شیلات، مجله منابع طبیعی ایران

دوره ۷۱، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷

صفحات ۸۱-۷۲

بررسی تأثیر کود حیوانی و گیاهی بر باکتری‌های غالب محیط کشت‌های دافنی *Daphnia pulex* و پاروپای *Apocyclops dengizicus*

احسان احمدی فر[1]، طیبه عنایت غلامپور[2]، مجتبی پولادی[3]، محسن شهریاری مقدم[4]*

۱. *استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.*

۲. *استادیارگروه شیلات، دانشگاه پیام نور، گرگان، ایران.*

۳. *دانشجوی دکتری گروه تکثیر و پرورش، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.*

۴. *استادیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۳/۱۵

چکیده

بطورکلی به منظور افزایش راندمان تولید غذای زنده، مطالعه روابط میان زئوپلانکتون‌ها و باکتری‌ها اهمیت ویژه‌ایی دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی باکتری‌های غالب در محیط کشت *Daphnia pulex* (آنتن منشعبان) و *Apocyclops dengizicus* (پاروپایان) تغذیه شده با کود (گوسفندی + مرغی به نسبت ۱:۱ وزنی)، سبزیجات (شنبلیله + آویشن + مرزه به نسبت ۱:۱:۱ وزنی) و جلبک *Oscillatoria africanum*، تاثیر نوع محیط کشت بر تراکم سخت پوستان پرورش یافته و شاخص‌های کیفی آب انجام شد. نتایج نشان داد جیره‌های مختلف غذایی تاثیر معنی‌داری بر تراکم *D. pulex* و *A. dengizicus*، جمعیت باکتریایی، BOD و COD محیط کشت داشته‌اند. باکتری‌های غالب در محیط کشت *D. pulex* حاوی کود و سبزیجات متعلق به جنس Acinetobacter و در محیط کشت دارای *O. africanum* جنس Aeromonas غالب بود. همچنین در محیط کشت *A. dengizicus* تغذیه شده با کود، سبزیجات و *O. africanum* به ترتیب Neisseria، Enterobacteria و Alcaligenes جنس‌های غالب بودند. بیشترین جمعیت میکروبی در محیط کشت *D. pulex* تغذیه شده با کود (۱۱×۱۰^{۴}cell/ml) و در محیط کشت *A. dengizicus* تغذیه شده با *O. africanum* (۱۲×۱۰^{۳}cell/ml) سنجش شد. همچنین بیشترین میزان تراکم *D. pulex* (۲۸۹±۱۱/۹) و *A. dengizicus* (۱۸۸±۱۹/۲) در محیط کشت تغذیه شده با جلبک *O. africanum* و کمترین میزان آن در محیط کشت تغذیه شده با کود (به ترتیب۱/۱ ±۱۵ و ۴/۱±۳۰) بدست آمد. بیشترین BOD و COD در محیط کشت *D. pulex* و *A. dengizicus* حاوی سبزیجات (به ترتیب ۱۰۱ و ۲۹۸ میلی‌گرم در لیتر) سنجش شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد همبستگی معنی‌داری بین تراکم *D. pulex* با جمعیت باکترایی وجود نداشته، اما بین جمعیت باکترایی با تراکم *A. dengizicus* همبستگی معنی‌داری وجود داشته است. همچنین بین تراکم *D. pulex* و *A. dengizicus* با BOD و COD همبستگی معنی‌داری دیده شد. به‌طور کلی می توان بیان کرد برای رسیدن به بالاترین میزان تراکم *D. pulex* و *A. dengizicus* محیط کشت حاوی جلبک *O. africanum* کارایی بالاتری دارد. همچنین گونه زئوپلانکتون پرورشی و جیره غذایی استفاده شده طی دوره پرورش بر نوع باکتریها و تراکم جمعیتی آنها تاثیر گذار است.

واژگان کلیدی: جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم*، باکتری، زئوپلانکتون، BOD، COD.

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۰۹۸۵۴۳۲۲۳۲۶۰+ ایمیل: ehsan.ahmadifar@uoz.ac.ir

۱. مقدمه

فیتوپلانکتون‌ها دسته‌ای از پلانکتون‌ها هستند که قادر به فتوسنتز و تولید اولیه می‌باشند. اغلب این موجودات بسیار ریز، تک‌سلولی تا چند سلولی بوده و با چشم غیر مسلح قابل روئیت نیستند. اما اگر تعداد بسیار زیادی از آن‌ها در آب تجمع داشته باشند، ممکن است رنگ آب را سبز (یا به رنگ‌های دیگر تبدیل نمایند) و گاه منجر به بروز پدیده شکوفایی جلبکی شوند (Lashkarbolouki and Jafaryan, 2011). در هر اکوسیستم آبی فیتوپلانکتون‌ها به لحاظ تولید مواد آلی و قرار گرفتن در قاعده هرم انرژی جزء ذخایر مهم و با ارزش به شمار می‌روند و سایر موجودات ضمن وابستگی به یکدیگر در زنجیره غذایی به طور مستقیم و غیرمستقیم به فیتو پلانکتون‌ها وابسته‌اند، بنابراین شناخت آن‌ها در هر منبع آبی اهمیت ویژه‌ای دارد (Erlania and Adiwilaga, 2016).

جلبک‌ها مشابه با گیاهان اتوتروف بوده و دارای کلروفیل با تراکم بالا هستند، با این وجود دیواره سلولی آن‌ها مانند گیاهان سلولزی و غیرقابل هضم نیست (Farhadian *et al.*, 2014). جلبک‌ها، مشابه باکتری‌ها قابلیت سازگاری با شرایط مختلف طبیعی را دارند. اطلاعات ژنتیکی بین آن‌ها به آسانی مبادله می‌شود ولی وجود کلروفیل موجب تمایز آن‌ها از باکتری‌ها می‌شود. با توجه به خصوصیات ذکر شده، میکروجلبک‌ها با حفظ بسیاری از خصوصیات گیاهان، جانوران و باکتری‌ها عملکردهای متنوعی را در طبیعت ایفا می‌کنند (Spolaore *et al.*, 2006).

زئوپلانکتون‌هایی همانند سخت‌پوستان و باکتری‌ها به‌طور غیر مستقیم در شبکه غذایی با همدیگر در ارتباط هستند. به عنوان مثال، پوشش و ساختار خارجی پاروپایان، مکان مناسبی برای اتصال باکتری‌ها می‌باشد (Farhadian *et al.*, 2013). در نتیجه سطح بدن زئوپلانکتون‌ها به‌طور معمول دارای تعداد متنوع و فراوانی از باکتری ها حتی گاهی اوقات بسیار بیشتر از باکتریهای موجود در محیط کشت است (Tang *et al.*, 2010). بدن زئوپلانکتون‌ها معمولاً باکتری‌ها را در مقابل تنش‌های محیطی محافظت می‌نمایند. علاوه بر این، جابجایی باکتریایی با کمک زئوپلانکتون‌ها می‌تواند موجبات پراکندگی باکتریایی را در فواصل طولانی فراهم آورد (Grossart *et al.*, 2010). علاوه بر این، زئوپلانکتون‌ها می‌توانند از طریق پوست‌اندازی، مدفوع و لاشه موجب نقل و انتقال جوامع میکروبی به اعماق شوند. از سوی دیگر، شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط، خود به‌صورت مجزا بر جوامع مختلف باکتری‌ها تاثیرگذار بوده و جوامع متفاوتی از باکتری‌ها را انتخاب می‌نماید (Tang *et al.*, 2010).

به‌طور کلی زئوپلانکتون‌ها به لحاظ تغذیه‌ای موجوداتی فیلتر فیدر بوده که می‌توانند از مواد آلی گیاهی همچون یونجه (Barkoh *et al.*, 1996; Farhadian *et al.*, 2013)، جلبک‌هایی مانند مثل کلرلا (Savas and Erdogan, 2006)، سندسموس (Ranta *et al.*, 1993)، مخمرهای مختلف مانند مخمر نان (*Saccharomyces cerevisia*) (Farhadian *et al.*, 2008; Lashkarbolouki and Jafaryan, 2011) گندم و برنج (Barkoh *et al.*, 2005)، مواد آلی جانوری همانند کودهای گاوی و مرغی (Srivastava *et al.*, 2006) و باکتری‌های مختلف (Erlania and Adiwilaga, 2016) تغذیه نمایند. Toyub و همکاران (۲۰۰۸) نیز طی بررسی میزان رشد گونه *Scenedesmus obliquus* در محیط‌های کشت مختلف مشاهده نمودند بیشترین میزان تراکم سلولی در محیط کشت BBM (Bold Basal Medium) وجود داشته است. همچنین طی بررسی انجام شده توسط Farhadian و همکاران (۲۰۱۴) تولید پاروپای *Eucyclops serrulatus* با استفاده از جلبک‌های میکروسکوپی در تغذیه لارو فرشته ماهی (*Pterophyllum scalare*) مطالعه گردید.

به‌طورکلی با توجه به نیاز ضروری جهت دستیابی به دانش و درک رابطه زئوپلانکتون‌ها و باکتری‌ها و همچنین چگونگی ارتباطات متقابل بین آنها، انجام مطالعه حاضر ضروری به نظر می رسید. از این‌رو با توجه به مطالب ارائه شده، هدف از تحقیق حاضر بررسی باکتری‌های غالب محیط‌های کشت دو گونه از سخت‌پوستان متعلق به آنتن منشعب *Daphnia pulex* و پاروپای *Apocyclops dengizicus* و تاثیرات آنها در BOD و COD آب در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

جدول ۱- میانگین (± خطای استاندارد) خصوصیات جیره های کود و سبزیجات مورد استفاده.

خصوصیت ها	کود*	سبزیجات**
pH	۷/۸۹±۱/۲	۶/۷۲ ± ۱/۱
آلی درصد مواد	۷۲±۴/۰۱	۹۰/۹±۵/۰۶
درصد فسفر	۳/۱۱±۰/۶	۲/۴۱±۰/۵
کلسیم(mg/L)	۹۸۶/۹۲±۵۴/۱	۱۱۲۰/۰۱±۴۲/۳۰
منیزیم(mg/L)	۴۸۸/۹±۳۲/۹۲	۱۵۸/۴۱±۱۱/۷
پتاسیم(mg/L)	۶۰۵/۲±۸/۴۰	۹۹۲/۸±۱۱/۰۱
درصد کربنات کلسیم	۵۹/۵۲±۷/۱۰	۵۲/۸۱±۳/۷۰
درصد نیتروژن	۲/۰۴±۰/۱۳	۲/۱۸±۰/۱۱
هدایت الکتریکی(ds/m)	۶/۲۸±۰/۸	۶/۱۱±۰/۴۳
نسبت C:N	۴۱/۲۸	۵۳/۷۶

*مخلوط کود: کود مرغی+گوسفندی (نسبت وزنی ۱:۱)

**مخلوط سبزیجات: شنبلیله+ آویشن+مرزه (نسبت وزنی ۱:۱:۱)

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. جمع آوری زئوپلانکتون‌ها

مقداری آب از آبگیرهای حوالی خلیج گرگان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها پس از چند ساعت ته نشینی با کمک لوپ آزمایشگاهی (Olympus, SZ6045, Japan) و میکروسکوپ اینورت (CETI, Belgium) مورد بررسی قرار گرفتند. پس از بررسی‌های اولیه جداسازی یک گونه از آنتن منشعبان (*D. pulex*) و یک گونه از پاروپایان (*A. dengizicus*) از میان گروه‌های زئوپلانکتونی موجود انجام شد. نمونه‌های ماده بالغ این دو زئوپلانکتون ابتدا در مقیاس کوچک (بشر ۱۰۰ میلی لیتری) و سپس مقایس بزرگتر (بشر ۵۰۰ میلی لیتری) کشت داده شد تا علاوه بر تهیه تعداد کافی برای شروع کار آزمایشگاهی، با شرایط موجود در آزمایشگاه سازگار شوند. گونه‌های مورد نظر با استفاده از کلیدهای شناسایی زئوپلانکتون‌های آب شیرین شناسایی گردیدند (Collado *et al.*, 1984; Fernando, 2002).

۲.۲. تهیه جیره های غذایی

جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم در ارلن مایرهای ۷ لیتری با استفاده از محیط کشت BBM (Bold Basal Medium) بر طبق ترکیبات بیان‌شده توسط Nichols و Bold (۱۹۶۵) پرورش یافت. شرایط پرورش این گونه جلبکی شامل (آب شیرین فیلتر و اتوکلاو شده، دمای ۲۴±۰/۵°C، دوره نوری: ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، شدت نور: ۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه، pH : ۷/۱ و اکسیژن محلول بالای ۵/۵ میلی‌گرم در لیتر) بود. جلبک‌ها در فاز رشد سریع از طریق سانتریفیوژ کردن (مدل Centurion Scientific Ltd) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه برداشت شدند.

برای تهیه تیمارهای غذایی غیر جلبکی از مخلوط کود حیوانی (گوسفندی + مرغی) به نسبت (۱:۱ وزنی) و مخلوط پودر سبزیجات (شنبلیله + آویشن + مرزه) به نسبت (۱:۱:۱ وزنی) استفاده گردید. برخی از ویژگی‌های مهم جیره‌های غیر جلبکی که در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفت در جدول ۱ ارائه شده است.

خصوصیات مختلف کود و سبزیجات شامل هدایت الکتریکی (Conductivity Meter 4310, JENWAY)، pH، میزان کلسیم و منیزیم (روش کمپلکسومتری)، پتاسیم (عصاره‌گیری با استات آمونیوم)، فسفر (روش اولسون) ، ازت (روش کجلدال)، کربن آلی (روش والکی و بلاک) و کربنات کلسیم (روش تیتراسیون) اندازه گیری شد (Standard Method, 1998).

۳.۲. چیدمان آزمایش

تحقیق حاضر به‌صورت دو آزمایش مجزا و در قالب طرح کاملاً تصادفی با کشت *D. pulex* و *A. dengizicus* هرکدام با سه تیمار غذایی (کود، سبزیجات و جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم*) و سه تکرار

جدول ۲- میانگین (±خطای استاندارد) تراکم *D. pulex* و *A. dengizicus* تغذیه شده با جیره های مختلف غذایی پس از ۳۰ روز پرورش.

تیمارها	*D. pulex*	*A. dengizicus*
کود	۱۵± ۱/۱ [a]	۳۰±۴/۱ [a]
سبزیجات	۳۳±۲/۳ [b]	۹۶±۱۰/۳ [b]
جلبک اسیلاتوریا	۲۸۹±۱۱/۹ [c]	۱۸۸±۱۹/۲ [c]

در هر ستون میانگین های دارای لااقل یک حرف مشابه در سطح ۵ درصد باهم اختلاف معنی داری ندارند.

به‌طور همزمان به‌مدت ۳۰ روز در آزمایشگاه آبزی-پروری فنی حرفه‌ای استان گلستان انجام گردید. پرورش زئوپلانکتون‌ها در ظروف پلاستیکی شفاف ۴ لیتری انجام شد. به‌عنوان تراکم اولیه، در کشت *D. pulex* تعداد ۱۵ فرد از ماده بالغ و در ظروف پاروپای *A. dengizicus* تعداد ۷ ماده بالغ به‌طور کاملاً تصادفی قرار داده شد. در کشت این دو زئوپلانکتون از آب فیلتر و اتوکلاو شده استفاده گردید. شمارش تعداد زئوپلانکتون‌ها در پایان دوره آزمایش (روز ۳۰ پرورش) با استفاده از لام باگاروف (Bogorov's Chamber) با انتقال ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت به درون لام با مشاهده در زیر لوپ آزمایشگاهی با بزرگنمایی ۳ تا ۶ انجام شد.

شمارش تعداد باکتری‌ها با استفاده از روش رقیق سازی مرحله‌ای انجام گرفت. در این روش ۱ میلی‌لیتر از نمونه در غلظت‌های 10^{-1} تا 10^{-6} رقیق گردید و سپس بر روی محیط کشت جامد نوترینت آگار (NA) تعداد کلنی‌های تشکیل شده شمارش شد. سپس با استفاده از رابطه $N=\frac{C}{D\times S}$ تعداد باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تخمین زده شد. که در این رابطه N تعداد باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر از محیط کشت، C تعداد کلونی ها، D ضریب رقیق سازی نمونه، S میزان نمونه مورد استفاده بر حسب میلی لیتر است.

پس از خالص‌سازی و جداسازی باکتری‌ها بر روی محیط کشت جامد به روش کشت خطی، شناسایی باکتری‌ها با بررسی مشخصات ماکروسکوپی کلنی‌ها، شکل و رنگ امیزی گرم جدایه‌های خالص شده و انجام تست‌های بیوشیمیایی مختلف انجام شد. در انتها با توجه به نتایج، شناسایی باکتریایی با استفاده از کتاب سیستماتیک برگی صورت گرفت (Holt *et al.*, 1994). شاخص های کیفی آب همچون COD و BOD در پایان آزمایش اندازه‌گیری گردید. تعیین اکسیژن خواهی شیمیایی (COD) از روش تقطیر برگشتی بسته و برای تعیین اکسیژن خواهی بیولوژیکی (BOD) از روش وینکلر استفاده شد (Standard Method, 1998).

۴.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها و آنالیز آماری

آنالیز آماری با ورود داده‌های به صفحات گسترده اکسل انجام گردید. سپس در نرم افزار SPSS ابتدا پراکنش نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی و سپس جهت تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار از نقطه نظر شاخص‌های محاسبه شده، از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way-ANOVA) استفاده شد. همچنین همبستگی بین داده‌ها از طریق ضریب همبستگی پیرسون محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار آماری (SPSS, 19) انجام شد.

۳. نتایج

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری را در میزان تراکم زئوپلانکتون‌ها، جمعیت میکروبی و شاخص‌های کیفی BOD و COD آب نشان داد ($P<0/05$). بیشترین میانگین تراکم جمعیت *D. pulex* و *A. dengizicus* در محیط کشت تغذیه شده با *جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم* به‌ترتیب برابر ۲۸۹±۱۱/۹ و ۱۸۸±۱۹/۲ فرد و کمترین میانگین تراکم جمعیت در محیط کشت تغذیه شده با کود (به ترتیب ۱/۱ ±۱۵ و ۴/۱±۳۰) به‌دست آمد (جدول ۲).

باکتری‌های غالب در محیط کشت *D. pulex* تغذیه شده با کود و سبزیجات جنس *Acinetobacter* و در محیط کشت حاوی جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* جنس *Aeromonas* بودند (جدول ۳). همچنین در محیط کشت *A. dengizicus* تغذیه شده با کود، سبزیجات و جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* به‌ترتیب جنس‌های *Neisseria*، *Enterobacteria* و

جدول ۳- باکتری‌های شناسایی شده در محیط کشت آنتن منشعب *D. pulex* تغذیه شده با جیره‌های مختلف غذایی پس از ۳۰ روز پرورش.

تیمارها	کود	سبزیجات	جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم*
تست گرم	-	-	-
شکل	Rod/Coccus	Rod/Coccus	Rod
هوازی	+	+	+
بی هوازی	-	-	+
اسپور	-	-	-
حرکت	-	-	+
کاتالاز	+	+	+
بنزیدین	-	-	+
اکسیداز	-	-	+
گلوکز	+	-	+
O/F	O	O	F
باکتری شناسایی شده	*Acinetobacter*	*Acinetobacter*	*Aeromonas*

جدول ۴- باکتری‌های شناسایی شده در محیط کشت پاروپای *A. dengizicus* تغذیه شده با جیره‌های مختلف غذایی پس از ۳۰ روز پرورش.

تیمارها	کود	سبزیجات	جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم
تست گرم	-	-	-
شکل	Coccus	Rod	Rod
هوازی	+	+	+
بی هوازی	-	+	-
اسپور	-	-	-
حرکت	-	-	+
کاتالاز	+	+	+
بنزیدین	+	-	+
اکسیداز	+	-	+
گلوکز	-	+	-
O/F	O	F	-
باکتری شناسایی شده	*Neisseria*	*Enterobacteria*	*Alcaligenes*

Alcaligenes غالب بودند (جدول ۴).

بیشترین جمعیت میکروبی *D. pulex* (۱۱×۱۰^{۴}cell/ml) در محیط کشت تغذیه شده با کود و بیشترین جمعیت میکروبی *A. dengizicus* (۱۲×۱۰^{۳}cell/ml) در محیط کشت تغذیه شده با جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$) (جدول ۶). همچنین کمترین جمعیت میکروبی *D. pulex* و *A. dengizicus* در محیط کشت تغذیه شده با سبزیجات و به ترتیب ۴×۱۰^{۴} cell/ml و ۵×۱۰^{۳} cell/ml گزارش شد (جدول ۵).

در پایان دوره آزمایش، سنجش میزان BOD و COD آب نمونه‌برداری شده از محیط کشت زئوپلانکتون‌ها نشان داد که بیشترین میزان BOD در کشت *D. pulex* تغذیه شده با سبزیجات (۱۰۱ میلی گرم در لیتر) و کمترین آن در محیط کشت تغذیه شده با کود (۳۳ میلی گرم در لیتر) به‌دست آمد. بیشترین میزان COD (۲۹۸ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین آن (۵۰ میلی گرم در لیتر) به‌ترتیب در *A. dengizicus* تغذیه شده با سبزیجات و جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* به‌دست آمد (جدول ۶).

همچنین بین تراکم *D. pulex* با BOD و COD و همچنین بین تراکم باکتری‌ها و BOD همبستگی معنی‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$)، در حالیکه بین جمعیت باکتریها، تراکم *D. pulex* و COD همبستگی معنی داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$) (جدول ۷). علاوه بر این، بین تراکم

جدول ۵- محاسبه تعداد میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت *D. pulex* و *A. dengizicus* به روش رقیق سازی مرحله ای پس از ۳۰ روز پرورش.

محیط کشت	جمعیت میکروبی *D. pulex* (cell/ml)	جمعیت میکروبی *A. dengizicus* (cell/ml)
کود	۱۱×۱۰^۴	۹×۱۰^۳
سبزیجات	۴×۱۰^۴	۵×۱۰^۳
جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم	۶×۱۰^۴	۱۲×۱۰^۳

جدول ۶- میزان شاخص های کیفی COD و BOD بر حسب میلی گرم در لیتر محیط کشت *D. pulex* و *A. dengizicus* پس از ۳۰ روز پرورش.

محیط کشت	*D. pulex*		*A. dengizicus*	
	BOD	COD	BOD	COD
کود	۸۱	۶۵	۳۳	۹۹
سبزیجات	۱۰۱	۶۸	۴۱	۲۹۸
جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم	۴۲	۷۸	۳۶	۵۰

جدول ۷- ضریب همبستگی پیرسون برخی خصوصیات آنتن منشعب *D. pulex* در طی دوره ی آزمایش (اعداد درون پرانتز ها سطح معنی‌دار را نشان می دهند. *همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ** همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۱).

آنتن منشعب D. pulex				
پارامترها	تراکم	BOD	COD	جمعیت میکروبی
BOD	*۰/۸۰۱ (۰/۰۳۲)	۱		
COD	**۰/۸۷۸ (۰/۰۰۸)	*۰/۷۰۲ (۰/۰۴۹)	۱	
جمعیت میکروبی	۰/۳۹۵ (۰/۱۹۲)	**۰/۸۶۷ (۰/۰۰۷)	۰/۳۹۷ (۰/۲۰۱)	۱

A. dengizicus، جمعیت باکتریایی، BOD و COD همبستگی معنی‌داری به‌دست آمد ($P<۰/۰۵$) (جدول ۸).

۴. بحث و نتیجه گیری

با توجه به این که در فعالیت‌های آبزی‌پروری ۵۰-۴۰ درصد از هزینه‌های تولید مربوط به غذای مصرفی است، برای افزایش تولید و راندمان اقتصادی در پرورش آبزیان، تغذیه مناسب و استفاده از جیره‌های غذایی با حداکثر کارایی ضروری است. با توجه به نقش ریز جلبک‌ها در آبزی‌پروری، تعیین شرایط بهینه رشد آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Dubinsky *et al.*, 1995). از آن‌جایی که جیره‌های غذایی تاثیر به‌سزایی بر تولید مثل و چرخه زندگی زئوپلانکتون‌ها دارند (Erlania and Adiwilaga, 2016)، در این تحقیق تاثیر جیره‌های مختلف غذایی با تاکید بر باکتری‌ها و تراکم آنها در محیط های کشت زئوپلانکتونی مطالعه شد. نتایج نشان داد *D. pulex* تغذیه شده با *اسیلاتوریا آفریکانوم* و *A. dengizicus* تغذیه شده با سبزیجات از رشد و عملکرد بهتری نسبت به دیگر جیره‌ها برخوردار بوده‌اند، که نتایج دیگر محققین نیز تایید کننده نتایج مطالعه حاضر است. برای مثال، Ranta و همکاران (۱۹۹۳) تاثیر غذای جلبکی *S. quadricauda* را بر رشد سه گونه *Daphnia longisina*، *D. magna* و *D. pulex* بررسی و بیان کردند که جیره غذایی بر رشد و اندازه این گونه‌ها تاثیر گذار بوده و این تاثیر بر تولید و تراکم *D. magna* بیشتر بوده است.

همچنین، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گونه *A. dengizicus* تغذیه شده با سبزیجات

جدول ۸- ضریب همبستگی پیرسون برخی خصوصیات پاروپای *A. dengizicus* در طی دوره ی آزمایش. (اعداد درون پرانتز ها سطح معنی‌دار را نشان می‌دهند. *همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ** همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۱).

پاروپا *A. dengizicus*				
پارامترها	تراکم	BOD	COD	جمعیت میکروبی
BOD	*۰/۷۰۲ (۰/۰۴۱)	۱		
COD	**۰/۹۰۱ (۰/۰۰۰)	**۰/۹۰۰ (۰/۰۰۰)	۱	
جمعیت میکروبی	**۰/۸۲۱ (۰/۰۰۵)	**۰/۸۰۳ (۰/۰۰۵)	**۰/۹۳۵ (۰/۰۰۰)	۱

مخلوط عملکرد بهتری داشته است. Farhadian و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر جیره غذایی ترکیبی (یونجه، ریز جلبک‌ها و مخمر) بر میزان رشد و تولید مثل جمعیت روتیفر *Euchlanis dilatata* آب شیرین را بررسی نمودند و نتیجه گیری نمودند که افزایش یونجه به محیط کشت باعث بهبود رشد و تولید در روتیفر می‌شود.

اگر چه در مطالعه حاضر دلیل تراکم‌های متفاوت *D. pulex* و *A. dengizicus* پرورش یافته با غذاهای مختلف را می‌توان به نوع جیره‌های مورد استفاده نسبت داد، با این وجود نقش باکتری‌های رشد کرده در محیط های کشت نیز قابل بحث است. در این پژوهش، در محیط کشت *D. pulex* تغذیه شده با کود و سبزیجات جنس *Acinetobacter* و در کشت با جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* جنس *Aeromonas* شناسایی شد. همچنین در *A. dengizicus* تغذیه شده با کود، سبزیجات و جلبک اسیلاتوریا آفریکانوم به ترتیب جنس های *Neisseria*، *Enterobacteria* و *Alcaligenes* شناسایی گردید.

Grossart و همکاران (۲۰۰۹) از سخت پوستان زئوپلانکتونی آب شیرین گروه‌های مختلف باکتریایی از جنس *Actinobacter*، *Firmicutes*، *Bacteriodetes*، *Alphaproteobacter*، *Betaproteobacter* و *Gammaproteobacter* را شناسایی و بیان کردند که باکتری‌ها در آب‌های با تولید کم محکم به سطح بدن پاروپایان چسبیده و در مقابل عوامل محیطی در مقایسه با آب‌های پرتولید مقاومت بیشتری نشان می‌دهند. علاوه بر این، محیط بی‌هوازی معده در زئوپلانکتون‌ها و پلت‌های دفعی آن-ها محیط مناسبی برای باکتری‌های بی‌هوازی می‌باشد (Proctor, 1997; Braun *et al.*, 1999).

در مطالعه حاضر، نتایج شمارش جمعیت باکتری‌ها برای *D. pulex* تغذیه شده با جیره‌های کود، سبزیجات و جلبک *اسیلاتوریا آفریکانوم* به ترتیب ۱۱×۱۰^{۳}، ۴×۱۰^{۴}و ۶×۱۰^{۴} سلول در هر میلی لیتر و برای *A. dengizicus* به‌ترتیب ۹×۱۰^{۳}، ۵×۱۰^{۳} و ۱۲×۱۰^{۳} سلول در هر میلی‌لیتر گزارش شد. نتایج بدست آمده با نتایج سایر محققان تقریبا هم راستا است. Hansen و (۱۹۹۶) تعداد باکتری‌های موجود در محیط کشت پاروپای *Acartia tonsa* را ۲×۱۰^{۵} سلول در هر میلی‌لیتر، Olsen و همکاران (۲۰۰۰) تعداد $۱/۷\times۱۰^{۴}$ سلول در هر میلی‌لیتر در محیط کشت *Artemia franciscana* و Tang (۲۰۰۵) $۴/۵\times۱۰^{۵}$ تا ۲×۱۰^{۳} سلول در هر میلی‌لیتر در محیط کشت زئوپلانکتون *A. tonsa* گزارش کردند. همچنین Tang و همکاران (۲۰۰۹) تعداد باکتری‌ها را در محیط کشت‌های *Daphnia cucullata*، *Eudiaptomus gracilis* و *Diaphanosoma brachyurum* به ترتیب $۳/۹\times۱۰^{۵}$ تا ۱×۱۰^{۵}، $۴/۳\times۱۰^{۵}$ تا $۱/۷\times۱۰^{۵}$ و $۳/۳\times۱۰^{۵}$ سلول در هر میلی لیتر گزارش کردند.

به‌طورکلی باکتری‌ها می‌توانند بر روی سطح بدن زئوپلانکتون‌ها کلونیزه شوند (Camus *et al.*, 2009)، همچنین باکتری‌ها ممکن است به فیتوپلانکتون‌ها و یا سایر ذرات غذایی بچسبند (Simon *et al.*, 2002) و از طریق بلع این ذرات غذایی به روده یا معده زئوپلانکتون‌ها وارد و سپس از طریق مدفوع خارج شوند. بنابراین تبادل فعال باکتریایی بین زئوپلانکتون و محیط آب وجود دارد (Tang, 2005). Tang و همکاران (۲۰۰۹) بیان نمودند که لاشه آنتن منشعب‌ها در مقایسه با پاروپایان برای کلونی شدن باکتری‌ها بستری مناسبتری بوده و به سرعت در محیط‌های طبیعی و محیط‌های

آزمایشگاهی کلونیزه می شوند.

شرایط فیزیکوشیمیایی آب می‌تواند بر عملکرد زئوپلانکتونها و همچنین بر جمعیت باکتریایی تاثیر گذار باشد (Tang *et al.*, 2010). به‌عنوان مثال با افزایش تراکم جمعیت زئوپلانکتون‌ها، تجمع ذرات غذایی خورده نشده و تجمع پوسته‌های حاصل از پوست اندازی سخت پوستان، میزان تقاضای زیستی اکسیژن (BOD) و تقاضای شیمیایی اکسیژن محلول (COD) دچار تغییرات خواهد شد. در این مطالعه افزایش مقدار BOD در محیط های کشت زئوپلانکتون‌های کشت داده شده با جیره‌های کود و سبزیجات توام با افزایش میزان جمعیت باکتری‌ها بود. این تفاوت‌ها را می‌توان به ارزش غذایی مختلف جیره-ها، بازچرخش و نرخ تجزیه متفاوت جیره‌های مختلف نسبت داد (Farhadian *et al.*, 2014).

به‌طورکلی، بر طبق نتایج تحقیق حاضر می‌توان بیان نمود که زئوپلانکتون‌ها و جیره غذایی آنها در طی پرورش بر نوع باکتری‌ها و تراکم جمعیتی آنها در محیط کشت تاثیر به‌سزایی دارند. به‌طوری‌که در تحقیق حاضر، پارامترهایBOD، COD و جمعیت باکتریایی همبستگی معنی‌داری با تراکم جمعیت *D. pulex* و *A. dengizicus* نشان دادند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل (Grant code:UOZ-GR-9517-94) برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

Barkoh, A., 1996. Effects of three fertilization treatments on water quality, zooplankton, and striped bass fingerling production in plastic-lined ponds. *The Progressive Fish-Culturist*, 58(4), 237-247.

Barkoh, A., Hamby, S., Kurten, G., 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.

Braun, S.T., Proctor, L.M., Zani, S., Mellon, M.T., Zehr, J.P., 1999. Molecular evidence for zooplankton-associated nitrogen-fixing anaerobes based on amplification of the nifH gene. *FEMS Microbiology Ecology*, 28(3), 273-279.

Camus, T., Zeng, C., McKinnon, A.D., 2009. Egg production, egg hatching success and population increase of the tropical paracalanid copepod, *Bestiolina similis* (Calanoida: Paracalanidae) fed different microalgal diets. *Aquaculture*, 297(1-4), 169-175.

Collado, C., Defaye, D., Dussart, B.H., Fernando, C.H., 1984. The freshwater Copepoda (Crustacea) of Costa Rica with notes on some species. *Hydrobiologia*, 119(2), 89-99.

Dubinsky, Z., Matsukawa, R. and Karube, I., 1995. Photobiological aspects of algal mass culture. *Journal of Marine Biotechnology*, 2, 61-65.

Erlania, E., Widjaja, F., Adiwilaga, E.M., 2016. Penyimpanan rotifera instan (*Brachionus rotundiformis*) pada suhu yang berbeda dengan pemberian pakan mikroalga konsentrat. *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(2), 287-297.

Farhadian, O., Daghighi, L., 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.

Farhadian, O., Kharamannia, R., Mahboobi Soofiani, N., 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.

Farhadian, O., Yusoff, F.M., 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.

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

Grossart, H.P., Dziallas, C., Leunert, F., Tang, K.W., 2010. Bacteria dispersal by hitchhiking on zooplankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26), 11959-11964.

Grossart, H.P., Dziallas, C., Tang, K.W., 2009. Bacterial diversity associated with freshwater zooplankton. *Environmental microbiology reports*, 1(1), 50-55.

Hansen, B., Bech, G., 1996. Bacteria associated with a marine planktonic copepod in culture. I. Bacterial genera in seawater, body surface, intestines and fecal pellets and succession during fecal pellet degradation. *Journal of plankton research*, 18(2), 257-273.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T., 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Maryland, USA.

Lashkarbolouki, M., Jafaryan, H., 2011. Evaluation of resistance in *Acipenser percicus* larvae fed with bioencapsulated *Daphnia magna* via *Saccharomyce scerevisiae* product (Amax) against challenge test. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3, 340-345.

Olsen, A.I., Olsen, Y., Attramadal, Y., Christie, K., Birkbeck, T.H., Skjermo, J., Vadstein, O., 2000. Effects of short term feeding of microalgae on the bacterial flora associated with juvenile *Artemia franciscana*. *Aquaculture*, 190 (1-2), 11-25.

Proctor, L.M., 1997. Nitrogen-fixing, photosynthetic, anaerobic bacteria associated with pelagic copepods. *Aquatic Microbial Ecology*, 12(2), 105-113.

Ranta, Esa, Jan Bengtsson, and John McManus., 1993. Growth, size and shape of *Daphnia longispina*, D. magna and D. pulex." In Annales Zoologici Fennici, 299-311.

Savaş, S., Erdoğan, Ö., 2006. The effect of food (*Scenedesmus acuminatus* (von Lagerheim) RH Chodat) densities and temperature on the population growth of the cladoceran *Ceriodaphnia quadrangula* (OF Muller, 1785). *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(1-2), 113-116.

Simon, M., Grossart, H.P., Schweitzer, B., Ploug, H., 2002. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 28(2), 175-211.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87-96.

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

Standard methods for the examination of water and waste water. 1998. 20th Edition, *American Public Health Association*, New York.

Tang, K.W., 2005. Copepods as microbial hotspots in the ocean: effects of host feeding activities on attached bacteria. *Aquatic Microbial Ecology*, 38(1), 31-40.

Tang, K.W., Bickel, S.L., Dziallas, C., Grossart, H.P., 2009. Microbial activities accompanying decomposition of cladoceran and copepod carcasses under different environmental conditions. *Aquatic Microbial.*

Tang, K.W., Turk, V., Grossart, H.P., 2010. Linkage between crustacean zooplankton and aquatic bacteria. *Aquatic Microbial Ecology*, 61(3), 261-277.

Toyub, M.A., Miah, M.I., Habib, M.A.B., Rahman, M.M., 2008. Growth performance and nutritional value of *Scenedesmus obliquus* cultured in different concentrations of sweetmeat factory waste media. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 37(1), 86-93.