مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (41) العدد (1) 2019
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (41) No. (1) 2019

Feeding Adults and Larvae of Pearl Oyster *Pinctada radiata* (Leach, 1814) by Using Live Algal Food in Vitro

Dr. Fayez Saker*
Dr. Cathrine Mansour **
Nidal Hassan ***

(Received 28 / 11 / 2018. Accepted 27 / 1 /2019)

□ ABSTRACT □

This research dealt, with the production of live food composed of green monocyte alga *Tetraselmis* sp. which is suitable for growth of adult individuals and larvae of pearl oyster *Pinctada radiata*, and the determination of the appropriate food concentrations for adults and larvae during breeding and hatching in vitro.

The required alga was isolated from marine water in the Afamia Region of the Lattakia Coast, and culture using the medium of solid agar, in addition to the media of nutrient stock F/2 (15 – 30) day before the transfer of adults to the breeding tanks in the laboratory.

The average number of algal cells of *Tetraselmis* sp. ranged between $9.17x10^4$ on the first day of the brood and $100x10^4$ on the day 15, while the highest value was on the day 10 with an average $144.17x10^4$.

The daily ration from the alga cells for one adult was 0.1176 g equivalent to 408 ml from the algal suspension, while the daily feeding volume of the larvae ranged between 21 – 33 ml for 6 L tank.

Key Words: Live Food – *Tetraselmis* sp. – Aquaculture – Pearl Oyster – *Pinctada radiata*.

***Professor - Department of Zoology - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.**
****Assistant Professor - Department of Zoology - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.**
*****Postgraduate Student - Department of Zoology - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria.**

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (41) العدد (1) 2019
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (41) No. (1) 2019

تغذية الأفراد البالغة ويرقات محار اللؤلؤ *Pinctada radiata* (Leach, 1814) باستخدام الغذاء الطّحلبي الحيّ في المختبر

الدكتور فائز صقر*

الدكتورة كاترين منصور**

نضال حسن***

(تاريخ الإيداع 28 / 11 / 2018. قبل للنشر في 27 / 1 / 2019)

□ ملخّص □

تناول هذا البحث إنتاج الغذاء الحيّ المؤلف من الطّحلب الأخضر وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. المناسب لنموّ أفراد ويرقات محار اللؤلؤ *Pinctada radiata*، وتحديد التراكيز المناسبة الواجب إضافتها لكل من الأفراد البالغة واليرقات أثناء التربية والتفريح مخبرياً.

تمّ عزل الطّحلب المطلوب للتغذية من المياه البحرية في منطقة أفاميا من ساحل مدينة اللاذقية، وتنّميته باستخدام وسط الآغار الصلب، بالإضافة إلى مخزون الأملاح المغذّية F/2، قبل (15 – 30) يوم من نقل الأفراد البالغة إلى أحواض التربية في المختبر.

تراوح متوسط عدد الخلايا الطحلبية لـ *Tetraselmis* sp. بين $9.17x10^4$ في اليوم الأول من الحضن و $100x10^4$ في اليوم الخامس عشر، بينما كانت القيمة العليا في اليوم العاشر إذ بلغ المتوسط $144.17x10^4$.

بلغت الوجبة اليومية للفرد البالغ الواحد من الخلايا الطحلبية 0.1176 غ أي ما يعادل 408 مل من المعلّق الطّحلبي، بينما تراوح حجم التغذية اليومي لليرقات بين 21 – 33 مل لحوض سعة 6 ل.

الكلمات المفتاحية: الغذاء الحيّ – *Tetraselmis* sp. – تربية الأحياء المائية – محار اللؤلؤ – *Pinctada radiata*.

* أستاذ – قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

** أستاذ مساعد – قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

*** طالب دراسات عليا (طالب دكتوراه) – قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
nidalmahmoudhassan@tishreen.edu.sy

مقدمة

تعدّ تربية الأحياء المائية إحدى أهم نظم إنتاج الأغذية الأسرع تطوّراً في العالم، ويوجد معظم هذا الإنتاج في البلدان النامية، ومن المتوقع أن تستمر مساهمة تربية الأحياء المائية في الأمن الغذائي والتخفيف من حدة الفقر، وقد سمحت معظم عمليات تربية الأحياء المائية المنتشرة في العالم بتحقيق فوائد غذائية واجتماعية بأضرار بيئية ضئيلة أو معدومة بصورة عامة، وبالتالي لابدّ للجهود الحالية الهادفة لإنجاح تربية الأحياء المائية في المستقبل في البلدان النامية والبلدان المتقدمة، من معالجة المشاكل البيئية والاجتماعية المحتملة لتطوّر تربية الأحياء المائية بصورة مستدامة (FAO, 2003).

تطورت تربية الأحياء المائية (البحرية والعذبة) اقتصادياً وتجارياً (بما فيها محار اللؤلؤ وبلح البحر Mussel) بشكل سريع عالمياً، وهي تشكّل إحدى الطرق الإضافية المهمة جداً من ناحية إنتاج الأغذية في وقت يتناقص فيه المخزون الطبيعي للعديد من الموارد السمكية. وتعرّف تربية الأحياء المائية القائمة على الصيد (CBA: Capture-based Aquaculture) على أنها: ممارسة جمع الكائنات الحية من الطبيعة واستخدامها تحت ظروف التربية، وهي تسهم بشكل كبير في زيادة الإنتاج وتوفير فرص العمل، كما أنها تغطي مجالاً واسعاً من الأنشطة: من جمع اليرقات، واصطياد الصغار والكائنات شبه البالغة من الأنواع السمكية واللافقاريات المرغوبة كزريعة للتربية في الأحواض، إلى اصطياد الكائنات الكبيرة كمخزون للأمهات أو استخدام الأسماك واللافقاريات المصطادة من الطبيعة كغذاء بشكل مباشر (FAO, 2010).

يعد محار اللؤلؤ Pearl oyster من جنس *Pinctada* sp. من أهمّ أنواع ثنائيات المصراع المستزرعة نظراً لأهميته الاقتصادية والتجارية الكبيرة، لذلك تمّ تفريخه وتربيته في العديد من بلدان العالم، فالنوع *P. maxima* يربّى في أستراليا والفلبين وإندونيسيا وماليزيا، والنوع *P. margaritifera* يربّى في المكسيك وجزيرة بولينيزيا الفرنسية French Polynesia والخليج العربي والهند، بينما يربّى النوع *P. fucata* في اليابان والصين (Gervis and Sims, 1992).

يعدّ محار اللؤلؤ *P. radiata* من الأنواع الغريبة والمهاجرة الأولى التي وصلت إلى البحر المتوسط عبر قناة السويس (Galil and Zenetos, 2002)، وقد نجح هذا النوع من ثنائيات المصراع ذي الأصل الهندي – الباسيفيكي Indo-pacific في الانتشار في كل من الحوض الشرقي والغربي للبحر المتوسط كنوع غازٍ حافظ على استمراريته في بيئته الجديدة حتى الآن (Gofas and Zenetos, 2003).

يعتمد محار اللؤلؤ في تغذيته على ترشيح الماء، ويتغذّى بشكل أساس على العوالق النباتية، وتؤدي الغلاصم المزودة بأهداب دقيقة عند الأفراد البالغة وصغار المحار دوراً هاماً في التغذية إلى جانب دورها الأساس في عملية التنفس؛ إذ تجمع الغذاء وتغلفه بمادة مخاطية وتدفعه نحو الفم (Chellam, 1987).

قبل البدء باستزراع أي نوع من المحار أو ثنائيات المصراع بشكل عام، لابدّ من إنتاج الغذاء الحيّ المتمثّل بالطحالب النباتية وحيدات الخلية، لاستخدامها لاحقاً أثناء أقلمة الأمهات ومن ثمّ تربية اليرقات بعد التفريخ.

هناك العديد من الدّراسات العالمية التي تناولت إنتاج الغذاء الحيّ من العوالق النباتية نذكر منها: تنّمية العوالق النباتية واستخدامها في تغذية اللافقاريات البحرية بما فيها ثنائيات المصراع (Guillard, 1975). ودراسة Laing (1981) للعوامل المؤثرة على الإنتاج شبه المستمر للطّحلب الأخضر وحيد الخلية *Tetraselmis suecica*. ودراسة Alagarswami *et al.* (1983) في الهند التي تمّ فيها تفريخ محار اللؤلؤ *P. fucata* وتربية يرقاته مخبرياً مع تغذيتها بالسوطيات النباتية *Isochrysis galbana*. ودراسة Nayar *et al.* (1984) في الهند حول تربية يرقات

المحار *Crassostrea madrasensis* وإنتاج صغاره داخل مفرخ تجريبي مع تغذيتها بخليط من الغذاء الحيّ مؤلف من *Isochrysis galbana* و *Pavlova* sp. ودراسة Wong *et al.* (1986) التي تناولت كيفية التحريض على وضع البيض Spawning، وتربية اليرقات وتطوّر نموها مع تغذيتها بالغذاء الحيّ المؤلف من الطّحالب النباتية وحيدات الخلية للوصول للصغار عند ثنائي المصراع *Anadara granosa* مخبرياً. ودراسة Laing (1990) حول القيمة الغذائية للطّحالب المجففة عند تطبيقه في تغذية يرقات ثنائي المصراع *Tapes philippinarum* . ودراسة Rose and Baker (1994) حول تربية صغار محار اللؤلؤ الفضي *P. maxima* ومقدار المعلّق الطّحلبي Algal suspensionالواجب تقديمه أثناء تربية يرقاته وصغاره في أستراليا. كما تمّت دراسة العلاقة بين مستوى الغذاء والنشاط التكاثري عند *P. margaritifera*؛ إذ استخدم خليط من الطّحالب الدقيقة Microalgae (*Isochrysis galbana* & *Chaetoceros gracilis*) بثلاث تراكيز مختلفة 0.5, 7, 18 خلية/ ليتر، وكانت أفضل النتائج عند التركيز 18 خلية/ ليتر؛ إذ إنّ انقسام الخلايا المنشئة أثناء تشكّل الأعراس مرتبط بكمّية الغذاء وتركيزه المناسب (Le Moulaca *et al.*, 2013).

كما نشرت منظمة الغذاء والزراعة العالمية FAO عدّة كتب ودراسات حول تربية الأحياء المائية واستزراعها تضمّنت إنتاج للغذاء الحيّ أعدّها مجموعة من الباحثين في عدد من المعاهد والمراكز البحثية من حول العالم منها: الدليل التدريبي حول استزراع محار اللؤلؤ وتربية يرقاته (FAO, 1991)، والدليل حول كيفية إنتاج واستخدام الغذاء الحيّ في عمليات الاستزراع والتربية للأحياء المائية بما فيها الرخويات ومن ضمنها ثنائيات المصراع (FAO, 1996)، والدليل العملي لتفريخ ثنائيات المصراع مخبرياً (التفريخ الصناعي) (FAO, 2007).

أهمية البحث وأهدافه

تتجلى أهمية البحث في كونه يتناول إنتاج الغذاء الحيّ Live Food Production الذي يتألف من العوالق النباتية المناسبة واللازمة لنمو أفراد ويرقات محار اللؤلؤ *P. radiata*، بالإضافة إلى تحضير الوسط المغذّي الخاص بالطّحالب البحرية F/2، فهو يقدّم الخطوات الضرورية الواجب تنفيذها قبل البدء بتفريخ المحار وتربية يرقاته وصغاره.

يهدف هذا البحث إلى:

1. تحضير مخزون الأملاح المغذية Nutrient Stock أو الوسط المغذّي الخاص بالطّحالب البحرية (F/2: Medium for Marine Algae).
2. عزل الطّحلب الأخضر وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. وتنّميته وإكثاره ضمن الوسط المغذّي السائل F/2.
3. تقدير الوجبة اليومية من الخلايا الطّحلبية الواجب إضافتها لكل فرد بالغ واحد ضمن حوض التربية.
4. تقدير حجم التغذّي اليومي من الخلايا الطّحلبية الواجب إضافته لليرقات ضمن حوض سعة 6 لتر.

طرائق البحث ومواده

جمعت العينات المائية من منطقة أفاميا من ساحل اللاذقية، ومن ثمّ تمّ نقلها إلى مختبر الدّراسات العليا (الدكتوراه) في قسم علم الحياة الحيوانية في كلية العلوم – جامعة تشرين.

1. تحضير الأملاح المغذّية

تمّ تحضير مخزون الأملاح المغذية Nutrient Stock أو الوسط المغذّي الخاص بالطحالب البحرية على النحو الآتي (Guillard, 1975):

أولاً: تحضير مخزون المحاليل المركّزة Stock Solutions الأولى الشكل (1)، والتي لا يتمّ تعقيمها بجهاز الأوتوغلاف حتى لا تفقد خواصّها على النحو الآتي:

1. محلول نترات الصوديوم $NaNO_3$: إذابة 75 غ في 1 ل ماء مقطّر.
2. محلول فوسفات الصوديوم الثنائية المائية $NaH_2PO_4.H_2O$: إذابة 5 غ في 1 ل ماء مقطّر.
3. محلول سيليكات الصوديوم المائية $Na_2SIO_{3.9}H_2O$: إذابة 30 غ في 1 ل ماء مقطّر.
4. محلول الفيتامينات: إذابة 1 ملغ من فيتامين البيوتين B_7 + 1 ملغ من فيتامين B_{12} + 20 ملغ من فيتامين الثيامين B_1 في 1 ل ماء مقطّر.

ثانياً: تحضير مخزون المحاليل المركّزة الثانية الشكل (1)، والتي يتمّ تعقيمها بجهاز الأوتوغلاف لمدّة 15 دقيقة على النحو الآتي:

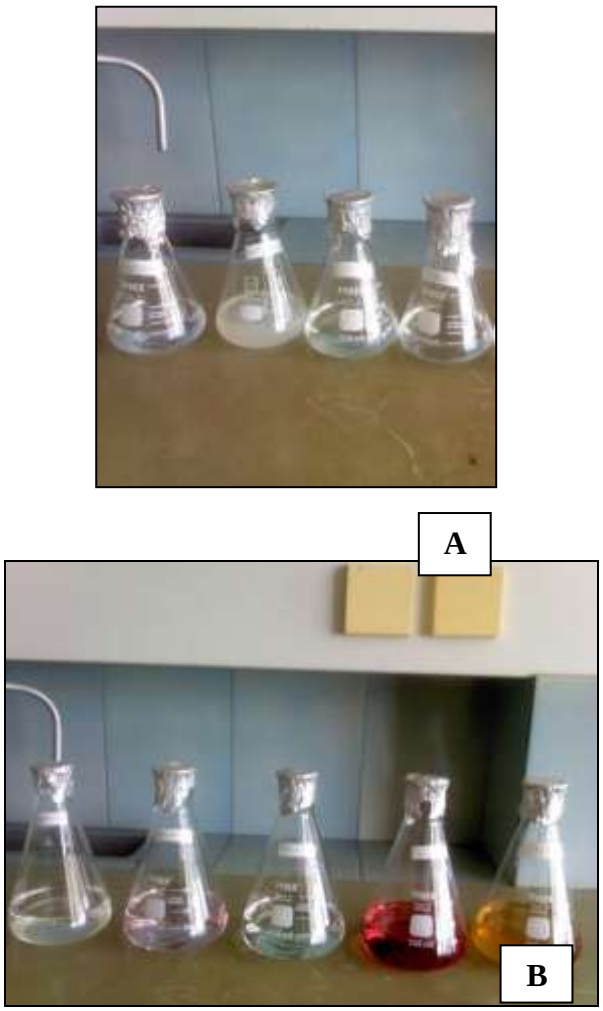
1. محلول كبريتات النحاس المائية $CuSO_{4.5}H_2O$: إذابة 0,98 غ في 100 مل ماء مقطّر.
2. كبريتات الزنك المائية $ZnSO_{4.7}H_2O$: إذابة 2,2 غ في 100 مل ماء مقطّر.
3. كلوريد الكوبالت المائية $CoCl_{2.6}H_2O$: إذابة 1 غ في 100 مل ماء مقطّر.
4. كبريتات المنغنيز المائية $MnCl_{2.4}H_2O$: إذابة 18 غ في 100 مل ماء مقطّر.
5. موليبيدات الصوديوم المائية $NaMoO_{4.2}H_2O$: إذابة 0,63 غ في 100 مل ماء مقطّر.

ثالثاً: تحضير محلول العناصر النزرة EDT-Trace Metals والتي يتمّ تعقيمها بجهاز الأوتوغلاف لمدّة 15 دقيقة على النحو الآتي:

1. يذاب في 900 مل ماء مقطّر كل من:
   - 3.5 غ من كلوريد الحديديك المائي $FeCl_{3.5}H_2O$.
   - 4.36 غ من إدتا– الصوديوم Na_2EDTA.
2. يضاف إليها 1 مل من مخزون المحاليل المركّزة الثانية.
3. يكمّل المحلول إلى 1 ل بإضافة الماء المقطّر.

رابعاً: تحضير الوسط المغذّي F/2 على النحو الآتي:

1. يؤخذ 1 مل من مخزون المحاليل المركّزة الأولى، والعناصر النزرة EDT-Trace Metals.
2. يضاف إليها 0,5 مل من محلول الفيتامينات.
3. يكمّل المحلول إلى 1 ل بإضافة المياه البحرية المعقمة (تعقّم المياه البحرية باستخدام جهاز الأوتوغلاف، ويتمّ تعديل ملوحتها حتى 30-35 ‰ بإضافة الماء المقطّر وذلك ضمن غرفة عزل معقمة ومزودة بالأشعة فوق البنفسجية UV).



الشكل (1): مخزون المحاليل المركّزة الأولى (A)، مخزون المحاليل المركّزة الثانية (B).

2. عزل العوالق النباتية وتنّميتها

تمّ عزل العوالق النباتية وتنّميتها بطريقة طبق (صفيحة) الآغار Agar Plate Method قبل (15 - 30) يوم من نقل الأفراد البالغة من المحار إلى أحواض التربية وفق الخطوات الآتية (Laing and Ayala, 1987):

1. تمّ إضافة 1.5 غ من الآغار إلى 100 مل مياه بحرية مرّشحة، وتحتوي على مخزون المحاليل المغذّية للطحالب البحرية (الوسط المغذّي F/2).
2. تمّ مزج الآغار على خلاّط مغناطيسي، وتحت درجة حرارة 40 م°، ولمدة 10 دقائق حتى أصبح المحلول رائقاً.
3. تمّ تعقيم المحلول الناتج لمدة 20 دقيقة في جهاز الأوتوغلاف وعلى ضغط جوي 1.5 ودرجة حرارة 120 م°.
4. تمّ صب المحلول في أطباق بتري ضمن غرفة العزل المعقمة، ثمّ تركت لتبرد بدرجة حرارة الغرفة، وتصبح جاهزة للاستخدام.
5. تمّ وضع عدة نقاط من مياه بحرية مخففة على سطح الآغار ضمن الطبق.
6. تمّ حضن الأطباق لفترة تتراوح من 7 - 15 يوماً تحت شروط محددة من الحرارة (20-25) درجة مئوية، والإضاءة (2.5 – 5) آلاف شمعة أو لوكس Lux، حتى تنمو مستعمرات الطحالب وحيدات الخلية.

7. تمّ عزل مستعمرات الطحالب وحيدات الخلية المطلوبة (بعد فحصها تحت المجهر) بوساطة إبرة التعقيم، لتنقل بعدها إلى أنابيب اختبار 5 مل معقمة تحتوي مياهاً بحرية معقمة مضافاً إليها الوسط المغذّي نفسه F/2.

3. تقدير غزارة العوالق النباتية والوجبة اليومية لمحار اللؤلؤ ويرقاته

تمّ باستخدام حجرة تعداد الكريات الدموية الحمراء Haemocytometers؛ إذ تظهر تحت المجهر وفي منتصف كل حجرة مربع كبير مقسّم إلى 25 مربع، وكل مربع من الـ 25 مقسّم بدوره إلى 16 مربع أصغر (أبعاده: 0.2 ملم للطول x 0.2 ملم للعرض x 0.1 ملم للارتفاع = 0.004 ملم^3) الشكل (2).

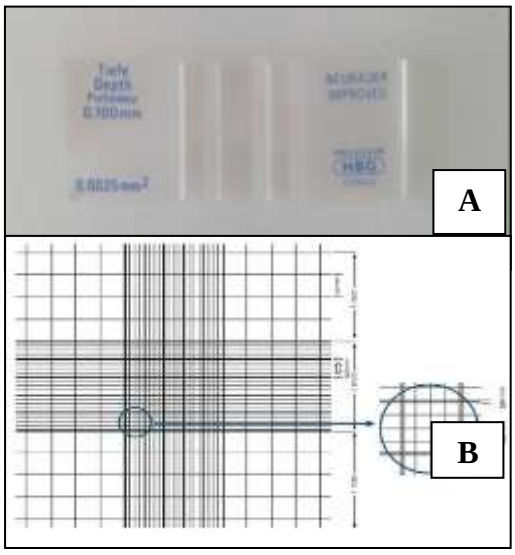
تمّ تقدير الغزارة بأخذ 10 مل من محلول العوالق النباتية بعد تثبيتها بقطرة من الفورم ألدهيد 10%، بعدها وضعت قطرة من المحلول في حجرة التعداد، وتمّ عد الخلايا الطحلبية في عشر مربعات اختيرت بشكل عشوائي، وكرّرت عملية العد ثلاث مرات وأخذ المتوسط (Laing and Ayala, 1987; Griffith *et al*., 1973).

تمّ تحديد الوجبة اليومية Daily ration من العوالق النباتية للفرد البالغ مقدّرة بالغرام بالاعتماد على الوزن، وهي عادة ما تتراوح بين 2 و 4 % من متوسط وزن الكتلة الحشوية للفرد البالغ، وتحسب من العلاقة الآتية

الوجبة اليومية = 3 x متوسط وزن الكتلة الحشوية / 100

تمّ تحديد الوجبة اليومية أو حجم التغذية من العوالق النباتية لليرقات مقدّرة بالميليلتر وفق العلاقة الآتية:

حجم التغذية= (كثافة الخلايا المطلوبة مقدّرة بالميكروليتر/ كثافة الخلايا المستزرعة مقدّرة بالميكروليتر) x حجم الحوض مقدّراً باللتر (Webb and Chu, 1983; Utting and Spencer, 1991).



الشكل (2): حجرة تعداد الكريات الدموية الحمراء Haemocytometers (A)، (B) رسم تخطيطي للأقسام الخطية على الحجرة (Laing, 1990).

النتائج والمناقشة:

أولاً_ النتائج:

1. تحديد الطّحلب وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. وعزله

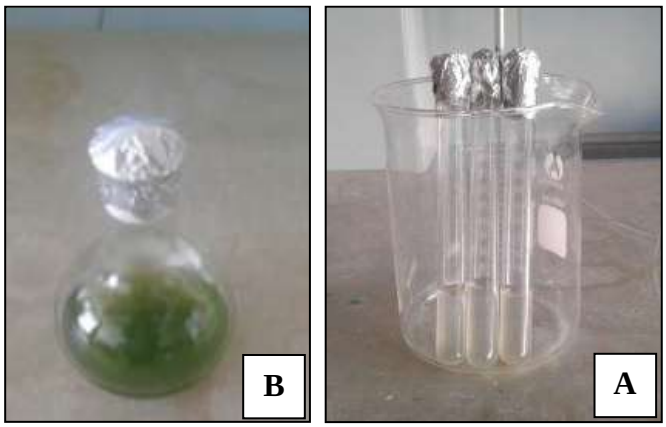
بعد تنّمية العوالق النباتية على أطباق البتري، لوحظ وجود عدد من المستعمرات بألوان مختلفة، وبما أنّ لون الطّحلب المطلوب هو الأخضر لذلك تمّت دراسة المستعمرات باللّون الأخضر فقط بعد 10 أيام؛ بأخذ مسحة بوساطة إبرة

التعقيم وعزل .*Tetraselmis* sp بعد التأكد منه بالفحص المجهري؛ إذ يتميّز بشكل بيضوي مع وجود أربعة أهداب في المنتصف.

الشكل (3): مستعمرة نقية للطحلب وحيد الخلية المعزول .*Tetraselmis* sp ضمن طبق البتري.

أخذت مسحة من المستعمرة المطلوبة وأعيدت تنّميتها على عدّة أطباق وإعادتها إلى الحاضنة، وكرّرت العملية حتى تمّ الحصول على مستعمرات نقية للنوع المطلوب فقط الشكل (3)، بعدها تمّ أخذ مسحة ووضعت في أنبوب اختبار يحتوي 5 مل ماء بحري معقّم مضافاً إليه الوسط المغذّي F/2، ثمّ نقلت إلى الحاضنة لمدّة أربعة أيام حتى أصبح لون الماء أخضراً داكناً؛ وهذا دليل على نمو الخلايا الطحلبية ووصولها إلى كثافة عالية، وتفسّر هذه المدّة الزمنية بأن انقسام الخلايا يتأثر بتغيّر بظروف التنّمية المتمثّلة بالانتقال من الوسط الصّلب (الآغار ضمن طبق بتري) إلى الوسط السّائل (F/2 ضمن أنبوب الاختبار).

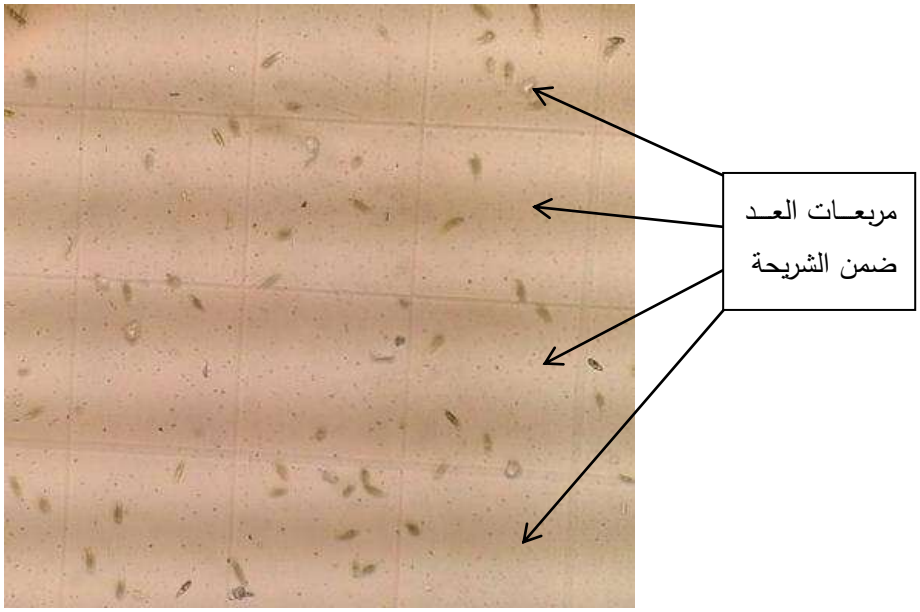
نقلت بعد ذلك إلى حوجلة سعة 100 مل واستغرقت ثلاثة أيام لتنمو الخلايا الطحلبية ويظهر اللون الأخضر الداكن الشكل (4)، ثم حوجلة سعة 2 ل لتستغرق الخلايا الطحلبية عشرة أيام لتصل إلى أعلى غزارة أو كثافة.



الشكل (4) أنابيب الاختبار (A)، والحوجلة سعة 100 ل (B)
المستخدمة في تنّمية .*Tetraselmis* sp.

2. تقدير غزارة الطحلب وحيد الخلية .*Tetraselmis* sp

تم تقدير غزارة أو عدد الخلايا الطحلبية لـ .*Tetraselmis* sp ضمن عشرة مربعات اختيرت عشوائياً ضمن حجرة التعداد المستخدمة Haemocytometers الشكل (5).



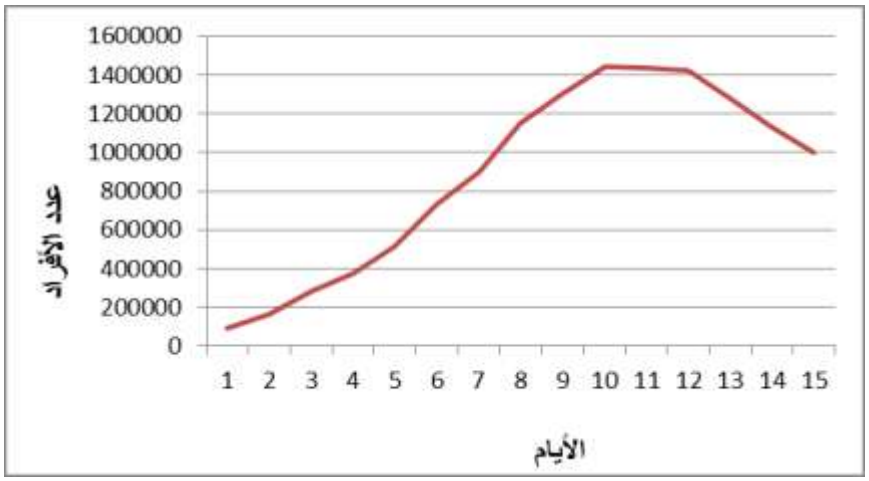
الشكل (5): تقدير غزارة الطحلب وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. ضمن حجرة تعداد الكريات الدموية الحمراء Haemocytometers.

تراوح متوسّط عدد الأفراد في الحوجلة سعة 2 لتر بين $9.17x10^4$ في اليوم الأول من الحضن و $100x10^4$ في اليوم الخامس عشر، بينما كانت القيمة العليا في اليوم العاشر؛ إذ بلغ متوسّط الغزارة $144.17x10^4$ الجدول (1).

الجدول (1) متوسطات أعداد أفراد الطحلب *Tetraselmis* sp. خلال فترة الحضن.

اليوم	متوسط الغزارة ($x\ 10^4$)
1	9.17
2	16.67
3	28.33
4	37.5
5	51.67
6	73.33
7	90
8	115
9	130
10	144.17
11	143.33
12	142.5
13	127.5
14	113.33
15	100

يبيّن المخطط البياني الشكل (6) النّمو الأسّي Exponential المستمر حتى اليوم العاشر حين كانت ذروة الغزارة، يليه مرحلة من الثبات Stationary والتي استمرت حتى اليوم الثاني عشر، ثمّ مرحلة التراجع التي تميّزت بانخفاض الكثافة.



الشكل (6): مخطط بياني لمتوسطات أعداد أفراد *Tetraselmis* sp. خلال فترة الحضن.

3. تقدير الوجبة اليومية من الطحلب وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. للفرد البالغ

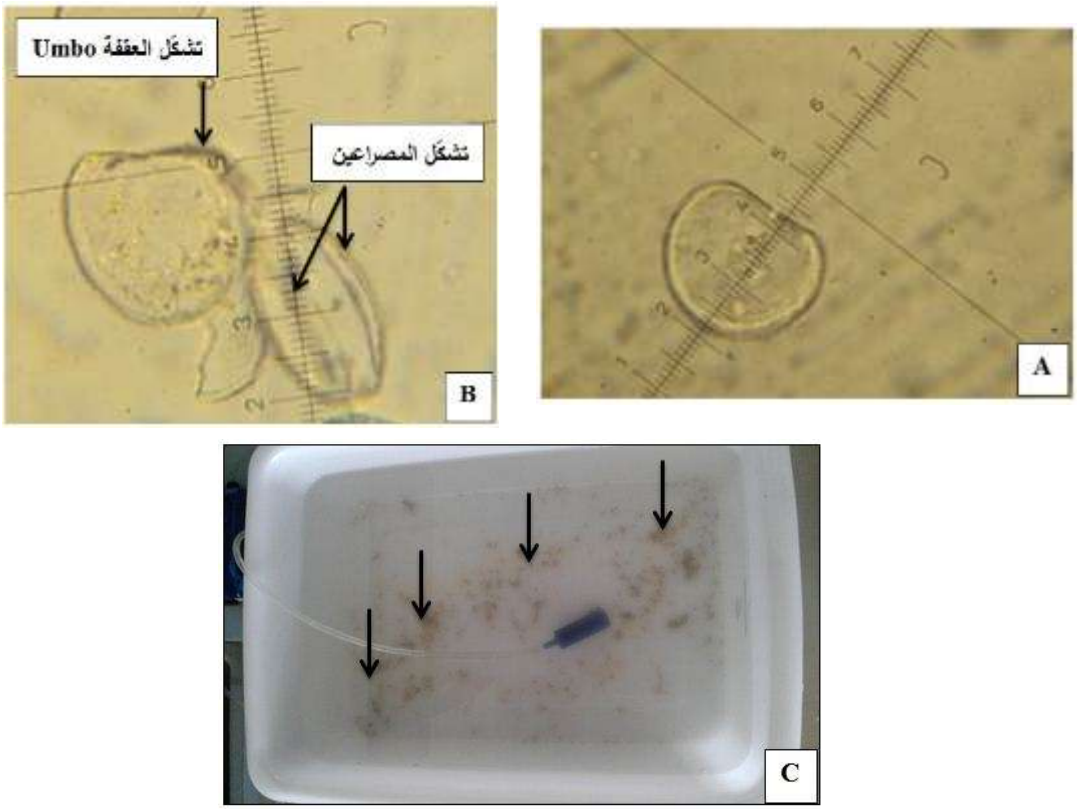
تمّ تحديد وزن الكتلة الحشوية لـ 10 أفراد بالغة، ثمّ حسب المتوسط ليبلغ 3.9198 غ، أمّا الوجبة اليومية لفرد بالغ واحد من الخلايا الطحلبية فبلغت 0.1176 غ الجدول (2). وبما أنّ وزن كل مليون خلية من الـ *Tetraselmis* sp. يبلغ 0.2 ملغ (Griffith *et al*., 1973) فقد قدّرت الوجبة بالـ مل وبلغت 408.

الجدول (2) متوسط وزن الكتلة الحشوية لـ 10 أفراد بالغة، والوجبة اليومية للفرد البالغ.

العدد	ارتفاع الصدفة SH/ملم	وزن الكتلة الحشوية WLW/غ
1	51.3	6.7449
2	49.9	5.9598
3	47.6	4.5362
4	46.1	4.1113
5	45.3	4.1634
6	44.9	3.6885
7	44.7	3.4727
8	42.9	2.5670
9	41.2	2.0766
10	40.7	1.8777
المتوسط		3.9198
الوجبة اليومية للفرد الواحد		3 x 3.9198 / 100 = 0.1176

4. تقدير حجم التغذية اليومي لليرقات

تمّ البدء بتغذية اليرقات ابتداءاً من مرحلة اليرقة المبرقعة أو المقنّعة Veliger أو اليرقة D بمعدّل 5000 خلية طحلبية/ يرقة (Muthiah *et al*., 2002) أيّ ما يعادل21 مل من معلّق الطّحلب وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. لكامل حوض التربية سعة 6 لتر. أمّا المرحلتين التاليتين وهما: مرحلة تشكّل العقفة Umbo ومن ثمّ مرحلة الصغار Spat وتشكّل المصراعين، والتي تستقر وتتجمّع في قاع الحوض الشكل (7)، فقد تمّت التغذية بمعدّل 8000 خلية طحلبية/ يرقة أيّ ما يعادل33 مل لكامل الحوض.



الشكل (7): مرحلة اليرقة D أو اليرقة المبرقعة (A)، مرحلة تشكّل العقفة Umbo بالإضافة لمرحلة الصغار مع المصراعين (B)، حوض تربية اليرقات سعة 6 ل حيث تشير الأسهم إلى تجمعات الصغار وتثبتها على القاع (C).

ثانياً_ المناقشة:

يتمّ اللجوء إلى تنّمية الطّحالب الدقيقة Microalgae أثناء تربية الأحياء المائية بما فيها ثنائيات المصراع، لأنّ المحتوى الطبيعي لمياه البحر من العوالق النباتية Phytoplankton يكون غير كافي لنموّ اليرقات والصغار بالكثافات المطلوبة، بالإضافة إلى أنّ المعالجات المطبّقة على المياه سوف تقضي على معظم العوالق النباتية الطبيعية، الأمر الذي يجب تعويضه بأنواع مستنّبتة ذات قيمة غذائية جيّدة (Laing, 1990; Utting and Spencer, 1991;) O'Foighil *et al*., 1990.

يحفظ مخزون تنّمية العوالق النباتية Stock cultures بحجم 250 مل أو أقل تحت إضاءة ودرجة حرارة منخفضة تتراوح بين 4 - 12 م°، لتستخدم في التنّمية على النطاق الصغير أو البدئي، وهي لا تحتاج إلى التهوية ولا إلى إضافة ثنائي أوكسيد الكربون (Laing and Ayala, 1987; Stein, 1973)، وقد تمّ في هذا البحث حفظ المخزون في حوجلات زجاجية سعة 100 مل في نفس الشروط السابقة.

تحضن العوالق النباتية ضمن التنّمية البدئية Starter culture (بحجم من 250 مل إلى 4 لترات) من 7 إلى 14 يوم في درجات حرارة مرتفعة تتراوح بين 18 - 22 م° تحت إضاءة قوية مع التهوية الجيّدة، ليستخدم جزء صغير منها في عملية تنّمية بدئية جديدة. أمّا الجزء الأساسي منها فيستخدم لبدء التنّمية على نطاق متوسط Intermediate-scale culture (بحجم من 4 إلى 20 لتر)، ويجري استخدام العوالق النباتية عند ذلك في تغذية الأفراد واليرقات في المفرخات المتوسطة والكبيرة نوعاً ما، أو لبدء التنّمية على نطاق كبير Large-scale culture حيث تكون السعة أكبر من 50 لتر (Laing and Jones, 1983; Stein, 1973). أمّا في هذا البحث فقد أجريت التنّمية على نطاق صغير أو تنّمية

بدئية لأنّ ذلك كان كافياً لتأمين التراكيز المناسبة من الـ *Tetraselmis* sp. ضمن المختبر (وليس مفرخ) والمتمثّلة بالوجبة 408 مل/محار بالغ/يوم، بالإضافة إلى حجم تغذية اليرقات الذي تراوح بين 21 - 33 مل حوض/يوم.

بلغت غزارة الخلايا الطّحلبية في اليوم الأول من التنّمية البدئية بين 25 – 50 خلية/مل عند النقل من الوسط الصّلب (الآغار) إلى الوسط السّائل (F/2) في أنابيب الاختبار. وتنقسم وتنموّ هذه الخلايا بعد ذلك بوتيرة تتناسب مع سرعة تأقلمها مع ظروف التنّمية، وقد تمتّد فترة التأقلم هذه من يومين إلى ثلاثة أيام، وتسمى مرحلة البداية أو التأخر Lag or Starting phase. وعند النقل إلى حوجلات زجاجية بسعات أكبر وتوفّر ظروف التنّمية المناسبة من درجة الحرارة، والإضاءة، والأملاح المغذّية، فإنّ معدّل انقسام الخلية يزداد بسرعة وبالتالي تزداد الغزارة، هذه الزيادة في عدد الخلايا الطحلبية تكون أسية لا خطية، وتسمى المرحلة بالنموّ الأسّي Exponential phase. ويلي ذلك مرحلة الاستقرار Stationary phase التي تتميّز بتراكيز وغزارة ثابتة تقريباً من الخلايا الطّحلبية نتيجة الانقسام البطيء نسبياً، وتستمر لفترة زمنية قد تكون قصيرة أو طويلة (حسب نوع العوالق النباتية المستنّبتة) وتتعلّق بدرجة الحرارة، ووصول الإضاءة الكافية والمناسبة، وكميات الأملاح المغذّية، وتركيز ثنائي أوكسيد الكربون، ودرجة الحموضة pH، والمواد السامة التي قد تنتجها بعض الطحالب وحيدات الخلية. عندما يصبح هناك ضعف في نفاذية الضوء، أو انخفاض في كميات الأملاح المغذّية، أو تغيّر في مواصفات المياه، فإنّ معدّل انقسام الخلية يصبح بطيئاً جداً، وتبدأ الخلايا بالموت؛ وتنخفض الغزارة وتتراجع، وتسمى هذه المرحلة بالتراجع أو الموت Death phase (Laing and Psimopoulous, 1998; Laing and Millican, 1986). وقد توافق كل ذلك مع نتائج هذا البحث.

يتم حصاد Harvest الطّحلب وحيد الخلية *Tetraselmis* sp. في التنّمية الكمية Batch culture عند غزارة 2000 خلية لكل ميكرولتر (2×10^6 لكل مل)، وفي التنّمية الشبه مستمرة Semi-Continuous culture عند حوالي 1500 خلية لكل ميكرولتر (1.5×10^6 لكل مل). وقد توافق ذلك مع نتائج هذا البحث، ويمكن زيادة هذه الغزارة ولكن إلى حد معيّن، وذلك بزيادة قوة الإضاءة الصناعية المطبّقة، وضبط الـ pH بحيث تتراوح بين 7.5 إلى 8.2، والتحكم في ثنائي أكسيد الكربون المضاف، وإضافة أملاح مغذّية أخرى تزيد من كفاءة الاستنبات والتنّمية (Trotta, 1981; Webb and Chu, 1983; Laing and Helm, 1981).

الاستنتاجات والتوصيات:

1. تراوح متوسّط عدد أفراد *Tetraselmis* sp. بين 9.17×10^4 في اليوم الأول من الحضن و 100×10^4 في اليوم الخامس عشر.
2. بلغ متوسّط عدد أفراد *Tetraselmis* sp. القيمة العليا له 144.17×10^4 في اليوم العاشر من الحضن.
3. تبلغ الوجبة اليومية للفرد الواحد والبالغ لمحار اللؤلؤ 0.1176 غ من الخلايا الطّحلبية *Tetraselmis* sp.، أي ما يعادل 408 مل.
4. بلغ حجم التغذّي اليومي لليرقات D في حوض تربية سعة 6 لتر 21 مل من المحلول الطّحلبي، بينما بلغ 33 مل لكل من مرحلة تشكّل العقفة ومرحلة الصغار.
5. نوصي بعزل وتنّمية أنواع أخرى من العوالق النباتية الضرورية واللازمة لتربية أفراد ويرقات أنواع أخرى مهمّة اقتصادياً من ثنائيات المصراع.

6. نوصي بإنتاج الغذاء الحيّ على نطاق متوسط وكبير وبشكل مستدام، وذلك لإنجاح تربية الأحياء المائية بما فيها ثنائيات المصراع والحفاظ على اليرقات والصغار.

المراجع:

1. ALAGARSWAMI, K.; DHARMARAJ, S.; VELAYUDHAN, T. S.; CHELLAM, A.; VICTOR, A.C.C. and GANDHI, A. D. *Larval rearing and production of spat of pearl oyster Pinctada fucata (Gould).* Aquaculture, N^{o}. 34, 1983, 287—301.

2. CHELLAM, A. *Biology of pearl oyster*. *C.M.F.R.I. Bull*., N^{o}. 39, 1987, 13-20.

3. FAO. *Training Manual on Pearl Oyster Farming and Pearl Culture*. FAO Fisheries Circular, Central Marine Fisheries Research Institute at Tuticorin, India, Regional Sea farming Development and Demonstration Project (RAS/90/002), 1991, 64.

4. FAO. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper, No. 361, Rome, 1996, 295.

5. FAO. *Review of the state of world aquaculture*. FAO Fisheries Circular, No. 886, Rev. 2, Rome, 2003, 95.

6. FAO. *Hatchery culture of bivalves. A practical manual*. FAO Fisheries Department, Rome, 2007, 175.

7. FAO. *Aquaculture development*. 4. Ecosystem approach to aquaculture. No. 5, Suppl. 4, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2010, 65.

8. GALIL, B.S. and ZENETOS. A. A sea change: Exotics in the eastern Mediterranean Sea. In: Leppäkoski E, Gollasch S, Olenin S, editors. *Invasive Aquatic Species of Europe. Distribution, Impacts and Management*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2002, 325–336.

9. GERVIS, M.H.; SIMS, N.A. *The Biology and Culture of Pearl Oysters (Bivalvia: Pteriidae).* ICLARM Stud , Rev., N^{o}. 21, 1992, 49.

10. GOFAS, S. and ZENETOS, A. *Exotic mollusks in the Mediterranean basin, current status and perspectives*. Oceanography and Marine Biology, Vol. 41, 2003, 237–277.

11. GRIFFITH, G.W.; MURPHY KENSLOW, M.A. and ROSE, L.A. *A mass culture method for Tetraselmis sp. – a promising food for larval crustaceans*. In: J. W. Avault. Jr. (ed) Proceedings of the 4th Annual Workshop of the World Mariculture Society. Louisiana State University, Baton Rouge, 1973, 289–294.

12. GUILLARD, R.L. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. In: P.B. Smith (ed) Culture of Marine Invertebrates. Plenum Press, New York, 1975, 29–60.

13. LAING, I. and HELM, M.M. *Factors affecting the semi-continuous production of Tetraselmis suecica (Kylin) Butch. in 200 l vessels*. Aquaculture, N°. 22, 1981, 137–148.

14. LAING, I. and JONES, E. *Large scale turbidostat culture of marine microalgae*. Aquacultural Engineering, N°. 2, 1983, 203–212.

15. LAING, I. and MILLICAN, P. F. *Relative growth and growth efficiency of Ostrea edulis L. spat fed various algal diets*. Aquaculture, N°. 54, 1986, 245–262.

16. LAING, I. and AYALA, F. *Commercial mass culture techniques for producing microalgae*. 1987, 447–477. In: Akatsuka (ed) Introduction to Applied Phycology. Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.

17. LAING, I. *Nutritional value of dried algae diets for larvae of Manila clam, Tapes philippinarum*. J. Mar. Biol. Assoc., UK, N°. 70, 1990, 1–12.

18. LAING, I. and PSIMOPOULOUS, A. *Hatchery culture of king scallop (Pecten maximus) spat with cultured and bloomed algal diets*. Aquaculture, N°. 169, 1998, 55–68.

19. LE MOULLACA, G.; SOYEZA, G.; SHAM-KOUAA, M.; LEVYA, P.; MORICEAUA, J.; VONAUA, V.; MAIHOTAA, M. and COCHARDB, J. *Feeding the pearl oyster Pinctada margaritifera during reproductive Conditioning*. Aquaculture Research, Vol. 44, N°. 3, 2013, 404–411.

20. MUTHIAH, P.; RODRIGO, J.X.; SUJA, N. *Larval rearing and spat production of Marcia opima (Gmelin).* Aquaculture, 211, 2002, 393–401.

21. NAYAR NAGAPPAN, K.; RAJAPANDIAN, M.E.; GANDHI, A,D. and GOPINATHAN, C.P. *Larval rearing and production of spat of the oyster, Crassostrea madrasensis (Preston) in an experimental hatchery*. Indian J. Fish., N°. 31, 1984, 233-243.

22. O'FOIGHIL, D. ; KINGZETT, B. ; O'FOIGHIL, G. O. and BOURNE, N. Growth and survival of juveniles scallops, *Pateinopecten yessoensis*, in nursery culture. J. Shellfish Res. 9 (1), 1990, 135–144.

23. ROSE, A.R. and BAKER, B.S. *Larval and spat culture of the Western Australian silver- or gold lip pearl oyster, Pinctada maxima Jameson (Mollusca: Pteriidae).* Elsevier Science B.V, Vol. 126, Issues 1‑2, 1994, 35-50 .

24. STEIN, J. R. *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, Cambridge, England, 1973, 448.

25. TROTTA, P. *A simple and inexpensive system for continuous monoxenic mass culture of marine microalgae*. Aquaculture, N°. 22, 1981, 383–387.

26. UTTING, S. D. and SPENCER, B. E. *The hatchery culture of bivalve mollusc larvae and juveniles*. Lab. Leafl., MAFF Fish. Res., Lowestoft, N^{o}. 68, 1991, 31.

27. WEBB, K. L. and CHU, F. L. E. *Phytoplankton as a source of food for bivalve larvae*. In: (eds: Pruder, G.D., Langdon, C. & Conklin, D.) Proceedings of the 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition, October 1981, Rehoboth Beach, Delaware. Louisiana State University Press, Baton Rouge, 1983, 272–291.

28. WONG, T.H.; LIM, T.G. and RAI, H.S. *Induced spawning, larval development and juvenile growth of Anadara granosa (L) in the laboratory*. In: Proceedings of the workshop on the biology of *Anadara granosa* in Malaysia, Jan. 22-23, Penang, Malaysia, 1986, 10.