دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دانشکده علوم دامی و شیلات
گروه شیلات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته شیلات گرایش تکثیر و پرورش آبزیان

عنوان:

بررسی اثرات غنی سازی *Daphnia magna* با روغن کانولا بر رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس در لارو ماهی سفید (*Rutilus frisii kutum*)

اساتید راهنما:
دکتر ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی
دکتر محمد کاظم خالصی

استاد مشاور:
مهندس عباس اسماعیلی ملا

دانشجو:
ندا فتحی

پاییز ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده

با توجه به اهمیت بالای دافنی در پرورش لارو ماهیان آب شیرین، در این مطالعه، اثر غنی سازی *Daphnia magna* با روغن کانولا بعنوان یک منبع مهم گیاهی از اسیدهای چرب در چهار مقطع زمانی ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعته و یگ گروه دافنی غنی نشده (شاهد) بر روی پروفایل اسید چرب دافنی انجام گرفت. پس از تعیین بهترین زمان غنی سازی دافنی از لحاظ پروفیل اسیدهای چرب ضروری، تیمار زمانی ۶ ساعت غنی سازی با بیشترین میزان *n*-3 HUFA (۱/۱۴ درصد) برای تغذیه لاروهای ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* با وزن اولیه ۲/۱±۵۲/۶۲ میلی گرم به مدت ۱۴ روز به همراه دو تیمار دیگر شامل دافنی غنی نشده با روغن کانولا و غذای دستی بیومار با سه تکرار از هر تیمار انتخاب و اثرات آنها بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس شوری در لارو ماهی سفید بررسی شد. نتایج نشان داد که میزان رشد در بین تیمارها اختلاف معنی داری ($P <$۰/۰۵) داشته به طوریکه بیشترین وزن و طول کل نهایی در لارو های تغذیه شده با دافنی غنی شده (به ترتیب ۱۷۳/۱ میلی گرم و ۳۱/۳۰ میلی متر) و کمترین مقدار در لاروهای تغذیه شده با غذای دستی بیومار (به ترتیب ۱۳۸/۴ میلی گرم و ۲۵/۷۸ میلی متر) دیده شد. درصد بازماندگی در طول دوره پرورش و میزان مقاومت لارو ماهی سفید در برابر شوری ۲۵ در هزار در بین تیمارها تفاوت زیادی نداشته ($P >$۰/۰۵) ولی میزان مقاومت در شوری ۱۳ در هزار دارای اختلاف معنی داری ($P <$۰/۰۵) بود، بطوریکه درصد بازماندگی در تیمار تغذیه شده با دافنی غنی شده بیشترین مقدار (۹۳/۳۳ درصد) بود. با توجه به نتایج این مطالعه، در غنی سازی ۶ ساعته دافنی ماگنا با روغن کانولا بهترین مقدار اسیدهای چرب ضروری بدست آمد. همچنین لاروهای ماهی سفید با تغذیه دافنی های غنی شده از روغن کانولا نتایج بهتری از نظر رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس شوری از خود نشان دادند. لذا استفاده از روش غنی سازی غذاهای زنده (ازجمله دافنی ماگنا) می تواند به عنوان روشی مفید در افزایش روند بازسازی ذخایر گونه های ارزشمندی مانند ماهی سفید پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: غنی سازی، *Daphnia magna*، روغن کانولا، *Rutilus frisii kutum*، *n*-3 HUFA، اسید های چرب ضروری، درصد بازماندگی

تشکر و قدردانی

حمد و سپاس بی کران خداوندی که بشر را علم نوشتن به قلم آموخت و به انسان آنچه نمی دانست به الهام خود تعلیم داد.

در ابتدا از اساتید راهنما آقایان دکتر ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی و دکتر محمد کاظم خالصی که مرا در این امر راهنمایی و هدایت فرمودند خالصانه تشکر و قدردانی می کنم و از درگاه خداوند متعال توفیق روز افزون را برای این دو بزرگوار مسئلت دارم. از استاد مشاور جناب آقای مهندس عباس اسماعیلی ملا و مهندسین مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری و همچنین جناب آقای دکتر نظری به پاس مساعدت و همکاری شان در پیشبرد این امر قدردانی می کنم. همچنین از جناب آقای مهندس خلیلی به علت کمک های بی دریغشان در طول اجرای فعالیت های آزمایشگاه تشکر به عمل می آورم.

به امید اینکه این مطالعه گامی برای پیشبرد و کمک به پژوهشگران کشورم باشد.

تقدیم به

پدر بزرگ عزیزم مرحوم میرگتی شجاعی

و

پدر و مادر دلسوز و مهربانم

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پر بار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم . والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم چرا که این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند.

آموزگارانی که برایم زندگی؛ بودن و انسان بودن را معنا کردند.

حال این برگ سبزی است تحفه درویش تقدیم آنان.....

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول

۱-۱ مقدمه ۲

فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع

۲-۱ کلیات ۶

۲-۱-۱ چربی ها، اسیدهای چرب و اهمیت آنها در آبزی پروری ۶

۲-۱-۲ دافنی ۷

۲-۱-۳ غنی سازی ۸

۲-۲ مروری بر منابع ۹

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱ مواد و وسایل مورد نیاز ۱۳

۳-۱-۱ مواد مصرفی ۱۳

۳-۱-۲ مواد غیر مصرفی ۱۳

۳-۲ محل اجرای طرح ۱۳

۳-۳ روش های کار ۱۳

۳-۳-۱ کشت دافنی ۱۳

۳-۳-۲ آماده سازی محلول غنی سازی ۱۴

۳-۳-۳ غنی سازی دافنی ۱۴

۳-۳-۴ خشک کردن دافنی و انتقال نمونه ها به آزمایشگاه ۱۵

۳-۳-۵ تعیین ترکیب اسید چرب دافنی قبل و بعد غنی سازی ۱۶

۳-۳-۶ آماده سازی مخازن پرورش لارو ماهی سفیدو انتقال آنها به مخازن ۱۷

۳-۳-۷ تغذیه لاروها ۱۷

۳-۳-۸ اندازه گیری مورفومتریک، مقدار رشد و درصد بازماندگی ۱۸

۳-۳-۹ آزمایش استرس به شوری..... ۱۹

۳-۴ تجزیه وتحلیل آماری..... ۱۹

فصل چهارم: نتایج

۴-۱ مقدار چربی بدن دافنی ۲۱

۴-۲ آنالیز اسید چرب ترکیب بدن دافنی ۲۲

۴-۳ رشد لارو ماهی سفید ۲۵

۴-۳-۱ رشد وزنی ۲۵

۴-۳-۲ رشد طولی ۲۶

۴-۴ بازماندگی لارو ماهی سفید ۲۷

۴-۵ مقاومت به استرس شوری در لارو ماهی سفید ۲۸

فصل پنجم: بحث و پیشنهادات

۵-۱ بحث ۳۰

۵-۱-۱ مقدار چربی بدن دافنی و تاثیر غنی سازی بر ان ۳۰

۵-۱-۲ پروفایل اسید چرب بدن دافنی ۳۱

۵-۱-۳ رشد و بازماندگی لارو ماهی سفید ۳۴

۵-۱-۴ مقاومت به استرس در لارو ماهی سفید..... ۳۶

۵-۲ نتیجه گیری ۳۸

۵-۳ پیشنهادات ۳۹

۵-۳-۱ مستخرج از پایان نامه ۳۹

۵-۳-۲ پژوهشی در آینده..... ۳۹

منابع..... ۴۱

فهرست جداول

صفحه

جدول۴-۱: مقادیر پروفایل اسیدهای چرب بدن دافنی (میانگین ± انحراف معیار) قبل و بعد غنی سازی چند ساعته (زمان های ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت) با روغن کانولا..... ۲۴

جدول۴-۲: متوسط رشد و بازماندگی لارو ماهی سفید تغذیه شده با دافنی غنی شده با روغن کانولا، دافنی غنی نشده (شاهد)و غذای دستی بیومار در طول یک دوره چهارده روزه پرورش ۲۷

فهرست اشکال و نمودارها

اشکال صفحه

۳-۱ محلول غنی سازی و قوطی پلی سوربات و روغن کانولا..... ۱۴
۳-۲ غنی سازی دافنی با روغن کانولا در ساعات مختلف غنی سازی..... ۱۵
۳-۳ نمونه خشک دافنی غنی شده ۱۵
۳-۴ مخازن پرورش لارو..... ۱۷

نمودار

صفحه

نمودار۴-۱: مقادیر چربی *D.magna* در زمانهای ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت غنی شده با روغن کانولا و دافنی غنی نشده..... ۲۱

نمودار۴-۲: مقادیر MUFA،SAFA ، PUFA، HUFA در *D. magna* غنی شده با روغن کانولا در زمان های ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ساعت و مقایسه با *D. magna* غنی نشده ۲۵

نمودار۴ -۳: متوسط وزن بر حسب میلی گرم لارو ماهی سفید در طول ۱۴ روز، تغذیه شده از دافنی غنی شده با روغن کانولا ، دافنی غنی نشده با روغن کانولا (شاهد) و غذای دستی بیومار..... ۲۶

نمودار۴ -۴: متوسط طول کل بر حسب میلی متر لارو ماهی سفید در طول ۱۴ روز، تغذیه شده از دافنی غنی شده با روغن کانولا ، دافنی غنی نشده با روغن کانولا (شاهد) و غذای دستی بیومار ۲۶

علائم اختصاری

نوع اسید چرب	ساختار اسید چرب	علائم اختصاری
Saturated fatty acids (اسید های چرب اشباع)	14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0	SAFA
Monounsaturated fatty acids (اسید های چرب تک غیر اشباع)	14:1n-5,16:1n-7, 18:1n 9, 20:1n9	MUFA
α-Li α-Linolenic acid (اسید آلفا لینولنیک)	18:3n3	ALA
Stearidonic acid (اسید استریدونیک)	18:4n3	SDA
Eicosapentaenoic acid (ایکوزا پنتا ئنوئیک اسید)	20:5n3	EPA
Docosahexaenoic acid (دیکوزا هگزانوئیک اسید)	22:6n3	DHA
Linoleic acid (اسید لینولئیک)	18:2n6	LIN
λ -Linolenic acid (اسید لاندا لینولنیک)	18:3n6	GLA
Arachidonic acid (اسید آراشیدونیک)	20:4n6	ARA
Polyunsaturated fatty acids (اسید های چرب چند غیراشباع)		(PUFA) ALA, SDA, LIN, GLA
Highly unsaturated fatty acids (اسید های چرب چند غیر اشباع بلند زنجیره)		(HUFA) EPA, DHA, ARA
n-3 Highly unsaturated fatty acids (اسیدهای چرب چند غیر اشباع بلند زنجیره با اولین باند دوگانه در موقیت کربن سوم)		(*n*-3 HUFA) EPA, DHA

مقدمه

مقدمه

وابستگی تقریبا کامل لارو ماهیان پرورشی به انواع مختلف غذاهای زنده در مراحل اولیه تغذیه، امری اجتناب ناپذیر در تکثیر مصنوعی لارو بسیاری از ماهیان محسوب می شود. به همین دلیل تهیه و تولید غذاهای زنده مناسب برای لاروهای تازه به تغذیه افتاده[1] از اهمیت ویژه برخوردار است. تغییر رویّه ی تغذیه ای لاروها از داخلی به خارجی در کنار در دسترس بودن غذای با کیفیت و کمیت مناسب نیز از عمده ترین مشکلات مرحله پرورش لاروی به شمار می رود. لذا تکنیک مناسب پرورش لارو ماهیان با کیفیت مطلوب میتواند رشد و درصد بازماندگی بالایی را برای تضمین موفقیت زندگی بچه ماهیان در شرایط تفریخگاه و یا جهت رهاسازی به منظور حفظ ذخایر در دریا تامین نماید.

نکته مهم در استفاده از غذاهای زنده، تعیین ارزش غذایی و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در بدن آن است. در این میان اهمیت چربی ها و اسیدهای چرب، بالاتر از سایر منابع غذایی می باشد. چربی ها در تامین انرژی و اسیدهای چرب ضروری که به عنوان پیش ساز در واکنش های دفاعی بدن عمل کرده و نیز در شکل گیری ساختار غشای سلولی ضروری اند، نقش مهمی را ایفا می کنند (Vance and Vance, 1985). با توجه به اینکه جانوران آب شیرین قادر به ساخت اسیدهای چرب لینولئیک، لینولنیک و اولئیک نیستند، از اینرو یک یا چند اسید چرب بایستی در جیره غذایی آنها فراهم باشند (Sargent *et al.,* 1999a). در صورت عدم تامین این منابع از طریق جیره های غذایی، غنی سازی[2] میتواند به عنوان یکی از روش های مهم در افزودن این منابع به غذاهای زنده به کار رود. تکنیک های مختلفی جهت غنی سازی غذاهای زنده با اسیدهای چرب ضروری وجود دارند که روش هایی مانند امولسیون های اسید چرب، چربی های میکروکپسوله[3] و جلبک های غنی شده با PUFA از مهم ترین روش ها می باشند (Sundbom and Vrede, 1997, Weers and Gulati, 1997, Plath and Boersma, 2001).

در میان انواع مختلف غذاهای زنده که در آبزی پروری مصرف می شوند، غذاهایی مانند آرتمیا و روتیفر جایگاه به مراتب بالاتری در مقایسه با سایرین دارند. در حالی که برای برخی از ماهیان آب شیرین، غذاهای زنده دیگری هم میتوانند به صورت مکمل و یا انفرادی مورد استفاده قرار گیرند. یکی از مهم ترین انواع غذاهای زنده برای لارو ماهیان آب شیرین، دافنی بوده که گونه دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) فراوان ترین گونه از آنها در استخرهای آبزی پروری محسوب می گردد. *D. magna* جزء کلادوسرهای سخت پوست با اندازه نسبتا ریز بوده که بیشتر در آبگیرهای آب شیرین یافت شده و بعنوان یک غذای زنده برای پرورش تعداد زیادی از لارو ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می گیرند (De Pauw *et al*., 1981). ارزش غذایی بدن

[1] First-feeding larvae
[2] Enrichment
[3] Microencapsulated

دافنی به ترکیبات شیمیایی موجود در منابع غذایی مورد استفاده آن بر می گردد. دافنی ها علی رغم داشتن منابع مطلوب پروتیینی برای رشد لاروها، دارای اسیدهای چرب غیراشباع ناچیزی بوده و تنها بخش کمی (کمتر از ۵ درصد) از کل اسیدهای چرب اندوخته را در درون بدن خود ساخته و به جای آن، اکثر منابع چربی مورد نیاز خود را از منابع غذایی مصرفی خود بدست می آورند (Goulden and Place 1990) ، بطوریکه دافنی های پرورش یافته در شرایط استخری فقط دارای ۱۲ درصد اسید اولئیک بوده و اسیدهای چرب DHA[4] و EPA[5] آنها به ترتیب ۱۰ و ۰/۲ درصد می باشند (Lavens and Sorgeloos 1996).

امروزه استفاده از منابع چربی حیوانی به دلیل محدودیت و قیمت بالا، جای خود را به منابع چربی گیاهی داده است. در این میان، روغن خوراکی کانولا (*Brassica napus*) با تولید بیش از ۲۲ میلیون تن در طی سال های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۱ (بیش از یک سوم از ذخایر روغن های گیاهی)، دارای ۶۳/۴۸ درصد اسید اولئیک، ۱۶/۹۲ درصد اسید لینولئیک و ۵/۷۳ درصد اسید آلفالینولنیک بوده و هیچ گونه پراکسیدی تا دمای ۲۰۰ درجه سانتیگراد تولید نمی کند (احمدی، ۱۳۷۸). از آنجا که تاکنون غنی سازی دافنی ماگنا با روغن کانولا صورت نگرفته است، در این مطالعه، برای اولین بار تاثیر استفاده از روغن کانولا بر روی پروفایل اسید چرب بدن دافنی ماگنا (*D. magna*) مورد بررسی قرار گرفته و در نهایت، تاثیر استفاده از دافنی غنی شده با روغن کانولا بر روی میزان رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر شرایط استرس شوری در ماهی سفید (به عنوان ماهی هدف) بررسی گردید. در این روش ابتدا دافنی های پرورش یافته در شرایط تفریخگاه با روغن کانولا غنی سازی و بعد از دستیابی به زمان مناسب از ماده غنی کننده، دافنی های غنی شده (با زمان بندی بهینه غنی سازی) مورد تغذیه لارو ماهی سفید قرار گرفتند. لذا بر اساس این راهکار، فرضیات و اهداف زیر برای این مطالعه در نظر گرفته شد:

[4] Docosahaexaenoic acid
[5] Eicosapentaenoic acid

فرضیات پژوهش:

۱ـ زمان های مختلف غنی سازی دافنی ماگنا با روغن کانولا بر روی پروفیل اسید چرب بدن دافنی تاثیر دارد.

۲ـ دافنی ماگنای غنی شده با روغن کانولا بر روی رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس شوری در لارو ماهی سفید دریای خزر مؤثر می باشد.

اهداف این پژوهش:

۱- تعیین و دستیابی به مدت زمان مناسب جهت غنی سازی دافنی ماگنا با روغن کانولا.

۲ـ تعیین اثر دافنی ماگنای غنی شده با روغن کانولا بر رشد، بازماندگی و مقاومت به استرس شوری در لارو ماهی سفید دریای خزر.

کلیات و مروری بر

منابع

کلیات و مروری بر منابع

۲-۱ کلیات

۲-۱-۱ چربی ها، اسیدهای چرب و اهمیت آنها در آبزی پروری:

یکی از مواد مغذی اصلی در غذای مصرفی ماهیان، چربی ها هستند. چربی ها و واحد سازنده آنها که اسیدهای چرب نام دارند، جزء اصلی ترکیبات بدن همه موجودات زنده اند و بصورت ترکیبات هورمون ها، فرومون ها و غشاها، نقش مهمی در رشد، تامین انرژی ، اسیدهای چرب ضروری (EFA[6]) و جذب مواد مغذی محلول در چربی دارند (Sargent *et al.*, 1999). اسیدهای چرب به دو گروه اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع تقسیم بندی می شوند، گروه غیر اشباع ها دارای یک باند یا بیش از یک باند دو گانه در زنجیره کربنشان می باشند و نقطه ذوب شان از اسیدهای چرب اشباع (فاقد پیوند دو گانه) کمتر است.

اسیدهای چرب بصورت ترکیبات فسفولیپیدی، ساختاری در غشای سلولی اکثر بافت ها یافت می شوند. جانوران برخلاف اغلب گیاهان قادر به تولید برخی اسیدهای چرب و پیش ساز هایشان نبوده، بنابراین وجود این اسیدهای چرب در جیره غذایی شان ضروری بوده و اسیدهای چرب ضروری (EFA) نام دارند. از اسیدهای چرب ضروری که ماهیان آب شیرین قادر به سنتز آنها نیستند، شامل اسیدهای چرب غیراشباعی چون اسیدهای لینولئیک، لینولنیک و اولئیک اند، از اینرو یک یا هر دوی این اسیدهای چرب باید در جیره غذایی شان فراهم باشند (Yu and Sinhuber, 1975; Sargent *et al.,* 1999). لارو ماهیان دریایی برخلاف ماهیان آب شیرین قادر به تبدیل اسیدهای چرب خانواده لینولنیک به اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره مثل EPA و DHA نمی باشند (Lee, 2003)، بنابراین علاوه بر نیاز به اسیدهای چرب خانواده لینولنیک، افزودن اسیدهای چرب غیراشباع EPA و DHA به جیره غذایی ماهیان بویژه در دوران لاروی، امری حیاتی و ضروری به نظر می رسد (Takeuchi and Watanabe, 1976; Watanabe *et al.*, 1989; Izquierdo, 1996). تامین منابع مختلف اسیدهای چرب ضروری می تواند سبب افزایش میزان رشد، بازماندگی، میزان مقاومت لاروها به عوامل بیماریزا و استرس های محیطی گردد (Sargent *et al.,* 1999b). تحقیقات روی نیازهای تغذیه ای گونه های ماهیان آب شیرین (Adams, 1999; Olsen, 1999; Sargent *et al.,* 1999$_a$) و دریایی (Izquierdo *et al.*, 1992; Watanabe, 1993; Sargent *et al.*, 1997; Sargent 1999b) نشان داد که PUFA[7] بخصوص DHA و همین طور نسبت های اسید چرب امگا ۳ به امگا ۶ دارای اثرات

[6] Essential fatty acid
[7] Polyunsaturated fatty acids

مهمی روی رشد، تولید مثل و بازماندگی ماهیان اند. در صورت عدم تامین این منابع از طریق جیره های غذایی، فرآیند غنی سازی می تواند به عنوان یکی از روش های مهم در افزودن این منابع چربی به غذاهای زنده محسوب شود.

۲-۱-۲ دافنی

از غذاهای زنده ای که برای پرورش تعداد زیادی از لارو ماهیان استفاده شده دافنی ماگنا (*Daphnia magna*) می باشد. دافنی از زیر شاخه سخت پوستان و زیر راسته کلادوسرها که بیشتر در آبگیرهای آب شیرین و گاهی نیز در آب شور یافت می شوند (De Pauw *et al*., 1981). دافنی ها از نظر شکل بدن اندازه کوچکی داشته و رنگ بدنشان شفاف است (شکل ۲-۱) . دافنی ها در دریاچه حالت پلاژیکی دارند و بعنوان چراکنندگان مهم دریاچه و استخر محسوب شده که دائما در حال فیلتر کردن مواد غذایی در آب هستند. از نظر رژیم غذایی علف خوار بوده و از باکتری ها و ذرات ریز غذایی در اندازه فیتوپلانکتون نیز تغذیه میکنند. ارزش غذایی دافنی به ترکیبات شیمیایی منابع غذایی مورد استفاده آن بستگی دارد. دافنی به لحاظ دارا بودن اسید های آمینه، منابع پروتئین خوبی برای لاروها هستند بطوریکه حداکثر مقدار متوسط پروتئین آن نسبت به سایر مواد ترکیبی ۵۰ درصد وزن بدنشان است (De Pauw *et al*., 1981)، بعلاوه دافنی مملو از آنزیم های گوارشی مثل پروتئیناز، پپتیداز، آمیلاز، لیپاز و حتی سلولاز است که همه اینها پس از خورده شدن توسط لارو و نوزادان ماهی و سایر آبزیان پرورشی می تواند بعنوان اگزوآنزیم در دستگاه گوارش آنها عمل کرده و در هضم و جذب مواد غذایی نقش مثبتی داشته باشند (Lavens and Sorgeloos 1996).

از آنجا که زئوپلانکتون ها اکثرا چربی بدنشان را از طریق غذای مصرفی خود بدست آورده و تنها بخش کمی را خودشان سنتز می کنند (Golden and Place 1993)، لذا ارزش غذایی دافنی بخصوص از نظر اسیدهای چرب ضروری که از طریق غذای خود بدست می آورند، پایین می باشد (Lavens and Sorgeloos 1996). با توجه به نیاز لارو آبزیان به اسیدهای چرب ضروری بخصوص در مراحل اولیه رشد و کمبود اسیدهای چرب ضروری بدن دافنی، افزایش ارزش غذایی دافنی از لحاظ اسیدهای چرب ضروری امری ضروری به نظر می رسد.

۲-۱-۳ غنی سازی

یکی از راه های افزایش کیفیت تغذیه ای غذاهای زنده برای تغذیه لارو آبزیان، غنی سازی است. در بحث غنی سازی غذاهای زنده مواردی مانند نوع، مقدار ماده غنی کننده، مدت زمان، روش غنی سازی و وضعیت کیفی آب از جمله موارد مهم در عمل غنی سازی محسوب می شوند. با توجه به نیازیهای اولیه لارو آبزیان به اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۳ و امگا ۶ در غذای زنده روش های غنی سازی توسعه یافته اند تا آنجا که از این غذاهای زنده مورد استفاده در فرایند غنی سازی بعنوان ناقلین زنده[۸] یاد می کنند.

روش های مختلف غنی سازی با جلبک ها، مخمرهای دریایی، امولسیون های چربی، میکروکپسوله های لیپیدی یا جیره غنی کننده تجاری و آلبومین سرم گاوی برای غذاهای زنده بکار می رود (Sundbom and Vrede, 1997; Weers and Gulati, 1997; Plath and Boersma, 2001; Von Elert, 2002). یکی از ارزان ترین راه های غنی سازی غذای زنده بوسیله امولسیون چربی صورت می گیرد. این محلول ها با وجود اینکه دارای سطح بالایی از اسیدهای چرب ضروری اند ولی زمان ماندگاری و پایداری آنها نسبتا کم بوده و سریعا باید مصرف شوند (Watanabe *et al.*, 1982).

[8] Biological carrier

۲- ۲ مروری بر منابع

روش های مختلف غنی سازی شامل غنی سازی با امولسیون چربی، لیپید میکروکپسوله شده، آلبومین سرم گاوی، مخلوط جلبک و اسیدهای چرب ضروری می باشد (Von Elert, 2002; Ravet *et al.*, 2003; Martin-& Von Elert, 2004 Creuzburg).

Von Elert (2002) سه تیمار جهت غنی سازی دافنی (*Daphnia galeata*) با جلبک های*Scenedesmus obliquus*، *Stephanodiscus hatnzschii* و مخلوط جلبک *S.obliquus* و اسیدهای چرب ضروری PUFAs (ALA, DHA, EPA) را بکار گرفت. بیشترین رشد و تولید تخم و غلظت اسید چرب ضروری در دافنی غنی شده با مخلوط جلبک *S. oblique* و اسیدهای چرب ضروری دیده شده که نشان می دهد دافنی خود نیاز شدیدی به اسیدهای چرب ضروری دارد.

مطالعه ای روی کلادوسر آب شیرین (*Daphnia galeata*) توسط Von Elert (2002) نشان داد که پروفایل اسید چرب این زئوپلانکتون وقتی با جیره غنی از اسیدهای چرب PUFA تغذیه شد، مشابه پروفایل اسید چرب بود بطوریکه با تغذیه دافنی از جلبک های کریپتوفیت، کلروفیت و سیانوفیت با میزان PUFA بترتیب ۳۵، ۱۵ و ۵/. درصد، مقدار اسید چرب PUFA در دافنی را به ترتیب به ۳۰، ۲۵ و ۱/۵ درصد رسانید.

نتایج مشابهی نیز توسط Becker و Boersma (2005) در دافنی ماگنای (*D. magna*) غنی شده با EPA در پروفایل اسید چرب این زئوپلانکتون دیده شد.

Ravet و همکاران (2003) سه تیمار جهت غنی سازی *D. magna* با جلبک سیانوفیت بدون PUFA، مخلوط سیانوفیت و کریپتوفیت و سیانوفیت بهمراه PUFA بکار گرفتند. بیشترین رشد و غلظت اسید چرب در دافنی غنی شده با سیانوفیت بهمراه PUFA دیده شد که نشان دهنده اهمیت جیره های مصنوعی غنی شده برای افزایش ارزش غذایی دافنی است.

طبق تحقیق انجام شده توسط Gholami (2010)، غنی سازی دافنی ماگنا با روغن کبد کاد در طی زمان های متفاوت روی رشد و بازماندگی لارو ماهی سفید نشان داد که بین مقادیر HUFA *n*-3 لاروهای تغذیه شده با دافنی بدون غنی سازی و دافنی غنی سازی شده اختلاف معنی داری وجود داشت. بیشترین وزن، SGR[9] و طول کل نهایی در لاروهای تغذیه شده با دافنی غنی شده در ۹ ساعت دیده شد.

در مطالعه ای با غنی سازی دافنی ماگنا جهت تغذیه لارو قره برون با روغن کبد کاد در طی زمان های متفاوت، میزان EPA دافنی با افزایش زمان غنی سازی توسعه و رشد لارو نیز با افزایش زمان غنی سازی افزایش یافت. درصد وزن لارو بدست آمده در تغذیه از دافنی با حداکثر زمان غنی سازی ۹ ساعت بیشترین و در تیمار تغذیه شده از دافنی بدون غنی سازی کمترین بود (Nazari *et al.*, 2008).

نتایج تحقیق نشان می دهد که غنی سازی آرتمیا با اسید های چرب ضروری و ویتامین E توانست در برخی واحدهای رشد و مقاومت به تنش شوری لارو فیل ماهی موثر واقع شود. در تیمارهای غنی شده با اسید های چرب و ویتامین E بیشترین رشد و در گروه شاهد کمترین رشد دیده شد. درصد بازماندگی در بین گروهای شاهد و HUFA[10] دار فرقی نداشته اما در سایر تیمارهای غنی شده تفاوت معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد دیده شد (جلالی ۱۳۸۷).

اثر مثبت اسید چرب ضروری بر رشد و بازماندگی در دیگر تحقیقات نیز گزارش شده است.

لارو ماهی کفال خاکستری در ۱۵ روز آزمایش با سه تیمار غذایی ناپلی آرتمیا، ناپلی آرتمیا و روتیفر و آرتمیای غنی شده با روغن مانهادن تغذیه شدند. بیشترین مقاومت در برابر استرس فیزیکی در لارو تغذیه شده با آرتمیای غنی شده با روغن مانهادن بوده ولی تفاوت معنی داری در رشد لارو ها دیده نشد (Ako *et al.*, 1994).

لارو خامه ماهی در ۲۵ روز آزمایش از روتیفر بهمراه ناپلی آرتمیا و روتیفر بهمراه ناپلی آرتمیای غنی شده با DHA تغذیه شد. بهترین بازماندگی در تیمار تغذیه شده با روتیفر بهمراه ناپلی آرتمیای غنی شده با DHA دیده شد. میزان رشد در دو تیمار اختلاف معنی داری نداشت (Gapasin *et al.*, 1998).

لارو کفشک دم زرد با روتیفر غنی شده با گروه های DHA؛ EPA بهمراه DHA؛ آراشیدونیک بهمراه DHA و آراشیدونیک بهمراه روغن زیتون فاقد EPA و DHA بمدت ۴ هفته تغذیه شدند. بیشترین رشد و بازماندگی در روتیفر غنی شده با DHA دیده شد (Copeman *et al.*, 2002).

[9] Specific growth rate
[10] Highly unsaturated fatty acids