Archive of SID

اثر غلظت های متفاوت جلبک *Chlorella* بر رشد و میزان بازماندگی *Artemia franciscana*

جواد سالارمحمدی[1]*؛ مازیار یحیوی[1]؛ میر مسعود سجادی[2]؛ حجت الله فروغی فرد[3]

Salar_mohammadi66@yahoo.com

۱-دانشگاه آزاد اسلامی واحدبندرعباس، بندرعباس ، ایران. صندوق پستی: ۱۳۱۱-۷۹۱۵۹

۲- دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۳- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس. صندوق پستی:۱۵۹۷

تاریخ دریافت : فروردین ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۳۹۲

چکیده

آرتمیا در بخش غذای زنده دامنه وسیعی را به خود اختصاص داده تا جایی که در برخی موارد به عنوان غذای زنده منحصر بفرد ارزش پیدا کرده است. در این مطالعه *Artemia franciscana* تخم گشایی شده در شرایط آزمایشگاهی در پنج تیمار(A, B, C, D, E) هر یک با سه تکرار با تراکم ۵۰۰ عدد در لیتر در ظروف کوچک ۴ لیتری با جلبک کلرلا به مدت ۳ هفته تغذیه گردید. در طول مدت آزمایش تمامی شرایط مانند دما، شوری و pH جهت تمام تیمارها یکسان در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج بعمل آمده مشخص گردید ازنظر طول، تیمار B با تراکم ۱۶ میلیون، از نظر بازماندگی تیمار C با تراکم ۱۲ میلیون و از نظر وزن تیمارB با تراکم ۱۶ میلیون، وضعیت مناسب تری را نسبت به سایر تیمارها داشته اندو اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان دادند($P<۰/۰۵$). هدف از اجرای این پژوهش بررسی اختلاف میان غلظت های مختلف جلبک کلرلا جهت تغذیه ناپلیوس های آرتمیا و مقایسه این غلظت ها جهت سنجش رشد و میزان بازماندگی ناپلیوس ها بود.

کلمات کلیدی : *Artemia franciscana*، جلبک کلرلا، رشد، بازماندگی.

*نویسنده مسئول

www.SID.ir

Archive of SID

۱.مقدمه

فیتوپلانکتون ها در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و از ضروریات غذایی سالن های تکثیر آبزیان مختلف دریایی ازجمله دوکفه ای ها، نرم تنان، مراحل لاروی سخت پوستان و مراحل اولیه رشد برخی ماهی ها هستند(۲). فیتوپلانکتون ها بدلیل داشتن رنگدانه، ویتامین، اسیدهای چرب و پروتئین از اهمیت غذایی بالایی در کلیه منابع آبی و آبزی پروری برخوردارند(۵). جلبک ها همچنین برای تولید زئوپلانکتون ها(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 (۲). در میان غذاهای زنده که در صنعت آبزی پروری بکار می رود، آرتمیا دامنه وسیعی را بخود اختصاص داده تا جائیکه در برخی موارد به عنوان غذای زنده منحصر بفرد ارزش پیدا کرده است به این دلیل که آرتمیا در شرایط سخت و نامساعد محیطی تشکیل سیست داده و این سیست ها برای مدت زمان زیادی قابل نگهداری بوده و در صورت مساعد شدن شرایط چرخه زندگی آرتمیا از سر گرفته خواهد شد(۱). آرتمیا از نظر تغذیه ای، فیلتر کننده غیر انتخابی است، بدین معنی که از کلیه موادغذایی موجود در محیط که از نظر اندازه قابلیت ورود به دهان را داشته باشند، می تواند استفاده نمایند. عوامل مختلفی در نرخ فیلتراسیون، هضم، جذب و رفتار تغذیه ای آرتمیا تأثیر 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(۶). آرتمیا از میکروفلور خارجی همچون ریز جلبک ها، باکتری ها و دتریت ها به خوبی تغذیه می نماید. هدف از اجرای این پژوهش بررسی اختلاف میان غلظت های مختلف جلبک کلرلا جهت تغذیه ناپلیوس های آرتمیا و مقایسه این غلظت ها جهت سنجش رشد و میزان بازماندگی ناپلیوس ها بود. به دلیل اینکه در کشور چنین کاری تا کنون انجام نشده بود، به همین دلیل این مطالعه صورت گرفت.

۲. مواد و روش ها

این مطالعه در آزمایشگاه کشت پلانکتون پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان صورت پذیرفت. جهت تخم گشایی سیست های آرتمیا، در شوری آب۳۰گرم درلیتر، دمای آب ۲۷ درجه سانتیگراد،کود دهی با استفاده از لامپ های ۲۰۰ واتی مهتابی و در زوک های ۶۰ لیتری با هوادهی ازبخش انتهایی زوک انجام شد، سپس ناپلیوس های تازه تفریخ شده به تعدادمساوی درپنج تیمار($A=۲۰\times۱۰^{۶}$، $B=۱۶\times۱۰^{۶}$، $C=۱۲\times۱۰^{۶}$، $D=۸\times۱۰^{۶}$، $E=۴\times۱۰^{۶}$) هریک با سه تکراردرظروف شیشه ای۴ لیتری تحت شرایط زیستی یکسان (دما۲۷درجه سانتیگراد، شوری آب ۲۵ گرم در لیتر،pH ۸-۷/۵) قرارداده شدند و در هرتکرار ۵۰۰ ناپلیوس در لیتر قرار داده شد درمجموع در هر ظرف با توجه به ۳ لیترآبگیری۱۵۰۰ناپلیوس رها سازی گردید. تنها اختلاف محیط های کشت در طی دوره پرورشی، تراکم های متفاوت غذای مصرفی بود.

ضمناً جهت کشت جلبک که جهت تغذیه ناپلیوس ها استفاده شد. به این طریق عمل شد که ابتدا از ۳ ظرف ۳ لیتری برای کشت جلبک استفاده گردید، بدین طریق که این ظروف را به اندازه ۲ لیتر از آبی که قبلاً با شوری ۲۵ گرم در لیترآماده شده بود آبگیری کرده و درب آن را با استفاده از (چوب پنبه) و کاغذ فویل محکم کرده و درون اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت، سپس این ظروف در فایکولب قرار داده شدند تا سرد شوند تا دمای آن به دمای فایکولب یعنی ۲۷ درجه سانتی گراد که با کولر تنظیم و ثابت نگه داشته شد، برسند. پس از آن برای کشت جلبک ابتدا دست های خود را ضدعفونی و سپس با استفاده از پیپت های مدرج و با استفاده از یک مکنده که به سر آن ها متصل شد مقادیر مورد نیاز از محلول های کشت شامل سیلیکات، ویتامین و

www.SID.ir

Archive of SID

مواد مغذی را که مقدار مورد نیاز (به ترتیب ۲cc/lit ,۰/۵,cc/lit۱cc/lit) می باشد به ظروف اضافه شد. سپس به مقدار مورد نیاز از استوک اولیه را به هر کدام از ظروف اضافه و بعد از آن درب ظروف را محکم بسته و هوادهی را تنظیم و در معرض نور فلورسنت قرار داده شدند. جهت انجام آزمایش نیاز به یک تراکم مورد نظر جلبک بود که جهت شمارش آنها بدین گونه عمل شد، برای شمارش ازلام هماتوسیتومترFuchs استفاده شده و ازفرمالین ۴٪ برای تثبیت استفاده گردید که لامل را روی اسلاید تا حدی فشار داده تاحلقه های انکسارنیوتن نمونه دیده شود. با کمک پیپت پاستور، حفره های اسلاید با سوسپانسیون پر شد (طوری که ازایجاد حباب جلوگیری شود) شمارش سلول ها با عدسی با بزرگنمایی۴۰ که کوچکترین میدان دید را دارد انجام گرفت. شمارش جلبکی به این ترتیب که تعداد سلول های موجود در ۵ خانه را شمارش و سپس عدد بدست آمده را در عدد ۵ و در ۱۰۰۰۰ ضرب شدتا تعداد سلول ها در میلی لیتر (سی سی) بدست آید. در این روش برای شمارش از چهار ضلع یک مربع دو ضلع را به تشخیص انتخاب کرده سپس کلیه سلولهایی را که چسبیده به این دو ضلع بودند(چه از داخل و چه از خارج) شمارش شدند ولی سلول های چسبیده به دو ضلع دیگر شمارش نشدند(۳). در انتها برای ارزیابی طول، وزن و بازماندگی به روش زیر انجام شد:

برای بدست آوردن طول هر آرتمیا با توجه به تعداد آرتمیا های باقی مانده نمونه هایی به صورت تصادفی انتخاب گردید. هر چه تعداد بازمانده ها بیشتر بود تعداد نمونه های انتخابی نیز بیشتر می گردید. نمونه ها بر روی یک لامل ساده قرار داده شدند، سپس آن ها را با استفاده از فرمالین ۱۰۰ درصد فیکس و بعدبا استفاده از دستگاه لوپ طول آن ها اندازه گیری شد.

برای بدست آوردن وزن هر آرتمیا بدین طریق عمل گردید، ابتدا در یک بشر ۵۰ سی سی، مقدار ۲۰ سی سی آب مقطر به داخل بشر ریخته شد. سپس وزن آن را اندازه گیری، و بعد ازآن آرتمیاها به داخل بشر منتقل و مجدداً وزن آن با ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم اندازه گیری شد. وزن بشر با آب حاوی آرتمیا را از وزن بشر با ۲۰ سی سی آب بدون آرتمیا کم نموده که مساوی بود با وزن آرتمیاها، این مقدار را بر تعداد آرتمیا موجود در ظرف تقسیم کرده و بدین طریق وزن هر آرتمیا محاسبه شد.

محتویات هر ظرف شامل (جلبک و آرتمیا)، از توری پلانکتونی ۱۰۰ میکرون عبور داده شد، آنچه باقی می ماند تعداد آرتمیا باقی مانده در هر ظرف بود، سپس آرتمیاها به داخل یک بشر حاوی آب مقطر، منتقل شدند و بر روی آنها برچسب مربوط به هر ظرف چسبانده شد. سپس آرتمیاها برای اندازه گیری به آزمایشگاه منتقل شدند. برای بدست آوردن بازماندگی تعداد آرتمیای باقی مانده در هر تکرار تیمار مورد شمارش قرار گرفت. این کار با استفاده از پیپت های پلاستیکی و به راحتی انجام شد. چرا که آرتمیا ها را می توان با چشم غیر مسلح به راحتی مشاهده کرد. به وسیله پیپت پلاستیکی آرتمیاها را از درون هر ظرف مکش، سپس به داخل ظرفی دیگر منتقل شدند.

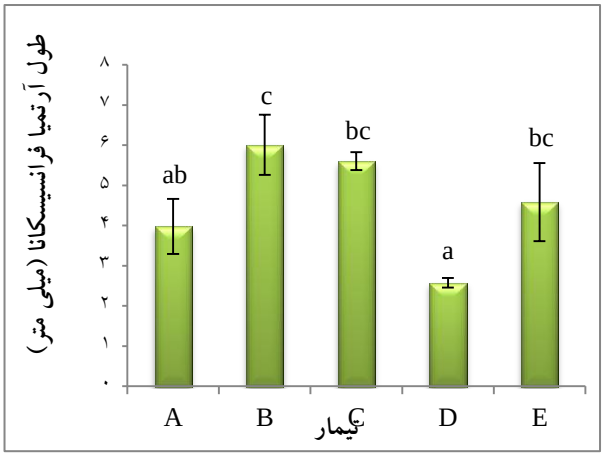
جهت انجام تجزیه و تحلیل آماری از روش آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین ها از روش دانکن و جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

۳. نتایج

داده های بدست آمده از آزمایش نشان داد که در پنج تیمار (A=۲۰×۱۰^{۶}، B=۱۶×۱۰^{۶}، C=۱۲×۱۰^{۶}، D=۸×۱۰^{۶}، E=۴×۱۰^{۶}) تغذیه شده با جلبک کلرلا *Artemia franciscana* کمترین مقدار طول در تیمار D(۸×۱۰^{۶})و بیشترین مقدار طول در تیمار B(۱۶×۱۰^{۶}) اندازه گیری گردید و از این نظر اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان دادند($P < ۰/۰۵$).

www.SID.ir

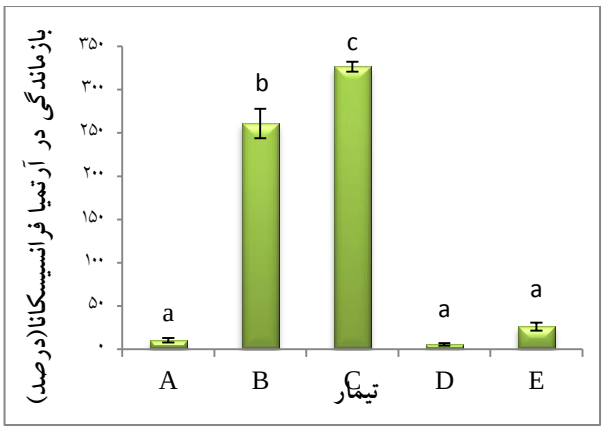
Archive of SID



شکل ۱ : میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با کلرلا

حروف متفاوت بر روی ستون نمایانگر معنی دار بودن تیمارها می باشد

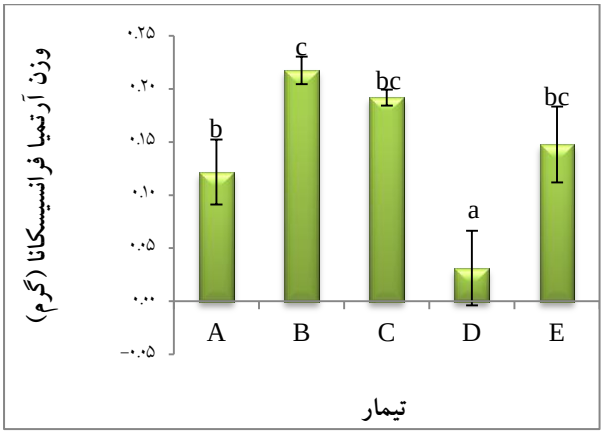
از نظر بازماندگی نیز نتایج حاصل از اندازه گیری نشان داد که کمترین میزان بازماندگی در تیمار D(۸×۱۰^{۶})و بیشترین میزان بازماندگی در تیمار C(۱۲×۱۰^{۶}) بوده و میزان بازماندگی در تیمار A در مقایسه با تیمارهای B, C و تیمار B در مقایسه با تیمارهای D, E و تیمار C در مقایسه با تیمارهای D, E از نظر آماری اختلاف معنی دار ی را نشان داد ($P < ۰/۰۵$).



شکل۲: میانگین و انحراف معیار بازماندگی آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با کلرلا

حروف متفاوت بر روی ستون نمایانگر معنی دار بودن تیمارها می باشد

نتایج حاصل از مطالعه در پنج تیمار آزمایشی نشان داد که از نظر وزن کمترین میزان وزن در تیمار D(۸×۱۰^{۶})و بیشترین میزان وزن در تیمار B(۱۶×۱۰^{۶}) بوده و میزان وزن در تیمار A در مقایسه با تیمارهای B, D و تیمار D در مقایسه با تیمارهای A, B, C, E مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی دار داشته است ($P < ۰/۰۵$).



شکل۳ : میانگین و انحراف معیار وزن آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با کلرلا

حروف متفاوت بر روی ستون نمایانگر معنی دار بودن تیمارها می باشد

۳. بحث

با توجه به اینکه تمامی داده های فیزیکی وشیمیایی اعم از دما، شوری، pH در تمامی تیمارها و تکرارها ثابت بوده ولی تنها عامل تراکم به عنوان متغیر در نظر گرفته شده است، نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که ازبین پنج تیمار($A=۲۰\times۱۰^{۶}$، $B=۱۶\times۱۰^{۶}$، $C=۱۲\times۱۰^{۶}$، $D=۸\times۱۰^{۶}$، $E=۴\times۱۰^{۶}$) مورد مطالعه بیشترین مقدار وزن مربوط به تیمار B(۱۶×۱۰^{۶})و کمترین مقدار وزن مربوط به تیمارD(۸×۱۰^{۶}) و در رابطه با طول نیز، کمترین مقدار طول در تیمار D(۸×۱۰^{۶})و بیشترین مقدار طول در تیمار B(۱۶×۱۰^{۶}) بوده و کمترین میزان بازماندگی در تیمار D(۸×۱۰^{۶}) و بیشترین میزان بازماندگی در تیمار C(۱۲×۱۰^{۶})بدست آمده است، که این کاهش و افزایش در اندازه پارامترها(وزن، طول، بازماندگی)، می تواند به دلیل تراکم جلبکی باشد که در اختیار آرتمیا قرار گرفته است. با توجه به عدم دسترسی به منابع کافی و محدود بودن دسترسی به پژوهش

www.SID.ir

Archive of SID

های انجام شده در این زمینه به ناچار از تحقیقات مقایسه ای استفاده شد.در همین زمینه تحقیقات انجام شده بر روی نرخ رشد و بازماندگی *Artemia urmiana* با تغذیه از جلبک کلرلا و کیتوسروس توسط حافظیه (۱۳۸۳) نشان داد که استفاده از کیتوسروس به عنوان غذای زنده آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش اندازه طولی، دارای اختلاف معنی دار می باشد. از آنجا که اسیدهای چرب غیر اشباع HUFA از عوامل مؤثر در رشد می باشد، یکی از احتمالات، افزایش رشد در آرتمیای تغذیه شده با کیتوسروس ممکن است بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در این گونه باشد. در این بررسی دامنه تغییرات طولی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا ۷/۶ – ۶/۸ و در نمونه های تغذیه شده با کیتوسروس ۸ – ۷/۷ میلی متر می باشد. مقایسه این دو گروه نشان می دهد که تغذیه با کیتوسروس مناسب تر و رشد سریعتری را سبب می گردد. همچنین در رابطه با درصد بازماندگی تغذیه آرتمیا با استفاده از کیتوسروس به عنوان غذای زنده نسبت به تیمار کلرلا در افزایش درصد بازماندگی اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. دامنه تغییرات در صد بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا، ۸۵ ۰/۰ – ۷۷ ۰/۰ و در نمونه های تغذیه شده با کیتوسروس ۹۷ ۰/۰ –۹۳ ۰/۰ می باشد. مقایسه این دو گروه نشان می دهد که تغذیه با کیتوسروس تفاوت معنی داری را نسبت به گروه کلرلا نشان نمی دهد(۲) همانطور که از نتایج حافظیه مشخص گردید افزودن دو جلبک کلرلا و کیتوسروس سبب افزایش رشد و بازماندگی آرتمیا ارومیانا شده که با نتایج حاصله از این مطالعه منطبق می باشد. در پژوهشی تحت عنوان پرورش آرتمیا (نژاد دریاچه اینچه) با تغذیه از جلبک سبز و سبز- آبی توسط مخدومی و همکاران(۱۳۸۱) نتایج نشان داد که تغذیه از جلبک سبز (*Chlorella* sp.) رشد میانگین طول آنها ۱۰/۴ ، ۱۰/۱ و ۹ میلیمتر و جلبک سبز –آبی (*Synechococcus* sp.) میانگین طول آنها ۱۰، ۹/۷ و ۸/۸ میلیمتر است.آزمون آماری اختلاف میانگین ها از طریق تجزیه واریانس یک طرفه، نشان داد که میانگین طول در تیمارهای مختلف با حدود اطمینان ۹۵ ۰/۰ دارای اختلاف معنی دار است($p<0/05$) (۴) همانطور که از نتایج مخدومی مشخص گردید افزودن دو جلبک سبز و سبز- آبی سبب افزایش رشدطولی آرتمیا (نژاد دریاچه اینچه) شده و حتی نشان داده که جلبک سبز(*Chlorella* sp.) سبب افزایش رشد طولی بیشتری نسبت به جلبک سبز –آبی (*Synechococcus* sp.) شده است، که با نتایج حاصله از کار مطالعه حاضر می باشد.

در بین تیمارهای مورد مطالعه تیمار D یعنی تغذیه شده با ۸ میلیون وضعیت مناسبی را نداشت. هرچند که می بایستی عامل نامناسب بودن شرایط زیست جهت آرتمیا را دلیل این مسئله دانست، اما به طور کلی با کاهش سلول های جلبکی چون میزان غذا به اندازه کافی در اختیار آرتمیا قرار نخواهد گرفت می توان عامل اصلی همین مسئله دانست. در مطالعه انجام شده قطعاً می بایستی تیمار E با ۴ میلیون سلول جلبکی وضعیت نامناسب تری را حتی نسبت به تیمار D داشته باشد ولی این مسئله اتفاق نیافتد و علت این امر نیز افت تعداد سلول جلبکی به فواصل کوتاه در طول مدت آزمایش بود که به ناچار جهت کنترل و تنظیم یکسان تعداد سلول در تمام تیمارها به میزان کاهش سلول جلبکی، سلول تازه به محیط آزمایش اضافه گردید و چون این تیمار (تیمار E) قطعاً غذای تازه دریافت نموده است لذا علیرغم صورت ظاهری که می بایستی شرایط نامناسب تری را نسبت به تیمار D داشته باشد از وضعیت مطلوب تری هم از نظر بقاء، طول و وزن بوجود آورده، و حتی نسبت به تیمار A با ۲۰ میلیون سلول جلبکی نیز وضعیت مطلوب تری داشت و همانطور که اشاره گردید علت این مسئله دریافت غذای تازه به تناوب در طول مدت آزمایش بوده است.

در نهایت می توان نتیجه گرفت که نوع غذا و میزان تراکم از جمله عوامل موثر در بازماندگی، افزایش طول و وزن آرتمیا بوده

www.SID.ir

Archive of SID

و این امر می تواند به عنوان یک راه اصولی در تولید توده زنده آرتمیا در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

مؤلفین بر خود لازم می دانند از زحمات بی شائبه جناب آقای دکتر علیرضا سالارزاده و جناب آقای مهندس عیسی عبدالعلیان، سرکار خانم مریم معزی کارشناسان محترم پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان کمال تشکر را به عمل آورند.

منابع

۱-حافظیه، م. ۱۳۸۲.آرتمیا(میگوی آب شور)، چاپ اول، مؤسسه تحقیقات شیلات ایران.

۲-حافظیه، م. ۱۳۸۳. بررسی اثر تغذیه ای کلرلا، کیتوسروس بر نرخ رشد و بازماندگی *Artemia urmiana*، فصلنامه پژوهش و سازندگی، هفدهم،۶۴، صفحات ۸۰-۷۶.

۳- عبدالعلیان، ع.۱۳۸۶. بررسی مقایسه فیلتراسیون صدفچه های صدف مهار *Pinctada radiata* با استفاده از دو گونه جلبک ایزوکرایسیس و کیتوسروس Muelleri. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بندرعباس.

۴-مخدومی، ن.، حسینی، ع.، شریف پور، ع. ۱۳۸۱. پرورش آرتمیا (نژاد دریاچه اینچه) با تغذیه از جلبک سبز و سبز-آبی، مجله علمی شیلات ایران، سال یازدهم/شماره۲ .

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-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.

www.SID.ir