



## اثر متقابل شدت نور و pH بر عملکرد تخم‌گشایی *Artemia franciscana* در شرایط آزمایشگاهی

عرفان اکبری نرگسی<sup>۱</sup>، بهرام فلاحتکار<sup>۱،۲\*</sup>، حامد عبدالله پور<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا، گیلان  
<sup>۲</sup>گروه علوم دریایی، پژوهشکده حوضه آبی خزر، دانشگاه گیلان، رشت، گیلان

نوع مقاله:

کوتاه

چکیده

با توجه به اهمیت آرتمیا به عنوان مهمترین غذای زنده مورد استفاده در صنعت آبزی پروری، اثر متقابل بین شدت نور و pH بر روی درصد تخم‌گشایی، درصد مرحله چتری و درصد سیست تخم‌گشایی نشده آرتمیا فرانسیسکانا در ۲ سطح نور ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس و ۳ سطح pH ۸، ۹ و ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، بین دو عامل شدت نور و pH اثر متقابلی مشاهده نشد ( $p=0.383$ ). بین دو تیمار شدت نور نیز اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $p=0.305$ ). با این حال بالاترین میزان تخم‌گشایی در شدت نور ۲۰۰۰ لوکس ثبت شد. بین ۳ تیمار pH در درصد تخم‌گشایی و سیست تخم‌گشایی نشده اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p<0.001$ ), به طوریکه بالاترین میزان تخم‌گشایی در pH ۹ ( $6/98 \pm$  ۳/۰ درصد) و پایین‌ترین میزان آن در pH ۱۰ ( $2/58 \pm$  ۴۷/۶۷ درصد) بود. بیشترین میزان مرحله چتری نیز در pH ۸ ( $5/96 \pm$  ۰/۸۷ درصد) و کمترین آن در pH ۹ ( $2/31 \pm$  ۰/۵۸ درصد) مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان سیست تخم‌گشایی نشده در pH ۸ ( $3/67 \pm$  ۳۳/۰۵ درصد) و کمترین آن در pH ۹ ( $3/56 \pm$  ۲۴/۶۵ درصد) مشاهده گردید. بر این اساس، پیشنهاد می‌شود برای دستیابی به حداکثر تخم‌گشایی سیست آرتمیا فرانسیسکانا از آب با pH ۹ و شدت نور ۲۰۰۰ لوکس استفاده شود.

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۵/۰۱/۲۴

اصلاح: ۹۵/۰۳/۱۶

پذیرش: ۹۵/۰۴/۲۶

کلمات کلیدی:

آرتمیا

تخم‌گشایی

سیست

غذای زنده

### مقدمه

پرورش لارو آبزیان به خصوص شروع غذادهی به آنها در مراحل ابتدایی به عنوان عامل کلیدی در توسعه پرورش صنعتی ماهی‌ها و سایر آبزیان می‌باشد (Sorgeloos *et al.*, 1986). لارو اکثر ماهی‌ها و سخت پوستان در گرفتن جیره خشک دارای مشکلاتی می‌باشند و حتی اگر جیره را بپذیرند، معده تکامل نیافته آنها و فعالیت‌های آنزیمی ضعیف به لاروها اجازه هضم غذای خورده شده را نمی‌دهد (Agh and Sorgeloos, 2005; Perez *et al.*, 2006). بر همین اساس، استفاده از غذای زنده در اکثر آبزیان موجب رشد و بقای بیشتر در مقایسه با غذاهای خشک و فرموله شده می‌شود (Dabrowski, 1984). با این حال، اندازه مناسب، ارزش غذایی بالا و توانایی شناور و زنده ماندن در محیط پرورشی آبزی هدف، از ویژگی‌های مهمی هستند که غذاهای زنده مناسب قابل استفاده در آبزی پروری را محدود می‌کنند (Mcconaugha, 1985; Beck and Turingan, 2007).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [falahatkar@guilan.ac.ir](mailto:falahatkar@guilan.ac.ir)

با توجه به موارد فوق، ناپلی تازه تفریخ شده آرتمیا به دلیل دارا بودن ویژگی های مناسب از مهمترین غذاهای زنده مورد استفاده در پرورش آبزیان می باشد (Sorgeloos *et al.*, 1986; Sorgeloos *et al.*, 2001). همچنین در بین گونه های مختلف آرتمیا، آرتمیا فرانسیسکانا به علت دارا بودن اندازه مناسب در تغذیه لاروی آبزیان با اندازه دهان کوچک، نقش ویژه ای دارد (Conceicao *et al.*, 2010; Kumar and Babu, 2015).

عوامل مختلفی از جمله شوری، pH، میزان یون های محلول، درجه حرارت، نور و میزان اکسیژن بر عملکرد تخم گشایی آرتمیا تاثیر گذار هستند (Lavens *et al.*, 1986) و برای بهینه سازی انکوباسیون و به دست آوردن حداکثر میزان تخم گشایی باید این عوامل در سطح مطلوب قرار داشته باشند. بر اساس مطالعات، سطح مطلوب این عوامل برای هر گونه ای از آرتمیا می تواند متفاوت باشد (Vanhaecke and Sorgeloos, 1980).

نور یکی از مهمترین فاکتورهای تاثیر گذار در میزان تخم گشایی آرتمیا می باشد، به طوریکه آغاز متابولیسم سیست ها ارتباط مستقیم با نور و شدت آن دارد (Van der Linden *et al.*, 1991; Garcia Ortega *et al.*, 2001). همچنین pH تاثیر مستقیمی بر روی عملکرد آنزیم ها می گذارد (Decker, 1977) و میزان آن می تواند در عملکرد آنزیم های دخیل در تخم گشایی تغییر ایجاد کند و باعث افزایش یا کاهش میزان تخم گشایی شود (Sato, 1967).

این موارد نشان دهنده قابلیت تاثیرگذاری شدت نور و pH بر عملکرد تخم گشایی سیست آرتمیا می باشد. بنابراین بررسی و تعیین مناسب ترین سطح از این متغیرها می تواند تاثیر قابل ملاحظه ای در کاهش هزینه های مراکز تکثیر و پرورش آبزیان داشته باشد. بر همین اساس، این پژوهش با هدف تعیین اثر شدت نور و pH در عملکرد تخم گشایی سیست آرتمیا فرانسیسکانا برای دستیابی به بهترین بازدهی در سیستم تخم گشایی طراحی و اجرا گردید.

## مواد و روش ها

مطالعه حاضر در محل آزمایشگاه ماهیان زینتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان انجام گرفت. در این مطالعه برای تعیین اثر متقابل شدت نور و pH از ۲ سطح نور ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس (Vanhaecke *et al.*, 1981) و ۳ سطح pH ۸، ۹ و ۱۰ (Sato, 1967) استفاده شد. در طول مدت آزمایش برای تمام تیمارها از دمای ۲۷ درجه سانتی گراد (Salma *et al.*, 2012) استفاده شد. شوری مورد استفاده در آزمایش نیز ۳۵ در هزار (Vanhaecke and Sorgeloos, 1989) و برای تمام تیمارها یکسان بود. برای انکوباسیون سیست ها از ظروف پلاستیکی ۱/۵ لیتری مخروطی شکل استفاده شد. بطری ها در یک آکواریوم ۱۲۰ لیتری قرار داده شده و به وسیله قاب چوبی به اندازه عرض بطری ها ثابت نگه داشته شدند. سپس به هر بطری ۸۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. برای ثابت نگه داشتن دما در ۲۷ درجه سانتی گراد از ۲ بخاری ۲۰۰ وات دارای ترموستات استفاده شد. در کنار هر بخاری یک سنگ هوا قرار داده شد تا دما در سرتاسر آزمایش در آکواریوم یکسان باشد. شوری ۳۵ در هزار به وسیله حل کردن ۳۵ گرم نمک دریا به ازای هر لیتر آب مقطر به دست آمد. از محلول هیدروکسید سدیم (Sodium hydroxide) برای تنظیم pH در مقادیر مورد نظر استفاده شد. به این صورت که ابتدا ۱۰ گرم سدیم هیدروکسید خشک در ۱ لیتر آب مقطر حل و یک محلول مادر تهیه شد. سپس pH تیمارها به وسیله pH متر WTW 537 (Xylem Organization, Munich, Germany) تنظیم شد. تنظیم نور به وسیله لامپ فلورسنت ۲۰ وات (Pars Shahab, Tehran, Iran) انجام گرفت. برای شدت نور ۱۰۰۰ لوکس از ۱ لامپ و ۲۰۰۰ لوکس از ۲ لامپ فلورسنت استفاده شد. جهت تنظیم شدت نور و فاصله منبع نور از بطری ها از لوکس متر (TES-1330TES Electrical Electronic Corporation, Taipei, Taiwan) استفاده شد. اطراف آکواریوم برای جلوگیری از نفوذ نورهای ناخواسته توسط نایلون مشکی پوشانده شد. پس از تنظیم شدت نور، به میزان ۲ گرم در لیتر (Sorgeloos *et al.*, 2001) سیست آرتمیا فرانسیسکانا (Ocean Star International, Snowville, USA) به هر بطری (با حجم ۸۰۰ میلی لیتر آب) اضافه شد. جهت تعیین میزان تخم گشایی پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آغاز انکوباسیون، از هر تکرار ۵ نمونه ۲۵۰ میکرولیتری برداشته شد (Vanhaecke and Sorgeloos, 1989). برای تثبیت نمونه ها از الکل اتانول

۹۶ درصد (Merck, Darmstadt, Germany) استفاده شد. تعداد ناپلیوس‌ها (N)، ناپلی‌های مرحله چتری (U) و سیست‌های تخم‌گشایی نشده (E) در هر نمونه به وسیله لوپ مدل SZ40 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) شمارش و توسط فرمول زیر درصد تخم‌گشایی (H) محاسبه گردید (Van Stappen, 1996):

$$H\% = (N \times 100) / (N + U + E)^{-1}$$

برای تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از تست کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) مورد بررسی قرار گرفت. سپس تقابل بین شدت نور و pH با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-Way ANOVA) و تست توکی (Tukey test) مورد سنجش قرار گرفت. جهت مقایسه هر متغیر به تنهایی از آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) و تست توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تمام آنالیزها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۳ (SPSS, Chicago, USA) انجام گرفت.

### نتایج

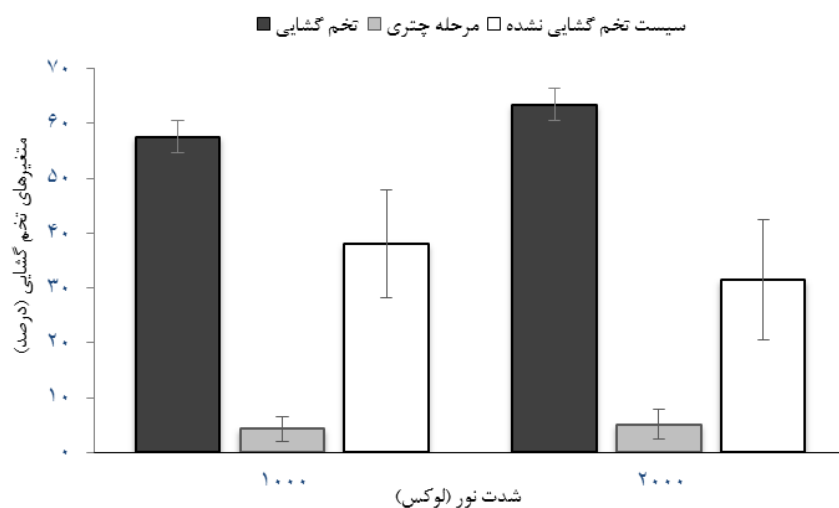
براساس نتایج به دست آمده بین دو عامل شدت نور و pH اثر متقابلی مشاهده نشد ( $p=0.383$ )، بنابراین متغیرها به تنهایی مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱).

اثر شدت نور بر روی درصد تخم‌گشایی معنی دار نبود ( $p=0.305$ ). همچنین میزان شدت نور بر درصد مرحله چتری تاثیر معنی داری نداشت ( $p=0.532$ ). اثر شدت نور بر درصد سیست تخم‌گشایی نشده نیز معنی دار نبود ( $p=0.199$ ). بیشترین میزان تخم‌گشایی ( $12/95 \pm 63/48$  درصد) در شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و کمترین میزان آن ( $10/23 \pm 57/65$  درصد) در شدت نور ۱۰۰۰ لوکس مشاهده شد (شکل ۱).

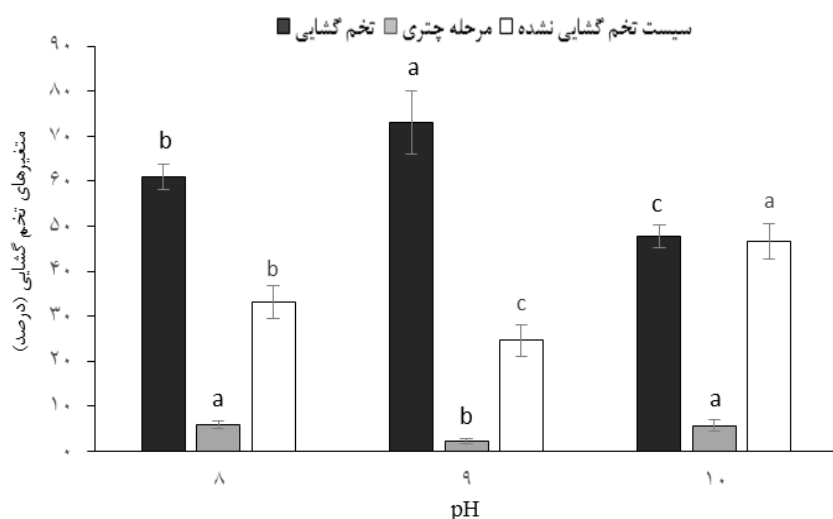
نتایج نشان داد اثر pH بر روی درصد تخم‌گشایی معنی دار بود ( $p<0.001$ ). اثر pH بر روی درصد مرحله چتری نیز اختلاف معنی داری نشان داد ( $p=0.007$ ). همچنین اثر pH بر روی درصد سیست تخم‌گشایی نشده معنی دار بود ( $p<0.001$ ). به طوریکه بین ۳ تیمار اختلاف معنی داری مشاهده شد. بیشترین میزان تخم‌گشایی ( $6/98 \pm 73/03$  درصد) در pH ۹ و کمترین آن ( $2/58 \pm 47/67$  درصد) در pH ۱۰ مشاهده گردید (شکل ۲).

جدول ۱. اثر متقابل شدت نور و pH بر درصد تخم‌گشایی، درصد مرحله چتری و درصد سیست تخم‌گشایی نشده آرتیمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) (n=۳؛ میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

شدت نور (لوکس)	pH	درصد تخم‌گشایی	درصد مرحله چتری	درصد تخم‌گشایی نشده
۱۰۰۰	۸	$59/00 \pm 2/51$	$5/34 \pm 2/29$	$35/64 \pm 2/46$
	۹	$68/09 \pm 5/32$	$2/72 \pm 1/80$	$29/17 \pm 5/35$
	۱۰	$45/84 \pm 2/98$	$4/78 \pm 2/45$	$49/36 \pm 5/44$
۲۰۰۰	۸	$62/95 \pm 3/66$	$6/58 \pm 1/55$	$30/45 \pm 4/90$
	۹	$77/97 \pm 4/72$	$1/89 \pm 0/81$	$20/13 \pm 4/28$
	۱۰	$49/50 \pm 5/20$	$6/63 \pm 2/10$	$43/86 \pm 4/41$
	pH	۰/۰۰۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۱
	شدت نور	۰/۰۱۲	۰/۴۲۱	۰/۰۱۰
	pH $\times$ شدت نور	۰/۳۸۳	۰/۴۷۲	۰/۷۲۷



شکل ۱. درصد تخم گشایی، مرحله چتری و سیست تفریح نشده *Artemia franciscana* در شدت های نوری مختلف پس از ۴۸ ساعت (میانگین  $\pm$  انحراف معیار).



شکل ۲. درصد تخم گشایی، مرحله چتری و سیست تفریح نشده *Artemia franciscana* در pH های مختلف پس از ۴۸ ساعت. حروف متفاوت بر روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد ( $p < 0.05$ ) (میانگین  $\pm$  انحراف معیار)

## بحث

در پژوهش حاضر اثر ۲ عامل شدت نور و pH در میزان تخم گشایی آرتمیا فرانسیسکانا مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بین ۲ تیمار نوری ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس در میزان تخم گشایی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بر اساس مطالعات، ارتباط مستقیمی بین متابولیسم سیست و شدت نور وجود دارد (Garcia Ortega *et al.*, 2001)، به طوریکه سیستها بلافاصله بعد از جذب آب نسبت به نور حساس شده و متابولیسم در آنها آغاز می شود (Vanhaecke *et al.*, 1981). بر اساس بررسی های قبلی ثابت شده است که افزایش شدت نور تا حد معینی باعث افزایش میزان تخم گشایی می شود (Van der Linden *et al.*, 1985; Cohen, 2012). این مطالعات علاوه بر شدت نور، مدت زمان نور دهی و طول موج نور را نیز در میزان تخم گشایی آرتمیا موثر دانسته اند (Van der Linden *et al.*, 1985). بر اساس نتایج آزمایش حاضر بین ۲ سطح نوری مورد بررسی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. احتمالاً دامنه نوری مورد بررسی در این آزمایش در حدی نبوده که باعث ایجاد تفاوت در بین تیمارها شود. بر اساس بررسی های قبلی بیشترین میزان تخم گشایی آرتمیا در بازه نوری ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ لوکس مشاهده شده است (Vanhaecke *et al.*, 1981). در مطالعه حاضر نیز با افزایش شدت نور میزان تخم گشایی افزایش یافت و بیشترین میزان آن در شدت نور ۲۰۰۰ لوکس مشاهده شد.

در بررسی مربوط به اثر pH بین هر ۳ سطح مورد نظر تفاوت معنی دار مشاهده گردید، به طوریکه بیشترین و کمترین میزان تخم گشایی به ترتیب در pH های ۹ و ۱۰ مشاهده شد. تمام موجودات زنده برای سرعت بخشیدن به واکنش های شیمیایی

داخل بدن خود از کاتالیزورهای زیستی (آنزیم‌ها) استفاده می‌کنند. هر آنزیم در سطح pH مشخصی بهترین فعالیت را از خود نشان می‌دهد و تغییر pH از حد بهینه کارایی آنزیم را تحت تاثیر قرار می‌دهد، به طوریکه افزایش بیش از حد pH باعث تغییر شکل و از دست رفتن کارایی آنزیم‌ها شده و کاهش بیش از حد pH نیز توانایی فعالیت آنزیم‌ها را از بین می‌برد (Decker, 1977). با توجه به تاثیر مستقیم pH بر روی آنزیم‌ها، کاهش تخم‌گشایی در pH ۱۰ می‌تواند به علت تغییر شکل و از کار افتادن آنزیم‌های دخیل در تخم‌گشایی باشد. همچنین Sato (۱۹۶۷) بیان نمود که بهترین عملکرد آنزیم تخم‌گشایی در pH های ۸ و ۹ مشاهده می‌شود. در پژوهش حاضر نیز بیشترین میزان تخم‌گشایی در pH ۹ و پس از آن در pH ۸ مشاهده شد. با این حال، مطالعات انجام شده بر روی تاثیر میزان pH بر روی تخم‌گشایی سیست آرتمیا محدود می‌باشد و در اکثر این مطالعات تاثیر اسیدی شدن آب بر روی آرتمیا مورد سنجش قرار گرفته است. Doyle و McMahon (۱۹۹۵) میزان تخم‌گشایی و زنده مانی آرتمیا فرانسیسکانا را در pH ۱۰ مختلف در دامنه ۸/۵-۴ مورد بررسی قرار دادند و بیشترین میزان تخم‌گشایی را در pH ۷/۳ مشاهده نمودند. در بررسی Salma و همکاران (۲۰۱۲) میزان تخم‌گشایی آرتمیا فرانسیسکانا در pH های ۸-۷ مورد بررسی قرار گرفت و بهترین میزان تخم‌گشایی در pH ۸ مشاهده گردید. Zheng و همکاران (۲۰۱۵) نیز میزان تخم‌گشایی *Artemia sinica* را در pH های ۸/۲-۷/۶ مورد بررسی قرار دادند و بیشترین میزان تخم‌گشایی را در pH ۸/۲ گزارش نمودند. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر بعد از pH ۹ بیشترین میزان تخم‌گشایی در pH ۸ مشاهده شده است، می‌توان اینگونه استنباط نمود که pH های قلیایی برای تخم‌گشایی آرتمیا مناسب تر هستند. تفاوت نتایج Doyle و McMahon (۱۹۹۵) با سایر بررسی‌ها احتمالاً به علت تفاوت در شرایط کیفی آب و نوع گونه آزمایش بوده است.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر با افزایش pH تا حد معینی درصد تخم‌گشایی آرتمیا فرانسیسکانا افزایش یافت و افزایش بیش از حد بهینه مانع تفریح سیست‌ها شده و درصد تخم‌گشایی را کاهش داد. این امر نشان دهنده اثر قابل توجه pH در میزان تخم‌گشایی آرتمیا فرانسیسکانا می‌باشد. علاوه بر pH، شدت نور نیز بر میزان تخم‌گشایی تاثیر گذار بود و در شدت نور ۲۰۰۰ لوکس تخم‌گشایی بیشتری مشاهده شد. بنابراین برای دستیابی به بالاترین میزان تخم‌گشایی در سیست آرتمیا فرانسیسکانا در مراکز تکثیر و پرورش آبزیان توصیه می‌شود pH در ۹ تنظیم شود و برای افزایش بازدهی در سیستم تخم‌گشایی نیز پیشنهاد می‌شود از شدت نور ۲۰۰۰ لوکس استفاده شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین محترم آزمایشگاه ماهیان زینتی و همچنین آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

## منابع

- Agh, N., Sorgeloos, P. 2005. Handbook of protocols and guidelines for culture and enrichment of live food for use in larviculture. *Artemia & Aquatic Animals Research Center*. 60 p.
- Beck, J., Turingan, R. 2007. The effects of zooplankton swimming behavior on prey-capture kinematics of red drum larvae, *Sciaenops ocellatus*. *Marine Biology*. 151(4): 1463-1470.
- Cohen, R.G. 2012. Review of the biogeography of *Artemia leach*, 1819 (Crustacea: Anostraca) in Argentina. *International Journal of Artemia Biology*. 2(1): 9-23.
- Conceicao, L.E., Yufera, M., Makridis, P., Morais, S., Dinis, M.T. 2010. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*. 41(5): 613-640.
- Dabrowski, K. 1984. Influence of initial weight during the change from live to compound feed on the survival and growth of four cyprinids. *Aquaculture*. 40(1): 27-40.
- Decker, L.A. 1977. *Worthington enzyme manual: enzymes, enzyme reagents, related biochemicals*. Worthington Biochemical Corporation. 346 p.
- Doyle, J.E., McMahon, B.R. 1995. Effects of acid exposure in the brine shrimp *Artemia franciscana* during development in seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 112A(1): 123-129.

- Garcia Ortega, A., Huisman, E., Sorgeloos, P., Verreth, J. 2001. Evaluation of protein quality in microbound starter diets made with decapsulated cysts of *Artemia* and fishmeal for fish larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*. 32(3): 317-329.
- Kumar, G., Babu, D. 2015. Effect of light, temperature and salinity on the growth of *Artemia*. *International Journal of Engineering Science Invention*. 4(12): 7-14.
- Lavens, P., Tackaert, W., Sorgeloos, P. 1986. International study on *Artemia*. XLI. Influence of culture conditions and specific diapause deactivation methods on the hatchability of *Artemia* cysts produced in a standard culture system. *Marine Ecology Progress Series*. 31: 197-203.
- Mcconaugha, J.R. 1985. Nutrition and larval growth. In: *Larval Growth, Crustacean Issues*. August Aime Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands. pp. 127-154.
- Perez, C., JC, Murray, H., Gallant, J., Ross, N., Douglas, S., Johnson, S. 2006. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*. 251(2): 377-401.
- Salma, U., Lee, G., Yeo, Y., Kim, H.W. 2012. Effects of pH change by CO<sub>2</sub> induction and salinity on the hatching rate of *Artemia franciscana*. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 15(2): 177-181.
- Sato, N.L. 1967. Enzymatic contribution to the excystment of *Artemia salina*. *Science Reports of the Research Institutes, Tohoku University*. 33: 319-327.
- Sorgeloos, P., Dhert, P., Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 200(1): 147-159.
- Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W., Versichele, D. 1986. *Manual for the Culture and use of Brine Shrimp Artemia in Aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 318 p.
- Van der Linden, A., Blust, R., Declair, W. 1985. The influence of light on the hatching of *Artemia* cysts (Anostraca: Branchiopoda: Crustacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 92(2): 207-214.
- Van der Linden, A., Gadeyne, J., Van Onckelen, H., Van Laere, A., Declair, W. 1991. Involvement of cyclic nucleotides in light induced resumption of development of *Artemia* embryos. *Journal of Experimental Zoology*. 258(3): 312-321.
- Van Stappen, G. 1996. Use of cysts. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Laboratory of Aquaculture and Artemia Reference Center, University of Gent, Belgium. 361: 107-136.
- Vanhaecke, P., Sorgeloos, P. 1980. International Study on *Artemia*. IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin. *The Brine Shrimp Artemia*. 3: 393-405.
- Vanhaecke, P., Cooreman, A., Sorgeloos, P. 1981. International study on *Artemia*: 15. Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. *Marine Ecology Progress Series*. 5: 111-114.
- Vanhaecke, P., Sorgeloos, P. 1989. International study on *Artemia*. XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp. *Annals of the Royal Society of Zoological Belgium*. 119(1): 7-23.
- Zheng, C.Q., Jeswin, J., Shen, K.I., Lablche, M., Wang, K.J., Liu, H.P. 2015. Detrimental effect of CO<sub>2</sub>-driven seawater acidification on a crustacean brine shrimp, *Artemia sinica*. *Fish & Shellfish Immunology*. 43(1): 181-190.