Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک خشک *Chlorella sp.* در مقایسه با جلبک‌های تازه *Nannochloropsis oculta* و *Isochrysis galbana* بر روند تغییر شاخص‌های تولیدمثلی روتیفر آب‌شور *Brachionus plicatilis*

احمد احمدی[۱]
نصراله احمدی فرد[۲*]
ابراهیم حسین نجد گرامی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

***مسئول مکاتبات:**
N.ahmadifard@urmia.ac.ir

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۳۰۳۴۶
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶
این مقاله برگرفته ازپایان‌نامه کارشناسی ارشد است.

چکیده

در مطالعه حاضر اثر جلبک‌های تازه *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* و جلبک خشک *Chlorella sp.* با دو غلظت بالا (۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر) و پایین ($۲/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر) بر روند شاخص‌های تولیدمثلی (تعداد روتیفرهای ماده تخم‌دار و تعداد تخم‌های چسبیده و جداشده و نرخ تخم) روتیفر آب‌شور (*Brachionus plicatilis*) بررسی شد. روتیفرها در شرایط استاندارد و در ظروف پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری با تراکم اولیه ۳۰ عدد در میلی‌لیتر کشت شدند. در مدت‌زمان کشت (۱۰ روز) از روتیفرها نمونه‌برداری و تعداد روتیفرهای تخم‌دار و تعداد کل تخم‌ها شمارش شدند. بر اساس آنالیز واریانس دوطرفه در روز اول و دوم فقط نوع جلبک تأثیر معنی‌دار را نشان داد و غلظت‌های مختلف و اثرات متقابل تأثیر معنی‌داری را نشان ندادند. از روز سوم تا روز ششم که پیک جمعیتی بود اثرات متقابل جلبک و غلظت تأثیر معنی‌داری بر ماده‌های تخم‌دار و تعداد کل تخم داشتند. در روزهای هفتم تا دهم به دلیل ثابت بودن میزان غذادهی در تیمارها فقط نوع جلبک تأثیر معنی‌داری داشته و غلظت‌های مختلف جلبک تأثیر معنی‌داری بر نتایج نشان ندادند. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین ماده‌های تخم‌دار (۷/۲۱±۱۲۲/۳۳ عدد در میلی‌لیتر) در هر دو غلظت بالا و پایین جلبک *I. galbana* در روز پنجم مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). همچنین حداکثر کل تخم‌ها در غلظت بالای جلبک *I. galbana* (۶/۸۰±۲۰۴ عدد در میلی‌لیتر) در روز چهارم مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. کمترین میزان تعداد کل تخم‌ها به‌طور معنی‌داری در روز پنجم آزمایش برای هر دو غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا به دست آمد ($P<۰/۰۵$). ازنظر تعداد کل تخم‌ها غلظت بالا از جلبک *N.oculta* و غلظت پایین از جلبک *I. galbana* باهم دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). همچنین بیشترین نرخ تخم در روتیفرهای تغذیه‌شده با دو غلظت بالا و پایین جلبک *I. galbana* مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از سایر تیمارها بود. بر اساس مطالعه حاضر کمترین تعداد تخم و ماده‌های تخم‌دار در تیمار جلبک خشک کلرلا به دست آمد و علی‌رغم دسترسی راحت از جلبک خشک کلرلا نمی‌توان به‌عنوان جایگزینی خوب استفاده کرد.

واژگان کلیدی: روتیفر *Brachionus plicatilis*، *Isochrysis galbana*، *Nannochloropsis oculta*، کلرلای پودری، شاخص‌های تولیدمثلی.

مقدمه

مهم‌ترین غذاهای زنده برای لارو ماهیان، جلبک‌های تک‌سلولی و پلانکتون‌های جانوری ازجمله روتیفرها هستند که در تغذیه لاروماهیان آب‌شور و شیرین اهمیت دارند (احمدی و احمدی فرد، ۱۳۹۳؛ ۱۳۹۵ و احمدی و همکاران ۱۳۹۴). روتیفرهای جنس *Brachionus* گروه مهمی از ارگانیسم‌های اکوسیستم‌های آبی را تشکیل می‌دهند، همچنین نقش قابل‌توجهی در مطالعات و پژوهش برای بهره‌برداری از منابع زنده آبزیان

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

دارند (Yufera, 2001). در سراسر دنیا به‌تنهایی یا با انواع دیگر غذاها برای رشد و نمو ماهیان دریایی و سخت‌پوستان استفاده می‌شوند (Suchar and Chigbu, 2006). روتیفرهای B.*pilicatilis* و *B.rotundiformis* به علت اندازه کوچک، سرعت شنای آرام، قابلیت معلق بودن در ستون مختلف آب و سهولت در پرورش از اولین منابع غذای خارجی برای گونه‌های آبزی هستند (Fielder *et al.*, 2000). سودآوری اقتصادی پرورش لارو در هجری‌های ماهیان دریایی تا حد زیادی بستگی به در دسترس بودن مداوم غذای زنده باکیفیت بالا دارد. در این راستا تقاضا برای روتیفرها در سال‌های اخیر به‌تدریج افزایش‌یافته است (Suantika *et al.*, 2003). علاوه بر کیفیت روتیفرها، کمیت روتیفرها نیز در مراکز تکثیر بسیار مهم می‌باشد. کمیت روتیفرها به مقدار زیادی وابسته به غذای در دسترس آن‌ها می‌باشد. با در دسترس بودن غذای باکیفیت توانایی تکثیر روتیفرها افزایش یافته و مقادیری از روتیفر ها در مدت‌زمان کوتاه به دست خواهد آمد (Kennari *et al.*, 2008). روتیفرها از انواع مختلفی از غذاها تغذیه می‌کنند و نوع غذای انتخابی آن‌ها به فاکتورهای زیادی بستگی دارد. به‌طورمعمول ارتباط خوبی بین فراوانی روتیفر و غلظت فیتوپلانکتون‌ها وجود دارد (Sarma *et al.*, 1996, Kennari *et al.*, 2008). بر اساس مطالعات صورت گرفته مشخص‌شده که روتیفرهای جنس *Brachionus* به‌طورمعمول از ذرات غذایی تا ۲۰ میکرون تغذیه می‌کنند (Gilbert, 1985, Kennari *et al.*, 2008, Starkweather, 1980). کیفیت تغذیه‌ای ریز جلبک‌ها به قابلیت هضم و میزان تراکم آن‌ها بستگی دارد که نوع رشد زئوپلانکتون‌ها در پاسخ به این شرایط می‌باشد (Dobberfuhidr and Elser, 1999). در بین گروه‌های مختلف، جلبک *N. oculta*، *I. galbana* برای تغذیه و رشد روتیفرها به‌طور گسترده‌ای استفاده می‌شود که ایزوکرایسیس مقادیر بالایی از DHA و نانوکلروپسیس EPA بالای را به خود اختصاص داده و به‌عنوان یک غذای بسیار خوب برای غنی‌سازی اسیدهای چرب در روتیفرها مطرح‌شده است (Brown *et al.*, 1997). کشت و تهیه این جلبک‌ها در شرایط فایکولب با مشکلاتی همراه است که استفاده از آن‌ها را محدود می‌کند و در بعضی مواقع باعث از بین رفتن ناگهانی کشت‌های جلبک می‌شود. متعاقب آن به علت در دسترس نبودن غذایی کافی برای روتیفرها منجر به شکست تکثیر آبزیان می‌شود. جهت جبران این مشکل در سایر کشورها برای تغذیه روتیفر از منابع غذایی آماده (به‌صورت غذای تجاری) استفاده می‌کنند که می‌توان به غذاهای تجاری Larviva ProCult وInstant Algae نام برد که جز منابع غذایی غنی بوده که پایه غذایی جلبکی دارند. در سال‌های اخیر در ایران نیز جلبک‌ها به‌صورت انبوه کشت‌شده و خشک می‌شوند و به‌عنوان مکمل‌های غذایی مورد مصرف قرار می‌گیرند. جلبک کلرلا یکی از این جلبک‌ها با اندازه حدود ۱۰ میکرون می‌باشد که در کشور تولید و خشک می‌شود. این جلبک یک منبع کربن آلی مانند گلوکز یا اسید استیک جهت رشد داشته که برای پرورش روتیفر می‌تواند مفید باشد (Hirayama *et al.*, 1989). در تحقیقی Mostary و همکاران (۲۰۱۰) از جلبک خشک کلرلا در کنار جلبک تازه و مخمر نانوایی برای تغذیه روتیفر *B.plicatilis* استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که جلبک کلرلا به‌صورت خشک می‌تواند به‌صورت کامل مورداستفاده روتیفر قرار گیرد.Lucía-Pavón و همکاران (۲۰۰۱) از غلظت‌های مختلف جلبک *Chlorella vulgaris* به سه حالت زنده، کشته‌شده با حرارت و فریز شده در تغذیه روتیفرهای *Brachionus calyciflorus* و *Brachionus patulus* استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که جلبک تازه نسبت به ۲ حالت دیگر تأثیر بهتری بر فاکتورهای تولیدمثلی دارد. در مطالعه‌ای اثر سه نوع غذای متفاوت شامل پودر جلبک اسپیرولینا (یک گرم برای یک‌میلیون روتیفر)، کلرلای تغلیظ شده (۱۳ میلیون سلول در میلی‌لیتر) و غذای تجاری Culture selco بر رشد و تولیدمثل روتیفر آب‌شور بررسی شد و نتایج نشان داد که پودر جلبک اسپیرولینا به‌تنهایی نمی‌تواند به‌عنوان یک غذای کامل در پرورش روتیفر آب‌شور مطرح باشد هرچند میزان شاخص پروتئینی این جلبک بیشتر از سایر جلبک‌ها است؛ بنابراین ترکیبی از پودر جلبک اسپیرولینا با جلبک کلرلای تغلیظ شده نتایج بهتری در رشد روتیفر داشته است (Jabeur *et al* 2013). در مطالعه حاضر از جلبک خشک *Chlorella sp.* در کنار جلبک‌های تازه *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* با دو غلظت $۲/۵\times۱۰^{۶}$ و ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر جهت بررسی شاخص‌های تولیدمثلی روتیفر *Brachionus plicatilis* در جهت جایگزینی با جلبک‌های تازه مورداستفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۳ گونه جلبکی شامل جلبک‌های تازه *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* و جلبک خشک *Chlorella sp.* استفاده‌شده است. جلبک‌های تازه طبق روش استاندارد (Laing and Britain, 1991) با استفاده از محیط کشت والنه کشت شدند. محیط کشت والنه شامل ۲ محلول (محلول عناصر ضروری و محلول ویتامین‌ها) بوده که برای کشت اغلب جلبک‌های سبز قابل‌استفاده است. بعد از آماده‌سازی محیط کشت و استریل کردن، کشت جلبک در ظروف شیشه‌ای (ارلن مایر) و ظروف پلاستیکی با افزودن ۲۰ سی‌سی جلبک به ازای هر لیتر در شرایط آزمایشگاهی استاندارد شامل میزان نور ۳۰۰±۳۰۰۰ لوکس، دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی و دمای مطلوب ۳±۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برداشت جلبک در روز ششم (مرحله فاز لگاریتمی) انجام گرفت و برای شمارش جلبک از لام نئوبار استفاده شد. جلبک‌های برداشت‌شده در محیط تاریک و سرد در دمای یخچال برای استفاده نگهداری شدند. مقداری از جلبک‌های کشت‌شده با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شدند و با استفاده از وزن سنجی وزن معادل $۲/۵\times۱۰^{۶}$ و ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر از آن‌ها مشخص شد. جلبک خشک *Chlorella sp.* به‌صورت پودر جلبکی از پژوهشکده آب‌های داخلی بندر انزلی تهیه گردید. از جلبک خشک کلرلا به مقدار ۰/۱ گرم (معادل $۲/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر) و ۰/۲ گرم (معادل ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر) برای آزمایش استفاده گردید. برای همگن‌سازی و یکنواختی پودر جلبک از هموژنایزر با دور ۲۰۰۰ در دقیقه استفاده شد.

روتیفر *Brachionus plicatilis* از پژوهشکده میگوی بوشهر تهیه و در آزمایشگاه در شرایط استاندارد (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شوری ۳۰ گرم در لیتر) با استفاده از جلبک *N. oculta* تغذیه‌شده و به تراکم ۲۰۰ عدد در هر میلی‌لیتر رسانده شد. جهت مطالعه اثر جلبک‌های تازه *N. oculta*، *I. galbana* و جلبک خشک *Chlorella sp.* بر روتیفر از ۱۸ ظروف پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری (۶ تیمار و هرکدام با ۳ تکرار) به همراه جلبک با غلظت‌های $۲/۵\times۱۰^{۶}$ و ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر به‌صورت کشت دسته‌ای (Batch culture) استفاده گردید. به هر یک از ظروف مخلوطی از جمعیت‌های روتیفر (روتیفرهای بالغ تخم‌دار، جوان و بدون تخم) با تراکم ۳۰ عدد در میلی‌لیتر معرفی شدند. شرایط مطالعه برای انجام این تحقیق شامل دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد، شوری ۳۰- ۲۸ گرم در لیتر، pH۷/۲-۸/۵، نور ۳۵۰۰-۲۸۰۰ لوکس و دوره نوری ۲۴ ساعته بود (Suantika *et al*., 2003). به‌صورت یک روز در میان روتیفرها با استفاده از توری ۵۰ میکرون فیلتر و به محیط کشت جدید انتقال داده شدند. با افزودن جلبک تازه تراکم غذایی در محیط‌های کشت تقریباً ثابت نگه‌داشته شد. این آزمایش در مدت‌زمان ۱۰ روز انجام گرفت (در این مدت‌زمان حداقل یک پیک حداکثری قابل‌رؤیت بود). برای بررسی شاخص‌های تولیدمثلی روتیفرهای مورد آزمایش (شامل تعداد روتیفرهای ماده حامل تخم و تعداد تخم‌های چسبیده یا جداشده روتیفر و نسبت E/N) هرروز ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب حاوی روتیفر با استفاده از میکروپیپت نمونه‌برداری و ۲ قطره لوگل (به علت رنگی کردن موجود شمارش را آسان می‌کند) به آب حاوی نمونه روتیفر اضافه تا نمونه‌ها ثابت و سپس با استفاده از لام باگاروف در زیر میکروسکوپ شمارش شدند. نرخ تخم (E/N) از تعداد تخم‌ها (E) به تعداد کل ماده‌ها (N) در یک نمونه حاصل می‌شود (Lubzens *et al*., 1989).

برای بررسی آماری ابتدا نرمالیته داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف اسمیرنوف موردبررسی قرار گرفت. از آنالیز واریانس دوطرفه برای بررسی داده‌ها و از آزمون دانکن برای بیان اختلاف بین میانگین داده‌ها در سطح ۰/۰۵ استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از Spss ویرایش ۲۱ انجام‌شده و داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای معیار آورده شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

نتایج

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه تعداد کل روتیفرهای تخم‌دار در تیمارهای مختلف در جدول ۱ آورده شده است. در روز اول و دوم و همچنین روزهای هفتم تا دهم فقط نوع جلبک تأثیر معنی‌داری داشته ($P <$ ۰/۰۵) و غلظت‌های مختلف تأثیر معنی‌داری را نشان ندادند ($P >$ ۰/۰۵) که نتایج بررسی میانگین آن‌ها بر اساس نوع جلبک در شکل ۱ آمده است. از روز سوم تا روز ششم که پیک جمعیتی بود اثرات متقابل جلبک تأثیر معنی‌داری بر ماده‌های تخم‌دار نشان داد و نتایج بررسی میانگین تیمارها در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

جدول ۱: اثر نوع و سطوح غذایی بر تعداد ماده‌های تخم‌دار روتیفرهای در حال رشد در روزهای آزمایش (آنالیز واریانس دوطرفه).

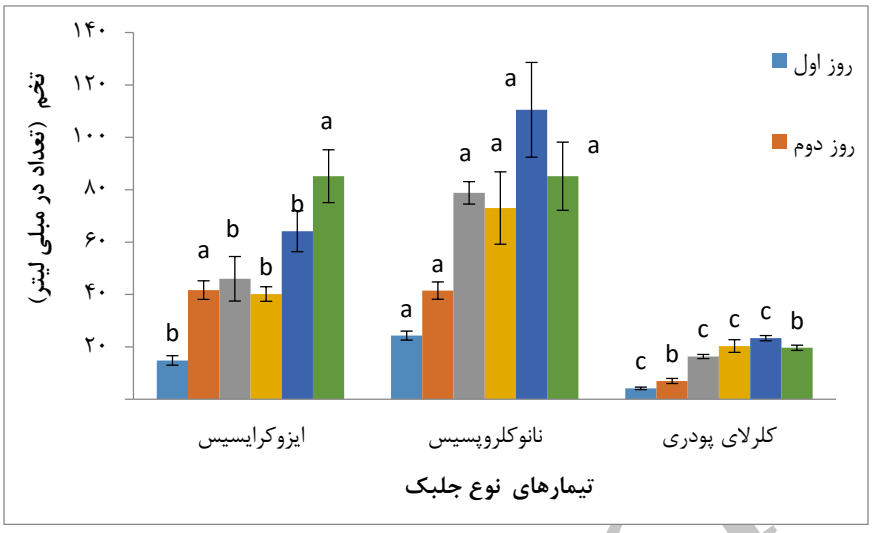
روزهای آزمایش	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	معنی‌داری
۱	جلبک	۷۴۶/۳۳۳	۲	۳۷۳/۱۶۷	۱۸/۱۵۴	۰
۲	جلبک	۱۶۴۸	۲	۸۲۴	۲۷/۰۱۶	۰
۳	جلبک*غلظت	۱۶۵/۷۷۸	۲	۸۲/۸۸۹	۵/۹۹۲	۰/۰۱
۴	جلبک*غلظت	۲۴۳۶/۷۷۸	۲	۱۲۱۸/۳۸۹	۲۷/۸۳۱	۰
۵	جلبک*غلظت	۲۲۱۲/۱۱۱	۲	۱۱۰۶/۰۵۶	۲۵/۳۹۴	۰
۶	جلبک*غلظت	۱۷۵۵/۴۴۴	۲	۸۷۷/۷۲۲	۸/۹۶۱	۰/۰۰۴
۷	جلبک	۸۹۶۶/۳۳۳	۲	۴۴۸۳/۱۶۷	۴۵/۴۶۳	۰
۸	جلبک	۵۹۵۳	۲	۲۹۷۶/۵	۱۲/۵۵۶	۰/۰۰۱
۹	جلبک	۱۷۶۶۵/۴۴	۲	۸۸۳۲/۷۲۲	۱۶/۷۷۵	۰
۱۰	جلبک	۱۳۳۸۶/۱۱	۲	۶۶۹۳/۰۵۶	۱۲/۱۱	۰/۰۰۱

مطابق با شکل ۱ در روزهای اول و دوم و همچنین روزهای هفتم تا دهم روتیفرهای تغذیه‌شده با جلبک نانوکلروپسیس و جلبک کلرلا به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین تعداد ماده‌های تخم‌دار را نشان دادند ($P <$ ۰/۰۵). بر اساس جدول ۲، حداکثر ماده‌های تخم‌دار در تیمار ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر از جلبک ایزوکرایسیس (۱۲۲/۳۳ عدد در میلی لیتر) در روز پنجم مشاهده‌شده که به‌طور معنی‌داری ($P <$ ۰/۰۵) بیشتر از سایر تیمارها بود. غلظت‌های ۵×۱۰^{۶} جلبک نانوکلروپسیس و $۲/۵\times۱۰^{۶}$ جلبک ایزوکرایسیس باهم دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P >$ ۰/۰۵). کمترین میزان ماده‌های تخم‌دار به‌طور معنی‌داری در روز پنجم آزمایش برای هر دو غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا به دست آمد ($P <$ ۰/۰۵).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017



شکل ۱: نتایج تعداد کل ماده‌های تخم‌دار در روتیفرهای تغذیه با سه جلبک *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* و *Chlorella sp.*

جدول ۲: نتایج تعداد کل ماده‌های تخم‌دار در روتیفرهای تغذیه با دو غلظت بالا (۱۰^۶ × ۵ سلول در میلی‌لیتر) و پایین (۱۰^۶ × ۲/۵ سلول در میلی‌لیتر) از سه جلبک *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* و *Chlorella sp.*

نوع جلبک	جلبک *Isochrysis galbana*		جلبک *Nannochloropsis oculta*		جلبک *Chlorella sp.*	
	غلظت جلبک (۱۰^۶ × سلول در میلی‌لیتر)					
روزهای آزمایش	۲/۵	۵	۲/۵	۵	۲/۵	۵
روز سوم	۳۹±۳/۰۵^{b}	۵۲/۶۷±۳/۸۴^{a}	۲۵/۳۳±۰/۸۸^{c}	۲۵±۱/۸۲^{c}	۵/۶۷±۰/۵۵^{d}	۸±۴/۰۵^{d}
روز چهارم	۵۷/۶۷±۶/۷۴^{b}	۱۱۳/۶۷±۴/۰۹^{a}	۱۲/۶۷±۲/۶۶^{cd}	۲۴±۴/۱۶^{c}	۸/۶۷±۰/۳۳^{d}	۱۱/۶۷±۹/۲۲^{d}
روز پنجم	۷۲±۴/۹۳^{b}	۱۲۲/۳۳±۷/۲۱^{a}	۳۱/۳۳±۰/۸۸^{c}	۷۲/۳۳±۲/۳۳^{b}	۱۳/۶۷±۱/۷۳^{d}	۱۳±۹/۵۶^{d}
روز ششم	۵۵±۳/۲۱^{b}	۱۰۵±۱۱/۲۴^{a}	۳۹±۳/۵۱^{c}	۵۸±۶/۵۵^{b}	۸/۲۳±۱/۷۶^{d}	۱۰/۶۷±۸/۱۷^{d}

* حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

آنالیز واریانس دوطرفه تعداد کل تخم‌ها در روتیفرهای تغذیه‌شده با غلظت‌های مختلف ۳ نوع جلبک در جدول ۳ آورده شده است. همانند نتایج تعداد کل ماده‌های تخم‌دار در روز اول و دوم فقط نوع جلبک تأثیر معنی‌داری بر تعداد تخم‌ها نشان داد ($P < ۰/۰۵$) و غلظت‌های مختلف و اثرات متقابل تأثیر معنی‌داری نداشتند ($P > ۰/۰۵$). از روز سوم تا روز ششم که پیک جمعیتی بود اثرات متقابل جلبک و غلظت تأثیر معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) بر تعداد کل تخم‌ها نشان دادند. در روزهای بعدی فقط نوع جلبک تأثیر معنی‌داری داشته و غلظت‌های مختلف جلبک تأثیر معنی‌داری بر نتایج تعداد تخم‌ها نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$).

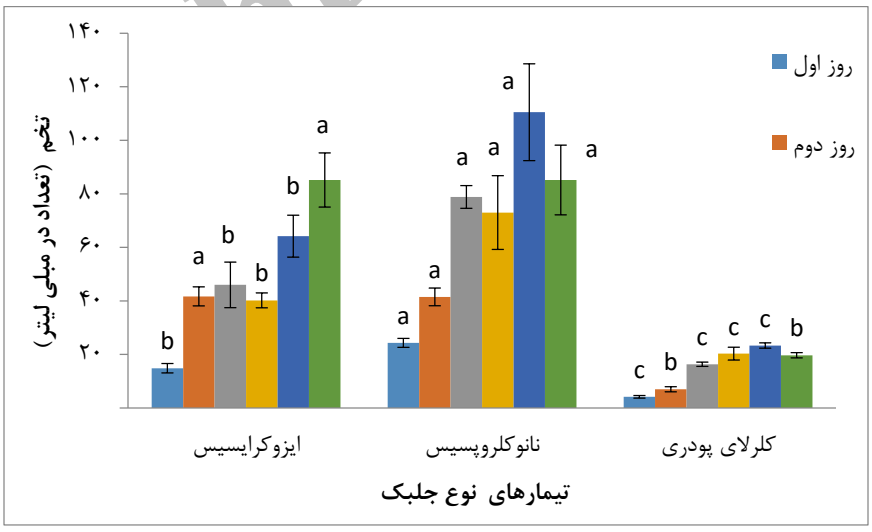
www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

جدول ۳: اثر نوع و سطوح غذایی بر تعداد کل تخم روتیفرهای در حال رشد در روزهای آزمایش (آنالیز واریانس دوطرفه).

روزهای آزمایش	منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	معنی‌داری
۱	جلبک	۱۲۲۱/۴۴۴	۲	۶۱۰/۷۲۲	۴۰/۷۱۵	۰
۲	جلبک	۴۷۸۴/۱۱۱	۲	۲۳۹۲/۰۵۶	۴۴/۲۹۷	۰
۳	جلبک*غلظت	۸۳۸/۱۱۱	۲	۴۱۹/۰۵۶	۱۰/۱۵۲	۰/۰۰۳
۴	جلبک*غلظت	۱۰۰۰۳/۴۴	۲	۵۰۰۱/۷۲۲	۴۴/۲۲	۰
۵	جلبک*غلظت	۳۲۹۷	۲	۱۶۴۸/۵	۲۲/۱۹۴	۰
۶	جلبک*غلظت	۲۰۰۸/۴۴۴	۲	۱۰۰۴/۲۲۲	۶/۰۳۱	۰/۰۱۵
۷	جلبک	۱۱۷۲۸/۷۸	۲	۵۸۶۴/۳۹۸	۶۹/۹۱۱	۰
۸	جلبک	۸۴۹۰/۳۳۳	۲	۴۲۴۵/۱۶۷	۱۷/۸۴۹	۰
۹	جلبک	۲۲۸۲۴/۳۳	۲	۱۱۴۱۲/۱۷	۲۰/۳۳۴	۰
۱۰	جلبک	۱۷۲۰۴/۷۸	۲	۸۶۰۲/۳۸۹	۱۹/۳۰۵	۰

مقایسه میانگین تعداد کل تخم‌ها بر اساس نوع جلبک در روزهای اول و دوم و همچنین روزهای هفتم تا دهم در شکل ۲ آمده است. در روتیفرهای تغذیه‌شده با کلرلا کمترین و روتیفرهای تغذیه‌شده با نانوکلروپسیس بیشترین تعداد کل تخم‌ها به ثبت رسید ($P < ۰/۰۵$). در جدول ۴ نتایج تعداد کل تخم‌ها در غلظت‌های متفاوت ۳ جلبک از روز چهارم تا ششم آمده است. بر اساس نتایج، حداکثر تخم‌ها در تیمار ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر از جلبک ایزوکرایسیس (۲۰۴ عدد در میلی‌لیتر) در روز چهارم مشاهده‌شده که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($P < ۰/۰۵$). غلظت‌های ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر جلبک نانوکلروپسیس و $۲/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر جلبک ایزوکرایسیس باهم دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P > ۰/۰۵$). کمترین تعداد کل تخم در روز ششم آزمایش برای هر دو غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا به دست آمد ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۲: تعداد کل تخم‌های چسبیده یا جداشده از بدن در روتیفرهای تغذیه با سه جلبک *Nannochloropsis oculta*، *Isochrysis galbana* و *Chlorella sp.*

www.SID.ir

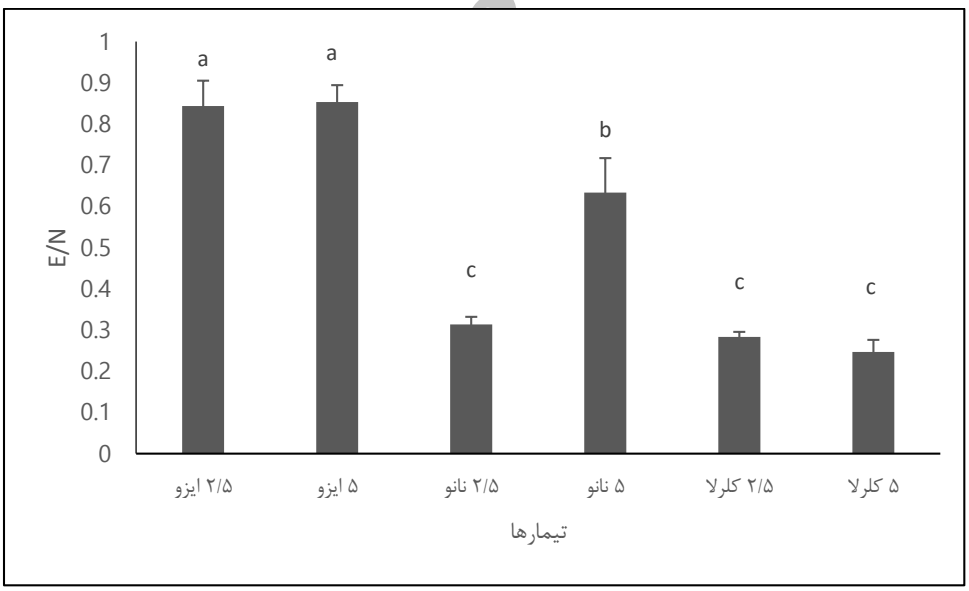
Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

جدول ٤: تعداد کل تخم‌های چسبیده یا جداشده از بدن در روتیفرهای تغذیه با دو غلظت بالا (۱۰۶× ۵ سلول در میلی‌لیتر) و پایین (۱۰۶× ۲/۵ سلول در میلی‌لیتر) از سه جلبک *Isochrysis galbana*، *Nannochloropsis oculta* و *Chlorella sp.*.

نوع جلبک	جلبک *Isochrysis galbana*		جلبک *Nannochloropsis oculta*		جلبک *Chlorella sp.*	
	غلظت جلبک (۱۰۶ × سلول در میلی‌لیتر)					
روزهای آزمایش	۲/۵	۵	۲/۵	۵	۲/۵	۵
روز سوم	۴۸/۶۷±۲/۹۶^{b}	۷۷/۶۷±۸/۳۷^{a}	۲۸/۶۷±۱/۳۳^{c}	۲۷/۳۳±۱/۲۰^{c}	۸±۰/۵۷^{d}	۹/۶۷±۰/۳۳^{d}
روز چهارم	۹۷/۶۷±۱۱/۰۲^{b}	۲۰۴±۶/۸۰^{a}	۱۷/۳۳±۱/۸۵^{c}	۲۷/۳۳±۷/۳۵^{c}	۱۰/۳۳±۰/۸۸^{c}	۱۳/۳۳±۰/۳۳^{c}
روز پنجم	۸۰/۳۳±۷/۲۶^{b}	۱۳۹/۶۷±۴/۳۳^{a}	۴۰/۶۷±۲/۳۳^{b}	۹۲±۸/۰۸^{d}	۱۶/۳۳±۰/۸۸^{d}	۱۴/۶۷±۰/۳۳^{d}
روز ششم	۶۱±۳/۷۸^{b}	۱۱۵/۳۳±۱۵/۳۸^{a}	۴۴±۳/۷۸^{b}	۶۷±۷/۸۱^{b}	۱۰/۳۳±۰/۸۸^{d}	۱۳/۳۳±۲/۴۰^{d}

* حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

میانگین نرخ تخم روتیفرهای تغذیه‌شده با تیمارهای مختلف در شکل ۳ آمده است. نرخ تخم روتیفرهای تغذیه‌شده با دو غلظت بالا (۱۰۶× ۵ سلول در میلی‌لیتر) و پایین (۱۰۶× ۲/۵ سلول در میلی‌لیتر) جلبک *I. galbana* به‌طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) بیشتر از سایر تیمارها بود ولی بین این دو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نرخ تخم در غلظت پایین جلبک *N. oculta* و هر دو غلظت بالا و پایین جلبک *Chlorella sp.* به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها به دست آمد ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۳: میانگین نرخ تخم (E/N) در روتیفرهای تغذیه‌شده با دو غلظت بالا (۱۰۶× ۵ سلول در میلی‌لیتر) و پایین (۱۰۶× ۲/۵ سلول در میلی‌لیتر) از سه جلبک *N. oculta*، *I. galbana* و *Chlorella sp.* در روز پنجم (تراکم حداکثری) (اعداد ۲/۵ و ۵ به ترتیب برای غلظت پایین و بالا می‌باشد).

حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

بحث و نتیجه‌گیری

در میان گروه‌های مختلف فیتوپلانکتونی، از جلبک‌های *I. galbana* و *N. oculta* برای رشد زئوپلانکتون‌ها و غنی‌سازی آن‌ها در شرایط میدانی و آزمایشگاهی به‌طور گسترده‌ای استفاده‌شده است (کرمی فرد و همکاران ۱۳۹۱؛ عبدالهی و همکاران ۱۳۸۹؛ احمدی و همکاران ۱۳۹۴؛ Suchar and Chigbu, 2006). در مطالعه حاضر از دو غلظت ۵×۱۰^{۶} و $۲/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر از سه جلبک *I. galbana*، *N. oculta* و *Chlorella sp.* بر شاخص‌های تولیدمثلی روتیفر آب‌شور استفاده شد که بیشترین تعداد روتیفرهای تخم‌دار در غلظت بالا (۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر) جلبک *I. galbana* در روز پنجم به دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. در روتیفرهای تغذیه‌شده با جلبک *N. oculta* در روزهای هفتم تا نهم تعداد روتیفرهای تخم‌دار نسبت به سایر تیمارها افزایش‌یافته بود ولیکن به میزان حداکثری تیمارهای تغذیه‌شده با جلبک *I. galbana* نرسیدند. بر اساس اثرات متقابل از غلظت پایین جلبک *I. galbana* می‌توان به‌جای غلظت بالای جلبک *N. oculta* استفاده کرد که در هزینه‌ها صرفه‌جویی خواهد شد. جلبک *I. galbana* حاوی مقادیری بالایی از اسیدهای چرب DHA می‌باشد که این اسید چرب پیش ساز پروستاگلاندین بوده و نقش اصلی در فرایند تولیدمثل موجود دارد (Godet *et al.*, 2010؛ احمدی و همکاران ۱۳۹۴ الف). اسید چرب DHA به علت داشتن باندهای دوگانه تمایل بیشتری به مصرف توسط موجود را دارد و نسبت به اسید چرب EPA تأثیر بیشتر و زودتری را بر فرایند تولیدمثل ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر روتیفرهایی که از جلبک *N. oculta* تغذیه کرده بودند در روزهای اول نرخ تولیدمثلی کمتری را نشان دادند که مؤید فرضیه بیان‌شده در بالا می‌باشد ولیکن روزهای بعدی (از روز هفتم تا روز دهم) جلبک *N. oculta* تأثیر مثبتی بر ماده‌های تخم‌دار و تعداد کل تخم‌ها ایفا کردند و سبب شدند که مقادیر این فاکتورها در روزهای انتهایی در تیمارهای جلبک *N. oculta* نسبت به تیمار *I. galbana* بهتر باشد. Malekzadeh-Viayeh (۲۰۱۲) تأثیر گونه‌های مختلف آب‌شور و شیرین جلبکی را با تراکم $۱/۵\times۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر بر فاکتورهای تولیدمثلی روتیفر *B.patulus* موردبررسی قراردادند و حداکثر روتیفرهای ماده حامل تخم را در تیمار جلبک‌های آب شیرین *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus obliquus* گزارش نمودند. از بین جلبک‌های آب‌شور موردبررسی روتیفرهای تغذیه‌شده با *Nannochloropsis occulata* نسبت به *Isochrysis galbana* تعداد ماده‌های تخم‌دار بیشتری را نشان دادند. علت نتیجه بیان‌شده توسط Malekzadeh-Viayeh(۲۰۱۲) این است که فاکتورهای تولیدمثلی در انتهای آزمایش (۱۲ روز) موردبررسی قرار گرفتند که با نتایج روزهای آخر تحقیق حاضر مشابهت دارد. کیفیت غذایی جلبک و قابلیت هضم سلول به‌وسیله روتیفرها می‌تواند به‌عنوان فاکتورهای تأثیرگذار بر الگوی رشد زئوپلانکتون مورد آزمایش باشد (Vanni and Lampart, 1992; Lucia-Pavon *et al.*, 2001). ازآنجایی‌که هر دو جلبک *I. galbana* و *N. oculta* در محیط کشت یکسان تحت شرایط مشابهی استفاده کردند انتظار می‌رود تفاوت معنی‌داری در ارزش غذایی آن‌ها وجود نداشته باشد ولی به‌هرحال ازنظر وراثتی در ارزش غذایی، ازجمله پروتئین یا محتوای اسید چرب این گونه‌های جلبکی تفاوت وجود داشته و می‌تواند در افزایش تراکم جمعیتی و نرخ تولیدمثلی روتیفرها تأثیرگذار باشد. کیفیت و کمیت غذا بر میزان رشد وهم‌آوری روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* تأثیرگذار می‌باشد (احمدی فرد و همکاران ۱۳۸۷). همچنین Sarma و Rao (۱۹۹۱) بیان کردند که در روتیفرها و سخت‌پوستان پلانکتونی رابطه مثبتی بین هم آوری و میزان غذا وجود دارد. احمدی فرد و همکاران (۱۳۹۴ ب) بیان کردند که در صورت تغذیه روتیفرها با میزان غذای پایین نرخ تولیدمثلی کاهش می‌یابد. غلظت غذا از طریق تأثیر بر میزان مصرف (Ingestion) و جذب (Assimilation) غذا و همچنین دوره زندگی بر نرخ تولیدمثل روتیفرها اثرگذار می‌باشد (Suchar and Chigbu, 2006).

تعداد کل تخم‌ها در جمعیت‌های روتیفر بر نرخ تخم تأثیرگذار است. نرخ تخم به تعداد تخم در جمعیت‌های روتیفر به‌کل جمعیت روتیفر اطلاق می‌شود. این فاکتور به کیفیت و کمیت غذا بستگی دارد و پارامترهای غیر زیستی همچون سطح اکسیژن، دمای محیط، شوری،pH و سطح آمونیاک نیز می‌تواند تأثیرگذار باشد (Snell *et al.*, 1987). هریک از پارامترها خارج از شرایط طبیعی می‌تواند نقش مستقیمی در کاهش نرخ تخم داشته باشد. در تحقیق حاضر بیشترین تعداد تخم در روتیفرهای تغذیه‌شده با غلظت ۵×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر جلبک *I. galbana* حاصل

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

شد. نتایج به‌دست‌آمده بیانگر آن است جلبک *I. galbana* در روزهای آغازین در افزایش نرخ تخم در روتیفرها مؤثر است ولی در طولانی‌مدت تغذیه روتیفرها از *N. oculta* می‌تواند نتایج بهتری داشته باشد (جداول ۲ و ۴). Snell و همکاران (۱۹۸۷) نرخ تخم کمتر از ۰/۱۳ را برای روتیفر آب‌شور *B. plicatilis* به‌عنوان عاملی مطرح نموده‌اند که احتمالاً کشت‌ها در آینده می‌تواند در معرض خطر باشد و نیاز به مراقبت زیادی می‌باشد (Snell *et al*., 1987).

بر اساس مطالعه حاضر جلبک خشک کلرلا در مقایسه با جلبک‌های تازه کمترین تعداد تخم و ماده‌های تخم‌دار را تولید کرد و علی‌رغم دسترسی راحت جلبک خشک نمی‌تواند جایگزینی خوبی برای جلبک‌های تازه باشد. جلبک‌های تازه مورداستفاده در این تحقیق که شامل دو گونه *N. oculta* و *I. galbana* بود هر دو نتیجه خوبی را بر فاکتورهای تولیدمثلی نشان دادند ولیکن جلبک *I.* galbana تأثیر زودتری نسبت به جلبک *N. oculta* نشان داد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه ارومیه به دلیل حمایت‌های مالی و از پژوهشکده مطالعات آرتمیا و آبزی‌پروری به خاطر همکاری در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

منابع

احمدی، ا. و احمدی فرد، ن.، ۱۳۹۳. تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک *Tetraselmis suecica* بر شاخص‌های تولیدمثلی روتیفر آب‌شور *Brachionus plicatilis* مجله علوم و فنون شیلات شماره ۴، صفحات ۹۶-۹۳.

احمدی، ا. و احمدی فرد، ن.، ۱۳۹۵. تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک رشته‌ای *Oscillatoria spp.* بر فاکتورهای رشد و تولیدمثل روتیفر آب‌شور. مجله زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها. شماره ۱۹، صفحات ۱۴۶-۱۳۷.

احمدی، ا.، احمدی فرد، ن. و نجد گرامی، ا. ب.، ۱۳۹٤ الف. تأثیر جلبک خشک (کلرلای پودری) بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدنی روتیفر آب‌شور *Brachionus plicatilis* در مقایسه با جلبک‌های تازه *Isochrysis galbana* و *Nannochloropsis oculata* مجله تغذیه و بیوشیمی آبزیان، شماره ۱ صفحات ۲۳-۱۱.

احمدی فرد، ن.، عابدیان کناری، ع. و احمدی، ا.، ۱۳۹٤ب. اثر جلبک *Chlorella vulgaris* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر رشد، پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه کل و آزاد روتیفر *Brachionus calyciflorus* ، مجله علوم و فنون شیلات، شماره ۱: صفحات ۱۴-۱.

احمدی فرد، ن، عابدیان کناری، ع. و فلاحی م.، ۱۳۸۷. بررسی اثر مقدار و نوع غذای جلبکی بر اندازه بدن و تخم جمعیت روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus*) تالاب انزلی. مجله زیست‌شناسی ایران. شماره ۳، صفحات ۳۹۲-۳۸۲.

عبدالهی، ح.، یحیوی، م.، سالار زاده، ع.، فروغی فرد، ح.، معزی، م، و اکبر زاده، غ.، ۱۳۸۹. تأثیر دما و تغذیه جلبکی بر تراکم روتیفر *Brachionus plicatilis* در شرایط آزمایشگاهی، مجله آبزیان و شیلات ایران. شماره ۳، صفحات ۶۹-۶۲.

کرمی فر، س.، آذری تاکامی، ق. خارا، ح.، حافظیه، م. ۱۳۹۱. مقایسه درصد اسیدهای چرب در ناپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده به‌وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزوکرایسیس گالبانا. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان. شماره ۴، صفحات ۵۶-۴۵.

Brown, M., Jeffry, S., Volkman, J. and Dunstan, G., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture, 151: 315-331.

Dobberfuhidr, Elser., 1999: Use of dried algae as a food source for zooplankton growth and nutrient release experiments. Journal of Plankton Research 21: 957-970.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmb.iauahvaz.ac.ir at 16:25 +0430 on Saturday May 20th 2017

Dumont, H. J., Sarma, S. and Ali, A. J., 1995. Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. Freshwater Biology, 33: 39-46.

Fielder, D. S., Purser, J. and Battaglene, S. C., 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 189: 85-99

Gilbert, J. J., 1985. Competition between rotifers and Daphnia. Ecology, pp. 1943-1950.

Godet, S., Loiseau, C., Pencreach, G., Ergan , F. and Heault, J., 2010. Isolation and sequence analysis of a cDNA encoding a novel putative esterase from the marine *microalga Isochrysis galbana* (Prymnesiophyceae, Haptophyta) (Note). Journal of Phycology, 46(4): 679-684.

Hirayama K., Maruma, I. and Maeda, T., 1989. Nutritional effect of freshwater Chlorella on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 186: 39-42.

Jabeur, C., Merghni, A. and Kamoun, F., 2013. Feeding Rotifers *Brachionus plicatilis* with microalgae cultivated in Tunisia. IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology, 4(5): 105-112.

Kennari, A. A., Ahmadifard, N., Seyfabadi, J. and Kaporchali, M. F., 2008. Comparison of growth and fatty acids composition of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus P*allas, fed with two types of microalgae at different concentrations. Journal of the World Aquaculture Society, 39: 235-242.

Laing, I. and Britain, G., 1991. Cultivation of marine unicellular algae. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.

Lubzens, E., Tandler, A. and Minkoff, G., 1989. Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia, 186: 387-400.

Lucia-Pavon, E., Sarma, S. S. S. and Nandini, S., 2001. Effect of different densites of live and dead *Chlorella vullgaris* on population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (rotifer). Revista de Biologia Tropical, 49: 895-902.

Malekzadeh-Viayeh, R., 2012. Interactive effects of food and salinity on the reproductive and growth indices of two *Brachionus* rotifer strains from Iran. Iranian Journal of Science & Technology, 3: 245-250

Mostary, S., Rahman, M., Mandal, A., Hasan, K., Rehena, Z. and Basar, S., 2010. Culture of *Brachionus plicatilis* feeding with powdered dried Chlorella. Bangladesh Veterinarian, 27: 91-98.

Peredo-Alvarez, V., Sarma, S. S. S. and Nandini, S., 2003. Combined effect of concentration of algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (rotifera). Revista de Biologia Tropical, 51(2): 399-408.

Sarma, S.S.S. and Rao T. R., 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer, *Brachinus patulus* Muller. Hydrobiology, 2: 245–253.

Sarma, S. and Rao, T. R., 1991. The Combined Effects of Food and Temperature on the Life History Parameters of *Brachionus patulus* MULLER (Rotifera). Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie, 76: 225-239.

Sarma, S., Iyer, N. and Dumont, H., 1996. Competitive interactions between herbivorous rotifers: importance of food concentration and initial population density. Hydrobiologia, 33(1): 1-7.

Snell, T. W., Bieberich, C. J. and Fuerst, R., 1983. The effects of green and blue green algal diets on the reproductive rate of rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture, 31: 21-30.

Starkweather, P. I., 1980. Aspects of the feeding behavior and trophic ecology of suspension-feeding rotifers. Rotatoria. Springer.

Suantika, G., Dhert, P., Sweetman, E., Obrine, E. and Sorgeloos, P., 2003. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. Aquaculture, 227: 173-189.

Suchar, V. A. and Chigbu, P., 2006. The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. Experimental Marine Biology and Ecology, 337: 96-102.

Vanni, M. J., and Lampert, W., 1992. Food quality effect on life history traits and fitness in the generalist herbivore *Daphnia*. Oecologia. 92: 48-57

Yufera, M., 2001. Studies on Brachionus (Rotifera): an example of interaction between fundamental and applied research. Hydrobiologia, 446/447: 383-392.

Archive of SID

www.SID.ir