

پرورش لارو ماهی**تأثیر تغییر در ویتامینهای محیط کشت مورد استفاده برای پرورش ریز جلبک نانوکلوپسیس****اوکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) بر میزان تولید روتیفر *Brachionus rotundiformis***

شاپور کاه کش^۱، امین رنجبر^۲، اسمعیل پقه^۱، مجتبی ذبایح نجف آبادی^۱ و عبدالرحیم اصولی^۱

۱- پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور - ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)

۲- دانشجوی دکتری بهداشت آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

واژگان کلیدی: روتیفر *Brachionus rotundiformis*، جلبک *Nannochloropsis oculata*، ویتامین، تراکم

مقدمه:

روتیفرها از مهمترین غذاهای زنده هستند که در تغذیه مراحل لاروی آبزیان دریایی کاربرد گسترده‌ای دارند. توانایی بالای تولید مثل و کشت آسان، آنها را به یک غذای زنده متداول تبدیل کرده است. برای کشت آنها بطور معمول از ریزجلبکها و مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) استفاده می‌گردد. از جمله جلبکهایی که برای تغذیه روتیفرها کاربرد زیادی دارد، جلبک تک سلولی *Nannochloropsis oculata* است. این جلبک بطور موفق آمیزی در تغذیه روتیفرهای دریایی از جمله *Brachionus rotundiformis* استفاده می‌شود. برای کشت جلبکها از محیطهای کشت گوناگونی استفاده می‌شود. از جمله اینها می‌توان محیطهای TMRL، F2، conway و ... را نام برد. در برخی از این محیطهای کشت ویتامینهایی مانند D-بیوتین، B1 و B12 وجود دارد یا اینکه بعد از ساخت به آنها اضافه می‌گردد. این ویتامینها هم می‌توانند بر روی میزان کشت جلبکها تاثیر گذار باشند و هم در مرحله رشد روتیفرها تاثیر گذار هستند. این مطالعه به میزان تاثیر این سه ویتامین اضافه شده به محیط کشت جلبکها در میزان افزایش تراکم رشد روتیفرهای *Brachionus rotundiformis* کشت داده شده در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) می‌پردازد.

مواد و روش کار:

در این مطالعه ابتدا جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا (*Nannochloropsis oculata*) با محیطهای کشت کانوی (Conway) که از نظر ویتامین فرق داشتند و در جدول (۱) مشاهده می‌شود، پرورش یافتند و سپس با استفاده از این جلبکها روتیفرها پرورش یافتند. برای پرورش روتیفر از ۱۵ ظروف دو لیتری با حجم اولیه کشت ۵۰۰ CC با تراکم ۵۰ rotifer/ml به روش کشت توده ای (batch culture) استفاده شد. این ارلن‌ها به ۶ تیمار با ۳ تکرار برای هر تیمار تقسیم شدند. در این مدت ارلن‌ها در درون تشتهایی قرار داشتند که در آنها هیتراهای آکواریومی تعبیه شده بود تا دمای روتیفرها در طول آزمایش در دمای ثابت ۳۲ درجه بماند. غذا دهی در هر ۱۲ ساعت یکبار انجام شد (۵۰۰ سی سی در هر بار غذا دهی از جلبک) بطوری که تا زمان پایان کشت، ۳ بار غذا دهی انجام گرفت و حجم به دو لیتر رسید. تیمارهای روتیفر با همان کدهای تیمارهای جلبک نامگذاری شدند. پس از پایان کشت، نمونه‌ها توسط لام حفره دار روتیفر زیر میکروسکوپ برای هر نمونه ۳ بار شمارش شد و تراکم (بر اساس روتیفر در سی سی) موجود در ظروف کشت مورد سنجش قرار گرفت. نتایج این بررسی توسط نرم افزار آماری SPSS19 (one-way ANOVA) مورد مقایسه قرار گرفت.

جدول (۱): ویتامین های موجود در محیط کشت جلبک نانو کلوروپسیس مورد تغذیه برای تیمارهای روتیفر

کد تیمار	T1	T2	T3	T4	T5
نوع ویتامین موجود در تیمار	B1	B1+B12	B12	بدون ویتامین	B1+B12+D-Biotin

نتایج و بحث:

بر طبق جدول (۲)، \pm میانگین تراکم، بیوماس نهایی و رشد بیوماس نهایی تیمار T5 که هر سه ویتامین را دارا بود، بیشترین تراکم در بین همه تیمارها بودند که با تیمارهای T1 و T4 اختلاف معنی داشت ($P \leq 0.05$). \pm میانگین تراکم، بیوماس نهایی و رشد بیوماس نهایی تیمار T4 که فاقد ویتامین بود، کمترین میزان تراکم در بین همه تیمارها بود که با تیمار T1 اختلاف معنی داری نداشت ($P \geq 0.05$)، در حالیکه با بقیه تیمارها اختلاف معنی داری داشت ($P \leq 0.05$). از این نتایج می توان به نقش موثر ویتامینها در افزایش میزان تراکم روتیفر *Brachionus rotundiformis* رسید. نتایج مشخص کرد که وجود همزمان هر سه ویتامین در محیط کشت جلبکها، بهترین نتیجه را در پرورش روتیفر دارد. همچنین مشخص شد که در بین ویتامین های موجود در محیط کشت جلبکهای مورد تغذیه روتیفرها، وجود ویتامین B12 اهمیت بیشتری در بالا رفتن تراکم روتیفرها دارد.

جدول (۲): \pm میانگین تراکم، بیوماس نهایی و رشد بیوماس نهایی تیمارهای روتیفر

کد تیمار	T1	T2	T3	T4	T5
تراکم نهایی	۹۵/۱۰ \pm ۳/۶ ^{bc}	۱۲۷/۳ \pm ۳/۵ ^a	۱۳ \pm ۱۲۳/۷ ^{ab}	۹۳/۶ \pm ۶/۴ ^c	۱۳ \pm ۱۳۸/۵ ^a
بیوماس نهایی	۱۹۰۶۶۶/۲۱۱۹۷ \pm ۷/۵ ^{bc}	۲۵۴۶۶۶/۷۰۲۳ \pm ۷/۸ ^a	۲۷۴۹۵ \pm ۲۴۶۰۰۰/۵ ^{ab}	۱۸۷۳۳۳/۱۲۸۵۸ \pm ۳/۲ ^c	۲۷۰۵۵ \pm ۲۷۶۰۰۰/۵ ^a
رشد بیوماس نهایی	۱۶۵۶۶۶/۲۱۱۹۷ \pm ۷/۵ ^{bc}	۲۲۹۶۶۶/۷۰۲۳ \pm ۷/۸ ^a	۲۷۴۹۵ \pm ۲۲۱۰۰۰/۵ ^{ab}	۱۶۲۳۳۳/۱۲۸۵۸ \pm ۳/۲ ^c	۲۷۰۵۵ \pm ۲۵۱۰۰۰/۵ ^a

Maruyama و همکاران (۱۹۸۹) در مطالعات خود بیان کرده اند که غنی سازی جلبک سبز کلرلا با ویتامین B12 بطور مشخصی ارزش غذایی این جلبک را برای افزایش رشد روتیفر *Brachionus plicatilis* بالا می برد. آنها در بررسی خود نشان دادند که روتیفرهای *Brachionus plicatilis* که از جلبکهای کلرلای حاوی ویتامین B12 تغذیه کرده بودند نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با جلبکهای کلرلای بدون ویتامین بطور معنی داری ($P \leq 0.05$) تراکم و بیومس بیشتری را دارا بودند که نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه مشابه بود. در مطالعه حاضر میزان نسبت تراکم T3 به T4 (نسبت تیماری که فقط حاوی ویتامین B12 بود به تیمار بدون ویتامین)، ۱/۳ برابر بود که این نسبت نیز با بررسی مورد نظر مشابه بود.

منابع:

- 1-Maruyama, I., Ando, Y., Maeda, T. and Hyrayama, k. (1989). Uptake of vitamin B12 by various strain of unicellular algae *Chlorella*. Nippon Suisan Gakkaishi, 55, 1785-1790.
- 2-Maruyama, I. and Hyrayama, k. (1993). The Culture of the Rotifer *Brachionusplicatilis*with *Chlorellavulgaris* Containing Vitamin B12 in its Cells. J. World Aquac. Soc. 24, 194-198.
- 3-Scott, J.M. (1981). The vitamin B12 requirement of the marine rotifer *Brachionusplicatilis*. J. Marine Biol. Ass. U.K., 61, 983-994.