

تأثیر جلبک *Dunaliella salina* غنی شده با روی معدنی بر رشد، بازماندگی و فاکتورهای تولیدمثلی *Artemia parthenogenetica* اطراف دریاچه ارومیه

شاهین نهالی^۱، نصراله احمدی فرد^{۲*}، ناصر آق^۲، ناصر صمدی^۳

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۲گروه بیولوژی و تکثیر و پرورش، پژوهشکده آرتمیا و آبی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

^۳گروه شیمی تجزیه، فیزیک و کاربردی، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۳

چکیده

از آن جایی که آرتمیا کاربرد زیادی در تغذیه لارو ماهیان دارد و سطح مواد معدنی از جمله عنصر روی در آن پایین است، در تحقیق حاضر تأثیر جلبک *Dunaliella salina* غنی شده با روی معدنی (روی سولفات) در ۴ غلظت (صفر، ۰/۸، ۱/۶، ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر) بر میزان رشد، بقا و تولیدمثل *Artemia parthenogenetica* مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج در روزهای ۱۱، ۱۷ و ۲۱ بیشترین (۷/۰۷، ۸/۸۶، ۹/۰۴۹ میلی متر) و کمترین (۵/۴۸، ۷/۰۶ و ۷/۲۵ میلی متر) رشد طولی به ترتیب در تیمارهای ۳/۲ و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر حاصل شد ($P < 0.05$). با افزایش غلظت روی در تیمارهای غنی سازی میزان بازماندگی کاهش یافت، بطوری که کمترین و بیشترین میزان بازماندگی در روزهای مورد مطالعه (۱۱، ۱۷ و ۲۱) در تیمارهای ۳/۲ و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. برای تعیین فاکتورهای تولیدمثلی *A. parthenogenetica*، تعداد ناپلی و سیست تولید شده به ازای هر ماده، درصد سیست زایی و طول دوره تولیدمثلی هر ماده بررسی شد. بیشترین طول دوره تولیدمثلی (۱۳/۶ روز) و تعداد ناپلی تولید شده (۴۳/۶۶ ناپلی) در تیمار ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد؛ اگر چه اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0.05$). بیشترین و کمترین درصد سیست زایی به ترتیب در تیمار ۰/۸ و ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. براساس این تحقیق جلبک *D. salina* غنی شده با روی معدنی سبب بهبود رشد طولی *A. parthenogenetica* شد، اگر چه با افزایش میزان غنی سازی، میزان بازماندگی کاهش یافت و تأثیر معنی داری بر فاکتورهای تولیدمثلی مشاهده نشد.

واژگان کلیدی: جلبک، روی، فاکتورهای تولیدمثلی، رشد.

مقدمه

ویتامین ها و آنزیم ها بسیار بالا بوده و به خصوص جهت رشد و نمو لارو ماهیان با دستگاه گوارش کاملاً توسعه نیافته بسیار مهم می باشد. آرتمیا از نظر تغذیه ای فیلترکننده غیر انتخابی است، بدین معنی که از کلیه مواد غذایی موجود در محیط که از نظر اندازه، قابلیت ورود به دهان را داشته باشد، استفاده می کند، بنابراین آرتمیا از میکروفلور خارجی همچون جلبک ها به خوبی تغذیه می کند (Sorgeloos, 1998). با گسترش صنعت آبی پروری و اهمیت تکنولوژی در دنیا و به خصوص در ایران، توسعه روز افزون پرورش انواع میگو و ماهی در کشور و اهمیت آرتمیا در تغذیه آنها، می توان با اعمال غنی سازی، از آرتمیا به عنوان حامل انواع مواد غذایی، ویتامین ها، مواد معدنی و آنتی بیوتیک ها استفاده کرد.

مواد معدنی برای فرایند زندگی عادی ضروری

با توجه به محدودیت هایی که در بهره برداری آبیان از دریاها و منابع آب شیرین وجود دارد، ذخایر طبیعی به تنهایی نمی تواند تقاضای روز افزون محصولات دریایی را برآورده سازد. به همین دلیل در چند دهه اخیر، صنعت آبی پروری به عنوان مکملی برای بهره وری از منابع طبیعی، مورد توجه قرار گرفته است. تجارب چندین ساله نشان می دهد که بهترین نتایج تکثیر و پرورش ماهی در صورت استفاده از غذای زنده مقصور بوده و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه خواهد بود (Herath and Atapaththu, 2013). پرورش غذای زنده به لحاظ وجود کارگاه های متعدد پرورش ماهی و نیاز به غذای زنده در سطح بالا، از توسعه چشمگیری برخوردار است. اهمیت غذای زنده از نظر پروتئین، چربی، اسید آمینه های ضروری،

انجام نشده است. بنابراین در تحقیق حاضر تاثیر جلبک *Dunaliella salina* غنی‌شده با روی سولفات بر فاکتورهای رشد، بقاء و تولیدمثلی *Artemia parthenogenetica* اطراف دریاچه ارومیه به‌عنوان یک زئوپلانکتون فیلترفیدر غیرانتخابی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ذخیره اولیه جلبک *D. salina* از پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه تهیه و با محیط کشت F2/Guillard و در شرایط استاندارد (میزان نور ۲۰۰۰ لوکس، دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد، شوری ۹۰-۸۰ گرم در لیتر و دوره نوری ۲۴ ساعت روشنایی) کشت شد. سپس جلبک‌ها با لام نئوبار و توسط میکروسکوپ Axisostar Zeiss شمارش شدند و تراکم آنها جهت غنی‌سازی با روی سولفات به $10^6 \times 18$ سلول در میلی‌لیتر رسانده شد. به‌منظور غنی‌سازی، ۲ سی‌سی از محلول‌های استوک روی معدنی (صفر، ۰/۸، ۱/۶، ۳/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) به لوله آزمایش حاوی ۱۸ میلی‌لیتر جلبک با تراکم $10^6 \times 18$ سلول در میلی‌لیتر اضافه شدند و سپس در داخل دستگاه لرزاننده (Shaker) با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از یک ساعت غنی‌سازی، نمونه‌ها به مدت ۶ دقیقه با ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و قسمت فوقانی دور ریخته شد. برای شستشوی کامل روی سولفات محلول باقی مانده، سانتریفوژ جلبک‌ها با آب‌شور با غلظت ۸۰ گرم در لیتر دو بار تکرار شد و در نهایت مواد رسوب شده به عنوان محصول نهایی جهت تغذیه آرتمیایها مورد استفاده قرار گرفتند (Matsumoto et al., 2009).

این غنی‌سازی به‌طور مرتب هر روز انجام می‌شد.

در این آزمایش سیستم *A. parthenogenetica* از پژوهشکده آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه تهیه گردید و در شرایط بهینه (شوری ۳۳ گرم بر لیتر، دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، pH ۸-۸/۱ و هوادهی شدید) در مدت زمان ۲۴ ساعت تفریح شدند

هستند و تمام حیوانات از جمله ماهیان به این عناصر معدنی مهم احتیاج دارند. مواد معدنی در شکل‌گیری استخوان‌ها و اسکلت، حفظ و نگهداری کلونیدی نقش داشته و برای ترکیبات مهم بیولوژیکی از قبیل هورمون‌ها و آنزیم‌ها نقش آنتی‌اکسیدانی دارند. کمبود مواد معدنی می‌تواند سبب آسیب‌های بیوشیمیایی، ساختاری و عملکردی شود. در طبیعت، زئوپلانکتون‌ها مقادیر روی بیشتری نسبت به آرتمیای تازه تفریح شده دارند، مقدار روی تقریباً ۱۲۳ و ۷۰۰ میکروگرم بر گرم در دو گونه از پاروپایان به‌دست آمده است (Watanabe et al., 1978). از این رو افزایش روی در آرتمیا در طول غنی‌سازی می‌تواند مفید باشد. همچنین روی به مقدار کافی برای تامین نیازهای ماهی در آب وجود ندارد و نیاز است تا از طریق رژیم غذایی کمبود این مواد معدنی تامین گردد (Fujita, 1972).

گونه‌های جلبکی از منابع مفید مواد معدنی برای آبی‌پروری هستند که چندین گونه جلبکی از جمله *Dunaliella tertiolecta*، *Isochrysis galbana* و *Nannochloropsis oculata* و *Dunaliella salina* در حال حاضر به‌طور گسترده در آبی‌پروری دریایی استفاده می‌شود (Fabregas and Herrero, 1985). جلبک‌ها به‌طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق غنی‌سازی آرتمیا، روتیفر، دافنی به تغذیه لارو آبی‌می‌رسد. جلبک‌ها با اندازه مناسب برای لارو انواع آبزبان و زئوپلانکتون‌ها استفاده می‌شوند؛ به‌عنوان مثال از ۱ تا ۱۵ میکرون برای فیلتر کننده‌ها و از ۱۰ تا ۱۰۰ میکرون برای خراشنده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. جلبک‌ها در تغذیه مراحل لاروی دوکفه‌ای‌ها، گونه‌های مختلف ماهی و میگو نقش بسیار مهمی دارند (Kawamura et al., 1988) و می‌توانند به‌عنوان حامل مواد مغذی ضروری از جمله مواد معدنی مورد استفاده قرار گیرند. مطالعات زیادی در مورد تاثیر جلبک‌ها بر سویه‌های مختلف آرتمیا وجود دارد؛ ولی مطالعه‌ای در مورد تاثیر جلبک‌های غنی‌شده با روی سولفات به‌عنوان ماده معدنی بر روی آرتمیا بکرزا

آرتمیاهای زنده در روزهای ۸، ۱۱، ۱۷ و ۲۱ محاسبه شد. بعد از مشاهده علائم بلوغ جنسی در جمعیت، از هر تیمار تعداد ۳۰ عدد آرتمیای پارتنوژنز به طور جداگانه داخل فالدون تیوپ‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند. در این مرحله نیز از آب شور با غلظت ۷۰ گرم بر لیتر استفاده شد و فالدون تیوپ‌ها داخل آکواریوم شیشه‌ای مجهز به بخاری آکواریوم در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از هر بار تولیدمثل، آب فالدون تیوپ‌ها تعویض گردید و تعداد سیست و ناپلیوس‌های تولیدشده شمارش شدند. برای شمارش سیست و ناپلیوس، از فیلتر ۱۵۰ میکرومتری استفاده شد و سپس تعداد سیست یا ناپلیوس‌های موجود در فیلتر زیر لوپ شمارش شدند. برای تعیین کارایی تولیدمثلی آرتمیا پارتنوژنز، تعداد ناپلی و سیست تولیدشده به ازای هر ماده، درصد سیست‌زایی و ناپلی‌زایی و طول دوره تولیدمثلی هر ماده مشخص شده و از نظر آماری مورد مقایسه قرار گرفت (Boon and Bass-Becking, 1931).

برای انجام آنالیزهای آماری از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نسخه ۲۰۰۷ نرم‌افزار Excel استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌های خام با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. داده‌های نرمال با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه بررسی شد و برای مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey استفاده شد. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد. داده‌های به‌دست آمده به صورت میانگین \pm استاندارد خطا ارائه شدند.

نتایج

بازماندگی و رشد: براساس نتایج درصد بازماندگی آرتمیا، در روز هشتم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($P > 0.05$)؛ اگر چه با افزایش غلظت روی درصد بازماندگی روند کاهشی را نشان داد (جدول ۱). در روز یازدهم به‌طور معنی‌داری بیشترین (۸۷/۴۷ درصد) و کمترین (۵۲/۰۳ درصد) درصد

(Sorgeloos *et al.*, 1986). در تمام تیمارها برای تغذیه آرتمیا از جلبک *D. salina* غنی‌شده با غلظت‌های متفاوت روی استفاده شد. در بطری‌های یک و نیم لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری ۷۰ گرم بر لیتر، تعداد ۵۰۰ عدد ناپلی تازه تفریخ شده آرتمیا معرفی و با تیمارهای غذایی مختلف تغذیه شدند. بطری‌ها در داخل آکواریوم شیشه‌ای مجهز به بخاری آکواریومی در دمای 26 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند. پرورش آرتمیا در هر تیمار با سه تکرار انجام گرفت و همچنین در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۷ آب محیط کشت تعویض گردید.

آزمایش حاضر در ۴ تیمار شامل (۱) تغذیه آرتمیا با جلبک بدون غنی‌سازی (تیمار شاهد)، (۲) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۰/۸ میلی-گرم روی، (۳) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۱/۶ میلی‌گرم روی و (۴) تغذیه آرتمیا با جلبک غنی‌شده با غلظت ۳/۲ میلی‌گرم روی انجام شد. غذادهی دو بار در روز انجام شد و برای دقت در غذادهی، میزان مورد نیاز از جلبک غنی‌شده با استفاده از سمپلر با دقت ۱۰ میکرولیتر به ظروف غذادهی آرتمیا اضافه گردید. به‌منظور جلوگیری از تنش شوری، میزان شوری محیط کشت آرتمیا به صورت روزانه با استفاده از شوری‌سنج (مدل ATAGO ساخت کشور ژاپن) کنترل شد و برای جبران آب تبخیر شده از آب مقطر استفاده گردید. همزمان با رشد آرتمیا مقادیر غذادهی (جلبک) در تمام غلظت‌ها براساس نسبت افزایش آرتمیا در جدول استاندارد غذادهی (Coutteau *et al.*, 1992) افزایش یافت.

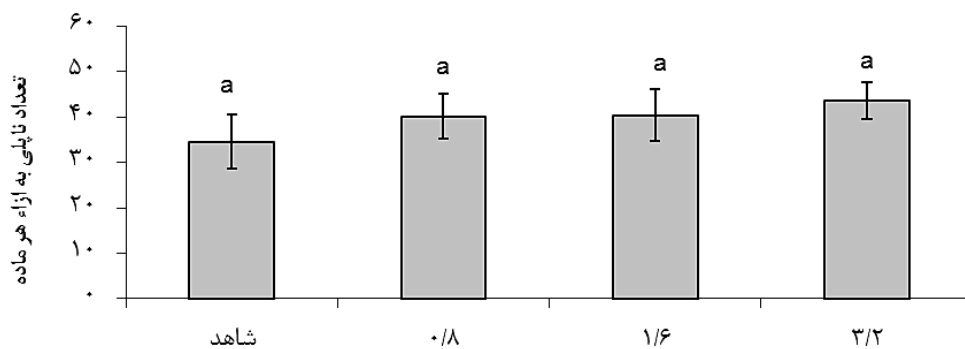
آرتمیا به‌مدت ۲۱ روز با تیمارهای مختلف تغذیه شدند. در روزهای ۸، ۱۱، ۱۷ و ۲۱ با گرفتن ۱۰ نمونه از هر تکرار زیست‌سنجی انجام گردید. برای این منظور پس از تثبیت در محلول لوگول، اندازه‌ی آرتمیا با استفاده از یک لوپ مجهز به استریومیکروسکوپ و دستگاه دیجیتایزر بر حسب میلی‌متر به‌دست آمد. میزان بازماندگی با شمارش

جدول ۱- بررسی میزان بازماندگی *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.

تیمارهای غذایی	روز ۸	روز ۱۱	روز ۱۷	روز ۲۱
شاهد	۹۵/۴±۵/۸۹ a	۸۶/۰±۸/۰۰ ab	۷۲/۵۳±۱۲/۰۳ ab	۶۷/۰۴±۱۳/۰۲ a
۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۹۴/۴±۷/۲۹ a	۸۷/۴۷±۶/۲۰ a	۷۵±۱۲/۱۲ a	۷۱/۳۳±۱۲/۲۲ a
۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۹۱/۴۷±۳/۱۱ a	۸۱/۱۳±۱۶/۵۷ ab	۷۹/۰۵±۳/۵۳ a	۷۷/۰۶±۲/۸۲ a
۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۸۰/۳±۱۱/۷۴ a	۵۲/۰۳±۱۴/۸۴ b	۳۷/۰۹±۱۱/۷۳ b	۲۷/۳±۳/۸۱ b

جدول ۲- بررسی میزان رشد طولی (طول کل) *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.

تیمارهای غذایی	روز ۸	روز ۱۱	روز ۱۷	روز ۲۱
شاهد	۳/۲۵۶±۰/۶۸ a	۵/۹۰±۱/۱۲ b	۷/۰۷±۱/۲۲ b	۷/۴۱۸±۱/۰۱۶ bc
۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۳/۱۱±۰/۰۸ a	۵/۴۸±۱/۰۱ b	۷/۰۷±۱/۵۴ b	۷/۲۵±۰/۱۷۹ c
۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۳/۰۲±۱/۰۶ a	۵/۸۹±۱/۵۵ b	۷/۳۶±۱/۵۱ b	۸/۱۲۸±۱/۲۰۳ ab
۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر روی	۳/۰۳±۰/۰۸ a	۷/۰۷±۲/۲۴ a	۹/۱۹±۱/۷۷ a	۸/۷۴۹±۱/۱۰۹ a



تیمارها (غلظت های مختلف روی، میلی گرم بر میلی لیتر)

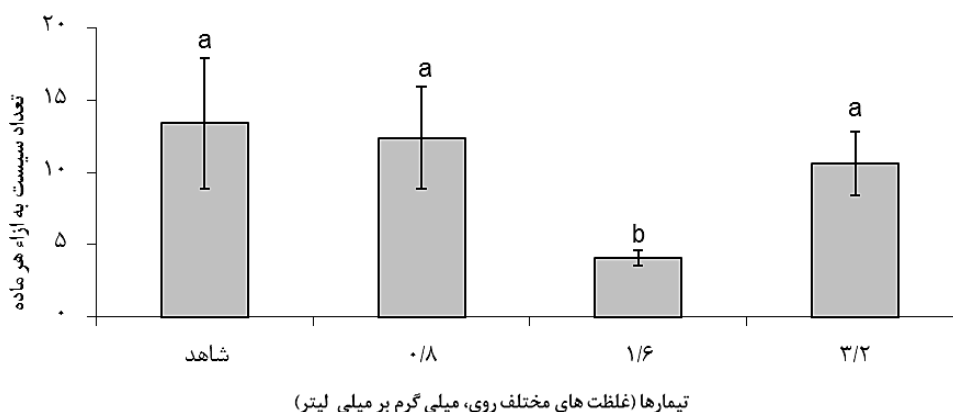
شکل ۱ - تعداد ناپلی به ازای هر ماده در *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.

بازماندگی به ترتیب در تیمار ۰/۸ و ۳/۲ میلی گرم مشاهده شد. بالاترین میزان بازماندگی در روز ۱۷ در تیمارهای ۰/۸ و ۱/۶ میلی گرم (۷۵ و ۷۹/۰۵ درصد) و کمترین میزان بازماندگی در تیمار ۳/۲ میلی گرم (۳۷/۰۹ درصد) حاصل شد ($P < 0/05$).

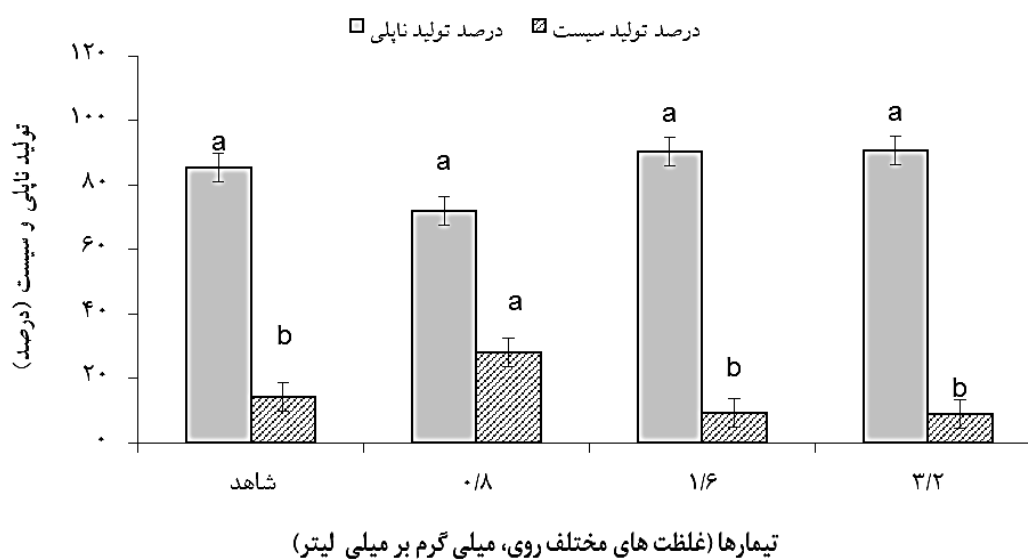
بازماندگی در روز ۲۱ پرورش بین تیمار شاهد، تیمار ۰/۸ و تیمار ۱/۶ میلی گرم اختلاف معنی داری نشان نداد ($P > 0/05$) ولی بالاترین (۷۷/۰۶ درصد) و پایین ترین (۲۷ درصد) میزان بازماندگی به ترتیب در تیمار ۱/۶ و ۳/۲ میلی گرم به دست آمد (جدول ۱). رشد طولی آرتیمیا در روز هشتم اختلاف معنی داری را بین تیمارها نشان نداد ($P > 0/05$) (جدول ۲)، اما در روزهای ۱۱، ۱۷ و ۲۱ بین تیمارها اختلاف معنی داری یافت شد ($P < 0/05$). بالاترین میزان رشد

تولیدمثل آرتیمیا: نتایج مربوط به میانگین تعداد ناپلی به ازای هر ماده در شکل ۱ آورده شده است. براساس نتایج با افزایش غلظت روی در جلبک غنی شده میزان تولید ناپلی نیز افزایش یافته و بالاترین (۴۳/۶۶ ناپلی) و پایین ترین تعداد ناپلی تولید شده به ترتیب در تیمار ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر و شاهد مشاهده شد اگر چه اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$).

براساس نتایج میانگین تعداد سیست تولید شده به ازای هر ماده (شکل ۲)، تیمار شاهد بالاترین



شکل ۲ - تعداد سیست به ازای هر ماده در *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.



شکل ۳ - درصد تولید ناپلی و سیستزایی در *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.

ترتیب در تیمار ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر (۱۳/۶ روز) و ۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر (۹/۵۷ روز) به دست آمد (شکل ۴، $P < 0.05$). طول دوره تولیدمثلی تیمار ۳/۲ میلی گرم بر میلی لیتر دارای اختلاف معنی داری با تیمار ۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود اما اختلاف معنی داری با تیمار شاهد و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر نشان نداد ($P > 0.05$).

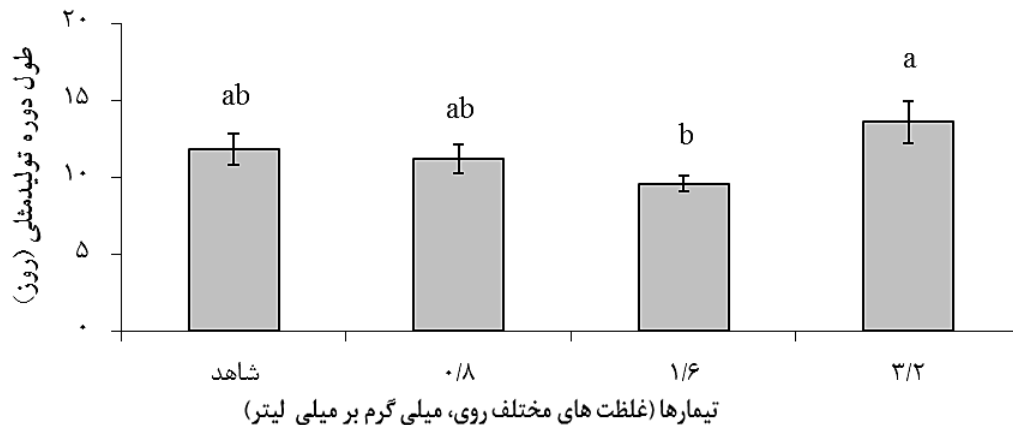
بحث

آب حاوی عنصر روی و سایر عناصر کمیاب و ریزمغذی می باشد، اما این مقدار برای آبریان کافی نبوده، بنابراین مکمل های غذایی برای تامین احتیاجات آبرزی مورد توجه می باشد (NRC, 1993).

(۱۳/۲۹) تولید سیست را نشان داد و پایین ترین (۴/۳۸) تولید سیست در تیمار ۱/۶ میلی گرم به دست آمد ($P < 0.05$). تیمار ۱/۶ و ۳/۲ میلی گرم اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان نداد ($P > 0.05$).

نتایج شاخص درصد تولید ناپلی و سیستزایی در شکل ۳ آورده شده است. بالاترین (90.54 ± 0.73) و پایین ترین (72.04 ± 0.56) درصد ناپلی زایی به ترتیب در تیمار ۱/۶ و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. پایین ترین (91.07 ± 0.47) و بالاترین (27.96 ± 2.19) درصد سیستزایی به طور معنی داری به ترتیب مربوط به تیمارهای ۳/۲ و ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر بود ($P < 0.05$).

بالاترین و پایین ترین طول دوره تولیدمثلی به



شکل ۴ - طول دوره تولیدمثلی *Artemia parthenogenetica* تغذیه شده با جلبک غنی شده با روی.

پرورش آرتمیا و روتیفر در شرایط مصنوعی از جمله تغریخ‌گاه‌های پرورش ماهی به‌ویژه ماهیان دریایی منجر به کاهش مقدار روی و دیگر عناصر ضروری و کمیاب می‌شود؛ به این دلیل که در این محیط‌های مصنوعی فراوانی غذا نسبت به محیط طبیعی محدودتر می‌باشد (Matsumoto *et al.*, 2009). به علاوه روش‌های شناخته شده غنی‌سازی این موجودات آبی مانند اسیدهای چرب و ویتامین‌ها نمی‌تواند برای عنصر روی مورد استفاده قرار گیرد، چون عنصر روی محلول در آب می‌باشد. در مطالعه حاضر از روش جدید برای معرفی روی به آرتمیا استفاده شد. در این روش ابتدا جلبک *D. salina* به‌عنوان غذای مورد استفاده آرتمیا پرورش داده شده و سپس با سانتریفیوژ کردن آن به غلظت مورد نظر رسیده و عنصر روی به جلبک اضافه شده و به مدت یک ساعت غنی‌سازی شد. میزان بازماندگی در روز ۲۱ پرورش نشان داد که بین تیمار ۳/۲ میلی‌گرم و بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد و میزان بازماندگی در تیمار ۱/۶ میلی‌گرم بیش از ۲ برابر تیمار ۳/۲ میلی‌گرم به‌دست آمد؛ در حالی که درصد بقا در روز ۸ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه شده با جلبک غنی‌شده نشان نداد. این یافته‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عنصر روی در جلبک میزان بازماندگی آرتمیا کاهش پیدا کرد. برعکس بالاترین میزان رشد طولی آرتمیا در تیمار

۳/۲ میلی‌گرم به‌دست آمد که در حدود ۱/۵ برابر تیمار 0/8 میلی‌گرم می‌باشد. این نتایج نشان داد که اگرچه میزان بازماندگی در تیمار حداکثر غنی‌سازی (۳/۲ میلی‌گرم) کاهش یافت، اما بیشترین میزان رشد طولی را نشان داد. محققان متعدد نشان داده‌اند که آرتمیا نسبت به سایر موجودات آبی نسبت به فلزات سنگین حساسیت کمتری دارند. بسیاری از این مطالعات (Browne 1980; Jayasekara *et al.*, 1986; Liu and Chen 1987) سمیت کوتاه مدت فلزات سنگین را در دوره ناپلیوسی و بلوغ مورد بررسی قرار داده‌اند، و تعدادی از مطالعات (Gebhardt 1976; Brix *et al.*, 2003a; Brix *et al.*, 2004b) نیز آرتمیا را در یک دوره تولیدمثلی در معرض فلزات سنگین مورد ارزیابی قرار دادند. ولی با این حال کاهش میزان بازماندگی آرتمیا می‌تواند به علت سمیت ایجاد شده توسط غلظت‌های بالای روی باشد. از طرف دیگر Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که روتیفر در تیمارهای تغذیه شده از جلبک غنی‌شده با عنصر روی رشد بهتری نسبت به تیمار تغذیه شده از جلبک بدون غنی‌سازی داشت.

دسترسی زیستی به مواد معدنی تحت تاثیر چندین عامل از جمله غلظت و شکل مواد مغذی، اندازه ذرات و قابلیت هضم مواد غذایی، اثرات متقابل مواد غذایی که می‌تواند مثبت یا منفی باشد، وضعیت

یافته‌ها چندان امکانپذیر نیست. در این مطالعه در اکثر پارامترهای تولیدمثلی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تغذیه‌ای مشاهده نشد. اگرچه بیشترین طول دوره تولیدمثلی، تعداد کل زاده‌ها و تعداد ناپلی تولیدی در تیمار ۳/۲ میلی‌گرم مشاهده شد. Maage (۱۹۹۴) گزارش داد که مکمل‌سازی غذا با عنصر روی به مقدار ۵۷ تا ۹۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم عملکرد رشد در تخم ماهی آزاد Atlantic (*Salmo salar*) را بهبود بخشید و مکمل‌سازی غذا با عنصر روی تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با تیمار غذایی حاوی ۵۷ تا ۹۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی نشان نداد. در مطالعه‌ای Trawick (۲۰۰۹) تأثیر عنصر روی بر رشد و تولیدمثل توتیای دریایی (*Lytechinus variegatus*) مطالعه شد و بیان داشتند که عنصر روی شرایط مناسب فیزیولوژیک برای گنادها را ایجاد کرده و با ذخیره شدن عنصر روی به مقدار کافی در سلول‌های جنسی عملکرد مناسب رشدی در جنین را فراهم می‌کند. اگرچه این محققین گزارش کردند سطوح بالای عنصر روی باعث کاهش شاخص گنادی، کاهش هم‌آوری و محتوای پروتئین و چربی گنادها شده و توانایی تولیدمثل کاهش پیدا می‌کند (Trawick, 2009).

در نتیجه‌گیری این تحقیق می‌توان بیان کرد جلبک غنی‌شده با روی باعث افزایش رشد طولی در آرتمیا *A. parthenogenetica* شد اگرچه میزان بازماندگی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین تولیدمثل آرتمیا در بعضی از پارامترها تأثیر معنی‌داری را نشان نداد. عدم تأثیر معنی‌دار بعضی از پارامترهای رشد، بازماندگی و تولیدمثل در آرتمیا می‌تواند به علت وجود اثرات آنتاگونیستی روی با دیگر عناصر ضروری باشد؛ بنابراین توصیه می‌شود در مطالعات آینده اثر متقابل سایر عناصر کمیاب و ضروری در کنار روی بر روی آرتمیا مورد بررسی قرار گیرد.

فیزیولوژیکی و آسیب‌شناسی آبی، غلظت مواد معدنی در آب و موجود آبی مورد نظر می‌باشد (Watanabe et al., 1997). برای مثال افزایش مقدار عنصر روی و کاهش عنصر منگنز تحت تأثیر اثرات متقابل منفی بین مواد مغذی ممکن است رخ دهد که احتیاجات موجود آبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. محققین گزارش کردند کاهش عنصر روی در آبزیان باعث ایجاد ضایعات پوستی، کاهش رشد، آب آوردگی، کوتولگی و کاهش میزان عنصر روی در سرم خون می‌شود. بنابراین میزان کافی عنصر روی در جیره آبزیان برای حفظ سلامتی و رشد بالا ضروری می‌باشد (Hughes 1985; Park and Shimizu 1989).

نتایج تأثیر عنصر روی در آبزیان متفاوت می‌باشد و به‌عنوان مثال در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم عنصر روی نسبت به میزان یک میلی‌گرم در کیلوگرم رشد بالاتری را نشان داد. در حالی که در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis aureus*) و آزاد اطلس (*Salmo salar*) سطوح مختلف عنصر روی تأثیر معنی‌داری بر رشد این ماهیان نداشت (McClain and Gatlin 1988; Maage et al., 2001). اگرچه سطوح این عنصر در بافت بدن به شدت تحت تأثیر میزان عنصر روی جیره بود. از سوی دیگر غلظت عنصر روی در بافت سخت با افزایش سطوح این عنصر افزایش می‌یابد (Chen, 2014). در تحقیقی Li و Huang (۲۰۱۶) گزارش کردند که سطوح مختلف عنصر روی بر عملکرد رشد ماهی تیلاپیای هیبرید (*Oreochromis niloticus*) اثر معنی‌داری ندارد و حتی سطوح بالاتر عنصر روی رشد پایین‌تری را نشان دادند. بنابراین در تایید نتایج ما مطالعات دیگری نیز نشان می‌دهد که با افزایش عنصر روی ممکن است رشد کاهش یابد.

با توجه به این‌که مطالعات در زمینه کاربرد عنصر روی بر عملکرد تولیدمثل آبزیان بسیار ناچیز می‌باشد، از این رو مقایسه داده‌های این مطالعه با سایر

- formulated larval feed. *Springer Plus* 2(102), 1-7.
- Hughes G.M., Tort L. 1985. Cardio-respiratory responses of rainbow trout during recovery from zinc treatment. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* 37(3), 255-266.
- Jayasekara S., Brown D.B., Sharma R.P. 1986. Tolerance to cadmium and cadmium-binding ligands in Great Salt Lake brine shrimp (*Artemia salina*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 11, 23-30.
- Kawamura T., Roberts R.D., Nicholson C.M. 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture* 160, 81-88.
- Li M.R., Huang C.H. 2016. Effect of dietary zinc level on growth, enzyme activity and body trace elements of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed soya bean meal-based diets. *Aquaculture Nutrition* 22(6), 1320-1327.
- Liu P.C., Chen J.C. 1987. Effects of heavy metals on the hatching rates of brine shrimp *Artemia salina* cysts. *Journal of the World Aquaculture Society* 18, 78-83.
- Lowry O.H., Lopez J.A. 1946. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. *Journal Biological Chemistry* 162, 421-428
- Maage A. 1994. Trace elements in Atlantic salmon *Salmo salar* nutrition, PhD dissertation, University of Bergen, Bergen, Norway, pp. 50.
- Maage A., Julshamn K., Berge G.E. 2001. Zinc gluconate and zinc sulphate as dietary zinc sources for Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 7(3), 183-187.
- Matsumoto S., Satoh S., Kotani T., Fushimi, H. 2009. Examination of a practical method for zinc enrichment of euryhaline rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture* 286(1-2), 113-120.
- McClain W., Gatlin D.M. 1988. Dietary zinc requirement of *Oreochromis aureus* and effects of dietary calcium and phytate on zinc bioavailability. *Journal of the World Aquaculture Society* 19(2), 103-108.
- Moreno-Garrido I., Lubián L.M., Soares, A.M.V.M. 1999. In vitro populations of rotifer *Brachionus plicatilis* Müller demonstrate inhibition when fed with copper-preaccumulating microalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 44(2), 220-225.
- منابع
- پرویز، ح. ا.، وحدت، س. ۱۳۹۰. مبانی بیولوژی و تکثیر و پرورش بی مهرگان غذایی آبی و خاکزی. انتشارات علمی آبیان، ۹۱۲ ص.
- حسینی، س.ع.، جلالی، م.ع. ۱۳۸۸. کاربرد غذای زنده در پرورش آبیان. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹۴ ص.
- Boone E., Bass-Becking L.G.M. 1931. Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. *Journal of General Physiology* 14, 753-763.
- Brix K.V., Cardwell, R.D. and Adams, W.J. 2003. Chronic toxicity of arsenic to the Great Salt Lake brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54, 169-175.
- Brix K.V., DeForest D.K., Cardwell R.D., Adams W.J. 2004. Derivation of a chronic site-specific water quality standard for selenium in the Great Salt Lake, Utah, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 606-612.
- Browne R.A. 1980. Acute response versus reproductive performance in five strains of brine shrimp exposed to copper sulphate. *Marine Environmental Research* 3, 185-193.
- Chen H.Y., Cheng Y.C., Hu L.C., Chen, M.H. 2014. Dietary zinc requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture* 432, 360-364.
- Coutteau P., Brendonck L., Lavens P., Sorgeloos P. 1992. The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. *Hydrobiologia* 234(1), 25-32.
- Fabregas J., Herrero C. 1985. Marine microalgae as a potential source of single cell protein (SCP). *Applied Microbiology and Biotechnology* 23, 110-113.
- Fujita T. 1972. The zinc content in marine plankton. *Records of Oceanographic Works in Japan* 11, 73-79.
- Gebhardt, K.A. 1976. Effects of heavy metals (cadmium, copper, and mercury) on reproduction, growth, and survival of brine shrimp (*Artemia salina*). Utah State University, Logan, UT.
- Herath S.S., Atapaththu K.S.S. 2013. Sudden weaning of angel fish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces; Cichlidae) larvae from brine shrimp (*Artemia sp*) nauplii to

- National Research Council (NRC). 1993. Nutrient requirements of fish. National Academy of Science of Washington, Washington, USA.
- Park C.W., Shimizu C. 1989. Suitable Level of Zinc Supplementation to the Formulated Diets in Young Eel 1, 2. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55(12), 2137-2141.
- Sorgeloos P., Coutteau P., Dhert P., Merchie G., Lavens P. 1998. Use of brine shrimp *Artemia spp.*, in larval crustacean nutrition; A review. *Reviews in Fisheries Science* 6, 55-68.
- Sorgeloos P., Lavens P., Leger P., Tackaert W., Versichele D., 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. State University of Ghent, Belgium. 319 p.
- Trawick K.N. 2009. The effects of dietary zinc on growth and reproduction of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Doctoral dissertation, University of Alabama at Birmingham, Graduate School).
- Watanabe T., Arakawa T., Kitajima C., Fukusho K., Fujita S. 1978b. Nutritional quality of rotifer *Brachionus plicatilis* as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 44, 1109-1114.
- Watanabe T., Kiron V., Satoh S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. *Aquaculture* 151(1-4), 185-207.
- Watanabe T., Satoh S., Takeuchi T. 1988. Availability of minerals in fishmeal to fish. *Asian Fisheries Science* I, 175-195.

Effect of zinc-enriched *Dunaliella salina* on growth, survival and reproduction performance of *Artemia parthenogenetica* around the Urmia Lake

Shahin Nahali¹, Nasrollah Ahmadifard^{1*}, Naser Agh², Naser Samadi³

¹Department of fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, P.O. Box: 46414-356, Urmia, Iran.

²Department of Artemia, Artemia and Aquaculture Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

³Department of Analytical, Physics and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

Received: 2018/2/22

Accepted: 2018/5/17

Abstract

In the present study, the effect of enriched *Dunaliella salina* with zinc in 4 concentrations (0, 0.8, 1.6 and 3.2 mg L⁻¹) was investigated on the growth, survival, and reproduction of *Artemia parthenogenetica*. Based on the results, on days 11, 17 and 21, the treatment of 3.2 mg L⁻¹ and 0.8 mg L⁻¹ had respectively the highest (7.07, 8.86 and 9.05 mm) and lowest (5.48, 7.06 and 7.25 mm) total length growth. In addition, survival rate decreased with increasing zinc content in the enrichment treatments and on days 11, 17 and 21. The lowest and highest survival rate was observed in the treatment of 3.2 and 0.8 mg L⁻¹, respectively. To determine the reproductive efficiency of *A. parthenogenetica*, the number of nauplii, cysts produced per female, encysted embryos percentage and the reproductive period of each female were investigated. The highest reproductive period (13.6 days) and nauplii production (43.64 nauplii) were significantly observed in treatment 3.2 mg L⁻¹ ($P>0.05$). Based on the results, the highest and lowest encysted embryos percentage in *A. parthenogenetica* were observed in treatment 0.8 and 3.2 mg L⁻¹, respectively. The results also showed that *D. salina* are well-enriched with mineral zinc and there was a significant increase in the total length growth. However, with increasing levels of enrichment, there was no increase in survival rates and all reproductive performance.

Keywords: Algae, Zinc mineral, Reproduction, Growth.