

وزارت جهاد کشاورزی  
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده میگوی کشور

عنوان :

بررسی امکان استفاده از مواد شیمیایی  
جهت مقابله با شکوفایی *Cochlodinium* sp.  
و تاثیر آنها بر میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

مجری:

سهیلا امیدی

شماره ثبت

۴۹۲۳۰

وزارت جهاد کشاورزی  
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده میگوی کشور

---

عنوان پروژه : بررسی امکان استفاده از مواد شیمیایی جهت مقابله با شکوفایی *Cochlodinium* sp. و تاثیر

آنها بر میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

شماره مصوب پروژه : ۸۹۰۹۳-۱۲-۸۰-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : سهیلا امیدی

نام و نام خانوادگی مجری مسئول ( اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد ) :

نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : سهیلا امیدی

نام و نام خانوادگی همکار(ان) : عبدالرسول مرزبانی، جمشید محمدنژاد، محسن نوری نژاد، مریم میربخش

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) :-

نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : خسرو آیین جمشید

محل اجرا : استان بوشهر

تاریخ شروع : ۸۹/۷/۱

مدت اجرا : ۱ سال و ۱۱ ماه

ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۵

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ

بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : بررسی امکان استفاده از مواد شیمیایی جهت مقابله با شکوفایی *Cochlodinium* sp. و تاثیر آنها بر میگوی وانامی

(*Litopenaeus vannamei*)

کد مصوب : ۲-۸۰-۱۲-۸۹۰۹۳

شماره ثبت (فروست) : ۴۹۲۳۰ تاریخ : ۹۵/۱/۱۸

با مسئولیت اجرایی سرکار خانم سهیلا امیدی دارای مدرک تحصیلی کارشناسی ارشد در رشته شیمی فیزیک می باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش اصلاح نژاد و تکثیر و پرورش آبزیان در تاریخ ۹۴/۱۰/۲۰ مورد ارزیابی و با رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد □ پژوهشکده ■ مرکز □ ایستگاه □

با سمت کارشناس اکولوژی در پژوهشکده میگوی کشور مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده	.....	۱
۱- مقدمه	.....	۲
۲- کلیات	.....	۴
۲-۱- خصوصیات زیستی دینوفلاژلاها و کوکلودینیوم پلی کوریکویدس	.....	۶
۲-۲- شکوفایی های پلانکتونی در مزارع پرورشی	.....	۸
۲-۳- روش های شیمیایی مبارزه با کشند قرمز	.....	۹
۳- مواد و روش ها	.....	۱۱
۳-۱- مواد و تجهیزات مورد نیاز	.....	۱۱
۳-۲- آماده سازی جایگاه پژوهش	.....	۱۱
۳-۳- آماده سازی آب	.....	۱۲
۳-۴- تامین یاخته های جلبک کوکلودینیوم	.....	۱۲
۳-۵- فراهم کردن میگو	.....	۱۵
۳-۶- روش شمارش و انتخاب نمونه فیتوپلانکتون کوکلودینیوم پلی کوریکویدس	.....	۱۵
۳-۷- روش ساخت محلول های مورد نیاز	.....	۱۵
۳-۸- تعیین حداقل غلظت کشندگی هر ماده بر جلبک در شرایط آزمایشگاهی	.....	۱۶
۳-۹- اثر مواد شیمیایی بر میگو	.....	۱۶
۳-۱۰- روش آماری	.....	۱۶
۴- نتایج	.....	۱۷
۴-۱- مشاهدات میکروسکوپی <i>Cochlodinium polykrikoides</i> ، قبل و بعد از مواجهه	.....	۱۷
۴-۲- تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر <i>Cochlodinium polykrikoides</i>	.....	۱۷
۴-۳- تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر میگوی پافسفيد غربي ( <i>Litopenaeus vannamei</i> )	.....	۲۳
۵- بحث	.....	۳۷
۵-۱- تاثیر مواد شیمیایی بر شکوفایی <i>Cochlodinium polykrikoides</i>	.....	۳۷
۵-۲- تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر میگوی پافسفيد غربي ( <i>Litopenaeus vannamei</i> )	.....	۴۰
۶- نتیجه گیری	.....	۴۶
پیشنهادات	.....	۴۷
منابع	.....	۴۸
چکیده انگلیسی	.....	۵۱

## چکیده

به منظور تعیین بهترین شیوه مبارزه با عامل کشند قرمز *Cochlodinium polykrikoides* غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات هیدروکسید منیزیم  $(\text{Mg}(\text{OH})_2)$ ، پلی آلومینیم کلراید  $(\text{Al}_n\text{Cl}_{(3n-m)}(\text{OH})_m)$ ، سولفات آلومینیم  $(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)$ ، سولفات آهن (III)  $(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3)$ ، هیپوکلریت سدیم  $(\text{NaClO})$ ، کربنات کلسیم  $(\text{Ca}(\text{CO}_3)_2)$  و نشاسته  $[\text{C}_6(\text{H}_2\text{O})_5]_n$  به محیط‌های کشت این آبی با تراکم ۱۰۰ هزار سلول در لیتر مواجهه داده شد، همه موارد حتی غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات فوق، سبب شکستن بلوم پلانکتونی و رسوب گذاری نمونه گردید. علاوه بر این به منظور تاثیر ترکیبات فوق بر سلامت میگو، ۱۰ عدد میگو در آکواریوم های ۲۰ لیتری با غلظت های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات فوق مواجهه داده شد. برخی ترکیبات مانند هیپوکلریت سدیم و پلی آلومینیم کلراید با غلظت‌های بسیار بیشتر (۱ گرم بر لیتر) نیز بر میگو اثر داده شد. مدت زمان مواجهه برای هر ترکیب و هر غلظت ۹۶ ساعت بود. برای هر غلظت از هر ترکیب، سه تکرار در هر بار آزمایش و سه آکواریوم نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج این بخش از تحقیق نیز گویای آن بود که تمامی ترکیبات فوق به جز غلظت ۱ گرم بر لیتر هیپوکلریت سدیم، فاقد تاثیر مستقیم بر سلامت میگو می‌باشند.

با توجه به نقش نشاسته در رسوب گذاری ذرات معلق با تولید بیوفلاک و همچنین نقش آن به عنوان یک ماده غذایی برای آبزیان، از میان ترکیبات فوق، استفاده از نشاسته در مزارع پرورشی به عنوان یک ماده مناسب برای مقابله شیمیایی با شکوفایی *Cochlodinium polykrikoides* پیشنهاد می گردد.

**کلمات کلیدی:** مقابله شیمیایی، کشند قرمز، *Cochlodinium polykrikoides*، مزارع پرورشی، میگوی

*Litopenaeus vannamei*

## ۱. مقدمه

آلودگی‌های زیست محیطی یکی از چالش‌های مهم پهنه آبی خلیج فارس در چند دهه اخیر است؛ بیش از ۶۰ درصد از ذخایر نفت جهان در خلیج فارس بوده و سالانه در حدود ۱/۲ میلیون بشکه نفت خام به خلیج فارس منت می‌کند (Ropme/Imo, 1996)، این میزان در حدود سه برابر دریای شمال و دو برابر دریای کارائیب می‌باشد (GEO, 2000). کشورهای منطقه تقریباً ۲ تا ۸ برابر بیش از سرانه کشور ایالات متحده آمریکا، پساب مضر تولید می‌کنند (GEO, 2000)، میزان فلزات سنگین روند افزایشی داشته و علی‌رغم تلاش‌ها و نشست‌های کارشناسی، دیگر عوامل شیمیایی نیز از این قاعده مستثنی نمی‌باشند، به طوریکه مقایسه نوسانات میزان دو ماده مغذی فسفر کل و آمونیوم و همچنین میزان کلروفیل a در آب‌های استان بوشهر از سال ۱۳۷۷ تا ۱۳۸۵ (امیدی، ۱۳۸۶-۱۳۷۸) با نتایج به دست آمده از مطالعات زیست محیطی انجام شده در این زمینه توسط سازمان انرژی اتمی (Eco Zist, 1978)، گویای افزایش معنی‌دار میانگین سالانه این عوامل می‌باشد (نوری نژاد و امیدی، ۱۳۸۷، ROPME, 2000). بررسی و مقایسه نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده در رابطه با تنوع و فراوانی گونه‌های مختلف ریز جلبک‌ها، گویای آن است که به تدریج تراکم فیتوپلانکتون‌های Chrysophyceae، در محیط کاهش یافته و گونه‌های مختلف Dinoflagellates که از مهم‌ترین و غالب‌ترین گونه‌های عامل کشند قرمز می‌باشند، به طور کامل بر اکوسیستم منطقه غالب شده و تراکم آنها با روندی نگران‌کننده در حال افزایش است (امیدی، ۱۳۷۸-۱۳۸۶؛ ایزدپناهی، ۱۳۸۴ و ۱۳۸۶؛ آیین جمشید، ۱۳۹۱؛ محسنی زاده، ۱۳۹۰ و ۱۳۹۲؛ Eco Zist, 1978).

آلودگی‌های زیست محیطی در کنار فشارهای مختلف طبیعی و انسانی از جمله نوسانات زیاد دمای آب، محدودیت تبادلات آب، محدودیت ورود آب شیرین، افزایش میزان شوری، افزایش گرمای زمین، ... خلیج فارس را با مشکلات متعدد زیست محیطی از جمله کشند قرمز مواجه کرده است (Sale et al., 2010).

شکوفایی جلبک *Gymnodinium* sp. در سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۱، طی ماههای مرداد و شهریور، سبب مرگ و میرهای گسترده‌ای در ماهیان پرورشی و وحشی سواحل کویت گردید که علت آن به ورود فاضلاب‌ها، سکون و دمای بالای آب ارتباط داده شد (Heil et al., 2001; Gilbert et al., 2002). همچنین شکوفایی گسترده گونه *Cochlodinium polykrikoides* در سال ۲۰۰۸، در سواحل خلیج فارس و دریای عمان، علاوه بر مرگ و میر ماهیان، دیگر زیستگاه‌ها از جمله آبسنگ‌های مرجانی و ذخائر ماهیان گرگوری را تحت تاثیر قرار داد (Bauman et al., 2010). بررسی توالی اسیدهای نوکلئیک ریوزومی rRNA، گویای ارتباط نزدیک گونه *Cochlodinium polykrikoides* موجود در خلیج فارس با نژاد شناسایی شده در سواحل آمریکا بود و بر این اساس احتمال داده شد که این آبزی در اثر جابجایی آب توازن کشتی‌ها، به منطقه خلیج فارس وارد شده است (Richlen et al., 2010).

هر چند در حال حاضر برآوردی دقیق از خسارت‌های زیست محیطی، اقتصادی و اجتماعی کشند قرمز در سطح منطقه خلیج فارس وجود ندارد ولی در سال ۱۳۷۸ بروز این پدیده (مشکل زیست محیطی)، مرگ و میر نزدیک به ۲۵ تن ماهی در آب‌های استان هرمزگان را به دنبال داشت (مرتضوی، ۱۳۸۸). مطالعات انجام شده در سواحل

کره، میزان خسارت ناشی از بروز کشند قرمز در کشور کره جنوبی را بالغ بر ۹۵/۵ میلیون دلار برآورد کرده است (Kim, 1997).

گسترش و شدت شکوفایی‌های جلبکی مضر و زیان چشمگیر آن‌ها بر بوم‌سازگان دریایی، همچنین نگرانی جدی از امکان تاثیر منفی این پدیده بر فعالیت‌های اجتماعی-اقتصادی، از جمله دلایل مهم انجام مطالعات فراوان در رابطه با شناخت عوامل موثر در وقوع، پیش بینی و تعدیل کشند قرمز در سطح جهان شده است (Secher, 2009; Ichikawa et al., 1993; Kim et al., 2001a, 2001b). دستیابی به روش‌های مهار و شکستن شکوفایی‌های پلانکتونی به کمک مواد شیمیایی در دو مرحله قبل و بعد از شکوفایی، از جمله زمینه‌های تحقیقاتی مهم در این راستا می باشد. یافته‌های موجود حاکی از آن است که تمامی مواد شیمیایی مفید در مبارزه با شکوفایی‌های پلانکتونی، با توجه به خصوصیات شیمیایی، غلظت و نوع زیستگاه قادرند در شرایط خاص، سلامت و بقا دیگر آبزیان را تحت تاثیر قرار دهند (Shen and Dempsey, 1998; Jiang et al., 2003; Secher, 2009).

تنوع گونه‌های مختلف ریز جلبک‌ها، افزایش مواد مغذی، تخریب بسترهای علف‌های دریایی و تالاب‌های ساحلی، خلیج فارس را مستعد تکرار شکوفایی‌های پلانکتونی و خسارت‌های مختلف زیست محیطی و اقتصادی حاصل از آن نموده است. در میان تالاب‌های ساحلی، مزارع پرورش میگو از نظر اقتصادی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند. در این راستا با توجه به خسارت‌های احتمالی شکوفایی‌های جلبکی در مناطق ساحلی خلیج فارس و به خصوص در مزارع پرورشی میگو، به منظور تعدیل شکوفایی در شرایط اضطراری پروژه "بررسی امکان استفاده از مواد شیمیایی جهت مقابله با شکوفایی *Cochlodinium polykrikoides* و تاثیر آنها بر میگوی *Litopenaeus vannamei*" در راستای انتخاب بهترین شیوه مبارزه شیمیایی با شکوفایی پلانکتونی در مزارع پرورش میگوی *Litopenaeus vannamei* با اولویت حفظ سلامت و کیفیت میگوی تولیدی، پیشنهاد و اجرا گردید.

## ۲- کلیات

کشند قرمز در واقع شکوفایی ریز جلبک‌های شناور در آب می باشد که با تولید سم یا ایجاد ممانعت در برابر نفوذ نور به لایه های پایین و یا کاهش اکسیژن، همراه است. بررسی های انجام شده حاکی از آن است که وقوع این پدیده در سطح جهانی در ۳ دهه اخیر با شدت و وسعت بیشتری به خصوص در منابع آبی نیم بسته در کنار اجتماعات بزرگ انسانی، اتفاق افتاده است (Heisler et al., 2008). در اثر بروز شکوفایی ریز جلبک‌ها، بسته به گونه جلبکی طیف گسترده‌ای از رنگ‌های سُرخ، صورتی، بنفش، نارنجی، زرد، آبی، قهوه‌ای و سبز تیره در آب پدید می آید. ولی به طور معمول واژه «کشند سُرخ» برای همه پدیده‌هایی که در آن رنگ آب به وسیله توده متراکم فیتوپلانکتون‌ها تغییر می کند، به کار می‌رود (Maso, 2006).

شکوفایی ریز جلبک‌ها با توجه به شرایط مساعدی مانند افزایش غلظت مواد مغذی و نوع فرآیندهای هیدروگرافی یا آب و هوایی رخ می‌دهد و در طول بیش از سه دهه گذشته بروز این پدیده در اثر عوامل متعددی از قبیل آلودگی محیط زیست، گرم شدن کره زمین و ...، افزایش یافته است (Kim et al., 2004).

از سال ۱۹۸۲ هر ساله کشند قرمز توسط *Cochlodinium polykrikoides* در سواحل کره اتفاق می افتد و عامل مرگ و میر ماهیان می باشد. این پدیده در سال ۱۹۹۵ طی سه ماه (مرداد تا مهر)، حدود ۶۰ میلیون دلار آمریکا خسارت ایجاد کرد. همچنین در سال ۲۰۰۳، این پدیده در طول ۶۲ روز متوالی و با حداکثر تراکم ۴۸ هزار سلول در هر میلی لیتر، حدود ۲۱/۴ دلار هزینه داشته است. مرکز آلودگی نارودو (Narodo) بوده و تا Kangnungvalhg و Jindo در غرب گسترش یافته است (Kim et al. 2007).

از سال ۱۹۹۵ تاکنون، پدیده کشند در فاصله زمانی اواخر خردادماه تا اواسط مردادماه، در منطقه نارودو اتفاق افتاده و سپس به سمت شرق و غرب گسترش می یابد تا به تدریج کل منطقه ساحلی را در بر گیرد. نحوه گسترش کشند گویای آن است که منشا آن دور از ساحل بوده است. منطقه نارودو دارای حاصلخیزی کمی بوده و قادر نیست چنین پدیده ای را به وجود آورد ولی جریان‌های دریایی از جمله جریان کروشویو و جریان‌های باز دریایی، دیگر پدیده‌های اقیانوسی و همچنین توفان‌های فصلی و شکستن ترموکلاين‌های ساحلی، می توانند در بروز این پدیده موثر باشند (Kim et al. 2007).

شکوفایی جلبک‌های مضر می‌تواند تاثیرات بزرگ و ناهمگونی در بوم‌سازگان‌های (اکوسیستم‌های) دریایی داشته باشد، بسته به گونه‌های درگیر، محیط زیست آن‌ها و ساز و کاری که به وسیله آن اثرات منفی را اعمال می‌کنند، می‌توانند اثرات ویرانگر ناهمسانی داشته باشد.

۱- **کشندهای قرمز سمی:** تراکم این گروه از ریز جلبک‌های تولید کننده کشند قرمز در زمان شکوفایی، اندک بوده ولی به دلیل تولید سم، باعث آسیب رساندن به موجودات زنده می‌شوند (Maso, 2006). ریزجلبک‌های تولید کننده سم هر چند دارای تراکم یاخته‌ای کم بوده (نزدیک به  $10^4 - 10^2$  cells/lit) ولی بسیار آسیب‌زننده می‌باشند به طوری که مصرف ماهی آلوده به سم این گونه جلبک‌ها در مدت ۲ تا ۲۴ ساعت، باعث



مرگ انسان می‌شود. این گونه‌ها حتی ممکن است باعث شکوفایی نمایان هم نگردند ولی اثرات منفی برآمده از سم کشنده آن‌ها بر آبزیان و محیط زیست بسیار زیان‌بار است. شناخته‌ترین سمومی که توسط این گروه تولید می‌شود شامل سموم فلج‌کننده (PSP)<sup>۱</sup>، اسهال آور (DSP)<sup>۲</sup>، فراموشی آور (ASP)<sup>۳</sup> و سموم عصبی (NSP)<sup>۴</sup> است. گونه‌هایی مانند؛ الکساندریوم<sup>۵</sup>، جیمنودینیوم<sup>۶</sup> و پیرودینیوم<sup>۷</sup> تولیدکننده سموم فلج‌کننده، داینوفیسیس<sup>۸</sup> و پروستروم<sup>۹</sup> تولیدکننده سموم اسهال آور و گونه‌هایی مانند؛ نیتراشیا<sup>۱۰</sup> و سودونیتراشیا<sup>۱۱</sup> تولیدکننده سموم فراموشی آور می‌باشند (Maso, 2006 and Zingone, 2000).

**۲- کشنده‌های غیرسمی:** در این نوع پدیده، ریز جلبک‌های تولیدکننده کشند با شکوفایی انفجاری خود باعث تغییر رنگ آب شده و به روش فیزیکی باعث آسیب رساندن به آبزیان می‌شوند. گونه‌های سریع تکثیر شونده همانند کوکلودینیوم<sup>۱۲</sup> جلبک‌هایی هستند که تراکم آن‌ها، در صورت فراهم شدن شرایط بوم‌شناختی بایسته و مواد مغذی کافی، در زمان کوتاهی (به‌طور معمول در زمان ۱ تا ۳ هفته) از چند هزار یاخته در لیتر به ده‌ها میلیون یاخته می‌رسد. افزایش انفجاری جمعیت این گونه جلبک‌ها و گنشگری‌های تنفسی آن‌ها منجر به کاهش شدید میزان اکسیژن محلول در آب می‌شود. گنشگری زیستی برخی از این فیتوپلانکتون‌ها مانند کوکلودینیوم منجر به تولید گونه‌های اکسیژن گشگر<sup>۱۳</sup>، یعنی: آنیون سوپر اکسید (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) و پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) می‌گردد که دارای اثرات سمی بر آبزیان می‌باشند. تبدیل اکسیژن محلول در آب به آنیون سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن باعث تشدید کاهش اکسیژن ناشی از گنشگری‌های تنفسی این جلبک‌ها می‌گردد (Kim, 1999). تجمع توده ژله‌ای موکوس مانند ناشی از مرگ و میر جلبک‌ها بر اندام‌های تنفسی آبزیان باعث خفگی آن‌ها می‌گردد. همچنین کاهش شدید اکسیژن محلول در آب، منجر به ایجاد شرایط بی‌هوازی و در نتیجه تولید آمونیاک، سولفید هیدروژن، فسفید هیدروژن و متان می‌شود (Matthews, 1996). همه عوامل یاد شده سبب به وجود آمدن شرایط زیستگاهی نامطلوبی می‌شوند که منجر به تلفات سهمگین آبزیان در منطقه آلوده به شکوفایی می‌گردد. کوکلودینیوم به میزان فراوان مواد مخاطی خارج سلولی پلی ساکاریدی تولید می‌نماید (Kim et al., 2002). به نظر تانگ و گوبلر یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر، وجود فوم چسبناک و مواد موکوسی در ستون آب ناشی از پلی ساکارید است که باعث خفگی و مرگ و میر می‌شوند (Tang and Gobler,

<sup>1</sup>Paralytic shellfish poisoning

<sup>2</sup>Diarrhetic Shellfish Poisoning

<sup>3</sup>Amnesic Shellfish Poisoning

<sup>4</sup>Neurotoxic Shellfish Poisoning

<sup>5</sup>Alexandrium

<sup>6</sup>Gymnodinium.

<sup>7</sup>Pyrodinium.

<sup>8</sup>Dinophysis

<sup>9</sup>Prorocentrum

<sup>10</sup>Nitzschia

<sup>11</sup>Pseudonitzschia

<sup>12</sup>Cochlodinium sp.

<sup>13</sup>Reactive Oxygen Species (ROS)

(2009). گونه‌های اکسیژن واکنشگر (ROS) در همه‌جا در سطح آب اقیانوس‌ها وجود داشته و در برگیرنده رادیکال‌های آزاد و پراکسید (شامل دو گونه اصلی سوپراکسید ( $O_2^-$ ) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )) می‌باشند. این گونه‌ها گذرا و بسیار واکنش‌پذیر بوده و در بسیاری از فعل و انفعالات شیمیایی، از جمله چرخه‌هایی از فلزات کمیاب و ترکیبات آلی در محیط زیست دریایی، نقش دارند (Millero, 2006). نیمه عمر  $H_2O_2$  بین چند ساعت تا یک روز و نیمه عمر  $O_2^-$  بین چند ثانیه تا چند دقیقه می‌باشد (Zafiriou, 1990).

## ۱-۲- خصوصیات زیستی دینوفلاژلاها و کوکلودینیوم پلی کوریکویدس

خصوصیات تاکسونومی کوکلودینیوم پلی کوریکویدس را بر اساس منابع موجود می‌توان به شرح زیر تصور نمود:

Kingdom Protoctista  
Phylum Dinoflagellata  
Subphylum Pyrrhophyta  
Class Dinophyceae  
Order Gymnodiniales  
Family Gymnodiniaceae  
Genus *Cochlodinium*  
Species *Cochlodiniumpolykrikoides*

دینوفلاژلاها از آبزیان معمول دریا و آب شیرین هستند که رنگیزه گزانتوفیل آنها رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای طلایی به آنها می‌دهد. فاقد کلروفیل b بوده ولی دارای کلروفیل‌های a و c هستند. شکل ابتدایی آنها بیضوی نامتقارن است. دو فلاژلا دارند، یکی از آنها به فاصله کمی به میانه بدن متصل است و درون یک شیار به نام شیار طولی قرار می‌گیرد، دیگری درون یک شیار افقی، حلقوی یا مارپیچی دور بدن قرار دارد. به شیار افقی گیردل<sup>۱۴</sup> گفته می‌شود، فلاژلای افقی به حرکت به سمت جلو و همچنین چرخش کمک کرده در حالیکه فلاژلای عمودی به عقب راندن آب به آیزی کمک می‌کند.

دینوفلاژلاها دارای پوسته‌های نسبتاً کلفتی به نام پلیکل یا تیکا هستند. این پوسته‌ها از رسوب سلولز درون کیسه‌های غشایی خاصی بنام آلوالی ساخته می‌شود. وقتی پوسته‌ها نازک و انعطاف پذیر باشد همانند گونه‌های آب شیرین و ژیمنودینیوم‌ها به آن فاقد زره گفته می‌شود و زمانی که جلبک دارای پوسته‌های قوی متشکل از دو کپه باشد به نوع زره دار یا آرمورد معروف می‌باشد.

از لحاظ تغذیه بیشتر اتوتروف هستند ولی شکل‌های بدون رنگیزه آنها هتروتروف می‌باشند برخی همانند سراتیوم‌ها و کوکلودینیوم‌ها از هر دو نوع روش استفاده می‌کنند. صید توسط پاهای کاذب انجام شده و درون یک حفره دهانی نزدیک فلاژلای طولی قرار داده می‌شود.

<sup>14</sup> Girdle





شکل (۱-۳). تغییرات ریختی کوکلودینیوم پلی کوریکوئیدس از شکل میله ای و زره دار طی کشند قرمز تا شکل گرد و بدون زره پس از آن (Matsuoka, 2006).

## ۲-۲- شکوفایی های پلانکتونی در مزارع پرورشی

شکوفایی جیمنودینیوم، سودونیتراشیا و سراتیوم<sup>۱۵</sup> با تراکم نزدیک به هجده هزار یاخته در لیتر باعث مرگ و میر فراوان ناپلی میگوهای وانامی و آبی در مرکز تکثیر سینالونای جنوبی در شمال غرب مکزیک در سالهای ۱۹۹۷ و ۲۰۰۱ شد (Lizárraga, 2002; Cortes, 1997).

مطالعات انجام شده در سالهای ۱۹۸۹ تا ۱۹۹۱ گویای آن بود که سیانوباکترهایی مانند آنابنوپسیس<sup>۱۶</sup> و آنابنا<sup>۱۷</sup> عامل کاهش رشد میگوها در مزارع پرورش میگوی وانامی در سینالوآ<sup>۱۸</sup> جنوبی (شمال غرب مکزیک) می باشد. مطالعات انجام شده حاکی از آن بود که شکوفایی سیانوباکترها در لایه‌های سطحی آب مانع راه‌یابی نور به درون آب، کاهش میزان دیاتومه و کاهش رشد میگوها می‌یابد (Cortes, 1994).

شکوفایی جلبک کوکلودینیوم پلی کوریکوئیدس عامل مرگ و میر شدید ماهیان گزارش شده است و این گونه در سواحل کره منجر به خسرات‌های اقتصادی حدود ۹۵/۵ میلیون دلار برآورد شده است (Guzmán et al., 1990; Qi et al., 1993; Yuki and Yoshimatsu, 1989, Kim, 1997).

یافته‌های موجود حاکی از آن است که برخی از گونه‌های جلبک‌ها با افزایش تراکم و ایجاد شرایط بی‌هوایی منجر به مرگ میگو می‌شوند از جمله مزودینیوم روبروم با تراکم  $3 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup>، سراتیوم دنس با تراکم  $3 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup>، پروروسنتریوم گراسیله با تراکم  $0.45 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup>، اسکریپسیلا تروکوئید با تراکم  $0.9 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup>، میکروفلاژلیاتس<sup>۱۹</sup> با تراکم  $0.225 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup> و نیتزشیا با تراکم  $1 \times 10^9$  Cells ml<sup>-1</sup> می‌باشند (Jimenez, 1989).

<sup>15</sup>Ceratium dens

<sup>16</sup>Anabaenopsiselenkinii

<sup>17</sup>Anabaenaspp

<sup>18</sup>sinaloa

<sup>19</sup>Microflagelates

### ۳-۲- روش‌های شیمیایی مبارزه با کشند قرمز

نظر به خسارات شکوفایی ریز جلبک‌ها در سراسر جهان، مطالعات فراوانی به منظور پیش بینی و کنترل آن انجام شده است که حاصل آنها ارائه روش های مهار شکوفایی جلبکی مضر در دو مرحله، قبل و بعد از شکوفایی جلبکی می باشد. اولین تلاش‌ها در این زمینه به کار برد سولفات مس به منظور شکوفایی جلبکی سواحل فلوریدا در سال ۱۹۵۸ میلادی می باشد (Secher, 2009; Ichikawa et al. 1993; Kim et al. 2001).

از زمان اولین به کارگیری سولفات مس در سال ۱۹۵۸، مواد شیمیایی مختلف، لخته کننده‌ها و تکنیک‌های زیستی و فیزیکی زیادی برای کنترل مستقیم شکوفایی مضر جلبکی به کار گرفته شده است (Secher, 2009; Ichikawa et al. 1993; Kim et al. 2001). سولفات مس به منظور کنترل شکوفایی جلبکی در فلوریدا استفاده گردید ولی مشخص شد که علاوه بر هزینه بر بودن، این ماده شیمیایی برای آبزیان نیز مضر و کشنده است.

سورفکتانت استرولی به نام آپونین<sup>۲۰</sup> که از جلبک سبز- آبی گامفوسفارا آپونینا<sup>۲۱</sup> استخراج شده برای کنترل شکوفایی *K. brevis* مناسب است. سورفکتانت میکروبی به نام سوفورولپیدز<sup>۲۲</sup> نیز برای کنترل شکوفایی کوکلودینیم پلی کوریکوئیدس استفاده شده است (Sun et al., 2004). ترکیبات شیمیایی دیگر مانند ترکیبات سیستئینی، اکتادکاتترائوئیک اسید<sup>۲۳</sup> استخراج شده از جلبک قهوه‌ای، هیپوکلریت سدیم حاصل از الکترولیز آب طبیعی دریا، ازن و پراکسید هیدروژن نیز به عنوان مواد نابود کننده سیست هستند. آزمایش هایی نیز بر روی هیدرکسید منیزیم برای مهار فوری کشند قرمز انجام شده است. در مطالعه دیگری در فلوریدا، ۴۳۰۰ ماده شیمیایی در مهار کشند قرمز مورد آزمایش قرار گرفتند ولی هیچ کدام از آنها به صورت بالقوه موثر نبوده و دارای اثراتی بر روی سایر آبزیان بودند (Shen and Dempsey, 1998; Jiang et al. 2003; Secher, 2009).

بنابراین مشخص می گردد که کنترل شیمیایی به دلیل اینکه علاوه بر جلبک، ممکن است بر روی سایر آبزیان نیز دارای اثرات سمی باشد (Landsberg, 2002) به آزمایش های جامع در زمینه قدرت کشندگی، ویژگی و ایمنی زیستی نیاز داشته و باید تمامی این آزمایشات را با موفقیت طی نماید. چنانچه در تحقیقی که در تحقیقی که به منظور تعدیل شکوفایی جلبکی گونه های *Chattonella marina* و *Heterosigma akashiwo* انجام شد، علاوه بر بررسی تاثیر مواد شیمیایی بر دو گونه جلبک فوق، تاثیر این مواد بر پست لارو میگوی ببری سیاه نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق گویای آن بود که غلظت های ۶۶ میلی گرم بر لیتر هیپوکلریت کلسیم، بنزالکونوم کلرید ۰/۳ میلی گرم بر لیتر و هیدروژن پروکسید ۳۹ میلی گرم بر لیتر دارای LC<sub>50</sub> در مدت ۲۴ ساعت برای گونه *Chattonella marina* بوده است، بر ای گونه *Heterosigma akashiwo* این مقادیر به ترتیب ۳۵، ۰/۱۹ و ۱۵ میلی گرم بر لیتر بر آورد گردید. در مواجهه همزمان گونه جلبک *Chattonella marina* و پست لارو

<sup>20</sup>Aponin

<sup>21</sup>*Gomphosphaeriaaponina*

<sup>22</sup>Sophorolipids

<sup>23</sup>Octadecatetraenoic acid

میگوی ببری سیاه مقدار  $LC_{50}$  ترکیبات فوق به ترتیب ۵۲، ۰/۲ و ۴۲ میلی گرم بر لیتر و برای کشت توام گونه *Heterosigma akashiwo* و پست لارو میگوی سیاه ۵۱، ۰/۲ و ۶۲ میلی گرم بر لیتر محاسبه شد، در نهایت به منظور تعدیل شکوفایی دو گونه جلبک فوق استفاده از پراکسید هیدروژن پیشنهاد گردید (Piyatiratitivorakul et al., 2002).

### ۳- مواد و روش‌ها

#### ۳-۱- مواد و تجهیزات مورد نیاز

##### ۳-۱-۱- مواد مصرفی کشت جلبک

آب دریای سترون، آب مقطر (سترون)،  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{ZnCl}_2$ ،  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ،  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ،  $\text{B}_1$ ،  $\text{B}_{12}$ ، Biotin، EDTA،  $\text{NaNO}_3$ ،  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ،  $\text{Na}_3\text{EDTA}$ ، FeEDTA، Tris، Ampicilin، Neomycin، Kanamycin.

##### ۳-۱-۲- تجهیزات کشت جلبک

آکواریوم، هواده، منبع نوری فلورسنت (۲۰۰۰ لوکس)، شوری سنج چشمی ATAGO مدل S/mill-E، زمان‌ده (تایمر)، پمپ خلا Boeco آلمان، اتوکلاو (مدل ۸۷۴۱۹-Iran Tab Zaeem)، ترازوی دیجیتال AND، لام سدویک<sup>۲۴</sup> Wildlife مدل Plastic 01009-AB، میکروسکوپ نوری دوربین دار Nikon مدل Eclipse-E200، دماسنج، فیلتر ۰/۴۵ میکرون، ارلن ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتری.

##### ۳-۱-۳- مواد و تجهیزات لازم به منظور مواجهه میگو و جلبک کوکلودینیوم با مواد شیمیایی

آکواریوم ۲۰ لیتری، هواده، اسپکتروفتومتر HACH مدل DR/4000، دستگاه قابل حمل سه کاره (اکسیژن سنج، pH متر و هدایت سنج) HACH مدل HQ40d، شوری سنج چشمی ATAGO مدل S/mill-E، میکروسکوپ نوری، ظروف آزمایشگاهی شیشه‌ای، هیدروکسید منیزیم، پلی آلومینیم کلراید، سولفات آهن، هیپوکلریت سدیم، کربنات کلسیم، سولفات آلومینیم و نشاسته، معرف سیانورات آمونیوم، معرف سالیسیلات آمونیوم، محلول‌های بافر ۴، ۷ و ۱۰.

##### ۳-۲- آماده‌سازی جایگاه پژوهش

این پژوهش در آزمایشگاه مواجهه پژوهشکده میگوی کشور به انجام رسید. به این منظور در هر مرحله، از تعداد آکواریوم‌های متفاوتی برای کشت فیتوپلانکتون کوکلودینیوم استفاده شد. به‌طور معمول از ۶ آکواریوم استفاده شد. از محیط کشت گیلارد (تغییر یافته)<sup>۲۵</sup> استفاده شد (Kim et al., 2004 and Ojha, 2006). هر آکواریوم گنجایش ۳۰ لیتر آب را داشت که در هر یک ۲۰ لیتر آب با شوری ۳۲ قسمت در هزار<sup>۲۶</sup> ریخته شد. از یک دستگاه زمان‌ده به منظور هماهنگی زمان‌های روشنایی (۱۴ ساعت) و خاموشی (۱۰ ساعت) و از تعدادی لامپ سپید مهتابی جهت فراهم نمودن روشنایی لازم برای کشت جلبک استفاده شد.

<sup>24</sup>-Sedgewick

<sup>25</sup>-Guillard's f/2-Si(Modified)

<sup>26</sup>- Part per thousand (ppt)

## ۳-۳. آماده‌سازی آب

برای کشت کوکلودینیوم از آب با شوری ۳۲ قسمت در هزار استفاده شد (yoon, 2001; Toshifum, 2003; Kim, 2004).

برای ایجاد شوری لازم، آب دریا (خلیج فارس) با شوری ۴۲ قسمت در هزار، پس از گذشتن از پالایه‌های (فیلتر) شنی و حوضچه‌های رسوب‌گیر، با آب مقطر آمیخته و سرانجام آب با شوری ۳۲ قسمت در هزار آماده شد. پس از آن، آب مورد استفاده از کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شده و به وسیله‌ی دستگاه اتوکلاو، به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سترون شد. آب دریای سترون شده پس از رسیدن به دمای محیط، جهت آماده‌سازی محیط کشت کوکلودینیوم مورد استفاده قرار گرفت.

## ۳-۴-۳-تامین یاخته‌های جلبک کوکلودینیوم

خالص‌سازی کوکلودینیوم به روش دایوان و همکاران در پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان انجام گردید (Diwan et al., 2009). نمونه‌ها در ارلن ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتری به آزمایشگاه پژوهشکده میگو انتقال داده شد.

## ۳-۴-۱- روش تهیه محیط کشت گیلارد f/2 (تغییر یافته)

به منظور تهیه محیط کشت، ابتدا سه محلول P1، P2 و P3 (مطابق با جدول‌های زیر) آماده و سپس محیط کشت نهایی تهیه گردید.

جدول ۱-۰. نوع و میزان مواد مورد نیاز جهت تهیه محلول P1.

ردیف	نوع ماده	مقدار
۱	EDTA	۰/۰۵ گرم
۲	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	۰/۰۴ گرم
۳	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	۰/۰۰۳ گرم
۴	ZnCl <sub>2</sub>	۰/۰۵۵ گرم
۵	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	۰/۰۲ گرم

مواد فوق در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر اتوکلاو شده، حل گردید.

جدول ۲-۰. مواد و مقدار مورد نیاز جهت تهیه محلول P2 محیط گیلارد.

ردیف	نوع ماده	مقدار
۱	آب مقطر (اتوکلاو شده)	۱۰۰۰ میلی لیتر
۲	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۶/۱۸ گرم

مواد فوق، در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد و با هم زدن، به طور کامل در آب حل شدند.



جدول ۳-۰. مواد و مقدار مورد نیاز جهت تهیه محلول P3 محیط گیلارد.

ردیف	نوع ماده	مقدار
۱	آب مقطر	۱۰۰۰ میلی لیتر
۲	B <sub>12</sub>	۱۵۰ میکروگرم
۳	B <sub>1</sub>	۱ گرم
۴	Biotin	۱۵۰ میکروگرم

محلول تهیه شده، تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند.

جدول ۴-۰. نوع مواد و میزان مورد نیاز برای تهیه ۱۰۰۰ میلی لیتر محیط کشت گیلارد (f/2-Si).

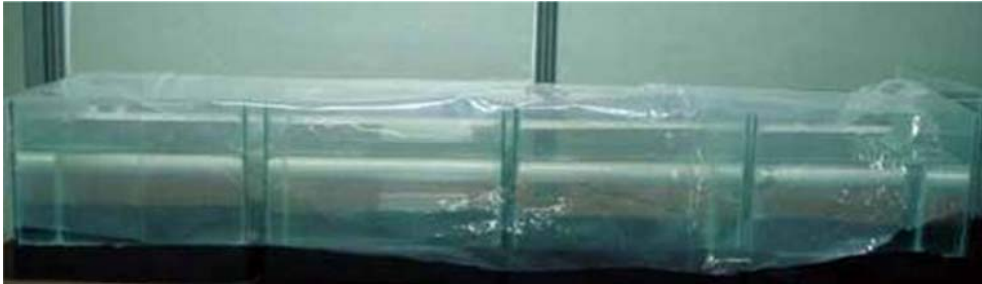
ردیف	نوع ماده	مقدار
۱	NaNO <sub>3</sub>	۰/۲ گرم
۲	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	۰/۰۲ گرم
۳	Na <sub>3</sub> EDTA	۰/۰۱۵ گرم
۴	FeEDTA	۰/۰۰۱ گرم
۵	Tris	۰/۰۲ گرم
۶	P <sub>1</sub>	۱۲ میلی لیتر
۷	P <sub>2</sub>	۵ میلی لیتر
۸	P <sub>3</sub>	۰/۵ میلی لیتر
۹	Ampicilin	۱۰۰ میکروگرم
۱۰	Kanamycin	۳۰۰ میکروگرم
۱۱	Neomycin	۳۰۰ میکروگرم

مواد فوق در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دریای فیلتر و اتوکلاو شده حل شد (Ojha, 2006).

#### ۲-۴-۳- روش کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides*

مواد مورد نیاز برای تهیه محیط کشت، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین گردید. استوک‌های انتقالی از پژوهشکده اکولوژی بندرعباس، پس از جایجایی به ارلن‌های یک و دو لیتری و پس از رسیدن به تراکم بالا، به آکواریوم‌های ۳۰ و ۵۰ لیتری محتوی ۲۰ و ۳۵ لیتر محیط کشت جلبک، انتقال داده شد. اندازه کوکلودینیوم افزوده شده به هر یک از آکواریوم‌ها، محاسبه و با توجه به تراکم استوک، سعی گردید به هر لیتر از محیط کشت، ۱۰۰ یاخته جلبک انتقال داده شود. جهت فراهم نمودن روشنایی لازم، از لامپ‌های مهتابی فلورسنت استفاده گردید. به این صورت که ۲ مهتابی به صورت افقی و با فاصله ۱۰ سانتی‌متر از هم بر روی چهارچوب نصب شده و در فاصله ۱۰ سانتی‌متری از آکواریوم‌ها قرار داده شد. در زیر چهارچوب

مهتابی‌ها، پایه‌هایی با ارتفاع ۵ سانتی‌متر قرار داده شد. روشنایی مورد استفاده جهت کشت کوکلودینیوم، ۵۰۰۰ لوکس بود.



شکل ۱-۰. نمایی از چیدمان آکواریوم‌ها به منظور کشت جلبک کوکلودینیوم. منبع نوری از یک طرف به همراه پوشش تیره رنگ در پایین هر آکواریوم و محافظ نایلونی در بالای آن قرار داده شد.



شکل ۲-۰. نمایی از شکوفایی جلبکی با تراکم کم در آکواریوم‌ها.

پیش از شمارش تراکم، با استفاده از یک پیپت شیشه‌ای سترون به مدت چند ثانیه و در یک جهت، آب درون آکواریوم‌ها به آرامی به چرخش در آمد تا تراکم یکنواختی به دست آید.



شکل ۲-۳. نمایی از شکوفایی پلانکتونی درون آکواریوم‌ها. توده‌های سطحی و کناری با رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای، کلنی‌های جلبکی می باشند.

### ۳-۵- فراهم نمودن میگو

۱۰۰ قطعه میگو با میانگین وزنی  $11 \pm 1/1$  گرم از استخرهای پرورش میگو واقع در سایت حله به روش تور سالیك صید و به سالن مواجهه پژوهشکده میگو انتقال یافت. میگوها در ۳ تانک ۳۰۰ لیتری محتوی ۲۵۰ لیتر آب دریا پالایه شده، به منظور آدپتاسیون، ذخیره‌سازی گردیدند. طی ۳ روز آدپتاسیون، شوری اولیه از ۳۷ppt، به ۳۲ppt رسانده شد.

#### ۳-۵-۱- تغذیه میگو

میگوها با استفاده از خوراک پلت شرکت هووراش مورد تغذیه قرار گرفتند. شمار دفعات و میزان خوراک روزانه سه بار در روز بر پایه‌ی سنجش غذاخوری روز پیش تا سیر شدن کامل میزان خوراک تعیین می‌شد و برای به حداقل رساندن تعویض آب و سیفون کف آکواریوم‌ها، در میزان غذایی دقت فراوانی صورت گرفت.

### ۳-۶- روش شمارش و انتخاب نمونه فیتوپلانکتون کوکلودینیوم پلی کوریکویدس

شمارش جلبک کوکلودینیوم با استفاده از لام سدویک<sup>۲۷</sup> و در زیر میکروسکوپ انجام گردید. جهت شمارش، نخست عمل هم زدن محیط کشت به خوبی انجام و سپس یک میلی‌لیتر از محیط کشت در برگیرنده فیتوپلانکتون کوکلودینیوم پلی کوریکویدس درون لام ریخته شد. در این مرحله، شمارش در زیر میکروسکوپ و با استفاده از خانه‌های لام، انجام و تعداد کوکلودینیوم‌ها با دستگاه دیجیتالی شمارش یاخته، ثبت گردید. شمارش تعداد یاخته‌های جلبک در هر آکواریوم، روزانه یک‌بار و هر بار ۴ مرتبه در یک ساعت مشخص، انجام می‌شد تا در نهایت، تراکم حدود ۱۰۰ هزار سلول بر لیتر تهیه گردید. به منظور مواجهه، حتی الامکان از نمونه‌ای استفاده می‌شد که دارای سلول‌هایی با زنجیره‌های ۳ تایی یا بیشتر بوده و شکل سلول‌ها، میله‌ای و دارای حداقل ذرات سبز رنگ باشند.

### ۳-۷- روش ساخت محلول‌های مورد نیاز

به منظور تهیه محلول‌هایی با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر از ترکیبات هیپوکلریت سدیم، کربنات کلسیم، پلی آلومینیم کلراید، سولفات آلومینیم، سولفات آهن، هیدروکسید منیزیم و نشاسته، وزن خالص ماده مورد مطالعه، محاسبه و سپس در آب دریا حل گردید. ترکیباتی مانند کربنات کلسیم، نشاسته و ... که دارای حلالیت کمی در آب می‌باشند با گرم کردن تلاش گردید که اندکی بر میزان حلالیت آنها افزوده شود.

<sup>27</sup>-Sedgewick rafter

### ۳-۸- تعیین حداقل غلظت کشندگی هر ماده بر جلبک در شرایط آزمایشگاهی

به منظور بررسی حداقل غلظت کشندگی مواد شیمیایی مذکور بر روی *Cochlodinium polykrikoides*، محیط کشتی با تراکم  $1 \times 10^5$  Cell/lit از پلانکتون در ظروف ۲ لیتری وارد شده و با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱ میلی گرم بر لیتر از مواد بالا مواجهه داده شد. برای هر تیمار سه تکرار و همچنین سه شاهد در نظر گرفته شد. از هر یک از ظروف، قبل از مواجهه و پس از آن در فواصل زمانی مشخص، نمونه گیری و مطابق روش استاندارد، شمارش صورت گرفت، همچنین وضعیت ظاهری پلانکتون با میکروسکوپ اینورت، بررسی و ثبت گردید.

### ۳-۹- اثر مواد شیمیایی بر میگو

به منظور مواجهه میگوی پاسبید غربی با ترکیبات شیمیایی موردنظر، از آکواریوم هایی ۲۰ لیتری حاوی حداقل ۱۰ عدد میگو در محیط آزمایشگاه استفاده گردید و اثر غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات هیپوکلریت سدیم، کربنات کلسیم، پلی آلومینیم کلراید، سولفات آلومینیم، سولفات آهن، هیدروکسید منیزیم و نشاسته، بر خصوصیات و سلامت رفتاری میگو، در طول ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. برای هر تیمار سه تکرار و همچنین سه آکواریوم با شرایط کاملا مشابه و بدون هیچ گونه ماده افزودنی، به عنوان شاهد، در نظر گرفته شد.

در طول مدت زمان مواجهه میگو با مواد شیمیایی، علاوه بر ثبت خصوصیات رفتاری آبی، عوامل محیطی اکسیژن محلول و pH، و همچنین میزان آمونیاک اندازه گیری و ثبت گردید.

### ۳-۱۰- روش آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها، از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد و به منظور تعیین وجود و یا عدم وجود اختلاف آماری معنی دار بین تیمارها، ابتدا آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون توکی بر روی نتایج صورت گرفت ( $\alpha \leq 0.05$ ).

#### ۴. نتایج

نتایج این تحقیق در سه بخش مشاهدات میکروسکوپی، تاثیر ترکیبات شیمیایی مختلف بر *Cochlodinium polykrikoides* و میگوی پاسبید غربی به شرح زیر قابل ارائه می باشد:

##### ۴-۱- مشاهدات میکروسکوپی *Cochlodinium polykrikoides* قبل و بعد از مواجهه

مشاهده نمونه‌های میکروجلبک‌ها با میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۴۰۰ و ۱۰۰۰ برابر، نشان داد که سلول‌های کوکلودینیوم در شروع زمان کشت به صورت کشیده بوده، پوسته‌ها کلفت و فاقد ذرات سبز رنگ می باشند (نگاره ۳-۱). با افزایش سن، سلول‌ها به تدریج گردتر شده پوسته‌های سلولی نازک‌تر و ذرات سبز رنگی درون سلول‌ها مشاهده گردید (نگاره ۳-۲). در این مرحله، مواجهه سلول با هر گونه استرس و تغییر شرایط محیطی، منجر به رشد ذرات سبز رنگ شده و پس از رسوب سلول و متلاشی شدن آن ذرات در محیط آزاد می شدند (نگاره‌های ۳-۳ و ۳-۴). ذرات رها شده در زمان کوتاهی در حدود چند ساعت، شروع به حرکت و انجام تقسیمات سلولی می کنند. حاصل این تقسیمات پس از یک روز، ایجاد توده‌ای سبز رنگ بوده که کل محیط کشت را فرا می گیرد (نگاره‌های ۳-۵ و ۳-۶).

##### ۴-۲- تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر *Cochlodinium polykrikoides*

علی رغم انتخاب نمونه‌های کوکلودینیوم جوان برای مواجهه با مواد شیمیایی، داده‌های حاصل از این بررسی گویای آن بود که حتی غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات هیپوکلریت سدیم، کربنات کلسیم، پلی آلومینیم کلراید، سولفات آلومینیم، سولفات آهن، هیدروکسید منیزیم و نشاسته، قادر به رسوب‌گذاری میکروجلبک کوکلودینیوم در مدت کمتر از یک ساعت در محیط آزمایشگاهی می باشند. جدول‌های (۳-۱ تا ۳-۵) گویای تغییرات میانگین سلول‌های سبز رنگ و همچنین میزان اسیدیته محیط کشت، قبل و بعد از مواجهه با مواد شیمیایی می باشند. مقایسه میانگین میزان اسیدیته محیط کشت، قبل و بعد از مواجهه، به کمک آنالیز واریانس و آزمون توکی، گویای آن است که در مواجهه غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هیدروکسید منیزیم و هیپوکلریت سدیم، قلیائیت آب به طور معنی داری افزوده می شود ( $\alpha \leq 0.05$ ). در اثر مجاورت نشاسته با جلبک *Cochlodinium polykrikoides*، رسوب‌گذاری و تخریب سلولی انجام گردیده ولی ذرات رها شده علاوه بر سلول‌های سبز رنگ، ایجاد شکل‌های جانوری کرده که تمامی ذرات نشاسته را در بر می گرفتند (نگاره ۳-۷ و ۳-۸).

جدول (۱-۳). تغییرات میزان اسیدیته و تعداد سلول‌های سبز رنگ در محیط کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides* پس از مواجهه با غلظت ۰/۰۱ میلی گرم از مواد شیمیایی.

۲۴		۱۲		صفر		زمان (ساعت) ماده
تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	
۱۵۰۰۰	۸/۲۶	۱۵۰۰	۸/۱۹	۲	۸/۱۲	هیدروکسید منیزیم
۱۷۰۰۰	۸/۱۶	۱۲۰۰	۸/۰۹	۱	۸/۰۲	هیپوکلریت سدیم
۱۸۹۰۰	۸/۰۶	۹۰۰	۸/۰۶	۶	۸/۰۷	کربنات کلسیم
۱۶۰۰۰	۸/۱۰	۱۵۰۰	۸/۱۱	۸	۸/۱۳	پلی آلومینیوم کلراید
۱۴۰۰۰	۸/۱۲	۱۱۰۰	۸/۱۲	۱۰	۸/۱۳	آلومینیوم کلراید
۱۸۰۰۰	۸/۱۰	۱۲۰۰	۸/۱۰	۱	۸/۱۱	سولفات آلومینیم
۹۰۰۰	۸/۲۵	۹۰۰	۸/۲۴	۱	۸/۲۵	سولفات آهن
۴۵۰	۸/۰۲	۶۰۰	۸/۰۷	۳	۸/۱۱	نشاسته

جدول (۲-۳). تغییرات میزان اسیدیته و تعداد سلول‌های سبز رنگ در محیط کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides* پس از مواجهه با غلظت ۰/۰۵ میلی گرم از مواد شیمیایی.

۲۴		۱۲		صفر		زمان (ساعت) ماده
تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	
۱۶۰۰۰	۸/۳۴	۹۰۰	۸/۳۴	۶	۸/۲۲	هیدروکسید منیزیم
۱۶۰۰۰	۸/۳۰	۱۲۰۰	۸/۲۹	۱۱	۸/۱۹	هیپوکلریت سدیم
۱۸۰۰۰	۸/۲۴	۹۰۰	۸/۲۵	۸	۸/۲۶	کربنات کلسیم
۱۵۹۰۰	۸/۲۶	۷۰۰	۸/۲۶	۱	۸/۲۷	پلی آلومینیوم کلراید
۱۵۰۰۰	۸/۲۶	۶۰۰	۸/۲۶	۲	۸/۲۶	آلومینیوم کلراید
۲۰۰۰۰	۸/۲۴	۶۰۰	۸/۲۴	۴	۸/۲۵	سولفات آلومینیم
۱۲۹۰۰	۸/۲۵	۱۲۰۰	۸/۲۶	۲	۸/۲۶	سولفات آهن
۹۹۰	۸/۲۳	۵۰۰	۸/۲۱	۲	۸/۲۵	نشاسته

جدول (۳-۳). تغییرات میزان اسیدیته و تعداد سلول‌های سبز رنگ در محیط کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides* پس از مواجهه با غلظت ۰/۱ میلی گرم از مواد شیمیایی.

۲۴		۱۲		صفر		زمان (ساعت) ماده
تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	
۱۶۸۰۰	۸/۳۶	۱۵۰۰	۸/۳۹	۳	۸/۲۷	هیدروکسید منیزیم
۱۸۹۰۰	۸/۳۳	۱۹۰۰	۸/۳۲	۱	۸/۲۴	هیپوکلریت سدیم
۱۲۰۰۰	۸/۲۵	۳۰۰۰	۸/۲۶	۶	۸/۲۶	کربنات کلسیم
۱۳۵۰۰	۸/۲۷	۱۸۰۰	۸/۲۵	۲	۸/۲۵	پلی آلومینیوم کلراید
۱۸۰۰۰	۸/۲۴	۱۲۰۰	۸/۲۷	۱	۸/۲۶	آلومینیوم کلراید
۱۴۰۰۰	۸/۲۷	۱۰۰۰	۸/۲۷	۱	۸/۲۷	سولفات آلومینیم
۱۸۰۰۰	۸/۲۵	۱۵۰۰	۸/۲۷	۲	۸/۲۶	سولفات آهن
۶۰۰	۸/۱۹	۳۰۰	۸/۲۵	۳	۸/۲۵	نشاسته

جدول (۴-۳). تغییرات میزان اسیدیته و تعداد سلول‌های سبز رنگ در محیط کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides* پس از مواجهه با غلظت ۰/۵ میلی گرم از مواد شیمیایی.

۲۴		۱۲		صفر		زمان (ساعت) ماده
تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	
۱۲۸۰۰	۸/۳۷	۲۰۰۰	۸/۴۲	۲	۸/۲۷	هیدروکسید منیزیم
۱۶۹۰۰	۸/۴۱	۳۶۰۰	۸/۴۵	۱	۸/۲۵	هیپوکلریت سدیم
۱۸۰۰۰	۸/۲۶	۱۹۰۰	۸/۲۶	۳	۸/۲۶	کربنات کلسیم
۱۵۶۰۰	۸/۲۷	۱۶۰۰	۸/۲۸	۲	۸/۲۹	پلی آلومینیوم کلراید
۱۴۰۰۰	۸/۲۶	۲۵۰۰	۸/۲۷	۲	۸/۲۸	آلومینیوم کلراید
۱۲۰۰۰	۸/۲۷	۳۲۰۰	۸/۲۷	۱	۸/۲۷	سولفات آلومینیم
۱۵۹۰۰	۸/۲۵	۲۵۰۰	۸/۲۶	۳	۸/۲۵	سولفات آهن
۴۵۰	۸/۲۵	۲۰۰	۸/۲۵	۱	۸/۲۶	نشاسته

جدول (۳-۵). تغییرات میزان اسیدیته و تعداد سلول‌های سبز رنگ در محیط کشت جلبک *Cochlodinium polykrikoides* پس از مواجهه با غلظت ۱ میلی گرم از مواد شیمیایی.

۲۴ ساعت		۱۲ ساعت		۱ ساعت		زمان (ساعت) ماده
تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	تعداد سلول‌ها	اسیدیته	
۱۲۸۰۰	۸/۳۷	۲۰۰۰	۸/۴۲	۵	۸/۲۶	هیدروکسید منیزیم
۱۶۹۰۰	۸/۴۱	۳۶۰۰	۸/۴۵	۱	۸/۲۸	هیپوکلریت سدیم
۱۸۰۰۰	۸/۲۶	۲۶۰۰	۸/۲۶	۱	۸/۲۷	کربنات کلسیم
۱۵۶۰۰	۸/۲۷	۱۲۰۰	۸/۲۸	۲	۸/۳۰	پلی آلومینیوم کلراید
۱۴۰۰۰	۸/۲۶	۱۵۰۰	۸/۲۷	۱	۸/۲۴	آلومینیوم کلراید
۲۶۰۰	۸/۲۷	۲۸۰۰	۸/۲۷	۱	۸/۲۶	سولفات آلومینیم
۱۸۰۰۰	۸/۲۶	۱۸۰۰	۸/۲۶	۲	۸/۲۷	سولفات آهن
۳۰۰	۸/۲۵	۲۰۰	۸/۲۵	۱	۸/۲۷	نشاسته

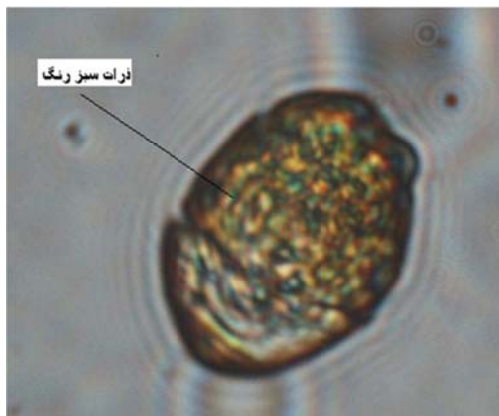


نگاره (۳-۱). زنجیره ۴ تایی جلبک *Cochlodinium polykrikoides* در شرایط طبیعی.

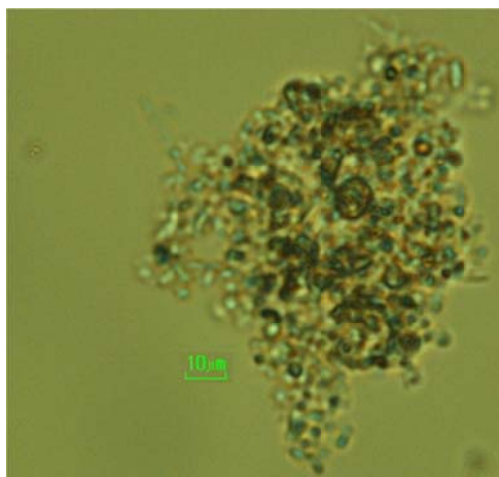


نگاره (۳-۲). زنجیره ۴ تایی جلبک *Cochlodinium polykrikoides* در شروع استرس‌های محیطی.





نگاره (۳-۳). شکستن زنجیره‌های *Cochlodinium polykrikoides* و ایجاد نمونه های تک سلولی همزمان با بزرگ شدن ذرات سبز رنگ در زمان ایجاد تغییرات محیطی.



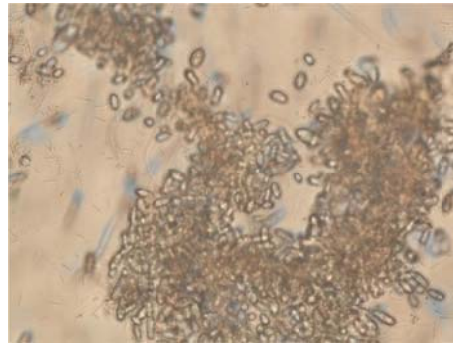
نگاره (۴-۳). تخریب سلول‌ها *Cochlodinium polykrikoides* و رها شدن ذرات سبز رنگ پس از رسوب گذاری سلول.



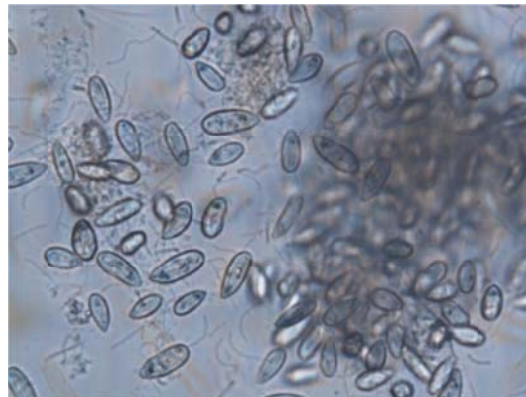
نگاره (۵-۳). تکثیر ذرات سبز رنگ *Cochlodinium polykrikoides* و تولید سلول‌های رویشی با پوششی ژلاتینی.



نگاره (۳-۶). تکثیر، رشد، شکوفایی و رسوب ذرات سبز رنگ *Cochlodinium polykrikoides* پس از ۲۴ ساعت.



شکل (۳-۷). شکل سلول‌ها *Cochlodinium polykrikoides* در محیط کشت پس از مواجهه با نشاسته، بزرگنمایی ۱۰۰.



شکل (۳-۸). شکل سلول‌ها *Cochlodinium polykrikoides* در محیط کشت پس از مواجهه با نشاسته، بزرگنمایی ۴۰۰.

### ۳-۴- تأثیر مواد شیمیایی مختلف بر میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

#### ۱. هیدروکسید منیزیم

مشاهدات و تغییرات میانگین میزان اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هیدروکسید منیزیم بر میگوی پا سفید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به شرح زیر و جدول (۳-۶) می باشد:

- در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ میلی گرم بر لیتر، اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.
- در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۶/۹۹ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۹۳ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۷/۰۹ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن هیدروکسید منیزیم) ۶/۵۲ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن هیدروکسید منیزیم از حداقل ۵/۶۴ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۸/۰۶ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۷/۷۸ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۸۲ تا حداکثر ۸/۱۶ نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن هیدروکسید منیزیم) ۸/۳۱ اندازه گیری و ثبت گردید، میزان این عامل با افزودن هیدروکسید منیزیم از حداقل ۷/۳۸ پس از ۲۴ ساعت تا حداکثر ۸/۴۸ پس از ۷۲ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۷۱ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۱/۰۷ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۸۱ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر قبل از افزودن هیدروکسید منیزیم ۰/۷۴ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن هیدروکسید منیزیم، از حداقل ۱/۱۲ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت تا حداکثر ۳/۰۹ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هیدروکسید منیزیم به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت، هیچگونه مرگ و میری مشاهده نگردید.

جدول (۳-۶). تاثیر غلظت های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هیدروکسید منیزیم بر میگوی پاسبید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت)	عامل
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>		
۲/۸۱	۸/۱۶	۷/۰۳	۲/۲۶	۸/۰۰	۶/۹۳	۲/۱۸	۸/۱۱	۷/۰۹	۱/۸۷	۷/۸۲	۷/۰۰	۱/۰۷	۷/۷۸	۶/۹۹	میانگین	شاهد
۰/۳۲	۰/۱۳	۰/۲۵	۰/۱۷	۰/۱۳	۰/۳۹	۰/۲۳	۰/۰۴	۰/۱۱	۰/۳۰	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۰۸	۰/۲۳	۰/۴۵	SD*	
۲/۰۷	۸/۲۴	۶/۹۶	۲/۷۶	۸/۱۹	۷/۰۶	۲/۲۳	۸/۲۳	۶/۲۵	۲/۴۱	۷/۳۸	۶/۶۸	۱/۲۸	۷/۸۵	۷/۶۰	میانگین	۰/۱
۰/۳۳	۰/۱۰	۰/۶۴	۰/۲۶	۰/۲۰	۰/۳۵	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۸۸	۰/۳۹	۰/۱۱	۱/۰۶	۰/۲۴	۰/۱۱	۰/۲۳	SD	
۲/۲۴	۸/۳۰	۶/۵۹	۲/۲۰	۸/۲۸	۷/۷۹	۲/۸۶	۸/۲۵	۶/۹۷	۲/۸۰	۷/۵۲	۷/۵۳	۱/۱۲	۸/۱۰	۷/۴۸	میانگین	۰/۰۵
۰/۳۶	۰/۰۴	۰/۲۶	۰/۶۰	۰/۰۸	۰/۱۷	۰/۳۴	۰/۱۱	۰/۵۸	۰/۳۵	۰/۱۰	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۰۴	۰/۳۳	SD	
۲/۶۳	۸/۳۶	۶/۶۷	۲/۷۸	۸/۲۷	۵/۹۸	۲/۴۰	۸/۱۹	۷/۶۳	۲/۸۷	۷/۶۷	۷/۱۳	۱/۳۲	۸/۱۱	۸/۰۸	میانگین	۰/۱
۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۳۵	۰/۱۱	۰/۸۴	۰/۳۵	۰/۰۷	۰/۲۶	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۲۰	۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۱۷	SD	
۲/۹۳	۸/۲۸	۶/۵۹	۲/۵۰	۸/۲۳	۶/۵۹	۲/۸۶	۸/۱۸	۷/۲۷	۲/۸۷	۷/۸۷	۷/۷۴	۱/۲۳	۸/۱۵	۸/۰۶	میانگین	۰/۰۵
۰/۳۱	۰/۱۲	۰/۳۵	۰/۴۷	۰/۰۵	۰/۲۹	۰/۲۱	۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۲۹	۰/۰۴	۰/۱۹	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۰۶	SD	
۳/۰۹	۸/۴۳	۶/۱۷	۲/۶۹	۸/۴۸	۵/۸۹	۲/۹۲	۸/۲۹	۵/۶۴	۳/۰۸	۸/۲۹	۶/۵۹	۱/۷۹	۸/۲۶	۷/۷۸	میانگین	۱
۰/۷۸	۰/۱۶	۰/۲۴	۰/۳۴	۰/۱۰	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۱۴	۰/۵۲	۰/۲۷	۰/۱۴	۰/۲۸	۰/۷۸	۰/۱۴	۰/۱۶	SD	

\* انحراف استاندارد

## ۲. پلی آلومینیوم کلراید

مشاهدات و تغییرات میزان میانگین اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱/۵، میلی گرم بر لیتر و ۱ گرم بر لیتر پلی آلومینیوم کلراید بر میگوی پا سفید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به شرح زیر و جدول (۳-۷)، می باشد:

• در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ گرم بر لیتر، اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می‌رسید.

• در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۶/۵۲ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۶۳ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۸/۱۴ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.

• در سایر تیمارها، میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن پلی آلومینیوم کلراید) ۶/۵۶ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن پلی آلومینیوم کلراید از حداقل ۶/۴۵ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۸/۳۷ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.

• در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۳۳ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۹۲ تا حداکثر ۸/۰۲ نوسان داشته است.

• در سایر تیمارها، میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن پلی آلومینیوم کلراید) ۸/۲۷ اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن پلی آلومینیوم کلراید از حداقل ۷/۲۴ پس از ۹۶ ساعت تا ۸/۰۵ حداکثر پس از ۹۶ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.

• در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۶ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۰/۸۱ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۰۲ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.

• در سایر تیمارها، میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن پلی آلومینیوم کلراید) ۰/۶۹ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن پلی آلومینیوم کلراید از حداقل ۰/۸۹ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت تا حداکثر ۳/۵۸ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.

• نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵۰، ۱ میلی گرم بر لیتر و ۱ گرم بر لیتر از پلی آلومینیوم کلراید به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت هیچگونه مرگ و میری مشاهده نگردید.

(۳-۷). تاثیر غلظت های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر پلی آلومینیم کلرید بر میگوی پسفید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت)
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	غلظت (میلی گرم بر لیتر)
۲/۰۲	۸/۰۲	۸/۰۴	۱/۶۱	۸/۰۰	۶/۶۳	۱/۶۱	۸/۰۱	۷/۹۱	۰/۸۱	۸/۰۰	۷/۴۹	۱/۲۲	۷/۹۲	۸/۱۴	میانگین
۰/۵۰	۰/۲۳	۰/۲۴	۰/۲۷	۰/۰۳	۰/۷۶	۰/۲۷	۰/۰۳	۰/۶۲	۰/۰۴	۰/۰۲	۱/۱۹	۰/۲۲	۰/۰۲	۰/۰۴	شاهد
۲/۷۳	۷/۹۸	۷/۴۴	۲/۳۳	۷/۵۳	۷/۲۹	۲/۰۵	۷/۴۶	۷/۷۰	۱/۷۱	۷/۸۹	۷/۹۱	۱/۰۸	۷/۸۰	۸/۱۸	میانگین
۰/۲۹	۰/۱۰	۰/۷۸	۰/۴۵	۰/۳۲	۱/۷۲	۰/۳۵	۰/۱۹	۰/۰۹	۰/۵۸	۰/۰۱	۰/۷۷	۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۰۶	SD
۲/۷۶	۸/۰۴	۷/۵۱	۱/۵۱	۷/۹۴	۶/۹۳	۱/۵۱	۷/۷۳	۶/۴۵	۰/۹۷	۷/۷۲	۶/۵۸	۱/۳۲	۷/۸۲	۸/۳۷	میانگین
۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۱۷	۰/۱۱	۰/۲۷	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۲۸	۱/۳۱	۰/۲۹	۰/۱۱	۱/۰۲	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۱۰	SD
۲/۵۳	۷/۹۲	۷/۳۰	۱/۵۲	۷/۶۶	۶/۹۲	۱/۵۲	۷/۶۷	۷/۰۹	۱/۲۵	۷/۳۸	۸/۱۳	۱/۰۶	۷/۸۹	۸/۳۰	میانگین
۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۵۶	۰/۳۶	۰/۸۴	۰/۵۶	۰/۳۷	۱/۰۶	۰/۴۵	۰/۱۱	۰/۷۰	۰/۲۸	۰/۰۴	۰/۱۴	SD
۲/۷۴	۸/۰۵	۷/۸۰	۲/۴۷	۷/۵۸	۷/۰۹	۱/۷۷	۷/۸۲	۶/۵۷	۰/۸۹	۷/۹۱	۷/۹۷	۱/۲۶	۷/۷۶	۸/۲۴	میانگین
۰/۳۲	۰/۰۹	۰/۳۱	۰/۲۳	۰/۲۹	۱/۳۲	۰/۴۵	۰/۱۶	۰/۹۲	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۳۷	۰/۳۰	۰/۰۸	۰/۲۴	SD
۱/۶۴	۸/۰۲	۷/۲۹	۱/۹۴	۷/۹۳	۷/۳۳	۱/۶۵	۷/۶۳	۷/۶۱	۰/۹۹	۷/۷۴	۸/۱۵	۱/۲۰	۷/۸۲	۸/۰۹	میانگین
۰/۶۰	۰/۰۸	۱/۴۱	۰/۵۸	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۲۸	۰/۱۳	۰/۸۴	۰/۱۶	۰/۱۰	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۰۴	۰/۴۴	SD
۲/۶۳	۸/۳۶	۶/۶۷	۲/۷۸	۸/۲۷	۵/۹۸	۲/۴۰	۸/۱۹	۷/۶۳	۲/۸۷	۷/۶۷	۷/۱۳	۱/۳۲	۸/۱۱	۸/۰۸	میانگین
۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۳۵	۰/۱۱	۰/۸۴	۰/۳۵	۰/۰۷	۰/۲۶	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۲۰	۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۱۷	SD

### ۳. سولفات آلومینیم

مشاهدات و تغییرات میزان میانگین اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آلومینیم بر میگوی پسفید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد به شرح زیر و جدول (۳-۸)، می باشد:

- در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ میلی گرم بر لیتر اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.
- در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۷/۰۲ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۵۴ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۸/۲۳ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آلومینیم) ۶/۹۷ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آلومینیم از حداقل ۶/۶۴ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ ساعت تا حداکثر ۸/۳۶ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت از ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۲۰ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۸۲ تا حداکثر ۸/۰۳ نوسان داشته است.

- در سایر تیمارها، میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آلومینیم) ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آلومینیم از حداقل ۷/۶۷ پس از ۲۴ ساعت تا حداکثر ۸/۱۰ پس از ساعت ۱ ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۵ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۲/۱۴ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۴/۰۳ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آلومینیم) ۰/۷۵ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آلومینیم از حداقل ۱/۸۷ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۳/۹۵ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.
- نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آلومینیم به آب آکواریوم‌ها حتی پس از ۹۶ ساعت هیچگونه مرگ و میری مشاهده نشد.
- جدول (۳-۸). تاثیر غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آلومینیم بر میگوی پاسبید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

زمان (ساعت)		۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			عامل غلظت (میلی گرم بر لیتر)
		NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	
شاهد		۴/۰۳	۸/۰۳	۶/۹۰	۳/۸۵	۷/۸۸	۶/۵۴	۳/۱۳	۷/۸۲	۷/۱۴	۳/۳۹	۷/۸۳	۷/۵۹	۲/۱۴	۷/۹۲	۸/۲۳	میانگین
		۰/۳۵	۰/۰۶	۰/۸۸	۰/۴۲	۰/۱۱	۰/۳۱	۰/۴۰	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۴۲	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۳۵	۰/۰۶	۰/۱۴	SD*
۰/۰۱		۳/۳۵	۷/۹۲	۷/۰۵	۳/۰۲	۷/۹۷	۶/۹۲	۳/۰۱	۷/۹۵	۷/۰۹	۳/۱۶	۸/۰۰	۶/۸۹	۱/۸۸	۸/۰۱	۸/۲۳	میانگین
		۰/۶۴	۰/۰۸	۰/۲۴	۰/۳۰	۰/۰۷	۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۰۵	۰/۲۲	۰/۰۵	۰/۰۳	۰/۲۳	۰/۴۹	۰/۰۸	۰/۱۰	SD
۰/۰۵		۳/۲۶	۷/۹۲	۶/۶۵	۳/۰۳	۷/۸۶	۷/۱۹	۲/۵۸	۷/۸۲	۷/۳۳	۲/۹۵	۷/۶۷	۶/۹۹	۲/۲۲	۷/۷۶	۷/۹۸	میانگین
		۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۳۴	۰/۱۸	۰/۱۰	۰/۲۴	۰/۴۷	۰/۱۲	۰/۳۹	۰/۳۶	۰/۱۲	۰/۲۲	۰/۷۴	۰/۰۴	۰/۱۴	SD
۰/۱		۳/۹۵	۷/۹۰	۷/۳۳	۲/۹۹	۷/۷۸	۷/۰۶	۱/۸۷	۷/۶۸	۶/۷۱	۳/۷۲	۷/۷۷	۷/۴۹	۲/۲۹	۷/۸۴	۷/۹۰	میانگین
		۰/۴۵	۰/۱۰	۰/۵۳	۰/۵۲	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۶۲	۰/۱۳	۰/۲۳	۰/۵۳	۰/۱۰	۰/۲۱	۰/۴۵	۰/۱۴	۰/۵۵	SD
۰/۵		۳/۲۵	۷/۸۴	۶/۹۰	۳/۰۴	۷/۸۵	۷/۰۸	۲/۴۹	۷/۷۹	۶/۹۲	۲/۷۲	۷/۸۵	۷/۶۸	۲/۷۶	۷/۹۰	۸/۱۷	میانگین
		۰/۹۹	۰/۰۵	۰/۱۳	۰/۳۸	۰/۰۹	۰/۴۱	۰/۱۷	۰/۱۰	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۴۵	۰/۱۱	۰/۱۴	SD
۱		۳/۳۴	۷/۸۶	۷/۲۷	۳/۰۸	۷/۹۸	۶/۹۷	۳/۲۶	۸/۰۱	۶/۸۳	۲/۷۰	۷/۹۶	۷/۳۹	۳/۲۶	۸/۱۰	۸/۳۶	میانگین
		۰/۱۱	۰/۰۷	۰/۴۳	۰/۶۳	۰/۱۱	۰/۴۱	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۳۲	۰/۷۰	۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۱۰	SD

#### ۴. کربنات کلسیم

مشاهدات و تغییرات میانگین میزان اکسیژن محلول، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم بر میگوی پاسبید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به شرح زیر و جدول (۳-۹)، می باشد:

- در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ میلی گرم بر لیتر اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.
- در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۶/۶۶ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۲۸ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۸/۱۴ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن کربنات کلسیم) ۶/۶۳ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن کربنات کلسیم از حداقل ۵/۹۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۷۲ ساعت تا حداکثر ۸/۲۹ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.

- جدول (۳-۹). تاثیر غلظت های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم بر میگوی پاشید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت)
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	عامل
															غلظت (میلی گرم بر لیتر)
۲/۱۲	۷/۶۰	۶/۲۸	۱/۱۵	۷/۵۸	۷/۴۱	۱/۱۰	۷/۸۰	۸/۱۴	۰/۶۵	۷/۷۸	۷/۶۲	۰/۳۸	۷/۸۵	۸/۰۰	میانگین
۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۲۳	۰/۳۰	۰/۷۷	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۳۰	۰/۱۱	۰/۵۶	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۲۲	شاهد
۱/۹۷	۷/۷۹	۷/۲۳	۱/۴۶	۷/۹۰	۷/۱۱	۱/۲۳	۷/۸۸	۷/۹۹	۱/۱۱	۷/۷۶	۶/۶۸	۰/۲۳	۷/۸۷	۸/۲۹	میانگین
۰/۱۸	۰/۲۶	۰/۳۷	۰/۲۴	۰/۰۷	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۱۷	۰/۳۶	۰/۱۷	۰/۱۲	۱/۱۸	۰/۰۶	۰/۱۰	۰/۲۲	SD
۲/۳۴	۷/۶۴	۶/۶۴	۱/۳۲	۷/۹۳	۷/۴۳	۱/۰۸	۷/۸۸	۷/۹۰	۱/۱۶	۷/۷۸	۷/۳۴	۰/۲۸	۸/۱۳	۸/۰۴	میانگین
۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۴۲	۰/۱۵	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۱۹	SD
۲/۷۷	۷/۸۷	۶/۳۶	۱/۲۲	۷/۸۰	۵/۹۰	۱/۱۸	۸/۱۰	۷/۲۷	۱/۱۸	۷/۸۵	۷/۹۵	۰/۲۰	۷/۹۶	۷/۹۶	میانگین
۰/۳۲	۰/۰۷	۱/۶۲	۰/۲۲	۰/۰۵	۰/۵۹	۰/۱۹	۰/۱۰	۰/۵۰	۰/۳۱	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۱۴	SD
۱/۹۳	۷/۹۲	۶/۵۳	۱/۱۰	۷/۸۷	۶/۹۷	۱/۰۰	۸/۰۸	۷/۹۷	۰/۶۵	۷/۸۰	۷/۶۸	۰/۱۷	۸/۰۰	۷/۷۵	میانگین
۰/۲۸	۰/۰۵	۰/۲۵	۰/۳۶	۰/۰۹	۰/۱۵	۰/۲۳	۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۳۵	۰/۰۲	۰/۱۰	۰/۱۴	SD
۲/۷۸	۷/۶۵	۶/۹۰	۱/۲۰	۷/۵۰	۶/۷۹	۱/۱۴	۸/۰۱	۷/۹۰	۱/۱۲	۷/۶۹	۷/۴۹	۰/۲۱	۷/۹۳	۸/۲۴	میانگین
۰/۳۱	۰/۱۳	۱/۰۶	۰/۲۰	۰/۵۶	۱/۰۳	۰/۲۳	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۴۵	SD

- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۲۳ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۵۶ تا حداکثر ۷/۸۵ نوسان داشته است.
- میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن کربنات کلسیم) ۸/۲۵ اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن کربنات کلسیم از حداقل ۷/۵۰ پس از ۷۲ ساعت تا حداکثر ۸/۱۳ پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۰ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۰/۳۸ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۱۲ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.



- میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن کربنات کلسیم) ۰/۵۷ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن کربنات کلسیم از حداقل ۰/۱۷ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت تا حداکثر ۲/۷۸ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ ذخیره سازی در نوسان بود.
- نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت هیچ گونه مرگ و میر دیده نشده است.

## ۵. هیپوکلریت سدیم

- مشاهدات و تغییرات میزان میانگین اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱ میلی گرم بر لیتر و ۱ گرم بر لیتر هیپوکلریت سدیم بر میگوی یا سفید غریبی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به شرح زیر و جدول (۳-۱۰)، می باشد:
- در تیمار با غلظت ۱ گرم بر لیتر، ابتدا بی تابی شدید مشاهده شد و پس از چند ساعت مرگ و میر اتفاق افتاد و در نهایت طی مدت ۴۸ ساعت، تمامی میگوها از بین رفتند ولی در سایر تیمارها، اثرات بی تابی جزئی بوده و پس از آن آرامش نسبی برقرار شده و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.
- در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۶/۴۹ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی، از حداقل ۶/۸۲ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۷/۹۵ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن هیپوکلریت سدیم) ۶/۴۳ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن هیپوکلریت سدیم از حداقل ۵/۸۹ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ تا حداکثر ۸/۲۱ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۳۵ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۵۹ تا حداکثر ۸/۰۲ نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن هیپوکلریت سدیم) ۸/۴۰ اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن هیپوکلریت سدیم از حداقل ۷/۱۱ پس از ۷۲ ساعت تا حداکثر ۸/۳۳ پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۱ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۰/۳۷ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۹۸ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن هیپوکلریت سدیم) ۰/۶۳ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن هیپوکلریت سدیم از حداقل ۰/۵۱ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت تا حداکثر ۳/۷۳ میلی گرم بر لیتر پس از ۹۶ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.

• نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر هیپوکلریت سدیم به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت هیچگونه مرگ و میر نداشته است. در صورتیکه در غلظت ۱ گرم بر لیتر، از ابتدا بی تابی شدید و پس از آن مرگ و میر تدریجی اتفاق افتاد که در نهایت پس از ۴۸ ساعت مواجهه، تمامی میگوها از بین رفتند.

جدول (۳-۱۰). تاثیر غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱ میلی گرم بر لیتر و ۱ گرم بر لیتر هیپوکلریت سدیم بر میگوی پاشفید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت)	عامل غلظت (میلی گرم بر لیتر)
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>		
۲/۹۸	۸/۰۲	۷/۰۶	۲/۷۰	۷/۵۹	۶/۸۲	۲/۱۱	۷/۶۲	۷/۲۸	۲/۰۷	۷/۸۷	۶/۹۱	۰/۳۷	۷/۸۱	۷/۹۵	میانگین	شاهد
۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۵۷	۰/۱۹	۰/۳۴	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۳۴	۰/۰۹	۰/۲۹	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۰۸	SD*	
۲/۹۶	۷/۷۵	۵/۸۹	۲/۳۰	۷/۴۸	۶/۹۳	۲/۴۰	۷/۵۷	۷/۲۶	۲/۲۴	۷/۸۵	۷/۰۶	۲/۷۹	۷/۶۷	۸/۱۵	میانگین	۰/۱
۰/۴۴	۰/۱۸	۰/۳۰	۰/۳۵	۰/۱۸	۰/۴۳	۰/۲۷	۰/۲۲	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۱۶	SD	
۲/۸۸	۷/۹۱	۶/۰۱	۳/۰۹	۷/۵۸	۶/۷۷	۲/۷۷	۷/۵۷	۷/۰۴	۲/۵۰	۷/۸۰	۷/۲۱	۰/۴۶	۷/۹۳	۸/۱۴	میانگین	۰/۵
۰/۴۲	۰/۰۵	۰/۲۱	۰/۴۱	۰/۰۹	۰/۱۸	۰/۴۰	۰/۲۰	۰/۱۹	۰/۲۶	۰/۱۰	۰/۰۳	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۱۱	SD	
۳/۷۳	۸/۰۱	۶/۲۴	۳/۱۸	۷/۴۱	۶/۷۰	۲/۶۹	۷/۵۱	۶/۹۸	۲/۶۵	۷/۷۷	۷/۶۶	۰/۵۱	۷/۴۲	۸/۱۹	میانگین	۰/۱
۰/۵۱	۰/۱۰	۰/۲۴	۰/۴۶	۰/۲۶	۰/۳۴	۰/۴۷	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۴۰	۰/۰۹	۰/۳۰	۰/۱۴	۰/۰۶	۰/۳۴	SD	
۳/۰۱	۸/۰۹	۶/۶۹	۲/۴۲	۷/۲۱	۶/۴۱	۲/۲۵	۷/۴۲	۶/۷۸	۲/۶۲	۷/۸۴	۷/۷۰	۲/۶۲	۷/۸۸	۸/۲۱	میانگین	۰/۵
۰/۳۶	۰/۰۹	۰/۳۴	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۳۲	۰/۴۹	۰/۰۸	۰/۲۰	۰/۰۴	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۲۳	۰/۰۸	۰/۲۸	SD	
۲/۹۲	۷/۹۶	۶/۹۴	۲/۹۰	۷/۱۱	۶/۳۵	۳/۲۱	۷/۴۰	۷/۰۵	۲/۸۰	۷/۶۲	۷/۲۰	۲/۶۱	۷/۷۳	۷/۹۵	میانگین	۱
۰/۵۹	۰/۰۹	۰/۴۱	۰/۳۳	۰/۰۵	۰/۴۰	۰/۲۱	۰/۲۵	۰/۱۵	۰/۵۳	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۲۳	۰/۱۶	۰/۳۵	SD	
۳/۰۷	۸/۱۶	۷/۵۸	۲/۹۰	۸/۱۶	۷/۸۶	۲/۹۱	۸/۰۶	۷/۷۲	۰/۵۴	۸/۳۰	۷/۷۸	۱/۷۹	۸/۳۳	۷/۷۷	میانگین	۱
۰/۵۰	۰/۲۴	۰/۴۰	۰/۴۵	۰/۳۸	۰/۴۵	۰/۳۷	۰/۰۷	۰/۴۷	۰/۵۸	۰/۳۲	۰/۴۰	۰/۴۲	۰/۱۸	۰/۴۳	SD	

## ۶. سولفات آهن

مشاهدات و تغییرات میزان میانگین اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آهن بر میگوی پاشفید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به شرح زیر و جدول (۳-۱۱)، می باشد:

• در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ میلی گرم بر لیتر، اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.

• در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۶/۲۶ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۴۱ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۷/۷۹ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.

- در سایر تیمارها، میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آهن) ۶/۹۴ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آهن از حداقل ۵/۶۴ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۷/۹۷ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۳۴ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۷/۱۶ تا حداکثر ۷/۶۶ نوسان داشته است.
- میانگین میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آهن)، ۸/۳۲ اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آهن از حداقل ۶/۹۸ پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۷/۷۰ پس از ۱ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۴ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۱/۷۰ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۵۶ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن سولفات آهن) ۰/۷۱ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن سولفات آهن از حداقل ۱/۴۸ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت تا حداکثر ۳/۹۶ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آهن به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت هیچ گونه مرگ و میر نداشته است.

جدول (۳-۱۱). تاثیر غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آهن بر میکوی پاسبید غربی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت) عامل غلظت (میلی گرم بر لیتر)	
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>		
۲/۵۶	۷/۱۶	۶/۴۱	۱/۷۰	۷/۲۶	۶/۷۶	۱/۷۵	۷/۴۳	۷/۰۲	۱/۹۷	۷/۳۸	۶/۵۹	۱/۷۱	۷/۶۶	۷/۷۹	میانگین	شاهد
۰/۵۰	۰/۰۶	۰/۴۱	۰/۶۵	۰/۱۲	۰/۵۱	۰/۳۹	۰/۳۵	۰/۵۴	۰/۴۰	۰/۳۳	۰/۳۵	۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۱۸	SD*	
۲/۷۷	۷/۲۴	۶/۷۰	۲/۹۰	۷/۵۳	۶/۷۲	۲/۹۱	۷/۳۹	۷/۰۶	۲/۸۱	۷/۴۵	۶/۷۶	۱/۴۸	۷/۴۳	۷/۹۷	میانگین	۰/۰۱
۰/۷۵	۰/۲۰	۰/۸۰	۰/۴۵	۰/۱۳	۰/۴۱	۰/۷۲	۰/۲۰	۰/۰۷	۱/۱۲	۰/۱۸	۰/۲۴	۰/۷۱	۰/۲۳	۰/۱۹	SD	
۲/۷۰	۷/۴۹	۶/۵۹	۳/۰۱	۷/۵۸	۶/۹۳	۳/۰۰	۷/۵۵	۷/۰۲	۲/۶۰	۷/۳۰	۶/۸۴	۲/۱۲	۷/۴۶	۷/۳۰	میانگین	۰/۰۵
۰/۵۰	۰/۱۱	۰/۱۴	۰/۶۱	۰/۲۰	۰/۱۶	۰/۵۴	۰/۰۸	۰/۱۳	۰/۴۵	۰/۰۶	۰/۴۲	۰/۱۹	۰/۰۷	۰/۳۲	SD	
۳/۲۴	۷/۴۵	۶/۸۵	۲/۹۲	۷/۵۶	۶/۸۶	۳/۹۶	۷/۵۴	۶/۹۸	۳/۰۴	۷/۶۰	۷/۰۱	۲/۵۲	۷/۵۷	۷/۳۲	میانگین	۰/۱
۰/۰۵	۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۴۴	۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۴۶	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۵۰	۰/۱۷	۰/۰۷	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۸	SD	
۳/۱۹	۷/۰۳	۵/۵۴	۲/۷۴	۷/۲۸	۶/۲۶	۲/۳۸	۷/۲۱	۶/۲۲	۱/۴۸	۷/۳۳	۷/۲۲	۱/۹۰	۷/۶۴	۷/۶۹	میانگین	۰/۵
۰/۴۴	۰/۱۲	۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۷۲	۰/۰۷	۰/۸۴	۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۳۴	۰/۶۲	۰/۱۳	۰/۳۰	SD	
۳/۴۲	۷/۲۳	۶/۱۷	۳/۰۳	۷/۲۲	۵/۸۹	۳/۲۵	۶/۹۸	۵/۶۴	۳/۰۸	۷/۳۱	۶/۵۹	۱/۷۹	۷/۷۰	۷/۷۹	میانگین	۱
۰/۳۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۷۶	۰/۱۵	۰/۵۰	۰/۳۰	۰/۱۰	۰/۵۲	۰/۲۷	۰/۰۳	۰/۲۸	۰/۷۸	۰/۱۰	۰/۱۶	SD	

## ۷. نشاسته

مشاهدات و تغییرات میزان میانگین اکسیژن، اسیدیته (pH) و آمونیاک در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر نشاسته بر میگوی پارسید غربی در شوری ۳۸ گرم بر لیتر و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد به شرح زیر و جدول (۳-۱۲)، می باشد:

- در هیچکدام از تیمارها حتی ۱ میلی گرم بر لیتر، اثرات بی تابی مشاهده نگردید و کلیه رفتارها طبیعی به نظر می رسید.
- در تیمار شاهد، میزان اکسیژن محلول در زمان صفر، ۷/۱۲ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۵/۶۹ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۷/۸۵ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اکسیژن در زمان صفر (قبل از افزودن نشاسته) ۷/۰۱ میلی گرم بر لیتر، اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن نشاسته از حداقل ۵/۳۵ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت تا حداکثر ۷/۹۵ میلی گرم بر لیتر پس از ۱ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان اسیدیته (pH) در زمان صفر، ۸/۳۳ اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۶/۵۲ تا حداکثر ۷/۸۷ نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان اسیدیته (pH)، در زمان صفر (قبل از افزودن نشاسته) ۸/۳۵ اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن نشاسته از حداقل ۶/۸۸ پس از ۷۲ ساعت تا حداکثر ۷/۹۵ پس از ۱ ساعت ذخیره سازی در نوسان بود.
- در تیمار شاهد، میزان آمونیاک در زمان صفر، ۰/۶۹ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت شد. پس از آن در طول زمان بررسی (۹۶ ساعت)، از حداقل ۱/۱۶ میلی گرم بر لیتر تا حداکثر ۲/۹۶ میلی گرم بر لیتر نوسان داشته است.
- در سایر تیمارها، میانگین میزان آمونیاک در زمان صفر (قبل از افزودن نشاسته) ۰/۷۰ میلی گرم بر لیتر اندازه گیری و ثبت گردید. میزان این عامل با افزودن نشاسته از حداقل ۰/۴۶ میلی گرم بر لیتر پس از ۲۴ ساعت تا حداکثر ۳/۰۰ میلی گرم بر لیتر پس از ۴۸ ساعت ذخیره سازی، در نوسان بود.
- نتایج حاصل از این تحقیق گویای آن بود که با افزودن غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر نشاسته به آب آکواریوم‌ها، حتی پس از ۹۶ ساعت هیچگونه مرگ و میری مشاهده نمی شود.

جدول (۳-۱۲). تاثیر غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر نشاسته بر میگوی پاشید غریبی *Litopenaeus vannamei* در مدت ۹۶ ساعت، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۲ گرم بر لیتر.

۹۶			۷۲			۴۸			۲۴			۱			زمان (ساعت)	عامل	غلظت (میلی گرم بر لیتر)
NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>	NH <sub>3</sub>	pH	O <sub>2</sub>			
۲/۲۰	۷/۳۷	۵/۹۲	۲/۹۶	۷/۲۵	۵/۶۹	۲/۴۰	۷/۵۱	۶/۲۲	۲/۰۸	۶/۵۳	۶/۹۱	۱/۱۶	۷/۸۷	۷/۸۵	میانگین	شاهد	
۰/۸۷	۰/۲۳	۰/۵۳	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۵۴	۰/۷۹	۰/۲۴	۰/۴۹	۰/۵۱	۰/۰۶	۰/۲۱	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۱۳	SD*		
۲/۸۰	۷/۳۰	۶/۳۵	۲/۷۵	۷/۳۴	۶/۲۹	۳/۰۰	۷/۴۱	۶/۰۹	۱/۷۴	۷/۴۴	۵/۵۱	۰/۷۰	۷/۹۵	۷/۸۹	میانگین	۰/۱	
۰/۳۰	۰/۲۳	۰/۴۵	۰/۳۸	۰/۲۰	۰/۰۹	۰/۳۴	۰/۲۷	۰/۳۱	۰/۵۳	۰/۱۰	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۶	۰/۲۱	SD		
۲/۵۳	۷/۱۱	۶/۴۶	۲/۵۱	۷/۵۰	۶/۶۴	۲/۳۶	۷/۰۱	۵/۳۵	۲/۶۶	۷/۴۴	۶/۸۳	۱/۵۶	۷/۸۴	۷/۴۴	میانگین	۰/۰۵	
۰/۵۵	۰/۱۱	۰/۸۸	۰/۶۱	۰/۲۳	۰/۶۴	۰/۹۵	۰/۰۷	۰/۸۶	۰/۱۶	۰/۰۴	۰/۳۹	۰/۸۰	۰/۰۹	۰/۲۳	SD		
۱/۷۴	۷/۱۴	۷/۰۳	۱/۴۸	۷/۰۹	۶/۲۱	۱/۱۶	۶/۹۵	۶/۷۹	۱/۹۸	۷/۳۱	۶/۹۶	۱/۶۵	۷/۹۰	۷/۹۵	میانگین	۰/۱	
۰/۶۰	۰/۱۱	۰/۵۶	۰/۸۳	۰/۲۳	۰/۴۴	۰/۲۱	۰/۰۷	۰/۳۳	۰/۳۷	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۷۱	۰/۰۸	۰/۱۲	SD		
۱/۷۲	۶/۹۵	۵/۸۵	۱/۱۹	۶/۸۸	۵/۹۶	۱/۶۱	۶/۸۸	۶/۸۲	۰/۴۶	۶/۹۶	۵/۶۲	۰/۷۷	۷/۷۱	۷/۵۴	میانگین	۰/۵	
۰/۵۳	۰/۰۷	۰/۴۷	۰/۲۱	۰/۰۵	۰/۶۸	۰/۴۷	۰/۱۴	۰/۵۵	۰/۰۷	۰/۲۵	۰/۷۴	۰/۶۳	۰/۳۶	۰/۶۰	SD		
۱/۲۱	۷/۱۶	۶/۷۶	۱/۵۹	۷/۰۲	۶/۳۲	۱/۰۹	۷/۰۰	۶/۴۴	۱/۷۱	۷/۴۷	۶/۸۸	۱/۱۱	۷/۳۴	۶/۸۸	میانگین	۱	
۰/۳۱	۰/۱۹	۰/۳۲	۰/۶۹	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۱۸	۰/۱۰	۰/۳۰	۰/۳۸	۰/۰۸	۰/۱۷	۰/۴۶	۰/۲۶	۰/۳۶	SD		



شکل (۳-۱). ذخیره سازی میگو در آکواریوم و گذراندن مرحله سازش با محیط.



شکل (۲-۳). مواجهه میگو با ترکیبات مختلف شیمیایی.



شکل (۳-۳). انتخاب تیمار شاهد هنگام مواجهه با ترکیبات مختلف شیمیایی.



شکل (۳-۴). مواجهه میگو با غلظت ۱ گرم در لیتر هیپوکلریت سدیم.



شکل (۳-۵). مواجهه میگو با غلظت ۱ گرم در لیتر پلی آلومینوم کلراید.





شکل (۳-۶). مواجهه میگو با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر سولفات آلومینیوم.



## ۵. بحث

مزارع پرورش میگو با میزان زیاد مواد مغذی از جمله آمونیم، فسفات، نترات و ویتامین‌های مختلف، همواره زیستگاه مناسبی برای رشد و شکوفایی گونه‌های مختلف ریز جلبک‌ها به خصوص *Cochlodinium polykrikoides* را فراهم می‌سازند. تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که ریز جلبک‌ها با پوشاندن آبشش‌ها و تولید مواد سمی، در کاهش رشد و مرگ و میر میگو و دیگر آبزیان و همچنین ایجاد زیان‌های اقتصادی می‌توانند موثر باشند (Matthews, 1996; Maso, 2006).

دستیابی به روش‌های عملی به منظور اجتناب از بروز شکوفایی در مزارع پرورش آبزیان و یا تعدیل آن، در کنار افزایش کیفیت و کمیت تولید و پایداری محیط زیست، از اهداف بسیاری از مطالعات و تحقیقات علمی و عملی می‌باشد (Shen and Dempsey, 1998; Jiang et al. 2003; Secher, 2009). یافته‌های این تحقیق نیز در این راستا و در دو بخش؛ ۱- روش‌های شیمیایی عملی شکستن شکوفایی کولودینیوم و ۲- ارزیابی اثرات این روش‌ها بر سلامت میگو و محیط زیست، به شرح زیر مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### ۱-۵- تاثیر مواد شیمیایی بر شکوفایی *Cochlodinium polykrikoides*

کولودینیوم‌ها ریز جلبک‌هایی از گروه دینوفیسه‌ها با دو رفتار گیاهی و جانوری بوده و در شرایط مختلف محیطی دارای خصوصیات زیستی و ریختی متفاوتی در راستای بیشترین سازش با شرایط محیطی می‌باشند. مطالعات انجام شده توسط کیم و همکاران در سال ۲۰۰۷ میلادی در رابطه با چرخه زندگی گونه *Cochlodinium polykrikoides* گویای وجود دو مرحله رویشی با سلول‌های زره دار و بدون زره می‌باشد. شکل‌های رویشی زره دار به طور عمده در زمان کشند تولید شده، دارای پوسته‌های ضخیم سلولزی بوده و در شرایط ویژه آزمایشگاهی قادر به تکثیر و پرورش می‌باشند (Kim et al., 2007).

یافته‌های حاصل از این تحقیق نیز گویای وجود دو نوع سلول رویشی زره‌دار و بدون زره بود که با توجه به مشابهت نوع زره‌دار آن با نوع شناسایی شده در زمان بروز پدیده کشند در خلیج فارس در سال ۱۳۸۷، کلیه آزمایش‌ها بر اساس نوع زره‌دار تنظیم گردید. در هر دوره کشت سلول‌های کولودینیوم، همانند دوره‌های رشد دیگر میکرواورگانیزم‌ها (Matsuoka, 2006)، ابتدا افزایش سریع تقسیمات سلولی و افزایش تراکم اتفاق افتاده، سپس با وارد شدن به مرحله سکون (stationary)، تراکم سلولی ثابت مانده و با گذشت زمان و نزدیک شدن به مرحله مرگ سلولی در انتهای مرحله سکون و بروز اولین علائم نامناسب شدن محیط، تغییرات ریختی از جمله کوتاه شدن و شکستن زنجیره‌ها، گرد شدن سلول‌ها و ایجاد ذراتی سبز رنگ درون سلول، مشاهده شد. ماتسوکا و همکاران در سال ۲۰۰۶ میلادی با توجه به تحقیقات انجام شده، گزارش نمودند که *Cochlodinium polykrikoides* با گذشت زمان به تدریج از حالت میله‌ای به گرد نزدیک شده و در اطراف آن لایه‌ای ژلاتینی ایجاد می‌شود (نگاره ۱-۳)، هر چند در تصاویر منتشر شده در این مقاله، اشاره‌ای به ذرات سبز رنگ نگردیده

ولی در آخرین تصویر، مراحل دگرذیسی سلول، به وضوح دیده می‌شود (Matsuoka, 2006). نتایج این تحقیق گویای آن بود که با ادامه روند فیزیولوژیک، ذرات سبز رنگ بزرگ شده و با متلاشی شدن سلول، رها می‌شوند (نگاره ۱-۳). ذرات سبز رنگ پس از مدتی کوتاه، حدود ۲ ساعت، فعال شده و شروع به حرکت به کمک تاژک و ایجاد شکوفایی سریع می‌کنند. در نهایت، به تدریج و بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از شکوفایی، رسوب می‌کنند.

شواهد فوق گویای آن است که در مبارزه شیمیایی، هر چند تلاش گردد محیط آزمایشگاهی شرایط پایدار محیطی را داشته و از طرف دیگر، زمان مواجهه محیط کشت با مواد شیمیایی در میانه دوره سکون باشد، به دلیل محدودیت‌های شرایط آزمایشگاهی نسبت به محیط طبیعی و به خصوص در تولید انبوه سلولی، این احتمال وجود دارد که تمامی سلول‌ها در یک مرحله فیزیولوژیک نبوده و یا بخشی از آنها وارد مرحله دیگری از زندگی خود شده باشند که می‌تواند بر روند نتایج حاصل از مواجهه ترکیبات مختلف با سلول‌ها تاثیرگذار باشد. داده‌های حاصل از مواجهه *Cochlodinium polykrikoides* با تراکم ۱۰۰ هزار قطعه در لیتر، با غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر از ترکیبات مختلف شیمیایی شامل هیدروکسید منیزیم، کربنات کلسیم، سولفات آهن، پلی آلومینیوم کلراید، آلومینیوم سولفات و نشاسته گویای آن است که هر ماده با توجه به خصوصیات شیمیایی خود می‌تواند فعالیت‌های فیزیولوژیک را تشدید نموده و حتی غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر از هر یک، نیز عاملی برای شکستن شکوفایی کوکلودینیوم پلی کریکوییدس در محیط کشت آزمایشگاهی و تولید سلول‌های بیضوی سبز رنگ، شکوفایی و در نهایت رسوب آنها در محیط شوند. مطالعه انجام شده توسط معزی و همکاران در پژوهشکده اکولوژی هرمزگان در سال ۱۳۸۸، گویای آن است که غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۱/۵ گرم بر لیتر سولفات مس، هیپوکلریت سدیم و پرمنگنات پتاسیم منجر به رسوب سریع کوکلودینیوم پلی کریکوییدس در محیط آزمایشگاهی می‌شود.

مواد مورد استفاده در این تحقیق، با توجه به خصوصیات شیمیایی می‌توانند به شرح زیر فرآیندهای فیزیولوژیک آبی را تحت تاثیر قرار دهند:

#### ۱-۱-۵- هیدروکسید منیزیم

هیدروکسید منیزیم خاصیت قلیایی داشته، با اضافه شدن به آب یونیزه شده و تولید دو یون هیدروکسید و منیزیم می‌کند. این ماده از سه جهت می‌تواند بر محیط کشت کوکلودینیوم موثر باشد: ۱- افزایش قلیاییت آب و به دنبال آن تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک لازم جهت تعدیل این تغییرات، ۲- افزایش یون دو ظرفیتی منیزیم و ایجاد تغییرات بر شیب الکتروشیمیایی غشا سلول و ۳- چسبیدن ذرات معلق از جمله فیتوپلانکتون‌ها به یون دو مثبت منیزیم و رسوب آنها.

### ۲-۱-۵- هیپوکلریت سدیم

هیپوکلریت سدیم با فرمول (NaOCl) ترکیبی است ناپایدار که به تدریج کلر آن آزاد می شود. اکسید کننده‌ای قوی است که به طور وسیع برای ضد عفونی، لکه گیری، براق کردن، تصفیه آب و سطوح، از آن استفاده می شود. محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم، اسیدیته حدود ۱۱ و محلول ۱۳ تا ۱۵ درصد آن، اسیدیته حدود ۱۳ را دارا می باشد.

از حل شدن هیپوکلریت سدیم در آب، مطابق واکنش زیر، یون‌های سدیم، هیپوکلریت و هیدروکسیل تولید می شود (Pécora et al., 1999). یون هیدروکسیل علاوه بر تغییر اسیدیته آب، قادر به اکسید کردن ترکیبات آلی نیز می باشد.



به نظر می رسد هیپوکلریت سدیم می تواند از طریق افزایش میزان کلر آب، اکسیده کردن مواد آلی و مرگ سلولی، افزایش بار الکتریکی محلول، چسبیدن به سلول‌ها و رسوب آنها، سبب شکستن شکوفایی *Cochlodinium polykrikoides* شود (Estrela, 2002).

### ۳-۱-۵- کربنات کلسیم

کربنات کلسیم به سهولت در آب حل نمی شود و همانگونه که جدول ۳-۹ نشان می دهد، تغییرات میزان اسیدیته مشخصی را هنگام مواجه با میگو در کلیه غلظت‌ها، ایجاد نمی کند ولی وجود بارهای الکتریکی مثبت و منفی موجود بر روی اتم‌های کلسیم، اکسیژن یون‌های کلسیم، بی کربنات و کربنات، می تواند به جذب ذرات معلق از جمله فیتوپلانکتون‌ها و رسوب آنها کمک نماید.

### ۴-۱-۵- پلی آلومینیوم کلراید

پلی آلومینیوم کلراید با فرمول شیمیایی  $(\text{Al}_n\text{Cl}_{(3n-m)}(\text{OH})_m)$ ، ماده‌ای به عنوان ضد عرق و ضد بو بوده و تغییرات اسیدیته کم ایجاد می کند. دارای بار الکتریکی زیادی بوده و در نتیجه می تواند مواد معلق را جذب نماید، به همین منظور در سیستم‌های تصفیه آب به عنوان رسوب دهنده ذرات معلق مورد استفاده قرار می گیرد. یافته‌های این تحقیق گویای آن بود که علی رغم تغییرات محدود اسیدیته (جدول ۳-۷)، پلی آلومینیوم کلراید قادر است همانند غالب ترکیبات آلومینیومی، سلول‌ها و زنجیره‌های کوکلودینیوم را حتی در غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر رسوب دهد.

**۵-۱-۵- سولفات آلومینیوم**

سولفات آلومینیوم، ترکیبی است که به دلیل سه ظرفیتی بودن یون آلومینیوم و توانایی بالای آن در انعقاد و لخته سازی ذرات کلوییدی، در تصفیه‌ی آب و فاضلاب مورد استفاده می‌باشد. میزان بار الکتریکی آن از پلی آلومینیوم کلراید کمتر بوده ولی خاصیت رسوب دهی ذرات معلق از جمله کوکلودینیوم پلی کریکوییدس را بدون ایجاد نوسانات در میزان اسیدیته محیط (جدول ۳-۸)، حتی در غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر دارا می‌باشد.

**۵-۱-۶- سولفات آهن**

سولفات آهن ترکیبی است که به میزان بسیار محدود، در آب حل شده و با تولید یون‌های سولفات و آهن، می‌تواند تا حدودی در جذب ذرات معلق و رسوب آنها، موثر باشد. یافته‌های به دست آمده از مواجهه محیط کشت محتوی ۱۰۰ هزار قطعه بر لیتر از کوکلودینیوم پلی کریکوییدس با این ماده، گویای آن بود که بدون تغییر در میزان اسیدیته آب (جدول ۳-۱۱) قادر به شکستن شکوفایی و رسوب گذاری این جلبک‌ها حتی در غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر می‌باشد.

**۵-۱-۷- نشاسته**

نشاسته ترکیبی از زنجیره‌های گلوکز است که به کمک پیوندهای آلفا ۱ و ۴، به هم متصل می‌باشند. این زنجیره‌ها با پیوندهای ۱ و ۶ آلفا، تشکیل شاخه‌های فرعی می‌دهند. نشاسته با توجه به ساختار مولکولی گلوکز، دارای بارهای الکتریکی زیادی بوده که در چسبیدن ذرات و رسوب آنها موثر می‌باشد. یافته‌های حاصل از مواجهه محیط کشت محتوی ۱۰۰ هزار قطعه بر لیتر کوکلودینیوم پلی کریکوییدس با این ترکیب، گویای آن بود که بدون تغییر در میزان اسیدیته آب (جدول ۳-۱۲) قادر به شکستن شکوفایی و رسوب گذاری این جلبک‌ها حتی در غلظت ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر می‌باشد.

دینوفیسه‌ها از جمله کوکلودینیوم، میکزوتروف بوده و قادر به جذب مواد غذایی از جمله نشاسته می‌باشند. نشاسته ضمن رسوب دادن سلول‌های رویشی، می‌تواند تغییرات فیزیولوژیکی درون سلول ایجاد نماید و حاصل آن، سلول‌های جدید بدون زره است (نگاره‌های ۳-۷ و ۳-۸) که به نظر می‌رسد این سلول‌ها قادرند ذرات نشاسته را به عنوان منبع کربنی مورد استفاده قرار دهند.

**۵-۲- تاثیر مواد شیمیایی مختلف بر میگوی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)**

به منظور مبارزه شکوفایی های پلانکتونی در مزارع پرورش آبزیان از طریق شیمیایی، علاوه بر جلوگیری از بروز شکوفایی جلبکی و یا تعدیل آن، مواردی از قبیل حفظ محیط زیست، حداقل غلظت موثر، اجتناب از افزودن هزینه های تولید و حفظ کیفیت محصول در بازار نیز قابل توجه می باشد لذا یافته های این تحقیق با توجه به

خواص مواد شیمیایی ترکیبات مورد آزمایش، نحوه اثر آنها و همچنین با در نظر گرفتن موارد فوق، به منظور دستیابی به روشی عملی و علمی، به شرح زیر قابل تجزیه و تحلیل می باشند:

### ۱-۲-۵- هیدروکسید منیزیم

هیدروکسید منیزیم ترکیبی قلیایی و با ضریب حلالیت ( $K_{sp} = 1/5 \times 10^{-11}$ )، در آب به صورت دو یون هیدروکسید و یک یون منیزیم هیدرولیز می گردد. چنانچه جدول (۳-۶)، نشان می دهد افزایش یون هیدروکسید، افزایش میزان قدرت بازی محیط را به دنبال داشته است. یکی از عوامل مهم در تعدیل نوسانات اسیدیته آب، تنفس آبی، تولید دی اکسید کربن و اسید کربنیک حاصل از آن است. اسید کربنیک با قدرت تامپونی خود به سهولت قادر به تعدیل نوسانات می باشد. نوسانات آمونیاک، اکسیژن محلول و اسیدیته، طی دوره مواجهه میگوی پا سفید غربی با غلظت‌های ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر از هیدروکسید منیزیم، به ترتیب ۳/۰۹- ۱/۱۲ میلی گرم بر لیتر و ۵/۶۴-۸/۰۶ و ۷/۳۸-۸/۴۸ اندازه گیری و ثبت گردید که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می باشد. این انتظار می رود که همانگونه که یافته های این تحقیق نشان می دهد، در غلظت‌های استفاده شده، میگو دارای رفتارهای زیستی طبیعی باشد.

از مخاطرات و معایب احتمالی استفاده از ترکیب هیدروکسید منیزیم به منظور مقابله شیمیایی می توان به افزایش یون منیزیم دو بار مثبت و تاثیر آن بر شیب الکتروشیمیایی غشا سلولی دیگر آبریان (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) و افزایش هزینه تولید میگو بدون استفاده مجدد از این ماده در روند تولید را نام برد.

### ۲-۲-۵- پلی آلومینیوم کلراید

پلی آلومینیوم کلراید با فرمول شیمیایی  $(Al_nCl_{(3n-m)}(OH)_m)$ ، دارای بار الکتریکی زیاد و تاثیرات محدود بر اسیدیته آب می باشد این ترکیب با ایجاد پیوندهای موقت الکتریکی می تواند با ترشحات سطح آبشش‌ها پیوند برقرار کرده و مانع تنفس آبی گردند. ولی یافته های این تحقیق جدول (۳-۷)، گویای آن بود که حتی در طی مدت ۹۶ ساعت و حتی در غلظت یک گرم بر لیتر، این ترکیب فاقد هر گونه علایم غیر طبیعی در رفتار میگو می باشد. نوسانات میانگین اسیدیته، آمونیاک و اکسیژن محلول در آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای عدم اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات میزان آمونیاک، اسیدیته و اکسیژن محلول آب در طی دوره مواجهه غلظت‌های ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر از پلی آلومینیوم کلراید با میگوی پا سفید غربی به ترتیب ۳/۵۸-۰/۸۹ میلی گرم بر لیتر و ۶/۴۵-۸/۳۷ میلی گرم بر لیتر و ۸/۰۵-۷/۲۴ اندازه گیری و ثبت گردید که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می باشد.

نتایج فوق حاکی از آن است که این ماده در غلظت‌های فوق، تا مدت زمان ۹۶ ساعت، بر سلامت میگو تاثیرگذار نمی‌باشد ولی نظر به اینکه آلومینیوم فلزی سنگین بوده و ترکیبات آن در نهایت در محیط می‌تواند عوارض زیست محیطی متعددی را به دنبال داشته باشد، همچنین از آنجا که رسوب ذرات معلق کولودینیوم و پلی آلومینیوم کلراید می‌تواند مورد تغذیه میگو قرار گرفته و در دراز مدت منجر به افزایش میزان فلز سنگین آلومینیوم در بافت میگو گردد. لذا استفاده از پلی آلومینیوم کلراید در مزارع پرورش میگو، علاوه بر سلامت آبرزی، بر مصرف آن نیز می‌تواند تحت تاثیرگذار باشد.

در نهایت می‌توان چنین بیان نمود که هر چند غلظت یک میلی گرم بر کیلوگرم آلومینیوم در غذا مجاز اعلام شده (JECFA, 2006) و از طرفی سازمان غذا و دارو ایالات متحده آمریکا، استفاده از این ترکیب را تا غلظت بیش از ۲۵ درصد در ترکیبات ضد عرق (مصرف سطحی بدن) مجاز اعلام کرده است، استفاده از آن به منظور مقابله شیمیایی با شکوفایی ریز جلبک‌ها نمی‌تواند در اولویت قرار داشته باشد.

### ۳-۲-۵- آلومینیوم سولفات

آلومینیوم سولفات ترکیبی است که از لحاظ خصوصیات شیمیایی همانند پلی آلومینیوم کلراید است و به نظر می‌رسد روندی مشابه بر آبرزیان و به خصوص میگو داشته باشد. این ترکیب با بار الکتریکی زیاد، ضمن رسوب ذرات معلق، می‌تواند با نشستن و ایجاد پیوند بر روی سطح بدن آبرزیان از جمله آبشش‌ها، مانعی برای تنفس ایجاد نماید.

در طی مدت ۹۶ ساعت، این ترکیب فاقد هر گونه علائم غیرطبیعی در رفتار میگو می‌باشد. نوسانات میانگین اسیدیته آب، آمونیاک و اکسیژن آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای عدم وجود اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات آمونیاک، اکسیژن و اسیدیته در طی دوره مواجهه ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آلومینیوم با میگوی پارس سفید غربی به ترتیب ۳/۹۵-۱/۸۷ میلی گرم بر لیتر و ۸/۳۶-۶/۶۴ میلی گرم بر لیتر و ۷/۶۷-۸/۱۰ اندازه گیری و ثبت گردید (۳-۸) که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می‌باشد. ولی نظر به اینکه آلومینیوم فلزی سنگین بوده و ترکیبات آن در نهایت در محیط می‌تواند عوارض زیست محیطی متعددی را به دنبال داشته باشد استفاده از آن به منظور مقابله شیمیایی با ریز جلبک‌ها نمی‌تواند در اولویت قرار داشته باشد. آلومینیوم سولفات بر نرمتان به خصوص اسلودج‌ها اثر کشنده دارد.

### ۴-۲-۵- هیپوکلریت سدیم

هیپوکلریت سدیم با فرمول (NaOCl) ترکیبی است که پس از انحلال در آب، یون‌های سدیم، کلر و هیدروکسیل تولید می‌کند. یون‌های هیدروکسید حاصل، قادرند ترکیبات آلی را اکسید نموده و یا با یکدیگر ترکیب شده و اکسیژن محلول و آب ایجاد نمایند.

مواجهه ۹۶ ساعته و حتی در غلظت یک میلی گرم بر لیتر از هیپوکلریت سدیم با میگوی پاسبید غربی، هر چند در شروع مواجهه، همراه با بی تابی و بی قراری بود، تلفاتی را به دنبال نداشت. نوسانات میانگین اسیدیته، آمونیاک و اکسیژن آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای عدم وجود اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات آمونیاک، اکسیژن و اسیدیته در طی دوره مواجهه ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر هیپوکلریت سدیم با میگوی پاسبید غربی به ترتیب ۰/۵۱-۳/۷۳-۰ میلی گرم بر لیتر و ۵/۸۹-۸/۲۱ میلی گرم بر لیتر و ۷/۱۱-۸/۳۳ اندازه گیری و ثبت گردید (جدول ۳-۱۰) که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می باشد. ولی نظر به اینکه هیپوکلریت سدیم اکسید کننده ای قوی بوده و می تواند حیات دیگر آبریان را نیز تحت تاثیر قرار دهد، در هر گونه مبارزه شیمیایی با کشتن قرمز نمی تواند در اولویت قرار داشته باشد.

### ۵-۲-۵- سولفات آهن

سولفات آهن (III) ترکیبی است با بلورهای سفید متمایل به خاکستری است که حلالیت کمی در آب دارد. بارهای منفی و مثبت موجود بر اتم‌های این ماده، قادر به پیوستن ذرات معلق از جمله سلول‌های کوکلودینیوم و رسوب آنها می باشند.

مواجهه ۹۶ ساعته و حتی در غلظت یک میلی گرم بر لیتر سولفات آهن با میگوی پاسبید غربی بدون هیچ گونه رفتار غیر طبیعی، تلفاتی را به دنبال نداشت. نوسانات میانگین اسیدیته آب، آمونیاک و اکسیژن آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای هیچ گونه عدم وجود اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات آمونیاک، اکسیژن و اسیدیته در طی دوره مواجهه ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر سولفات آهن با میگوی پاسبید غربی به ترتیب ۱/۴۸-۳/۹۶ میلی گرم بر لیتر، ۵/۶۴-۷/۹۷ میلی گرم بر لیتر و ۶/۹۸-۷/۷ اندازه گیری و ثبت گردید (جدول ۳-۱۱) که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می باشد.

سولفات آهن حلالیت کمی در آب داشته و تغییرات شیمیایی خاصی از آن در محیط قابل انتظار نمی باشد. ذرات این ماده به صورت ذرات معلق، توسط آبریان قابل جذب می باشد. از آنجا که آهن یکی از میکروالمنت‌های آبریان محسوب می شود شاید از لحاظ زیست محیطی در مقادیر کم، مصرف آن نگران کننده نباشد. ولی استفاده زیاد آن را نمی توان بدون نگرانی ادامه داد، لذا استفاده از سولفات آهن به منظور مقابله شیمیایی با شکوفایی پلانکتونی به دلیل مخاطرات زیست محیطی آن و همچنین افزایش هزینه تولید میگو، بدون استفاده مجدد از آن در روند تولید، نمی تواند در اولویت باشد.

**۶-۲-۵- کربنات کلسیم**

کربنات کلسیم ترکیبی است با بلورهای سفید که حلالیت کمی در آب دارد. بارهای منفی و مثبت موجود بر اتم‌های این ماده، قادر به پیوستن ذرات معلق از جمله سلول‌های کوکلو دینیوم و رسوب آنها می‌باشند. مواجهه ۹۶ ساعته و حتی در غلظت یک میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم با میگوی پاسبید غربی بدون هیچ گونه رفتار غیر طبیعی، تلفاتی را به دنبال داشت. نوسانات میانگین اسیدیته آب، آمونیاک و اکسیژن آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای عدم وجود اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات آمونیاک، اکسیژن و اسیدیته در طی دوره مواجهه ۰/۰۱ تا ۱ میلی گرم بر لیتر کربنات کلسیم با میگوی پاسبید غربی به ترتیب ۰/۱۷-۲/۷۸ میلی گرم بر لیتر، ۵/۹-۸/۲۹ میلی گرم بر لیتر و ۷/۵-۸/۱۳ اندازه گیری و ثبت گردید (جدول ۳-۹) که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 2014; Neo Spark, 1991) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می‌باشد.

کربنات کلسیم حلالیت کمی در آب داشته و تغییرات شیمیایی خاصی از آن در محیط قابل انتظار نمی‌باشد، به صورت ذرات معلق توسط آبزیان قابل جذب می‌باشد از آنجا که کربنات کلسیم یکی از ترکیبات معمول رسوب و آب می‌باشد لذا استفاده از کربنات کلسیم به منظور مبارزه با ریز جلبک‌ها از لحاظ زیست محیطی نمی‌تواند نگران کننده باشد ولی افزایش هزینه تولید میگو، بدون استفاده مجدد از آن در روند تولید، نمی‌تواند در اولویت باشد.

**۷-۲-۵- نشاسته**

نشاسته یکی از کربوهیدرات‌های معمول و از اجزا جیره غذایی تمامی جانوران از جمله میگو می‌باشد، به سهولت توسط آنزیم‌های میکروارگانیسم‌ها و جانوران پرسلولی پست تا انسان به گلوکز شکسته می‌شود و طی چرخه‌های مختلف تولید انرژی به دی‌اکسید کربن و آب تبدیل می‌شود. نشاسته یکی از منابع رایج انرژی حیات در خشکی و آب می‌باشد و مصرف آن به غیر از مواردی نادر از جمله در شرایط محدودیت اکسیژن، نمی‌تواند برای محیط زیست مشکل ساز باشد. یافته‌های این تحقیق (جدول ۳-۱۲) گویای آن است که در طی مدت ۹۶ ساعت این ترکیب فاقد هیچ گونه علائم غیر طبیعی در رفتار میگو می‌باشد. نوسانات میانگین اسیدیته، آمونیاک و اکسیژن محلول در آب با گروه شاهد به کمک آزمون آنالیز واریانس، گویای عدم وجود اختلاف معنی دار بین نوسانات عوامل فوق با گروه شاهد بود. نوسانات آمونیاک، اکسیژن و اسیدیته در طی دوره مواجهه نشاسته با میگوی پاسبید غربی به ترتیب ۰/۴۶ تا ۳ میلی گرم بر لیتر، ۵/۳۵ تا ۷/۹۶ میلی گرم بر لیتر و ۶/۸۸ تا ۷/۹۶ اندازه گیری و ثبت گردید که با توجه به منابع موجود (Chen and Tu, 1991; Neo Spark, 2014) در دامنه ایمن برای رشد و بازماندگی میگوی وانامی می‌باشد.



امروزه در مزارع پرورشی آبزیان از جمله میگو، به منظور کاهش هزینه های تولید، بازیافت ذرات معلق غذایی و مواد مغذی محلول در آب به روش تولید درد زیستی (Biofloc) مورد توجه قرار گرفته شده است. در این روش با تنظیم ۱۰ الی ۲۰ برابری نسبت کربن به نیتروژن و افزایش غلظت اکسیژن آب، میکروارگانیسم های هتروتروف شکوفا شده و ضمن مصرف آنها توسط آبزیان از جمله میگو، کیفیت آب نیز بهبود می یابد. منابع کربنی استفاده شده در این روش شامل کربوهیدرات های مختلف از جمله ملاس و نشاسته می باشد (Nyan Taw, 2012) لذا استفاده از نشاسته در مبارزه شیمیایی با شکوفایی کوکلودینیوم پلی کریکوییدس، می تواند علاوه بر رسوب سلول های جلبک با شکوفایی میکروارگانیسم های هتروتروف، شرایط مناسب برای بهبود کیفیت آب و کاهش ضریب تبدیل غذایی را در استخرهای پرورش میگو فراهم نمود.

**۶- نتیجه گیری**

با توجه به یافته‌های این تحقیق به نظر می‌رسد در شرایط آزمایشگاهی، شکوفایی کوکلودینیوم پلی کریکوییدس با تراکم ۱۰۰ هزار قطعه در لیتر، با استفاده از ترکیبات مختلف شیمیایی از جمله هیدروکسید منیزیم، کربنات کلسیم، سولفات آهن، پلی آلومینیوم کلراید، آلومینیوم سولفات و نشاسته با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر، قابل شکستن می‌باشد در حالیکه تا غلظت یک صد برابر این میزان برای میگوی پاسبید غربی در طول مدت ۹۶ ساعت، حتی فاقد اثرات نامطلوب از جمله بی‌قراری یا کاهش بازماندگی می‌باشد. در میان ترکیبات فوق، نشاسته دارای حداقل تاثیرات نامطلوب زیست محیطی بوده و علاوه بر آن قادر است با شکوفایی میکروارگانیسم‌های هتروتروف، به تولید بیوفلاگک و بهبود کیفیت آب کمک نماید و از این طریق ضمن تعدیل شکوفایی و بهبود کیفیت آب، منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی در استخرها نیز گردد. نکته مهم در این زمینه آن است که با شکوفایی میکروارگانیسم‌های هتروتروف، میزان مصرف اکسیژن افزوده شده که استفاده از هواده همزمان با مصرف نشاسته الزامی می‌باشد.

## پیشنهادها

با توجه به یافته های این تحقیق موارد زیر قابل پیشنهاد است:

- ۱- انجام طرح بررسی کامل چرخه حیات جلبک کولودینیوم پلی کریکوییدس، به منظور ارتقاع کیفی مبارزه با شکوفایی آن در مزارع پرورش آبزیان و تالاب های ساحلی.
- ۲- از تمامی مواد شیمیایی موثر بر محیط زیست آبزیان به منظور مبارزه با ریز جلبک ها اجتناب شود.
- ۳- موثرترین شیوه برای شکستن شکوفایی جلبکی استفاده از ذرات باردار می باشد و کربوهیدرات ها در میان ذرات باردار از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند استفاده از آنها با توجه به تولید بیوفلاگک و مصرف سریع آن توسط فیلترکنندگان و رسوب خواران می تواند کمترین خطرات زیست محیطی را به دنبال داشته باشد. لذا به عنوان مناسب ترین شیوه مبارزه با ریز جلبک ها پیشنهاد می شود.
- ۴- نظر به اینکه مبارزه شیمیایی با میکرو جلبک ها به روش شیمیایی و با استفاده از کربوهیدرات ها و تولید بیوفلاگک، مصرف اکسیژن را بالا می برد، استفاده از برق شهری به منظور هوادهی پیوسته مزارع پرورش میگو ضروری می باشد لذا ایجاد تسهیلات لازم جهت اتصال مزارع پرورش میگو به برق شهری پیشنهاد می شود.

## منابع

- امید، س. (۱۳۸۶-۱۳۷۸). گزارش نهایی پروژه های "بررسی اثرات پساب های مزارع پرورشی استان بوشهر بر محیط زیست دریایی". موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- ایزدپناهی، غ. (۱۳۸۴). هیدرولوژی و هیدروبیولوژی خلیج فارس - موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- ایزدپناهی، غ. (۱۳۸۶). بررسی مستمر هیدرولوژی و هیدروبیولوژی خلیج فارس. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- آیین جمشید، خ. (۱۳۹۱). بررسی اثرات کشند قرمز بر مزارع پرورشی در استان بوشهر. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- مرتضوی، محمد صدیق. (۱۳۸۸). رخداد شکوفایی جلبکی مضر در آب های استان هرمزگان (۱۳۸۸-۱۳۸۷)، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، گزارش منتشر نشده.
- محسنی زاده، ف. (۱۳۹۰). بررسی اثرات شکوفایی پلانکتونی مضر بر منابع آبی خلیج فارس در محدوده آبهای استان بوشهر. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- محسنی زاده، ف. (۱۳۹۲). پایش کشند قرمز در آبهای خلیج فارس و دریای عمان. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- نوری نژاد، م؛ امید، س. (۱۳۸۷). افزایش میزان آمونیاک و فسفات در آب های ساحلی استان بوشهر. موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور.
- Bauman A. G.; Burt J. A.; Feary, D. A.; Marquis E. and Usseglio P. (2010). Tropical harmful algal blooms: An emerging threat to coral reef communities? Marine Pollution Bulletin.
- Chen JC, Tu CC. Influence of ammonia on growth of *Penaeus monodon* Fabricius post-larvae. Aquaculture Research. 1991;22(4):457-462.
- Cortes, A. R.; Nunez-Pasten, A.; Esparza, H. M. and Barraza, I. (1994). Variación y abundancia del fitoplancton de estanques semi-intensivos e intensivos para el cultivo de camarón en Sinaloa, *Informe final Proyecto. Tech. Report*, pp. 177- 218.
- Cortes-A. R. and Alonso R. (1997). Mareas rojas durante 1977 en la bahía de Mazatlán, Sinaloa, Mexico, *Cienc. Mar UAS*, 15, pp. 31- 37.
- Diwan, A. D; Joseph, S. and Ayyappan, S., (2009). Physiology of reproduction, breeding and culture of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Naredra Publishing House. Delhi (India). 292 p.
- Eco-Zist Consulting Engineers. (1978). Iran 1 and 2 Environmental Report. Atomic energy Organization of Iran. Volume I, II.
- Estrela, C.; Estrela, C. R. A.; Barbin, E. L.; Spano, J. C. E.; Marchesan, M. A.; Pecora, J. D. (2002). Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. *Braz Dent J* (2002) 13(2): 113-117. ISSN 0103-6440.
- Gárate-Lizárraga, D. J.; López-Cortes, J. J.; Bustillos-Guzmán and F. Hernández-Sandoval. (2004). Blooms of *Cochlodinium polykrikoides* (Gymnodiniaceae) in the Gulf of California, Mexico. *Rev. Biol. trop v.52 sup 1.1 San José sep. 2004.* ISSN 0034-7744.
- Glibert, P., Landsberg, J., Evans, J., Al-Sarawi, M., Faraj, M., Al-Jaeallah, M., Hay-wood, A., Ibrahim, S., Klesius, P., Powell, C., Shoemaker, C. (2002). A fish kill of massive proportion in Kuwait Bay, Arabian Gulf 2001: the roles of bacterial disease, harmful algae, and eutrophication. *Harmful Algae*, 1: 215-231.
- Grasshoff, K. [Ed.] (1976). Methods of sea- water analysis. Verlag Chemie, Weinheim and New York. xv + 317 p.
- Guzmán, H. M.; Cortes, J.; Glynn, P. W. and Richmond, R. H. (1990). Coral mortality associated with dinoflagellate blooms in the eastern Pacific (Costa Rica and Panama). *Marine Ecology. Progress Series* 60: 299-303.

- Heil, C.A.; Glibert, P.M.; Al-Sarawl, M.A.; Faraj, M.; Behbehani, M.; Husain, M. (2001). First record of a fish-killing *Gymnodinium* sp bloom in Kuwait Bay, Arabian Sea: chronology and potential causes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 214, 15–23.
- Heisler, J.; Glibert, P.; Burkholder, J.; Anderson, D.; Cochlan, W.; Dennison, W.; Gobler, C.; Dortch, Q.; Heil, C.; Humphries, E.; Lewitus, A.; Magnien, R.; Marshall, H.; Sellner, K.; Stockwell, D.; Stoecker, D. and Suddleson, M. (2008). Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. *Harmful Algae* 8, 3–13.
- Ichikawa, S.; Wakao, Y.; Fukuyo, Y. (1993). Hydrogen peroxide an extermination agent against cysts of red tide and toxic dinoflagellates. In: Smayda TJ, Shimizu Y (eds) *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier, Amsterdam, pp 133–138.
- JECFA. (2006). *Evaluation of certain food contaminants*. Sixty-four 64 report of joint FAO/WHO Expert committee on food additives WHO Technical report Series 930.
- Jiang, J.Q. and Graham, N. J. D. (2003). Development of Optical Poly-Aluminum-Iron Sulphate Coagulant [J]. *J. Environmental Engineering*, 129(8): 699-708.
- Jmenez, R. (1989). Red Tide and Shrimp Activity in Ecuador. In: Olsen, S. and Arriaga, L., editors. *A Sustainable Shrimp Mariculture Industry for Ecuador*. Narragansett, RI: Coastal Resources Center, University of Rhode Island.
- Kim, H. G. (1997). Recent harmful algal blooms and mitigation strategies in Korea. *Ocean Res. (Seoul)* 19, 185–192.
- Kim, C. S.; Lee, S. G.; Lee, C. K.; Kim, H. G. and Jung, J. (1999). Reactive oxygen species as causative agents in the ichthyotoxicity of the red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. *J. Plankton Res.* 21, 2105–2115.
- Kim, H.; Kim, D.; Lee, D.; Park, C.; Kim, H. (2001a). Limiting nutrients of *Cochlodinium polykrikoides* red tide in Saryang Island coast by algal growth potential (AGP) assay. *J. Korean Fish. Soc.* 34, 457–464.
- Kim, H.; Lee, C.; Lee, S.; Kim, H.; Park, C. (2001b). Physico-chemical factors on the growth of *Cochlodinium polykrikoides* and nutrient utilization. *J. Korean Fish. Soc.* 34, 445–456.
- Kim, D.; Oda, T.; Muramatsu, T.; Kim, D.; Matsuyama, Y.; Honjo, T. (2002). Possible factors responsible for the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides*, a red tide phytoplankton. *Comp. Biochem. Phys. C* 132 PII S1532-0456(02)00093-5.
- Kim, D. I.; Matsuyama, Y.; Nagasoe, S.; Yamaguchi, M.; Yoon, Y. H.; Oshima, Y.; Imada, N. and Honjo, T. (2004). Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful red tide dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* Margalef (Dinophyceae). *J. Plankton Res.*, 26, 61-66.
- Kim, C. J.; Kim, H. G.; Kim, C. H. and Oh, H. M. (2007). Life cycle of the ichthyotoxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal waters. *Harmful Algae* 6(1):104-111. DOI: 10.1016/j.hal.2006.07.004.
- Kim, J. D., Kim, B. and Lee, C. G. (2007). Alga-lytic activity of *Pseudomonas fluorescens* against the red tide causing marine alga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Biol. Control* 41:296-303.
- Landsberg, J. H. (2002). The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Reviews of Fisheries Science* 10, 113–390.
- Maso, M. and Garces, E. (2006). Harmful microalgae blooms (HAB); problematic and conditions that induce them, *Marine Pollution Bulletin*, 53, pp 620–630.
- Matsuoka, K.; Iwataki, M.; Kawami, H. (2008). Morphology and taxonomy of chain-forming species of the genus *Cochlodinium* Dinophyceae. *Harmful Algae* 7(3): 261-270.
- Matthews, S. G. and Pitcher, G. C. (1996). Worst recorded marine mortality on the South African coast., UNESCO, Sendai Kyodo Printer, pp 89-92.
- Millero, F. M. M. (2006). *Chemical oceanography*, 3rd Edition. CRC Press, Taylor & Francis. 214 p.
- Nyan, T. (2012). Future of Biofloc technology in Asia. *Aquaculture Round Table Fisheries Phoket, Thailan*.
- Ojha, J. S. (2006). *Aquaculture nutrition and biochemistry*. Agrotech Publishing Academy. Udaipur. 186 p.
- Pecora, J. D.; Sousa-Neto, M. D. and Estrela, C. (1999). Solucoes Irrigadoras Auxiliaries Do Prepare to Canal Radicular. In: Estre, C. and Figueiredo, J.A.P., Eds., *Endodontia-Principios biologicos e mecanicos*, Artes Medicas, Sao Paulo, 552-569.
- Piyatiratitivorakul P., Lirdwitayaprasit T., Thooithaisong J. (2002). Laboratory Studies on Chemical Control of Red Tide Phytoplankton (*Chattonella marina* and *Heterosigma akashiwo*) for Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) Culture. *ScienceAsia* 28 (2002) : 217-220.
- Qi, D.; Huang, Y. and Wang, X. (1993). Toxic dinoflagellate red tide by a *Cochlodinium* sp. along the coast of Fujian, China. In T. J. Smayda, & Y. Shimizu (eds), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier, Amsterdam, pp. 235–238.

- Richlen, M., Morton, S., Jamali, E., Rajan, A., Anderson, D. (2010). The catastrophic 2008-2009 red tide in the Arabian Gulf region, with observations on the identification and phylogeny of the fish-killing dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides*. *Harm-ful Algae*, 9: 163–172.
- ROPME (2010). Manual of Oceanographic Observation and Pollutant Analysis Methods (MOOPAM), second Publication Kuwait.
- Sale, P., Feary, D., Burt, J., Bauman, A., Cavalcante, G., Drouillard, K., Kjerfve, B., Marquis, E., Trick, C., Usseglio, P., Van Lavieren, H. (2010). The growing need for sustainable ecological management of marine communities of the Persian Gulf. *Am-bio*, 40: 4-17.
- Secher, S. (2009). Measures to Control Harmful Algal Blooms *The Plymouth Student Scientist*, 2, (1), 212-227.
- Shen, Y. H. and Dempsey, B. A. (1998). “Synthesis and Speciation of Poly-ferric-sulfate for water treatment”. *Environmental International*. Vol. 24, No. 8, 899910.
- Sun, X. X.; Lee, Y. J.; Choi, J. K. and Kim, E. K. (2004). Synergistic effect of sophorolipid and loess combination in harmful algal blooms mitigation. *Mar. Pollut. Bull.*, 48, 863-872.
- Tang, Y. Z. and Gobler, C. J. (2009). Characterization of the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides* isolates from Northeast US estuaries to finfish and shellfish. *Journal of harmful algae*, 8, pp. 454-462.
- Toshifum, Y. (2003). Occurrence of *Cochlodinium polykrikoides* red tide and its growth characteristics in Imari Bay in 1999. *Bulletin of Nakasaki prefectural Institute of Fisheries*. No. 28. pp. 21-26.
- UNEP GEO team. (2000). *Global Environment Outlook*. United Nations Environment Programme.
- Yoon, Y. H. (2001). A summary on the red tide mechanisms of the harmful dinoflagellate, *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal waters, *Bull. Plankton Soc. Japan*, 48 (2), pp 113-120.
- Yuki, K., and Yoshimatsu, S. (1989). Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. In *Red tides: Biology, environmental science, and toxicology*, ed. T. Okaichi.
- Zafiriou, O.C. (1990). Chemistry of superoxide ion-radical ( $O_2^-$ ) in seawater. I.  $pK^*_{asw}$  (HOO) and uncatalysed dismutation kinetics studied by pulse radiolysis. *Mar. Chem.* 30:31-43.
- Zingone, A. and Enevoldsen, H. O. (2000). The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management, *Ocean & Coastal Management*, 43, pp. 725-748.

## Abstract

*Cochlodinium polykrikoides* is a common red tide former associated with fish kills in the most coastal waters of the world. Pay attention red tide problems to human and environment, forecast and control of algal bloom are aim of a lot of coastal environmental studies. Following *Cochlodinium polykrikoides* was bloom in Oman Sea and Persian Gulf, extensive mortality of aquatic animal were seen in 2008, instances verified extensive damaged to wetland habitats during algal bloom. In this study have been tried for finding a suitable chemical composition for Mitigation of *Cochlodinium polykrikoides* bloom in wetlands.

To identify the safe chemical substance against red tide in coastal waters wetlands, concentration effects of 0.01 mg/l, 0.04 mg/l, 0.4 mg/l, 1 mg/l and 1 gr/l Magnesium Hydroxide, Poly Aluminum Chloride (PAC), Aluminum Sulfate, Sodium Hypochlorite, Calcium Carbonate, Ferrous Sulfate, Starch on Laboratory cultures of *Cochlodinium polykrikoides* (1000000 cell/lit) and *Litopenaeus vannamei* were studied in Iranian Shrimp research center. *Cochlodinium polykrikoides* were cultured under a cool white fluorescent light of 2000 lux intensity with a 12:12 h light: dark cycle. Temperature and salinity were controlled 28 °C and of 30 g/l (ppt), respectively.

Finding show that, all concentration of above substance, completely disintegrated of cultured *Cochlodinium polykrikoides*. Also except 1 g/l Sodium Hypochlorite, in other concentrations of studied substances, there weren't seen shrimp mortality after 96h.

Among studied substance, starch have limit effects on the shrimp health and environment, therefore it can be suitable for controlling of *Cochlodinium polykrikoides* in shrimp ponds.

**Keywords:** chemical control, red tide, *Cochlodinium polykrikoides*, shrimp farms, *Litopenaeus vannamei*.





**Ministry of Jihad – e – Agriculture  
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION  
Iranian Fisheries Science Research Institute –Shrimp Research Center**

---

**Project Title : An Investigation on the Possibility of utilization of Chemical material for mitigation of *Cochlodinium sp.* bloom and their impact on the *Litopenaeus vannamei* shrimp**

**Approved Number: 2-80-12-89093**

**Author: Soheila Omid**

**Project Researcher : Soheila Omid**

**Collaborator(s) : M. Noorinezhad, M. Mirbakhsh; A.R. Marzbani, J. Mohammad Nejad**

**Advisor(s): -**

**Supervisor: Kh. Aein Jamshid**

**Location of execution : Bushehr province**

**Date of Beginning : 2011**

**Period of execution : 1 Year & 11 Months**

***Publisher : Iranian Fisheries Science Research Institute***

***Date of publishing : 2016***

**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 & EXTENSION ORGANIZATION**  
**Iranian Fisheries Science Research Institute – Shrimp Research Center**

**Project Title :**

**An Investigation on the Possibility of utilization of  
Chemical material for mitigation of *Cochlodinium sp.*  
bloom and their impact on the *Litopenaeus vannamei*  
shrimp**

**Project Researcher :**

***Soheila Omid***

**Register NO.**  
***49230***