فصلنامه علمی – پژوهشی زیست‌شناسی جانوری، سال دوم، شماره چهارم، تابستان ۸۹، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

بررسی مراحل رشد آرتمیا ارومیانا (*Artemia urmiana*) در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از مخمر آبجو، عصاره کاهو و ویتامین c

یاسمن خامه‌چین*[۱]، امید ملکی بالاجو[۱]، سید رسول صادقی[۲]، شهرام شرفی[۲]، قنبر لایی[۲] و رضا نظام زاده[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، باشگاه پژوهشگران جوان، دامغان، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی، دامغان، ایران

yasaman.khamechin@gmail.com

چکیده

با توجه به اهمیت و ارزش اقتصادی آرتمیا در تغذیه ماهیان خاویاری و میگو با استفاده از غذاهای مختلف تجاری با هدف پرورش آرتمیا و تعیین نقش تغذیه مناسب این آبزی در افزایش ارزش غذایی آن، نحوه اثر عصاره کاهو و مخمر آبجو به عنوان دو نوع غذای متداول در پرورش تجاری، بر میزان رشد این آبزی مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، نیم گرم از تخم دکپسوله شده آرتمیا ارومیانا که از گونه‌های بومی ایران است، در زوک انکوباسون با حجم یک لیتر پرورش داده شدند. میزان نمک ودرجه حرارت در طول دوره پرورش، ۳۵ گرم در لیتر و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد ثابت بود. اندازه‌گیری و بررسی مراحل رشد با آغاز مرحله تغذیه مستقیم از محیط با استفاده از عصاره کاهو و مخمر آبجو تغذیه انجام شد. داده‌های حاصل از مطالعه مراحل رشد با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه قرار گرفت. سپس فراوانی داده تعیین گردید. تفاوت معنی‌داری را در طول دوره تغذیه با استفاده از این دو ماده غذایی مشاهده نشد. وضعیت رشد در هر دو گروه مورد مطالعه روند یکسانی را نشان دادند.

کلمات کلیدی: آرتمیا ارومیانا، عصاره کاهو، مخمر آبجو، آبشش پایان، تغذیه

مقدمه

امروزه با توجه به اهمیت و ارزش اقتصادی آبزیان در تولیدات صنعتی و کشاورزی مطالعات زیادی بر روی انواع گونه‌های آبزی صورت می‌گیرد. آرتمیا از انواع سخت‌پوستان متعلق به رده آبشش‌پایان است که به دلیل قابلیت‌های حیاتی و توانایی رشد در شرایط آب شور به عنوان یکی از ارزشمندترین آبزیان در تحقیقات اکولوژی و فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی و شیلات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰،۲ و۱۱]. اواسط دهه۸۰ میلادی تقاضای مصرف سیست آرتمیا برای توسعه پرورش آبزیان مانند ماهیان دریایی و میگو افزایش یافت به حدی که مصرف سیست آرتمیا در سال ۱۹۹۳ به بیش از ۱۵۰۰ تن رسیده است. با عنایت به اهمیت اقتصادی این آبزی تحقیقات زیادی بر روی فرآاورده‌های حاصل انجام شده است که از جمله می-توان به استخراج کیتوزان که در صنایع مختلف مانند صنایع غذایی، پزشکی، آرایشی، شیمی، کشاورزی ونساجی و داروسازی مصرف دارد اشاره نمود. تاکنون چندین گونه از آرتمیا که از نظر فیزیولوژی و نحو

رشد و تولید مثل شباهت زیادی به یکدیگر دارند شناسایی شده‌اند [۳]. در محیط زیست طبیعی در دوره‌های مشخص از سال، آرتمیا سیست‌هایی را تولید می‌کند که بر روی سطح آب شناور می‌مانند و بوسیله باد و امواج به ساحل رانده می‌شوند. این سیست‌ها از نظر متابولیکی غیرفعال و تا زمانی که خشک نگه داشته می‌شوند، مراحل رشد و تکامل جنینی را طی نمی‌کنند. اما با غوطه‌ور شدن در آب شور با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مشخص که برای هر گونه متفاوت می‌باشد. جنین داخل پوسته‌ها، متابولیسم خود را از سر می‌گیرد و پس از مدتی تغذیه از محیط را به صورت فیلتراسیون غیر انتخابی انجام می‌دهد. حداکثر اندازه‌ی این آبزیان ۱۵ میلی‌متر است که پس از طی مراحل رشد از لارو ناپلیوس ۲۹۲ میکرونی به این اندازه می‌رسد [۳ و۴]. گونه معروف و شناخته شده آن در ایران آرتمیا ارومیانا می‌باشد که در دریاچه ارومیه یافت می‌شود. علاوه بر آن در چند دریاچه دیگر مانند دریاچه شورابیل، مهارلو و شور و اینچه آرتمیا ارومیانا وجود دارد [۳ و۴]. تحقیقات زیادی بر روی مراحل رشد, تکوین وتغذیه آرتمیا در ایران انجام شده است [۱، ۳، ۴، ۵، ۶ و۸]. مرکز تحقیقات ارومیه در مجاورت دریاچه ارومیه فعالیت‌های بسیاری را در این زمینه انجام داده است [۱، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و۹]. با توجه به ارزش اقتصادی و تجاری این آبزی استفاده از غذای در دسترس و ارزان‌تر با توجه به نحوه تغذیه آرتمیا ارومیانا مورد توجه قرار دارد. اهمیت استفاده از نوع غذا برای پرورش این آبزی، تحقیقات زیادی را به خود اختصاص داده است. استفاده از غذاهای سنتزی، غذاهای گیاهی مانند سبوس، سویا و غیره و یا استفاده از مخمرها به دلیل روش تغذیه نتایج متفاوتی را در رشد آرتمیا نشان داده است. به این منظور برخی از مواد ذکر شده به عنوان منبع تغذیه در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان منبع غذایی مناسبی را جهت پرورش این آبزی پیشنهاد داد.

مواد و روش کار

این بررسی در دو مرحله انجام شد.

مرحله ۱- تعیین درصد تخمه‌گشایی و تفریخ مؤثره تخم‌ها: سیست‌های آرتمیانا ارومیانای مورد نظر از مرکز تحقیقات آرتمیا و جانوران آبزی ارومیه تهیه گردید. در محیط آزمایشگاه مقدار نیم گرم از سیست توسط ترازو وزن شد. سه زوک (ظرف استوانه-مخروطی) ظروف انکوباسیون به حجم یک لیتر از آب چاه دانشگاه با عناصر مشخص جدول ۱ استفاده شد. این زوک‌ها به یک آکواریوم بزرگ پر از آب توسط گیره‌های فلزی ثابت شدند. سیست‌ها با حفظ شرایط محیطی (تراکم ۰/۵ گرم در لیتر در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، استفاده از نور فلورسانس، اکسیژن دهی با سه پمپ هواده آکواریومی و اضافه کردن ۳۵ گرم سنگ نمک و تنظیم شد در (pH=7/۵)، به زوک‌ها انتقال داده شد. نمونه‌برداری در ۲۰ ،۴۰ و۶۰ ساعت اولیه از هر زوک، پنج بار به مقدار ۱۰ml توسط پیپت انجام شد و مقدار ناپلی، چتری و سیست‌های تخم-گشایی نشده در زیر لوپ شمارش شد و عکس تهیه گردید. در تمام نمونه‌ها، درصد تفریخ از فرمول $n(n+u+e)^{-1}.100$ و تفریخ مؤثره از فرمول $HE=N\times2000$ محاسبه شد.

جدول۱ـ درجه خلوص آب چاه دانشگاه

نام عنصر	نام اختصاری عنصر	واحد اندازه‌گیری برحسب mg/lit	واحد اندازه‌گیری بر حسب gr/lit	واحد اندازه گیری بر حسب gr/lit
کلر	Cl^{-}	۶/۷۵	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
سدیم	Na^{+2}	۵/۶	۰/۱۲۸	۰/۱۲۸
منیزیم	Mg^{+2}	۴/۶	۰/۲۲	۰/۲۲
کلسیم	Ca^{+2}	۳/۸	۰/۳۰۴	۰/۳۰۴
پتاسیم	K^{+}	–	–	–
فسفر	P^{+}	–	–	–

مرحله ۲- تغذیه و استفاده از مخمر آبجو و عصاره کاهو: پس از آخرین نمونه‌برداری سیست‌های تخم گشایی شده با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت از سیست‌های تخم گشایی نشده جدا شد و به چهار آکواریوم کوچک به حجم پنج لیتر با هدف تغذیه ناپلیوس‌ها با حفظ شرایط فوق انتقال داده شد. برای تغذیه از مخمر آب جو، عصاره کاهو به همراه مکمل غذایی ویتامین C استفاده شد (جدول۲). غذادهی از روز سوم و هر ۴۸ ساعت یکبار به طوری که یک قرص مخمر آب جو و ۱۰ گرم از برگ کاهو، هر کدام به طور جداگانه و به همراه یک قرص ویتامین C به طور جداگانه در یک لیتر آب با هوادهی شدید به مدت ۲۴ ساعت مخلوط گردید و پس از آن به ازای هر یک لیتر آب به مقدار ۵ml از شیرابه غذاها توسط پیپت برداشت شد و به نمونه‌ها اضافه گردید. پس از آن در هر روز ناپلی‌ها به صورت تصادفی از داخل هر ظرف نمونه‌برداری و بیومتری شدند و با توجه به تغییرات رشد و تکامل قسمتهای مختلف بدن مقدار غذا روزانه به مقدار معین ۲۵ml در لیتر افزایش یافت. مراحل مختلف رشد با استفاده از جدول ۲ تقسیم‌بندی شدند. سپس داده‌های بدست آمده طی مراحل رشد با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و فراوانی و پراکندگی آنها تعیین شد.

جدول ۲ـ مشخصات ظروف و مراحل رشد در مرحله دوم

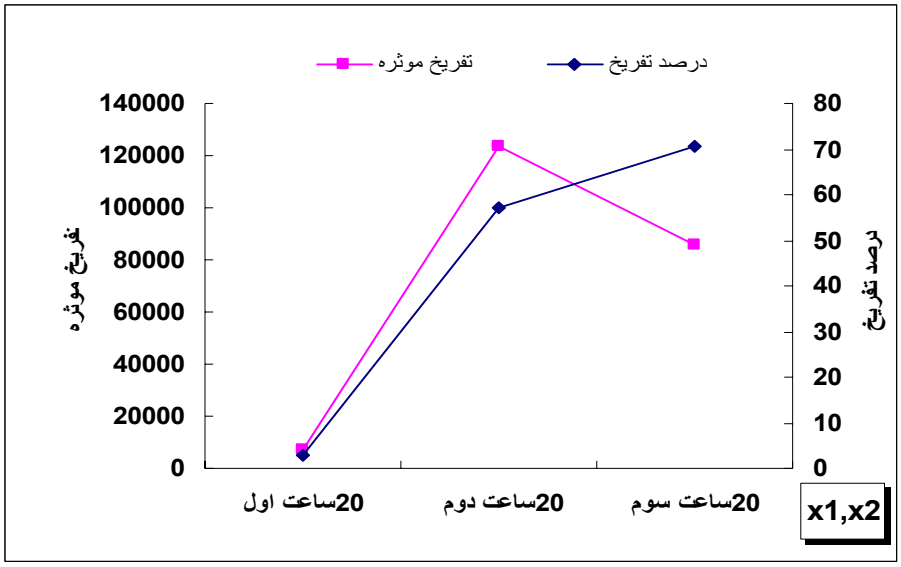
	متاناپلیوس	پست متاناپلیوس	پست لاروی	بلوغ
مخمر آبجو	Y1	X1	Z1	A1
عصاره کاهو	Y2	X2	Z2	A2

جدول ۳ـ ارزش غذایی مواد مورد استفاده در تغذیه آرتمیا

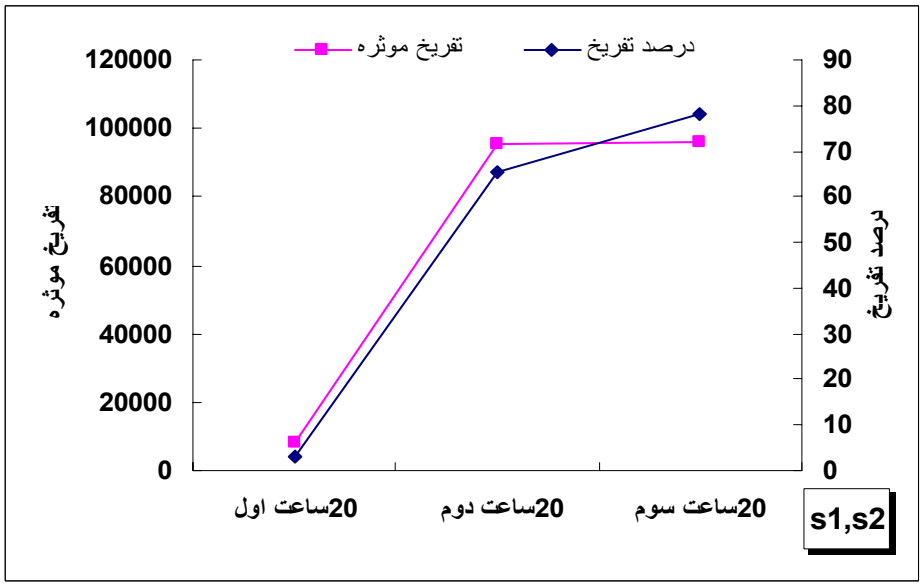
ماده غذایی	کاهو	مخمر
انرژی(کیلو کالری)	۱۸	۲۹۱/۷
پروتئین(گرم)	۱/۳	۳۸/۳۳
کربوهیدرات(گرم)	۳/۵۰۹	۳۸/۳۳
لیپید(گرم)	۰/۳	۱۵
ویتامین B_1 (میلی گرم)	۰/۰۵۱	
ویتامین B_2(میلی گرم)	۰/۰۸	
ویتامین B_3(میلی گرم)	۰/۴۰۷	۳۹/۷۵
ویتامین B_5(میلی گرم)	۰/۲	۱۱/۳۳
آهن(میلی گرم)	۱/۴	۱۶/۵۸
فسفر(میلی گرم)	۲۵/۰۹	
کلسیم(میلی گرم)	۶۸	۶۶/۶۷
روی(میلی گرم)	۰/۲۹۱	۶/۴۱۷

نتایج و بحث

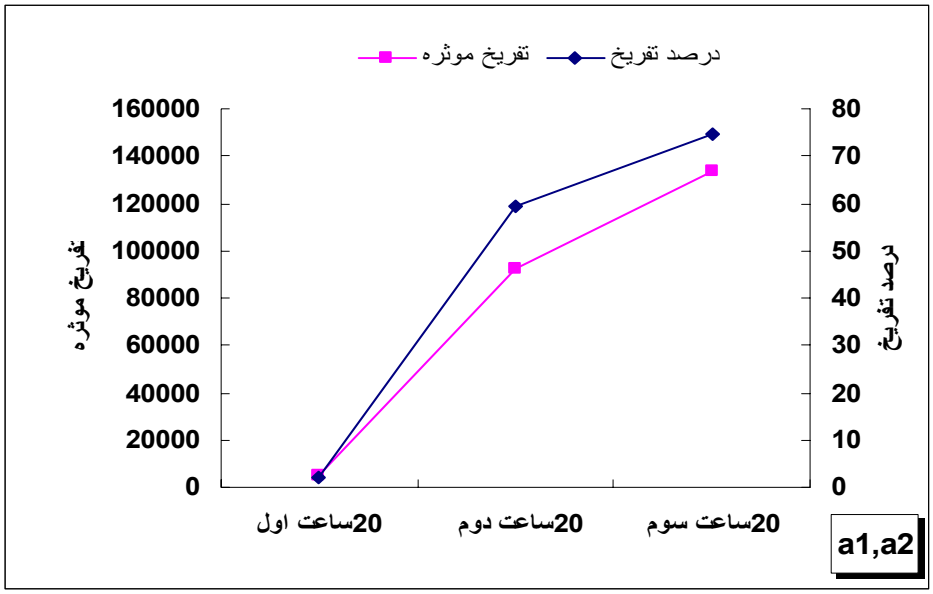
مرحله اول: در هر ۲۰ ساعت تعداد تخم‌های تفریخ شده اندازه‌گیری شد و مراحل مختلف آن به صورت عکس نشان داده شد. نمودار در صد تفریخ و تفریخ مؤثره بیانگر روند تقسیم و رشد مناسب آرتمیا ارومیانا در طول زمان تفریخ تخم‌ها است. در سه مرحله (نمودارهای ۱، ۲ و۳) اندازه‌گیری درصد تفریخ و تفریخ مؤثره ۷۰ تا ۸۰ درصد را نشان می‌دهد. نمودار درصد تفریخ و تفریخ مؤثره روند منطقی رشد در سه مرحله اندازه‌گیری را بیان می‌کنند. ارتباط بین آنها منطقی و معنی‌دار است.



نمودار شماره ۱ـ تفریخ وتفریخ مؤثره در ظرف شماره ۱



نمودار شماره ۲ـ تفریخ و تفریخ مؤثره در ظرف شماره ۲



نمودار شماره ۳ ـ درصدتفریخ و تفریخ مؤثره در ظرف شماره ۳

مشخصات دوره رشد جنینی در زیر میکروسکوپ در مقایسه با مطالعات قبلی ویژگی‌های جنینی دوره رشد نشان می‌دهد، که تکامل اندام‌های بدن با استفاده از کیسه زرده به خوبی انجام شده است.

مرحله چتری: در این مرحله جنین از پوسته آویزان می‌گردد که به آن چتری می‌گویند. بخش سینه‌ای و شکم کشیده و بخش عقبی لوله گوارش هنوز بسته است. غده آنتنی فعال شده است. سلول‌های زایشی اولیه مهاجرت می‌کنند. حلقه عصبی جلوی مری شکل می‌گیرد و سیستم عصبی قابل مشاهده است. فیبرهای عصبی از پروتوسربروم به گانگلیون‌های چشم ناپلیوس کشیده شده‌اند (شکل ۱).

مرحله تفریخ: جنین به شکل گلابی است. E_1 و E_2 در این مرحله اتفاق می‌افتد (شکل ۲).

مرحله نخست لاروی: از این مرحله به آن ناپلیوس می‌گویند. یک لبه بزرگ بالای در ناحیه شکمی روی دهان قرار دارد. دارای یک چشم میانی قرمز رنگ و سه جفت زائده بدنی است. غدد نمکی در این مرحله نمایان می‌شود. بدن بندبند نیست و هیچ اثری از جوانه‌های پاهای سینه‌ای دیده نمی‌شود. در این دوره تغذیه نمی‌کند و از کیسه زرده استفاده می‌کند (شکل ۳).

مرحله دوم: با پایان دوره ناپلیوس و کامل شدن دستگاه گوارش و شکل‌گیری دهان تغذیه آغاز می‌شود [۴]. در این مرحله نمونه‌ها در دو روش متفاوت تغذیه شدند. در شکل تجاری استفاده از غذاهای مختلف برای پرورش آرتمیا متداول است [۴]. غذای اصلی آرتمیا در محیط اصلی زندگی نوعی از جلبک‌های هالوفیت است [۴]. با توجه به ارزش اقتصادی و

تجاری این آبزی استفاده از غذای در دسترس و ارزانتر با توجه به نحوه تغذیه آرتمیا ارومیانا مورد توجه قرار دارد. از آنجا که هدف تغذیه و بررسی تأثیر دو ماده غذایی عصاره کاهو و مخمر آبجو همراه با ویتامین**c**، در روند تغذیه این جانور بود، پس از تغذیه به روش ذکر شده نمونه‌ها در ظروف مختلف اندازه‌گیری و بیومتری شدند. تعیین فراوانی اندازه رشد از ظروف تغذیه نمونه‌برداری تصادفی انجام شد. نمودارهای شماره ۴، ۵، ۶ و۷ پراکندگی اندازه رشد در هر دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. پس از تغذیه، به جز مرحله متاناپلیوس در سایر مراحل رشد، بررسی نمودارهای ظروف حاوی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. پراکندگی اعداد به وجود آمده بین دو ظرف محتوی عصاره کاهو می‌تواند نشانه خطا در اندازه‌گیری نمونه‌ها و یا تغییرات ساختاری به جهت سازگاری برخی از افراد نمونه با تغذیه از این ماده یا عصاره کاهو باشد. چرا که در سایر مراحل رشد نیز روند ارتباط تغذیه و رشد نمونه‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد. بنابراین تغذیه با عصاره کاهو تاثیری در مراحل رشد متاناپلیوس و سایر مراحل رشد نشان نمی‌دهد و مشابه تأثیر استفاده از مخمر آبجو است. در جنبه تجارتی پرورش آرتمیا، رشد اندازه به دلیل بازاری بودن ظاهر نمونه، به ویژه برای کسانی که آرتمیا را برای تغذیه ماهیان آکواریومی استفاده می‌کنند اهمیت دارد. به نظر می‌رسد با توجه به کم هزینه بودن تهیه عصاره کاهو نسبت به مخمر آبجو استفاده از آن در سطح وسیع پرورش مقرون به صرفه‌تر باشد. ضمن اینکه با توجه به فراوانی مواد مورد نیاز برای رشد آرتمیا با مخمر غنی‌تر از حالتی خواهد بود که با عصاره کاهو تغذیه شود.

در هر مرحله دوم با استفاده از میکروسکوپ نمونه‌ها اندازه‌گیری و عکس نمونه‌ها تهیه شد. در مرحله متا-ناپلیوس دهان باز شد و تغذیه از محیط انجام شد. شکل‌های شماره ۳، ۴ و ۵ روند تغییرات رشد را تا مرحله بلوغ نشان می‌دهند.

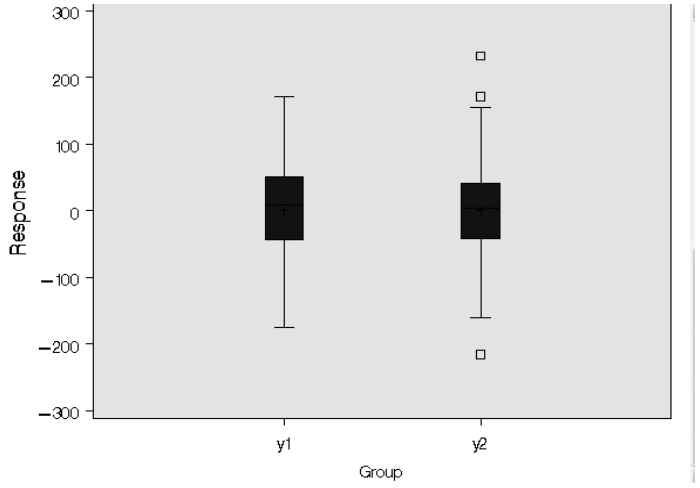
مرحله متاناپلیوس: دو تا شش روز ادامه دارد و از این مرحله تغذیه شروع شد. دهان در زیر لب قرار دارد. بدن حالت بندبند داشت و در این مرحله بندها شش عدد بودند. پاهای سینه‌ای ظاهر می‌شود. روی هر یک از لب‌های انتهایی ناحیه شکمی یک تار مشاهده شد (شکل ۴).

مرحله پست متاناپلیوس: با پنجمین پوست‌اندازی آغاز شد. لب فوقانی کوچک‌تر و نوک تیزتر می‌شود و شکل زبان به خود می‌گیرد. یک فرورفتگی در زیر بند هشت، تلسون را شکل می‌دهد. اندام‌های تولیدمثلی به صورت جوانه‌هایی در ناحیه بندهای تناسلی ظاهر می-شوند.

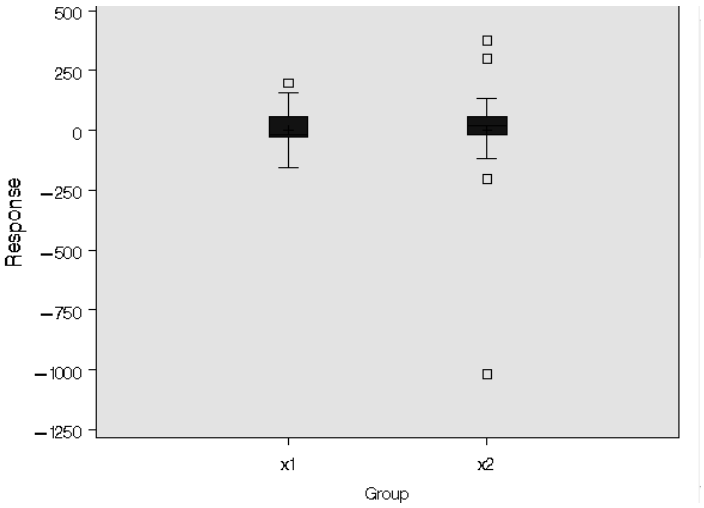
مرحله پست لاروی: رشد پایک‌های چشمی و بزرگتر شدن چشم‌های مرکب، رشد اندام‌های تولیدمثلی نر و ماده، کوچک شدن شاخک‌ها در آرتمیای ماده و رشد آن‌ها در آرتمیای نر از مشخصات این مرحله است (شکل ۵).

مرحله بلوغ: بدن سه قسمتی از سر، سینه و شکم مشخص تشکیل شد. در سر یک جفت شاخک حسی باریک، یک جفت چشم مرکب با پایک‌های بلند و همچنین یک جفت شاخک بزرگ با قلاب‌های جفت-گیری در ناحیه شکمی– جانبی سر آرتمیای نر مشاهده

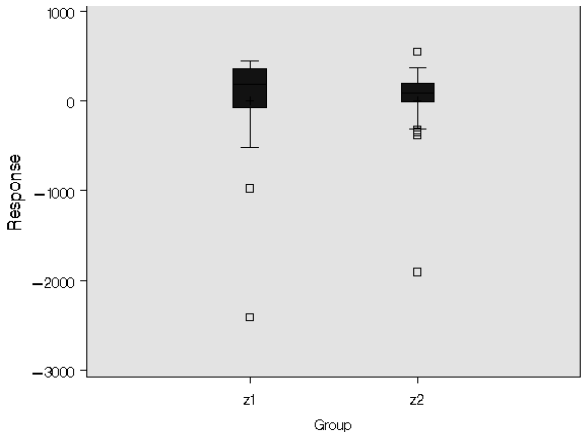
شد. ناحیه شکمی هشت بند و یک تلسون دارد. دو بند اول شکمی بندهای تناسلی داشت. دهان در ناحیه شکمی ـ میانی دارای یک لب زبان مانند و آرواره‌های بزرگ در طرفین است که پایین‌تر از دهان قرار دارد. تلسون به صورت دو شاخه مشاهده شد که روی آن تعدادی تار وجود دارد و این انشعابات تار مانند در تشخیص گونه‌ها بسیار مهم می‌باشد [۳]. چگونگی اجتماع تخم در زیر شکم مشاهده شد (شکل ۶).



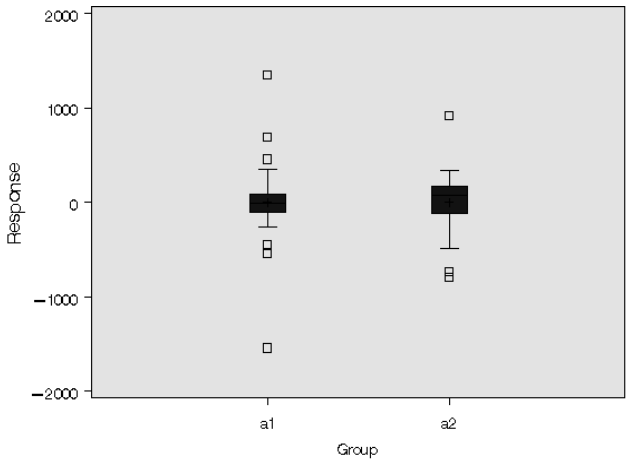
نمودار ۴ـ پراکندگی اندازه در مرحله متاناپلیوس و مقایسه آنها در دو ظرف محتوی عصاره کاهو y2 مخمر آبجو y1



نمودار ۵ـ پراکندگی اندازه در پست متاناپلیوس و مقایسه آنها در دو ظرف محتوی عصاره کاهو X2 مخمر آبجو X1



نمودار ۶ـ پراکندگی اندازه در دوره پست لاروی و مقایسه آنها در دو ظرف محتوی عصاره کاهو Z2 مخمر آبجوZ1

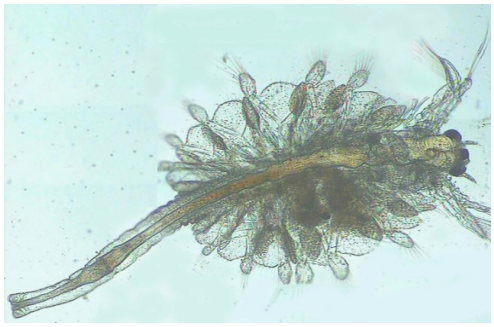


نمودار ۷ـ پراکندگی اندازه در دوره پست لاروی و مقایسه آنها در دو ظرف محتوی عصاره کاهو: a_2 مخمر آبجو: a_1

شکل۱- مرحله چتری آرتمیا ارومیانا در زوک انکوباسیون

شکل۴ـ مرحله متاناپلیوس در آرتمیا ارومیانا

شکل۲- مرحله تفریخ تخم در آرتمیا اورمیانا در زوک انکوباسیون



شکل۵- مرحله پست لاروی آرتمیا اورمیانا

شکل۳- مرحله نخست لاروی آرتمیا اورمیانا در زوک انکوباسیون

شکل۶ـ مرحله بلوغ آرتمیا اورمیانا دارای تخم و تخم-های زیر شکم

منابع

۱-آذروندی، ع. (۱۳۶۶)، پوسته زدایی آرتمیا و نقش آن در تغذیه نوزادان، پایان نامه ۱۶۰۸دکترای دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحه ۱۲۸

۲-اکبری، پ.، س.ع. حسینی، م. ایمانپور، م. سوداگروف و ف. شالویی (۱۳۸۷)، بررسی اثر ناپلئوس‌های آرتمیا ارومیانا غنی شده با اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره و ویتامین C روی مقاومت در برابر تنش‌های محیطی دما و کمبود اکسیژن در لاروهای قزل‌آلای رنگین کمانی (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله زیست شناسی ایران جلد۲۱، شماره ۴

۳- پاتریک، ل. و س. پاتریک (۱۳۸۲)، کتاب کاربرد آرتمیا در تکثیر و پرورش آبزیان، انتشارات دریاسرصفحات۱۱- ۱۴

٤- حافظیه، م (۱۳۸۲)، آرتمیا، میگوی آب شور، انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران، مدیریت اطلاعات عمومی وروابط بین المللی، صفحات۸۵ – ۹۲

۵- حافظیه، م، ح. حسین‌پور (۱۳۷۸)، بررسی بیولوژی و تراکم آرتمیا در دریاچه مهارلو. مرکز تحقیقات منابع طبیعی دامور دام جهان استان فارس. صفحه۶۸

٦- طیبی، ل، س. ج. سیف‌آبادی، ع. عابدیان و ن. آق (۱۳۸۴)، بررسی قابلیت تخم گشایی سیست وترکیبات بیوشیمیایی ناپلیوس آرتمیا ارومیه در زمان های مختلف انکوباسیون، مجله علمی شیلات، شماره۳، پاییز ۱۳۸۴

۷- طیبی، ل، س. ج. سیف آبادی، ع. عابدیان و ن. آق (۱۳۸۴)، بررسی اثر دما بر قابلیت تخم گشایی و ارزش غذایی ناپلیوس آرتمیا ارومیانا، مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره ۸ ، شماره۴.

۸ـ عاصم، ع، ن. رستگار پویانی (۲۰۰۸)، تمایز مورفولوژی آرتمیا ارومیانا در چهار ایستگاه مختلف از دریاچه ارومیه، Research Jurnal of Biological Sciences شماره۲، صفحات۲۲۲-۲۲۸

۹ـ قربانی، ر، ع. حاجی‌مرادلو، ن. آق، م. سلطانی، ف. نوری و ع. ایرانی (۱۳۸۳)، غنی سازی آرتمیا با اکولنیک اسید برای پیشگیری از آلودگی باکتریایی *Aromonas hydrophila* لارو ماهی قره برون *Acipenser persicus*، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال ۱۳، شماره ۲

۱۰ـ وجودی‌زاده، ح، ف. قزلباش، ح. ریاحی و ر. مناف‌فر (۱۳۸۶)، بررسی میزان رشد و بقای سه گونه مختلف آرتمیا در تغذیه با جلبک‌های تک سلولی، مجله علمی شیلات ایران، سال۱۶، شماره ۴.

11- Girri, S. S., S. K. Sahoo, B. B. Shu, A.K, Sahu., S.N. Mohanty, P. K. Mohanty and S. Ayyappan. 2002. Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regims. Aquaculture, 213: 157-161.