وزارت جهاد كشاورزي

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

مؤسسه تحقیقات شیلات ایران- پژوهشکده اکولوژی خلیجفارس و دریای عمان



شماره ثبت ۸۹/۱٤٦۰

وزارت جهاد کشاورزی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی مـؤسسه تحـقیقـات شیـلات ایـران- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان

صفحه	«فهرست مندرجات »	عنوان
١		حكىدە
٣		ب ۱ – مقدمه
V	التدم صدف	۱−۱−۱ · · · · · · · · · · · · · · · · ·
٩	ن تو چې طبقات	۲- مداد مدهشها
۹		۱ = مواد وروسه
۵	t	1-1- مولد
۲ ۰ .	و بر رسی مولد	جمع أورى مولد ا بيريو از تال
11		۲-۲ - انتفال مولدها
۱۲	سالن تكثير بر س.م.	۲-۴- انتقال آب دریا به
17	ميكرو الك	۵-۲- هوادهی به لارو و
۱۳	مريزى	۶-۲- مخزن و سطل تخ
۱۳	خم	۷-۲- مخازن شکوفایی ن
۱۳	رو	۸–۲– مخازن پرورش لار
۱۴		۹–۲– کشت میکرو آلگ
۱۴	رو	۲-۱۰ زیست سنجی لار
۱۵	به تخمریزی	۱۱-۲- تحريک صدف
۱۶	لارو	۲–۲– تغذیه و پرورش
۱۷		۳– نتايج
۱۷		۱-۳- مواد
۱۸		۲-۳- پرورش لارو
14		۴– بحث۴
۲۹		ييشنهادها
"Y		
۳۴		ب بىھ ست

چکیدہ

صدف دو کفهای مروارید ساز لب سیاه (Pinctada margaritifera) یکی از گونههای مهم تجاری نرمتنان است که قدرت توليد مرواريد مرغوب و با كيفيت را دارد. متاسفانه ذخاير اين صدف در جزاير لاوان و هندورابي كه از زیستگاههای مهم این صدف بوده بکلی نابوده شده است. لذا برای جلو گیری از انقراض و احیاء نسل این صدف با ارزش پروژهای جهت بدست آوردن تکنیک تکثیر و پرورش لارو این گونه صدف تا مرحله اسیات یا صدفچه انجام گردید و نهایتا صدفچه لب سیاه در محیط آزمایشگاه تولید و ۲۳۵۰۰ صدفچه در زیستگاه لاوان رها سازی گردید. این پژوهش از فروردین ۱۳۸۶ تا آبان ۸۶ در ایستگاه تحقیقاتی بندرلنگه انجام شده است . در اسفند ماه ۱۳۸۵ مولدها از جزایر هندورابی و شتور (مارو) جمع آوری گردید و از فروردین ۸۶ هر هفته به بررسی غدد جنسی (گناد) صدفهای مولد پرداخته شد. دو اوج تخمریزی در اواسط خرداد ماه تا اواسط تیر و اواخر مرداد تا اواسط شهریور برای صدف لب سیاه مشاهده شد. با رسیدگی گناد صدفهای مولد ، آنها رابه آزمایشگاه و اتاق سرد منتقل کرده و در آب ۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده و روز بعد با شوک حرارتی آب با دمای ۳۱ درجه مولدها را تحریک به تخمریزی نموده که ۷۰٪ مولدهای آماده شروع به رها سازی سلولهای جنسی کردند.بوسیله تور پلانکتونی با چشمه ۲۵ میکرون شروع به جدا سازی تخمهای لقاح یافته شد. بررسی رشد لاروهای استحصالی بعد از لقاح نشان داد که جسم قطبی ۲۰ – ۱۵ دقیقه بعد از لقاح، بلاستولا بعد از دو ساعت، گاسترولا ۵ ساعت بعد از لقاح و سیس مرحله لارو چرخشی Trochophore بعد از ۸ ساعت بوجود آمدند. ۲۰ تا۲۴ساعت بعد از لقاح لارو دی شکل مشاهده شد، لارو پیش قوزدار (Early umbo) و لارو قوزدار (Umbo) به ترتیب در روز ۷ تا ۱۰ و ۱۱ تا ۱۴ و لارو چشم زده یا (Eye spot) بعد از گذشت ۱۵ تا ۲۱ روز پدیدار شدند و بعد از این لاروهای پدی ولیجر Pediveliger و پلنتی گرید Plantigrade در خلال روزهای ۲۲ تا ۳۰ مشاهده شدند.

۲/ گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

بعد از گذشت ۳۵ روز نشست اسپات روی انواع جمع آورها مشاهده شد که اندازهای در حدود ۳۰۰ میکرون داشتند.

از روز دوم شروع به تغذیه لاروها از میکروالگ Isochrysis aff galban با تراکم Soor cell/mil با تراکم Isochrysis aff galbana, نموده و بعد از روز چهارم از ترکیب جلب کی در موالگ Chaetoceros calcitrans, Isochrysis aff galbana, نموده و بعد از روز چهارم از ترکیب بعلی به میلی ایتر و در مراحل نسبت ۷۰٪ و ۳۰٪ استفاده شد. تراکم لارو در مرحله دی شکل ۵۰ D-shape لارو در یک میلی لیتر و در مراحل بعد ۱ لارو در یک میلی لیتر آب در نظر گرفته شد.

میـزان بقا در مرحله لارو دی شکل D-shape ۷۰ ٪ بود و در مرحله آمبو ۷۰ Umbo٪ و در مرحله لکه چشمی ۵۰ Eye spot٪ بود . از مخازن ۵ متر مکعبی فایبر گلاس جهت پرورش لارو استفاده شد.

بیشتر لاروها در کف مخزن قرار گرفته بودند. دمای آب در طول انجام پروژه بین ۳۰ تا ۳۱ درجه سانتیگراد و شوری نیز بین ۳۴ تا ۳۸ قسمت در هزار در متغیر بود. از چندین شاخه شیلنگ هوای آکواریومی جهت هوا دهی لاروها استفاده شد. از جمع آورهای تور کهنه میگو ، سبد پلاستیکی سینگ وایرانیت پلاستیکی جهت نشست صدفچه استفاده شد که فرم تور کهنه میگو بهترین نتیجه را داد . در آخر ۵۰۰۰۰ قطعه صدفچه تولید و به دریا انتقال داده شد که می تور کهنه میگو بهترین نتیجه را داد . در آخر ۵۰۰۰۰ قطعه صدفچه تولید و به دریا پرورش نگهداری می شوند. در طول دوره پرورش از هیچ گونه آنتی بیوتیکی استفاده نشد.

خليج فارس _ صدف لب سياه _ استان هرمزگان _ مولدها _ خيمه _ لقاح _ جسم قطبي _ لارو D شکل _ لارو پلنتي گريد _ جمع آور _ صدفچه _ ميکروالگ

مقدمه

فعالیت های صیادی و صنایع وابسته به آبزیان نه تنها از جنبه های اقتصادی و تامین پروتئین مورد نیاز کشور بلکه از بعد اجتماعی و اشتغالزایی خصوصا در نوار ساحلی از اهمیت بسزایی برخوردارند .

از این نظر نرمتنان گروه بزرگی از بیمهرگان هستند که استفاده های گوناگونی دارند. نرمتنان بخصوص صدفهای مروارید ساز یکی از گونههای مهم از نظر اقتصادی و اجتماعی میباشد. از پوسته نرمتنان مروارید ساز در صنایع منبت کاری ، دکمه سازی ، تزئینات ، خوراک دام و طیور و از عضله بزرگ آن جهت خوراک انسان استفاده می گردد و مهمترین تولید آن استحصال مروارید طبیعی و پرورشی می باشد (احتشامی و همکاران ، ۱۳۷۳).

یکی از گونه های مهم تجاری در دنیا صدف مروارید ساز لب سیاه می باشد که جهت پرورش و تولید مروارید پرورشی از آن استفاده می شود (Doroudi,2001).

صدف لب سیاه بعلت ضخامت لایه مرواریدی قابلیت تولید مروارید مرغوب و سیاه تا قطر ۲۰ میلی متر را دارد (احتشامی و همکاران ۱۳۷۳). همچنین بخاطر وزن و اندازه قابل توجه عضله آن از نظر خوراکی نیز مورد استفاده می باشد . همانطور که گفته شد پوسته این صدف جهت استفاده در صنایع دستی ، صنایع دکمه سازی، منبت کاری و تزئینات، کیلویی ۸ دلار آمریکایی بفروش می رسد، بطوریکه کشور سودان از فروش پوسته این صدف در آمد قابل توجهی کسب می کند (Nasr, 1984). مروارید طبیعی یکی از جواهرات بسیار مهم و قیمتی از دوران باستان به شمار می رود که از صدفهای دو کفهای مروارید ساز بخصوص صدف لب سیاه بدست می آید. صید این صدف جهت استحصال مروارید از قرنها پیش در خلیج فارس رواج داشته و بهترین و سودمندترین ثروت طبیعی خلیج فارس بشمار می رفته است (جهانگرد و همکاران، ۱۳۷۶).

صید صدف و استحصال مروارید طبیعی از دیر باز در خلیج فارس و بخصوص در غرب هرمزگان در جزایر لاوان ،هندورابی ، کیش که از زیستگاههای اصلی این صدف بشمارمی رود ،رواج داشته است. یکی از این صدفهایی که مروارید مرغوب از آن استحصال می گردد صدف لب سیاه با نام علمی (Pinctada margaritifera) می باشد که متاسفانه صید بی رویه این گونه نسل این آبزی با ارزش را در معرض انقراض قرارداده است . در کشورهای پیشرفته جهت حفظ ذخایر گونه های با ارزش مانند صدفهای مروارید ساز لب سیاه و صدفهای خوراکی اقدام به ایجاد کارگاههای متعدد تکثیر و پرورش لارو این گونه صدفها (صدفهای مروارید ساز و خوراکی) نموده اند و در این راه پیشرفت های چشمگیری داشته اند ولی در کشور ما بجز کار های تحقیقی مقطعی و اخیراً در سال ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ که توسط نگارنده و همکاران تعداد کمی صدفچه جهت بازسازی ذخایر زیستگاه به جزیره لاوان ا نتقال داده شد کار اصولی انجام نگردیده است . با تکثیر و پرورش گونه با ارزش صدف مروارید ساز لب سیاه و همچنین صدفهای خوراکی به بازسازی ذخایر و با یافتن بازار مناسب آن می توان به ارز آوری کشور کمک شایانی نمود. زیرا این گونه صدفها علاوه بر تولید مروارید مناسب ، از گوشت و پوسته آنها نیز در صنایع دستی و کارگاههای پودر صدف و حتی مراکز تکثیر ماهی و میگو جهت زودرس کردن مولدین می توان استفاده نمود.

هرجایی که صدفهای مروارید ساز باشند فون غنی از گونه های مختلف اسفنجها، بریزو آ، هیدرها، پلی کیتها، آمفی پودا، ده پایان، خرچنگ ها، کرمهای پلی کت و پهن، تونیکاتها، شقایق ها، نرمتنان حفار همراه آنها مشاهده می شوند (درودی، ۱۳۷۲). صدف لب سیاه از طریق صافی خواری توسط خارهای آبششی از پلانکتونهای گیاهی و همچنین مواد معدنی را مورد استفاده قرار می دهد. این گونه از عمق ۸ متری تا ۱۵ متری در خلیج فارس زندگی می کنند و بصورت موردی تا عمق ۴۰ متری دیده شدند (رضایی و همکاران، ۱۳۷۴.، رامشی ، ۱۳۸۳). اگرچه در هند و خلیج فارس از هزاران سال پیش تجارت مروارید رواج داشته است (Alagarswami et al را187 ولی امروزه به لحاظ کاهش ذخایر در خلیج فارس و استفاده های گوناگون از این صدف در گذشته، ذخایر آن در زیستگاههای متعدد از بین رفته است.

مروارید خلیج فارس تا قبل از دهه ۱۹۶۰ تامین کننده ۸۰٪ مروارید طبیعی جهان بوده که در نوع خود از نظر کیفیت و شکل مروارید بالاترین شهرت را داشته تا جایی که بندرلنگه را با نام بندر مروارید می شناخته اند، بطور یکه میانگین صادرات در نیمه اول قرن سیزدهم هجری شمسی از بندرلنگه و جزیره کیش حدود یک میلیون و پانصد هزار روپیه بوده است (جهانگرد و همکاران ۱۳۷۶). همچنین در پلی نزی فرانسه در سال ۱۹۹۴، ارزش تولید مروارید آن به ۱۳۵/۳ میلیون دلار آمریکایی بوده و در جزایر محمد در سال ۱۹۹۳ تولید مروارید آن ۴/۵ میلیون دلار آمریکایی ارزش داشته است (Doroudi,2001). صدف لب سیاه پراکنش وسیعی از جمله در آقیانوس هند، آمریکای مرکزی، دریای سرخ و خلیج فارس دارد (Sims,1992).

زیستگاههای این صدف در خلیج فارس (قسمت ایرانی) در جزایر لاوان ، هندورابی، شتور، کیش، فارور، بنی فارور، هرمز ، لارک، قشم، هنگام و بنادر نخیلو، چیرویه و بندر تبن گاوبندی در استان هرمزگان و بنادر کنگان، نخل تقی ، تمبک ، پرک ، طاهری و جزیره خارک در استان بوشهر بوده است (درودی ۱۳۷۲ ، احتشامی ۱۳۷۳). تحقیقات در دهه اخیر نشان داد که این زیستگاهها از بین رفته و خطر نابودی نسل آن در زیستگاههای جزایر هندورابی و شتور یا مارو دور از انتظار نمی باشد.

برای این منظور در سالهای گذشته چندین بار اقدام به استقرار جمع آور در نقاط مختلف زیستگاههای متعدد شد ولی متاسفانه هیچگونه صدفچه صدف لب سیاه جمع آوری نشد و این مسئله می تواند گواه بر کمبود ذخایر و مولدین صدف لب سیاه باشد (رضایی ۱۳۷۴، احتشامی ۱۳۷۳ و رامشی ۱۳۷۸). با بررسی ها به عمل آمده جهت بررسی ذخایر صدف لب سیاه در جزایر شتور و هندورابی به ترتیب ۲۰۰۸. و ۲۰۰۱. قطعه صدف در متر مربع می باشد، که نشان دهنده پراکنده بودن مولدها می باشد (رامشی ۱۳۸۳).

صید بی رویه این صدف در سالیان گذشته موجب از بین رفتن نسل این موجود با ارزش شده است (رامشی مید بی رویه این صدف در سالیان گذشته موجب از بین رفتن نسل این موجود با ارزش شده است (رامشی ۱۳۸۳، جهانگرد و همکاران ۱۳۷۶). بهره برداری از ذخایر طبیعی آبزیان از جمله صدفها، کاری که سالیان دور و نزذیک در زیستگاههای ما صورت گرفته سبب نابودی صدفهای مروارید ساز گردیده است . ضامن بقاء این آبزی و صنعت مروارید در هر کشور در گرو توسعه تکثیر و پرورش و تولید صدفچه آنها در کارگاههای تکثیر می باشد.

در حال حاضر در بعضی مناطق از جمع آوری صدفچه در محیط های طبیعی یا وحشی جهت پرورش صدف مروارید ساز و تولید مرواریـد پـرورشی استفاده می کنند و بـرداشـت کـمی از ذخایر طبیعی دارند (Southgate) (and beer,1997. هم اکنون در کشورهایی مثل ژاپن، استرالیا و حتی هند برداشت از ایستگاههای طبیعی ممنوع شده و با پرورش صدف و هسته گذاری به تولید مروارید پرورشی می پردازند (Yavari, 1990). تکثیر صدفهای خوراکی نسبت به صدفهای مروارید ساز در دنیااز موفقیت بیشتری برخوردار است. Minaur در سال ۱۹۶۹ سعی در تولید اسپات *Pinctada maxima* نمود اما هیچ یک از لاورهایش قابلیت دگردیسی و تبدیل به صدفچه را پیدا نکردند و از بین رفتند(احتشامی ،۱۳۷۳).

Alagarswami و همکارانش در سال ۱۹۸۳ موفق به تولید صدفچه صدف محار Pinctada fucata شدند، وی در سال ۱۹۸۹ به اتفاق همکارانش قادر به تولید صدفچه صدف لب سیاه گردید ولی صدفچهها پس از انتقال به دریا بعد از گذشت چندین ماه از بین رفتند. همچنین Tanaka و همکارانش در سال Anon،۱۹۷۰ در سال ۱۹۶۶، رفتا ۲۰۰۱ و Southgate و Southgate و همکارانش در سال ۱۹۷۰ مرسال ۲۰۰۰ موفق به تولید صدفچه صدف لب سیاه در استرالیا گردیدند. در ایران در آزمایشی که در جزیره کیش توسط ابراهیمی درچه و همکاران در سال ۱۳۷۰ به منظور تکثیر نیمه مصنوعی صدف لب سیاه صدف لب سیاه صورت گرفت، لاروهای D (دی) آنها تماماً از بین رفتند و قادر به ادامه مراحل بعدی لاروی نشدند.

در سال ۱۳۷۳ احتشامی و همکاران لاروها را تا مرحله Umbo پیش بردند و بعد از ۱۳ روز لاروها از بین رفتند. در سال ۱۳۷۴ روستائیان و همکاران لاروهای صدف لب سیاه را تا مرحله Eyespot پیش بردند و بعد از آن لاروها از بین رفتند. در این تلاش لاروها ۱۸ روز زنده ماندند.دلایل عدم موفقیت در کارهای انجام شده در داخل کشور نبود سالن تکثیر مناسب و تجهیزات ناکافی، استریل نبودن آب عنوان شده است و در مقطعی دیگر آلودگی و مشکلات پروتوزوآ عنوان گردید(احتشامی ۱۳۷۳).

گزارشی از موفقیت تولید آزمایشی و تجاری صدفچه لب سیاه در پلی نزی فرانسه ، او کیناوا توسط Gervis) Alagarswami *et al.* استرالیا . Clarke *et al* 1996) و همچنین در استرالیا . Alagarswami *et al.* 1970,Clark *et al.* 1996; Anon, 1996,Southgate and Beer 1997, Doroudi,2001 و در ایران

مهدی ساوه درودی طی سالهای ۱۳۷۲ لغایت ۱۳۷۴ مطالعاتی برروی موجودات مزاحم و شکارچی و حفار و بیماریهای این صدف انجام داد او بیان می دارد که اسفنج های قرمز و ماسل های حفار باعث بیماری و ضعیف شدن صدفها می گردد و همچنین ماهیان پافر در هر مزرعه باعث صدمات جبران ناپذیری به مزرعه پرورش صدف می گردند.

نرمتنانی که تولید مروارید می کنند و در جهان شناخته شده هستند عبارتند از : صدف زنی Pteria marmorata صدف زنی بالدار Pteria marmorata

توسط رامشی و همکاران در سالهای ۱۳۸۳ و ۸۴ انجام گردیده است .

صدف محار (كلنگ) Pinctada radiata صدف محار ژاپنی Pinctada fucata صدف لب نقرهای Pinctada محار کلنگ) maxima صدف لب سیاه Pinctada margaritifera

نظر به اهمیت صنعت استحصال مروارید پرورشی از صدفهای مروارید ساز و احیا نسل این آبزی از طریق تکثیر و پرورش آن ، امید است با توجه به اطلاعات بدست آمده بتوان نتایج در خور توجه بدست آوریم وبتوانیم اهداف زیر را دنبال نماییم :

- جلو گیری از خطر انقراض نسل این موجود با ارزش و اقتصادی در خلیج فارس .
 - دستیابی به تکنیک تکثیر و پرورش صدف لب سیاه و تولید انبوه صدفچه .
- کمک به بازسازی ذخایر این صدف در زیستگاههای قدیمی بوسیله رهاسازی در زیستگاه ها .

امیدواریم این نتایج بتواند ضمن رونق بخشیدن به صنعت تولید مروارید ، تاثیر بسزایی نیز در مسائل اقتصادی و اجتماعی منطقه داشته باشد .

هدف اصلی این پروژه دسترسی به تکنیک تکثیر و پرورش صدف لب سیاه تا مرحله اسپات و سپس پرورش صدفچه در دریا میباشد. همچنین شناسایی مشکلاتی که بر سر راه تکثیر این صدف وجود دارد نیز در این بررسی مورد نظر است.

۱-۱- زیست شناسی و آناتومی صدف لب سیاه

صدف لب سیاه از نظر طبقه بندی بصورت زیر میباشد (James, 2002). شاخه نرمتنان ، رده دوکفه ایها ، زیر رده پتری مرفا ، راسته پتری اود یا متلی اودا ، خانواده پترئیده ، جنس پینکتادا و گونه مارگاریتیفرا می باشد .

Phylum:Molluska Class:BIvalvia Subclass: Pterimorpha Order: Pterioda or Mytiloida Family: Pteriidae Genus: Pinctada Species:Margaritifera

نام عمومی ، صدف لب سیاه یا صدف مروارید ساز لب سیاه است(Black lip pearl oyster). صدفهای لب سیاه از روش صافی خواری (Filterfeeder) و از فیتوپلانکتون تغذیه می کند . آنها در معده خود جسم استوانه ای شکلی بنام کریستال استایل جهت هضم غذا دارا هستند . صدفهای لب سیاه بعد از دو سال به رسیدگی جنسی می رسند که اندازه پشتی ـ شکمی آن در حدود ۱۰۰ میلی متر می باشد. این گونه می تواند به مدت ۳۰ سال در شرایط خوب زنده بماند(2001). این صـدف از نظـر جنسی هرمافردیت پر تاندریک (Protandric) می باشد (2002, 1993). Hynd در سال ۱۹۵۷ گزارش کرده که حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد اویسترها در سال اول رسیدگی جنسی از نر به ماده تغییر جنسیت می دهند (Ioroudi,2001). گناد صدف مروارید ساز لب سیاه بین پا و ماهیچه قرار دارد و قسمتی از تبییر جنسیت می دهند (Doroudi,2001). گناد صدف مروارید ساز لب سیاه بین پا و ماهیچه قرار دارد و قسمتی از این بوسیله دستگاه گوارشی پوشانده شده است. صدفهای لب سیاه در تمام طول سال قادر به تخمریزی می باشند ولی دارای دو سیکل تخمریزی خرداد – تیر و مرداد – شهریور می باشد. این موضوع را احتشامی در سال ۱۹۷۳ نیز گزارش نموده است و جزء مشاهدات نگارنده در سال ۱۹۸۳ و ۱۹۸۴ نیز می باشد. برای صدف لب سیاه ۳ تا ۴ هفته فاز پلانکتونی دارد که شامل لارو چرخشی ، لارو دی شکل ،لارو پیش قوزی ،لارو صدف لب سیاه ۳ تا ۴ هفته فاز پلانکتونی دارد که شامل لارو چرخشی ، لارو دی شکل ،لارو پیش قوزی برای جستجوی بستری مناسب جهت نشست اقدام می نماید(1989, 1981). در برای جستجوی بستری مناسب جهت نشست اقدام می نماید(1989, 2001). در در مناطق گوناگون رشدهای مختلف و ویژه همان منطقه، برای رشد لارو صدف وجود دارد(Sims, فرای). در حقیقت ضریب یا نرخ رشد صدف لب سیاه به دمای آب، تولیدات اولیه و غذای در دسترس آن بستگی دارد (Nasr, 1989). شکل شماره ۱ آناتومی صد دوکفه ای را نشان می دهد.



شکل شماره (۱):آناتومی صدف مروارید ساز

۲- مواد و روشها

۱-۲- مواد

خیمه نگهداری صدف، پانل نگهداری صدف، صدف بازکن، اسپاچول، ست جراحی صدف یخدان، طناب نایلونی، لولههای پلی اتلین و P.V.C، ایربلوور (پمپ هوا)، پمپ آب روبین، پمپ آب تک فاز، پمپ جت جهت شستشو، مخازن رسوب گیر، فیلتر شنی، هولدر فیلتر، کارتریج فلیترهای ۲۰۱، ۵۰، ۲۰، ۵۰ و ۱ میکرون، فیلتر کربن، دستگاه ماوراء بنفش و لامپ مربوطه، مخازن اصلی ۵ متر مکعبی آب، مخازن فایبر گلاس ۵ تنی پرورش شیلنگ آکواریومی هوا، تورهای پلانکتونی تخم، مخزن فایبر گلاس نگهداری مولدین، مخزن ذخیره آب سرد، (گوه)، سطل و تشت پلاستیکی، میکروسکوپ نوری ، میکرومتر چشمی، لام و لامل، لام شمارشگرلاروصدف، ایرانیت پلاستیکی، سبد پلاستیکی میکروسکوپ نوری ، میکرومتر چشمی، لام و لامل، لام شمارشگرلاروصدف، پیپت اتوماتیک، همزن پلاستیکی استوانهای، مواد شیمیایی، قفسههای تختهای جهت کشت غذای زنده، سه گونه میکرو آلگ

> Chaetoceros mulleri , Isochrysis aff galbana و Chaetoceros calcitrans استاپر و محیط کشت TCBS جهت کشت باکتری و یبریو.

۲-۲- جمع آوری و بررسی مولد

با مطالعات و بررسیهای سالهای گذشته و با همکاری صیادان محلی لاوان در اسفند ماه ۱۳۸۵ اقدام به جمع آوری تعداد ۲۰۰ مولد در زیستگاههای هندورابی و شتور نمودیم. مولدها را در خیمههایی از جنس پلی اتیلن به طول ۳ متر ، عرض ۲ متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر (شکل ۲) که از قبل آماده شده بودند ، در جزیره لاوان (شکل ۳)و هندورابی (شکل ۴) در غرب هرمزگان در عمق ۱۲ متری آب دریا قرار داده شدند. هر هفته جهت بررسی گناد صدفهای مولد و تمیز نمودن آن به محل مورد نظر رفته و هر بار تعداد ۲۰ عدد صدف از هر خیمه مورد بررسی گنادی قرار گرفت و مراحل پیشرفت گناد و رنگ گناد در فرم ویژه ثبت گردید (فرم ۱). که برای این منظور هنگام عملیات غواصی ابتدا گوه (شکل ۵) را بین دو کفه صدف قرار داده وسپس بوسیله صدف بازکن (شکل ۵) دو کفه را بیشتر باز نموده و به بررسی گناد پرداخته شد در بعضی موارد از گناد صدفها بوسیله سرنگ ۱۰ سی سی انسولین مقداری اسمیر تهیه و بوسیله میکروسکوپ نوری مورد بررسی گنادی قرار گرفتند (شکل ۶).



شکل (۲): جزیره لاوان در غرب استان هرمزگان (**)



شکل (۳):جزیره هندورابی در غرب هرمزگان (****)



شکل(٥): بررسی گناد بوسیله صدف بازکن و تهیه اسمیر توسط سرنگ

۲-۲- انتقال مولدها به سالن تکثیر ایستگاه

مولدهایی که با بررسیهای قبلی بنظر میرسید به رسیدگی جنسی و در مرحله ۲ و ۳ رسیدگی جنسی بوده را با برس تمیز نموده و با یخدان و کمی یخ به کارگاه تکثیر منتقل نموده و پس از شستشوی کامل، آنها را برای مدت ۲۴ ساعت در اتاق سرد نگهداری شدند. مولدها در اتاق سرد در دو مخزن ۲۰۰ لیتری با دمای آب ۲۱ – ۱۸ درجه سانتیگراد قرار گرفتند (شکل ۷).



شکل (٦): مخزن نگهداری مولدین صدف لب سیاه

۱۲/ گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

۲-٤- انتقال آب دریا به سالن تکثیر

با لوله گذاری حدود ۲۰۰ متر درون دریا و بوسیلهٔ یک الکترو پمپ سه فاز آب را در زمان مد کامل از دریا به مخازن رسوبگیر (شکل شماره ۸) منتقل گردید و سپس بوسیله الکتروپمپ تک فاز، آب با گذشتن از فیلتر شنی (شکل ۹) و کارتریج فیلترهای ۱۰۰ و ۵۰ میکرون وارد مخزنهای اصلی در سالن تکثیر شده و از آنجا نیز بوسیلهٔ یک پمپ الکتریکی تک فاز از کارتریج فیلترهای ۲۰، ۵ و ۱ میکرون و فیلتر کربن گذشته و با عبور از محفظه دستگاه و لامپ ماوراء بنفش (U.V) (شکل ۱۰) ، وارد مخازن ۵ تنی فایبر گلاس پرورش لارو صدف می گردید. از همین لوله یک شاخه به اتاق سرد منتقل، و آب وارد مخازن نگهداری مولدین صدف شد. دمای اتاق سرد برای مولدها ۱۸ تا ۲۱ درجه سانتیگراد بود. دیاگرام آبرسانی به مخازن پرورش لارو در ضمیمه می باشد .

٥-۲- هوا دهي

هوا دهی نیز بوسیله دو عدد پمپ هواده الکتریکی یا ایربلوور بدون روغن (شکل ۱۱) که در اتاقی مجاور سالن تکثیر مستقر بود انجام شد و بطور مداوم هر پمپ ، هوا را هر ۶ ساعت به داخل مخازن پرورش لارو، اتاق سرد و اتاق کشت غذای زنده انتقال می داد استفاده شد.



شکل (۲):دو پمپ هواده یکسان جهت هوادهی لارو صدف و میکروالگ

۲-۲- مخزن و سطلهای تخم ریزی یک عدد مخزن تخمریزی مستطیل شکل ۳۰۰ لیتری از جنس فایبر گلاس مشکی رنگ (شکل ۱۲)جهت عملیات تخم ریزی استفاده شد. به منظور تامین آب مخزن تخمریزی توسط یکی از شیرهای موجود بوسیله شیلنگ پلاستیکی ، آب فیلتر شده و از U.V عبور کرده به مخزن تخم ریزی که مولدها در آن قرار داشتند استفاده شد.



شکل (۸): مخزن تخم ریزی صدف وصدف های مولد

۲-۲- مخزن شکوفایی تخم (هچینگ تانک)

تعداد ۴ مخزن دایرهای شکل و ۵۰۰ لیتری از جنس فایبرگلاس (شکل ۱۳)جهت نگهداری تخمهای لقاح یافته تا مرحله دی شکل D-shape استفاده شده است .این مخزنها نیز دارای یک خروجی در پائین و در وسط بوده که پایه ای ۳۰ سانتی متری نیز دارند.

۸-۲- مخازن یرورش لارو

برای پرورش لارو تعداد ۶ تانک فایبر گلاس ۵ تنی دایرهای سیاه رنگ که دارای یک خروجی در قسمت وسط ویک خروجی در دیواره و دارای پایه های ۳۰ سانتی متری بودند مورد استفاده قرار گرفتند(شکل ۱۴) . قبل از شروع کار، مخازن پرورش لارو صدف را با آب شیرین و کلر شستشو و ضدعفونی گردیدند.



شکل (۹) - مخازن ۵ تنی پرورش لارو صدف لب سیاه

۲-۹- بیومتری لاروها و میزان آنها

هر یک روز در میان از ۳۰ عدد لاروهای موجود بوسیلهٔ میکرومتر چشمی که در عدسی میکروسکوپ معمولی قرار داده شده بود طول پشتی – شکمی و طول پاشنه آن اندازه گیری گردید. بقای لاروها در هر مرحله لاروی نیز از طریق شمارش تعداد لارو موجود در یک میلیلیتر آب که از یک ظرف ۱۰ لیتری نمونه برداری شد بوسیله لام ویژه شمارشگر لارو صدف اندازه گیری و محاسبه شد.جهت اندازه گیری تراکم، لاروهای جمع آوری شده را درون یک ظرف با حجم معین ریخته و بوسیله یک استوانه آنها را به هم زده و سپس توسط یک پیپت اتوماتیک ۱۰۰۰ میکرون روی لام شمارشگر لارو ریخته و زیر میکروسکوپ به شمارش لاروها پرداخته و به حجم کل آب تعمیم داده شد(1991).

۲۶۰ تعداد لارو در یک میلی لیتر

تعداد لاروهای موجود ۲۶۰۰۰۰ = ۲۶۰ × ۱۰۰۰/۱

۲-۱۰ تحریک صدفها به تخمریزی در مخزن تخمریزی

پس از انتقال مولدها از دریا به ایستگاه و یا اتاق سرد با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و شناسایی صدفهای نر وماده آنها را پس از شستشوی مختصر درون آفتاب قرار داده و سپس به مخزن تخمریزی با آب ۳۱ درجه سانتی گراد و فیلتر شده و استریل شده توسط لامپ U.V منتقل شدند، در حقیقت از روش شوک حرارتی استفاده شد که روش استفاده شده Southgate و Beer در سال ۱۹۹۷ و Doroudi درسال ۲۰۰۱ پیروی می کند که جهت تخمریزی صدفهای لب نقرهای و لب سیاه استفاده نمودند. تخمهای لقاح یافته بوسیله یک سیوپلانکتونی ۲۵ میکرونی جمع آوری شده و به مخازن فایبر گلاس ۱۰۰۰ لیتری شکوفایی تخم (Haching tank)، با تراکم اولیه ۵۰ عدد لارو در یک میلی لیتر آب منتقل شد.

Isochrysis aff galbana ازسه گونه میکروالگ ازسه گونه میکروالگ که یک ف لاژلیت بنام ایزو کرایسیس آف گ الب انا Isochrysis aff galbana و کتوسروس کلسیترانس (شکل ۱۵)و دو گونه دیاتومه بنام کتوسروس میولری Chaetoceros muelleri و کتوسروس کلسیترانس Chaetoceros calcitrans که استوک آنها از شرکت CSIRO استرالیا تهیه شده بود جهت تغذیه لاروهای صدف لب سیاه استفاده گردید. کشت جلبک از ظروف ۲۰ میلی لیتر به ظروف ۲۵،۰۰۵، ۲۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ میلی لیتر رسانده و کشت و پرورش داده شد(شکل ۱۶) و از شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و از محیط کشت 2F جهت تکثیر و پرورش آنها استفاده گردید (Guillard, 1983).



شکل (۱۰): نمونه ای از میکرو آلگ ایزو کرایسیس استفاده شده جهت لارو صدف لب سیاه

۱۶/ گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

۲-۱۲ تغذیه و یرورش لاروها

در روز اول فقط از ایزوکرایسیس Iso به مقدار ۵۰۰۰ سلول در یک میلیلیتر آب استفاده شد. در روز پنچ از غذای ترکیبی Iso و Ch.cal به میزان ۱۰۰۰۰ سلول در میلیلیتر استفاده کردیم که ۷۰۰۰ سلول Iso و ۳۰۰۰ سلول Ch.cal بود.

از روز سیزدهم تا شانزدهم ۱۵۰۰۰ سلول که ۱۰۰۰۰ سلول Iso و ۵۰۰۰ سلول Ch.cal جهت تغذیه لاروها استفاده گردید.

از روز هفدهم تا روز بیست و چهارم با استقرار جمع آورها در مخازن لارو ۱۰۰۰۰ سلول که ۶۰۰۰ سلول که ۲۰۰۰ سلول Ch.cal و ۱۰۰۰ سلول از Ch.m استفاده شد . از روز بیست و پنجم تا روز آخر ۲۰۰۰ سلول که ۱۴۰۰۰ سلول Iso ۲۰۰۰ سلول Ch.cal و ۲۰۰۰ سلول Ch.m مورد تغذیه لاروها قرار گرفتند. هیچ نوع آنتی بیوتیکی در طول دوره پرورش لارو صدف استفاده نگردید.

۳- نتایــج

۱-۳- مولدها

در طول بررسی مولدها از فروردین ۸۵ تا تیر ماه ۸۵ حدود ۷۰٪ مولدهانر بودند و رنگ گناد دقیقاً بیانگر و معیار خوبی برای تشخیص جنسیت صدف نمی باشد و تنها رنگی که میتوان به آن اعتماد کرد رنگ نارنجی است که جنسیت صدف با گناد نارنجی نشان دهنده ماده بودن صدف میباشد.در طی این بررسیها دو پیک تخمریزی برای صدفهای مولد وجود داشت که اواسط خرداد تا اواسط تیر و اواخر مرداد تا اواسط شهریور میباشد.تخمک رسیده در شکل ۱۷ نمایش داده شده است .



شكل(11): تخمك رسيده صدف لب سياه

تحریک صدفها به آزاد سازی سلولهای جنسی با روش شوک حرارتی این نتیجه را داد که بعد از ۱۵ دقیقه اولین صدف نر شروع به رها سازی سلولهای جنسی نر (اسپرم) نمود و سپس مولدهای ماده شروع به تخمریزی کردند. در حقیقت از ۳۷ مولد صدف لب سیاه ، ۳۰ مولد نر و بقیه ماده بودند که ۲۷ نر و ۷ ماده وادار به رها سازی سلولهای جنسی شدند.از مولدهایی که سلولهای جنسی رها کردند تعداد نزدیک به ۴۰ میلیون تخم سالم بدست آمد که حدود ۵۰ درصد تفریخ شدند(حدود ۲۱ میلیون تخم تفریخ شده سالم).

۲-۳-پرورش لارو

اولین تقسیم سلولی ، ۲۵–۴۵ دقیقه بعد از لقاح مشاهده می شود . جسم قطبی یا Polar body که در شکل ۱۸ نشان داده شده در محل شیار تقسیم قرار دارد و بصورت یک بر آمدگی بر روی تخم لقاح یافته مشاهده گردید. که در این حالت اندازه آن به ۶۰ تا ۶۵ میکرون می رسد .



شکل (۱۲): جسم قطبی بعد از لقاح در صدف لب سیاه



در این زمان یک مجموعه سه تایی وجود دارد و بنام مرحله Trefoil معروف است (شکل ۱۹).

شکل(۱۳):ترفویل ۵۰ دقیقه بعد از لقاح

ترفویل بطور مرتب تقسیم شده و در نتیجه کوچکتر و کوچکتر شده و ۸ سلول ، ۱۶ سلول و سپس ۶۴ سلول بوجود آمده(شکل ۲۰) و تقسیم تا مرحله مورولا ادامه می یابد. هر ترفویل دارای یک مژه کوچک است که به حرکت جنین کمک می کند.



شکل(۱٤): تقسیمات ۲۶ تایی پس از لقاح در تخمک لقاح یافته صدف لب سیاه

بعد از ۲/۵ تا ۴ ساعت بلاستومر بوجود آمد. ۵ ساعت بعد از لقاح گاسترولا مشاهده شد ، در این مرحله جنین دارای تاژک بود. بعد از ۶ ساعت بعد از لقاح لارو چرخشی (شکل ۲۱) بوجود آمد و مدت این مرحله ۲۰ساعت بود ، بعضی از لاروها مدور و بعضی گوشهدار بودند در این مرحله لارو با مژک حرکت دورانی داشتند تا زمانی که لارو تغییر شکل داده، اندازه لارو در این مرحله ۷۰ میکرون بود و سپس از حالت دورانی به شکل D در آمده که دارای یک محور طولی و دارای لب می باشد. در این مرحله اندازه متوسط لاروها ۸۰ میکرون بود.



شکل(۱۵):لارو چرخشی صدف لب سیاه ۸ ساعت بعد از لقاح

۲۰/ گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

D-shape لارو D شكل D-۳–۲–

۲۰ تا ۲۸ ساعت پس از لقاح لاروهای ترو کوفور Trochophore کم کم تغییر شکل داده به شکل یک محور در آمده و لبه دار شده و به شکل D مشاهده گردید. این لاروها بیشتر در قسمت کف مخازن پرورش لارو بودند. این لارو دارای پوسته شفاف بوده و بعضی از اجزاء گوارشی نیز مشاهده شد و بوسیله مژکهایی شنا می کنند و وحالت چرخشی دارند. مژکها و تاژکها تا ۶ روز بعد از بین میروند و بعد از روز ۶ برآمدگی نزدیک خط لولا مشاهده می گردد. اندازه لاروها در ابتداء D شکل ۸۰ میکرون و در آخر به ۱۰۵ میکرون رسیدند(شکل ۲۲).



شکل(۱٦): لارو دی شکل صدف لب سیاه بعد از ٤٨ ساعت

بعد از روز ۶ با بوجود آمدن برآمدگی در قسمت پاشته و بیشتر شدن اجزاء داخلی گوارشی و تیرهتر شدن نزدیک لولا مرحله پیش قوزی یا Early umbo بوجود آمد که طول متوسط ۱۲۰ میکرون داشتند این مرحله تا روز نهم بعد از لقاح ادامه داشت .

T-T-T لارو قوزدار Umbo

در روز دهم بر آمدگیهای دکمه مانند در قسمت تحتانی تیره تر و بزرگتر شده بود و یک حالت کروی داشتند. اندازهای برابر ۱۴۰ تا ۱۷۵ میکرون به ترتیب در روز ۱۰ و در روز ۱۶ داشتند (شکل ۲۳). صدفها بیشتر در قسمت تحتانی مخزن پرورش بوده و آنهایی که در کف مخزن بودند اندازهای بزرگتر از صدفهایی داشتند که در قسمت بالایی تانک قرار داشتند. در این روزها (۱۰ تا ۱۶) پوسته صدف تیره تر شده، اجزاء گوارشی حجم بیشتری از فضای داخلی را در بر گرفت. خطوط رشد روی پوسته صدفها کم کم پدیدار شد و همچنین خط و دندان بندی و فرورفتگیهای لیگامنت قابل مشاهده بود.



شکل(۱۷): لارو قوزدار صدف لب سیاه

Eye spot یا لارو لکه چشمی Eye spot در این مرحله که از روز ۱۷ بعد از لقاح شروع شد اندازه طول پشتی – شکمی برابر با ۱۸۰ میکرون تا ۲۵۰ میکرون داشتند (روز ۱۷ تا ۲۴). از روز ۱۶ بعد از لقاح که لکه تیره رنگی در لاروها مشخص میباشد که به آن لارو چشم زده یا Eye spot می گویند (شکل ۲۴) .در این مرحله لاروی رشد زیاد پرده غشایی یا Velum باعث حرکت لارو شد.



شکل (۱۸): لارولکه چشمی صدف لب سیاه

٤-۲-۳- لارو پادار یا پدی ولیجر Pediveliger بعد از روز ۲۵ لارو شناگر پا دار بوجود آمد، که اندازه آن به ۲۶۵ میکرون بود. صدف کاملاً پوسته مشخص، دندان بندی، لیگامنت مشخص و حتی گیل Gill آن در صدف مشخص میباشد و مانتو نیز تشکیل گردید. خطوط رشد کاملاً واضح بود. در این مرحله بوسیلهٔ پا میخزد یعنی از فاز شناگری به فاز خزیدن انتقال مییابد.در این مرحله لارو جهت شنا کردن وخزیدن پا و هم velum دارد . (شکل ۲۵).



شکل(۱۹): لارو پادار صدف لب سیاه

بعد از مرحله پا در آوردن لارو از شنا کردن به خزیدن تغییر مییابد، ۲۸ روز بعد از لقاح مرحله پلنتی گرید (Plantigrade) است که لارو بدنبال بستر مناسب جهت نشست و چسبیدن خود میباشد. در این مرحله رشتههای آبششی و لابیال پا لپ رشد کرده، لبههای خیلی نازک شروع به رشد کرده و اندازهٔ آنها نزدیک به ۲۸۰ میکرون رسید.

تشکیل صدفچه ۳۵ روز بعد از لقاح اتفاق افتاد و در این مرحله رشتههای ابریشم، رشتههای آبششی، فلسهای روی پوسته، نوارهای شعاعی مشاهده شدند و لبهها در حال رشد بودند و تیغههای آن مشخص بود(شکل ۲۶). اندازه آنها ۲۸۵ تا ۳۰۰ میکرون بود و رنگ زرد متمایل به سبز و طلایی داشتند. بعد از گذشت ۳۵ روز، صدفهای چسبیده به جمع آورها با چشم غیر مسلح دیده شدند.

نهایتا اینکه در این بررسی بیش از ۱۰۰۰۰ صدفچه در روز ۳۵ تولید شد که بعد از گذشت ۱۸ روز تعداد آنها به ۵۰۰۰۰ قطعه تقلیل یافت که ۵۰۰۰۰ قطعه صدفچه بوسیله تعدادی سبد پلاستیکی سینگ به جزیره لاوان انتقال داده شد و پس از ۱۵ روز در کنار خیمه صدف رها سازی شد و تعداد ۳۰۰۰ قطعه صدفچه درون سبدهای با اندازه ۳۰*۵۰*۶۰ در عمق ۱۲ متری دریا نگهداری شدند.



شکل (۲۰): صدفچه صدف لب سیاه(Spat)



شکل(۲۱): تجمع صدفچه روی جمع آور ایرانیت پلاستیکی

٤- بحث

بررسی گنادی صدفهای لب سیاه در فصل بهار و تابستان نشان داد که با مشاهده رنگ گناد نمی توان صد درصد به جنسیت صدف پی برد،ولی تنها رنگ نارنجی است که نشان دهنده مولد ماده است و بقیه رنگها نیاز به بررسی میکروسکوپی دارد . تحقیقات و بررسی در مورد رسیدگی جنسی صدف مروارید ساز لب سیاه P. margaritifera نشان داده شده است که این صدف قابلیت رها سازی سلولهای جنسی در تمام طول سال را دارد(Doroudi,2001) و(احتشامی، ۱۳۷۳). این موضوع در طول ماههای بررسی این پژوهش نیز مشاهده گردید. صدفهای لب سیاه برای اینکه به رسیدگی جنسی برسند به مواد غذایی و دمای مناسب ^م ۲۷^{- م} ۲۳ آب نیاز دارند که دراثر تغییر دما از ۲۷ به دمای ۳۰ – ۲۹ درجه سانتیگراد صدف تحریک به رها سازی سلولهای جنسی می شود.

به طور کلی، اطلاعات کمی در رابطه با موفقیت در تحریک کردن به رها سازی سلولهای جنسی صدف لب سیاه وجود دارد.

با شوک دمائی آب ([°] ۳۱) درجه سانتیگراد صدف ها را تحریک به رها سازی سلولهای جنسی مولد های صدف لب سیاه شد.

پیشرفت رسیدگی گناد زمانی اتفاق میافتد که درجه حرارت آب بالای ۲۳ درجه سانتیگراد برسد این موضوع را احتشامی و همکاران در سال ۱۳۷۳ نیز گزارش کردند و حتی به این موضوع اشاره داشتند زمانی که درجه حرارت آب محل نگهداری مولدین صدف به ۲۹ درجه سانتیگراد رسید، یک تخمریزی دراز مدت از خرداد ماه شروع می شود و یک تخمریزی کوتاه مدت نیز در آبان ماه بوجود می آید. در این بررسی نیز یک دوره تخمریزی از اواسط خرداد تا شهریور در طبیعت داشتیم که درجه حرارت آب بین ۲۷ تا ۳۱ درجه سانتیگراد در نوسان بود (رامشی ،۱۳۸۳).

دمای بالای آب در این زمان (خرداد تا شهریور) این امکان را به صدف میدهد که پس از تخمریزی دوباره به بازسازی گناد بپردازد این رویداد در صدفهای مولد جزیره هندورابی و لاوان نیز مشاهده گردید.احتشامی در سال ۱۳۷۳ نیز در مطالعات خود به چنین نتیجه ای رسیده بود . Doroudi,2001 و Southgate and Beer در سال ۱۹۹۷ برای صدف های لب سیاه و لب نقره ای در استرالیا از شو ک دمایی جهت وادار کردن به رها سازی سلولهای جنسی استفاده کردند و به موفقیت رسیدند در این پژوهش نیز در سال ۱۳۸۳ در ماه شهریور و در سال ۱۳۸۴ در ماه مرداد موفق به رها سازی سلولهای جنسی از مولدهای لب سیاه شدیم که در سال ۱۳۸۳ اکثر مولدها ماده بودند و در سال ۱۳۸۴ اکثراً نر بود که بنظر می رسد حالت پروتاندریک در اویسترهای مروارید ساز را نشان می دهد. Hynd در سال ۱۹۵۷ گزارش داده بود ۳۰ تا ۴۰٪ صدفها از نر به ماده تغیر جنسیت می دهند و South در سال ۱۹۹۲ گفتند که معمولاً صدف لب سیاه هرمافردیت پروتاندریک هستند که این موضوع در این پژوهش نیز مشاهده شد. در سال ۱۳۸۳ تقریباً ۵۰٪ مولدها و در سال ۱۳۸۴ تمامی مولدها سلولهای جنسی را رها نمودند. دمای شوک حرارتی آب در این بررسی مولدها و در سال ۱۳۸۴ تمامی مولدها سلولهای جنسی را رها نمودند. دمای شوک حرارتی آب در این بررسی

به هر حال از روش شوک حرارتی که Doroudi جهت رها سازی سلولهای جنسی صدف لب سیاه در سال ۲۰۰۱ استفاده نمود، در این بررسی نیز استفاده شد و صدفها وادار به تخمریزی شدند. البته این روش از روش Southgate and Beer در سال ۱۹۹۷ پیروی میکند. بعد از رها سازی سلولهای جنسی نر و ماده، اووسیتها در مرحله متافاز اول آزاد شده و سپس با اسپرم ترکیب میشوند (Tranter, 1958)، این روند در تحقیق حاضر با بررسی میکروسکوپی مشاهده گردید.

طبق نظر Tranter در سال ۱۹۵۹ که بر اساس یافته های بافت شناسی استوار می باشد اووسیت های رسیده صدف لب سیاه و محار در داخل گناد، درست قبل از تخم ریزی فعال می گردند، بنابراین شاید بتوان پائین بودن درصد لقاح در هنگام استفاده از شوک حرارتی در آزمایشگاه را تا حدودی با فعالیت کم و یا غیر فعال بودن قسمتی از سلولهای آزاد شده مرتبط دانست. در این بررسی نیز تمام تخم ها تلقیح نشدند که موضوع فوق را تائید می کند. در مطالعه ی که درودی در سال ۲۰۰۱ در رابطه با لقاح صدف لب سیاه در آزمایشگاه انجام داد بعد از ۲۴ دقیقه جسم قطبی با اندازه ۶۰ میکرون شکل گرفته بود و در این بررسی بعد از گذشت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه جسم قطبی روی تخم های لقاح یافته مشاهده گشت و قطر ۵۵ تا ۶۰ میکرون داشتند. تراکم لارو در تانک شکوفایی (Haching tank) که در وحد لی که میلی ایتر آب تا مرحله مه و در این بررسی بعد از گذشت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در در در در در موی تخم های لقاح یافته مشاهده گشت و قطر ۵۵ تا ۶۰ میکرون داشتند. تراکم لارو در تانک شکوفایی (Haching tank) که در یک میلی ایتر آب تا مرحله مه و در نظر گرفته شد این روند در مطالعات درودی سال ۲۰۰۱ در رابطه با لارو صدف لب سیاه در استرالیا بهترین درصد بقا را برای ادامه کار تکثیر صدف لب سیاه

در این مطالعه یک رشد ۳/۷ میکرونی تا ۸ روز اول تا مرحله Early umbo لاروهای صدف لب سیاه مشاهده شد . یک رشد ۵ میکرونی بوسیله Tanaka و همکاران در سال ۱۹۷۰ در ۷ روز اول بدست آمد. رشد لاروها تا مرحله umbo حدود ۱۵۰ میکرون بدست آمد که Doroudi 2001 لارو ombo را ۱۴۰ میکرون بدست آورد و در تحقیق انجام شده توسط Alagarswami و همکاران در سال ۱۹۸۹ اندازه لارو ombo برای لب سیاه ۱۴۰، برای لارو صدف لب نقرهای ۱۴۰ میکرون در سال ۱۹۹۴ بوسیله Baker و Rose و Rose بدست آمد. در این تحقیق لارو Eye spot یا چشم زده بعد از گذشت ۱۶ روز مشاهده شد که در استرالیا درودی بعد از ۲۱ روز مشاهده نموده است که احتمالاً تعویض مرتب آب مخازن پرورش لارو رشد سریعتر را بوجود آورده است . همچنین Southgate و Beer در سال ۱۹۹۷ نیز در ۲۰ روز بعد از لقاح لارو چشم زده را مشاهده کردند. در این مطالعه لارو چشم زده ۲۶۰ میکرون طول داشت در صورتیکه در مطالعات دیگران این مرحله دارای اندازهای کمتر از ۲۶۰ میکرون میباشد و این موضوع به شرایط فیلتر کردن آب، شرایط پرورش (عوامل

محیطی، مواد غذایی و اختلاف ژنیتکی) بستگی دارد و از ۲۳۰ میکرون تا ۲۶۰ میکرون در یک دوره زمانی ۲۰ تا ۲۳ روزه در تغییر میباشد (Doroudi, 2001).

این موضوع را Doroudi در سال ۲۰۰۱ برای صدفهای لب سیاه و Rose and baker در سال ۱۹۹۴ برای صدف محار و لب نقرهای گزارش نمودهاند.

زمانی که لاروهای D شکل بعد از ۲۴ ساعت پس از لقاح شکل گرفتند آنها را غذا دهی نمودیم این روند نیز در مطالعه Doroudi برروی لارو صدف لب سیاه در سال ۲۰۰۱ در استرالیا مشاهده شده است و از جلبک Isochrysis aff galbana با تراکم ۵۰۰۰ سلول در یک میلی لیتر آب استفاده شده بود.

بعد از گذشت ۴ روز از غذای ترکیبی میکروالگ Iso و Iso در مانید که از زمان لارو چرخشی یا Trochophore از دیگر نکات قابل ذکر ظاهر شدن پرده غشایی یا velum میباشد که از زمان لارو چرخشی یا Trochophore از دیگر نکات قابل ذکر ظاهر شدن پرده غشایی یا nondece میباشد که از زمان لارو چرخشی یا Trochophore مشاهد می گردد(Doroudi,2001) ولی در این مطالعه از مرحله D شکل پرده غشایی یا welum مشاهده نمودیم. پرده ولوم به چرخش صدف و گرفتن مواد غذایی و بردن به دهان دخالت دارند(Waller,1981) همچنین رشته ها یا مژه های اطراف دهان ذرات را به طرف دهان حمل می کنند(Shumway,1991) و این پرده ولوم برای رشد لارو بسیار موثر می باشد. در روزهای ۲۶ تا ۲۷ متامورفیسم رخ داده و انتقال لاروها از فاز شنا کردن به فاز خزیدن

در مورد پرده غشایی یا Doroudi ،velum در سال ۲۰۰۱ برای لارو صدف لب سیاه در لاروهای D مشاهده کرده است و این بستگی به روند رشد و فاکتورهای محیطی لارو دارد. رشد بیشتر لارو صدف لب سیاه در این پژوهش شاید بخاطر تعویض آب مداوم و تغذیه تقریباً مناسب لاروها

باشد. البته این را باید گفت که لارو دو کفهایها از نظر نمای بیرونی خیلی به هم شبیه هستند و تشخیص اختلاف

آنها بسیار دشوار است. برای شناسایی دقیقتر به مطالعه جزئیات داخلی و آناتومی آن نیاز است. برای صدف لب سیاه در روز ۸ تا ۱۰ با طول پشتی – شکمی (D.V.M) ۱۱۰ میکرون ۵ دندان در هر کفه لارو صدف موجود می باشد که ۳ دندان در قسمت انتهایی قدامی از خط لولا و دو دندان در قسمت انتهایی خلفی مشاهده گردید . (Doroudi 2001) و این موضوع بوسیله Rose و Rose در سال ۱۹۹۴ برای لارو صدف لب نقره ای *P.maxima* با طول ۹۰ میکرون و Doroudi در سال ۲۰۰۱ برای لارو صدف لب سیاه با طول ۱۰۰ میکرون گزارش شده است. در فواصل روز ۳۲ تا ۳۵ صدفچه لب سیاه روی جمع آورهای ایرانیت پلاستیکی و تور کهنه میگو مشاهده شد که در مطالعات Doroudi در سال ۲۰۰۱ نیز بعد از گذشت ۳۰ تا ۳۵ روز نشست صدفچه گزارش شده و بهترین نوع جمع آور جهت نشست صدفچه صفحات ایرانیت شناخته شده است .لذا در این پژوهش بهترین زمان جهت تخمریزی صدف لب سیاه حد فاصل تیر تا شهریور بوده و جمع آور ایرانیت پلاستیکی جهت جمع آوری

ييشنهادها

- ۱. ایجاد یک یا دو هچری تکثیر صدف لب سیاهدر مناطق ساحلی غرب هرمزگان جهت تولید انبوه صدفچه لب سیاه.
- ۲. شناسایی دقیق پلانکتونهای موجود در زیستگاه صدفهای مروارید ساز و بررسی محتویات معده جهت شناسایی پلانکتونهای مورد استفاده و ایزوله کردن پلانکتونهایی که نقش مهمی در رشد صدفچه دارند.
 - ۳. استفاده از فیلترهای ۲/۰ میکرون در کشت جلبک جهت جلو گیری از آلودگی میکرو الگها.
- ۲. ایجاد آزمایشگاه جهت کشتهای میکروبی، باکتریایی و قارچی جهت اطمینان از آب مورد استفاده برای
 ۲. کشت میکروالگ و پرورش لارو.
 - ... برنامه بلند مدت برای بازسازی ذخایر، احیاء صید سنتی صدف لب سیاه.
 - ایجاد کار گاههای هسته گذاری صدف لب سیاه.

۳۰/ گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

تشكر وقدردانى

در طول انجام این تحقیق از زحمات و راهنمایی های ارزنده و حساب شده علمی آقای دکتر مهدی ساوه درودی مشاور خارجی پروژه که شبانه روز از طریق تلفن، فاکس، ایمیل در اختیار اینجانب بودند تشکر و قدردانی می نمایم، واقعاً بعد از لطف خداوند سبحان ، راهنمایی های ارزنده ایشان موفق به تولید صدفچه لب سیاه شدیم.

از زحمات و کمک های آقای دکتر عباسعلی استکی ریاست محترم پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان جهت انجام پروژه تشکر می گردد.

در طول پروژه آقای دکتر فریبز احتشامی مشاور داخلی پروژه با راهنمایی های علمی و حضور در هچری متحمل زحمات زیادی شدند که از ایشان تشکر فراوان دارم.

از آقای مهندس حسن جعفرزاده معاونت محترم مالی و اداری پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس ودریای عمان به لحاظ کمک های مالی و دلگرمی های ایشان در طول انجام پروژه قدردانی می نمایم.

از زحمات آقای دکتر محمد صدیق مرتضوی معاونت محترم تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس ودریای عمان به خاطر راهنمایی علمی و پیگیری کار پروژه تشکر می گردد.

از آقای غلامرضا ارگنجی ریاست محترم ایستگاه بندرلنگه بخاطر تلاش های چشمگیر، همه جانبه و مداوم و پشتیبانی های لازم در طول انجام پروژه قدردانی می نمایم ، بی شک بدون پی گیری های مداوم ایشان و تهیه تجهیزات لازم و به موقع ، این کار شدنی نبود.

از زحمات مهندس غلامعباس زرشناس جهت راهنمایی علمی و دفاع در تصویب پروژه تشکر و قدردانی می نمایم. از آقای مهندس بهنام دقوقی رئیس سابق ایستگاه بخاطر زحمات و تلاشهای ایشان در جهت آماده سازی سالن ایستگاه و تصویب پروژه تشکر می نمایم.

از زحمات همکاران عزیزم آقایان مهندس عیسی عبدالعلیان ، مهندس ایرج رجبی ساسی و همچنین از زحمات خانم رقیه خاوند که شبانه روز در طول انجام پروژه و بعد از اتمام پروژه جهت تغذیه صدفچه شبانه روز در محل کار بوده و اینجانب را در راه تغذیه لارو و موفقیت پروژه همکاری نمودند صمیمانه سپاسگزارم. از زحمات و تلاشهای شبانه روزی برادران فداکارم ابراهیم ماهیجو ، ابراهیم صفری و محمد سنگرزاده که با صبر و حوصله زیاد در عملیات دریایی و آبرسانی و کارهای الکتریکی موتور پمپ آب و پمپ هوا کمک حال تیم تحقیقاتی بودند صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از زحمات برادر عزیزمان مهندس امینی مسئول محترم آزمایشگاه بهداری تامین اجتماعی (ولی عصر) بندرلنگه ، از آقای مهندس سید علی محترمی بخاطر در اختیار گذاشتن تعدادی مولد لب سیاه و دوربین فیلم برداری و عکس برداری ،از آقایان مهندس حقیقت پرست و مهندس مومنی به لحاظ تهیه مواد شیمیایی و وسایل آزمایشگاهی ،از آقایان شهرام صید مرادی، مهندس سیامک بهزادی، مهندس کیوان اجلالی بخاطر همراهی در گشتهای دریایی و عملیات غواصی و شناسایی بنتوزهای نشست کرده روی مولدها تشکر ویژه دارم.

از آقای مهندس ناصر کرمی راد کارشناس مسئول بازسازی ذخایر آبزیان جنوب به لحاظ تماس های مکرر جهت دلگرمی اینجانب در راستای موفقیت پروژه تشکر می نمایم.

از جناب آقای حسین ریاس ، ریاست محترم شیلات بندرلنگه و مهندس وحید فروزنده معاونت صید شیلات بندرلنگه و مهندس صلاح الدین غفوری کارشناس مسئول تکثیر و پرورش شیلات بندرلنگه جهت همکاری های صمیمانه و دلسوزانه و همراهی جهت رها سازی صدفچه ها در جزیره لاوان سپاسگزارم.

از آقای دکتر جهانگرد ، دکتر کامبیز شمس ، دکتر علیرضا عسکری و خانم کتی جونسون از موسسه CISRO استرالیا که جهت ارسال استوک گونه های جلبکی از استرالیا به ایران متحمل زحماتی شدند تشکر می نمایم.

منابع

- احتشامی ، فریبرز.، ساوه درودی، مهدی.، بینایی، محمد.، ۱۳۷۳. تکثیر صدف لب سیاه و پرورش لارو حاصله تا مرحله آمبو. ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتنان خلیج فارس. ۳۵ صفحه.
 - ۲. ابراهیمی درچه، ع.، چلونگر، ب.، نفیسی، م.، و آرین نزاد، غ.، ۱۳۷۰. تکثیر نیمه مصنوعی صدف مروارید
- ۳. ساز لب سیاه Pinctada margaritifear. پروژه مشترک سازمان تحقیقات شیلات ایران و دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. کتابخانه مرکز تحقیقات نرمتنان خلیج فارس. ۸۸ صفحه.
- جهانگرد، ع. ص.، اجلالی، کیوان.، قربانی. صاحبعلی.، ۱۳۷۶. ارزیابی ذخایر صدفهای مروارید ساز لنگهای
 Pinctada radiata در زیستگاههای جزیره لاوان و نخیلو. ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتنان خلیج فارس.
- ۵. رضایی، حمید.، رعنایی. ۱.، رامشی، ح.، سنجابی، ب.، ۱۳۷۴. بررسی پراکنش نرمتنان در آبهای کم عمق پیرامون برخی از جزایر ایراین خلیج فارس. ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتنان خلیج فارس. ۱۸۰ ص.
- ۶. رامشی، ح.، اجلالی، کیوان.، روحانی، کیومرث.، ۱۳۷۸. مقایسه سه منطقه لاوان، هندورابی و دوبر که جهت احداث مزارع پرورش صدف مروارید ساز محار، ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتنان خلیج فارس.
- ۷. رامشی، حسین.، ۱۳۸۳. اهمیت تکثیر و بازسازی ذخایر صدف مروارید ساز. ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرمتنان خلیج فارس.
 - ۸ روستائیان، پ.، جهانگرد.ع.، احتشامی، ف.، ۱۳۷۴. تکثیر صدف دو کفهای لب سیاه (گزارش منتشر نشده)
- ۹. ساوه درودی، م. ۱۳۷۲. بررسی آلودگیهای صدفهای مروارید ساز به موجودات مزاحم و حفار در

سواحل شمالي خليج فارس. ايستگاه تحقيقات شيلاتي نرمتنان خليج فارس.

- 10. Alagarswami, K., Dharmaraj, S., Velayudhan, T.S., Chellam, A., Victor, A.C.C., and Gandhi, A.D., 1983. Larval rearing and production of spat of pearl oyster *pinctada fucata* (Gould). Aquaculture, 34 : 278 301.
- 11. Alagarswami, K., Dharmaraj, S., Chellam, A., and Velayudhan, T.S., 1989. Larval and juvenile rearing of black lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus). Aquaculture, 76: 43–56.
- 12. Clarke R.P., Sarver D.J. Sims N.A. 1996. Some history. recent developments and prospect for the black lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* in Hawaii and Micronesia.
- Gervis M.H and Sims N.A 1992. The biology and culture of pearl oyster (*Bivalvia pteriidae*) ICLARM study Reviews 21. James, P.S.B.R., 2002. Pearl oyster farming and pearl culture Training manual 8. Network of aquaculture centres in Asia pacific pp: 103
- Khamdan, S.A.A., 1993. Production of larvae & spat of the pearl oysrer, *Pinctada radiata* (Leach). Ropme\LOC (Unesco)/UNEP/NOAA Scientific workshop on results of the R/V MT. Mitchell open sea cruise Kuwait, pp. 1 − 10.
- 15. Lu Y.T.,Blanke N.J., 1996. Optimum concentration of *Isochrisis galbana* For growth of larval and juvenile bay scallops, Argopecten irradians Concentricus (say). Journal of shellfish Research, 15 (3):635-643

- 16. Minaur, J., 1969. Experiments on the artifitial rearing of the larvae of *Pinctada maxima* (Jamson) (Lamellibranchia). Aust. J.Mar. Freshwater Res., 20 : 175 187.
- 17. Nasr, D.H., 1984. Feeding and growth of the pearl oyster *Pinctada Margaritifera* (L.) in Dongonab Bay, Red Sea. Hydrobiologia, 110:241–245.
- 18. Rose, R.A. and Baker, S.B., 1994. Larval and spat culture of western Australian silver or gold lip pearl oyster, *Pinctaa maxima* Jamson (Mollusca : Pteriidae). Aquaculture, 126 : 35 0 50.
- Saveh Doroudi, Mehdi., 2001.Development and culture of black lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus) larvae Australia. Ph.D Thesis James Cook university Australia. pp. 153.
- 20. Sims, N.A., 1993. Abundance and distribution of the black lip pearl oyster, *Pinctada margaritifear* (L.), in the cook islands, south pacific. Aust. J.Mar. Freshwater Res., 43 : 1409 21.
- 21. Southgate, P.C., BeerA.C., 1997. Hatchery and early nursery culture of the black lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, *L*.). Journal of Shellfish Research, 16(2):561 567
- 22. Tanaka, H. and S.In ha., Kakazu K.,1970. Studies on seed production of blak lip pearl oyster. *Pinctada margaritifera*, in okinawa. IV. Bulletin of the Tokai Refional fisheries 63:97-106
- 23. Tranter, D.J., 1959. Reproduction in Australian pearl oyster (Lamellibranchia). *Pinctada fucata* (Gould). Aust.J. Mar. Freshwater Res., 10 (1) : 45 66.
- 24. Yavari, V., 1994. The influence of environmental parameters on the biology of culture oyster *carassostrea madrasensis*. Ph.D Thesis CMFRI, Cochin, India. 290 p.

سو *س*ف ۲۰

مراحل رشد لارو صدف مرواريد ساز Spawning Fertilization Early Cleavage after 45 minutes 8 cell → 16 cell → 32 → 64 Morula -> 3h Blastula -> 5h Gastrula → 7h Trochophore 8-10 h D-shape -24h Early Umbo -> & day Straight - hinge Umbo -> 10-12 dar Eye spot ~ 21 Jak Pediveliger -> 25 day Transitional stage Plantigrade - 30 Jay Spat



صدفچه همراه با پا و اندام های داخلی



نمونه ای از میکروالگ های پرورشی جهت تغذیه لارو صدف لب سیاه



نمونه ای از میکروالگ های پرورشی جهت تغذیه لارو صدف لب سیاه با تراکم زیاد

ABSTRACT

The black lip pearl oyster *Pinctada margaritifer* is one of the three valuable species of pearl oyster for the cultured pearl industry of the world. Due to its high economical value, endangered species status in Persian Gulf, its historical and social importance, and the technical feasibility to produce pearl oysters seeds in hatchery, Persian Gulf Shellfish Research Center in northern part of Persian Gulf, Iran developed the spat production of this important species for the first time. Ten pairs of matured P. margaritifera broodstocks collected from the pearl ovsters beds in Lavan Island, Persian Gulf during Jun-July 2004, were transferred to the hatchery at the Persian Gulf Shellfish Research Center. All the broodstocks were thoroughly brushed free of fouling organisms and washed with freshwater. The spawning and larval cultured procedures were generally the same as described for P. fucata and P. margaritifera by Algarswami et al., (1983. 1987). The oysters subjected to thermal stimulation (temperature elevated from 20 °C to 30 °C). Around 70% of oysters spawned approximately after an hour. Fertilization was normal ranging between 97-98% and early larval development was viable. Six one-tone fiberglass tanks holding 1µ filtered and UV sterilized seawater with gentle aeration were used for culturing the larvae. Pure culture of three micro algae, Isochrysis aff galbana, Chaetoceros calcitrans and Chaetoceros mulleri were used as diets. Feeding started with I. galbana and a combination of I. galbana and C. calcitrans from day 4 of rearing period. The initial larval density was 50 larvae/mL at D-Shape larval stage and reduced to 1 laravae/mL at later stages. The larvae reached to the D-Shape stage between 20-24 hours, Umbo stage on day 6-12, Eye-spot on day 17-21 and Pediveliger and Plantigarad on day 22-30. Oyster Spats were settled on collectors after 32 days of rearing period. Survival rate was 70% at D-Shape stage, 60% for Umbo stage, 50% for Eye-spot and 30% for Spat. Total producted spat 123500 in two years and realized and transfered 23500 spat to sea.

Keyword:

Persian Gulf, Hormozgan province, Broodstock, Black lip pearl oyster,

Pinctada margaritifera, Propogation, Polarbody, D-shape stage, Eye spot stage, Plantigrade stage, Spat.Microalgae,

Ministry of Jihad – e – Agriculture

AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENTION ORGANIZATION IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION – Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center

Title : Propagation and Rearing Larvae of Black lip pearl oyster Pinctada margaritifera until Spat stage Apprpved Number:82-0710136000-16 Author: Hossein rameshi Executor : Hossein rameshi Collaborator (s) : A. Esteki , E. Abdolalian , I. Rajabi Sasi , H. Hosseinzadeh sahafi,B.Daghoghi Advisor(s): M.Saveh Dorodi ,F. Ehteshamie Location of execution :Hormozgan province Date of Beginning: 2003 Period of execution :3 Years Publisher : Iranian Fisheries Research Organization **Circulation : 20 Date of publishing : 2011** All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENTION ORGANIZATION IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION- Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center

Title:

Propagation and Rearing Larvae of Black lip pearl oyster *Pinctada margaritifera* until Spat stage

> Executor : Hossein Rameshi

Registration Number 2011.1460