

## بررسی میزان رشد و بقاء سه گونه مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبکهای تک سلولی *Nannochloropsis oculata*، *Tetraselmis suecica* و *Dunaliella tertiolecta*

حسام وجودزاده<sup>(۱)</sup>؛ فخری قزلباش<sup>(۲)</sup>؛ حسین ریاحی<sup>(۳)</sup> و رامین مناف فر<sup>(۳)\*</sup>

Raminmanaffar@yahoo.com

۱ و ۳- دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۲- گروه زیست شناسی دانشگاه ارومیه، ارومیه صندوق پستی: ۱۶۵

۴- پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه، صندوق پستی: ۱۶۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۶

### چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی میزان رشد و بازماندگی دو گونه از آرتمیاهای ایران (آرتمیای پارتوژنز از دریاچه مهارلو و *Artemia urmiana*) در مقایسه با *A. franciscana*، در تغذیه با سه جیره غذایی از جلبکهای تک سلولی مختلف (*Nannochloropsis oculata* و *Dunaliella tertiolecta*، *Tetraselmis suecica*) با ارزشهای غذایی متفاوت، انجام گردید. دوره آزمایش از زمان تخم گشایی تا بلوغ، ۱۵ روز در نظر گرفته شد. نتایج 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 نانوکلوپسیس غذاهای بهتری برای تغذیه آرتمیا می باشند ( $P < 0.05$ ). زمان بلوغ، رشد، بازماندگی و اولین زادآوری آرتمیاهای تغذیه شده با جلبکهای مختلف، می تواند متاثر از نوع تغذیه جلبکی باشد.

**لغات کلیدی:** *A. parthenogenetica*، *A. urmiana*، *A. franciscana*، بقاء، تتراسلمیس، دونالیلا، نانوکلوپسیس

### مقدمه

جلبکهای تک سلولی یک امر حیاتی می باشد (Lavens & Sorgeloos, 1996).

جلبک *Nannochloropsis oculata* با اندازه ۲ تا ۴ میکرون از جمله جلبکهای تک سلولی سبز تاژکدار می باشد و در این آزمایش بعنوان یکی از تیمارهای غذایی مورد توجه قرار گرفت. این جلبک با رشد سریع براحتی در آزمایشگاه کشت داده شده و با دارا بودن دیواره نازک سلولی یکی از غذاهای اصلی برای پرورش انواع روتیفر میباشد. گونه *N. oculata* با حدود ۱۶/۴۲ درصد از اسیدهای چرب HUFA (امگا ۳) از ۱۴۳

آرتمیا بعنوان اصلی ترین غذای زنده در پرورش لارو انواع آبزیان سالهاست که مورد توجه می باشد. قدرت تولید مثل بالا و پرورش آسان در محیطهای آزمایشگاهی، آنرا به یکی از جالب توجه ترین موجودات جهت بررسی الگوهای تولید مثل و تکاملی تبدیل نموده است (Coutteau, 1996). با توجه به اهمیت غذای زنده در تکثیر و پرورش لارو انواع آبزیان، پرورش انواع مختلفی از غذاهای زنده مانند آرتمیا، روتیفر و سیکلوپس بسیار مورد توجه واقع شده است. لذا جهت پرورش چنین موجوداتی و حتی لارو بسیاری از سخت پوستان در مراحل ابتدایی، دسترسی به انواع

آزمایش بعنوان تیمار شاهد غذا دهی در نظر گرفته شدند (Coutteu, 1996; Triantaphyllidis et al., 1998).

## مواد و روش کار

سیستم مورد استفاده در پرورش جلبکهای تک سلولی فوق روش Batch culture بوده و جلبکهای مورد استفاده در این آزمایش بشرح جدول یک از مرحله محیط کشت جامد (آگار) تا مرحله کشت انبوه در آزمایشگاه ویژه کشت جلبکهای تک سلولی در پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی کشت داده شدند. در انتهای دوره پس از عمل سانتریفوژ و افزایش تراکم، بوسیله لام مخصوص شمارش و به تراکم  $1.8 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  رسانده شد (Coutteu, 1996).

سیست مورد استفاده در این آزمایش، از سیست بانک پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی تهیه گردید. سیستهای فوق در اپتیمم شرایط (آب دریا با شوری ۳۵ppt، دمای ۲۵ درجه سانتی گراد،  $\text{pH} = 8$ ، هوادهی و نور ۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس) تفریح شدند. ظروف پرورشی فوق در داخل انکوباتوری با دمای ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شده و توسط یک پیپت پلاستیکی و لوله‌های هوادهی متصل به پمپ، مرکزی، هوادهی شدند. برای ممانعت از تبخیر آب، هر یک از ظروف فوق‌الذکر، توسط پتری دیشهای پلاستیکی که دارای دو سوراخ (یکی برای هوادهی و یکی برای غذادهی) بودند پوشانده شدند (Boone & Bass-Becking, 1931). لاروها طی چند ساعت اول بعد از تفریح از زرده استفاده کرده لذا عمل غذادهی ۲۴ ساعت بعد از تفریح طبق جدول غذادهی Coutteu و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. غذای مورد استفاده در پرورش، ترکیبی از جلبک با غلظت ۱۸ میلیون سلول در میلی‌لیتر و مخمر فرموله شده‌ای بنام Lansy Pz بود (Boone & Bass-Becking, 1931).

مخمر مورد استفاده در این تحقیق بصورت آماده از مرکز مرجع آرتمیای دانشگاه کنت بلژیک تهیه گردید و جلبکهای مورد نیاز در آزمایشگاه تکثیر و پرورش داده شدند. بصورت ثابت در ۲۵ درصد جیره غذایی تمامی تیمارها از مخمر استفاده شد (Coutteu et al., 1992). جلبکهای *Tetraselmis suecica* و *Nannochloropsis oculata* نیز به همراه ۲۵ درصد مخمر همانند نمونه شاهد جهت تغذیه آرتمیا مورد استفاده قرار گرفتند. به این ترتیب روزانه با حل نمودن ۴ گرم مخمر در ۶۰۰ میلی لیتر آب با شوری ۵۰ppt، محلولی ساخته می‌شد که به همراه جلبک براساس فرمول غذادهی بعنوان غذای آرتمیا مورد استفاده قرار می‌گرفت. بقاء و زیست‌سنجی آرتمیا در تیمارها و

کل اسیدهای چرب بعنوان یکی از منابع غنی EPA شناخته می‌شود اما میزان DHA پایینی دارد (Okouchi et al., 1990). این جلبک دارای مقادیر بالای ویتامین B<sub>12</sub> است که این ویتامین از مواد لازم برای رشد و بقاء لاروهای جوان است. *N. oculata* از جلبکهای تک سلولی مهم برای افزایش قدرت ایمنی لاروهای آبزیان نیز محسوب می‌شود (Okouchi et al., 1990). جلبک *Tetraselmis suecica* با اندازه ۹ تا ۱۴ میکرون جلبک سبز تاژکدار است که براحتی در محیطهای باز و سیستمهای پرورش انبوه کشت داده می‌شود. تحمل محدوده دمایی بالایی دارد که کار پرورش آن را ساده‌تر می‌کند. گونه *T. tetraethele* بطور وسیع در آبی‌پروری کاربرد دارد. میزان اسید چرب EPA این جلبک تقریباً برابر ۵ درصد و DHA آن حدود ۷ درصد از کل اسیدهای چرب می‌باشد (Fukusho et al., 1985; Wilkerson, 1998). جلبک *Dunaliella tertiolecta* با اندازه متوسط ۸ تا ۱۲ میکرون از جمله جلبکهای سبز تک سلولی تاژکدار می‌باشد که در آزمایشگاه پرورش داده می‌شود. این جنس با تعداد زیادی گونه از جمله جلبکهای معمول در آبی‌پروری می‌باشد که تحقیقات بسیاری بر روی این جلبک صورت گرفته است (منا ففر و همکاران، ۱۳۸۵). توانایی تولید انواع رنگیزه در برخی گونه‌های این جنس (*D. salina* و *D. viridis*) آن را بیش از پیش مورد توجه قرار داده است. سادگی پرورش این جلبک تخم مرغی شکل آنرا به یکی از جلبکهای بسیار مهم در پرورش آرتمیا (و انواع لارو آبزیان) تبدیل کرده است. ارائه فرمولاسیون مخصوص برای تغذیه آرتمیا در آزمایشگاه جهت بررسی‌های بیولوژیک آن توسط گونه *D. tertiolecta* و تاکید بر استفاده از این جلبک بعنوان ۷۵ درصد از جیره غذایی شاهد این ادعا می‌باشد. پراکنش مناسب و امکان دسترسی به استوک اولیه این جلبک در ایران (دریاچه ارومیه و مهارلو) یکی از دلایل اهمیت این جلبک می‌باشد (ریاحی، ۱۳۷۳).

بمنظور تعیین اپتیمم جیره غذایی با بهترین سرعت رشد، بلوغ و توان تولید مثلی بالا دو جمعیت عمده آرتمیای ایران یعنی *A. urmiana* و آرتمیای بکرزای دریاچه مهارلو (*A. partheogenetica*) و آرتمیای دو جنسی خلیج سانفرانسیسکو (*A. franciscana*) (گونه غیر بومی) مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به این نکته که امروزه در بررسی‌های بیولوژیک که برای آرتمیا تعریف شده است، ۷۵ درصد جیره غذایی توسط جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* و ۲۵ درصد آن توسط مخمری بنام Lansy PZ ساخته می‌شود موارد فوق نیز در این

تیمارها، کیفیت تشکیل اندامهای تولید مثلی و میزان بلوغ در آرمیای پارتنوژنز و تعداد جفت‌گیری‌های انجام یافته در گونه‌های دو جنسی در مدت فوق مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی فوق لاروهای تمامی تکرارها و تیمارها روزانه چند بار مورد بررسی دقیق قرار گرفته و اولین مورد از تشکیل کیسه تخمی در آرمیاهای پارتنوژنز یا جفتگیری در آرمیاهای دو جنسی بعنوان یک عامل مهم تولید مثلی ثبت شد. همچنین توانایی اولین زادآوری نیز بعنوان یک عامل تولید مثلی مورد بررسی قرار گرفت.

در نهایت بررسی آماری داده‌ها (زیست‌سنجی، رشد و بقاء) نیز با استفاده از برنامه SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون Tukey انجام شد.

تکرارهای مختلف در روزهای ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ بررسی شد (Triantaphyllidis et al., 1998).

به این منظور آرمیاهای موجود در هر ظرف پرورشی به کمک الکهای ۱۵۰ میکرومتری جمع‌آوری شده و توسط قطره چکان مخصوص شمارش شدند. در نهایت، درصد آرمیاهای باقیمانده نسبت به آرمیاهای اولیه محاسبه شد. میزان رشد آرمیایها (طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی) نیز در همان روز بررسی بقا، با صید حدود ۳۰ آرمیا بطور تصادفی از هر تیمار انجام پذیرفت. طول بدن آرمیایها توسط میکروسکوپ مجهز به میکرومتر چشمی در روز سوم و یا استفاده از دستگاه ویژه زیست‌سنجی در روزهای بعد اندازه‌گیری گردید. در ادامه و بعنوان بررسی تاثیر جیره‌های مختلف غذایی روی کیفیت بلوغ و تولید مثل، مدت ۳۰ روز با بررسی روزانه تمامی تکرارها و

جدول ۱: گونه‌ها و شرایط کشت مورد استفاده جلبکهای تک سلولی در آزمایشگاه در محیط کشت **Walne**

شوری (ppt)	pH	دما (درجه سانتیگراد)	نور (لوکس)	گونه جلبک
۲۸	۷-۹	۲۰-۲۴	۴۵۰۰	<i>Nannochloropsis oculata</i>
۳۸	۷-۹	۲۰-۲۴	۴۵۰۰	<i>Tetraselmis suecica</i>
۳۳	۷-۹	۲۰-۲۴	۴۵۰۰	<i>Dunaliella tertiolecta</i>

## نتایج

(۸۸ و ۸۵ درصد بقاء) آرمیای دریایچه ارومیه نزدیک به ۳۰ درصد اختلاف بقاء را در تغییر رژیم تغذیه ای نشان می‌دهد (جدول ۲).

در جدول ۲ به منظور بررسی بهتر تاثیر یک رژیم غذایی واحد بر روی سه گونه مختلف آرمیا، نتایج در هر گروه جلبکی آورده شده است. بدین ترتیب در تغذیه سه گونه مختلف آرمیا با جلبک دونالیلا مشخص شد که درصد بقاء در گونه آرمیای ارومیه با *Artemia franciscana* در روزهای هفتم تا یازدهم معنی‌دار بوده و در انتهای دوره پرورش، تاثیر تغذیه با این جلبک بر روی سه گونه فوق هیچ تاثیر معنی‌داری را در گونه‌های مختلف آرمیا ایجاد نکرده است ( $P > 0.05$ ). اما در تغذیه با جلبک تتراسلمیس تنها درصد تلفات در گروه آرمیا ارومیا از ابتدای روز هفتم تا انتهای دوره معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). گروه تغذیه شده با جلبک تک سلولی نانوکلوپسیس هیچ اختلاف معنی‌داری تا روز هفتم در سه گونه تغذیه شده با جلبک فوق نشان نداد، در حالیکه در روز یازدهم آرمیا ارومیا با گونه *A. franciscana* اختلاف آماری پیدا نموده و این اختلاف

نتایج درصد بقاء به تفکیک گروه جلبکی و گونه آرمیا در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. بررسی آماری نتایج بدست آمده نشان داد که گونه‌های مختلف جلبکی تاثیرات متفاوتی بر درصد بقاء هر آرمیا داشته است. بطور مثال تغذیه با جلبک نانوکلوپسیس در روز یازدهم برای *A. franciscana* و در روز هفتم تا یازدهم بر روی آرمیای دریایچه مهارلو تاثیر معنی‌داری داشته بطوریکه کمترین درصد بقا در تغذیه با این جلبک دیده می‌شود ( $P < 0.05$ ). اما در گروه *A. urmiana* وضعیت کمی متفاوت‌تر بوده و تاثیر تغذیه با جلبک تتراسلمیس و نانوکلوپسیس بصورت یکسان در روز هفتم و روز یازدهم موجب افزایش درصد تلفات شده که این روند در روز پانزدهم باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار در هر سه گروه تغذیه‌ای در مورد *A. urmiana* شده است و در بقیه موارد اختلاف معنی‌داری بین گروهها دیده نمی‌شود. همچنین نتایج نشان داد که یک گونه جلبک می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر روی گونه‌های مختلف آرمیا داشته باشد. زیرا در همان حال که رژیم جلبکی دونالیلا و یا تتراسلمیس تاثیر تقریباً یکسانی بر بقای *A. franciscana* دارد

دونالیلا حاصل شده است. لیکن تغذیه با جلبک تتراسلمیس در اغلب موارد نتایجی مشابه با تیمار تغذیه شده دونالیلا را داشت. اما تغذیه با جلبک نانوکلوپسیس موجب شده است که کمترین بقاء در تمامی نمونه‌ها حاصل شود. نتایج زیست‌سنجی تیمارهای جلبک و آرتمیا در روزهای ۳ تا انتهای دوره ۱۵ روزه پرورش در جدول ۴ آورده شده است.

در روز پانزدهم در بین تمامی گروهها دیده می‌شود ( $P < 0.05$ ). در انتهای روز پانزدهم کمترین تلفات متعلق به آرتمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با *Dunaliella tertiolecta* و بیشترین تلفات متعلق به آرتمیا ارومیانا تغذیه شده با *Nannochloropsis oculata* بود. بطور کلی بررسی درصد بقاء لاروها در تغذیه با ۳ تیمار غذایی نشان داد که بهترین درصد بقاء با جلبک تک سلولی

جدول ۲: بازماندگی گونه‌های مختلف آرتمیا در تغذیه با ۳ جیره غذای جلبکی

گونه آرتمیا	گونه جلبک	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
<i>Artemia franciscana</i>	Duna.	۹۵/۰۶±۱/۸ <sup>a</sup>	۹۳/۴۳±۲/۰ <sup>a</sup>	۹۱/۳۱±۲/۴۸ <sup>a</sup>	۸۸/۵۶±۲/۶۷ <sup>a</sup>
	Tetra	۹۲/۷۵±۲/۰۳ <sup>a</sup>	۸۸/۷۰±۲/۷۱ <sup>a</sup>	۸۶/۸۵±۲/۴۱ <sup>a</sup>	۸۵/۳۵±۲/۷۷ <sup>a</sup>
	Nanno.	۹۲/۶۰±۶/۸۷ <sup>a</sup>	۸۶/۲۵±۹/۹۸ <sup>a</sup>	۸۰/۹۰±۱۰/۷۵ <sup>a</sup>	۶۹/۸۵±۷/۰۶ <sup>b</sup>
<i>Artemia parthenogenetica</i> Maharlu	Duna.	۹۶/۰۵±۱/۹۴ <sup>a</sup>	۸۸/۶۵±۵/۰۸ <sup>a</sup>	۸۵/۸۵±۶/۷۶ <sup>a</sup>	۸۰/۴۰±۱۱/۵۴ <sup>a</sup>
	Tetra.	۹۴/۲۵±۳/۱۸ <sup>a</sup>	۹۳/۶۹±۲/۸۹ <sup>a</sup>	۹۱/۵۰±۳/۰۶ <sup>a</sup>	۸۷/۹۳±۲/۴۵ <sup>a</sup>
	Nanno.	۹۴/۶۸±۴/۱۴ <sup>a</sup>	۷۴/۱۸±۱۱/۳۴ <sup>b</sup>	۶۰/۷۵±۱۰/۵۷ <sup>b</sup>	۴۸/۴۳±۶/۹۸ <sup>b</sup>
<i>Artemia urmiana</i>	Duna.	۹۶/۸۱±۲/۹۳ <sup>a</sup>	۸۵/۷۵±۲/۵ <sup>a</sup>	۸۲/۱۲±۱/۷۶ <sup>a</sup>	۷۶/۶۸±۶/۹۶ <sup>a</sup>
	Tetra.	۹۲/۳۳±۵/۹۲ <sup>a</sup>	۷۰/۱۸±۷/۸۵ <sup>b</sup>	۵۵/۰۷±۸/۵۲ <sup>b</sup>	۴۷/۳۵±۷/۵۵ <sup>b</sup>
	Nanno.	۹۳/۰۰±۳/۱۸ <sup>a</sup>	۷۵/۴۸±۸/۰۹ <sup>ab</sup>	۴۳/۴۰±۱۴/۹۷ <sup>b</sup>	۳۰/۹۶±۱۲/۴۳ <sup>c</sup>

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳: تاثیر رژیم غذایی جلبکی بر بازماندگی ۳ جمعیت مختلف آرتمیا

گونه جلبک	گونه آرتمیا	روز سوم	روز هفتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Franc.	۹۵/۰۶±۱/۸ <sup>a</sup>	۹۳/۴۳±۲/۰ <sup>a</sup>	۹۱/۳۱±۲/۴۸ <sup>a</sup>	۸۸/۵۶±۲/۶۷ <sup>a</sup>
	Mahar.	۹۶/۰۵±۱/۹۴ <sup>a</sup>	۸۸/۶۵±۵/۰۸ <sup>ab</sup>	۸۵/۸۵±۶/۷۶ <sup>ab</sup>	۸۰/۴۰±۱۱/۵۴ <sup>a</sup>
	Urm.	۹۶/۸۱±۲/۹۳ <sup>a</sup>	۸۵/۷۵±۲/۵ <sup>b</sup>	۸۲/۱۲±۱/۷۶ <sup>b</sup>	۷۶/۶۸±۶/۹۶ <sup>a</sup>
<i>Tetraselmis suecica</i>	Franc.	۹۲/۷۵±۲/۰۳ <sup>a</sup>	۸۸/۷۰±۲/۷۱ <sup>a</sup>	۸۶/۸۵±۲/۴۱ <sup>a</sup>	۸۵/۳۵±۲/۷۷ <sup>a</sup>
	Mahar.	۹۴/۲۵±۳/۱۸ <sup>a</sup>	۹۳/۶۹±۲/۸۹ <sup>a</sup>	۹۱/۵۰±۳/۰۶ <sup>a</sup>	۸۷/۹۳±۲/۴۵ <sup>a</sup>
	Urm.	۹۲/۳۳±۵/۹۲ <sup>a</sup>	۷۰/۱۸±۷/۸۵ <sup>b</sup>	۵۵/۰۷±۸/۵۲ <sup>b</sup>	۴۷/۳۵±۷/۵۵ <sup>b</sup>
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Franc.	۹۲/۶۰±۶/۸۷ <sup>a</sup>	۸۶/۲۵±۹/۹۸ <sup>a</sup>	۸۰/۹۰±۱۰/۷۵ <sup>a</sup>	۶۹/۸۵±۷/۰۶ <sup>a</sup>
	Mahar.	۹۴/۶۸±۴/۱۴ <sup>a</sup>	۷۴/۱۸±۱۱/۳۴ <sup>a</sup>	۶۰/۷۵±۱۰/۵۷ <sup>ab</sup>	۴۸/۴۳±۶/۹۸ <sup>b</sup>
	Urm.	۹۳/۳/۱۸ <sup>a</sup>	۷۵/۴۸±۸/۰۹ <sup>a</sup>	۴۳/۴۰±۱۴/۹۷ <sup>b</sup>	۳۰/۹۶±۱۲/۴۳ <sup>c</sup>

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P > 0.05$ ).

جدول ۴: زیست‌سنجی آرتمیا در تغذیه با ۳ گونه جلبک (میلی متر)

روز پانزدهم	روز یازدهم	روز هفتم	روز سوم	گونه جلبک	جمعیت آرتمیا
$6/99 \pm 0/186^a$	$5/42 \pm 1/0^a$	$4/12 \pm 0/51^a$	$1/462 \pm 0/21^a$	Duna.	<i>Artemia franciscana</i>
$7/86 \pm 0/92^b$	$6/28 \pm 0/17^b$	$3/94 \pm 0/66^a$	$1/42 \pm 0/18^a$	Tetra.	
$6/11 \pm 0/97^c$	$4/75 \pm 1/09^c$	$2/97 \pm 0/63^b$	$1/28 \pm 0/21^b$	Nanno.	
$8/94 \pm 1/11^a$	$6/74 \pm 0/97^a$	$4/07 \pm 0/53^a$	$1/43 \pm 0/11^a$	Duna	<i>Artemia parthenogenetica</i> Maharlu
$9/12 \pm 1/08^a$	$7/08 \pm 1/0^a$	$3/86 \pm 0/53^a$	$1/50 \pm 0/14^a$	Tetra.	
$7/06 \pm 1/28^b$	$5/02 \pm 0/96^b$	$3/14 \pm 0/63^b$	$1/48 \pm 0/32^a$	Nanno.	
$9/24 \pm 1/12^a$	$6/90 \pm 0/99^a$	$4/32 \pm 0/53^a$	$1/41 \pm 0/14^a$	Duna.	<i>Artemia urmiana</i>
$9/32 \pm 1/17^a$	$7/11 \pm 0/97^a$	$4 \pm 0/44^a$	$1/34 \pm 0/14^{ab}$	Tetra.	
$7/20 \pm 1/5^b$	$6/01 \pm 1/08^b$	$3/08 \pm 0/75^b$	$1/29 \pm 0/15^b$	Nanno.	

اعداد در هر ستون (داخل هر گروه) با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ( $P > 0.05$ ).

هر سه تیمار تغذیه تقریباً در یک زمان به بلوغ رسیدند. البته در بررسی زمان بلوغ آرتمیاهای فوق به ازاء رژیم تغذیه‌ای، بلوغ سریعتری در رژیم تغذیه‌ای با تتراسلمیس در *A. franciscana* مشاهده شد، لیکن در این زمان در آرتمیای مهارلو و *A. urmiana* تفاوتی با هم نداشت. اما بیشترین تفاوت در تیمارهای تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس در دو آرتمیای مهارلو و *A. urmiana* دیده شد که بترتیب با ۲۰ و ۲۵ روز پس از تفریح قادر به جفت‌گیری و یا بلوغ شدند. اما در بررسی زمان پیش تولید مثلی در مورد *A. franciscana* مشخص شد که با وجود اینکه در سه رژیم غذایی متفاوت زمان مشاهده اولین جفتگیری بسیار نزدیک به همدیگر می‌باشد، ولی زمان پیش تولید مثلی در آرتمیای تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس در روز بیست و سوم پس از تفریح می‌باشد. در حالیکه در دیگر موارد در روز هفدهم، اولین برداشت لارو صورت گرفت. در آرتمیای مهارلو و *A. urmiana*، باز هم اولین تولید لارو در تغذیه با جلبک تتراسلمیس اتفاق افتاد. این اختلاف با تیمار تغذیه یافته با جلبک دونالیلا چندان زیاد نبود ولی در آرتمیاهای تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس تولید لارو اختلاف بسیار بیشتری نسبت به آرتمیاهای تغذیه شده با جلبکهای تتراسلمیس و دونالیلا دارد. در هر دو تیمار تغذیه یافته با جیره جلبک نانوکروپسیس با وجود ادامه آزمایش تا حدود ۳۰ روز هیچگونه تولید لارو یا سیستمی مشاهده نشد.

اما در بررسی نتایج زیست‌سنجی آرتمیاهای در تغذیه با سه رژیم غذایی مشخص شد که در گونه *A. franciscana* از ابتدای دوره پرورش تیمار تغذیه شده با جلبک تک سلولی نانوکروپسیس رشد کمتری نسبت به تیمارهای دیگر داشته و این اختلاف تا سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). از روز یازدهم به بعد نیز آرتمیاهای فوق که با جلبک تتراسلمیس تغذیه شده بودند رشد بهتری را از خود نشان دادند که در نهایت موجب شد که گونه تغذیه شده با جلبک تتراسلمیس بزرگتر از آرتمیاهای تغذیه شده با دونالیلا باشند ( $P < 0.05$ ). اما در گروه آرتمیای مهارلو فقط در تیمار تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس این اختلاف معنی‌دار بود و رشد این آرتمیاهای نسبت به دو جلبک دیگر کمتر بوده است ( $P < 0.05$ ). در گروه *A. urmiana* نیز به استثنای زیست‌سنجی روز سوم که اختلاف فقط در بین گروههای تغذیه شده با جلبک دونالیلا و نانوکروپسیس می‌باشد، در بقیه روزها و تا انتهای دوره تنها تفاوت بین نمونه تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس و دو تیمار تغذیه ای دیگر دیده شد ( $P < 0.05$ ). در جدول ۵ نتایج کیفیت بلوغ و جفت‌گیری یا تولید مثل (تولید لارو یا سیست) تیمارهای فوق دیده می‌شود.

همانطور که در جدول ۵ دیده می‌شود *A. franciscana* (همانطور که انتظار هم می‌رفت) در هر سه تیمار تغذیه‌ای در مدت زمان کوتاهتری نسبت به آرتمیاهای دیگر و با هر نوع تغذیه‌ای سریعتر به بلوغ رسیده و قادر به جفت‌گیری شدند. پس از آرتمیای فوق آرتمیای دریاچه مهارلو و *A. urmiana* در

جدول ۵: مشاهدات تولید مثلی در سه گونه مختلف آرتمیا

مشاهده اولین بلوغ یا جفت‌گیری (روز)	مشاهده اولین زادآوری (روز)	گونه جلبک	گونه‌های آرتمیا
۱۲	۱۷	Duna.	<i>A. franciscana</i>
۱۱	۱۷	Tetra.	
۱۲	۲۳	Nanno.	
۱۵	۲۰	Duna.	<i>Artemia parthenogenetica</i> Maharlu
۱۵	۱۹	Tetra.	
۲۰	*	Nanno.	
۱۵	۲۱	Duna.	
۱۵	۲۰	Tetra.	<i>Artemia urmiana</i>
۲۵	*	Nanno.	

\* بررسی تا مدت نزدیک به ۳۰ روز ادامه یافت ولی لاروزایی یا سیست زایی مشاهده نشد.

## بحث

مقوله بوده است. توجه به ارزش غذایی بسیار متنوع جلبکهای مورد استفاده در این تحقیق نشان می‌دهد که عامل زیست‌سنجی و تولید مثلی لاروهای تولید شده تا چه حد می‌تواند دستخوش تغییر رژیم غذایی قرار گیرد. در جدول ۶ ارزش غذایی گونه‌های جلبک مورد استفاده در این آزمایش آورده شده است.

جدول ۶ نشان می‌دهد که از گروه اسیدهای چرب اشباع شده و غیر اشباع تک دندانه‌ای جلبک نانوکروپسیس و دونالیلا دارای ارزش تقریباً برابر بوده و ارزش غذایی جلبک تتراسلمیس در این کلاس در پائین‌ترین حد قرار دارد (Schiopu et al., 2005; Oltra et al., 2000; Tago & Teshima, 2002). اما در سطح اسیدهای چرب اشباع نشده چند دندانه‌ای جلبک تک سلولی تتراسلمیس وضعیت بسیار بهتری داشته و با دارا بودن نزدیک به ۷۸ درصد از کل اسیدهای چرب نسبت به رقم ۵۹ درصد در دو جلبک دیگر، در سطح بالاتری قرار دارد. امروزه مطالعات محققین بیشتر به سمت بالا بردن ارزش غذایی خصوصاً اسیدهای چرب n-3 یا همان اسیدهای چرب غیراشباع پیش می‌رود. اهمیت این اسیدهای چرب بر روی رشد و بلوغ موجودات مختلف خصوصاً انواع آبزیان و مهمتر از همه در دوران لاروی و حتی تکامل سیستم اعصاب و غدد جنسی در همه جانوران شناخته شده است (پورجعفر، ۱۳۷۷).

در منابع مختلف تراکمهای متفاوتی در استفاده از جلبکهای تک سلولی گزارش شده است. بطور مثال Coutteau و همکاران در سال ۱۹۹۲، رقم ۱۸ میلیون در هر میلی‌لیتر از جلبک تک سلولی دونالیلا را برای کشت مناسب آرتمیا در آزمایشگاه پیشنهاد داده‌اند. بر این اساس منافذ در سال ۱۳۸۰ نیز از همین تراکم برای غنی‌سازی آرتمیا با جلبکهای تک سلولی استفاده نمود. در مطالعه دیگری که بر روی تغذیه روتیفر انجام شده بود، رقم  $10^2 \times 700$  تا  $10^6$  سلول در میلی‌لیتر برای ۳ گونه جلبک *Nannochloropsis sp.*, *Chlorella sp.* و *Isochrysis sp.* استفاده شد (Abdul-Elah et al., 2001).

حتی  $10^6$  سلول از گونه *Chaetoceros calcitrans* برای پرورش هر لارو چشم زده اویستر پیشنهاد شده بود (Duerr et al., 1998). همچنین برای تغذیه روتیفر (*Brachionus plicatilis*) در ۱۰ روز ابتدایی به تعداد  $10^2 \times 10 - 5$  جلبک تک سلولی نانو کلروپسیس مورد استفاده قرار گرفت (Shahin, 2001). چنانکه مشخص شد تراکمهای مختلفی از جلبک در پرورش انواع آبزیان از جمله آرتمیا و روتیفر مورد استفاده قرار گرفت و تقریباً در اکثر موارد با توجه به اینکه از جلبک برای پرورش مقطعی روتیفر و آرتمیا و استفاده از آنها برای تغذیه انواع دیگر آبزیان استفاده شده است، غیر از تراکم، ارزش غذایی لاروهای تولید شده نیز از جمله مسائل مورد اهمیت در این

جدول ۶: مقایسه اسیدهای چرب ۳ گونه جلبک تک سلولی (برحسب درصد)  
(Reboloso-Fuentes et al., 2001; Pratoomyot et al., 2005)

<i>Tetraselmis</i>	<i>Nannochloropsis</i>	<i>Dunaliella</i>	
۱۵/۴	۲۲/۳	۲۲/۱	Saturates
۵/۲	۱۶/۷	۱۶/۶	Monounsaturated
۷۷/۹	۵۹/۵	۵۹/۰	Polyunsaturated
-	۴/۳	۳/۲	20:5(n-3) (EPA)
-	TR	TR	22:6(n-3) (DHA)
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	TOTAL

بررسی زیست‌سنجی آرتمیا هم نشان داد که در کلیه تیمارهای آرتمیا در سه رژیم غذایی مختلف در انتهای دوره پرورش باز هم مانند نتایج بقاء، تغذیه از جلبک نانوکروپسیس موجب تولید آرتمیاهایی با کوچکترین اندازه شده است ( $P < 0.05$ ). در تیمار *A. franciscana* از ابتدای زیست‌سنجی روز سوم تا انتهای دوره، ضعیف‌ترین لاروها توسط جلبک نانوکروپسیس پرورش یافته‌اند. اما جالب اینکه در تیمار *A. franciscana* تا انتهای روز هفتم با وجود عدم معنی‌دار بودن اختلافات، آرتمیای تغذیه شده با دونالیلا رشد بهتری حتی نسبت به جلبک تتراسلمیس داشت و لیکن از روز هفتم به بعد تغذیه با جلبک تتراسلمیس موجب افزایش رشد ناگهانی در لاروهای آرتمیا شده و در نهایت در تمامی آرتمیاها لاروهای تغذیه شده با جلبک فوق دارای میانگین طولی بهتری بودند. اگرچه این تفاوت تنها در *A. franciscana* در مقایسه با تیمار تغذیه شده با جلبک دونالیلا معنی‌دار می‌باشد. بررسی نمودار رشد آرتمیا در سه تیمار تغذیه یافته با جلبکهای متفاوت نیز به همین نکته اشاره دارد. همانگونه که گفته شد ارزش غذایی بسیار متفاوت جلبکهای فوق و بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع در جلبک تتراسلمیس می‌تواند دلیل اصلی چنین رشدی در مقطع بخصوص باشد. در ادامه آزمایش و بررسی قدرت بلوغ و تولید مثل آرتمیا هم مشخص شد که بر عکس جلبک دونالیلا که توانایی بخصوصی در رشد و بقاء اوایل دوران لاروی دارد، تغذیه با جلبک تتراسلمیس باعث رشد ناگهانی و افزایش بقاء در روزهای انتهایی دوران لاروی شده و در نهایت نتیجه بسیار مثبتی نیز بر روی رشد و بلوغ اندامهای جنسی و همچنین قدرت لاروزایی دارد. برعکس جلبک نانوکروپسیس که توانایی لازم برای القاء قدرت بلوغ و رشد

از طرفی اسیدهای چرب غیراشباع زنجیره بلند برای رشد، بازماندگی، مقاومت در برابر بیماریها و حتی پیگمانتاسیون لارو ماهیان دریایی و میگو ضروری می‌باشد (Watanabe, 1993). در این آزمایش استفاده از سه گونه جلبک تک سلولی به منظور بررسی رشد و بقاء در آرتمیا نشان داد که حتی با وجود تراکم یکسان جلبک، میزان رشد و بقای لاروها بسیار متفاوت می‌باشد. بررسی بازماندگی آرتمیاهای تغذیه شده با انواع جلبک نشان داد که احتمالاً نیازهای غذایی انواع آرتمیا با هم متفاوت می‌باشد. در یک دوره ۱۵ روزه پرورش، درصد بقاء تنها در *A. franciscana* در سه تیمار غذایی آن فقط در انتهای دوره، یعنی در بررسی روز پانزدهم معنی‌دار اعلام شده است ( $P < 0.05$ ). اما در دیگر تیمارهای آرتمیا، این اختلاف از روز هفتم به بعد معنی‌دار شده است. این در حالی است که بقاء در تغذیه با جلبک تتراسلمیس تنها در *A. urmiana* و آن هم از روز هفتم به بعد بطور معنی‌داری کاهش پیدا نموده است ( $P < 0.05$ ). البته میزان مقاومت و سازش پذیری در مقابل شرایط بد محیطی و اصولاً کیفیت پرورشی هر گونه که بخشی از آن در گروه کسب نیازهای اختصاصی از محیط یا پائین بودن سطح نیازمندی می‌باشد یکی از دلایل این اختلاف است. در بررسی جدول ۳ تقریباً همانطور که انتظار می‌رفت *A. urmiana* در همه تیمارهای غذایی پس از *A. franciscana* و حتی آرتمیای دریاچه مهارلو در رده بعدی قرار داشت. شاید ضعیف بودن دریاچه ارومیه از نظر دارا بودن تولیدات اولیه دلیل تولید آرتمیاهایی با این درجه از ضعف بوده است. بطوریکه این آرتمیا دارای مقادیر مناسبی از 18:3(n-3) و مقادیر بسیار اندکی از 20:5(n-3) می‌باشد (Sorgeloos, 1997). نتایج

مناف فر، ر.، ۱۳۸۰. غنی سازی ناپلیوس *Artemia urmiana* با امولسیون اسیدهای چرب و جلبک تک سلولی دونالیلا و بررسی متابولیسم در دوره انکوباسیون سرد. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس. ۸۸ صفحه.

مناف فر، ر.؛ ملکی، ر.؛ آتشبار، ب. و آق، ن.، ۱۳۸۵. استفاده از عصاره دانه گیاه *Azadirachta indica* علیه مژکداران تک سلولی مهاجم در محیط پرورش متراکم جلبک تک سلولی *Dunaliella tertiolecta* مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۷۱، صفحات ۸۲ تا ۸۸.

Abdul -Elah, K.M. Al.; Almatar, S.; Abu-Rezq, T. and James, C.M. , 2001. Development of hatchery technology for the silver pomfret *Pampus argenteus* (Euphrasen): Effect of microalge species on larval survival. Aquaculture Research. Vol. 32, pp.849-860.

Boone, E. and Baas-Becking, L.G.M. , 1931. Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. Journal of Gen. Physiol. Vol. 14, pp.753-763.

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

Coutteau, P. , 1996. Micro-algae. In: (eds. P. Sorgeloos and P. Lavens). Manual on the production and use of live food for aquaculture. University of Gent, Artemia Reference Center. pp.9-60.

Duerr, E.O.; Molnar, A. and Vernon, S. , 1998. Cultured micro algae as aquaculture feeds. Journal of Marine Biotechnology. Vol. 7, pp.65-70.

Fukusho, K.; Okauchi, M.; Tanaka, H.; Kraisingdecha, P.; Wahyuni, S. and Watanbe, T. , 1985. Food value of the small S-strain of rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with *Tetraselmis tetrahele* for the larvae of

جنسی را نداشته و تقریباً به غیر از *A. franciscana* هیچیک از تیمارهای تغذیه شده با این گونه جلبک قادر به تولید مثل نشدند. بار دیگر توجه به ارزش غذایی این سه گونه جلبک و توجه به بالا بودن میزان اسیدهای چرب کلاس غیراشباع خصوصاً امگا ۳ در جلبک تتراسلمیس ما را به این نکته هدایت می کند که بلوغ اندامهای جنسی و نیازهای بدنی در دوران لاروی بسیار متفاوت بوده و با توجه به تامین این نیازها می توان به لاروهایی با قدرت تولید مثل بالاتر دست یافت. بالا بودن اسید چرب لینولنیک در جلبک تتراسلمیس که در کلاس اسیدهای چرب امگا ۳ می باشد و توانایی تبدیل آن به دیگر اسیدهای چرب این کلاس (Leger, 1986)، تامین نیازهای اساسی آرتمیاهای تغذیه شده با این جیره جلبکی را در دوران بلوغ توجیه می نماید (مناف فر، ۱۳۸۰). لذا با توجه به کلیه موارد گفته شده می توان به این نکته کلی رسید که برای گونه های مختلف آرتمیا و با توجه به هدف پرورش آرتمیا، باید جیره غذایی جلبکی ویژه ای را انتخاب نمود. همچنین پیشنهاد می شود به دلیل اینکه تغذیه با جلبک دونالیلا در تمامی آرتمیاهای مورد مطالعه در هفته اول پرورش میانگین رشد مناسبی را ایجاد کرده بود، بهتر است تغذیه آرتمیا در هفته اول با این گونه جلبک صورت پذیرفته و در اواخر دوره پرورش از جلبک تتراسلمیس برای تغذیه آرتمیا استفاده شود. به این ترتیب با افزایش میزان بازماندگی و رشد توام، می توان به بلوغ زود هنگام و توان بالای تولید مثلی در آرتمیها نیز دست یافت.

## تشکر و قدردانی

از مسئولین و همکاران پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی خصوصاً جناب آقای مهندس اکبری معاون محترم پژوهشکده و همچنین آقای مهندس وهابزاده و خانم مهندس ساعی کارشناسان محترم بخش بیولوژی و آزمایشگاه پرورش جلبک کمال تشکر را داریم.

## منابع

پورجعفر، م.ر.، ۱۳۷۷. تعیین میزان چربی و اسیدهای چرب ناپلیوس آرتمیا اورمیا از ایستگاههای مختلف صید در طول سال ۱۳۷۷. پایان نامه دوره دکتری حرفه ای دامپزشکی دانشگاه ارومیه. ۸۰ صفحه.

ریاحی، ح.، ۱۳۷۳. مطالعه فلور جلبکی دریاچه ارومیه. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۵، صفحات ۲۳ تا ۲۵.

- Black Sea Bream. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. Vol. 8, pp.5-13.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996.** Manual on use and production and use of live food aquaculture and Artemia Reference Center, University of Ghent, Belgium, Published by FAO.
- Leger, Ph. , 1986.** The use and nutritional value of Artemia as food source. *Oceaogr. Mar. Bio. Ann. Rev.*, Vol. 24, pp.521-623.
- Okauchi, M.; Zhou, W.; Zou, W.; Fukucho, K. and Kanazawa, A. , 1990.** Difference in nutritive value of a microalgae *Nannochloropsis oculata* at various growth phases. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* Vol. 56, No. 8, pp.1293-1298.
- Oltra, R.; Todolf, R.; Bosque, T.; Lubian, L.M. and Nvarro, J. , 2000.** Life history and fatty acid composition of the marine rotifer *Synchaeta cecilia* valentine fed different algae. *Journal of Marine Ecology Progress Series.* Vol. 193, pp.32-38.
- Schiopu, D.B. ; George, S. and Castell, J. , 2005.** Ingestion rates dietary lipids affects growth and fatty acid composition of *Dendraster excentricus* larvae. *Journal of Experimental Biology and Ecology.* Vol. 45, pp.58-67
- Shahin, T. , 2001.** Larval rearing of Black Sea Turbut, *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758) under laboratory condition. *Turkish Journal of Zoology.* Vol. 25, pp.447-452.
- Sorgeloos, P. , 1997.** Lake Urmia cooperation project-contract item. A report on the determination and identification of biological characteristics of *Artemia urmiana* for application in aquaculture. Faculty of Agriculture and Applied Biological Science, Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, Universiteit Gent, Belgium.
- Tago, A. and Teshima, S.I. , 2002.** Preparatio of [<sup>13</sup>C] eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis oculata*. *Fisheries Science.* Vol. 68, pp.452-454.
- Triantaphllidis, G.V.; Abatzopoulos, T.J. and Sorgeloos, P. , 1998.** Review of the biogeography of the genus Artemia. *Journal of Biogeography.* Vol. 25, pp.213 - 226.
- Watanabe, T. , 1993.** Importance of docosahexanoic acid in marine larvae fish. *Journal of the World Aquaculture Society.* Vol. 24, pp.152-161.
- Wilkerson, J. , 1998.** Clown fishes, Microcosim Limited. 387P.

**Study on survival and growth rate of  
three Artemia species fed with *Dunaliella tertiolecta*,  
*Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis oculata***

**Vojoudzadeh H.<sup>(1)</sup>; Gezelbash F.<sup>(2)</sup>; Riahi H.<sup>(3)</sup> and Manaffar R.<sup>(4)\*</sup>**

Raminmanaffar@yahoo.com

1,3- Biology Science Faculty, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2- Biology Department, Urmia University, P.O.Box: 165 Urmia, Iran

4- Artemia and Aquatic Animals Research Institute, Urmia University, P.O.Box: 165 Urmia, Iran

Received: May 2007

Accepted: November 2007

**Keywords:** *Artemia franciscana*, *A. urmiana*, *A. parthenogenetica*, Survival, *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*.

### ***Abstract***

In recent years, Artemia has proven to be one of the easiest to prepare and the most nutritious food available to aquaculture. In this research, the process of hatching of Artemia cyst into larval stage using algae as a diet was investigated. The cysts used for this experiment belonged to three species *Artemia urmiana*, *Artemia parthenogenetica* and *Artemia franciscana*. The algae species used for the feeding of the Artemia included *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis oculata*. The effect of algae feeding on growth rate and survival of the Artemia species from hatching to maturation during 15 days was investigated. The results showed that *A. franciscana* had better growth rate and survival compared to the other two species. We found that algae *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica* were significantly better food than the other algae in terms of growth and survival rate of the Artemia ( $P < 0.05$ ). However, the maturity time, growth, survival and reproduction of the Artemia is affected by the species of the algae used in feeding them.

---

\*Corresponding author