
Zeng, C., Shao, L., Ricketts, A. and Moorhead, J., 2018. The importance of copepods as live feed for larval of the green mandarin fish *Synchiropus splendidus*. Aquaculture, 491: 65-71.

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 9:53 +0430 on Monday June 22nd 2020

www.SID.ir