بررسی تاثیر شوری های مختلف بر تراکم و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا parthenogenetic (*Artemia*) در شرایط آزمایشگاهی

ابراهیم علیزاده دوغیکلایی[1*]،محمد نوری[1]، ناصر آق[2]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
۳. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی، دانشگاه ارومیه

چکیده

در این تحقیق، تاثیر شوری‌های۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt بر تراکم و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا مورد بررسی قرار گرفت. پس از تخم گشایی سیست‌ها،۲۰۰ عدد ناپلیوس در ظروف استوانه‌ای مخروطی ۱/۵ لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری‌های مذکور تا مرحله بلوغ پرورش داده شدند. پس از بلوغ آرتمیاها، ۳ ماده بکرزا به صورت تصادفی از هر ۵ سطح شوری جدا شده و در ۴ تکرار به مدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. آرتمیاها و زاده‌ها در طول دوره پرورش به چهار گروه (۱) ناپلی- متاناپلی، (۲) آرتمیاهای جوان، (۳) آرتمیاها در مرحله قبل از بلوغ و (۴) آرتمیاهای بالغ تقسیم شده و هر هفته یکبار بطور کامل شمارش شدند. نتایج نشان داد که بیشترین جمعیت بالغین و ناپلی- متاناپلی در شوری ۱۰۰ ppt تولید می‌شود. همچنین بیشترین میزان مراحل پست لاروی و جوان آرتمیا در شوری ۵۰ ppt دیده شد. جمعیت آرتمیای بالغ در طول دوره پرورش افزایش و سایر مراحل رشد آرتمیا کاهش یافت. با توجه به یافته‌های تحقیق یک رابطه معکوس بین افزایش شوری با شکوفایی جمعیت در آرتمیای بکرزا مشاهده شد. نتایج تحقیق نشان داد که شوری‌های پایین برای رشد جمعیت آرتمیای بکرزا مناسب‌تر است.

واژگان کلیدی: آرتمیای بکرزا، ترکیب جمعیتی، شرایط آزمایشگاهی، شوری

Archive of SID

* نویسنده مسوول، پست الکترونیک: ebi_alizadeh2003@yahoo.com

www.SID.ir

۱. مقدمه

در بین جانوران پرسلولی، آرتمیا تنها جانوریست که قادر است شرایط بسیار سخت محیطی از جمله شوری‌های بسیار بالا را تحمل نماید (Browne, 1980). زندگی و رشد در چنین شرایط بسیار سخت، این موجود را قادر ساخته است تا به انواع سازگاری-های مختلف دست یابد (Yik Sung *et al.*, 2008). آرتمیا فقط در دریاچه‌های با شوری بالا که هیچ موجود دیگر قادر به زندگی نیست و یا تعداد کمی از سایر موجودات یافت می‌شوند، وجود دارد (Hammer *et al.*, 1975). آرتمیای بکرزا (parthenogenetic Artemia) در برکه‌های اطراف دریاچه ارومیه وجود دارد که اولین بار در سال ۱۹۹۷ توسط آق و نوری شناسایی و گزارش شده است (Agh and Noori, 1997). این برکه‌ها در قسمت جنوب غربی دریاچه ارومیه و در فاصله۲۰ کیلومتری شهر ارومیه قرار گرفته‌اند و همه ساله بارسیدن فصل بارش با آب پر می‌شوند. میزان شوری آب این برکه‌ها در ابتدای سال حدود ۱۰ الی ۲۵ گرم در لیتر بوده و بتدریج در اثر تبخیر به حد اشباع (ppt ۳۴۰) می‌رسد. در اواخر تابستان با خشک شدن آب برکه‌ها همه آرتمیاهای موجود در برکه‌ها از بین رفته ولی سیست‌های آن در کف برکه‌ها باقی می‌ماند. این سیست‌ها با فراهم شدن شرایط مناسب در بهار سال آینده تخم گشایی شده و لاروهای آرتمیا را بوجود می‌آورند (Agh *et al.*, 2007). شوری تأثیر عمده‌ای بر ویژگی‌های مختلف چرخه زندگی آرتمیا نظیر بلوغ جنسی، طول عمر، دفعات تولید مثل، فاصله بین تولید مثل‌های متوالی، تعداد زاده‌ها و نوع تولید مثل آرتمیا دارد. تحقیقات نشان داده که شوری می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر فاکتورهای رشد جمعیت‌های مختلف آرتمیا داشته باشد (Dana and Lenz, 1986; Triantaphyllidis *et al.*, 1995). Triantaphyllidis و همکاران (۱۹۹۵) تأثیرات شوری و دما بر بقاء، بلوغ، رشد، تولید مثل و طول عمر آرتمیای دوجنسی فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) و آرتمیای بکرزای (parthenogenetic Artemia) شهر تانگو در استان تیانجین چین را مورد بررسی قرار دادند. این دو نوع آرتمیا تفاوت‌های معنی داری از نظر پاسخ به افزایش شوری نشان دادند. به این صورت که، شوری مناسب برای آرتمیای بکرزای تانگوی چین بین ۶۰ تا ۱۰۰ ppt بود در حالی که آرتمیای فرانسیسکانا، یوری هالین (شوری ۳۵-۱۸۰ppt) بود. تحقیقات بر روی جمعیت‌های آرتمیای شمال مصر (دوجنسی و بکرزا) از لحاظ بقاء، رشد و مشخصات مورفومتریک، تحت رژیم‌های شوری مختلف تفاوت‌های معنی‌داری را نشان دادند و با افزایش شوری تمام نژادهای پارتنوژنز به کندی رشد کردند (El Bermawi *et al.*, 2004). تاکنون مطالعات زیادی در مورد تاثیر شوری بر رشد، بقاء و تولید مثل آرتمیا بکرزا در نقاط مختلف دنیا گزارش شده است، ولی در ارتباط با نقش شوری به عنوان یک عامل غیرزنده در پراکنش و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا مطالعه خاصی انجام نشده است. لذا در این تحقیق تأثیر شوری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt بر شکوفایی جمعیتی آرتمیای بکرزا (parthenogenetic Artemia) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. تا با مشخص شدن مناسب‌ترین شوری برای شکوفایی و ازدیاد جمعیت آرتمیا بتوان به بهبود راندمان تولید غذای زنده و صنعت پرورش آبزیان کمک کرد.

۲. مواد و روش‌ها

برای نگهداری آرتمیا در آزمایشگاه و تغذیه آنها در طول دوره پرورش از جلبک *Dunaliella salina* استفاده شد. استوک‌های آماده این جلبک از بانک جلبک پژوهشکده آرتمیای دانشگاه ارومیه تهیه و با فراهم آوردن شرایط فیزیکی و شیمیایی لازم و با استفاده از محیط کشت والنه بطور انبوه کشت داده شد. برداشت جلبک‌ها، بعد از به حد ماکزیمم رسیدن غلظت جلبک در محیط کشت، انجام گرفت. سپس کمیت توده زنده جلبک تعیین وغلظت آن به $۱۰^{۶}\times$ ۱۸ سلول رسانده شد و سپس طبق فرمول استاندارد

Archive of SID

www.SID.ir

در تغذیه آرتمیا به کار برده شد (Coutteau *et al*, 1992).

سیست‌های مورد استفاده در این تحقیق، از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. سیست‌ها در شوری ۳۳ ppt و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد تخم‌گشایی شدند. ناپلی‌های تازه تخم گشای شده به ظرف دیگری حاوی آب تمیز با شوری ۵۰ ppt منتقل شدند. سپس با رقیق سازی آب دریاچه ارومیه با آب مقطر آب مورد نیاز برای تحقیق با شوری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt تهیه گردید و مقدار یک لیتر از آب‌های آماده شده (در چهار تکرار) به ظروف استوانه‌ای ته مخروطی ۱/۵ لیتری ریخته و تعداد ۲۰۰ عدد ناپلی تازه تخم‌گشایی شده به هر ظرف منتقل گردید و تا رسیدن به مرحله بلوغ (تقریبا ۲۰ روز بعد از تخم گشایی) پرورش داده شدند. عمل غذادهی آرتمیاها ۲۴ ساعت پس از تخم گشایی با جلبک *دونالیلا سالینا* طبق جدول غذادهی Coutteau و همکاران انجام گرفت (Coutteau *et al*., 1992). پس از بالغ شدن آرتمیاها، ۳ ماده بکرزای بالغ به‌صورت تصادفی از هر ۵ سطح شوری جدا کرده و به ظروف استوانه‌ای مخروطی ۱/۵ لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری‌های مشابه (در ۴ تکرار) منتقل شده و پرورش آنها جهت بررسی شکوفایی جمعیتی ادامه یافت. تیمارها روزانه یک بار طبق جدول غذادهی استاندارد، تغذیه شدند. آرتمیاها و زاده‌ها در طول دوره پرورش به چهار گروه (۱) ناپلی- متاناپلی، (۲) آرتمیاهای جوان، (۳) آرتمیاها در مرحله قبل از بلوغ و (۴) آرتمیاهای بالغ تقسیم شده و هر هفته یکبار بطور کامل شمارش شدند. میانگین تعداد زاده‌ها (ناپلی- متاناپلی) توسط هر ماده بالغ با تقسیم کل زاده‌ها به تعداد آرتمیاهای بالغ در هر تکرار محاسبه گردید. آب مخازن پرورشی پس از هر بار شمارش آرتمیا با آب تمیز تعویض شد. آزمایش به مدت ۱۲ هفته ادامه یافت و افزایش تدریجی جمعیتی در شوری‌های ذکرشده بررسی گردید (Barata *et al*., 1996).

آنالیز آماری

طرح به‌کار رفته در این تحقیق بصورت طرح کاملا تصادفی می‌باشد. آزمایش در ۵ سطح شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ppt) و ۴ ترکیب جمعیتی (ناپلی – متاناپلی، آرتمیای جوان، پست لارو و آرتمیای بالغ) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار آماریSAS (۲۰۰۲)، روش آنالیز واریانسیک طرفه انجام گردید. در این روش برای مقایسه داده‌های حاصل از تحقیق از آزمون دانکن استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنی-دار آزمون ($P<۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

نتایج اثرات شوری‌های مختلف بر ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا در جدول ۱ارائه شده است. با افزایش شوری از ۵۰ به ۱۰۰ ppt میزان ناپلی- متاناپلی و آرتمیای بالغ افزایش و سپس کاهش یافت($P<۰/۰۵$). بیشترین میزان ناپلی-متاناپلی و آرتمیای بالغ در شوری ppt ۱۰۰ تولید شد. تعداد جمعیت آرتمیای جوان و پست لارو با افزایش شوری کاهش یافت (جدول ۱). بیشترین میزان آرتمیای جوان و پست لارو در شوری ۵۰ ppt دیده شد.

نتایج شمارش هفتگی ناپلی- متاناپلی به ازای هر ماده در مدت ۱۲ هفته در شوری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰و ۲۵۰ ppt در شکل۱ ارائه شده است. جمعیت ناپلی- متاناپلی تا هفته ۲ برای شوری‌های ۵۰-۱۵۰ ppt روندی افزایشی داشته ($P<۰/۰۵$) و بعد از آن کاهش یافت. این روند برای شوری های ۲۰۰و ۲۵۰ ppt کاهشی بود. در طول دوره پرورش جمعیت آرتمیای جوان و پست لارو تغییرات نامرتبی را نشان دادند. بطوریکه در ابتدا تا اواسط دوره افزایش و سپس کاهش یافتند (نمودار ۲ و ۳). روند افزایش جمعیت آرتمیای بالغ در طول دوره پرورش قابل مشاهده است (شکل۴). این افزایش با شوری رابطه عکس دارد. بطوریکه بیشترین و کمترین جمعیت

Archive of SID
www.SID.ir

بالغین به ترتیب در شوری ۱۰۰ و ۲۵۰ ppt بدست آمد.

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که مراحل ناپلی- متاناپلی و آرتمیای بالغ در شوری ۱۰۰ ppt در مقایسه با سایر شوری‌ها جمعیت غالب است در حالیکه آرتمیای جوان و پست لارو در شوری ۵۰ ppt توده غالب را تشکیل می‌دهد. با افزایش شوری تراکم جمعیت آرتمیا بکرزا کاهش می‌یابد بطوریکه این کاهش در کل رشد جمعیتی معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جمعیت‌های آرتمیای دوجنسی و بکرزای شمال مصراز لحاظ بقاء و رشد در شوری مختلف تفاوت‌های معنی‌داری را نشان دادند. در این نژادهای آرتمیاها نیز همانند یافته‌های تحقیق حاضر با افزایش شوری سرعت رشد کند گردید و تأیید نمود که آرتمیاهای پارتنوژنز نیازمند محیط متعادل‌تری از نظر شوری می‌باشند (El Bermawi *et al*., 2004). لطفی و همکاران (۱۳۸۲) و آق و همکارن (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که با افزایش شوری میزان رشد در گونه‌های مختلف آرتمیا کاهش پیدا می‌کند.

Vanhaeckeو همکاران در سال ۱۹۸۴، Lenz و Dana در سال ۱۹۸۶ و Browne و Hoops در سال ۱۹۹۰ و آق و همکاران در سال ۲۰۰۸، کاهش درصد بقای آرتمیا در چند جمعیت آرتمیا را با افزایش شوری گزارش کرده‌اند. شوری با میزان رشد آرتمیا رابطه معکوس دارد (El-Bermawi *et al*., 2004). در تمامی این تحقیقات وجود یک رابطه‌ی معکوس را بین شوری با درصد بقاء، رشد و تولیدمثل گزارش کرده‌اند.در تحقیق حاضر نیز این رابطه برای آرتمیای بکرزا تأیید شد. در راستای توجیه فیزیولوژیک کاهش رشد در جمعیت‌های آرتمیای تحت شوری بالا نقش تنظیم فشار اسمزی بیش از پیش مهم قلم داد می- شود. بدیهی است که هر چه غلظت نمک محیط بیشتر باشد، سلول‌هایی که در تنظیم اسمزی آرتمیا نقش دارند، به فعالیت و انرژی بیشتری برای ثابت نگهداشتن تعادل اسمزی بدن نیاز دارند و با مصرف ذخایر غذایی، سرعت رشد و نمو کاهش می‌یابد (شمس لاهیجانی و همکاران، ۱۳۸۳). تحقیقات، تأثیر منفی شوری را بر رشد آرتمیا، خصوصاً در شوری‌های بالا نشان داده است (Dana and Lenz, 1986). نتایج تأثیر زمان بر جمعیت آرتمیا بکرزا نشان می‌دهد که جمعیت ناپلی– متاناپلی با افزایش در هفته ۲ تا پایان دوره روند کاهشی دارد (شکل۱). این روند در آرتمیای جوان و آرتمیای پست لارو نامرتب است (نمودار۲ و ۳) . ولی جمعیت آرتمیای بالغ روندی افزایشی داشته است (شکل۴). درکل در این تحقیق مشخص شد که با افزایش‌میزان‌شوری، ترکیب جمعیتی‌آرتمیا کاهش می‌یابد (P<۰/۰۵).

در طبیعت، آرتمیاهای بکرزای برکه‌های اطراف دریاچه ارومیه در مدت‌زمان‌طولانی‌تر این اتفاق را تجربه می‌کنند. دراین‌برکه‌ها شوری از ۱۵ تا ۲۰ قسمت در هزار شروع شده و در طول چند ماه به بالای ۲۸۰ قسمت در هزار می‌رسد (Agh and Noori, 1997). درواقع، در طبیعت، مدت سازش طولانی بوده و در نتیجه میزان سازش بالا و درصد بقاء بیشتر است. با توجه به نتایج تحقیق و موارد گزارش شده، به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که تراکم جمعیت در هر ۴ ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا با افزایش شوری کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق می‌تواند در انتخاب جمعیت مناسب آرتمیا برای پرورش آن در مناطقی با شوری‌های مختلف کمک نماید و شوری مناسب را برای تولید مثل حداکثر توسط هر یک از جمعیت های آرتمیا مشخص کند و این نتیجه می‌تواند برای تولید بیشتر بیومس زنده آرتمیا مورد استفاده قرار گیرد.

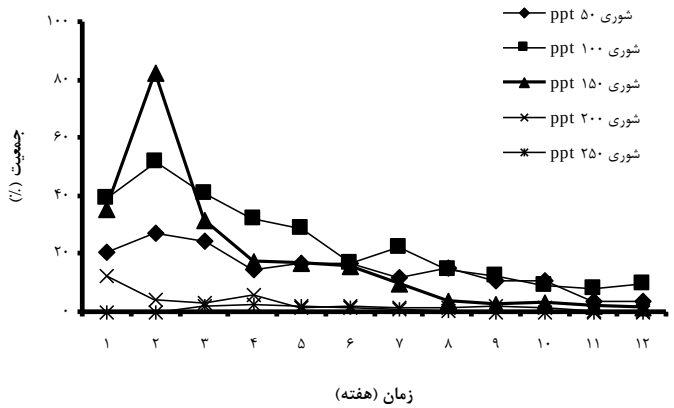
Archive of SID

www.SID.ir

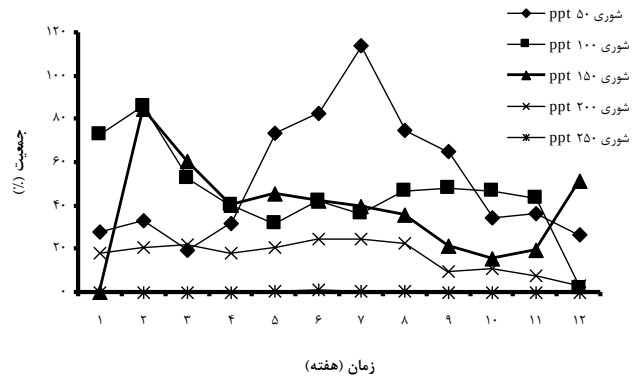
جدول ۱: اثرات شوری‌های مختلف بر ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا

شوری (ppt) / ترکیب جمعیتی (٪)	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰
ناپلی - متا ناپلی (به ازای هر ماده)	۱۴/۹۰±۷/۶۴^{b}	۲۳/۹۸±۱۸/۱۲^{a}	۱۸/۶۷±۳۰/۰۱^{ab}	۳/۱۹±۴/۰۷^{c}	۰/۸۸±۲/۰۴^{c}
جوان	۵۰/۶۳±۵۱/۸۰^{a}	۴۵/۸۳±۴۶/۶۳^{a}	۳۸/۱۵±۳۳/۳۲^{a}	۱۷/۰۶±۱۴/۶۷^{b}	۰/۲۳±۰/۸۱^{c}
پست لارو	۵۶/۶۷±۳۹/۱۸^{a}	۳۳/۶۹±۳۶/۷۰^{b}	۲۵/۴۶±۲۱/۴۶^{b}	۱۰/۲۱±۱۲/۶۴^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}
بالغ	۷۶/۹۶±۵۶/۰۳^{ab}	۸۶/۷۹±۴۵/۳۱^{a}	۷۱/۴۶±۳۸/۴۲^{b}	۴۹/۸۵±۲۵/۳۰^{c}	۱/۹۶±۱/۰۳^{d}

حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در شوری‌های مختلف می‌باشد ($P<0/05$)

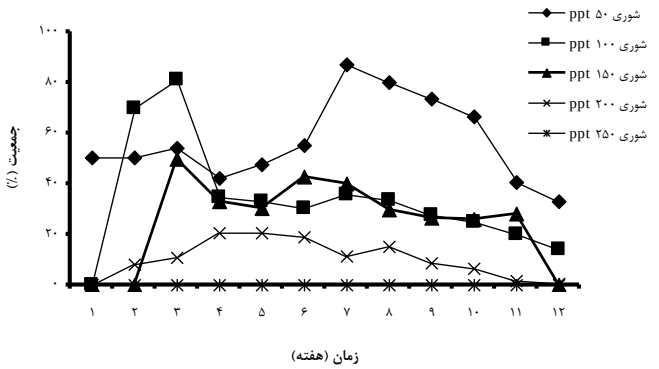


شکل۱. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت ناپلی- متاناپلی به ازای هر ماده بالغ در شوری‌های مختلف

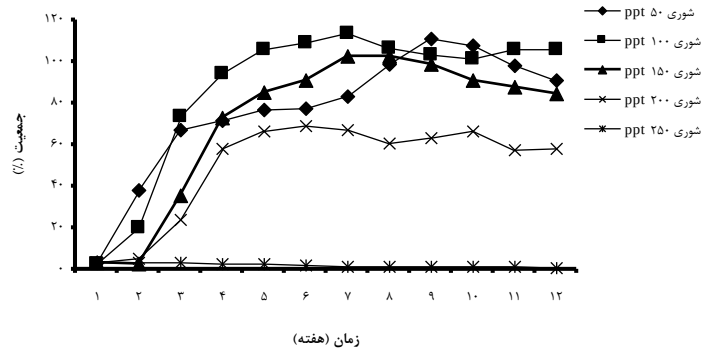


شکل۲. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت آرتمیای جوان در شوری‌های مختلف

www.SID.ir



شکل۳. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت پست لارو در شوری‌های مختلف



شکل۴. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت آرتمیای بالغ در شوری‌های مختلف

منابع

شمس لاهیجانی، م.، آق، ن.، و فتوحی، ا. ۱۳۸۳. بررسی تغییرات شوری آب بر مراحل رشد لارو. پژوهش و سازندگی، ۶۴، صفحات ۶۶-۵۶.

لطفی، و.، آق ن.، و سپهری ح. ۱۳۸۲. اثرات شوری های مختلف بر درصد ماندگاری، میزان رشد، طول عمر و صفات تولید مثلی سه جمعیت از آرتمیاهای ایران، مجله علوم دانشگاه تهران، جلد ۲۹، صفحات ۳۱۶- ۳۰۵.

Agh, N., Noori, F. 1997. Introduction of a parthenogenetic population of *Artemia* from lagoons around Urmia Lake and its morphological comparison with *Artemia urmiana*. First Iranian Congress of Zoology, 92.

Agh, N., Abatzopoulos, T.j., Kappas, I., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M., Sorgeloos, P. 2007. Coexistence of sexual and parthenogenetic *Artemia* populations in Lake Urmia and neighbouring lagoons. Int. Rev. Hydro. 92: 48-60.

Agh, N., Van Stappen, G., Bossier, P., Sepehri, H., Lotfi, V., Rouhani, S.M., Sorgeloos, P. 2008. Effects of salinity on survival, growth, reproductive and life span characteristics of *Artemia* populations from Urmia Lake and neighboring lagoons. Pak. J. Biol. Sci. 11(2): 164-172.

Barata, C., Hontoria, F., Amata, F., Browne, R. 1996. Competition between sexual and parthenogenetic *Artemia*: temperature and strain effects. J. Exp. Mar. Biol. Eco. 196: 313- 328.

Browne, R.A. 1980. Competition experiments between parthenogenetic and sexual strains of the brine shrimp *Artemia salina*. Eco. 61: 471-474.

Archive

www.SID.ir

Browne, R.A., Hoops, C.W. 1990. Genotype diversity and selection in asexual brine shrimp (*Artemia*). Evol. 44: 1035–1051.

Coutteau, P., Brendonck, L., Lavens, P., Sorgeloos, P. 1992. The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiol. 234: 25 - 32.

Dana, G.L., Lenz, P.H. 1986. Effects of increasing salinity on an *Artemia* population from Mono Lake, California. Oecol. 68: 428–436.

El-Bermawi, N., Baxevanis, A.D., Abatzopoulos, T.J., Van Stappen, G., Sorgeloos, P. 2004. Salinity effects on survival, growth and morphometry of four Egyptian *Artemia* populations (International Study on *Artemia*. LXVII). Hydrobiol. 523: 175–188.

Hammer, U.T., Hynes, R.C., Heseltine, J.M., Swanson, S.M. 1975.The saline lakes of Saskatchewan. Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol. 19: 589-598.

Triantaphyllidis, G.V., poulopoulou, K., Abatzopoulos, T.J., Perez, C.A.P., Sorgeloos, P. 1995. Salinity effects onsurvival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of bisexual and a parthenogenetic population of *Artemia*. (International study on *Artemia* XLIX). Hydrobiol. 302: 215 –227.

Vanhaecke, P., Siddall, S.E., Sorgeloos, P. 1984. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origins. (International study on *Artemia*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 80: 259–275.

Yik Sung, Y., Pineda, C., MacRae, T. H., Sorgeloos, P., Bossier, P. 2008. Exposure of gnotobiotic *Artemia franciscana* larvae to abiotic stress promotes heat shock protein 70 synthesis and enhances resistance to pathogenic *Vibrio campbellii*. Cell Stress Chaperon. 13: 59–66.

Archive of SID

www.SID.ir