دانشکده منابع طبیعی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تولید و غنی سازی لارو شیرونومیده (DIPTERA) با سطوح مختلف ویتامین C و تاثیر آن بر تغذیه لاروی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

از:

علی حمیداوغلی

استادان راهنما:

دکتر بهرام فلاحتکار و دکتر مجیدرضا خوش‌خلق

اسفند ۱۳۹۱

دانشکده منابع طبیعی

گروه شیلات

تولید و غنی سازی لارو شیرونومیده (DIPTERA) با سطوح مختلف ویتامین C و تاثیر آن بر تغذیه لاروی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

از:

علی حمیداوغلی

استادان راهنما:

دکتر بهرام فلاحتکار و دکتر مجیدرضا خوش‌خلق

استاد مشاور:

دکتر احد صحراگرد

اسفند ۱۳۹۱

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می نمایم به:

محضر ارزشمند پدر و مادر عزیزم به خاطر همه ی تلاشهای محبت آمیزی که در دوران مختلف زندگی ام انجام داده اند و با مهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را به پایان برسانم. از اساتید فاضل و اندیشمند جناب آقای دکتر بهرام فلاحتکار و دکتر مجیدرضا خوش خلق به عنوان اساتید راهنما که همواره اینجانب را مورد لطف و محبت خود قرار داه اند ،کمال تشکر را دارم . همچنین از استاد مشاور جناب آقای دکتر احد صحراگرد که سنگینی بار این پایان نامه بر دوش ایشان نیز بود، تشکر می‌کنم. با امتنان بیکران از مساعدت‌های بی شائبه پدر بزرگوارم جناب آقای دکتر یوسف حمیداوغلی که با راهنمایی‌های ارزنده و حمایتهای معنوی و مادی در طول دوره پایان نامه در کنار من بودند. از جناب آقای دکتر جاوید ایمانپور و خانم دکتر زهره رمضانپور به دلیل راهنمایی‌های علمی و در اختیار گذاشتن منابع علمی مورد نیاز تشکر می‌کنم. همچنین از آقای مهندس مجید موسی‌پور و مهندس محمدی به دلیل حمایت‌ها و راهنمایی‌های با ارزششان کمال تشکر را دارم.

از کارکنان و دست اندر کاران مرکز تحقیقات مرکبات کشور به دلیل همکاری صمیمانه و صبورانه با اینجانب تشکر می-کنم. خصوصا از معاون این مرکز جناب آقای دکتر جواد فتاحی مقدم، مسئول آزمایشگاه آقای دکتر فقیه نصیر، کارشناسان آزمایشگاه خانم مهندس معصومه کیا و خانم مهندس محترم علیپور سپاسگزارم.

بخشی از کارهای عملی این پایان نامه در مرکز تکثیر و بازسازی ذخایر شادروان دکتر یوسف پور سیاهکل انجام شد. یقیناً بدون همکاری و مساعدت عزیزانی همچون مهندس بهمن مکنت خواه، مهندس احمد رضوی، آقای حمید وهابی، آقای حسن رخش بهار و سایر کارکنان مرکز مذکور این مهم امکان پذیر نبود.

با سپاس بی دریغ خدمت دوستان گران مایه‌ام آقای دکتر سبحان اخوان، دکتر وهاب پور فرج، دکتر نسیم صحراگرد، مهندس ماهان سلمرودی، مهندس نجمه پتکی، مهندس سروناز خلیلی، مهندس ساره قیاصی و مهندس شیما کوهی که مرا صمیمانه و مشفقانه یاری داده اند.

فهرست مطالب **صفحه**

تقدیم.....الف
قدردانی.....ب
چکیده فارسی.....چ
چکیده انگلیسی.....چ

فصل اول- مقدمه.....۱
۱-۱- تاسماهی ایرانی.....۲
۱-۲- غذای زنده.....۴
۱-۳- شیرونومیدها ۴
۱-۳-۱- چرخه زندگی ۵
۱-۳- ۲- مرفولوژی ۷
۱-۳- ۳- ارزش غذایی ۹
۱-۳-۴- پرورش شیرونومید ۱۰
۱-۴- ویتامین C ۱۱
۱-۴-۱- سنجش ویتامین C ۱۲
۱-۴-۲- ساخت L-آسکوربیک اسید در ماهی‌ها.....۱۴
۱-۴- ۳- نقش ویتامین C در تغذیه ماهی‌ها.....۱۵

فصل دوم- مواد و روش ها ۱۸
۲-۱- مواد.....۱۹
۲-۱-۱- مواد مصرفی ۱۹
-۱-۲- لوازم و دستگاه‌های غیر مصرفی ۱۹
۲-۲- روشها.....۱۹
۲-۲-۱- تولید لارو شیرونومید ۱۹
۲-۲-۲- غنی سازی و برداشت لاروهای شیرونومید.....۲۲
۲-۲-۳- اندازه گیری شاخص‌های رشد لاروهای شیرونومید ۲۳
۲-۲-۴- آنالیز ویتامین C ۲۳
۲-۲-۵- تغذیه لارو تاسماهی ایرانی توسط شیرونومید غنی شده ۲۴
۲-۲-۶- آنالیز ویتامین C.....۲۷
۲-۲-۷- پارامترهای رشد ۲۷
۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری ۲۹

فصل سوم- نتایج ۳۰
۳-۱- تولید لارو شیرونومید ۳۱
۳-۱-۱- رشد ۳۱
۳-۱-۲- آنالیز آسکوربیک اسید در لارو شیرونومید ۳۳
۳-۲- پرورش لارو تاسماهی ایرانی ۳۴

۳-۲-۱- رشد ۳۴
۳-۲-۲- مقدار آسکوربیک اسید در امعاء و احشاء لارو تاسماهی ایرانی..... ۳۵

فصل چهارم- بحث ۳۷
۴-۱- تولید لارو شیرونومید ۳۸
۴-۲- غنی سازی لارو شیرونومید ۴۱
۴-۳- پرورش لارو تاسماهی ایرانی..... ۴۳
۴-۴- نتیجه گیری و جمع بندی کلی ۴۷
۴-۵- پیشنهادات ۴۹
۴-۵-۱- پیشنهادات مستخرج از پایان نامه ۴۹
۴-۵-۲- پیشنهادات پژوهشی در آینده ۵۰

منابع ۵۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- ترکیبات شیمیایی *Chironomus* sp. بیان شده به صورت درصد وزن خشک و مرطوب..... ۹

جدول ۲-۱- شرایط فیزیکو شیمیایی محیا شده برای پرورش لارو شیرونومید..... ۲۲

جدول ۲-۲- شرایط پرورشی لارو تاسماهی ایرانی در مدت ۲ هفته تغذیه توسط لارو شیرونومید..... ۲۶

جدول۳-۱- میانگین بیومس (گرم)، وزن میانگین هر لارو (میلی‌گرم)، طول میانگین هر لارو (میلی‌متر)، میانگین نرخ رشد (AGR)، تعداد لاروهای موجود در هر تانک و بیومس کل برداشتی(B) در متر مربع بستر (g/m^2) پس از ۱۸ روز دوره پرورش با کود مرغی غنی شده با مقادیر مختلف آسکوربیک اسید. ۳۲

جدول۳-۲- پارامترهای رشد در لارو تاسماهی ایرانی تغذیه شده با لاروهای شیرونومید غنی شده با مقادیر مختلف ویتامین C به مدت ۱۴ روز. داده‌ها بر حسب میانگین (SE ±) سه تکرار آورده شده اند..... ۳۵

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- چرخه زندگی خانواده شیرونومید.....۶

شکل ۲-۱- حوضچه ذخیره سازی (SP) که دیواره (W) و خروجی (D) روی عکس نشان داده شده‌اند.....۲۰

شکل ۲-۲- تخم‌های چسبیده شده به دیواره SP (سمت راست) و دو عدد توده تخمی جدا شده از دیواره (سمت چپ) ۲۰

شکل ۲-۳- تشتک‌های پرورش لارو شیرونومید در تحقیق حاضر.....۲۱

شکل ۲-۴- لاروهای شیرونومید برداشت شده پس از ۱۸ روز پرورش.....۲۳

شکل ۲-۵- هموژن کردن نمونه‌ها روی یخ (سمت چپ) و خواندن جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر(سمت راست).....۲۴

شکل ۲-۶- حوضچه‌های مدور مورد استفاده در پرورش ابتدایی لارو تاسماهی ایرانی.....۲۵

شکل ۲-۷- تانک‌های پلاستیکی مدور مورد استفاده در تحقیق حاضر.....۲۶

شکل ۲-۸- تغذیه لاروهای تاسماهی ایرانی از شیرونومیدهای غنی شده توسط ویتامین C.....۲۷

شکل ۳-۱- منحنی استاندارد آسکوربیک اسید در طول موج ۵۲۴ نانومتر. در روی نمودار معادله خط (y) و شیب (R^2) نشان داده شده‌اند.....۳۳

شکل ۳-۲- مقادیر آسکوربیک اسید کل (میانگین ± S.E) در لاروهای شیرونومید غنی شده با صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم (C_0، C_{100} و C_{1000}) آسکوربیک‌اسید در هر کیلوگرم از کود مرغی.....۳۴

شکل ۳-۳- مقادیر آسکوربیک اسید کل (میانگین ± S.E) بر حسب µg/g در امعاء و احشاء لاروهای تاسماهی ایرانی پس از ۱۴ روز تغذیه توسط شیرونومید غنی شده با صفر، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم (C_0، C_{100} و C_{1000}) آسکوربیک‌اسید در هر کیلوگرم از کود مرغی.....۳۶

چکیده

تولید و غنی سازی لارو شیرونومیده (DIPTERA) با سطوح مختلف ویتامین C و تاثیر آن بر تغذیه لاروی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

علی حمیداوغلی

خانواده شیرونومید، جمعیت زیادی را در بین حشرات کفزی آب‌های شیرین تشکیل می‌دهد و دارای ظرفیت تولید مثلی بالایی می‌باشد. همچنین لاروهای این موجودات دارای ارزش غذایی بالایی هستند و یکی از اقلام غذایی با ارزش برای بسیاری از ماهی‌ها به ویژه ماهیان خاویاری به شمار می‌روند. در تحقیق حاضر، تولید لاروهای شیرونومید در محیط کاملاً بسته، با کنترل شرایط فیزیکوشیمیایی و ایجاد محیط مناسب برای کامل شدن چرخه زندگی این حشرات انجام شد. میزان تولید در هر متر مربع به طور میانگین ۱۰±۸۰ گرم برآورد شد. غنی‌سازی لاروها با اضافه کردن مقادیر صفر (C_0)، ۱۰۰ (C_{100}) و ۱۰۰۰ (C_{1000}) میلی‌گرم ویتامین C (آسکوربیک اسید) در هر کیلوگرم از کود مرغی (بستر) انجام شد. آزمایش‌های انجام شده به منظور بررسی میزان آسکوربیک اسید در لاروهای شیرونومید، مقادیر µg/g ۱۵/۴۵±۷۴/۲، µg/g ۱۱۶/۶۱±۳۲۵/۰۳ و µg/g ۸۱/۳۱±۷۷۹/۸۶ را به ترتیب در تیمارهای C_0، C_{100} و C_{1000} با اختلاف معنی دار بین گروه‌ها نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). در مرحله بعد، شیرونومیدهای غنی‌سازی شده برای تغذیه لاروهای تاسماهی ایرانی با وزن ابتدایی g ۰/۰۳±۰/۳ مورد استفاده قرار گرفتند. تعداد ۲۰ قطعه لارو تاسماهی ایرانی در تانک‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری به مدت ۱۴ روز تغذیه شدند. اندازه گیری طول و وزن لاروهای تاسماهی ایرانی، اختلاف معنی داری را در فاکتورهای رشد نشان نداد ($P >$ ۰/۰۵). بررسی میزان آسکوربیک اسید در امعاء و احشاء این لاروها نیز نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در گروه‌ها بود ($P >$ ۰/۰۵). با وجود این تغذیه لاروهای تاسماهی ایرانی توسط شیرونومیدهای غنی شده نشان داد که این ماهیان تمایل زیادی به این لاروها دارند و هیچ گونه تلفاتی در طول دوره پرورش مشاهده نشد. در نهایت می‌توان از لاروهای شیرونومید به عنوان یک غذای زنده با قابلیت غنی سازی نام برد و عنوان نمود که استفاده از ویتامین C برای غنی سازی این موجودات می‌تواند نیازهای ماهیان به این ماده مغذی را برطرف کند. این ویتامین تاثیر چندانی در رشد لاروهای تاسماهی ایرانی نداشت که شاید بتوان با طولانی تر کردن دوره پرورش یا انجام تستهای استرس، تاثیر حضور ویتامین C در جیره را به طور مطلوب تری مشاهده کرد.

کلید واژه: پرورش لاروی، کرم خونی، آسکوربیک اسید، ماهی خاویاری

Abstract

Production and enrichment of Chironomidae larva (DIPTERA) with different levels of vitamin C; effects on feeding Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) larvae.

Ali Hamidoghli

The Chironomidae family contain a large population among freshwater benthos insects and have a high reproduction capacity. Also, the larva of these insects has a great nutritional quality and is one of the most qualified feed stuff for different kinds of fish, specially sturgeon fish. In this study, indoor production of chironomids was performed by controlling the physiochemical factors and developing an appropriate condition for these insects to complete their life cycle. The amount of harvest was approximately 80±10 grams per square meter of substrate. Enrichment of lava was conducted by adding 0 (C_0), 100 (C_{100}) and 1000 (C_{1000}) milligrams of vitamin C (ascorbic acid) to one kilogram of chicken manure (substrate). Ascorbic acid analysis of chironomidae larva showed 74.2±15.45 µg/g, 325.03±116.61 µg/g and 779.86±81.31 µg/g in C_0, C_{100} and C_{1000} respectively, with significant differences among groups ($P< 0.05$). In the next level, enriched chironomids were used for Persian sturgeons larval feeding with an initial weight of 0.3±0.03 g. A 14-day feeding trial was performed in 10 liter plastic tanks with 20 larvas in each tank. Length and weight measurements after the experiment period showed no significant differences in growth factors ($P> 0.05$). Analysis of ascorbic acid in Persian sturgeon's viscera showed no significant differences between groups ($P> 0.05$). Nevertheless, no mortality was seen during the experiment period and feeding behaviors revealed high tendency of sturgeon larva to this live food. In conclusion, chironomids could be cultured in indoor situations and they could be known as an enrich able live food that can meet the nutritional requirements of fish. In this study vitamin C did not have a signifucant effect on Persian sturgeons larval feeding, but longer feeding periods and implication of stress tests might demonstrate the beneficial effects of this vitamin.

Key words: Larviculture, blood worm, ascorbic acid, sturgeon

فصل اول

مقدمه

۱-۱ تاسماهی ایرانی

ماهیان خاویاری (Acipenseriformes) از قدیمی ترین اعضای رده ماهیان استخوانی (Osteichthyes) می باشند و به علت تولید خاویار از مهم‌ترین ماهیان تجاری جهان محسوب می شوند. این راسته شامل ۲۷ گونه می باشد که همگی در آب-های معتدل نیمکره شمالی شامل اروپا، آسیا و آمریکای شمالی زیست می کنند (LeBreton et al.,2005).با توجه به زیستگاه‌ها، این ماهی‌ها را به دو گروه ماهی‌های خاویاری آب‌های شیرین و ماهی‌های خاویاری مهاجر رودکوچ تقسیم می کنند که گروه دوم بیشتر زندگی تغذیه ای و رشد و نمو خود را در دریا سپری می کنند و پس از رسیدن به سن بلوغ به رودخانه های محل تخمریزی خود مهاجرت می‌کنند. گروه سومی نیز به شکل نیمه مهاجر وجود دارد که وارد آب‌های نیمه شور، مصب رودخانه ها و رودخانه‌های محل زندگی خود می شوند ولی به‌ندرت فراتر از آن می روند (کیوان، ۱۳۸۲).

تاسماهی ایرانی(*Acipenser persicus*)، بدلیل اینکه بیشتر در سواحل جنوبی دریای خزر و محدوده آب‌های ایران زندگی می کند به Persian sturgeon شهرت یافته است (Holčik et al.,1989). بدنی سیلندری شکل، کشیده ودرازدارد. رنگ بدن در بخش پشتی خاکستری سفید یا آبی متمایل به خاکستری که در پهلوها بیشتر آبی است و بخش شکمی سفید رنگ است. عمده پراکنش این ماهی در حوضه جنوبی دریای خزر است و در اعماق ۵۰ متری یافت می شود. بخش عمده تخمریزی در رودخانه‌هایسواحل ایران است. نسبت به تاسماهی روسی آب‌های گرمتر را بیشتر ترجیح می دهد و مانند تاسماهی روسی، زمستان گذرانی خود را در مرکز و جنوب خزر انجام می‌دهد. مهاجرت تولید مثلی این ماهی در ماه های اردیبهشت و خرداد انجام می‌شود. بلوغ این ماهی نسبت به همتای روسی خود کمی زودتر اتفاق می‌افتد. جنس ماده در سنین ۱۲-۱۸ و جنس نر در ۸-۱۵سال بالغ می‌شوند. هماوری مطلق در حدود ۸۴۰ هزار و میانگین آن ۳۵۰ هزار عدد می‌رسد. قطرتخم-ها۲/۳تا۳/۸میلی متراست.تاسماهی دربسترقلوه سنگی تخم ریزی کرده وتخمریزی معمولادردمای ۱۶-۱۷درجه سانتی گرادصورت می‌گیرد (کیوان، ۱۳۸۲). بسته به سن ماهی رژیم غذایی متفاوتی دارد، در سنین اولیه از لاروشیرنومیده، گاماروس، کرمهای کم‌تار، سپس از نرئیس،بالانوس، گاوماهیان، شگ ماهیان کوچک، خرچنگ ها و کیلکا تغذیه می‌کنند. در کل، بیشتر تغذیه تاسماهی ایرانی از خرچنگ‌ها است و درصد کمی هم از مواد غذایی خود را به صدف‌ها، کیلکا وگاوماهیان اختصاص می دهند.

به علت تغییرات اکولوژیک محیط زیست و از بین رفتن محل های تخم ریزی، تکثیر طبیعی تاسماهی ایرانی متوقف شده یا به ندرت صورت می گیرد. از طرف دیگر به دلیل ارزش بالای خاویار استحصال شده از این ماهیان، صید بی رویه به صورت تجاری و قاچاق باعث نابودی نسبی ذخایر این ماهیان در دریای خزر شده است (Rosenthal et al.,2000). بر اساس گزارش اتحادیه بین المللی حفاظت طبیعت و منابع طبیعی ۸۶٪ ماهیان خاویاری از جمله تاس ماهی ایرانی در فهرست قرمز

(در معرض انقراض) جای دارند(IUCN, 2012). همچنین در سال ۲۰۰۷ بر طبق آمار اجلاس کمیسیون منابع زنده دریای خزر میزان صید ماهیان خاویاری از ۲۸۵۰۰ تن در سال ۱۹۸۵ به کمتر از ۱۷۴ تن در سال ۲۰۰۹ رسید. بعد از اوج صید ماهیان خاویاری در ۱۹۷۰، امروزه صید این ماهیان در پایین ترین حد خود قرار دارد. علیرغم مقررات بین المللی کمیسیون فوق، هیچ گونه بهبودی در وضعیت ذخایر تاس ماهیان دریای خزر حاصل نشده است و ذخایر ماهیان خاویاری همانند گذشته سیر نزولی خود را طی می کند. یکی از راهکارهای مهم و اساسی در حفظ نسل و بازار فروش ماهیان خاویاری، پرورش آنها در کارگاه‌ها با رعایت اصول ژنتیکی است، به دلیل بهره برداری ماهیان خاویاری از دریای خزر تا سال ۱۹۸۵ اقدام موثر و جدی برای پرورش گوشتی و یا تولید خاویار از سوی کشورهای حاشیه دریای خزر صورت نگرفت، اما با کاهش شدید ماهیان خاویاری در سال ۱۹۹۱ بسیاری از کشورهای جهان اقدام به پرورش گوشتی این گونه های با ارزش نمودند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). امروزه در بسیاری از نقاط جهان از جمله آمریکا، روسیه و ایتالیا پرورش ماهیان خاویاری به طور جدی دنبال می شود(Rosenthal, 2000;Raymaker, 2001). تعداد مزارع پرورش تاسماهیان در روسیه از سال ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۹ از ۱۹ به ۷۰ رسید و میزان تولید خالص سالیانه از ۲۰۰ به ۱۲۰۰ تن افزایش یافت تا کشور روسیه یک افزایش شش برابری در تولید ماهیان خاویاری را داشته باشد. این در حالی است است که میزان تولید سایر ماهیان آب شیرین ۳ برابر کاهش یافته است (Chebanov and Billard, 2001). همچنین با توجه به آمارهای درخواست خاویار در بازارهای جهانی میزان صادرات این محصول از ۳۰۰ تن در سال (سال‌های ۱۹۸۰ و ۱۹۹۰) به ۲۰۰۰ تن رسید. امکان تولید خاویار از ماهیان پرورشی در سال ۱۹۸۰، یک گام مثبت در افزایش صادرات این محصول بود. روسیه، ایران، اتحادیه اروپا و آمریکا بزرگترین تولید کنندگان و مصرف کنندگان خاویار جهان را تشکیل می‌دهند. در حال حاضر ۸۰-۱۰۰ تن خاویار توسط آبزی‌پروری روانه بازار می‌شود که این مقدار از آمار تولید ۲۰۰۶، ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸ دریای خزر بالاتر می‌باشد (Bronzi et al., 2011). بر اساس گزارش‌های آماری FAO (2010)، میزان صید ماهیان خاویاری جهان در سال ۲۰۰۱، ۱۹۱۵ تن و در سال ۲۰۰۸، ۸۸۴ تن برآورد شد. این در حالی است که میزان صادرات این ماهی‌ها در تجارت جهانی از ۳ تن در سال ۱۹۹۸ به ۴۸ تن در سال ۲۰۰۸ افزایش یافت که این امر نشان دهنده پر رنگ تر شدن نقش آبزی پروری در جبران کاستی‌ها در ذخیره این ماهیان می‌باشد.

به منظور جبران و رفع مشکلات مربوط به کاهش نسل و خطر انقراض، شیلات ایران نیز هر ساله میلیون ها بچه ماهی خاویاری در استخرهای خاکی پرورش داده و پس از رسیدن به وزن متوسط ۲-۳ گرم جهت بازسازی ذخایر به رودخانه های منتهی به دریای خزر رها سازی می کند. بیان شده است که یکی از سخت ترین مراحل تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری، فاز پرورش لاروی این ماهیان می باشد. در شرایط پرورشی، بعد از تفریخ تخم ها و بعد از این که لاروها ذخایر کیسه زرده را به اتمام رساندند، بازماندگی آن‌ها به چندین عامل از جمله غذای مصرفی، شرایط نگهداری و مدیریت تفریخگاه بستگی دارد

(Conte et al.,1988). این در حالی است که به دلیل عدم وجود غذای دستی مناسب برای تغذیه مراحل لاروی تاسماهی ایرانی، پرورش این ماهی با ارزش در مراحل ابتدایی زندگی وابسته به غذای زنده می‌باشد.

۱-۲ غذای زنده

تامین لارو و بچه ماهی مورد نیاز در تمام سیستم های پرورش ماهیان خاویاری از اهمیت بالایی برخوردار است. به طوری که تولید و پرورش لارو در سالن های تفریخگاهی یکی از مهم ترین مراحل پرورش یک مزرعه خاویاری را تشکیل می دهد. ماهیان جوان دارای دستگاه گوارش ضعیفی می باشند و استفاده از غذاهای کنسانتره کارایی پایینی در چنین سنینی دارد، که دلایل آن عدم پذیرش غذا، کامل نبودن دستگاه گوارش برای هضم و جذب غذای فورموله شده، عدم تامین نیازهای غذایی و شسته شدن مقادیر زیادی از ویتامین های محلول در آب از این ذرات ریز غذایی می باشد. غذاهای زنده استفاده شده برای پرورش لاروی ماهیان دریایی به طور عمده روتیفرها و آرتمیا می باشند. همچنین در مجتمع های تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری کشور ایران برای تغذیه ماهیان خاویاری که کیسه زرده خود را جذب کردند از ناپلیوس آرتمیا، دافنی و کرم سفید استفاده می شود (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). به طور کلی، استفاده از غذای زنده در پرورش لاروی ماهیان همواره به دلیل رشد مناسب، بازماندگی بالا و سلامت فیزیکی توصیه شده است (Mereen et al., 2008).

تفاوت های زیادی در ترکیب غذایی کوپه پودا، روتیفرها و آرتمیا وجود دارد. حتی گونه‌های مشابه نیز، بسته به محل جمع آوری و نوع تغذیه، از نظر کارایی غذایی با هم متفاوت می باشند. میزان ویتامین موجود در روتیفرها با توجه به میزان ویتامین های مواد غذایی مورد استفاده و محل پرورش با هم فرق می کنند. در صورت عدم غنی سازی روتیفرها ممکن است مقادیر کم و یا غیر قابل تعیینی از ویتامین‌های A ، E، C و تیامین (ویتامین B۱) را داشته باشند. سایر ویتامین های گروه B به مقدار زیادی در مخمرها موجود می باشند و روتیفرهایی که در محیط مخمری پرورش داده می شوند نیز دارای مقادیر زیادی از این ویتامین ها می‌باشند. به طورکلی، روتیفرها مقادیر ناکافی از عناصر اصلی را دارا می باشند ولی با اضافه کردن این عناصر به محیط پرورش و یا غذای این موجودات می توان کمبودها را برطرف کرد. آرتمیا نیز در مقایسه با کوپه پودا دارای مقادیر ناکافی از تیامین، ید و روی می باشد و مقدار ویتامین C نیز در آنها از کوپه پودا پایین تر می باشد. درنتیجه، این امکان وجود دارد تا کمبودهای غذایی موجود در غذاهای زنده را با غنی سازی جبران نمود (Moren et al., 2011).

۱-۳ شیرونومیدها

اعضای خانواده شیرونومید حشرات بال دار حقیقی (راسته دوبالان) هستند. از نظر جغرافیایی شیرونومیدها گسترده ترین حشرات با دگردیسی کامل هستند که زندگی آزاد دارند. آنها فراوان ترین گروه حشرات آب شیرین هستند کهدرآبهایلب شوروشور نیز حضوردارند. لاروهای شیرونومید با انواع محیط های آبی و نیمه آبی سازگاری یافته و در بیشتر محیط‌های آبی

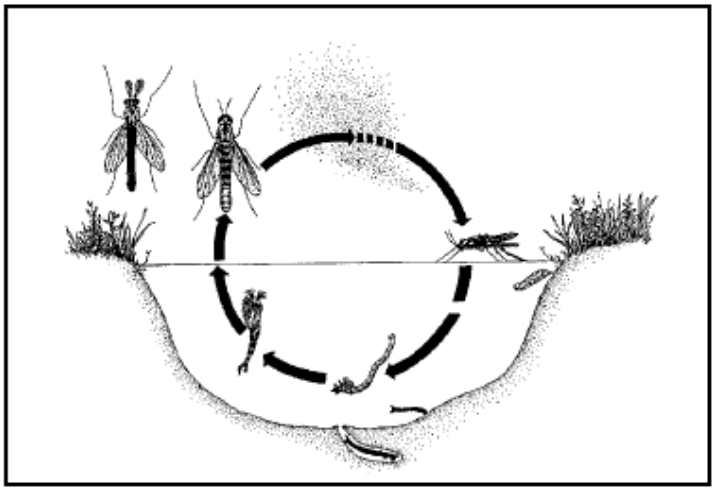
بیش از نصف مجموع گونه های بی مهرگان حاضر را تشکیل می دهند. از نظر غنای گونه ای تخمین زده شده است که حدود ۱۵۰۰۰ گونه شیرونومید در جهان وجود دارد (Armitage, 1995). اگرچه صحت چنین ادعایی می بایست با دقت بررسی شود. در شرایط خاص، همچون کمبود اکسیژن محلول در آب، لاروهای شیرونومید احتمالا تنها موجودات زنده رسوبات کف می باشند. درجات بحرانی pH، شوری، عمق، شدت جریان و غنی بودن آب توسط حداقل بعضی گونه های شیرونومید تحمل می شود. برخی از شیرونومیدها در مناطق یخ بندان کوه های مرتفع، شامل ارتفاعاتی بالغ بر ۵۶۰۰ متر در هیمالیا (Kohshima,1984; Saether and Willassen, 1987) و دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد فعال می باشند. بعضی از گونه ها در اعماق بیش از ۱۰۰۰ متر دریاچه بایکال یعنی عمیق ترین نقاط آب شیرین دنیا زندگی می کنند (Linevich, 1963). علیرغم محدودیت آنها در آب های دریایی و لب شور اما فراوان ترین گروه از حشرات می باشند که در آب های دریایی ،به ویژه در مناطق ساحلی و ناحیه جزر و مدی حضور دارند (Bode, 1990). شکل ظاهری آنها به صورت لوله های بلند، ظریف و استوانه ای به طول ۳-۲ میلیمتر می‌باشد.

با توجه به گستردگی و فراوانی زیاد این موجودات در مراحل لاروی و بلوغ، انتظار می رود که این موجودات تاثیرات زیادی روی زندگی انسان‌ها داشته باشند. از قرون گذشته در استخرهای کپور ماهیان تلاش می شد تا توسط اقداماتی باعث افزایش تولیدات شیرونومید به منظور تامین غذای ماهیان در استخر شود. اخیراً، با افزایش علاقه نگهداری ماهیان در خانه، کرم های خونی به عنوان یک غذای بسیار خوب توسط جامعه آکواریوم داران شناخته شده اند. پرورش تجاری شیرونومید در بسیاری از کشورها انجام می شود. هنگ کنگ و تایلند در حال حاضر مقادیر زیادی از این غذای لذیذ را برای ماهیان گرمابی تولید و روانه بازارهای جهانی می کنند. همچنین، نقش مهم شیرونومید در مطالعات بیولوژی مولکولی باعث ایجاد نیاز به تولید انبوه لاروهای شیرونومید شده است. پیکره های آبی محدودی در جهان وجود دارند که پشه ها در آنها وجود نداشته باشند و فرقی ندارد که یک لیمنولوژیست به دنبال چیست، چون وجود و تاثیر شیرونومید در مطالعات او غیر قابل انکار است. حضور همه جایی شیرونومید باعث شده که تقریباً در همه مطالعات ارزیابی زیستی کیفیت آب جای داشته باشند (Armitage, 1995).

۱-۳-۱ چرخه زندگی

در شکل ۱-۱ چرخه زندگی خانواده شیرونومید نشان داده شده است. چهار مرحله در چرخه زندگی این موجودات وجود دارد که شامل تخم، لارو، شفیره و حشره بالغ می‌باشد. تخم ها به صورت توده ای در سطح آب گذاشته می شوند که هر توده شامل ۱۰ تا ۳۰۰۰ تخم می باشد که وابسته به نوع گونه می باشد. هر توده تخمی دارای یک لایه ژلاتینی می باشد که معمولاً به کناره های دریاچه ها، جویبارها و رودخانه‌ها متصل می شود و با آب در تماس است. توده های تخمی که به دیواره ها متصل

نشوند در آب فرو رفته و در کف هچ می شوند. تفریخ تخم در پشه های آبی معمولا ۲-۷ روز طول خواهد کشید(Kohler, 2003).



شکل ۱-۱ چرخه زندگی خانواده شیرونومید (برگرفته از Kohler, 2003)

لاروهای تازه تفریخ شده از ماده ژلاتینی تخم به مدت ۲ روز تغذیه می کنند. در روز دوم و یا سوم بعد از تفریخ، لارو ها توده را ترک می کنند و در داخل گل و لجن نقب می زنند و یا توسط تراوش‌های بزاقی خود ذرات آلی و غیر آلی را به هم متصل کرده و تونل و لوله هایی درست می کنند که داخل آنها زندگی می کنند. این لوله ها در بعضی گونه ها ممکن است به صورت توده های ابریشمی نیز مشاهده شود. بعضی از لاروها در هر دو طرف بدن دارای دهان می باشند که به آنها امکان تغذیه از دو سمت را می دهد. لاروهای نقب زن ممکن است فقط یک دهان داشته باشند در حالی که سمت دیگر بدن در داخل لجن فرو رفته است. لاروها بیشتر وقت خود را مشغول به حرکات موجی در آب می باشند که باعث به جریان در آوردن آب می شود. لاروها اکسیژن مورد نیاز و غذای خود را از طریق آب به جریان در آمده جذب می‌کنند. لاروها از مواد معلق آب و همچنین مواد آلی موجود در بستر تغذیه می کنند. بعد از اولین پوست اندازی لارو های شیرونومید رنگ صورتی به خود می گیرند که به مرور زمان پر رنگ تر و به قرمز تبدیل می شوند (به همین دلیل آنها را کرم خونی می نامند). همچنان که لاروها بزرگ می شوند، تونل های محل زندگی خود را نیز وسعت می بخشند. دوره زندگی لاروها می تواند کمتر از ۲ و یا بیشتر از ۷ هفته به طول بیانجامد که این امر وابسته به گونه و دمای آب می باشد. لاروها در حالی که همچنان در داخل تونل ها هستند تبدیل به شفیره می شوند. مرحله شفیرگی معمولاً ۳ روز خواهد بود. شفیره‌ها چند ساعت قبل از تبدیل شدن به حشره بالغ توسط شنای فعال تونل ها را ترک می کنند و به سطح آب می آیند. حشرات بالغ بیرون آمده از شفیره، به صورت گله‌ای در هنگام شب جفت گیری می‌کنند. حشرات بالغ در طول زندگی ۳-۵ روزه خود تغذیه نمی‌کنند. کل چرخه زندگی این حشرات ممکن است ۲ هفته به طول بیانجامد، اگرچه معمولا مدت زمان بیشتری برای تکمیل این چرخه مورد نیاز است (Kohler, 2003).

۱-۳-۲ مرفولوژی

افرادی که در مباحث مربوط به پشه ها تجربه چندانی ندارند، بی شک تحت تاثیر تنوع گونه ای این موجودات قرار نخواهند گرفت، به دلیل این که تمام مراحل زندگی این موجودات در نگاه اول مشابه به نظر خواهد آمد. حتی برای افراد با تجربه در این زمینه هم امکان تشخیص اکثر گونه ها با چشم غیر مسلح امکان پذیر نمی‌باشد. بعلاوه، در مراحل لارو آبزی که زیست شناسان بیشتر با آن سر و کار دارند، شناسایی دقیق گونه ها بدون استفاده از میکروسکوپ های بسیار قوی امکان پذیر نمی-باشد. این موضوع در رابطه با پشه های بالغ که به صورت خشک یا در الکل بررسی می‌شوند نیز به شدت صدق می‌کند. تنها برای شناسایی پوسته جدا شده پوپا (بعد از تبدیل شده به پشه بالغ) می توان از میکروسکوپ‌هایی با دقت پایین یعنی حدود ۱۰۰× استفاده کرد. نیاز به میکروسکوپ‌های قوی تنها به دلیل کوچک بودن اندازه پشه‌ها نیست (اگرچه کوچکترین آنها ممکن است کمتر از ۲ میلی متر طول داشته باشند)، بلکه برای مشاهده جزئیات ریز و ظریف به منظور تعیین جنس و گونه نیاز می باشند. از آنجایی که کلیدهای شناسایی شیرونومیدها (زواید بدن) از نظر اندازه در دامنه ۱۰-۱۰۰ میکرون هستند، استفاده از ذره بین‌ها و میکروسکوپ‌های الکترو اسکن (SEM) یک نیاز ضروری محسوب می‌شود (Sublette, 1979). SEM برای تشخیص اشکال با پیچیدگی بالا، همچون ساختارهای میکرونی ابریشمی موجود در لاروها(برای مثال Webb and Scholl, 1987) و اشکال سه بعدی بدن این موجودات که اغلب به سختی توسط میکروسکوپ هایی با نقطه کانونی باریک قابل رویت هستند استفاده می شود. SEMبه عنوان یک ابزار شناسایی به طور متداول استفاده نمی‌شود و دلیل آن هزینه های بالای استفاده از این دستگاه ها، دسترسی محدود و این که اساساً تیره بودن کوتیکول برای الکترون‌ها باعث ظاهر شدن ساختارهای زیر اینلایه می شود، می‌باشد. با همه این اوصاف میکروسکوپ های الکترونی توانایی گرفتن عکس های بهتری را نسبت به میکروسکوپ‌های چشمی دارند.

مطالعات کمی در رابطه با مرفولوژی تخم‌های شیرونومیده در مقایسه با Culicidae (پشه های نیش زننده) و Odonata (طیاره مانندها) انجام شده است، اگرچه می توان بعضی از صفات را عمومیت داد. از بین تمام زیر خانواده‌هایی که تخم گذاری می کنند، فقط در Telmatogetoninae تخم ها به صورت منفرد و بدون بهره‌مندی از لایه ژلاتینی گذاشته می‌شوند (Notel, 1993). تخم های بعضی گونه ها به صورت تخم مرغی، ۴۰۰ × ۶۰۰ µm و دارای یک کوریون (پرده بیرونی) می-باشند (Ring, 1989). در سایر زیر خانواده‌ها تخم‌ها به حدود چندین هزار می‌رسند، در یک ماتریکس ژلاتینی گذاشته می-شوند که با حضور آب به صورت منبسط در می‌آیند. توده تخمی ممکن است یک نوار طویل یا به صورت سیلندر فشرده و یا یک قطره اشک مانند باشد. در داخل ماتریکس ژلاتینی، تخم ها ممکن است به صورت تصادفی پخش شده باشند و یا به

صورت ردیفی یا مارپیچی قرار گرفته باشند. همان طور که ابتدا توسطThienemann(1954) و بعد ها توسطNotel (1993)به طور کامل تری شرح داده شد تفاوت‌های نژادی در شکل توده ها و نحوه قرار گیری تخم وجود دارد،تخم‌های شیرونومین‌ها (Chironomine) اغلب به صورت مارپیچی ولی تانی پود (Tanypod) به صورت گسترده در ماتریکس می-باشند.

لاروهای شیرونومید به شکل لوله‌های ظریف استوانه‌ای مشابه همدیگر می‌باشند، اما با اندکی تعمق در قسمت‌های داخلی بخصوص کپسول سر می‌توان متوجه تفاوتهای گونه‌ای شد. گونه‌های شیرونومیده نیمکرهٔ شمالی کاملاً شناخته شده‌اند، بخصوص روی گونه‌های اروپایی، آمریکای شمالی و همچنین ژاپن بیشتر کارشده است. علیرغم اندک بودن مطالعات انجام شده روی گونه های شیرونومید خاورمیانه اما بررسی‌هایی در هند وچین نیز به چشم میخورد که در دهه های پیشین روس‌ها نیز روی شیرونومید مطالعاتی انجام داده‌اند (Konstantinov, 1968). به علت کمبود اطلاعات درخصوص گونه های شیرونومید، طبقه بندی آنها تا حد جنس متداول شده است. Ashe (1983) جنس ارزشمند شیرونوموس را با پراکنش جهانی معرفی و بیان کرده است. طبقه بندی گونه‌های شیرونومیدکاری عملی نمی‌باشد اما بعضی گونه‌های معمول و فراوان طبقه بندی شده اند (Wiederholm, 1983). مرحله لاروی شیرونومیده دارای ۴ زیر مرحله می‌باشد که گفته شده است احتمال وجود زیر مرحله پنجم نیز وجود دارد. اگر چه بیشتر مطالعات مورفولوژیک و تاکسونومی در زمان آخرین زیر مرحله لاروی انجام می شد، زیرا به نظر می رسد که اکثر ساختارها و زواید شناسایی در این مرحله ظاهر می شوند (Olafsson, 1992). بخش سر همچنین دارای زوائد خارجی می باشد که در امر تغذیه لاروها دخالت دارند. بدن لارو شیرونومید معمولا از سه بخش واضح سینه‌ای که به دنبال آن ۹ بخش شکمی وجود دارد تشکیل شده است. چشم‌های لارو بسیار ساده می‌باشند و به صورت دو عدد لکه‌ی رنگدانه‌ای (pigment) زیر کوتیکول پوست قرار دارند.

مرحله شفیرگی (pupa) در خانواده شیرنومید در مقایسه با مرحله لاروی کوتاه می‌باشد. این مدت زمان ممکن است فقط چند ساعت تا چندین روز در بعضی گونه ها به طول بیانجامد ولی با وجود کوتاه بودن این دوره، تغییرات اساسی در مورفولوژی این موجودات در هنگام تبدیل شدن لارو به حشره بالغ ایجاد می‌شود. شفیره را می‌توان به سه بخش مجزای سر (cephal)، سینه و شکم تقسیم کرد. بدن شفیره به نوعی کاما (comma) شکل است که بخش سفالوتراکس (cephalothorax) برجسته و بخش شکمی مسطح می باشد. به دلیل این که اکثر خانواده های حشرات در این مرحله (شفیره) تقریباً شبیه هم هستند شناسایی گونه‌ها بسیار سخت می باشد. شفیره یا پوپا در خانواده شیرونومیده ممکن است به صورت آزاد در سطح آب و یا در لایه های آب وجود داشته باشد.

بالغ این حشرات به شکل پشه های ظریف می باشدکه به پشه های غیر نیش زننده معروف اند. این پشه ها در روز عموماً به صورت گروهی به ویژه درسطوح آبی وکنار آبگیرها و شب هنگام نزدیک نور به فراوانی یافت می‌شوند. در مرحله بلوغ پشه ها،

قسمت سر به صورت مدور می‌باشد. آنتن ها (antenna) روی سر قرار دارند و کاملاً وابسته به جنس هستند. اگرچه شاید در نگاه اول آنتن های جنس ماده و نر مشابه به نظر برسند ولی آنتن اکثر ماده ها ساقه باریک تری دارد و فاقد شاخک و یا شاخک های کمی دارد. چشم ها به صورت زوج، گرد، قلوه مانند و گاهی به صورت پشتی می باشند (Armitage, 1995).

۱-۳-۳ ارزش غذایی

ظرفیت بالای تولید مثلی و حضور همه جایی جمعیت شیرونومیدها به این مفهوم می باشد که این موجودات نیازهای غذایی طیف وسیعی از شکارچیان کوچک و بزرگ را تامین می‌کنند. در محیط های طبیعی گزارش‌هایی از تغذیه ماهیان خاویاری (Baranova, 1969)، کپور ماهیان (1982Matena,)، گربه ماهیان (Singh et al., 1981) و آزاد ماهیان (Brown et al., 1980) از لاروهای شیرونومید وجود دارد. لاروهای شیرونومید در تغذیه ماهیان رودخانه ای بسیار با اهمیت می باشند و بیشترین میزان مصرف این لاروها توسط ماهیان در خرداد ماه گزارش شده است (Armitage, 1995). در طول فصل سرما ماهیان از کناره های رودخانه ها و بسترهای سنگی شیرونومید مورد نیاز خود را تامین می‌کنند. با توجه به میزان پروتئین مناسب ۵۵/۷ ٪ در وزن خشک لاروهای شیرونومید (جدول ۱-۱)، قابلیت هضم پذیری بالا (۷۳/۶ ٪) و تاثیر در القای رشد ماهیان، لاروهای شیرونومید مبدل به یک غذای مناسب و غنی برای ماهیان شده اند (Volkman, 2011).

جدول ۱-۱ ترکیبات شیمیایی*Chironomus* sp. بیان شده به صورت درصد وزن خشک و مرطوب (Bogut et al., 2007).

ترکیبات	٪	
	وزن مرطوب	وزن خشک
آب	۸۷/۹	-
پروتئین خام	۷/۶	۵۵/۷
چربی خام	۱/۳	۹/۷
ترکیبات بدون نیتروژن	۲/۱	۲۶/۴
خاکستر	۱/۱	۸/۲