روش‌های ارزیابی کیفیت پست لاروهای میگو

دارا باقری
dara.bagheri@pgu.ac.ir
گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

تکثیر و پرورش میگو یکی از ارکان مهم اقتصادی در استان‌های ساحلی کشور به شمار می‌رود، تکثیر مصنوعی میگو و تولید پست لارو سالم یکی از مهمترین ارکان این صنعت است. افزایش میزان تولیدات میگوهای پرورشی مستلزم ارزیابی دقیق شرایط پرورشی مولدین و نیز استحصال تخم ها و پست لاروهای سالم و عاری از بیماری است تا با افزایش میزان سلامت پست لاروها، میگوی پرورشی بهترین بازده را در مراحل بعدی رشد داشته باشند.

کیفیت بهینه تخم، ناپلی و پست لاروهای میگو یکی از مهمترین اصول در رسیدن به حداکثر محصول در زمان پرورش به شمار می‌رود (Racotta et al. 2004). کیفیت لاروها به شرایط فیزیولوژیکی لارو بستگی داشته و با بهبود شرایط فیزیولوژیکی پست لاروهای میگو میزان بقاء و سرعت رشد آنها در دوره های بعدی پرورشی افزایش می‌یابد (Andriantahina et al. 2012). عوامل مختلفی می تواند کیفیت پست لاروها را تحت تاثیر قرار دهد که از جمله آنها می‌توان به کیفیت مولدین، وضعیت تغذیه، محیط نگهداری مولدین و لارو ها، مرحله رشدی لارو، اشاره کرد (Samocha et al. 1998, Racotta et al. 2003, Andriantahina et al. 2012).

افزایش میزان تلفات میگوهای پرورشی در اثر بیماری لکه سفید در سال های اخیر سبب شده تا کنترل کیفی مولدین و پست لاروهای تولید شده در مزاکز تکثیر اهمیت بسیار زیادی داشته باشد. این نوشتار به بررسی روش‌های مورد استفاده در ارزیابی کیفیت پست لاروهای میگو در مراحل مختلف رشد به منظور انتخاب پست لاروهای مناسب برای ذخیره‌سازی در استخرهای پرورشی میگو و همچنین انتخاب زمان مناسب برای خروج پست لاروها از کارگاه های تکثیر می‌پردازد.

ارزیابی کیفیت تخم ها و پست لاروها میگو به روش های مختلفی قابل انجام است، که از جمله می‌توان به روش‌های بیوشیمیایی، روشهای ریخت سنجی، رفتاری و روش های مرتبط با میزان رشد و بقاء تحت تاثیر استرس اشاره کرد (Bray and Lawrence 1992, Clifford 1992, Racotta et al. 2003, Racotta et al. 2004). علاوه بر این موارد تکنیک‌های مولکولی نیز در ارزیابی میزان سلامت پست لاروها به ویژه بررسی بیماری های ویروسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ذیل به بررسی برخی از این روش‌ها می‌پردازیم.

شاخصه‌های بیوشیمیایی

ترکیبات بدن میگوها در مراحل اولیه زندگی به عنوان ابزاری برای ارزیابی سلامت میگو در مراحل بعدی پرورش

استفاده شده است، ترکیبات پیکره تخم و لارو سخت پوستان ارتباط زیادی با تکامل تخم ها، وضعیت فیزیولوژیکی بدن، میزان بقاء در استرس های محیطی و نیز گذر از مراحل مختلف پوست اندازی درمراحل اولیه رشد دارد (Ouellet et al. 1992, Wickins et al. 1995). به همین علت می توان از ترکیبات بیوشیمیایی تخم میگو به عنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی کیفیت پست لاروها استفاده کرد. مطالعات مختلفی

ارزیابی کیفیت تخم ها و پست لاروها میگو به روش های مختلفی قابل انجام است، که از جمله می‌توان به روش‌های بیوشیمیایی، روشهای ریخت سنجی، رفتاری و روش های مرتبط با میزان رشد و بقاء تحت تاثیر استرس اشاره کرد

ارتباط معنی‌داری بین محتوای اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع (PUFA)، چربی کل، تری‌گلیسیریدها و نیز کربوهیدارت‌های تخم با میزان بقاء در مراحل بعدی رشد را نشان داده‌اند (Cavalli et al. 1999, Hernández-Herrera et al. 2001, Palacios et al. 2001). با این حال راکوتا و همکاران با بررسی ترکیبات بدنی میگوها در مرحله ناپلی ارتباط معنا داری بین محتوای چربی و پروتئین بدن ناپلی ها با میزان بقاء در مراحل بعدی پرورش مشاهده نکردند (Racotta et al. 2004). در این مطالعه میگوهایی که دارای محتوای چربی و پروتئین کمتری در مرحله لاروی بودند میزان بقاء بالاتری را در مراحل بعدی از خود نشان دادند.

شاخصه های ریخت سنجی و رفتاری

فاکتورهای ریخت سنجی نظیر اندازه و وزن بدن در مراحل مختلف رشد لاروها، یکنواخت بودن اندازه پست لاروها، وضعیت ضمائم بدن مانند آنتن‌ها، آنتنول‌ها، ضمایم آرواره‌ای، پاهای حرکتی و پاهای شنا، عدم وجود نکروزدر بدن و عدم‌خمیدگی بدن می تواند به عنوان معیارهای ارزیابی کیفیت پست لاروه مورد استفاده قرار گیرد (رفیعی و همکاران ۱۳۹۴). طول میگو در مرحله زوا به عنوان یک شاخص برای ارزیابی کیفیت پست لاروها مورد استفاده قرار گرفته است (Bray et al. 1990, Racotta et al. 2004). با این حال در برخی مطالعات ارتباط معنا داری بین طول میگو در مراحل لاروی با میزان بقاء در مراحل بعدی مشاهده نشده است (Racotta et al. 2004).

رفتار پست لاروها و نحوه قرارگیری آنها در مخازن پرورشی، الگوی شنا و واکنش پست لاروها به محرک‌های فیزیکی، نورگرایی به همراه مقاومت آنها در برابر جریان آب(جریان چرخشی) از معیارهای رفتاری مورد استفاده درسنجش کیفیت پست لاروها به شمار می‌رود. علاوه بر این موارد معیارهای میکروسکوپی نظیر وضعیت هپاتوپانکراس (رنگ تیره و جود واکوئلهای چربی از شاخصه‌های سلامت هپاتوپانکراس میگوها محسوب می‌گردد)، پر بودن روده، عدم وجود عوامل بیماری‌زای انگلی، قارچی و باکتریایی در بدن، شاخص عرض عضله به عرض روده در بند ششم شکمی (شاخصه های بالاتر از ۷۵ درصد)، عدم وجود نکروز در بدن و ضمائم بدنی و وجود مدفوع رشته ای نیز برای تعیین میزان کیفیت

لاروها مورد استفاده قرار می‌گیرد (رفیعی و همکاران ۱۳۹۴).

تست های استرسی

از تست‌های استرسی به عنوان ابزار مناسبی برای پیش‌بینی میزان بقاء و سلامت میگو در مراحل بعدی پرورش استفاده می‌شود. تست‌های استرسی ۹۶ ساعته یکی از مهمترین روش های سنجش میزان توانایی موجود در مقابله با آلاینده‌ها به شمار می‌رود. در طی تست‌های استرسی معمولا موجود غذادهی نشده و تعویض آبی صورت نمی‌گیرد. با این حال در مورد مرحله پست لاروی میگوها چون توانایی مقابله پست لاروها نسبت به تغییرات کیفی آب با افزایش سن تغییر می‌کند، از تست‌های استرسی کوتاه مدت (کمتر از سه ساعت) برای سنجش کیفیت استفاده می‌شود. روش های مختلفی نظیر استرس کاهش شوری، کاهش دما، استرس امونیاک و فرمالین در مراحل اولیه لاروی برای القاء استرس در میگو استفاده می‌شود که در ادامه به بررسی برخی از این روش‌ها می‌پردازیم.

تست استرس شوری

استفاده از تست‌های استرسی یکی از روش‌های کم هزینه و کوتاه مدت در ارزیابی کیفیت پست لاروها به شمار می‌رود. یکی از مهمترین تست های استرسی برای ارزیابی کیفیت پست لاروها استفاده از تست استرس شوری است، بقاء بالا در این تست می‌تواند نشان دهنده کیفیت مناسب و به تبع آن افزایش بازدهی در زمان پرورش باشد (Fegan 1992).

میگوهای خانواده پنائیده توانایی تنظیم فشار اسمزی متفاوتی را در برابر عوامل استرس‌زا (نظیر آلودگی های نفتی، وجود فلزات سنگین مانند مس، pH پایین، گرسنگی و حضور آمونیاک) از خود نشان می‌دهند (Lignot et al. 2000). از این رو تنظیم فشار اسمزی می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی مناسب و کم هزینه جهت بررسی شرایط فیزیولوژیکی سخت‌پوستان و تعیین و پیش‌بینی تأثیر استرس های محیطی مختلف و آلودگی ها به کار رود (Brito et al. 2000, Lignot et al. 2000). میزان بقاء در استرس شوری به مرحله رشد میگو و نیز جیره غذایی ارتباط دارد.

با افزایش سن و تکامل سیستم تنظیم اسمزی تحمل میگوها نسبت به کاهش شوری افزایش می یابد (Samocha et al. 1998, Racotta et al. 2004). ساموچا و همکاران با بررسی مقاومت میگوی وانامی به تغییرات شوری نشان داند که میزان تحمل پست لاروها نسبت به کاهش شوری از مرحله دوم تا مرحله هفتم افزاش می یابد (جدول ۱)، این روند در میگوی ژاپنی نیز گزارش شده است (Charmantier et al. 1988). در مراحل اولیه لاروی (پست لارو یک روزه تا ۵ روزه) عموماً از شوری ۲۰ گرم در لیتر برای انجام تست استرس شوری استفاده می شود و با افزایش سن پست لاروها به بیست روزگی می‌توان از شوری‌های نزدیک به صفر نیز به منظور ارزیابی کیفیت پست لاروها استفاده نمود (Racotta et al. 2003, Racotta et al. 2004). رفیعی و همکاران ۱۳۹۴ شوری ۱۴-۱۶ گرم در لیتر (۵۰ درصد شوری

بهینه) به مدت سه ساعت در پست لاروهای مرحله ۸ تا ۱۰ را برای تعیین کیفیت پست لاروهای میگوهای دریایی پیشنهاد دادند. در این روش فعالیت بالای ۷۵ درصد پست لاروها به عنوان معیار کیفیت مناسب در نظر گرفته شده است.

علاوه بر شوری از تست استرسی همزمان دما و شوری نیز برای ارزیابی کیفیت پست لاروها استفاده شده است (Villalon 1991). این محققین پست لاروهای میگوی لیتوپنئوس وانامی را از تانک های پرورشی با شوری ۳۳ گرم در لیتر و دمای ۲۹ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت به شوری ۵ گرم در لیتر و دمای ۲۰ درجه سانتیگراد منتقل نموده و عنوان داشتند که بقاء بالاتر از ۶۰ درصد نشان دهنده کیفیت بالای پست لاروها می باشد. همبستگی معنا داری بین میزان بقاء استرس شوری در مرحله پست لارو یک روزه با بقاء میگوها تا مرحله پست لارو ۱۵ روزه گزارش شده است (Racotta et al. 2004).

جدول ۱- شوری های پیشنهادی و میزان بقاء مناسب برای انجام تست استرس شوری (دو ساعت) در میگوی لیتوپنئوس وانامی (Samocha, Guajardo et al. 1998).

مرحله پست لاروی	میزان کاهش شوری (ppt)	درصد بقاء
۱	۱۳	۵۰
۲	۱۳	۵۰
۳	۱۴	۵۰
۴	۱۹	۵۰
۵	۱۹	۵۵
۶	۲۳	۵۵
۷	۲۵	۵۰

تست استرس امونیاک

تست استرس امونیاک یکی دیگی از تست های استرسی است که به منظور ارزیابی کیفیت ناپلی میگوها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ارتباط معنا داری بین میزان بقاء میگوها در برابر تست استرس امونیاک در مرحله زوا و زنده مانی آنها از مرحله ناپلی تا مرحله پست لارو یک روزه در میگوی لیتوپنئوس وانامی مشاهد شده است (Racotta et al. 2004).

تست استرس فرمالین

توانایی پست لاروها نسبت به سطوح فرمالین از دیگر روش های استرسی در سنجش کیفیت پست لاروها به شمار می‌رود. توانایی تحمل فرمالین در پست لاروها نیز با افزایش سن افزایش می یابد (Samocha et al. 1998). این محققین نشان دادند که میزان تحمل پست لاروها نسبت به فرمالین از پست لارو مرحله ۴ تا پست لارو مرحله ۷ افزایش می یابد (جدول ۲). با توجه به این که مقاومت پست لاروها در مرحله ۷ روزگی نسبت به مراحل قبل تر بسیار بیشتر بود این محققین پست لارو مرحله

هفت را برای ذخیره سازی در استخرهای پرورشی پیشنهاد دادند. در استرس فرمالین رفیعی و همکاران ۱۳۹۴ برای پست لاروهای مرحله ۸ تا ۱۰ میگوهای دریایی غلظت ۱۰۰-۲۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت نیم ساعت معرفی کرده و عنوان ساختند که درصورت فعالیت بیش از ۷۵ درصد پست لاروها، مناسب برای ذخیره سازی محسوب شده و توده‌های با فعالیت کمتر از ۷۵ درصد می بایست از چرخه تولید حذف شوند.

جدول ۲- غلظت فرمالین پیشنهادی و میزان بقاء قابل قبول برای انجام تست استرس(دو ساعت) در میگوی لیتوپنئوس وانامی (Samocha, Guajardo et al. 1998).

مرحله پست لاروی	میزان کاهش شوری (ppt)	درصد بقاء
۱	۳۰۰	۴۰
۲	۳۰۰	۴۰
۳	۳۰۰	۵۰
۴	۳۰۰	۵۰
۵	۴۰۰	۴۰
۶	۵۰۰	۵۰
۷	۶۰۰	۵۰

نتیجه گیری

استفاده از روش‌های مختلف ارزیابی کیفیت پست لاروها می تواند در تعیین توده‌های مناسب برای پرورش و جلوگیری از هزینه اضافی برای پست لاروهایی که بازدهی مناسبی در زمان پرورش ازخود نشان نمی‌دهند، می تواند در پیشرفت صنعت تکثیر و پرورش میگو نقش مهمی ایفاء کند. علاوه براین تعیین زمان بهینه خروج لارو از مراکز تکثیر و انتقال آنها به مزارع پرورشینیز از دیگر مزایای ارزیابی کیفیت پست لاروه به شمار می رود. با تمامی این توصیفات بالا بودن کیفیت پست لاروها تنها گزینه لازم برای موفقیت در مرحله پرورش به شمار نمی رود و عوامل مدیریتی پرورش و کنترل کیفی آب در زمان پرورش نقش مهمی در تولید نهایی محصول خواهد داشت. همچنین با توجه به اینکه توانایی پست لاروها برای تحمل تغییرات کیفی آب وابستگی زیادی به مرحله رشدی پست لارو دارد می بایست در مراحل مختلف از غلظت های مختلفی برای ارزیابی کیفیت پست لاروها استفاده گردد.

منابع

رفیعی، غ.، رضایی، ک. ۱۳۹۵. تکثیر و پرورش میگوهای دریایی. انتشارات دانشگاه تهران

Andriantahina, F., X. Liu, H. Huang, J. Xiang, and C. Yang. 2012. Comparison of reproductive performance and offspring quality of domesticated Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture **324**:194-200.

Bray, W., and A. Lawrence. 1992. Reproduction of Penaeus species in captivity. Developments in aquaculture and fisheries science **23**:93-170.

Bray, W. A., A. L. Lawrence, and L. J. Lester. 1990. Reproduction of Eyestalk - Ablated *Penaeus stylirostris* Fed Various Levels of Total Dietary Lipid. Journalof the World Aquaculture Society **21**:41-52.

Brito, R., M.-E. Chimal, and C. Rosas. 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda: Penaeidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **244**:253-263.

Cavalli, R. O., P. Lavens, and P. Sorgeloos. 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. Aquaculture **179**:387-402.

Charmantier, G., M. Charmantier-Daures, N. Bouaricha, P. Thuet, J.-P. Trilles, and D. Aiken. 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two decapod crustaceans: *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. The Biological Bulletin **175**:102-110.

Clifford, H. 1992. Marine shrimp pond management: a review. Pages 110-137 *in* Proceedings of the special session on shrimp farming. The World Aquaculture Society Baton Rouge, Louisiana.

Fegan, D. F. 1992. Recent developments and issues in the Penaeid shrimp hatchery industry. Proceeding of the Special Session on Shrimp Farming. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Belgium:55-70.

Hernández-Herrera, R., C. Perez-Rostro, F. Arcos, J. Ramırez, A. Ibarra, E. Palacios, and I. Racotta. 2001. Predictive criteria of shrimp larval quality: an experimental approach. Pages 242-245 *in* Larvi 2001 Fish and Crustacean Larviculture Symposium, Ghent, Belgium.

Lignot, J.-H., C. Spanings-Pierrot, and G. Charmantier. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. Aquaculture **191**:209-245.

Ouellet, P., C. T. Taggart, and K. T. Frank. 1992. Lipid condition and survival in shrimp (*Pandalus borealis*) larvae. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences **49**:368-378.

Palacios, E., I. S. Racotta, H. Heras, Y. Marty, J. Moal, and J.-F. Samain. 2001. Relation between lipid and fatty acid composition of eggs and larval survival in white pacific shrimp (*Penaeus vannamei*, Boone, 1931). Aquaculture International **9**:531-543.

Racotta, I. S., E. Palacios, R. Hernández-Herrera, A. Bonilla, C. I. Pérez-Rostro, and J. L. Ramí. 2004. Criteria for assessing larval and postlarval quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei,* Boone, 1931). Aquaculture **233**:181-195.

Racotta, I. S., E. Palacios, and A .M. Ibarra. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. Aquaculture **227**:107-130.