میزان بلع پاروپای آب شیرین *Eucyclops serrulatus* با جلبکهای سبز *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus quadricauda*

امیدوار فرهادیان*، رحمان خرامان نیا، نصراله محبوبی صوفیانی و عیسی ابراهیمی

اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۵

چکیده

پرورش بسیاری از گونه‌های زئوپلانکتونی عمدتاً وابسته به ریز جلبک‌ها است زیرا دارای بسیاری از خصوصیات کلیدی اختصاصی جهت بلع زئوپلانکتون‌ها هستند. در تحقیق حاضر میزان بلع (Ingestion rate) پاروپای*Eucyclops serrulatus* با استفاده از دو جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* و*Chlorella vulgaris* در چهار غلظت متفاوت جلبکی (خیلی کم، کم، متوسط، زیاد) تعیین گردید. نتایج نشان داد که بلع پاروپا *E. serrulatus* با افزایش غلظت *S. quadricauda* و *C. vulgaris* بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد ($P<0.05$). بیشترین میزان بلع از جلبک *S. quadricauda* و *C. vulgaris* به ترتیب برابر با $۰/۴۰۲ \times ۱۰^{۴}$ و $۰/۰۴۷ \times ۱۰^{۴}$ سلول در ساعت در غلظت زیاد بدست آمد. همچنین یافته‌های ما نشان داد که رابطه خطی بین میزان بلع و غلظت جلبک وجود دارد که با گونه جلبک مورد استفاده تغییر می‌کند. مقایسه میزان‌های بلع نشان داد که *E. serrulatus* قابلیت پرورش در محیط‌های کشت جلبکی را دارد اما جلبک *C. vulgaris* عملکرد مناسب‌تری دارد. میزان بلع بالاتر جلبک *C. vulgaris* را می توان به اندازه سلولی کوچکتر و کروی شکل بودن این جلبک نسبت داد.

واژه های کلیدی: میزان بلع، پاروپایان، *Eucyclops serrulatus*، *Scenedesmus quadricauda*، *Chlorella vulgaris*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۶۴ ، پست الکترونیکی: omfarhad@cc.iut.ac.ir

مقدمه

پاروپایان (Copepoda) از مهمترین سخت‌پوستان زئوپلانکتونی اکوسیستم‌های آبی هستند و حلقه ارتباطی مهمی بین فیتوپلانکتون‌ها و سطوح غذایی محسوب می شوند (۲ و۲۰). پاروپایان در انواع آب‌ها و در تمام عرض‌های جغرافیایی گسترش دارند و حدود یک سوم گونه‌های آن درآب شیرین یافت می‌شوند. در طبیعت لاروهای ماهیان و میگوها در چند هفته اول زندگیشان از پاروپایان تغذیه می‌نمایند زیرا با اندازه مناسب و ترکیب اسیدهای چرب اشباع نشده (HUFAs) (Highly Unsaturated Fatty Acids) متعادل و دیگر مواد غذایی ضروری موجب رشد و بقاء لاروهای تغذیه کننده می‌شوند (۱۰، ۱۶، ۴۳، ۴۵، ۴۶). در آبهای شیرین سیکلوپوئیدها (Cyclopoidae) مهمترین پاروپایان هستند. آنها دارای رفتارهای تغذیه‌ای علف‌خواری، دیتریت خواری، گوشت خواری و همه‌چیزخواری هستند. معمولاً گونه‌های با جثه بزرگتر مانند جنس‌های *Macrocyclops*، *Megacyclops*، *Cyclops* و *Acanthocyclops* شکارچیانی واقعی هستند (۱۱،۲۰،۳۱، ۳۹). در آبزی‌پروری برای تامین غذای زنده آغازین برای لارو بسیاری از ماهیان گونه‌های زئوپلانکتونی مورد پرورش قرار می‌گیرند که عمدتاً تولید آنها وابسته به ریز جلبک‌ها می‌باشد (۱و۱۹). ریز جلبک‌ها باید خصوصیات کلیدی اختصاصی جهت بلع چراکنندگان از قبیل اندازه مناسب (به طور مثال ۱۵- ۱میکرون برای استفاده موجودات صافی خوار، ۱۰۰-۱۰ میکرون برای

چراکننده‌ها)، شکل، قابلیت هضم و مناسب بودن ساختار دیواره سلولی (۳۹). میزان پروتئین و چربی مناسب (۱۲)، سرعت رشد بالا، قابلیت پرورش انبوه، پایداری و ثبات در محیط پرورشی، قابلیت تحمل و سازگاری با تغییرات دمایی، نور و مواد غذایی (۶، ۷ ، ۸ و۳۶) را داشته باشند تا به عنوان گونه‌های مفید در پرورش زئوپلانکتونها مورد استفاده قرارگیرند (۱و۳۹). در این خصوص همواره میزان بلع (مصرف) زئوپلانکتون‌ها از جلبک‌ها مورد مطالعه قرار می‌گیرد و تا حدودی ما را در بدست آوردن مقادیری که نشان دهنده میزان مصرف جلبک‌ها در طبیعت است کمک می‌نماید. روشهای گوناگونی از قبیل شمارش میکروسکوپی، شمارش الکترونیکی، فلورسنس روده و رادیواکتیو برای اندازه گیری میزان بلع وجود دارد (۶و ۳۶). اغلب روش‌ها بر اساس سیستم تغذیه گیاه‌خواری است به طوری که در این روش‌ها میزان مصرف ارگانیسم از فیتوپلانکتون‌ها مشخص می‌شود. یکی از روش‌های متداول بر اساس شمارش میکروسکوپی میزان غلظت غذا در شروع و پایان آزمایش است. این روش بسیار وقت‌گیر می‌باشد اما مزایایی نیز دارد. در این روش علاوه بر میزان بلع به دست آمده ذرات غذایی با اندازه‌های مختلف را میتوان استفاده نمود (۶و۳۶). از آن جایی که این روش زمان زیادی را برای شمارش جلبک‌ها با میکروسکوپ نیاز دارد لذا دستگاه‌های الکترونیکی با قابلیت شمارش ذرات در آب‌های شیرین و دریایی ساخته شده است. از مشکلات روش الکترونیکی عدم تفکیک و تمایز بین ذرات با کیفیت‌های مختلف است. برای مثال این روش توانایی تمایز بین یک جلبک کروی شکل و ذره‌ای غیرزنده با همان حجم و ابعاد را با هم ندارد. از سوی دیگر دقت شمارش الکترونیکی به حجم روزنه دستگاه شمارش کننده بستگی دارد (۶و۳۶). علاوه بر این، شمارش انجام شده با استفاده از این روش برای ارگانیسم‌های مختلف طی۲۴ساعت، میزان بلع بیشتری نسبت به روش شمارش میکروسکوپی نشان داده است. بنابراین استفاده از روش الکترونیکی در بررسی میزان بلع، منجر به مشکل شدن تفسیر نتایج می‌شود (۳۹). تعیین میزان غذای بلع شده در مدت زمان مشخص توسط پاروپا در هر یک از مراحل تکامل لاروی، یکی از مهمترین اجزاء رفتار تغذیه‌ای است. میزان تغذیه زئوپلانکتون‌ها با عواملی مانند نور، دما، کمیت و کیفیت غذای مورد استفاده در ارتباط است (۲۲، ۳۲، ۳۷). (Marshall 1942) و (Fuller 1937) دریافتند که فعالیتهای تغذیه‌ای پاروپایان در شب افزایش پیدا می‌کند و بسیاری از آنها چرا کننده‌های شبانه می‌باشند (۲۳و۲۸). در آزمایشی که توسط (Paffenhofer 1971) انجام شد، بیان گردید که میانگین میزان بلع مراحل زندگی پاروپای گونه*Calanus helgolandicus* از ناپلیوس تا بلوغ تقریبا به طور خطی با افزایش وزن بدن افزایش می یابد (۳۸). (Frost 1972) گزارش داد که میزان بلع کالانوس به طور نسبی با افزایش غلظت غذا افزایش می‌یابد تا جائی که به نقطه سیری برسد (۲۱). مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که میزان تغذیه فقط با گونه‌های پاروپایان تغییر نمی‌کند بلکه نوع و گونه جلبک مورد استفاده نیز مهم می‌باشد. او رابطه مستقیم و خطی بین میزان بلع و غلظت جلبک را بیان نمود. مطالعاتی با گونه‌های مختلف پاروپایان هارپکتیکوئید نشان داد که میزان تغذیه نه تنها با گونه پاروپا بلکه به نوع و گونه جلبک مورد استفاده تغییر می‌کند (۳۸، ۳۹). (Betouhim-EI,Kahan 1972) گزارش دادند که میزان تغذیه پاروپای بالغ *Tisbe pori* از ۱۸۶۸تا ۱۳۵۷۲ سلول در ساعت می باشد(۹). بیشینه میزان بلع در موجود بالغ ماده ۳ برابر مقدار بلع موجود در مراحل کپه پودیت می‌باشد که این میزان بالا با جنست پاروپا نیز در ارتباط می‌باشد (۹). (Rogers, Richman1969) میزان بلع ماده‌های بالغ پاروپایان *Eurytemora affinis*، *Acartia tonsa* و *Acartia clausi* را با ذرات طبیعی بررسی کردند (۴۲). آنها بیان کردند که این سه گونه قابلیتهای مشابهی برای تغذیه با طیف وسیعی از ذرات با اندازه‌های متفاوت دارند و اقلام غذایی بزرگتر را بیشتر ترجیح می‌دهند(۴۲).

(Yule ، Crisp1983) یافتند که میزان بلع پاروپای *Temora longicornis* با افزایش غلظت جلبک افزایش پیدا می‌کند و هم‌چنین میزان بلع در سطوح بالای غلظت جلبکی ثابت می‌شود (۴۷). (Kiorboe,et.. 1996) به یک رابطه سیگموئیدی بین میزان بلع و غلظت غذا در مورد پاروپایان پی بردند (۲۷). (Paffenhofer , Harris1976) نشان دادند که رابطه مستقیمی بین تغذیه پاروپایان و اندازه زئوپلانکتون می باشد (۲۵). (Abu-Rezq , et..1997) گزارش دادند که میزان بلع از ۱۲۰ تا ۲۸۰۰ سلول در هر ساعت توسط پاروپای *Tisbe furcata* هنگام تغذیه بر روی جلبک *Rinomonas reticulata* قابل اندازه‌گیری است (۳). در این پژوهش پاروپای گونه *Eucyclops serrulatus* از پاروپایان سیکلوپوئید (Cyclopoidae: Copepoda) را با توجه به نبود اطلاعات علمی بیولوژیکی و تغذیه‌ای برای مطالعه میزان بلع در نظر گرفته شد. از بین زئوپلانکتونهای پاروپای متعلق به سیکلوپوئید، پاروپای *E. serrulatus* از فراوان‌ترین پاروپایان در استخرهای پرورش ماهیان است. این گونه به آسانی تحت شرایط محیطی دشوار از قبیل شرایط کمبود اکسیژن (۱۴) و جیره‌های غذایی جلبکی و جانوری (۳۳و۳۴) ماندگاری مناسب برای پرورش دارد. این گونه دارای ۶ مرحله ناپلیوس (۲۷۹-۱۱۹ میکرون) و ۵ مرحله کپه پودیت (۵۳۰-۳۰۵ میکرون) قبل از رسیدن به بلوغ دارد که وجود چنین طیفی از اندازه های مختلف آن را بعنوان طعمه مناسب برای لارو ماهیان تبدیل نموده است (۱۹). این گونه به سادگی با استفاده از جبلک‌های کلرلا و سندسموس پرورش می‌یابد (۱۵،۱۹و۳۴). هدف این تحقیق اندازه‌گیری میزان بلع (مصرف) پاروپای *E. serrulatus* بعنوان رفتار تغذیه‌ای آن با استفاده از جلبک سبز کلرلا *Chlorella vulgaris* و سندسموس *Scenedesmus quadricauda* بود.

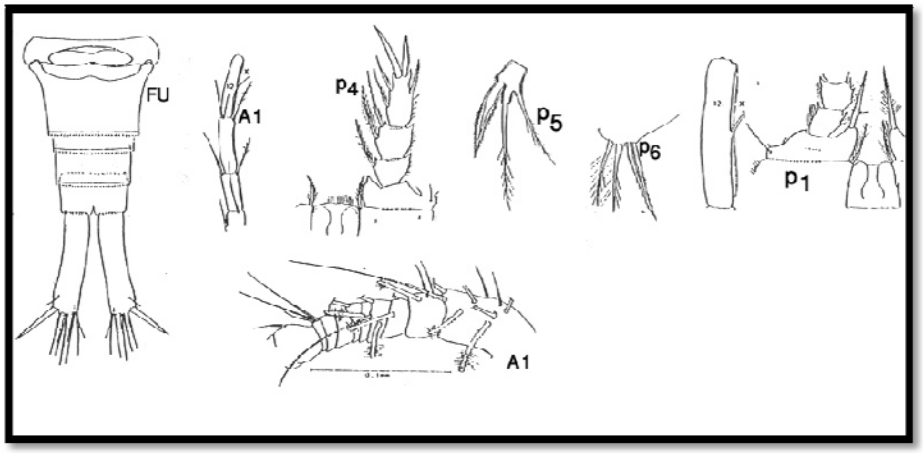
مواد و روشها

روش پرورش جلبک های سبز *Scenedesmus* و *Chlorella* : جمع‌آوری اولیه نمونه‌های جلبکی از آب استخرهای پرورش ماهی دانشگاه صنعتی اصفهان و کارگاه کرسگان اصفهان انجام گردید. سپس با استفاده از میکرو پیپت سلول‌های فیتوپلانکتونی را جدا نموده و با بهره‌گیری از محیط کشت جامد آگار و تجدید مداوم کشت استوک خالص تهیه گردید. جهت تهیه محیط کشت جامد به ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ۲گرم آگار(Agar-Agar) جامد و محیط کشت BBM (Bold Basal's Medium)(۳۵) اضافه شد. محیط کشت تهیه شده در دمای۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید. آنگاه محلول را بصورت مایع و تقریباً گرم و در شرایط ضدعفونی و استریل شده درپتری دیش‌های پلاستیکی ریخته و درب آن با پارافیلم بسته شد. سپس محیط کشت در دمای اتاق به حالت جامد تبدیل گردید. بعد از تهیه محیط کشت، نمونه ناخالص تهیه شده از استخرهای پرورش ماهی را بر روی محیط کشت قرار داده تا کلنی‌های جلبکی بعد از ۱۰ روز تشکیل شوند. بعد از تشکیل کلونی‌ها و مشاهده آنها در زیر میکروسکوپ جلبک‌ها به محیط کشت مایع منتقل گردید. جلبک‌ها بعد از کشت‌های متوالی خالص گردد. پس از خالص‌سازی از روش آزمایشگاهی پرورش جلبک‌ها در ارلن مایرهای دو لیتری با محیط کشت BBM برای کشت انبوه آنها استفاده گردید. شرایط پرورش این دو جلبک شامل دمای آب ۲۳ درجه سانتی گراد، آب شیرین فیلترشده و اتوکلاو شده، دوره نوری۱۲ساعت نور و۱۲ساعت تاریکی، شدت نور ۶۰ میکرومول فوتون برمترمربع در ثانیه، pH برابر ۶/۹ در آغاز پرورش و اکسیژن محلول بالای ۵ میلی‌گرم در لیتر بود (۴۱،۱). جهت برداشت از دستگاه سانتریفیوژ (Centurion Scientific Ltd) در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه استفاده گردید. جلبک‌ها بعد از جمع آوری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند تا جهت تغذیه ذخیره اولیه پاروپای *E. serrulatus* استفاده گردد. تعیین تراکم

جلبک‌ها و کنترل میزان آن در دوره آزمایش، با استفاده از لام هموسایتومتری (۰/۰۶۲۵ mm × ۰/۲ mm) و میکروسکوپ اینورت (Ceti Belgium) بر اساس روش و (Martinez1975 Chakroff,) (۲۹). پس از تثبیت با محلول لوگول آیدین (۰/۱ میلی لیتر در ۳ میلی لیتر نمونه) انجام شد.

روش جدا سازی و خالص سازی پاروپای *Eucyclops serrulatus* : نمونه‌های زئوپلانکتونی آب شیرین کارگاه پرورش ماهی کرسگان اصفهان، با استفاده از تور پلانکتون گیر با چشمه۱۰۰میکرون، از عمق ۱متری نمونه‌برداری شدند و نمونه‌ها به صورت زنده و با دقت به آزمایشگاه گروه شیلات دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل گردید. پس از جمع‌آوری نمونه‌های زئوپلانکتونی، ظروف حاوی زئوپلانکتون‌های وحشی آب شیرین در شرایط آزمایشگاهی پس از اضافه نمودن آب شهر (Tap water) و رقیق کردن نمونه‌ها نگه داری گردید. سپس پاروپایان جنس ماده دارای تخم (Gravid female) از درون نمونه-های زئوپلانکتونی دارای مخلوطی از پاروپایان، روتیفرها، شیرونومیده‌ها، اوستراکودها و مژکداران با استفاده از یک پیپت پاستور (۳/۵ میلی لیتر) جدا سازی شده و درون پتری دیش از قبل شستشو شده و عاری از هرگونه آلودگی، منتقل گردیدند. ماده‌های دارای تخم جدا شده، توسط لوپ آزمایشگاهی (Olympus, SZ6045, Japan) مورد بررسی قرار گرفت و پس از حصول اطمینان از اینکه تنها در هر ظرف یک فرد وجود دارد، مورد تغذیه با غذای مخلوط جلبک‌های کلرلا و سندسموس قرار گرفتند. برای پرورش در شرایط آزمایشگاهی و به دست آوردن تعداد کافی از پاروپایان جهت انجام دادن آزمایشات مربوطه، پاروپایان به مدت ۴ ماه در محیط‌های کشت مختلف و در شرایط آزمایشگاهی پرورش داده شدند و پس از تولید چند نسل خالص از نمونه پاروپای مورد نظر و به‌دست آوردن ذخیره مناسب از گونه *E. serrulatus* آزمایشات مورد نظر انجام شد.

روش شناسایی *E. serrulatus* : گونه مورد نظر با استفاده از کلیدهای شناسایی زئوپلانکتون های آب شیرین شناسایی گردید (۵، ۱۳، ۱۷،۲۰). نام علمی گونه مورد نظر *Eucyclops serrulatus* می‌باشدکه با استفاده از اندام‌هایی چون پای پنجم، آنتن کوچک و بزرگ، پای ششم، پای چهارم، بند تناسلی، فورکا شناسایی گردید که برخی از آن-ها در شکل۱ آورده شده است.



شکل ۱- اندام های مورد استفاده در شناسایی *E. serrulatus* در این اشکال قسمت های مختلف شناسایی پاروپای *E. serrulatus* مشاهده می شود. فورکا (Fu)، پای اول شناگری و پرده بین دو قسمت پای اول (P1)، پای چهارم شناگری(P_4)، پای پنجم (P_5)، پای ششم (P_6) و آنتنول (A_1). (Fernando, 2002)(۲۰).

روش انجام آزمایش: دو سری آزمایش برای اندازه‌گیری میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* یعنی تعداد سلول‌های جلبکی خورده شده توسط موجود در هر ساعت انجام شد. سری اول، با استفاده از جلبک *S. quadricauda* (دارای وزن خشک $۱۰^{-۵}$ ×۱/۵۵ میکروگرم بر سلول و دارای حجم زیستی۱۶۰ میکرومتر مکعب)، و سری دوم با استفاده از جلبک *C. vulgaris* (دارای وزن خشک $۱۰^{-۵}$ ×۰/۵۰میکروگرم بر سلول و دارای حجم زیستی۳۰ میکرومتر مکعب)، هر کدام در۴ غلظت مختلف جلبکی خیلی کم کم، متوسط و زیاد بر طبق جدول ۱ انجام شد. هر کدام از تراکم‌ها با ۳ تکرار و ۱تیمار کنترل جداگانه در نظر گرفته شد. غلظت‌های بیان شده از جلبک‌ها توسط لام هموسایتومتری شمرده و به محیط‌های آزمایشی اضافه شدند. تیمار کنترل حاوی جلبک‌های مربوطه و بدون پاروپا بودند که به منظور شمارش رشد جلبک‌ها در طول زمان آزمایش طراحی شدند. در هر دو سری آزمایش، از پاروپایان ماده بالغ و دارای تخم (۵ عدد در هر تکرار) در ویال‌های ۵۰ میلی‌لیتری استفاده شد. هر سری آزمایش در شرایط نور ۱۲ ساعت نور۱۲ ساعت تاریکی، دمای۱ ±۲۲ و دوره ۷۲ ساعت به طول انجامید. تعداد سلول‌های جلبکی در ابتدا و انتهای آزمایش با استفاده از لام هموسایتومتری شمرده شدند. لازم به ذکر است به منظور جلوگیری از عدم ته‌نشینی طولانی جلبک‌ها در ظروف آزمایشی، در فواصل زمانی معین ظروف آزمایشی به آرامی تکان داده شد. میزان بلع با فرض کاهش غلظت سلول های جلبکی در طول زمان با استفاده از رابطه ی زیر محاسبه گردید(۳۸).

$$I_R = \{(C_0 - C_t) - [C1 - C2) / C] \times C_0]\} \times V/nt$$

I_R (میزان بلع): تعداد سلولهای غذایی بلع شده توسط پاروپا در هر ساعت، C_0: غلظت ابتدایی جلبک در هر ظرف آزمایشی، C_t: غلظت نهایی جلبک در هر ظرف آزمایشی، C_1: غلظت ابتدایی در هر ظرف کنترل، C_2: غلظت نهایی در هر ظرف کنترل، V: حجم ظرف، n: تعداد کپه پودها، t : مدت زمان آزمایش(ساعت).

تحلیل آماری داده ها: از آزمون کالگومروف- اسمیرنف به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. پس از اطمینان از توزیع نرمال داده ها و یکنواختی واریانس‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (One- way ANOVA) برای بررسی وجود و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد (۴۸). کلیه محاسبات آماری در نرم افزار SPSS (۴۴) انجام شد.

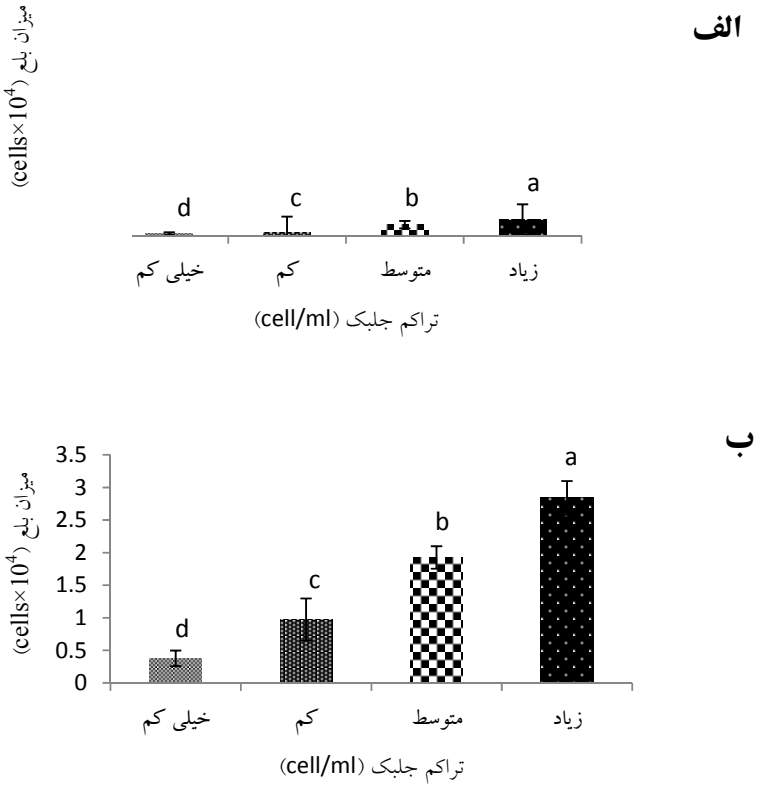
نتایج

میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* از جلبک سندسموس: نتایج حاصل از میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* در غلظت های مختلف از جلبک سبزسندسموس در شکل۲ بیان شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* در طی دوره زمانی ۶ ساعت، $۱۰^{۴}$× ۰/۲۴۷ سلول به ازای هر پاروپا در تراکم جلبکی خیلی زیاد($۱۰^{۴}$× ۱۱/۸ سلول در هر میلی‌لیتر) و کمترین میزان بلع$۱۰^{۴}$× ۰/۰۳۱ سلول به ازای هر پاروپا در تراکم جلبکی خیلی کم ($۱۰^{۴}$× ۲/۷ سلول در هر میلی‌لیتر) می باشد. میزان بلع *E. serrulatus* در تراکم جلبکی متوسط ($۱۰^{۴}$× ۷/۳ سلول در هر میلی‌لیتر) و کم ($۱۰^{۴}$× ۴/۳ سلول در هر میلی‌لیتر) به ترتیب برابر با $۱۰^{۴}$× ۰/۱۶۷ و$۱۰^{۴}$× ۰/۰۵۲ سلول به ازای هر پاروپای ماده می‌باشد. بیشترین میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک سندسموس در دوره زمانی ۲۴ ساعت، $۱۰^{۴}$× ۱/۲۶ سلول مربوط به سطح غذایی با تراکم خیلی زیاد وکمترین میزان بلع برابر با $۱۰^{۴}$× ۰/۲۶ سلول که مربوط به سطح غذایی با تراکم خیلی کم می باشد. میزان بلع این پاروپا با تراکم متوسط و کم به ترتیب برابر با $۱۰^{۴}$× ۰/۶۷۶ و$۱۰^{۴}$× ۰/۴۱۶ سلول می‌باشد. نتایج بدست آمده در دوره زمانی ۷۲ ساعت نشان داد که بیشترین میزان بلع پاروپای*E. serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک سندسموس،$۱۰^{۴}$× ۲/۵۴ سلول مربوط به سطح

غذایی با تراکم خیلی زیاد و کمترین میزان بلع $۱۰^۴$× ۰/۳۷ سلول که مربوط به سطح غذایی با تراکم خیلی کم می باشد. میزان بلع این پاروپا با تراکم متوسط و کم به ترتیب برابر با $۱۰^۴$× ۱/۹۲ و $۱۰^۴$ × ۰/۹۷ سلول می باشد.

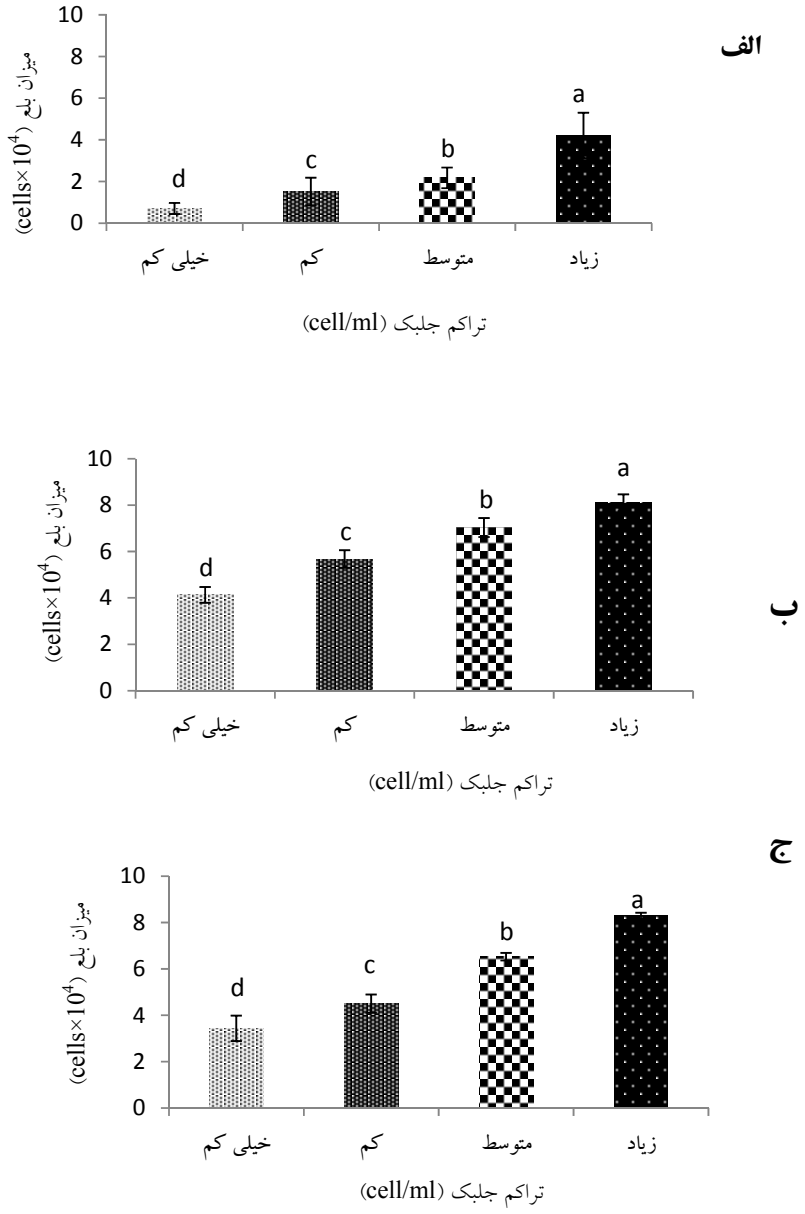
جدول ۱- نوع و غلظت جلبکهای استفاده شده در این تحقیق.

جلبکهای میکروسکوپی	غلظت سلول ها ($۱۰^۴$سلول درمیلی لیتر)			
	خیلی کم	کم	متوسط	زیاد
Scenedesmus quadricauda	۲/۷۷	۴/۳۰	۷/۳۰	۱۱/۸۲
	غلظت سلول ها ($۱۰^۵$سلول درمیلی لیتر)			
	خیلی کم	کم	متوسط	زیاد
Chlorella vulgaris	۵/۳۷	۹/۶۰	۱۱/۳۵	۱۵/۴۳



شکل ۲- میزان بلع پاروپای *Eucyclops serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک سندسموس در غلظت های مختلف و دوره های زمانی ۶ ساعت (الف)، ۲۴ ساعت (ب) و ۷۲ ساعت (ج). حروف مشخص شده در هر ستون با حد اقل یک حروف مشابه، از نظر آماری با آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند ($P\geq$ ۰/۰۵).

میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* از جلبک کلرلا: نتایج حاصل از میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* در غلظت‌های مختلف از جلبک کلرلا در شکل۳ ارائه شده است.



شکل ۳- میزان بلع پاروپای *Eucyclops serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک کلرلا در غلظت های مختلف ودر دوره های زمانی ۶ ساعت (الف)، ۲۴ ساعت (ب) و ۷۲ ساعت (ج). حروف مشخص شده در هر ستون با حد اقل یک حروف مشابه، از نظر آماری با آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند ($P\geq$ ۰/۰۵).

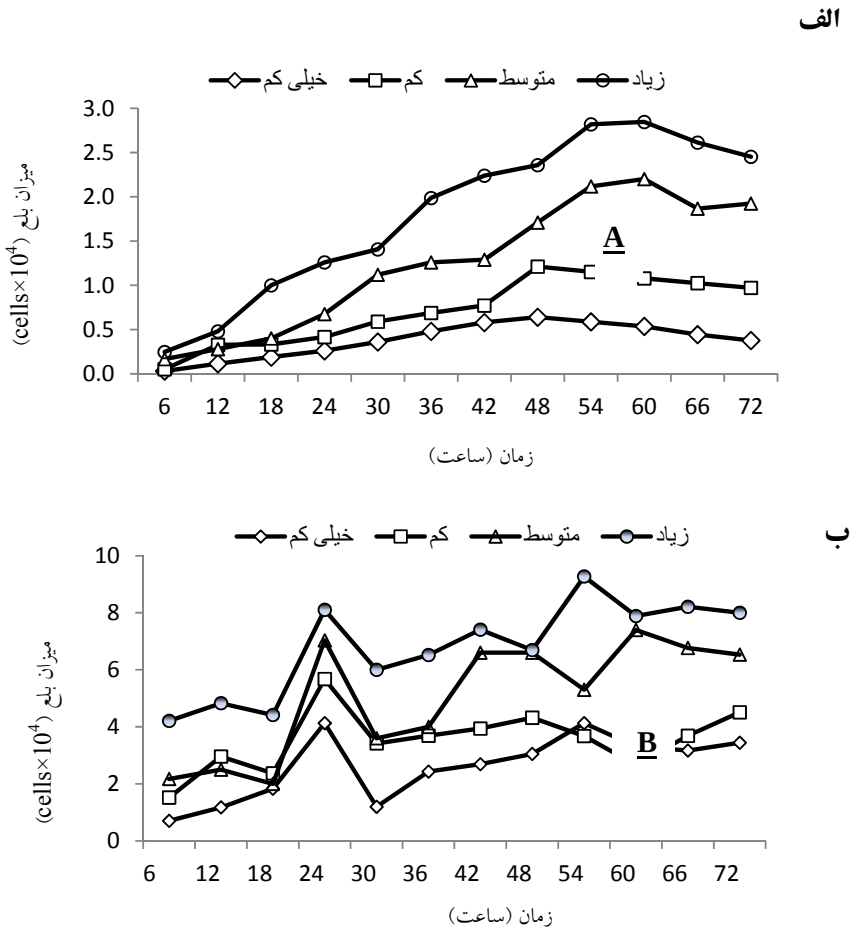
نتایج نشان داد که بیشترین میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک کلرلا در دوره زمانی ۶ ساعت، $۴/۲۱ \times ۱۰^{۴}$ سلول در تراکم زیاد ($۱۵/۴ \times ۱۰^{۵}$سلول در هر میلی‌لیتر) و کمترین میزان بلع $۰/۷۰ \times ۱۰^{۴}$ سلول در تراکم خیلی کم ($۵/۴ \times ۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی-لیتر) است. میزان بلع این پاروپا با تراکم متوسط ($۱۱/۴ \times ۱۰^{۵}$سلول در هر میلی‌لیتر) و کم ($۹/۶ \times ۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر) به ترتیب $۲/۱۷ \times ۱۰^{۴}$ و $۱/۵۲ \times ۱۰^{۴}$ سلول می باشد. بیشترین میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* در تغذیه از جلبک کلرلا در دوره زمانی۲۴ ساعت، $۸/۱۰ \times ۱۰^{۳}$ سلول با تراکم زیاد و کمترین آن $۴/۱۳ \times ۱۰^{۳}$ سلول در تراکم خیلی کم بود. میزان بلع این پاروپا با تراکم متوسط و کم به ترتیب برابر با $۷/۰۳ \times ۱۰^{۴}$ و $۵/۶۷ \times ۱۰^{۴}$ سلول تعیین شد. با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* در تغذیه با جلبک کلرلا در دوره زمانی۷۲ ساعت، $۸/۲۹ \times ۱۰^{۴}$ سلول با تراکم زیاد و کمترین میزان بلع $۳/۴۴ \times ۱۰^{۳}$ سلول در تراکم خیلی کم بدست آمد. میزان بلع این پاروپا در سطوح غذایی متوسط و کم به ترتیب برابر با $۶/۵۳ \times ۱۰^{۴}$ و $۴/۵۱ \times ۱۰^{۴}$ سلول در هر میلی لیتر تعیین گردید.

در مجموع می‌توان گفت که میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* با استفاده از هر دو گونه جلبکی سندسموس و کلرلا در طی دوره ۶ تا ۷۲ ساعت بطور متوسط سیر صعودی نشان داد (شکل ۴) اگرچه در ساعات انتهایی آزمایش روند تقریباً یکسانی به وجود می‌آید و میزان مصرف ثابت شد.

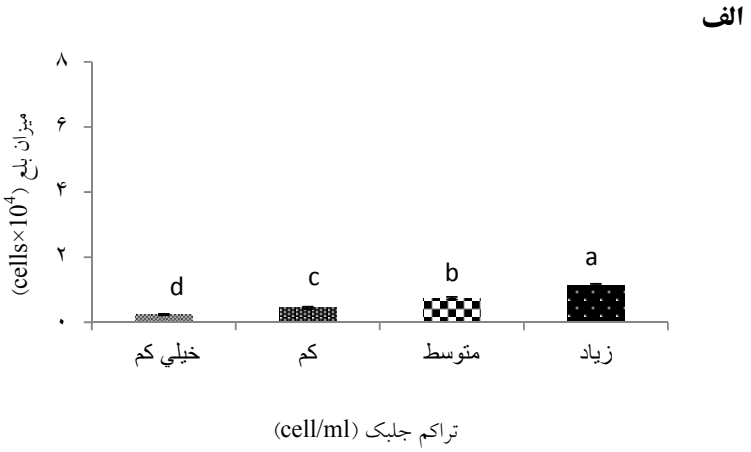
این روند هنگام تغذیه*E. serrulatus* از جلبک سندسموس روند منظم‌تری در مقایسه با جلبک کلرلا بود. بطور کلی می‌توان بیان نمود که متوسط میزان بلع در دوره ۷۲ ساعته از جلبک کلرلا بیشتر از سندسموس است هر چند که با افزایش تراکم سلول‌های جلبک میزان بلع هر دو جلبک افزایش پیدا می‌کنند. با توجه به این که میزان بلع باید بر حسب متوسط روزانه مورد محاسبه و مقایسه قرار گیرد، نتایج آن در شکل۵ ارائه شد. نتایج نشان داد که بلع پاروپا از جلبک سندسموس و کلرلا توام با افزایش غلظت یا تراکم جلبک افزایش می‌یابد و در بیشترین غلظت‌های جلبکی، بیشترین میزان بلع از سندسموس برابر با $۰/۰۴۷ \times ۱۰^{۴}$ سلول در ساعت و از کلرلا برابر با $۰/۴۰۲ \times ۱۰^{۴}$ سلول در ساعت است.

بحث

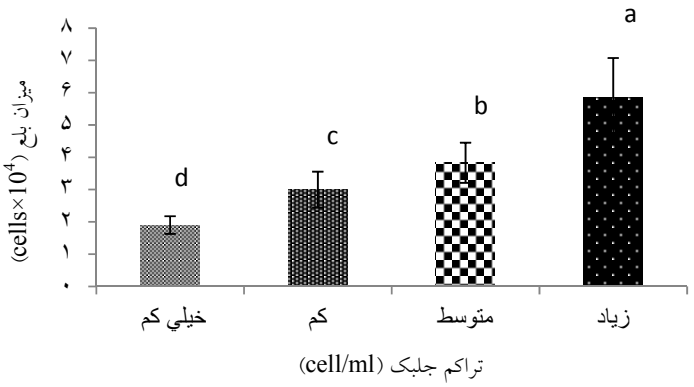
در این مطالعه پاروپای *E. serrulatus* تغذیه شده با جلبک کلرلا در تمام سطوح تغذیه‌ای میزان بلع بیشتری را در مقایسه با جلبک سندسموس در سطوح مختلف نشان می-دهد به طوری که بیشترین میزان بلع پاروپای تغذیه شده از جلبک کلرلا و سندسموس به ترتیب $۰/۴ \times ۱۰^{۴}$و $۰/۰۴۷ \times ۱۰^{۴}$سلول در ساعت می‌باشد. از دلایل میزان مصرف بالاتر جلبک کلرلا نسبت به سندسموس به ابعاد سلولی مناسب‌تر جلبک کلرلا (حدود ۵-۲ میکرومتر)، تک سلولی و کروی شکل بودن آن نسبت داد (۲۰)، در حالیکه سلول‌های جلبک سندسموس دارای تاژک و خار در ساختار سلولی خود می‌باشد. جلبک‌های مورد استفاده در این تحقیق اگرچه هر دو متعلق به کلروفیت‌ها بودند اما از نظر سلولی تفاوت هایی با هم داشتند. جلبک سندسموس وزن خشک $۱/۵۵ \times ۱۰^{-۵}$ میکروگرم بر سلول و حجم زیستی۱۶۰ میکرومتر مکعب دارد در حالیکه جلبک کلرلا وزن خشک $۰/۵۰ \times ۱۰^{-۵}$میکروگرم بر سلول و دارای حجم زیستی۳۰ میکرومتر مکعب است. چنین تفاوت‌های باعث شد که غلظت‌های متناسبی از آنها مطابق جدول ۱ در نظر گرفته شود که تا سر حد امکان تاثیر تفاوت‌ها در این خصوص را سرشکن نماید. بنابراین می‌توان استدلال نمود که کیفیت غذایی کلرلا (محتوای بالای اسیدهای آمینه، پروتئین و درصد بالای کلروفیل‌های *a* و*b*) نسبت به سندسموس می‌تواند باعث مصرف بالای آن توسط پاروپای *E. serrulatus* باشد (۱۰،۳۰).



شکل ۴- میزان بلع پاروپای *Eucyclops serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک سندسموس (الف) و جلبک کلرلا (ب) در دوره زمانی ۷۲ ساعت در غلظت های مختلف جلبکی.



ب



شکل۵- متوسط میزان بلع روزانه پاروپای *Eucyclops serrulatus* هنگام تغذیه از جلبک سندسموس (الف) و جلبک کلرلا (ب) در دوره آزمایش. حروف مشخص شده در هر ستون با حد اقل یک حروف مشابه، از نظر آماری با آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند (P≥ ۰/۰۵).

مطالعه حاضر نشان داد که میزان بلع پاروپای *E. serrulatus* با نوع جیره غذایی جلبکی در ارتباط است. سایر مطالعات نیز نشان دادند که میزان تغذیه پاروپایان متناسب با نوع جیره غذایی جلبکی تغییرپذیر است. میزان بلع فقط با گونه‌های پاروپایان تغییر نمی‌کند بلکه نوع وگونه‌ی جلبک یا در کل کیفیت غذا می‌تواند بر میزان تغذیه پاروپایان موثر باشد. هم چنین بعضی از مطالعات نشان داده که پاروپایان می‌توانند غذاهای مختلف با اندازه-های مشابه و کیفیت مختلف را از هم متمایز کنند (۴، ۳۹،۱۶).

همانطور که مشاهده می شود، میزان بلع مطالعه حاضر نسبت به سایر مطالعات ذکر شده پائین‌تر می‌باشد. به نظر می آید دلیل بلع پائین این گونه پاروپا هنگام تغذیه با دو-گونه جلبکی رفتار تغذیه‌ای ویژه این گونه باشد. همچنین نوع جلبک‌های به کار برده شده در این آزمایش و ساختار گوناگون آنها نیز ممکن است موجب بلع پائین این پاروپا نسبت به سایر پاروپایان مطالعه شده باشد. دلیل دیگر که می‌توان به آن توجه کرد، مقدار بلع و مصرف پائین غذا در پاروپایان سیکلوپوئید نسبت به سایر پاروپایان می‌باشد(۴ و۱۱). در مطالعه حاضر با افزایش تراکم سلول‌های جلبکی میزان بلع پاروپایان در هر دو جیره جلبکی افزایش یافت. (Frost1972) گزارش داد که رابطه‌ی مستقیم و خطی بین میزان بلع و غلظت جلبک وجود دارد به طوری که میزان بلع کالانوس به طور نسبی با افزایش غلظت غذا افزایش می‌یابد تا جائی که به نقطه‌ی سیری برسد (۲۱). (Gopalakrishnan1976) بیان کرد که افزایش خطی در میزان بلع (مصرف) با افزایش غلظت جلبک در ارتباط است (۲۴). (Emmerson 1984) نشان داد که با غلظت سلول‌های جلبک میزان بلع افزایش می‌یابد تا یک نقطه مشخص که از آن نقطه به بعد افزایش مشهود نمی باشد (۱۸).

(Paffenhofer,et..1995) نیز بر وجود یک رابطه‌ی خطی بین غلظت اجزای غذایی و میزان غذای بلع شده در پاروپایان اشاره کرده است (۴۰). (Holling1959) رابطه‌ای را بین میزان بلع و غلظت غذا بیان کرد (۲۶). بر اساس یافته‌های وی، سه نوع رابطه اساسی بین بلع و غلظت غذا وجود دارد. در نوع اول، بلع به طور خطی با افزایش تعداد و تراکم طعمه‌ها افزایش می‌یابد سپس به یک نقطه سیری می‌رسد و ثابت می‌ماند. در نوع دوم، میزان بلع با افزایش تراکم طعمه افزایش می‌یابد و سپس در یک مقدار بیشینه

ثابت می‌ماند بنابراین نتایج به شکل سهمی درجه‌ی دوم (Asymptote) می‌باشد. نوع سوم پاسخی سیگموئیدی (Sigmoid) با یک کاهش و افزایش محدود دارد (۲۶). با توجه به شکل ۴ می‌توان گفت که تئوری نوع اول به یافته‌های این مطالعه بسیار نزدیک است.

مقدار مصرف جیره‌های غذایی جلبکی در سطوح مختلف توسط پاروپای *E. serrulatus* متفاوت بود، بالاترین میزان بلع یا مصرف را هنگام تغذیه از جلبک سبز کلرلا *C. vulgaris* در سطح تراکم زیاد ($۱۵/۴ \times ۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر) بدست آمد. با توجه با اینکه هزینه مورد نیاز برای کشت سندسموس وکلرلا تقریبا برابر است اما با توجه به اینکه مصرف قابل توجه پاروپای *E. serrulatus* از جلبک کلرلا بیشتر است لذا این جلبک در صورتی که در محیط‌های کشت ارزان تر از قبیل کودهای مرغی و گاوی پرورش داده شود می‌توان به عنوان جیره مناسبی برای پرورش پاروپای*E. serrulatus* استفاده شود که در این صورت هزینه تولید آن بسیار کاهش خواهد یافت.

سپاسگزاری

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

منابع

۱. تقوی، د.، فرهادیان، ا.، محبوبی صوفیانی، ن.، و کیوانی، ی.، ۱۳۹۳. تاثیر ترکیبی رژیم های نوری و جیره‌های غذایی جلبکی بر رشد و تولید درآنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia quadrangula* (O. F. Müller, 1785). مجله زیست شناسی ایران ، شماره ۲۷ .

۲. فرهادیان، ا.، ۱۳۹۰. رشد و تولید در سیکلوپوئید پاروپای *Microcyclops varicans* . مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۴، صفحات ۵۴۹ تا ۵۵۸.

3. Abu-Rezq, T. S., Yule, A. B., and Teng, S. K., 1997. Ingestion, fecundity, growth rates and culture of the harpacticoid copepod, *Tisbe furcata*, in the laboratory. Hydrobiologia, 347: 109–118.

4. Adrian, R., and Frost, T. M., 1993. Omnivory in cyclopoid copepods: comparisons of algae and invertebrates as food for three, differently sized species. Journal of Plankton Research, 15: 643–658.

5. Alekseev, V. R., Dumont, H. J., Pensaert, J., and Baribwegure, D., 2006. A redescription of *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851) (Crustacea: Copepoda: Cyclopoida) and some related taxa, with a phylogeny of the *E. serrulatus* group. Zoologica Scripta, 35: 123–147.

6. Bamstedt, U., Gifford, D. J., Irigoien, X., Atkinson, A., and Roman, M., 2000. Feeding. In: ICES Zooplankton Methodology Manual. Edited by R. Harris, P. Wiebe, J. Lens, H. R. Skjoldal. PP: 297-399. Academic Press.

7. Barsanti, L., and Gualtieri, P., 2006. Algae: Anatomy, Biochemistry, andBiotechnology, CRC Press, Taylor and Francis Group. 320 P.

8. Bellinger, E. G., and Sigee, D. C., 2010. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. John Wiley & Sons Ltd., 271 P.

9. Betouhim-El, T., and Kahan, D., 1972. *Tisbe pori* n. sp. (Copepoda: Harpacticoida) from the Mediterranean Coast and its cultivation in the laboratory. Marine Biology 16: 201-209.

10. Boxshall, G. A., and Daniell, D., 2008. Globall diversity of copepods (Crustacea: Copepoda) in freshwater. Hydrobiologia, 595: 195-207.

11. Brandl, Z., and Fernando, C. H., 1978. Prey selection by the cyclopoid copepods *Mesocyclopj edax* and *Cyclops vicinus.* International Ver. Limnology, 20: 2505-2510.

12. Brown, M. R., 2002. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. Marine Research, 45: 281-292.

13. Collado, C., Defaye, D., Dussart, B. H., and Fernando, C. H., 1984. The freshwater

Copepoda (Crustacea) of Costa Rica with notes on some species, Hydrobiologia, 119: 89–99.

14. Datry, T., Hervant, F., Malard, F., Vitry, L., and Gibert, J., 2003. Dynamics and adaptive responses of invertebrates to suboxia in contaminated sediments of a stromwater infiltration basin. Archiv fur Hydrobiologie 156: 339-359.

15. Downing, J. A., and Rigler, F. H., 1984. A manual for the methods of assessment of secondary productivity in fresh waters. 2nd edition, IBP Handbook 17. Blackwell Scientific Publications, London.

16. Dumont, H. J., Van de Velde, I., and Dumont, S., 1975. The dry weight estimate of biomass in a selection of Cladocera, copepod and rotifer from the plankton, periphyton and benthos of continental waters. Oecology (Berl), 19: 75-97.

17. Dussart, B. H., and Defaye, D., 2001. Introduction to the Copepoda. In: Dumont, H.J.F. (Ed.), Guides to the Identification of the Micro-invertebrates of the Continental Waters of the World, No. 16. Backhuys Publishers, Leiden, PP: 1–289

18. Emmerson, W. D., 1984. Predation and energetics of *Penaeus indicus* (Decapoda, Penaeidae) larvae feeding on *Brachionus plicatilis* and *Artemia* nauplii. Aquaculture, 38: 201–209.

19. Farhadian, O., Kharamannia, R., Mahboobi Soofiani, N., Ebrahimi Dorche, E., 2014. Larval feeding behavior of angel fish Pterophyllum scalare (Cichlidae) fed copepod Eucyclops serrulatus and cladoceran Ceriodaphnia quadrangula. Aquaculture Research 45: 1212-1223.

20. Fernando, C. H., 2002. A Guide to tropical freshwater zooplankton. Backhuys Publisher, Leiden, PP:123-187.

21. Frost, B. W., 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. Limnology and Oceanogrphy, 17: 805–815.

22. Frost, B. W., 1977. Feeding behavior of *Calanus pacificus* in mixture of food particle. Limnology and Oceanogrphy, 22: 427-491.

23. Fuller, J. L., 1937. Feeding rate of *Calanus finmarchicus* in relation to environmental conditions. Biological Bulletin 72 : 233-246.

24. Gopalakrishnan, K. 1976. Larval rearing of red shrimp, *Penaeus marginatus* (Crustacea). Aquaculture, 9: 145– 154.

25. Harris, R. P., and Paffenhofer, G. A., 1976a. Feeding, growth and reproduction of the marine planktonic copepod *Temora longicornis* Muller. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 56: 675-690.

26. Holling, C. S., 1959. The components of predation as revealed by a study of small–mammal predation of the European pine sawfly Can. Entomology, 91: 293-320.

27. Kiorboe, T., Saiz, E., and Viitasalo, M., 1996. Prey switching behavior in planktonic copepod *Acartia tonsa*. Marine Ecology Progress Series, 143: 65–75.

28. Marshall, S. M., 1942. The food of *Calanus finmarchicus* during 1923. Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom 13: 473-479.

29. Martinez, M. P, and Chakroff, J. B. P., 1975. Direct phytoplankton counting technique using the hemacytometer. Philippine Agriculture Science, 59: 43-50

30. Mayeli, S. M., Nandini, S., and Sarma, S. S. S., 2004. The efficacy of *Scenedesmus* morphology as a defense mechanism against grazing by selected species of rotifers and cladocerans. Aquatic Ecology, 38: 515-522

31. McAllister, C. D., 1970. Zooplankton rations, phytoplankton mortality and the estimation of marine production. Marine Food Chains, PP: 419-457.

32. Meyer, B., Irigoien, X., Graeve, M., and Head, R. N., 2002. Feeding rate and selectivity among nauplii, copepodites and adult females of *Calanus finmarchicus* and *Calanus helgolandicus*. Marine Research, 56: 169-176

33. Monakov, A.V., 2003. Feeding of freshwater invertebrates. Kenobi Productions, Ghent, Belgium.

34. Nandini, S., and Sarma, S. S. S., 2007. Effect of algal animal diets on life history of freshwater copepod *Eucyclops serrulatus* (Fischer, 1851). Aquatic Ecology 41: 75-84.

35. Nichols, H. W., 1973. Growth media–freshwater.In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Phycological Methods – Culture Methods and Growth Measurements; Cambridge University Press, Cambridge, PP: 7–24.

36. Omori, M., and Ikeda, T., 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc, New York, PP :332.

37. Paffenhofer, G. A., 1984. Food ingestion by the marine planktonic copepod *Paracalanus* in relation to abundance and size distribution of food. Marine Biology, 80: 323– 333.

38. Paffenhofer, G. A., 1971. Grazing and ingestion rate of nauplii, copepodids and adults of the marine planktonic copepod *Calanus helgolandicus*. Marine Biology, 11: 286-298.

39. Paffenhofer, G. A., 1988. Feeding rate and behavior of zooplankton. Bulletin of Marine Science, 43: 430-445.

40. Paffenhofer, G. A., Bundy, M. H., Lewis, K. D., and Metz, C., 1995. Rates of ingestion and their variability between individual calanoid copepods: direct observations. Journal of Plankton Research, 17: 1573-1585.

41. Phang, S. M., and Chu, W. L., 1999. University of Malaya Algae Culture Collection (UMACC): Catalogue of Strains). Institute of Postgraduate Studies & Research University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, 77P.

42. Richman, S., and Rogers, J. N., 1969. The feeding of *Calanus helgolandicus* on synchronously growing populations of the marine diatom *Ditylum brightwelli*. Limnology and Oceanography 14 : 701-709.

43. Schael, M., Rudstam, L. G., and Post, J. R., 1991. Gape limitation and prey selection in larval yellow perch (*Perca flavescens*), freshwater drum (*Aplodinotus grunniens*), and black crappie (*Pomoxis nigromaculatus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 48: 1919-1925.

44. SPSS, 2007. Statistical Pakage for Social Science. Version 16, SPSS Inc., Michigan Avenue, Chicago, Illinois, USA.

45. Toledo, J. D., Golez, M. S., Doi, M., and Ohno, A., 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper, *Epinephelus coiodies*. Fisheries Science, 65: 390-397.

46. Williams, R., Conway, D. V. P., and Hunt, H. G., 1994. The role of copepods in the planktonic ecosystems of mixed and stratified waters of the European shelf seas. Hydrobiologia, 292: 521-530.

47. Yule, A. B., and Crisp, D. J., 1983. A study of feeding behaviour in *Temora longicornis* (Muller) (Crustacea: Copepoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 71: 271-282.

48. Zar, J. H., 1984. Biostatistical Analysis, 2nd edition. Prentice Hall Inc., Engewood Cliffs, New York. 718.

Ingestion rate of freshwater copepod *Eucyclops serrulatus* using green algae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*

Farhadian O., Kharamannia R., Soofiani N. M. and Ebrahimi Dorche E.

Natural Resources Dept., Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Culture of many zooplankton species is mostly depended on microalga because they have many of specific key properties for zooplankton ingestion. In present research, ingestion rate of copepod *Eucyclops serrulatus* was determined using two green microalga of *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris* at different algal concentration (very low, low, medium, high). Results showed that ingestion rate of copepod *E. serrulatus* was significantly ($P<0.05$) increased when algal density of *S. quadricauda* and *C. vulgaris* increased. The mean maximum ingestion rates of E. serrulatus were obtained 0.402×10^4 and 0.047×10^4 cells/h at high algal concentrations of *S. quadricauda* and *C. vulgaris*, respectively. In addition, our findings showed that there was linear relationship equation between ingestion rate and algal concentration which changed with used algae species. Comparison of measured ingestion rates showed that *E. serrulatus* could be cultured at algal culture media, but suitable performance obtained with *C. vulgaris*. The higher ingestion rate of *E. serrulatus* on *C. vulgaris* may attribute to its smaller size and sperical shape of cells.

Key words: Ingestion rate, copepod, *Eucyclops serrulatus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Chlorella vulgaris*