

تأثیر انجماد به دنبال دوره‌های هیدراسیون و دهیدراسیون بر قابلیت تخم‌گذاری، رشد و بقا کیست *Artemia urmiana*

رفیعه خلیلی^۱، مینا رضانی^{۲*}، ناصر آق^۳

تاریخ دریافت: آبان ۹۵

تاریخ پذیرش: دی ۹۵

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون بر درصد تخم‌گذاری، رشد و بقای لاروهای حاصل از کیست‌های *Artemia urmiana* است. آزمایش‌ها تحت چهار تیمار مختلف صورت گرفت. در تیمار اول پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون تخم‌گذاری با روش استاندارد انجام شد. در تیمار دوم پس از یک دوره هیدراسیون و دهیدراسیون و سپس یک هفته نگهداری کیست‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تخم‌گذاری انجام شد. در تیمار سوم پس از یک ماه نگهداری در سرما تخم‌گذاری انجام شد. گروه شاهد (تیمار چهارم) نیز کیست‌هایی بودند که بدون تیمار خاصی با روش استاندارد تخم‌گذاری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان تیمار در سرما (انجماد یک ماهه)، درصد تخم‌گذاری کیست‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت ولی با این وجود درصد تخم‌گذاری در گروه شاهد بالاتر بود. حداکثر درصد بقا در روز ۱۱ و در تیمار سوم مشاهده شد. بیشترین میزان رشد، در روزهای ۱۵ تا ۲۵ در تیمار سوم یعنی انجماد یک ماهه مشاهده شد. در مجموع در گونه *Artemia urmiana* استفاده از تیمار نگهداری در سرما به دلیل کاهش درصد تخم‌گذاری کیست، ضروری نیست.

واژگان کلیدی: *Artemia urmiana*، کیست، دهیدراسیون، هیدراسیون، انجماد.

۱- کارشناس ارشد علوم جانوری، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانشیار پژوهشکده آرتمیا، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول: M.ramezani@iauctb.ac.ir

مقدمه

است (مرحله چتری) و کمی پس از آن لارو شناگر آزاد آرتمیا، بیرون می‌آید. ناپلی پس از ۱۷ تا ۲۳ بار پوست‌اندازی به آرتمیای بالغ تبدیل می‌شود (Abatzopoulos et al., 2006).

آرتمیا به دلیل داشتن مقادیر بالای پروتئین، چربی، کلیه اسیدهای آمینه ضروری و اکثر اسیدهای چرب در حد مطلوب، از جمله بهترین غذای آبزیان به شمار می‌رود (عظیمی‌راد و همکاران، ۱۳۹۵). هر کیلوگرم از توده زنده آرتمیا با قیمتی معادل ۶۰ تا ۱۲۰ دلار و هر کیلوگرم از کیست آن حدود ۱۰۰ تا ۲۰۰ دلار بسته به کیفیت آن خرید و فروش می‌شود (پاراحمدی و همکاران، ۱۳۸۵). از آنجا که بهره‌برداری از دریاچه‌های طبیعی مانند دریاچه ارومیه به شرایط آب و هوایی و تغییرات اکولوژیکی از جمله شوری آب، در هر زمان، بستگی دارد، از این رو نمی‌توان میزان بهره‌برداری و کیفیت تولید از زیستگاه‌های طبیعی را از قبل پیش‌بینی کرد. بنابراین ضرورت پرورش مصنوعی آرتمیا با هدف تولید کیست مرغوب آن بیش از پیش احساس می‌شود و از آنجا که تولید کیست توسط آرتمیا، عموماً تحت تاثیر شرایط محیطی قرار

دریاچه ارومیه یکی از زیستگاه‌های طبیعی و بزرگ آرتمیا در دنیا است که وجود آرتمیا در آن، اولین بار توسط Gunther در سال ۱۹۰۰ گزارش شد. آرتمیا جزو شاخه بندپایان و زیرشاخه سخت‌پوستان است و گسترش جهانی دارد. زیستگاه آن آب‌های لب‌شور تا آب‌های بسیار شور است، از این رو به آن میگوی آب شور نیز می‌گویند. جنس‌های نر و ماده آرتمیا از هم جدا است که نرها حدود ۱۲ میلی‌متر و ماده‌ها ۱۵ میلی‌متر طول دارند (Bengtson et al., 1991). حداکثر دمای قابل تحمل برای اکثر جمعیت‌های آرتمیا حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد است (طیپی و همکاران، ۱۳۸۵).

تولیدمثل آرتمیا در شرایط نامساعد به شکل کیست است. کیست پس از گذراندن یک دوره سرما و خواب، در شرایط مطلوب و مناسب، آب جذب کرده، شکل کروی پیدا می‌کند. پس از گذشت ۱ تا ۲ ساعت از زمان آبگیری (هیدراسیون)، تقسیمات جنینی آغاز می‌شود و پس از ۱۵ تا ۲۰ ساعت پوسته کیست می‌شکافد و پیش ناپلیوس پوشیده از غشای تخم‌گشایی ظاهر می‌شود. سپس به پیش ناپلیوس مرحله ۲ تبدیل می‌شود که در این مرحله جنین از زیر پوسته خالی آویزان

دارد، ضروری است شرایط ایده‌آل برای تولید کیست در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گیرد تا با استفاده از نتایج به دست آمده، اقدام به پرورش مصنوعی آرتمیا در استخرهای خاکی کرد (آق، ۱۳۷۵). کیست آرتمیا را می‌توان به صورت خشک بسته‌بندی و در قوطی‌هایی ذخیره کرد و بدون این که از ارزش غذایی آن کاسته شود، برای سالیان متمادی جهت استفاده نگهداری کرد. سپس در زمان نیاز می‌توان کیست‌ها را تحت انکوباسیون ۲۴ ساعته در شرایط استاندارد، تخم‌گذاری کرد و از نوزاد شناگر آرتمیا به عنوان غذای زنده مغذی برای تغذیه لارو آبزیان استفاده کرد. برای استفاده هر چه بهتر از کیست‌های آرتمیا، باید شناخت کاملی از عوامل محیطی موثر بر بقا، رشد و طول عمر آن به دست آورد. بدون تردید کیست آرتمیا با درصد تخم‌گذاری بالاتر از ۸۰٪ به مراتب با ارزش‌تر از کیستی با درصد تخم‌گذاری پایین‌تر است. همچنین رشد و بازماندگی آرتمیا در طول دوره پرورش، تحت تاثیر شرایط عمل‌آوری تغییر می‌کند. نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد که عوامل فیزیکی و شیمیایی محیط تاثیر زیادی بر رشد و بقا آرتمیا دارند (خلیلی و همکاران، ۱۳۸۶).

یافته‌ها نشان داده است که بسیاری از کیست‌های خشک که به طور معمول قابلیت تخم‌گذاری نداشتند پس از یک تا دو دوره هیدراسیون و دهیدراسیون متوالی پیشرفت نشان دادند و از دیابوز خارج شدند (Brown et al., 1984). دما نیز یکی از عوامل مهمی است که بر تخم‌گذاری کیست‌ها موثر است (Rajkumar and Babo, 2015). در بسیاری از جانوران از جمله برخی گونه‌های آرتمیا یک تیمار سرمایی پیش از تخم‌گذاری ضروری است و درصد تخم‌گذاری را افزایش می‌دهد (Yoshida et al., 2011). با توجه به این که تیمار سرمایی تاکنون بر روی گونه‌های آرتمیای بومی ایران انجام نشده است. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی اثر دوره‌های هیدراسیون و دهیدراسیون کیست *Artemia urmiana* بر میزان تخم‌گذاری کیست‌ها، رشد و بقای آرتمیاهای حاصل از آن است.

مواد و روش‌ها

کیست‌های مورد استفاده در این بررسی از پژوهشکده آرتمیا و جانوران آبزی دانشگاه ارومیه تهیه شد و تمامی آزمایش‌ها در محل پژوهشکده، در سال ۱۳۹۳، انجام شد. ابتدا طی دو مرحله، خالص‌سازی کیست‌ها صورت

تیمار دوم: پس از انجام هیدراسیون و دهیدراسیون به روش فوق، کیست‌ها به مدت یک هفته در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تیمار سوم: پس از انجام هیدراسیون و دهیدراسیون به روش فوق، کیست‌ها به مدت یک ماه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

هیدراسیون و دهیدراسیون

برای هر تیمار ۳ گرم کیست در نظر گرفته شد. کیست‌های مورد نظر درون ظرف یک لیتری مخروطی ریخته شد و ۸۰۰ میلی‌لیتر آب شیرین به آن اضافه شد. عمل هوادهی کیست‌ها در داخل مخروط آب شیرین به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت. سپس کیست‌ها با صافی با روزنه ۱۰۰ میکرومتری جدا شد و پس از گرفتن آب اضافی برای دهیدراسیون به مدت ۱ ساعت هوادهی شد. سپس آن‌ها را روی فویل پهن شدند و به مدت ۲۴ ساعت داخل آون قرار داده شدند تا رطوبت آن‌ها به ۶ تا ۷ درصد برسد.

گرفت. در مرحله اول، جداسازی به کمک شناوری در سطح آب نمک اشباع انجام شد که در این مرحله کیست‌ها از مواد زائد جدا شدند و در مرحله بعد، جداسازی با استفاده از وزن مخصوص در آب شیرین انجام شد که طی آن کیست‌های حاوی جنین در ته ظرف قرار گرفتند و کیست‌های ترک خورده و پوسته‌ها از روی سطح جمع‌آوری و دور ریخته شد. سپس ضدعفونی کیست‌ها از آلودگی باکتریایی و قارچی با استفاده از محلول ۲۰۰ ppm هیپوکلریت به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. بعد از خالص‌سازی، کیست‌ها به صورت یک لایه نازک پخش شدند و به مدت ۲۴ ساعت در معرض هوای طبیعی و به دور از نور مستقیم آفتاب قرار داده شدند تا خشک شوند (Gilbert, 1996). پس از آن کیست‌ها به چهار گروه تقسیم شدند، یک گروه به عنوان شاهد و بدون انجام تیمار خاصی، تخم‌گشایی شد و سه گروه دیگر که پس از تیمارهای زیر تخم‌گشایی شدند:

تیمار اول: هیدراسیون در آب به مدت ۱۵ دقیقه و دهیدراسیون در آون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که میزان رطوبت کیست‌ها به ۶ تا ۷ درصد برسد.

تخم‌گشایی

کیست‌ها پس از اعمال تیمارهای ذکر شده، از فیلتر ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شدند و در ظروف یک لیتری حاوی آب با pH ۸ و با شوری ۳۳ قسمت در هزار که از حل کردن نمک دریا در آب حاصل شده قرار گرفتند. این ظرف داخل یک آکواریوم با دمای ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد. روشنایی با استفاده از لامپ مهتابی با بهره نوری ۶۰ لومن بر وات در فاصله ۴۰ سانتیمتری بالای آکواریوم تنظیم شد. کیست‌ها با تراکم حدود یک گرم در لیتر به مدت ۲۴ ساعت در شرایط فوق هوادهی شدند. پس از ۲۴ ساعت لاروهای اینستار I خارج شدند. به منظور محاسبه درصد تخم‌گشایی، از هر ظرف نمونه‌گیری انجام شد. سپس لاروهای آرتمیا با استفاده از محلول لوگول فیکس و در زیر لوپ (Zeiss، آلمان) بررسی شدند. در زیر لوپ، ناپلی‌ها (N)، لاروهای چتری (U) و کیست‌های تخم‌گشایی نشده (E) شمارش شد و با استفاده از رابطه ۱ درصد تخم‌گشایی محاسبه شد (Boone and Baas-Becking, 1931).

رابطه ۱:

$$\text{Hatching Percentage} = [N/(N+U+E)] \times 100$$

N: ناپلی‌ها؛ U: لاروهای چتری؛ E: کیست‌های تخم‌گشایی نشده.

پرورش لارو

جداسازی لاروها با توجه به ویژگی نورگرایی مثبت انجام شد. از هر گروه حدود ۴۰۰ لارو وارد ظروف پرورشی شد. ظروف کشت دارای دو لوله هستند که یکی برای هوادهی و دیگری برای غذادهی استفاده می‌شد. غذادهی با جلبک *Dunaliella tertiolecta* و مخمر لنسی PZ با روش استاندارد انجام می‌شد. شوری آب هر روز توسط دستگاه شوری‌سنج (Antago، ژاپن) اندازه‌گیری می‌شد و در صورت افزایش شوری، به آن آب مقطر اضافه می‌شد. لاروها تا روز ۲۵ دوره پرورشی در این شرایط قرار گرفتند.

تعیین میزان بقا و رشد

در روزهای ۸، ۱۱، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دوره پرورشی، لاروهای زنده شمارش و به ظرف دیگری منتقل شدند. در هر مرحله با استفاده از تعداد لاروهای زنده به تعداد لاروهای اولیه (۴۰۰ لارو)، درصد لاروهای زنده به دست آمد (Boone and Baas-Becking, 1931).

در روزهای ذکر شده، میزان رشد لاروها با اندازه‌گیری طول بدن از سر تا ابتدای آخرین بند شکمی (تلسون) در ۱۰ لارو که به صورت

نسبت به زمان بلافاصله پس از اعمال تیمارهای هیدراسیون و دهیدراسیون، افزایش قابل توجهی را نشان داد ولی با این وجود میزان تخم‌گذاری کیست‌ها در گروه شاهد همیشه بالاتر از میزان آن در تیمارهای اعمال شده بود (شکل ۱).

حداکثر درصد بقا با نگهداری کیست‌ها به مدت یک ماه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و سپس اعمال تخم‌گذاری (تیمار سوم)، در روز ۱۱ مشاهده شد ($P < 0.05$). اما در روزهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ بین تیمار شاهد و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۱).

مقایسه میانگین رشد *Artemia urmiana*

در روزهای شمارش نشان داد که میانگین طول بدن آرتمیاها در روزهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ در تیمار یک ماه نگهداری در سرما بیشترین رشد و در گروه بدون تیمار سرمای کمترین رشد را نشان داد (جدول ۲).

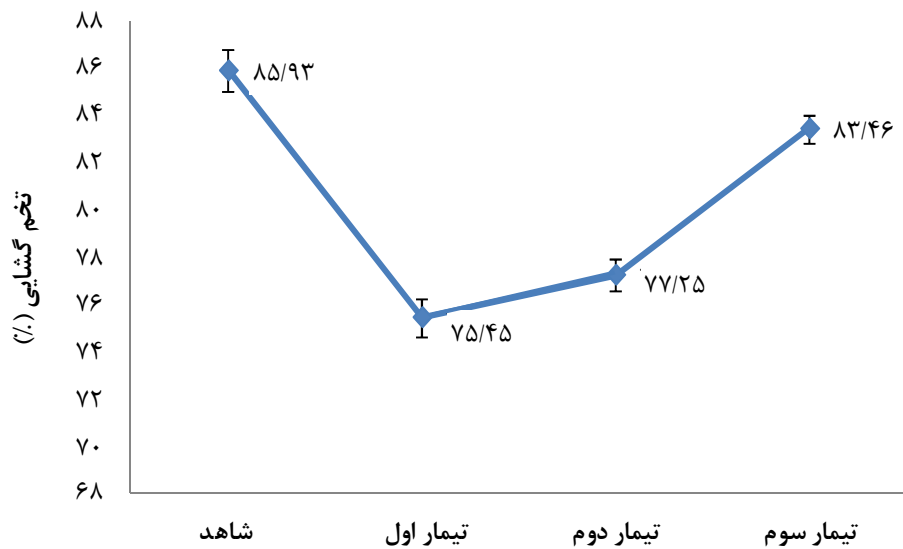
تصادفی از هر گروه جدا شده بودند محاسبه شد. اندازه‌گیری‌ها بر روی لاروهای فیکس شده با لوگل و با میکروسکوپ مجهز به میکرومتر (Zeiss، آلمان) انجام شد و توسط دستگاه دیجیتالیزر (Graphtec، KD، بلژیک) ثبت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام شدند و داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ ($P < 0.05$)، توسط نرم‌افزار SPSS 22 مقایسه شدند.

نتایج

نتایج به دست آمده از انجماد یک هفته‌ای و یک ماهه کیست *Artemia urmiana* نشان داد که درصد تخم‌گذاری با افزایش مدت زمان نگهداری کیست‌ها در سرما، به طور منظم افزایش یافت. به طوری که درصد تخم‌گذاری پس از یک هفته و یک ماه تحت دمای پایین،



شکل ۱: مقایسه درصد تخم‌گشایی کیست *Artemia urmiana* در تیمارهای مختلف (میانگین \pm انحراف معیار). در این نمودار گروه‌های بدون تیمار سرمایه‌ی (تیمار اول)، تیمار سرمایه‌ی یک هفته‌ای (تیمار دوم) و یک ماهه (تیمار سوم) با گروه شاهد مقایسه شده است. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد.

جدول ۱: مقایسه درصد بقای *Artemia urmiana* در تیمارهای مختلف

تیمارها	روز ۸	روز ۱۱	روز ۱۵	روز ۲۰	روز ۲۵
تیمار ۱	۷۹/۱۶	۷۷/۹۱	۷۵/۰۰	۶۰/۰۸	۳۶/۲۵
تیمار ۲	۶۸/۰۸	۶۷/۰۰	۶۴/۱۶	۵۶/۹۱	۳۵/۹۱
تیمار ۳	۸۱/۶۱	۸۳/۰۰*	۷۵/۸۷	۵۱/۸۴	۴۱/۰۴
شاهد	۸۰/۰۸	۷۶/۶۶	۷۵/۹۱	۶۴/۵۸	۴۸/۸۳

*: علامت ستاره در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۲: مقایسه میانگین رشد *Artemia urmiana* بر حسب میلی‌متر در تیمارهای مختلف

تیمارها	روز ۸	روز ۱۱	روز ۱۵	روز ۲۰	روز ۲۵
تیمار ۱	۴/۰±۶۹/۴۰	۷/۰±۰۵/۵۱	۸/۰±۹۴/۶۷	۱۰/۱±۰۱/۰۰	۱۰/۱±۸۶/۱
تیمار ۲	۵/۰±۶۵/۵۱	۷/۰±۸۲/۴۵	۸/۰±۱۶/۸۷	۹/۰±۹۵/۹۸	۱۰/۰±۵۰/۹۹
تیمار ۳	۵/۰±۶۷/۵۳	۶/۰±۸۲/۶۲	۹/۰±۲۷/۹۴*	۱۰/۰±۲۷/۹۹*	۱۱/۰±۴۱/۹۵*
شاهد	۵/۰±۱۲/۶۰	۷/۰±۱۹/۷۰	۸/۰±۸۷/۷۲	۹/۰±۹۰/۹۳	۱۰/۱±۸۷/۵

*: علامت ستاره در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد است ($P < 0/05$).

بحث

باعث کاهش شدید محتوی انرژی کیست‌ها به پایین‌تر از حد لازم برای رسیدن به مرحله خروج از تخم در زمان انکوباسیون تحت شرایط مناسب تخم‌گذاری می‌شود و درصد تخم‌گذاری را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (Lavens and Sorgeloos 1996).

برخی مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در کیست‌های آرتمیا تا حدود ۷۰٪ تخم‌گذاری پس از اعمال دوره‌های هیدراسیون و دهیدراسیون مشاهده شده است. این کیست‌ها که کیست‌های به تاخیر افتاده در تخم‌گذاری نامیده می‌شوند به وسیله تفاوت‌های ساختمانی خود قابل تشخیص بودند. به طوری که کیست‌های مورد آزمایش مابین پوسته و جنین خود فاصله‌ای داشتند که در بسیاری نواحی با گلبکوژن پر شده بود. تحت شرایط هوایی باید متابولیسم کربوهیدراتی برای تامین انرژی

نتایج به دست آمده از بررسی درصد تخم‌گذاری کیست‌های *Artemia urmiana* نشان داد که پس از یک بار هیدراسیون و دهیدراسیون، درصد تخم‌گذاری کیست‌ها کاهش یافت. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Lavens و Sorgeloos در سال ۱۹۹۶ مطابقت دارد. این مطالعات نشان دادند که هیدراسیون طولانی مدت با محتوی آب بالاتر از ۶۵ درصد باعث تکوین جنینی کیست‌ها می‌شود و دهیدراسیون بعدی این کیست‌ها نه تنها باعث توقف قابل برگشت تخم‌گذاری آن‌ها نمی‌شود، بلکه باعث مرگ آن‌ها می‌شود. همچنین دهیدراسیون ناکافی کیست‌ها و یا هیدراسیون مکرر که محتوی آب کیست‌ها را به میزان ۳۰ تا ۶۵ درصد برساند، باعث شروع فعالیت متابولیسی کیست‌ها می‌شود که این امر

هیدراته شده بودند که باعث رفع دیپوز آن‌ها شده، بنابراین فعالیت متابولیکی آن‌ها افزایش یافت. اما در کیست‌های گروه اول (بدون نگهداری در سرما) فعالیت متابولیکی کیست‌ها متوقف نشد یا سرعت آن کاهش نیافت. بنابراین از انرژی ذخیره شده در تخم استفاده شد. در حالی که با نگهداری کیست‌ها در سرما، میزان فعالیت متابولیکی آن‌ها کاهش یافت و انرژی در دسترس برای خروج از تخم نیز بیشتر بود که این خود می‌تواند دلیلی بر بالا بودن درصد تخم‌گشایی کیست‌های گروه سوم (انجماد یک ماهه) نسبت به گروه دوم (یک هفته در سرما) و این دو نسبت به نمونه‌هایی باشد که بلافاصله پس از اعمال دوره‌های هیدراسیون و دهیدراسیون تخم‌گشایی شدند. بنابراین در اثر نگهداری کیست‌ها در سرما، کاهش تخم‌گشایی نسبت به تیمار شاهد تا حدودی جبران می‌شود. مطالعات پیشین بر گونه‌های دیگر نیز این نتایج را تایید می‌کنند. به عنوان مثال، Yoshida و همکاران (۲۰۱۱) افزایش تخم‌گشایی را پس از انجماد آهسته کیست‌ها هیدراته *Artemia franciscana* نشان دادند.

در مطالعه‌ای بر روی سه جمعیت از آرتمیاهای ایران، گزارش شد که در مجموع،

فراهم شود و گلیکوژن به مصرف برسد (Morris, 1971).

مشخص شده است که فرآیند دیپوز و نیز پایان یافتن آن در اثر سازگاری با زیستگاه یک گونه ایجاد می‌شود که این سازگاری‌ها باعث ایجاد نژادهای متفاوت از هم شده‌اند (حافظیه و همکاران، ۱۳۹۴). بنابراین نژادهای مختلف از نظر نحوه رفع دیپوز با هم متفاوت هستند و در نتیجه دامنه‌های متفاوتی برای تخم‌گشایی بهینه وجود دارد. Brown و همکاران (۱۹۸۴) آزمایش‌هایی با استفاده از کیست‌های آرتمیای نواحی مختلف جغرافیایی انجام دادند و به تفاوت‌های داخل جمعیتی در قابلیت تخم‌گشایی کیست‌ها اشاره کردند. Quynh و همکاران (۱۹۸۸) نیز با مطالعاتی بر روی نژادهای مختلف ولی در استخرهای یکسان به نتایج مشابهی دست یافتند. این مسئله نشان می‌دهد که نوع تیمار لازم برای افزایش درصد تخم‌گشایی، ویژه هر نژاد است و بنابراین برای هر نژاد باید جداگانه بررسی شود.

در مورد تیمار در سرما پس از هیدراسیون و دهیدراسیون، نتایج نشان داد که افزایش نگهداری کیست‌ها تحت شرایط سرما باعث افزایش درصد تخم‌گشایی می‌شود. شاید علت این باشد که در تمامی تیمارها کیست‌ها

جمله گروه شاهد میزان رشد بیشتری را نیز نشان دهند.

نتایج این مطالعه نشان داد که در *Artemia urmiana* تیمار در سرما به دنبال هیدراسیون و دهیدراسیون کیست‌ها، درصد تخم‌گشایی و بقا را کاهش می‌دهد ولی رشد آرتمیاهایی که از این کیست‌ها تخم‌گشایی می‌شوند، تحت تاثیر تیمارهای اولیه قرار نمی‌گیرد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که برای عمل‌آوری کیست *Artemia urmiana* و رفع دیابوز، برخلاف بسیاری از گونه‌ها، هیدراسیون و دهیدراسیون و تیمار سرمایی، ضروری نیست و انجام آن کیفیت کیست را کاهش می‌دهد.

بقای آرتمیاهای سه جمعیت در طول دوره پرورش حتی بدون تیمار خاصی کاهش یافت (محمدیاری، ۱۳۸۱) که این موضوع با نتایج حاضر همخوانی دارد.

سابقه پژوهشی در مورد اثر هیدراسیون و دهیدراسیون و تیمار سرمایی بر میزان رشد لاروهای آرتمیا وجود ندارد. نتایج مطالعه حاضر نیز تنها افزایش معنی‌داری را در رشد لاروهای آرتمیای ۱۵ تا ۲۰ روزه در گروه انجماد یک ماهه، نشان داد که می‌توان آن را این گونه تفسیر کرد که احتمالاً به دلیل بازماندگی بیشتر و عدم تفریح بسیاری از کیست‌ها در این گروه، تنها کیست‌های با کیفیت بالا از دیابوز خارج شدند و رشد کردند. بنابراین این کیست‌ها توانسته‌اند نسبت به سایر گروه‌ها از

منابع

- آق ن. ۱۳۷۵. آرتمیا ارومیان، سیکل زندگی و ارزش غذایی. انتشارات موسسه تحقیقات و آموزشی شیلات ایران. ۹۵ص.
- حافظیه م.، شریفیان م. و حسین پور ه. ۱۳۹۴. مقایسه زیست‌سنجی کیست و ناپلیوس آرتمیاهای ایران. نشریه توسعه آبی پروری، ۹(۱): ۲۴-۱۱.
- خلیلی ن.، عمادی ه. و نگارستان ه. ۱۳۸۶. بررسی اثرات شوری‌های بالا بر رشد و بقا آرتمیای بکرزای اطراف دریاچه‌های ارومیه و دریاچه قم. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۹(۱): ۷۰-۶۵.
- طیپی ل.، سیف‌آبادی ج.، عابدیان ع. و آق ن. ۱۳۸۵. بررسی اثرات دما بر قابلیت تخم‌گذاری و ارزش غذایی ناپلیوس آرتمیای ارومیه. علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۸(۴): ۶۶-۵۹.
- Abatzopoulos T.J., Agh N., Van Stapen J., Razavi Rohani S.M. and Sorgeloos P. 2006. *Artemia* sites in Iran. Journal of Marine Biology. 86: 299-307.
- Bengtson D.A., Leger P. and Sorgeloos P. 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. P: 256-285. In: Brower R.A., Sorgeloos P. and Trotina C.M.A. (Eds.). *Artemia* Biology. CRC Press, Florida, USA.
- Boone E. and Baas-Becking L.G.M. 1931. Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina* L. Journal of General Physiology, 14(6): 753-763.
- Brown R.A., Sallee S.E., Grosch D.S., Segreti W.O. and Purser S.M. 1984. Partitioning genetic and environmental components of reproduction and life span in *Artemia*. Ecology, 65: 949-960.
- Gilbert V.S. 1996. *Artemia*. P: 101-318. In: Lavens P. and Sorgeloose
- عظیمی‌راد م.، مشکینی س.، احمدی‌فر ن. و حسینی‌فر ح. ۱۳۹۵. بررسی اثرات تغذیه با آرتمیای غنی شده با سین بیوتیک بر شاخص‌های رشد جمعیت میکروبی روده و مقاومت در برابر استرس ماهی آنجل. نشریه شیلات، ۶۹(۱): ۸۸-۷۷.
- محمدیاری ع. ۱۳۸۱. مقایسه بیومتریک، مورفولوژیک و چرخه زندگی سه جمعیت آرتمیای ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران. ۱۷۳ص.
- یاراحمدی ب.، مقدسی ف. و سیاوشی ر. ۱۳۸۵. استفاده از کیست دکپسوله شده *Artemia urmiana* در تغذیه لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. پژوهش و سازندگی، ۷۳: ۵۸-۴۹.

- P. (Eds.). Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. Ghent, Belgium.
- Lavens P. and Sorgeloos P. 1996.** Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper, No. 361. Rome. 295P.
- Morris J.E. 1971.** Hydration, its reversibility and the beginning of development in the brine shrimp, *Artemia salina*. Comparative Biochemistry and Physiology, 39(4): 843–854.
- Quynh V.D., Lavens P., Leger P., Takaert W. and Sorgeloos P. 1988.** Characterization of brine shrimp *Artemia* from Cam Ranh Bay in central Vietnam. Hydrobiologia, 157(3): 209–217.
- Rajkumar G. and Babo D.E. 2015.** Effect of light, temperature and salinity on the growth of *Artemia*. International Journal of Engineering Science Invention, 4(12): 7–14.
- Yoshida T., Arie Y., Hino K., Sawatani I., Tanaka M., Takahashi R., Bando T., Muki K. and Fukuo K. 2011.** High hatching rates after cryopreservation of hydrated cysts of the brine shrimp *A. franciscana*. Cryo Letters, 32(3): 206–215.



The Effect of freezing on hatching efficiency, growth and survival of *Artemia urmiana* after hydration and dehydration

Rafieh Khalili¹, Mina Ramezani^{2*}, Naser Agh³

Received: October 2016

Accepted: December 2016

Abstract

The aim of this study was the freezing effects at -20°C after hydration and subsequent dehydration on the hatching efficiency, survival percentage and growth of *Artemia urmiana* larvae. Experiment contained four treatments. At first treatment, hatching was obtained after one hydration and dehydration cycle with the standard method. In the second treatment, hatching was done after hydration and dehydration cycle and kept frozen in -20°C for a week. In third treatment, the freezing period was extended up to one month. The control was carried out along standard hatching procedure (fourth treatment). Results indicated the cyst hatching percentage increased by increasing freezing time (one-month freezing), even though hatching percentage was higher in control group. The most survival percentage was observed in the 11th day of third treatment. The highest growth was observed from larvae hatched in 15 to the 25th day of third treatment ($P<0.05$). In conclusion, the freezing was not necessary to improve the hatching rate and larval growth.

Key words: *Artemia urmiana*, Cyst, Dehydration, Hydration, Freezing.

1- M.Sc. in Zoology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

2- Associate Professor in Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Associate Professor in Artemia Institute, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding Author: M.ramezani@iauctb.ac.ir
