

## غنی سازی آرتمیای بالغ *Artemia franciscana* با غلظت های مختلف امولسیون اسیدهای چرب غیر اشباع

احترام محمدی<sup>(۱)\*</sup>؛ مهران جواهری بابلی<sup>(۲)</sup>؛ محمد خلیل پذیر<sup>(۳)</sup>

em.mohammadi@yahoo.com

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان، اهواز صندوق پستی: ۶۱۵۵۵-۱۶۳

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، گروه شیلات، اهواز، ایران.

۳- پژوهشکده میگوی کشور، صندوق پستی: ۱۳۷۴

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۰

### چکیده

به منظور غنی سازی آرتمیا بالغ گونه فرانسیسکانا، جهت دستیابی به غلظت مناسب ماده غنی ساز Spari Selco (INVE) ساخت کشور بلژیک، از غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر با تراکم ۱۰ قطعه در هر میلی لیتر به مدت ۳ ساعت استفاده شد. کلیه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی موجود از قبیل دمای آب، شوری، نوردهی، شدت نور در یک دامنه ثابت نگه داشته شدند. مقادیر اسیدهای چرب لینولئیک اسید (۶-۱۸:۲n)، لینولنیک اسید (۶-۱۶:۱n)، آراشیدونیک اسید (۶-۲۰:۴n)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (۳-۲۰:۵n) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (۳-۲۲:۶n) در آرتمیا بالغ غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر Spari Selco نسبت به آرتمیا بالغ غنی شده با غلظت های ۱ و ۰/۵ گرم در لیتر و آرتمیا بالغ غنی نشده، بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر بررسی ها نشان داد که مقادیر مربوط به مجموع اسیدهای چرب  $\omega_3$ ، اسیدهای چرب  $\omega_6$  و اسیدهای چرب غیر اشباع ( $\Sigma$  HUFA) در غلظت ۲ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها بطور معنی داری بیشتر بود. نتایج نشان دادند مناسبترین غلظت جهت غنی سازی اسیدهای چرب غیر اشباع آرتمیاهای بالغ غلظت ۲ گرم در لیتر بود.

کلمات کلیدی: *Artemia franciscana*، اسیدهای چرب غیر اشباع، غنی سازی.

## ۱. مقدمه

در علم تغذیه، تهیه و پرورش غذای زنده از اهمیت بسیاری بالایی برخوردار بوده بطوریکه توسعه آن قادر است کمک بسزائی به این صنعت نماید (۶۱). از این رو آرتمیا بالغ و رشد یافته از ارزش غذایی بالاتری برخوردار می باشد به گونه ای که میزان پروتئین و اسیدهای چرب غیراشباع آنها نسبت به ناپلی تازه شکوفا شده بسیار بیشتر می باشد (۳۲،۳۵،۲۱)

همچنین مشاهده شده که آرتمیای بالغ علاوه بر اینکه می تواند به عنوان جاذب و هضم کننده غذا در جیره های غذایی بکار برده شود (۶۵)، حاوی هورمون های مختلفی از جمله هورمون های آندوکرینی بوده که می توانند موجب ایجاد القاء، رسیدگی جنسی، افزایش قوای جنسی و لقاح در ماهیان و سخت پوستان بویژه میگو گردد (۲۵،۷۴،۴۳). از آنجایی که آرتمیا موجودی فیلتر کننده غیرانتخابی است بنابراین می توان با استفاده از فرآیند غنی سازی بسیاری از مواد ضروری همانند رنگدانه ها، اسیدهای چرب ضروری، هورمون ها، مواد دارویی و غیره را به سایر موجودات آبرزی انتقال داد (۳۸،۳۷،۳۲).

بررسی ها نشان داده اند که اسیدهای چرب غیر اشباع نقش مهمی در فعالیت های زیستی و فیزیولوژیکی آبریان ایفاء می کنند به گونه ای که با شرکت در ساختار غشائی سلول و حفظ خاصیت ارتجاعی آن موجب افزایش سنتز هورمونها در غدد درون ریز می گردند (۱،۴). بنابراین ترکیبات شیمیایی آرتمیا می تواند نیازهای غذایی گونه مختلف آبرزی را فراهم نماید (۶۹،۶۸). اسیدهای چرب ایکوزاپنتانویک اسید (EPA)<sup>۱</sup>، دوکوزاهگزانویک اسید (DHA)<sup>۲</sup>، لینولئیک اسید (Linoleic acid)، لینولنیک اسید (Linolenic acid) و آراشیدونیک اسید (Arachidonic acid) مهمترین ترکیبات ضروری جیره موجودات دریایی می باشند (۷۲،۲۹). لیکن بیشتر گونه های آرتمیا آب شور قادر به بیوسنتز اسیدهای چرب غیر

اشباع فوق نیستند به گونه ای که میزان EPA و DHA در ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا به ترتیب ۸/۵ و ۰ (درصد از کل اسیدهای چرب) بوده که می توان با غنی سازی این کمبود را بر طرف کرد (۶). از فواید غنی سازی در آرتمیا جوان و بالغ، دوره زمانی کوتاه مدت است. از این رو مقادیر کمتری از ماده غنی ساز استقرار یافته در روده آرتمیا، از طریق الحاق به سلول های بافت روده خنثی می شوند (۶۰). به گونه ای که استفاده از مواد غنی ساز در آرتمیای جوان و بالغ این فرصت را فراهم می نماید که سطوح اسیدهای چرب موجود در آنها بطور نزدیکی با نیازهای آبریان هم خوانی پیدا نماید (۵۹). لیکن امروزه استفاده از آرتمیای بالغ به منظور افزایش رسیدگی جنسی، تخمیزی و رشد میگوهای خانواده پنائیده و سایر آبریان بسیار محدود می باشد (۴۱). بنابراین استفاده از مواد غنی ساز در آرتمیای جوان و بالغ موجب می شود که سطوح اسیدهای چرب موجود در ساختار آنها با نیازهای آبریان سازگاری پیدا نماید (۵۹). از این رو با توجه به گسترش فرآیند غنی سازی در صنعت آبرزی پروری در این مطالعه سعی شد تا با تعیین غلظت مناسب از ماده غنی ساز Spari Selco (INVE) از یک سو کمبود اسیدهای چرب غیراشباع HUFA آرتمیای بالغ گونه فرانسیسکانا برطرف شود و از سوی دیگر با تعیین غلظت مناسب ماده غنی ساز می توان از به هدر رفتن آن جلوگیری به عمل آورد.

## ۲. مواد و روش ها

این مطالعه در ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه واقع در ۲۵ کیلومتری شهرستان بوشهر انجام گرفت و به منظور آماده سازی آب در ابتدا بعد از ذخیره سازی آب دریا در استخر آرامش و فیلتر نمودن آن توسط فیلتر های شنی، از کلر جامد (شرکت شیمی دارو) به میزان ۲۰ ppm جهت ضد عفونی آب دریا استفاده شد. مدت زمان مواجهه کلر با آب ۱۲ ساعت بطول انجامید و در ادامه با هوادهی شدید خنثی سازی کلر به مدت ۲۴ ساعت انجام گرفت. از آنجا که شوری آب دریا ۴۲ ppt بود، جهت تأمین آب با شوری ۳۲ - ۳۰ ppt از آب شیرین با شوری ۰ ppt

<sup>۱</sup>Eicosapentaenoic acid  
<sup>۲</sup>Docosahexaenoic acid

جهت غنی سازی آرتیمیا با اسیدهای چرب غیر اشباع، از ماده غنی ساز SPARI SELCO ساخت شرکت INVE Aquaculture Nutrition کشور بلژیک، دارای ترکیباتی همانند چربی، امولسی فایر لیستین، اسیدهای آمینه، جلبک، آنتی اکسیدان بوتیل هیدروکسی آنیزول و ویتامین های A, D<sub>3</sub>, E و C استفاده گردید. غنی سازی در ظروف ۲۰ لیتری و در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد صورت پذیرفت. بدین ترتیب که بعد از وزن نمودن ۰/۵، ۱ و ۲ گرم ماده غنی ساز و انتقال آن به لوله آزمایش درب دار، ۱۰ سی سی آب مقطر به هر گرم آرتیمیا اضافه و جهت ایجاد سوسپانسیون یکنواخت از ماده غنی ساز، لوله آزمایش در دستگاه شیکر قرار داده شد. در ادامه از هر کدام از غلظت های تهیه شده، بطور جداگانه ۴ میلی لیتر سوسپانسیون جهت غنی سازی ۱۰۰۰۰ آرتیمیا بالغ بکار برده شد (۶۳). پس از انجام عمل غنی سازی و جدا نمودن آرتیمیاها از محیط غنی سازی، آرتیمیاها غنی شده توسط صافی های میکرونی به آرامی با آب دریا و سپس با آب شیرین شستشو داده، تا امولسیون چربی از روی بدن آنها شسته شود (۴۳).

به منظور اندازه گیری اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در آرتیمیاها بالغ غنی شده از دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) Agilent-۶۸۹۰ مجهز به ستون کاپیلاری از نوع SGE BPX70(120m×0/25mm ID×0/25) و آشکار ساز نوع flame ionization detector (FID) استفاده و دمای آشکار ساز و محل تزریق به ترتیب بر روی ۱۶۰ و ۱۸۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. ۱ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد سپس دمای اولیه ستون روی ۱۶۰ درجه سانتی گراد تنظیم، که پس از ۱۰ دقیقه، دمای ستون با سرعت ۲ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه رسانده شد و به مدت ۷۵ دقیقه دما در این درجه حرارت باقی ماند. در این روش از گاز هلیم (با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد) به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن به عنوان سوخت، ازت (با خلوص ۹۹/۹ درصد) به عنوان گاز کمکی و هوای

استفاده شد (۲). بعد از آبگیری زوگ های ۱۰۰ لیتری مخصوص شکوفائی آرتیمیا توسط آب ppt ۳۲ - ۳۰ در هر لیتر از آن ۳ - ۲/۵ گرم سیست فرآوری شده (INVE) استفاده گردید. کلیه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی از قبیل دمای آب، اکسیژن محلول در آب، نور و pH به ترتیب بر روی ۲۹ - ۲۷ درجه سانتیگراد، ۵-۶ میلیگرم در لیتر، ۲۰۰۰ - ۱۵۰۰ لوکس و ۸-۷ واحد، ثابت باقی ماند (۶۴). ۲۴ ساعت بعد از شکوفایی سیست ها و گذراندن مراحل ناپلئوس، ناپلی های اینستار II با تراکم ۸ - ۷ ناپلی در میلی لیتر در تانک های ۴ تنی فایرگلاس ذخیره سازی شدند (۶۶). تغذیه ناپلی های آرتیما از روز دوم تا روز چهارم (به مدت ۳ روز) با استفاده از محلول سبوس برنج (۳ گرم سبوس برنج خورده شده با غربال ۱۰۰ میکرون را در یک لیتر آب دریا حل نموده و در ادامه با همزن برقی آترا مخلوط و به صورت هموژنیزه در آورده سپس با غربال ۳۰ میکرون فیلتر و جهت استفاده در یخچال نگهداری می شد) انجام گرفت (۱۲). در ادامه از روز پنجم تا انتهای روز پانزدهم (به مدت ۱۱ روز) با جلبک تک سلولی *Tetraselmis suecica* کشت داده شده در محیط کشت بیرونی TMRL با تراکم ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر تغذیه شدند (۷، ۴۸، ۶۶)

گفتنی است که دوره پرورش آرتیمیا ۱۵ روز به طول انجامید، در طول این دوره کلیه شاخص فیزیکی و شیمیایی آب روزانه اندازه گیری و ثبت شد. به منظور کاهش اثر متغیرهای محیطی بر روی آرتیمیاها تحت مطالعه سعی شد، کلیه شاخص های فیزیکی و شیمیایی موجود از قبیل دمای آب، شوری، شدت نور، اندازه و شکل ظروف برای کلیه تیمارها ثابت در نظر گرفته شود. بطوریکه فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی از قبیل دمای آب، شوری، اکسیژن محلول در آب، نور و pH در طول دوره پرورش به ترتیب ۲۸/۶۹±۰/۱۵ درجه سانتیگراد، ppt ۳۲±۱، ۷/۷۵±۰/۰۷ میلی گرم در لیتر، ۱۵۰۰ لوکس و ۷/۸۸±۰/۰۵۳ بود.

استتاریک (n=0 : 18) و اولئیک اسید (n=9 : 18) در تیمار ۱ گرم در لیتر نسبت به تیمارهای شاهد و ۰/۵ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر با وجود بیشتر بودن میزان این اسید چرب در تیمار ۱ گرم در لیتر نسبت به تیمار ۲ گرم در لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

همچنین نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که میزان اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک (n=6 : 18)، لینولئیک (n=3 : 18)، آراشیدونیک (n=6 : 20)، آراشیدیک (n=0 : 20) و به نیک اسید (n=0 : 22) در تیمار ۲ گرم در لیتر نسبت به آرتمیای غنی نشده و آرتمیای غنی شده با غلظت های ۱ و ۰/۵ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر می باشد ( $P < 0/05$ ). لیکن با وجود بیشتر بودن مقدار اسید چرب آراشیدونیک (n=6 : 20) هیچگونه تفاوت معنی داری در میزان این اسید چرب در تیمار ۱ گرم در لیتر نسبت به تیمار ۰/۵ گرم در لیتر مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ).

در رابطه با اسیدهای چرب EPA، DHA و DPA در آرتمیایی که از غلظت ۲ گرم در لیتر اسید چرب غیراشباع (HUFA) استفاده کرده بودند نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای ۱ و ۰/۵ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر علیرغم بیشتر بودن میزان اسید چرب DHA در تیمار ۱ گرم در لیتر نسبت به ۰/۵ گرم در لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب نشان داد که علیرغم بیشتر بودن اسید چرب لینکوسریک (n=0 : 24) میزان این اسید چرب در تیمار ۱ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها از لحاظ آماری معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ). این در حالی بود که میزان اسیدهای چرب پالمیتولئیک (n=7 : 16)، استتاریدونیک (n=3 : 18)، ایکوستاریدونیک (n=3 : 20) و گاما لینولئیک (n=3 : 18) در تیمار ۰/۵ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود لیکن از لحاظ آماری هیچگونه تفاوتی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

خشک استفاده شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام های نمونه مجهول با کروماتوگرام های بدست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در بافت آرتمیای شناسایی شدند و نتایج به صورت درصد از کل اسیدهای چرب گزارش گردید.

در پایان با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (version 18)، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون Tukey's HSD داده های بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری در سطح اعتماد ۹۵ درصد قرار گرفتند تا تفاوت آماری بین آنها مشخص گردد.

### ۳. نتایج

نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که در طی ۱۵ روز دوره پرورش، آرتمیای بالغ با میانگین طول و وزن به ترتیب ۱۰ میلیمتر و ۸ میلیگرم بدست آمد.

نتایج حاصل از آزمایشات اندازه گیری میزان اسیدهای چرب غیراشباع در تیمارهای مختلف نشان داد که میزان اسید چرب میریستیک (n=0 : 14) و میریستولیک (n=5 : 14) در تیمارهایی که از غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر اسید چرب چند غیراشباع (HUFA) استفاده کرده بودند نسبت به آرتمیای بالغ غنی نشده بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). همچنین نتایج حاکی از آن است که مقادیر اسیدهای چرب فوق بطور معنی داری در تیمارهای ۱ و ۲ گرم در لیتر نسبت به تیمار ۰/۵ گرم در لیتر بیشتر می باشد ( $P < 0/05$ ). این در حالی بود که با وجود بیشتر بودن میزان این اسیدهای چرب در آرتمیای بالغ غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر نسبت به آرتمیای بالغ غنی شده با غلظت ۱ گرم در لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P < 0/05$ ).

در رابطه با اسیدهای چرب پالمیتیک (n=0 : 16) مشاهده شد که میزان این اسیدهای چرب در تیمار ۰/۵ گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد و تیمارهای ۱ و ۲ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر می باشد ( $P < 0/05$ ). در حالی که میزان اسیدهای چرب

جدول ۱: مقادیر اسیدهای چرب غیر اشباع در آرتمیای بالغ غنی شده با غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم ماده غنی ساز Spari Selco (میانگین ± میانگین انحراف معیار) (در هر ردیف حروف غیر مشابه نشان دهنده معنی دار بودن و حروف مشابه نشان دهنده معنی دار نبودن است) (سطح اطمینان ۹۵٪)

اسید چرب غیر اشباع	تیمار	آرتمیای غنی نشده (میلی گرم در گرم وزن خشک)	آرتمیای غنی شده با غلظت ۰/۵ گرم (میلی گرم در گرم وزن خشک)	آرتمیای غنی شده با غلظت ۱ گرم (میلی گرم در گرم وزن خشک)	آرتمیای غنی شده با غلظت ۲ گرم (میلی گرم در گرم وزن خشک)
C14:0	میرستیک اسید	۰/۴۷۶±۰/۰۰۴ <sup>c</sup>	۰/۶۶۹±۰/۰۰۵ <sup>b</sup>	۰/۸۷۲±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>	۰/۹۰۵±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>
C14:1n5	میرستولیک اسید	۰/۱۴۵±۰/۰۰۰ <sup>c</sup>	۰/۱۷۷±۰/۰۰۱۵ <sup>b</sup>	۰/۴۸۴±۰/۰۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۵۷۹±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>
C16:0	پالمیتیک اسید	۱۵/۰۲۷±۰/۰۳۹۵ <sup>b</sup>	۲۱/۸۴۱±۱/۰۸۴ <sup>a</sup>	۱۷/۸۳۴±۰/۳۳۹ <sup>b</sup>	۱۶/۸۰۱±۰/۱۶۶ <sup>b</sup>
C16:1n7	پالمیتولیک اسید	۳/۳۷۸±۰/۰۰۸۹ <sup>a</sup>	۳/۳۹۲±۰/۰۲۴۴ <sup>a</sup>	۲/۶۳۳±۰/۰۰۲۹ <sup>b</sup>	۲/۶۳۰±۰/۰۱۶۷ <sup>b</sup>
C18:0	استئاریک اسید	۱۲/۵۵۷±۰/۱۰۸ <sup>b</sup>	۱۴/۲۰۳±۰/۰۲۸۳ <sup>b</sup>	۱۴/۷۵۳±۰/۰۳۷۷ <sup>a</sup>	۱۳/۵۹۱±۱/۱۳۴ <sup>a</sup>
C18:1n9	اولئیک اسید	۲۳/۵۴۱±۰/۰۰۸۴ <sup>b</sup>	۲۳/۵۶۷±۰/۰۳۲۶ <sup>b</sup>	۲۵/۲۹۴±۰/۰۲۰۹ <sup>a</sup>	۲۴/۲۶۶±۰/۰۲۱۷ <sup>a</sup>
C18:1n7	واکسینیک اسید	۱۲/۴۳۷±۰/۱۱۲ <sup>a</sup>	۹/۷۹۵±۰/۰۰۸۸ <sup>c</sup>	۱۱/۸۰۱±۰/۰۱۴۶ <sup>b</sup>	۱۱/۷۵۴±۰/۰۷۸۹ <sup>b</sup>
C18:2n6	لینولیک اسید	۲/۷۷۴±۰/۰۰۲۰۲ <sup>d</sup>	۳/۷۹۱±۰/۰۳۸۰ <sup>c</sup>	۴/۵۶۵±۰/۰۲۶۱ <sup>b</sup>	۵/۲۹۳±۰/۰۱۱ <sup>a</sup>
C18:3n3	آلفا لینولیک اسید	۰/۸۵۱±۰/۰۰۱ <sup>c</sup>	۰/۹۲۶±۰/۰۰۰۲ <sup>c</sup>	۱/۳۲۶±۰/۰۱۷۷ <sup>b</sup>	۲/۶۱۶±۰/۰۵۲۸ <sup>a</sup>
C20:0	آراشیدیک اسید	۰/۲۳۸±۰/۰۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۴۶۷±۰/۰۰۱ <sup>b</sup>	۰/۷۳۳±۰/۰۰۲۱ <sup>b</sup>	۱/۲۱۸±۰/۰۰۶۷ <sup>a</sup>
C18:3n6	گاما لینولیک اسید	۰/۸۴۹±۰/۰۰۱۵ <sup>b</sup>	۱/۴۳۲±۰/۰۲۳۹ <sup>a</sup>	۱/۳۶۸±۰/۰۲۶۸ <sup>a</sup>	۱/۳۵۵±۰/۰۲۳۷ <sup>a</sup>
C18:4n3	استئاریدونیک اسید	۰/۹۶۲±۰/۰۰۲۱ <sup>c</sup>	۲/۰۸۶±۰/۰۲۹۳ <sup>a</sup>	۱/۵۹۸±۰/۰۲۱۲ <sup>b</sup>	۱/۷۱۱±۰/۰۱۲۳ <sup>b</sup>
C22:0	به نیک اسید	۰/۴۲۶±۰/۰۰۸۸ <sup>d</sup>	۰/۵۴۰±۰/۰۰۲۲ <sup>c</sup>	۰/۶۴۷±۰/۰۰۱۹ <sup>b</sup>	۰/۷۵۱±۰/۰۰۱۹ <sup>a</sup>
C20:3n6	دی گاما لینولیک اسید	۰/۵۳۰±۰/۰۰۰۲ <sup>d</sup>	۱/۳۴۶±۰/۰۳۰۹ <sup>c</sup>	۲/۱۳۱±۰/۰۰۳۶ <sup>b</sup>	۳/۸۲۰±۰/۰۳۸۱ <sup>c</sup>
C20:3n3	ایکوساتریونیک اسید	۰/۵۲±۰/۰۰۰۴ <sup>d</sup>	۲/۵۳۸±۰/۰۰۱۶ <sup>b</sup>	۳/۳۸۴±۰/۱۱۱ <sup>a</sup>	۱/۳۵۷±۰/۰۰۵۵ <sup>c</sup>
C20:4n6	آراشیدونیک اسید	۰/۳۳۲±۰/۰۰۱۳ <sup>c</sup>	۰/۴۷۷±۰/۰۰۳۳ <sup>b</sup>	۰/۴۹۹±۰/۰۰۴۸ <sup>b</sup>	۰/۵۶۶±۰/۰۰۱۶ <sup>a</sup>
C20:5n3	ایکوزاپانتونیک اسید	۰/۳۷۱±۰/۰۰۱۰ <sup>d</sup>	۰/۷۳۵±۰/۰۰۸۹ <sup>c</sup>	۱/۶۷۸±۰/۱۵۲ <sup>b</sup>	۴/۳۱۷±۰/۰۵۴۶ <sup>a</sup>
C22:5n6	دوساپنتانونیک اسید	۰/۰۱۶±۰/۰۰۳۶ <sup>d</sup>	۰/۰۵۱±۰/۰۰۲۶۷ <sup>b</sup>	۰/۰۳۹±۰/۰۰۳۶۹ <sup>c</sup>	۰/۰۷۱±۰/۰۰۵۱۱ <sup>a</sup>
C22:5n3	دوکوسانتانونیک اسید	۰/۵۵۷±۰/۰۰۵۹ <sup>c</sup>	۰/۴۴۸±۰/۰۱۶۳ <sup>d</sup>	۰/۱۲۳±۰/۰۰۴۲ <sup>b</sup>	۰/۰۲۰±۰/۰۰۰۴۳ <sup>a</sup>
C22:6n3	دکوساهگزانونیک اسید	۰/۰±۰/۰۰۰ <sup>c</sup>	۱/۱۶۷±۰/۱۵۵ <sup>b</sup>	۱/۲۸۵±۰/۰۰۶۴ <sup>b</sup>	۲/۳۸۴±۰/۱۱۸ <sup>a</sup>
C24:0	لینکوسریک اسید	۰/۳۷۹±۰/۰۰۰۵ <sup>a</sup>	۰/۳۴۵±۰/۰۰۵۲ <sup>a</sup>	۰/۳۹۱±۰/۰۰۴۶ <sup>a</sup>	۰/۳۴۰±۰/۰۰۱۹ <sup>a</sup>
Σ n-3	مجموع اسیدهای چرب امگا ۳	۱/۸۹۴±۰/۰۶۱۲ <sup>d</sup>	۲/۸۲۸±۰/۰۸۸۷ <sup>c</sup>	۴/۲۸۹±۱/۳۳۳ <sup>b</sup>	۹/۳۱۷±۲/۹۸۳ <sup>a</sup>
Σ n-6	مجموع اسیدهای چرب امگا ۶	۳/۹۵۵±۱/۵۶۰ <sup>d</sup>	۵/۷±۲/۱۸۱ <sup>c</sup>	۶/۴۳۲±۲/۵۶۱ <sup>b</sup>	۷/۲۱۴±۲/۹۳۶ <sup>a</sup>
Σ SFA	مجموع اسیدهای چرب اشباع	۲۹/۱۰۹±۲/۸۴۵ <sup>d</sup>	۳۸/۰۶۵±۳/۸۲۲ <sup>a</sup>	۳۵/۲۳±۳/۳۲۰ <sup>b</sup>	۳۳/۶۰۶±۳/۰۶۴ <sup>c</sup>
Σ MUFA	مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوند یگانه	۴۰/۰۲۱±۵/۲۴۵ <sup>c</sup>	۴۶/۷۱۱±۵/۱۷۹ <sup>a</sup>	۴۳/۵۹۶±۵/۶۴۱ <sup>b</sup>	۴۰/۵۸۶±۵/۳۹۶ <sup>c</sup>
Σ HUFA	مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوند دوگانه	۷/۲۴۲±۰/۰۲۱۶ <sup>d</sup>	۱۲/۴۵۹±۰/۰۳۲۷ <sup>c</sup>	۱۴/۶۰۴±۰/۰۴۰۸ <sup>b</sup>	۲۲/۳۳۵±۰/۰۵۱۹ <sup>a</sup>
DHA/EPA	ایکوزاپنتانونیک اسید و دوکوزاهگزانونیک اسید	۰ <sup>c</sup>	۱/۵۹ <sup>a</sup>	۰/۷۶۵ <sup>b</sup>	۰/۵۵ <sup>b</sup>

افزایش تولید آبزیان صورت می گیرد. بسیاری از روشهای غنی سازی آرتمیا در گذشته بر روی ناپلی تازه تخم گشایی شده، بویژه چگونگی افزایش سطوح DHA و EPA و افزایش نسبت DHA به EPA متمرکز شده بود (۴۴، ۵۰، ۵۲، ۷۰).

از آنجا که اسیدهای چرب نقش مهمی بر روی رشد و بازماندگی لارو آبزیان دارد (۴۰)، ارزش غذایی آنها از طریق زنجیره اسیدهای چرب غیراشباع تعیین می گردد (۴۶، ۳۲، ۶۹) در مطالعات صورت گرفته مشخص شد، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در آرتمیا فرانسیسکانا تازه تخم شکوفا شده به ترتیب با وزن و طول ۲۴۰۰ نانوگرم (۲/۴ میکروگرم) و ۰/۴۵۵ میلیمتر حاوی ۰/۱ نانوگرم می باشد. در حالیکه در مرحله ناپلئوس پنج با وزن و طول ۴۸۰۰ نانوگرم (۴/۸ میکروگرم) و ۱/۴ میلیمتر حاوی ۰/۰۵ نانوگرم است. همچنین در آرتمیای تازه تخم گشایی شده حجم بالایی از EPA وجود دارد، بطوریکه نسبت DHA به EPA ۱:۰/۲ است. ولی میزان آراشیدونیک اسید آنها پائین می باشد (۱۱، ۲۸، ۴۵). همانگونه که مشاهده می شود در پی رشد آرتمیا به تدریج از میزان اسیدهای چرب غیراشباع آنها کاسته می شود که می توان با انجام فرآیند غنی سازی اسیدهای چرب غیراشباع بویژه DHA را افزایش و متعادل نمود (۵۶، ۹). نتایج حاصل از مطالعه بیانگر این مطلب بود که غلظت اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک اسید (۶-۱۸:۲n)، لینولنیک اسید (۶-۱۶:۱n)، آراشیدونیک اسید (۶-۲۰:۴n)، ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهکزانوئیک اسید (DHA) در آرتمیاهایی که با غلظت ۲ گرم در لیتر غنی شده بودند نسبت به آرتمیاهای غنی شده با غلظت های ۱ و ۰/۵ گرم در لیتر و آرتمیاهای شاهد بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). همچنین علیرغم بیشتر بودن میزان اسیدهای چرب میرستیک اسید (۰-۱۴: n)، میرستولیک اسید (۵-۱۴: ۱n)، استئاریک اسید (۰-۱۸: n)، گاما لینولنیک اسید (۶-۱۸: ۳n) و اولئیک اسید (۹-۱۸: ۱n) در آرتمیاهای که با غلظت ۲ گرم در لیتر غنی شده بودند نسبت به آرتمیاهایی که توسط غلظت ۱ گرم غنی شده بودند هیچگونه

از سوی دیگر بررسی نتایج مجموع اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۳ (۳-۱۸: n)، اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۶ (۶-۱۸: n) و اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوند چند گانه (HUFAs) در آرتمیاهای بالغ غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر از غلظت های ۰/۵، ۱ گرم در لیتر و آرتمیا بالغ غنی نشده بود ( $P < 0/05$ ). این در حالی بود که مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFA) آرتمیاهای بالغ غنی نشده بطور معنی داری کمتر از آرتمیاهای غنی شده با غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر بود ( $P < 0/05$ ). گفتنی است که نتایج حاکی از بیشتر بودن میزان این فاکتور در آرتمیاهای غنی شده با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بود ( $P < 0/05$ ). در رابطه با مجموع اسیدهای چرب تک زنجیره غیر اشباع (MUFA) مشاهده شد که میزان این اسیدهای چرب در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بطور معنی داری از سایر تیمارها بود ( $P < 0/05$ ) از سوی دیگر نتایج نشان داد که نسبت DHA به EPA بطور معنی داری در آرتمیاهای بالغ غنی با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بیشتر از آرتمیاهای بالغ غنی نشده و آرتمیاهای بالغ غنی شده با غلظت های ۱ و ۲ گرم در لیتر بود ( $P < 0/05$ ) از سوی دیگر با وجود بیشتر بودن این نسبت در آرتمیای بالغ غنی شده با غلظت ۱ گرم در لیتر نسبت به آرتمیاهای بالغ غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

#### ۴. بحث

بر اساس نیاز گونه ای که پرورش می یابد روش های مختلفی جهت غنی سازی آرتمیا وجود دارد (۲۳). همچنین ترکیبات بیوشیمیایی آرتمیای بالغ بازتاب نوع جیره غذایی و ماده غنی ساز بکار رفته است (۵۴) غنی سازی غذاهای طبیعی از قبیل انواع جلبک ها، روغن ها و آرتمیا با استفاده از مواد غنی ساز حاوی اسیدهای چرب ضروری غیراشباع (HUFA) یکی از روش های جدید در صنعت آبرزی پروری خصوصاً آبرزی پروری دریایی می باشد (۳۰). این شیوه عمدتاً در راستای بهبود کیفیت غذای طبیعی جهت بالا بردن کیفیت تخم و لارو و نهایتاً

۱۵/۵ و صفر گزارش نمودند (۶۲). لذا همانگونه که مشاهده می شود میزان اسیدهای چرب غیر اشباع از یک گونه به گونه دیگر و حتی در یک گونه که توسط جیره غذایی مختلف تغذیه شده بودند با هم متفاوت بود (۴۷، ۷۱). همچنین ترکیبات اسیدهای چرب غیر اشباع می تواند در یک گونه از یک تانک به تانک دیگر با هم متفاوت باشد (۳۲). برخی از محققین عنوان نمودند (۶۸) که میزان اسیدهای چرب لینولئیک (۶-۱۸:۲n) در آرتمیا آب شیرین نسبت به آرتمیا آب شور بیشتر می باشد در حالی که میزان اسید چرب EPA در آرتمیا آب شور نسبت به آرتمیاهای آب شیرین بیشتر است. با توجه به اینکه اکثر لارو ماهیان دریایی قادر به سنتز اسیدهای چرب آراشیدونیک اسید، EPA و DHA، از پیش سازهای با زنجیره کوتاه نیستند می بایست در جیره غذایی لاروها گنجانده شوند (۵۵).

در این مطالعه از ماده غنی ساز Spari Selco با غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر جهت غنی سازی آرتمیاهای بالغ با تراکم ۱۰ قطعه در میلی لیتر در ظروف ۲ لیتری استوانه ای استفاده شد. بسته به نوع ماده غنی ساز، غلظت های بکار رفته متفاوت می باشد. در مطالعه ای از ماده غنی ساز Selco با غلظت ۰/۶ گرم در لیتر جهت غنی سازی آرتمیای بالغ با تراکم ۵۰ قطعه در هر میلی لیتر استفاده کرده بودند (۳۳). همچنین محققین در تحقیقات خود از آرتمیاهای بالغ که توسط Super Selco و یا Dry Selco به ترتیب با غلظت ۰/۲ و ۰/۶ گرم در لیتر غنی شده، استفاده نموده بودند، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند موجود در آنها همانند ناپلی آرتمیا افزایش یافت (۱۳). از این رو به دلیل متفاوت بودن رفتار تغذیه ای آرتمیاهای جوان و بالغ با ناپلوس آرتمیا مواد غنی ساز را با سرعت بیشتری فیلتر و هضم می نمایند (۱۵). از سوی دیگر با توجه به اینکه پروفیل اسیدهای چرب غیر اشباع در آرتمیاهای بالغ غنی شده بازتابی از ماده غنی ساز بکار رفته می باشد نتایج حاکی از آن بود که میزان EPA، لینولئیک اسید، لینولئیک اسید و آراشیدونیک اسید در آرتمیاهای بالغ غنی شده نسبت به آرتمیاهای بالغ غنی

اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). این در حالی بود که میزان اسیدهای چرب فوق در هر دو غلظت ۲ و ۱ گرم بطور معنی داری بیشتر از غلظت ۰/۵ گرم و آرتمیاهای گروه شاهد بود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر نتایج حاصل از مطالعه نشان داد که میزان اسیدهای چرب غیر اشباع پالمیتیک اسید (۰-n: ۱۶)، پالمیتولئیک اسید (۷-۱۶: ۱n) و استئاریدونیک اسید (۳-۱۸: ۴n) در آرتمیاهایی که با غلظت ۰/۵ گرم غنی شده بودند بطور معنی داری بیشتر از آرتمیاهایی بود که توسط غلظت های ۱ و ۲ گرم غنی شده بودند ( $P < 0/05$ ). با توجه به اینکه تغذیه آرتمیاهای از روز دوم تا چهارم و از روز پنجم تا انتهای روز پانزدهم به ترتیب توسط سبوس برنج و جلبک تک سلولی *T. suecica* با تراکم ۲۰۰ سلول در هر میلی لیتر صورت گرفته بود نتایج حاکی از آن بود که میزان اسیدهای چرب EPA، DHA، لینولئیک اسید، لینولئیک اسید، آراشیدونیک اسید، اولئیک اسید، پالمیتیک اسید و استئاریک اسید در آرتمیاهای بالغ پرورشی به ترتیب ۰/۳۷۱، ۰، ۲/۷۷۴، ۰/۸۵۱، ۰/۳۳۲، ۲۳/۵۴۱، ۱۵/۰۲۷ و ۱۲/۵۵۷ درصد بود. در مطالعه ای بر روی آرتمیای بالغ گونه *Real de Salinas* انجام داده بودند، مشاهده کردند که پس از ۱۵ روز تغذیه با سبوس برنج و جلبک *T. suecica* میزان اسیدهای چرب فوق به ترتیب ۰/۷۱، ۱/۶۴، ۶/۴۳، ۱۴/۴۵، ۰، ۱۹/۹۲، ۲۱/۷۴ و ۲۷/۵۴ درصد بود (۶۶). در حالی که در آرتمیاهای گونه *Texcoco*، *México* که توسط اسپرولینا مرطوب تغذیه شده بودند میزان اسیدهای چرب غیر اشباع EPA، لینولئیک اسید، لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمیتیک اسید، استئاریک اسید و آراشیدونیک اسید به ترتیب ۰، ۱۲/۲، ۱۱/۳، ۳۷/۶، ۱۴/۴، ۰ و ۰/۸۲ درصد بود (۱۰). از سوی دیگر محققین میزان اسیدهای چرب فوق را در آرتمیا بالغ گونه *Sanfrancisco Bay* که توسط سبوس برنج تغذیه شده بودند به ترتیب ۲/۲، ۵/۱، ۴/۲۶، ۳۴/۳، ۲۴/۴ و صفر در آرتمیاهایی که با استفاده از جلبک کتوسروس تغذیه شده بودند به ترتیب ۱۲/۷، ۹/۸، ۳/۲، ۳۰/۶،

نشده افزایش یافت همچنین یک رابطه مستقیم معنی داری میان افزایش غلظت ماده غنی ساز و مقادیر مربوط به اسیدهای چرب فوق مشاهده شد بطوریکه بیشترین میزان در غلظت ۲ گرم در لیتر مشاهده شد از سوی دیگر میزان DHA در پی غنی سازی صورت گرفته بطور ملموسی افزایش یافته بود. لیکن در مقایسه با EPA از شیب کمتری برخوردار بود. محققین دیگر نتایج مشابهی در پی غنی سازی آرتمیاهای جوان غنی شده با ماده غنی ساز Algamac مشاهده نمودند (۶۰). محققین عنوان کردند که با دو برابر کردن غلظت ماده غنی ساز Algamac از ۰/۱۵ به ۰/۳ گرم در لیتر و امولسیون روغن از ۰/۳ به ۰/۶ گرم در لیتر بعد از ۶ ساعت غنی سازی موجب افزایش اسیدهای چرب آراشیدونیک، EPA و DHA در آرتمیای جوان نشد این در حالی بود که در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش غلظت ماده غنی ساز از ۰/۵ گرم در لیتر به ۱ و ۲ گرم در لیتر اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) بویژه لینولینیک اسید، لینولینیک اسید، آراشیدونیک اسید، EPA و DHA بطور معنی داری در آرتمیاهای بالغ گونه فرانسسکانا افزایش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ) (۵۱).

محققین عنوان نمودند که در طول دوره غنی سازی میزان کمی از DHA در متاناپلئوس تجمع می یابد که در مقایسه با سایر اسیدهای چرب غیر اشباع در طول دوره گرسنگی به سرعت از بین می روند (۱۸) و چنین شرایطی در آرتمیاهای جوان نیز صدق می کند. از سوی دیگر آرتمیاهای جوان قادر نیستند همانند ناپلی آرتمیا DHA را به EPA تبدیل نمایند (۲۰، ۴۶). بنابراین DHA تجمع یافته در ناپلی بسته به میزان این اسید چرب در ماده غنی ساز بطور مستقل افزایش خواهد یافت. در حالیکه با توجه به عدم تبدیل DHA به EPA در آرتمیاهای جوان میزان EPA بسته به میزان این اسید چرب در ماده غنی ساز و جیره غذایی افزایش می یابد (۵۱) از این رو آنها عنوان نمودند که میزان EPA در آرتمیاهای جوان زمانیکه از *C. muelleri* تغذیه شدند، به تدریج در طول ۳۶ ساعت غنی

سازی افزایش یافت و در آرتمیاهای که از ماده غنی ساز Algamac استفاده کرده بودند میزان اسید آراشیدونیک افزایش یافت. بنابراین اینگونه می توان عنوان نمود که بسته به نوع جیره غذایی و ماده غنی ساز بکار رفته افزایش قابل توجهی در برخی از اسیدهای چرب غیر اشباع مشاهده شد. همچنین مطالعات نشان داد که اسیدهای چرب آراشیدونیک اسید، EPA و DHA که جذب بافت بدن ناپلی آرتمیا شده بودند در طول دوره گرسنگی سریعاً متابولیزه شدند (۲۷، ۱۸، ۱۹، ۶۷). این در حالی بود که در آرتمیاهای جوان جذب اسیدهای چرب غیر اشباع مواد غنی ساز استقرار یافته در روده ناچیز بوده در نتیجه از جمله فواید غنی سازی آرتمیا در دوره زمانی کوتاه مدت این است که میزان کمتری از اسیدهای چرب غیراشباع از این طریق از دست خواهند رفت (۶۰). بدلیل راندمان بالای فیلتراسیون غنی سازی آرتمیای بالغ در دوره زمانی کوتاهتری (۱ تا ۴ ساعت) صورت گرفته، در حالی که غنی سازی ناپلئوس در مدت زمان طولانی تری (۲۴ - ۱۲ ساعت) نسبت به آرتمیای بالغ صورت می گیرد (۳). از این رو در مطالعه صورت گرفته مشاهده شد میزان اسیدهای چرب لینولینیک اسید، لینولینیک اسید، آراشیدونیک اسید، EPA و DHA بطور معنی داری افزایش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). در حالی که میزان DHA نسبت به EPA بطور معنی داری کمتر بود. لذا یکی از دلایل پائین بودن میزان DHA نسبت به EPA در آرتمیاهای بالغ غنی سازی شده ممکن به دلیل متابولیسم این اسید چرب در طول دوره غنی سازی باشد. مشاهده شده که بالا بودن DHA نسبت به EPA در ناپلی آرتمیا به دلیل عدم متابولیسم این اسید چرب در طول دوره غنی سازی است، که این حالت ممکن است به دلیل بسته بودن لوله گوارشی ناپلی ها و استفاده آنها از ذخیره کیسه زرده باشد (۲۴، ۷۱).

از سوی دیگر عنوان شده که در آرتمیا جوان (۵ روزه) مدت زمان تخلیه روده (۳ تا ۶ ساعت) تأثیر ناچیزی بر روی پروفیل اسیدهای چرب و چربی کل دارد. از این رو در تغذیه فعال مدت زمان نگهداری مواد در روده آرتمیا جوان تقریباً ۷ دقیقه می



اگر ۵۰ درصد اولئیک اسید جایگزین بخشی از EPA موجود در ماده غنی ساز شود، این نسب تغییر پیدا می کند (۲۸). محققین عنوان نمودند که غنی سازی آرتیمیا با لیپوزوم موجب افزایش میزان EPA در آرتیمیا می گردد (۴۰) از سوی دیگر هوادهی کم و استفاده از سنگ هوا با افزایش کارایی غنی سازی همراه است، در حالی که هوادهی شدید موجب کاهش میزان EPA در آرتیمیا خواهد شد. در مطالعه دیگر مشاهده شد زمانیکه از مخلوط *Isochrysis galbana* و *Rhodomonas lens* جهت غنی سازی آرتیمیا جوان به مدت ۶ ساعت استفاده می شود تفاوت قابل توجهی در میزان DHA آرتیمیا های جوان مشاهده شد (۵۸). همچنین نتایج تحقیقات پیشین نشان می دهد که میزان آراشیدونیک اسید و EPA پس از غنی سازی آرتیمیای جوان (۵ روزه) نسبت به میزان DHA از ثبات بیشتری برخوردار است. چنین ذکر شده که علت این امر تبدیل DHA به زنجیره های کوتاهتر می باشد. از سوی دیگر در طی دوره گرسنگی نیز میزان هر سه اسید چرب کاهش یافته است، ولی میزان DHA نسبت به دو اسید چرب دیگر کاهش بیشتری را نشان می دهد (۲۶).

در مطالعه ای میزان پایداری اسید چرب DHA به دنبال غنی سازی در درجه حرارت های مختلف در دو گونه آرتیمیا *A. franciscana* و *A. sianica* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که مقدار DHA و نسبت DHA/EPA بعد از غنی سازی در دو آرتیمیای فوق به ترتیب به ۴۱/۲ و ۴۲/۸ و ۲/۰۹ و ۱/۸ میلی گرم در هر گرم وزن خشک بود. مشخص شد که در *A. franciscana* به موازات افزایش دما میزان تحلیل رفتن DHA نیز افزایش می یابد. البته این پدیده در *A. sianica* مشاهده نگردید، بطوریکه میزان DHA در این آرتیمیا نسبتاً ثابت باقی ماند (۱۹).

در بررسی صورت گرفته توسط محققین عنوان شد که میزان EPA و DHA در آرتیمیای جوان تغذیه شده با سبوس برنج و جلبک تتراسلمیس به ترتیب به ۰/۷۱ و ۱/۶۴ درصد خواهد رسید (۶۶). همچنین سایر محققین عنوان نمودند زمانیکه آرتیمیا توسط

باشد (۶۰) که این زمان برای ناپلی و آرتیمیای بالغ به ترتیب ۳ و ۱۰ دقیقه بود (۱۷). در آرتیمیای جوان زمان مورد نیاز جهت استخراج چربی کل و اسیدهای چرب غیراشباع از ماده غنی ساز در روده ۳ ساعت بوده در نتیجه ترکیب اسیدهای چرب در مدت زمان کوتاهی پس از شروع تغذیه یعنی کمتر از ۳ ساعت افزایش خواهد یافت (۶۰). همچنین در مطالعه صورت گرفته گزارش شد که جهت غنی سازی آرتیمیا های بالغ ۱ گرم از ماده غنی ساز به منظور غنی سازی ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ آرتیمیای بالغ به مدت ۱ تا ۲ ساعت استفاده شد (۶۳). محققین عنوان نمودند که میزان اسیدهای چرب غیراشباع لینولئیک اسید (۶-۲۸:۱۸)، لینولئیک اسید (۶-۱۶:۱۸)، آراشیدونیک اسید (۶-۲۰:۴۰)، EPA و DHA به ترتیب به میزان ۸/۲۴، ۶/۴۲، ۲/۶۰، ۵/۷۵ و ۲/۵۲ درصد ماده خشک بعد از غنی سازی آرتیمیا بالغ به مدت ۳ ساعت با غلظت ۱ گرم در لیتر ماده غنی ساز Spari Selco افزایش یافت (۵، ۶۳).

نتایج حاکی از آن بود که نسبت DHA/EPA در آرتیمیای بالغ غنی نشده صفر بود در حالی که به دنبال غنی سازی آرتیمیای بالغ با غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر این میزان افزایش یافت، به گونه ای که بیشترین میزان (۱/۵۹) مربوط به آرتیمیای غنی شده با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر و کمترین میزان (۰/۵۵) مربوط به آرتیمیای غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر بود. از جمله دلایل کاهش این نسبت در غلظت ۲ گرم در لیتر می تواند مربوط به بالا بودن میزان اسید چرب EPA باشد. اکثر گونه های آرتیمیا بطور طبیعی حاوی غلظتی از EPA هستند (۶۸). همچنین همه روغن های ماهیان دریایی علاوه DHA دارای مقادیر مشخصی EPA نیز هستند. از سوی دیگر رسیدن به سطوح بالای DHA در برخی از سویه های آرتیمیا دشوار می باشد و دستیابی به نسبت بالای DHA/EPA بسیار مشکل است. مشاهده شد که نسبت DHA/EPA در ناپلی هایی که با جیره حاوی اسیدهای چرب چند زنجیره غیر اشباع Sole HUFAs غنی شده بودند به ۱/۸ رسید (۵۷). لذا

(۱۳). در این صورت نگهداری آرتیمای جوان غنی شده در درجه حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت موجب کاهش اسیدهای چرب غیراشباع بویژه DHA می گردد (۶۰). گفتنی است که کاهش DHA در آرتیمیای جوان غنی شده نسبت به ناپلئوس با سرعت آهسته تری صورت می گیرد (۶۰). از سوی دیگر درجه حرارت بالاتر از ۳۵ درجه سانتیگراد موجب افزایش میزان متابولیسم لینولئیک اسید (۶-۱۸:۲n) و آلفا لینولئیک اسید (۳-۱۸:۳n) در آرتیمیا می گردد (۲۰). در این مطالعه نیز سعی شد دمای محیط پرورش و بالطبع دمای محیط غنی سازی در دامنه ۲۵-۲۴ درجه سانتیگراد قرار داده شود. به منظور جلوگیری از افزایش متابولیسم اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) در مرحله بعد از غنی سازی (مرحله گرسنگی) آرتیمای بالغ غنی شده تا زمان انجام آنالیز بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره سازی شدند (۳۱). همچنین شوری نیز بر روی رشد آرتیمیا و جذب آراشیدونیک اسید می تواند تأثیر گذار باشد (۲۳).

نتایج حاصل از مطالعه بیانگر این مطلب بود که میزان اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) در آرتیمای غنی شده با غلظت های ۱ و ۲ گرم در لیتر نسبت به آرتیمای غنی شده با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر میزان علیرغم پائین بودن نسبت EPA/DHA در آرتیمای غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر لیکن میزان اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) همانند لینولئیک اسید، لینولئیک اسید، آراشیدونیک اسید، EPA، DHA،  $\Sigma n-3$ ،  $\Sigma n-6$  و  $\Sigma$  HUFA در آرتیمای بالغ غنی شده با غلظت ۲ گرم در لیتر نسبت به آرتیمای بالغ غنی شده با غلظت ۱ گرم در لیتر بطور معنی داری بیشتر بود ( $P < 0/05$ ). لذا با توجه به مطالب فوق و نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر مناسبترین غلظت ماده غنی ساز Spari Selco جهت غنی سازی آرتیمای بالغ ۱۵ روزه با تراکم ۱۰ قطعه در هر میلی لیتر به مدت ۳ ساعت ۲ گرم در لیتر می باشد.

محصولات فرعی کشاورزی (سبوس برنج) تغذیه شود مقادیر EPA و DHA در آرتیمای برداشت شده بسیار پائین می باشد. بنابراین بطور معقولانه می توان عنوان نمود که مقادیر کم EPA و DHA در آرتیمای بالغ غنی نشده می تواند ناشی از استفاده از سبوس برنج در جیره غذایی آرتیمایا باشد. این حالت در رابطه با لینولئیک اسید و لینولئیک اسید نیز صدق نمود (۳۰). با توجه به نتایج بدست آمده میزان اسیدهای چرب غیراشباع در آرتیمای بالغ غنی شده و غنی نشده گونه فرانسیسکانا بطور معنی داری بیشتر از ناپلی این گونه می باشد. از سوی دیگر ارزش غذایی آرتیمیا بالغ در مقایسه با ناپلی آرتیمیا بیشتر بوده بطوریکه سرشار از پروتئین ها و اسیدهای چرب غیراشباع هستند (۲۱، ۳۵، ۴۳، ۸، ۳۲). همچنین محققین عنوان نمودند که سایر فاکتورها از قبیل مراحل رشد، اختلافات جمعیتی، نوع، کمیت و کیفیت غذای موجود می تواند بر روی ترکیبات اسید چرب و اسیدهای آمینه در آرتیمای بالغ پرورش داده شده تأثیرگذار باشد (۳۲). از عوامل مؤثر بر روی اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) عامل تغذیه می باشد. با توجه به اینکه آرتیمایا مواد غذایی را بصورت غیرانتخابی فیلتر می کنند، تغذیه آنها به کمیت و کیفیت غذای موجود در محیط وابسته می باشد (۷۳، ۷۵، ۷۶). بنابراین اندازه مناسب ذرات غذایی برای بالغین می بایست کوچکتر از ۶۰ میکرومتر باشد (۱۲، ۴۹، ۵۳) در این مطالعه از سبوس برنج و جلبک تتراسلمیس به ترتیب با اندازه ۵۰-۴۰ و ۱۰-۷ میکرومتر استفاده شد.

از دیگر عوامل تأثیر گذار بر روی میزان اسیدهای چرب غیراشباع (HUFA) نوسانات محیطی می باشد. در این مطالعه پرورش آرتیمیا در شرایط محیط بیرون انجام شد. نوسانات محیطی همانند تغییرات دمایی، شوری، اکسیژن محلول در آب و pH ممکن است منجر به ایجاد تغییراتی در میزان اسیدهای چرب غیراشباع اولیه موجود در آرتیمایا بالغ پرورش داده، شده باشند (۱۴). همچنین افزایش دما موجب کاهش میزان اسیدهای چرب غیراشباع موجود در آرتیمایا بالغ می گردد

## سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات پرسنل محترم ایستگاه تحقیقاتی بندرگاه و مسئول ایستگاه، جناب آقای مهندس زنده بودی و ریاست محترم پژوهشکده جناب آقای دکتر آئین جمشید که در پیشبرد مطالعه مذکور همکاری نمودند، سپاسگزاری می گردد. یادآوری می شود این نتایج برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات خوزستان می باشد.

## منابع

- 6- Agh, N. & Sorgeloos, P., 2005. Handbook of Protocols and Guidelines for Culture and Enrichment of Live Food for Use in Larviculture. Laboratory of Aquaculture and *Artemia* Reference Center University of Ghent, Ghent, Belgium. 60p.
- 7- Ahmadi, M.R., Leibovitz, H. and Simpson, K.L, 1990. Nutrient composition of the Iranian brine shrimp (*Artemia uromiana*). Comp. Biochem. Physiol. 95:225-228.
- 8- Bengtson, D.A., Léger, P. and Sorgeloos, P., 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. In: Browne, R.A., Sorgeloos P., Trotman, C.N.A. (eds), *Artemia* Biology. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 255-285.
- 9- Castell, J.D., Blair, T., Neil, S., Howes, K., Mercer, S., Reid, J., Young-Lai, W., Gullison, B., Dhert, P. and Sorgeloos, P., 2001. The effect of different HUFA enrichment emulsion on the nutritional value of rotifers (*Brachionus plicatilis*) tolarvalhaddock (*Melanogrammus aeglefinus*). In: Hendry, C.I., Van Stappen, G., Wille, M., Sorgeloos, P. (Eds.), Larvi'01 –Fish and Shellfish Larviculture Symposium, European Aquaculture Society, Special Publication, vol. 30. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium, pp. 111–114.
- 10-Castro, T.B., 1993. Biología y cultivo de *Artemia franciscana* en el ex Lago de Texcoco, de Ecatepec, Estado de México. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 11-Coutteau, P. & Mourente, G., 1997. Lipid classes and their content of n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. Mar. Biol. 130, 81–91.
- 12-D'Agostino, A.S., 1980. The vital requirements of *Artemia*, physiology and nutrition. In: Persoon, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds.), the Brine Shrimp *Artemia*, Vol. 2. Physiology, Biochemistry,
- 1- جواهری، م؛ متین فر، ع. و کیوان، ا. ۱۳۸۶. بررسی تاثیر ناپلیوس آرتمیای غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع بلند زنجیره و ویتامین C بر رشد، بقا و مقاومت لارو ماهی آزاد دریای خزر. دانشنامه دکتری، دانشکده کشاورزی منابع طبیعی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران. صفحات ۱۳-۸.
- ۲- پذیر، م. خ؛ متین فر، ع. و زنده بودی، ع. ۱۳۸۷. بررسی تاثیر آرتمیا بالغ غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (HUFA) بر شاخص تولید مثلی میگوی سفید غربی. مؤسسه تحقیقات شیلات ایران. ۷۰ صفحه.
- ۳- لاونز، پ. و سارجلوس، پ. ۱۳۸۲. کاربرد آرتمیا در تکثیر و پرورش آبزیان، تولید سیست و بیومس ترجمه شعاع حسنی، ا. و جعفری، م. انتشارات دریاسر. ج ۱- ۱۲۷ صفحه ج ۲- ۱۶۷ صفحه.
- ۴- یحوی، م، آذری تاکامی، ق. ۱۳۸۶. بررسی اثرات تغذیه لارو میگو سفید هندی (*Fenneropenaeus indicus*) از روتیفر غنی شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (EPA, DHA) و ویتامین C. پژوهش و سازندگی، شماره ۷۴، ص ۱۴۹-۱۴۰.
- ۵- موسایی، م؛ متین فر، ع. و پذیر، م. خ. ۱۳۸۷. بررسی میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در آرتمیای بالغ غنی سازی شده طی چهار زمان مختلف غنی سازی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات خوزستان. ۶۳ صفحه.

- Molecular Biology, Universa Press, Wetteren, pp. 55-82.
- 13-Dhont, J., Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1991. Development Of A Lipid Enrichment Technique For *Artemia* Juveniles Produced In An Intensive System For Use In Marine Larviculture. Fish & Crustacean larviculture Symposium. European Aquaculture Society, (15) 222- 226.
- 14-Dhont, J., Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1993. Preparation and use of *Artemia* as food for shrimp and prawn larvae, p. 61-93. In J.P. McVey (ed.). CRC Handbook of Mariculture. Crustacean Aquaculture (2nd edition) CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA.
- 15-Dhont, J. & Lavens, P., 1996. Tank production and use of ongrown *Artemia*, p. 164-195. In: P. Lavens & P. Sorgeloos (eds.). Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361, Rome.
- 16-Dhert, P., Sorgeloos, P. and Devresse, B., 1993. Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and *Artemia* sp. In: Reinertsen, H., Dhale, L., Jorgensen, L., Tvinnereim, K. (Eds.), Proc. Int. Conf. Fish Farming Technol., 9-12 August, 1993, pp. 109-115.
- 17-Dobbeleir, J., Adam, N., Bossuyt, E., Bruggeman, E. and Sorgeloos, P., 1980. New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (Eds.), The brine shrimp *Artemia* Volume 3. Ecology, Culturing, use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 165-174.
- 18-Estévez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G., Sargent, J.R., 1998. Effects of temperature and starvation time on the pattern and rate of loss of essential fatty acids in *Artemia* nauplii previously enriched using arachidonic acid and eicosapentaenoic acid-rich emulsions. *Aquaculture* 165, 295-311.
- 19-Evjemo J.O., Coutteau, P., Olsen, Y. and Saegeloos, P., 1997. The stability of docosahexaenoic acid in two *Artemia* species following enrichment and subsequent starvation. *Aquaculture*, 155:135-145.
- 20-Evjemo J.O., Danielsen, T. L. and Olsen, Y., 2001. Losses of lipid, protein and n-3 fatty acids in enriched *Artemia franciscana* starved at different temperatures *Aquaculture*, Volume 193, Issues 1-2, 1 February 2001, Pages 65-80.
- 21-Evjemo, J.O., 2001. Production and nutritional adaptation of the brine shrimp *Artemia* sp. As live food organism for larvae of marine cold water fish species. PhD thesis, Faculty of Chemistry and Biology, Norwegian University of Science and Technology. Trondheim, Norway, pp. 17-45.
- 22-Fábregas, J., Otero, A., Morales, E.D., Arredondo-Vega, B.O. and Patino, M., 1998. Modification of the nutritive value of *Phaeodactylum tricornutum* for *Artemia* sp. In semicontinuous cultures. *Aquaculture* 169, 167-176.
- 23-Figueiredo, J., Woesik, R. V, Lin, J. and Narciso, L., 2009. *Artemia franciscana* enrichment model How to keep them small, rich and alive. *Aquaculture*, 294, 212-220.
- 24-Furuita, H., Takeuchi, T., Toyota, M. and Watanabe, T., 1996. EPA and DHA requirements in early juvenile red sea bream using HUFA enriched *Artemia* nauplii. *Fish. Sci.* 62, 246-251.
- 25-Gandy, R.L., Samocha, T.M., Masser, M.P., Fox, J.M., Ali S.A.M., Gatlin III, D.M. and Speed, M., 2007. The effect of unilateral eyestalk ablation and diet on the reproductive performance of wild-caught *Feneropenaeus aztecus* (Ives, 1891) using a closed recirculating maturation system. *Aquaculture. Res.* 38, 580-587.
- 26-Gerg G. Smith, Arthur J. Ritar, Charles F. Phleger, Matthew M. Nelson, Ben Mooney, Peter D. Nichols, Piers R. Har, 2002. Changes in gut content and composition of juvenile

- Artemia after oil enrichment and during starvation. *Aquaculture*, Volum 208, Issues 1-2, Pages 137-158.
- 27-Han, K., Guerdon, I. and Sorgeloos, P., 2000b. Comparison of docosahexaenoic acid 22:6n3 levels in various Artemia strains during enrichment and subsequent starvation. *J. World Aquaculture. Soc.* 31, 469-475.
- 28-Han, K., Geurden, I. and Sorgeloos, P., 2001. Fatty acid changes in enriched and subsequently starved *Artemia franciscana* nauplii enriched with different essential fatty acids. *Aquaculture* 199, 93-105
- 29-Kanazawa, A., Teshima, S. and Endo, M., 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol.* 63 B: 295-298.
- 30-Lavens, P. & Sorgeloos, P., 1991. Production of *Artemia* in culture tanks, p. 317-350. *In* R.A. Brown, P. Sorgeloos & C.N.A. Trotman (eds.). *Artemia Biology*. CRC, Boca Raton, Florida, USA. 374p.
- 31-Léger, P., Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P., 1983. International study on *Artemia* XXIV. Cold storage of life *Artemia* nauplii from various geographical sources: potentials and limits in aquaculture. *Aquaculture Eng.* 2: 69 - 78.
- 32-Léger, P., Bengtson, D.A., Simpson, P.M. and Sorgeloos, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24, 521-623.
- 33-Léger, P., Bengtson, D.A., Sorgeloos, P., Simpson, K.L. and Beck, A.D., 1987. The Nutritional Value of *Artemia*: a review. *In*: sorgeloos, p., Bengtson, D.A., Decleir, W. Jaspers, E. (Eds.), *Artemia research and its application. Ecology, culturing, use in Aquaculture*, Vol 3. universa press, wettern, pp. 357-372.
- 34-Léger, Ph., Naessens-Foucquaert, E. and Sorgeloos, P., 1987. International study on *Artemia*: XXXV. Techniques to manipulate the fatty acid profile in *Artemia* nauplii and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* M. *In*: Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Decleir, W., Jaspers, E. Eds., *Artemia Research and its Applications. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture*, vol. 3. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 411-424.
- 35-Lim, L., Soh, C., Dhert, A., Sorgeloos, P., 2001. Production and application of ongrown *Artemia* in freshwater ornamental fish farm. *Aquaculture. Econ. Manage.* 5, 211-228
- 36-Luong-Vang, T., Renaud, S.M., and Parry, D.L., 1999. Evaluation of recently isolated Australian tropical microalgae for the enrichment of the dietary value of brine shrimp, *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 170: 161-173.
- 37-Majack, T.J., Rust, M.B., Masee, K.C., Kissil, G.W., Hardy, R.W. and Peterson, M.E., 2000. Bioencapsulation of erythromycin using adult brine shrimp, *Artemia franciscana* (Latreille). *J. Fish. Dis.* 23: 71-76.
- 38-Malpica Sanchez, A., Castro Barrera, T., Sandoval Trujillo, H., Castro Mejía, J., De Lara Andrade, R. and Castro Mejía, G., 2004. Composición del contenido de ácidos grasos en tres poblaciones mexicanas de *Artemia franciscana* de aguas epicontinentales. *Rev. Biol. Trop.* 52: 297-300.
- 39-McGovern Hopkins, K., Spencer, A.W., Kawahigashi, D. and Sorgeloos, P., 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. *Aquaculture* 155, 87-101.
- 40-Monroig, O., Navarro, J. C., Amat, F. and Hontoria, F., 2007. Enrichment of *Artemia* Nauplii in vitamin A, C, and methionine using liposomes. *Aquaculture*, Volume 269, Issue 1-4, 14 September 2007, Pages 504-513.
- 41-Millamena, O.M., Primavera, J.H., Pudadera, R.A. and Caballero, R.V. 1986. Effect of diet on the reproductive performance of pond-reared *Penaeus monodon* Fabricius

- broodstock, pp. 593-596. In: Maclean JL, Dizon LB, Hosillos LV (eds) The First Asian Fisheries Forum. Manila, Philippines. Asian Fisheries Society.
- 42-Naegel, L.C.A., 1999. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae *Chaetoceros sp.* *Aquaculture*, Engin. 21, 49-59.
- 43-Naessens, E., Lavens, P., Gomez, L., Browdy, C.L., McGovernhopskins, K., Spencer, A.W., Kawahigashi, D. and Sorgeloos, P., 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. *Aquaculture* 155, 87-101.
- 44-Narciso, L., Pousao-Ferreira, P., Passos, A. and Luis, O., 1999. HUFA content and DHA/EPA improvements of *Artemia sp.* with commercial oils during different enrichments periods. *Aquaculture*. Res. 30, 21- 24.
- 45-Narciso, L. and Morais, S., 2001. Fatty acid profile of *Palaemon serratus* (Palaemonidae) eggs and larvae during embryonic and larval development using different live diets. *J. Crustacean. Biol.* 21, 566-574.
- 46-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.
- 47-Nellen, W., Quantz, G., Witt, U., Kuhlmann, D. & Koske, P.H. 1981. Marine fish rearing on the base of an artificial food chain. European Mariculture Society, Special Publication No. 6, Research on Intensive Aquaculture, pp. 133-147.
- 48-Odile, S.M., Claire, C., Derrien, A., Coiffard, L. and Roeck-Holtzhauer, D., 1994. Fatty acid composition of some marine microalgae. *Photochemistry* 36 (3): 691-693.
- 49-Persoone, G. & Sorgeloos, P., 1980. General aspects of ecology and biogeography of *Artemia*. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O., Jaspers, E. (eds.), *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 3-24.
- 50-Rasowo, J., Devresse, B., Leger, P. and Sorgeloos, P., 1995. Growth, survival, stress resistance and development rate of larval *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) fed *Artemia* nauplii enriched with w3-highly unsaturated fatty acids. *Kenya J. Sci. Technol.*, Ser. B 11, 23-31.
- 51-Ritar, A. J., Dunstan, G. A., Nelson, M. M., Brown, M. R., Nichols, P. D., Thomas, C. W., Smitha, E. G., Crear, B. J. and Kolkovski, S., 2004. Nutritional and bacterial profiles of juvenile *Artemia* fed different enrichments and during starvation. *Aquaculture*. 239, 351-373.
- 52-Rees, J.F., Cure, K., Piyatiratitivorakul, S., Sorgeloos, P. and Menasveta, P., 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture* 122, 193- 207.
- 53-Reeve, M.R., 1963. The Filter-Feeding of *Artemia*: II. In *Suspensions of various Particles*. *J. Exp. Biol.* 40, 207-214.
- 54-Sakamoto, M., Holland, L. and Jones, D.A., 1982. Modification of the nutritional composition of *Artemia* by incorporation PUFAs using micro-encapsulated diets. *Aquaculture*, 28: 311-320.
- 55-Sargent, J.R., Bell, J.G. and McEvoy, L.A., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155, 117-127.
- 56-Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. and Estévez, A., 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, 177, 191-199.
- 57-Sargent, J., McEvoy, L., Estévez, A., Bell, G., Bell, M. and Henderson, J., Tocher, D., 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217- 229.

- 58-Seixas, P., Rey-Méndez, M., Valente, M.P., Luís, a. and Otero, A. 2010. High DHA content in *Artemia* is ineffective to improve *Octopus vulgaris* paralarvae rearing. *Aquaculture*, 300, 156–162.
- 59-Smith, G.G., 1999. Effects of temperature during embryonic development on the characteristics of *Jasus edwardsii* phyllosoma. Thesis, University of Tasmania, pp. 58.
- 60-Smith, G.G., Ritar, A.J., Phleger, Ch. F., Nelson, M.N., 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.
- 61-Sorgeloos, P., 1980. The used brine shrimp *Artemia* aquaculture. In: persoons, G., sorgeloos, P., Roeds, O., Jasper, E. (Eds.), The brine shrimp *Artemia*. Ecology, culturing, use in Aquaculture, Vol. 3. Universa Press, Wetteren, Vol.3, pp.25-46.
- 62-Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W. and Versichele, D., 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. *Artemia* Reference Center, university of Ghent, Belgium, 319pp.
- 63-Sylvester, J., Sato, V., Garvey, J., Smith, B. and Kawahigashi, D., 2002. The Use of Omega-3 Enriched *Artemia* Biomass in the Larviculture of *Penaeus vannamei*. Kahuku Shrimp Company, Kahuku, Hawaii San Francisco Bay Brand, Newark, California
- 64-Tamaru, C.S., 1999. Enrichment of *Artemia* for Use in Freshwater Ornamental Fish Production. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, Publication #133.
- 65-Teresita, D.N.J.M., Leticia, G.R. and Miguel, A.O., 2004. Evaluation of *Artemia* biomass production in San Crisanto, Yucatán, Mexico, with the use of poultry manure as organic fertilizer. *Aquaculture* 219, 573- 584.
- 66-Teresita, D.N.J.M. & Leticia G.R., 2005. Biomass production and nutritional value of *Artemia* sp. (Anostraca: Artemiidae) in Campeche, Mexico. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 53, 447-454
- 67-Triantaphyllidis, G.V., Coutteau, P. and Sorgeloos, P., 1995. The stability of n-3 highly unsaturated fatty acids in various *Artemia* populations following enrichment and subsequent starvation. In: Lavens, P., Jasper, E., Ž. Roelants, I. Eds., Larvi 95 Fish and Shellfish Symposium. European Aquaculture Society, Special Publication, vol. 24, pp. 149–153.
- 68-Watanabe, T., Oowa, F., C. Kitajima, C., Fujita, S., 1978. Nutritional quality of brine shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 44:1115-1121.
- 69-Watanabe, T., Oowa, F., Kitajima, C. and Fujita, S., 1980. Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of w3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46: 35-41.
- 70-Watanabe, T., 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73B: 3-15.
- 71-Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34, 115-143.
- 72-Watanabe, T., 1993. Importance of docosahexaenoic acid marine larval fish. *J. World Aquaculture soc.*, 24:152-161.
- 73-Wear, R. G. & Haslett, S.J., 1987. Studies on the biology and ecology of *Artemia* from Lake Grassmere, New Zealand. In: Sorgeloos, P., Bengtson, D. A., Declair, W., Jaspers, E. (eds), *Artemia* Research and its Applications, Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press. Wetteren, Belgium, pp. 101-133.
- 74-Wouters, R., Zambrano, B., Espin, M., Calderon, J., Laven, P. and Sorgeloos, P., 2002. Experimental broodstock diets as partial fresh food substitutes in white shrimp *Litopenaeus vannamei* B. *Aquacult. Nutr.* 8, 249-256.

---

75-Wurtsbaugh, W.A. & Gliwicz, Z.M., 2001. Limnological control of brine shrimp population dynamics and cyst production in the Great Salt Lake, Utah. *Hydrobiologia* 466, 119-132.

76-Zmora, O., Avital, E. and Gordin, H., 2002. Result of an attempt for mass production of *Artemia* in extensive ponds. *Aquaculture*, 213, 395-400.