

## بررسی مقایسه‌ای مورفومتری، رشد و بازماندگی، ارزش غذایی و مولکولی برخی جمعیت‌های آرتمیا در شرایط پرورشی با تأکید بر آرتمیا دریاچه میقان اراک

رامین مناف‌فر<sup>\*</sup>، مریم تقی‌آ، فرج فرخی<sup>آ</sup>، گلچین موسوی تومنتری<sup>۳</sup>

<sup>\*</sup>gmoosavit@gmail.com

۱- گروه بیوتکنولوژی آبزیان، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۳- پردیس دانشگاهی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ارومیه

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۳

### چکیده

در این تحقیق ویژگی‌های رشد، بازماندگی، مرفومتریک، ارزش غذایی و بررسی‌های ژنتیکی برخی جمعیت‌های آرتمیا با تأکید بر آرتمیای دریاچه میقان اراک مطالعه شد. بدین منظور لاروهای تفریخ شده آرتمیاها در شوری ۸۰ گرم در لیتر طبق جدول استاندارد تغذیه، پرورش و درصد ماندگاری و رشد لاروها در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ بررسی شدند. به منظور بررسی صفات مورفومتریک آرتمیا، به غیر از اندازه‌گیری قطر سیست، یازده صفت مورفومتریک آرتمیاها بالغ نیز اندازه‌گیری شد. در جهت بررسی پروفایل اسیدهای چرب از روش کروماتوگرافی گازی استفاده و با توالی یابی ژن Hsp26 پس از انجام PCR بین نمونه‌های تیماری بررسی ژنتیکی صورت پذیرفت. بر اساس نتایج این تحقیق، قطر سیست و ناپلیوس اینستار اول آرتمیای میقان به ترتیب ۲۷۶/۲۸ و ۵۴۴/۶۶ میکرون بدست آمد. بررسی رشد و بقاء این آرتمیا در مقایسه با چند جمعیت مختلف آرتمیا نشان دهنده رشد و بقاء بسیار خوب این جمعیت بود. پروفایل اسیدهای چرب نیز نشان داد که این آرتمیا از نظر تجمع اسیدهای چرب غیر اشباع در شرایط یکسان پرورشی نسبت به سایر جمعیت‌های آرتمیا، برتری نشان داد لذا می‌تواند به عنوان یک کاندید مناسب غذای زنده برای آبزی پروری به کار رود. بررسی‌های مورفومتریک و همچنین ژنتیکی ژن Hsp26 نشان داد این آرتمیا قرابت زیادی با دیگر آرتمیاها پارتوژن‌ز دارد اما تفاوت‌های منحصر بفرد این جمعیت می‌تواند در آینده برای شناسایی این جمعیت بکار رود.

**لغات کلیدی:** آرتمیا، مرفومتری، بقاء، دریاچه میقان، فیلوژنی آرتمیا

\*نویسنده مسئول

#### مقدمه

هزینه نسبتاً پایین، سازگاری سریع با شرایط آزمایشگاهی و آگاهی از جنبه بیوشیمیایی ارگانیسم، امروزه آرتمیا به عنوان یک الگوی تکاملی در مطالعات تکمیلی و مقایسه‌ای Valverde *et al.*, 1994 بین بی‌مهرگان مورد استفاده قرار می‌گیرد ().

امروزه یکی از اهداف اصلی آزمایشات ژنتیک مولکولی در آبیان، آنالیز ساختار جمعیتی، تنوع ژنتیکی، ارتباطات گونه‌ای، سیستماتیک و طبقه‌بندی آن‌ها می‌باشد. تکنیک‌های متفاوتی از جمله AFLPS، Allozyme، RFLP و RAPDs در حال حاضر نقش اساسی جهت دستیابی به شاخص تفکیکی بین جمعیت‌ها و روابط ژنتیکی موجود بین گونه‌ها دارند (Badaracco *et al.*, 1995). در این ارتباط تعیین توالی یک ژن خاص که سابقه قبلی داشته و توالی آن در سایت‌های ژن بانک یافت می‌شود به عنوان یک روش مطمئن برای مطالعات سیستماتیک و تعیین گونه‌ها و همچنین آنالیز جمعیت‌ها شناخته شده است. هدف از این تحقیق بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیک، بیومتریک، ارزش غذایی و مولکولی آرتمیا دریاچه میقان در مقایسه با چند جمعیت مهم آرتمیا ایران (آرتمیا دریاچه مهارلو و *A. franciscana*) و دنیا (*A. urmiana*) می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### پرورش آرتمیا

سیست مورد نیاز این آزمایش از بانک سیست پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه - دانشگاه ارومیه تهیه شد که مربوط به تابستان سال ۱۳۸۹ بودند. پرورش آرتمیا به روش استاندارد انجام گرفت (Lavens & Sorgeloos, 1996). بدین منظور یک گرم سیست خالص شسته شده در شرایط اپتیمیم (شوری g/l نور sec $^{-1}$ ، ۲۰۰۰  $\mu\text{m/sec}$  در  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  pH = ۷-۹ و هوادهی کافی) تخمه‌گشایی شد. لاروهای تفریخ شده به تعداد ۵۰۰ عدد در ظروف ته مخروطی در شوری g/l ۸۰ در چهار تکرار ریخته شد، سپس حجم آب به یک لیتر رسانده شد. این ظرف‌ها داخل آکواریومی با دمای  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  قرارداده شدند و هر کدام توسط پیپت پلاستیکی و لوله‌های هوادهی متصل به پمپ مرکزی هوادهی شدند. غذادهی در طول دوره

آرتمیا یکی از انواع مهم و گسترده سخت‌پوستان است. این موجود دارای ارزش اقتصادی بالایی در بازارهای جهانی می‌باشد. با توجه به پرورش آبزیان در دهه‌های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ استفاده از این سخت پوست کوچک به دلیل عمل‌آوری آسان و ارزش غذایی بالا، وسعت یافت. دو گروه از آرتمیاها تحت عنوان آرتمیای دو جنسی و آرتمیاها بکرزا شناخته شده‌اند. تاکنون ۷ گونه از گروه آرتمیاها دو جنسی و تعداد زیادی جمعیت‌های پارتیتوئنز در دنیا شناسایی شده‌اند که در مناطق جغرافیایی متعدد با ویژگی‌های اکولوژیکی متنوع پراکنده می‌باشند (Asem *et al.*, 2010). بقاء و پراکنش آرتمیا در یک محیط به دو عامل میزان املاح آب و درجه حرارت آن بستگی دارد. آرتمیا یک سخت‌پوست از راسته بی‌پوششان است که در تمامی قاره‌ها به جز قطب جنوب یافت می‌شود Triantaphyllidis *et al.*, 1998) و همکارانش در سال ۱۹۹۸ لیستی از ۵۰۰ مکان آرتمیا را منتشر کردند. این لیست توسط Van Stappen در سال ۲۰۰۲ با ۱۰۰ مکان دیگر تجدید گردید. طی مطالعاتی که بر روی پراکندگی آرتمیا در ایران انجام شده است، وجود آرتمیا در ۱۲ استان و ۱۷ منطقه جغرافیایی تایید شده است که تمامی جمعیت‌های شناسایی شده بکرزا بوده و فقط در دریاچه ارومیه، آرتمیای دو جنسی مشاهده می‌شود (Abatzopolus, 2006). از این مناطق می‌توان به دریاچه میقان در ۱۲ کیلومتری شمال شرق شهر اراک در ارتفاع ۱۶۷۰ متر بالای سطح دریا و با مساحتی حدود ۱۱۲ کیلومتر مربع در زمان پر آبی، اشاره کرد. دریاچه میقان یک دریاچه فصلی است که از سه رودخانه تابرین، آشتیان و کاره تغذیه می‌شود گرچه در تابستان معمولاً عمدۀ بخش‌های آن خشک می‌شود. شوری آب آن بالای ۱۵۰ گرم در لیتر و در سال ۱۳۸۰ به ۲۵۰ گرم در لیتر رسید (حافظیه، ۱۳۸۱). با توجه به کاربرد وسیع آرتمیا در صنعت آبزی‌پروری و همچنین اهمیت آن در تحقیقات آزمایشگاهی مانند تحقیقات تکاملی و گونه‌زایی، بررسی و شناخت منابع آرتمیا و شناسایی قابلیت‌های هر جمعیت اهمیت زیادی دارد. همچنین بدلیل قابلیت دسترسی،

انجام شد. واکنش PCR جهت تکثیر زن 26 Hsp26 توسط آغازگر پیشرو: 5'-GGA-GAA-GAA-TGA-TAG- و آغازگر پیرو: 5'-TCT-CTT-TGG- GAA-G-3` و آغازگر آب دیونیزه، یک میکرولیتر بافر PCR با ۵/۲ میکرولیتر آب دیونیزه، ۰/۲ میکرولیتر dNTPs، ۰/۲ میکرولیتر MgCl<sub>2</sub>، ۰/۲ میکرولیتر از پرایمرهای ۰/۰۰ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase و یک میکرولیتر DNA با دستگاه ترموسایکلر طبق برنامه ذیل انجام شد: ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای واسرشته‌سازی اولیه (Initial Denaturation)، ۳۲ چرخه سه مرحله‌ای شامل ۱۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای واسرشته‌سازی (Denaturation)، ۱/۵ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی-گراد برای اتصال پرایم (Annealing) و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد برای توسعه (Extension). توسعه نهایی قطعات هدف نیز با یک چرخه ۷ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد انجام گردید. محصول شده بر روی ژل آگارز ۱/۲٪ الکتروفورز شده و در دستگاه عکس برداری از ژل در نور UV مورد بررسی قرار گرفت.

پس از بررسی کیفیت محصول PCR، قطعه مورد نظر تعیین توالی شد. بدین منظور قطعه مورد نظر در ۴ نمونه از هر جمعیت توسط کیت خالص‌سازی شسته شده و در غلظت مناسب جهت تعیین توالی نوکلئوتیدی به شرکت سیناکلون- ایران ارسال شد. تنوع نوکلئوتیدی نمونه‌های Multiple sequence alignment مرتب شده و سپس فاصله ژنتیکی بر اساس رابطه Nei's genetic distance (1973) با نرم افزار POPGEDE مورد بررسی قرار گرفته و نمودار خوش‌های ترسیم شد.

## نتایج

**بیومتری سیستم و میزان رشد و بقاء**  
بر اساس مطالعه به عمل آمده قطر سیستم و ناپلیوس اینستار اول به ترتیب ۲۷۶/۲۸ و ۵۴۴/۶۶ میکرون اندازه‌گیری شد. بررسی میزان رشد جمعیت آرتمیای میقان درشوری ۱ g/l در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ در

پروش توسط جلبک تکسلولی *Dunaliella tertiolecta* با غلظت ۱/۸×۱۰<sup>6</sup> cell/ml و مخمرب غنی‌شده با اسیدهای چرب غیر اشباع (HUFA) در غلظت ۵/۴×۱۰<sup>6</sup> cell/ml انجام شد. بقای آرتمیاها در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ مورد سنجش قرار گرفت. در انتهای نیز تعداد آرتمیاهای باقیمانده نسبت به آرتمیاهای اولیه به صورت درصد محاسبه شد. بررسی آماری داده‌ها نیز با استفاده از برنامه SPSS و آنالیز One-way-ANOVA انجام گرفت (Manaffar, 2012).

میزان رشد آرتمیاها (طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی) نیز در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ اندازه‌گیری شد. برای این منظور تعداد ۵ آرتمیا از چهار تکرار به طور تصادفی انتخاب شده و پس از ثابت نمودن با لوگول توسط میکروسکوپ مجهر به میکرومتر چشمی (در ابتدای دوره) و با استریومیکروسکوپ مجهر به Projection از روز سوم به بعد بیومتری شدند (Manaffar, 2012). پس از بلوغ آرتمیا بقیه صفات بیومتریک آرتمیا شامل (طول شاخک اول، عرض سر، فاصله چشم‌ها، قطر چشم مرکب، عرض رحم، طول تلsson، طول فورکا، تعداد خار راست و تعداد خار چپ) توسط میکروسکوپ مجهر به میکرومتر چشمی اندازه‌گیری شدند.

## آنالیز اسیدهای چرب

استخراج اسیدهای چرب از نمونه‌های تر توده زنده آرتمیا با استفاده از اتر انجام شد. آنالیز اسیدهای چرب نیز پس از متیله نمودن اسیدهای چرب با KOH الکلی در محیط Heptane نرمال و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی صورت گرفت. در نهایت درصد هر اسید چرب نسبت به کل اسیدهای چرب هر نمونه با مقایسه طول منحنی‌های هر اسید چرب با سطح زیرمنحنی استاندارد محاسبه شد (Lepage & Roy, 1984).

## بررسی‌های ژنتیکی

استخراج DNA طبق پروتکل SDS-Chloroform (Sambrook et al., 1989) از نمونه‌های آرتمیای بالغ

ارومیه و *A. franciscana* داشته و پس از *A. franciscana* کوچکترین آرتمیا در بین نمونه های تحت مطالعه می باشد.

مقایسه با سه جمعیت مختلف آرتمیا در جدول ۱ آورده شده است. مقایسه میزان رشد و اندازه کلی آرتمیا دریاچه میقان در انتهای دوره پرورش در مقایسه با دیگر جمعیت های آرتمیا نشان داد که این آرتمیا اختلاف آماری معنی داری با دو جمعیت آرتمیا دریاچه مهارلو، دریاچه

جدول ۱: میانگین (Mean $\pm$ Sd) طول کلی آرتمیا دریاچه میقان درشوری ۸۰ g/l در مقایسه با چند جمعیت مختلف آرتمیا (بر حسب mm)

جمعیت آرتمیا	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
آرتمیا فرانسیسکانا	۱/۴۶۲ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>ab</sup>	۴/۱۲ $\pm$ ۰/۵۱ <sup>a</sup>	۵/۶۲ $\pm$ ۱/۰ <sup>a</sup>	۶/۹۹ $\pm$ ۰/۸۶ <sup>a</sup>
آرتمیا مهارلو	۱/۴۳ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۴/۰۷ $\pm$ ۰/۵۳ <sup>a</sup>	۶/۷۴ $\pm$ ۰/۹۷ <sup>b</sup>	۸/۹۴ $\pm$ ۱/۱۱ <sup>b</sup>
آرتمیا ارومیانا	۱/۴۱ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۴/۳۲ $\pm$ ۰/۵۳ <sup>a</sup>	۶/۹ $\pm$ ۰/۹۹ <sup>b</sup>	۹/۲۴ $\pm$ ۱/۱۲ <sup>b</sup>
آرتمیا میقان	۱/۵۲ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۳/۰۴ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>b</sup>	۵/۴۵ $\pm$ ۰/۹۶ <sup>a</sup>	۷/۹۵ $\pm$ ۱/۲۸ <sup>c</sup>

اعداد در هر ستون با حروف یکسان فاقد اختلاف آماری می باشند ( $p>0.05$ ).

بررسی بقای آرتمیا اراک در شوری ۸۰ g/l در همان روزهای ۳، ۱۱.۷ و ۱۵ در مقایسه با ۳ جمعیت دیگر آرتمیا نشان داد که در انتهای دوره این جمعیت آرتمیا درصد بقای بسیار خوبی از خود نشان داده ولی این اختلاف با دیگر جمعیت های آرتمیا معنی دار نبود (جدول ۲). تنها اختلاف معنی دار مابین دو جمعیت *A. urmiana* و *A. franciscana* به ترتیب با کمترین و بیشترین میزان بقاء دیده شد ( $p<0.05$ ).

این نتایج نشان می دهند که آرتمیا میقان از زمان مرحله ناپلیوس اینستار یک تا روز هفتم، رشد یکنواختی را طی می کند که نمودار آن نشان دهنده یک رشد خطی است. این رشد از روز هفتم به بعد تا روز پانزدهم با سرعت بیشتری طی می شود. این بررسی ها همچنین نشان داد که آرتمیا ای دو جنسی دریاچه ارومیه به عنوان بزرگ ترین آرتمیا، اختلاف معنی داری با دیگر آرتمیاهای این گروه دارد ( $p<0.05$ ).

جدول ۲: میانگین (Mean $\pm$ Sd) درصد بقاء آرتمیا میقان درشوری /g در ۸۰ g

جمعیت آرتمیا	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
آرتمیا فرانسیسکانا	۹۵/۰۶ $\pm$ ۱/۸ <sup>a</sup>	۹۳/۴۳ $\pm$ ۲/۰ <sup>۱a</sup>	۹۱/۳۱ $\pm$ ۲/۴۸ <sup>a</sup>	۸۸/۵۶ $\pm$ ۲/۶۷ <sup>a</sup>
آرتمیا مهارلو	۹۶/۰۵ $\pm$ ۱/۹۴ <sup>a</sup>	۸۸/۶۵ $\pm$ ۵/۰ <sup>۸ab</sup>	۸۵/۸۵ $\pm$ ۶/۷۶ <sup>a</sup>	۸۰/۴ $\pm$ ۱۱/۵۴ <sup>ab</sup>
آرتمیا ارومیانا	۹۶/۸۱ $\pm$ ۲/۹۳ <sup>a</sup>	۸۵/۷۵ $\pm$ ۲/۵۰ <sup>b</sup>	۸۲/۱۲ $\pm$ ۱/۷۶ <sup>a</sup>	۷۶/۶۸ $\pm$ ۶/۹۶ <sup>b</sup>
آرتمیا میقان	۹۴/۹۸ $\pm$ ۲/۰۵ <sup>a</sup>	۹۳/۲۹ $\pm$ ۵/۰ <sup>۰ab</sup>	۸۵/۱۳ $\pm$ ۸/۸۶ <sup>a</sup>	۸۰/۴ $\pm$ ۴/۷۲ <sup>ab</sup>

اعداد در هر ستون با حروف یکسان فاقد اختلاف آماری می باشند ( $p>0.05$ ).

نتایج ویژگی های مرستیک آرتمیا دریاچه میقان ( $p<0.05$ ). نتایج همچنین نشان داد که در برخی از فاکتورهای مورد بررسی مانند طول ناحیه شکمی و تعداد خارهای فورکا، این اختلاف با دو جمعیت دیگر آرتمیا معنی دار می باشد ( $p<0.05$ ).

نتایج ویژگی های مرستیک آرتمیا دریاچه میقان آرتمیاهای از نظر یازده صفت مورفومنتریک مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۳). این بررسی نشان داد که طول کلی آرتمیا میقان کوچکتر از دو جمعیت دیگر بوده و سایز کوچکتری نسبت به دو جمعیت دیگر آرتمیا دارد

جدول ۳: اندازه کلی (Mean $\pm$ Sd) یا زده صفت مورفومتریک در آرتمیا اراک پرورش بافتی در شوری ۸۰g/l بر حسب میلی متر در مقایسه با چند جمعیت مختلف آرتمیا					
	آرتمیا مهارلو	آرتمیا میقان	صفت مورفومتریک	آرتمیا فرانسیسکانا	آرتمیا ارومیانا
طول کل	۹/۰۵ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>a</sup>	۹/۸ $\pm$ ۰/۷۴ <sup>b</sup>	۹/۱۷ $\pm$ ۰/۷ <sup>ab</sup>	۸/۸ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>c</sup>	
طول شاخک اول	۰/۹۹ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۰/۹۵ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۹۵ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۶۸۶ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>b</sup>	
عرض سر	۰/۸۰ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۷۸ $\pm$ ۰/۰۶ <sup>a</sup>	۰/۷۳ $\pm$ ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۰/۷۱۶ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>b</sup>	
فاصله چشم های مرکب	۱/۴۳ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۱/۴۴ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۲۵ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>b</sup>	۱/۵۹۱ $\pm$ ۰/۱۰ <sup>c</sup>	
قطر چشم مرکب	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۲۵ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>c</sup>	
طول ناحیه شکمی	۴/۸۷ $\pm$ ۰/۶۵ <sup>a</sup>	۴/۴۵ $\pm$ ۰/۵۵ <sup>b</sup>	۴/۶۷ $\pm$ ۰/۳۷ <sup>b</sup>	۴/۰۵ $\pm$ ۰/۲۹ <sup>c</sup>	
عرض رحم	۱/۳۱ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۱/۴۶ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>a</sup>	۱/۰۴ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>b</sup>	۱/۸۵ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>c</sup>	
طول تلسون	۱/۲۳ $\pm$ ۰/۳۳ <sup>a</sup>	۱/۱۸ $\pm$ ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۱/۱۱ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۱/۰۶ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>d</sup>	
طول فورکا	۰/۱۹ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۰/۲۱ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>b</sup>	
تعداد خار راست	۵/۲۰ $\pm$ ۱/۳۱ <sup>a</sup>	۶/۷۶ $\pm$ ۱/۶۴ <sup>b</sup>	۸/۱۲ $\pm$ ۲/۰۷ <sup>c</sup>	۱۱/۸۳ $\pm$ ۲/۰۲ <sup>d</sup>	
تعداد خار چپ	۵/۳۱ $\pm$ ۱/۳۴ <sup>a</sup>	۶/۵۶ $\pm$ ۱/۶۹ <sup>b</sup>	۸/۲۲ $\pm$ ۱/۷۴ <sup>c</sup>	۱۱/۵۷ $\pm$ ۲/۴۲ <sup>d</sup>	

اعداد در هر ردیف با حروف لاتین یکسان فاقد اختلاف آماری می باشند (p<0.05).

A. (DHA) که معمولاً در آرتمیاهای دیگر غیر از *fracsiscana* کم می باشد در این آرتمیا در حد مطلوبی قرار دارد. این آنالیز نشان داد که در مقایسه با A. *urmiana* آرتمیای دریاچه میقان ارزش غذایی بالایی در اغلب اسیدهای چرب مورد مطالعه دارد (جدول ۴).

#### آنالیز اسیدهای چرب

آنالیز اسیدهای چرب نشان داد که آرتمیای میقان دارای ارزش غذایی نسبتاً بالایی در بین آرتمیاهای شناخته شده می باشد. بدین صورت که میزان دو اسید چرب غیراشبع بلند زنجیر ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دکوزاگرگانوئیک اسید

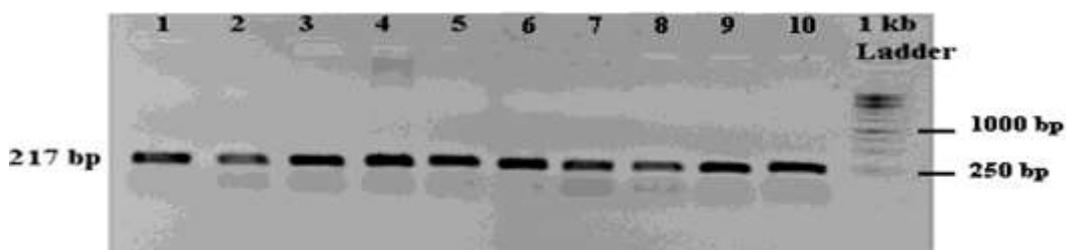
جدول ۴: جدول اسیدهای چرب آرتمیا دریاچه میقان در مقایسه با دو جمعیت دیگر آرتمیا.

	نام عمومی	آرتمیا فرانسیسکانا	آرتمیا ارومیانا	آرتمیا ارومیانا	آرتمیا مهارلو
<b>Saturated</b>					
C14:0	Myristic	۰/۶۶۹	۱/۰۲	۷/۹۱	۱/۳۲۷
C16:0	Palmitic	۱۵/۸۸	۱۶/۰۴	۲۰/۳۰	۱۰/۱۶۵
C18:0	Stearic	۹/۹۰	۸/۲۸	۱۵/۳۱	۴/۵۱
C20:0	Arachidic	۰/۷۰	۱/۴۰	۴/۷۷	۳/۳۱
C22:0	Behenic	۱/۶۷	۱/۲۶	۵/۸۴	۳/۶۴
C24:0	Lignoceric	۰/۳۹	۶/۲۱	ND	۱/۲۱
<b>Monounsaturated</b>					
C14:1n5	Myristoleic	۰/۳۳	۰/۰۸	ND	ND
C16:1n7	Palmitoleic	۳/۶۹	۴/۸۹	ND	۱۲/۷۰۷
C18:1n9	Oleic	۱۳/۷۵	۱۳/۹۷	۲۱/۲۴	۲۲/۴
C18:1n7	Vaccenic	۹/۰۹	۷/۰۶	ND	۰/۳۳۷
C20:1n9	Eicosenoic	۰/۲۰	۰/۷۰	ND	۰/۳۳۵
C22:1n9	Erucic	ND	ND	ND	ND
C24:1n9	Nervonic	۰/۰۸	۰/۷۴	ND	۰/۰۵
<b>Polyunsaturated</b>					
C18:2n6	Linoleic	۱۰/۰۰	۱۰/۷۸	ND	۶/۷۲
C18:3n3	α-Linolenic	۱۵/۹۳	۶/۴۳	۸/۴۴	۱/۴۹۸
C20:2n6	Docosadienoic	۰/۲۹	۰/۴۲	ND	۰/۱۱
C20:4n6	Arachidonic	۰/۴۵	۲/۵۸	ND	۱/۴۵
C20:3n3	Eicosatrienoic	۱/۳۲	۲/۴۵	ND	۳/۶۸۵
C20:5n3	Eicosapentaenoic	۳/۳۷	۵/۵۰	ND	۱۵/۴۷
C22:6n3	Docosahexaenoic	۳/۲۴	۵/۰۳	۰/۴۲	۳/۱۸

ND: عدم شناسایی اسیدچرب به دلیل پایین بودن میزان آن

داد که محصول PCR مربوط به این ژن در تمامی نمونه‌های این جمعیت اندازه یکسانی در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه دارد.

**نتایج بررسی‌های ژنتیکی**  
نتایج الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه ۲۱۷ ژفت باز از ژن شوک حرارتی HSP26 بروی ژل آگارز ۱/۲٪ در شکل ۱ آورده شده است. نتایج الکتروفورز نشان



شکل ۱: ژل الکتروفورز محصول PCR مربوط به ژن Hsp26. نمونه‌ها به ترتیب ۱ تا ۱۰: آرتمیای میقان،

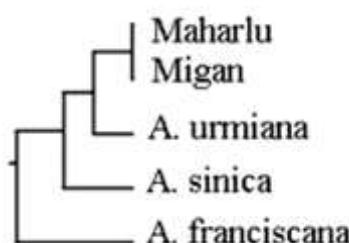
*A. urmiana* : ۱۰ و ۹ *A. franciscana* : ۷ و ۶ *Maharlu Lake* : ۵ و ۶

توالی این ناحیه در آرتمیای میقان با آرتمیای دو جنسی ارومیه دیده شد. آنالیز فیلوزنی انجام شده بر این ناحیه در مقایسه با دیگر نمونه‌های یافت شده در بانک ژنی، قربات (فاسله نزدیک ژنتیکی) این آرتمیا را با دیگر آرتمیاهای پارتنوژن و همچنین آرتمیای دو جنسی ارومیه نشان داد (شکل ۳).

توالی حاصل شده از سکانس این ناحیه در چهار جمعیت مورد مطالعه در مقایسه با نمونه‌های یافت شده در بانک ژنی (*A. sinica*) (Genbank) مربوط به نمونه *A. sinica* نمایش داده شد است (شکل ۲). این بررسی نشان داد که توالی این ناحیه بیشترین تشابه را با توالی ژنوم آرتمیای پارتنوژن دریاچه مهارلو دارد. همچنین شباهت مولکولی زیادی بین

<b>Maharlu</b>	AGAATGATTAGAAAGCTCCGGACACCAAGTAGGGCTATAAAAAGAGCTAGCTACTOCTGGG
<b>Migan</b>	AGAATGATTAGAAAGCTCCGGACACCAAGTAGGGCTTTAAAAGAGCTAGCTACTOCTGGG
<b>A. urmiana</b>	AGAATGATGAGAAAGAGCTCCGGACACCAAGTAGGGCTATAAAAAGAGCTAGCTACTOCTGGG
<b>A. sinica</b>	AGAATGATGAGAAAGAGCTCCAGATAACCAAGTAGGGCTTTAAAAGAGCTAGCTACTOCTGGG
<b>A. franciscana</b>	AGAATGATGAGAAAGAGCTCCAGATAACCAAGCAGGGCTTTAAAGGAGTAGCTACTOCTGGG
*****	*****
<b>Maharlu</b>	TCCTGAGGGACACTGTGATGAATTCAAGTTCAAGCTAGATGTTGGTCACTTTCTACCA
<b>Migan</b>	TCCTGAGGGACACTGTGATGAATTCAAGTTCAAGCTAGATGTTGGTCACTTTCTACCA
<b>A. urmiana</b>	TCCTGAGGGACACTGTGATGAATTCAAGTTCAAGCTAGATGTTGGTCACTTTCTACCA
<b>A. sinica</b>	TCTCTGAGGGACACTGTGATGAATTCAAGTTCAAGCTAGATGTTGGTCACTTTCTACCA
<b>A. franciscana</b>	TCCTGAGGGACACAGCTGATGAATTCAAGTTCAAGCTAGATGTTGGCACACTTTTACCA
*****	*****
<b>Maharlu</b>	AATGAAAATTACAGTCAAGACCACACTGACTATGATATTCTTGTCATGGCAAAACATGACGAG
<b>Migan</b>	AATGAAAATTACAGTCAAGACCACACTGACTATGATATTCTTGTCATGGCAAAACATGACGAG
<b>A. urmiana</b>	AATGAAAATTACAGTCAAGACCACACTGACGATGATATTCTTGTCATGGCAAAACATGACGAG
<b>A. sinica</b>	AATGAAAATTACAGTCAAGACCACCGACGATGATATTCTTGTCATGGCAAAACACGACGAG
<b>A. franciscana</b>	AACGAAAATTACAGTCAAGACAAACGACGATGATATTCTTGTCATGGCAAAACATGACGAG
*****	*****
<b>Maharlu</b>	CGATCGATGAATATGGACACGTCACAAAG
<b>Migan</b>	CGGTGCGATGAATATGGACACGTCACAAAG
<b>A. urmiana</b>	CGGTGCGATGAATATGGACACGTCACAAAG
<b>A. sinica</b>	CGGTGCGATGAATATGGACACGTCACAAAG
<b>A. franciscana</b>	CGATCTGATGAATATGGACACGTCACAAAG
*****	*****

شکل ۲: توالی ردیف شده بخشی از ژن Hsp26 آرتمیای میقان در مقایسه با چند جمعیت مختلف آرتمیا توسط  
Multiple sequence Alignment



شکل ۳: رابطه فیلوزنیک آرتمیای میقان در مقایسه با چند جمعیت مختلف آرتمیا

## بحث

تفاوت‌هایی که در اندازه سیست و همچنین ناپلیوس اینستار یک نمونه‌های بدست آمده از سایت‌های مختلف، قبل‌گزارش شده است می‌تواند به پارامترهای فیزیکی، شیمیایی، ژنتیکی و دستری به مواد غذایی درمناطق مختلف دریاچه‌ها مربوط باشد (Manaffar, 2012). در این ارتباط، مطالعات Sorgeloos و Vanhaecke در سال ۱۹۸۰ نشان داد که اندازه سیست می‌تواند تا حدودی بصورت ژنتیکی تعیین گردد. در هر حال اگرچه معیارهای بیومتریک درگذشته برای تعیین خواص استفاده می‌شوند اما تعییرپذیر بودن آنها در شرایط زیستی مختلف باعث می‌شود که نتوان از آنها به عنوان نتایج قابل اعتماد برای معین‌کردن منشا جمعیت‌های نامشخص آرتمیا استفاده کرد.

مدارکی دال بر کنترل ویژگی‌های رشد و بقاء در نژادهای مختلف آرتمیا وجود دارد که نشان می‌دهد این ویژگی‌ها در کنترل عوامل ژنتیکی می‌باشند. بطور مثال بررسی مقایسه‌ای رشد و بقاء سه جمعیت آرتمیای خلیج سانفرانسیسکو و *A. franciscana* پرورش یافته در بربیل و همچنین فیلیپین تحت شرایط آزمایشگاهی نشان داد که هر سه این جمعیت‌ها دارای ویژگی‌های رشد و بقاء یکسانی هستند (Vanhaecke & Sorgeloose, 1980). با این وجود گاهاً مابین دو نژاد آرتمیا که دارای فاصله ژنتیکی زیاد می‌باشند (دریاچه چاپلین و بوئنوس آیرس) فاکتورهای رشد یکسانی را مشاهده نمود. این در حالیست که با وجود رابطه خوبی‌شاندی مابین دو جمعیت آرتمیای دریاچه چاپلین و خلیج سانفرانسیسکو که هر دو *A. franciscana* می‌باشند نیز تفاوت‌های زیادی از نظر Bowen *et al.*, (1978). در آزمایشی مشخصات بقا، رشد و مورفومتری جمعیت‌های آرتمیای شمال مصر (یک نژاد دوجنسی و دو نژاد پارتنوژنتیک) در شوری‌های (g/l) ۳۵-۲۰۰ مورد سنجش قرار گرفتند. این تحقیق نشان داد که جمعیت دوجنسی بهترین بقاء را در ۸۰ گرم در لیتر نشان می‌دهد در حالیکه نژادهای پارتنوژنتیک در شوری‌های بالا و پایین بقاء خوبی داشتند (El Bermawi *et al.*, 2004). بنابراین نتایج نشان داد که نژادهای پارتنوژنتیک

به دلیل ارزش متفاوت گونه و جمعیت‌های مختلف آرتمیا-های جدید آرتمیا مورد توجه قرار گرفته است. وجود تشابهات زیاد، تفاوت در اندازه سیست، ناپلیوس و ویژگی‌های مورفومتریک آرتمیا، امکان شناسایی یک جمعیت آرتمیا را مقدور می‌سازد. مطالعات نشان داده است که برخی از این ویژگی‌های فنتوپی‌ریشه ژنتیکی داشته در عین حال می‌توانند از جمله صفات وابسته به محیط نیز محسوب شوند.

بر اساس مطالعات به عمل آمده، اندازه سیست و ناپلی آرتمیا می‌تواند تا حدی برای تشخیص جمعیت‌های آرتمیا مورد استفاده قرار گیرد. در تحقیق حاضر اندازه سیست کامل آرتمیای میقان ۲۷۶/۲۸ میکرون حاصل شد که مطابق مطالعات Abatzopoulos و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد. در این مطالعه که اندازه سیست یازده جمعیت مختلف آرتمیا از نواحی مختلف ایران و حتی داخل دریاچه ارومیه با هم مقایسه شده بودند، به جزئیات کامل آرتمیای گلمانخانه (یکی از نواحی داخل دریاچه ارومیه) می‌پرداختند. در حد ۲۸۰/۷ میکرون داشتند، سیست آرتمیای بکرزا دریاچه Varmal دارای بزرگ ترین قطر، ۲۸۵/۴ میکرون بود. همچنین در تحقیق حاضر اندازه ناپلیوس اینستار یک آرتمیای میقان، ۵۴۴/۶۶ میکرون بیومتری شد که از بزرگترین ناپلی‌های گزارش شده در مقایسه با دیگر جمعیت‌های آرتمیا می‌باشد. لازم به ذکر می‌باشد که در مطالعه Abatzopoulos و همکاران در سال ۲۰۰۶، گزارش شده است که اختلاف قابل توجهی در بیومتری سیست و ناپلیوس آرتمیا در نمونه‌های دو جنسی جمع‌آوری شده از سایت‌های مختلف دریاچه ارومیه و میان جمعیت بکرزا وجود دارد ( $p=0.0005$ ). همچنین بین نمونه‌های بکرزا و دو جنسی اختلاف قابل توجهی ( $p=0.0005$ ) وجود داشت. این مطالعات نشان داده است که اندازه سیست و ناپلی معمولاً در جمعیت‌های بکرزا به طور قابل توجهی در مقایسه با *A. urmiana* کوچکتر است. این تحقیق در تایید یافته‌های قبلی نشان داد که قطر سیست و طول ناپلی آرتمیا صفاتی هستند که به میزان زیادی به ویژگی‌های ژنتیکی ارتباط دارند. چنین

گرفته است (Ruiz *et al.*, 2007). بویژه تفاوت در ترکیب اسید چرب سیستها و ناپلیها از طریق تفاوت در ترکیب اسید چرب غذای بلعیده شده توسط جمعیت والد Navarro & Amat, (Lavens *et al.*, 1989) یا انتخاب ماده غذایی (Ruiz *et al.*, 2007) ۱۹۹۲ تعبین می‌شود. در مقابل، فاکتورهای موثر بر ترکیب قرار گرفته است. Gozalbo در سال ۱۹۹۰ دریافت که بیومس آرتمیای بالغ گونه‌های مختلف تغذیه شده در آزمایشگاه با جلبک یکسان، تفاوت‌هایی را در پروفایل اسید چرب نشان می‌دهند. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که با وجود تغذیه یکسان، تفاوت‌های بسیار فاحشی مابین اسیدهای چرب تیمارهای مختلف مشاهده می‌شود.

نظر به اهمیت برخی اسیدهای چرب در گونه‌های مختلف آبزیان در تامین تحمل تغییرات اکولوژیک و پیگمانتسیون، افزایش رشد و بقاء و حتی تولید مثل (Bell & Sargent, 2003)، شناسایی جمعیت‌هایی از آرتمیا که بتوانند بصورت ژنتیکی با متabolیسم و آتابولیسم، اسیدهای چرب مهم را در بافت‌های خود ذخیره کنند اهمیت علمی و تجاری دارد. با توجه به اینکه آرتمیا بایستی دارای مکانیسمی باشد که بتواند در کنار زندگی در شرایط استرس‌زای محیطی قادر به دفع مقادیر زیادی از یون‌های فوق از سیستم درون سلولی باشد حدس زده می‌شود که نقش اسیدهای چرب در این موجود نیز تاثیرگذار باشد. این ادعا بوسیله تحقیقات مختلفی که نشان می‌دهند اختلاف در تناسب اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره با اسیدهای چرب اشباع شده غشاهای سلولی، فعالیت پمپ  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase را تحت تاثیر قرار می‌دهند تایید می‌شود (Towle, 1981). البته بایستی به عنوان آخرین نکته به این مورد نیز اشاره نمود که ویژگی‌های درون گونه ای و ژنتیکی یکی از مهمترین دلایل تغییر پروفایل اسیدهای چرب در آرتمیا تشخیص داده شده‌اند و نقش تغذیه در بعد دوم قرار دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آرتمیای دریاچه میقان ارزش غذایی بسیار خوبی دارد و حتی می‌توان از آن به عنوان غذای آبزیان دیگر بدون نیاز به غنی سازی استفاده نمود.

انعطاف‌پذیری بیشتری دارند و نسبت به گونه‌های دوجنسی می‌توانند حدود وسیعتری از شوری را تحمل کنند (Triantaphyllidis *et al.*, 1995). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با وجود اینکه جمعیت آرتمیای میقان برای اولین بار در این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی کشت داده می‌شد و منبع سیستم محیط طبیعی بود، لیکن درصد بقاء بسیار خوبی را از خود نشان داد. مقایسه آماری این نمونه با نمونه‌های یافت شده در ایران که بصورت بومی و غیر بومی در آزمایشگاهها و مراکز تکثیر و پرورش مورد استفاده قرار می‌گیرد نشان داد که بقاء جالب این جمعیت می‌تواند آن را به عنوان یکی از آرتمیاهای مهم ایران مورد توجه محققین و پرورش دهنگان آرتمیا و ماهیان زینتی قرار دهد.

وجود برخی تفاوت‌های فیزیولوژیکی متفاوت از جمله تغییرات اسیدهای چرب می‌تواند ریشه در ویژگی‌های ژنتیکی و متغیر بودن در نحوه پاسخ به اثرات محیطی باشد. در این ارتباط مشخص شده است که تفاوت در ساختار ژنتیکی مابین گونه‌های مختلف آرتمیا (Pilla and Beardmore, 1994) و نیز میان جمعیت‌های درون یک گونه (Browne & Hoops, 1990) احتمال تفاوت‌های فیزیولوژیکی میان نژادها را افزایش می‌دهد (Vanhaecke *et al.*, 1984). نقش اسیدهای چرب خصوصاً DHA و EPA در رشد و تکامل لارو ماهی‌ها بویژه ماهی‌های دریازی پیش از این مورد توجه قرار گرفته بود (Kraul *et al.*, 1993). پیش از این اثبات شده است که مهمترین اسیدهای چرب ضروری برای سخت‌پوستان، ماهی‌ها و نرمتنان دریازی و آب شور، اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر (HUFA) بویژه ایکوزاپنتانوئیک اسید 20:5 (n-3) (EPA) و دکوزاهاگزانوئیک اسید (n-3) (DHA) هستند. این ترکیبات، برای تشکیل غشا، تنظیم اسمزی و تنظیم پروستاگلندین‌ها مورد نیاز هستند. همچنین به نظر می‌رسد که آن‌ها دارای نقش فعالی در سیستم ایمنی می‌باشند (Citarasu *et al.*, 1998) درباره علل تغییرپذیری پروفایل اسیدهای چرب آرتمیا شناخت کمی وجود دارد. در گذشته مطالعاتی روی فاکتورهای موثر بر پروفایل اسید چرب سیستها و ناپلی‌ها صورت

از تحقیق حاجی رستملو (۱۳۸۶) نیز حاکی از وجود اختلاف نوکلئوتیدی (بطور متوسط ۳/۴۰ درصد) و فاصله ژنتیکی قابل توجه (حداکثر ۰/۲۲۶۷) بین جمعیت‌های پارتنوژن ایران می‌باشد.

نتایج تحقیق حاضر ضمن نشان دادن قربت فامیلی آرتمیای پارتنوژن میقان با دیگر آرتمیاهای پارتنوژن نشان داد که این آرتمیا به صورت کامل از دیگر آرتمیاهای دو جنسی از نظر فاصله ژنتیکی دور بوده اما اختلافات جزئی ولی قابل توجه این آرتمیا با دیگر آرتمیاهای پارتنوژن می‌تواند به عنوان یک فاکتور قابل تحقیق در آینده مورد توجه قرار گیرد. در این خصوص با توجه به اینکه این جمعیت میزان رشد و بقاء خوبی از خود نشان داد توجه را به این نکته جلب نمود که سطح بیان ژن‌های مربوط به پروتئین‌های شوک حرارتی در این آرتمیا فعال شده و احتمالاً وجود پروتئین‌های محلول در پروفایل پروتئینی می‌تواند شاهدی برای وجود قابلیت بالای رشد و بقاء این آرتمیا قلمداد شود.

#### منابع

حافظیه، م.، ۱۳۸۱. آرتمیا میگوی آب شور. موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات علمی. ۲۱۴ صفحه.

**Abatzopoulos, T.J., Agh, N., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M. and Sorgeloos, P., 2006.** Artemia sites in Iran, Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 86: 299-307

**Abreu-Grobois, F.A. and Beadmore, J.A., 1980.** International study on Artemia. II. Genetic characterization of Artemia population- an electrophoretic approach. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O.A. and Jaspers, E. (eds) The Brineshrimp Artemia, Vol. 1, Morphology, genetics, radiobiology, toxicology. pp133-146

وجود مقادیر بالای طبیعی دو اسید چرب EPA و DHA در آرتمیای دریاچه میقان همچنین نشان داد که وجود این دو اسید چرب می‌تواند دلیل بقای بالای این آرتمیا در شرایط آزمایشگاهی باشد.

با توجه به ساختار ژن‌های شوک حرارتی و قابلیت این ژن برای بررسی جمعیتی بین آرتمیاهای مختلف که در مدت کوتاهی در یک زیستگاه خاص یافت شده‌اند، در این تحقیق نیز تعیین توالی یکی از چاپرون‌های مولکولی بنام Hsp26 مورد توجه قرار گرفت. با توجه به اینکه این ژن خصوصاً در سیست آرتمیا و لارو آرتمیا در مرحله ناپلیوس فعال می‌باشد و اشاره به نوع گونه‌زایی آرتمیا که آلوپاتریکی می‌باشد می‌توان حدس زد که تغییرات موجود در این ژن بین جمعیت‌های مختلف آرتمیا می‌تواند به عنوان نشانه‌هایی از گونه‌زایی در آرتمیا مورد توجه قرار گیرد. در بررسی Bagshaw در سال ۱۹۹۱ با استفاده از تکنیک RFLP در 12s-16srDNA آرتمیا، تفاوت ژنتیکی فاحشی بین گونه‌های دوجنسی و بکرزا گزارش شده است و همچنین مطالعات حاجی رستملو در سال ۱۳۸۶ در بررسی جمعیت پارتنوژن‌تیکای ایران با استفاده از تکنیک‌های مولکولی نشان داده است که با استفاده از این تکنیک می‌توان جمعیت آرتمیای پارتنوژنیک ایران را به ۵ جمعیت جدا شامل جمعیت حوض سلطان، جمعیت میقان اراک، جمعیت مهارلو، جمعیت بختگان و جمعیت اینچه برون تقسیم بندی کرد. در این ارتباط بررسی گونه‌ها در جنس آرتمیا (نمونه‌های دوجنسی و پارتنوژن) بر اساس سکانس نوکلئوتیدی دو ناحیه mtDNA شامل COI و Cytb، میزان بالای اختلاف در سطح نوکلئوتیدی (بطور متوسط ۱۵ درصد) را بین دو گونه دوجنسی A. salina و A. franciscana و دو سویه پارتنوژن از کشور اسپانیا نشان داد ( Perez et al., 1994). این تحقیق نشان داده است که فاصله تکاملی بین دو سویه آرتمیا پارتنوژنیکا بالا بوده (۰/۱۲۷) و آن‌ها ارتباط واضحی را با هیچکدام از نمونه‌های دوجنسی نشان ندادند. استفاده همزمان از مارکرهای مولکولی و نشانگرهای مورفولوژیک نشان داد که تمام نمونه‌های آرتمیای مورد مطالعه حتی آرتمیاهای بکرزا مورد مطالعه به جمعیت‌های متفاوت تعلق داشتند. نتایج حاصل

- Asem, A., Rastegar-Pouyani, N. and De Los Rios, P., 2010.** The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda): true and false taxonomical descriptions. Latin American Journal of Aquatic Research, 38: 501-506.
- Badaracco, G., Bellorini, M. and Landsbeger, N., 1995.** Phylogenetic study of bisexual *Artemia* using Random Amplified polymorphic DNA. Journal of Molecular Evolution, 41: 150-154.
- Bagshaw, J.C., 1991.** RFLP analysis of Ribosomal RNA genes among species and population of *Artemia*, ASCB abstract form.
- Bell, J.G. and Sargent, J.R., 2003.** Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. Aquaculture, 218: 491-499.
- Bowen, S.T., Durkin, J.P. Sterling, G. and Clark, L.S., 1978.** *Artemia* hemoglobins: genetic Variation of Parthenogenetic and zygogenetic populations. Biological Bulletin, 155: 237-287.
- Browne, R.A. and Hoops, C.W., 1990.** Genotype diversity and selection in asexual brine shrimp (*Artemia*). Evolution, 44: 1035-1051.
- Citarasu, T., Immanuel, G. and Marian, M.P., 1998.** Effect of feeding *Artemia* enriched with stresstol and cod liver oil on growth and stress resistance in the Indian white shrimp *Penaeus indicus* postlarvae. Asian Fisheries Science, 12: 65-75.
- El-Bermawi, N. Baxevanis, A.D. Abatzopoulos, T.J. Van Stappen G. and**
- Sorgeloos, P., 2004.** Salinity effects on survival, growth and morphometry of four Egyptian *Artemia* populations (International Study on *Artemia*. LXVII). Hydrobiologia, 523: 175-188.
- Gozalbo, G., 1990.** Principios nutritivos inmediatos en biomassas silvestres y cultivadas de *Artemia*. MS Thesis. Universidad de Valencia, Spain. 269 pp.
- Hajirostamloo, M., 2009.** Genetic Differentiation of *Artemia* Parthenogenetica from Various Ecological Population of Iran. World Academy of Science Engineering and Technology, 7: 154-160.
- Kraul, S.H., Brittain, K., Cantrell, R. and Nagao, T., 1993.** Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi, *Coryphaena hippurus*. Journal of World Aquaculture Society, 24: 186–193.
- Lavens, P., Léger, P. and Sorgeloos, P., 1989.** Manipulation of the fatty acid profile in *Artemia* offspring produced in intensive culture systems. In: De Paw, N., Jaspers, E., Ackefors, H., Wilkins, N. (eds.) Aquaculture: A Biotechnology in Progress. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium. pp.731-739.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996.** Manual on the production and use of live food for aquaculture. Lab of aquaculture and *Artemia* refrence center. University of Ghent, Belgium. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 361p.

- Lepage, G. and Roy, C.C., 1984.** Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research* 25: 1391-1396.
- Manaffar, R., 2012.** Genetic diversity of *Artemia* populations in Lake Urmia, Iran. PhD thesis, Ghent University.
- Navarro, J.C. and Amat, F., 1992.** Effect of algal diets on the fatty acid composition of brine shrimp, *Artemia* sp. cysts. *Aquaculture*, 101: 223-227.
- Perez, M.L., Valverde, J.R., Batuecas, B., Amat, F., Marco, R. and Garesse, R., 1994.** Speciation in the *Artemia* genus: Mitochondrial DNA analysis of bisexual and parthenogenetic brine shrimp. *Journal of Molecular Evolution*, 38: 156-168.
- Pilla, E.J.S. and Beardmore, J.A., 1994.** Genetic and morphometric differentiation in Old World bisexual species of *Artemia*. *Heredity*, 73: 47-56.
- Ruiz, O., Medina, G.R., Cohen, G., Amat, F. and Navarro, J.C., 2007.** Diversity of the fatty acid composition of *Artemia* sp. cysts from Argentinean populations. *Marine Ecology Progress Series*, 335: 155-165.
- Sambrook, J.E.F., Fritch, and Maniatis, T., 1989.** Molecular cloning a laboratory manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York. 465p.
- Towle, D.W., 1981.** Role of Na+/K+ ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. *Marine Biology Letters*, 2: 107-122.
- Triantaphyllidis, G.V., Populopoulou, K., Abatzopoulos, T.J., Perez, C.A.P. and Sorgeloos, P., 1995.** International study on Artemia XLIX. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and life span characteristics of bisexual and a parthenogenetic population of Artemia. *Hydrobiologia*, 302: 215-227.
- Triantaphyllidis, G.V., Abatzopoulos, T.J. and Sorgeloos, P., 1998.** Review of the biogeography of the genus *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *Journal of Biogeography*, 25: 213-226.
- Valverde, J.R., Batuecas, B., Moratilla, C., Marco, R. and Garesse, R., 1994.** The complete mitochondrial DNA sequence of the crustacean *Artemia franciscana*. *Journal of Molecular Evolution*, 39: 400-408.
- Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P., 1980.** International study on Artemia IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin. In: Persoone, G., Sorgeloos, P., Roels, O. and Jaspers, E., (eds) *The brineshrimp Artemia*. Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wettern, Belgium. pp. 393-405.
- Vanhaecke, P., Siddall, S.E. and Sorgeloos, P., 1984.** International study on Artemia. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of Artemia of various geographical origins. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 80: 259-275.

**Van Stappen, G., 2002.** Zoogeography. In:  
Abatzopoulos, T.J., Beardmore, J.A.,  
Clegg, J.S., Sorgeloos, P., (eds). *Artemia:*  
basic and applied biology. Kluwer Academic  
Publishers, Dordrecht, Netherlands. pp,171-224.

## **Comparative study on some physiologic, biometrics, Nutritional value and molecular characteristics of Mighan Lake's *Artemia* (Arak)**

**Manaffar R.<sup>(1)</sup>; Taghavi M.<sup>(2)</sup>; Farah Farokhi F.<sup>(3)</sup>  
And Moosavi Toomtari G<sup>(4)\*</sup>**

\* gmoosavit@gmail.com

1- Assistant professor of Biotechnology, Urmia University, Urmia, Iran.

2- M. Sc. student of physiology, Urmia University, Urmia, Iran.

3- Associate professor of histology, Urmia University, Urmia, Iran.

4- Ph.D. student of histology, Urmia University, Urmia, Iran.

Received: January 2014

Accepted: August 2015

**Keywords:** *Artemia*, Morphometry, Survival, Mighan Lake, *Artemia* Phylogeny

### **Abstract:**

Due to the importance of identifying the major characteristics of *Artemia* populations, in this study some physiologic, biometric, nutritional and genetic characteristics of one *Artemia* population from Iran named Arak's *Artemia* (Mighan Lake) was studied. The hatched larvae of *Artemia* were reared in the saline water of 80 g/l with standards method in which percentage of survival and growth were evaluated on days 3, 7, 11 and 15 of culture period. In order to study the morphometric characteristics of *Artemia*, diameter of full cysts as well as 11 more morphological parameters of adult *Artemia* were measured. The fatty acids profile were analyzed by gas chromatography. The Genetic characteristics were compared with other *Artemia* populations by sequencing after PCR amplification of Hsp 26 gene. According to the results, the diameter of cysts and nauplii instar were 276.28 and 544.66 micron, respectively. The growth and survival of brine shrimp *Artemia*, in comparison with other populations, reflected good growth and survival of this population. The results of fatty acids profile also showed higher amounts of polyunsaturated fatty acids in this *Artemia* compared to other populations cultured under identical conditions. The morphometric characteristics and genetic study of Hsp 26 gene showed great affinity of this population with the parthenogenetic brine shrimp *Artemia*. However, individual differences could be used to characterize this population.

---

\* Corresponding author