بررسی اثر تغذیه‌ای کلرلا و کیتوسروس بر نرخ رشد طولی و بازماندگی آرتمیا ارومیانا

محمود حافظیه

_Jhafezieh@yahoo.com

موسسه تحقیقات شیلات ایران، مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور - چابهار

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۸۴

چکیده

آرتمیا ارومیانای تخم‌گشایی شده در شرایط آزمایشگاهی در دو تیمار و چهار تکرار با تراکم ۵۰۰ عدد در لیتر در آکواریومهای کوچک شیشه‌ای ۴ لیتری در سال ۱۳۸۲ در بوشهر قرار داده شد و با کلرلا دریایی و کیتوسروس به مدت ۲۰ روز تغذیه شدند. دیگر شرایط کشت آرتمیا مانند دما، شوری و pH برای کلیه تیمارها و تکرارها یکسان در نظر گرفته شد.

با تست آماری اختلاف میانگینها از طریق آنالیز واریانس یکطرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود ۹۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0.05$)، ولی میانگین بازماندگی در دو تیمار دارای اختلاف معنی‌دار نبود ($P=0.4321$). میزان بقا و میانگین طول در گروههای تغذیه شده با کیتوسروس بترتیب ۹۵ ، ۹۷، ۹۳ و ۹۴ درصد و ۷/۷۷، ۷/۷۶، ۸/۰۱ ، ۷/۸۷ میلیمتر و در گروه تغذیه شده با کلرلا بترتیب ۸۲، ۸۰، ۷۷ و ۸۵ درصد و ۷/۰۶، ۷/۶۶، ۶/۸۳، ۷/۵۳ میلیمتر بود.

لغات کلیدی: آرتمیا ارومیانا، *Artemia uramiana*، جلبک، رشد

مقدمه

فیتوپلانکتونها در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و میکروجلبکها از ضروریات غذایی سالن‌های تکثیر آبزیان مختلف دریایی از جمله دوکفه‌ایها، نرمتنان، مراحل لاروی سخت‌پوستان و مراحل اولیه رشد برخی ماهیها هستند. جلبکها همچنین برای تولید زئوپلانکتونها (کوپه‌پودا، روتیفر و آرتمیا) ضروری هستند. گونه‌های موفق و مناسب جلبکی براساس پتانسیل کشت توده‌ای، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی انتخاب می‌شوند. تکنیکهای مختلفی نیز برای رشد این گونه‌ها توسعه یافته است تا بتوان در مقیاس‌های بزرگ چه بصورت کشت متراکم کنترل شده و چه بصورت کشت منفرد گونه‌ای متراکم، آنها را بکار گرفت (Gent University, 2001).

آرتمیا از نظر تغذیه‌ای، فیلترکننده غیرانتخابی است، بدین معنا که از کلیه مواد غذایی موجود در محیط که از نظر اندازه قابلیت ورود به دهان را داشته باشند، می‌توانند استفاده نمایند. عوامل مختلفی در نرخ فیلتراسیون، هضم، جذب و رفتار تغذیه‌ای آرتمیا تاثیر می‌گذارند. کیفیت و کمیت غذا شامل شناوری، حداقل حل شدن در آب، میزان هضم‌پذیری، اندازه و عوامل دیگری مانند مراحل لاروی و شرایط کشت از جمله این عوامل هستند (Sorgeloos *et al.*, 1998).

آرتمیا از میکروفلور خارجی مانند ریزجلبکها، باکتریها و دتریت‌ها بخوبی تغذیه می‌نماید. مطالعات تغذیه‌ای آرتمیا بخصوص تغذیه از جلبکها در ایران قدمت طولانی ندارد. مخدومی و همکاران در سال ۱۳۸۱ آرتمیا بکرزا دریاچه اینچه را با جلبک سبز و سبز آبی پرورش دادند. آق، ۱۳۸۱ آرتمیای دوجنسی دریاچه ارومیه را با کمک جلبک دونالیلا و تحت سیستم مدار بسته پرورش داد. Rosowskii, 1989 رشد سریع آرتمیا فرانسیسکانا را با تغذیه از جلبک کلرلا نشان داد. هدف از این تحقیق دستیابی به غذای مناسب جهت پرورش آرتمیا در استخرهای خاکی بود.

مواد و روش کار

با ایجاد شرایط کشت آرتمیا در آزمایشگاه ایستگاه مرکز تحقیقات میگوی کشور (شوری آب ۳۵ گرم در لیتر، دمای آب ۲۸ درجه سانتیگراد، تابش دو عدد مهتابی ۴۰ وات و هوادهی مناسب از بخش انتهایی زوک)، سیستهای آرتمیای دو جنسی دریاچه ارومیه تخم‌گشایی گردیدند. ناپلیوس‌های تازه تخم‌گشایی شده با تعداد مساوی در دو تیمار و برای هر کدام چهار تکرار در آکواریومهای شیشه‌ای کوچک ۴ لیتری تحت شرایط زیستی یکسان (دما ۲۸ درجه سانتیگراد، شوری آب ۳۵ گرم در هزار، pH در حد ۷/۵ تا 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 آبگیری، ۱۵۰۰ ناپلیوس رهاسازی گردید. تنها اختلاف محیط‌های کشت طی دوره پرورش، نوع غذای مصرفی بود که در گروه اول، کیتوسروس و در گروه دوم کلرلای 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 میلی‌لیتری محتوی محیط کشت مایع، تلقیح و روی میز کشت با شدت روشنایی ۳۰۰۰ لوکس و دمای ۲۶ درجه سانتیگراد پرورش انجام شد. پس از شکوفایی، به ظروف بزرگتر منتقل گردید. پس از تکثیر نهایی، روزانه ۱۰۰ میلی‌لیتر از هر نمونه کشت شده به آکواریومهای آرتمیا اضافه گردید. شمار سلول جلبکی در دو روز اول پرورش ۱۷۰ سلول و در سایر روزها، تا آخرین روز پرورش (روز بیستم)، با رقیق کردن محلول و شمارش مستمر، ۴۰ سلول در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا انتخاب گردید (Sorgeloose, 1996).

مهمترین عوامل کشت جلبکها، کمیت و کیفیت غذا، میزان نور و pH، شفافیت، دما و شوری هستند. دامنه تحمل دما ۱۶ تا ۲۷ و بهترین دما برای کشت انواع جلبکها ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتیگراد، دامنه تحمل شوری ۱۲ تا ۴۰ و بهترین شوری برای کشت جلبکی ۲۰ تا ۲۴ گرم در هزار، دامنه تحمل شدت نور ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ و بهترین شدت نور برای کشت جلبکی ۲۵۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس، بهترین دوره نوری برحسب ساعت ۱۶ تا ۲۴ و دامنه تحمل pH ۷ تا ۹ و بهترین pH برای کشت جلبکی ۸/۲ تا ۸/۷ می‌باشد (Anonymous, 1991).

کشت جلبک با غنی‌سازی مواد مغذی که میزان آن در آب دریا کم است انجام می‌گیرد. این مواد شامل گروه بزرگ مولکولها، نیترات، فسفات (با نسبت ۶ به ۱) و سیلیکات (مخصوص دیاتومه‌ها) و ذرات کوچک مولکول همچون ویتامین B1، سیانوکوبالامین B12 و در برخی موارد بیوتن می‌باشند. محیط کشت در این مطالعه Walne می‌باشد.

برای شمارش سلولهای جلبکی از هماتوسایتومتر Fuchs استفاده گردید. در صورت نیاز به رقیق‌کردن از فرمالین ۴ درصد برای تثبیت استفاده شد و لامل روی اسلاید تا حدی فشار داده شد تا حلقه‌های انکسار نیوتن نمونه دیده شود.

با کمک پیپت پاستور، حفره‌های اسلاید با سوسپانسیون پر شد بطوریکه از ایجاد حباب جلوگیری شود. شمارش سلولها با عدسی ۴۰ که کوچکترین میدان دید را دارد، انجام شد و با استفاده از روش Bürker & Fuchs-Rosenthal, 1980 در فرمول زیر قرار داده شد و محاسبه گردید. سپس نسبت شمارشی- حجمی بدست آمد.

$$(n1+n2)/100*10(5)* d$$

n1= شمار سلولهای خط عرضی n2 = شمار سلولهای خط پایینی D = رقت

با توجه به منابع موجود حدود ۱۷۰ سلول جلبکی در هر میکرولیتر آب محیط کشت آرتمیا طی دو روز اول تخم‌گشایی آرتمیا و ۴۰ سلول جلبکی طی روزهای بعد تا پایان هفته سوم به منظور کشت و پرورش آرتمیا در آکواریوم توصیه شده است (Lavens & Sorgeloos, 1996).

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 درصد، طول آنها با کمک خط‌کش و استریومیکروسکوپ اندازه‌گیری و همچنین تعداد آرتمیاهای بالغ شمارش و نسبت به تعداد رهاسازی شده اولیه درصدگیری گردید. میانگین داده‌ها در هر تیمار محاسبه و آنالیز واریانس یکطرفه داده‌ها براساس میانگین‌ها انجام شد.

نتایج

داده‌های مربوط به آنالیز واریانس یکطرفه میانگین طولهای اندازه‌گیری شده در دو تیمار و چهار تکرار مربوط به آرتمیا ارومیانا تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در جدول ۱ نشان داده شده است.

میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیا تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم در نمودار ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱: محاسبات آماری میانگین رشد طولی آرتمیاهای تغذیه شده با دو نوع جلبک کلرلا و کیتوسروس

	کلرلا	کیتوسروس
میانگین طول	۷/۲۷۳	۷/۸۵۳
تعداد	٤	٤
انحراف معیار	۰/۳۹۲۵	۰/۱۱٤۵
خطای معیار	۰/۱۹٦۲	۰/۰۵۷۲۵
حداقل	٦/۸۳۵	۷/۷٦۱
حداکثر	۷/٦٦٦	۸/۰۱۱
میانه	۷/۲۹۷	۷/۸۲۱
کرانه پایین در سطح ۹۵ درصد	٦/٦٤۹	۷/٦۷۱
کرانه بالا در سطح ۹۵ درصد	۷/۸۹۸	۸/۰۳۵

Mean difference= 0.5798 The 95% CI , 0.07954 to 1.080 T= 2.386 with 6 DF
- The one tailed P value 0.0149 The P value=0.0364

نمودار ۱: میانگین و انحراف معیار رشد طولی آرتمیاهای تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم

با تست آماری اختلاف میانگین‌ها از طریق آنالیز واریانس یکطرفه مشخص شد که میانگین طول در دو تیمار مورد مطالعه با حدود اطمینان ۹۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار است ($P<0.05$)، ولی درصد میانگین بازماندگی در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P= ۰/۴۳۲۱$).

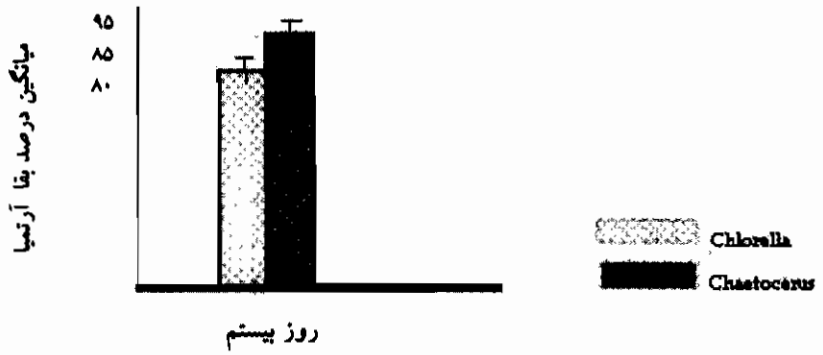
همچنین داده‌های مربوط به آنالیر واریانس یکطرفه درصد میانگین بازماندگی در دو تیمار و چهار تکرار مربوط به آرتمیا ارومیانا تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: محاسبات آماری درصد میانگین بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با دو نوع جلبک کلرلا و کیتوسروس

	کلرلا	کیتوسروس
میانگین طول	۸۲	۹۴
تعداد	٤	٤
انحراف معیار	۲/۱۵	۲/۲۵
خطای معیار	۱/۱۷	۱/۱۸
حداقل	۷۷	۹۳
حداکثر	۸۵	۹۷
میانه	۸۱	۹۵
کرانه پایین در سطح ۹۵ درصد	۷۶	۹۲
کرانه بالا در سطح ۹۵ درصد	۸۶	۹۸

Mean difference = 22.366 The 95% CI , 10.439 to 34.294 T = 4.589 with 6 DF
The one tailed P value 0.0019 The P value = 0.4321

میانگین و انحراف معیار درصد بقا آرتمیای تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم در نمودار ۲ آمده است. درصد میزان بقا و میانگین طول در گروههای تغذیه شده با کیتوسروس بترتیب ۹۵، ۹۷، ۹۳ و ۹٤ درصد و ۷/۷۷، ۷/۷٦، ۸/۰۱ و ۷/۸۷ میلیمتر و در گروههای تغذیه شده با کلرلا بترتیب ۸۲، ۸۰، ۷۷، ۸۵ درصد و ۷/۰٦، ۷/٦٦، ٦/۸۳، ۷/۵۳ میلیمتر می‌باشد (نمودار ۲).



نمودار۲: میانگین و انحراف معیار درصد بقا آرتمیاهای تغذیه شده با کیتوسروس و کلرلا در روز بیستم

بحث

نتایج نشان داد که استفاده از کیتوسروس بعنوان غذای زنده آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش اندازه طولی، اختلاف معنی‌داری دارد. از آنجا که اسیدهای چرب غیراشباع HUFA از عوامل موثر در رشد می‌باشند (Lavens & Sorgeloos, 1996)، یکی از احتمالات، افزایش رشد در آرتمیای تغذیه شده با کیتوسروس ممکن است بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع در این گونه باشد که نیاز به آزمایش دارد.

در این بررسی دامنه تغییرات طولی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا ۶/۸ تا ۷/۶ و در نمونه‌های تغذیه شده با کیتوسروس ۷/۷ تا ۸ میلیمتر می‌باشد. مقایسه این دو گروه نشان داد که تغذیه با کیتوسروس مناسبتر و رشد سریعتری را سبب می‌گردد (P= ۰/۰۳۶۴).

استفاده از کیتوسروس بعنوان غذای آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش درصد بازماندگی اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. دامنه تغییرات درصد بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با کلرلا، ۷۷ تا ۸۵ درصد و در نمونه‌های تغذیه شده با کیتوسروس ۹۳ تا ۹۷ درصد بود. مقایسه این دو گروه نشان داد که تغذیه با کیتوسروس تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کلرلا نشان نمی‌دهد (P = ۰/۴۳۲۱).

Quyhn & Lam در سال ۱۹۸۷ اعلام کردند که رشد آرتمیای ماده نژادهای دریاچه بزرگ نمک آمریکا، دریاچه ماکائو برزیل و بکرزای چینی در استخرهای خاکی غنی شده با کود مرغی بترتیب ۱۱/۷، ۱۰/۱۵ و ۱۱/۳۵ میلیمتر است در صورتیکه رشد آرتمیاهای نر نژاد دریاچه نمک و ماکائو کمتر از ماده‌ها می‌باشد. در هنگام پرورش آرتمیای نژاد سانفرانسیسکو از مرحله ناپلیوس تا بلوغ در استخرهای خاکی غنی شده با کودهای حیوانی و معدنی، مشخص گردید که زمان پرورش متراکم، طول آرتمیای ماده ۷ میلیمتر بود و در پرورش غیرمتراکم ۱۵ میلیمتر اندازه‌گیری شد (Rosowskii, 1989).

در تراکم‌های مختلف *Tetraselmis* و استفاده از یک تیمار مخمر بعنوان غذای آرتمیا، تاثیر معنی‌داری روی مدل تولید مثل آرتمیا بدست نیامد (Berthelemy *et al.*, 1998). استفاده از میکروجلبکهای خشک شده مانند

اسپیرولینا برای کشت آرتمیا موفقیت‌آمیز بوده است ولی بدلیل گرانی آن چندان توصیه نشده است (Schumann, 2003). Naegel, 1999 نشان داد که میزان پروتئین آرتمیا تغذیه شده با جلبک کیتوسروس نسبت به آرتمیا تغذیه شده با شیر خشک بیشتر است اگرچه از میزان چربی کمتری برخوردارست. با توجه به این نتیجه در استفاده از جلبکهای مختلف بعنوان غذای آرتمیا می‌توان به کمبودهای غذایی و نیاز به افزایش محتوای غذایی آرتمیا به منظور تغذیه در آبزی پروری توجه نمود.

منابع

آق، ن. ، ۱۳۸۱. پرورش آرتمیا در تانکر با استفاده از جلبک دونالیلا با سیستم مدار بسته. دانشگاه ارومیه. مرکز تحقیقات آرتمیا و دیگر جانوران آبزی (منتشر نشده).

مخدومی، ن. ؛ حسینی، ع. و شریف‌پور، ع. ، ۱۳۸۱. پرورش آرتمیا (نژاد دریاچه اینچه) با تغذیه از جلبک سبز و سبز- آبی. مجله علمی شیلات ایران. سال یازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۱.

Anonymous, S. , 1991. The design and operation of live feeds production systems. *In*: Rotifer and micro-algae culture systems. W. Fulks and K.L. Main (eds.). Proceedings of a US-Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, January 28-31, 1991. The Oceanic Institute, Hawaii, USA, pp.3-52.

Berthelemy, N. ; Okazaki, J. and Hedgecock, D. , 1998. Effect of environmental factors on cyst formation. Artemia and its application. Gent University. pp.283-299.

Fuchs-Rosenthal and Bürker, Z. , 1980. *In*: Manual on production and use of live food for aquaculture. Gent University. 127P.

Gent University, 2001. Production and use of live food for aquaculture. Courseware developed at the Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, Gent University. 127P.

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, 357P.

Naegel, L.C.A. , 1999. Controlled production of Artemia biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae *Chaetoceros*. Aquaculture Engineering 21, pp.49-59.

Quyhn, 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.

Rosowskii, J.R. , 1989. Rapid growth of *Artemia fransiscana* Kellog. *In*: Xenic culture of *Chlorella sp.* Aquaculture, Vol. 81, pp.185-203.

Schumann, K. , 2003. Artemia (Brine Shrimps) FAO, in Discus article.html. Internet search.

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, Vol. 6, pp.55-68.

Sorgeloose, P. , 1996. Manual of live food production. Gent University. 127P.

RICEST

Comparative study of growth and survival rate in *Artemia uramiana* fed by *Chlorella sp.* and *Chaetocerus sp.*

Hafezieh M.

Jhafezieh@yahoo.com
IFRO., Offshore Fisheries Research Center, Chabahar, Iran
Received: January 2004 Accepted: February 2005

Keywords: *Artemia uramiana,* Algae, Growth, *Chlorella sp., Chaetocerus sp.*

Abstract

Artemia uramiana hatched in the laboratory condition were reared in small glass aquariums for 20 days in 4 replications and fed with *Chaetocerus sp.* and marine *Chlorella sp.* as treatments. Culture conditions such as temperature, salinity and pH were kept the same for all treatments and replicates. A one-way analysis of variance, showed a significant difference in the mean growth rate of the *Artemia* treated with different food items ($P<0.05$), but no significant differences was found in the *Artemia* survival rate ($P=0.4321$). The average survival rate and the mean length of *Artemia* fed on *Chaetocerus sp.* were 95%, 97%, 93%, 94% and 7.77, 7.76, 8.01, 7.87; for the four replications. For the *Artemia* fed on *Chlorella sp.* the values were 82%, 80%, 77%, 85% and 7.06, 7.66, 7.53, 6.83 respectively.