

تولید افی پیوم دافنی

بهرنگ دانشخواه^{*}، محمد سوداگر^۱

*Behrang.dn@gmail.com

۱- گروه آبی پروری، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۹

چکیده

روش پرورش جدید و مناسب برای القای تولید مثل غیر جنسی یا جنسی (افی پیوم) دافنی ماگنا در آزمایشگاه شرح داده شده است. خشک کردن و دهیدراته کردن باعث تولید افی پیومی با هچ سریع می شود، در مطالعه حاضر همچنین اثر بسیاری از پارامترهای مختلف مانند آفت کش ها، دوره های نوری و شدت نور، رسوبات، میزان اکسیژن محیطی، دوره تاریکی و اشعه ماوراء بنفش و اثر دما بر احیاء افی پیوم دافنی مرور شد. در تحقیق حاضر نشان داده شد. پیش نیاز یافتن شرایط اپتیموم و بالاترین نرخ بازگشایی تخم و به دست آوردن تکنیک پرورش بهینه نیاز را به استفاده بیش تر از مطالعات حاضر دارد. ولی به طور کلی، در روش بهینه آزمایشگاهی، تخم های خفته کلا دوسرا ها نیاز به دوره تاریکی حدود ۲ هفته ای (در گونه های مختلف متفاوت می باشد) و سپس خشک کردن و سپس برای احیاء آن شرایط نوری و اکسیژنی و عاری از سموم علف کش دارد.

کلمات کلیدی: افی پیوم، دافنی، تولید انبوه، احیای سریع

مقدمه

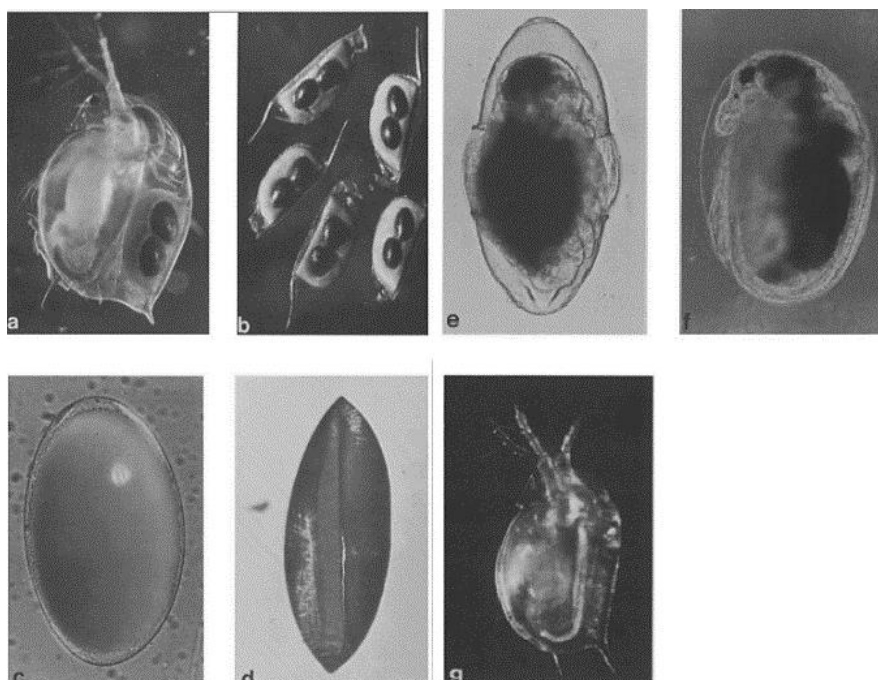
دافنی زئوپلانکتون آب شیرین است که اکثراً در آب جاری مشاهده می‌شوند. گونه‌های دافنی دارای اجزای سازنده جنسی غیر جنسی یا چرخه‌ای هستند. *D. magna* یک بکرزای با زندگی چرخه‌ای است که تحت شرایط مساعد محیطی به صورت کلونال تولید مثل می‌کند. هنگامی که شرایط محیطی نامساعد می‌شود، تولید جنس نر اتفاق می‌افتد و ترکیب مجدد جنسی منجر به تشکیل تخمک‌های بارور می‌شود که به یک حالت خواب محافظت شده از محیط به وسیله یک لایه کیتینی به نام «افی پیوم» وارد می‌شوند. با بازگشت شرایط مساعد محیطی، بخشی از این تخم‌های خاموش خارج می‌شوند. تخم‌های خفته نتیجه نوترکیبی جنسی هستند و از اینرو اهمیت دارند. همچنین می‌توان آنها را از طریق تولید مثل کلون در آزمایشگاه حفظ کرد (سوداگر و زادمجید، ۱۳۸۸). همچنین دافنی به عنوان یکی از ارگانسیم‌های آزمایش استاندارد برای نشان دادن اثر احتمالی مواد شیمیایی در مباحث سیستم‌های آبی می‌باشد. برای مثال، هنگام ثبت سموم دفع آفات در ایالات متحده، سازمان حفاظت از محیط زیست/ سازمان حفاظت محیط زیست/ نتایج آزمایش‌های حاصله را در مورد سمیت آنها برای دافنی درخواست می‌کند. اگرچه داده‌های سمیت دافنی در مورد بسیاری از انواع ماده شیمیایی در دسترس هستند (Yung, 1975). آزمایش‌های سمیت بیشتر در فرم شنای آزاد انجام شده است (Parker et al., 1970; Adema, 1978) که از نظر پرورش نسبتاً آسان است. با این حال افی پیوم (تخم‌های در حال استراحت) از اهمیت اولیه به بقاء طولانی مدت دافنی‌ها هستند و به منظور تسهیل آزمایش بر این فرم در مقاله حاضر تکنیکی جهت تولید افی پیوم شامل خشک کردن و دهیتراته کردن توسعه داده شده، این تکنیک همچنین فرصتی جدید برای مطالعه بیولوژی آنها فراهم می‌کند. برای مثال، اهمیت افی پیوم به عنوان منبع مواد ژنتیکی برای تقویت کلنی دافنی شنای آزاد، این امکان را برای محققان فراهم می‌کند که شکل اپی فایای سویه‌های مختلف دافنی تولید شود.

تولید مثل دافنی ماگنا تحت شرایط آزمایشگاهی

در شرایط مطلوب، دافنی تولید مثل غیر جنسی انجام داده اما تحت تنش نظیر کمبود مواد غذایی کافی نر زایی ظاهر شده و جفت‌گیری اتفاق می‌افتد و به دنبال آن افی پیوم تولید می‌شود و پس از آن می‌تواند دوباره احیاء شود (سوداگر و زادمجید، ۱۳۸۸) (شکل ۱). برای تولید اینستار یک، ماده‌های با توانایی تولید مثل بالا انتخاب می‌شوند و در گروه‌های حدود ۳۰ عددی در یک شناور با قطر ۸۰ میلی‌متر، سیلندر پلی اتیلنی به ارتفاع ۸۰ میلی‌متر با یک توری درای مش اندازه ۱/۵ میلی‌متری در پایین و دارای یک حلقه PVC ۱۲ میلی‌متری در بالا جهت شناوری قرار داده می‌شوند. هر تله به منظور جمع‌آوری دافنی‌های جوان در یک بشر حاوی آب شناور می‌شد (Stephan, 1975). پس از روز اول، تله‌های شناور حاوی دافنی‌های مولد برداشته شده و دافنی‌های جوان به بشرهای حاوی منبع جلبکی تازه جهت تغذیه جا به جا شدند.

القاء تولید مثل جنسی (تولید افی پیوم)

جهت القاء کردن تولید مثل جنسی در سیستم پرورش، دافنی با فواصل هفتگی با جلبک تغذیه می‌شد به طوری که ماده‌ها به طور عمده مورد تغذیه با باکتری‌های محیط پرورش بودند. ماده‌های مذکور در پاسخ به تغییر شرایط کشت و رژیم تغذیه‌ای از تولید مثل غیر جنسی به سوی تولید همزمان نر و ماده در محیط تغییر روش دادند و نرها که در این جمعیت‌های مختلط به تعداد بالایی رسیده‌اند، فعالیت جنسی بالا و به دنبال آن تولید افی پیوم را تشدید می‌کنند. با این حال ماده‌هایی که تحت این شرایط نگهداری می‌شوند، قدرت و رشد سالم خود را حفظ می‌کنند و با تأمین مجدد تأمین مواد غذایی جلبکی اضافی، تولید مثل غیر جنسی را از سر می‌گیرند. از این روش کمبود مواد غذایی جهت تولید انبوه افی پیوم استفاده می‌شود. در تولید مداوم افی پیوم از تانک‌های دارای شرایط مختلف تکاملی برداشت می‌شود و تولید با معرفی مواد تولیدی از نر به جمعیت عمدتاً ماده افزایش می‌یابد.



شکل ۱: مراحل تخم گشایی افی پیوم دافنی ماگنا (Doma, 1979)

سیستم پرورش برای هر دو روش تولید وابسته به نور بوده و بهترین نتایج در نگهداری واحدها در سیستم گلخانه و با شدت نور ۳۰۰۰-۵۰۰۰ لوکس در چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۱-۲۴ درجه و بدون هوادهی مصنوعی انجام شد.

روش احیاء سریع تخم افی پیوم در شرایط طبیعی که دستخوش زمان استراحت طولانی چند ماهه قرار گرفته‌اند، یک مانع اساسی در مطالعات سم شناسی بر افی پیوم می‌باشد. در مطالعه حاضر، مشاهده شد که تخم‌های اپی‌فیا به حالت خفته رفته به وسیله خشک کردن می‌توان به کمک آبرسانی ۲۴ ساعته احیاء شوند. تخم‌ها در این شرایط با نرخ بالایی و به طور پراکنده ۴-۵ روزه هچ می‌شوند و بخشی از جمعیت که به اولین آبرسانی و احیاء پاسخ نمی‌دهند، ممکن است به دهمیدراته شدن و احیاء شدن ثانویه پاسخ دهند. دافنی‌های هچ شده شامل تنها جنس ماده می‌باشند. در عمل، اپی‌فای جمع آوری شده از کف مخزن کشت، از شن و ماسه و ریزه‌ها در یک بشر بزرگ جدا شده و در حالت کج نگهداری می‌شود. تکرار سرریزهای آب باعث می‌شود تا اپی‌فای با وزن مخصوص کمتر شناور شود و از ذرات با وزن مخصوص متفاوت

پس از مدتی جدا شود. سپس شسته شده و بر یک توری جمع می‌شوند. برای خشک کردن اپی‌فیا مستقیماً به حلقه‌های پلی اتیلن کوچک (قطر ۴۰ میلی‌متر، ۱۰ میلی‌متر ارتفاع) با یک توری نایلون در زیر [اندازه شبکه (اندازه مش) تقریبی ۰/۷ میلی‌متر] شسته می‌شوند، با حلقه‌ای از لوله پی وی سی با قطر ۵ میلی‌متر شناور نگه داشته می‌شوند. پس از خشک شدن، تله‌ها، تخم‌های اپی‌فای که هنوز بر سطح توری چسبیده است، به صورت معکوس با آب کلر زدایی شده شسته می‌شوند. در این تله شناوری، بدون توجه به تغییرات سطح آب ناشی از تبخیر، اپی‌فیوم دائماً در طول رشد تخم غوطه‌ور می‌شود. افی پیوم تولیدی در شرایط آزمایشگاهی در این تکنیک می‌توانند ۵ روز پس از تخم ریزی ماده احیاء شوند. برای نرخ احیاء بالا، استفاده از دافنی بالغ حدود ۱-۲ ماهه در دمای هچ ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد ترجیح داده می‌شود. میزان احیاء ممکن است بین نمونه‌های مختلف افی پیوم متفاوت و از حدود ۱۰۰ درصد هچ که برخی اوقات مشاهده شود در صورتی که نرخ احیاء نزدیک به ۴۰-۶۰ درصد در طول ۵ روز هیدراتاسیون معمول‌تر می‌باشد. درصد تخم

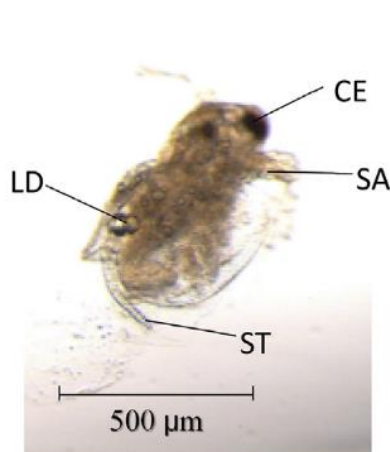
گشایی با فرض یک دافنی به ازاء هر افی‌پیوم مصاحبه شد زیرا همه افی‌پیوم‌ها دارای دو تخم نبوده و حتی اگر دو تخم نیز داشتند، هر دو قابل رویت نبودند.

مطالعات جدید در خصوص دافنی و احیاء آنها

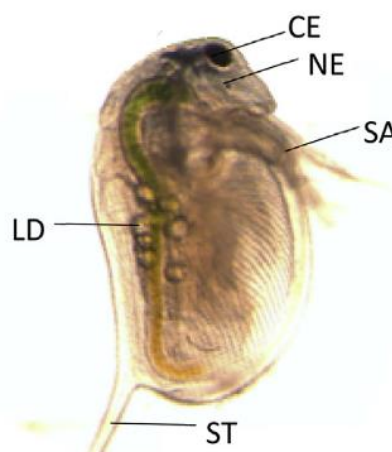
اثر آفت‌کش: در برخی مطالعات پیشین بر اثر آترازین بر اکوسیستم های آبی در دافنی گونه *Daphnia pulicaria* پس از مواجهه نر زایی بسیار تشدید شد (Dodson et al., 1999). همچنین در مطالعات جدید که در خصوص اثر آفت‌کش‌ها بر محیط زیست انجام شده، نشان داده شده است

که غلظت‌های تحت کشنده برخی آفت‌کش‌ها نظیر آترازین (Atrazine) که آفت کش رایج در منابع آبی می‌باشد (سبحان اردکانی و جمالی پور، ۱۳۹۳) سبب ایجاد تخم‌های غیر زنده توسط دافنی ماگنا می‌شود. (Religia et al., 2019) (شکل ۲).

همچنین در این مطالعه نسبت نیتروژن به کربن در جلبک تحت تیمار با آترازین کاهش نشان داد و این امر نیاز به تحقیق بیشتر را در این خصوص و همچنین اینکه آیا تولید مجدد دافنی نقش زیادی در سم زدایی از ترکیبات آلی از بدن والدین دارد یا خیر نشان می‌دهد (Religia et al., 2019).



تخم غیر زنده



تخم زنده

شکل ۲: مقایسه فنوتیپ تخم غیر زنده که ماده تحت تیمار با آترازین آن را تولید می‌کند، در مقایسه با یک دافنی زنده (>۲۴ ساعت از زمان آزاد شدن از محفظه تخم). CE: چشم مرکب؛ NE: چشم ناپلی؛ SA: آنتن های دوم؛ ST: خار عصبی؛ LD: قطرات چربی. (Religia et al., 2019)

نشان داده شد، نسبت هج بیش از آن که مربوط به الگوی زمانی آن باشد، مربوط به کل انرژی نوری اعمال شده بود. برای مثال، پس از افزایش دوره روشنایی ۶ ساعته و کمتر از آن به ۴۸ ساعت و بیشتر و با شدت نوری یکسان (۵۵ میکرومول مربع بر ثانیه) از ۰ به حدود ۳۲ درصد افزایش یافت و هنگامی که شدت نور به ۳/۵ میکرومول مربع بر ثانیه کاهش و دوره آن به ۹۶ ساعت افزایش یافت، درصد هج به یک سوم کاهش یافت که اهمیت بیشتر شدت نوری را در گونه دافنی ماگنا نشان می‌دهد. با توجه به این مطالعه،

چرخه نوری: اهمیت چرخه نوری^۱ در چرخه تولید مثلی به حدی است که نور (یا تغییر در چرخه نوری) یکی از مهمترین محرک‌های هج برای تخم‌های خفته دافنی در نظر گرفته می‌شود (Pancella and Stross, 1963; Davison, 1969; Pérez-Martínez et al., 2013). در مطالعات جدید تا حدودی تاثیر چرخه نوری کمتر از شدت نور نشان داده شده است. برای مثال، در مطالعه Flis و Ślusarczyk (۲۰۱۹)

¹ Photoperiod

افی پیوم دافنی ماگنا بیش از تحت تاثیر قرار گرفتن از تغییرات رژیم نوری تحت تاثیر شدت نور می باشند و با سطح مشخصی از نور دوباره فعال خواهند شد و نتایج حاضر نظر مشترک راجع به نقش تعیین کننده دوره نوری در احیاء دیپوز را به چالش می کشد (Ślusarczyk and Flis, 2019).

اثر رسوبات و نور: افی پیوم دافنی در طبیعت در رسوبات ته نشین شده و با فراهم شدن شرایط مناسب هج می شود. در مطالعه Radzikowski و همکاران (۲۰۱۶) در خصوص اثر رسوبات بر نرخ بازگشایی افی پیوم دافنی، بیشترین نرخ هج در تیمار بدون رسوب به دست آمد. نتایج مشابهی از مهار کامل بازگشایی تخم توسط یک لایه نازک رسوب قبلاً برای تخم های خفته کوپه پودا گزارش شده است. در جایی که یک لایه رسوبی به ضخامت ۵-۷ میلی متر از ظهور توده های دریایی جنس دریایی کوپه پود جنس آکارتیا (genus *Acartia*) جلوگیری می کند (Uye, 1980)، در جایی دیگر یک لایه نازک تر (۲-۱/۵ میلی متر) مانع از تخم گشایی تخم های خفته کوپه پود آب شیرین گونه *Eurytemora affinis* گشت (Ban and Minoda, 1992) مهار بازگشایی تخم با پوشش رسوبی برای سایر اشکال خاموش نیز مشاهده شد، اما ضخامت لایه رسوب موثر مشخص نشده است (Kasahara et al., 1975; Uye et al., 1979).

کاهش مشاهده شده نرخ هج در افی پیوم تحت پوشش رسوبات دریاچه ممکن است به چندین دلیل ایجاد شده باشد. نخست، حتی یک لایه نازک از رسوبات نیز می تواند سبب از بین رفتن دسترسی افی پیوم به نور شود. علاوه بر این، کمبود نور در مطالعات به عنوان عاملی کلیدی که مانع از بازگشایی تخم های دافنی شده، شناخته می شود (Pancella and Stross, 1963; Davison, 1969; Pérez-Martínez et al., 2013). در جایی که Pancella و Stephan (۱۹۷۵) نرخ بازگشایی ۵۰-۴۰ درصدی را برای افی پیوم دافنی ماگنای انکوبه شده در شرایط دارای نور به دست آوردند. حتی در مطالعاتی که تخم ها در شرایط تاریکی انکوبه شدند نیز تخم گشایی مشاهده شد. در تحقیقات Stephan (۱۹۷۵) بر جمعیت دافنی پولکس، مشاهده شد که تنها در تخم های خفته حاشیه ای و سطحی انکوباسیون انجام شده است.

Carvalho و Wolf (۱۹۸۹) و Paes و همکاران (۲۰۱۶) نیز نتایج مشابهی در برخی گونه های دافنی به دست آوردند. Stephan (۱۹۷۵) گزارش داد، تخم های خفته دافنی پولکس بدون نور پس از چند ماه نگهداری در تاریکی بازگشایی می شود. این نویسنده فرض کرد که ذخیره طولانی مدت در تاریکی ممکن است پیش شرط فعال سازی به وسیله نور را از بین ببرد. هج شدن در محیط تاریک را Caceres و Schwalbach (۲۰۰۱) در آزمایش طولانی بر افی پیوم دافنی پولیکاریا (*D. pulicaria*) انجام دادند و Radzikowski (۲۰۱۶) بر گونه های متفاوت دافنی گزارش کردند. با وجود مطالعات حاضر در خصوص هج افی پیوم دافنی در شرایط تاریکی در مطالعه Radzikowski و همکاران (۲۰۱۶) که نرخ هج در تیمارهای زیر رسوب (تاریکی) تقریباً صفر بود، عامل محدود کننده ای بجز تاریکی می توانست سبب نرخ هج پایین تر در این نمونه باشد. برخی از نویسندگان ادعا می کنند که در دسترس بودن اکسیژن ممکن است یکی دیگر از پیش نیازهای مهم فعال سازی اشکال خفته زئوپلانکتون باشد. برای مثال، در برخی تحقیقات نشان داده شد که در سطوح بسیار پایین اکسیژن، از بازگشایی تخم های خفته کوپه پودا تقریباً جلوگیری می شود. در مطالعات Kasahara و همکاران (۱۹۷۵)، Uye (۱۹۸۰) و Lutz و همکاران (۱۹۹۲) نتایج مشابه در آرتمیا (Clegg, 1997) نیز مشاهده شده است. اما در خصوص هج تخم های خفته کلا دوسراها در شرایط کمبود و فقدان اکسیژن مطالعات کمتری وجود دارد اما اثر افزایش غلظت اکسیژن بر میزان بازگشایی تخم ها در مطالعات بیشتری بررسی شده است. برای مثال، دافنی ماگنا (De Meester, 1993) و کلا دوسرای *Bythotrephes longimanus* (Brown, 2008) در شرایط افزایش اکسیژن نرخ هج بالاتری را در تخم ها خفته نشان دادند. Carvalho و Wolf (۱۹۸۹) نشان دادند که دافنی های مانده در شرایط بی اکسیژنی تخم ها را در حالت دیپوز طولانی تر نگه می دارد. در تحقیق Radzikowski و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که یکی دیگر از لازمه های احیاء افی پیوم می تواند نرخ اکسیژن بالا باشد. مطالعات جالبی در خصوص ایجاد روشی برای احیاء سریع افی پیوم دافنی صورت گرفته است. برخی از سویه های دافنی به نور ماورابنفش پاسخ

Ban, S. and Minoda, T., 1992. Hatching of diapause eggs of *Eurytemora affinis* (Copepoda: Calanoida) collected from lake-bottom sediments. *Journal of Crustacean Biology*, 12(1), pp.51-56.

Brown, M.E., 2008. Nature and nurture in dormancy: dissolved oxygen, pH, and maternal investment impact *Bythotrephes longimanus* resting egg emergence and neonate condition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65(8), pp.1692-1704.

Cáceres, C.E. and Schwalbach, M.S., 2001. How well do laboratory experiments explain field patterns of zooplankton emergence?. *Freshwater Biology*, 46(9), pp.1179-1189.

Carvalho, G.R. and Wolf, H.G., 1989. Resting eggs of lake-Daphnia I. Distribution, abundance and hatching of eggs collected from various depths in lake sediments. *Freshwater Biology*, 22(3), pp.459-470.

Clegg, J., 1997. Embryos of *Artemia franciscana* survive four years of continuous anoxia: the case for complete metabolic rate depression. *Journal of Experimental Biology*, 200(3), pp.467-475.

Davison, J., 1969. Activation of the ephippial egg of *Daphnia pulex*. *The Journal of General Physiology*, 53(5), pp.562-575.

De Meester, L., 1993. Inbreeding and outbreeding depression in *Daphnia*. *Oecologia*, 96(1), pp.80-84.

شدیدی می‌دهند. برای مثال، دافنی پولیکاریا پس از دو هفته دوره تاریکی پس از مواجهه ۷-۴ روزه با اشعه ماوراء بنفش نرخ بسیار بالای ۸۰-۱۰۰ درصد بازگشایی تخم که نرخ بسیار بالایی می‌باشد، نشان داد. در این مطالعه مشاهده شد که یکی از پیش نیاز های این نرخ هج بالا دوره تاریکی دو هفته‌ای برای این گونه می‌باشد (Luu et al., 2020). در مطالعات دیگر در خصوص اثر دما مشاهده شد که دافنی در دمای بالاتر در اندازه و سن بلوغ پایین‌تری بالغ شده و به تولید مثل می‌پردازد و همچنین زاده‌های تولیدی در شرایط دمایی بالا طول عمر بیشتری از زاده‌های پرورشی در دمای پایین دارند.

نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، اثر بسیاری از پارامترهای مختلف مانند آفت‌کش‌ها، دوره‌های نوری و شدت نور، رسوبات، میزان اکسیژن محیطی، دوره تاریکی و اشعه ماوراء بنفش و اثر دما بر احیاء افی پیوم دافنی مرور شد. در تحقیق حاضر نشان داده شد که پیش نیاز یافتن اپتیموم شرایط و بالاترین نرخ بازگشایی تخم و به دست آوردن تکنیک پرورش بهینه نیاز به استفاده بیش‌تر از مطالعات حاضر دارد. ولی به طور کلی، در روش بهینه آزمایشگاهی تخم‌های خفته کلادوسراها نیاز به دوره تاریکی حدود ۲ هفته‌ای (در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد) و سپس احیاء در شرایط نوری و اکسیژنی و عاری از سموم علف‌کش دارد.

منابع

اردکانی، س. و جمالی پور، پ.، ۱۳۹۶. تعیین غلظت باقی‌مانده برخی از آفت‌کش‌های آلی کلره و فسفره در آب رودخانه گرگر. دوره ۱۹، ویژه نامه شماره ۴، صص ۲۲۳-۲۳۶.

سوداگر، م. و زادمجید، و.، ۱۳۸۸. مقدمه ای بر ریخت شناسی، زیست شناسی، تکثیر و پرورش دافنی. انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۱۵ ص.

Adema, D.M.M., 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia*, 59(2), pp.125-134.

- Dodson, S.I., Merritt, C.M., Shannahan, J.P. and Shults, C.M., 1999.** Low exposure concentrations of atrazine increase male production in *Daphnia pulicaria*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 18(7), pp.1568-1573.
- Doma, S., 1979.** Ephippia of *Daphnia magna* Straus—a technique for their mass production and quick revival. *Hydrobiologia*, 67(2), pp.183-188.
- Kasahara, S., Onbe, T. and Kamigaki, M., 1975.** Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds. III. Effects of temperature, salinity and other factors on the hatching of resting eggs of *Tortanus forcipatus*. *Marine Biology*, 31(1), pp.31-35.
- Lutz, R.V., Marcus, N.H., Chanton, J.P., 1992.** Effects of low oxygen concentrations on the hatching and viability of eggs of marine calanoid copepods. *Marine Biology*, 114: 241-247.
- Luu, D.H.K., Vo, H.P. and Xu, S., 2020.** An efficient method for hatching diapausing embryos of *Daphnia pulex* species complex (Crustacea, Anomopoda). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 333(2), pp.111-117.
- Paes, T.A., Rietzler, A.C., Pujoni, D.G. and Maia-Barbosa, P.M., 2016.** High temperatures and absence of light affect the hatching of resting eggs of *Daphnia* in the tropics. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88(1), pp.179-186.
- Pancella, J.R. and Stross, R.G., 1963.** Light induced hatching of *Daphnia* resting eggs. *Chesapeake Science*, 4(3), pp.135-140.
- Parker, B.L., Dewey, J.E. and Bache, C.A., 1970.** Carbamate bioassay using *Daphnia magna*. *Journal of Economic Entomology*, 63(3), pp.710-714.
- Pérez-Martínez, C., Jiménez, L., Moreno, E. and Conde-Porcuna, J.M., 2013.** Emergence pattern and hatching cues of *Daphnia pulicaria* (Crustacea, Cladocera) in an alpine lake. *Hydrobiologia*, 707(1), pp.47-57.
- Radzikowski, J., Sikora, A. and Ślusarczyk, M., 2016.** The effect of lake sediment on the hatching success of *Daphnia* ephippial eggs. *Journal of Limnology*, 75(3).
- Religia, P., Kato, Y., Fukushima, E.O., Matsuura, T., Muranaka, T. and Watanabe, H., 2019.** Atrazine exposed phytoplankton causes the production of non-viable offspring on *Daphnia magna*. *Marine Environmental Research*, 145, pp.177-183.
- Ślusarczyk, M. and Flis, S., 2019.** Light quantity, not photoperiod terminates diapause in the crustacean *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, 64(1), pp.124-130.
- Stephan, C.E., 1975.** US EPA Methods for acute toxicity test with fish, macroinvertebrates and amphibians. *Ecological Research*, Set. EPA-660/3-75-009.
- Uye, S.I., Kasahara, S. and Onbé, T., 1979.** Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds. IV. Effects of some environmental factors on the hatching of resting eggs. *Marine Biology*, 51(2), pp.151-156.

- Uye, S., 1980. Development of neritic copepods *Acartia clausi* and *A. steueri*. II. Isochronal larval development at various temperatures. *Bulletin of Plankton Society*, Japan, 27, pp.11-18.
- Yung, K.D., 1975 . Etude bibliographique de la sensibilit& des crustaces utilises (Daphnie, Gammare, Artemia) vis A vis des produits chimiques. *Tribune du Cebedeau*, 28 : 301-303.

Production of *Daphnia epiphium*, A method for mass production and rapid revival

Daneshkhah B.^{1*}; Sudagar M.¹

*Behrang.dn@gmail.com

1-Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Abstract

A new and suitable breeding method for inducing asexual or sexual reproduction (opium pneumonia) of *Daphnia Magna* is described in the laboratory. Drying and dehydration cause the production of epiphium epiphium with rapid hatching. In the present study, the effect of many different parameters such as pesticides, light periods and light intensity, sediments, culture oxygen levels, dark period, and ultraviolet rays, and The effect of temperature on *Daphnia* production was reviewed. In the present study, it was shown that the prerequisite for finding the optimal conditions and the highest hatch rate and obtaining the optimal breeding technique need to the present studies more. But in general, in the optimal laboratory method, dormant eggs of cladoceran need a dark period of about 2 weeks (different in different species) and then drying, and then to revive that, light and oxygen conditions and free of herbicides are required.

Keywords: Epiphum, *Daphnia*, Mass production, Rapid revival