"مقاله پژوهشی"

تاثیر ریزجلبک *Nannochloropsis oculata* غنی‌شده با مکمل‌های تغذیه‌ایی ال-کارنیتین و ال-آرژنین بر پروفیل اسیدهای چرب و برخی پارامترهای رشد و بلوغ در *Artemia franciscana*

امیرمجتبی ستوده[1]، امیرهوشنگ بحری[1]*، علیرضا سالارزاده[1]

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۸

چکیده

ارزش‌غذایی و ویژگی‌های خاص آرتمیا سبب گردیده که به عنوان یک غذاومدل بیولوژیک در آبزی پروری استفاده شود. مکمل ال-کارنتین موجب تحریک اکسیداسیون اسیدهای چرب، افزایش احتباس نیتروژن و مقاومت استرس‌های محیطی و مکمل تغذیه ای ال-آرژنین در سنتز پروتئین، نیتریک اسید و هورمون رشد بر رشد و بقا موثر هستند. در این تحقیق تاثیر ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* غنی شده با مکمل‌های ال-کارنتین و ال-آرژنین بر رشد، استرس محیطی، هماوری مطلق و پروفایل اسید چرب در *آرتمیا فرانسیسکانا* بررسی‌گردید. این مکمل‌ها به صورت مجزا با دوزهای ۰ ، ۱ ،۱۰ ،۱۰۰ و۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اعمال شدند. سیست آرتمیا در شرایط خاص تفریخ و ناپلیوس ها با تغذیه از ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* با دو فرم غنی شده و بدون غنی سازی (تیمارکنترل) جداگانه در ۳۰ روزتغذیه گردید. تمام نتایج با یکدیگر مقایسه و نشان داد که بیشترین اسید چرب اشباع (SFA) در تیمارتغذیه غنی با ال-کارنتین ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به تیمارکنترل بود. بالاترین درصد تلفات شوک آمونیاکی مربوط به تیمارغنی با ۱ و۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-کارنتین بود،که با تیمار کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$) و کمترین آن مربوط به تیمار۱میلی گرم در لیتر ال-آرژنین و تیمار کنترل دیده شد. در شوک هیپوکسی بالاترین درصدتلفات درتیمارتغذیه با ال-کارنتین ۱ و ال-آرژنین ۱ و۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر وکمترین آن درتیمار تغذیه با ال-کارنتین۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شدکه همگی با تیمارکنترل اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($p<۰/۰۵$). در مولدین بالغ آرتمیا، کمترین شاخص‌های کیفی مربوط به تیمارتغذیه با ال-کارنتین در تمامی دوزها به جز دوز ۱۰۰۰ میلی-گرم در لیترآن و بالاترین آن مربوط به تیمار تغذیه از ال-آرژنین به جز دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه دوز۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-کارنتین بود، که با تیمارکنترل اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($p<۰/۰۵$). بیشترین مقدار هماوری مطلق مربوط به تیمار تغذیه‌ای غنی با ال-آرژنین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن تیمارکنترل بود،که نشان از تاثیر مثبت هر دو مکمل بر افزایش هماوری مطلق دارد. در مجموع نتایج نشان داد استفاده از مکمل‌های تغذیه‌ایی ذکر شده با میکروجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* در تغذیه *آرتمیا فرانسیسکانا* در دوزهای مشخص می‌تواند در افزایش تولید و کیفیت در صنعت آبزی پروری موثر باشد. بنابراین با توجه به شرایط استرس محیطی، بهبود عملکرد هماوری و حصول شاخص کیفی بالاتر می‌توان از دوزهای بهینه هر کدام از مکمل‌ها استفاده نمود.

کلمات کلیدی: *آرتمیا فرانسیسکانا*، *نانوکلروپسیس اکولاتا*، ال-کارنتین، ال-آرژنین، پروفایل اسیدهای چرب، هماوری

* عهده‌دار مکاتبات: amirbahri52@yahoo.com

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

مقدمه

طی دو دهه گذشته آرتمیا یا همان میگوی آب شور بسیار مورد توجه پرورش دهندگان آبزیان در زمینه مباحث نوین قرارگرفته و پیوسته تحت عنوان ماده غذایی بدون جایگزین در مراکز پرورش میگو و ماهیان دریایی کاربرد ویژه دارد (Sorgeloos *et al*., 2001). استفاده از آرتمیا برای تغذیه انواع آبزی از سال ۱۹۳۹ آغاز شده است. عواملی مانند فیلترکنندگی غیرانتخابی آرتمیا سبب گردیده از تمام مواد غذایی و غیرغذایی که از نظر اندازه قابلیت ورود به دهان را داشته باشد، تغذیه و درنتیجه از آن می‌توانیم تحت عنوان ناقل انواع موادغذایی – ویتامین‌ها (Watanabe *et al*., 1983) و مواد دارویی مانند انواع آنتی‌بیوتیک‌ها (Dixon *et al*., 1995) و انواع مختلف واکسن‌ها (Campbell *et al*., 1993) ازطریق تکنیک غنی‌سازی نام ببریم. بهبود کیفیت این غذای زنده مهم از طرفی نیز به نحوه تغذیه مطلوب آن بستگی‌دارد. در این میان می‌توان به انواع میکروجلبک‌ها به‌عنوان غذای طبیعی و مطلوب مورد نیاز آرتمیا اشاره نمائیم. ریز جلبک‌ها یا همان فیتوپلانکتون ها قادرند با کمک املاح معدنی محیط، نور خورشید و گاز دی اکسیدکربن مواد مغذی تولید و درخود ذخیره و طی فرایند فتوسنتز اکسیژن را در محیط آزاد نمایند (Priyadarshani and Roth, 2012). در سال‌های اخیر، میکروارگانیسم‌های فوتوتروفیک اکسیژنیک مانند سیانوباکتریوم و ریز جلبک‌ها مورد توجه قرارگرفته‌اند. زیرا مدل های ایده آلی برای بسیاری از کاربردها هستند. آنها با کمترین مقدار مواد مغذی مانند نور، شکر، دی اکسید کربن، ازت، پتاسیم و فسفر به سرعت شکوفا می‌شوند (Behera, 2015). جلبک‌های سبز از قبیل نانوکل*روپسیس اکولاتا* کاربردهای بیوشیمیایی، دارویی و مصارف دامی بعنوان پلانکتون زنده دارند (Shah and Abdulla, 2018). تاثیر سازنده ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* بر روند رشد مراحل مختلف چرخه زندگی برخی زئوپلانکتون‌ها و دوره لاروی گونه‌هایی از آبزیان به اثبات رسیده است (Gihan *et al*., 2020). استفاده از تکنیک‌های غنی سازی ریز جلبک‌ها توسط انواع مکمل‌های غذایی مانند ال-کارنتین و ال-آرژنین می‌تواند کمک زیادی به افزایش ارزش غذایی آنها جهت بهتر شدن کیفیت بافت آرتمیا نماید. نقش مکمل ال-کارنتین در افزایش هماوری مولدین نر و ماده در ماهی تیلاپیا نیز به اثبات رسیده است (Fath El Bab *et al*., 2019). ال-کارنتین به عبارتی نوعی پروویتامین بوده و ازچندین جهت حائز اهمیت است. ازآن جمله می‌توان این ماده را تحت عنوان افزاینده رشد سبب متابولیسم چربی شده و درنتیجه باعث صرفه‌جویی در مصرف پروتئین جیره غذایی می‌گردد. با جذب اسیدهای چرب در ساختار بدن، موجود زنده در برابر استرس ناشی از انباشتگی آمونیاک محیط آبی و نوسانات دمایی مقاوم‌تر و پروتئین بالاتری حاصل می‌گردد (Dai *et al*., 2018). ال- آرژنین با افزایش عملکرد پروتئین میوزین در آبزیان توسط کاهش حرارت در آن نقش کاربردی در صنعت آبزی پروری ایفا می‌کند (Tong *et al*., 2020). همچنین عدلو وهمکاران (۱۳۹۵)، با استفاده از تکنیک غنی‌سازی آرتمیا توسط اسیدهای چرب HUFA، PUFA و MUFA سبب افزایش کیفیت تغذیه‌ایی آن جهت استفاده بعنوان غذای زنده در جیره میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) گردید. با توجه به مطالب فوق هدف از مطالعه حاضر

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]
[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

بررسی بهبود شاخص‌های رشد، عملکرد تولید مثلی و هماوری و نیز بهبود عملکرد پروفایل اسیدهای چرب در *آرتمیا فرانسیسکانای* تغذیه شده توسط ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* غنی شده با مکمل‌های ال-آرژنین و ال-کارنتین در سلولهای میکروجلبکی و بدست آوردن دوز صحیح عملکردی بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر متقابل جیره غذایی و بستر محل زیست کرم‌ها، سه جیره غذایی با سطوح پروتئینی ۲۰، ۲۵، ۳۰ و دو بستر خاکی شامل ۱- هوموس (خاک هوموس) و ۲- خاک ترکیبی ۷۰ به ۳۰ هوموس و خاک پیت ماس در نظر گرفته شد. این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و از هر تیمار ۳ تکرار اجرا گردید.

طرح آزمایش

این تحقیق در دو بازه زمانی ۸۶ روزه در زمستان های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در آزمایشگاه غذای زنده آبزیان و فایکولب دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس، آزمایشگاه سنجش آلودگی زیر مجموعه اداره کل حفاظت محیط زیست استان هرمزگان وآزمایشگاه کنترل کیفی دانشگاه تهران انجام شد. این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی با ۸ تیمار تغذیه-ای آرتمیا از ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* (NCh) ترکیب شده با دوزهای ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال- کارنتین (LC) و ال-آرژنین (LA) و یک تیمار کنترل (NCh B) (مجموعا ۹ تیمار) (هر تیمار با ۳ تکرار) در نظر گرفته شد. برای این منظور از ۲۷ زوک استفاده شد (خامه چین و همکاران، ۱۳۹۲).

عملیات تفریخ، رهاسازی و پرورش آرتمیا

جهت انجام این بخش از عملیات آزمایشگاهی سیست *آرتمیا فرانسیسکانا* از بندر جاسک تهیه شد. تعداد ناپلیوس برای هر لیترآب ۵۰۰ عدد در نظر گرفته شد (Sorgeloos,1996). به ازای هر زوک ۴۰ لیتری ۲۰۰۰۰ عدد رهاسازی شد (در مجموع ۱۰۸۰۰۰۰ ناپلیوس). پس از دکپسوله کردن سیست در زوک تفریخ ۱۰ لیتری، بعد از ۳۶ ساعت ناپلیوس‌های حاصل به زوک‌های ۴۰ لیتری با شوری نمک دریایی ۳۲ گرم در لیتر، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شدت نوری ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند.

تهیه و شمارش سلولی استوک میکروجلبک ها

در تحقیق حاضر بعد از تهیه استوک میکروجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* اقدام به کشت آن گردید. استوک‌ها از فایکولب مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر آبزیان خلیج فارس بندر شهید کلاهی شهرستان میناب تهیه شدند. مقدار استوک ۱ لیتر بود، که بعد از تهیه و درب‌بندی به دور از تابش مستقیم نور بلافاصله به فایکولب آزمایشگاه غذای زنده دانشگاه آزاداسلامی بندرعباس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. در آزمایشگاه اقدام به هوادهی متوسط در شدت نور ۲۰۰۰ لوکس فلوروسنت نمودیم. شمارش سلول جلبکی استوک مورد نظر زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی لنز ۴۰ و توسط لام نئوبار (هموسیتومتر) انجام شد. در نتیجه تعداد نهایی $۹/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر برای استوک *نانوکلروپسیس اکولاتا* بدست آمد.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

فرمول محاسبه تعدادسلول جلبک بر روی لام نئوبار (هموسیتومتر) با ۲۵ مربع:

تعدادکل سلولها در ۲۵ مربع = تعداد سلولها در ۵ مربع بصورت تصادفی×۵

تعداد سلولهای جلبکی در ۱ میلی لیترنمونه (محیط کشت یا زوک) = $۱۰^{۴}$× تعداد کل سلول در ۲۵ مربع (Haran,1992).

کشت و پرورش میکروجلبک ها

جهت کشت جلبکی از محیط کشت گیلارد (Guillard's/f/2)، شامل ۳ میلی‌لیتر ویتامین- موادمغذی (به ازای هر لیتر ترکیب آب و جلبک) و ۱ میلی‌لیتر سیلیکات (به ازای هر لیتر ترکیب آب و جلبک) استفاده‌شد. آب مورد استفاده جهت محیط کشت گیلارد آب دریا تصفیه شده بود، که از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس بندرعباس تهیه گردید. سپس توسط دستگاه اتوکلاو در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی- گراد و فشار ۲ اتمسفر بمدت ۲۰ دقیقه استریل شد. شوری آب دریا در زمان انجام تحقیق ۴۲ گرم در لیتر اندازه‌گیری شد. رقیق سازی املاح آن با افزودن مکرر آب مقطر اتوکلاو شده و چک کردن توسط شوری سنج به دفعات انجام شد. در نهایت شوری به ۲۷ گرم درلیتر رسانده شد، که معادل میزان شوری استوک اولیه تهیه شده از مرکز بود. کشت جلبکی در ۲ ارلن ۴ لیتری برای هر میکروجلبک بصورت جداگانه به تناسب ۱۰ درصد استوک و ۹۰ درصد آب دریا و محیط کشت انجام گرفت. دمای محیط پس از پایان این‌بخش از عملیات ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۵۰ ± ۳۵۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی (۷ شب تا ۷ صبح تاریکی و ۷ صبح تا ۷ شب روشنایی) درنظرگرفته شد. مدت در نظرگرفته شده برای هر گروه جلبکی زمان رسیدن تا فاز ایستایی بوده که این کار توسط شمارش روزانه سلولهای جلبکی حاصل گردید.

غنی‌سازی ریزجلبک با مکمل‌ها

غنی‌سازی میکروجلبک‌های *نانوکلروپسیس اکولاتا* با مکمل‌های غذایی ال-کارنتین و ال- آرژنین با چهار دوز متفاوت ۱،۱۰،۱۰۰،۱۰۰۰ میلی‌گرم درلیتر بصورت جداگانه برای هر ریز جلبک صورت‌پذیرفت. برای این منظور اقدام به تهیه رقت‌های سریالی برای مکمل‌ها نمودیم. ابتدا از ال-کارنتین خالص ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در ارلن محتوی ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده تا به دوز ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۱۰۰۰۰ ppm) برسد. در ادامه ۱۰۰ میلی‌گرم از این حجم در ارلن حاوی ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر وارد نموده تا دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل گردد. این مراحل را بصورت متوالی تا رسیدن به دوز ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ادامه داده و در مجموع ۴ ارلن یک لیتری از رقت‌های ۱۰،۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ ال-کارنتین حاصل گردید. برای تهیه رقت های سریالی ال-آرژنین نیز دقیقا همین عملیات انجام شد. جهت کشت جلبکی روزانه از ارلن‌هایی که کشت و انبوه سازی استوک در آنها صورت پذیرفته، نمونه‌ای تهیه و شمارش سلولی انجام گرفت. زمانیکه تعداد سلول *نانوکلروپسیس* به عدد $۹×۱۰^{۶}$ (فاز ایستایی) رسید، اقدام به غنی‌نمودن آنها با غلظت‌های متفاوت مکمل‌های تعیین شده نمودیم.

شروع تغذیه فعال آرتمیا

بعد از رهاسازی ناپلیوس‌های تازه تفریخ شده به زوک‌ها به میزان ۵۰ ناپلی در هر میلی‌لیتر (ضیائی نژاد، ۱۳۹۳)، بعد از ۸ ساعت و جذب کیسه زرده و شنا فعال

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]
[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

صورت‌گرفت (Sorgeloos, 1980). میکروجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* غنی شده با ال-کارنتین و ال-آرژنین با غلظت‌های متفاوت ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به هر اضافه شد.

مراحل پرورش آرتمیا از ابتدا تا مولد

دوره پرورش از زمان دکپسوله شدن سیست‌ها تا بلوغ کامل و رهاسازی تخمک‌ها ۳۰ روز طول کشید. در انتهای عملیات برخی شاخص‌های رشد، بلوغ، استرس محیطی و اسیدچرب اشباع اندازه گیری شدند.

شاخص‌های رشد و بلوغ در *آرتمیا فرانسیسکانا*

استرس کمبود اکسیژن

جهت محاسبه شوک کمبود اکسیژن در پایان دوره پرورش تعداد ۲۰ عدد آرتمیا از هر زوک توسط تورپلانکتون‌گیر با چشمه ۵۰ میکرومتر خارج به بطری های شفاف ۱ لیتری منتقل شدند. بعد از هوادهی شدید تا حد اکسیژن اشباع، جریان هوا قطع شد تا اکسیژن به ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر رسید. سپس درب بطری‌ها محکم بسته شدند تا جریان تبادل هوا فقط با شیلنگ محدود شود. در مدت ۴۸ ساعت با خاموش و روشن کردن مکرر پمپ‌ها میزان اکسیژن در ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر ثابت نگهداری شد. آنگاه ناپلی‌ها شمارش شدند (Mugnier *et al.*,2008).

$T= S/D\times100$

T=درصدتلفات

S=تعدادتلفات

D=تعدادکل نمونه ها

استرس آمونیاکی

جهت محاسبه شوک استرس آمونیاکی در پایان دوره پرورش ۲۰ آرتمیا از هر زوک توسط تورپلانکتون‌گیر با چشمه ۵۰ میکرومتر خارج و به بطری‌های شفاف ۱ لیتری منتقل شدند. آرتمیاها در معرض غلظت کشنده ۲ میلی‌گرم در لیتر آمونیاک قرارگرفتند. عمل هوادهی متوسط همراه با درب بندی کامل انجام شد و پس از ۴۸ ساعت میزان تلفات ثبت گردید (Mugnier and Justou, 2004).

$T= S/D\times100$

T=درصدتلفات

S=تعدادتلفات

D=تعدادکل نمونه‌ها

شاخص کیفیت (Ojolick *et al.*, 1995)

$K =W/L3*100$

K=شاخص کیفیت

W= وزن ماهی (گرم)

L=طول ماهی (سانتی‌متر)

هماوری مطلق

هماوری مطلق از تقسیم تعداد کل تخمک‌های خارج شده بر وزن کل محاسبه شد (Biswas, 1993).

$F = N/G$

F=هماوری مطلق

N=میانگین تعداد تخم‌های مولد

G=وزن مولد

تعیین ترکیب اسیدهای چرب

جهت استخراج چربی، مقدار یک گرم از نمونه به درون دکانتورمنتقل شد. سپس ۷ میلی‌لیتر متانول به نمونه اضافه شد. دکانتور به مدت ۱ دقیقه بشدت توسط ورتکس تکان داده شد. بعد از آن ۱۴ میلی‌لیتر محلول

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

کلروفرم به آن اضافه و مجددا بمدت ۱ دقیقه شدیدا تکان داده شد. در ادامه دکانتورها در مکان تاریک و ایزوله بمدت ۲۴ ساعت قرارگرفتند. به منظور استری نمودن چربی از روش Firestone وهمکاران ۱۹۹۸ استفاده شد. برای بررسی و شناسایی اسیدهای چرب موجود در نمونه‌ها از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) فیلیپس مجهز به ستون کاپیلاری از نوع SGE BPX70 (60m×0/32mm ID×0/25.m-film thickness) و آشکارساز یونش شعله‌ایی FID (Flame Ionization Detector) استفاده‌گردید. ۰/۲ میکرولیتر از نمونه استری با استفاده از سرنگ میکرولیتری به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. در این روش از گاز هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد به عنوان گاز حامل و گاز هیدروژن بعنوان سوخت، ازت با خلوص ۹۹/۹ درصد بعنوان گاز کمکی و هوای خشک استفاده‌شد. از مقایسه زمان بازداری کروماتوگرام‌های بدست آمده از محلول استاندارد اسیدهای چرب متیل استر، اسیدهای چرب موجود در عضله آرتمیا شناسایی شد و نتایج بصورت درصد گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک طرفه و برای بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین ها از آزمون دانکن استفاده شد (p<۰/۰۵). همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel انجام گرفت. در پایان نتایج با نرم افزار SPSS مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل قرارگرفت.

نتایج

تاثیر تغذیه از ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* غنی شده با دوزهای متفاوت مکمل‌های غذایی ال-کارنتین و ال-آرژنین بر پروفیل درصد اسیدچرب اشباع *آرتمیا فرانسیسکانا* درتیمارهای مختلف در جدول ۱ آورده شده‌است. در این تحقیق بالاترین میزان اسیدهای چرب اشباع مربوط به تیمار NCh.LC10 وکمترین مقدار مربوط به تیمار کنترل بود (p<۰/۰۵).

درجدول ۲ تاثیر میکروجلبک غنی‌شده با ال-کارنتین و ال-آرژنین بر فاکتورهای تلفات ناشی از شوکهای آمونیاکی و کمبود اکسیژن، میزان هماوری مطلق و شاخص کیفی در *آرتمیا فرانسیسکانا* آورده شده است. با توجه به جدول مذکور بالاترین درصد تلفات ناشی از شوک آمونیاکی مربوط به مکمل ال-کارنتین با دوزهای ۱ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر وکمترین تلفات مربوط به تیمار کنترل و تیمار غنی با ال-آرژنین ۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده‌شد (p<۰/۰۵). بیشترین تلفات استرس کمبود اکسیژن مربوط به تغذیه از مکمل ال-کارنتین با دوز ۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین مربوط به تیمار تغذیه از ال-کارنتین با دوز۱۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (p<۰/۰۵). بالاترین مقدتر هماوری مطلق مربوط به تغذیه از ال-آرژنین۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به تیمار کنترل بود (p<۰/۰۵). در بررسی شاخص کیفی در آرتمیای بالغ بالاترین کیفیت مربوط به تیمارهای تغذیه از ال-آرژنین ۱۰۰۰، ۱۰، ۱ و ال-کارنتین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (p<۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]
[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

جدول۱: میزان اسیدهای چرب اشباع (میلی‌گرم در گرم) در تیمارهای مختلف

شاخص / تیمار	C10	C12	C14	C15	C16	C17	C18
NCh.B	۱.۲۷۵±.۰۰۱^{a}	۴.۶۵۷±.۵۶۹^{e}	۱.۰۳۰±.۰۰۳^{e}	۱.۲۰۳±.۰۰۱^{d}	۱.۸۲۰±.۰۰۲^{a}	۲.۳۱۴±.۰۰۱^{b}	۶.۸۶۴±.۰۵۵^{d}
NCh.LA1	.۰۲۵ ±.۰۰۱^{g}	۵.۵۵۹±.۰۰۵^{d}	.۸۸۵±.۰۰۲^{g}	.۶۵۴±.۰۰۱^{f}	۱.۸۰۰±.۰۰۱^{e}	۱.۵۸۷±.۰۰۱^{e}	۸.۹۴۲±.۰۰۲^{b}
NCh.LA10	.۱۲۳±.۰۰۱^{b}	۷.۱۳۵±.۰۰۲^{ab}	۱.۲۲۲±.۰۰۳^{d}	۱.۸۵۵±.۰۰۱^{a}	۱.۷۲۱±.۰۰۱^{f}	۱.۵۵۳±.۰۰۱^{e}	۸.۹۵۰±.۰۰۲^{b}
NCh.LA100	.۰۲۲±.۰۰۱^{h}	۷.۳۲۶±.۰۲۵^{a}	۱.۷۷۲±.۰۰۲^{b}	.۴۵۵±.۰۰۲^{h}	۱.۸۳۹±.۵۷۹^{d}	.۶۸۱±.۰۰۱^{f}	۹.۲۸۵±.۳۴۴^{b}
NCh.LA1000	.۰۶۶±.۰۰۲^{f}	۶.۱۱۷±.۰۰۳^{c}	.۸۰۱±.۰۰۲^{h}	۱.۸۵۳±.۰۰۱^{a}	۱.۹۰۲±.۰۰۲^{c}	۱.۹۸۹±.۰۰۵^{c}	۷.۹۱۲±.۰۰۲^{c}
NCh.LC1	.۰۸۳±.۰۰۱^{e}	۵.۴۴۴±.۰۰۲^{b}	.۸۰۱±.۰۰۲^{h}	۱.۸۲۹±.۰۰۲^{b}	۱.۸۰۸±.۰۰۲^{e}	۲.۰۳۶±.۰۰۱^{c}	۸.۱۴۱±.۰۰۹^{c}
NCh.LC10	.۰۹۶±.۰۰۱^{d}	۷.۲۳۳±.۰۰۱^{a}	۱.۴۰۳±.۰۰۲^{c}	.۸۲۷±.۰۲۵^{e}	۲.۱۲۱±.۰۰۱^{a}	۲.۸۵۲±.۰۱۱^{a}	۹.۶۶۰±.۰۰۲^{a}
NCh.LC100	.۱۰۹±.۰۰۲^{c}	۶.۸۵۳±.۰۰۱^{b}	۲.۵۴۶±.۰۰۲^{a}	۱.۲۲۲±.۰۰۲^{c}	۱.۹۶۶±.۰۰۲^{b}	۱.۸۸۷±.۰۰۱^{d}	۹.۱۶۶±.۷۶۳^{b}
NCh.LC1000	.۰۰۵±.۰۰۱^{i}	۷.۱۲۶±.۰۰۱^{ab}	.۹۴۵±.۰۰۲^{f}	.۵۶۶±.۰۰۱^{g}	۱.۸۰۰±.۰۰۲^{e}	.۵۹۸±.۰۰۱^{g}	۹.۰۵۷±.۰۰۲^{b}

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

جدول۲: تلفات شوکهای آمونیاکی، کمبود اکسیژن، هماوری مطلق و شاخص کیفی در تیمارهای مختلف

شاخص / تیمار	شوک آمونیاکی (درصد)	شوک کمبود اکسیژن (درصد)	هماوری مطلق	شاخص کیفی (گرم بر سانتی‌متر)
NCh.B	۲.۸۸±۱۸.۳۳^{c}	۲.۸۸±۱۶.۶۶^{ab}	۲.۵۱±۲.۶۶^{e}	۰.۰۳±۳.۴۹^{ab}
NCh.LA1	۲.۸۸±۲۱.۶۶^{bc}	۲.۸۸±۱۶.۶۶^{ab}	۲.۵۱±۲۱.۶۶^{a}	۰.۰۲±۳.۶۹^{a}
NCh.LA10	۰.۰۰±۲۵.۰۰^{b}	۲.۸۸±۱۸.۳۳^{a}	۱.۰۰±۱۰.۰۰^{bc}	۰.۰۳±۳.۵۲^{ab}
NCh.LA100	۲.۸۸±۲۳.۳۳^{bc}	۲.۸۸±۱۶.۶۶^{ab}	۲.۰۸±۷.۶۶^{bc}	۰.۶۲±۳.۷۷^{a}
۷Ch.LA1000	۲.۸۸±۱۸.۳۳^{c}	۰.۰۰±۲۰.۰۰^{a}	۱.۵۲±۶.۳۳^{d}	۰.۰۳±۳.۸۰^{a}
NCh.LC1	۲.۸۸±۲۱.۶۶^{bc}	۲.۸۸±۱۶.۶۶^{ab}	۱.۱۵±۹.۶۶^{bc}	۰.۰۵±۳.۷۴^{a}
NCh.LC10	۲.۸۸±۳۱.۶۶^{a}	۲.۸۸±۱۶.۶۶^{ab}	۲.۰۸±۱۱.۶۶^{b}	۰.۰۵±۳.۰۴^{c}
۷Ch.LC100	۲.۸۸±۲۳.۳۳^{bc}	۲.۸۸±۱۱.۶۶^{b}	۱.۵۲±۱۰.۳۳^{bc}	۰.۰۴±۲.۹۹^{c}
۷Ch.LC1000	۲.۸۸±۳۱.۶۶^{a}	۲.۸۸±۲۱.۶۶^{a}	۰.۵۷±۴.۶۶^{de}	۰.۰۴±۳.۲۱^{c}

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

بحث

در این تحقیق همانطور که بیان شد بالاترین مقدار کل اسید چرب اشباع در تیمار NCh.LC10 و کمترین آنها در تیمارهای شاهد، NCh.LA1 و NCh.LA1000 دیده شد. در اینجا می‌توان به نقش موثرتر مکمل ال-آرژنین در مقایسه با ال-کارنتین در اکسیداسیون بهتر اسید چرب اشباع با دوزهای مذکور اشاره‌کرد. Cheragh Birjandi و همکاران (۲۰۱۷) به ارتباط مستقیم بین متابولیسم اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه با مکمل‌های ال-آرژنین در مولدین اشاره نمودند، که بیانگرنقش قوی این مکمل تغذیه‌ایی در کاهش اسید چرب در مقایسه با مکمل رقیب است. تحقیقات بعمل آمده توسط ناصری و همکاران (۱۳۹۴) و Srinivasan و همکاران (۲۰۱۴) بیان نمودند که ریزجلبک *نانوکلروپسیس اکولاتا* حاوی ۳۳ درصد اسید چرب به نوعی ریز جلبک چرب است. حسین پور و همکاران (۱۳۹۹) بیان نمودند که کاربرد مکمل‌های چربی سوز تغذیه‌ایی در قزل‌آلای رنگین موجب افزایش پروتئین بدن می شود. Ling و همکاران (۲۰۲۰) با مشاهدات خود بر روی ماهی تیلاپیای نیل دریافتند که ترکیب مکمل ال-کارنتین صرفا بر کاهش اسید چرب غیر اشباع (PUFA و MUFA) تاثیر داشته و موجب کاهش اسید چرب اشباع نمی شود.

در مورد تیمارهای در معرض شوک آمونیاکی به جز دو تیمار کنترل و تیمار تغذیه با ال-آرژنین ۱ میلی-گرم در لیتر، سایر تیمارها در پایان دوره پرورشی تلفات نشان دادند، که دلیل آن احتمالا متابولیسم بالا می‌باشد. نکته مهم اینکه در تیمار غنی با ال-آرژنین ۱ میلی‌گرم در لیتر تلفاتی مشاهده نگردید، که حاکی از موثر بودن این تیمار در افزایش مقاومت آرتمیا به شوک آمونیاکی (مشابه تیمار کنترل) است. درحالیکه در تیمار تغذیه با ال-کارنتین ۱ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بالاترین درصد تلفات مشاهده شد، که نشان‌دهنده نقش این تیمار در کاهش مقاومت به استرس آمونیاکی و افزایش تلفات است.

Noori وهمکاران (۲۰۱۱) دریافتندکه بچه ماهیان قزل رنگین بعد از تغذیه با تیمارهای مختلف ال-کارنتین، زمانیکه تحت تاثیر استرس‌های حرارتی و شوری قرارگرفتند، افزایش مقاومتی در برابر استرس های محیطی نسبت به تیمار شاهد و تیمار روغن نشان دادند. Mohseni و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر مثبت ال-آرژنین بر اکسیداسیون چربی‌ها، افزایش آنزیم های اکسیداسیونی Phenoloxidase, superoxide dismutase، همچنین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند ویتامین C وE و Glutathione در فیل ماهی را بیان نمودند.. در تحقیق دیگری حیدری و همکاران ۱۳۹۴ بیان نمودند که افزودن ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ال-کارنتین با روغن ماهی موجب بهبود رشد، فعالیت‌های آنزیمی و افزایش مقاومت به استرس-های محیطی در قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

Dasilva و همکاران (۲۰۱۸) طی تحقیقی در تیلاپیای نیل انگشت قد (*Oreochromis niloticus*)، بر نقش مهم ال-کارنتین بر افزایش بقا این ماهی در مواجهه با استرس‌های محیطی تاکید نمودند.

مسمومیت و مرگ و میر با آمونیاک به عنوان یکی از استرس‌های رایج در سیستم‌های پرورشی شناخته شده است. در این تحقیق، بالاترین میزان تلفات آرتمیا تحت تاثیر استرس کمبود اکسیژن مربوط به تیمار ال-آرژنین ۱ و۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و ال-کارنتین ۱ میلی‌گرم در لیتر و کمترین تلفات در تیمار ال-کارنتین ۱۰ میلی‌گرم

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]
[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

در لیتر مشاهده شد. طاهری و همکاران (۱۳۹۲) چنین وضعیتی را گزارش نمودند. Chen و همکاران (۲۰۱۷) نیز نتیجه مشابهی را در کپور معمولی مشاهده نمودند.

در ارتباط با کمتر بودن هماوری مطلق آرتمیاد ر تیمارکنترل، می‌توان به نقش موثر هر دو نوع مکمل در بهبود تخمک زایی در مولد ماده اشاره نمود. Cheragh Birjerdi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ال-آرژنین با متابولیسم اسیدهای چرب به ایفای نقش اسیدآمینه جهت بهبود هماوری کمک می‌نماید. همچنین Rudrigues و همکاران (۲۰۱۸) در تحقیقی مشابه در گربه ماهی نقره‌ایی (*Rhamdian quelen*) نقش موثر ال-کارنتین در افزایش باروری مولدین نر آرتمیا را گزارش نمودند.

با توجه به داده این تحقیق در رابطه با شاخص کیفی آرتمیا، می‌توان استنباط نمود که تیمارهای ال-آرژنین با دوزهای مختلف کیفیت بافت بهتری به دلیل متابولیسم بیشتر اسید چرب اشباع در مقایسه با ال-کارنتین نشان می‌دهد. در پژوهش محسنی و همکاران (۱۳۹۶) نقش ال-کارنتین در بهبود شاخص های رشد فیل ماهی گزارش شده است. Shi و همکاران (۲۰۱۷) نیز چنی وضعیتی را در ماهی آمور بیان نمودند.

بطورکلی می‌توان گفت ال-آرژنین در تمام شاخص‌ها، به جز تلفات استرس کمبود اکسیژن به عنوان یک مکمل کاربردی عمل می‌کند.

سپاسگزاری

در اینجا از مسول آزمایشگاه‌های دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندر عباس تشکر می‌نماییم.

منابع

۱. حسین پور، م.، مشکینی، س.، نجدگرامی، ا، ح.، ۱۳۹۹. مقایسه اثر ال-کارنیتین و بتائین بر روی روغن‌های ماهی و ذرت در جیره غذایی، و تأثیر آنها بر پروفایل اسیدهای چرب و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۵(۳)، ۲۹۹-۲۸۸.

۲. حیدری، ر.، مشکینی، س.، نجدگرامی، ا.ح.، ۱۳۹۴. تاثیرترکیب ال-کارنتین و بتائین جیره با منبع روغنی مختلف بر فراسنجه های رشد، فعالیت آنزیم گوارشی و مقاومت مقابل استرس‌های محیطی در بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۳(۴)، ۸۹-۷۵ .

۳. خامه چین، ی.، مناف فر، ر.، توکمه‌چین، ا.، حجتی، و.، ملکی بالاجو، و.،۱۳۹۲. بررسی تاثیر ال-کارنتین بررشد، بقا و بلوغ زودرس *Artemia franciscana* در شرایط آزمایشگاهی. نشریه زیست شناسی جانوری، ۳(۴)، ۳۶-۲۹.

۴. ضیایی‌نژاد، س.، ۱۳۹۳. غنی سازی آرتمیا، *Artemia franciscana* با استفاده از پروبیوتیک-های باکتریایی باسیلوس. نشریه توسعه آبزی پروری، ۸(۴)، ۶۰-۵۹.

۵. عدلو، م. ن.، سالارزاده، ع. ر.، آق، ن.، بحری، ا. ه.، ۱۳۹۶. تاثیر بیومس آرتمیای غنی‌شده توسط اسیدهای چرب HUFA, PUFA وMUFA بر ترکیبات اسیدهای چرب، رشد و شاخص‌های کمی تولید مثلی میگوی سفیدغربی *Litopenaeus vannamei*. توسعه آبزی پروری، ۱۱(۲)،۷۹-۹۱.

6. Behera, S., Singh, R., Arora, R., Sharma, N.K., Shukla, M., Kumar, S., 2015. Scope of algae as third generation biofuels. Frontiers in Bioengineering and

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

Biotechnology, 2, 144-153.
7. Chen, G.F., Liu, Y., Jiang, J., Jiang, W.D., Kuang, S.Y., Tang, L., Tang, W.N., Zhang, Y.A., Zhou, X.Q. and Feng, L., 2015. Effect of dietary arginine on the immune response and gene expression in head kidney and spleen following infection of Jian carp with *Aeromonas hydrophila.* Fish and Shellfish Immunology, 44, 195-202.
8. Campbell, R.A., Adams, M.F., Tatner, M., Chair, P., 1993. Uptake af Vibrio anguillarum vaccine by *Atemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry.Fish and Shelfish Immunology, 3, 451-459.
9. Dai, Y.J., Dai, G.-Z., Jiang, X.-Y., Yuan, W.B., Liu., 2018. High-fat-diet-induced inflammation depresses the appetite of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) through the transcriptional regulation of leptin/mammalian target of rapamycin. Br. J. Nutr., 120, 1422-1431.
10. Dixon, B.A., Poucke, S.O.V., Chair, M., Dehasque, M., Nelis, H.J., Sorgeloos, P., De leenheer, A.P., 1995. Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacine in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana*. J. Aquat. Anim. Health, 7, 42-45.
11. Fath El-Bab, A., El-Moghazy, M., Mostafa, M., El-Dweny, N., 2019. Role of dietary L-carnitine supplements on improving of reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 23,589-598.
12. Haran, M. P., 1992. Monual on shrimp hatechery operation and management (*Penaeus –monodon*). Publ:TASPARC, 114pp.
13. Gihan, M., Heba S., El-Sayed, Hanan, M.K., Mohamed, A.S., Xianghui, Q., 2020. Comparative study on growth, survival and pigmentation of *Solea aegyptiaca* larvae by using four different microalgal species with emphasize on water quality and nutritional value. Aquaculture Nutrition, 27, 615-629.
14. Ling, Y.I., Dong, L., LuZhe, Y., Jiang, S., Mchele, L., Fang, Q., Li, Q., Chen, M., Zhang, Z., 2020. Dietary L-carnitine improves glycogen and protein accumulation in Nile tilapia via increasing lipid-sourced energy supply: An isotope-based metabolic tracking. Aquaculture Reports, 17, 126-131.
15. Mohseni, M., Pourkazemi, M., Kazemi, R., Taati, R., 2017. Effects of dietary L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status of beluga (*Huso huso*) and comparison with Biomar diet. Iranian Journal Of Fisheries Science. 26, 171-183.
16. Noori, K., Farhoomand, P., Ebrazadehim, S., 2011. Effects of chromium methionine supplements on the performance and serum metabolites of broiler chickens. Journal Food Agriculture and Enviroment, 9,292-294.
17. Priyadarshani, I., Rath, B., 2012. Commercial applications of micro algae A review. Journal of Algal Biomass, 12, 89-100.
18. Rodrigues, M., Souza, M., Zanerato, D., Signor, A., 2018. Supplementation Of L-Carnitine In Diets For Silver Catfish and Its Effects On Reoroductive Aspects. Boletim Do Instituto De Pesca, 45, 409-416.
19. Shi, X., Sun, J., Yang, Z., Li, X., Ji, H., Li, Y., Chang, Z., Du, Z., Chen, L., 2017. Molecular characterization and nutritional regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) family in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 203, 11-19.
20. Sorgeloos, P., Dhert, P. and Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, Artemia spp., on marine fish larviculture. Aquaculture, 200, 147-159.
21. Tong, S., Zhiyu, X., Wengang, J., Li, Y., Quancai, S., Yuhao, Z., Xiuting, L., 2020. Suppression mechanism of L-arginine in the heat-induced aggregation of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) myosin: The significance of ionic linkage effects and hydrogen bond effects. Food Hydrocolloids, 102, 204-211.

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]

Investigating the effect of *Nannochloropsis oculata* microalgae enriched with L-Carnitine and L-Arginine nutritional supplements on fatty acid profile and some growth and maturation parameters in *Artemia franciscana*

Sotoodeh, A. M.[1], Bahri, A. H.[1*], Salarzade, A. R.[1]

1-Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Bandar Abbas Branch, Islamic Azad University, Bandar Abbas, Iran.

Received: 14 March 2024 **Accepted: 7 June 2024**

Abstract

The nutritional value and special properties of Artemia have led to its use as a food and biological model in aquaculture. L-Carnitine supplementation stimulates the oxidation of fatty acids, increases nitrogen retention and resistance to environmental stress, and L-Arginine nutritional supplementation is effective in protein synthesis, nitric acid and growth hormone growth and survival. In this study, the effect of *Nanochloropsis oculata* micro algae enriched with L-carnitine and L-arginine supplements on growth, environmental stress, absolute fecundity and saturated fatty acid profile in *Artemia feransiscana* was investigated. L-carnitine and L-arginine were applied separately at concentrations of 0, 1, 10, 100 and 1000 mg/l. Artemia cysts under special hatching conditions and Napolius were fed with *N. oculata* microalgae with two states, enriched conditions and without enrichment (control treatment) separately in 30 days. The results were compared and it was shown that the highest saturated fatty acid (SFA) with nutritional treatment L-carnitine 10 mg/l and the lowest was in the control treatment. The highest mortality percentage of ammonia shock was related to rich treatment with 1 and 100 mg/l L-carnitine which showed a significant difference with the control treatment ($p<0.05$) and the lowest was related to 1 mg/l L-arginine treatment and control treatment. In hypoxia shock, the highest mortality percentage was observed in the diet with L-carnitine 1 and L-arginine 1 and 100 mg/l and the lowest in the diet with L-carnitine 10 mg/l, all of which showed a significant difference with the control treatment ($p<0.05$). In adult Artemia breeders, the lowest quality indicators were related to L-carnitine treatment at all doses except 1000 mg/l and the highest were related to L-arginine treatment except 100 mg/l plus 1000 mg/l. L- carnitine that showed a significant difference with the control treatment ($p<0.05$) .The highest amount of absolute fecundity is related to the nutritional treatment rich in L-arginine 1000 mg/l and the lowest is the control treatment, which shows the positive effect of both supplements on increasing the absolute fecundity. Overall, the results showed that the use of the mentioned nutritional supplements with *N. oculata* microalgae in *A. franciscana* nutrition in specific doses can be effective in increasing production and quality in the aquaculture industry. Therefore, according to the environmental stress conditions, improving the fecundity performance and achieving a higher quality index, the optimal doses of each supplement can be used.

Keywords: *Artemia franciscana*, *Nanochloropsis oculata*, L-carnitine, L-arginine, Saturated fatty acid, Absolute fecundity.

[*] *Corresponding Author: amirbahri52@yahoo.com*

[Downloaded from aqudev.liau.ac.ir on 2025-08-03]

[DOI: 10.71901/jad-2024-1-735]