Archive of SID

اقیانوس‌شناسی/ سال دهم/ شماره ۳۹/ پاییز ۶۲/۸/۱۳۹۸-۵۵

غنی‌سازی جلبک دونالیلا و آرتمیای بکرزا ارومیه با روی معدنی

شاهین نهالی[۱]، نصراله احمدی‌فرد[۲*]، ناصر آق[۳]، ناصر صمدی[٤]

۱- کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیکی: shahin_n1370@yahoo.com

۲- استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیکی: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

۳- دانشیار گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش، پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیکی: agh1960@gmail.com

٤- دانشیار گروه شیمی تجزیه، فیزیک و کاربردی، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیکی: samadi76@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۷ * نویسنده مسوول تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۲۶

چکیده

سطح مواد معدنی از جمله روی در آرتمیا جهت رشد و نمو لارو ماهیان حائز اهمیت می‌باشد. در تحقیق حاضر غنی‌سازی جلبک *Dunaliella salina* با روی سولفات و تاثیر آن بر میزان انباشت روی در *Artemia parthenogenetica* مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا میزان غنی‌سازی جلبک *D. salina* در ۲ آزمایش بررسی شد. در آزمایش اول از ٤ غلظت صفر (شاهد)، ۰/٤، ۰/۸ و ۱/٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی در ٤ زمان ۱، ٦، ۱۲ و ۲٤ ساعت استفاده شد. در این مرحله میزان تجمع روی در جلبک وابسته به غلظت روی و زمان غنی‌سازی بود. با توجه به نتایج مرحله اول در آزمایش دوم از ۳ غلظت ۰/۸، ۱/٦ و ۳/۲ میلی‌گرم روی سولفات در کنار تیمار شاهد به مدت زمان یک ساعت استفاده شد. بیشترین ($\mu g\ g^{-1}$ ۲٦٤±۲/۹) و کمترین ($\mu g\ g^{-1}$ ۷۲±۰/۷) میزان روی در جلبک در تیمار ۳/۲ و تیمار شاهد مشاهده شد. از نتایج آزمایش دوم برای بررسی میزان انباشت روی در آرتمیا استفاده شد و براساس نتایج، میزان روی در آرتمیا در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند ($P < ۰/۰۵$). بیشترین ($\mu g\ g^{-1}$ ۸۹/۵۹±۲/۰۵) و کمترین ($\mu g\ g^{-1}$ ٥۰/۸۹±٤/٦) انباشت روی به ترتیب در تیمار ۳/۲ میلی‌گرم و تیمار شاهد مشاهده شد. براساس نتایج جلبک *D. salina* قابلیت بالایی برای غنی‌سازی با روی سولفات دارد و همچنین سبب افزایش معنی‌داری در میزان روی در آرتمیا می‌شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود از جلبک غنی‌شده با روی برای بهبود میزان انباشت روی در بدن آرتمیا استفاده شود.

کلمات کلیدی: *آرتمیای بکرزا ، روی معدنی، جلبک D. salina، غنی‌سازی.*

۱. مقدمه

با توجه به محدودیت‌های بهره برداری آبزیان از دریاها و منابع آب شیرین، صنعت آبزی‌پروری بعنوان مکملی برای بهره‌وری از منابع طبیعی، مورد توجه قرار گرفته است. براساس مطالعات، بهترین نتایج تکثیر و پرورش ماهیان دریایی در صورت استفاده از غذای زنده می‌باشد (Cahu and Infante, 2001). به لحاظ وجود کارگاه‌های متعدد پرورش ماهی و نیاز به غذای زنده در مقادیر زیاد، پرورش غذای زنده از توسعه و تکامل چشمگیری برخوردار است. بدیهی است ارزش غذای زنده از نظر پروتئین،

www.SID.ir

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

چربی، اسیدآمینه‌های ضروری، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و سایر اجزاء جهت رشد و نمو لارو ماهیان به ویژه ماهیانی با دستگاه گوارش کاملاً توسعه نیافته، بسیار مهم هستند (Agh et al., 2011).

آرتمیا یکی از مهمترین غذاهای زنده در آبزی پروری است که با داشتن ویژگی‌هایی مانند پرورش آسان، قابلیت دسترسی و نگه‌داری آن به مدت طولانی به طور گسترده‌ای در آبزی‌پروری نقش دارد (Bengston, et al., 1991 ؛Van Stappen, 1996). آرتمیا از نظر تغذیه‌ای صافی‌خوار غیرانتخابی است و از میکروفلور خارجی همچون جلبک‌ها به خوبی تغذیه می‌کند (Sorgeloos et al., 1986). با گسترش صنعت آبزی پروری و نیاز به آرتمیا در پرورش و تغذیه میگو و ماهیان، می‌توان از آرتمیا پس از اعمال غنی‌سازی، به عنوان حامل برای انتقال انواع مواد غذایی، ویتامین‌ها، موادمعدنی و آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه انواع آبزیان استفاده کرد (Sorgeloos et al., 1986).

مواد معدنی در غذای آبزیان ضروری هستند و به دو دسته عناصر پرنیاز و عناصر کمیاب تقسیم می‌شوند. این عناصر علاوه بر رشد و بازماندگی لارو در اعمال حیاتی بدن از قبیل توسعه سیستم عصبی و رنگیزه‌ای، مستحکم کردن اسکلت خارجی، ایجاد تعادل در واکنش‌های اسیدی- بازی و ایجاد موازنه اسمزی نقش دارند (Matsumoto et al., 2009 ؛Penglas et al., 2011). آبزیان قادرند مواد معدنی را نه تنها از طریق غذا، بلکه از طریق آب نیز جذب نمایند. به همین دلیل تخمین مقدار درست آن مشکل است. ترکیباتی معدنی را می‌توان به غذای آبزیان اضافه نمود یا اینکه غذای زنده را با مواد معدنی غنی‌سازی کرد (Penglas et al., 2011). در تفریحگاه‌های پرورش ماهی بویژه ماهیان دریایی به دلیل محدودیت غذا نسبت به محیط‌های طبیعی استفاده از غذاهای زنده غنی‌شده می‌تواند سبب افزایش بقاء لارو ماهی گردد (Matsumoto et al., 2009). با توجه به این که مراحل لاروی ماهیان دریایی، ماهیان زینتی و سخت پوستان وابسته به غذاهای زنده می‌باشد و نمی‌تواند از جیره غذایی تجاری استفاده نمایید؛ بنابراین مواد معدنی باید بصورت غنی‌شده با غذاهای زنده استفاده گردد. از روش‌های شناخته شده برای غنی‌سازی ترکیباتی از جمله اسیدهای چرب و ویتامین‌ها نمی‌تواند برای عنصر روی مورد استفاده قرار گیرد؛ چون عنصر روی محلول در آب می‌باشد (Nematzadeh et al., 2018).

روی به عنوان یک ترکیب فعال‌کننده یا کوفاکتور برای بسیاری از سیستمهای آنزیمی، نقش حیاتی در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدراتها ایفا می‌کند و همچنین در فعالیت‌های متابولیکی از جمله حفظ غدد تناسلی در ماهیان نر نقش دارد (Jalali-Jafari and Aghazadeh meshgi, 2007). نیازهای تغذیه‌ای ماهیان به عنصر روی ۱۵ تا ٤٠ میلی‌گرم و میگوها ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره است (Chen et al., 2014 ؛Matsumoto et al., 2009). در مطالعه Nguyen و همکاران (۲۰۰۸) مقدار روی در آرتمیا (*Artemia franciscana*) غنی‌نشده به میزان ۱۰٤ میکروگرم بر گرم وزن خشک گزارش شده که این مقدار روی کمتر از میزان نیاز برای لارو ماهیان می باشد. مقدار روی در گونه‌های مختلف آرتمیا متفاوت می‌باشد، مقدار روی در آرتمیای بکرزا به طور طبیعی ۲۰ تا ۲۵ میکروگرم به ازای هر گرم وزن تر (Martinez et al., 1998) و در سیست‌ها و بالغین *A. salina* به ترتیب ۷۵ و ٦۰ میکروگرم به ازای هر گرم وزن خشک است (Aloui et al., 2007) که کمتر از مقدار ضروری برای ماهیان می باشد (Nguyen et al., 2008). آرتمیای غنی شده با روی می‌تواند باعث بهبود رشد و جلوگیری از استرس در ماهیان تغذیه شده است (Nguyen et al., 2008). با توجه به اهمیت مواد معدنی در ماهیان دریایی، تلاش زیادی برای افزودن مواد معدنی و افزایش آن در غذای زنده صورت گرفته است. در مطالعه Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) روش‌های کاربردی غنی‌سازی روتیفر آب شور *Brachionus plicatilis* با عنصر روی ارائه شده است. آنها بیان کردند که جلبک کلرلای غنی‌شده با روی نقش موثرتری بر انباشت روی در روتیفر دارد. جلبک نقش بسیار مهمی در پرورش آبزیان داشته (Kawamura et al., 1988) و می‌توانند به عنوان حامل مواد مغذی ضروری برای مصرف کنندگان باشند. علاوه بر آن براساس نیاز به مواد معدنی در غذاهای زنده از جمله آرتمیا نیز می‌توان از جلبک‌ها به عنوان واسط جهت به حداکثر رساندن مواد معدنی مورد نظر استفاده کرد. جمیت‌های بکرزای آرتمیا در آبهای مختلف از جمله دریاچه ارومیه (Agh et al., 2007)، یونان و ترکیه (Saygi, 2004) یافت می‌شود؛ و بیان شده است که آرتمیاهای بکرزا توانایی زیادی در تحمل دماهای بالا را دارند و ترکیب اسیدهای چرب سیست‌های آنها در آبزی پروری، بخصوص در تغذیه لاروی ماهیان دریایی، از کیفیت بالایی برخوردار است (Saygi, 2004). از این رو در تحقیق حاضر امکان غنی‌سازی جلبک *Dunalialla salina* با روی معدنی (روی سولفات) و تاثیر آن بر میزان انباشت روی در *Artemia parthenogenetica* اطراف دریاچه ارومیه مورد بررسی قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

۲. روش کار

۲-۱ کشت جلبک

تحقیق حاضر در پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری دانشگاه ارومیه انجام گردید. ذخیره اولیه جلبک *D. salina* از آزمایشگاه جلبک این پژوهشکده تهیه شد. برای کشت آن از محیط کشت کانوی استفاده شد که طبق رورش استاندارد ۱ میلی‌لیتر از مواد مغذی ضروری و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ویتامین به ازای هر لیتر محیط کشت جلبک اضافه شد (Walne, 1966). جلبکها بعد از برداشت با کمک سانتریفیوژ تغلیظ شدند و تراکم آن طبق دستورالعمل Coutteau و همکاران (۱۹۹۲) به میزان $۱۰^{۶}$ ×۱۸ سلول در میلی‌لیتر رسانده شد و سپس برای غنی‌سازی در تاریکی و دمای یخچال قرار داده شدند.

۲-۲ غنی سازی جلبک

۲-۲-۱ آزمایش اول

به منظور غنی‌سازی جلبک *D. salina* با عنصر روی، ابتدا ۳ استوک مختلف با غلظت ٤، ۸، ١٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از روی سولفات براساس مطالعات López-Suárez و همکاران (۲۰۰۰) و همچنین Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) تهیه شد. از هر کدام از غلظت‌های فوق، به میزان ۲ میلی‌لیتر برداشته و به طور جداگانه داخل لوله فالکون حاوی ۱۸ میلی‌لیتر جلبک با تراکم ۱۰٦ ×۱۸ سلول در میلی‌لیتر اضافه شد تا غلظت‌های روی سولفات در محیط غنی‌سازی به ترتیب ۰/٤، ۰/۸ و ۱/٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باشد. سپس لوله فالکون‌ها در چرخاننده (روتاتور) در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفت. در زمان‌های مختلف ۱، ٦، ۱۲ و ٢٤ ساعت نمونه‌ها برداشت شد و سپس برای جداسازی محلول اضافی حاوی روی با دور ۷۰۰۰ دور دقیقه به مدت ٦ دقیقه سانتریفیوژ و قسمت فوقانی دور ریخته شدند. جلبک‌های غنی شده و رسوب کرده در ظرف چند بار با آب مقطر شسته شد و جهت بررسی میزان انباشت روی مورد آنالیز قرار گرفت.

۲-۲-۲ آزمایش دوم

در این مرحله براساس نتایج آزمایش اول از ۳ غلظت ۰/۸، ۱/٦ و ۳/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی سولفات برای بررسی میزان غنی‌سازی در مدت زمان یک ساعت استفاده گردید. مراحل انجام کار همانند آزمایش اول براساس مطالعات López-Suárez و همکاران (۲۰۰۰) و همچنین Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) انجام گرفت. از جلبک غنی‌شده این مرحله از آزمایش برای تغذیه آرتمیا استفاده شد.

۲-۳ تهیه آرتمیا و تغذیه با جلبک غنی‌شده

سیست آرتمیا بکرزای اطراف دریاچه ارومیه (*Artemia parthenogenetica*) از پژوهشکده آرتمیا و آبزی‌پروری دانشگاه ارومیه تهیه گردید. در شرایط استاندارد با شوری ۳۳ppt، pH ۸ و دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ٢٤ ساعت تفریخ شدند. ظروف تفریخ به وسیله دو لامپ مهتابی از فاصله ۳۰ سانتی‌متری در طول انکوباسیون نوردهی شد. جهت بررسی میزان انباشت روی در بدن آرتمیا درون بطری‌های یک و نیم لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری ۷۰ گرم بر لیتر، تعداد ۵۰۰ عدد ناپلی تازه تفریخ شده آرتمیا بکرزا اضافه شد و درون آکواریوم با دمای $^{\circ}C$ ۰/۵ $\pm$ ٢٦ قرار داده شده و تا روز ۲۱ام تحت شرایط استاندارد در ٤ تیمار شامل گروه اول) تغذیه آرتمیا با جلبک بدون غنی‌سازی؛ گروه دوم) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۰/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ؛ گروه سوم) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۱/٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و گروه چهارم) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۳/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی تغذیه شدند. تغذیه آرتمیاها با سه تکرار تا پایان روز ۲۱ ام طبق جدول استاندارد غذادهی آرتمیا (Coutteau et al., 1992) و دو بار در روز انجام شد. به منظور جلوگیری از تنش شوری و برای جبران تبخیر آب، بصورت روزانه از آب مقطر جهت ثابت نگه داشتن شوری محیط پرورش آرتمیا استفاده گردید. همچنین طبق پروتکل استاندارد (Coutteau et al., 1992) در روزهای ۳، ۵، ۸، ۱۱، ۱۵ و ۱۸ تعویض آب صورت گرفت.

۲-۴ بررسی میزان تجمع روی در جلبک و آرتمیا

نمونه‌های جلبک بعد از سانتریفیوژ و نمونه‌های آرتمیا بعد از شستشو با آب به عنوان ماده مرطوب برای آنالیز مواد معدنی استفاده شد. نمونه‌های مرطوب در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت خشک شدند و سپس برای آنالیز مواد معدنی با

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

اسید نیتریک (۵۰ درصد) هضم شدند و با آب مقطر تا حجم ۵۰ برابر رقیق‌سازی انجام شد. غلظت عنصر روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی مدل Analytic (nov AA 400 Jena,Germainy) بدست آمد (Lowry and Lopez., 1946).

۲-۵ تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS با نسخه ۲۱ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. بعد از انجام آزمایش، نرمال بودن داده‌های خام با استفاده از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف بررسی شد. برای آنالیز داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey استفاده شد. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها $p\leq$۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند.

۳. نتایج و بحث

۳-۱ میزان روی در جلبک غنی‌شده

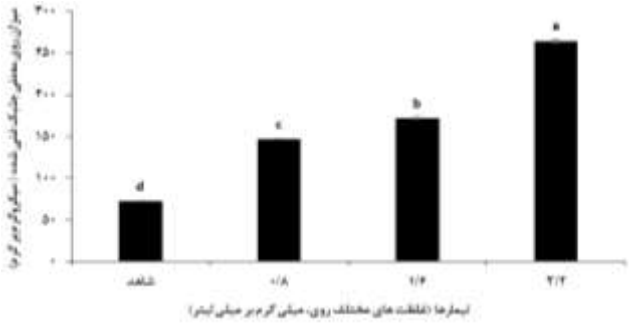
نتایج حاصل از غنی‌سازی جلبک دونالیلا در ٤ زمان مختلف ۱، ٦، ۱۲ و ٢٤ ساعت در جدول ۱ آمده است. این آزمایش برای بررسی بهترین زمان غنی‌سازی با ۳ غلظت روی استفاده شد. براساس نتایج در مدت زمان یک ساعت و غلظت بالای روی میزان غنی‌سازی به طور معنی‌داری افزایش یافت. با افزایش مدت زمان غنی‌سازی در تیمار پایین روی (۰/٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) میزان روی در جلبک افزایش داشت. در مدت زمان ٦ ساعت و تیمار ۱/٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزایش معنی‌داری در میزان روی نسبت به مدت زمان یک ساعت داشت. با توجه به افزایش میزان غنی‌سازی جلبک در غلظت-های بالاتر بعد از یک ساعت و به دلیل عملیاتی بودن در مراکز تکثیر و هزینه پایین آن در مدت زمان یک ساعت، در آزمایش دوم میزان غنی‌سازی در غلظت بالاتر روی به عنوان روش جایگزین برای غنی‌سازی استفاده گردید که نتایج آن در نمودار ۱ آمده است.

جدول ۱: می‌زان روی در جلبک *Dunaliella salina* (می‌کروگرم بر گرم وزن تر) در غلظت های مختلف روی در مدت زمان ۱ تا ۲۴ ساعت

تیمارها*	زمان‌های غنی سازی				
	شروع	۱	۶	۱۲	۲۴
شاهد	۱۳/۳۹	۱۳/۳۹ ± ۰/۰۵^{d}	۱۴/۵۸ ± ۰/۰۳^{c}	۱۰/۸۰ ± ۰/۰۱^{c}	۱۹/۰۳ ± ۰/۰۳^{c}
۰/۴	۱۳/۳۹	۱۵/۸۱ ± ۰/۰۳^{c}	۱۳/۴۶ ± ۰/۰۲^{c}	۹/۸۴ ± ۰/۰۱^{c}	۱۵/۴۹ ± ۰/۰۱^{d}
۰/۸	۱۳/۳۹	۲۹/۰۶ ± ۰/۲۰^{a}	۳۰/۸۶ ± ۰/۰۲^{b}	۳۷/۳۳ ± ۰/۰۴^{b}	۴۸/۲۸ ± ۰/۰۵^{b}
۱/۶	۱۳/۳۹	۲۰/۴۰ ± ۰/۰۱^{b}	۵۲/۵۴ ± ۰/۰۴^{a}	۴۷/۸۶ ± ۰/۰۴^{a}	۵۷/۵۱ ± ۰/۰۶^{a}

* اعداد در تی‌مارها به صورت میلی‌گرم بر میلی‌لی‌تر روی سولفات می‌باشد. حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

در نمودار ۱ مشخص شد که میزان روی در تیمار ۳/۲ میلی‌گرم حداکثر مقدار را داشته و تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۰/۸ و ۱/٦ میلی‌گرم نشان داد ($p<$۰/۰۵). کمترین میزان روی جذب شده در جلبک در تیمار شاهد مشاهده گردید. طبق نتایج به دست آمده با افزایش میزان روی در محیط توانایی جلبک برای جذب روی نیز افزایش یافته است.



نمودار ۱: میزان روی غنی شده در جلبک *Dunaliella salina* بعد از مدت زمان یک ساعت

نتایج غنی‌سازی جلبک *D. salina* با روی سولفات نشان داد که این جلبک توانایی جذب کاتیون دو ظرفیتی روی در مدت زمان کوتاه را دارد. همچنین میزان جذب این عنصر توسط جلبک وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت روی در محیط توانایی جذب روی توسط جلبک افزایش یافت. در روش حاضر ابتدا جلبک در شرایط عادی کشت شده و بعد از برداشت و تغلیظ آن جهت غنی‌سازی استفاده گردید. براساس این که مدت زمان یکساعت برای غنی‌سازی جلبک تغلیظ شده از نظر عملیاتی بودن در تفریخگاه‌ها قابل توجیه می‌باشد، در آزمایش دوم در مدت زمان یکساعت و تاکید بر غلظت بالاتر روی در تیمار ۳/۲ میلی-گرم حداکثر تجمع روی در جلبک بدست آمد. Santos و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که جذب فلزات سنگین توسط جلبک در دو فاز سریع و آهسته اتفاق می‌افتند. در فاز اول ماده

www.SID.ir

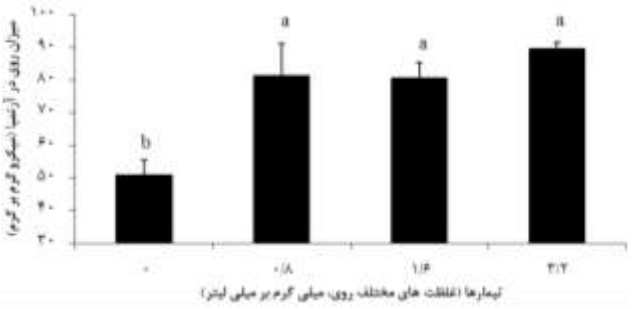
Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

معدنی در سطح جلبک به سرعت افزایش پیدا می‌کند که این نوع جذب بیشتر برای فلزات با ۲ بار مثبت اتفاق می‌افتد. در حالی که در فاز دوم میزان ماده از طریق متابولیسم به آرامی و درون سلول جلبک افزایش می‌یابد. فاز دوم جذب ماده معدنی زمانی اتفاق می‌افتد که ماده معدنی در طول رشد جلبک به محیط کشت آن اضافه گردد؛ اگر چه افزودن غلظت‌های بالاتر ماده معدنی به محیط کشت به دلیل ترکیب با اجزای داخل سلولی می‌تواند اثرات سمی بر روی جلبک داشته باشد(Kaplan, 2013). Moreno-Garrido و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که استفاده از عنصر مس در محیط کشت جلبک تفاوتی در مقدار این عنصر بعد از یک روز ایجاد نکرد اما Filipa و Santos (۲۰۱۵) بیان کردند زمانی که سلنیوم به صورت مستقیم به محیط کشت اضافه شود، جلبک *Isochrysis galbana* توانایی غنی‌سازی تا ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم را دارد. بنابراین جلبکی که بتواند با عناصر مختلف مانند عنصر روی غنی شود می‌تواند برای افزایش این عنصر در روتیفر و آرتمیا مورد استفاده قرار گیرد. کلرلا به عنوان یک ریز جلبک توانایی جذب روی در بدن را دارد به صورت خشک (غیر زنده) می‌تواند تا مقادیر ۱۵۶۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم از روی را به خود جذب کند (Chojnacka et al., 2005). جلبک‌های *Chlorella*، *Nannochloropsis* و *Scenedesmus* می‌توانند منبع غنی از مواد معدنی، اسیدهای چرب بلند زنجیره و پروتئین باشند که نیازهای غذایی آبزیان از جمله ماهیان را تامین کند. به عنوان مثال صد گرم از جلبک *Nannochloropsis* می‌تواند ۱۰۳ میلی‌گرم از روی معدنی را به خود جذب کند. همچنین جلبک *Chlorella* و *Scenedesmus* می‌توانند روی و کروم را تا ۰/۲ درصد خودشان در توده خود تجمع نمایند (PAPG, 2013).

۳-۲ *میزان انباشت روی در آرتمیا*

نتایج مربوط به میزان انباشت روی در آرتمیای تغذیه شده از جلبک *D. salina* غنی از روی در نمودار ۲ نشان داده شده است. براساس نتایج میزان روی در تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی-داری با تیمار شاهد داشتند و کمترین میزان روی در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان روی در آرتمیا در تیمار ۳/۲ میلی‌گرم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۲: میزان روی در بیومس آرتمیای تغذیه شده با جلبک *D. salina* غنی از روی در ۲۱ روز دوره پرورش

در مطالعه حاضر استفاده از جلبک غنی‌شده با روی باعث انباشت روی در آرتمیا شد. به طوری که میزان عنصر روی از ۵۱ به ۸۹ میکروگرم بر گرم وزن آرتمیا در تیمار ۳/۲ افزایش یافت. در مطالعه‌ای مشابه توسط Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) استفاده از جلبک *Chlorella* sp. غنی‌شده با روی به مدت یک ساعت باعث افزایش میزان این عنصر در روتیفر *B. plicatilis* شد؛ به طوری که غنی‌سازی با جلبک غنی شده با ۱/٦ میلی‌گرم روی باعث افزایش این عنصر از ۵۸ به ٦٤۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک روتیفر شد، اگرچه استفاده از عنصر روی در آب محیط پرورش روتیفر به مدت ۲٤ ساعت تفاوت معنی‌داری در میزان عنصر روی آنها دیده نشد. Nematzadeh و همکاران (۲۰۱۸) از مخمر غنی شده با روی برای بررسی میزان تجمع روی در روتیفر استفاده کردند. آنها بیان داشتند که روتیفرهای تغذیه شده به طور قابل توجهی توانایی انباشت روی در بدن خود را دارند. Watanabe و همکاران (۱۹۹۷) بیان نمودند که دسترسی زیستی به مواد معدنی تحت تاثیر چندین عامل از جمله غلظت و شکل مواد مغذی، اندازه ذرات و قابلیت هضم مواد غذایی، اثرات متقابل مواد غذایی که می‌تواند مثبت یا منفی باشد، وضعیت فیزیولوژیکی و آسیب‌شناسی آبزی، غلظت مواد معدنی در آب و موجود آبزی مورد نظر می‌باشد. در تحقیقی Nordgreen و همکاران (۲۰۱۳) میزان عناصر ضروری سلنیوم، روی، مس و منگنز را در روتیفر *B. plicatilis* مورد بررسی قرار دادند و پی بردند که افزایش این عناصر به مقدار معادل آن در پاروپایان در طول دوره کشت روتیفر با جایگزینی ۵٪ جیره غذایی امکان‌پذیر است. تحقیق بر روی مقاومت و سازگاری روی در *Daphnia magna* نشان داده است که غلظت روی در این موجودات در غلظت‌های پایین روی در محیط کشت آنها تغییر معنی‌داری نداشته است. در مقابل موجودات رشد داده شده در محیط‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

حاوی مقادیر بالای روی دارای روی بیشتری بودند (Muyssen et al., 2002).

محققین گزارش کردند کاهش عنصر روی در آبزیان باعث ایجاد ضایعات پوستی، کاهش رشد، آب آوردگی شکم، کوتولگی و کاهش میزان عنصر روی در سرم خون می‌شود؛ بنابراین میزان کافی عنصر روی در جیره غذایی (غذای زنده یا تجاری) آبزیان برای حفظ سلامتی و رشد مطلوب ضروری می‌باشد (Hughes 1985; Park and Shimizu 1989).

Jakimska و همکاران (۲۰۱۱) بیان داشتند که روی، آهن، منگنز و مولیبدن برای زندگی موجودات ضرروی هستند و می‌توانند از طریق غذا، پوست و یا اندام‌های تنفسی وارد بدن شوند. این مواد بعد از ورود در بدن تجمع پیدا کرده و می‌توانند به سطوح غذایی بالا منتقل شوند. فرایند تجمع مواد در بافت و یا اندام‌های موجود زنده وابسته به گونه بوده و مرتبط به متابولیسم آنها می‌باشد (Prowe et al., 2006). در مطالعه Senthil Murugan و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد که میزان تجمع روی در اندام های کلیه، کبد و روده ماهی *Channa punctatus* وابسته به غلظت روی در غذای آنها بوده اما در بافت عضله میزان تجمع روی نسبت به تغییرات غلظت روی در غذا پایین‌تر از سایر اندام‌ها بدست آمد که همراستا با نتیجه مطالعه حاضر می‌باشد. Nguyen و همکاران (۲۰۰۸) تاثیر آرتمیای غنی‌شده با روی بر رشد و ترکیب لارو *Pagrus major* را مورد بررسی قرار داد. براساس یافته‌های آنها مقدار روی در گروه‌های تغذیه شده با مکمل روی نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. همچنین میزان بدشکلی اسکلتی در این گروه نیز کاهش معنی‌داری را نشان داد. همچنین Johari و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که ناپلی آرتمیا توانایی بالایی درجذب ذرات روی به صورت نانو ذره را دارند و همینطور می‌توانند ذرات جذب شده را تا مقادیر بالایی به ماهی دانیو گورخری انتقال دهند.

۴. نتیجه‌گیری

در جمع‌بندی این مطالعه مشخص شد که غنی‌سازی جلبک *D. salina* با روی سولفات سبب افزایش مقدار روی در جلبک شد. با توجه به افزایش میزان غنی‌سازی جلبک در غلظت‌های بالاتر بعد از یک ساعت و به دلیل عملیاتی بودن در مراکز تکثیر و هزینه پایین آن در مدت زمان یک ساعت می‌توان از غنی‌سازی کوتاه مدت جلبک با روی استفاده کرد. از طرف دیگر میزان غلظت روی در بیومس آرتمیا وابسته به غذای آنها بوده و استفاده از جلبک با مقادیر بالای روی سبب تجمع بیشتر روی در آرتمیا گردید اگر چه تفاوت معنی‌داری بین گروههای تغذیه شده با جلبک حاوی غلظت‌های مختلف روی مشاهده نشد. بنابراین با توجه به نیاز روی در ماهیان می‌توان از جلبک‌های غنی‌شده با روی در تغذیه آرتمیا استفاده کرد تا نیاز به روی در آنها تامین گردد.

منابع

Agh, N., Abatzopoulos, T.J., Kappas, I., Van Stappen, G., Razavi-Rouhani, S.M. and Sorgeloos, P., 2007. Coexistence of sexual and parthenogenetic Artemia populations in Lake Urmia and neighbouring lagoons. International Review of Hydrobiology, 92: 48-60. https://doi.org/10.1002/iroh.200610909

Agh, N., Kazemi, E., Meshkini, S., 2011. A survey on replacement of fish oil with vegetable oils for enrichment of *Artemia urmiana* naupli and its effect on survival and growth of rainbow trout larvae (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Animal, 26: 255-266.

Aloui, N., Amorri, M., Azaza, M., Chouba, C., 2007. Study of trace of trace Metals (Hg, Cd, Pb, Cu and Zn) in cysts and biomass of *Artemia salina* (Branchiopod Anostraca) from the salt work of sfax (Tunisia). Environment Contamination Toxicology, 52: 420-432.

Bengston, D., Leger, P.H. Sorgeloos, P., 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. *Artemia* Biology, 11: 255-285. https://doi.org/10.1201/9781351069892-11

Cahu, C. and Infante, J. Z. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. Aquaculture, 200: 161-180. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00699-8

Chen, H.Y., Cheng, Y.C., Hu, L.C. and Chen, M.H. 2014. Dietary zinc requirements of juvenile grouper,

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Persian)

Johari S A, Nemati, T., Dekani, L. 2016. Study on accumulation potential of zinc oxide nanoparticles in Artemia and its trophic transfer to Zebrafish (*Danio rerio*), Iranian Scientific Fisheries Journal, 25 (1): 21-28 (in Persian).

López-Suárez, C.E., Castro-Romero, J.M., González-Rodríguez, M.V., González-Soto, E., Pérez-Iglesias, J., Seco-Lago, H.M., Fernández-Solís, J.M., 2000. Study of the parameters affecting the binding of metals in solution by *Chlorella vulgaris*. Talanta 50, 1313–1318. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(99)00214-3

Lowry, O.H. and Lopez, J.A. 1946. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. Journal Biological Chemistry, 162: 421–428

Martinez, M., Del Ramo, J., Torreblanca, A., Diyas Mayans, J. 1998. Effect of cadmium exposure on zinc levels in the brine shrimp *Artemia parthenogenetica*. Aquaculture, 172: 315–325. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00431-1

Matsumoto, S., Satoh, S., Kotani, T. and Fushimi, H. 2009. Examination of a practical method for zinc enrichment of euryhaline rotifers (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture, 286: 113–120. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.09.012

Moreno-Garrido, I., Lubián, L.M. and Soares, A.M., 1999. In vitro populations of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller demonstrate inhibition when fed with copper-preaccumulating microalgae. Ecotoxicology and environmental safety, 44(2):220-225. https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1826

Murugan, S.S., Karuppasamy, R., Poongodi, K., Puvaneswari, S., 2008. Bioaccumulation pattern of zinc in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch.) after chronic exposure. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 8: 55-59.

Muyssen, B. T. A. & Janssen, C. R. 2002. Accumulation *Epinephelus malabaricus*. Aquaculture, 432: 360–364. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.020

Chojnacka, K., Chojnacki, A. and Gorecka, H. 2005. Biosorption of Cr3+, Cd2+ and Cu2+ ions by blue–green algae Spirulin sp kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. Chemosphere, 59:75–84. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.005

Coutteau, P., Brendonck, L., Lavens, P., and Sorgeloos, P., 1992. The use of manipulated bakers yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiologia, 234(1): 25-32. https://doi.org/10.1007/BF00010776

Filipa, T. and Santos, C. 2015. Incorporation of selenium on microalgae as supplement to *Artemia* and Zebra fish. Universida de do Algarve, Faro, Portugal: 55.

Hughes, G.M. and Tort, L., 1985. Cardio-respiratory responses of rainbow trout during recovery from zinc treatment. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological, 37(3): 255-266. https://doi.org/10.1016/0143-1471(85)90045-5

Kaplan, D. 2013. Absorption and Adsorption of Heavy Metals by Microalgae, in: A. Richmond, Q. Hu (Eds.), Handbook of Microalgal Culture Applied Phycology and Biotechnology, Wiley-Blackwell, https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch32

Kawamura, T., Roberts, R. D. and Nicholson, C. M. 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone Haliotis iris. Aquaculture, 160: 81-88. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00223-8

Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K., Namieśnik, J., 2011. Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms. Polish Journal of Environmental Studies 20: 1117-1125.

Jalali-Jafari, B and Aghazadeh meshgi, M. 2007. Fish intoxication by heavy metals and its significance on public health. First edition, Man puplication, 134pp (in

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from joc.inio.ac.ir at 8:59 IRDT on Wednesday May 20th 2020

Santos, F.M., Mazur, L.P., Mayer, D.A., Vilar, V.J., Pires, J.C., 2019. Inhibition effect of zinc, cadmium, and nickel ions in microalgal growth and nutrient uptake from water: An experimental approach. Chemical Engineering Journal, 366: 358-367. https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.080

Saygı, Y. 2004. Characterization of Parthenogenetic *Artemia* Populations from Çamaltı (Izmir, Turkey) and Kalloni (Lesbos, Greece): Survival, Growth, Maturation, Biometrics, Fatty Acid Profiles and Hatching Characteristics, Hydrobiologia, 527(1): 227–239. https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000043304.84579.d7

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

Van Stappen, G., 1996. Use of cycts. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture, 361: 107-136.

Walne, P.R., 1966. Experiments in the large scale culture of the larvae of Ostrea edulis. Fish Invest Lond, 25: 1–53.

Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C., Fukusho, K. and Fujita, S. 1978. Nutritional quality of rotifer Brachionus plicatilis as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. Nippon Suisan Gakkaishi, 44: 1109–1114. https://doi.org/10.2331/suisan.44.1109

Watanabe, T., Kiron, V. and Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture, 151(1-4): 185-207. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01503-7

and Regulation of Zinc in Daphnia magna: Links with Homeostasis and Toxicity. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 43(4): 0492–0496. https://doi.org/10.1007/s00244-002-1245-9

Nematzadeh, K., Ahmadifard, N., Samadi, N., Agh, N. and Ghaderpour, S. 2018. The effects of zinc-enriched Saccharomyces cerevisiae on the growth and mineral composition of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. International journal of aquatic Biology, 6(2): 88-94

Nguyen V. T., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi. H., Kotani. T. 2008. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae. Aquaculture, 285: 184–192. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.030

Nordgreen, A., Penglase, S., Hamre, K. 2013. Increasing the levels of the essential trace elements Se, Zn, Cu and Mn in rotifers (*Brachionus plicatilis*) used as live feed. Aquaculture, 380–383:120-129. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.032

Park, C.W. and Shimizu, C. 1989. Suitable Level of Zinc Supplementation to the Formulated Diets in Young Eel 1, 2. Nippon Suisan Gakkaishi, 55(12): 2137-2141. https://doi.org/10.2331/suisan.55.2137

PAPG, Patent Application Publication Ganuza. 2013. Microalgae as a mineral vehicle in aquafeeds. Pub. No.: US 2013/0205850 A1.

Penglase, S., Hamre, K., Sweetman, J.W. and Nordgreen, A., 2011. A new method to increase and maintain the concentration of selenium in rotifers (*Brachionus spp.*). Aquaculture, 315(1-2): 144-153. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.007

Prowe, F., Kirf, M., Zauke, G.-P., 2006. Heavy metals in crustaceans from the Iberian deep sea plain. Scientia Marina 70: 271-279. https://doi.org/10.3989/scimar.2006.70n2271

www.SID.ir