

## مقایسه رشد و بازماندگی مرحله زوآی میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) در تغذیه با چهار نوع جلبک بصورت انفرادی و تلفیقی

مختار حق نجات<sup>(۱)</sup>، غلامحسین دلیر پور<sup>(۲)</sup>، بابک قائدنیا<sup>(۳)</sup>،

مریم میربخش<sup>(۴)</sup> و مسعود آل خورشید<sup>(۵)</sup>

ghaedniab@yahoo.com

۱ و ۲، ۴ - پژوهشکده میگوی کشور، بوشهر صندوق پستی: ۱۳۷۴

۵ - مرکز آموزش عالی شیلات، بوشهر صندوق پستی: ۲۵۸۸

تاریخ ورود: آبان ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۳

### چکیده

در این مطالعه چهار جنس فیتوپلانکتون شامل تتراسلمیس (*Tetraselmis*)، کیتوسروس (*Chaetoceros*)، اسکلتونما (*Skeletonema*) و کلرلا (*Chlorella*) بصورت منفرد و تلفیقی در ۱۰ تیمار با ۳ تکرار بمنظور تغذیه مرحله لاروی (زوآ) میگوی ببری سبز مورد بررسی و ارزشیابی قرار گرفتند. در تغذیه منفرد بیشترین میزان بازماندگی (۸۲ درصد)، میزان رشد (۳/۵۵ میلیمتر) و مدت زمان طی شده از مرحله زوآ یک (Z1) تا مرحله مایسیس یک (M1) (۹۲ ساعت) مربوط به لاروهایی بود که با اسکلتونما (۴۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر) تغذیه شده بودند. در تغذیه تلفیقی در مرحله زوآ یک بهترین درصد بازماندگی (۹۷ درصد) در لاروهایی مشاهده شد که با کیتوسروس و تتراسلمیس تغذیه شده بودند و در مرحله زوآ دو و سه بیشترین درصد بازماندگی (۹۵ درصد) مربوط به لاروهایی بود که با اسکلتونما و کیتوسروس تغذیه شده بودند و میزان رشد ۴/۵۸ میلی‌متر و مدت زمان طی شده از مرحله زوآ یک تا مایسیس یک، ۷۲ ساعت بود. بطور کلی درصد بازماندگی و میزان رشد لاروها در تغذیه تلفیقی بالاتر از تغذیه منفرد بود.

**کلمات کلیدی:** میگوی ببری سبز، *Penaeus semisulcatus*، تغذیه، رشد، فیتوپلانکتون

## مقدمه

پرورش میگو در کشور ما در دو دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته است و تنها طی چند سال گذشته یکی از بهترین کاربردهای مناطق ساحلی محسوب می‌شود. با توجه به اینکه غذا نقش مهمی در میزان رشد، بازماندگی و تولید مثل هر موجود زنده و از جمله میگو دارد، چنانچه تغذیه میگو در محیطی مناسب و بنحو مطلوب صورت پذیرد، مشکلاتی نظیر عدم رشد، بیماری، مرگ و میر و هم‌نوع‌خواری به مراتب کمتر خواهد شد (شکوری، ۱۳۷۶).

میگو در دو مرحله از زندگی خود یکی در مرحله لاروی و دیگری هنگام رسیدگی جنسی نیاز شدیدی به غذاهای طبیعی و زنده دارد (Mourente *et al.*, 1995). مطالعات انجام شده روی گونه‌های مختلف میگو نشان داده است که استفاده از فیتوپلانکتون‌ها و زئوپلانکتون‌ها بعنوان غذای زنده در مرحله لاروی ضروری است و می‌تواند نقش بسیار مهمی در بهبود میزان رشد و بازماندگی لاروها ایفا کند (Gallardo *et al.*, 1995). با در نظر گرفتن فعالیت‌ها و سیاستهای شیلات ایران در خصوص تکثیر و پرورش میگو در سواحل جنوبی کشور و با توجه به بومی بودن میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) در استان بوشهر این مطالعه بمنظور تعیین بهترین جیره غذایی فیتوپلانکتونی مرحله لاروی میگوی ببری سبز انجام شد.

## مواد و روش کار

**کشت فیتوپلانکتونها:** بمنظور آماده‌سازی آب، ابتدا آب دریا به حوضچه ذخیره انتقال داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت به حوضچه فیلتراسیون و از آنجا پس از عبور از لایه‌های شنی به استخر کلرزنی منتقل گردید. کلرزنی به میزان ۲۵ ppm انجام گرفت و برای خنثی کردن کلر از ۱۰ ppm تیوسولفات و برای رسوب دادن فلزات سنگین موجود در آب ۳-۲ ppm EDTA استفاده شد. پس از طی مراحل ذکر شده، آب به مخازن چهار مترمکعبی انتقال پیدا کرد و شوری آن روی ۲۵ ppt تنظیم شد (مقیم، ۱۳۷۶).

در این مطالعه از دو روش کشت آزمایشگاهی و کشت انبوه بمنظور تولید فیتوپلانکتون‌ها استفاده شد. در کشت آزمایشگاهی از محیط کشت گیلارد برای جلبکهای قهوه‌ای و از محیط کشت ساتو برای جلبک سبز استفاده گردید. روش تهیه جلبک به این صورت بود که پس از استریل نمودن وسایل، ۳۰۰ سی سی از آب حاوی محیط کشت در شیشه‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به ازای هر محیط کشت، ۳-۲ سی سی استوک خالص فیتوپلانکتون به آن افزوده گردید. درب شیشه‌ها به کمک پنبه بسته شد و در مجاورت نور لامپ فلورسنت هوادهی انجام گرفت. در روش کشت انبوه پس از ضد عفونی کردن آب با استفاده از پمپ کفکش، آب آماده شده به سالن کشت جلبک انتقال داده شد و وارد تانک‌های یک مترمکعبی گردید. پس از رساندن شوری به ۲۵ ppt از محیط کشت TMRL (۱۰۰ گرم  $KNO_3$ ، ۱۰ گرم  $Na_2H_2PO_4$ ، ۲/۵ گرم  $FeCl_2$  و ۵ گرم  $Na_2SiO_3$  در یک مترمکعب آب تیمار شده)

استفاده شد، سپس به ازای هر ۱۰ لیتر از محیط کشت انتقال یافته به آکواریوم، ۲ الی ۳ لیتر نمونه ذخیره آزمایشگاهی (استوک) به آن تلقیح گردید. پس از سپری شدن ۲۴ الی ۴۸ ساعت و رسیدن به حد شکوفایی پلانکتونی، نمونه‌ها از آکواریوم ۱۰ لیتری به تانک ۲۵۰ لیتری انتقال یافتند (مقیمی، ۱۳۷۶).

**شمارش فیتوپلانکتونها:** برای این منظور از لام هموستیومتر استفاده شد. برای ثابت کردن جلبک‌های متحرکی مثل تتراسلمیس از لوگل استفاده گردید و با اضافه کردن دو قطره لوگل و سپری شدن ۲ تا ۵ دقیقه، جلبک‌ها ثابت شده و نمونه برای شمارش آماده شد.

**آماده‌سازی لارو:** پس از صید میگوهای مولد و انتقال آنها به اتاق تخم‌کشی در ایستگاه تحقیقاتی سرتل، ابتدا میگوها در مخازن و آب اولیه به مدت ۳۰ دقیقه هوادهی شدند. سپس به مدت ۱۵ ثانیه با فرمالین ۵۰ ppm ضدعفونی و به مخزن‌های تخم‌کشی انتقال یافتند (شکوری، ۱۳۷۶). شوری آب این مخزن‌ها ۳۵ ppt تنظیم گردید (فقیه، ۱۳۷۵). پس از تخم‌ریزی، درصد تخم‌ریزی و درصد تفریح تخم‌ها نیز بررسی و ثبت شد. برای شمارش ناپلی‌های بدست آمده، ابتدا میزان هوادهی تانک‌ها زیاد و سپس به آرامی هم زده شد. از چندین قسمت مخزن، ۲۵۰ میلی‌لیتر نمونه انتخاب و شمارش گردید. پس از تعیین میانگین تعداد ناپلی‌ها در یک لیتر، تعداد آنها در تانک محاسبه شد. ناپلی‌ها از مرحله N5 پس از ضدعفونی شدن توسط فرمالین ۱ ppm به مدت ۱۰ دقیقه با تراکم ذخیره‌سازی ۱۰۰ عدد در لیتر به مخزن‌های مورد آزمایش انتقال داده شدند (شکوری، ۱۳۷۶).

**تغذیه لاروها:** بمنظور تغذیه لاروها از چهار جنس فیتوپلانکتون که عبارتند از: اسکلتونما، کلرلا، تتراسلمیس و کیتوسروس استفاده شد. برای این منظور فیتوپلانکتون‌ها بصورت منفرد و بصورت تلفیقی در مجموع ۱۰ تیمار با ۳ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. غذاهای روزانه در دو نوبت در ساعت‌های ۹ صبح و ۵ بعد از ظهر انجام شد (مقیمی، ۱۳۷۶). سه ساعت پس از مجاورت لاروها با فیتوپلانکتون‌ها، تعداد فیتوپلانکتون‌های موجود در هر تانک بمنظور تعیین میزان فیتوپلانکتون‌های مورد تغذیه لاروها شمارش شدند. لازم به ذکر است که در تغذیه منفرد، ۱۲ مخزن ۲۵۰ لیتری با تراکم اولیه ۱۰۰ عدد ناپلی در لیتر استفاده گردید و در تغذیه تلفیقی نیز پنج تیمار (اسکلتونما و تتراسلمیس، اسکلتونما و کیتوسروس، تتراسلمیس و کیتوسروس، کلرلا و تتراسلمیس و همچنین کلرلا و کیتوسروس) در نظر گرفته شد. برای هر تیمار ۳ تکرار منظور گردید.

**نحوه شمارش لاروها و تعیین مراحل آنها:** روزانه در ۳ نوبت، ۸ صبح، ۱۲ ظهر و ۱۰ شب، تغییرات لاروی از نظر درصد بازماندگی و مراحل رشد توسط میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. از زمانی که لاروها از ناپلی شش (N6) به زوآ یک (Z1) تبدیل شدند، تعداد آنها در هر مخزن شمارش و درصد بازماندگی در هر مرحله محاسبه شد. همچنین مدت زمان طی شده در هر مرحله از زوآ یک تا مایسیس یک و نیز تاثیر غذاهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. مدت زمان طی شدن مراحل زوآ

یک، دو و سه، درصد بازماندگی و میزان رشد لاروها در رژیم‌های غذایی مختلف، مورد بررسی قرار گرفت.

نحوه اندازه‌گیری لاروها: اندازه‌گیری لاروها در مرحله مایسیس یک با استفاده از استریومیکروسکوپ انجام گرفت. برای این منظور از هر تانک ۱۰ عدد لارو بصورت تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری و میانگین طولی لاروها در هر تانک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی: به دلیل اجرای این پروژه در محیط آزمایشگاهی، تمامی عوامل فیزیکی و شیمیایی شامل نور، دما، شوری و میزان اکسیژن، قابل کنترل و اندازه‌گیری بوده و روزانه اندازه‌گیری و ثبت شدند. دامنه عوامل مذکور برای هر کدام از تیمارها به صورت حداقل، حداکثر و میانگین اندازه‌گیری گردید.

## نتایج

طبق نتایج بدست آمده در جداول ۱ و ۲، در تغذیه منفرد جلبک‌ها از آغاز مرحله زوای یک تا پایان مرحله زوای سه، کلرلا دارای کمترین درصد بازماندگی و میزان رشد و بیشترین مدت زمان طی شده مراحل لاروی می‌باشد. همچنین بیشترین درصد بازماندگی و میزان رشد و کمترین مدت زمان طی شده متعلق به تغذیه با اسکلتونما بود.

جدول ۱: درصد بازماندگی، میزان رشد و مدت زمان طی شده از مرحله زوای یک تا زوای سه میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) برحسب جلبک مورد استفاده در تغذیه منفرد

عوامل مورد بررسی	درصد بازماندگی لاروها	مدت زمان طی شده از Z1 تا Z3 (ساعت)	طول کل لارو (میلی‌متر)	فیتوپلانکتون
کلرلا	۵۲	۱۳۰	۲/۷۸	
تتراسلمیس	۷۴	۱۰۵	۳/۰۴	
کیتوسروس	۷۷	۱۰۰	۳/۰۷	
اسکلتونما	۸۲	۹۴	۳/۵۵	

جدول ۲: درصد بازماندگی، میزان رشد و مدت زمان طی شده از مرحله زوآ یک تا زوآ سه میگوی ببری سبز (*Penaeus semisulcatus*) بر حسب جلبک مورد استفاده در تغذیه تلفیقی

عوامل مورد بررسی	درصد بازماندگی لارو	مدت زمان طی شده از Z1 تا Z3 (ساعت)	طول کل لارو (میلیمتر)	فیتوپلانکتون
کلرلا و تتراسلمیس	۷۸	۹۸	۴٫۳۶	
کلرلا و کیتوسروس	۸۲	۹۶	۳٫۶۷	
کلرلا و اسکلتونما	۸۸	۹۰	۳٫۸۹	
تتراسلمیس و کیتوسروس	۸۸	۹۰	۴٫۰۱	
تتراسلمیس و اسکلتونما	۹۲	۷۷	۴٫۶۳	
اسکلتونما و کیتوسروس	۹۵	۷۲	۴٫۵۸	

## بحث

بدون شک دوران لاروی بخصوص از مرحله‌ای که کیسه زرده جذب می‌شود دوران بسیار حساسی می‌باشد و ضروری است که برای جلوگیری از مرگ و میر لاروها، غذای مناسبی در اختیار آنها قرار گیرد (Thompson et al., 1998). با توجه به کوچکی لاروها و قدرت شناگری آنها لازم است غذای متناسب با جثه، دهان و نیازهای متابولیکی آنها تامین گردد (Frances et al., 2000). حدود ۳۶ ساعت پس از تخمه‌گشایی، ناپلیوس‌ها پنجمین پوست‌اندازی خود را کامل کرده و به زوآ تغییر شکل می‌یابند. با این تغییر، بدن بطور قابل ملاحظه‌ای طویل شده و رفتار جانور نیز تغییر می‌یابد. برخلاف ناپلیوس‌ها که شنای آنها با وقفه کوتاه همراه است، لاروهای زوآ بطور مداوم شنا کرده و برای زنده ماندن باید تغذیه کنند. لاروهای زوآ فعالانه از جلبکهای ذره‌بینی موجود در آب شور استفاده می‌کنند، ولی در این مرحله لاروها به طرف غذا حرکت نمی‌کنند بلکه غذا به صورت اتفاقی با دهان آنها تماس پیدا کرده و سپس آنها اقدام به بلع آن می‌کنند. لذا در این مرحله باید غذای مناسب به مقدار کافی در تانکهای پرورشی به حالت معلق وجود داشته باشد. با توجه به اندازه جلبکهای اسکلتونما، کیتوسروس، تتراسلمیس و کلرلا که برای بلع لاروهای مرحله زوآ مناسب می‌باشند، اغلب از این جلبکها برای تغذیه لاروها استفاده می‌شود. البته می‌توان از مواد غذایی دیگری مانند آرد زرده تخم مرغ و مخمر نیز بعنوان غذای مکمل استفاده کرد (مجیدی نسب، ۱۳۷۷).

در این مطالعه بمنظور دستیابی به بهترین ترکیب غذایی لاروها در مراحل زوآ یک تا زوآ سه، از فیتوپلانکتون‌های کلرلا، تتراسلمیس، کیتوسروس و اسکلتونما به صورت منفرد و تلفیقی استفاده گردید. با توجه به نتایج بدست آمده، لاروهای تغذیه شده با کیتوسروس در مرحله زوآ یک و با اسکلتونما در مراحل زوآ دو و زوآ سه بیشترین درصد بازماندگی را نشان می‌دهند. در تغذیه منفرد،

لاروهای تغذیه شده با اسکلتونما بیشترین میانگین طولانی را داشتند. در تغذیه تلفیقی بیشترین میانگین رشد (۴/۶۲ سانتیمتر) و بیشترین درصد بازماندگی (۹۵ درصد)، مربوط به تغذیه با اسکلتونما و کیتوسروس بود. تغذیه لاروها با تتراسلمیس و اسکلتونما با ۹۲ درصد بازماندگی و ۴/۵۸ سانتیمتر میانگین رشد، بعد از تغذیه با اسکلتونما و کیتوسروس قرار دارد.

بررسی آماری بین تغذیه منفرد و تلفیقی از نظر درصد بازماندگی و میانگین رشد اختلاف معنی داری را نشان داد. با توجه به نتایج بدست آمده، تغذیه تلفیقی برای لاروهای مرحله زوای بهتر از تغذیه منفرد است. نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج انجام شده بر روی سایر گونه‌های میگو در کشورهای دیگر نیز مطابقت دارد. در تحقیقی که توسط Uiamy در سال ۱۹۹۵ روی میگوی *Penaeus orientalis* انجام شده است، نشان می‌دهد تغذیه لاروهای مرحله زوای با استفاده از فیتوپلانکتون‌های اسکلتونما، دینوموناس و تتراسلمیس بصورت تلفیقی تفاوت معنی داری با تغذیه منفرد نشان می‌دهد. اگرچه در این مطالعه نتایج نشان دادند که تغذیه لاروها با کلرلا بصورت منفرد و یا تلفیقی در مقایسه با سایر فیتوپلانکتون‌ها مطلوب نبوده و میزان رشد و درصد بازماندگی پایین‌تر از سایر تیمارهاست، ولی در مطالعه‌ای که توسط Alfonso و همکاران در سال ۱۹۸۵ انجام شده است اعلام گردید که در تغذیه لاروهای میگوی *Penaeus orientalis* در مرحله زوای یک تا زوای سه با فیتوپلانکتون‌های کلرلا و تتراسلمیس، میزان رشد و درصد بازماندگی مناسب بوده است. در مطالعه‌ای که توسط Kurmaly و همکاران در سال ۱۹۹۸ روی مرحله لاروی میگوی *P. monodon* انجام شده است، مشخص شد که بهترین درصد بازماندگی (۹۷ درصد) مربوط به لاروهایی بود که با تتراسلمیس و اسکلتونما و پایین‌ترین درصد بازماندگی مربوط به لاروهایی بود که با نایکولا تغذیه شده بودند زیرا این جلبک فاقد اسیدهای چرب ضروری می‌باشد.

## منابع

- شکوری. م.، ۱۳۷۶. فنآوری تکثیر و پرورش متراکم میگو. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره کل آموزش و ترویج. ۱۰۱ صفحه.
- فقیه. غ. ح.، ۱۳۷۵. تکثیر و تشریح دوره‌های مختلف لاروی در میگوی ببری سبز. مرکز تحقیقات شیلاتی خلیج فارس، بوشهر. ۱۷ صفحه.
- مجیدی نسب، ا.، ۱۳۷۷. بیماری‌های میگوهای پرورشی. انتشارات نوربخش، ۶۶ صفحه.
- مقیم. م.، ۱۳۷۶. راهنمای کشت و پرورش میگوی ببری سبز. مرکز تحقیقات شیلاتی خلیج فارس - بوشهر. ۷۶ صفحه.

- Alfonso, E. ; Leal, S. and Guitart, B. , 1985.** Laboratory tests on the feeding of *Penaeus orientalis* protozoa. Rev. Invest. Mar. Vol. 9, No. 1, pp.79-86.
- Frances, M.L. ; Souza, D. and Kelly, G.J. , 2000.** Effects of diet of a nitrogen-limited algae (*Tetraselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae, Aquaculture. Vol. 181, issues 3-4, pp.311-329.
- Gallardo, P. ; Alfonso, E. and Gaxiola, G. , 1995.** Feeding Schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nappii. Aquaculture. Vol. 131, pp.239-252.
- Kurmaly, K. ; Jones D.A. and Yuleadta, A.B. , 1998.** Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricus) larvae, from protozoa I to post larvae on live feeding and artificial diets and on combinations of both, Aquaculture. Vol. 81, pp.27-45.
- Mourente, G. ; Medina, A. ; Gonzales, S. and Rodriguez, A. , 1995.** Variation in lipid content and nutritional status during larval development of the marine shrimp *Penaeus kerathurus*, Aquaculture. Vol. 130, issues 2-3, pp.187-199.
- Thompson, F.L. ; Abreu, P.C. and Cavalli, R. , 1998.** The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. Aquaculture. Vol. 174, issues 1-2, pp.139-153.
- Uiamy, S. , 1995.** Evaluation of some phytoplanktons as food for protozoa of *Penaeus orientalis*. Mar. Sci. Bull. Vol. 9, No. 39, pp.55-62.

## Comparative analysis of the growth and survival of protozoa stages of *Penaeus semisulcatus* fed with four phytoplankton species

Hagh Nejad M.<sup>(1)</sup> ; Dalierpour Gh.<sup>(2)</sup> ; Ghaednia B.<sup>(3)</sup> ;  
Mirbakhsh M.<sup>(4)</sup> and Alkhorshied M.<sup>(5)</sup>

ghaedniab@yahoo.com

1,2,3, 4- Iran Shrimp Research Center, P.O.Box: 1374 Bushehr, Iran

5- Fisheries Higher Education Center, P.O.Box: 3588 Bushehr, Iran

Received: November 2003

Accepted: March 2004

**Keywords:** *Penaeus semisulcatus*, Feeding, Growth, Phytoplankton, Iran

### Abstract

Four genera of phytoplankton including *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Skeletonema* and *Chlorella* were used as food for protozoa stages of *Penaeus semisulcatus* in 10 treatments each with three replications of singular and double diets. In singular diet consisted of 40,000 cells/ml of *Skeletonema*, we recorded a survival rate 82%, growth rate 3.55 mm and period of development stage (Z1-M1) 92h which were higher than other treatments. In double diet comprised of *Chaetoceros* and *Tetraselmis*, the survival rate in Z1 stage was 97%, higher than other treatments while in Z2 and Z3 stages, the highest survival rate was 95%, achieved by a double diet consisted of *Skeletonema* and *Chaetoceros*. In the latter diet, the growth rate and period of development for Z1-M1 stages were 4.58mm and 72h respectively. According to the results, we conclude that the survival and growth rates in singular diets are higher than double diets of the phytoplankton species.