

فيزيولوژي و بيوتکنولوژي آبزيان سال ینجم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۶



# تاثیر انجماد به دنبال دورههای هیدراسیون و دهیدراسیون بر قابلیت تخم گشایی، رشد و بقا کیست Artemia urmiana

رفيعه خليلي'، مينا رمضاني \*، ناصر آق

تاریخ پذیرش: دی ۹۵

تاریخ دریافت: آبان ۹۵ چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تاثیر انجماد در دمای ۲۰– درجه سانتی گراد پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون بر درصد تخم گشایی، رشد و بقای لاروهای حاصل از کیستهای Artemia urmiana است. آزمایشها تحت چهار تیمار مختلف صورت گرفت. در تیمار اول پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون تخم گشایی با روش استاندارد انجام شد. در تیمار دوم پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون و سپس یک هفته نگهداری کیستها در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد تخم گشایی انجام شد. در تیمار سوم پس از یک ماه نگهداری در سرما تخمگشایی انجام شد. گروه شاهد (تیمار چهارم) نیز کیستهایی بودند که بدون تیمار خاصی با روش استاندارد تخم گشایی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان تیمار در سرما (انجماد یک ماهه)، درصد تخم گشایی کیستها به طور معنیداری افزایش یافت ولی با این وجود درصد تخم گشایی در گروه شاهد بالاتر بود. حداکثر درصد بقا در روز ۱۱ و در تیمار سوم مشاهده شد. بیشترین میزان رشد، در روزهای ۱۵ تا ۲۵ در تیمار سوم یعنی انجماد یک ماهه مشاهده شد. در مجموع می توان گفت در گونه Artemia urmiana استفاده از تیمار نگهداری در سرما به دلیل کاهش درصد تخمگشایی کیست، ضروری نیست.

واژگان کلیدی: <u>Artemia urmiana</u>، کیست، دهیدراسیون، هیدراسیون، انجماد.

 ا- کارشناس ارشد علوم جانوری، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران. ۲- دانشیار گروه زیستشناسی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانشیار پژوهشکده آرتمیا، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. \* نویسنده مسئول: <u>M.ramezani@iauctb.ac.ir</u>

#### مقدمه

دریاچه ارومیه یکی از زیستگاههای طبیعی و بزرگ آرتمیا در دنیا است که وجود آرتمیا در آن، اولین بار توسط Gunther در سال ۱۹۰۰ گزارش شد. آرتمیا جزو شاخه بندپایان و زیرشاخه سختپوستان است و گسترش جهانی دارد. زیستگاه آن آبهای لبشور تا آبهای بسیار شور است، از این رو به آن میگوی آب شور نیز میگویند. جنسهای نر و ماده آرتمیا از هم جدا است که نرها حدود ۱۲ میلیمتر و مادهها ۱۵ میلیمتر طول دارند (Bengtson et میلیمتر و مادهها ۱۵ میلیمتر طول دارند (al., 1991 اکثر جمعیتهای آرتمیا حدود ۵۳ درجه

تولیدمثل آرتمیا در شرایط نامساعد به شکل کیست است. کیست پس از گذراندن یک دوره سرما و خواب، در شرایط مطلوب و مناسب، آب جذب کرده، شکل کروی پیدا میکند. پس از گذشت ۱ تا ۲ ساعت از زمان آبگیری (هیدراسیون)، تقسیمات جنینی آغاز میشود و پس از ۱۵ تا ۲۰ ساعت پوسته کیست میشکافد و پیش ناپلیوس پوشیده از غشای تخمگشایی ظاهر میشود. سپس به پیش ناپلیوس مرحله ۲ تبدیل میشود که در این مرحله جنین از زیر پوسته خالی آویزان

است (مرحله چتری) و کمی پس از آن لارو شناگر آزاد آرتمیا، بیرون میآید. ناپلی پس از ۱۷ تا ۲۳ بار پوستاندازی به آرتمیای Abatzopoulos et al., ) بالغ تبدیل میشود (2006).

آرتمیا به دلیل داشتن مقادیر بالای پروتئین، چربی، کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب در حد مطلوب، از جمله بهترین غذای آبزیان به شمار می ود (عظیمیراد و همکاران، ۱۳۹۵). هر کیلوگرم از توده زنده آرتمیا با قیمتی معادل ۶۰ تا ۱۲۰ دلار و هر کیلوگرم از کیست آن حدود ۱۰۰ تا ۲۰۰ دلار بسته به کیفیت آن خرید و فروش می شود (پاراحمدی و همکاران، ۱۳۸۵). از آنجا که بهرهبرداری از دریاچههای طبیعی مانند دریاچه ارومیه به شرایط آب و هوایی و تغییرات اکولوژیکی از جمله شوری آب، در هر زمان، بستگی دارد، از این رو نمی توان میزان بهرهبرداری و کیفیت تولید از زیستگاههای طبيعي را از قبل پيشبيني كرد. بنابراين ضرورت پرورش مصنوعی آرتمیا با هدف تولید كيست مرغوب آن بيش از پيش احساس می شود و از آنجا که تولید کیست توسط آرتمیا، عموما تحت تاثیر شرایط محیطی قرار

یافتهها نشان داده است که بسیاری از کیستهای خشک که به طور معمول قابلیت تخم گشایی نداشتند پس از یک تا دو دوره هیدراسیون و دهیدراسیون متوالی پیشرفت نشان دادند و از دیاپوز خارج شدند (Brown et al., 1984). دما نیز یکی از عوامل مهمی است که بر تخم گشایی کیستها موثر است (Rajkumar and Babo, 2015). در بسیاری از جانوران از جمله برخی گونههای آرتمیا یک تیمار سرمایی پیش از تخمگشایی ضروری است و درصد تخم گشایی را افزایش میدهد (Yoshida et al., 2011). با توجه به این که تیمار سرمایی تاکنون بر روی گونههای آرتمیای بومی ایران انجام نشده است. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی اثر دورههای هیدراسیون و دهیدراسیون کیست Artemia urmiana بر میزان تخم گشایی کیستها، رشد و بقای آرتمیاهای حاصل از آن است.

## مواد و روشها

کیستهای مورد استفاده در این بررسی از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه تهیه شد و تمامی آزمایشها در محل پژوهشکده، در سال ۱۳۹۳، انجام شد. ابتدا طی دو مرحله، خالصسازی کیستها صورت

کیست در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد تا با استفاده از نتایج به دست آمده، اقدام به پرورش مصنوعی آرتمیا در استخرهای خاکی کرد (آق، ۱۳۷۵). کیست آرتمیا را میتوان به صورت خشک بستهبندی و در قوطیهایی ذخیره کرد و بدون این که از ارزش غذایی آن کاسته شود، برای سالیان متمادی جهت استفاده نگهداری کرد. سپس در زمان نياز مي توان كيستها را تحت انكوباسيون ۲۴ ساعته در شرایط استاندارد، تخم گشایی کرد و از نوزاد شناگر آرتمیا به عنوان غذای زنده مغذى براى تغذيه لارو آبزيان استفاده کرد. برای استفاده هر چه بهتر از کیستهای آرتمیا، باید شناخت کاملی از عوامل محیطی موثر بر بقا، رشد و طول عمر آن به دست آورد. بدون تردید کیست آرتمیا با در صد تخم گشایی بالاتر از ۸۰٪ به مراتب با ارزشتر از کیستی با درصد تخمگشایی پایینتر است. همچنین رشد و بازماندگی آرتمیا در طول دوره پرورش، تحت تاثیر شرایط عمل آوری تغییر می کند. نتایج مطالعات پیشین نشان میدهد که عوامل فیزیکوشیمیایی محیط تاثیر زیادی بر رشد و بقا آرتمیا دارند (خلیلی و همکاران، .(1778

دارد، ضروری است شرایط ایدهآل برای تولید

گرفت. در مرحله اول، جداسازی به کمک شناوری در سطح آب نمک اشباع انجام شد که در این مرحله کیستها از مواد زائد جدا شدند و در مرحله بعد، جداسازی با استفاده از وزن مخصوص در آب شیرین انجام شد که طی آن کیستهای حاوی جنین در ته ظرف قرار گرفتند و کیستهای ترک خورده و پوستهها از روی سطح جمعآوری و دور ریخته شد. سپس ضدعفونی کیستها از آلودگی باکتریایی و قارچی با استفاده از محلول ۲۰۰ppm هیپوکلریت به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. بعد از خالصسازی، کیستها به صورت یک لایه نازک پخش شدند و به مدت ۲۴ ساعت در معرض هوای طبیعی و به دور از نور مستقیم آفتاب قرار داده شدند تا خشک شوند (Gilbert, 1996). پس از آن کیستها به چهار گروه تقسیم شدند، یک گروه به عنوان شاهد و بدون انجام تیمار خاصی، تخم گشایی شد و سه گروه دیگر که پس از تیمارهای زیر تخم گشایی شدند:

تیمار اول: هیدراسیون در آب به مدت ۱۵ دقیقه و دهیدراسیون در آون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد تا زمانی که میزان رطوبت کیستها به ۶ تا ۷ درصد برسد.

تیمار دوم: پس از انجام هیدراسیون و دهیدراسیون به روش فوق، کیستها به مدت یک هفته در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

تیمار سوم: پس از انجام هیدراسیون و دهیدراسیون به روش فوق، کیستها به مدت یک ماه در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

هیدراسیون و دهیدراسیون

برای هر تیمار ۳ گرم کیست در نظر گرفته شد. کیستهای مورد نظر درون ظرف یک لیتری مخروطی ریخته شد و ۸۰۰ میلیلیتر آب شیرین به آن اضافه شد. عمل هوادهی کیستها در داخل مخروط آب شیرین به مدت ۵۱ دقیقه انجام گرفت. سپس کیستها با صافی با روزنه ۱۰۰ میکرومتری جدا شد و پس از گرفتن آب اضافی برای دهیدراسیون به مدت ۱ ساعت هوادهی شد. سپس آنها را روی فویل پهن شدند و به مدت ۲۴ ساعت داخل آون قرار داده شدند تا رطوبت آنها به ۶ تا ۷ درصد برسد.

تخمگشایی

کیستها پس از اعمال تیمارهای ذکر شده، از فیلتر ۴۵/۲۰ میکرونی عبور داده شدند و در ظروف یک لیتری حاوی آب با شوری ۳۳ قسمت در هزار و ۸ pH قرار گرفتند. این ظرف داخل یک آکواریوم با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد. روشنایی با استفاده از لامپ مهتابی با بهره نوری ۶۰ لومن بر وات در فاصله ۴۰ سانتیمتری بالای آکواریوم تنطیم شد. کیستها با تراکم حدود یک گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت در شرایط فوق هوادهی شدند. پس از ۲۴ ساعت لاروهای اینستار I خارج شدند. به منظور محاسبه درصد تخم گشایی، از هر ظرف نمونه گیری انجام شد. سپس لاروهای آرتمیا با استفاده از محلول لوگول فیکس و در زیر لوپ (Zeiss، آلمان) بررسی شدند. در زیر لوپ، ناپلیها (N)، لاروهای چتری (U) و کیستهای تخم گشایی نشده (E) شمارش شد و با استفاده از رابطه ۱ درصد تخم گشایی محاسبه شد ( Boone and .(Baas-Becking, 1931

رابطه ۱:

Hatching Percentage = [N/(N+U+E)] × 100 N: ناپلیها؛ U: لاروهای چتری؛ E: کیستهای تخمگشایی نشده.

## پرورش لارو

جداسازی لاروها با توجه به ویژگی نورگرایی مثبت انجام شد. از هر گروه حدود ۲۰۰ لارو وارد ظروف پرورشی شد. ظروف کشت دارای دو لوله هستند که یکی برای هوادهی و دیگری برای غذادهی استفاده *Dunaliella* و مخمر لنسی PZ با روش استاندارد انجام میشد. شوری آب هر روز توسط دستگاه شوریسنج (Antago، ژاپن) اندازه گیری می شد و در صورت افزایش شوری، به آن آب مقطر اضافه می شد. لاروها تا روز ۲۵ دوره پرورشی در این شرایط قرار گرفتند.

## تعیین میزان بقا و رشد

در روزهای ۸، ۱۱، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دوره پرورشی، لاروهای زنده شمارش و به ظرف دیگری منتقل شدند. در هر مرحله با استفاده از تعداد لاروهای زنده به تعداد لاروهای اولیه ۴۰۰ لارو)، درصد لاروهای زنده به دست آمد (Boone and Baas-Becking, 1931).

در روزهای ذکر شده، میزان رشد لاروها با اندازه گیری طول بدن از سر تا ابتدای آخرین بند شکمی (تلسون) در ۱۰ لارو که به صورت تصادفی از هر گروه جدا شده بودند محاسبه

شد. اندازه گیریها بر روی لاروهای فیکس شده با لوگل و با میکروسکوپ مجهز به میکرومتر (Zeiss، آلمان) انجام شد و توسط دستگاه دیجیتایزر (Graphtec ،KD، بلژیک) ثبت شد.

## تجزيه و تحليل آماري

تمامی آزمایش ها با سه تکرار انجام شدند و داده ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس آزمون دانکن در سطح اطمینان ./۹۵ (۲۰/۰۵)، توسط نرمافزار SPSS 22 مقایسه شدند.

## نتايج

نتایج به دست آمده از انجماد یک هفتهای و یک ماهه کیست Artemia urmiana نشان داد که درصد تخم گشایی با افزایش مدت زمان نگهداری کیستها در سرما، به طور منظم افزایش یافت. به طوری که درصد تخم گشایی پس از یک هفته و یک ماه تحت دمای پایین،

نسبت به زمان بلافاصله پس از اعمال تیمارهای هیدراسیون و دهیدراسیون، افزایش قابل توجهی را نشان داد ولی با این وجود میزان تخم گشایی کیستها در گروه شاهد همیشه بالاتر از میزان آن در تیمارهای اعمال شده بود (شکل ۱).

حداکثر درصد بقا با نگهداری کیستها به مدت یک ماه در دمای ۲۰ – درجه سانتی گراد و سپس اعمال تخم گشایی (تیمار سوم)، در روز ۱۱ مشاهده شد (۹۰/۰۰۵). اما در روزهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ بین تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی داری دیده نشد (جدول ۱).

Artemia urmiana مقایسه میانگین رشد Artemia urmiana در روزهای شمارش نشان داد که میانگین طول بدن آرتمیاها در روزهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ در تیمار یک ماه نگهداری در سرما بیشترین رشد و در گروه بدون تیمار سرمایی کمترین رشد را نشان داد (جدول ۲).



شکل ۱: مقایسه درصد تخم<sup>9</sup>شایی کیست Artemia urmiana در تیمارهای مختلف (میانگین ± انحراف معیار). در این نمودار گروههای بدون تیمار سرمایی (تیمار اول)، تیمار سرمایی یک هفتهای (تیمار دوم) و یک ماهه (تیمار سوم) با گروه شاهد مقایسه شده است. اختلاف معنیداری بین تیمارها وجود ندارد.

روز ۲۵	روز ۲۰	روز ۱۵	روز ۱۱	روز ۸	تيمارها
36/20	۶ • / • ۸	۷۵/۰۰	۲۷/۹۱	<b>۲۹/۱۶</b>	تیمار ۱
۳۵/۹۱	۵۶/۹۱	84/18	۶۷/۰۰	۶٨/•٨	تیمار ۲
41/04	۵۱/۸۴	YA/AY	۸٣/۰۰*	۸۱/۶۱	تیمار ۳
۴۸/۸۳	۶۴/۵۸	۲۵/۹۱	Y8/88	<b>λ</b> •/•λ	شاهد

جدول ۱: مقایسه درصد بقای Artemia urmiana در تیمارهای مختلف

\*: علامت ستاره در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنىدار است (P<٠/٠۵).

روز ۲۵	روز ۲۰	روز ۱۵	روز ۱۱	روز ۸	تيمارها
۱۰/Å?±۱/۱	<b>ヽ・/・</b> \±\/・・	۸/۹۴±•/۶۷	$V/\cdot \Delta \pm \cdot / \Delta N$	۴/۶۹±•/۴•	تیمار ۱
۱ • /۵ • ± • /۹۹	۹/۹۵±۰/۹۸	$\lambda/19 \pm \cdot/\lambda V$	۷/۸۲±۰/۴۵	$\Delta / \rho \Delta \pm \cdot / \Delta N$	تیمار ۲
11/41+•/90*	۱ • /۲۷± • /۹۹*	۹/۲۷±۰/۹۴*	۶/۸۲±۰/۶۲	$d/PV \pm 1/dV$	تیمار ۳
$1./\lambda\gamma\pm1/\Delta$	۹/٩٠±٠/٩٣	$\lambda/\lambda Y \pm \cdot/Y Y$	٧/١٩±٠/٧٠	۵/۱۲±۰/۶۰	شاهد

جدول ۲: مقایسه میانگین رشد Artemia urmiana بر حسب میلیمتر در تیمارهای مختلف

\*: علامت ستاره در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنیدار با تیمار شاهد است (P<٠/٠۵).

بحث

نتایج به دست آمده از بررسی درصد تخم گشایی کیستهای Artemia urmiana نشان داد که پس از یک بار هیدراسیون و دهیدراسیون، درصد تخمگشایی کیستها کاهش یافت. نتایج مطالعه حاضر با یافتههای Lavens و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ مطابقت دارد. این مطالعات نشان دادند که هیدراسیون طولانی مدت با محتوی آب بالاتر از ۶۵ درصد باعث تکوین جنینی کیستها میشود و دهیدراسیون بعدی این کیستها نه تنها باعث توقف قابل برگشت تخمگشایی آنها نمی شود، بلکه باعث مرگ آنها می شود. همچنین دهیدراسیون ناکافی کیستها و یا هیدراسیون مکرر که محتوی آب کیستها را به میزان ۳۰ تا ۶۵ درصد برساند، باعث شروع فعاليت متابوليكي كيستها مي شود كه اين امر

باعث کاهش شدید محتوی انرژی کیستها به پایینتر از حد لازم برای رسیدن به مرحله خروج از تخم در زمان انکوباسیون تحت شرایط مناسب تخم گشایی میشود و درصد تخم گشایی را به طور معنیداری کاهش می دهد (Lavens and Sorgeloos 1996).

برخی مطالعات پیشین نشان دادهاند که در کیستهای آرتمیا تا حدود ٪۷۰ تخمگشایی پس از اعمال دورههای هیدراسیون و دهیدراسیون مشاهده شده است. این کیستها که کیستهای به تاخیر افتاده در تخمگشایی نامیده میشوند به وسیله تفاوتهای ساختمانی خود قابل تشخیص بودند. به طوری که کیستهای مورد آزمایش مابین پوسته و جنین خود فاصلهای داشتند که در بسیاری نواحی با گلیکوژن پر شده بود. تحت شرایط هوازی باید متابولیسم کربوهیدراتی برای تامین انرژی

فراهم شود و گلیکوژن به مصرف برسد (Morris, 1971).

مشخص شده است که فرآیند دیاپوز و نیز پایان یافتن آن در اثر سازگاری با زیستگاه یک گونه ایجاد میشود که این سازگاریها باعث ایجاد نژادهای متفاوت از هم شدهاند (حافظیه و همکاران، ۱۳۹۴). بنابراین نژادهای مختلف از نظر نحوه رفع دیاپوز با هم متفاوت هستند و در نتیجه دامنههای متفاوتی برای تخم گشایی بهینه وجود دارد. Brown و همکاران (۱۹۸۴) آزمایشهایی با استفاده از کیستهای آرتمیای نواحی مختلف جغرافیایی انجام دادند و به تفاوتهای داخل جمعیتی در قابلیت تخم گشایی کیستها اشاره کردند. Quynh و همکاران (۱۹۸۸) نیز با مطالعاتی بر روی نژادهای مختلف ولی در استخرهای یکسان به نتايج مشابهی دست یافتند. این مسئله نشان میدهد که نوع تیمار لازم برای افزایش درصد تخم گشایی، ویژه هر نژاد است و بنابراین برای هر نژاد باید جداگانه بررسی شود.

در مورد تیمار در سرما پس از هیدراسیون و دهیدراسیون، نتایج نشان داد که افزایش نگهداری کیستها تحت شرایط سرما باعت افزایش درصد تخم گشایی میشود. شاید علت این باشد که در تمامی تیمارها کیستها

هيدراته شده بودند كه باعث رفع ديايوز آنها شده، بنابراین فعالیت متابولیکی آنها افزایش یافت. اما در کیستهای گروه اول (بدون نگهداری در سرما) فعالیت متابولیکی کیستها متوقف نشد يا سرعت آن كاهش نيافت. بنابراین از انرژی ذخیره شده در تخم استفاده شد. در حالی که با نگهداری کیستها در سرما، میزان فعالیت متابولیکی آنها کاهش یافت و انرژی در دسترس برای خروج از تخم نیز بیشتر بود که این خود می تواند دلیلی بر بالا بودن درصد تخم گشایی کیستهای گروه سوم (انجماد یک ماهه) نسبت به گروه دوم (یک هفته در سرما) و این دو نسبت به نمونههایی باشد که بلافاصله پس از اعمال دورههای هیدراسیون و دهیدراسیون تخم گشایی شدند. بنابراین در اثر نگهداری کیستها در سرما، کاهش تخمگشایی نسبت به تیمار شاهد تا حدودی جبران می شود. مطالعات پیشین بر گونههای دیگر نیز این نتایج را تایید میکنند. به عنوان مثال، Yoshida و همکاران (۲۰۱۱) افزایش تخم گشایی را پس از انجماد آهسته Artemia franciscana كيستها هيدراته نشان دادند.

در مطالعهای بر روی سه جمعیت از آرتمیاهای ایران، گزارش شد که در مجموع، Archive of SID

بقای آرتمیاهای سه جمعیت در طول دوره پرورش حتی بدون تیمار خاصی کاهش یافت (محمدیاری، ۱۳۸۱) که این موضوع با نتایج حاضر همخوانی دارد.

سابقه پژوهشی در مورد اثر هیدراسیون و دهیدراسیون و تیمار سرمایی بر میزان رشد لاروهای آرتمیا وجود ندارد. نتایج مطالعه حاضر نیز تنها افزایش معنیداری را در رشد لاروهای آرتمیای ۱۵ تا ۲۰ روزه در گروه انجماد یک ماهه، نشان داد که میتوان آن را این گونه تفسیر کرد که احتمالا به دلیل بازماندگی بیشتر و عدم تفریخ بسیاری از کیستها در این گروه، تنها کیستهای با کیفیت بالا از دیاپوز خارج شدند و رشد کردند. بنابراین این

جمله گروه شاهد میزان رشد بیشتری را نیز نشان دهند.

نتایج این مطالعه نشان داد که در Artemia urmiana تیمار در سرما به دنبال هیدراسیون و دهیدراسیون کیستها، درصد تخمگشایی و بقا را کاهش میدهد ولی رشد آرتمیاهایی که از این کیستها تخمگشایی می شوند، تحت تاثیر تیمارهای اولیه قرار نمی گیرد. بنابراین میتوان نتیجه گیری کرد که برای عمل آوری کیست Artemia urmiana و رفع دیاپوز، برخلاف بسیاری از گونهها، هیدراسیون و دهیدراسیون و تیمار سرمایی، ضروری نیست و انجام آن کیفیت کیست را کاهش میدهد.

#### منابع

- **آق ن. ۱۳۷۵**. آرتمیا ارومیانا، سیکل زندگی و ارزش غذایی. انتشارات موسسه تحقیقات و آموزشی شیلات ایران. ۹۵ص.
- حافظیه م.، شریفیان م. و حسین پور ه. ۱۳۹۴. مقایسه زیستسنجی کیست و ناپلیوس آرتمیاهای ایران. نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۹(۱): ۲۴–۱۱.
- خلیلی ن.، عمادی ه. و نگارستان ه. ۱۳۸۶. بررسی اثرات شوریهای بالا بر رشد و بقا آرتمیای بکرزای اطراف دریاچههای ارومیه و دریاچه قم. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۱۹۹(): ۲۰–۶۵.
- طیبی ل.، سیف آبادی ج.، عابدیان ع. و آق ن. ۱۳۸۵. بررسی اثرات دما بر قابلیت تخمه گشایی و ارزش غذایی ناپلیوس آرتمیای ارومیه. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۸(۴): ۶۹-۶۹.

- عظیمیراد م.، مشکینی س.، احمدی فر ن. و حسینی فرح. ۱۳۹۵. بررسی اثرات تغذیه با آرتمیای غنی شده با سین بیوتیک بر شاخصهای رشد جمعیت میکروبی روده و مقاومت در برابر استرس ماهی آنجل. نشریه شیلات، ۱۹(۱): ۸۸-۷۷.
- محمدیاری ع. ۱۳۸۱. مقایسه بیومتریک، مورفولوژیک و چرخه زندگی سه جمعیت آرتمیای ایران. پایاننامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۱۷۳ص.
- یاراحمدی ب.، مقدسی ف. و سیاوشی ر. ۱۳۸۵ استفاده از کیست دکپسوله شده *Artemia urmiana* در تغذیه لارو ماهی قزلآلای رنگینکمان. پژوهش و سازندگی، ۷۳: ۴۹–۵۸
- Abatzopoulos T.J., Agh N., Van Stapen J., Razavi Rohani S.M. and Sorgeloos P. 2006. Artemia sites in Iran. Journal of Marine Biology. 86: 299–307.
- Bengtson D.A., Leger P. and Sorgeloos P. 1991. Use of Artemia as a food source for aquaculture. P: 256–285. In: Brower R.A., Sorgeloos P. and Trotina C.M.A. (Eds.). Artemia Biology. CRC Press, Florida, USA.
- Boone E. and Baas-Becking L.G. M. 1931. Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. Journal of General Physiology, 14(6): 753–763.
- Brown R.A., Sallee S.E., Grosch D.S., Segreti W.O. and Purser S.M. 1984. Partitioning genetic and environmental components of reproduction and life span in *Artemia*. Ecology, 65: 949–960.
- Gilbert V.S. 1996. Artemia. P: 101–318. In: Lavens P. and Sorgeloose

P. (Eds.). Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. Ghent, Belgium.

- Lavens P. and Sorgeloos P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, No. 361. Rome. 295P.
- Morris J.E. 1971. Hydration, its reversibility and the beginning of development in the brine shrimp, *Artemia salina*. Comparative Biochemistry and Physiology, 39(4): 843–854.
- Quynh V.D., Lavens P., Leger P., Takaert W. and Sorgeloos P. 1988. Characterization of brine

shrimp *Artemia* from Cam Ranh Bay in central Vietnam. Hydrobiologia, 157(3): 209–217.

- **Rajkumar G. and Babo D.E. 2015.** Effect of light, temperature and salinity on the growth of *Artemia*. International Journal of Engineering Science Invention, 4(12): 7–14.
- Yoshida T., Arii Y., Hino K., Sawatani I., Tanaka M., Takahashi R., Bando T., Muki K. and Fukuo K. 2011. High hatching rates after cryopreservation of hydrated cysts of the brine shrimp A. franciscana. Cryo Letters, 32(3): 206–215.



Aquatic Physiology and Biotechnology Vol. 5, No. 2, Summer 2017



## The Effect of freezing on hatching efficiency, growth and survival of *Artemia urmiana* after hydration and dehydration

Rafieh Khalili<sup>1</sup>, Mina Ramezani<sup>2</sup>\*, Naser Agh<sup>3</sup>

Received: October 2016	Accepted: December 2016
------------------------	-------------------------

#### Abstract

The aim of this research is the study of the freezing effects at -20°C after hydration and dehydration on the hatching efficiency, survival percentage and growth of *Artemia urmiana* cysts. Experiments were carried out in four treatments. In the first treatment, hatching was done after one hydration and dehydration cycle with the standard method. In the second treatment, hatching was done after one hydration and dehydration cycle and then one week freezing at -20°C temperature. In third treatment, hatching was done after one hydration and dehydration cycle and then one month freezing at -20°C temperature. Standard hatching was done without any other treatment in the control group (fourth treatment). Results indicated the cyst hatching percentage increased by increasing freezing time (one-month freezing), even though hatching percentage was higher in control group. The most survival percentage was observed in the 11th day of third treatment. The highest growth was in 15 to the 25th day of third treatment (P<0.05). To sum up, freezing is not necessary for *Artemia urmiana* and performing it decreases hatching percentage.

Key words: Artemia urmiana, Cyst, Dehydration, Hydration, Freezing.

1- M.Sc. in Zoology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

\*Corresponding Author: M.ramezani@iauctb.ac.ir

<sup>2-</sup> Associate Professor in Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>3-</sup> Associate Professor in Artemia Institute, Urmia University, Urmia, Iran.