بررسی تغییرات شوری آب بر مراحل رشد لارو *Artemia urmiana*

• **مریم شمس لاهیجانی**، دانشگاه شهید بهشتی دانشکده علوم گروه زیست‌شناسی تهران
• **ناصر آق**، دانشگاه ارومیه مرکز تحقیقات آرتمیا و آبزیان ارومیه
• **امید فتوحی**، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، تهران

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۲

چکیده

هـدف از این پژوهش، بررسـی آزمایشـگاهی و دقیق اثرات میزان شـوری آب بر چرخـه زندگی، بویژه مراحـل جنینی و لاروی *A. urmiana* می‌باشـد. نتایـج آزمایـش ها در مرکز تحقیقات آرتمیا و آبزیان دانشـگاه ارومیه نشـان داد، در اوایل دورهٔ پرورش، شوری‌های پایین تر (ppt ۳۵)، سرعت بیشتری به رشد و نمو می دهند، در حالیکه بلوغ لاروها در این حالت با تأخیر همراه است و یا اصلاً صورت نمی گیرد، اما، شـوری‌های حد واسـط (ppt ۱۰۰ و۶۰)، پس از مدتی باعث رشد و نمو سریعتر لاروها شده و در شوری ppt ۱۰۰ (در روز ۲۴ پس از تفریخ[1]) بیشـترین نسـبت افراد بالغ دیده می شـود. شـوری های بالا همانند شوری‌های پایین، باعث کاهش میزان رشد و نمو گردیده، از روز ۱۲ تفریخ به بعد، هیچ جانوری در شوری ppt ۱۸۰ زنده باقی نمی‌ماند. در واقع، همانند رشد و نمو، و بلوغ، بیشـترین میزان بقا نیز در شـوری‌های حد واسط (ppt ۱۰۰ و ۶۰) بدسـت می آید. این امر نشان‌دهندهٔ سازش جانور با شوری های حد واسط است، به طوری که شوری های بالا و پایین هر دو باعث وارد آمدن استرس بر جانور شده و بر رشد و نمو و قدرت حیات آن تأثیر منفی می‌گذارند.

کلمات کلیدی: ***A. urmiana*، شوری آب، رشد و نمو لارو، ایران.**

Pajouhesh & Sazandegi No:62 pp: 56 - 66

Water salinity and development of *Artemia urmiana* larvae

By :M. Shams Lahijani, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid-Beheshti University, Tehran , N. Agh, Center of Artemia Research, Urumieh University, Urumieh, Iran., Fotoohi.O.,Department of Biology, Faculty of Science, Shahid-Beheshti University, Tehran.

Effects of various water salinities on the life cycle, specially on embryonic development and larval stages of *Artemia urmiana* were investigated. Results indicated that 33 ppt is the optimal salinity for embryonic development and hatching, and various salinities have same effects on Artemia's quantitative developments. Lower salinity (35 ppt) is more suitable for Artemia's growth and development, on first stage of culture; On the other hand, it reaches the maturity much more slower and sometimes even stops. The medium salinites (60 and 100 ppt) are better for larvae growth and development; On day 24, the highest rate of maturity could be seen in 100 ppt. High and low salinities, reduce the rate of growth, development and survival ,as, after day 12, there were no live larvae in 180 ppt. The best salinities for the survival, as well as growth, development and maturity, were medium (60 & 100 ppt). The results showed: 1) adaptation of *Artemia urmiana* with medium salinities, and 2) both high and low salinities could cause stress on animal, and effect on its growth, development and survival.

Key Words: *Artemia urmiana* , water salinity, larva development, Iran.

مقدمه

به دلیل محدودیت هایی که در بهره برداری از آبزیان دریاها و منابع آب شیرین وجـود دارد، منابع طبیعی نمی‌توانند تقاضای روزافزون نسـبت بـه این محصولات را برآورده سازند. به همین خاطر، در سالهای اخیر، صنعت آبزی پروری رشد چشمگیری یافته است. مهمترین مسئله در صنعت آبزی پروری، تأمین غذای مناسب برای آبزیان می‌باشـد. در همین راسـتا، به خاطر دارا بودن حدود ۵۵٪ پروتئین، ۴تا۲۰٪ چربی، کلیه اسـیدهای آمینه اساسی و اکثر اسـیدهای چرب در حد مطلوب، آرتمیا، بهترین غذای آبزیان به شـمار می‌رود. همچنین، براسـاس خاصیت کپسول‌گذاری حیاتی، به عنـوان حاملـی برای مواد غذایی، داروهـا و آنتی بیوتیک‌ها به آبزیـان به کار می‌رود. هم‌اکنون، کشـورهایی نظیر آمریکا سـالانه هزاران تُن آرتمیا، به ارزش میلیونها دلار، از زیسـتگاه‌های طبیعی اسـتحصال می‌کنند و بسیاری از کشـورهای دیگر نیز اقدام بـه پـرورش متمرکز و فوقِ متمرکز در اسـتخرها و تانکرهای کوچـک نموده، آنرا در امر آبزی‌پروری مورد اسـتفاده قرار می‌دهند. امروزه، هر کیلوگرم توده زنده آرتمیا، با قیمتی معادل ۶۰ تا ۱۵۰ دلار و هر کیلوگرم سیسـت یـا تخم مقاوم، با قیمتی حدود ۱۰۰تا۲۰۰ دلار در بازارهای جهانی خرید و فروش می‌شود(۱).

آرتمیا (Crustacea , Anostraca) دارای پراکنش وسـیعی در ۵ قاره اسـت (۱۸) و دریاچهٔ ارومیه بزرگترین زیسـتگاه طبیعـی (*Artemia urmiana*) در جهان می‌باشـد. قـدرت تحمل بسـیار بـالای *A. urmiana* نسـبت به شـوری محیط، از ویژگی‌های بسـیار چشـمگیر آن اسـت، به طوریکه آرتمیای زنـده در دریاچه‌های با شـوری ۳۴٪ نیز یافت شـده اسـت. این ویژگی منحصر به فرد را به توانایی جانور در اشـغال نیچ[۲]هایی که شـکارچیان نمی‌توانند تحمل کنند، نسـبت می‌دهند، زیرا، در شوری پایین‌تر از ppt ۴۵ ، که محل حضور انواع شکارچیان است، به ندرت آرتمیایی یافت می‌شود(۱۳).

بـه طـور کلـی، دوران لاروی آرتمیا به چهـار مرحلهٔ ناپلی[۳]، متـا ناپلی[۴]، پس متاناپلی[۵] و پس لاروی[۶] طبقه بندی می‌شـود. ایجاد سـومیتهای پس مانديبولاری[۷] و جوانهٔ اندامهای حرکتی، نشـانهٔ خاتمهٔ مرحله ناپلیوسـی می‌باشد(۸). با شروع فعالیت نخسـتین جفت پای سـینه‌ای جانور، مرحله متاناپلیوس به مرحلهٔ پس متاناپلیوسی وارد می‌شـود. تکمیل بند بند شدن تنه و خاتمهٔ عمل شـناگری آنتن‌ها، نشانگر آغاز مرحلهٔ پس لاروی است. هریک از مراحل مذکور به چند اینستار[۸] تقسیم می‌شود، به طوریکه جمعاً ۱۷ اینستار طی این مراحل قابل تشخیص است (۱۰) .

تحقیقات کارشناسان داخلی (۱) و خارجی، طی سالهای ۱۹۹۶-۱۹۹۱، مشخص کرده اسـت که در هر دوره یکسـاله، ۳/۲۰۰/۰۰۰ کیلوگرم سیست در دریاچه ارومیه تولید می‌شـود که با احتسـاب حداقل قیمت آرتمیا در بازارهای جهانی، سود حاصل از آن به ۳۲۰ میلیون دلار می‌رسـد. به دلیل کاهش بارندگی و طرحهای ناسـنجیده (نظیر احداث سـدهای متعدد بر رودخانه های حوضـه دریاچه و انحراف آب رودخانه زرینه رود از حوالی شهرسـتان بوکان به سوی شهرستان تبریز) بر شوری آب دریاچه به مقدار زیادی افزوده شده، و از ppt ۱۸۰ به ppt ۲۶۰ رسیده است. تأثیر افزایش شوری بر مقدار و سیست آرتمیا، با مشاهده محل و مقایسه با سالهای گذشته به خوبی مشهود است.

به طور مسـلم، دامنهٔ وسـیع تغییرات در شـوری، بر رشـد و نمو *A. urmiana* بی‌تأثیر نخواهد بود، بدین منظور، نحوهٔ رشـد و نمو لارو آن، در شـوری‌های مختلف، موضوع بررسی اخیر می‌باشد و مطالعه آزمایشگاهی دقیق تر تأثیرات شوری بر چرخه زندگی، به ویژه مراحل جنینی و لاروی و تأثیرات منفی افزایش شـوری آب بر چرخه زندگی و بقای آرتمیا صحه می‌گذارد.

مواد و روشها

الف:تهیهٔ ناپلیوس و محیط کشت

سیسـت ها از ایستگاه تپه شاهی دریاچهٔ ارومیه، در سـال ۱۳۷۷ جمع آوری شد؛ به دلیل خشکسالی در سال ۱۳۷۸ زمـان بررسـی های مورد بحث)، سیسـتی از دریاچه برداشت نشد.

بـرای تهیهٔ ناپلیـوس، سیسـتهای *A. urmiana* را در شـرایط بهینـه ppt ۳۳ تفریخ نمـوده، ۱۹ سـاعت بعد از انکوباسـیون (نخستین ساعات تفریخ)، برای جداسازی لاروها از ظرف‌ها، لوله های هوادهی خارج گردید (۲).

از خاصیـت نورگرایـی مثبت لاروها، برای جداسـازی از پوسـته و ناخالصی ها اسـتفاده و ظروف مخروطی[۹] تفریخ در جعبهٔ ویژهٔ جداسـازی قرار داده شـد. ایـن جعبه به گونه ای بود که تمام قسـمتهای ظرف تفریخ (به جز قسمت کوچکی از انتها) را می‌پوشـاند. با تاباندن نور چراغ مطالعه به قسـمت باز، ناپلیوسها در این قسمت تمرکز یافته[۱۰]، باکمک پیپت، به آرامی‌جمع‌آوری صورت می‌گرفت.

لاروهای جمع آوری شـده به محیط کشت از قبل آماده شـده (در مرکـز تحقیقات آرتمیا و آبزیان دانشـگاه ارومیه) انتقال داده شدند. پرورش، همانند تفریخ لاروها، در ظرفهای مخروطی پر از آب دریاچه، که توسـط آب مقطر رقیق شده و به شـوری مورد نظر رسیده بودند، انجام شد. قبل از استفاده، آب دریاچـه را از فیلتـر ۰/۴۵ میکرومتـری عبـور داده، تا آلودگی‌ها از بین بروند. روزانه، شـوری ظرفها بررسی گردید، تا افزایش شـوری ناشـی از تبخیر آب، با افـزودن آب مقطر جبران شود.

شـوری هـای ۳۵، ۶۰، ۱۰۰، ۱۴۰ و ppt ۱۸۰ ، به ازاء هر یک از ۵ ظرف مخروطی، با گنجایش اولیه ۱۲۰۰ میلی لیترآب، مورد آزمایش قرار گرفت. در روز اول، هر ناپلیوس به ۲ میلی لیتر فضا نیاز دارد. بنابراین، برای دقت عمل بیشـتر، با کمـک قطره چکان و شمارشـگر، به ازاء هـر ظرف، ۶۰۰ عـدد لارو شـمارش گردید. بدین ترتیب، به ازاء هر شـوری، در روز اول، ۳۰۰۰ ناپلیوس شـمارش شد. البته جهت پیش گیری از اتفاقات پیش بینی نشده، ظرف ششمی‌همانند سایر ظرفها، برای هر شـوری آماده گردید. طی روزهای بعد، برای اختصـاص فضای مورد نیاز به هر لارو، شـمارش ادامه یافت، به طوریکه از روز هشـتم به بعد، فضای ۳ میلی لیتر و از روز ۱۴ بـه بعد، فضـای ۴ میلی لیتر برای هر لارو تأمین گردید. درنتیجه، در روزهای ۸ و ۱۴، پس از شمارش تعداد لاروهای باقیمانـده در هـر ظرف، با توجه به تعـداد لاروها، حجم آب محیط پرورش به نسبت لازم تغییر داده شد، سپس، ظرفهای مخروطی به صورت ایستاده درون آکواریوم های نسبتاً بزرگی که تا نیمه دارای آب بودند (شکل ۱)، نگهداری شدند. بخاری آکواریومی‌درون آب آکواریوم قرار داشت که دما را در ۱ ± ۲۵ درجه سانتی گراد ثابت نگه می‌داشت. ثابت بودن دما، هرچند

شکل ۱: آکواریوم و ظروف مخروطی تفریخ

وقت یکبار با دماسنج اندازه‌گیری می‌شد(۷) .

ب : تغذیه

تا ۲۴ ساعت پس از تفریخ، لارو *A. urmiana* تنها از اندوخته زرده‌ای خود تغذیه می‌کند و به تغذیه از محیط نیاز ندارد. بنابراین، تغذیه اصلی لاروها پس از ۲۴ ساعت آغاز گردید. غذای اصلی، در محیط زیست طبیعی، جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* می‌باشد (۱۹)، ولی بررسی و آزمایشها نشان داده‌اند که جایگزین کردن ۲۵٪ از غذای جلبکی با مخمر اصلاح شده، نتایج بهتری بدست می‌دهد. بنابراین، از جلبک *D. tertiolcta* کشت شده در آزمایشگاه، به همراه مخمر اصلاح شده Lancy PZ (مخمر نان که با تیمارهای شیمیایی و آنزیمهای دیوارهٔ سلولی نفوذپذیر قابل هضم شده اند) مطابق جداول ۳-۱ استفاده گردید (۵) .

ج: بررسی تغییرات مورفولوژیک و بیومتری

پس از انتقال ناپلیوسهای تازه تفریخ یافته، از محیط تفریخ به ظروف مخروطی محیط پرورش، هر ۱۲ ساعت، ۳۰ نمونه لارو (از هر یک از ۵ ظرف مخروطی، ۶ عدد لارو) توسط یک قطره چکان نسبتاً بزرگ برداشت شد. نمونه ها در شیشه های ساعت قرار داده شد و با افزودن چند قطره محلول لوگول تثبیت صورت گرفت. برداشت نمونه های ریز، به علت نورگرایی مثبت در روزهای اول، در مقابل منبع نور انجام می‌گرفت. سپس، نمونه های فیکس شده را روی یک لام قرار داده، با استفاده از میکروسکوپ نوری (بزرگنمایی ۴۰ x)، بررسی های زیر اعمال شد:

۱) تشخیص مرحله اینستار لارو

۲) بیومتری از ابتدای سر تا انتهای تلسون.

تشخیص نوع اینستارها، با مطالعهٔ (میکروسکوپی) دقیق ویژگیهای مورفولوژیکی مراحل تکوین آرتمیا (شکل ۲)، توسط میکروسکوپ استریو مجهز به عدسی چشمی‌درجه دار، انجام شد (۱۷) . به دلیل سرعت زیاد رشد و نمو در مراحل اولیه، بررسی های میکروسکوپی و بیومتری، در مقاطع زمانی ۱۲ ساعته، ۲۴ ساعته، ۲ روزه و ۳ روزه انجام و تکرار شد. علاوه بر این، در روزهای ۸ و ۱۴، آب محیط پرورش لاروها عوض شده، با شمارش مجدد، تعداد لاروها، براساس نیاز به فضا، تعدیل می‌شد (۷) . میزان بقا[11] لاروها در شوری مربوطه نیز با شمارش نسبت لاروهای باقیمانده از سری اولیه محاسبه گردید.

زمان لازم برای عبور از هر اینستار به مرحلهٔ بعدی ، به عنوان معیار نمو، تغییر طول بدن و رشد جانور در شوری های تصاعدی ۳۵، ۶۰، ۱۰۰، ۱۴۰ و ۱۸۰ ppt مورد محاسبه و مقایسه واقع شده است.

کلیهٔ محاسبات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت و تفاوت $p<0/05$ معنی‌دار به شمار آمد.

نتایج

الف: تأثیر شوری بر رشد طولی بدن

نتایج مقایسهٔ آماری میانگین طول بدن در مقاطع مختلف زمانی، نشان می‌دهد که تا روز ۱۵ تفریخ، شوری پایین باعث رشد بیشتر طول آرتمیا شده و با بالا رفتن آن نرخ رشد کاهش می‌یابد. لیکن، در روزهای ۲ و ۴، نرخ رشد در شوری های ۳۵ و ۶۰ ppt تقریباً برابری می‌کند (جدول ۱) و از روز ۱۵ به بعد، شوری ۶۰ ppt بر شوری ۳۵ ppt تفوق می‌یابد. از روز ۱۸ تفریخ، نرخ رشد در شوری ۳۵ ppt، از شوری ۱۰۰ ppt، و از روز ۲۴، از شوری ۱۴۰ ppt نیز عقب می‌ماند.

با توجه به جدول ۱، شوری ۱۸۰ ppt، باعث کاهش نرخ رشد لاروهای A.urmiana می‌گردد، بدین ترتیب که تا روز ۱۲ تفریخ که آرتمیای زنده در محیط یافت می‌شود، همواره بین میانگین طول بدن در این شوری با سایر شوریها (به استثناء ۱۴۰ ppt) اختلاف معنی دار ($p < 0/05$) وجود دارد.

نتایج نشان دادند که میانگین طول بدن آرتمیا در دو شوری ۳۵ و ۶۰ ppt تا روز ۱۵ تفریخ به یکدیگر نزدیک می‌شود و در شوری ۶۰ ppt به تدریج پیشی می‌گیرد؛ شوری‌های ۶۰ و ۱۰۰ ppt حد واسط و طبیعی، ۱۴۰ و ۱۸۰ ppt بالا و ۳۵ ppt پایین می‌باشند، به همین دلیل، میانگین طول بدن در شوری های ۳۵ و ۶۰ ppt (به ویژه از روز ۱۵ به بعد) به هم نزدیک می‌شود. تا روز ۲۱ تفریخ، شوری ۶۰ ppt به طور معنی‌داری از بقیه جلوتر است ($p< 0/05$) . در روز ۲۴ تفریخ، شوری ۱۰۰ ppt به آن می‌رسد و میانگین طول بدن آرتمیا تقریباً برابر می‌شود.

به طورکلی، این نتایج برای دو جنس نر و ماده یکسان است (جدول ۲) و در روز ۲۴، مورفولوژی دوجنس نر و ماده کاملاً قابل تشخیص است. آزمون آماری نشان می‌دهد که شوری‌های حد واسط برای دو جنس نر و ماده مناسب تر بوده و باعث رشد بیشتری شده‌اند و در شوری ۱۴۰ ppt اختلاف معنی‌داری ($p< 0/05$) با یکدیگر دارند؛ در ماده‌ها نیز تفاوت این دو شوری (حد واسط) با شوری ۱۸۰ ppt معنی‌دار ($p<0/05$) است. به نظر می‌رسد، سازگاری بیشتری با شوری پایین، در جنس نر وجود دارد، زیرا، هر چند که از میزان شوری‌های حد واسط پایین‌تر است، ولی میانگین طول بدن در شوری ۳۵ ppt با آنها تفاوت معنی‌داری ندارد، در حالی که، شوری ۳۵ ppt در ماده‌ها، به طور معنی‌داری باعث کاهش رشد بدن شده و به نظر می‌رسد سازگاری، بیشتر در جهت شوری بالاتر است.

ب : تاثیر شوری بر تغییرات کیفی (نمو) بدن *A. urmiana*

با توجه به نسبت فراوانی اینستارها در هر مقطع زمانی در شوریهای مختلف، به طور کلی می‌توان چنین استنباط نمود که تبدیل و تحولات

تکوینـــی در شـــوریهای پاییـــن ســـریعتر صورت می‌گیرد (نمودار ۱).

در اکثر مقاطع زمانی، اینســـتارهای پیشـــرفته تری در شوری ppt ۳۵ نسبت به سایر شـــوری ها دیده می‌شود. سپس، به ترتیب، شـــوری هـــای ۶۰، ۱۰۰، ۱۴۰ و ۱۸۰ ppt اینســـتارهای پیشـــرفته تر دارند. در واقع، پس از گذشت روزهای ۲ و ۴ تفریخ، که مراحل اینستاری پیشرفته تری در شـــوری ۶۰ ppt نسبت به شوری ۳۵ ppt شکل می‌گیرد (نمودارهای A,B ۱)، لاروهای موجود در شوری ۳۵ ppt، بـــه طور انفجـــاری، مراحل اینســـتاری را یکی پس از دیگری پشـــت سر گذاشتند (نمودارهـــای C,D ۱) و تا روز ۱۵ (با دارا بودن اینستار پیشرفته) بر دیگر شوری ها مقدم می‌باشد (نمودارهای E-F ۱). عبور انفجاری برای ســـایر شـــوری ها با اندکی تاخیر (همگام با بالا رفتن شوری): شوری ۳۵ ppt در روزهـــای ۶ و ۸ (نمودارهـــای C ,D ۱)، شـــوری ۶۰ ppt، در روز ۱۰ (نمـــودار E ۱) و شـــوری ۱۴۰ ppt در روزهای ۱۰ و ۱۲ (نمودارهای F , E ۱)، مشاهده می‌شود.

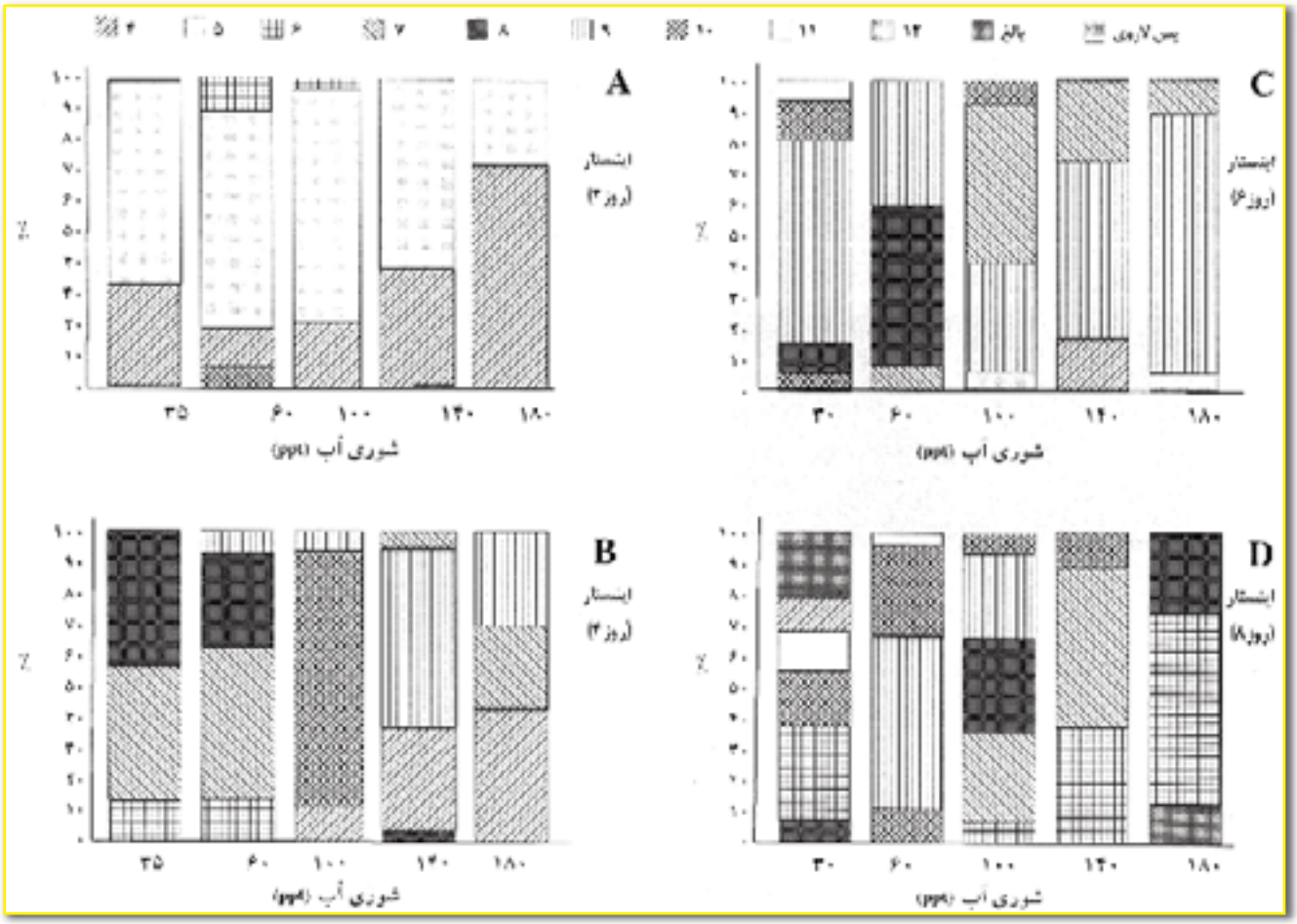
هرچنـــد کـــه پیـــش از محیط های شـــور دیگر، در شوری ۳۵ ppt افراد بالغ می‌شـــوند (نمودار G ۱)، ولـــی هیچگاه اکثریتی از افراد بالغ در این شـــوری دیده نشده است (نمودار ۲). از روز ۱۸ تفریخ، شوری ۶۰ ppt، و از روز ۲۱، شوری های ۱۰۰ و ۱۴۰ ppt دارای آرتمیاهـــای نمو یافته تری نســـبت بـــه آرتمیاهای موجود در شـــوری ۳۵ ppt بودنـــد؛ ســـرانجام، در روز ۲۴، بیشـــترین نســـبت آرتمیـــای بالغ در شـــوری ۱۰۰ ppt دیده می‌شود (نمودارهای G ,I ۱).

نمودار ۲، نمای دیگری از نمودارهای ۱ بوده و ســـرعت عبور از هر اینســـتار به اینســـتار بعدی را در شوری های مختلف نشـــان می‌دهد. با توجه به این نمودارها، هرچه میزان شـــوری آب پایین تر باشد، مراحـــل تکوینـــی (شـــکل ۲) با ســـرعت بیشتری طی می‌شود.

در شـــوری ۱۸۰ ppt (در شـــرایط آزمایشـــگاهی)، افراد حداکثـــر تا روز ۱۲

جدول ۱: میانگین طول بدن *A. urmiana* در شوری های مختلف.

روز ۲	شوری (ppt)	میانگین طول بدن (mm)	روز ۴	۱ر ۳۵	۶ روز	۱ر ۳۵	۸ روز	۱ر ۳۵	۱۸ روز	۱ر ۳۵
۳ر ۶۰	۳ر ۶۰.۵	۱/۰۲[۴]		۳ر ۶۰		۳ر ۶۰		۳ر ۶۰		۳ر ۶۰
	۲ر ۶۰	۱/۰۱[۴]		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰
	۳ر ۱۰۰	۱/۰۱[۴]		۴ر ۱۴۰		۴ر ۱۴۰		۴ر ۱۴۰		۴ر ۱۴۰
	۴ر ۱۴۰	۰/۹۹[۴]		۵ر ۱۸۰		۵ر ۱۸۰		۵ر ۱۸۰		۵ر ۱۸۰
	۵ر ۱۸۰	۰/۹۳								
روز ۱۰	۱ر ۳۵	۲/۹۱±۰.۳۸۵	روز ۱۲	۱ر ۳۵	روز ۱۵	۱ر ۳۵	روز ۱۸	۱ر ۳۵	روز ۲۱	۱ر ۳۵
روز ۱۰	۲ر ۶۰	۲/۳۰±۰.۳۸۵		۲ر ۶۰		۱ر ۶۰		۲ر ۶۰		۲ر ۶۰
	۳ر ۱۰۰	۲/۴۱[۴]		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰		۳ر ۱۰۰
	۴ر ۱۴۰	۱/۷۷		۴ر ۱۴۰		۳ر ۱۴۰		۴ر ۱۴۰		۴ر ۱۴۰
	۴ر ۱۸۰	۱/۵۵		۴ر ۱۸۰						
روز ۲۱	۱ر ۳۵	۷/۷۸[۴]	روز ۲۴	۱ر ۳۵		۸/۸۲		۷/۳۷[۱۱]		۷/۸۵[۴]
	۲ر ۶۰	۹/۹۲[۱۱]		۲ر ۶۰		۱۰/۶۲[۱۱]		۷/۴۷		۸/۷۲[۱۱]
	۳ر ۱۰۰	۸/۶۸[۱]		۳ر ۱۰۰		۱۰/۳۲[۱۱]		۶/۵۲		۸/۰۶
	۴ر ۱۴۰	۶/۶۹				۸/۸۲		۳/۷۳		۵/۶۸



نمودار ۱- درصد اینستارهای موجود در شوریهای مختلف در دو مقطع زمانی (A-J).

زنـده باقی می‌مانند و تا اینسـتار ۹ پیش می‌روند (نمـودار F ۱)؛ هرچند که اکثریت، با لاروهای اینسـتار ۷ اسـت (نمودار ۲)، لیکن در همین دوره تکوینی ۱۲ روزه، در شـوری ppt ۳۵، به مرحلهٔ پس لاروی می‌رسند. نکتهٔ جالب توجه این اسـت که با وجود اینکه افراد در شوری ppt ۳۵، بسرعت، مراحل اولیه لاروی را پشـت سـر می‌گذارند، ولی تا روز ۳۰ که مشاهدات ادامه یافت، هیچگاه نسـبت افراد بالغ به ۵۰٪ نرسـید، در حالیکه در سایر شـوری‌ها (به استثناء شـوری ppt ۱۸۰ که حداکثر ۱۲ روز زنده ماندند)، پس از گذشت این مدت، اکثر افراد بالغ بودند.

تجزیه و تحلیل آماری نشـان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) بین تعداد افرادی که در دوره‌های مختلف لاروی در شـوری‌های متفاوت قرار می‌گیرند، وجود دارد.

ج: تأثیر شوری بر بقاء *A. urmiana*

با توجه به نمودار ۳، شوری های ۶۰ و ppt ۱۰۰ بقاء بهتری را تأمین می‌کنند. در شوری ppt ۱۸۰، تا روز ۱۴، فرد زنده ای باقی نمی‌ماند. شوری ppt ۳۵، همانند شوری ppt ۱۸۰، باعث مرگ و میر زیاد تا روز ۱۴ شده و نسبت مرگ و میر تا روز ۸، حتی از شوری ppt ۱۸۰ نیز بیشتر می‌باشد.

شوری ppt ۳۵ می‌رسد و از آن پس بر آن پیشی می‌گیرد.

بحث

اثرات جانبی ناشـی از وجود اسـترس محیطی (مانند شوری) به شدت اسـترس و توانایی سازش جاندار بسـتگی دارد. اگر شدت بیشتر و توانایی جاندار برای از بین بردن اسـترس کمتر باشـد، اثرات ناشـی از آن بیشـتر مشـهود خواهد شـد. اگرچه مکانیسـمهای جبران کننده و برطرف کننده اسـترس، موجـود زنـده را حفظ کـرده و آن را زنـده نگه مـی‌دارد، ولی استرسـهایی که کشنده نیستند نیز می‌توانند عواقب ناگواری در پی داشته باشـند. به عبارت دیگر، هرچند که آرتمیا می‌تواند هموسـتازی اسمزی را در شوریهای بالا حفظ کند، لیکن نیاز بیش از حد به انرژی در شوری های بالا ممکن اسـت فعالیت‌های دیگر (رشـد و تولیدمثل) آنرا تحت تأثیر قرار دهد. تأثیر افزایش شوری آب علاوه بر اینکه بر بسیاری از جنبه های رشد و تولید مثل آرتمیا آزموده شده است، ولی اکثر این آزمایشها آرتمیای دریاچه بزرگ نمک آمریکا[۱۲] را دربر می‌گیرد (۶).

آنچه (بر اسـاس نتایج بدسـت آمده) در مورد تاثیرات شـوری آب بر رشد *A. urmiana* می‌توان بیان داشت این است که شوری‌های حد واسط

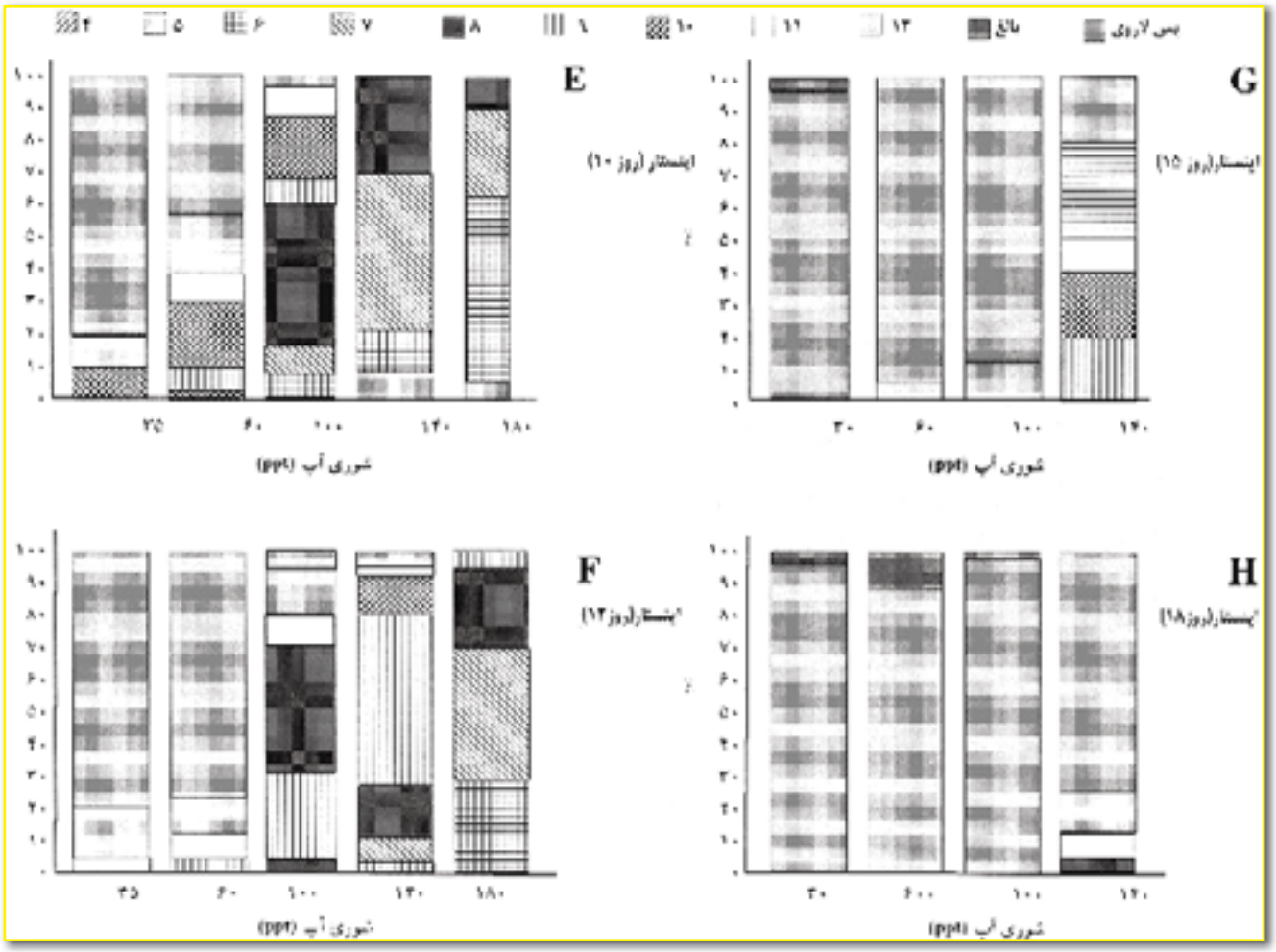
(۱۰۰ ppt و ۶۰) در نهایت بیشترین رشد را تامین می‌کنند. البته، در اوایل دوره پرورش (حدود روز ۱۵)، شوری پایین (۳۵ ppt) رشد طولی بهتری را باعث می‌شود. این امر با نتایج Reeve (۱۹۶۳) در مورد آرتمیای دریاچه بزرگ نمک سازگار است، لیکن، از آن هنگام به بعد، شوری های۶۰ ppt، سپس، ۱۰۰ ppt بر شوری مزبور پیشی می‌گیرند. عدم وجود تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۵$)، بین میانگین طول لاروها در شوری‌های ۳۵ و ۶۰ ppt، در روز ۱۵ (جدول ۱)، نشان‌دهنده افزایش سرعت نسبی رشد در شوری ۶۰ ppt است؛ طول بدن لاروها در این روز به شوری ۳۵ ppt می‌رسد و از آن پس بر آن پیشی می‌گیرد.

نتیجه بررسی رشد دو جنس ماده و نر، به طور جداگانه، نشان می‌دهد که در تمام شوری ها، میانگین طول بدن ماده ها از نرها بیشتر است (جدول ۲)؛ این نتیجه با نتایج بررسیهای آزمایشگاهی، (۶) و محیط طبیعی (۱۲) مطابقت دارد. چنانکه از نتایج برمی‌آید، رشد طولی جنس ماده در شوری‌های بالا بهتر صورت می‌گیرد و این امر در مورد جنس نر دقیقاً برعکس است. سازگاری بیشتر جنس ماده را می‌توان در تفسیر مشاهدات

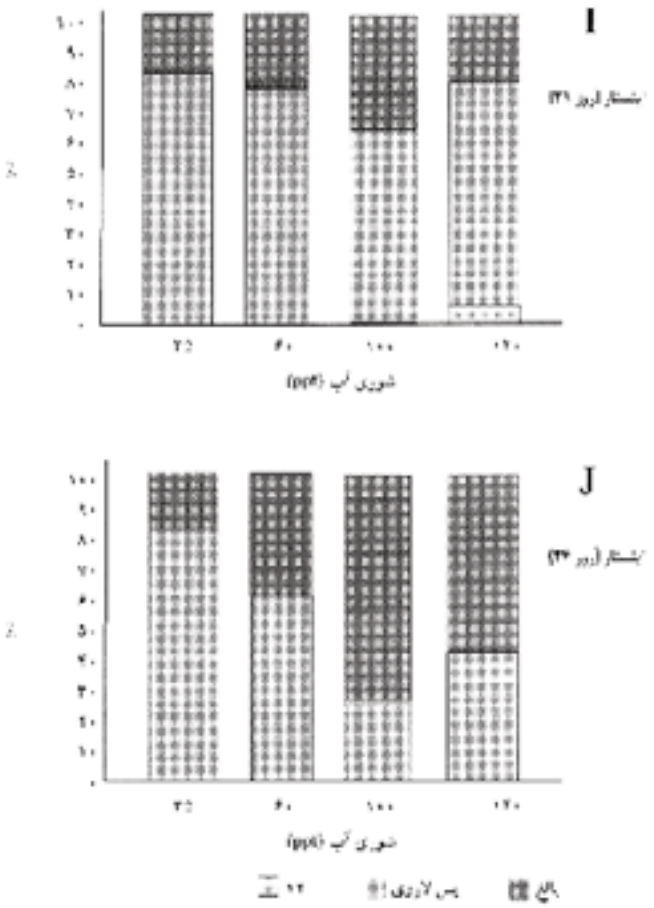
اِق در رابطه با آرتمیای بکر زای برکه های اطراف دریاچهٔ ارومیه (که به علت تبخیر، آب شورتری نسبت به دریاچه دارند) مورد استفاده قرار داد.

برای بررسی تأثیر شوری آب بر مراحل نمو زندگی آرتمیا، تغییر و تبدیل اینستارها مدنظر قرار گرفت. اگر شوری، باعث تقدم و تأخر در روند پوست‌اندازی و عبور از یک اینستار به اینستار بعدی نشود، این توقع بوجود می‌آید که در مقاطع زمانی یکسان در شوری‌های مختلف، اینستارهای یکسانی وجود دارند. با مراجعه به نمودار ۲ مشاهده می‌شود که این فرضیه با واقعیت مغایرت کامل داشته و تغییر در شوری آب به شدت بر زمان عبور اینستارها و تبدیل آنها به یکدیگر اثر می‌گذارد.

همچنین، اگر لاروها در شوری‌های مختلف (از نظر چگونگی طی دوره‌های تکوینی)، استراتژی یکسانی در پیش بگیرند، می‌بایستی بین تعداد لاروهای هر دوره تکوینی در هر شوری با سایر شوری‌ها تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشود، در حالی که نتایج حاکی از وجود تفاوت زیاد و معنی دار ($p< ۰/۰۵$) بین تعداد افراد در شوری‌های مختلف است (جدول ۳)، هرچند که بین شوری‌های ۳۵ و ۶۰ ppt از یکسو و ۱۰۰ و ۱۴۰ ppt



ادامه نمودار ۱



ادامه نمودار ۱

از سوی دیگر (به علت نزدیک بودن این شوری ها به یکدیگر)، در سطح α =۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار نبود؛ بـه عبارت دیگر، شـوری‌های نزدیک بـه هم باعث ایجاد استراتژی های مشابه تکوینی می‌شوند و این خود شاهدی بر تأثیر شوری آب بر نحوه نمو جاندار است (جدول ۳).

نکته جالب توجه دیگری که در نمودار ۲ ظاهر شده است، تاثیر مطلوب‌تر شوری‌های حد واسط بر نمو آرتمیاسـت که در مورد رشـد جانور نیز صدق نمود. به عبارت دیگر، شـوری‌های پایین و بالا (هر دو) بر روند نمو جانور، به ویژه در رسیدن به مرحلهٔ بلوغ، تاثیـر منفی می‌گـذارد، چنانچه در شـوری ۳۵ ppt، بـا وجود اینکـه مراحل اینسـتاری اولیه به سرعت پشـت سر گذاشته می‌شـوند، ولی برای رسـیدن به بلوغ با مشـکل مواجه شده وهرگز یک اکثریت بالغ از آرتمیا در جمعیت ۳۵ ppt بدسـت نمی‌آید (نمودار ۱ J).

البته شـوریهای بالا (۱۴۰ و ۱۸۰ ppt) نیز نمی‌توانند به طور مطلوبی نمو جانور را به پیش ببرند (نمودار ۱)، همانطور که در مورد رشد جانور نیز چنین بود (جدول ۱). این نتایج بخوبی با نتایج تأثیر شـوری بر A. monika[۱۴] تطابق دارد، زیرا بیشـترین اثرات شوری بر نرخ رشـد، طی روزهای ۲۲ـ۴ مشـاهده شده و پوست اندازی در شـوری های بالا (۱۵۹ و ۱۷۹ ppt) و پایین به وضوح تفاوت داشته است، به طوری که، در شوری های بالا، لاروها در اینستارهای ۴ و ۵ باقی مانده و در شوری ۱۷۹ ppt حتی به مرحله تولید مثل نرسیدند (۶) . اما در مورد *A. urmiana*، بر اساس تحقیقات در روزهای ۲۱ و ۲۴، حتی در شوری بالا (۱۴۰ ppt) نیز اکثریت لاروها در دوره پس لاروی و حتـی بلوغ قرار داشـتند. بدین لحاظ گمـان می‌رود، زمان مورد نیاز برای طی مراحل تکوین و رسیدن به بلوغ در *A. urmiana* خیلی کوتاه‌تر از *A. monika* باشد.

براساس نتایج بدست آمده، اگرهدف رسیدن به بلوغ وتولید مثل اسـت، مناسب ترین شـوری برای طی مراحل تکوین در پرورش *A. urmiana*، ۱۰۰ ppt می‌باشد، زیرا اکثریت لاروها به بلوغ رسیده و از این لحاظ بر سایر شوری‌ها پیشی می‌گیرد (نمودارهای ۱ H–J).

نکته جالب توجه پس از مقایسه تاثیرات شوری آب بر رشد، و از سوی دیگر بر نمو، این است که به نظر می‌رسد تغییرات کمی(شامل رشـد طولی بدن) و کیفی (شـامل نمو و تبدیل اینستارها)، انطباقِ فـراوان بـا یکدیگر دارند. در روزهای ۲ و ۴، طـول بدن جانوران در شوری های ۳۵ و ۶۰ ppt تقریباً یکسان و حتی در لاروهای بوجود آمده در شـوری ۶۰ ppt اندکی بیشتر است (جدول ۱)؛ این حالت در بررسـی پیشـرفت مراحل نمو (نوع اینسـتار) نیز دقیقاً مشاهده می‌شود (نمودارهای ۱ A , B). طول بدن و پیشرفت تکوینی لاروها در شـوری ۳۵ ppt سـرانجام در روز ۱۵، میانگین طول و پیشرفت تکوین لاروها در شوری ۶۰ ppt از شوری ۳۵ ppt بر سایرین پیشی می‌گیـرد و در روز ۱۸ تفـاوت معنـی دار اسـت ($P<$۰/۰۵). طی روزهـای ۱۸، ۲۱ و ۲۴، تدریجاً میانگین طول بدن در شـوری‌های ۱۰۰ و ۱۴۰ ppt نیـز از ۳۵ ppt جلـو می‌افتد، که این امر با نتایج

شوری (ppt)	میانگین طول بدن نر (mm)	میانگین طول بدن ماده (mm)
۱) ۳۵	۸/۵۶^{a}	۸/۹۶^{a}
۲) ۶۰	۹/۷۷^{ab}	۱۰/۹۵^{ab}
۳) ۱۰۰	۹/۵^{ac}	۱۰/۹۶^{ac}
۴) ۱۴۰	۸/۰۲^{d}	۹/۷۷^{d}

جدول ۲: مقایسهٔ میانگین طول بدن دو جنس نر و ماده *A. urmiana* در شوری های مختلف، در روز ۲۴. اعداد کوچک لاتین معرف وجود تفاوت معنی دار ($p<$۰/۰۵) مربوط به همان ستون می باشند؛ حروف کوچک لاتین مشترک نیز تفاوت معنی دار ($p<$۰/۰۵) دارند .

a) دوره ناپلیوسی، اینستار ۱ (بزرگنمایی ×۴۰).

b) دوره متاناپلیوسی، اینستار ۲ (بزرگنمایی ×۴۰).

c) دوره متاناپلیوسی، اینستار ۴ (بزرگنمایی ×۴۰).

d) دوره پس متاناپلیوسی، اینستار ۶ (بزرگنمایی×۴۰).

e) دوره پس لاروی (بزرگنمایی ×۴۰).

شکل ۲: مراحل مختلف لارو *A.urmiana*:

جدول ۳: نتایج آنالیز آماری در سطح ۰/۰۵ =a، از نظر تعداد افرادی که در شوری های مختلف در دوره های متفاوت تکوینی قرار می گیرند. ستاره به معنای معنی دار بودن مقایسه است (گروه‌های مورد مقایسه: ۱ = شوری ppt ۳۵، ۲ = شوری ppt ۶۰، ۳ = شوری ppt ۱۰۰، ۴ = شوری ppt ۱۴۰ و ۵ = شوری ppt ۱۸۰).

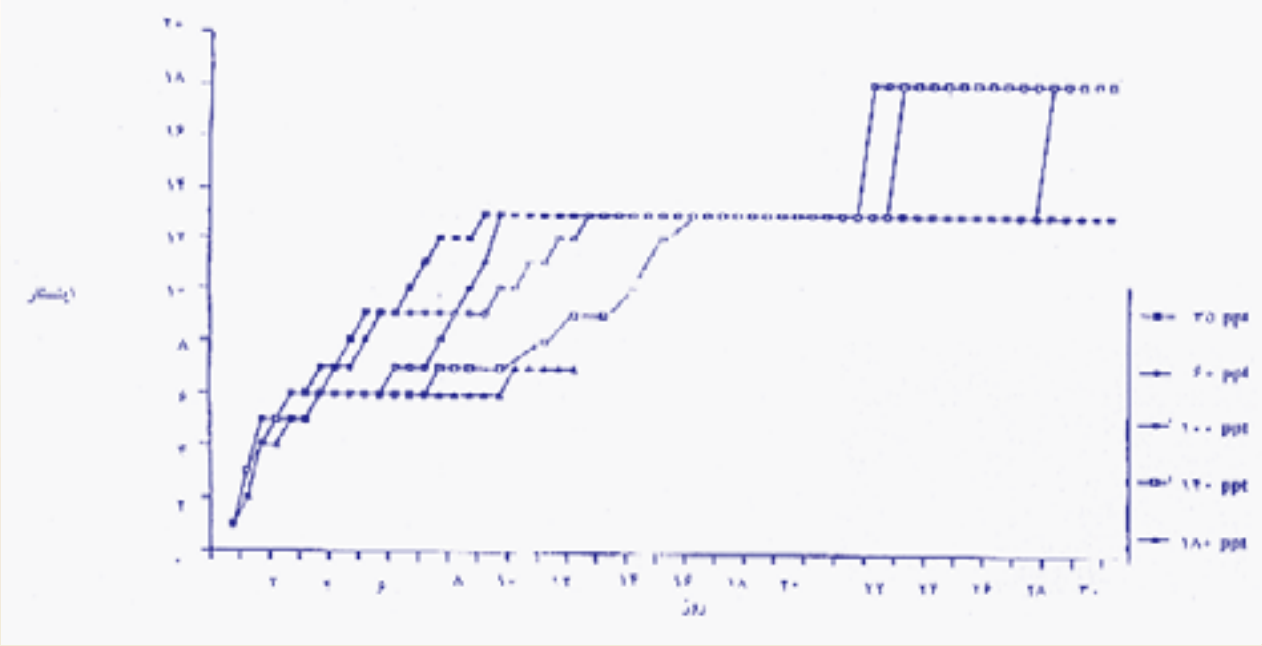
گروه‌های مورد مقایسه	مقدار کای اسکوئر برای ضریب پیرسون	درجه آزادی	P
۱ و ۲	۵/۶۳	۳	۰/۱۳
۱ و ۳	۳۷/۰۹	۳	۰/۰۰*
۱ و ۴	۵۵/۵۲	۳	۰/۰۰*
۱ و ۵	۱۴۱/۱۳	۳	۰/۰۰*
۲ و ۳	۱۷/۵۲	۳	۰/۰۰*
۲ و ۴	۳۶/۶۶	۳	۰/۰۰*
۲ و ۵	۱۳۱/۲۷	۳	۰/۰۰*
۳ و ۴	۶/۷۱	۳	۰/۰۸
۳ و ۵	۸۸/۹۰	۳	۰/۰۰*
۴ و ۵	۶۰/۶۵	۳	۰/۰۰*

نسبت فراوانی اینستارها (نمودارهای G-J ۱)، که معرف پیشرفت تکوین آرتمیا است)، همخوانی دارد؛ یعنی، رشد و نمو و به عبارت دیگر، تغییرات کمی‌و کیفی بدن، همسو و منطبق با هم پیش می‌روند و دارای مکانیسم های وابسته به هم و شاید یکسان می‌باشند.

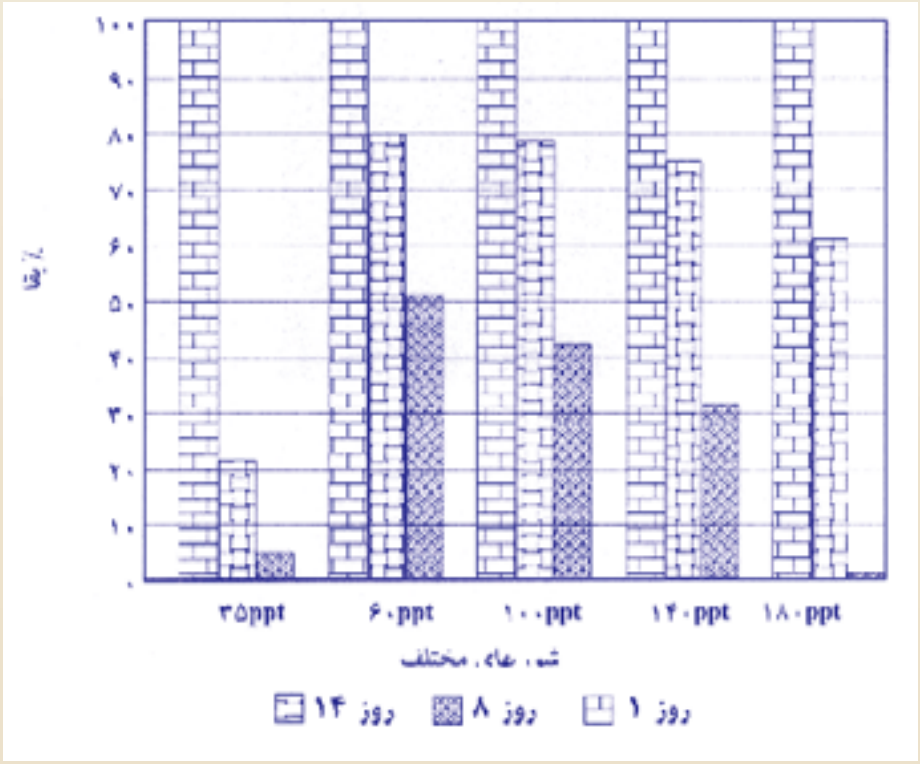
مراحل اولیه رشد و نمو، به سرعت در شوری ppt ۳۵ افزایش می‌یابد که لازمه پوست اندازی، آبگیری از محیط و افزایش حجم است(۱۱). از طرفی، شوری پایین نیز همانند شوری بالا، باعث ایجاد استرس در جانور شده و در چرخه زندگی آن اختلال بوجود می‌آورد (۶) که این امر به وضوح در ناتوانی جانور در به اتمام رساندن سیر تکوین لاروی و رسیدن به بلوغ مشاهده می‌شود (نمودار ۲). از سوی دیگر، شوری بالا نیز باعث وارد آمدن استرس بر جانور شده و رشد و نمو آن را مختل می‌سازد. افزایش شوری در ادس اجیپتی[۱۳] ، باعث افزایش مصرف اسیدهای آمینه، به ویژه لوسین و گلوتامیک اسید، به منظور سنتز لیپیدها می‌شود(۶)، هرچند که این موضوع در مورد *A. urmiana* هنوز به اثبات نرسیده ولی اگر چنین باشد، می‌توان یکی از علل کاهش رشد و نمو آرتمیا در شوری بالا را کمبود اسیدهای آمینه (به ویژه اسیدهای آمینه مزبور) دانست. علت دیگر نیز می‌تواند افزایش نیاز به انرژی در شوری بالا، برای تنظیم فشار اسمزی بدن باشد که با مصرف ذخایر غذایی، نرخ رشد و نمو را در شوری های بالا کاهش می‌دهد(۶) .

آرتمیا جانداری اسمورگیولاتور[۱۴]، با تنظیم اسمزی از نوع تنظیم کننده هیپر- هیپو[۱۵] می‌باشد. الگوی تنظیم اسمزی *A. urmiana*، درنخستین مرحله پس جنینی[۱۶] که همان دوره ناپلیوسی است، پایه‌گذاری می‌شود(۴). طبق تحقیقات، غلظت Cl^-، Na^+ و K^+ در ناپلیوس *A.salina* همواره در حد پایین نگه داشته می‌شود (۱۶) . تنظیم اسمزی در لارو *A. urmiana* بر عهدهٔ غدهٔ نمک است که در سطح پشتی سر سینه[۱۷] واقع شده و دارای تعداد زیادی سلولهای انتقال دهندهٔ یونی می‌باشد (۹) . سلولهای مذکور، فعالیت K^+-Na^+ ATPase شدید داشته و در ترشح Na^+ و Cl^- نقش به سزایی دارند(۴) . بدیهی است که هرچه غلظت نمک محیط بیشتر باشد، این سلولها به فعالیت و انرژی بیشتری برای ثابت نگه‌داشتن تعادل اسمزی بدن نیاز دارند و با مصرف ذخایر غذایی، سرعت رشد و نمو کاهش می‌یابد.

شوری‌های بهینه برای بقای *A.urmiana* نیز با توجه به نمودار ۳، ppt ۱۰۰ و به ویژه ppt ۶۰ می‌باشند. این نتیجه با نتایج بررسی جمعیتهای مختلف آرتمیا که بقاء آنها از حدود شوری ppt ۱۲۰ کاهش



نمودار ۲: اینستارهای غالب در طول دوره پرورش در هر شوری.



نمودار ۳: درصد بقا در شوری های مختلف.

می‌یابد، مطابقت دارد (۳)؛ همچنین، آرتمیای دریاچه بزرگ نمک یوتا ۲۱ ، فقط شوری‌هایی تا حدود ppt ۱۷۵ـ۱۴۶ را تحمل می‌کند (۳) ، هرچند که به طورکلی آرتمیا می‌تواند در شوری های نسبتاً بالا زنده بماند، ولی به خاطر مصرف ذخایر انرژی، بر روند رشد و تولیدمثل آن اثر منفی می‌گذارد (۶). البته نتایج کارهای آزمایشگاهی دقیقاً با طبیعت انطباق ندارد، زیرا هنگام انجام تحقیقات (زمستان ۷۸)، شوری آب دریاچه ppt ۲۲۰ بوده و آرتمیا این شوری را تحمل می‌نمود، منتها در آزمایشگاه، شوری ppt ۱۸۰ تنها تا مدت محدودی قابل تحمل بود (نمودار ۳).

پاورقی‌ها

1. Hatching
2. Nich
3. Naupliar period
4. Metanaupliar period
5. Post-metanaupliar period
6. Post-larva period
7. Post-mandibular somite
8. Instar
9. Cone
10. Reflectometer
11. Survival
12. Artemia Fransiscana
13. Aedes Aegypti
14. Osmoregulator
15. Hyper-hypo regulation
16. Post-embryonic stage
17. Cephalothorax
18. Utah

منابع مورد استفاده

۱- سلطان پیرمحمدی،س. محمدرضا تهرانی،م ،۱۳۷۳، اولین گزارش مشاهده و شناسایی آرتمیا در سیستان، بیولوژی آبزیان. سال هشتم. شماره ۷۶.

۲- مریم شمس لاهیجانی،م. آق‌ن. و فتوحی،ا. ۱۳۸۱، تأثیر شوری بر کیفیت تفریخ سیست آرتمیا اورمیانا، مجله پژوهش و سازندگی، جهاد سازندگی، شماره ۵۴.

3- Conte F.P., Hootman S.R. & Harris P.J. 1972., Neck organ of *Artemia Salina* nauplii. A larval salt gland. J. comp. Physiol., 80,239-246.

4-Conte F.P. 1984, Structure and function of the crustacean larval salt gland. Int.Rev. Cytol., 91, 45-106.

5- Coutteau P., Brendonck L., Lavens P. & Sorgeloos P. 1992, The use of manipulated baker's yeast as on algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiologia, 234, 25-32.

6-Dana G.L. & Lenz P.H. 1986, Effects of increasing salinity on an artemia population from Mono Lake, California. Oecologia, 68, 428-436.

7- Geddes M.C. 1980, The brine shrimps artemia and paratemia in Australia. The brine shrimp artemia. Vol.3, Ecology, culturing, use in aquaculture (ed. by G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roles and E. Jaspers), Universa Press, Wetteren, Belgium, 57-65.

8- Gilbert V.S. 1996, Introduction, biology and ecology of artemia. In: Manual on the prouduction and use of live food for aquaculture. Published by FAO, 88-89.

9- Hootman S.R., Harris P.J. & Conte F.P. 1972, Surface specialization of the larval salt gland in *Artemia salina* nauplii. J. Comp. Physiol., 79, 97-104.

10- Kaestane A.1967, Lehrbuch der speciellen Zoologie. Arthropoda, Jena, East Germany 1(3).

11- Kalber F.A. Costlow J.D. Jr. 1966, The ontogeny of osmoregulation and its neurosecretory control in the decapod Crustacean *Rhithropanopeus harrisii* (Gould). Amer. Zool. 6, 221-229.

12- Lenz P.H. 1984, Life - history analysis of an artemia population in a changing environment. J.Plancton Research, 6,678-983.

13- Persoone G. & Sorgeloos P. 1980, General aspects of the ecology and biogeography of artemia in: The brine shrimp artemia. 14- Persoone G., Sorgeloos P., Roels O. & Jaspers E. (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium, 3, 3-23.

15- Reeve M.R. 1963, Growth efficiency in artemia under laboratory condition. Biol. Bull., 125, 133-145.

16- Russler D. & Mangos J. 1978, Micropuncture studies of the osmoregualtion in the naplius of *Artemia salino*. Amer. J. Physiol., 234, 216-222.

17- Schrehardrt A. 1987, Scanning electron microscopic study of the post - embryonic development of artemia in: Artemia research and Its Applications. Sorgeloos P., Bengston D, Decleor A. & Jaspers E., Eds., Universa Press, Wetteren, Belgium, 5.

18-Triantaphyllidis G.V. et al. 1998, Review of the biogeography of the genus artemia (Crustacea, Anostraca). J. of Biogeography, 25, 213-226.

19- Vanhaecke P., Siddall S.E. & Sorgeloos P. 1984, International study on artemia. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of artemia of various geographical origin. J. exp. mar. Biol. Ecol., 80, 259 - 275.