

The effects of unicellular microalgae as food on the growth, survival and reproductive characteristics in *Artemia urmiana*

Fereidun Mohebbi^{*1}, Masoud Seidgar¹,
Mahmood Hafezieh², Reza Ahmadi¹,
Parvin Mohebbi Garalar³

1. Assistant Professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, National Artemia Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, P.O.Box: 368, Urmia, Iran

2. Associate professor, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

3. Expert, Maragheh Education and Training Organization, Maragheh, Iran

(Received: Jun. 29, 2014 - Accepted: Aug. 14, 2016)

Abstract

This study was performed to compare the efficiency of 6 microalgae namely *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella* sp., (green algae), *Nannochloropsis oculata*, *Spiroliina* sp. (blue-green algae) *Cheatocherus* sp. (Diatoma), and *Isochricis* sp. (Haptophytae) on the growth, survival and reproduction efficacy in *Artemia urmiana* in laboratory conditions. Artemia cysts were harvested from Urmia Lake and hatched according to the standard method. Live microalgae were cultured using the F/2 Guillard's culture medium. Artemia survival was determined in treatments on days 8, 11, 14, 17 and 20. Length growth of *A. urmiana* was measured in three-day intervals. To determine reproduction efficiency characteristics such as cysts production, intervals between two successive reproductions, first reproduction time and the date of female Artemia were analyzed. The results indicated a significant difference ($p < 0.001$) among three microalgae in terms of length growth, survival rates and reproduction characteristics in *A. urmiana*. There was a direct relationship between Artemia length growth and reproductive characteristics. This study showed that survival rate, length growth and reproductive characteristics of *A. urmiana* fed by *Dunaliella tertiolecta* were significantly higher than *A. urmiana* fed by other microalgae. It seems that Artemia culture in salt water with *Dunaliella* as natural flora is a suitable choice.

Keywords: *Artemia urmiana*, microalgae, length growth, survival

اثر تغذیه با جلبک‌های تک سلولی بر رشد، بازماندگی، سیست‌زایی و ارزش غذایی آرتمیا اورمیانا در شرایط آزمایشگاهی

فریدون محبی^{*۱}، مسعود سیدگر^۱، محمود حافظیه^۲،
رضا احمدی^۱، پروین محبی قرالر^۳

۱. استادیار، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، مرکز تحقیقات آرتمیای

کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

۲. دانشیار، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳. کارشناس، اداره آموزش و پرورش مراغه، مراغه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۵/۲۴)

چکیده

جلبک‌های تک سلولی، مناسب‌ترین غذا برای آرتمیا هستند. کارایی شش گونه جلبکی *Tetraselmis* *Dunaliella tertiolecta* و *Spiroliina* sp. از جلبک‌های سبز *Chlorella* sp. و *suecica* و *Nannochloropsis oculata* از جلبک‌های سبز-آبی و *Cheatocherus* sp. از شاخه دیاتومه‌ها و *Isochricis* sp. S از شاخه هاپتوفیتا بر روی رشد، بازماندگی و خصوصیات تولید مثلی آرتمیا اورمیانا در شرایط آزمایشگاهی مقایسه شد. سیست آرتمیا از دریاچه ارومیه صید و مطابق روش‌های استاندارد تخم‌گشایی شد. جلبک‌های تک سلولی در محیط کشت F/2 Guillard's کشت و مورد تغذیه آرتمیا قرار گرفتند. درصد بقاء آرتمیا در تیمارهای مختلف در روزهای ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷ و ۲۰ تعیین گردید. رشد طولی آرتمیا اورمیانا در فواصل سه روزه اندازه‌گیری شد. برای تعیین کارایی تولید مثلی آرتمیا، میزان سیست و ناپلی تولید شده، فاصله بین دو تولید مثل متوالی، زمان اولین تولید مثل و زمان مرگ آرتمیای ماده بررسی شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین جلبک‌های مورد آزمایش از نظر هر سه عامل رشد طولی، میزان بقاء و خصوصیات تولید مثلی آرتمیا اورمیانا وجود دارد ($P < 0.001$). بین میزان رشد طولی و خصوصیات تولید مثلی آرتمیا رابطه مستقیمی مشاهده شد. همچنین میزان بقاء، رشد طولی و خصوصیات تولید مثلی آرتمیا اورمیانای تغذیه‌شده با جلبک *Dunaliella tertiolecta* به طور معنی‌داری بیشتر از آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های دیگر می‌باشد ($P < 0.001$). لذا پرورش آرتمیا در آب‌های دارای جلبک دونالیلا، گزینه‌ای مناسب محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آرتمیا اورمیانا، ریز جلبک، رشد طولی، میزان بقا.

مقدمه

فیتوپلانکتون‌ها اساس زنجیره غذایی را در محیط‌های آبی تشکیل می‌دهند و میکروآلگ‌ها یکی از منابع غذایی ضروری برای عمل‌آوری بسیاری از گونه‌های پرورشی آبزیان (از جمله تمامی مراحل رشد نرم‌تنان دوکفه‌ای، مراحل لاروی بعضی گونه‌های سخت پوستان و مراحل بسیار اولیه رشد گونه‌هایی از ماهی‌ها) می‌باشند. به علاوه جلبک‌ها برای تولید تعداد زیادی از زئوپلانکتون‌ها (روتیفرها، پاروپایان و آرتمیا استفاده می‌شوند که آنها نیز به نوبه خود به عنوان غذای مراحل لاروی و اوایل مرحله جوانی سخت‌پوستان و ماهی‌ها به کار می‌روند (Cautteu, 1996)).

جلبک‌ها نقش مهمی در تثبیت کیفیت آب، تغذیه لاروها و کنترل میکروبی ایفا می‌کنند. البته تمام گونه‌های مختلف جلبک اهمیت و موقعیت یکسانی در رشد و بقای یک جانور پالید خوار ندارند. گونه‌های جلبکی مناسب، بر اساس توانایی کشت یا پرورش توده‌ای، اندازه سلولی، قابلیت هضم و ارزش غذایی برای تغذیه جانوران انتخاب می‌شوند. برای پرورش این گونه‌های غذایی روش‌های مختلفی وجود دارد که از کشت‌های وسیع فاقد کنترل تا روش‌های کشت متمرکز تک‌گونه‌ای را شامل می‌شود (Cautteu, 1996). آرتمیا به دلیل خصوصیات زیست‌شناختی خاص خود می‌تواند از رژیم‌های غذایی مختلفی استفاده نماید که شامل میکروآلگ‌های تک سلولی زنده، میکروکپسول‌ها و ضایعات صنایع غذایی می‌باشند (Lavens and Sorgeloos, 1991). سویه‌های مختلف میکروآلگ‌ها به عنوان منبع عالی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و ویتامین‌هاست که می‌تواند به عنوان غذا در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرند. *Nannochloropsis* sp. به عنوان منبع اسید چرب غیر اشباع شده EPA شناخته شده است (Radhakrishnan et al., 2009). *Chlorella* sp. نیز به عنوان منبع EPA شناخته می‌شود. گونه‌های جلبکی مناسب برای موجودات

فیلترکننده‌ای مثل آرتمیا بر اساس پتانسیل کشت، اندازه سلول، میزان هضم‌پذیری و ارزش غذایی انتخاب می‌شوند (حافظیه، ۱۳۸۳). دیاتومه‌ها به عنوان منبع مناسبی از اسیدهای چرب غیراشباع مخصوصاً *Lora vilchis* 3-5ω: 20 در نظر گرفته می‌شوند (and Voltolina, 2003; María Concepción Brown et al., 1997; Dunstan et al., 1992) و مخصوصاً *Chlorella* دارای میزان بالایی از کاروتنوئیدها و اسید آسکوربیک است (Machie et al., 1995) که می‌تواند در رشد و افزایش کیفیت غذایی آرتمیا در طولانی مدت اهمیت داشته باشد.

با در نظر گرفتن رشد فزاینده فعالیت‌های آبزی‌پروری، مطالعه بیشتر در باره میکروآلگ‌های مناسب برای تغذیه آرتمیا ضروری به نظر می‌رسد. به علاوه مطالعه روی جمعیت‌های بومی آرتمیا راهکاری برای یافتن منابع طبیعی جدید است که توسعه آبزی‌پروری را در آن منطقه میسر می‌سازد. از طرف دیگر در حالی که مطالعات زیادی روی اثر جلبک‌های مختلف روی سویه‌های متفاوت آرتمیا وجود دارد، ولی مطالعات کمی روی اثر جلبک‌های مختلف به عنوان غذا روی *Artemia urmiana* انجام شده است. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه اثرات میکروآلگ‌های مختلف بر روی رشد، میزان بقا و خصوصیات تولیدمثلی *A. urmiana* و نیز تعیین مناسب‌ترین گونه به عنوان غذای آن در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

استوک‌های مایع جلبک‌های *Spirolina*، *Chaetocerus* و *Tetraselmis* از پژوهشکده اکولوژی بندرعباس (در فصل تابستان) و استوک مایع جلبک *Dunaliella tertiolecta* از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه (در اوایل پاییز)

حرکت آرتمیا در هنگام اندازه‌گیری آرتمیاها کشته شدند. جهت اندازه‌گیری طول بدن آرتمیا از دستگاه استریومیکروسکوپ مدل Motoc SMZ-168 مجهز به دستگاه Motoc MLC-150c و نرم‌افزار Motoc image plus 2.0 استفاده گردید. بعد از بالغ شدن آرتمیاها، به‌طور تصادفی تعداد ۳۰ نمونه آرتمیای بالغ ماده از هر جمعیت انتخاب شده و به‌طور جداگانه داخل ظروف استوانه‌ای - ته مخروطی کوچک، بنام فالکون قرار داده شدند (یک آرتمیای ماده در هر فالکون). هر فالکون ۵۰ میلی‌لیتر آب شور فیلتر شده (۸۰ ppt) داشته و مشخصات مربوط به نوع آرتمیا، شوری آب و شماره نمونه روی آن نوشته شد. برای کنترل دمای فالکون‌ها آنها را داخل جعبه مخصوص قرار داده، سپس جعبه داخل آکواریومی با دمای ۲۵°C قرار داده شد (Boon and Bass-Becking, 1931). به ازای هر آرتمیا، روزانه یک قطره محلول Lansy و یک قطره جلبک شمارش شده (غلظت ۱۸×۱۰^۶ سلول در میلی‌لیتر) به فالکون‌ها اضافه گردید. در نهایت با توجه به زمان اولین و آخرین تولید مثل طول دوره‌های پیش تولید مثلی، تولیدمثلی و پس تولید مثلی، با توجه به زمان مرگ آرتمیای ماده طول عمر و با توجه به نوع و تعداد زاده‌ها در هر ماده، تعداد زاده‌ها در هر تولید مثل، تعداد تولید مثل در هر ماده، تعداد زاده‌ها در هر ماده در هر روز از دوره تولید مثلی، فاصله بین دو تولید مثل، درصد سیست‌زایی، تعداد سیست، لارو و کل زاده هادر هر ماده مشخص شده و از نظر آماری مورد مقایسه قرار گرفت (Boon and Bass-Becking, 1931). در این مطالعه جهت مقایسه میانگین صفات از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون Duncan در نرم‌افزار SPSS 18 استفاده شد. نمودارهای مربوطه توسط برنامه Excel 2007 رسم گردید.

نتایج

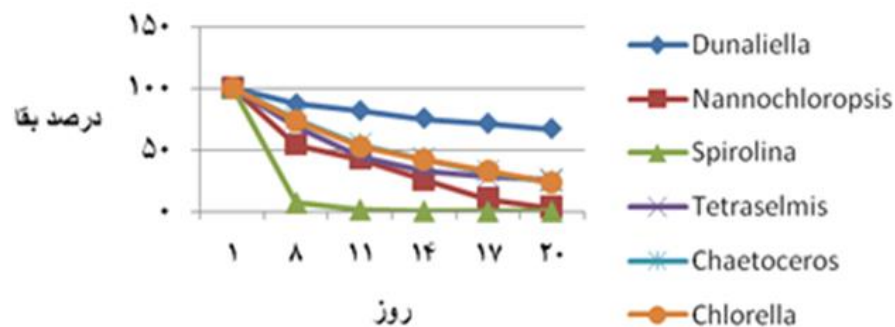
نتایج حاصل از بررسی درصد بقا نشان داد که آرتمیای

تهیه گردید. از استوک‌های مایع به لوله‌های آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری حاوی آب با شوری ppt ۲۵-۲۰، محیط کشت F2/Guillard's، منتقل گردید. لوله‌ها با پنبه بسته و استریل گردیدند. بعد از سرد شدن لوله‌ها یک الی دو قطره محلول ویتامین B₁ و B₁₂ به هر لوله اضافه گردید. لوله‌ها در شرایط مناسب (میزان نور ۱۰۰۰ لوکس و دمای ۲۵°C) قرار داده شده و هر روز چهار بار هم زده می‌شدند. بعد از گذشت ۱۲-۱۰ روز جلبک موجود در لوله‌ها تکثیر و لوله‌ها سبز شدند. سپس هر لوله به یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. ارلن‌های مذکور استریل بوده و دارای آب دریای فیلتر شده، محیط کشت F2/Guillard's و ویتامین به مقادیر لازم بودند. بعد از سبز شدن ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری آنها به ارلن‌های دو لیتری منتقل گردیدند. بعد از شمارش جلبک‌ها تراکم آن را به ۱۸×۱۰^۶ cell/ml رسانده و از آن در تغذیه آرتمیا استفاده شد. برای انجام این کار، تراکم جلبک با لام نئوبار و توسط میکروسکوپ Nikon ECLIPSE تعیین گردید.

تراکم آرتمیا در شروع آزمایش یک آرتمیا در دو میلی‌لیتر آب بود که در روز هشتم به یک آرتمیا در سه میلی‌لیتر و در روز چهاردهم به یک آرتمیا در چهار میلی‌لیتر کاهش داده شد. بقای آرتمیا با جلبک‌های مختلف در روزهای ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۲۰ اندازه‌گیری شد. به این منظور آرتمیاهای موجود در هر ظرف پرورشی به کمک الک‌های ۱۵۰ میکرومتری جمع‌آوری شده و توسط قطره چکان مخصوص شمارش گردید. در نهایت، درصد آرتمیاهای باقیمانده نسبت به آرتمیاهای اولیه محاسبه گردید. میزان رشد آرتمیاها (طول بدن از سر تا انتهای بند شکمی) نیز در روزهای ۱، ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷، ۲۰ و ۲۳ و بالغ اندازه‌گیری شد. برای این منظور از چهار تکرار مختلف هر تیمار جمعاً تعداد ۳۰ آرتمیا به‌طور تصادفی انتخاب شده و به شیشه ساعت منتقل شدند. با افزودن چند قطره فرمالین ۱۰٪ جهت جلوگیری از

مانی را به خود اختصاص دادند (شکل ۱). آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های نانوکلوپسیس، کلرلا، کیتوسروس و تتراسلمیس به ترتیب ۲/۷۵، ۲۳/۵، ۲۳/۸۷ و ۲۵/۹ میانگین درصد بقا را داشتند.

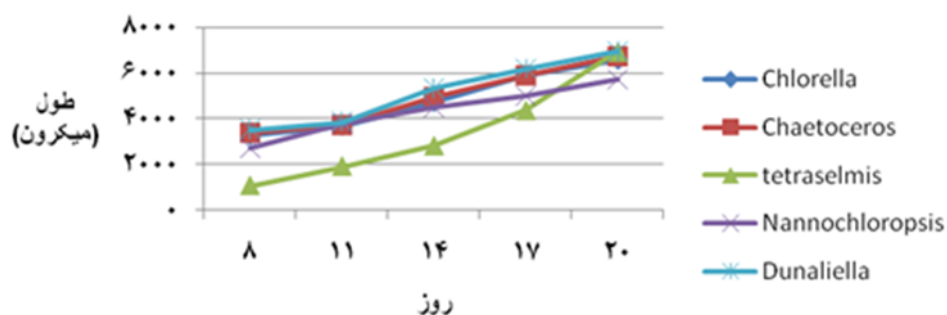
تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا (*Dunaliella tertiolecta*) با میانگین میزان بقا ۶۶/۷۵ درصد و آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک اسپیرولینا با میزان بقا صفر درصد به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین میزان زنده



شکل ۱. منحنی تغییرات درصد بقای آرتمیا اورمیانا تغذیه‌شده با جلبک‌های مورد آزمایش

بالاترین میزان رشد طولی را نشان می‌دهند. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا، کیتوسروس و تتراسلمیس با ۶/۵۵، ۶/۷۳ و ۶/۹۲ میلی‌متر طول به ترتیب جایگاه‌های بعدی را به خود اختصاص داده‌اند (شکل ۲).

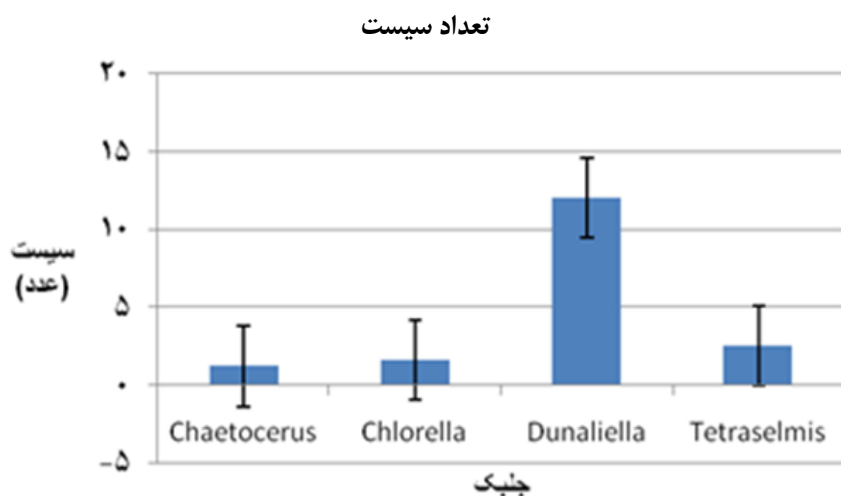
نتایج میزان رشد طولی آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف در طول دوره آزمایش نشان داد که آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا و نانو کلروپسیس با ۵/۷ میلی‌متر و ۶/۹۵ میلی‌متر طول در پایان دوره آزمایش به ترتیب پایین‌ترین و



شکل ۲. منحنی میانگین رشد طولی آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مورد آزمایش

طرف دیگر آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک کیتوسروس با میانگین ۱/۲ سیست در هر روز پایین‌ترین میزان تولید سیست را به خود اختصاص داد ($P < 0.001$). همچنین، آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس و کلرلا از نظر تولید سیست (به ترتیب با ۲/۴۹ و ۱/۶۳) از نظر سیست‌زایی در حد متوسط قرار داشتند (شکل ۳).

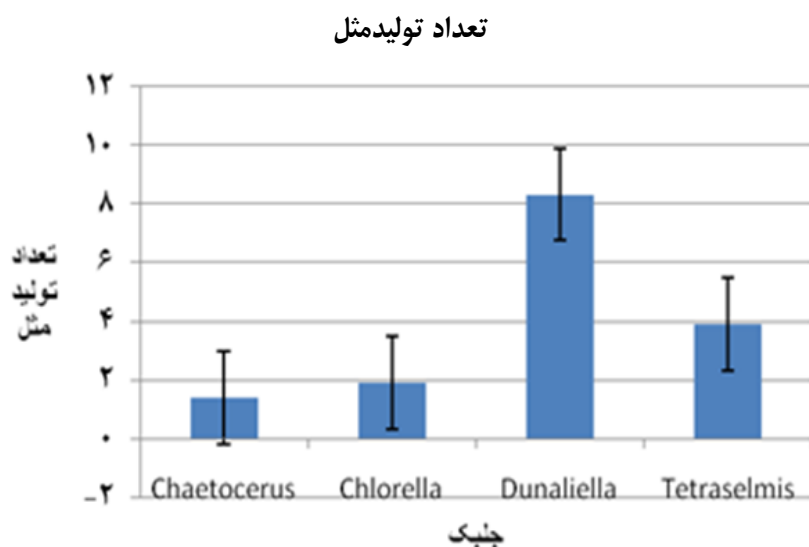
نتایج مطالعه خصوصیات تولید مثلی فقط برای چهار جلبک دونالیلا، تتراسلمیس، کلرلا و کیتوسروس نشان داده شده است، چرا که آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های دیگر به سن بلوغ و تولیدمثل نرسیدند. از نظر تعداد سیست تولیدشده، آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با میانگین ۱۲ سیست در هر روز بالاترین تولید سیست را داشت. از



شکل ۳. نمودار تعداد سیست تولید شده توسط آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف

تعداد تولید مثل را به خود اختصاص داد ($P < 0.001$). همچنین آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس و کلرلا (به ترتیب با ۳/۹ و ۱/۹ بار تولید مثل) از نظر تولید مثلی در حد متوسطی قرار داشتند (شکل ۴).

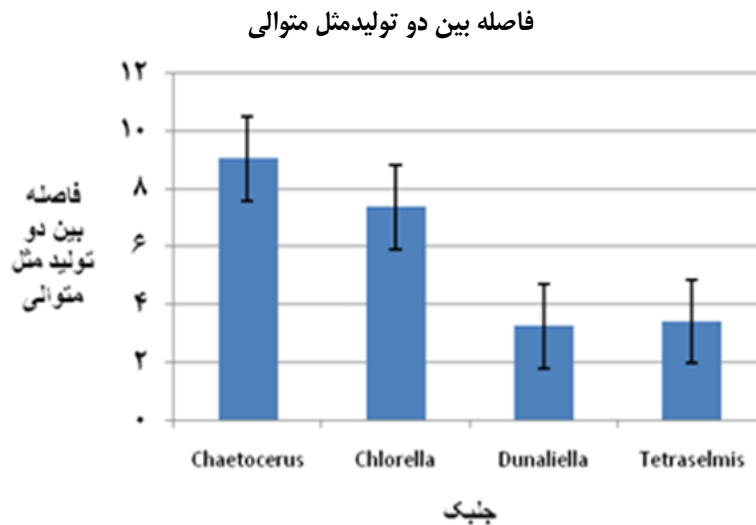
از نظر تعداد تولید مثل در طول دوره آزمایش آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با میانگین ۸/۳۳ بار تولید مثل بیشترین تعداد تولید مثل را دارا بود. از طرف دیگر، آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک کیتوسروس با میانگین تعداد تولید مثل ۱/۳۹ کمترین



شکل ۴. میانگین تعداد تولید مثل آرتمیای ماده تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف

روز بین دو تولید مثل متوالی قرار گرفت. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا و کیتوسروس به ترتیب با فاصله زمانی ۷/۳۷ و ۹/۰۴ روز به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۵).

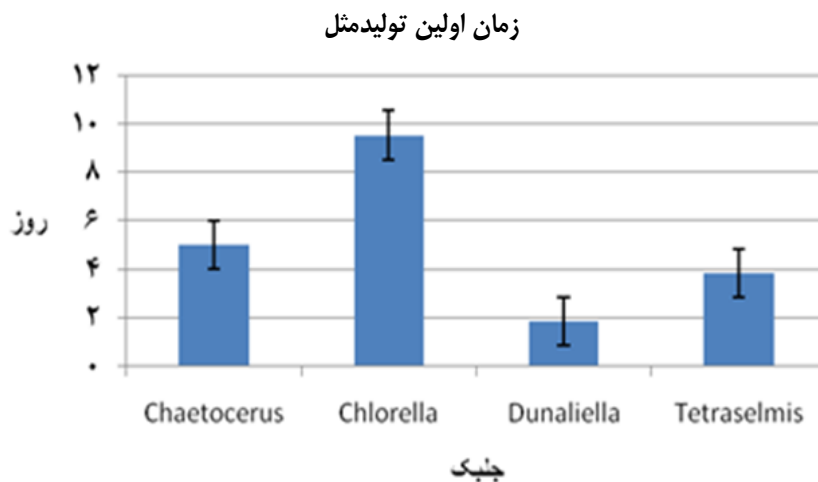
آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا کمترین فاصله زمانی (۳/۲۳ روز) بین دو تولید مثل متوالی را به خود اختصاص داد. پس از آن آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس با فاصله زمانی ۳/۴۱



شکل ۵. میانگین فاصله بین دو تولید مثل متوالی (روز) در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف

تولید مثل در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس، کیتوسروس و کلرلا به ترتیب ۳/۸۵، ۵/۰۴ و ۹/۵۶ روز ثبت گردید (شکل ۶).

زمان اولین تولید مثل در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا (۱/۸۹ روز) سریع‌ترین زمان تولید مثل در بین تیمارهای آزمایشی بود. زمان اولین



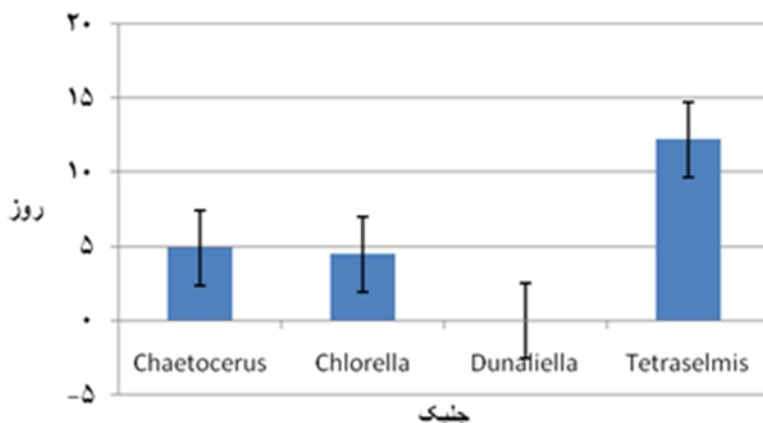
شکل ۶. میانگین زمان اولین تولید مثل (روز) در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف

جلبک کیتوسروس ۴/۹ روز و در جلبک کلرلا ۴/۴ روز بود (شکل ۷).

طبق شکل ۳ آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا تعداد سیست بیشتری نسبت به آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس، کیتوسروس و کلرلا تولید نمود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.001$).

زمان مرگ مولد ماده در هر جفت آرتمیا نشان‌دهنده کیفیت تغذیه آن می‌باشد. در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا تا آخر دوره آزمایش (۳۰ روز) مرگ مولد مشاهده نشد. در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس میانگین طول عمر ماده‌ها ۱۲/۲ روز بود که بالاترین طول عمر پس از جلبک دونالیلا را به خود اختصاص داد. طول عمر میانگین آرتمیای تغذیه‌شده با

تلفات



شکل ۷. زمان مرگ مولد ماده آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های مختلف

طول زندگی را (۶۳ روز) افزایش و دوره بلوغ را به ۱۴ روز و دوره بارداری را به ۴ روز کاهش داد. *U. spiralis* تعداد تولید مثل، باروری و تولید ناپلی را نیز افزایش داد. این امر نشان می‌دهد که این جلبک می‌تواند بقاء، رشد و تولید مثل را در آرتمیای بهتر از جلبک‌های قرمز و قهوه‌ای تامین نماید. ما نیز در این مطالعه از جلبک‌های سبز به عنوان بخشی از تیمارها استفاده کردیم. مالدونادو و همکاران در سال ۲۰۰۵ گونه آرتمیای بومی مکزیک را با سبوس برنج (روزهای ۱ تا ۶) و جلبک تتراسلمیس سوئسیکا (روزهای ۷ تا ۱۵) پرورش دادند. آنها میزان بقاء ۷۹٪ را در انتهای آزمایش گزارش کردند که نسبت به مقدار مشاهده شده در روز ۱۴ آزمایش ما بالاتر بود. آنها همچنین طول ۵/۳۴ میلی‌متر را برای آرتمیای در انتهای آزمایش (روز ۱۴) به دست آوردند. این مقدار نسبت به نتیجه به دست آمده از مطالعه ما برای آرتمیای اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس در روز ۱۴ بالاتر است. این اختلافات را می‌توان به گونه آرتمیای و به آب و هوای حاره‌ای مکزیک نسبت داد که بسیار متفاوت می‌باشند. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، نتایج حاصل از مطالعه Vogodzadeh *et al.* (2007) را تایید می‌نماید. آنها دریافتند که آرتمیای اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک نانوکروپسیس اوکولاتا

بحث

میکروآلگ‌ها در محیط‌های طبیعی، منبع اصلی غذای آرتمیای را تشکیل می‌دهند. برای مثال در دریاچه ارومیه میکروآلگ *Dundaliella* گونه غالب فلور جلبکی دریاچه بوده و بیش از ۹۰٪ از تراکم جلبکی آن را تشکیل می‌دهد (Mohebbi *et al.*, 2009; Mohebbi, 2010). بنابراین بدیهی است که آرتمیای اغلب در زیستگاه‌های طبیعی خود از جلبک *Dundaliella* تغذیه می‌نماید. جلبک دونالیلا دارای بتا کاروتن می‌باشد که در رنگ‌دهی به میگوی تغذیه‌شده با آرتمیای غنی‌شده با این جلبک اثر مثبت و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز دارد (Hannah *et al.*, 2013; Mandumathi and Rengasang, 2011).

سه گروه جلبک ماکرو متعلق به جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و سبز با ۹ گونه به عنوان بخشی از ترکیبات همراه با سبوس برنج برای ساختن غذای آرتمیای استفاده گردید (Punitha *et al.*, 2007). اکثر جلبک‌های قهوه‌ای و قرمز در مقایسه با سبوس برنج بقای مناسبی در آرتمیای ایجاد نکردند. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های سبز حداکثر بقاء را نشان دادند. دلیل این امر ممکن است به علت وجود حداکثر مقدار پروتئین در این جلبک‌ها باشد. جلبک‌های سبز به‌ویژه *Ulva spiralis* به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$)

با جلبک تتراسلمیس و بالاترین میانگین رشد طولی مربوط به آرتمیای است که با جلبک دونالیلا تغذیه شده است. جلبک دونالیلا به علت داشتن ارزش غذایی بالا می‌تواند رشد طولی بالاتری را در آرتمیای تغذیه شده با آن به وجود آورد. گومز و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که آرتمیای تغذیه شده با محصولات فرعی کشاورزی مثل سبوس برنج و سبوس ذرت رشد طولی بالاتری نسبت به آرتمیای تغذیه شده با جلبک کیتوسوس دارند، اگرچه میزان بقاء در رژیم جلبک کیتوسوس بیشتر بود. ولی آرتمیای حاصل از سبوس برنج و سبوس ذرت علیرغم رشد طولی بیشتر از نظر اسیدهای چرب غیر اشباع ضعیف‌تر از آرتمیای تغذیه شده با جلبک کیتوسوس بودند. این امر ارزش غذایی بهتر جلبک‌ها را نسبت به غذاهای آماده نشان می‌دهد. حافظیه در مطالعه‌ای (۱۳۸۳) نشان داد که استفاده از کیتوسوس به عنوان غذای زنده آرتمیا اورمیانا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش اندازه طولی اختلاف معنی‌داری را نشان داد. این مطالعه نتایج حاصل از مطالعه ما را تایید می‌کند. در مطالعه ما تأثیر جلبک کیتوسوس بر رشد طولی آرتمیا بیشتر از جلبک کلرلاست (شکل ۲)، ولی این اختلاف بر خلاف مطالعه Hafezieh (2004) از نظر آماری معنی‌دار نیست. از آنجا که اسیدهای چرب غیر اشباع HUFA از عوامل مؤثر در رشد می‌باشد، ممکن است افزایش رشد در آرتمیای تغذیه شده با کیتوسوس به بالا بودن میزان اسیدهای چرب غیراشباع در این گونه مربوط باشد. همچنین او مشخص کرد که استفاده از کیتوسوس به عنوان غذای آرتمیا نسبت به تیمار کلرلا در افزایش درصد بازماندگی اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهد. این یافته نیز با یافته‌های حاصل از مطالعه ما تطابق دارد که در آن درصد بازماندگی آرتمیا با تیمارهای کیتوسوس و کلرلا اگرچه اختلاف جزیی با یکدیگر دارند ولی این اختلاف معنی‌دار نیست (شکل ۱).

حتی با وجود اینکه تا روز سی‌ام پرورش داده شد، هیچگونه سیست یا لاروی تولید نکرد. آرتمیا اورمیانا تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس دارای میانگین طولی کمتری نسبت به آرتمیای تغذیه شده با جلبک‌های دیگر می‌باشد، و بازده تولیدمثلی آن نیز نسبت به جلبک‌های دیگر کمتر است. این امر نشان می‌دهد که بین میزان رشد طولی و خصوصیات تولید مثلی آرتمیا اورمیانا ارتباط مستقیمی وجود دارد (Amat, 1980). به همین ترتیب مشاهده می‌شود که آرتمیا اورمیانا تغذیه شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا دارای بالاترین میانگین رشد طولی بوده و خصوصیات تولید مثلی آن نیز نسبت به آرتمیای تغذیه شده با جلبک‌های دیگر بهتر است (شکل ۲). در مطالعه ما آرتمیای تغذیه شده با جلبک اسپیرولینا پایین‌ترین میزان بقاء (۱۸/۵٪) را به خود اختصاص داده است و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با جلبک‌های دیگر دارد ($P < 0/001$). علت این امر رشته‌ای بودن و اندازه بزرگ آنهاست که آن را برای تغذیه آرتمیا نامناسب می‌سازد (Garcia-Ulloa and Garcia-Olea, 2004). در واقع اگر بخواهیم اسپیرولینای زنده را به عنوان غذا به آرتمیا بدهیم آن را باید پس از خشک کردن آسیاب کرده و به صورت پودر درآورد. از طرف دیگر در این مطالعه آرتمیای تغذیه شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا بالاترین میزان بقاء (۸۰/۲٪) را به خود اختصاص داده است که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با جلبک‌های دیگر دارد ($P < 0/001$). علت این امر را می‌توان به ارزش غذایی بالای جلبک دونالیلا برای تغذیه آرتمیا نسبت داد (Hannah et al., 2013). جلبک‌های مورد استفاده در این مطالعه را از نظر میزان تأثیر بر درصد بقاء آرتمیا اورمیانا می‌توان به صورت زیر طبقه‌بندی کرد:

دونالیلا < کیتوسوس < کلرلا < تتراسلمیس < نانوکروپسیس < اسپیرولینا
کمترین رشد طولی مربوط به آرتمیای تغذیه شده

بررسی مقایسه‌ای جمعیت‌های اسپانیایی و انواع خارجی آرتمیا توسط Amat (1980) انجام گرفت. در این تحقیق هماهنگ با اندازه‌گیرهای مورفولوژیکی، تعداد جنین‌ها، ناپلی‌ها و سیست‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص گردید که تعداد جنین‌ها، ناپلی‌ها و سیست‌ها با طول ماده‌های مربوطه در ارتباط بودند. این یافته با داده‌های حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد و ارتباط مثبت طول آرتمیا با خصوصیات تولیدمثلی آن در تحقیق حاضر نیز نشان داده شده است. در مطالعه‌ای که توسط Mohammadyari (2002) انجام گرفت کمترین فاصله بین دو تولید مثل متوالی برای آرتمیای برکه‌های اطراف دریاچه ارومیه و بیشترین آن برای آرتمیای قم به دست آمد. Meija *et al.* (1999) میانگین فاصله بین تولید مثل‌ها به طور متوسط چهار روز برای جمعیت‌های آرتمیای مکزیکی و A. *franciscana* گزارش کردند. در مطالعه ما از نظر تعداد سیست تولید شده آرتمیا اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با تعداد ۱۲ سیست برای هر ماده بالاترین میزان تولید سیست را داراست. بعد از آن به ترتیب جلبک‌های تتراسلمیس (۲/۵ عدد سیست)، کلرلا (۱/۶۳ عدد سیست) و کیتوسروس (۱/۲۱ عدد سیست) در رده‌های بعدی قرار دارند. جلبک دونالیلا از نظر تعداد سیست تولیدشده اختلاف معنی‌داری با سه جلبک دیگر دارد ($P < 0/001$) (شکل ۳). این امر نشان می‌دهد که جلبک دونالیلا صفات تولید مثلی بهتری را نسبت به جلبک‌های دیگر در آرتمیا ایجاد می‌نماید. همچنین از نظر تعداد تولید مثل، آرتمیا اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با میانگین ۸/۳۳ بار تولید مثل برای هر ماده بالاترین تعداد تولید مثل را به خود اختصاص داده است. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس با میانگین تعداد تولید مثل ۳/۹۴ برای هر ماده در رده بعدی قرار دارد. به ترتیب آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا (۱/۹۲) تولید مثل) و کیتوسروس (۱/۴۰) تولید مثل) در رده‌های بعدی قرار دارند. لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری ($P < 0/001$) از نظر تعداد تولید مثل بین آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا با آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس وجود دارد (شکل ۴). به علاوه این اختلاف معنی‌دار بین آرتمیای تغذیه‌شده با تتراسلمیس و دو جلبک دیگر نیز مشاهده می‌شود (شکل ۴). فاصله بین دو تولید مثل متوالی عاملی است که هر قدر کوتاهتر باشد نشان از بالا بودن قدرت تولید مثلی است. در این مطالعه آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا کمترین فاصله بین دو تولید مثل متوالی (۳/۲۴ روز) را به خود اختصاص داده است و پس از آن جلبک تتراسلمیس قرار دارد. از نظر فاصله بین دو تولید مثل متوالی آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا و کیتوسروس به ترتیب با ۷/۳۸ روز و ۹/۰۴ روز در رده‌های بعدی قرار داشته و اختلاف معنی‌داری با دو جلبک دیگر نشان می‌دهند ($P < 0/001$) (شکل ۵). در مطالعه حاضر کوتاهترین زمان اولین تولید مثل (۱/۹۰ روز) در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا مشاهده شد. پس از آن آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس و کیتوسروس به ترتیب با میانگین ۳/۸۵ روز و ۵/۰۴ روز در رده‌های بعدی قرار دارند. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک کلرلا از نظر صفت زمان اولین تولید مثل با میانگین ۹/۵۶ روز در رده آخر قرار گرفته است. این جلبک‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($P < 0/001$) (شکل ۶). به طور کلی با مقایسه تمام خصوصیات تولید مثلی فوق می‌توان بیان داشت که جلبک دونالیلا ترتیولکتا توانایی بالاتری در ایجاد صفات تولید مثلی برتر در آرتمیا اورمیانا نسبت به جلبک‌های دیگر دارد. و از این نظر جلبک‌های تتراسلمیس، کلرلا و کیتوسروس در رده‌های بعدی قرار می‌گیرند. در پایان با توجه به مطالب فوق و وجود جلبک دونالیلا در دریاچه ارومیه و آبگیرهای اطراف آن، استفاده از این جلبک برای پرورش آرتمیا اورمیانا هزینه کمتری داشته، ساده‌تر و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر است.

بررسی مقایسه‌ای جمعیت‌های اسپانیایی و انواع خارجی آرتمیا توسط Amat (1980) انجام گرفت. در این تحقیق هماهنگ با اندازه‌گیرهای مورفولوژیکی، تعداد جنین‌ها، ناپلی‌ها و سیست‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص گردید که تعداد جنین‌ها، ناپلی‌ها و سیست‌ها با طول ماده‌های مربوطه در ارتباط بودند. این یافته با داده‌های حاصل از مطالعه ما مطابقت دارد و ارتباط مثبت طول آرتمیا با خصوصیات تولیدمثلی آن در تحقیق حاضر نیز نشان داده شده است. در مطالعه‌ای که توسط Mohammadyari (2002) انجام گرفت کمترین فاصله بین دو تولید مثل متوالی برای آرتمیای برکه‌های اطراف دریاچه ارومیه و بیشترین آن برای آرتمیای قم به دست آمد. Meija *et al.* (1999) میانگین فاصله بین تولید مثل‌ها به طور متوسط چهار روز برای جمعیت‌های آرتمیای مکزیکی و A. *franciscana* گزارش کردند. در مطالعه ما از نظر تعداد سیست تولید شده آرتمیا اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با تعداد ۱۲ سیست برای هر ماده بالاترین میزان تولید سیست را داراست. بعد از آن به ترتیب جلبک‌های تتراسلمیس (۲/۵ عدد سیست)، کلرلا (۱/۶۳ عدد سیست) و کیتوسروس (۱/۲۱ عدد سیست) در رده‌های بعدی قرار دارند. جلبک دونالیلا از نظر تعداد سیست تولیدشده اختلاف معنی‌داری با سه جلبک دیگر دارد ($P < 0/001$) (شکل ۳). این امر نشان می‌دهد که جلبک دونالیلا صفات تولید مثلی بهتری را نسبت به جلبک‌های دیگر در آرتمیا ایجاد می‌نماید. همچنین از نظر تعداد تولید مثل، آرتمیا اورمیانی تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا ترتیولکتا با میانگین ۸/۳۳ بار تولید مثل برای هر ماده بالاترین تعداد تولید مثل را به خود اختصاص داده است. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس با میانگین تعداد تولید مثل ۳/۹۴ برای هر ماده در رده بعدی قرار دارد. به ترتیب آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا (۱/۹۲) تولید مثل) و کیتوسروس (۱/۴۰) تولید مثل) در رده‌های بعدی قرار دارند. لازم به ذکر است که اختلاف معنی‌داری ($P < 0/001$) از نظر تعداد تولید مثل بین آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا با آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک تتراسلمیس وجود دارد (شکل ۴). به علاوه این اختلاف معنی‌دار بین آرتمیای تغذیه‌شده با تتراسلمیس و دو جلبک دیگر نیز مشاهده می‌شود (شکل ۴). فاصله بین دو تولید مثل متوالی عاملی است که هر قدر کوتاهتر باشد نشان از بالا بودن قدرت تولید مثلی است. در این مطالعه آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا کمترین فاصله بین دو تولید مثل متوالی (۳/۲۴ روز) را به خود اختصاص داده است و پس از آن جلبک تتراسلمیس قرار دارد. از نظر فاصله بین دو تولید مثل متوالی آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های کلرلا و کیتوسروس به ترتیب با ۷/۳۸ روز و ۹/۰۴ روز در رده‌های بعدی قرار داشته و اختلاف معنی‌داری با دو جلبک دیگر نشان می‌دهند ($P < 0/001$) (شکل ۵). در مطالعه حاضر کوتاهترین زمان اولین تولید مثل (۱/۹۰ روز) در آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک دونالیلا مشاهده شد. پس از آن آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک‌های تتراسلمیس و کیتوسروس به ترتیب با میانگین ۳/۸۵ روز و ۵/۰۴ روز در رده‌های بعدی قرار دارند. آرتمیای تغذیه‌شده با جلبک کلرلا از نظر صفت زمان اولین تولید مثل با میانگین ۹/۵۶ روز در رده آخر قرار گرفته است. این جلبک‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند ($P < 0/001$) (شکل ۶). به طور کلی با مقایسه تمام خصوصیات تولید مثلی فوق می‌توان بیان داشت که جلبک دونالیلا ترتیولکتا توانایی بالاتری در ایجاد صفات تولید مثلی برتر در آرتمیا اورمیانا نسبت به جلبک‌های دیگر دارد. و از این نظر جلبک‌های تتراسلمیس، کلرلا و کیتوسروس در رده‌های بعدی قرار می‌گیرند. در پایان با توجه به مطالب فوق و وجود جلبک دونالیلا در دریاچه ارومیه و آبگیرهای اطراف آن، استفاده از این جلبک برای پرورش آرتمیا اورمیانا هزینه کمتری داشته، ساده‌تر و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر است.

REFERENCES

- Amat, DF.; (1980). Differentiation in *Artemia* strains from Spain. In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 1.
- Persoone, G.; Sorgelooa, P.; Roels, O.; Jaspers, E.; (Eds). Univesa Press. Wettern. Belgium. 19-39.
- Boon, E.; Baas-Becking, LGM.; (1931). Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L., Journal of General Physiology, 14(6): 753-763.
- Brown, MR.; Jeffrey, SW.; Volkman, JK.; Dunstan, CA.; (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*; 151: 315-331.
- Dunstan, G.A.; Volkman, J.K.; Jeffrey, S.W.; Barrett, S.M.; (1992). Biochemical composition of microalgae from the classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. 2. Lipid classes and fatty acids. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 161: 115-134.
- Coutteu, P.; (1996). Microalgae. In: Sorgelooa, P. and Lavens, P. Manual on the production and use of live food for aquaculture (University of Gent, *Artemia* reference center). 9-60.
- Garcia Ulloa, M.; Garcia Olea, J.; (2004). Reproductive performance of the Guppy fish *Peocilia reticulata* (Peters, 1859) fed with live *Artemia franciscana* cultured with inert and live diets. *Avances en Investigacion Agropecuarina*, 8(003): 1-7.
- Gómez, M G U.; Gamboa Delgado, J.; Zavala Aguirre, JL.; Fujii, TO.; Lavens, P.; (1999). influence of different dietson length and biomass productionof brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906). Bol. Invemar, 28: 1.
- Hafezieh, M.; (2004). The study of nutritional effects of *Chlorella*, *Chaetoceros* on growth rate and survival of *Artemia urmiana*. *Pajohesh va Sazandegi* , 64: 76-80. (In Persian)
- Hannah, C.; Mani, M.; Ramasamy, R.; (2013). Evaluation of the Biochemical Composition of Four Marine Algae and Its Nutritional Value for Brine Shrimp. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 6, 3: 47-51.
- Lavens, P.; (1999). Influence of different diets on length and biomass production of brine shrimp *Artemia franciscana* (KELLOG, 1906) bol. Invemar; 28(1): Santa Marta Jan. /Dec. 1999.
- Lavens, P.; Sorgelooa, P.; (1991). Production of *Artemia* in culture tanks. In: Browne, R.A.; P. Sorgelooa and C.N.A. Trotman (Eds). *Artemia biology*. CRC press, Inc. Boca Raton, Florida, USA, 317-350.
- Madumathi, M.; Rengasamy, R.; (2011). Antioxidant status of *Penaeus monodon* fed with *Dunaliella salina* supplemented diet and resistance against WSSV. *International Journal of Engineering Science and Technology (IJEST)*; 3(10): 7249-7260.
- Maldonado-Montiel, TDNJ.; Rodríguez-Canché, LG.; (2005). Biomass production and nutritional value of *Artemia* sp. (Anostraca: Artemiidae) in Campeche, México. *Rev. Biol. Trop. Int. J. Trop. Biol.* 53(3-4): 447-454.
- María Concepción Lora-Vilchis, MC.; Voltolina, D.; (2003). Growth and survival of *Artemia franciscana* (kellogg) fed with *Chaetoceros muelleri* Lemmerman and *Chlorellacapsulata* guillard. *Rev. Invest. Mar.* 24(3): 241-246.
- Mejia, JC.; Sanchez, AM.; Mejia, GC.; Barreray, TC.; Andrade, RD.; (1999). Reproductive pattern variation in two Mexican population of *Artemia franciscana* and comparison with the San Francisco Bay population. *Revista de biologia tropical*, 47(1): 99-104.
- Merchie, G.; Lavens, P.; Dhert, P.; Dehasque, M.; Neils, H.; Leenheer, DA.; Sorgelooa, P.; (1995). Variation of ascorbic acid content in different live food organisms. *Aquaculture*; 134(3-4): 325-337.

- Mohammadyari, A.; (2002). Biometric, morphologic and life cycle comparison of 3 populations of Iranian *Artemia*. M.Sc. Thesis. Tehran University, 173 pp. (In Persian)
- Mohebbi, F.; Esmaili, L.; Negarestan, H.; Ahmadi, R.; (2009). Dynamics of Phytoplankton population in Urmia Lake: Consequences on *Artemia* density. Proceeding of international symposium/workshop on biology and distribution of *Artemia*. Urmia, Iran.
- Mohebbi, F.; (2010). The Brine Shrimp *Artemia* and hypersaline environments microalgal composition: a mutual interaction. *Int. J. Aqu. Sci*; 1(1): 19-27.
- Punitha, SMJ.; Micheal Babu, M.; Immanual, G.; (2007). Developing feed for the culture of brine shrimp *Artemia franciscana* using marine algae as major dietary source.
- Radhakrishnan, EV.; Rekha, D.; Chakraborty, R.; Thangaraja, C.; Unnikrishnan; (2009). Effect of *Nannochloropsis salina* on the survival and growth of phyllosoma of the tropical spiny lobster, *Panulirus homarus* L. under laboratory conditions. *J. Mar. Biol. Ass. India*, 51(1): 52-60.
- Vojodzadeh, H.; Ghezelbash, F.; Ryahi, H.; Manaffar, R.; (2007). The study of growth and survival rate of 3 different *Artemia* species feeding on unicellular algae: *Nannochloropsis oculata*, *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica*. *Iranian Journal of Fisheries Research*, 3: 143-152. (In Persian)