مقاله علمی–پژوهشی:

بررسی رشد جمعیت و تولیدات سیکلوپوئید کوپه پود *Acanthocyclops trajani* با تغذیه از جیره‌های مختلف

رحیمه رحمتی*[۱]، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی[۲]، مژگان روشن طبری[۱]، مسطوره دوستدار[۳]

*rahmati764@gmail.com

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
۲- دانشکده شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۸

چکیده

در این تحقیق اثرات جیره‌های متنوع جلبکی و غیرجلبکی بر میزان تراکم و سرعت رشد جمعیت سیکلوپوئید کوپه‌پود *Acanthocyclops trajani* بررسی شد. بدین منظور، کوپه‌پود در تانکهای ۱۲۰ لیتری با تغذیه از جیره‌های مختلف (۵ تیمار، هر کدام در سه تکرار) شامل ترکیب زنده میکروجلبک‌های *Scenedesmus obliquus* و *Spirulina maxima* (LSS)، مخلوط خشک شده میکروجلبک‌های مذکور (DSS) (با نسبت ۱:۱)، ماکروجلبک خشک شده *Gracilaria corticata* (DG)، ترکیب خشک شده سبزیجات (اسفناج، جعفری و گشنیز) (DV) و کود مایع اسلاری (S) به کشت انبوه رسید و تراکم جمعیت (ناپلیوس، کوپه‌پودید و بالغ) با نمونه‌برداری جمعیت (هر ۳ روز طی یک ماه) بررسی شد. نتایج نشان داد که بالاترین میانگین تراکم جمعیت (۲۹۸±۱۴۴۵ عدد در لیتر)، بالاترین رشد جمعیت (۰/۱۴۵ در روز) و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت (۴/۷۶ روز) در جیره مخلوط خشک شده میکروجلبک‌ها حاصل شد که با غالب جیره‌ها تفاوت معناداری ($p<0/05$) داشت. بر اساس نتایج، پتانسیل استفاده از میکروجلبک‌های خشک شده جهت بهبود تراکم کشت در زمان کمبود یا نزول کشت میکروجلبک‌های زنده وجود دارد.

لغات کلیدی: کوپه پود *Acanthocyclops trajani*، میکروجلبک خشک

*نویسنده مسئول

مقدمه

استفاده از غذاهای پلانکتونی بخصوص زئوپلانکتون‌ها نقش مهمی در دوران آغازین تغذیه لاروی دارد (پهلوانی و همکاران، ۱۳۹۸). کوپه‌پودا (به صورت مکمل یا جایگزین کامل) به عنوان یک غذای زنده مهم در صنعت آبزی‌پروری در سالهای اخیر مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند. تغذیه لاروها با غذاهای زنده مانند روتیفر و ناپلیوس آرتمیا در اغلب موارد نتوانسته رشد و بخصوص بازماندگی مطلوبی در لاروهای گونه های مختلف آبزیان ایجاد نماید (Rasdi and Qin, 2014). برخی از ویژگی‌های مهم در کوپه‌پودا شامل فراوانی و تنوع بالا، اندازه متفاوت بدن در مراحل مختلف زندگی و متناسب با دهان لاروها، قابلیت تولیدمثل در شرایط آزمایشگاهی و ارزش غذایی بالا آنها را به عنوان یک غذای زنده مطلوب در صنعت آبزی‌پروری مطرح کرده است (Rasdi, 2015). اما یکی از چالش‌های عمده در پیشرفت کشت انبوه کوپه‌پودا تنوع احتیاجات تغذیه‌ای در گونه‌های مختلف آنهاست (Buttino *et al.*, 2009). کیفیت غذا، عاملی کلیدی در تولید کوپه پودا محسوب می‌گردد. کوپه پودا در شرایط کشت انبوه عموماً از میکروجلبک‌های زنده و مخمرها تغذیه می‌کنند (Zaleha *et al.*, 2012). تهیه یک ذخیره کافی از جلبک‌ها به دلیل مرگ ناگهانی کشت جلبکی، آلودگی و نیازمندی فضا و نیروی کارگری و انرژی، به عنوان یک مشکل اساسی در آبزی‌پروری مطرح است. بنابراین، استفاده از غذاهای جایگزین و نیز استفاده از جلبک‌های خشک شده به جای جلبک‌های تازه بویژه طی زمان از دست دادن کشت تازه لازم است (Rasdi, 2015). در تولید کوپه پودا با توجه به شرایط سخت و پرهزینه تولید میکروجلبک‌ها، اغلب از طیف وسیعی از سایر غذاها نیز استفاده می شود. پرورش کوپه پودا می‌تواند با استفاده از ضایعات کنجاله سویا، پنبه دانه و یونجه (Farhadian *et al.*, 2013)، گندم و برنج (Barkoh *et al.*, 2005)، کودهای مختلف جانوری (Srivastava *et al.*, 2006) و مخمرهای مختلف (Farhadian *et al.*, 2008) انجام پذیرد. منابع و ترکیبات غیرجلبکی، جهت تغذیه کوپه پودا، متناسب با مواد مغذی ضروری، می‌توانند با ترکیبات جلبکی قابل مقایسه باشند (Rhodes, 2006). این مطالعه با هدف بررسی اثرات چند جیره متنوع بر تراکم و رشد جمعیت سیکلوپوئید کوپه پود آب شیرین *A.trajani* با توجه به معیار مقایسه جیره های میکروجلبک (Scenedesmus و Spirulina)، ماکروجلبک (Gracilaria) و غیر جلبکی (سبزیجات خشک و کود مایع اسلاری) با یکدیگر و دسترسی آسان به جیره غذایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سالن آکواریوم واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گرفت. ۵ رژیم مختلف غذایی (تیمار) برای تغذیه و کشت انبوه کوپه‌پود *A. trajani* (پس از کشت های اولیه در مراحل مختلف)، در تیمارهای جداگانه با ۳ تکرار مجموعاً در ۱۵ تانک (زوک) فراهم شد (جدول ۱).

جدول ۱: جیره‌های تازه و خشک مورد استفاده جهت تغذیه کوپه‌پود *A. trajani*

Table 1: Fresh and dry diets used to feed *A. trajani*

تیمار	نوع غذا جهت تغذیه کوپه پود
۱	ترکیب جلبک‌های زنده *S. maxima* + *S. obliquus* (LSS)
۲	ترکیب جلبک‌های خشک شده *S. maxima* + *S. obliquus* (DSS)
۳	ماکروجلبک خشک *G. corticata* (DG)
۴	ترکیب سبزیجات خشک شده (اسفناج، گشنیز و جعفری) (DV)
۵	کود مایع اسلاری (S)

طول دوره پرورش ۳۰ روز بود و الگوی مشابهی از تغذیه، تعویض ۴۰ درصد حجم آب تانک‌های مورد آزمون با تور ۲۰ میکرونی و برخی پارامترهای کیفی آب برای کلیه تیمارها در طول دوره اعمال گردید. جهت تهیه میکروجلبک‌های زنده، کشت میکرو جلبک *S. obliquus* در شرایط پرورشی آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، محیط کشت BBM، دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس (نور لامپ مهتابی)، در ۲۴ ساعت روشنایی

مداوم با pH آغازین ۶/۹ همراه با هوادهی مداوم انجام گرفت (Lavens and Sorgeloos, 1996). کشت میکروجلبک *S. maxima* در شرایط پرورشی آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، محیط کشت Zarrouk، دمای ۲۹ درجه سانتی گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس به صورت مداوم ۲۴ ساعته با نوردهی توسط لامپ های مهتابی، همراه با هوادهی مستمر به روش مرحله‌ای[1] انجام گرفت (Tarko *et al.*, 2012). شمارش سلول‌های جلبک *S. obliqqus* با استفاده از ازلام شمارش سدویک رفتر (اس-ار) انجام شد و برآورد حجم مورد نیاز برای جلبک تازه *S. maxima* با توجه به عدم امکان شمارش دقیق آن بر اساس زی توده وزن خشک آن انجام شد. جهت تهیه میکروجلبک‌های خشک در این تحقیق از روش اصلاح شده (Schipperus, 2014) استفاده شد، همچنین ماکروجلبک *G. corticata* نیز از سواحل دریای عمان در چابهار جمع‌آوری و پس از شستشو در شرایط سایه خشک گردید. ترکیب خشک سبزیجات شامل اسفناج، جعفری و گشنیز پس از تهیه به کمک آون فن‌دار خشک و پس از پودر شدن با آسیاب برقی به نسبت وزنی (۱:۱:۱) استفاده شدند (شرفی و همکاران، ۱۳۹۳). برای تهیه اسلاری نیز از روش (Mohanty, 2009) استفاده شد.

میزان مصرف غذا برای تغذیه کوپه‌پودها در تیمارهای حاوی اشکال خشک جهت ایجاد شرایط همسان بطور روزانه به مقدار ۴/۱۸ میکروگرم وزن خشک به ازای هر میلی‌لیتر آب و تراکم سلولی $۱/۶۷\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی‌لیتر در تیمار حاوی میکروجلبک‌های زنده بود (Rasdi, 2015). کود مایع اسلاری نیز طی آزمون و خطاهای مکرر قبل از شروع تیمار، از جهت کیفیت آب موجود در تانک با حجم روزانه ۲ میلی‌لیتر به ازای هر لیتر از آب تانک افزوده شد.

کشت و انبوه‌سازی کوپه‌پود *A. trajani*

سیکلوپوئید کوپه‌پود *A. trajani* از استخر خاکی پرورش ماهیان گرمابی با تور زئوپلانکتون‌گیر (۴۰۰ میکرومتر) جمع‌آوری شد. برای شناسایی دقیق نام علمی کوپه‌پود از کلیدهای شناسایی و منابع علمی معتبر استفاده شد (Blaha, 2010; Arthropoda, 2016). جهت دستیابی به ذخیره خالص کوپه‌پود، جداسازی ماده های حامل تخم، تغذیه آنها با میکروجلبک‌ها و آب سبز، تعویض روزانه آب ظروف کشت (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ لیتری) و در نهایت انتقال به ظروف بزرگتر انجام شد (Lee *et al.*, 2005). برای انبوه‌سازی کوپه‌پود، پس از کشت‌های اولیه به روش کشت مرحله‌ای، از ۱۵ تانک (زوک) ۱۲۰ لیتری (آب چاه) همراه با تنظیم تراکم و شرایط تغذیه‌ای آنها بر اساس تیمارهای مورد مطالعه، استفاده شد (شکل ۱).

شکل ۱: سالن کشت انبوه *A. trajani* با استفاده از جیره های مختلف

Figure 1: Mass cultivation hall of *A .trajani* using different diets

تراکم جمعیت، نرخ رشد ویژه (K) و زمان دو برابر شدن جمعیت (Dt)

به منظور تعیین تراکم در کوپه‌پود *A. trajani* ، هر سه روز یکبار (سه نمونه از هر تانک) پس از فیلتر نمودن با تور ۵۰ میکرون در تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کوپه‌پودهای واقع در کلیه مراحل رشد (شامل ناپلیوس، کوپه پودید و بالغ) بعد از جداسازی با استفاده از لام بوگاروف (Newell and Newell, 1963) با میکروسکوپ Optika (B-383PL) شمارش شدند. نرخ رشد ویژه در کوپه‌پود *A. trajani* با رابطه ذیل محاسبه شد (Hada, and Uye, 1991):

$$K = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

t =مدت زمان کشت، N0 = تراکم اولیه و Nt = تراکم نهایی مراحل مختلف رشدی در تانک‌های پرورشی می‌باشند.

[1] Batch culture

برای محاسبه زمان دو برابر شدن جمعیت از رابطه ذیل استفاده شد (James and Al-Khars, 1986):

$$Dt = (Ln\ 2) / K$$

فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب

فاکتورهای درجه حرارت آب و pH به صورت روزانه در طول دوره پرورش بترتیب با استفاده از دماسنج و pH متر(WTW-pH 3110-Germany) اندازه‌گیری شد. میزان اکسیژن محلول در آب (DO) به صورت هفتگی و سایر پارامترها ۲ بار در طول دوره پرورش در هر تیمار بر اساس روش های استاندارد (APHA, 2005) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS, Chicago, IL, USA) انجام گرفت. جهت مقایسه پارامترهای جمعیت از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) در سطح معناداری ۵ درصد و آزمون چند متغیره Post hoc با استفاده از تست LSD استفاده شد. همه اطلاعات از جهت نرمال بودن، همگن بودن و غیروابستگی آنالیز شدند.

نتایج

پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب

نتایج برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در جدول ۲ ارائه شده است. محدوده تغییرات درجه حرارت و *p*H در تیمارهای مختلف بترتیب، ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۸/۳۹ -۷/۹۶ بود. اختلاف معناداری میان میانگین درجه حرارت در تیمارهای مختلف طی دوره پرورش وجود نداشت ($p>0/05$). محدوده تغییرات آمونیاک کل نیز در تیمارها ۰/۲۸-۰/۴۰ میلی‌گرم در لیتر بود که تیمارهای جلبکی تفاوت معناداری نشان دادند ($p<0/05$).

جدول ۲: مقادیر برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب طی دوره پرورش

Table 2: Some of water physicochemical parameters values during cultivation period

پارامترهای فیزیکوشیمیایی (Mean ± SE)	تیمارها				
	تیمار LSS	تیمار DSS	تیمار DG	تیمار DV	تیمار S
درجه حرارت آب (درجه سانتی‌گراد)	۲۳/۶۹±۰/۱۱	۲۳/۵۴±۰/۱۵	۲۳/۷۵±۰/۱۲	۲۳/۷۱±۰/۰۹	۲۳/۷۵±۰/۱۱
pH	۸/۲۲±۰/۰۶	۸/۳۹±۰/۰۶	۸/۱۳±۰/۱۲	۷/۹۶±۰/۰۹	۸/۱۴±۰/۱۰
اکسیژن محلول در آب (میلی‌گرم در لیتر)	۹/۰۰±۰/۰۰	۹/۰۰±۰/۰۰	۸/۳۳±۰/۱۰	۸/۵۰±۰/۱۳	۸/۰۰±۰/۰۰
آمونیاک کل (میلی‌گرم در لیتر)	۰/۳۱±۰/۰۰ [b]	۰/۲۸±۰/۰۰ [b]	۰/۳۸±۰/۰۰ [a]	۰/۳۸±۰/۰۰ [a]	۰/۴۰±۰/۰۰ [a]
سختی کل ($CaCO_3$) (میلی‌گرم در لیتر)	۲۷۸/۰۰±۲/۰۰	۲۷۸/۰۰±۲/۰۰	۲۷۶/۰۰±۱/۰۰	۲۷۶/۰۰±۰/۰۰	۲۷۶/۰۰±۰/۰۰

حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارها می‌باشد.

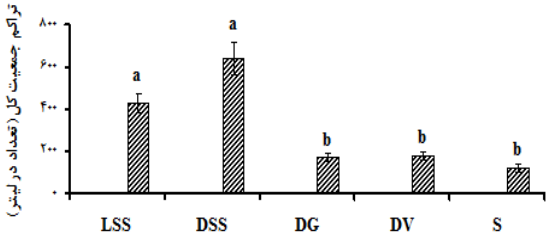
Different letters indicate a significant difference between treatments

تغییرات تراکم و رشد جمعیت در *A. trajani*

مقایسه تراکم جمعیت در تیمارهای مختلف و نیز در مراحل مختلف رشد کوپه پود در اشکال ۲ الی ۵ نشان داده شده است. بررسی کمیتی تراکم جمعیت *A. trajani* در تیمار LSS ، DSS ، DG ، DV و S بترتیب حاکی از میانگین تراکم ۴۴±۴۳۰، ۷۵±۶۳۸، ۱۹±۱۷۳، ۱۸±۱۸۲ و ۱۷±۱۲۳ عدد در لیتر طی دوره پرورش بود بطوریکه این مقدار بترتیب تیمارها در محدوده ۱۰۲۹-۱۲، ۲۰۲۳-۲۱، ۳۵۶-۱۰، ۳۵۵-۱۳ و ۲۲۷-۳ عدد در لیتر قرار گرفت. حروف مختلف در شکل‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنادار میان تیمارها می‌باشد (شکل‌های ۲ الی ۵).

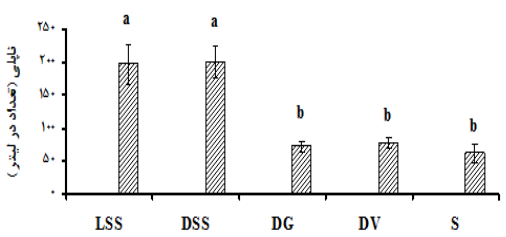
تغییرات تراکم جمعیت در روزهای مختلف طی دوره پرورش

نتایج حاصل از روند تراکم جمعیت در روزهای مختلف کشت طی دوره یک ماهه نشان‌دهنده اختلاف معنادار در تیمارها بود ($p<0/05$) (شکل ۶).



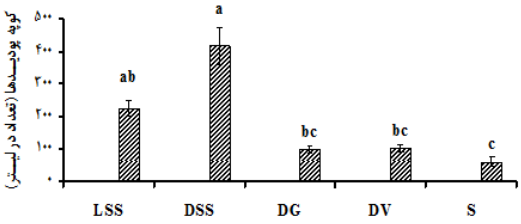
شکل۲: میانگین تراکم کل در *A. trajani* در تیمارهای مختلف

Figure 2: Mean total density of *A. trajani* in different treatments



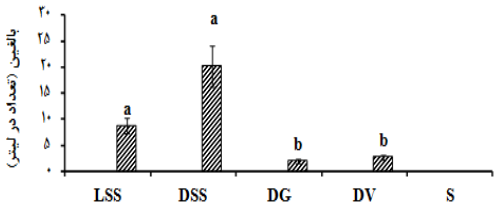
شکل ۳: میانگین تراکم مرحله ناپلیوسی در *A. trajani* در تیمارهای مختلف

Figure 3: Mean nauplius stage density of *A. trajani* in different treatments



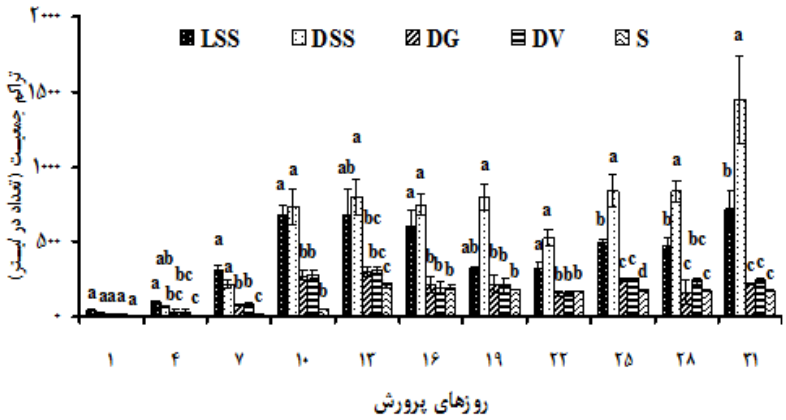
شکل ۴: میانگین تراکم مرحله کوپه پودید در *A. trajani* در تیمارهای مختلف

Figure 4: Mean copepodid stage density of *A. trajani* in different treatments



شکل ۵: میانگین تراکم مرحله بلوغ در *A. trajani* در تیمارهای مختلف

Figure 5: Mean maturity stage density of *A. trajani* in different treatments



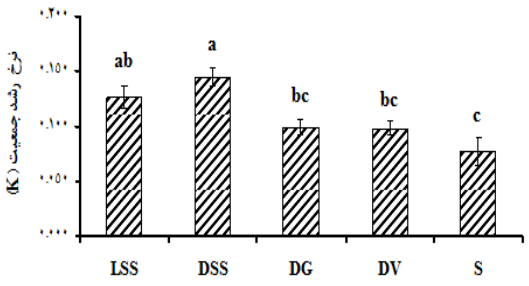
شکل ۶: میانگین تراکم جمعیت *A. trajani* در تیمارهای مختلف طی روزهای پرورش

Figure 6: Mean population density of *A. trajani* in different treatments during cultivation days

روند تغییرات تراکم جمعیت *A. trajani* درتیمارهای مختلف نشان داد که بالاترین میانگین تراکم بدست آمده در تیمارهای LSS ، DSS، DG، DV و S بترتیب تیمارها در روز سی‌ام با تراکم ۱۲۸±۷۱۵ عدد در لیتر، روز سی‌ام با تراکم کل ۲۹۸±۱۴۴۵ عدد در لیتر، روز سیزدهم با تراکم کل ۳۱±۳۰۰ عدد در لیتر، روز سیزدهم با تراکم ۲۶±۳۰۶ عدد در لیتر و روز سیزدهم با تراکم کل ۱۸±۲۱۰ عدد در لیتربود. همچنین، آنالیز آماری حاکی از تفاوت معنادار جمعیت در بین روزهای مختلف پرورش در تیمارها بود ($p<0/05$).

نرخ رشد ویژه جمعیت (K) *A. trajani* در شرایط کشت انبوه

نرخ رشد ویژه جمعیت (K) در شرایط کشت انبوه در محدوده ۰/۱۴۵-۰/۰۷۷ متغیر بود بطوریکه کم‌ترین و بیشترین مقدار آن بترتیب در تیمارهای S و DSS مشاهده شد (شکل ۷).

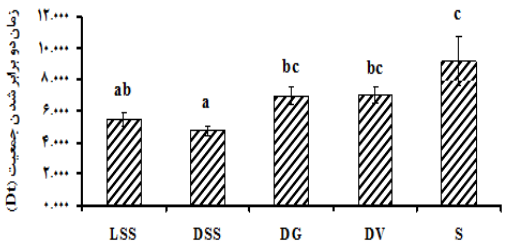


شکل ۷: میانگین رشد ویژه جمعیت در *A. trajani* در تیمارها

Figure 7: Mean population specific growth of *A. trajani* in treatments

زمان دو برابر شدن جمعیت *A. trajani* در شرایط کشت انبوه

زمان دو برابر شدن جمعیت *A. trajani* در جیره‌های تغذیه شده در تیمارها، روند متفاوت معناداری نشان داد. مدت زمان لازم جهت دو برابر شدن جمعیت در تیمارها در محدوده ۹/۱۸-۴/۷۶ روز بود (شکل ۸).



شکل ۸: میانگین زمان دو برابر شدن جمعیت در *A. trajani* در تیمارها

Figure 8: Mean population doubling time of *A. trajani* in treatments

بحث

تولید زئوپلانکتون به نوع رژیم غذایی که بر رشد جمعیت و قابلیت تولیدمثلی آنها تاثیرگذار است، بستگی دارد (Khatoon *et al.*, 2013). کیفیت و کمیت غذا از فاکتورهای زیستی بسیار مهم تنظیم‌کننده تولید تخم در کوپه‌پودا بشمار می‌روند و شرایط بهینه حمایت‌کننده از تولید تخم در کوپه‌پودا تعیین‌کننده رشد جمعیت یا نزول آن در شرایط کشت انبوه می‌باشد (Gusmao and McKinnon, 2009). نتایج مطالعه حاضر بوضوح نشان داد که نوع جیره غذایی از لحاظ رشد جمعیت جهت موفقیت کشت *A. trajani* تاثیرگذار بود. بالاترین نرخ رشد ویژه جمعیت در کوپه‌پودهای تغذیه کرده از تیمار DSS (۰/۱۴۵±۰/۰۰۸) مشاهده شد. مقادیر نرخ رشد ویژه در *A. trajani* بالاتر از برخی از گونه‌های سیکلوپوئید گزارش شده نظیر *Apocyclops royi* (۰/۰۹۶±۰/۰۱۳) و *Tigriopus japonicus* (۰/۰۸±۰/۰۱۴) بود (Lee *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2013). با این حال، این مقادیر از بالاترین نرخ رشد ویژه در سایر گونه‌های سیکلوپوئید نظیر *Acanthocyclops robustus* (۰/۱۷) (شرفی و همکاران، ۱۳۹۳)، *Apocyclops dengizicus* (۰/۲۲۱) (Farhadian *et al.*, 2008) و *Cyclopina kasignete* (۰/۱۵۶) (Rasdi, 2015) کمتر بود. این وضعیت در بسیاری از گونه‌های آب شیرین نظیرجنس *Acanthocyclops* مشاهده شد، زیرا ثابت شده که وجود پروتئین حیوانی نظیر روتیفر در مراحل انتهایی کوپه‌پودید و بلوغ برای آنها جهت بالا بردن نرخ رشد جمعیت ضروری است (Garcia

(*et al.*, 2011). همچنین کوپه‌پودهای تغذیه کرده از جیره DSS به ۴/۷۶ روز جهت دو برابر نمودن جمعیت خود نیاز داشتند که با مقادیر گزارش شده در سیکلوپوئید *A. robustus* (۴ روز) مطابقت داشت (شرفی و همکاران، ۱۳۹۳) ولی در مقایسه با سیکلوپوئیدهای *Thermocyclops decipiens* (۵ روز) (Pagano *et al.*,2000) و *Thermocyclops neglectus* (۵/۸ روز) (Gras and Saint-Jean, 1981) کوتاه‌تر بود. بالاترین میانگین تراکم *A. trajani* در این تحقیق در کوپه‌پودهای تغذیه کرده از جیره DSS (۱۴۴۵ عدد در لیتر) مشاهده شد که این یافته با مطالعات دیگری چون میانگین تراکم در *A. robustus* (۱۲۸۲عدد در لیتر) (شرفی و همکاران، ۱۳۹۳)، *Acartia tsuensis* (۲۰۰۰ عدد در لیتر) (Ohno and Okamura, 1988) و نیز *Eucyclops serrulatus* (۳۰۰۰ عدد در لیتر) (Farhadian *et al.*, 2014) مطابقت داشت. در مطالعه حاضر، بالاترین تراکم حاصله از دوره پرورش در سیکلوپوئید *A. trajani* در یکی از تکرارهای جیره DSS ، ۲۰۲۳ عدد در لیتر بود که از مقادیر تراکم گزارش شده از یافته‌های سایر محققین در سایر گونه‌ها مانند ۷۰۰۰ عدد در لیتر در سیکلوپوئید آب شور *A. dengizicus* (Farhadian *et al.*, 2008) و۸۰۰۰ عدد در لیتر در *Oithona colcarva* (Broach *et al.*, 2017) بمراتب پایین‌تر بود. علت چنین روندی را احتمالاً می‌توان به عواملی چون نوع گونه پرورشی، میزان شوری آب، عوامل محیطی، نوع روش کشت و شرایط تغذیه‌ای در مراحل بالاتر رشد کوپه‌پود نسبت داد (Lee *et al.*., 2005). بررسی تراکم *A. trajani* در مراحل رشدی در تیمارهای مختلف نشان داد که تولید ناپلیوس در جیره LSS و DSS به صورت قابل ملاحظه‌ای متفاوت از سایر تیمارها بود بطوریکه این روند متمایز در تراکم جمعیت بالغین و جمعیت کل کوپه پود نیز مشاهده شد. پاسخ کوپه پود در مراحل مختلف زیست به غذا از لحاظ گرفتن و بلع آن متفاوت است. ناپلیوس کوپه‌پودا ارجحیت غذایی متفاوتی از کوپه‌پودیدها و بالغین دارند و بنظر می رسد که کیفیت غذا برای دو مرحله اخیر مهم‌تر باشد (Daase *et al.*, 2011). نتایج بدست آمده در این مطالعه حاکی از مطلوبیت بالاتر جیره‌های میکروجلبکی برای کوپه پودا بود (رحمتی، ۱۳۹۷) زیرا به طور محسوس بیشتر مورد مصرف قرار گرفتند و پسماند کمتری نسبت به سایر تیمارها داشتند که احتمالاً بر کمتر بودن غلظت آمونیاک کل آب در این تیمارها نیز موثر بود. در تیمارهای DG، DV و بویژه S رشد تراکم ناپلیوسی با گذشت زمان کندتر شد که نشان دهنده آن بود که جمعیت ناپلیوس‌ها به مرور زمان تحت تاثیر شرایط محیطی به تراکم بالا نرسیدند. بررسی تراکم *A. trajani* در روزهای مختلف کشت نیز نشان داد که در اکثر تیمارها تفاوت قابل ملاحظه‌ای میان روزهای ابتدایی کشت با اواسط دوره پرورش و به ویژه در تیمارهای LSS و DSS با روزهای انتهایی پرورش مشاهده شد. این روند در تیمارهای مختلف حاکی از آن بود که جمعیت این کوپه‌پود بویژه در تیمارهای LSS و DSS پس از نزول کشت در نیمه آزمون مجدداً روند صعودی را به سمت انتهای دوره نشان داد تا در روز آخر، به بالاترین و بهینه‌ترین حد تراکم خود طی دوره یک ماهه رسید، اما این روند در سایر تیمارها کند و در بسیاری از روزها نزولی یا ثابت بود. طبق گزارش Pagano و همکاران (۲۰۰۰) در سیکلوپوئید کوپه‌پودها، پس از فاز ابتدایی افزایش تصاعدی جمعیت، افزایش تعداد ناپلی‌ها با سرعت کندتری ادامه می‌یابد. افزایش تعداد بالغین روند واضحی ندارد ولی تعداد کوپه‌پودیدها در ادامه کاهش می‌یابد. این کاهش تراکم احتمالاً تحت تاثیر دلایلی چون شکست در پوست‌اندازی (N6-C1)، افزایش تلفات در نتیجه کاهش فراوانی غذا یا رقابت با روتیفرها، شکار توسط بالغین یا کوپه پودیدهای مراحل بالاتر یا افت شرایط غیرزیستی ایجاد می‌گردد. فرضیه محدودیت غذا با توجه به ارائه روزانه غذا به میزان کافی و در دسترس و فرضیه رقابت با روتیفرها در مورد تیمارهای LSS، DSS، DG وDV، با توجه به آنکه زی‌توده روتیفرها طی بررسی‌های روزانه، در زمان کاهش تراکم کوپه‌پودیدها بسیار کمتر از زیتوده کوپه‌پودها بود، ضعیف است. اما شکار از طریق همجنس‌خواری تحلیل واقعی‌تری بنظر می‌رسد. استفاده از کود مایع اسلاری، به رغم آنکه به عنوان یک ماده غنی‌ساز سهم عمده‌ای در باروری استخرهای خاکی پرورش ماهی

دارد (فلاحی و همکاران، ۱۳۹۱)، اما در این مطالعه بیشترین زمان جهت دو برابر شدن جمعیت و پایین‌ترین میانگین تراکم طی دوره پرورش را نشان داد. همچنین توسعه تراکم جمعیت در آن بسیار کند بود و دارای کمترین نرخ رشد جمعیت (۰/۰۷۷) بود. از سوی دیگر، شمارش‌های متعدد بر تراکم جمعیت در این تیمار حاکی از موارد نادر از احتمال رسیدن به مرحله بلوغ بود، همچنین در این تیمار، غالبیت جمعیت روتیفرها بر جمعیت کوپه‌پود طی دوره پرورش مشاهده شد و چنین روند رقابتی ممکن است بر تراکم پایین جمعیت در این تیمار موثر بوده باشد (Pagano *et al.*, 2000). در مطالعه شرفی و همکاران (۱۳۹۳) نیز کمترین میزان رشد ویژه در تیمارهای کود و کود با خاک حاصل شد که علت آن به ارزش غذایی پایین آنها نسبت داده شد. در این مطالعه، تیمار DSS که بهینه‌ترین نتایج را در میزان تولید *A. trajani* داشت، روند کاهشی جمعیت را از نیمه دوره پرورش به میزان نامحسوس‌تری نشان داد که یقیناً با توجه به یکسان بودن شرایط کشت برای کلیه تیمارها بایست به دنبال عوامل دیگری نظیر ارزش غذایی این جیره بود. در مطالعه Rasdi و همکاران (۲۰۱۵) نیز بیشترین رشد و تولید اولاد در سیکلوپوئید *Cyclopina kasignete* در زمان تغذیه از رژیم تک‌جلبکی *Melosira* sp. خشک یا جیره ترکیبی حاوی این میکروجلبک خشک مشاهده شد بطوریکه دیاتومه خشک به صورت انفرادی و ترکیبی، رشد و تولیدمثل را در این گونه افزایش داد و به عنوان یک غذای خوش طعم برای این گونه بود. در مطالعه Rasdi و همکاران (۲۰۱۵) کوپه‌پودهایی که از دیاتومه خشک (*Melosira* sp.) تغذیه نمودند، محتویات اسیدهای چرب ضروری بالاتری از سایر جیره‌ها داشتند. به رغم آنکه بنظر می‌رسد میکروجلبک‌های غیرزنده، مواد مغذی کافی برای رشد و تولیدمثل زئوپلانکتون‌ها را فراهم نکنند اما گزینه خوبی برای تغذیه کوپه‌پودا می‌باشند (Mostary *et al.*, 2007). میکروجلبک‌های خشک به دلیل قابلیت ماندگاری طی مدت طولانی می‌توانند جایگزین یا مکمل خوبی برای میکروجلبک‌های زنده باشند (Cañavate and Fernández-Díaz, 2001).

شرایط خشک کردن ممکن است بر کیفیت محصول و اکسیداسیون چربی تاثیرگذار باشد (Oliveira *et al.*, 2010) که منجر به تغییراتی در پروفایل اسیدهای چرب در میکروجلبک‌ها می‌شود (Taher *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر، فراهم‌سازی زیتوده خشک میکروجلبک‌ها از طریق روش اصلاح شده (Schipperus, 2014) انجام گرفت که در حفظ کیفیت غذایی به ویژه اسیدهای چرب در میکروجلبک های خشک موثر بود. مسئله دیگر در ارتباط با جیره‌های زنده جلبکی، مشکلات تهیه یک ذخیره کافی با وجود نزول ناگهانی کشت جلبک‌های زنده می‌باشد (Mostary *et al.*, 2007). در هچری‌های آبزی‌پروری، نزول غیر منتظره کشت جلبکی بر ذخیره غذای زنده و به طور غیرمستقیم بر تولید ماهی تاثیر می‌گذارد (Mostary *et al.*, 2010)، از سوی دیگر، هزینه تغذیه لاروها با میکرو جلبک‌های زنده بیشتر است و می‌توان با جایگزینی کامل یا بخشی از آن بوسیله سایر رژیم‌ها به جای میکروجلبک‌های زنده کاهش یابد (Knauer and Southgate, 1996). البته در کشت کوپه‌پودها با استفاده از میکروجلبک‌های خشک بایستی به تغییرات در کیفیت آب نیز توجه نمود. استفاده زودهنگام از تعویض آب می‌تواند بر این مشکل غلبه کند (Cañavate and Fernández-Díaz, 2001). طبق گزارش Johnson و Allen (۲۰۰۵) ناپلیوس کوپه‌پودها بویژه در آب شیرین از میکروجلبک‌های زنده تغذیه می‌کنند، اما در مراحل بالاتر (کوپه‌پودیدها و بالغین) ترجیح به تغذیه از تاژکداران، پروتیست‌ها و ناپلی کوپه‌پودها دارند که منجر به هم‌جنس‌خواری (Canibalism) در شرایط پرورشی می‌گردد. Hopp و Maier (۲۰۰۵) نیز بر این نظر بودند که گونه *A. trajani* قادر به رشد تا مرحله بلوغ با تغذیه بر یک رژیم غذایی جلبکی خالص می‌باشد اما در حالت بلوغ باید ضرورتاً از روتیفرها (در کنار جلبک‌ها) تغذیه کند. مطالعه رحمتی (۱۳۹۷) در بررسی پروفایل اسیدهای چرب *A. trajani* با تغذیه بر جیره‌های مختلف نشان داد که این کوپه پود زمانی که از ترکیب خشک میکروجلبک‌های

سندسموس و اسپیرولینا تغذیه نمود، محتوای PUFA[2] و HUFA[3] بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها داشت. لذا، احتمالاً به رغم احتیاجات غذایی آن به پروتئین حیوانی، نسبت به سایر جیره‌ها بهترین نرخ رشد و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت را نشان داد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت که میکروجلبک‌های قابل ذخیره نظیر جلبک‌های خشک شده در صورت تعویض منظم آب محیط کشت می‌توانند به عنوان جایگزین جلبک‌های زنده از جهت صرفه جویی در هزینه و امکان دسترسی بیشتر و همچنین جایگزین سایر منابع غذایی از جهت ارزش غذایی بالاتر، مورد استفاده کوپه‌پود *A. trajani* قرار گیرند، همچنین به رغم احتیاجات غذایی سیکلوپوئید کوپه پود آب شیرین به پروتئین حیوانی نظیر روتیفر، این جیره نسبت به سایر جیره‌ها بهترین نرخ رشد و کوتاه‌ترین زمان دو برابر شدن جمعیت را در این مطالعه نشان داد، لذا نیاز به توجه بیشتر جهت استفاده از آنها در مکان کشت جلبک زنده در هچری‌ها، بویژه طی زمان نزول کشت می‌باشد.

منابع

پهلوانی، س.، فرهادیان، ا. و محبوبی صوفیانی، ن.، ۱۳۹۸. رفتار تغذیه ای لارو ماهی فلاور (Blood Parrot* Texas Cichlid) با تغذیه از *Ceriodaphnia quadrangula* و ناپلیوس *Artemia franciscana* در شرایط روشنایی و تاریکی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۴): ۱۹۸-۱۸۷. Doi: 10.22092/ISFJ. 2019.119509

رحمتی، ر.، ۱۳۹۷. تاثیر نوع جیره غذایی بر تراکم تولید و بهبود ارزش غذایی سیکلوپوئید کوپه پود *Acanthocyclops trajani* و نقش آن در تغذیه آغازین لارو فیل ماهی (*Huso huso*). دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پایان نامه دکترا، ۱۳۷ ص.

شرفی، ر.، فرهادیان، ا. و سلیمانی، م.، ۱۳۹۳. پرورش پاروپای آب شیرین *Acanthocyclops robustus* با استفاده از جیره های جلبکی و غیر جلبکی در شرایط آزمایشگاهی. مجله علوم و فنون شیلات، ۳(۱):۳۱-۱۵.

فلاحی، م.، شریفیان، م.، طلوعی، م.ح.، میری، ا. و دقیق روحی، ج.، ۱۳۹۱. تاثیر شیرابه کود آلی تخمیر شده بی هوازی در پرورش ماهی سفید (تا ۱ گرم) و مقایسه فاکتورهای رشد و بقا با تغذیه مرسوم. مجله علمی شیلات ایران، ۲: ۷۷-۶۵. Doi:10.22092/isfj.2017.110056

APHA, 2005. Standard Method. America Public Health. W.DC. 424P.

Arthropoda, T., 2016. Covich's freshwater invertebrates keys to nearctic fauna, *Academic press*, 711P.

Barkoh, A., Hamby, S., Kurten, G. and Schlechte, J.W., 2005. Effects of rice bran, cottonseed meal, and alfalfa meal on pH and zooplankton. *North American Journal of Aquaculture*, 67(3):237-243. Doi:10.1577/A05-016.1

Bláha, M., 2010. Descriptions of copepodid and adult *Acanthocyclops trajani* (Mirabdullayev & Defaye 2002) and A. einslei (Mirabdullayev & Defaye 2004)(Copepoda: Cyclopoida) with notes on their discrimination. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 177(3):223-240. Doi:10.1127/1863-9135/2010/0177-0223

Broach, J.S., Cassiano, E.J. and Watson, C.A., 2017. Baseline culture parameters for the cyclopoid copepod Oithona colcarva: a potential new live feed for marine fish larviculture. *Aquaculture research*, 48(8):4461-4469. Doi:10.1111/are.13271

[2] Poly Unsaturated Fatty Acids
[3] High Unsaturated Fatty Acids

Buttino, I., Ianora, A., Buono, S., Vitello, V., Sansone, G. and Miralto, A., 2009. Are monoalgal diets inferior to plurialgal diets to maximize cultivation of the calanoid copepod Temora stylifera?. *Marine biology*, 156(6): 1171-1182.

Cañavate, J.P. and Fernández-Díaz, C., 2001. Pilot evaluation of freeze-dried microalgae in the mass rearing of gilthead seabream (Sparus aurata) larvae. *Aquaculture*, 193(3-4):257-269. Doi:10.1016/S0044-8486(00)00492-0

Daase, M., Søreide, J.E. and Martynova, D., 2011. Effects of food quality on naupliar development in Calanus glacialis at subzero temperatures. *Marine Ecology Progress Series*, 429: 111-124.

Farhadian, O., Yusoff, F.M. and Arshad, A., 2008. Population growth and production of Apocyclops dengizicus (Copepoda: Cyclopoida) fed on different diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(3): 384-396. Doi:10.1111/j.1749-7345.2008.00172.x

Farhadian, O., Daghighi, L. and Dorche, E.E., 2013. Effects of microalgae and alfalfa meal on population growth and production of a freshwater rotifer, Euchlanis dilatata (Rotifera: Mongononta). *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(1):86-95. Doi:10.1111/jwas.12012

Farhadian, O., Kharamannia, R., Mahboobi Soofiani, N. and Ebrahimi Dorche, E., 2014. Larval feeding behaviour of angel fish Pterophyllum scalare (Cichlidae) fed copepod Eucyclops serrulatus and cladoceran Ceriodaphnia quadrangula. *Aquaculture Research*, 45(7):1212-1223. Doi:10.1111/are.12065

García, C.E., Nandini, S. and Sarma, S.S.S., 2011. Demographic characteristics of the copepod Acanthocyclops americanus (Sars, 1863)(Copepoda: Cyclopoida) fed mixed algal (Scenedesmus acutus)-rotifer (Brachionus havanaensis) diet. *Hydrobiologia*, 666(1):59-69.

Gras, S. and Saint-Jean L., 1981. Duree de development juvenile de quelques copepodes plantoniques du lac Tchad. *Revue d'hydrobiologie tropicale*, 14:39-51.

Gusmão, L.F.M. and McKinnon, A.D., 2009. Sex ratios, intersexuality and sex change in copepods. *Journal of plankton research*, 31(9):1101-1117. Doi:10.1093/plankt/fbp059

Hada, A. and Uye, S.I., 1991. Cannibalistic feeding behavior of the brackish-water copepod Sinocalanus tenellus. *Journal of Plankton Research*, 13(1):155-166. Doi:10.1093/plankt/13.1.155

Hopp, U. and Maier, G., 2005. Implication of the feeding limb morphology for herbivorous feeding in some freshwater cyclopoid copepods. *Freshwater Biology*, 50(5):742-747. Doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01362.x

James, C.M. and Al-Khars, A.M., 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. *Syllogeus*, 58:333-340.

Johnson, W.S. and Allen, D.M., 2005. Zooplankton of the Atlantic and Gulf

coasts: A guide to their identification and ecology, The Johns Hopkins University press. Baltimore, MD, USA.

Khatoon, H., Banerjee, S., Yusoff, F.M. and Shariff, M., 2013. Use of microalgal-enriched D *iaphanosoma celebensis* S tingelin, 1900 for rearing *Litopenaeus vannamei* (B oone, 1931) postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 19(2):163-171. Doi:10.1111/j.1365-2095.2012.00952.x

Knauer, J. and Southgate, P.C., 1996. Nutritional value of a spray-dried freshwater alga, Spongiococcum excentricum, for Pacific oyster (Crassostrea gigas) spat. *Aquaculture*, 146(1-2):135-146. Doi:10.1016/S0044-8486(96)01357-9

Lavens, P. and Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *Food and Agriculture Organization (FAO)*, (No. 361).

Lee, C.S., O'Bryen, P.J. and Marcus, N.H., 2005. Copepods in Aquaculture. Blackwell publishing. 269P. Doi:10.1002/9780470277522

Lee, K.W., Park, H.G., Lee, S.M. and Kang, H.K., 2006. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclopina nana* Smirnov. *Aquaculture*, 256(1-4):346-353.

Lee, K.W., Dahms, H.U., Park, H.G. and Kang, J.H., 2013. Population growth and productivity of the cyclopoid copepods P aracyclopina nana, A pocyclops royi and the harpacticoid copepod T igriopus japonicus in mono and polyculture conditions: a laboratory study. *Aquaculture Research*, 44(5):836-840. Doi:10.1111/j.1365-2109.2011.03071.x

Mohanty, B., 2009. Intra-hole and inter-hole effects in typical blast designs and their implications on explosive energy release and detonator delay time- a critical review proc 9th Int. Symp. *On Rock fragmentation by blasting sanchidrian, Taylor and Francis*, 9:23-31.

Mostary, S., Rahman, M.S. and Hossain, M.A., 2007. Culture of rotifer Brachionus angularis Hauer feeding with dried Chlorella. *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, 26:73-76.

Mostary, S., Rahman, M.S., Mandal, A.S.M.S., Hasan, K.M.M., Rehena, Z. and Basar, S.M.A., 2010. Culture of Brachionus plicatilis feeding with powdered dried Chlorella. *Bangladesh Veterinarian*, 27(2):91-98.

Newell, G.E. and Newell, R.C., 1963. Marine Plankton: a practical guide. London: Hutchinson. UK.

Ohno, A. and Okamura, Y., 1988. Propagation of the calanoid copepod, *Acartia tsuensis*, in outdoor tanks. Aquaculture, 70(1-2):39-51. Doi:.1016/0044-8486(88)90005-1

Oliveira, E.G., Duarte, J.H., Moraes, K., Crexi, V.T. and Pinto, L.A., 2010. Optimisation of Spirulina platensis convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(8):1572-1578.

Pagano, M., Saint-Jean, L., Arfi, R., Bouvy, M. and Shep, H., 2000. Population growth capacities and regulatory factors in monospecific cultures of the cladocerans Moina micrura and Diaphanosoma excisum and the copepod Thermocyclops decipiens from Côte d'Ivoire (West Africa). *Aquatic Living Resources*, 13(3):163-172. Doi:10.1016/S0990-7440(00)00152-2

Rasdi, N.W. and Qin, J.G., 2014. Improvement of copepod nutritional quality as live food for aquaculture: A review. *Aquaculture Research*, 47(1):1-20. Doi:10.1111/are.12471

Rasdi, N.W., 2015. Growth and reproduction of *Cyclopina kasignete* and its application as a potential live food for fish larvae. Ph.D. thesis, School of Biological Sciences, Faculty of Science and Engineering, Flinders University.

Rasdi, N.W., Qin, J.G. and Li, Y., 2015. Effects of dietary microalgae on fatty acids and digestive enzymes in copepod C yclopina kasignete, a potential live food for fish larvae. *Aquaculture research*, 47(10):3254-3264. Doi:10.1111/are.12778

Rhodes, A., 2006. Marine harpacticoid copepod culture for the production of long chain highly unsaturated fatty acids and carotenoid pigments. Ph.D. Thesis.

Schipperus, R., 2014. Standard Operating Procedure, Analysis of dry weight algae biomass concentration. Application Centre for Renewable Resources (ACRRES).

Srivastava, A., Rathore, R.M. and Chakrabarti, R., 2006. Effects of four different doses of organic manures in the production of Ceriodaphnia cornuta. *Bioresource Technology*, 97(8):1036-1040.

Taher, H., Al-Zuhair, S., Al-Marzouqi, A.H., Haik, Y. and Farid, M., 2014. Effective extraction of microalgae lipids from wet biomass for biodiesel production. *Biomass and Bioenergy*, 66:159-167. Doi:10.1016/j.biombioe.2014.02.034

Tarko, T., Duda-Chodak, A. and Kobus, M., 2012. Influence of growth medium composition on synthesis of bioactive compounds and antioxidant properties of selected strains of Arthrospira cyanobacteria. *Czech Journal of Food Sciences*, 30(3):258-267.

Zaleha, K., Ibrahim, B., John, B.A. and Kamaruzzaman, B.Y., 2012. Generation time of some marine harpacticoid species in laboratory condition. *Journal of Biological Sciences*, 12(8):433-437. Doi:10.3923/jbs.2012.433.437

Study on population growth and production of cyclopoid copepod *Acanthocyclops trajani* fed on different diets

Rahmati R.[1*]; Esmaeili Fereidouni A.[2]; Rowshan Tabari M.[1]; Doustdar M.[3]

[*]rahmati764@gmail.com

1-Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO) Sari, Iran.
2- Fisheries Faculty, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3- Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Abstract

In this study the effects of different algal and nonalgal diets on density and population growth rate of cyclopoid copepod *Acanthocyclops trajani* were studied. To this intention, the copepod were mass cultured in 120 liter tanks by feeding on different diets (5 treatments, 3 replicate in each one) including fresh composition of microalgae: *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina maxima* (LSS), dried compound of mentioned microalgae (1:1)(DSS), dried macroalgae *Gracilaria corticata* (DG), dried composition of vegetables(DV) (spinage, parsley and coriander) and slurry liquid manure(S) and the population density (nauplius, copepodid and adult) were studied by population (every 3 days during 1 month) sampling. The results indicated that the highest population density average (1445±298 ind/L), the highest growth rate (0/145/d) and the shortest population doubling time (4/76d) were obtained from dried microalgae complex diet which was significantly different from most of diets ($p<0/05$). On the basis of the results, there is the potential of the usage of dried microalgae to improve the culture density of the copepod during shortage or descending time of fresh microalgae.

Keywords: Copepod, *Acanthocyclops trajani*, Dried microalgae

[*]Corresponding author