

تأثیر ترکیبی رژیم‌های نوری و جیره‌های غذایی جلبکی بر رشد و تولید در آنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia quadrangula*

دلارام تقوی، امیدوار فرهادیان*، نصرالله محبوبی صوفیانی و یزدان کیوانی

دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۲۵

چکیده

یکی از آنتن منشعب‌های آب شیرین گونه *Ceriodaphnia quadrangula* است. این گونه را می‌توان به عنوان یکی از مناسب‌ترین غذاهای زنده در نظر گرفت، زیرا دامنه تحمل وسیعی به خصوصیات دمایی و نوری آب و همچنین پرورش با استفاده از جلبک‌های میکروسکوپی دارد. این تحقیق با هدف تأثیر رژیم‌های مختلف نوری و جیره‌های جلبکی به طور ترکیبی بر میزان رشد و تولید در *C. quadrangula* انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ رژیم نوری: 4L:4D (۴ ساعت نور: ۴ ساعت تاریکی)، 6L:6D، 8L:8D و 12L:12D و ۲ جیره جداگانه جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* و *Chlorella vulgaris* بود که به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تراکم جمعیت، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جمعیت *C. quadrangula* در تیمارهای مختلف آزمایش شده تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.05$). میانگین بالاترین تراکم آنتن منشعب *C. quadrangula* تغذیه شده با جلبک *S. quadricauda* در تیمارهای 4L:4D، 6L:6D، 8L:8D و 12L:12D به ترتیب 50.9 ± 1000 (میانگین \pm خطای استاندارد)، 57.3 ± 571.4 ، 62.3 ± 690.5 و 58.7 ± 1000 فرد در لیتر در حالیکه این تیمارها با جلبک *C. vulgaris* به ترتیب برابر 46.0 ± 1642.9 ، 72.2 ± 2261.9 ، 75.0 ± 1023.8 و 80.3 ± 2619.1 فرد در لیتر در دوره آزمایش به دست آمد. همچنین میانگین میزان رشد ویژه بدست آمده در تیمارهای مختلف دامنه‌ای از ۰/۰۴ تا ۰/۱۱ در روز داشت. این تحقیق مبینان است که *C. quadrangula* قابلیت پرورش در رژیم‌های مختلف نوری و همچنین جیره‌های جلبکی را دارد اما می‌توان با استفاده از ترکیب شرایط پرورش 12L:12D و جلبک *C. vulgaris* مناسب‌ترین عملکرد را فراهم نمود.

واژه‌های کلیدی: زئوپلانکتون، شرایط محیطی، *Ceriodaphnia*، جلبک‌های میکروسکوپی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۶۴، پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

مقدمه

فاکتورهای مهم در تولیدمثل زئوپلانکتونها (۸، ۲۶ و ۳۳) است بطوریکه بعضی از آنها به نور حساس‌اند و این حقیقت دانشمندان را بر آن داشته که به تحقیق بر روی ارتباط حساسیت زئوپلانکتونها به نور و ویژگی‌های آن پردازند (۲۰). از سوی دیگر، جلبک‌های میکروسکوپی (Microalgae) غذای اصلی زئوپلانکتونها هستند. کیفیت غذایی این جلبک‌ها به وسیله اندازه سلول، قابلیت هضم دیواره سلولی، سمیت و ترکیبات تشکیل‌دهنده جلبک

غذاهای زنده به دلیل داشتن پارامترهای ضروری برای افزایش رشد، بقاء بیشتر و افزایش سطح ایمنی موجودات دارای اهمیت هستند (۹ و ۱۱). مطالعات بسیاری در ارتباط با اثر دما، شوری، تغذیه و غیره بر زئوپلانکتونها در ارتباط با جنبه‌های مختلف زیست‌شناسی آنها صورت گرفته و نتایج مختلف و قابل توجهی به دست آمده است. یکی از مهم‌ترین این عوامل اثر نور و جیره غذایی جلبکی و یا ترکیبی از این عوامل است (۱ و ۲). نور به عنوان یکی از

محدوده‌ای از آسیا، اروپا و آمریکای جنوبی پراکنش دارند (۶). گونه‌های این جنس نقش بسیار مهمی در تغذیه لاروآبزیان و افزایش میزان بقاء و رشد آن‌ها دارد. برای مثال گونه *Ceriodaphnia quadrangula* از جمله گونه‌هایی است که معمولاً در آبگیرها و استخرهای پرورش ماهی به طور همزیست با سایر اعضای زئوپلانکتونهای آب شیرین وجود دارد. خصوصیات از جمله تحمل شرایط دمایی و نوری و پرورش با انواع غذاهای جلبکی و غیرجلبکی و همچنین اندازه مناسب این گونه را به عنوان یکی از مهم‌ترین غذاهای زنده در آبی پروری مطرح کرده است (۳ و ۱۸). در این خصوص مطالعات در مورد تأثیرات متقابل عوامل محیطی و تغذیه‌ای به طور توأم در شرایط آزمایشگاهی بر رشد و تولید زئوپلانکتونها و به خصوص آنتن منشعب‌ها کمتر انجام شده است و حجم بسیاری از منابع به مطالعات عوامل به صورت انفرادی اختصاص یافته است. این تحقیق با هدف تعیین میزان رشد و تولید در آنتن منشعب آب شیرین *C. quadrangula* تحت رژیم‌های مختلف نوری غیرطبیعی (۲۷ و ۲۸) در ترکیب با غذاهای جلبکی به منظور افزایش تولید و بهره‌وری از این غذای زنده انجام شد. به عبارت دیگر در این پژوهش این فرضیه را که تغییر در تعداد پالس‌های نوری در هر ۲۴ ساعت موجب کوتاه‌تر شدن فواصل تولیدمثل می‌شود با تأکید بر تراکم جمعیت *C. quadrangula* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

روش آزمایشگاهی کشت جلبک‌ها: جلبک‌های سبز *Scenedesmus quadricauda* و *C. vulgaris* در ارلن‌های ۲ لیتری با استفاده از محیط کشت BBM (Bold's Basal Medium) بر طبق ترکیبات بیان شده توسط Nichols و Bold در سال ۱۹۶۵ کشت یافتند (۲۵) (تصویر ۱- الف). شرایط پرورش این گونه‌های جلبکی شامل آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، دمای $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ، دوره نوری ۱۲:۱۲

تعیین می‌گردد (۱۳). کشت‌های آزمایشگاهی گونه‌های زئوپلانکتونی، به‌ویژه کلادوسرها و روتیفرها، عموماً توسط جلبک‌های سبز *Chlorophyceae* نظیر گونه‌های *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus acutus* انجام شده است (۲۹). از نقطه نظر کیفیت، اگر چه گونه‌های جنس *Chlorella* و *Scenedesmus* دارای سطوح نسبتاً مشابهی از اسیدهای چرب اشباع نشده، به خصوص ω۳ و ω۶ هستند، اما به‌طور کلی گونه‌های جنس *Scenedesmus* از لحاظ چربی‌ها، پروتئین‌ها، نیتروژن، و سطوح فسفر غنی‌تر است (۴).

آنتن منشعب‌ها به لحاظ قابلیت دسترسی در اکوسیستم‌های آبی، وجود اندازه‌های متفاوت، سرعت تکثیر و تولید بالا، ارزش غذایی بسیار بالا، محتوی بالای آنزیم‌های گوارشی و انرژی بالا، قابلیت پرورش ارزان، تحمل بالای آنتن منشعب‌ها به تغییرات محیطی از قبیل دما و فتوپریود باعث شده تا آن‌ها به عنوان یکی از زئوپلانکتون‌های پرطرفدار برای مطالعات بیولوژیکی و آبی پروری مورد استفاده قرار گیرد (۳، ۱۸ و ۴۰). پارامترهای محیطی شامل دما، تغذیه، شوری، دوره‌های نوری، طیف نور از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر عادات و رفتارهای موجودات آبی از جمله زئوپلانکتون‌ها می‌باشند. هرگونه تغییر در یکی از این عوامل سبب تغییرات بسیار چشمگیر در این موجودات می‌گردد. از میان این عوامل نور و غذا از فاکتورهایی هستند که می‌توانند بر بیولوژی و فیزیولوژی زئوپلانکتون‌ها به طور انفرادی و بر اکولوژی آن‌ها در جمعیت‌ها مؤثر باشند. با توجه به اینکه مطالعه خصوصیات فردی و جمعیتی بسیاری از موجودات در طبیعت تابع تأثیرات متقابل بسیاری از پارامترهای محیطی و زیستی است، از این رو مطالعه در شرایط آزمایشگاهی و کنترل شده به عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌ها در بررسی موجودات از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. جنس *Ceriodaphnia* از آنتن منشعب‌هایی خانواده *Daphnidae* است که پراکنش جهانی دارد و تقریباً همه گونه‌های این جنس در

غذادهی شد و اجازه داده شد تا ۵۰ مرتبه در جمعیت تجدید نسل انجام‌شد. برای اطمینان از شناسایی این گونه نمونه‌برداری از ماده‌های پارتنوژنتیک خالص سازی شده توسط کلید شناسایی Fernando در سال ۲۰۰۲ صورت گرفت (۱۲). بر این اساس این گونه با نداشتن رستروم، خار دمی و همچنین داشتن یک سینوس (تورفتگی) گردنی از سایر آنتن منشعب‌ها متمایز می‌شود.

تیمارها و روش انجام آزمایش: در این تحقیق تیمارهای از ترکیب ۴ رژیم نوری شامل 4L:4D (۴ ساعت نور: ۴ ساعت تاریکی)، 6L:6D، 8L:8D و 12L:12D و ۲ جیره جلبک سبز *S. quadricauda* و *C. Vulgaris* به منظور پرورش آنتن‌منشعب آب شیرین *C. quadrangula* به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور آماده سازی دوره‌های نوری مناسب در تیمارها، چهار اتاقک مناسبی به ابعاد مساوی و شرایط کاملاً یکسان ساخته شد و با لامپ فلورسنت با نور مهتابی تجهیز گردید تا در تمام اتاقک‌ها شدت نور مناسب ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع برثانیه ثابت تنظیم شود (تصویر ۱- ب). سقف، دیوارها با پلاستیک مشکی پوشانده شد تا از ورود نور به فضای داخل اتاقک‌ها جلوگیری گردد. به منظور تغییرات تنظیم شده زمانی در هریک از تیمارها (مثلاً ۴ ساعت نور و سپس ۴ ساعت تاریکی در تیمار 4L:4D) از ۴ عدد ساعت فرمان (تنظیم شده با ساعت فرمان Fur Aussen-geeignet مدل IP44، ساخت آلمان) هر کدام به طور اختصاصی برای یک تیمار در تمام دوره آزمایش استفاده شد. پس از تنظیم شرایط مطلوب اتاقک‌ها در هریک از تیمارهای آزمایشی، تعداد ۲۰۰ فرد از آنتن منشعب *C. quadrangula* در هر لیتر از ظروف آزمایشگاهی (قطر = ۱۸ سانتی متر، ارتفاع = ۳۰ سانتی متر) هر کدام با ۶ تکرار به طور تصادفی از استوک آماده شده *C. quadrangula* مورد جداسازی قرار گرفت. سپس، ظروف آماده شده به طور تصادفی بین اتاقک‌های متفاوت

ساعت تاریکی:روشنایی، شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، pH آغازین ۶/۹ و اکسیژن محلول بالای ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. جلبک‌ها در فاز رشد سریع از طریق ساترئیفیوژ کردن مورد برداشت قرار گرفت. برای برداشت جلبک‌ها، از دستگاه ساترئیفیوژ (مدل Centurion Scientific Ltd) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه جهت متراکم کردن جلبک‌ها استفاده گردید. جلبک‌ها بعد از ساترئیفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا جهت تغذیه *C. quadrangula* مورد استفاده قرار گیرند. تراکم کشت‌های جلبکی و مقادیر جلبک جهت تغذیه *C. quadrangula* و کنترل میزان آن‌ها در دوره آزمایش، با استفاده از لام هموسایتومتر (۰/۲mm × ۰/۰۶۲۵mm) و میکروسکوپ اینورت (مدل Ceti Belgium) بر اساس روش (Martinez & Chakroff 1975) (۲۲) بعد از اینکه به نمونه‌ها محلول لوگول آبودین (۰/۱ میلی‌لیتر در ۳ میلی‌لیتر نمونه) اضافه گردید، تعیین شد.

روش تهیه استوک اولیه *C. quadrangula*: به منظور تهیه استوک اولیه آنتن منشعب *C. quadrangula* تخم‌های نهان-زی (Ephippium) این گونه که دارای رنگ گاهی تا متمایل به زرد کم رنگ بود بر اساس کلید شناسایی (۳۶ و ۳۸) و دارای ابعاد ۰/۳۵ - ۰/۲۷ میلی‌متر، مدور و دارای یک تخم بود در فصل زمستان از سطح دریاچه سد حنا واقع در ۲۰ کیلومتری شهرستان سمیرم، استان اصفهان در سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان انتقال داده شد. در ابتدا تخم‌های نهان‌زی-های *C. quadrangula* در آزمایشگاه پس از فراهم نمودن شرایط مناسب تفریح گردید (۵۰۰ میلی‌گرم سیست در ۱ لیتر آب فیلتر و اتوکلاو شده)، سپس این گونه از سایر نمونه‌ها جداسازی و خالص سازی شد. پس از آن در ظروف ۱۰ لیتری در دمای 22 ± 2 °C همراه با هوادهی ملایم ذخیره‌سازی گردید (۱۴، ۲۱، ۲۳، ۳۲ و ۳۹). *C. quadrangula* با استفاده از مخلوطی از جیره دو نوع جلبک *S. quadricauda* و *C. vulgaris* به صورت روزانه

دیجیتال (Schottgerate مدل ۶۶۶۲۲۱، ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد.

در دوره آزمایش و پرورش شمارش *C. quadrangula* با نمونه‌برداری از واحدهای آزمایشی در شرایط حداقل نور هر دو روز یکبار انجام شد و سپس با استفاده از لام باگاروف (Bogorov's chamber) تراکم جمعیت تخمین زده شد. میزان رشد ویژه جمعیت (*SGR*) براساس (1984) Omori & Ikeda با استفاده از فرمول $SGR = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{T}$ زیر محاسبه شد (۲ و ۲۶). در این رابطه *SGR* میزان رشد ویژه جمعیت برحسب در روز، *N_t* و *N₀* به ترتیب تراکم جمعیت در آغاز و پایان دوره پرورش می‌باشد. همچنین زمان دو برابر شدن جمعیت (*Dt*) از فرمول (James & Al-Khars 1986) $Dt = \frac{1}{SGR} (\log_2 2)$ محاسبه گردید (۲، ۱۳ و ۱۵). در این فرمول *Dt* زمان دو برابر شدن جمعیت و *SGR* میزان رشد ویژه می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها و آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل‌های آماری، داده‌ها با آنالیز واریانس دو طرفه بررسی گردید. تفاوت بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن با هم مقایسه گردید (Zar, 1984) (۴۱). تمام آنالیزها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS, version 16 (۳۵) انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز واریانس دو طرفه اثر رژیم‌های مختلف نوری و جیره‌های جلبکی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف از رژیم‌های نوری و جیره‌های جلبکی بر تراکم جمعیت، میزان رشد ویژه و زمان دو برابر شدن جمعیت *C. quadrangula* تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0/05$). میانگین بالاترین تراکم آنتن منشعب *C. quadrangula* تغذیه شده با جلبک *S. quadricauda* در رژیم‌های نوری 4L: 4D (۴ ساعت

به لحاظ رژیم‌های نوری به طور همزمان توزیع شد (تصویر ۱-ج، د). آب مورد استفاده جهت نگهداری و انجام آزمایشات از آب شهر پس از فیلتر کردن و اتوکلاوه نمودن (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) تامین شد. آب مورد استفاده دارای سختی کل ۱۳۵ میلی-گرم در لیتر از کربنات کلسیم و عاری از هرآلودگی شیمیایی و غیره بود. به منظور اطمینان از عدم وجود کلر در آب از هوادهی به مدت لااقل ۵ ساعت استفاده گردید و از محلول یدید پتاسیم و چسب نشاسته برای اطمینان بیشتر از آب مورد استفاده قبل اتوکلاوه نمودن استفاده گردید. پس از قرار گرفتن ظروف آزمایشی در شرایط نوری تیمار شده، کار تغذیه به وسیله جلبک‌های متراکم شده و آماده شده از قبل با لحاظ نمودن تصادفی بودن در هر اتاقک با استفاده از جلبک‌های *S. quadricauda* و *C. Vulgaris* به ترتیب با غلظت‌های 45×10^4 سلول در هر میلی‌لیتر و $1/6 \times 10^6$ سلول در هر میلی‌لیتر در آغاز آزمایش انجام شد (۲۳، ۳۲ و ۳۹). مقدار تعویض آب ۲۰ درصد قبل از غذادهی بود که هر ۳ روز یکبار انجام می‌شد. تراکم جمعیت *C. quadrangula* در هر واحد آزمایشی هر دو روز یکبار تعیین گردید و میزان غذادهی بر اساس تراکم جمعیت *C. quadrangula* و همچنین غلظت جلبک‌ها در ظروف آزمایش مورد کنترل قرار گرفت تا اطمینان حاصل شود که میزان غذا دهی در محدود مازاد نیاز (*ad libitum*) جمعیت باشد آزمایش برای یک دوره ۳۰ روزه تنظیم گردید و تلاش گردید تا شرایط آزمایش در طی دوره آزمایش شامل شامل دمای آب 22 ± 2 °C درجه سانتی-گراد، شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، pH آغازین ۷/۱ و اکسیژن محلول بیش از ۵ میلی‌گرم در لیتر تا سر حد امکان ثابت نگه داشته شود. در تمام طول آزمایش از هواده جهت چرخش آب و تامین اکسیژن مورد نیاز استفاده گردید. اکسیژن محلول و دما با استفاده از اکسیژن-متر دارای دماسنج (YSI 57) و pH با استفاده از pH متر

رژیم‌های نوری یاد شده تغذیه شده توسط جلبک سبز *S. quadrangula* به ترتیب $0/3 \pm 9/5$ ، $1/5 \pm 16/7$ ، $1/1$ و $12/9 \pm 10/4$ و $10/4 \pm 0/4$ در *C. quadrangula* تغذیه شده با *C. vulgaris* برابر $0/1 \pm 7/9$ ، $0/1 \pm 6/9$ ، $0/4 \pm 9/5$ و $0/1 \pm 6/5$ به دست آمد (شکل ۱-C)، که بیانگر کوتاه بودن این دوره با جلبک *C. vulgaris* است. میانگین تراکم جمعیت در روزهای مختلف از پرورش *C. quadrangula* در شکل ۲-A و ۲-B برای تیمارهای مختلف آزمایشی ارائه شده است. دینامیک جمعیت در تمامی تیمارها روند مشابهی در دو هفته نخست (حدود ۱۴ روز) نشان دادند در حالیکه پس از آن (به طور متوسط بین روزهای ۱۶ تا ۲۴) جمعیت یک جهش ناگهانی داشت و اوج افزایش تراکم رخ داد.

نور: ۴ ساعت تاریکی)، 6L:6D، 8L:8D و 12L:12D به ترتیب $50/9 \pm 1000$ (میانگین \pm خطای استاندارد)، $57/3 \pm 571/4$ ، $62/3 \pm 690/5$ و 58 ± 1000 فرد در لیتر در حالیکه این رژیم‌ها با جلبک *C. vulgaris* به ترتیب برابر $10/23/8 \pm 75/0$ ، $2261/9 \pm 72/2$ ، $1642/9 \pm 46/0$ و $80/3 \pm 2619/1$ فرد در لیتر در دوره آزمایش به دست آمد (شکل ۱-A). میانگین میزان رشد ویژه محاسبه شده در رژیم‌های نوری 4L: 4D (۴ ساعت نور: ۴ ساعت تاریکی)، 6L:6D، 8L:8D و 12L:12D به ترتیب با جلبک *S. quadrangula* برابر $0/00 \pm 0/04$ ، $0/07 \pm 0/00$ ، $0/06 \pm 0/00$ و $0/07 \pm 0/00$ در روز بود در حالی که در تغذیه با *C. vulgaris* به ترتیب برابر با $0/09 \pm 0/00$ ، $0/10 \pm 0/00$ ، $0/07 \pm 0/00$ و $0/11 \pm 0/00$ در روز به دست آمد (شکل ۱-B). همچنین زمان دو برابر شدن جمعیت در

جدول ۱- آنالیز واریانس دوطرفه رژیم‌های نوری (8L:8D، 6L:6D، 4L:4D و 12L:12D) و جیره‌های جلبکی (*S. quadrangula* و

C. vulgaris) بر فاکتورهای مختلف در جمعیت آنتن‌منشعب آب شیرین *C. quadrangula*

فاکتور	منابع تنوع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	میزان F	سطح معنی‌دار
تیمار	۷	$2/35 \times 10^7$	$3360301/3$	$164/9$	*	
رژیم‌نوری	۳	$5511904/8$	$1837301/6$	$90/2$	*	
تراکم جمعیت	۱	$1/37 \times 10^7$	$1/37 \times 10^7$	$676/0$	*	
رژیم‌نوری × جیره جلبکی	۳	$4234693/9$	$1411564/6$	$69/3$	*	
خطا	۴۰	$815068/0$	$20376/7$			
کل	۴۷	$2/43 \times 10^7$				
تیمار	۷	$0/02$	$0/00$	$74/80$	*	
رژیم‌نوری	۳	$0/00$	$0/00$	$29/67$	*	
میزان رشد	۱	$0/01$	$0/01$	$338/09$	*	
ویژه	۳	$0/00$	$0/00$	$32/18$	*	
خطا	۴۰	$0/00$	$3/83 \times 10^{-5}$			
کل	۴۷	$0/02$				
تیمار	۷	$485/1$	$69/3$	$27/4$	*	
رژیم‌نوری	۳	$103/4$	$34/5$	$13/6$	*	
زمان	۱	$266/5$	$266/5$	$105/2$	*	
دوبرابرشدن	۳	$115/3$	$38/4$	$15/2$	*	
خطا	۴۰	$101/3$	$2/5$			
کل	۴۷	$586/4$				

* در سطح $0/05$ دارای اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) و ns فاقد اختلاف معنی‌دار ($P > 0/05$)

الف



ب



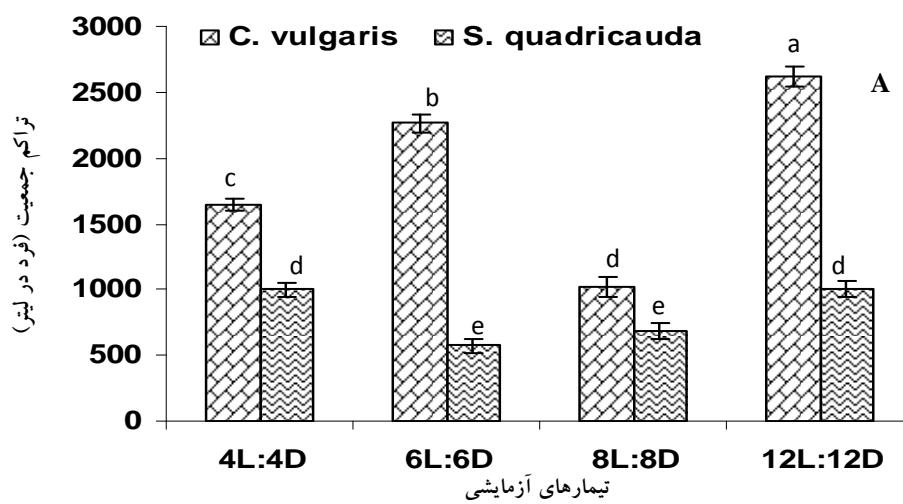
ج

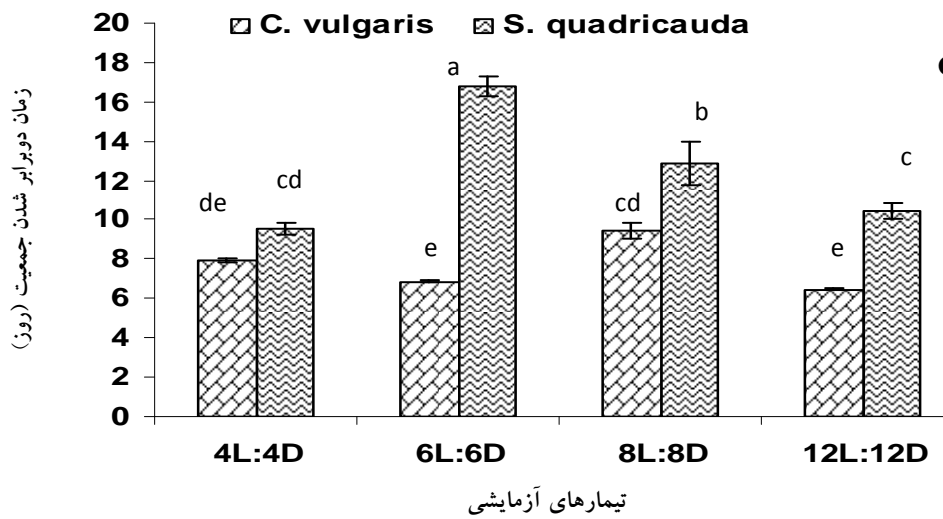
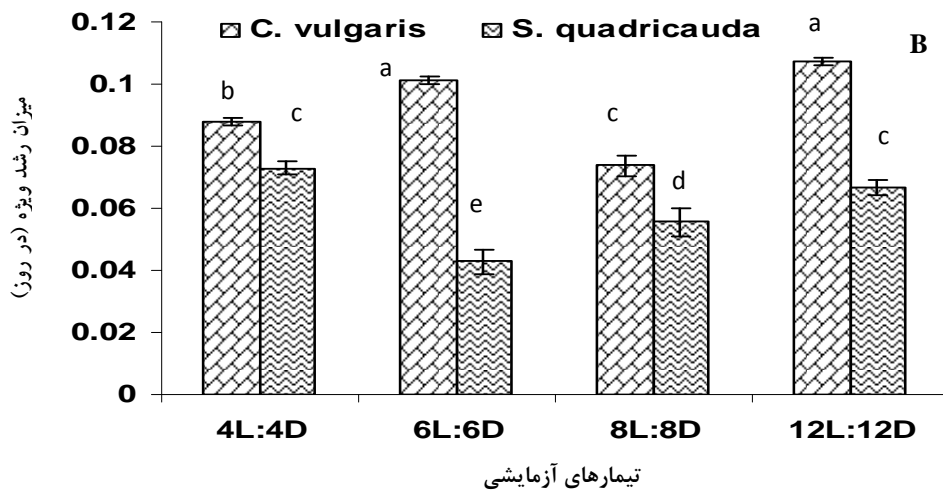


د

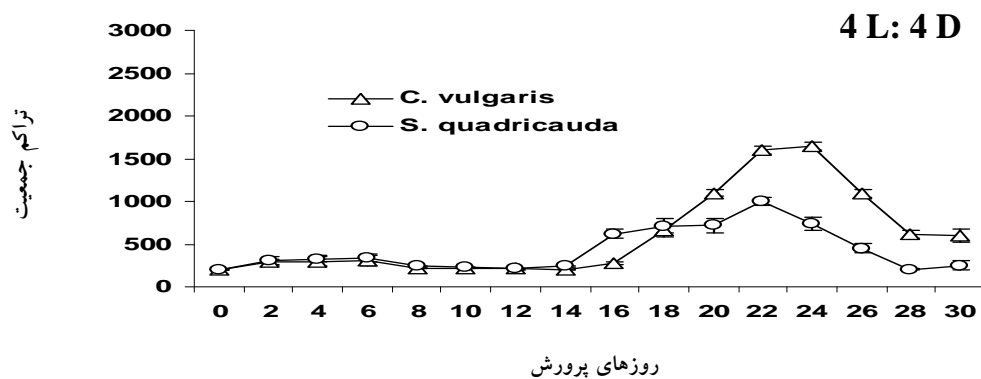


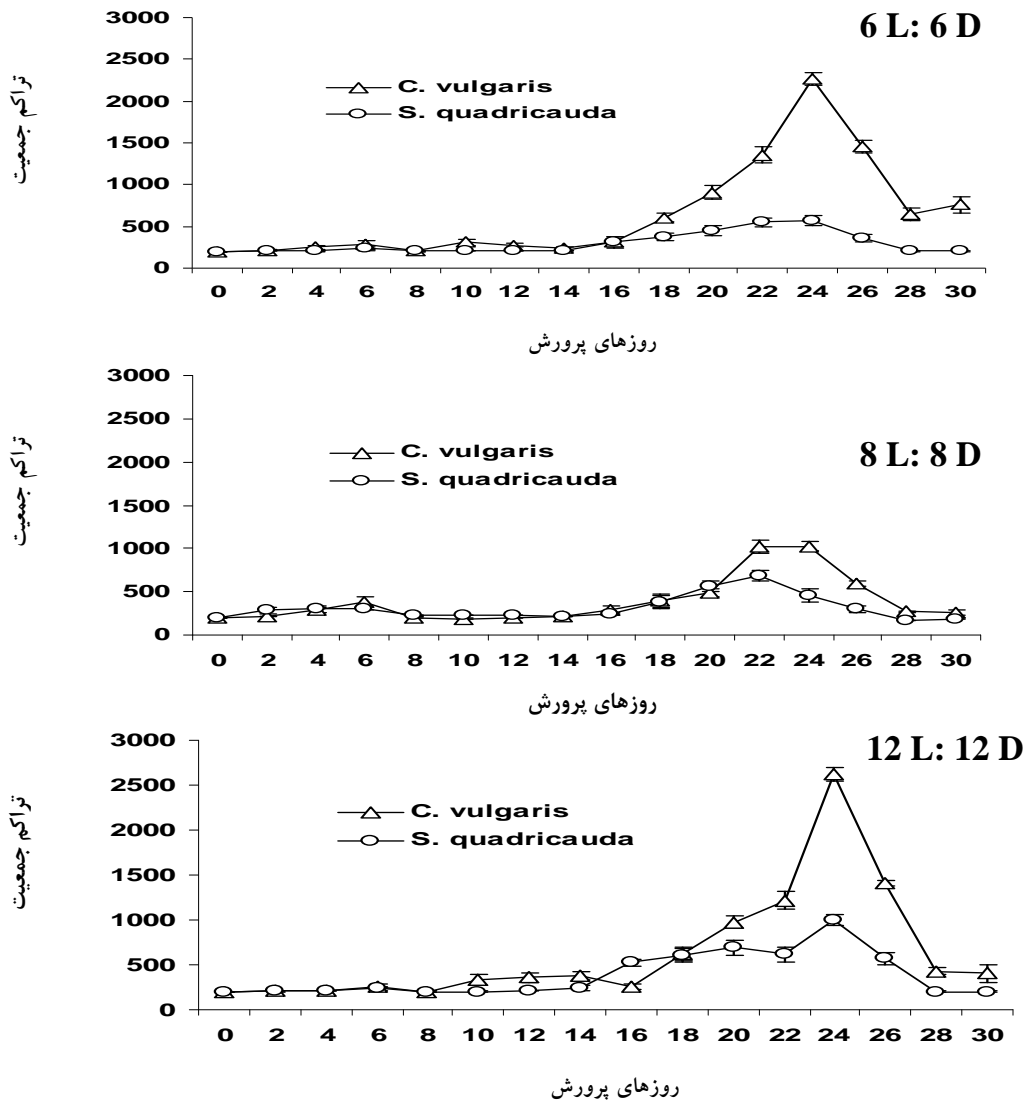
تصویر ۱- تصویر بخش هایی از مراحل انجام کار، کشت های جلبکی (الف)، اتافک مناسب نوری (ب)، کشت های انجام شده در این تحقیق (ج، د)





شکل ۱- میانگین (\pm خطای استاندارد) تراکم جمعیت (A)، میزان رشد ویژه (B)، و زمان دوبرابر شدن جمعیت (C) در آنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia quadrangula* پرورش یافته از ترکیب رژیم‌های نوری مختلف و رژیم‌های تغذیه جلبکی. ستونهای دارای لااقل یک حرف مشابه اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ با هم ندارند.





شکل ۲- میانگین (\pm خطای استاندارد) تراکم جمعیت (فرد در لیتر) در روزهای مختلف پرورش آنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia quadrangula* در رژیم‌های مختلف نوری و رژیم‌های مختلف تغذیه جلبیکی.

($P < 0.05$). نتایج مطالعات قبلی نیز مبین آن است که وجود یا عدم وجود نور بر پویایی جمعیت، تولیدمثل و تکامل در آنتن منشعب‌ها تاثیر دارد و باروری کشت‌های زئوپلانکتونی اساساً به وسیله محدوده‌ای از فاکتورها، شامل جیره غذایی، تراکم آغازین کشت و شرایط محیطی مثل دوره نوری، دما و شوری کنترل می‌شود (۱، ۲، ۵، ۱۰، ۱۶، ۱۷، ۱۹، ۳۱ و ۳۶).

بحث و نتیجه‌گیری

نور و غذا دو فاکتور مهم و کلیدی تاثیرگذار در روند فعالیت‌های زیستی و تولید مثلی در زئوپلانکتونها هستند (۲۱). در این مطالعه تاثیر ترکیبی دوره‌های مختلف نوری و جیره‌های جلبیکی در آنتن منشعب آب شیرین *C. quadrangula* بررسی شد و یافته‌های ما نشان داد که بین تیمارهای آزمایش شده از نظر تولیدمثل و افزایش تولید و میزان رشد جمعیت تفاوت معنی‌داری وجود دارد

در این پاروپایان کنترل نمود و در مدیریت تفریحگاه از آن بهره‌مند شد (۹). همچنین این امکان وجود دارد که تفاوت‌های ایجاد شده نتیجه کوتاه شدن طول عمر در بالغین در تیمارهای 4L:4D و 8L:8D باشد. در نتیجه تعداد بالغینی که در زمان تولیدمثل حضور دارند کم‌تر است و تعداد افراد تولیدی و متعاقب آن تراکم جمعیت کاهش می‌یابد. آن‌ها همچنین تاکید نمودند که طول زندگی کوتاه‌تر در بالغین پرورش یافته در معرض نور دائم و بدون وقفه نسبت به سایر رژیم‌های نوری می‌تواند از دیگر دلایل احتمالی در کاهش تعداد جمعیت باشد (۹). عامل مهم و تاثیرگذار دیگر در این تحقیق نوع جیره غذایی بکار رفته است که در تیمارهای مورد آزمایش به هم تفاوت دارد. کیفیت و کمیت جلبک‌ها بر میزان رشد و تولید مثل در زئوپلانکتونها تاثیرگذار است که می‌تواند دینامیک جمعیت و میزان رشد ویژه را تغییر دهد. در این مطالعه عملکرد جلبک‌های *S. quadricauda* و *C. vulgaris* در رژیم‌های نوری مختلف بر تولید جمعیت و رشد آن در *C. quadrangula* مناسب بود اما عملکرد مناسب‌تر با جلبک سبز *C. vulgaris* بدست آمد.

جلبک‌های میکروسکوپی که در شرایط کنترل شده مورد استفاده قرار می‌گیرند، چنانچه در زمان مناسب از فاز رشد برداشت شود و در زمان کوتاه و حداقل پس از مترام نمودن (برای مثال کمتر از ۴ روز) توسط زئوپلانکتونها مصرف شوند می‌تواند جمعیت را مورد حمایت قرار داده و باعث تشکیل جمعیت شود. در این تحقیق چنین مواردی تا سرحد امکان رعایت شد و جمعیت مورد نظر با هر دو گونه جلبک مورد استفاده کارائی مناسب را نشان داد. البته گونه آنتن منشعب *C. quadrangula* توانایی مناسبی در فیلتر نمودن جلبک‌های میکروسکوپی به خصوص جلبک‌های سبز دارد. با توجه به این که پرورش آنتن منشعب در رژیم‌های نوری مختلف و ترکیبی از جلبک‌ها مورد استفاده قرار گرفت، این واقعیت استنباط می‌شود که میزان و شدت فیلتراسیون جلبک‌ها دچار تغییرات قابل

نتایج این پژوهش نشان داد که پرورش *C. quadrangula* در تمامی تیمارهای مورد آزمایش به خوبی امکان پذیر است و این گونه به تغییرات دوره نوری در رژیم‌های غذایی سازگاری بالایی دارد. میانگین بالاترین تراکم، بالاترین میزان رشد ویژه و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت *C. quadrangula* به ترتیب برابر $80/3 \pm 2619/0$ فرد در لیتر، $0/100 \pm 0/100$ فرد در روز و $6/5 \pm 0/1$ در رژیم نوری 12L:12D با جلبک *C. vulgaris* بدست آمد. تراکم جمعیت تا روز ۱۴ آزمایش نسبتاً یکنواخت بود. یکی از دلایل را می‌توان به سازش جمعیت این گونه به شرایط محیطی و نوری و همچنین غذاهای جلبکی نسبت داد. از طرف دیگر، در این مدت جمعیت دارای رشد نسبی بوده و برای رسیدن به اوج تراکم جمعیت آماده می‌شود. جهش ایجاد شده در بین جمعیت تیمارها در این تحقیق از روز ۱۶ تا ۲۴ آزمایش را می‌توان به اوج تولیدمثل جمعیتی در کشت‌ها نسبت داد که معمولاً پس از این مدت کمبود فضا، افزایش مواد دفعی و رقابت از میزان تراکم جمعیت می‌کاهد. تفاوت‌ها در تراکم‌های جمعیت *C. quadrangula* به دست آمده در این تحقیق، یا به عبارتی کاهش تراکم جمعیت در تیمارهای 8L:8D و 4L:4D تغذیه شده به وسیله جلبک *C. vulgaris*، را می‌توان در تاثیرات دوره‌های نوری و جلبک‌های مورد استفاده جستجو نمود. کاهش بقاء نوزادان حاصل شده در مراحل اولیه تکامل و لاروی، و یا به عبارت دیگر ضعیف و کم تحرک بودن اکثر زاده‌های تولید شده شامل نوزادان (Neonate brood) سبب تاخیر زیاد در مراحل رشد می‌شود که این مسئله خود موجب مرگ‌ومیر تدریجی شده و موجبات کاهش افراد بالغ در جمعیت فراهم می‌شود. در تحقیقی Camus و Zeng در سال ۲۰۰۸ (۹) بیان کردند تکامل *Acartia sinjiensis* را وابسته به دوره نوری دانسته و بیان کردند که تکامل تحت دوره‌های نوری با دوره‌های نوردهی طولانی‌تر، کوتاه‌تر است. آن‌ها پیشنهاد دادند که با تغییرات در رژیم دوره نوری می‌توان تکامل ناپلیایی (Naupliar development) را

C. vulgaris به ترتیب ۲۰، ۱۶ و ۸/۵۲ روز بود و نتیجه-گیری کردند که نوع جیره جلبکی می‌تواند بر طول عمر افراد بالغ شده تاثیر داشته باشد (۲۱ و ۲۴). بنابراین می‌توان گفت که ترکیب رژیم‌های نوری و جیره‌های جلبکی بر میزان هم‌آوری مولدین پارتنوژنز بالغ شده در تیمارها تاثیر می‌گذارد. پرآوری یا کم‌آوری مولدین عکس-العملی است که به شرایط نوری و تغذیه‌ای نشان می‌دهند. کم‌آوری در نتیجه هریک از رژیم‌های نوری فوق می‌تواند سبب کاهش در اندازه جمعیت گردد. یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار می‌تواند به ظروف و مقیاس کشت (culture scale) حاوی *C. quadrangula* مرتبط باشد. تیمارهای نوری استفاده شده همواره تاثیراتی متقابل بر روی جلبک‌هایی مورد استفاده در محیط کشت دارند این اثرات می‌تواند شامل تغییر شکل، ایجاد کلنی، تشکیل خار و زوائد، میزان شناوری و یا غوطه‌وری و میزان تحرک جلبک‌ها در رژیم‌های نوری همچنین تغییرات بیوشیمیایی نظیر تغییر در پروفیل اسیدچرب، پروتئین‌ها، کربوهیدرات-ها در جلبک‌ها شود (۳۰، ۳۴، ۳۷ و ۴۲)، که هر کدام از این عوامل می‌تواند در رشد و تولیدمثل در جمعیت آنتن منشعب *C. quadrangula* بخشی از تفاوت‌های موجود را توجیه نماید. به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری نمود که آنتن منشعب *C. quadrangula* خصوصیات و توانایی‌های مهمی در پاسخ به رژیم‌های ترکیبی نوری و جلبکی دارد که می‌تواند آن را به عنوان یک گونه پرورشی در صنعت غذای زنده برای لارو ماهیان و میگوها و همچنین به عنوان یک گونه مناسب در آزمایشات تاثیرات آلاینده‌ها و آزمایشات توکسیکولوژی مطرح نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه صنعتی اصفهان و دانشکده منابع طبیعی به لحاظ فراهم نمودن اعتبار پژوهشی و تسهیلات لازم تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

ملاحظه‌ای شده است. برای مثال میزان فیلتراسیون تابع اندازه جلبک است و به نظر می‌رسد که بهبود جمعیت با جلبک ریزتر *C. vulgaris* به لحاظ سهولت فیلتراسیون و افزایش کارایی آن باشد (۷). در مطالعه‌ای که توسط Pena-Aguado و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد آن‌ها نشان دادند که آنتن منشعب *Moina macrocopa* و روتیفر *Brachionus rubens* در پرورش با جلبک سبز *Chlorella* کارایی مناسب‌تری در مقایسه با جلبک *Scenedesmus* داشت. آن‌ها همچنین گزارش دادند که روتیفر *Brachionus calyciflorus* و آنتن منشعب *Ceriodaphnia dubia* تفاوت معنی‌داری در میزان رشد ندارند به شرطی که زیست توده جلبکی مورد استفاده برای هردو زئوپلانکتون یکسان در نظر گرفته شود (۲۹). از سوی دیگر، کیفیت جلبک‌ها بسیار مهم است و می‌تواند بر رشد و عملکرد بعضی از آنتن منشعب‌ها تاثیر داشته باشد. برای مثال در مطالعه‌ای که توسط Sarma و Nandini در سال ۲۰۰۰ انجام شد آن‌ها بیان نمودند که آنتن منشعب آب شیرین، *Daphnia laevis* تغذیه شده با *C. vulgaris*، زمان تولیدمثل کوتاه‌تر و میزان رشد ویژه بالاتری را نسبت به پرورش با جلبک سبز-آبی *Microcystis aeruginosa* دارند (۲۴). به طور نسبتاً مشابهی مشخص گردید که آنتن منشعب کوچک جثه *Moina macrocopa* در پرورش با *S. quadricauda* نیاز به زمان بیشتر (۳-۴ روز زیادتر) برای بلوغ در مقایسه با استفاده از جلبک ریزتر *C. vulgaris* دارد. البته از نظر میزان تولیدمثل و تعداد زاده‌ها در هر دوره، *Moina macrocopa* تغذیه شده با *S. quadricauda* نسبت به هنگامی که با کلرلا تغذیه شد، در حدود ۱۰-۱۱ فرد به ازاء هر ماده بیشتر بود (۱۴). علاوه بر موارد گفته شده Martinez-Jeronimo و Gutierrez-Valdivia در سال ۱۹۹۱ و Sarma و Nandini در سال ۲۰۰۰ نیز گزارش کردند که طول عمر آنتن منشعب *Moina macrocopa* در تغذیه با *Scenedesmus* و *Ankistrodesmus convolutes* *incrassatulus*

منابع

۱. احمدی فرد، ن.، عابدیان کناری، ع.، و فلاحتی کپور چالی، م.، ۱۳۸۷. اثر مقدار و نوع غذای جلبکی بر اندازه بدن و تخم جمعیت روتیفر آب شیرین *Brachionus clayciflorus* تالاب انزلی. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۱، شماره ۳، صفحات ۳۸۲-۳۹۲.
۲. فرهادیان، ا.، ۱۳۹۰. رشد و تولید در سیکلوپوئید پاروپای *Microcyclops varicans* مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۴، شماره ۴، ص ۵۴۹-۵۵۷.
3. Adeyemo, A. A., Oladosu, G. A., and Ayinla, A. O., 1994. Growth and survival of fry of African catfish species, *Clarias gariepinus*, Burchell, *Hetrobranchus bidorsalis* geoffey and *Heteroclarias* reared on *Moina dubia* in comparison with other first feed sources. *Aquaculture*, 119: 41- 45.
4. Ahlgren, G., Inga-Britt, G., and Boberg, M., 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *Journal of Phycology*, 28, 37-50.
5. Ambler, J. A., 1986. Effect of food quantity and quality on egg production of *Acartia tonsa* Dana from East Lagoon, Galveston, Texas. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 23: 183- 196.
6. Balcer, M. D., Korda, N. L., and Dodson, S. I., 1984. Zooplankton of the great lakes: A guide to the identification and ecology of the common crustacean species. University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, PP: 58- 60.
7. Brett, M. T., and Muller-Navarra, D. C., 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in food web processes. *Freshwater Biology*. 38: 483-499.
8. Buikema, A. L., 1973. Some effect of light on the growth, molting, reproduction and survival of the cladoceran, *Daphnia pulex*. *Hydrobiologia*, 41: 391- 418.
9. Camus, T., and Zeng, C., 2008. Effects of photoperiod on egg production and hatching success, naupliar and copepodite development, adult sex and life expectancy of the tropical calanoid copepod *Acartia sinjiensis*. *Aquaculture*, 280: 220-226.
10. Castro-Longoria, E., 2003. Egg production and hatching success of four *Acartia* species under different temperature and salinity regimes. *Journal of Crustacean Biology*. 23: 89- 299.
11. Farhadian, O., Yusoff, F. M., Mohamed, S., and Saad, C. R., 2009. Use of cyclopoid copepod *Apocyclops dengizicus* as live feed for *Penaeus monodon* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society*. 40: 22-32.
12. Fernando, C. H., 2002. A Guid to tropical freshwater zooplankton. Backhuys Publisheres, Leiden, The Netherlands.
13. Gulati, R. D., and DeMott, W., 1997. The role of food quality for zooplankton: remarks on the state of the art, perspectives and priorities. *Freshwater Biology*. 38: 731-738.
14. Ismail, H. N., Qin, J. G., and Seuront, L., 2011. Dietary responses of the brackish cladoceran *Daphniopsis australis* fed on different algal species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 409: 275- 282.
15. James, C. M., and Al-Khars, A. M., 1986. Studies on the production of planktonic copepods for Aquaculture. *Syllogus*, 58: 333-340.
16. Klepper, G. S., Burkart, C. A., and Houchin, L., 1998. Nutrition and the regulation of egg production in the calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Limnology and Oceanography*. 43: 1000-1007.
17. Koski, M., and Kuosa, H., 1999. The effect of temperature, food concentration and female size on the egg production of the planktonic copepod *Acartia bifilosa*. *Journal of Plankton Research*. 21: 1779- 1789.
18. Kumar, S., 2002. Role of water quality and food on survival, growth and digestive enzyme profile of carp larvae cultured in recirculating systems. Ph.D. Thesis, University of Delhi, Delhi, India.
19. Leandro, S. M., Tiselius, p., and Queiroga, H., 2006. Growth and development of nauplii and copepodites of the estuarine copepod *Acartia tonsa* from southern Europe (Ria de Aveiro, Portugal) under saturating food conditions. *Marine Biology*. 150: 121- 129.
20. Lumer, H., 1931. The reactions of certain cladocera to colored lights of equal intensity. Oxford University Press. 8: 396.
21. Martinez-Jeronimo, F., and Gutierrez-Valdivia, A., 1991. Fecundity, reproduction and growth of *Moina macrocopa* fed different algae. *Hydrobiologia*. 222: 49- 55.

22. Martinez, M. P., and Chakroff, J. B. P., 1975. Direct phytoplankton counting technique using the hemacytometer. *Philippine Agriculture Science*, 59: 43-50.
23. Nandini, S., and Sarma, S.S.S., 2003. Population growth of some genera of cladocerans in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia*, 491: 211- 219.
24. Nandini, S., and Sarma, S. S. S., 2000. Life table demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia*, 435:117-126.
25. Nichols, H. W., and Bold, H. C., 1965. *Trichorsarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of phycology*. 1: 34-38.
26. Omori, M., and Ikeda, T., 1984. *Methods in zooplankton ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York, 332P.
27. Peck, M. A., Ewest, B., Holste, L., Kanstinger, P., and Martin, M., 2008. Impacts of light regime on egg harvests and 48-h egg hatching success of *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) within intensive culture. *Aquaculture*, 275: 102-107.
28. Peck, M. A., and Holste, L., 2006. Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): optimizing intensive cultures. *Aquaculture*, 255: 341-350.
29. Pena-Aguado, F., Nandidi, S., and Sarma, S. S. S., 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast, *Limnologia* 35: 298-303.
30. Richmond, A., 1986. Cell response to environmental factors. In A. Richmond, editor, *Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC, Boca Raton, PP: 69- 106.
31. Rodriguez, V., Guerreo, F., and Bautista, B., 1995. Egg production of individual copepods of *Acartia graniSars* from coastal waters: seasonal and diel variability. *Journal of Plankton Research*. 17: 2233- 2250.
32. Savas, S., and Erdogan, O., 2006. The effect of food (*Scendesmus acuminatus* (Von Lagerheim) R.H. Chodat) densities and temperature on the population growth of the cladoceran *Ceriodaphnia quadrangula* (Muller, 1785). *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23:113-116.
33. Segal, E., 1970. Light invertebrates. In: O. Kinne, editor, London, Wiley-Interscience. *Marine Ecology 1*: 159-211.
34. Seyfabadi, J., Ramezani, Z., and Amini Khoeyi, Z., 2010. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology* 23:721-726.
35. SPSS., 2007. *Statistical Package for Social Science*. Version 16, SPSS Inc., Michigan Avenue, Chicago, Illinois, USA.
36. Starkweather, P. L., 1973. Influence of light regime on postembryonic development in two strain of *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*. 21:830-837.
37. Thompson, P. A., Guo, M., and Harrison, P. J., 1993. The influence of on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biology*. 117: 259- 268.
38. Vandekerckhove, J., Declerck, S., Vanhove, M., Brendonck, L., Jeppesen, E., Conde Porcuna, J. M., and De Meester, L., 2004. Use of ephippial morphology to assess richness of anomopods: potentials and pitfalls. *Journal of Limnology*. 63: 75-84.
39. Verbitsky, V. B., Verbitskaya, T. I., and Malysheva, O. A., 2009. The influence of various temperature regimes on the abundance dynamics and thermal tolerance of cladoceran *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F. Muller, 1785). *Inlang Water Biology*, 2:67-71.
40. Watanabe, T., and Kiron, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124: 223- 251.
41. Zar, J. H., 1984. *Biostatistical Analysis*, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Engewood Cliffs, New York. 718.
42. Zhu, C. J., Lee, Y. K., Chao, T. M., and Lim, S. H., 1997. Diurnal changes in gross chemical composition and fatty acid profiles of *Isochrysis galbana* TK1 in outdoor closed tubular photobioreactors. *Journal of Marine Biotechnology*. 5:153-157.

Combined effect of light regimes and microalgal diets on growth and production of a freshwater cladoceran, *Ceriodaphnia quadrangula*

Taghavi D., Farhadian O., Mahboobi Soofiani N. and Keivani Y.

Natural Resources Dept., Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

One of the freshwater cladocerans is *Ceriodaphnia quadrangula*. This species can be considered as one of the most suitable live foods because of wide range tolerance to water temperature and light characters as well as its culture using microalgal species. This research aimed to investigate the combined effect of different light regimes and algal diets on growth and production of *C. quadrangula*. The experimental treatments including 4 light regimes: 4L: 4D (4 hours light: 4 hours dark), 6L:6D, 8L:8D, and 12L:12D, and 2 green mono-algal diets of *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris* which carried out using completely randomized designs with 6 replicates. Results showed that population density, specific growth rate (SGR) and doubling time (*Dt*) were significantly different between examined treatments ($P < 0.05$). The highest mean population density of *C. quadrangula* fed on *S. quadricauda* were 1000 ± 50.9 (Mean \pm standard error), 571.4 ± 57.3 , 690.5 ± 62.3 , and 1000 ± 58.7 individuals/L in treatments of 4L: 4D, 6L:6D, 8L:8D and 12L:12D, respectively, while these treatments using *C. vulgaris* correspondingly were 1642.9 ± 46.0 , 2261.9 ± 72.2 , 1023.8 ± 75.0 and 2619.1 ± 80.3 ind. L⁻¹ during experiment period. In addition, mean SGR obtained in different treatments had range between 0.04 to 0.11 day⁻¹. This research illustrated that *C. quadrangula* had culture capabilities on different light regimes and algal diets, but culture combined conditions of 12L: 12D and *C. vulgaris* could be prepared for its better performance.

Key words: Zooplankton, Environmental conditions, *Ceriodaphnia*, Microalgae