



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

تاریخ دریافت: آذرماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۳

### چکیده

*A. urmiana* تخم‌گشایی شده در شرایط آزمایشگاهی در دو تیمار و چهار تکرار با تراکم ۵۰۰ عدد در لیتر در آکواریوم‌های کوچک شیشه‌ای 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 میانگین‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود ۹۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ )، ولی میانگین بازماندگی در دو تیمار دارای اختلاف معنی‌دار نیست ( $p = 0.4321$ ). درصد میزان بقا و میانگین طول در گروه‌های تغذیه شده با کیتوسروس به ترتیب ۹۵٪، ۹۷٪، ۹۳٪، ۹۴٪ و ۷۷٪، ۷۷٪، ۷۶٪، ۸۱٪، ۸۱٪، ۸۷٪ میلی‌متر و در گروه تغذیه شده با کلرلا به ترتیب ۸۲٪، ۸۰٪، ۷۷٪، ۸۵٪ و ۷۱٪، ۷۶٪، ۶۸٪، ۵۳٪ میلی‌متر می‌باشد.

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**

فیتوپلانکتون ها در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و میکروجلبکها از ضروریات غذایی سالن های تکثیرآبزیان مختلف دریایی از جمله دوکفه ای ها، نرم تنان، مراحل لاروی سخت پوستان و مراحل اولیه رشد برخی ماهی ها هستند. جلبک ها همچنین برای تولید زئوپلانکتونها (کوپه پودا، روتیفر و آرتمیا) ضروری هستند. اعتقاد بر این است که این جلبک ها نقش مهمی در تثبیت کیفیت آب، تغذیه لاروها و کنترل میکروبی دارند. البته تمام گونه های جلبکی برای رشد و بقا موجوداتی که تغذیه فیلترکنندگی دارند به عنوان غذا موفق نیستند. گونه های موفق و مناسب جلبکی بر اساس پتانسیل کشت توده ای، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی انتخاب گشته اند. تکنیک های مختلفی نیز برای رشد این گونه ها توسعه یافته است تا بتوانیم در مقیاس های بزرگ چه به صورت کشت متراکم کنترل شده و چه به صورت کشت منفرد گونه ای متراکم آنها را بکار ببریم (۵). آرتمیا از نظر تغذیه ای، فیلتر کننده غیر انتخابی است، 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 و رفتار 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 و روش ها**

با ایجاد شرایط کشت آرتمیا در آزمایشگاه ایستگاه مرکز تحقیقات بوشهر (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 جنسی دریاچه ارومیه تخم گشایی گردید (۱). ناپلیوس های تازه تفریح شده با تعداد مساوی در دو تیمار و برای هر کدام چهار تکرار در آکواریوم های شیشه ای کوچک ۴ لیتری تحت شرایط زیستی یکسان (دما ۲۸ درجه سانتیگراد شوری آب ۳۵ گرم در لیتر، pH در حد ۷/۵-۸) قرار داده شد. در هر تکرار ۵۰۰ ناپلیوس در لیتر قرار داده شد. و در مجموع در هر آکواریوم با توجه به ۳ لیتر آگیری ۱۵۰۰ ناپلیوس رها سازی گردید. تنها اختلاف محیط های کشت در طی دوره پرورشی، نوع غذای مصرفی بود که در گروه نخست، کیتوسروس و در گروه دوم کلرالی دریایی استفاده گردید.

برای تهیه سوسپانسیون جلبکی با تراکم یکنواخت از هر گونه، ابتدا از توده جلبک ذخیره شده در محیط آگار، به ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتری محتوی محیط کشت مایع، تلقیح و روی میز کشت با شدت روشنایی ۳۰۰۰ لوکس، دمای ۲۶ درجه سانتیگراد پرورش انجام شد. 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 گردید شمار سلول جلبکی در دو روز اول پرورش ۱۷۰ سلول و در طی بقیه روزها، تا آخرین روز پرورش (روز بیستم)، ۴۰ سلول در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا انتخاب گردید (۱۲).

**کشت جلبک**

مهمترین پارامترهای کشت جلبک ها، کمیت و کیفیت غذا، میزان

نور و pH، شفافیت، دما و شوری است.

دامنه تحمل دما ۱۶-۲۷ و بهترین دما برای کشت انواع جلبک ها ۲۴-۱۸ درجه سانتیگراد، دامنه تحمل شوری ۴۰-۱۲ و بهترین شوری برای کشت جلبکی ۲۴-۲۰ گرم در لیتر، دامنه تحمل شدت نور ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ و بهترین شدت نور برای کشت جلبکی ۵۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس، بهترین دوره نوری برحسب ساعت ۱۶-۲۴ و دامنه تحمل pH ۷-۹ و بهترین pH برپا کشت جلبکی ۸/۷-۸/۲ می باشد (۷).

کشت جلبک با غنی سازی مواد مغذی که میزان آن در آب دریا کم است انجام می گیرد. این مواد شامل گروه بزرگ مولکولها، نیترات، فسفات) با نسبت ۶ به ۱) و سیلیکات) مخصوص دیاتومه ها)، و ذرات کوچک مولکول همچون ویتامین B<sub>۱۲</sub>، سیانوکوبالامین (B<sub>۱۲</sub>) و در برخی موارد بیوتین می باشند.

محیط کشت در این مطالعه Walne می باشد.

**شمارش سلولهای جلبکی**

برای شمارش از همتوسایتومتر Fuchs استفاده گردید. در صورت نیاز به رقیق کردن از فرمالین ۴٪ برای تثبیت استفاده شد و لامل را روی اسلاید تا حدی فشار می دهیم تا حلقه های انکسار نیوتن نمونه دیده شود.

با کمک پیپت پاستور، حفره های اسلاید را با سوسپانسیون پر می کنیم (طوری که از ایجاد حباب جلوگیری شود) شمارش سلولها با عدسی ۴۰ که کوچکترین میدان دید را دارد و از روش Fuchs در فرمول ۱ قرار داده و محاسبه گردید (۴).

$$nI = n1 + n2 / 100 \times 10 \times d = n2 \text{ عرضی}$$

شمار سلولهای خط پایینی D = رقت



میانگین داده‌ها در هر تیمار محاسبه و آنالیز وریانس یک طرفه داده‌ها بر اساس میانگین‌ها انجام شد.

### نتایج

داده‌های مربوط به آنالیز وریانس یک طرفه میانگین طول‌های اندازه‌گیری 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 میانگین‌ها از طریق آنالیز وریانس یک طرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود اطمینان ۹۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار است ( $p < 0.05$ )، ولی درصد میانگین بازماندگی در سطح ۹۵٪ اختلاف معنی‌دار را نشان نمی‌دهد ( $p = 0.4321$ ).

با توجه به منابع موجود شمار حدود ۱۷۰ سلول جلبکی در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا در طی دو روز اول تخمه‌گشایی 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 نمونه‌ها 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 تخم‌گشایی با هم متفاوت می‌باشد ولی حجم استفاده شده به عنوان محیط کشت روزانه مساوی می‌باشد. 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 اندازه‌گیری و همچنین تعداد آرتمیاهای بالغ شمارش و نسبت به تعداد رهاسازی شده اولیه درصد گیری گردید.

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 داده‌های مربوط به آنالیز وریانس 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 گروه‌های تغذیه شده با کیتوسروس به ترتیب ۹۵٪، ۹۷٪، ۹۳٪، ۹۴٪ و ۷/۷۷، ۷/۷۶، ۸/۰۱، ۷/۸۷ میلی‌متر و در گروه‌های تغذیه شده با کلرلا به ترتیب ۸۲٪، ۸۰٪، ۷۷٪، ۸۵٪ و ۷/۵۳، ۶/۸۳، ۷/۶۶، ۷/۰۶ و ۷/۵۳ میلی‌متر می‌باشد.

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

همانطور که از داده ها مشخص است استفاده از کیتوسروس به عنوان غذای آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش درصد بازماندگی اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. دامنه تغییرات درصد بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا، ۷۷-۸۵٪ و در نمونه های تغذیه شده با کیتوسروس ۹۳-۹۷٪ می باشد (جدول ۲ و ۳). مقایسه این دو گروه نشان می دهد که تغذیه با کیتوسروس تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کلرلا نشان نمی دهد ( $p=0/4321$ ).

Lam و Quyhn در سال ۱۹۸۷ اعلام کردند که رشد آرتمیای ماده نژادهای دریاچه بزرگ نمک امریکا، دریاچه ماکائو برزیل و بکرزای چینی در استخرهای خاکی غنی شده با کود مرغی به ترتیب ۱۱/۷، ۱۰/۱۵ و ۱۱/۳۵ میلیمتر است در صورتی که رشد آرتمیاهای نر نژاد دریاچه نمک و ماکائو کمتر از ماده ها می باشد. در هنگام پرورش آرتمیای نژاد سانفرانسیسکو از مرحله ناپلیوس تا بلوغ در استخرهای خاکی غنی شده با کود های حیوانی و معدنی، مشخص گردید که زمان پرورش متراکم، طول آرتمیای ماده ۷ میلیمتر بود و در پرورش غیر متراکم ۱۵ میلیمتر اندازه گیری شد (۹).

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

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 نشان می دهد که استفاده از کیتوسروس به عنوان غذای زنده آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش اندازه طولی، اختلاف معنی داری دارد (جدول ۱ و شکل ۲). از آنجا که اسید های چرب غیر اشباع HUFA از عوامل موثر در رشد می باشد (۷)، یکی از احتمالات، افزایش رشد در آرتمیای تغذیه شده با کیتوسروس ممکن است بالا بودن میزان اسید های چرب غیر اشباع در این گونه است که نیاز به آزمایش دارد. در این بررسی دامنه تغییرات طولی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا ۶/۸-۷/۶ و در نمونه های تغذیه شده با کیتوسروس ۷/۷-۸ میلی متری می باشد. مقایسه این دو گروه نشان می دهد که تغذیه با کیتوسروس مناسب تر و رشد سریعتری را سبب می گردد ( $p=0/0364$ ).



شکل ۲) میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیا تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم

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 franciscana* 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 .

عنوان غذای آرتمیا تاثیر معنی داری روی مدل تولید مثل آرتمیا بدست نیامد (۳).

Gibor در سال ۱۹۵۶ نشان داد که آرتمیا نمی تواند جلبک *Stichococcus* را هضم نماید(۴).

استفاده از میکرو جلبک های خشک شده همچون اسپیرولینا برای کشت آرتمیا موفقیت آمیز بوده است ولی به دلیل گرانی آن چندان توصیه نشده است (۱۰).

### منابع مورد استفاده

۱- مخدومی ن، حسینی ع، شریف پور ع. ۱۳۸۱. پرورش آرتمیا (نژاد دریایچه 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, 1991 The 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



Archive