بررسی اثر تغذیه‌ای کلرلا، کیتوسروس بر نرخ رشد و بازماندگی *Artemia urmiana*

• **محمود حافظیه**، بخش مدیریت ذخایر، موسسه تحقیقات شیلات

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۸۲ **تاریخ پذیرش:** مرداد ماه ۱۳۸۳

چکیده

A. urmiana **تخم گشایی شده در شرایط آزمایشگاهی در دو تیمار و چهار تکرار با تراکم۵۰۰ عدد در لیتر در آکواریوم های کوچک شیشه ای ۴ لیتری قرار داده شد و با کلرلا دریایی و کیتوسروس به مدت ۲۰ روز تغذیه شدند دیگر شرایط کشت آرتمیا چون دما، شوری و pH برای کلیه تیمارها و تکرارها یکسان در نظر گرفته شد. با تست آماری اختلاف میانگین ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود ۹۵٪ دارای اختلاف معنی دار است($p<0.05$) ، ولی میانگین بازماندگی در دو تیمار دارای اختلاف معنی دار نیست($p=0.4321$) . درصد میزان بقا و میانگین طول در گروه های تغذیه شده با کیتوسروس به ترتیب ۹۵٪ ، ۹۷٪، ۹۳٪ ، ۹۴٪ و ۷/۷۷، ۷/۷۶، ۸/۰۱ ، ۷/۸۷ میلی متر و در گروه تغذیه شده با کلرلا به ترتیب ۸۲٪، ۸۰٪، ۷۷٪ ، ۸۵٪ و ۷/۰۶، ۷/۶۶، ۶/۸۳، ۷/۵۳ میلی متر می باشد.**

کلمات کلیدی: ***A. urmiana***، جلبک، رشد، بازماندگی

Pajouhesh & Sazandegi No: 64 pp: 76-80

Effect of chaetocerus, chlorella as food on growth and survival rate of *Artemia urmiana*

By: M. Hafezieh, Iranian Fisheries Research Organization, (IFRO).

Artemia urmiana hatched in the laboratory condition were reared in small glass aquariums for 20 days with Chaetocerus sp. and marine Chlorella sp. The other cultur condition such as temperature, salinity and pH were same for all treatments and replicates. According to one-way variance analysis, there were significant difference in the mean growth rate among the treatment s of each group of artemia ($p<0.05$), but there were not significant difference in the survival percentages ($p=0.4321$). The average survival percentages and mean length of artemia fed on Chaetocerus sp. Were 95%, 97%, 93%, 94% and 7.77, 7.76, 8.01, 7.87; and for the artemia fed on Chlorella sp. Were 82%, 80%, 77%, 85% and 7.06, 7.66, 7.53, 6.83 respectively.

Key words: *Artemia urmiana*, Algae, Growth, Survival

مقدمه

فیتوپلانکتـــون ها در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و میکروجلبکها از ضروریات غذایی ســالن های تکثیرآبزیان مختلف دریایی از جمله دوکفه ای ها، نرم تنان، مراحل لاروی سخت پوستان و مراحل اولیه رشد برخی ماهی‌ها هستند. جلبک ها همچنین برای تولید زئوپلانکتونها(کوپه پودا، روتیفر و آرتمیا) ضروری هســتند. اعتقاد بر این اســت که این جلبک ها نقش مهمی در تثبیــت کیفیــت آب، تغذیه لاروها و کنترل میکروبــی دارند. البته تمام گونه‌های جلبکی برای رشــد و بقا موجوداتی که تغذیه فیلترکنندگی دارند به عنوان غذا موفق نیســتند. گونه های موفق و مناســب جلبکی بر اساس پتانسیل کشت توده ای ، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی انتخاب گشــته اند. تکنیک های مختلفی نیز برای رشــد این گونه ها توسعه یافته است تا بتوانیم در مقیاس های بزرگ چه به‌صورت کشت متراکم کنترل شده و چه به‌صورت کشت منفرد گونه ای متراکم آنها را بکار بریم(۵).

آرتمیا از نظر تغذیه ای، فیلتر کننده غیر انتخابی اســت ، بدین معنی که از کلیه مواد غذایی موجود در محیط که از نظر اندازه قابلیت ورود به دهان را داشته باشند، می توانند استفاده نمایند. عوامل مختلفی در نرخ فیلتراسیون ، هضم، جذب ورفتار تغذیه ای آرتمیا تاثیر می گذارند. کیفیت و کمیت غذا شامل شناوری، حداقل حل شدن در آب ، میزان هضم پذیری، اندازه و عوامل دیگری همچون مراحل لاروی و شرایط کشت از جمله فاکتورهای مهم هستند (۱۱).

آرتمیا از میکروفلور خارجی همچون ریز جلبک ها، باکتری ها و دتریت ها به خوبی تغذیه می نماید.

مواد وروش ها

با ایجاد شــرایط کشــت آرتمیا در آزمایشگاه ایســتگاه مرکز تحقیقات بوشــهر (شوری آب ۳۵ گرم در لیتر، دمای آب ۲۸ درجه سانتیگراد، تابش دو عدد مهتابی ۴۰ وات و هوا دهی مناسب از بخش انتهایی زوک)، سیست های آرتمیای دو جنســی دریاچه ارومیه تخم گشــایی گردید(۱). ناپلیوس های تازه تفریح شــده با تعداد مســاوی در دو تیمار و برای هر کدام چهار تکرار در آکواریوم های شیشــه ای کوچک ۴ لیتری تحت شــرایط زیستی یکســان (دما ۲۸ درجه ســانتیگراد شوری آب ۳۵ گرم در لیتر، pH در حد ۸-۷/۵) قرار داده شد. در هر تکرار ۵۰۰ ناپلیوس در لیتر قرار داده شد. و در مجموع در هر آکواریوم با توجه به ۳ لیتر آبگیری ۱۵۰۰ ناپلیوس رها ســازی گردید. تنها اختلاف محیط های کشــت در طی دوره پرورشی، نوع غذای مصرفی بود که در گروه نخست، کیتوسروس و در گروه دوم کلرلای دریایی استفاده گردید.

برای تهیه سوسپانســیون جلبکی بــا تراکم یکنواخت از هر گونه، ابتدا از توده جلبک ذخیره شــده در محیط آگار، به ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری محتوی محیط کشــت مایع ، تلقیح و روی میز کشــت با شــدت روشنایی ۳۰۰۰ لوکــس، دمــای ۲۶ درجــه ســانتیگراد پرورش انجام شــد. پس از شکوفایی، به ظروف بزرگتر منتقل گردید. پس از تکثیر نهایی، روزانه ۱۰۰ میلی لیتر از هر نمونه کشت شده به آکواریوم های آرتمیا اضافه گردیدشمار ســلول چلبکی در دو روز اول پرورش ۱۷۰ ســلول و در طی بقیه روزها، تا آخرین روز پرورش (روز بیســتم)، ۴۰ سلول در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا انتخاب گردید (۱۲).

کشت جلبک

مهمترین پارامترهای کشــت جلبــک ها ، کمیت و کیفیت غذا، میزان نور و pH، شفافیت، دما و شوری است.

دامنــه تحمل دمــا ۲۷-۱۶ و بهترین دما برای کشــت انواع جلبک ها ۲۴-۱۸ درجه ســانتیگراد ، دامنه تحمل شــوری ۴۰-۱۲ و بهترین شوری برای کشت جلبکی ۲۴-۲۰ گرم در لیتر ، دامنه تحمل شدت نور ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ و بهترین شــدت نور برای کشــت جلبکــی ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس، بهترین دوره نوری برحســب ســاعت ۲۴-۱۶ و دامنــه تحمل pH ۹-۷ و بهترین pH برای کشت جلبکی ۸/۷-۸/۲ می باشد (۷).

کشــت جلبک با غنی ســازی مواد مغذی که میزان آن در آب دریا کم است انجام می گیرد. این مواد شامل گروه بزرگ مولکولها، نیترات، فسفات(با نســبت ۶ به ۱) و ســیلیکات(مخصــوص دیاتومه هــا)، و ذرات کوچک مولکــول همچون ویتامیــن B_1، ســیانوکوبالامین (B_{12})و در برخی موارد بیوتین می باشند.

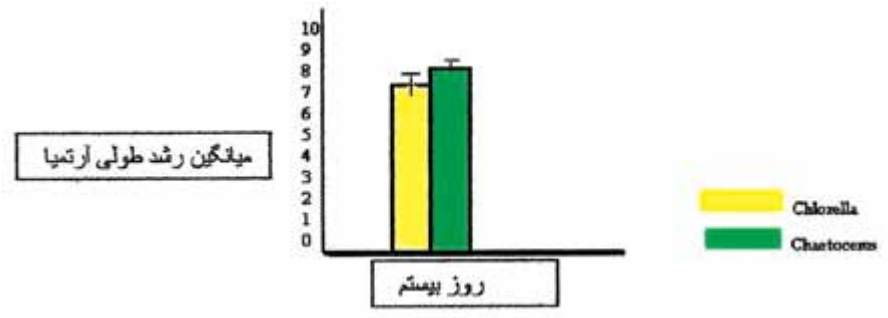
محیط کشت در این مطالعه Walne می باشد.

شمارش سلولهای جلبکی

برای شــمارش از هماتوســایتومتر Fuchs اســتفاده گردید. در صورت نیاز به رقیق کردن از فرمالین ۴٪ برای تثبیت استفاده شد و لامل را روی اســلاید تا حدی فشــار می دهیم تا حلقه های انکســار نیوتن نمونه دیده شود.

با کمک پیپت پاســتور، حفره های اســلاید را با سوسپانسیون پر می کنیم(طوری‌که از ایجاد حباب جلوگیری شــود) شمارش سلولها با عدسی ۴۰ کــه کوچکترین میدان دید را دارد و از روش Fuchs در فرمول ۱ قرار داده و محاسبه گردید (۴).

$n1 = n1+n2)/100\times10(5)\times d$ شــمار ســلولهای خــط عرضی n۲ = شمار سلولهای خط پایینی D = رقت



شکل ۱) میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیا تغذیه‌شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم

با توجه به منابع موجود شمار حدود ۱۷۰ سلول جلبکی در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا در طی دو روز اول تخمه گشایی آرتمیا و شمار ۴۰ سلول جلبکی در طی روزهای بعد تا پایان هفته سوم به منظور کشت و پرورش آرتمیا در آکواریوم توصیه شده است(۷).

در این تحقیق شمارش نمونه ها با توجه به فرمول بالا انجام و نسبت شمارشی- حجمی بدست آمد. غلظت جلبکی در روزهای سوم به بعد نسبت به دو روز اول بعد از تخم گشایی با هم متفاوت می باشد ولی حجم استفاده شده به عنوان محیط کشت روزانه مساوی می باشد.

تغذیه از روز دوم شروع و تا روز بیستم ادامه یافت و سپس ۲۰ نمونه از هر تکرار برداشت و پس از تثبیت در محلول لوگل ۱٪ ، طول آنها با کمک خط‌کش و استریومیکروسکوپ اندازه گیری و همچنین تعداد آرتمیاهای بالغ شمارش و نسبت به تعداد رهاسازی شده اولیه درصد گیری گردید.

میانگین داده ها در هر تیمار محاسبه و آنالیز واریانس یک طرفه داده ها بر اساس میانگین ها انجام شد.

نتایج

داده های مربوط به آنالیز واریانس یک طرفه میانگین طول های اندازه گیری شده در دو تیمار و چهار تکرار مربوط به *A. urmiana* تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا به شرح جدول ۱ و شکل ۱ می‌باشد.

با تست آماری اختلاف میانگین ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود اطمینان ۹۵٪دارای اختلاف معنی دار است ($p<۰/۰۵$)، ولی درصد میانگین بازماندگی در سطح ۹۵٪ اختلاف معنی دار ی را نشان نمی دهد($p=۰/۴۳۲۱$).

جدول ۱) محاسبات آماری میانگین رشد طولی آرتمیا تغذیه شده با دو نوع جلبک

معیار	تغذیه شده با کلرلا	تغذیه شده با کیتوسروس
Mean	۷/۲۷۳	۷/۸۵۳
#of Points	۴	۴
Std Deviation	۰/۳۹۲۵	۰/۱۱۴۵
Std Error	۰/۱۹۶۲	۰/۰۵۷۲۵
Minimum	۶/۸۳۵	۷/۷۶۱
Maximum	۷/۶۶۶	۸/۰۱۱
Median	۷/۲۹۷	۷/۸۲۱
Lower ۹۵٪ CI	۶/۶۴۹	۷/۶۷۱
Upper ۹۵٪ CI	۷/۸۹۸	۸/۰۳۵

همچنین داده های مربوط به آنالیر واریانس یک طرفه درصد میانگین بازماندگی در دو تیمار و چهار تکرار مربوط به *A. urmiana* تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا به شرح جدول ۲ و شکل ۲ می‌باشد.

درصد میزان بقا و میانگین طول در گروه های تغذیه شده با کیتوسروس به ترتیب ۹۵٪ ، ۹۷٪، ۹۳٪ ، ۹۴٪ و ۷/۷۷، ۷/۷۶، ۸/۰۱ ، ۷/۸۷ میلی متر و در گروه های تغذیه شده با کلرلا به ترتیب ۸۲٪، ۸۰٪، ۷۷٪ ، ۸۵٪ و ۷/۰۶، ۷/۶۶، ۶/۸۳، ۷/۵۳ میلی متر می باشد.

Mean difference= ۰/۵۷۹۸

The ۹۵٪ CI , ۰/۰۷۵۴ to ۱/۰۸۰

T= ۲/۳۸۶ with ۶ DF

The one tailed P value ۰/۰۱۴۹ -

The P value=۰/۰۳۶۴

جدول ۲) محاسبات آماری درصد میانگین بازماندگی آرتمیا های تغذیه شده با دو نوع جلبک

معیار	تغذیه شده با کلرلا	تغذیه شده با کیتوسروس
Mean	۸۲	۹۴
#of Points	۴	۴
Std Deviation	۲/۱۵	۲/۲۵
Std Error	۱/۱۷	۱/۱۸
Minimum	۷۷	۹۳
Maximum	۸۵	۹۷
Median	۸۱	۹۵
Lower ۹۵٪ CI	۷۶	۹۲
Upper ۹۵٪ CI	۸۶	۹۸

Mean difference= ۲۲/۳۶۶

The ۹۵٪ CI , ۱۰/۴۳۹ to ۳۴/۲۹۴

T= ۴.۵۸۹ with ۶ DF

The one tailed P value ۰/۰۰۱۹

The P value=۰/۴۳۲۱

بحث

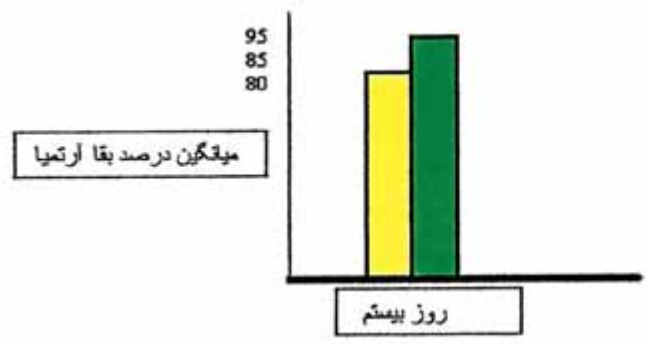
نتایج نشـان می دهد که اسـتفاده از کیتوسروس به عنوان غذای زنده آرتمیا نسـبت به تیمار کلرلا در افزایش اندازه طولی ، اختلاف معنی داری دارد(جدول ۱ و شـکل ۲) . از آنجا که اسید های چرب غیر اشباع HUFA از عوامل موثر در رشـد می باشـد (۷)، یکی از احتمالات ، افزایش رشد در آرتمیای تغذیه شـده با کیتوسروس ممکن است بالا بودن میزان اسید های چرب غیر اشباع در این گونه است که نیاز به آزمایش دارد.

در این بررسـی دامنه تغییرات طولی آرتمیاهای تغذیه شـده با کلرلا ۷/۶- ۶/۸ و در نمونـه های تغذیه شـده با کیتوسـروس ۸-۷/۷ میلی متر می‌باشـد. مقایسـه این دو گروه نشـان می‌دهد که تغذیه با کیتوسـروس مناسب تر و رشد سریعتری را سبب می گردد(p=۰/۰۳۶۴).

همانطور که از داده ها مشـخص است استفاده از کیتوسروس به عنوان غذای آرتمیا نسـبت بـه تیمار کلرلا در افزایش درصـد بازماندگی اختلاف معنی داری را نشـان نمی‌دهد. دامنه تغییرات درصد بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شـده با کلرلا، ۸۵٪-۷۷٪ و در نمونه های تغذیه شده با کیتوسروس ۹۷٪-۹۳٪ مـی بـاشـد(جـدول ۲ و ۳). مقایسـه ایـن دو گـروه نشـان می دهد که تغذیه با کیتوسروس تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کلرلا نشان نمی دهد (p=۰/۴۳۲۱).

Quyhn و Lam در سـال ۱۹۸۷ اعلام کردند که رشد آرتمیای ماده نژادهـای دریاچه بزرگ نمک امریکا، دریاچه ماکائو برزیل و بکرزای چینی در اسـتخرهای خاکی غنی شـده با کـود مرغی به ترتیـب ۱۱/۷، ۱۰/۱۵ و ۱۱/۳۵ میلیمتـر اسـت در صورتی‌که رشـد آرتمیاهای نر نـژاد دریاچه نمـک و ماکائو کمتر از ماده ها می باشـد. در هنـگام پرورش آرتمیای نژاد سانفرانسیسـکو از مرحله ناپلیوس تا بلوغ در استخرهای خاکی غنی شده با کود های حیوانی ومعدنی، مشـخص گردید که زمان پرورش متراکم، طول آرتمیـای ماده ۷ میلیمتر بود و در پرورش غیـر متراکم ۱۵ میلیمتر اندازه گیری شد(۹).

در تراکم های مختلف Tetraselmis و استفاده از یک تیمار مخمر به



شکل۲) میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیا تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم

عنـــوان غذای آرتمیا تاثیر معنی داری روی مدل تولید مثل آرتمیا بدســـت نیامد (۳).

Gibor در ســـال ۱۹۵۶ نشـــان داد کـــه آرتمیـــا نمـــی تواند جلبک Stichococcus را هضم نماید(۶).

اســـتفاده از میکروجلبک های خشـــک شده همچون اســـپیرولینا برای کشت آرتمیا موفقیت آمیز بوده است ولی به دلیل گرانی آن چندان توصیه نشده است (۱۰).

منابع مورد استفاده

۱- مخدومی ن، حســـینی ع، شـــریف پـــور ع.۱۳۸۱. پرورش آرتمیـــا(نژاد دریاچه اینچه) با تغذیه از جلبک سبز و سبز- آبی. مجله علمی شیلات ایران. سال یازدهم/ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۱.

2- Anonymous, 1991. The design and operation of live feeds production systems. In: Rotifer and micro-algae culture systems, Fulks, W. and Main K.L. (Eds.). Proceedings of a US-Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991The Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp 3-52.

3- Berthelemy, N.J' Okazaki and D. Hedgecock, 1998. Effect of environmental factors on cyst formation. Artemia and its application

4- Fuchs-Rosenthal and Bürker, 1980. ,IN: Manual on production and use of live food for aquaculture.

5- Gent University, 2001. Production and use of live food for aquaculture. Courseware developed at the Laboratory of Aquaculture &Artemia Reference Center , Gent University.

6- Gibor, M. 1956. Some ecological relationship between phyto – and zooplankton. Biol. Bull II: 230-234.

7- Lavens p. and Sorgeloos, P, 1996. Manual on production and use of live food for aquaculture. Lab of Aquaculture and Artemia Research Center, University of Ghent Belgium, FAO. Rome, 357 p.

8- Quynh V.D. and Lam, N.N, 1987. Inoculation of artemia in experimental ponds in central Vietnam. Artemia research and its Application, Vol. 3, pp.235-269.

9- Rosowskii, J.R, 1989. Rapid growth of *Artemia fransiscana* Kellog, In Xenic culture of Chlorella sp. Aquaculture, 81, pp. 185-203.

10- Schumann, Kai .2003: Artemia (Brine Shrimps) FAQ, in Discus article.html. internet search

11-Sorgeloos, P. Coutteau, P., Dhert, P. Merchie, G. and Lavens , P., 1998. Use of brine shrimp Artemia spp., in larval crustacean nutrition; A review. Reviews in Fisheries Science 6. 55-68.

12- Sorgeloose, P., 1996. Manual of live food production .