

بررسی تاثیر شوری های مختلف بر تراکم و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا در شرایط آزمایشگاهی

ابراهیم علیزاده دوغیکلایی^{۱*}، محمد نوری^۱، ناصر آق^۲

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
۲. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیای و جانوران آبی، دانشگاه ارومیه

چکیده

در این تحقیق، تاثیر شوری های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt بر تراکم و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا مورد بررسی قرار گرفت. پس از تخم گشایی سیستمها، ۲۰۰ عدد ناپلیوس در ظروف استوانه‌ای مخروطی ۱/۵ لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری های مذکور تا مرحله بلوغ پرورش داده شدند. پس از بلوغ آرتمیایا، ۳ ماده بکرزا به صورت تصادفی از هر ۵ سطح شوری جدا شده و در ۴ تکرار به مدت ۱۲ هفته پرورش داده شدند. آرتمیایا و زاده‌ها در طول دوره پرورش به چهار گروه (۱) ناپلی - متاناپلی، (۲) آرتمیایای جوان، (۳) آرتمیایا در مرحله قبل از بلوغ و (۴) آرتمیایای بالغ تقسیم شده و هر هفته یکبار بطور کامل شمارش شدند. نتایج نشان داد که بیشترین جمعیت بالغین و ناپلی - متاناپلی در شوری ۱۰۰ ppt تولید می‌شود. همچنین بیشترین میزان مراحل پست لاروی و جوان آرتمیای در شوری ۵۰ ppt دیده شد. جمعیت آرتمیای بالغ در طول دوره پرورش افزایش و سایر مراحل رشد آرتمیای کاهش یافت. با توجه به یافته‌های تحقیق یک رابطه معکوس بین افزایش شوری با شکوفایی جمعیت در آرتمیای بکرزا مشاهده شد. نتایج تحقیق نشان داد که شوری های پایین برای رشد جمعیت آرتمیای بکرزا مناسب تر است.

واژگان کلیدی: آرتمیای بکرزا، ترکیب جمعیتی، شرایط آزمایشگاهی، شوری

۱. مقدمه

در بین جانوران پرسلولی، آرتمیا تنها جانوریست که قادر است شرایط بسیار سخت محیطی از جمله شوری های بسیار بالا را تحمل نماید (Browne, 1980). زندگی و رشد در چنین شرایط بسیار سخت، این موجود را قادر ساخته است تا به انواع سازگاری های مختلف دست یابد (Yik Sung et al., 2008). آرتمیا فقط در دریاچه های با شوری بالا که هیچ موجود دیگر قادر به زندگی نیست و یا تعداد کمی از سایر موجودات یافت می شوند، وجود دارد (Hammer et al., 1975). آرتمیای بکرزا (parthenogenetic Artemia) در برکه های اطراف دریاچه ارومیه وجود دارد که اولین بار در سال ۱۹۹۷ توسط آق و نوری شناسایی و گزارش شده است (Agh and Noori, 1997). این برکه ها در قسمت جنوب غربی دریاچه ارومیه و در فاصله ۲۰ کیلومتری شهر ارومیه قرار گرفته اند و همه ساله بارسیدن فصل بارش با آب پر می شوند. میزان شوری آب این برکه ها در ابتدای سال حدود ۱۰ الی ۲۵ گرم در لیتر بوده و بتدریج در اثر تبخیر به حد اشباع (ppt ۳۴۰) می رسد. در اواخر تابستان با خشک شدن آب برکه ها همه آرتمیاهای موجود در برکه ها از بین رفته ولی سیستم های آن در کف برکه ها باقی می ماند. این سیستم ها با فراهم شدن شرایط مناسب در بهار سال آینده تخم گشایی شده و لاروهای آرتمیا را بوجود می آورند (Agh et al., 2007). شوری تأثیر عمده ای بر ویژگی های مختلف چرخه زندگی آرتمیا نظیر بلوغ جنسی، طول عمر، دفعات تولید مثل، فاصله بین تولید مثل های متوالی، تعداد زاده ها و نوع تولید مثل آرتمیا دارد. تحقیقات نشان داده که شوری می تواند تأثیرات متفاوتی بر فاکتورهای رشد جمعیت های مختلف آرتمیا داشته باشد (Dana and Lenz, 1986; Triantaphyllidis et al.,

1995). Triantaphyllidis و همکاران (۱۹۹۵) تأثیرات شوری و دما بر بقاء، بلوغ، رشد، تولید مثل و طول عمر آرتمیای دوجنسی فرانسیسکانا (*Artemia fransiscana*) و آرتمیای بکرزای (parthenogenetic Artemia) شهر تانگو در استان تیانجین چین را مورد بررسی قرار دادند. این دو نوع آرتمیا تفاوت های معنی داری از نظر پاسخ به افزایش شوری نشان دادند. به این صورت که، شوری مناسب برای آرتمیای بکرزای تانگوی چین بین ۶۰ تا ۱۰۰ ppt بود در حالی که آرتمیای فرانسیسکانا، یوری هالین (شوری ۳۵-۱۸۰ ppt) بود. تحقیقات بر روی جمعیت های آرتمیای شمال مصر (دوجنسی و بکرزا) از لحاظ بقاء، رشد و مشخصات مورفومتریک، تحت رژیم های شوری مختلف تفاوت های معنی داری را نشان دادند و با افزایش شوری تمام نژادهای پارتنوژن به کندی رشد کردند (El Bermawi et al., 2004). تاکنون مطالعات زیادی در مورد تاثیر شوری بر رشد، بقاء و تولید مثل آرتمیا بکرزا در نقاط مختلف دنیا گزارش شده است، ولی در ارتباط با نقش شوری به عنوان یک عامل غیرزنده در پراکنش و ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا مطالعه خاصی انجام نشده است. لذا در این تحقیق تأثیر شوری های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt بر شکوفایی جمعیتی آرتمیای بکرزا (parthenogenetic Artemia) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. تا با مشخص شدن مناسب ترین شوری برای شکوفایی و ازدیاد جمعیت آرتمیا بتوان به بهبود راندمان تولید غذای زنده و صنعت پرورش آبریان کمک کرد.

۲. مواد و روش ها

برای نگهداری آرتمیا در آزمایشگاه و تغذیه آنها در طول دوره پرورش از جلبک *Dunaliella salina* استفاده شد. استوک های آماده این جلبک

دوره پرورش به چهار گروه (۱) ناپلی - متاناپلی، (۲) آرتمیاهای جوان، (۳) آرتمیاهای در مرحله قبل از بلوغ و (۴) آرتمیاهای بالغ تقسیم شده و هر هفته یکبار بطور کامل شمارش شدند. میانگین تعداد زاده‌ها (ناپلی - متاناپلی) توسط هر ماده بالغ با تقسیم کل زاده‌ها به تعداد آرتمیاهای بالغ در هر تکرار محاسبه گردید. آب مخازن پرورشی پس از هر بار شمارش آرتمیا با آب تمیز تعویض شد. آزمایش به مدت ۱۲ هفته ادامه یافت و افزایش تدریجی جمعیتی در شوری‌های ذکر شده بررسی گردید (Barata et al., 1996).

آنالیز آماری

طرح به کار رفته در این تحقیق بصورت طرح کاملا تصادفی می‌باشد. آزمایش در ۵ سطح شوری (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ppt ۲۵۰) و ۴ ترکیب جمعیتی (ناپلی - متاناپلی، آرتمیای جوان، پست لارو و آرتمیای بالغ) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۲)، روش آنالیز واریانسیک طرفه انجام گردید. در این روش برای مقایسه داده‌های حاصل از تحقیق از آزمون دانکن استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

نتایج اثرات شوری‌های مختلف بر ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا در جدول ۱ ارائه شده است. با افزایش شوری از ۵۰ به ۱۰۰ ppt میزان ناپلی - متاناپلی و آرتمیای بالغ افزایش و سپس کاهش یافت ($P < 0.05$). بیشترین میزان ناپلی - متاناپلی و آرتمیای بالغ در شوری ppt ۱۰۰ تولید شد. تعداد جمعیت آرتمیای جوان و پست لارو با افزایش شوری کاهش یافت (جدول ۱). بیشترین

از بانک جلبک پژوهشکده آرتمیای دانشگاه ارومیه تهیه و با فراهم آوردن شرایط فیزیکی و شیمیایی لازم و با استفاده از محیط کشت والنه بطور انبوه کشت داده شد. برداشت جلبک‌ها، بعد از به حد ماکزیمم رسیدن غلظت جلبک در محیط کشت، انجام گرفت. سپس کمیت توده زنده جلبک تعیین و غلظت آن به $10^6 \times 18$ سلول رسانده شد و سپس طبق فرمول استاندارد در تغذیه آرتمیا به کار برده شد (Coutteau et al, 1992).

سیست‌های مورد استفاده در این تحقیق، از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبی دانشگاه ارومیه تهیه شدند. سیست‌ها در شوری ppt ۳۳ و دمای ۲۸ درجه سانتی گراد تخم‌گشایی شدند. ناپلی‌های تازه تخم‌گشای شده به ظرف دیگری حاوی آب تمیز با شوری ppt ۵۰ منتقل شدند. سپس با رقیق سازی آب دریاچه ارومیه با آب مقطر آب مورد نیاز برای تحقیق با شوری‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ppt ۲۵۰ تهیه گردید و مقدار یک لیتر از آب‌های آماده شده (در چهار تکرار) به ظروف استوانه‌ای ته مخروطی ۱/۵ لیتری ریخته و تعداد ۲۰۰ عدد ناپلی تازه تخم‌گشایی شده به هر ظرف منتقل گردید و تا رسیدن به مرحله بلوغ (تقریباً ۲۰ روز بعد از تخم‌گشایی) پرورش داده شدند. عمل غذادهی آرتمیاها ۲۴ ساعت پس از تخم‌گشایی با جلبک *دونالیلا سالینا* طبق جدول غذادهی Coutteau و همکاران انجام گرفت (Coutteau et al., 1992). پس از بالغ شدن آرتمیاها، ۳ ماده بکرزای بالغ به صورت تصادفی از هر ۵ سطح شوری جدا کرده و به ظروف استوانه‌ای مخروطی ۱/۵ لیتری حاوی یک لیتر آب با شوری‌های مشابه (در ۴ تکرار) منتقل شده و پرورش آنها جهت بررسی شکوفایی جمعیتی ادامه یافت. تیمارها روزانه یک بار طبق جدول غذادهی استاندارد، تغذیه شدند. آرتمیاها و زاده‌ها در طول

طول دوره پرورش جمعیت آرتمیای جوان و پست لارو تغییرات نامرتبی را نشان دادند. بطوریکه در ابتدا تا اواسط دوره افزایش و سپس کاهش یافتند (نمودار ۲ و ۳). روند افزایش جمعیت آرتمیای بالغ در طول دوره پرورش قابل مشاهده است (شکل ۴). این افزایش با شوری رابطه عکس دارد. بطوریکه بیشترین و کمترین جمعیت بالغین به ترتیب در شوری ۱۰۰ و ۲۵۰ ppt بدست آمد.

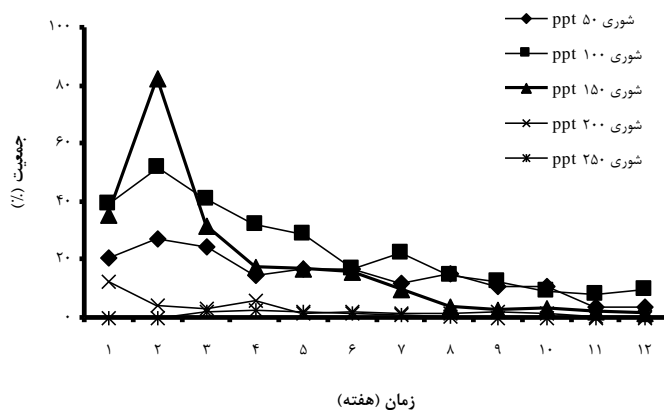
میزان آرتمیای جوان و پست لارو در شوری ۵۰ ppt دیده شد.

نتایج شمارش هفتگی ناپلی- متاناپلی به ازای هر ماده در مدت ۱۲ هفته در شوری های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt در شکل ۱ ارائه شده است. جمعیت ناپلی- متاناپلی تا هفته ۲ برای شوری های ۵۰-۱۵۰ ppt روندی افزایشی داشته ($P < 0.05$) و بعد از آن کاهش یافت. این روند برای شوری های ۲۰۰ و ۲۵۰ ppt کاهش بود. در

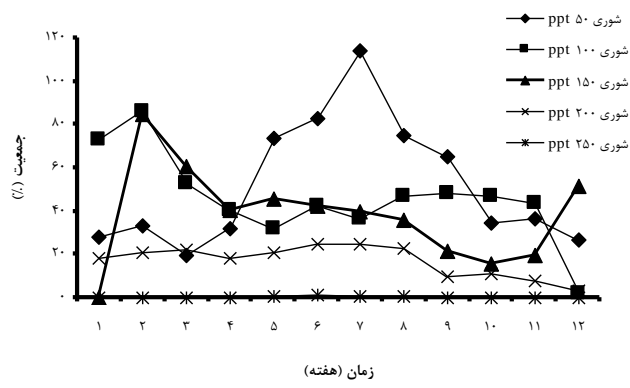
جدول ۱: اثرات شوری های مختلف بر ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا

شوری (ppt)	ترکیب جمعیتی (%)	۲۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰	۵۰
ناپلی - متاناپلی (به ازای هر ماده)		0.188 ± 2.04^c	3.19 ± 4.07^c	18.67 ± 30.01^{ab}	23.98 ± 18.12^a	14.90 ± 7.64^b
جوان		0.23 ± 0.11^c	17.06 ± 14.67^b	38.15 ± 33.32^a	45.83 ± 46.63^a	50.63 ± 51.18^a
پست لارو		0.00 ± 0.00^c	10.21 ± 12.64^c	25.46 ± 21.46^b	33.69 ± 36.70^b	56.67 ± 39.18^a
بالغ		1.96 ± 1.03^d	49.85 ± 25.30^c	71.46 ± 38.42^b	86.79 ± 45.31^a	76.96 ± 56.03^{ab}

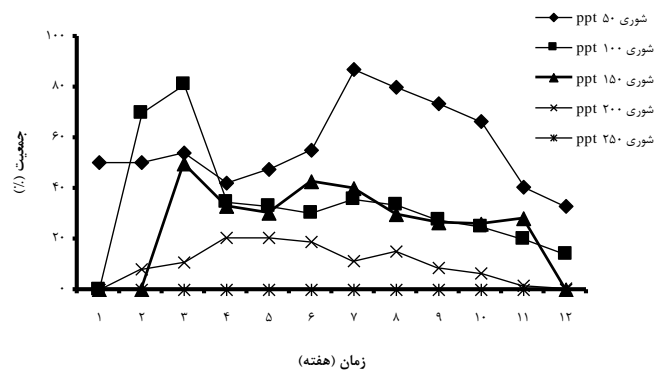
حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در شوری های مختلف می باشد ($P < 0.05$)



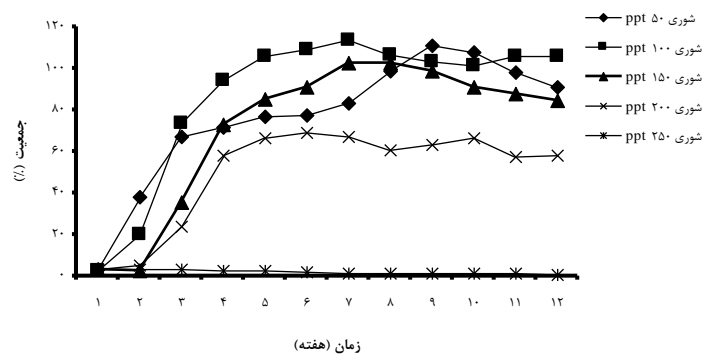
شکل ۱. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت ناپلی- متاناپلی به ازای هر ماده بالغ در شوری های مختلف



شکل ۲. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت آرتمیای جوان در شوریه‌های مختلف



شکل ۳. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت پست لارو در شوریه‌های مختلف



شکل ۴. تاثیر زمان بر تراکم جمعیت آرتمیای بالغ در شوریه‌های مختلف

۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که مراحل ناپلی-متاناپلی و آرتمیای بالغ در شوری ۱۰۰ ppt در مقایسه با سایر شوری‌ها جمعیت غالب است در حالیکه آرتمیای جوان و پست لارو در شوری ۵۰ ppt توده غالب را تشکیل می‌دهد. با افزایش شوری تراکم جمعیت آرتمیا بکرزا کاهش می‌یابد بطوریکه این کاهش در کل رشد جمعیتی معنی-دار می‌باشد ($P < 0.05$).

جمعیت‌های آرتمیای دوجنسی و بکرزای شمال مصراز لحاظ بقاء و رشد در شوری مختلف تفاوت‌های معنی‌داری را نشان دادند. در این نژادهای آرتمیاها نیز همانند یافته‌های تحقیق حاضر با افزایش شوری سرعت رشد کند گردید و تأیید نمود که آرتمیاهای پارتنوژنز نیازمند محیط متعادل‌تری از نظر شوری می‌باشند (El Bermawi *et al.*, 2004). لطفی و همکاران (۱۳۸۲) و آق و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که با افزایش شوری میزان رشد در گونه‌های مختلف آرتمیا کاهش پیدا می‌کند.

Vanhaecke و همکاران در سال ۱۹۸۴، Lenz و Dana در سال ۱۹۸۶ و Hoops و Browne در سال ۱۹۹۰ و آق و همکاران در سال ۲۰۰۸، کاهش درصد بقای آرتمیا در چند جمعیت آرتمیا را با افزایش شوری گزارش کرده‌اند. شوری با میزان رشد آرتمیا رابطه معکوس دارد (El-Bermawi *et al.*, 2004). در تمامی این تحقیقات وجود یک رابطه‌ی معکوس را بین شوری با درصد بقاء، رشد و تولیدمثل گزارش کرده‌اند. در تحقیق حاضر نیز این رابطه برای آرتمیای بکرزا تأیید شد. در راستای توجیه فیزیولوژیک کاهش رشد در جمعیت‌های آرتمیای تحت شوری بالا نقش تنظیم فشار اسمزی بیش از پیش مهم قلم داد می‌شود. بدیهی است که هر چه غلظت نمک

محیط بیشتر باشد، سلول‌هایی که در تنظیم اسمزی آرتمیا نقش دارند، به فعالیت و انرژی بیشتری برای ثابت نگهداشتن تعادل اسمزی بدن نیاز دارند و با مصرف ذخایر غذایی، سرعت رشد و نمو کاهش می‌یابد (شمس لاهیجانی و همکاران، ۱۳۸۳). تحقیقات، تأثیر منفی شوری را بر رشد آرتمیا، خصوصاً در شوری‌های بالا نشان داده است (Dana and Lenz, 1986). نتایج تأثیر زمان بر جمعیت آرتمیا بکرزا نشان می‌دهد که جمعیت ناپلی-متاناپلی با افزایش در هفته ۲ تا پایان دوره روند کاهشی دارد (شکل ۱). این روند در آرتمیای جوان و آرتمیای پست لارو نامرتب است (نمودار ۲ و ۳). ولی جمعیت آرتمیای بالغ روندی افزایشی داشته است (شکل ۴). در کل در این تحقیق مشخص شد که با افزایش میزان شوری، ترکیب جمعیتی آرتمیا کاهش می‌یابد ($P < 0.05$). در طبیعت، آرتمیاهای بکرزای برکه‌های اطراف دریاچه ارومیه در مدت‌زمان طولانی‌تر این اتفاق را تجربه می‌کنند. در این برکه‌ها شوری از ۱۵ تا ۲۰ قسمت در هزار شروع شده و در طول چند ماه به بالای ۲۸۰ قسمت در هزار می‌رسد (Agh and Noori, 1997). در واقع، در طبیعت، مدت سازش طولانی بوده و در نتیجه میزان سازش بالا و درصد بقاء بیشتر است. با توجه به نتایج تحقیق و موارد گزارش شده، به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که تراکم جمعیت در هر ۴ ترکیب جمعیتی آرتمیای بکرزا با افزایش شوری کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق می‌تواند در انتخاب جمعیت مناسب آرتمیا برای پرورش آن در مناطقی با شوری‌های مختلف کمک نماید و شوری مناسب را برای تولید مثل حداکثر توسط هر یک از جمعیت‌های آرتمیا مشخص کند و این نتیجه می‌تواند برای تولید بیشتر بیومس زنده آرتمیا مورد استفاده قرار گیرد.

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. *Hydrobiol.* 234: 25 - 32.

Dana, G.L., Lenz, P.H. 1986. Effects of increasing salinity on an *Artemia* population from Mono Lake, California. *Oecol.* 68: 428-436.

El-Bermawi, N., Baxevanis, A.D., Abatzopoulos, T.J., Van Stappen, G., Sorgeloos, P. 2004. Salinity effects on survival, growth and morphometry of four Egyptian *Artemia* populations (International Study on *Artemia*. LXVII). *Hydrobiol.* 523: 175-188.

Hammer, U.T., Hynes, R.C., Heseltine, J.M., Swanson, S.M. 1975. The saline lakes of Saskatchewan. *Verh. Int. Verein. Theor. Angew. Limnol.* 19: 589-598.

Triantaphyllidis, G.V., poulopoulou, K., Abatzopoulos, T.J., Perez, C.A.P., Sorgeloos, P. 1995. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of bisexual and a parthenogenetic population of *Artemia*. (International study on *Artemia* XLIX). *Hydrobiol.* 302: 215 -227.

Vanhaecke, P., Siddall, S.E., Sorgeloos, P. 1984. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origins. (International study on *Artemia*. XXXII). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 80: 259-275.

Yik Sung, Y., Pineda, C., MacRae, T. H., Sorgeloos, P., Bossier, P. 2008. Exposure of gnotobiotic *Artemia franciscana* larvae to abiotic stress promotes heat shock protein 70 synthesis and enhances resistance to pathogenic *Vibrio campbellii*. *Cell Stress Chaperone.* 13: 59-66.

منابع

شمس لاهیجانی، م.، آق، ن.، و فتوحی، ا. ۱۳۸۳. بررسی تغییرات شوری آب بر مراحل رشد لارو. پژوهش و سازندگی، ۶۴، صفحات ۶۶-۵۶.

لطفی، و.، آق، ن.، و سپهری ح. ۱۳۸۲. اثرات شوری های مختلف بر درصد ماندگاری، میزان رشد، طول عمر و صفات تولید مثلی سه جمعیت از آرتمیاهای ایران، مجله علوم دانشگاه تهران، جلد ۲۹، صفحات ۳۱۶-۳۰۵.

Agh, N., Noori, F. 1997. Introduction of a parthenogenetic population of *Artemia* from lagoons around Urmia Lake and its morphological comparison with *Artemia urmiana*. First Iranian Congress of Zoology, 92.

Agh, N., Abatzopoulos, T.j., Kappas, I., Van Stappen, G., Razavi Rouhani, S.M., Sorgeloos, P. 2007. Coexistence of sexual and parthenogenetic *Artemia* populations in Lake Urmia and neighbouring lagoons. *Int. Rev. Hydro.* 92: 48-60.

Agh, N., Van Stappen, G., Bossier, P., Sepehri, H., Lotfi, V., Rouhani, S.M., Sorgeloos, P. 2008. Effects of salinity on survival, growth, reproductive and life span characteristics of *Artemia* populations from Urmia Lake and neighboring lagoons. *Pak. J. Biol. Sci.* 11(2): 164-172.

Barata, C., Hontoria, F., Amata, F., Browne, R. 1996. Competition between sexual and parthenogenetic *Artemia*: temperature and strain effects. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.* 196: 313- 328.

Browne, R.A. 1980. Competition experiments between parthenogenetic and sexual strains of the brine shrimp *Artemia salina*. *Eco.* 61: 471-474.

Browne, R.A., Hoops, C.W. 1990. Genotype diversity and selection in asexual brine shrimp (*Artemia*). *Evol.* 44: 1035-1051.