بررسی اثر غلظت های متفاوت جلبک *Nannochloropsis* sp. بر رشد و بازماندگی *Artemia franciscana*

الهام ناهیدی[1]*؛ مازیار یحیوی[1]؛ میر مسعود سجادی[2]

elham_nahidi2010@yahoo.com

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

۲- دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

تاریخ دریافت :اردیبهشت ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش :تیر 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. در این مطالعه *Artemia franciscana* تخم گشایی شده در شرایط آزمایشگاهی در پنج تیمار(T, E, D, G, B) هر یک با سه تکرار با تراکم ۵۰۰ عدد در لیتر در ظروف کوچک ۴ لیتری با جلبک نانوکلروپسیس به مدت ۳ هفته تغذیه گردید.در طول مدت آزمایش تمامی شرایط مانند دما، شوری و pH جهت تمام تیمارها یکسان منظورگردید. بر اساس نتایج بدست آمده مشخص گردید ازنظر طول، تیمار E با تراکم ۱۶ میلیون، از نظر بازماندگی تیمار G با تراکم ۸ میلیون و از نظر وزن تیمارG با تراکم ۸ میلیون، وضعیت مناسب تری را نسبت به سایر تیمارها داشته اند و اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان دادند($P< ۰/۰۵$). هدف از اجرای این پژوهش بررسی اختلاف میان غلظتهای مختلف جلبک نانوکلروپسیس جهت تغذیه ناپلیوسهای آرتمیا و مقایسه این غلظتها جهت سنجش رشد و میزان بازماندگی ناپلیوسها بود.

کلمات کلیدی: *Artemia franciscana* ، جلبک *Nannochloropsis* sp.،رشد ، بازماندگی.

*نویسنده مسئول

۱.مقدمه

فیتوپلانکتونها در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و از ضروریات غذایی سالن های تکثیر آبزیان مختلف دریایی ازجمله دوکفه ایها، نرم تنان، مراحل لاروی سخت پوستان و مراحل اولیه رشد برخی ماهی ها هستند(۲). فیتوپلانکتونها بدلیل داشتن رنگدانه، ویتامین، اسیدهای چرب و پروتئین از اهمیت غذایی بالایی در کلیه منابع آبی و آبزی پروری برخوردارند(۵). جلبکها همچنین برای تولیدزئوپلانکتونها(کوپه پودا، روتیفر و آرتمیا) ضروری هستند. اعتقاد بر این است که این جلبکها 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(۷). 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 غلظتهای مختلف جلبک نانوکلروپسیس جهت تغذیه ناپلیوسهای آرتمیا و مقایسه این غلظتها جهت سنجش رشد و میزان بازماندگی ناپلیوسها می باشد.

۲.موادوروشها

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 آب۲۷درجه سانتیگراد،کوددهی 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($T=20\times10^{6}$، $E=16\times10^{6}$، $D=12\times10^{6}$، $G=8\times10^{6}$، $B=4\times10^{6}$) هریک با سه تکراردرظروف شیشه ای ۴لیتری تحت شرایط زیستی یکسان (دما۲۷درجه سانتیگراد، شوری آب۲۷گرم در لیتر،pH ۷/۵-۸) قرارداده شدندو درهرتکرار ۵۰۰ ناپلیوس درلیتر قرار داده شد. درمجموع در هرظرف با توجه به۳ لیترآبگیری ۱۵۰۰ناپلیوس رها سازی گردید. تنها اختلاف محیطهای کشت درطی دوره پرورشی، تراکم های متفاوت غذای مصرفی بود. ضمناً جهت کشت جلبک که جهت تغذیه ناپلیوسها استفاده می شد به این طریق عمل شد، 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 ۲۷ 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 می شد، برسند. پس از آن برای کشت جلبک ابتدا دستهای خود را ضدعفونی و سپس با استفاده از پیپت های مدرج و با استفاده از یک مکنده که به سر آن ها متصل می شد مقادیر مورد نیاز از محلول های کشت شامل ویتامین و مواد مغذی را که مقدار مورد نیاز (به ترتیب ۰/۵cc/lit, ۲cc/lit) می باشد به ظروف اضافه شد. سپس به مقدار مورد نیاز از استوک اولیه را به هر کدام از ظروف اضافه و

Archive of SID

بعد از آن درب ظروف رامحکم 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 جهت تثبیت نمونه ازفرمالین۴٪برای تثبیت استفاده گردید ولامل راروی اسلایدتاحدی فشارداده تا حلقه های انکسارنیوتن نمونه دیده شود. باکمک پیپت پاستور، حفره های اسلاید با سوسپانسیون پرشد(طوری که ازایجادحباب جلوگیری شود) شمارش سلولها باعدسی با بزرگنمایی۴۰که کوچکترین میدان دیدرادارد انجام گرفت شمارش جلبکی به این ترتیب که تعداد سلولهای موجود در ۵ خانه را شمارش و سپس عدد بدست آمده را در عدد ۵ و در ۱۰۰۰۰ ضرب شدتا تعداد سلولها 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 سلولهای چسبیده به دو ضلع دیگر شمارش نمی شدند(۳). در انتها برای ارزیابی طول، وزن و بازماندگی به روش زیر انجام شد:

-**طول**: 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 بودتعداد نمونه های انتخابی نیز بیشتر می شد. 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.

-**وزن**: 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 را 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 نمود 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.

-**بازماندگی**: 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 که 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 آرتمیا باقی 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 یکطرفه و برای مقایسه میانگین ها از روش دانکن و جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار Excelاستفاده گردید.

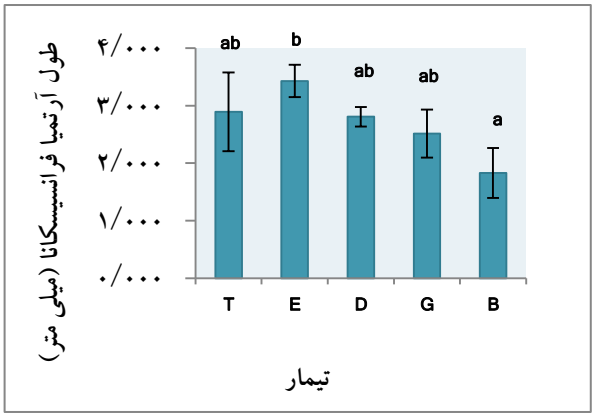
۳.نتایج

۱-طول

داده های بدست آمده از آزمایش نشان داد که در پنج تیمار ($T=۲۰\times۱۰^{۶}$، $E=۱۶\times۱۰^{۶}$، $D=۱۲\times۱۰^{۶}$، $G=۸\times۱۰^{۶}$، $B=۴\times۱۰^{۶}$) *Artemia franciscana* تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که کمترین مقدار طول در تیمار B(۴×۱۰^{۶}) و بیشترین مقدار طول در تیمار E(۱۶×۱۰^{۶}) اندازه گیری گردید و از این نظر اختلاف معنی داری را با سایر تیمارها نشان دادند ($P < ۰/۰۵$). شکل ۱ میانگین رشد طولی آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با تیمارهای مختلف نانوکلروپسیس را نشان می دهد حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تیمارها می باشد.

Archive of SID

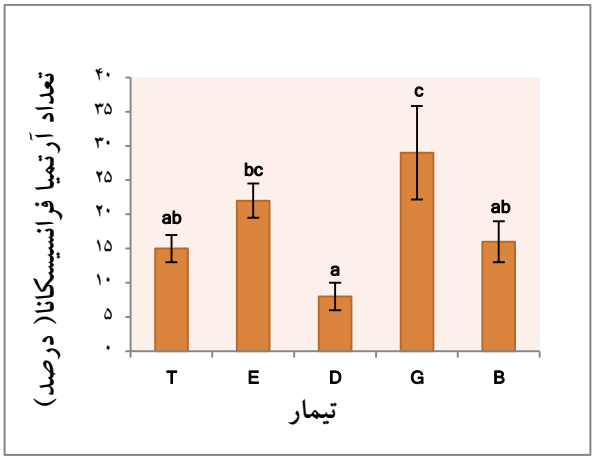
www.SID.ir



شکل ۱- نمودار میانگین طول آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس در تیمارهای مختلف آزمایش

۲- بازماندگی

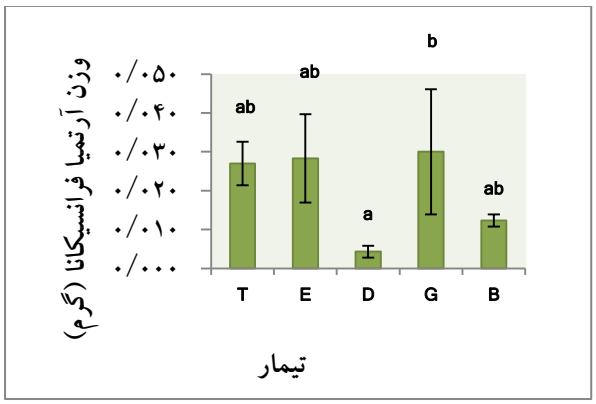
از نظر بازماندگی نیز نتایج حاصل از اندازه گیری نشان داد کمترین میزان بازماندگی در تیمار D(۱۲×۱۰^{۶}) و بیشترین میزان بازماندگی در تیمار G(۸×۱۰^{۶}) بوده و میزان بازماندگی در تیمارD با تیمارهایG, E و تیمارهای G, T و تیمارهایB, Gمورد مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی داری را نشان داد (P < ۰/۰ ۵).



شکل ۲ میانگین بازماندگی آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با تیمارهای مختلف نانوکلروپسیس را نشان می دهد حروف متفاوت نشان دهنده 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(۱۲×۱۰^{۶}) و بیشترین میزان وزن در تیمارG (۸×۱۰^{۶}) بوده و میزان وزن در تیمارهای D, Gمورد مطالعه از نظر آماری اختلاف معنی دار داشته است (P < ۰/۰ ۵).

شکل ۳ میانگین وزن آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با تیمارهای مختلف نانوکلروپسیس را نشان می دهد حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تیمارها می باشد.



شکل۳-نمودار میانگین وزن آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس در تیمارهای مختلف آزمایش

٤.بحث

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که ازبین پنج تیمار(T=۲۰×۱۰^{۶}، E=۱۶×۱۰^{۶}، D=۱۲×۱۰^{۶}، G=۸×۱۰^{۶}، B=۴ ×۱۰^{۶}) مورد مطالعه بیشترین مقدار وزن مربوط به تیمار G(۸×۱۰^{۶})و کمترین مقدار وزن مربوط به تیمارD(۱۲×۱۰^{۶}) و در رابطه با طول نیز، کمترین مقدار طول در تیمار B(۴×۱۰^{۶})و بیشترین مقدار طول در تیمار E(۱۶×۱۰^{۶}) بوده و کمترین میزان بازماندگی در تیمار D(۱۲×۱۰^{۶}) و بیشترین میزان بازماندگی در تیمار G(۸×۱۰^{۶})می باشد، 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. و یکی از دلایل افزایش در سه پارامتر (طول، وزن، بازماندگی) می تواند به دلیل بالا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع و میزان بالای پروتئین نانوکلروپسیس باشد(۲). بر اساس تحقیقات انجام شده،۳ گونه آرتمیا، آرتمیای پارتنوژنز از دریاچه مهارلو، *Artemia*

Archive of SID

aurmiana و *Artemia franciscana*، را با ۳ گونه جلبک *Tetraselmis sueci ,Nannochloropsis oculat* و*Dunaliella tertiolecta* جهت بررسی رشد و بازماندگی مورد مطالعه قرار دادند نتایج نشان داد. *A. franciscana* در کل رشد و بازماندگی بهتری را نسبت به دو گونه آرتمیای دیگر داشته و همچنین جلبکهای تتراسلمیس و دونالیلا در مقایسه با جلبک نانوکلروپسیس غذاهای بهتری برای تغذیه آرتمیا می باشند(۴). همانطور که از نتایج وجود زاده مشخص گردید تغذیه آرتمیاها با ۳ جلبک *Tetraselmis suecica ,Nannochloropsis oculata*و *Dunaliella tertiolecta* نشان داد که *A. franciscana* در کل رشد و بازماندگی بهتری را نسبت به دو گونه آرتمیای دیگر داشته و همچنین جلبکهای تتراسلمیس و دونالیلا در مقایسه با جلبک نانوکلروپسیس غذاهای بهتری برای تغذیه آرتمیا می باشند که با نتایج حاصله از کار اینجانب منطبق می باشد. ارزش غذایی *Cryptohyta Rhodomonas lens* برای *Artemia* sp.در این مطالعه، رشد و میزان بازماندگی آرتمیا تغذیه شده با*Cryptohyta Rhodomonas lens* درمقایسه با میکروجلبکهای معمولی که در آبزی پروری استفاده می شوند: *Tetraselmis suecica*، *Isochrysis galbanaparke*، *Nannochloropsis gaditana*مورد بررسی قرار گرفت. تفاوتهای قابل توجهی در رشد آرتمیا و همچنین در میزان بازماندگی مشاهده شد. میزان بازماندگی آرتمیا تغذیه شده با*N. gaditana*(۳ ۰/۰ ±۱۸) از ارزش غذایی که برای گروه های باقیمانده (۸۸ ۰/۰ ± ۶۹) یافت شده، بسیار کمتر بود(۱ ۰/۰۰ >P). و میزان رشد آرتمیا با *R.lens*در مقایسه با رژیم غذایی دیگر به طور کلی بسیار بالاتر بود که علت آن می تواند محتوا پروتئین بالا باشد(۸). همانطور که از نتایج Seixas مشخص گردید میزان بازماندگی آرتمیا تغذیه شده با*N.gaditana*نسبت به سایر جلبک ها بسیار کمتر بود، که با نتایج حاصله از کار اینجانب منطبق می باشد(۸). در مجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان بازماندگی، طول و نیز وزن آرتمیای تغذیه شده با تراکم ۱۶ میلیون (تیمارB) تقریباً وضعیت ایده آلی داشته و بین این تیمار و تیمار C یا ۱۲ میلیون اختلاف معنی داری در هیچ یک از پارامترهای اندازه گیری شده وجود نداشت. دربین 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 داشت، 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 B 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 می گردید و چون این تیمار (تیمار B) قطعاً غذای تازه دریافت می 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 T 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 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.

تشکر و قدردانی

مؤلفین بر خود لازم می دانند از زحمات بی شائبه جناب آقایان دکتر علیرضا سالارزاده، مهندس عیسی عبدالعلیان و سرکار خانم

Archive of SID

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. هفدهم۶۴، صفحات ۸۰-۷۶

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

۴-وجود زاده، ح.، قزل باش، ف.، ریاحی، ح.، مناف فر، ر.، ۱۳۸۶. بررسی میزان رشد و بقاء سه گونه مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبکهای تک سلولی *Nannochloropsis oculata*، *Dunaliella Tetraselmis suecica, tertiolecta* ، مجله علمی شیلات ایران، سال شانزدهم/شماره ۳.

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

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

7 .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 FisheriesScience6:55-68.

8.Seixas, P; Coutinho, P; Ferreira, M; Otero, A;2009. Nutritionalvalue of the *cryptophyte Rhodomonas lens* for *Artemia*sp., Experimental Marine Biology and Ecology, 381: 1-9

Archive of SID

www.SID.ir