اثر برخی عوامل محیطی (فیزیکی و شیمیایی) بر زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنی ماگنا (*Daphnia magna*)

- **سارا حق‌پرست***: دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٣٨٦-٤٩١٦٥
- **علی شعبانی**: دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٣٨٦-٤٩١٦٥
- **بهاره شعبانپور**: دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٣٨٦-٤٩١٦٥
- **سید عباس حسینی**: دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٣٨٦-٤٩١٦٥

تاریخ دریافت: خرداد ١٣٨٨ تاریخ پذیرش: آبان ١٣٨٨

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، بررسی زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنی ماگنا تحت تاثیر برخی فاکتورهای غیرزنده بود. بدین منظور تخمهای خفته از نواحی مختلف استخرهای غذای زنده واقع در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری سد وشمگیر، گرگان جمع‌آوری شده و پس از جداسازی بصورت خشک و مرطوب به مدت ٢ ماه در تاریکی با دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. دو گروه مذکور پس از طی این دوره به دو زیر گروه کوچکتر تقسیم و هر یک بطور مجزا در محلول NaOCL یک درصد و آب مقطر به مدت ٥ دقیقه غوطه‌ور شدند. جهت تعیین اثر سطوح متفاوت دوره روشنایی (روشنایی مداوم و ١٢ ساعت روشنایی در روز) و سطوح متفاوت حرارت ٢٠، ٢٥ و ٣٠ درجه سانتگراد بر زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته از محیط کشت AdaM استفاده و انکوباسیون تخمها به مدت ١٥ روز انجام گرفت. براساس نتایج حاصله، نگهداری اولیه تخمهای این گونه در شرایط مرطوب و تیمارسازی متوالی در روشنایی مداوم با دمای ٢٠ و ٢٥ درجه سانتیگراد اثر معنی‌داری بر کاهش مدت زمان لازم جهت تخم‌گشایی آنها داشت.

لغات کلیدی: تخم خفته، زمان تخم‌گشایی، دافنی ماگنا

* پست الکترونیکی نویسندهٔ مسئول: sarah_haghparast@yahoo.com

مقدمه

دافنی‌ها در میان شاخه بندپایان متعلق به خانواده Daphniidae از راسته کلادوسرا و رده سخت‌پوستان امروزه در دنیای تکثیر و پرورش ماهیان از اعتبار ویژه‌ای برخوردارند (۸). جمعیت دافنیا در محیطهای طبیعی در شرایط مساعد تنها از ماده‌های پارتنوژنتیک تشکیل یافته و به محض آغاز شرایط نامطلوب در محیط‌زیست آنها مانند کمبود مواد غذایی، اکسیژن محلول در آب، کاهش درجه حرارت یا تراکم بیش از حد جمعیت، جنس نر از تولید مثل پارتنوژنتیک برخی ماده‌ها حاصل گشته و با انجام تولید مثل جنسی تخمهای خفته (Diapaused eggs) یا زمستانه (Winter eggs) حاصل می‌گردند (۹). تخمهای لقاح یافته افی پیوم‌دار می‌توانند شرایط سخت را تحمل کرده و پس از حصول شرایط مناسب ماده‌هایی بکرزا تولید نمایند (۱۲). ارزش غذایی دافنیا تا حد زیادی به ترکیبات شیمیایی موجود در منابع غذایی مورد مصرف آن بستگی دارد و درصد ترکیب شیمیایی آنها برحسب ماده خشک شامل ۴۵ تا ۴۶ درصد پروتئین خام، ۳/۴ تا ۳/۵ درصد چربی خام است (۲۹). علاوه بر این، پیکره دافنی حاوی انواع آنزیمهای گوارشی مانند پروتئینازها، پپتیدازها، آمیلازها، لیپازها و سلولازهاست که همگی آنها پس از خورده شدن توسط لاروها و نوزادان ماهی و سایر آبزیان پرورشی می‌توانند در داخل دستگاه گوارش بصورت اگزو آنزیمها وارد عمل شوند (۳). این موجودات کوچک و مغذی مهمترین بخش تغذیه بچه ماهیان خاویاری از مرحله لاروی تا انگشت قدی را تشکیل می‌دهند (۱). در میان ماهیان خاویاری تکثیر یافته در شمال کشور، گونه‌های مهاجر پاییزه مانند تاسماهی ایرانی یا قره برون (*Acipenser persicus*) و تاسماهی روسی یا چالباش (*Acipenser guldenstadti*)، قابلیت تکثیر مصنوعی در فصل زمستان را داشته (۴) و این در حالی است که جمعیت کلادوسراهای پارتنوژنتیک (دافنیا) مورد تغذیه جهت لاروهای این دو گونه، بدلیل ایجاد شرایط نامساعدی مانند کاهش درجه حرارت و دوره نوری، افت شدیدی یافته و با شروع تولید مثل جنسی و القا مرحله خفتگی، توده‌هایی انبوه از تخمهای خفته در سطح و کناره‌های مخازن پرورش کلادوسرا و دریاچه‌های طبیعی مشاهده می‌گردد.

با توجه به نقش دافنی در تغذیه، بقا و سازگاری بچه ماهیان خاویاری در محیطهای طبیعی، در این تحقیق سعی بر این شد تا عوامل اثرگذار بر زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنی ماگنا مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد تا بدینوسیله بتوان اقدامی مثمرثمر در حفظ نسل و احیای ذخایر این ماهیان با ارزش انجام داد. همچنین دستیابی به تکنیک بهینه در تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنی می‌تواند گامی موثر در جهت رفع مشکل تغذیه نوزادان گونه‌های خاویاری قابل تکثیر در فصول سرد زمستان و پاییز (تکثیر خارج از فصل) باشد.

مواد و روشها

جمع‌آوری تخمهای خفته دافنی ماگنا از نواحی مختلف استخرهای غذای زنده (بخش‌های ساحلی، پلاژیک و رسوب) در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان خاویاری سد وشمگیر، گرگان در بهار ۱۳۸۶ انجام گرفت. جهت انجام این عملیات از تور پلانکتون‌گیر با چشمه ۵۰ میکرون متر استفاده و تورکشی در ۵ ناحیه تصادفی هر استخر انجام شد. همچنین آن دسته از تخمهای خفته مدفون شده در رسوب کف با استفاده از روش شناوری در محلول شکر (Sugar Floatation Method) جداسازی گردیدند (۱۷).

شناسایی تخمهای خفته دافنی ماگنا براساس ویژگی‌های مورفولوژیکی آنها همچون سایز، شکل و طرحهای بارز و با استفاده از میکروسکوپ بینوکولار (Binocular)، تصاویر دیجیتالی و کلیدهای شناسایی معمول انجام گرفت (۲۶) (شکل ۱).

شکل ۱: تخم خفته دافنی ماگنا

تمامی تخمهای خفته جمع‌آوری شده از نواحی مختلف به نسبت حجمی یکسان با یکدیگر ترکیب و نیمی از مخلوط هموژن حاصل در فیلم‌های پلاستیکی دردار به رنگ سیاه و به حالت مرطوب قرار داده شده و نیمی دیگر بصورت خشک نگهداری شدند. نگهداری تخمهای خفته در شرایط مذکور به مدت ۲ ماه و در یخچال خانگی با دمای ۴ درجه سانتیگراد صورت گرفت. جهت مرطوب نگه داشتن تخمهای خفته در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مورد استفاده نگهداری شدند (جدول ۱) و عملیات تجدید هر۱۵ روز یکبار انجام شد (۲۰).

پس از طی دوره نگهداری اولیه در تاریکی، تخمهای خفته در هر دو گروه نگهداری شده به حالت خشک و مرطوب به ۲ زیر گروه یکسان تقسیم و هر یک بطور مجزا تحت تیمار غوطه‌وری با محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و آب مقطر (بعنوان تیمار شاهد) قرار گرفتند. جهت تهیه محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد، محلولی ۲۰ درصد از وایتکس و آب مقطر در ارلن شیشه‌ای دربدار تهیه و غوطه‌وری تخمها به مدت ۵ دقیقه در لوله‌های آزمایش دربدار انجام گرفت (۲۰).

پس از تیمارسازی اولیه با محلول مذکور، تخمهای خفته به زیر گروه‌های کوچکتر و یکسان تقسیم و تحت تاثیر سطوح متفاوت حرارت (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتیگراد) و روشنایی (روشنایی مداوم و ۱۲ ساعت روشنایی در روز) قرار گرفته و زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته طی دوره ۱۵ روزه بررسی گردید. جهت نگهداری تخمها در دوره مذکور از محیط کشت AdaM با ضریب هدایت $۲۰۰\mu Scm^{-1}$ (جدول ۲) استفاده و جهت تامین روشنایی، لامپ‌های فلورسنت با نور سفید و سرد بکار برده شد (۱۴). میزان روشنایی نیز در سطح ظروف آزمایش (محل قرارگیری تخمهای خفته) با استفاده از دستگاه لوکس متر دیجیتالی (Lutron LX-۱۰۱,Taiwan) تعیین و در محدودهٔ ۱۷۰۰ لوکس اندازه‌گیری شد. شمار نوزادان تخم‌گشایی شده در هر تیمار ثبت و توسط پیپت‌های ۲۰ میلی‌لیتری بطور روزانه از محیط مذکور خارج گردیدند.

با در نظرگرفتن ظهور اولین تخم‌گشایی در روز سوم، ضریب تخم‌گشایی در هر یک از زمانهای مورد بررسی تعیین (جدول ۳) و با توجه به تعداد هچلینگهای متولد شده در هر روز متوسط زمان تخم‌گشایی مطابق فرمول زیر تعیین گردید:

$$\text{متوسط زمان تخم‌گشایی} = \frac{۱}{\sum_{i=۳}^{۱۵} \frac{N_i}{N_e} \times I_i}$$

که در آن:

N_i= تعداد هچلینگ‌های تازه متولدشده در زمان کنترل

I_i = ضریب تخم‌گشایی در روز کنترل

N_e= تعداد تخمهای افی پیال مورد آزمایش

لازم به ذکر است که در صورت مشاهده متوسط زمان بالاتر از ۱۵ روز، از تعیین این پارامتر صرف نظر کرده و تیمار مورد نظر در محاسبات آماری منظور نگردید (۲).

جدول ۱: محیط کشت مورد استفاده طی دوره انکوباسیون اولیه در تاریکی جهت نگهداری تخم خفته دافنی ماگنا

$MgSo_۴$	۲۲/۰ میلی‌گرم
KNo۳	۵۰/۰ میلی‌گرم
$K_۲ Hpo_۴$	۵۰/۰ میلی‌گرم
$CaCl_۲$	۸۰/۰ میلی‌گرم
آب مقطر (۲۰ درجه سانتیگراد)	۱۰۰۰ میلی‌لیتر
$NaHCo_۳$	۵۰/۰ میلی‌گرم

جدول۲ : طرز تهیه محیط کشت AdaM (Artificial *Daphnia* Medium)

۱۰ لیتر	آب مقطر تازه (۲۰ درجه سانتیگراد)
۲۳ میلی‌لیتر	محلول ۱۱۷/۶ گرم بر لیتر $CaCl_2 2H_2O$
۲۲ میلی لیتر	محلول ۲۵/۲ گرم بر لیتر $NaHco_3$
۳/۳۳ گرم	نمک دریا
۱ میلی‌لیتر	محلول ۰/۰۰۳۵ گرم بر لیتر SeO_2

جدول۳: ضریب تخم‌گشایی تخمهای خفته در هر یک از زمانهای کنترل

زمان کنترل (روز)	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵
ضریب تخم‌گشایی (I_i)	۱	۰/۹۲	۰/۸۵	۰/۷۷	۰/۷	۰/۶۱	۰/۵۴	۰/۴۷	۰/۴	۰/۳۱	۰/۲۳	۰/۱۵	۰/۱

آزمایشات بصورت فاکتوریل ۲ ۲ ۳ ۳ ۲ (۲ سطح نگهداری اولیه در تاریکی، ۲ سطح غوطه‌وری در محلول NaOCL یک درصد، ۳ سطح درجه حرارت، ۲ سطح روشنایی، ۳ تکرار) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل متوسط زمان تخم‌گشایی در تیمارهای متفاوت با استفاده از بسته نرم‌افزار (SAS Institute,۹/۱۹۹۶،۱) SAS و آنالیز (ANOVA) انجام و در مواردی که اثر کلی تیمارها و اثر متقابل آنها معنی‌دار شناخته شده از آزمون LSD (Least Significant Difference) در سطح α =۰/۰۵ جهت مقایسه میانگین استفاده گردید.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس متوسط زمان تخم‌گشایی در تخم خفته دافنی ماگنا در سطوح متفاوت عوامل مورد بررسی بشرح جدول ۴ می‌باشد. مطابق نتایج این جدول، اثرات مستقل سطوح متفاوت درجه حرارت و غوطه‌وری در محلول NaOCL یک درصد بر متوسط زمان تخم‌گشایی تخمهای خفته این گونه معنی‌دار نبود (P>۰,۰۵) ولیکن اختلاف معنی‌داری میان سطوح متفاوت طول دوره روشنایی در روز و نگهداری اولیه بر متوسط زمان تخم‌گشایی مشاهده شد (P<۰,۰۵). همچنین اثرات متقابل هیچ یک از عوامل مورد مطالعه بر متوسط زمان تخم‌گشایی معنی‌دار نبود (P>۰,۰۵).

نتایج آزمون LSD نشان داد که بطور کلی آن دسته از تخمهای خفته قرار گرفته تحت روشنایی مداوم به مدت زمان کمتری در مقایسه با دسته دیگر نیاز داشتند (نمودار ۱). همچنین اختلاف معنی‌داری میان سطوح متفاوت نگهداری اولیه در تاریکی وجود داشته و تخمهای نگهداری شده به حالت مرطوب در مقایسه با خشک در زمان کمتری تخم‌گشایی شدند (P<۰,۰۱) (نمودار ۲).

میانگین زمان تخم‌گشایی در سطوح متفاوت عوامل مورد مطالعه در دافنی ماگنا در جدول ۵ آمده است. براساس نتایج، تخمهای خفته نگهداری شده به حالت مرطوب تحت تیمار غوطهوری در محلول NaOCL یک درصد و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و روشنایی مداوم در کمترین زمان (۶ و ۳۵روز) تخم‌گشایی شدند در حالیکه زمان تخم‌گشایی در آن دسته از تخمهای خفته خشک و تیمار نشده با محلول غوطه‌وری، طی ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد بطور متوسط تا ۱۳روز به تاخیر افتاد.

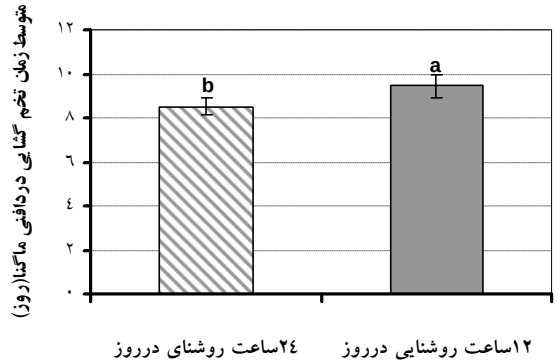
جدول ۴: آنالیز واریانس متوسط زمان تخم‌گشایی در تخم خفته دافنی ماگنا

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Pr > F	F value
اثرPIP	۱	۱۲۰/۷۱۳	۱۲۰/۷۱۳	<۰/۰۰۰	۶۲/۴۱**
اثرF	۱	۳/۸۲۱	۳/۸۲۱	۰/۱۷	۱/۹۸$^{n.s}$
اثرLL	۱	۱۳/۸۳۹	۱۳/۸۳۹	۰/۰۱۲	۷/۱۶*
اثرT	۱	۴/۱۵۰۵	۴/۱۵	۰/۱۵۳	۲/۱۵$^{n.s}$
اثرPIP اثرF	۱	۰/۰۲۴۹	۰/۰۲۵	۰/۹۱	۰/۰۱$^{n.s}$
اثرPIP اثرLL	۱	۰/۱۵۸	۰/۱۵۸	۰/۷۷۷	۰/۰۸$^{n.s}$
اثرPIP اثرT	۱	۲/۱۱۲	۲/۱۱۲	۰/۳۰۴	۰/۰۹$^{n.s}$
اثرF اثرLL	۱	۰/۰۸۹	۰/۰۸۹	۰/۸۳۱	۰/۰۵$^{n.s}$
اثرF اثرT	۱	۰/۰۳۴	۰/۰۳۳	۰/۸۹۵	۰/۰۲$^{n.s}$
اثرLL اثرT	۱	۲/۱۲۳	۲/۱۲۳	۰/۳۰۳	۱/۱۰$^{n.s}$
اثرPIP اثرF اثرLL	۱	۰/۰۵۵	۰/۰۵۵	۰/۸۶۶	۰/۰۳$^{n.s}$
اثرPIP اثرF اثرT	۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۹۹۳	۰/۰۲$^{n.s}$
اثرPIP اثرLL اثرT	۱	۱/۴۲۸	۱/۴۲۸	۰/۳۹۶	۰/۰۰$^{n.s}$
اثرF اثرLL اثرT	۱	۷/۴۸۲	۷/۴۸۲	۰/۰۵۸	۰/۷۴$^{n.s}$
اثرPIP اثرF اثرLL اثرT	۱	۳/۴۴۹	۳/۴۴۹	۰/۱۹۱	۳/۸۷$^{n.s}$
خطا	۳۰	۵۸/۰۲۳	۱/۹۳۴		
خطای کل	۴۵	۲۱۰/۹۷۷			

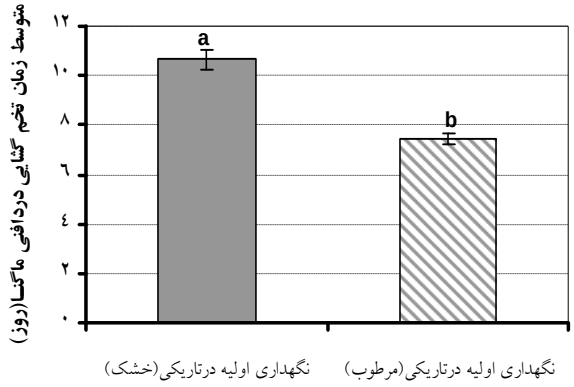
*** معنی‌دار در سطح ۵٪ ** معنی‌دار در سطح ۱٪ ns غیرمعنی‌دار**

PIP: نگهداری اولیه درتاریکی F: غوطه‌وری در محلول NaOCL ۱٪ LL: طول دوره روشنایی درروز

T: درجه حرارت



نمودار ۱: اثر سطوح طول دوره روشنایی بر زمان تخم‌گشایی در دافنی ماگنا



نمودار ۲: اثر سطوح نگهداری اولیه بر زمان تخم‌گشایی در دافنی ماگنا

جدول ۵ : میانگین متوسط زمان تخم‌گشایی در تخمهای خفته دافنی ماگنا

نگهداری اولیه درروشنایی بصورت مرطوب				نگهداری اولیه درتاریکی به صورت خشک			
عدم غوطه‌وری در NaOCL ۱٪		غوطه‌وری در NaOCL ۱٪		عدم غوطه‌وری در NaOCL ۱٪		غوطه‌وری در NaOCL ۱٪	
۲۴ ساعت روشنایی در روز	۱۲ ساعت روشنایی در روز	۲۴ ساعت روشنایی در روز	۱۲ ساعت روشنایی در روز	۲۴ ساعت روشنایی در روز	۱۲ ساعت روشنایی در روز	۲۴ ساعت روشنایی در روز	۱۲ ساعت روشنایی در روز
متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم‌گشایی ±انحراف معیار	متوسط زمان تخم گشایی ±انحراف معیار
۷/۰۹±۰/۳۶۲	۸/۶۴±۱/۰۶۷	۶/۶۵±۰/۹۳۴	۷/۷۱±۱/۱۳۱	۱۰/۰۳±۱/۱۹۹	۱۳/۰۱±۱/۴۸۴	۱۰/۶۴±۰/۵۸۴	۱۱/۲۱±۲/۱۴۲
۷/۰۹±۰/۳۶۲	۸/۰۷±۰/۴۲۸	۶/۳۵±۰/۵۲۴	۷/۷۷±۲/۱۲۱	۱۱/۰۹±۰/۹۴۸	۹/۷۶±۲/۴۹۲	۹/۰۹±۰/۶۱۸	۱۰/۸۱±۲/۹۴۴

بحث

تحقیقات بی‌شماری در رابطه با اثر فاکتورهای محیطی بر میزان تخم‌گشایی تخمهای حاصل از تولید مثل جنسی در گونه‌های مختلف زئوپلانکتونها صورت گرفته و ثابت شده که عواملی از جمله درجه حرارت (۱۸)، شدت نور (۲۷)، میزان اکسیژن (۱۶)، شوری (۱۹) و کیفیت غذا می‌توانند بر موفقیت تخم‌گشایی موثر باشند (۱۳).

دوره انکوباسیون اولیه در تاریکی و دوره قرارگیری در معرض روشنایی (مرحله تخم‌گشایی)، ۲ مرحله عمده در تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنیا بحساب آمده و نرخ شروع تکامل اولیه و تخم‌گشایی نهایی به دما و طول دوره انکوباسیونی اولیه بستگی دارد (۵). مطابق نمودار ۲، نگهداری اولیه تخمهای *D. magna* به حالت مرطوب در مقایسه با حالت خشک سبب کاهش معنی‌دار متوسط زمان تخم‌گشایی تا ۷/۴۳ روزگردید ($P<0,01$). با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه می‌توان اظهار داشت که نگهداری اولیه تخمهای خفته دافنیا به حالت مرطوب در تاریکی و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد) سبب تسریع واکنش تخم‌گشایی در آنها می‌گردد. در مقایسه، پانسلا و استروس در سال ۱۹۶۳ طی بررسی اثر مدت زمان نگهداری اولیه تخمها به حالت خشک بر تخم‌گشایی تخمهای خفته دافنی پولکس دریافتند که نگهداری تخمها به حالت خشک به مدت ۳ تا ۶ هفته در مقایسه با صفر تا ۳ هفته سبب کاهش معنی‌دار مدت زمان لازم جهت تخم‌گشایی از ۴ روز به ۶ هفته گردید.

در این تحقیق، تیمارسازی اولیه تخمهای خفته *D. magna* با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد پیش از قرارگیری در معرض روشنایی اثری بر متوسط زمان تخم‌گشایی آنها نداشت (جدول۴). پانسلا و استروس در سال ۱۹۶۳ طی بررسی اثر غوطه‌وری تخمهای خفته حاصل از کلون‌های پرورشی و وحشی *D. pulex* نتیجه گرفتند که تیمارسازی اولیه این تخمها پیش از قرار دادن آنها در معرض روشنایی مداوم سبب کوتاهتر کردن دوره نهفتگی (Latent period) در آنها می‌گردد. در این رابطه، مطالعات انجام گرفته بر بذور خفته گیاهان نشان داده است که خیساندن آنها در محلولهای اکسید کننده رقیق همچون اسید سولفوریک بمدت چند دقیقه سبب تسریع جوانه زنی شده و خواب فیزیولوژیکی را در آنها مرتفع می‌گرداند (۶).

نقش روشنایی بعنوان یک عامل خارجی در خاتمه بخشیدن به دوره خفتگی تخمهای خفته اکثر جانداران اعم از جوانه‌زنی بذر گیاهان (۱۵)، تخم حشرات (۲۳)، کلادوسرا (۲۲)، کپه‌پودا (۲۸)، روتیفرا (۱۱) و کرم‌ها (۲۴) تعیین گردیده و سطوح متفاوت طول دوره روشنایی، شدت و طول موج آن اثرات متفاوتی بر تخم‌گشایی تخمهای خفته نشان دادند (۷, ۲۰). در این تحقیق، قرار دادن تخمهای خفته خشک *D.magna* در معرض روشنایی مداوم در مقایسه با ۱۲ ساعت روشنایی سبب کندتر شدن واکنش تخم‌گشایی در آنها شده و لذا زمان لازم جهت تخم‌گشایی در آنها افزایش پیدا کرد.

تخمهای خفته در گونه‌های برانشیوپودا ساکن در زیستگاههای موقت همچون آب‌بندانها و استخرهای کوچک بطور ذاتی توانایی ورود به مرحله خفتگی را به هنگام خشک شدن زیستگاه داشته که با پر شدن مجدد استخر از آب سریعاً خاتمه یافته و تخم‌گشایی می‌شوند. در این خصوص برخی تخمها با فراهم شدن اولین شرایط مناسب تحریک به تخم‌گشایی شده در حالی که برخی دیگر پس از جذب آب برای مدتی همچنان به حالت خفته باقیمانده و براحتی توسط دیگر محرک ثانویه همچون افزایش درجه حرارت تخم‌گشایی می‌شوند (۵). همانگونه که نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد، قرار دادن تخمهای خفته *D. magna* در معرض درجه حرارتهای ۲۰ یا ۲۵ درجه سانتیگراد درکاهش یا افزایش مدت زمان لازم جهت تخم‌گشایی آنها تفاوت معنی‌داری ($P>0,05$) ایجاد نکرد. کاروالهوولف (۱۹۸۹) دریافتند که افزایش درجه حرارت از ۶ به۲۰ درجه سانتیگراد مدت زمان مورد نیاز جهت تخم‌گشایی را در تخمهای خفته جنس دافنیا از ۱۵ روز به ۴ روز کاهش داد. شوارتز و هبرت (۱۹۸۷) مشاهده کردند که آن دسته از تخم‌های خفته حاصل از کلون‌های ساکن در مناطق قطبی در گونه *D. pulex* در دمای درجه سانتیگراد در مقایسه با درجه حرارت های ۱۴ و ۲۱ درجه سانتیگراد به مدت زمان کمتری جهت تخم‌گشایی نیاز دارند. در مطالعه صورت گرفته توسط وان دکرخوف و همکاران (۲۰۰۵) مشخص شد که تخم‌گشایی تخمهای زمستانه *D. magna* در رسوبات دریاچه‌های واقع در چند کشور اروپایی (دانمارک، بلژیک/ هلند، اسپانیا) در حرارت‌های ۱۵و۲۰ درجه سانتیگراد پس از ۳ تا ۶ روز صورت گرفت. دراین رابطه بیان شده است که آستانه واکنش تخم‌گشایی در تخمهای خفته گونه‌های مختلف ساکن در زیستگاههای متفاوت نسبت به فاکتورهای احتمالی اثرگذار بر نرخ تخم‌گشایی آنها، متنوع بوده و اهمیت این فاکتورها نیز در این نوع پاسخ با توجه به نوع گونه و زیستگاه فرق دارد (۲۱).

با عنایت به نتایج بدست آمده در این تحقیق، میتوان بیان داشت که نگهداری اولیه تخم های این گونه در شرایط مرطوب و روشنایی مداوم با درجه حرارت های ۲۰ و ۲۵ درجه سانتیگراد اثر معنی‌داری بر کاهش متوسط زمان تخم‌گشایی دارد.

منابع

۱- آقایی مقدم، ع.، ۱۳۷۶. بررسی رابطه بین میل غذایی بچه ماهیان خاویاری گونه قره‌برون و زئوپلانکتونهای غالب استخرهای پرورش کارگاه تکثیر و پرورش شهید رجایی ساری، بهار ۱۳۷۸. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۳۲ صفحه.

۲- پهلوانی، م.ه.، ۱۳۷۸. ارزیابی خصوصیات کمی وکیفی ارقام پنبه تحت شرایط دیم و دیم با آبیاری تکمیلی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۸۶ صفحه.

۳- کیوان، ا. ، ۱۳۸۱. مقدمه‌ای بر بیوتکنولوژی پرورش ماهیان خاویاری (در استخرها، حوضچه‌ها، قفس‌ها و آبگیرها). انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۴- محمد نظری، ر.؛ عبدالحی، ح. و مخدومی، ن.م. ، ۱۳۸۵. ماهیان خاویاری: زیست‌شناسی تکاملی و تکثیر و پرورش. تالیف تایتا آنتونوونا، آنا ساموبلووناگینزبرگ، اولگا ایوانووناشمال هاوزن. ویراستارعلمی: باقری مجازی امیری، تهران، سازمان شیلات ایران، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان، مدیریت آموزش و ترویج.

۵- Carvalho, G.R. and Wolf, H.G., ۱۹۸۹. Resting eggs of lake-Daphnia I. Distribution, abundance

and hatching of eggs collected from varying depths in lake sediments. Freshwater Biology, ۲۲:۴۵۹-۴۷۰.

۶- **Cox, L.G., Munger, H.M. and Smith, E.A., ۱۹۴۵.** A germination inhibitor in the seeds coats of certain varieties of cabbage. Plant Physiology, ۲۰:۲۸۹-۲۹۴.

۷- **Davison, J., ۱۹۶۹.** Activation of the epphipial eggs of *Daphnia pulex.* Journal of General Physiology, ۵۳: ۵۶۵-۵۷۵.

۸ - **Edmondson, W.T., ۱۹۵۵.** The seasonal life histology of *Daphnia* in an arctic lake. Ecology, ۳۶:۴۳۹-۴۵۵.

۹- **Frerrari, D.C. and Hebert, P.D.N., ۱۹۸۲.** The induction of sexual reproduction in *Daphnia magna*: Genetic differences between arctic and temperate populations. Canadian Journal of Zoology, ۶۰:۲۱۴۳-۲۱۴۸.

۱۰- **Fryer, G., ۱۹۹۶.** Diapause, a potent force in the evolution of freshwater crustaceans. Hydrobiologia, ۳۲۰:۱-۱۴.

۱۱- **Gilbert, J.J., ۱۹۷۴.** Dormancy in rotifers. Transactions of the American Microcopy Society, ۹۳:۴۹۳-۵۱۳.

۱۲- **Hebert, P.D.N., ۱۹۸۷.** Genotypic characteristics of the cladocera. Hydrobiologia, ۱۴۵:۱۸۳-۱۹۳.

۱۳- **Irigoien, X., Harris, R.P. and Verheye, H.M., ۲۰۰۲.** Copepod hatching success in marine ecosystems with high diatom concentrations. Nature, ۴۱۹:۳۶۷-۳۶۹.

۱۴- **Kluttgen, B., Dulmer, U., Engels, M. and Ratte, H. T. ۱۹۹۴.** ADAM, an artificial fresh-water for the culture of zooplankton. Water research. ۲۸: ۷۴۳-۷۴۶.

۱۵- **Leblance, M.L., Cloutier, D.C., Leroux, G.D. and Hamel, C., ۱۹۹۸**. Factors involved in emergence of weeds in the field. Phytoprotection, ۷۹ : ۱۱۱ – ۱۲۷.

۱۶- **Lutz, R.V., Marcus, N.H. and Chanton, J.P., ۱۹۹۲**. Effects of low oxygen concentrations on the hatching and viability of eggs of marine calanoid copepods. Marine Biology, ۱۱٤ : ۲٤۱ – ۲٤۷.

۱۷- **Marcus, N.H., ۱۹۹۰.** Calanoid copepod, cladoceran, and rotifer eggs in sea bottom sediments of northern Californian coastal waters: Identification, occurrence and hatching. Marine Biology, ۱۰۵ : ٤۱۳ – ٤۱۸.

۱۸- **May, L., ۱۹۸۷.** Effect of incubation temperature on the hatching of rotifer resting eggs collected from sediments. Hydrobiologia, ۱٤۷ : ۳۳۵ – ۳۳۸.

۱۹- **Nielsen, D.L., Brock, M.A., Crossle, K., Harris, K., Healey, M. and Jarosinski, I., ۲۰۰۳.** I. The effect of salinity on aquatic plant germination and zooplankton hatching from two wetlands sediments. Freshwater Biology, ٤۸ : ۲۲۱٤ – ۲۲۲۳.

۲۰- **Pancella J.R. and Stross, R.G., ۱۹٦۳.** Light induced hatching of *Daphnia* resting eggs. Chesapeake Science, ٤ : ۱۳۵ – ۱٤۰.

۲۱- **Schwartz, S.S., and Hebert, P.D.N., ۱۹۸۷**. Methods for the activation of the resting eggs of *Daphnia*. Freshwater Biology, ۱۷ : ۳۷۳ – ۳۷۹.

۲۲- **Shan, R.K., ۱۹۷۰.** Influence of light on hatching resting eggs of chydorids (Cladocera). Internationale Revue der Gesamten Hidro-biologie. ۵۵ : ۲۹۵ – ۳۰۲.

۲۳- **Tauber, M.J., Tauber, C.A. and Masaki, S., ۱۹۸٦.** Seasonal adaptations of Insects. Oxford University Press, New York, USA.

۲٤- **Veerman, A., ۱۹۹٤.** Photoperiodic and thermoperiodic control of diapause in plant-inhabiting mites. a review. Netherlands Journal of Zoology, ٤٤ : ۱۳۹ – ۱۵۵.

Effect of light intensity on hatching rate of Artemia cysts from different geographical origin. Marine Ecology Progressive Series, ٥: ١١١-١١٤.

٢٨- **Williams-Howze, J., ١٩٩٧.** Dormancy in the free-living orders Cyclopoida, Calanoida, and Harpacticoida. Oceanographic and Marine Biology: An Annual Review. ٣٥: ٢٥٧-٣٢١.

٢٩- **Zenkevich, L.A., ١٩٦٢.** The Animal life (Zhizn' Zhivotnykh), Volume ٢. Chapter ٧- Phylum Arthropoda.

٢٥- **Vandekerkhove, J., Declerck, S., Brendonck, L., Conde-Porcuna, J.M., Jeppesen, E., Meester, L.D. ٢٠٠٥.** Hatching of cladoceran resting eggs: Temperature and photoperiod. Freshwater Biology, ٥٠: ٩٦-١٠٤.

٢٦- **Vandekerkhove, J., Vanhove, M., Declerck, S., Jeppesen, E., Conde Porcuna, J.M., Brendonck, L. and De Meester, L., ٢٠٠٤.** Use of ephippial morphology to assess anomopod richness: Potentials and pitfalls. Journal of Limnology, ٦٣: ٧٤-٨٤.

٢٧- **Vanhaecke, P., Cooreman, A. and Sorgeloos, P., ١٩٨١.** International study on Artemia. XV.

Effect of some environmental factors (physical and chemical) on hatching time of *Daphnia magna* resting eggs

- **Sara Haghparast*:** Agriculture Sciences and Natural Resources University of Gorgan, P.O.Box: ٤٩١٦٥-٣٨٦ Gorgan, Iran
- **Ali Shabani:** Agriculture Sciences and Natural Resources University of Gorgan, P.O.Box: ٤٩١٦٥-٣٨٦ Gorgan, Iran
- **Bahareh Shabanpour:** Agriculture Sciences and Natural Resources University of Gorgan, P.O.Box: ٤٩١٦٥-٣٨٦ Gorgan, Iran
- **Seyed Abbas Hosseini:** Agriculture Sciences and Natural Resources University of Gorgan, P.O.Box: ٤٩١٦٥-٣٨٦ Gorgan, Iran

Received: June ٢٠٠٩ Accepted: November ٢٠٠٩

Keywords: Resting egg, Hatching time, *Daphnia magna*

Abstract

The aim of this study was to investigate the mean time of hatching of *D. magna* resting eggs under some abiotic factors. To do so, resting eggs were collected from different parts of live food ponds in Sad Voshmgir Cultivation and Breeding Centre of Gorgan, and after isolation, the eggs were kept in dry and wet conditions at ٤°C for ٢ months in darkness. Following the pre-incubation period, the two aforesaid groups were subdivided into ٢ smaller parts and each was floated in ١% NaOCL and distilled water for ٥ min. AdaM medium was used to determine the effect of photoperiod levels (continuous illumination, ١٢h light $day^{-١}$) and temperature levels (٢٠ºC, ٢٥ºC and ٣٠ºC) on the hatching time of resting eggs and the incubation period last for ١٥ days. On the obtained results, the incubation of wet eggs of this species and their subsequent exposure to continuous illumination at ٢٠ºC and ٢٥ºC had a significant shortening effect on the mean time to hatch ($P<٠,٠٥$).

*Corresponding author's email: sarah_haghparast@yahoo.com