

## پرورش درشت دافنی *Daphnia magna* با استفاده از جلبک سندسموس، کود حیوانی و پودر سبزیجات

رامین شرفی، امیدوار فرهادیان\* و محسن سلیمانی

دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

omfarhad@cc.iut.ac.ir: \*نویسنده مسئول

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۸

### چکیده

در این مطالعه تاثیر جلبک (*Scenedesmus quadricauda*)، کود (کود مرغی + کود گاوی به نسبت ۱:۱ وزنی)، سبزی (اسفناج + جعفری + گشنیز به نسبت ۱:۱:۱ وزنی)، جلبک + خاک، کود + خاک، و سبزی + خاک بر پرورش درشت دافنی *Daphnia magna* بررسی گردید. آزمایش در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. نتایج نشان داد که بالاترین تراکم جمعیت *D. magna* (۱۵۱۳/۹±۶۲۷/۱) فرد در لیتر) (میانگین± خطای استاندارد) در تیمار جلبک و بالاترین میزان رشد ویژه (۰/۲۵±۰/۰۳ در روز) و کوتاه ترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۳/۱۰±۰/۷ روز) در *D. magna* تغذیه شده از جلبک + خاک بدست آمد. درصد افراد بالغ و نئونات در جمعیت در تیمارهای مختلف غذایی تفاوت معنی دار داشت (P<۰/۰۵). در روز ۳۰ پرورش در تیمارهای کود و کود+ خاک افراد بالغ و در تیمارهای سبزی+خاک، جلبک و جلبک + خاک افراد نئونات بیشترین درصد جمعیت را داشت. بیشترین طول بدن (۲۳۲۱/۹±۱۴۹/۳ میکرون) و بیشترین عرض (۱۴۴۶/۹±۶۶/۸ میکرون) به ترتیب در تغذیه *D. magna* با مخلوط کود بدست آمد. تراکم، میزان رشد ویژه، درصد بالغین و نئونات در جمعیت *D. magna* همبستگی معنی داری با پارامترهای pH، BOD و COD آب نشان داد (P<۰/۰۵). به طور کلی، تیمارهای جلبک و جلبک+ خاک عملکرد مناسب تری بر اساس میزان رشد و تولید درشت دافنی *D. magna* و همچنین کاهش قابل ملاحظه ای در میزان BOD و COD در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایشی نشان داد.

واژگان کلیدی: *Daphnia magna*، *Scenedesmus quadricauda*، خاک، پودر سبزیجات، کود

### مقدمه

درشت دافنی ها سخت پوستانی کوچک زئوپلانکتونی هستند که اغلب به صورت ماده زایی تولید مثل می کنند. آنها پراکنش وسیع در آب های شیرین دارند و با توجه به سادگی جمع آوری، قابلیت تحمل شرایط محیطی گوناگون، ارزش غذایی بسیار خوب و قابلیت هضم بسیار بالا همواره سبب شده تا بعنوان طعمه های مناسب در جهت بهبود بقاء و رشد در لارو ماهی و میگو اهمیت داشته باشند (خانجانی و همکاران ۱۳۹۰).

پرورش درشت دافنی ها با استفاده از مواد آلی و ضایعات گیاهی از قبیل کنجاله سویا، کنجاله پنبه دانه، یونجه (Barkoh, 1996)، گندم، برنج (Barokh et al., 2005)، کودهای مختلف گاوی و مرغی (Srivastava et al., 2006) و همچنین جلبک هایی مانند کلرلا (Savas and Erdogan, )

2006)، سندسموس (Ranta, 1993) و مخمرهای

مختلف مانند مخمر نان *Saccharomyces cerevisia* (Lashkarbolouki and Jafaryan, 2011)

امکان پذیر است. دافنی ها از

گروه های مختلف باکتریایی، مخمر، ریزجلبک (جلبک های تک سلولی و جلبک های دارای کلونی)،

مواد پوسیده و مواد آلی غیر محلول تغذیه می کنند (Monakov, 1972). سلول های باکتریایی و

قارچی ارزش غذایی زیادی دارند و جمعیت دافنی با حضور مقادیر کافی سلول های باکتریایی، مخمر و هم

چنین ریزجلبک ها به سرعت رشد می کند (Dewey and Parker, 1964). مواد پوسیده

گیاهی و جانوری رشد و تکثیر دافنی ها را تامین می کنند، البته ارزش غذایی مواد پوسیده به منشا آنها

بستگی داشته و با افزایش ماندگاری کاهش پیدا میکند (Pavlyutin, 1976).

دافنی ها در محیط های آبی و همچنین در تولید غذای زنده مناسب برای لارو ماهیان با استفاده از اقلام و ضایعات غذایی مفید باشد.

### مواد و روش ها

#### تهیه ذخیره اولیه *D. magna*

دافنی مورد آزمایش از آبگیرهای حومه شهرستان زرین شهر در ۳۵ کیلومتری شهر اصفهان با مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۲ دقیقه طول شرقی و ۳۲ درجه و ۲۴ دقیقه عرض شمالی با استفاده از تور پلانکتون گیری با چشمه ۱۴۰ میکرون با تورکشی عمودی جمع آوری گردید. نمونه ها پس از چند ساعت نگهداری در آزمایشگاه با کمک لوپ آزمایشگاهی (Olympus, SZ6045, ) و میکروسکوپ اینورت (Japan CETI, ) مورد بررسی قرار گرفت. ماده های بالغ *D. magna* پس از جداسازی در ظروف کوچک (ویال ۵۰ میلی لیتری) با استفاده از جلبک میکروسکوپی سندسموس (*S. quadricauda*) پرورش یافت تا کشت انبوه *D. magna* به تعداد کافی برای شروع کار آزمایشگاهی مهیا گردد و *D. magna* مورد نظر نیز به شرایط آزمایشگاهی سازگار شود.

#### تهیه اقلام غذایی

جلبک سبز *S. quadricauda* در ارلن مایرهای ۵ لیتری با استفاده از محیط کشت BBM (Bold's Basal Medium) بر طبق ترکیبات بیان شده توسط Bold و Nichols در سال ۱۹۶۵ پرورش یافت (Ovie and Egborge, 2002). شرایط پرورش این گونه جلبکی شامل آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، دمای  $23 \pm 1$  درجه سانتی گراد، دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی: روشنایی، میزان شدت نور حدود ۶۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، pH آغازین ۶/۹ و اکسیژن محلول بالای ۵ میلی-گرم در لیتر بود. جلبکها در فاز رشد سریع از طریق سانتریفیوژ کردن مورد برداشت قرار گرفت. جهت متراکم کردن و برداشت جلبکها از دستگاه

امروزه به منظور افزایش تعداد باکتری ها، پروتوزواها و زئوپلانکتون ها همواره می توان از کودهای آلی استفاده نمود. مهمترین خصوصیت مشترک مواد آلی این است که وقتی روی هم انباشته می شوند به طور سریع و گاهی اوقات به طور مستقیم میتوانند به منبع غذایی مهمی برای زئوپلانکتون ها تبدیل گردند. عموماً در محیط های آبی کودهای آلی از طریق تجزیه های هوازی باکتری ها به ذرات غذایی مناسبی برای بسیاری از زئوپلانکتون ها تبدیل می گردند (Barkoh, 1996; Barokh et al., 2005). از سوی دیگر، تدارک و آماده سازی شرایط برای تهیه جلبک ها همواره مشکلات و تنگناهای خاص خود را دارد که سبب شده تا از مواد آلی ارگانیک جانوری و گیاهی بعنوان جایگزین مناسبی برای جلبک ها در تولید زئوپلانکتون ها استفاده گردد (Farhadian et al., 2013). اگرچه در خصوص استفاده از ضایعات، کودهای جانوری و گیاهی در پرورش درشت دافنی ها به عملکرد رشد و تولید بسیار توجه شده است، اما در خصوص تغییرات خصوصیات کیفی آب بخصوص میزان BOD و COD آب در دوره پرورش درشت دافنی ها مطالعات کمی انجام شده است (Barkoh, 1996; Barokh et al., 2005).

هدف از این تحقیق مقایسه تاثیر اقلام جلبکی سندسموس (جلبک، جلبک + خاک) و غیر جلبکی (کود، کود+خاک، سبزی، سبزی+خاک) بر تولید، میزان رشد ویژه، نسبت افراد بالغ و نئونات (Neonate) در جمعیت و اندازه بدن *Daphnia magna* و همچنین بررسی تغییرات حاصله در خصوصیات کیفی آب از قبیل BOD و COD در تیمارهای آزمایشی به منظور تعیین مناسب ترین جیره های غذایی در پرورش انبوه این گونه می باشد. بنابراین، همبستگی بین پارامترهای مختلف عملکردی در رشد و تولید *D. magna* با خصوصیات کیفی آب (pH، BOD و COD) مورد بررسی و بحث قرار می گیرد. یافته های این تحقیق می تواند در درک نقش های بیولوژیک و اکولوژیک درشت

قرار گرفت. در تعیین بافت خاک از روش هیدرومتری درصد اجزاء آن تعیین گردید و سپس با کمک جدول مثلث خاک، بافت آن مشخص شد. اندازه گیری خصوصیات خاک، کود و سبزیجات با استفاده از هدایت الکتریکی برای محاسبه EC متر (Conductivity Meter 4310, JENWAY) pH به وسیله pH متر (مدل 744 pH Meter) میزان کلسیم و منیزیم به روش کمپلکسومتری، پتاسیم به روش عصاره گیری با استات آمونیوم، فسفر به روش اولسون، ازت به روش کلدال، کربن آلی از روش والکی و بلاک و کربنات کلسیم به روش تیتراسیون استفاده شد (Standard Methods, 1998).

سانتریفیوژ (مدل Centurion Scientific Ltd) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه (۱۰/۳۸ g) استفاده گردید. برای تهیه تیمارهای غذایی غیر جلبکی از مخلوط کود حیوانی (گاوی+ مرغی) به نسبت (۱:۱ وزنی) و مخلوط پودر سبزیجات (جعفری+ اسفناج+ گشنیز) به نسبت (۱:۱:۱ وزنی) استفاده گردید. بعضی از خصوصیات جیره های غیر جلبکی مورد استفاده در این تحقیق در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

#### اندازه گیری ها

خاک مورد استفاده در این تحقیق پس از دو روز خشک شدن در محیط آزمایشگاه، از الک ۲ میلی متری عبور داده شده و سپس مورد آنالیز شیمیایی

جدول ۱- میانگین (± خطای استاندارد) خصوصیات شیمیایی عصاره های خاک، کود و مخلوط سبزی استفاده شده در این تحقیق.

خصوصیت ها	خاک	کود مخلوط	سبزی مخلوط
pH	۷/۸۷±۰/۰۳	۷/۲۳±۰/۰۹	۵/۹±۰/۰۳
هدایت الکتریکی (ds/m)	۰/۳۴±۰/۰۰	۷/۷۷±۰/۰۵	۵/۰۴±۰/۱۱
کلسیم (mg/L)	۲۸۰±۱۴/۱۴	۱۱۳۳/۳۳±۲۱۶/۰۲	۱۴۶۶/۶۷±۸۱/۶۵
منیزیم (mg/L)	۱۷۴/۱۵±۲/۹۲	۵۶۷±۴۹/۶۰	۱۲۱/۵۰±۰/۰۰
پتاسیم (mg/L)	۱۷۰±۱/۷۱	۷۹۲±۱/۵۳	۱۴۱۹±۶/۲۸
کربنات کلسیم (mg/L)	۶۴۱/۷±۲۷/۰۰	۴۴۶/۷±۷/۴	۴۳۰±۱۲/۷
مواد آلی (mg/L)	۱۶/۲±۰/۹	۶۵۰±۳۵/۴	۸۴۳/۳±۲۸/۶
فسفر (mg/L)	۸/۲±۰/۱	۲/۸±۰/۴	۱۳/۹±۰/۳
نیترژن (mg/L)	۰/۴±۰/۰	۱۲/۳±۰/۲	۱۳/۳±۰/۲

خاک: بافت خاک لومی - شنی؛ کود: کود مرغی + گاوی (نسبت وزنی ۱:۱)؛ سبزی: اسفناج+ گشنیز+ جعفری (نسبت وزنی ۱:۱:۱)

## نحوه انجام آزمایش

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار شامل جلبک (*S. quadricauda*)، مخلوط کود (بصورت مخلوط کود مرغی + کود گاوی به نسبت ۱:۱ وزنی)، مخلوط سبزیجات (بصورت مخلوط اسفناج + جعفری + گشنیز به نسبت ۱:۱:۱ وزنی)، جلبک + خاک، کود + خاک، و سبزی + خاک در ظروف ۴ لیتری با ۳ تکرار انجام شد. خاک مورد استفاده در تیمارها در لایه ۵ سانتی متر در کف ظروف آزمایش گسترده شد. در هر واحد آزمایش تعداد ۱۵ فرد ماده بالغ به صورت تصادفی قرار داده شد و با تیمارهای آزمایشی تغذیه گردید. شمارش تعداد بالغ و نئونات در طی آزمایش پس از هر مرحله نمونه برداری با استفاده از لام بوگاروف (Bogorov's Chamber) با انتقال ۵ میلی لیتر به درون لام با مشاهده در زیر لوپ آزمایشگاهی با بزرگنمایی ۳ تا ۶ انجام شد. میزان رشد ویژه (*SGR*) (Specific Growth Rate) با فرمول Omori و Ikeda در سال ۱۹۸۴ و زمان دو برابر شدن جمعیت (*Dt*) (Doubling time) با فرمول ارائه شده توسط James و Al Khars در سال ۱۹۸۶ به شرح زیر مورد محاسبه قرار گرفت.

$$SGR = (Ln N_t - Ln N_0) / T$$

در این رابطه،  $SGR$  = میزان رشد ویژه درشت دافنی  
 $Dt$ ،  $D. magna$  = تعداد جمعیت نهایی  
 $magna$  بعد از زمان  $T$ ،  $N_0$  = تعداد جمعیت اولیه  
 $D. magna$  در ابتدای معرفی به محیط کشت می باشد.

$$Dt = Ln 2 / SGR$$

در این رابطه،  $Dt$  = زمان دو برابر شدن جمعیت  $D. magna$  بر حسب روز،  $SGR$  = میزان رشد ویژه جمعیت  $D. magna$  بر حسب در روز می باشد.  
اندازه گیری طول کل (از ابتدای سر تا انتهای بدن، بدون در نظر گرفتن خار دمی) و عرض بدن  $D. magna$  (عریض ترین قسمت بدن) با استفاده از

میکروسکوپ اینورت (Ceti Belgium) دارای میکرومتر درعدسی چشمی انجام شد. در طی مراحل آزمایش شاخص های آب همچون pH، COD،  $BOD_5$  و EC اندازه گیری گردید. pH با استفاده از pH متر (مدل 744 pH Meter)، تعیین اکسیژن خواهی شیمیایی (COD) از روش تقطیر برگشتی بسته و برای تعیین اکسیژن مورد نیاز بیولوژیکی ( $BOD_5$ ) با اندازه گیری اکسیژن از روش وینکلر در دوره ۵ روزه و EC با استفاده از EC متر (Conductivity Meter 4310, JENWAY) اندازه گیری گردید (Standard Methods, 1998).

## تجزیه و تحلیل داده ها

داده های حاصل از تیمارهای آزمایشی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) مورد تجزیه آماری قرار گرفت. تفاوت بین میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن با هم مقایسه گردید (Zar, 1984). تمام تجزیه و تحلیل ها در سطح معنی دار ۵ درصد با استفاده از نرم افزار آماری (SPSS, 19) انجام شد. همبستگی بین داده ها از طریق ضریب همبستگی پیرسون محاسبه گردید.

## نتایج

نتایج نشان داد که در پایان دوره آزمایش (روز ۳۰) میانگین بالاترین تراکم جمعیت ( $1513/9 \pm 627/1$ ) فرد در لیتر) در تیمار جلبک سندسموس (جدول ۲) و بیشترین میزان رشد ویژه ( $0/25 \pm 0/03$  در روز) و کوتاه ترین زمان دو برابر شدن ( $3/0 \pm 0/7$  روز) در تیمار جلبک + خاک است (شکل ۱). مقایسه میانگین تراکم  $D. magna$  نشان داد که تیمارهای جلبک، سبزی، سبزی + خاک، کود و کود + خاک دارای اختلاف معنی داری است. مقایسه میانگین رشد ویژه نیز نشان داد که بین تیمار جلبک با تیمارهای سبزی + خاک و جلبک + خاک اختلاف معنی دار وجود ندارد اما با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0/05$ ).

نداشت و دامنه آن ۱۴۴-۱۲۶ میلی گرم در لیتر بود در حالیکه در روز ۳۰ آزمایش تفاوت بین تیمارها معنی دار بود ( $P < 0/05$ ) و بیشترین در تیمار سبزی (۶۵ میلی گرم در لیتر) و کمترین در تیمار جلبک (۷ میلی گرم در لیتر) بدست آمد (شکل ۳-الف). همچنین، میزان COD در روز ۲۰ و ۳۰ پرورش (شکل ۳-ب) تفاوت معنی داری بین تیمارها نشان داد ( $P < 0/05$ ). در روز ۲۰ بیشترین COD در تیمار سبزی (۴۶۳ میلی گرم در لیتر) و سبزی+خاک (۴۳۳ میلی گرم در لیتر) بود در حالیکه در روز ۳۰ آزمایش (شکل ۳-ب) بیشترین COD در تیمارهای کود، کود+خاک و سبزی بدست آمد. بطور کلی کمترین BOD و COD در روز پایانی پرورش *D. magna* در تیمار جلبک و جلبک+خاک حاصل گردید.

بیشترین درصد بالغین در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ آزمایش به ترتیب ۷۴/۹ درصد در تیمار جلبک، ۱۰۰ درصد در تیمار سبزی و ۹۸/۶ درصد در تیمار کود مشاهده گردید. عبارت دیگر، در روز ۲۰ به بعد تیمارهای سبزی و کود تولید مثل چندانی نداشته و نئونات ها در جمعیت کاهش داشت. از طرف دیگر، بیشترین تعداد نئونات در روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پرورش به ترتیب ۸۲/۴ درصد در سبزی+خاک، ۸۹/۳ درصد در سبزی+خاک، ۸۲/۸ درصد در جلبک بدست آمد (شکل ۲).

تغییرات BOD و COD به لحاظ اهمیت آن در روزهای ۲۰ و ۳۰ پرورش در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). نتایج نشان داد که در روز ۲۰ آزمایش تفاوت معنی داری بین تیمارها

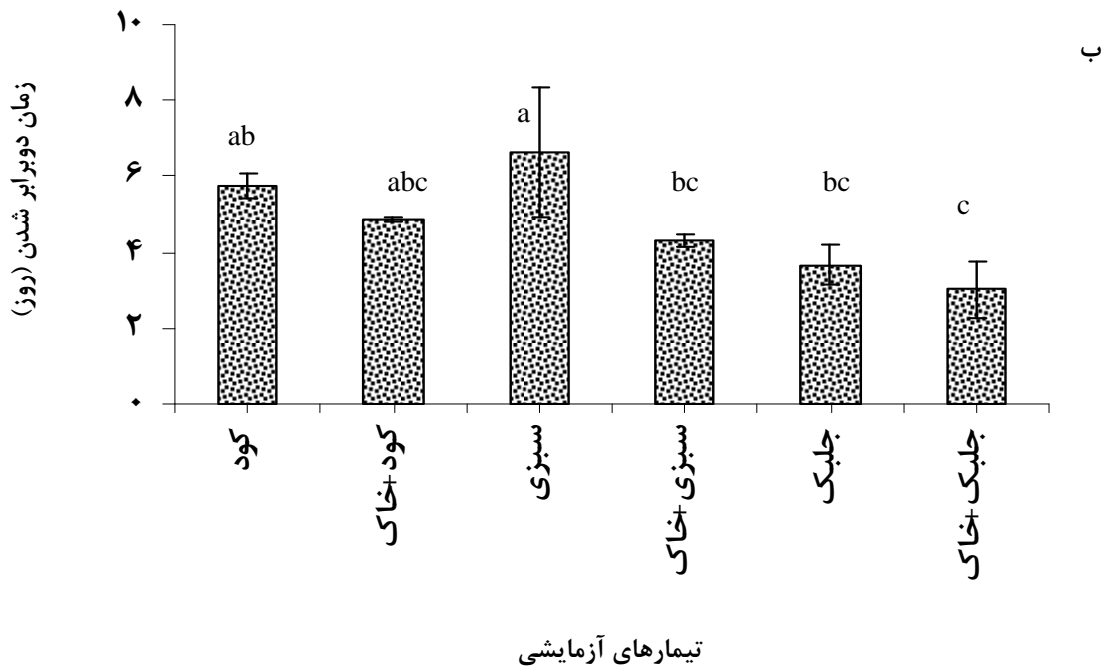
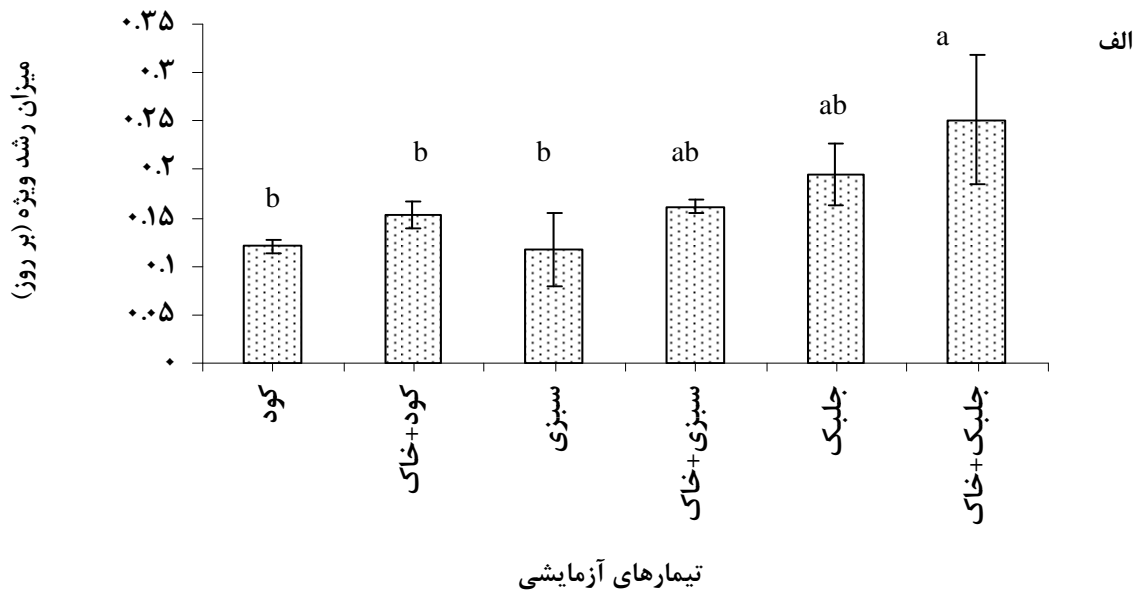
جدول ۲- میانگین تراکم ( $\pm$ خطای استاندارد) جمعیت *D. magna* (فرد در لیتر) پرورش داده شده با تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون از نظر آماری با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد با هم اختلاف ندارند.

تیمارهای آزمایش	روز ۱۰	روز ۲۰	روز ۳۰
کود	۶۰/۱±۱۴/۱ <sup>d</sup>	۳۹/۱±۲۴/۶ <sup>d</sup>	۱۱/۸±۱۴/۴ <sup>d</sup>
کود+خاک	۸۲/۹±۳۵/۳ <sup>c</sup>	۲۳۴/۱±۵۴/۷ <sup>c</sup>	۱۵/۶±۱۹/۱ <sup>d</sup>
سبزی	۳۲/۲±۳۷ <sup>e</sup>	۱۱/۲±۱۳/۷ <sup>d</sup>	۰±۰ <sup>e</sup>
سبزی+خاک	۱۷۷/۷±۶۹/۴ <sup>a</sup>	۴۰۱/۶±۱۶۳/۵ <sup>b</sup>	۳۰۰/۸±۲۹۶/۷ <sup>c</sup>
جلبک	۴۲/۷±۳۲/۳ <sup>e</sup>	۱۰۷۲/۳±۶۴۳/۵ <sup>a</sup>	۱۵۱۳/۹±۶۲۷/۱ <sup>a</sup>
جلبک+خاک	۱۳۷/۷±۵۵/۴ <sup>b</sup>	۱۱۱۵/۲±۴۴۰/۹ <sup>a</sup>	۱۱۲۸/۹±۳۱۱/۶ <sup>b</sup>

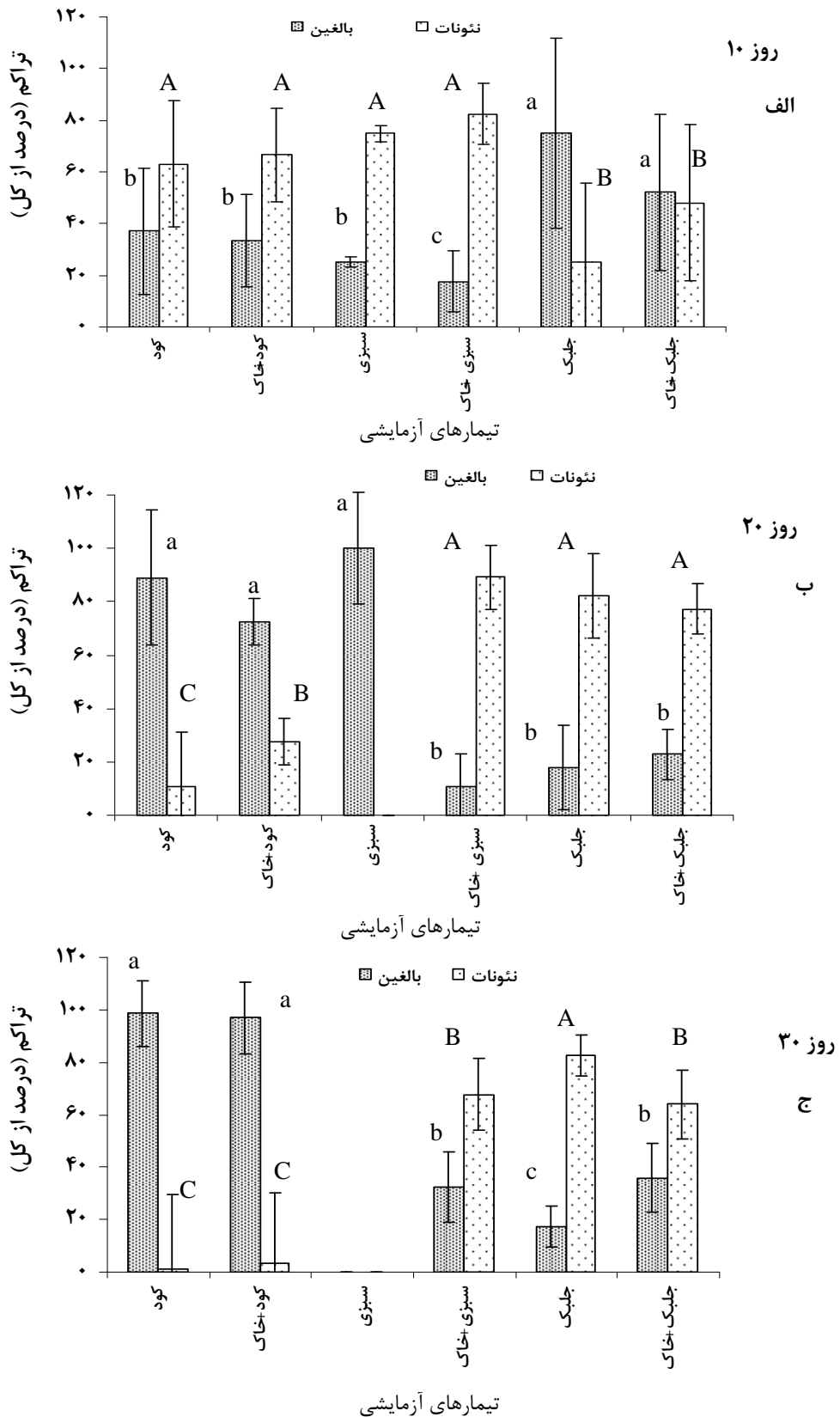
جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بین تراکم، میزان رشد و درصد نئونات و بالغین در جمعیت درشت دافنی *D.magna* با pH، BOD و COD همبستگی معنی داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). مناسب ترین تیمار به لحاظ کمترین BOD و COD در تیمارهای جلبک و جلبک+خاک بدست آمد که نشان دهنده مناسب شدن شرایط کیفی آب در دوره پرورش درشت دافنی *D. magna* است (شکل ۳، جدول ۳).

مقایسه میانگین داده های مربوط به طول و عرض بدن درشت دافنی *D. magna* در شکل ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد که طول و عرض بدن در تیمار تغذیه شده با کود در مقایسه با تیمارهای سبزی و جلبک دارای اختلاف معنی داری می باشد. بیشترین طول بدن ( $2321/9 \pm 149/3$  میکرون) و بیشترین عرض بدن ( $1446/9 \pm 66/8$  میکرون) در تیمارهای تغذیه شده با کود به دست آمد (شکل ۴).

همبستگی برخی خصوصیات اندازه گیری شده آب با پارامترهای رشد و تولید در درشت دافنی *D.magna* در

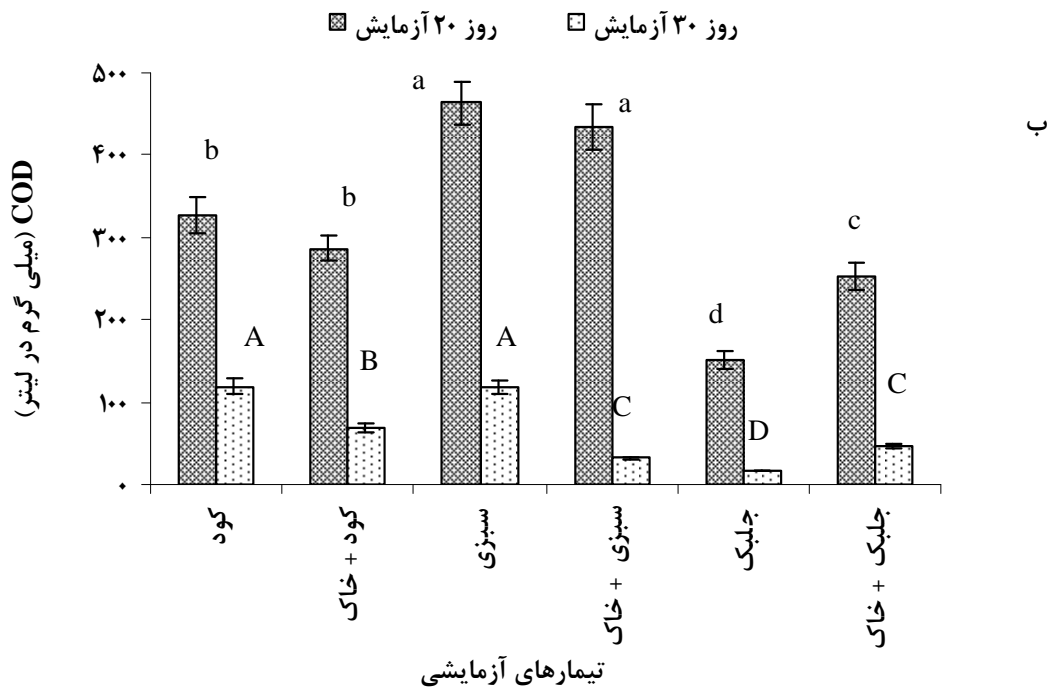
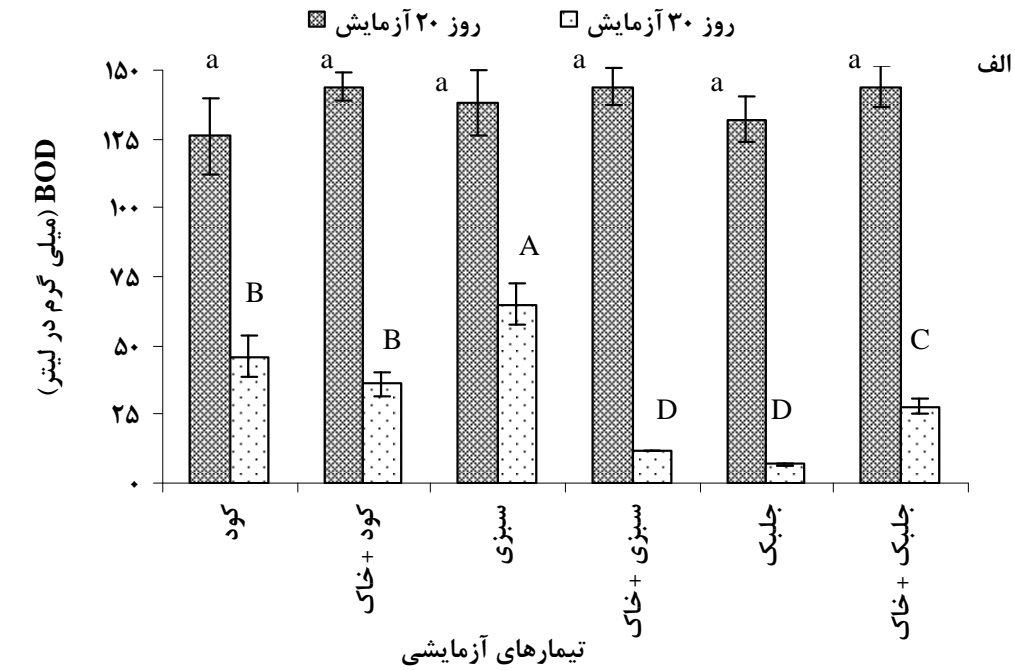


شکل ۱- میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) میزان رشد ویژه (الف) و زمان دوبرابر شدن جمعیت (ب) *D. magna* پرورش داده شده با تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد با هم اختلاف ندارند.

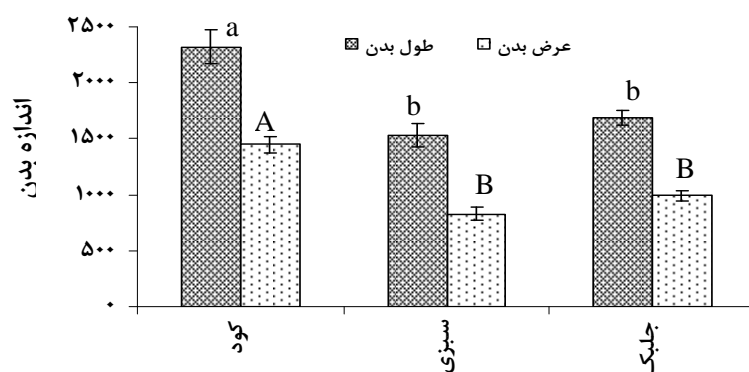


شکل ۲- میانگین (± خطای استاندارد) درصد تراکم جمعیت بالغ و نثونات در روز ۱۰ آزمایش (الف)، روز ۲۰ آزمایش (ب)، روز ۳۰ آزمایش (ج) *D. magna* تغذیه شده با تیمارهای مختلف. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد با هم اختلاف ندارند.





شکل ۳- میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) تغییرات BOD (الف) و COD (ب) در روز ۲۰ و ۳۰ آزمایش از پرورش *D. magna* در تیمارهای مختلف غذایی. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد با هم اختلاف ندارند.



تیمارهای آزمایشی

شکل ۴- میانگین ( $\pm$  خطای استاندارد) طول و عرض بدن بالغین *D. magna* پرورش داده شده با تیمارهای مختلف آزمایشی. میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری با آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد با هم اختلاف ندارند.

جدول ۳- ضریب همبستگی پیرسون برخی خصوصیات آب و تراکم درشت دافنی *D. magna* در طی دوره ی آزمایش. اعداد درون پرانتز ها سطح معنی دار را نشان می دهند \* همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۵، \*\* همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۱.

COD	BOD <sub>5</sub>	pH	تعداد بالغین	تعداد نئونات	عرض بدن	طول بدن	زمان دوبرابر شدن جمعیت	میزان رشد ویژه	تراکم	همبستگی
								۱	°/۵۱۸ (۰/۰۲۸)	میزان رشد ویژه
							۱	** -۰/۸۷۲ (۰/۰۰۰)	° -۰/۵۲۱ (۰/۰۲۷)	زمان دوبرابر شدن جمعیت
						۱	۰/۱۵۶ (۰/۵۳۶)	-۰/۲۲۳ (۰/۳۷۳)	-۰/۳۴۴ (۰/۱۶۲)	طول بدن
					۱	** ۰/۹۹۸ (۰/۰۰۰)	۰/۱۱۸ (۰/۶۴۱)	-۰/۱۸۴ (۰/۴۶۴)	-۰/۲۹۶ (۰/۲۳۳)	عرض بدن
				۱	-۰/۲۸۰ (۰/۲۶۱)	-۰/۳۳۴ (۰/۱۷۵)	° -۰/۵۵۵ (۰/۰۱۷)	° ۰/۵۱۸ (۰/۰۲۸)	** ۰/۸۳۸ (۰/۰۰۰)	تعداد نئونات
			۱	** ۰/۶۸۸ (۰/۰۰۲)	۰/۱۸۵ (۰/۴۶۳)	۰/۱۲۶ (۰/۶۱۷)	** -۰/۵۹۹ (۰/۰۰۹)	** ۰/۶۱۰ (۰/۰۰۷)	** ۰/۶۵۱ (۰/۰۰۳)	تعداد بالغین
		۱	** ۰/۶۲۱ (۰/۰۰۶)	** ۰/۹۰۳ (۰/۰۰۰)	۰/۰۴۳ (۰/۸۶۵)	-۰/۰۰۵ (۰/۹۸۵)	° -۰/۴۷۰ (۰/۰۴۹)	۰/۳۴۵ (۰/۱۶۱)	** ۰/۷۰۷ (۰/۰۰۱)	pH
	۱	-۰/۶۱۹ (۰/۰۰۶)	** -۰/۸۱۱ (۰/۰۰۰)	** -۰/۸۳۱ (۰/۰۰۰)	۰/۱۴۶ (۰/۵۶۴)	۰/۲۰۴ (۰/۴۱۷)	° ۰/۴۷۳ (۰/۰۴۷)	° -۰/۵۷۸ (۰/۰۱۲)	** -۰/۷۲۹ (۰/۰۰۱)	BOD <sub>5</sub>
۱	** ۰/۹۶۲ (۰/۰۰۰)	-۰/۶۰۰ (۰/۰۰۸)	** -۰/۷۸۰ (۰/۰۰۰)	** -۰/۸۵۵ (۰/۰۰۰)	۰/۳۵۲ (۰/۱۵۲)	۰/۴۰۷ (۰/۰۹۴)	° ۰/۴۸۵ (۰/۰۴۱)	° -۰/۵۸۹ (۰/۰۱۰)	** -۰/۷۶۹ (۰/۰۰۰)	COD
° ۰/۵۳۹ (۰/۰۲۱)	° ۰/۵۴۰ (۰/۰۲۱)	-۰/۴۶۱ (۰/۰۵۴)	-۰/۲۵۴ (۰/۳۰۹)	° -۰/۴۸۵ (۰/۰۴۱)	۰/۰۴۱ (۰/۸۷۲)	۰/۰۶۵ (۰/۷۹۸)	-۰/۱۸۱ (۰/۴۷۳)	۰/۰۵۷ (۰/۸۲۲)	-۰/۳۰۱ (۰/۲۲۴)	EC

## بحث

در تولید و پرورش انبوه درشت دافنی ها نظیر دافنی ها، استفاده از ضایعات صنایع کشاورزی از جمله آرد برنج و سویا، کودهای مرغی، گاوی، گوسفندی و مخلوط آن ها امکان پذیر است. استفاده از چنین ضایعاتی در تولید درشت دافنی ها باعث کاهش کیفیت خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب میشود، از سوی دیگر تغییرات کیفیت آب باعث تغییراتی در تعداد زئوپلانکتون ها می شود (Shim, 1988). این موضوع در این تحقیق به اثبات رسید که کودهای گاوی و مرغی باعث پایین آمدن کیفیت آب و در نتیجه تغییرات در تراکم زئوپلانکتونی تیمارها می گردد. در این تحقیق تاثیر کود، سبزی و جلبک را به تنهایی و در ترکیب با خاک بر رشد و تولید درشت دافنی *D. magna* و خصوصیات آب محیط کشت بررسی گردید.

میزان رشد ویژه در تغذیه *D. magna* تغذیه نموده با کود، کود+خاک، سبزی، سبزی +خاک، جلبک، جلبک +خاک به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۱۵، ۰/۱۲، ۰/۱۶، ۰/۲۰ و ۰/۲۵ در روز به دست آمد. نتایج این تحقیق قابل مقایسه با سایر محققان است. برای مثال Nandini و Sarma در سال ۲۰۰۳ برای چهار گونه درشت دافنی *Moina macrocopa*، *Ceriodaphnia curvata*، *Pleuroxus aduncus* و *Simocephalus vetulus* در تغذیه با جلبک *Chlorella vulgaris* دامنه رشد ویژه را (۰/۱۹-۰/۱۵)، ۰/۱۵۴-۰/۶۰، ۰/۱۷-۰/۲۳ و ۰/۱۲-۰/۲۳ در روز گزارش دادند. Erdogan و Savas در سال ۲۰۰۶ تاثیر جیره جلبکی *Scenedesmus acuminatus* را بر رشد *Ceriodaphnia quadrangula* بررسی کردند و بیان نمودند که بیشترین میزان رشد ویژه جمعیتی (۰/۲۴ در روز) در تراکم جلبکی  $45 \times 10^4$  سلول در هر میلی لیتر از جلبک *S. acuminatus* بدست می آید. همچنین بعضی از تحقیقات نشان داده اند که اوج تراکم جمعیتی گونه های درشت دافنی مستقیماً به

فاکتورهایی مثل اندازه و غذای قابل دسترس بستگی دارد. برای مثال Gliwicz و Lampert در سال ۱۹۹۰ گزارش دادند که درشت دافنی ها بزرگتر (از قبیل *Daphnia*) غلظت آستانه غذایی پایین تری در مقایسه با گونه های کوچکتر (مانند *Ceriodaphnia*) دارند. برای هر کدام از اضافه نمودن مواد آلی ارگانیک برای غنی سازی استخرهای نوزادگاهی در آبی پروری از کارهای معمول به حساب می آید. مواد مغذی موجود در این مواد آلی ارگانیک باعث افزایش زی توده پلانکتونی (فیتوپلانکتون ها و زئوپلانکتون ها) و کامل تر شدن چرخه شبکه غذایی و ارتباط های مابین ارگانسیم های آبی می گردد (Mischke and Zimba, 2004).

Srivastava و همکاران در سال ۲۰۰۶ تاثیر چهار سطح مختلف کود آلی را در تولید انبوه *Ceriodaphnia cornuta* بررسی کردند نشان دادند که تعداد میکروارگانسیم ها در مقادیر پایین از کود آلی کاهش قابل ملاحظه ای در مقایسه با مقدار بالای کود آلی دارند. در واقع، افزایش تعداد درشت دافنی ها با افزایش مقدار غذا موجب تغییر در میزان رشد ویژه می شود. معمولاً میزان رشد ویژه در محدوده ۱/۵-۰/۰۱ متغیر است که بستگی به نوع گونه، نوع غذا و دما دارد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برای گونه *Daphnia magna* جلبک و همچنین ترکیب با خاک غذای مناسبتری در مقایسه با سایر تیمارها بود. خانجانی و همکاران در سال ۱۳۹۰ تاثیر پنج جیره غذایی مختلف شامل: جلبک سبز *S. quadricauda*، مخلوط جلبک سندسموس با مخمر نانواپی، کود مرغی و کود گاوی را بر تراکم، میزان رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن جمعیت *C. quadrangula* بررسی نمودند. آنها بیان کردند که بالاترین تراکم جمعیت در *C. quadrangula* تغذیه شده با جلبک سندسموس بود. همچنین، Ranta و همکاران در سال ۱۹۹۳

که به صورت مستقیم به عنوان منابع غذایی مورد استفاده قرار می گیرند در محدوده pH بهینه در افزایش رشد زئوپلانکتون ها و تولید نهایی مزارع ماهی نقش بسزایی دارند (Mims et al., 1993). در طی دوره پرورش درشت دافنی *D. magna* این مطالعه بین تراکم و رشد *D. magna* با BOD و COD همبستگی معنی داری مشاهده بدست آمد. Srivastava و همکاران در سال ۲۰۰۶ بیان کردند که اکسیژن محلول باید بین ۳/۲۸ تا ۴/۶۳ میلی گرم در لیتر برای درشت دافنی آب شیرین *Ceriodaphnia cornuta* در نظر گرفته شود و میزان تولید *C. cornuta* هنگامی که غلظت اکسیژن محلول پایین تر از این حد می آید کاهش می یابد.

مقایسه میزان رشد طولی و عرضی درشت دافنی ها در این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان طول و عرض مربوط به تیمار های تغذیه شده با کود (کود و کود + خاک) می باشد. اندازه بدن یک فاکتور بنیادی در مطالعه ارگانسیم های زئوپلانکتونی می باشد زیرا با فرآیندهای فیزیولوژیک از قبیل رشد، تنفس، تغذیه و دفع رابطه دارد. از سوی دیگر، با افزایش سن در درشت دافنی ها به دلیل قرار گرفتن تخم در بخش پشتی بدن، اندازه بدن افزایش می یابد. در طول دوره جوانی طول بدن در یک مقطعی به صورت خطی افزایش می یابد (Perrin, 1989). وقتی که درشت دافنی بالغ می شود رشد به کندی انجام می شود و انرژی بیشتر به تولید مثل اختصاص داده می شود. در مسن ترها ضریب رشد به تدریج کاهش می یابد و ممکن است در نهایت به یک مقدار کاملاً ثابتی برسد (Frey and Hann, 1985).

در این مطالعه می توان چنین نتیجه گیری نمود که در طول دوره تحقیق، *D. magna* تغذیه شده با تیمار جلبک *S. quadricauda* در محیط کشت های آب و آب + خاک، رشد و تولید مثل بهتری را نسبت به دیگر تیمار ها دارا بود که چنین جیره های غذایی برای تولید انبوه در جهت استفاده در آبی

تاثیر غذای جلبکی *S. quadricauda* را بر رشد سه گونه *Daphnia longisina*، *Daphnia* و *Daphnia pulex magna* بررسی و بیان کردند که مقدار جیره غذایی بر رشد و اندازه این درشت دافنی ها تاثیر گذار است. غذای جلبکی با غلظت بالا رشد بهتری را نشان داد، که این تاثیر بر تولید و تراکم *D. magna* بیشتر بود. بنابراین، کمیت و کیفیت غذا فاکتورهای مهمی هستند که رشد و تولید مثل را در درشت دافنی ها را کنترل می کند (Ovie and Egborge, 2002). در این پژوهش نیز کیفیت و نوع جیره های غذایی تاثیر بسزایی بر میزان رشد و تولید مثل با درشت دافنی *D. magna* دارا بود به طوری که جیره غذایی جلبکی کارایی مناسب تری را در طی آزمایش نشان داد.

Farhadian و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر جیره غذایی ترکیبی یونجه با ریز جلبک ها و مخمر بر میزان رشد و تولید مثل جمعیت روتیفر *Euchlanis dilatata* آب شیرین بررسی نمودند و نتیجه گیری نمودند که افزایش یونجه به محیط کشت باعث بهبود رشد و تولید در روتیفر می شود.

در این تحقیق بین تراکم، میزان رشد ویژه، درصد افراد بالغ و نئونات در جمعیت درشت دافنی *D. magna* با pH، BOD و COD همبستگی معنی داری وجود دارد ( $P < 0.05$ ). Barkoh و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثرات برنج، پنبه دانه و یونجه را بر روی pH آب و تولید و رشد زئوپلانکتون ها بررسی کردند و نشان دادند که برنج بر شاخص های کیفی آب مناسب ترین اثر را داشته و نسبت به یونجه و پنبه دانه pH پائین تری دارد و استفاده از برنج، یونجه و پنبه دانه تراکم زئوپلانکتونی تقریباً یکسانی را نشان می دهد، که نتایج حاصل از این تحقیق نیز این گفته را در مورد جیره های غذایی مخلوط کود و مخلوط سبزیجات در تغذیه با *D. magna* تایید می کند. بر اساس مطالعات

Ivleva در سال ۱۹۶۹، pH بهینه جهت رشد دافنی در محدوده ۶/۸ تا ۷/۸ قرار دارد و مواد آلی و کودها

مثل را در زئوپلانکتون ها بیشتر از پیش افزایش دهند.

پروری می تواند مفید واقع شود. پیشنهاد می گردد که جیره های ترکیبی با ریزجلبک ها نیز مورد آزمایش قرار گیرند که احتمالا بتوانند رشد و تولید

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده منابع طبیعی و دانشگاه صنعتی اصفهان که موجبات انجام این تحقیق را فراهم نمودند کمال سپاسگزاری را دارند.

Gliwicz, Z.M., Lampert, W., 1990. Food thresholds in *Daphnia* species in the absence and presence of blue-green filaments. *Ecology* 71, 691-702.

منابع

خانجانی، م، ح.، فرهادیان، ا. کیوانی، ی و ابراهیمی، ع. ۱۳۹۰. تاثیر جیره های مختلف بر تولید و میزان رشد ویژه جمعیت *Ceriodaphnia quadrangula*، مجله علمی شیلات ایران. شماره ۲، صفحات ۳۷ تا ۴۸.

Ivleva, I.V., 1969. Mass Cultivation of Invertebrates. Biology and Methods. Academy of Sciences of the USSR. Union Hydrobiological Society: 148 pp. (Transl. from Russian by A. Mercado 1973).

James, C.M., Al Khars, A.M., 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture, *Sylogues* 58, 333-340.

Barkoh, A., 1996. Effect of three fertilization treatments on water quality, zooplankton, and striped bass fingerling production in plastic lined ponds. *Progressive Fish Culturist* 58, 237-247.

Lashkarbolouki, M., Jafaryan, H., 2011. Evaluation of resistance in *Acipenser percicus* larvae fed with bio-encapsulated *Daphnia magna* Via *Saccharomyce scerevisiae* product (Amax) against challenge test. *World Journal of Fish and Marine Sciences* 3, 340-345.

Barokh, A., Hamby, S., Kurten, G., Warren Schlechte, J., 2005. Effects of rice bran, cottonseed meal, and alfalfa meal on pH and zooplankton. *North American Journal of Aquaculture* 67, 237-243.

Mims, S.D., Clark, J.A., Williams, J. C., Rouse, D.B., 1993. Comparisons of two by-products and a prepared diet as organic fertilizers on growth and survival of larval paddlefish, *Polyodon Spathula*, in earthen ponds. *Journal of Applied Aquaculture* 2, 171-187.

Dewey, I.E., Parker, B.L., 1964. Mass rearing of *Daphnia magna* for insecticide bioassay. *Journal of Economic Entomology* 57, 821-825.

Mischke, C.C., Zimba, P.V., 2004. Plankton community responses in earthen channel catfish nursery ponds under various fertilization regimes. *Aquaculture* 233, 219-235.

Farhadian, O., Daghighi, L., Ebrahimi Dorche, E. 2013. Effect of microalgae and alfalfa meal on population growth and production of a freshwater rotifer, *Euchlanis dilatata*. *Journal of the World Aquaculture Society* 44, 86-95.

Monakov, A.V., 1972. Review of studies on feeding of aquatic invertebrates

Frey, D.G., Hann, B.J., 1985. Growth in Cladocera. In: Wenner, A. M. (ed.), Factors in adult growth, p. 315-355. Baikema, Rotterdam.

- Daphnia longispina*, *D. magna* and *D. pulex*. *Annales Zoologic Fennici* 30, 299-311.
- Savas, S., Erdogan, O., 2006. The effect of food (*Scenedesmus acuminatus* (Von Lagerheim) R.H. Chodat) densities and temperature on the population growth of the cladoceran *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F. Muller, 1785). *Journal of Fishery and Aquatic Science* 23, 113-116.
- Shim, K.F., 1988. Mass production of *Moina* in Singapore using pig waste. *Journal of the World Aquaculture Society* 19, 59-60.
- Srivastava, A., Rathore, R.M., Chakrabarti, C., 2006. Effects of four different doses of organic manures in the production of *Ceriodaphnia cornuta*. *Bioresource Technology* 97, 1036-1040.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. 20<sup>th</sup> Edition, American Public Health Association, New York.
- Zar, J.H., 1984. *Biostatistical Analysis*, 2<sup>nd</sup> Edition. Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New York, USA, 718 pp.
- conducted at the Institute of Biology of Inland Waters, Academy of Science, USSR. *Journal Fisheries Research Board of Canada* 29, 363-383.
- Nandini, S., Sarma, S.S.S., 2003. Population growth of some genera of cladocerans in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrobiologia* 491, 211-219.
- Nichols, H.W., Bold, H.C., 1965. *Trichorsarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of Phycology* 1, 34-38.
- Omori, M., Ikeda, T., 1984. *Methods in Zooplankton Ecology*. John Wiley and Sons Inc., New York, 332 pp.
- Ovie, S.I., Egborge, A.B.M., 2002. The effect of different algal densities of *Scenedesmus acuminatus* on the population growth *Moina micrura* Kurz (Crustacea: Anomopoda, Moinidae). *Hydrobiologia* 477, 41-45.
- Pavlyutin, A. P. 1976. Food value of detritus for some freshwater cladocera species. *Gidrobiol Zh* 12, 15-11. (In Russian. English Summary).
- Perrin, N., 1989. Population density and offspring size in the cladoceran *Simocephalus vetulus* (Muller). *Functional Ecology* 3, 29-36.
- Ranta, E., Bengtsson, J., Mc Manus, J., 1993. Growth, size and shape of

---

## Culture of Freshwater Cladoceran *Daphnia magna* Using *Scenedesmus*, Animal Fertilizer, and Vegetative Powder

Ramin Sharafi, Omidvar Farhadian and Mohsen Soleimani

Department of Natural Resources, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

\*Corresponding author : omfarhad@cc.iut.ac.ir,

Received:2016/12/28

Accepted:2017/3/4

### Abstract

In this study, The effect of green algae (*Scenedesmus quadricauda*), manure (cattle + poultry, 1:1 ratio in weight), vegetable (spinach+parsely+coriander, 1:1:1 ratio in weight), manure+soil, vegetable+soil, and algae+soil were examined on culture of freshwater cladocerans, *Daphnia magna*. The experiment was carried out as completely randomized design with three replications under laboratory conditions. Results showed that the maximum population density ( $1513.9 \pm 627.1$  individuals/L) (mean $\pm$ SE) in algae treatment and maximum specific growth rate (*SGR*) ( $0.25 \pm 0.03$  /day) and minimum doubling time (*Dt*) ( $3 \pm 0.7$  days) were obtained when *D. magna* fed on algae+soil. On day 30 of culture, the treatment of manure and manure+soil had highest adult population while the highest neonate percentage was observed at treatments of vegetable+soil, algae and algae+soil, respectively. The density, *SGR*, adult and neonate in population of *D. magna* significantly correlated with pH, BOD and COD. The maximum body length ( $2321.9 \pm 149.3$   $\mu$ m) and width ( $1446.9 \pm 66.8$   $\mu$ m) of *D. magna* measured when fed with manure. In conclusion, the treatments of algae and algae+soil had better performance based on growth and production as well as considerable decreasing in BOD and COD compared to other treatments.

**Keywords:** *Daphnia magna*, *Scenedesmus quadricauda*, soil, vegetables, manure