magiran.com

بررسی میزان رشد و بقاء سه گونهٔ مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبکهای تک سلولی *Nannochloropsis oculata*، *Tetraselmis suecica* و *Dunaliella tertiolecta*

حسام وجود زاده [۱]؛ فخری قزلباش [۲]؛ حسین ریاحی [۳] و رامین مناف فر [۴]*

Raminmanaffar@yahoo.com

۱ و۳- دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۲- گروه زیست شناسی دانشگاه ارومیه، ارومیه صندوق پستی: ۱۶۵

۴ - پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی: ۱۶۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۶

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی میزان رشد و بازماندگی دو گونه از آرتمیاهای ایران (آرتمیای پارتنوژنز از دریاچه مهارلو و *Artemia urmiana*) در مقایسه با *A. franciscana*، در تغذیه با سه جیرهٔ غذایی از جلبکهای تک‌سلولی مختلف (*Tetraselmis suecica*, *Dunaliella tertiolecta* و *Nannochloropsis oculata*) با ارزشهای غذایی متفاوت، انجام گردید. دورهٔ آزمایش از زمان تخم‌گشایی تا بلوغ، ۱۵ روز در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که *A. franciscana* در کل رشد و بازماندگی بهتری را نسبت به دو گونه آرتمیای دیگر داشته و همچنین جلبکهای تتراسلمیس و دونالیلا در مقایسه با جلبک نانوکلروپسیس غذاهای بهتری برای تغذیه آرتمیا می‌باشند ($P<0.05$). زمان بلوغ، رشد، بازماندگی و اولین زادآوری آرتمیاهای تغذیه شده با جلبکهای مختلف، می‌تواند متاثر از نوع تغذیه جلبکی باشد.

لغات کلیدی: *A. franciscana*، *A.urmiana*، *A. parthenogenetica*، بقاء، تتراسلمیس، دونالیلا، نانوکلروپسیس

مقدمه

آرتمیا بعنوان اصلی‌ترین غذای زنده در پرورش لارو انواع آبزیان سالهاست که مورد توجه می‌باشد. قدرت تولید مثل بالا و پرورش آسان در محیطهای آزمایشگاهی، آنرا به یکی از جالب توجه‌ترین موجودات جهت بررسی الگوهای تولید مثلی و تکاملی تبدیل نموده است (Coutteau, 1996). با توجه به اهمیت غذای زنده در تکثیر و پرورش لارو انواع آبزیان، پرورش انواع مختلفی از غذاهای زنده مانند آرتمیا، روتیفر و سیکلوپس بسیار مورد توجه واقع شده است. لذا جهت پرورش چنین موجوداتی و حتی لارو بسیاری از سخت‌پوستان در مراحل ابتدایی، دسترسی به انواع جلبکهای تک سلولی یک امر حیاتی می باشد (Lavens & Sorgeloos, 1996).

جلبک *Nannochloropsis oculata* با اندازه ۲ تا ۴ میکرون از جمله جلبکهای تک سلولی سبز تاژکدار می باشد و در این آزمایش بعنوان یکی از تیمارهای غذایی مورد توجه قرار گرفت. این جلبک با رشد سریع براحتی در آزمایشگاه کشت داده شده و با دارا بودن دیواره نازک سلولی یکی از غذاهای اصلی برای پرورش انواع روتیفر میباشد. گونهٔ *N. oculata* با حدود ۱۶/۴۲ درصد از اسیدهای چرب HUFA (امگا ۳) از

* نویسندهٔ مسئول

magiran.com

کل اسیدهای چرب بعنوان یکی از منابع غنی EPA شناخته می‌شود اما میزان DHA پایینی دارد (Okauchi *et al.*, 1990). این جلبک دارای مقادیر بالای ویتامین B_{12} است که این ویتامین از مواد لازم برای رشد و بقاء لاروهای جوان است. *N. oculata* از جلبکهای تک سلولی مهم برای افزایش قدرت ایمنی لاروهای آبزیان نیز محسوب می‌شود (Okauchi *et al.*, 1990). جلبک *Tetraselmis suecica* با اندازه ۹ تا ۱۴ میکرون جلبک سبز تاژکداری است که براحتی در محیطهای باز و سیستمهای پرورش انبوه کشت داده می‌شود. تحمل محدودهٔ دمایی بالایی دارد که کار پرورش آن را ساده‌تر می‌کند. گونهٔ *T. tetrathele* بطور وسیع در آبزی‌پروری کاربرد دارد. میزان اسید چرب EPA این جلبک تقریباً برابر ۵ درصد و DHA آن حدود ۷ درصد ازکل اسیدهای چرب می‌باشد (Fukusho *et al.*, 1985 ; Wilkerson, 1998). جلبک *Dunaliella tertiolecta* با اندازه متوسط ۸ تا ۱۲ میکرون از جمله جلبکهای سبز تک سلولی تاژکدار می‌باشدکه در آزمایشگاه پرورش داده می‌شود. این جنس با تعداد زیادی گونه از جمله جلبکهای معمول در آبزی‌پروری می‌باشد که تحقیقات بسیاری بر روی این جلبک صورت گرفته است (منا فر و همکاران، ۱۳۸۵). توانایی تولید انواع رنگیزه در برخی گونه‌های این جنس (*D. salina* و *D. viridis*) آن را بیش از پیش مورد توجه قرار داده است. سادگی پرورش این جلبک تخم مرغی شکل آنرا به یکی از جلبکهای بسیار مهم در پرورش آرتمیا (و انواع لارو آبزیان) تبدیل کرده است. ارائه فرمولاسیون مخصوص برای تغذیه آرتمیا در آزمایشگاه جهت بررسی‌های بیولوژیک آن توسط گونه *D. tertiolecta* و تاکید به استفاده از این جلبک بعنوان ۷۵ درصد از جیره غذایی شاهد این ادعا می‌باشد. پراکنش مناسب و امکان دسترسی به استوک اولیه این جلبک در ایران (دریاچه ارومیه و مهارلو) یکی از دلایل اهمیت این جلبک می‌باشد (ریاحی، ۱۳۷۳).

بمنظور تعیین اپتیمم جیره غذایی با بهترین سرعت رشد، بلوغ و توان تولید مثلی بالا دو جمعیت عمده آرتمیای ایران یعنی *A. urmiana* و آرتمیای بکرزای دریاچه مهارلو (*A. partheogenetica*) و آرتمیای دو جنسی خلیج سانفرانسیسکو (*A. franciscana*) (گونه غیر بومی) مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به این نکته که امروزه در بررسی‌های بیولوژیک که برای آرتمیا تعریف شده است، ۷۵ درصد جیره غذایی توسط جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* و ۲۵ درصد آن توسط مخمری بنام Lansy PZ ساخته می‌شود موارد فوق نیز در این آزمایش بعنوان تیمار شاهد غذا دهی در نظر گرفته شدند (Coutteu, 1996 ;Triantaphllidis *et al.*, 1998).

مواد و روش کار

سیستم مورد استفاده در پرورش جلبکهای تک سلولی فوق روش Batch culture بوده و جلبکهای مورد استفاده در این آزمایش بشرح جدول یک از مرحله محیط کشت جامد (آگار) تا مرحله کشت انبوه در آزمایشگاه ویژه کشت جلبکهای تک سلولی در پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی کشت داده شدند.

در انتهای دوره پس از عمل سانتریفوژ و افزایش تراکم، بوسیله لام مخصوص شمارش و به تراکم ۱۸×۱۰^{۶}cell/ml رسانده شد (Coutteau, 1996).

سیست مورد استفاده در این آزمایش، از سیست بانک پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی تهیه گردید. سیستهای فوق در اپتیمم شرایط (آب دریا با شوری ۳۵ppt، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، pH = ۸، هوادهی و نور ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس) تفریخ شدند. ظروف پرورشی فوق در داخل انکوباتوری با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شده و توسط یک پیپت پلاستیکی و لوله‌های هوادهی متصل به پمپ، مرکزی، هوادهی شدند. برای ممانعت از تبخیر آب، هر یک از ظروف فوق‌الذکر، توسط پتری دیشهای پلاستیکی که دارای دو سوراخ (یکی برای هوادهی و یکی برای غذادهی) بودند پوشانده شدند (Boone & Bass-Becking, 1931). لاروها طی چند ساعت اول بعد از تفریخ از زرده استفاده کرده لذا عمل غذادهی۲۴ ساعت بعد از تفریخ طبق جدول غذادهی Coutteau و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. غذای مورد استفاده در پرورش، ترکیبی از جلبک با غلظت ۱۸ میلیون سلول در میلی‌لیتر و مخمر فرموله شده‌ای بنام Lansy Pz بود (Boone & Bass-Becking, 1931).

مخمر مورد استفاده در این تحقیق بصورت آماده از مرکز مرجع آرتمیای دانشگاه کنت بلژیک تهیه گردید و جلبکهای مورد نیاز در آزمایشگاه تکثیر و پرورش داده شدند. بصورت ثابت در ۲۵ درصد جیره غذایی تمامی تیمارها از مخمر استفاده شد (Coutteau *et al.*, 1992). جلبکهای *Tetraselmis suecica* و *Nannochloropsis oculata* نیز به همراه ۲۵ درصد مخمر همانند نمونه شاهد جهت تغذیه آرتمیا مورد استفاده قرار گرفتند. به این ترتیب روزانه با حل نمودن ۴ گرم مخمر در ۶۰۰ میلی لیتر آب با شوری ۵۰ppt، محلولی ساخته می‌شد که به همراه جلبک براساس فرمول غذادهی بعنوان غذای آرتمیا مورد استفاده قرار می‌گرفت. بقاء و زیست‌سنجی آرتمیا در تیمارها و

magiran.com

تکرارهای مختلف در روزهای ۳، ۷، ۱۱و ۱۵ بررسی شد (Triantaphllidis *et al.*, 1998).

به این منظور آرتمیاهای موجود در هر ظرف پرورشی به کمک الکهای ۱۵۰ میکرومتری جمع‌آوری شده و توسط قطره چکان مخصوص شمارش شدند. در نهایت، درصد آرتمیاهای باقیمانده نسبت به آرتمیاهای اولیه محاسبه شد. میزان رشد آرتمیاها (طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی) نیز در همان روز بررسی بقا، با صید حدود ۳۰ آرتمیا بطور تصادفی از هر تیمار انجام پذیرفت. طول بدن آرتمیاها توسط میکروسکوپ مجهز به میکرومتر چشمی در روز سوم و با استفاده از دستگاه ویژه زیست‌سنجی در روزهای بعد اندازه‌گیری گردید. در ادامه و بعنوان بررسی تاثیر جیره‌های مختلف غذایی روی کیفیت بلوغ و تولید مثل، مدت ۳۰ روز با بررسی روزانه تمامی تکرارها و تیمارها، کیفیت تشکیل اندامهای تولید مثلی و میزان بلوغ در آرتمیای پارتنوژنز و تعداد جفت‌گیری‌های انجام یافته در گونه‌های دو جنسی در مدت فوق مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی فوق لاروهای تمامی تکرارها و تیمارها روزانه چند بار مورد بررسی دقیق قرار گرفته و اولین مورد از تشکیل کیسه تخمی در آرتمیاهای پارتنوژنز یا جفتگیری در آرتمیاهای دو جنسی بعنوان یک عامل مهم تولید مثلی ثبت شد. همچنین توانایی اولین زادآوری نیز بعنوان یک عامل تولید مثلی مورد بررسی قرار گرفت.

در نهایت بررسی آماری داده‌ها (زیست‌سنجی، رشد و بقاء) نیز با استفاده از برنامه SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون Tukey انجام شد.

جدول ۱: گونه‌ها و شرایط کشت مورد استفاده جلبکهای تک سلولی در آزمایشگاه در محیط کشت Walne

گونه جلبک	نور (لوکس)	دما (درجه سانتیگراد)	pH	شوری (ppt)
Nannochloropsis oculata	۴۵۰۰	۲۰-۲۴	۷-۹	۲۸
Tetraselmis suecica	۴۵۰۰	۲۰-۲۴	۷-۹	۳۸
Dunaliella tertiolecta	۴۵۰۰	۲۰-۲۴	۷-۹	۳۳

نتایج

نتایج درصد بقاء به تفکیک گروه جلبکی و گونه آرتمیا در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. بررسی آماری نتایج بدست آمده نشان داد که گونه‌های مختلف جلبکی تاثیرات متفاوتی بر درصد بقاء هر آرتمیا داشته است. بطور مثال تغذیه با جلبک نانوکلروپسیس در روز یازدهم برای *A. franciscana* و در روز هفتم تا یازدهم بر روی آرتمیای دریاچه مهارلو تاثیر معنی‌داری داشته بطوریکه کمترین درصد بقا در تغذیه با این جلبک دیده می‌شود ($P<0.05$). اما در گروه *A. urmiana* وضعیت کمی متفاوت‌تر بوده و تاثیر تغذیه با جلبک تتراسلمیس و نانوکلروپسیس بصورت یکسان در روز هفتم و روز یازدهم موجب افزایش درصد تلفات شده که این روند در روز پانزدهم باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در هر سه گروه تغذیه‌ای در مورد *A. urmiana* شده است و در بقیه موارد اختلاف معنی‌داری بین گروهها دیده نمی‌شود. همچنین نتایج نشان داد که یک گونه جلبک می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر روی گونه‌های مختلف آرتمیا داشته باشد. زیرا در همان حال که رژیم جلبکی دونالیلا و یا تتراسلمیس تاثیر تقریباً یکسانی بر بقای *A. franciscana* دارد (۸۸ و ۸۵ درصد بقاء) آرتمیای دریاچه ارومیه نزدیک به ۳۰ درصد اختلاف بقاء را در تغییر رژیم تغذیه ای نشان می‌دهد (جدول ۲).

در جدول ۳ به منظور بررسی بهتر تاثیر یک رژیم غذایی واحد بر روی سه گونه مختلف آرتمیا، نتایج در هر گروه جلبکی آورده شده است. بدین‌ترتیب در تغذیه سه گونه مختلف آرتمیا با جلبک دونالیلا مشخص شد که درصد بقاء در گونه آرتمیای ارومیه با *Artemia franciscana* در روزهای هفتم تا یازدهم معنی‌دار بوده و در انتهای دوره پرورش، تاثیر تغذیه با این جلبک بر روی سه گونه فوق هیچ تاثیر معنی‌داری را در گونه‌های مختلف آرتمیا ایجاد نکرده است ($P>0.05$). اما در تغذیه با جلبک تتراسلمیس تنها درصد تلفات در گروه آرتمیا ارومیانا از ابتدای روز هفتم تا انتهای دوره معنی‌دار می‌باشد ($P<0.05$). گروه تغذیه شده با جلبک تک سلولی نانوکلروپسیس هیچ اختلاف معنی‌داری تا روز هفتم در سه گونه تغذیه شده با جلبک فوق نشان نداد، در حالیکه در روز یازدهم آرتمیا ارومیانا با گونه *A. franciscana* اختلاف آماری پیدا نموده و این اختلاف

magiran.com

در روز پانزدهم در بین تمامی گروهها دیده می‌شود ($P<0.05$).

در انتهای روز پانزدهم کمترین تلفات متعلق به آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با *Dunaliella tertiolecta* و بیشترین تلفات متعلق به آرتمیا ارومیانا تغذیه شده با *Nannochloropsis oculata* بود.

بطور کلی بررسی درصد بقاء لاروها در تغذیه با ۳ تیمار غذایی نشان داد که بهترین درصد بقاء با جلبک تک سلولی دونالیلا حاصل شده است. لیکن تغذیه با جلبک تتراسلمیس در اغلب موارد نتایجی مشابه با تیمار تغذیه شده دونالیلا را داشت. اما تغذیه با جلبک نانوکلروپسیس موجب شده است که کمترین بقاء در تمامی نمونه‌ها حاصل شود. نتایج زیست‌سنجی تیمارهای جلبک و آرتمیا در روزهای ۳ تا انتهای دوره ۱۵ روزه پرورش در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۲: بازماندگی گونه‌های مختلف آرتمیا در تغذیه با ۳ جیره غذای جلبکی

گونه آرتمیا	گونه جلبک	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
Artemia franciscana	**Duna.**	۹۵/۰۶±۱/ ۸ a	۹۳/۴۳±۲/۰ a	۹۱/۳۱±۲/۴۸ a	۸۸/۵۶±۲/۶۷ a
	Tetra	۹۲/۷۵±۲/۰۳ a	۸۸/۷۰±۲/۷۱ a	۸۶/۸۵±۲/۴۱ a	۸۵/۳۵±۲/۷۷ a
	Nanno.	۹۲/۶۰±۶/۸۷ a	۸۶/۲۵±۹/۹۸ a	۸۰/۹۰±۱۰/ ۷۵ a	۶۹/۸۵±۷/۰۶ b
Artemia parthenogenetica Maharlu	**Duna.**	۹۶/۰۵±۱/۹۴ a	۸۸/۶۵±۵/۰۸ a	۸۵/۸۵±۶/۷۶ a	۸۰/۴۰±۱۱/۵۴ a
	Tetra.	۹۴/۲۵±۳/۱۸ a	۹۳/۶۹±۲/۸۹ a	۹۱/۵۰±۳/۰۶ a	۸۷/۹۳±۲/۴۵ a
	Nanno.	۹۴/۶۸±۴/۱۴ a	۷۴/۱۸±۱۱/۳۴ b	۶۰/۷۵±۱۰/۵۷ b	۴۸/۴۳±۶/۹۸ b
Artemia urmiana	**Duna.**	۹۶/۸۱±۲/۹۳ a	۸۵/۷۵ ±۲/۵ a	۸۲/۱۲±۱/۷۶ a	۷۶/۶۸±۶/۹۶ a
	Tetra.	۹۲/۳۳±۵/۹۲ a	۷۰/۱۸±۷/۸۵ b	۵۵/۰۷±۸/۵۲ b	۴۷/۳۵±۷/۵۵ b
	Nanno.	۹۳/۰۰±۳/۱۸ a	۷۵/۴۸±۸/۰۹ ab	۴۳/۴۰±۱۴/۹۷ b	۳۰/۹۶±۱۲/۴۳ c

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P>0.05$).

جدول ۳: تاثیر رژیم غذایی جلبکی بر بازماندگی ۳ جمعیت مختلف آرتمیا

گونه جلبک	گونه آرتمیا	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
Dunaliella tertiolecta	Franc.	۹۵/۰۶±۱/ ۸ a	۹۳/۴۳±۲/۰ a	۹۱/۳۱±۲/۴۸ a	۸۸/۵۶±۲/۶۷ a
	Mahar.	۹۶/۰۵±۱/۹۴ a	۸۸/۶۵±۵/۰۸ ab	۸۵/۸۵±۶/۷۶ ab	۸۰/۴±۱۱/۵۴ a
	Urm.	۹۶/۸۱±۲/۹۳ a	۸۵/۷۵ ±۲/۵ b	۸۲/۱۲±۱/۷۶ b	۷۶/۶۸±۶/۹۶ a
Tetraselmis suecica	Franc.	۹۲/۷۵±۲/۰۳ a	۸۸/۷±۲/۷۱ a	۸۶/۸۵±۲/۴۱ a	۸۵/۳۵±۲/۷۷ a
	Mahar.	۹۴/۲۵±۳/۱۸ a	۹۳/۶۹±۲/۸۹ a	۹۱/۵±۳/۰۶ a	۸۷/۹۳±۲/۴۵ a
	Urm.	۹۲/۳۳±۵/۹۲ a	۷۰/۱۸±۷/۸۵ b	۵۵/۰۷±۸/۵۲ b	۴۷/۳۵±۷/۵۵ b
Nannochloropsis oculata	Franc.	۹۲/۶±۶/۸۷ a	۸۶/۲۵±۹/۹۸ a	۸۰/۹±۱۰/ ۷۵ a	۶۹/۸۵±۷/۰۶ a
	Mahar.	۹۴/۶۸±۴/۱۴ a	۷۴/۱۸ ±۱۱/۳۴ a	۶۰/۷۵±۱۰/۵۷ ab	۴۸/۴۳±۶/۹۸ b
	Urm.	۹۳±۳/۱۸ a	۷۵/۴۸±۸/۰۹ a	۴۳/۴۰±۱۴/۹۷ b	۳۰/۹۶±۱۲/۴۳ c

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P>0.05$).

magiran.com

جدول ۴: زیست‌سنجی آرتمیا در تغذیه با ۳ گونه جلبک (میلی‌متر)

جمعیت آرتمیا	گونه جلبک	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
Artemia franciscana	Duna.	۱/۴۶۲ ±۰/۲۱ a	۴/۱۲ ±۰/۵۱ a	۵/۶۲ ±۱/۰ a	۶/۹۹ ± ۰/ ۸۶ a
	Tetra.	۱/۴۲ ± ۰/۱۸ a	۳/۹۴ ± ۰/۶۶ a	۶/۲۸ ± ۰/ ۷ b	۷/۸۶ ±۰/۹۲ b
	Nanno.	۱/۲۸ ± ۰/۲۱ b	۲/۹۷ ± ۰/ ۶۳ b	۴/۷۵ ± ۱/۰۹ c	۶/۱۱ ±۰/۹۷ c
Artemia parthenogenetica Maharlu	Duna	۱/۴۳ ± ۰/۱۱ a	۴/۰۷ ± ۰/۵۳ a	۶/۷۴ ±۰/۹۷ a	۸/۹۴ ± ۱/۱۱ a
	Tetra.	۱/۵۰ ± ۰/۱۴ a	۳/۸۶ ± ۰/۵۳ a	۷/۰۸ ± ۱/۰ a	۹/۱۲ ± ۱/۰۸ a
	Nanno.	۱/۴۸ ±۰/۳۲ a	۳/۱۴ ± ۰/۶۳ b	۵/۰۲ ±۰/۹۶ b	۷/۰۶ ±۱/۲۸ b
Artemia urmiana	Duna.	۱/۴۱ ±۰/۱۴ a	۴/۳۲ ± ۰/۵۳ a	۶/۹۰ ±۰/۹۹ a	۹/۲۴ ±۱/۱۲ a
	Tetra.	۱/۳۴ ±۰/۱۴ ab	۴ ±۰/۴۴ a	۷/۱۱ ±۰/۹۷ a	۹/۳۲ ±۱/۱۷ a
	Nanno.	۱/۲۹ ±۰/۱۵ b	۳/۰۸ ±۰/۷۵ b	۶/۰۱ ±۱/۰۸ b	۷/۲۰ ±۱/۵ b

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می باشند (P>0.05).

اما در بررسی نتایج زیست‌سنجی آرتمیاها در تغذیه با سه رژیم غذایی مشخص شد که در گونه *A. franciscana* از ابتدای دوره پرورش تیمار تغذیه شده با جلبک تک سلولی نانوکلروپسیس رشد کمتری نسبت به تیمارهای دیگر داشته و این اختلاف تا سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار می باشد (P<0.05). از روز یازدهم به بعد نیز آرتمیاهای فوق که با جلبک تتراسلمیس تغذیه شده بودند رشد بهتری را از خود نشان دادند که در نهایت موجب شد که گونه تغذیه شده با جلبک تتراسلمیس بزرگتر از آرتمیاهای تغذیه شده با دونالیلا باشند (P<0.05). اما در گروه آرتمیای مهارلو فقط در تیمار تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس این اختلاف معنی‌دار بود و رشد این آرتمیاها نسبت به دو جلبک دیگر کمتر بوده است (P<0.05). در گروه *A. urmiana* نیز به استثنای زیست‌سنجی روز سوم که اختلاف فقط در بین گروههای تغذیه شده با جلبک دونالیلا و نانوکلروپسیس می‌باشد، در بقیه روزها و تا انتهای دوره تنها تفاوت بین نمونه تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس و دو تیمار تغذیه ای دیگر دیده شد (P<0.05). در جدول ۵ نتایج کیفیت بلوغ و جفت‌گیری یا تولید مثل (تولید لارو یا سیست) تیمارهای فوق دیده می‌شود.

همانطور که در جدول ۵ دیده می شود *A. franciscana* (همانطور که انتظار هم می‌رفت) در هر سه تیمار تغذیه‌ای در مدت زمان کوتاهتری نسبت به آرتمیاهای دیگر و با هر نوع تغذیه‌ای سریعتر به بلوغ رسیده و قادر به جفت‌گیری شدند. پس از آرتمیای فوق آرتمیای دریاچه مهارلو و *A. urmiana* در هر سه تیمار تغذیه تقریباً در یک زمان به بلوغ رسیدند. البته در بررسی زمان بلوغ آرتمیاهای فوق به ازاء رژیم تغذیه‌ای، بلوغ سریعتری در رژیم تغذیه‌ای با تتراسلمیس در *A. franciscana* مشاهده شد، لیکن در این زمان در آرتمیای مهارلو و *A. urmiana* تفاوتی با هم نداشت. اما بیشترین تفاوت در تیمارهای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس در دو آرتمیای مهارلو و *A. urmiana* دیده شد که بترتیب با ۲۰ و ۲۵ روز پس از تفریخ قادر به جفت گیری و یا بلوغ شدند. اما در بررسی زمان پیش تولید مثلی در مورد *A. franciscana* مشخص شد که با وجود اینکه در سه رژیم غذایی متفاوت زمان مشاهده اولین جفتگیری بسیار نزدیک به همدیگر می‌باشد، ولی زمان پیش تولید مثلی در آرتمیای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس در روز بیست وسوم پس از تفریخ می‌باشد. در حالیکه در دیگر موارد در روز هفدهم، اولین برداشت لارو صورت گرفت. در آرتمیای مهارلو و *A. urmiana* ، باز هم اولین تولید لارو در تغذیه با جلبک تتراسلمیس اتفاق افتاد. این اختلاف با تیمار تغذیه یافته با جلبک دونالیلا چندان زیاد نبود ولی در آرتمیاهای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس تولید لارو اختلاف بسیار بیشتری نسبت به آرتمیاهای تغذیه شده با جلبکهای تتراسلمیس و دونالیلا دارد. در هر دو تیمار تغذیه یافته با جیره جلبک نانوکلروپسیس با وجود ادامه آزمایش تا حدود ۳۰ روز هیچگونه تولید لارو یا سیستی مشاهده نشد.

magiran.com

جدول ۵: مشاهدات تولید مثلی در سه گونه مختلف آرتمیا

گونه‌های آرتمیا	گونه جلبک	مشاهده اولین زادآوری (روز)	مشاهده اولین بلوغ یا جفت‌گیری (روز)
A. franciscana	Duna.	۱۷	۱۲
	Tetra.	۱۷	۱۱ ۱۲
	Nanno.	۲۳	
Artemia parthenogenetica Maharlu	Duna.	۲۰	۱۵
	Tetra.	۱۹	۱۵ ۲۰
	Nanno.	*	
Artemia urmiana	Duna.	۲۱	۱۵
	Tetra.	۲۰	۱۵ ۲۵
	Nanno.	*	

* بررسی تا مدت نزدیک به ۳۰ روز ادامه یافت ولی لاروزایی یا سیست زایی مشاهده نشد.

بحث

در منابع مختلف تراکمهای متفاوتی در استفاده از جلبکهای تک سلولی گزارش شده است. بطور مثال Coutteau و همکاران در سال ۱۹۹۲، رقم ۱۸ میلیون در هر میلی‌لیتر از جلبک تک سلولی دونالیلا را برای کشت مناسب آرتمیا در آزمایشگاه پیشنهاد داده‌اند. بر این اساس منافی‌فر در سال ۱۳۸۰ نیز از همین تراکم برای غنی‌سازی آرتمیا با جلبکهای تک سلولی استفاده نمود. در مطالعه دیگری که بر روی تغذیه روتیفر انجام شده بود، رقم ۷۰۰×۱۰^{۳} تا $۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر برای ۳ گونه جلبک *Nannochloropsis sp.*، *Cholorella sp.* و *Isochrysis sp.* استفاده شد (Abdul-Elah *et al.*, 2001).

حتی $۱۰^{۶}$ سلول از گونه *Chaetoceros calcitrans* برای پرورش هر لارو چشم زده اویستر پیشنهاد شده بود (Duerr *et al.*, 1998). همچنین برای تغذیه روتیفر (*Brachionus plicatilis*) در ۱۰ روز ابتدایی به تعداد $۱۰^{۳} \times ۱۰$- ۵ جلبک تک سلولی نانو کلروپسیس مورد استفاده قرار گرفت (Shahin, 2001). چنانکه مشخص شد تراکمهای مختلفی از جلبک در پرورش انواع آبزیان از جمله آرتمیا و روتیفر مورد استفاده قرار گرفت و تقریباً در اکثر موارد با توجه به اینکه از جلبک برای پرورش مقطعی روتیفر و آرتمیا و استفاده از آنها برای تغذیه انواع دیگر آبزیان استفاده شده است، غیر از تراکم، ارزش غذایی لاروهای تولید شده نیز از جمله مسائل مورد اهمیت در این مقوله بوده است. توجه به ارزش غذایی بسیار متنوع جلبکهای مورد استفاده در این تحقیق نشان می دهد که عامل زیست‌سنجی و تولید مثلی لاروهای تولید شده تا چه حد می‌تواند دستخوش تغییر رژیم غذایی قرار گیرد. در جدول ۶ ارزش غذایی گونه‌های جلبک مورد استفاده در این آزمایش آورده شده است.

جدول ۶ نشان می‌دهد که از گروه اسیدهای چرب اشباع شده و غیر اشباع تک دندانه‌ای جلبک نانوکلروپسیس و دونالیلا دارای ارزش تقریباً برابر بوده و ارزش غذایی جلبک تتراسلمیس در این کلاس در پائین‌ترین حد قرار دارد (Schiopu *et al.*, 2005; Oltra *et al.*, 2000; Tago & Teshima, 2002). اما در سطح اسیدهای چرب اشباع نشده چند دندانه‌ای جلبک تک سلولی تتراسلمیس وضعیت بسیار بهتری داشته و با دارا بودن نزدیک به ۷۸ درصد از کل اسیدهای چرب نسبت به رقم ۵۹ درصد در دو جلبک دیگر، در سطح بالاتری قرار دارد. امروزه مطالعات محققین بیشتر به سمت بالا بردن ارزش غذایی خصوصاً اسیدهای چرب n-3 یا همان اسیدهای چرب غیراشباع پیش می‌رود. اهمیت این اسیدهای چرب بر روی رشد و بلوغ موجودات مختلف خصوصاً انواع آبزیان و مهمتر از همه در دوران لاروی و حتی تکامل سیستم اعصاب و غدد جنسی در همه جانوران شناخته شده است (پورجعفر، ۱۳۷۷).

magiran.com

جدول ۶: مقایسه اسیدهای چرب ۳ گونه جلبک تک سلولی (برحسب درصد)
(Rebolloso-Fuentes *et al.*, 2001; Pratoomyot *et al.*, 2005)

Tetraselmis	*Nannochloropsis*	*Dunaliella*	
۱۵/۴	۲۲/۳	۲۲/۱	Saturates
۵/۲	۱۶/۷	۱۶/۶	Monounsaturated
۷۷/۹	۵۹/۵	۵۹/۰	Polyunsaturated
-	٤/۳	۳/۲	20:5(n-3) (EPA)
-	TR	TR	22:6(n-3) (DHA)
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	TOTAL

از طرفی اسیدهای چرب غیراشباع زنجیرهٔ بلند برای رشد، بازماندگی، مقاومت در برابر بیماریها و حتی پیگمانتاسیون لارو ماهیان دریایی و میگو ضروری می‌باشد (Watanabe, 1993). در این آزمایش استفاده از سه گونه جلبک تک سلولی به منظور بررسی رشد و بقاء در آرتمیا نشان داد که حتی با وجود تراکم یکسان جلبک، میزان رشد و بقای لاروها بسیار متفاوت می‌باشد. بررسی بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با انواع جلبک نشان داد که احتمالاً نیازهای غذایی انواع آرتمیا با هم متفاوت می‌باشد. در یک دوره ۱۵ روزه پرورش، درصد بقاء تنها در *A. franciscana* در سه تیمار غذایی آن فقط در انتهای دوره، یعنی در بررسی روز پانزدهم معنی‌دار اعلام شده است ($P<0.05$). اما در دیگر تیمارهای آرتمیا، این اختلاف از روز هفتم به بعد معنی‌دار شده است. این درحالی است که بقا درتغذیه با جلبک تتراسلمیس تنها در *A. urmiana* و آن هم از روز هفتم به بعد بطور معنی‌داری کاهش پیدا نموده است ($P<0.05$). البته میزان مقاومت و سازش پذیری در مقابل شرایط بد محیطی و اصولاً کیفیت پرورشی هر گونه که بخشی از آن در گروه کسب نیازهای اختصاصی از محیط یا پائین بودن سطح نیازمندی می‌باشد یکی از دلایل این اختلاف است.

در بررسی جدول ۳ تقریباً همانطور که انتظار می‌رفت *A. urmiana* در همه تیمارهای غذایی پس از *A. franciscana* و حتی آرتمیای دریاچه مهارلو در رده بعدی قرار داشت. شاید ضعیف بودن دریاچه ارومیه از نظر دارا بودن تولیدات اولیه دلیل تولید آرتمیاهایی با این درجه از ضعف بوده است. بطوریکه این آرتمیا دارای مقادیر مناسبی از 18:3(n-3) و مقادیر بسیار اندکی از 20:5(n-3) می‌باشد (Sorgeloos, 1997). نتایج بررسی زیست‌سنجی آرتمیا هم نشان داد که در کلیه تیمارهای آرتمیا در سه رژیم غذایی مختلف در انتهای دوره پرورش باز هم مانند نتایج بقاء، تغذیه از جلبک نانوکلروپسیس موجب تولید آرتمیاهایی با کوچکترین اندازه شده است ($P<0.05$). در تیمار *A. franciscana* از ابتدای زیست‌سنجی روز سوم تا انتهای دوره، ضعیف‌ترین لاروها توسط جلبک نانوکلروپسیس پرورش یافته‌اند. اما جالب اینکه در تیمار *A. franciscana* تا انتهای روز هفتم با وجود عدم معنی‌دار بودن اختلافات، آرتمیای تغذیه شده با دونالیلا رشد بهتری حتی نسبت به جلبک تتراسلمیس داشت ولیکن از روز هفتم به بعد تغذیه با جلبک تتراسلمیس موجب افزایش رشد ناگهانی در لاروهای آرتمیا شده و در نهایت در تمامی آرتمیا ها لاروهای تغذیه شده با جلبک فوق دارای میانگین طولی بهتری بودند. اگرچه این تفاوت تنها در *A. franciscana* در مقایسه با تیمار تغذیه شده با جلبک دونالیلا معنی‌دار می‌باشد. بررسی نمودار رشد آرتمیا در سه تیمار تغذیه یافته با جلبکهای متفاوت نیز به همین نکته اشاره دارد. همانگونه که گفته شد ارزش غذایی بسیار متفاوت جلبکهای فوق و بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع در جلبک تتراسلمیس می‌تواند دلیل اصلی چنین رشدی در مقطع بخصوص باشد. در ادامه آزمایش و بررسی قدرت بلوغ و تولید مثل آرتمیا هم مشخص شد که بر عکس جلبک دونالیلا که توانایی بخصوصی در رشد و بقاء اوایل دوران لاروی دارد، تغذیه با جلبک تتراسلمیس باعث رشد ناگهانی و افزایش بقاء در روزهای انتهایی دوران لاروی شده و در نهایت نتیجه بسیار مثبتی نیز بر روی رشد و بلوغ اندامهای جنسی و همچنین قدرت لاروزایی دارد. برعکس جلبک نانوکلروپسیس که توانایی لازم برای القاء قدرت بلوغ و رشد

magiran.com

جنسی را نداشته و تقریباً به غیر از *A. franciscana* هیچیک از تیمارهای تغذیه شده با این گونه جلبک قادر به تولید مثل نشدند. بار دیگر توجه به ارزش غذایی این سه گونه جلبک و توجه به بالا بودن میزان اسیدهای چرب کلاس غیراشباع خصوصاً امگا ۳ در جلبک تتراسلمیس ما را به این نکته هدایت می‌کند که بلوغ اندامهای جنسی و نیازهای بدنی در دوران لاروی بسیار متفاوت بوده و با توجه به تامین این نیازها می‌توان به لاروهایی با قدرت تولید مثل بالاتر دست یافت. بالا بودن اسید چرب لینولنیک در جلبک تتراسلمیس که در کلاس اسیدهای چرب امگا ۳ می‌باشد و توانایی تبدیل آن به دیگر اسیدهای چرب این کلاس (Leger, 1986)، تامین نیازهای اساسی آرتمیاهای تغذیه شده با این جیره جلبکی را در دوران بلوغ توجیه می نماید (مناف فر، ۱۳۸۰). لذا با توجه به کلیه موارد گفته شده می‌توان به این نکته کلی رسید که برای گونه‌های مختلف آرتمیا و با توجه به هدف پرورش آرتمیا، باید جیره غذایی جلبکی ویژه‌ای را انتخاب نمود. همچنین پیشنهاد می‌شود به دلیل اینکه تغذیه با جلبک دونالیلا در تمامی آرتمیاهای مورد مطالعه در هفته اول پرورش میانگین رشد مناسبی را ایجاد کرده بود، بهتر است تغذیه آرتمیا در هفته اول با این گونه جلبک صورت پذیرفته و در اواخر دوره پرورش از جلبک تتراسلمیس برای تغذیه آرتمیا استفاده شود. به این ترتیب با افزایش میزان بازماندگی و رشد توام، می‌توان به بلوغ زود هنگام و توان بالای تولید مثلی در آرتمیاها نیز دست یافت.

تشکر و قدردانی

از مسئولین و همکاران پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی خصوصاً جناب آقای مهندس اکبری معاون محترم پژوهشکده و همچنین آقای مهندس وهاب‌زاده و خانم مهندس ساعی کارشناسان محترم بخش بیولوژی و آزمایشگاه پرورش جلبک کمال تشکر را داریم.

منابع

پورجعفر، م.ر. ، ۱۳۷۷. تعیین میزان چربی و اسیدهای چرب ناپلیوس آرتمیا اورمیانا از ایستگاههای مختلف صید در طول سال ۱۳۷۷. پایان‌نامه دروه دکتری حرفه‌ای دامپزشکی دانشگاه ارومیه. ۸۰ صفحه.

ریاحی، ح. ، ۱۳۷۳. مطالعه فلور جلبکی دریاچه ارومیه. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۵، صفحات ۲۳ تا ۲۵.

مناف‌فر، ر. ، ۱۳۸۰. غنی سازی ناپلیوس *Artemia urmiana* با امولسیون اسیدهای چرب و جلبک تک سلولی دونالیلا و بررسی متابولیسم در دوره انکوباسیون سرد. پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس. ۸۸ صفحه.

مناف‌فر، ر. ؛ ملکی، ر. ؛ آتشبار، ب. و آق، ن. ، ۱۳۸۵. استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۱، صفحات ۸۲ تا ۸۸.

Abdul -Elah, K.M. Al.; Almatar, S.; Abu-Rezq, T. and James, C.M. , 2001. Development of hatchery technology for the silver pomfret *Pampus argenteus* (Euphrasen): Effect of microalge species on larval survival. Aquaculture Research. Vol. 32, pp.849-860.

Boone, E. and Baas-Becking, L.G.M. , 1931. Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. Journal of Gen. Physiol. Vol. 14, pp.753-763.

Coutteau, P.; Brendonck, L.; Lavens, P. and Sorgeloos, P. , 1992. The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiologia. Vol. 234, pp.25-32.

Coutteau, P. , 1996. Micro-algae. *In:* (eds. P. Sorgeloos and P. Lavens). Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Gent, Artemia Reference Center. pp.9-60.

Duerr, E.O.; Molnar, A. and Vernon, S. , 1998. Cultured micro algae as aquaculture feeds. Journal of Marine Biotechnology. Vol. 7, pp.65-70.

Fukusho, K.; Okauchi, M.; Tanaka, H.; Kraisingdecha, P.; Wahyuni, S. and Watanbe, T. , 1985. Food value of the small S-strain of rotifer *Brachionus picatilis* cultured with *Tetraselmis tetrahele* for the larvae of

Black Sea Bream. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. Vol. 8, pp.5-13.

Lavens, P. and Sorgeloss, P., 1996. Manual on use and production and use of live food aquaculture and Artemia Reference Center, University of Ghent, Belgium, Published by FAO.

Leger, Ph. , 1986. The use and nutritional value of Artemia as food source. Oceaogr. Mar. Bio. Ann. Rev., Vol. 24, pp.521-623.

Okauchi, M.; Zhou, W.; Zou, W.; Fukucho, K. and Kanazawa, A. , 1990. Difference in nutritive value of a microalgae *Nannochloropsis oculata* at various growth phases. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. Vol. 56, No. 8, pp.1293-1298.

Oltra, R.; Todolf, R.; Bosque, T.; Lubian, L.M. and Nvarro, J. , 2000. Life history and fatty acid composition of the marine rotifer *Synchaeta cecilia* valentine fed different algae. Journal of Marine Ecology Progress Series. Vol. 193, pp.32-38.

Schiopu, D.B. ; George, S. and Castell, J. , 2005. Ingestion rates dietary lipids affects growth and fatty acid composition of *Dendraster excentricus* larvae. Journal of Experimental Biology and Ecology. Vol. 45, pp.58-67

Shahin, T. , 2001. Larval rearing of Black Sea Turbut, *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) under laboratory condition. Turkish Journal of Zoology. Vol. 25, pp.447-452.

Sorgeloos, P. , 1997. Lake Urmia cooperation project-contract item. A report on the determination and identification of biological characteristics of *Artemia urmiana* for application in aquaculture. Faculty of Agriculture and Applied Biological Science, Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, Universiteit Gent, Belgium.

Tago, A. and Teshima, S.I. , 2002. Preparatio of [^{13} C] eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis oculata.* Fisheries Science. Vol. 68, pp.452-454.

Triantaphllidis, G.V.; Abatzopoulos, T.J. and Sorgeloos, P. , 1998. Review of the biogeography of the genus Artemia. Journal of Biogeography. Vol. 25, pp.213 - 226.

Watanabe, T. , 1993. Importance of docosahexanoic acid in marine larvae fish. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 24, pp.152-161.

Wilkerson, J. , 1998. Clown fishes, Microcosm Limited. 387P.

magiran.com

magiran.com

Study on survival and growth rate of three Artemia species fed with *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis oculata*

Vojoudzadeh H.[1]; Gezelbash F.[2]; Riahi H.[3] and Manaffar R.[4]*

Raminmanaffar@yahoo.com

1,3- Biology Science Faculty, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2- Biology Department, Urmia University, P.O.Box: 165 Urmia, Iran

4- Artemia and Aquatic Animals Research Institute, Urmia University, P.O.Box: 165 Urmia, Iran

Received: May 2007 Accepted: November 2007

Keywords: *Artemia franciscana, A. urmiana, A. parthenogenetica,* Survival, *Dunaliella tertiolecta, Tetraselmis suecica, Nannochloropsis oculata.*

Abstract

In recent years, Artemia has proven to be one of the easiest to prepare and the most nutritious food available to aquaculture. In this research, the process of hatching of Artemia cyst into larval stage using algae as a diet was investigated. The cysts used for this experiment belonged to three species *Artemia urmiana*, *Artemia parthenogenetica* and *Artemia franciscana*. The algae species used for the feeding of the Artemia included *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis oculata.* The effect of algae feeding on growth rate and survival of the Artemia species from hatching to maturation during 15 days was investigated. The results showed that *A. franciscana* had better growth rate and survival compared to the other two species. We found that algae *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica* were significantly better food than the other algae in terms of growth and survival rate of the Artemia ($P<0.05$). However, the maturity time, growth, survival and reproduction of the Artemia is affected by the species of the algae used in feeding them.

*Corresponding author