تغــذیه و بیــوشیمی آبزیــان
سال دوم، شماره اول،
بهار ۱۳۹۴

تأثیر جلبک خشک (کلرلای پودری) بر فاکتورهای رشد و ترکیبات بدنی روتیفر آب شور *Brachionus plicatilis* در مقایسه با جلبک‌های تازه (*Isochrysis galbana* و *Nannochloropsis oculata*)

احمد احمدی[۱]، نصراله احمدی فرد*[۱]، ابراهیم حسین نجد گرامی[۲]
۱- گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی
۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۰

چکیده
تحقیقات مختلف اثبات کرده است که رشد و محتوای بیوشیمیایی روتیفرها می‌تواند تحت تأثیر نوع غذا تغییر کند. ریز جلبک‌ها به عنوان یکی از منابع غذایی مهم برای کشت روتیفرها به ویژه از لحاظ شاخص‌هایی نظیر رشد، بقا، میزان پروتئین، چربی و اسیدهای چرب، ضروری هستند. در تحقیق حاضر اثر جلبک خشک کلرلا (معادل وزنی جلبک‌های تازه) در مقایسه با جلبک‌های تازه ایزوکرایسیس گالبانا و نانوکلروپسیس آکولاتا با غلظت 5×10^{6} cell/mL بر رشد و ترکیبات بدنی روتیفر آب شور بررسی شد. کشت روتیفرها در شرایط استاندارد و در ظروف پلاستیکی ۵۰۰ میلی‌لیتری و با تراکم اولیه ۳۰ عدد در میلی‌لیتر صورت گرفت. نتایج نشان داد که میزان رشد جمعیت روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا (5×10^{6}cell/mL) بیش از روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس و پودر کلرلا است ($P<0/05$). بیشترین و کمترین نرخ رشد ویژه به ترتیب در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا و پودر کلرلا مشاهده شد ($P<0/05$). بیشترین محتوای پروتئین در تیمار پودر کلرلا و حداکثر چربی در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا مشاهده شد. میزان اسید چرب غیر اشباع DHA و همچنین نسبت DHA/EPA در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا به طور معنی‌داری بیش از دیگر تیمارها بود، در حالی که میزان EPA در روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس آکولاتا به طور معنی‌داری بیش از دیگر تیمارها بود. بر اساس مطالعه حاضر جلبک خشک کلرلا نمی‌تواند جایگزین بهتری برای جلبک‌های تازه در ایجاد رشد مناسب روتیفر *B. plicatilis* باشد.

کلمات کلیدی: ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس آکولاتا، پودر کلرلا، رشد، تولیدمثل، روتیفر آب شور

* نویسنده مسئول: N.ahmadifard@urmia.ac.ir

مقدمه

امروزه نیاز روزافزون جمعیت رو به رشد جهان به مواد غذایی، به ویژه پروتئین حیوانی، سبب شده بشر از همه امکانات و زمینه‌ها برای تأمین آن استفاده کند. از زمینه‌های مهم تأمین غذای سالم، آبزی‌پروری است که هم اکنون در سرتاسر جهان پیشرفت قابل توجهی کرده است (Støttrup and McEvoy, 2008). اگرچه غذاهای خشک تجاری برای تغذیه ماهیان آب شور و شیرین استفاده می‌شوند، ولی منابع غذای زنده، با توجه به اهمیت و کاربرد آنها بیشتر مورد توجه هستند (Abedian-Kennari et al. 2008).

مهم‌ترین غذاهای زنده برای لارو ماهیان، جلبک‌های تک‌سلولی و پلانکتون‌های جانوری از جمله روتیفرها هستند که در تغذیه لارو ماهیان آب شور و شیرین اهمیت دارند (احمدی و احمدی فرد، ۱۳۹۳). برای چندین دهه از روتیفرها به عنوان موجود زنده غذایی در کشت لارو ماهیان آب شور استفاده شده است. تولید قابل اعتماد و پایدار روتیفرها و همچنین ارزش غذایی آنها باعث شده که تکثیر و پرورش کلیه ماهیان در نقاط مختلف جهان رونق یابد (Støttrup and McEvoy, 2008).

عمده لارو ماهیان در مراحل اولیه زندگی از ۲ تا ۳ موجود زنده به عنوان غذا استفاده می‌کنند. این موجودات شامل روتیفرهای گونه *Brachionus plicatilis* و *Brachionus rotundiformis* و ناپلیوس‌های میگوی آب شور (آرتمیا) برای لارو ماهیان آب شور و *B.calyciflourus* و *B.rubenus* و دیگر روتیفرهای آب شیرین برای لارو ماهیان آب شیرین هستند (Anonymous, 2005). روتیفرها به دلایلی از جمله طبیعت پلانکتونی آنها، مقاومت به تغییرات وسیع شوری، میزان تولیدمثل بالا، اندازه کوچک و سرعت شنای آرام غذای مناسبی برای لاروهای بدون کیسه زرده هستند که نمی‌توانند ناپلیوس بالغ آرتمیا را ببلعند (Sarma et al. 2005).

پرورش روتیفر آب شور *B. plicatilis* در سیستم‌های پرورش آب شور گونه‌های ماهیان دریایی و زینتی مورد آزمایش قرار گرفته است و روتیفر آب شور *B. plicatilis* با اندازه (۳۵۰-۱۵۰ میکرون) و میزان تولیدمثل بالا، گونه‌ای خوب برای تغذیه لارو ماهیان دریایی و سخت‌پوستان است (Hamre et al. 2008).

تراکم و تنوع روتیفرها، کلادوسرها و پاروپایان تحت تأثیر عوامل زیستی و غیر زیستی قرار دارد. در بین عوامل زیستی، تنوع جلبک‌ها شدیداً ترکیب و فراوانی پلانکتون‌های جانوری را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Flores-Burgos et al. 2003). بر اساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که روتیفرهای جنس براکیونوس به طور معمول از باکتری‌های خیلی ریز تا ذرات بزرگ‌تر تا حد ۲۰ میکرون می‌توانند تغذیه کنند و بین اندازه بدن روتیفر و اندازه ذرات غذایی رابطه مثبتی وجود دارد (Gilbert, 1985; Abedian-Kennari et al. 2008). ارزش غذایی و تراکم روتیفرها عوامل مهمی در تغذیه لارو ماهیان به حساب می‌آیند. کیفیت غذایی روتیفرهای کشت شده با مخمر بسیار پایین است، در حالی که تراکم‌های بالای جلبک کیفیت غذایی روتیفرها را افزایش می‌دهد. برای مثال وقتی روتیفر *B. plicatilis* در ۴ تراکم بالا (۵۰×۱۰^{۶} cells/mL، ۳۷/۵، ۲۵ و ۱۲/۵) کلرلای آب شور کشت شدند، میزان اسیدهای چرب HUFA آنها با افزایش غلظت غذا افزایش یافت (Rezeq and James, 1987).

پلانکتون‌های گیاهی در ابتدای زنجیره غذایی آبزیان دریایی قرار دارند و ریزجلبک‌ها از ضروریات غذایی سالن‌های تکثیر آبزیان مختلف دریایی از جمله دوکفه‌ای‌ها، نرم‌تنان، مراحل لاروی سخت‌پوستان و مراحل اولیه رشد برخی از ماهیان هستند. جلبک‌ها همچنین برای پلانکتون‌های جانوری (پاروپایان، روتیفر و آرتمیا) ضروری‌اند. تکنیک آب سبز در مزارع تکثیر و پرورش ماهیان دریایی بسیار رایج است. آب سبز مستقیم به تانک لاروها تزریق می‌شود. جلبک‌ها نقش مهمی در تثبیت کیفیت آب، تغذیه لاروها و کنترل میکروبی دارند. البته تمام گونه‌های جلبکی برای رشد و بقای موجوداتی که تغذیه پالیده خواری دارند، کاربرد ندارد. گونه‌های موفق و مناسب جلبکی بر اساس توان بالقوه کشت توده‌ای، اندازه سلول، قدرت هضم پذیری و ارزش غذایی انتخاب شده‌اند. تکنیک‌های مختلفی نیز برای رشد این گونه‌ها توسعه یافته است تا در مقیاس‌های بزرگ به صورت کشت متراکم کنترل شده و کشت منفرد گونه‌ای

متـــراکم از آنهـــا اســـتفاده کـــرد (Lavens and Sorgeloos, 1987).

امروزه بیش از ۴۰ گونه جلبک مختلف از ریزجلبک‌ها در مناطق مختلف دنیا جداسازی و در سیستم‌های کشت متراکم و خالص وارد شده‌اند. به طور کلی فائو، هشت رده و ۳۲ جنس از رایج‌ترین آنها را فهرست کرده است که به طور عمده اقتصادی‌اند. این فهرست شامل دیاتومه‌ها، تاژک‌داران و جلبک‌های سبز، جلبک‌های سبز آبی رشته‌ای با اندازه‌های چند میکرونی تا ۱۰۰ میکرون است. از بین گونه‌هایی که به صورت تجاری در واحدهای عملیاتی آبزی‌پروری دریایی استفاده می‌شوند، جلبک *Nanochloropsis oculata* به دلیل اندازه ریز آن و همچنین داشتن EPA بالا و جلبک *Isochrysis galbana* به دلیل داشتن DHA بالا حائز اهمیت بوده و بیشتر مورد استقبال پرورش‌دهندگان قرار گرفته است. اگرچه تفاوت‌های آشکاری در ترکیبات مغذی رده‌ها و گونه‌های جلبکی وجود دارد، پروتئین ترکیب اصلی و گاهی به همراه چربی یا کربوهیدرات دیده می‌شود. دامنه سطح پروتئین، چربی و قندها به ازای وزن خشک به ترتیب حدود ۳۵-۱۲٪، ۲۳-۷/۲٪ و ۲۳-۴/۶٪ است. اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر اسید آراشیدونیک، اسید ایکوزاپنتانوئیک (20:5n-3, EPA) و اسید دوکوزاهگزونوئیک (22:6n-3, DHA) مهم‌ترین موادی هستند که در ارزیابی ارزش غذایی گونه‌های جلبکی به شمار می‌روند زیرا این مواد برای پرورش گونه‌های آبزیان دریایی بسیار مهم هستند. نتایج مطالعات متعددی حاکی از آن است که ارزش غذایی ریز جلبک‌ها به شرایط کشت آنها بستگی دارد (Dhert et al. 2001).

برای کشت روتیفرهای آب شور عمدتاً از جلبک‌های نانوکلروپسیس، ایزوکرایسیس و تتراسلمیس استفـاده می‌شود. جلبک ایزوکرایسیس گالبانا با اندازه ۶-۳ میکرون، بهترین غذا برای لارو نرم‌تنان پرورشی و حاوی سطوح بالایی از DHA است (Godet et al. 2010). همچنین این جلبک مقادیر زیادی رنگ‌دانه فوکوگزانتین و مقادیر بالایی EPA در پیکره خود دارد (Kim et al. 2012). جلبک نانوکلروپسیس با اندازه ۴-۲ میکرون مهم‌ترین غذای مورد استفاده در کشت روتیفر آب شور در مراکز تکثیر ماهیان دریایی و سخت‌پوستان است (Kandilian et al. 2013).

در حال حاضر در کشور ما جلبک خشک کلرلا در مقیاس انبوه تولید و به عنوان غذای دام استفاده می‌شود. از آنجا که جلبک خشک کلرلا از جلبک‌های آب شیرین است لذا از شکل زنده این جلبک نمی‌توان در آب شور استفاده کرد، در حالی که از شکل خشک این جلبک به دلیل زنده نبودن می‌توان در آب‌های لب‌شور، شور و شیرین استفاده کرد. لذا هدف این طرح بررسی قابلیت استفاده از جلبک خشک کلرلا در کشت روتیفر به عنوان غذای زنده بود تا با جایگزینی این جلبک خشک به جای جلبک‌های تازه موجود بتوان با هزینه کمتر و با نیروی کار کمتر تولید انبوه روتیفر داشت.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت جلبک

جلبک *I. galbana* از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، جلبک *N. aculata* از پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه خالص‌سازی و پودر جلبک کلرلا از شـرکت ریـزجلبکـی پارسـیان (گـیلان) تهیـه شـد. کشـت انبـوه جلبـک‌های تازه در ارلن مایرهای ۱ لیتری انجـام شـد. در تمام کشت‌ها از محیط کشت والنه استفاده گردید. میـزان شوری محیط کشت جلبک در این آزمـایش ppt ۳۵-۳۰ در نظر گرفته شد. درجه حرارت اتاق کشـت بـرای تولیـد جلبـک ۲۵-۲۲ سـانتی‌گـراد بـوده و بـرای تـأمین نیـاز روشنایی از ۴ لامپ فلوروسنت ۴۰ وات استفاده گردید که شدت نور در سطح کشـت‌هـا را بـه ۳۰۰۰-۲۵۰۰ لـوکس رسانید. برداشت جلبک‌ها در مرحلـه رشـد فـاز لگـاریتمی صورت گرفت. از لام نئوبار برای شمارش جلبکـی اسـتفاده شد. از پودر جلبک کلرلا معـادل وزنـی جلبـک‌هـای تـازه استفاده شد (Sarma et al. 2001).

شرایط پرورش روتیفر

روتیفـر *B. plicatilis* از پژوهشـکده میگـوی کشـور در بوشهر تهیه شد. شرایط زیستی برای انجام این مطالعـه در دمـای ۲۸-۲۵ درجـه سـانتی‌گـراد، شـوری ppt ۳۰-۲۸، pH= ۷/۵ -۸/۵، نور ۳۵۰۰-۲۸۰۰ لـوکس و دوره نـوری ۲۴ ساعته استفاده شد. در مراحل آغازین برای کشت و به حجم رساندن انبوه این روتیفـر از جلبـک نانوکلروپسـیس آکولاتـا بـا تـراکم ۲۴×۱۰^{۶} cells/mL اسـتفاده شـد، تـا

زمانی که تراکم روتیفر به ۲۰۰ ind/mL در هر میلی‌لیتر رسید (Abedian-Kennari et al. 2008).

طراحی آزمایش

در آزمایش اثر دو نوع جلبک تازه *I. galbana* و *N. aculata* با تراکم 5×10^6 cells/mL به همراه جلبک خشک کلرلا بر رشد و تولیدمثل روتیفر آب شور مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش ۹ بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری (۳ تیمار جلبکی و از هرکدام سه تکرار) استفاده گردید. تراکم 5×10^6 cells/mL از جلبک کلرلا معادل ۰/۲ گرم وزن خشک پودر جلبک لحاظ گردید. برای همگن‌سازی و یکنواختی پودر جلبک از هموژنایزر با دور ۲۰۰۰ rpm در دقیقه استفاده شد.به هریک از بالن‌ها مخلوطی از جمعیت‌های روتیفر *Brachionus plicatilis* (روتیفرهای بالغ تخم‌دار و جوان بدون تخم) با تراکم ۳۰ ind/mL معرفی شد. برای آزمایش از دمای استاندارد ۲ ± ۲۸ درجه سانتی‌گراد، pH= ۷/۵-۸/۵، شدت روشنایی ۳۲۰۰-۲۸۰۰ لوکس (با استفاده از چهار لامپ مهتابی ۴۰ وات)، هوادهی ملایم و دوره نوری ۲۴ ساعت استفاده شد. در طول آزمایش یک روز در میان بعد از شمارش، روتیفرها با استفاده از توری پلانکتونی ۵۰ میکرون به محیط کشت جدید انتقال داده شدند. روزانه با افزودن جلبک تازه تراکم آنها در محیط کشت روتیفر ثابت نگه داشته شد. آزمایش تا زمانی که تراکم روتیفرها به بیشینه تراکم رسیده و دوباره حالت نزولی به خود بگیرد، ادامه داشت (۱۰ روز). تراکم روتیفرها به صورت روزانه با فاصله زمانی ۲۴ ساعت برآورد شد (Dhert et al. 2001).

تخمین میزان رشد

برای بررسی میزان رشد روتیفر، هر روز ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب حاوی روتیفر با استفاده از میکروپیپت نمونه‌برداری و ۲ قطره لوگل به آب اضافه شد تا نمونه‌ها تثبیت شوند و سپس با استفاده از لام باگاروف در زیر میکروسکوپ شمارش شدند. با استفاده از معادله زیر نرخ رشد ویژه (Specific Growth Rate: SGR) محاسبه شد (Krebs, 1995):

$$SGR= ۱۰۰ \times (LnN_t - LnN_0)/t$$

N_t= تراکم نهایی روتیفر بعد از دوره پرورش (برحسب تعداد در میلی‌لیتر)

N_0 =تراکم اولیه روتیفر (برحسب تعداد در میلی‌لیتر)

t= دوره پرورش (۱۰ روز)

آنالیزهای بیوشیمیایی

تعیین میزان پروتئین و چربی

برای تولید انبوه روتیفر در حجم بالا از زوگ های ۲۰ لیتری استفاده شد. زمانی که روتیفرها به تراکم مورد نظر رسیدند، برداشت شده و برای آنالیزهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل موجود در نمونه‌ها از دستگاه کلدال اتوماتیک مدل V40 ساخت شرکت Bakhshi (تهران، ایران) استفاده شد (AOAC, 1990).

برای تعیین میزان درصد چربی موجود در بافت روتیفرها، از ۰/۵ گرم از نمونه خشک به درون لوله‌های آزمایش شیشه‌ای درب دار ریخته شد و در نهایت با استفاده از روش Folch و همکاران (۱۹۵۷) میزان چربی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان رطوبت، ۰/۵ گرم نمونه در ظرف آلومینیومی از پیش وزن شده در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. برای اطمینان بیشتر هر تیمار با سه تکرار انجام شد (AOAC, 1990).

تعیین میزان و پروفیل اسیدهای چرب

برای تعیین میزان اسیدهای چرب از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Agilent technologies مدل 7890 ساخت آمریکا) استفاده شد. اسیدهای چرب به روش متیل استریفیکاسیون مستقیم استخراج (Coutteau et al. 1995) و پس از تهیه محلول نهایی ۰/۴ میکرولیتر از آن به دستگاه تزریق شد. استاندارد داخلی حاوی اسید چرب 22:2(N-6) حل شده در ایزواکتان بود. مقدار اسیدهای چرب هر نمونه با مقایسه طول منحنی‌های هر اسید چرب با طول منحنی استاندارد داخلی محاسبه و درصد هر اسید

چرب نسبت به کل اسیدهای چرب تعیین شد. از ستون کاپیلاری ۳۵ متری برای تشخیص استفاده و دمای آشکارساز FID روی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای دستگاه از ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد شروع و پس از ۲ دقیقه توقف در این دما با سرعت ۳۰ درجه سانتی‌گراد افزایش و به دمای ۱۸۳ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای دستگاه در این مرحله به مدت ۵ دقیقه ثابت و سپس با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش و به ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و تا پایان آنالیز در آن دما باقی ماند.

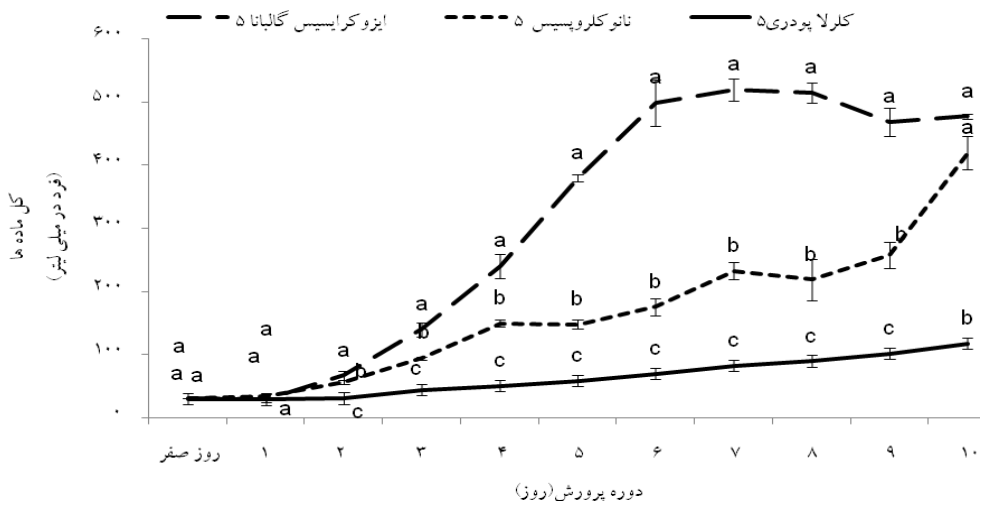
آنالیز آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات، ابتدا نرمالیته داده‌ها بررسی شدند. از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) برای بررسی کل داده‌ها و آزمون دانکن برای بررسی اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار بودن اختلاف‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. آنالیز آماری با استفاده از SPSS 21 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

بررسی میزان رشد

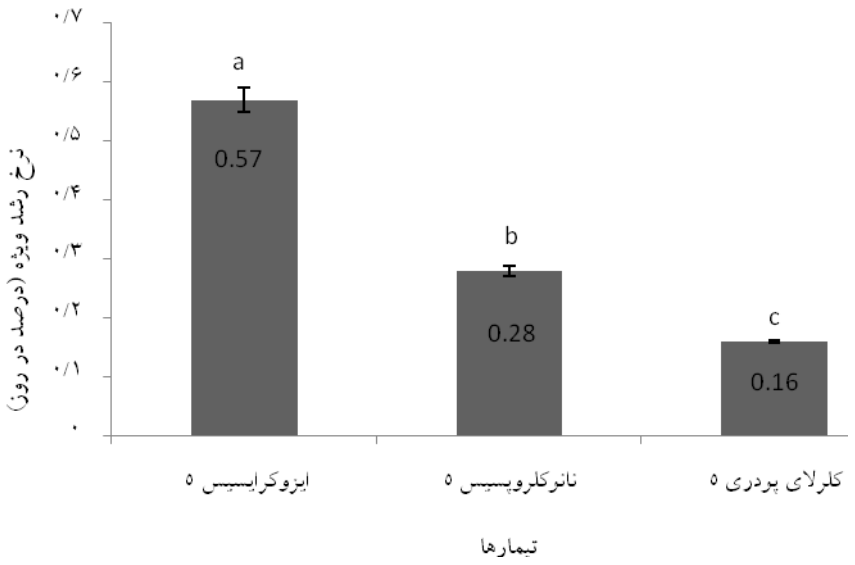
شکل ۱ نتایج تراکم روتیفرهای تغذیه شده با سه نوع جلبک با غلظت 5×10^{6} cells/mL را نشان می‌دهد. نوع جلبک به طور معنی‌داری بر تراکم روتیفرهای *B. plicatilis* تأثیرگذار بود. بیشینه تراکم روتیفرهای *B. plicatilis* تغذیه شده با جلبک‌های ایزوکرایسیس، نانوکلروپسیس و پودر کلرلا، به ترتیب ۵۱۹ عدد در میلی‌لیتر (روز هفتم)، ۴۱۹ عدد در میلی‌لیتر (روز دهم) و ۱۱۷ عدد در میلی‌لیتر (روز دهم) به دست آمد. تفاوت معنی‌داری در رشد از روز دوم شروع و تا انتهای آزمایش ادامه داشت. بیشینه تراکم در تیمار ایزوکرایسیس در روز هفتم و در دو تیمار دیگر در روز دهم به دست آمد ($P<0/05$).



شکل ۱- تعداد کل روتیفرهای تغذیه شده با سه جلبک ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس آکولاتا و پودر کلرلا. عدد ۵ برای غلظت 5×10^{6} cells/mL از جلبک ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس و پودر کلرلا است (حروف متفاوت نشانه معنی‌داری در سطح ۵٪ است).

نرخ رشد ویژه

نرخ رشد ویژه روتیفرهای تغذیه شده با غلظت 5×10^{6} cells/mL جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس آکولاتا و پودر کلرلا در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، نرخ رشد ویژه روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا به طور معنی‌داری بیش از نرخ رشد روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های نانوکلروپسیس و پودرکلرلا بود ($P<0/05$).



شکل ۲- نرخ رشد ویژه (درصد در روز) روتیفرهای تغذیه شده با غلظت 5×10^6 cells/mL از جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس و پودر کلرلا. (حروف متفاوت نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۵٪ است). عدد ۵ برای تیمارهای 5×10^6 cells/mL از جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس و پودر کلرلا است.

آنالیز ترکیبات بدنی

تعیین میزان پروتئین و چربی

نتایج آنالیز میزان پروتئین و چربی روتیفرهای تغذیه شده با سه نوع جلبک ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس آکولاتا و کلرلای پودری با غلظت 5×10^6 cells/mL در جدول ۱ آمده است. بر اساس نتایج، بیشترین میزان پروتئین در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلای پودری (۶۱/۵ ± ۲/۵ ٪) حاصل شد که با روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس تفاوت معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). میزان پروتئین در روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا و نانوکلروپسیس آکولاتا با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (P>۰/۰۵). بیشترین میزان چربی در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا به دست آمد که به طور معنی‌داری بیش از میزان چربی روتیفرهای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس آکولاتا و کلرلای پودری بود (P<۰/۰۵)، اگر چه میزان چربی روتیفرهای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و کلرلای پودری نیز با هم تفاوت معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵).

جدول ۱- آنالیز ترکیبات بدنی در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های مختلف (پروتئین و چربی بر حسب درصد وزن خشک، رطوبت برحسب وزن تر کل نمونه).

نوع غذا (تیمارها)	پروتئین (٪)	چربی (٪)	رطوبت (٪)
روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا	۵۲/۷۶ ± ۳/۱ [b]	۱۸/۲ ± ۳/۷ [a]	۶۹ ± ۱/۱
روتیفرهای تغذیه شده با نانو کلروپسیس آکولاتا	۵۱/۹۷ ± ۳/۶ [b]	۱۴/۴ ± ۲/۱ [b]	۷۶ ± ۲/۹
روتیفرهای تغذیه شده با کلرلای پودری	۶۱/۵۱ ± ۲/۵ [a]	۱۲/۶ ± ۱/۸ [c]	۷۴ ± ۱/۴

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج آنالیز اسیدهای چرب

نتایج آنالیز اسیدهای چرب روتیفر *B. plicatilis* تغذیه شده با جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس و کلرلای پودری با غلظت 5×10^6 cells/mL مختلف در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- پروفایل اسیدهای چرب روتیفر *B. plicatilis* تغذیه شده با سه جلبک مختلف (گرم اسید چرب/ ۱۰۰ گرم چربی).

میزان و نوع اسید چرب	روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا	روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس آکولاتا	روتیفرهای تغذیه شده با پودر کلرلا
اسید مریستیک C:14:0	۲/۶ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۲۴۱ ± ۰/۱^{c}	۱/۲۲ ± ۰/۰۶^{b}
اسید نتادوکانوئیک C:15:0	۰/۸۹۱ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۸۴۳ ± ۰/۴^{a}	۱/۰۵۱ ± ۰/۰۷^{b}
اسید پالمتیک C:16:0	۶/۴۹ ± ۰/۰۴^{c}	۸/۰۶۸ ± ۰/۰۲^{b}	۱۲/۴ ± ۰/۰۳^{a}
اسید هپتادکانوئیک C:17:0	۱/۹۸۱ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۹۶۶ ± ۰/۰۵^{a}	۱/۷ ± ۰/۰۸^{a}
اسید استئاریک C:18:0	۲/۱۵۱ ± ۰/۱^{b}	۷/۱۷ ± ۰/۰۶^{a}	۶/۱۱ ± ۰/۱^{a}
اسید لیگنوسریک C:24:0	nd	nd	nd
اسید پالمیتولئیک C16:1n-7	۰/۱۲۴ ± ۰/۰۳	nd	nd
اسید اولئیک C18:1n-9	۱۴/۵۶۴ ± ۰/۰۴^{b}	۹/۶۳± ۰/۰۳^{c}	۱۶/۵۷۴ ± ۰/۰۵^{a}
اسید اکتادکانوئیک C18:1n-7	۰/۸۵۶ ± ۰/۱^{a}	۰/۵۳۶± ۰/۰۶^{a}	nd
اسید ایکوزنوئیک C20:1n-9	۴/۳۶ ± ۰/۰۲^{a}	۲/۱۳۶± ۰/۰۸^{c}	۳/۲۴ ± ۰/۰۹^{b}
اسید لینولئیک C18:2n-6	۱۴/۲۴۹ ± ۰/۰۸^{a}	۱۱/۸۳± ۰/۰۵^{c}	۱۲/۲۳۴ ± ۰/۰۴^{b}
اسید لینولنیک C18:3n-3	۱۵/۶۱ ± ۰/۰۳^{a}	۱۴/۱۴± ۰/۱^{b}	۱۵/۳۱ ± ۰/۰۸^{a}
اسید آراشیدونیک C20:4n-6	۱/۹۶ ± ۰/۱^{a}	۱/۵۲ ± ۰/۰۶^{a}	۱/۶۸ ± ۰/۰۲^{a}
اسید ایکوزاپنتانوئیک C20:5n-3	۲/۲۹ ± ۰/۰۷^{b}	۵/۳۶۱ ± ۰/۰۲^{a}	۳/۲۴۱ ± ۰/۱^{b}
اسید دوکوزاهگزونیک C22:6n-3	۳/۶ ± ۰/۰۴^{a}	۱/۳ ±۰ /۰۱^{b}	۱/۶ ± ۰/۰۷^{b}
DHA/EPA	۱/۵۷ ± ۰/۹^{a}	۰/۲۴۲ ± ۰/۰۴^{b}	۰/۴۹۳ ± ۰/۰۵^{b}
اسیدهای چرب n-3	۵/۳۵ ± ۰/۰۶^{b}	۶/۳۶۴ ± ۰/۰۸^{a}	۴/۲۴۷ ± ۰/۰۱^{c}
اسیدهای چرب n-6	۳۱/۸۱ ± ۰/۲^{a}	۲۷/۴۹ ± ۰/۱^{c}	۲۹/۲۲ ± ۰/۰۳^{b}
n-3/n-6	۰/۱۶۸ ± ۰/۰۸^{b}	۰/۲۳۱ ± ۰/۰۵^{a}	۰/۱۴۵ ± ۰/۰۶^{c}
SAFA	۱۴/۱۱ ± ۰/۰۵^{c}	۱۹/۲۸ ± ۰/۰۹^{b}	۲۲/۴۸ ± ۰/۰۵^{a}
MUFA	۱۹/۹۰ ± ۰/۰۶^{a}	۱۲/۳۰ ± ۰/۰۳^{b}	۱۹/۸۱ ± ۰/۰۷^{a}
PUFA	۳۷/۷۵ ± ۰/۰۳^{a}	۳۴/۱۵ ± ۰/۰۷^{b}	۳۴/۰۶ ± ۰/۰۹^{b}

nd: میزان اسیدهای چرب قابل تعیین نبود.

حروف متفاوت در هر ردیف، نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ است.

بر اساس نتایج، روتیفرهای تغذیه شده از ایزوکرایسیس فاقد اسید چرب لیگنوسریک بود. مقادیر بالایی از اسید چرب اولئیک، لینولئیک و لینولنیک در بدن روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس مشاهده شد. روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس به طور معنی‌دار (P<۰/۰۵) میزان اسید چرب C22:6n-3 (DHA) و همچنین DHA/EPA بیشتری نسبت به دیگر تیمارها نشان دادند که به نظر می‌رسد این اسید چرب تجمع بیشتری نسبت روتیفرهای تغذیه شده از نانوکلروپسیس داشته است. این در حالی است که میزان EPA در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس بیش از EPA روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های ایزوکرایسیس و پودر جلبک کلرلا بود. روتیفرهای تغذیه شده از نانوکلروپسیس حاوی مقادیر بالایی از اسید پالمیتیک، و لینولئیک بود. هر چند که میزان این اسیدهای چرب در روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس کمتر از روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس بود. اسید اولئیک و اسید لینولنیک در روتیفرهای تغذیه شده با پودر جلبک کلرلا بالاترین درصد را نشان داد. اسیدهای چرب اشباع شده (SFA) در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلای خشک

نسبت به ۲ تیمار دیگر به طور معنی‌داری بیشتر بود (P<۰/۰۵). همچنین اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) در روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا تجمع بیشتری یافته بود. میزان اسیدهای چرب اولئیک و لینولنیک در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا بیش از مقدار اسیدهای چرب همان جلبک بود. نتایج نشان می‌دهد که میزان اسیدهای چرب در روتیفرها به کیفیت و نوع غذای آنها بستگی دارد.

بحث

میزان رشد

در بین گروه‌های مختلف پلانکتون گیاهی، از جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا و نانوکلروپسیس اکولاتا برای رشد پلانکتون‌های جانوری و غنی‌سازی آنها در شرایط میدانی و آزمایشگاهی به طور گسترده‌ای استفاده شده است (کرمی فر و همکاران؛ ۱۳۹۱ عبدالهی فینی و یحیوی ۱۳۹۲؛ Suchar and Chigbu, 2006). بر اساس نتایج، بیشینه تراکم در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا (۵۱۹ عدد در میلی‌لیتر) در غلظت ۵ × ۱۰^۶ cells/mL به دست آمد که نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های نانوکلروپسیس و پودر کلرلا بیشتر است. این نتایج بیانگر آن است که جلبک ایزوکرایسیس گالبانا رشد بیشتری را در روتیفرهای *B. plicatilis* ایجاد کرده است. نتایج مشابه تحقیق حاضر توسط دیگر محققان بر روی گونه‌های خانواده Brachionidae به عنوان مثال *Anoraeopsis*، *Keratella*، *Nothocla* و *Brachionus* به دست آمده است (Peredo-Álvarez et al. 2003). همچنین عنوان شده است که غذای ناکافی میزان رشد و هم‌آوری روتیفر آب شیرین *B.calyciflorus* را کاهش می‌دهد (احمدی فرد و همکاران، ۱۳۸۷). Sarma و Rao (۱۹۹۱) بیان کردند که در روتیفرها و سخت‌پوستان پلانکتونی رابطه مثبتی بین هم‌آوری و میزان غذا وجود دارد. Sayegh و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تراکم روتیفرهای *B. plicatilis* در صورت تغذیه با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا ۳۰-۱۰٪ بیش از روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس بود. کیفیت غذایی جلبک و قابلیت هضم سلول به وسیله روتیفرها می‌تواند عوامل تأثیرگذاری بر الگوی رشد پلانکتون‌های جانوری مورد آزمایش باشد (Vanni and Lampert, 1992; Lucía-Pavón et al. 2001). از آنجا که هر دو جلبک ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس در محیط کشت یکسان تحت شرایط مشابهی استفاده کردند، انتظار می‌رود تفاوت معنی‌داری در ارزش غذایی آنها وجود نداشته باشد، ولی به هر حال اگر از نظر وراثتی در ارزش غذایی، از جمله پروتئین یا محتوای اسید چرب این گونه‌های جلبکی تفاوت وجود داشته باشد، می‌تواند در افزایش تراکم جمعیتی و نرخ رشد روتیفرها تأثیرگذار باشد. کمترین تراکم در روتیفرهای تغذیه شده با پودر جلبک کلرلا به دست آمد و به نظر می‌رسد شکل پودری جلبک و ته‌نشین شدن آن در میزان تغذیه روتیفرها تأثیرگذار است. در پژوهش حاضر، بیشینه تراکم (حدود ۵۱۹ عدد در میلی‌لیتر) در روتیفرهای تغذیه شده با غلظت ۵×۱۰^۶ cells/mL جلبک ایزوکرایسیس گالبانا به دست آمد. جهت مطالعه در زمینه کشت تک‌گونه‌ای روتیفر، عواملی مانند بیشینه تراکم روتیفر، مدت زمان بیشینه شدن جمعیت و نرخ افزایش جمعیت به ازای روز، از متغیرهای مهمی هستند که به تغییرات شرایط و مواد مغذی محیط کشت حساس هستند (Sarma et al. 2005). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که نرخ رشد جمعیتی یا SGR متغیری حساس بوده و تحت تأثیر عوامل زیستی و غیر زیستی قرار دارد (Flores-Burgos et al. 2003). میزان SGR مشاهده شده برای روتیفر *B. plicatilis* در مطالعه حاضر بین ۰/۱۶ تا ۰/۵۷ بر حسب نوع جلبک متغیر بود که این میزان در دامنه نرخ رشد ویژه مشاهده شده برای بیشتر پلانکتون‌های جانوری است (Sarma et Abedian-Kennari et al. 2008 al. 2001). بیشترین نرخ رشد ویژه در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا مشاهده شد که به طور معنی‌داری از دو تیمار جلبکی نانوکلروپسیس و پودر کلرلا بیشتر بود. در مطالعه حاضر روتیفرهای تغذیه شده با جلبک ایزوکرایسیس گالبانا نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس و پودر کلرلا نرخ رشد بیشتری داشتند. نرخ رشد روتیفر آب شور *B. plicatilis* و *B. Rotundiformes* به ترتیب ۱/۱۵-۰/۲۳ و ۱/۳۷-۰/۵۴ تعیین شد (Støttrup and McEvoy, 2008).

ترکیبات بیوشیمیایی روتیفر

کیفیت تغذیه‌ای روتیفرها توسط جیره غذایی آنها قابل تغییر است (Watanabe et al. 1983). جیره غذایی بر نرخ تولیدمثل روتیفرها، محتوای پروتئین، چربی و کربوهیدرات آنها تأثیرگذار است. محتوای پروتئین روتیفرها با افزایش جیره غذای ۸۰-۶۰٪ افزایش پیدا می‌کند، ولی پروفایل اسیدهای آمینه روتیفرها تحت تأثیر جیره غذایی و نوع غذای فراهم شده نیست (Scott and Baynes, 1978; Lubzens et al. 1989). بیشترین میزان پروتئین (۶۱/۵٪) در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا به دست آمد که به طور معنی‌دار بیش از روتیفرهای تغذیه شده از جلبک‌های ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس بود. محتوای پروتئین در روتیفرها از ۶۳-۲۸٪ متغیر است (Frolov and Pankov, 1992; Carić et al. 1993; Fernández-Reiriz et al. 1993; Makridis and Olsen, 1999). در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان پروتئین روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس مشاهده نشد. میزان پروتئین جلبک‌های ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس به ترتیب ۳۰٪ و ۳۵٪ گزارش شده است (Brown et al. 1997). بنابراین، نتایج نشان می‌دهد که میزان پروتئین در جلبک کلرلا به مراتب بیش از جلبک‌های ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس است. نتایج پژوهش حاضر مبنی بر بهتر بودن این جلبک از نظر محتوای پروتئینی برای تغذیه روتیفر می‌باشد.

محتوای چربی روتیفرها به طور معمول بین ۲۸-۹٪ درصد وزن خشک متغیر است (Lubzens et al. 1989; Brown et al. 1997) که تأثیر بسزایی روی رشد و بقای لارو ماهیان دریایی دارد. حدود ۴۳-۳۴٪ چربی روتیفر را فسفولیپیدها و ۵۵-۲۰٪ را تری گلیسرول‌ها به همراه مقدار کمی از مونوگلیسرول‌ها، دی گلیسرول‌ها، استرول‌ها، استرول استرها و اسیدهای چرب تشکیل می‌دهند (Rainuzzo et al. 1989). میزان چربی جلبک‌های ایزوکرایسیس گالبانا، نانوکلروپسیس و پودر کلرلا به ترتیب ۲۳٪، ۱۸٪ و ۲۲-۱۴٪ گزارش شده است (Brown et al. 1997). با توجه به نتایج به دست آمده، بیشترین میزان چربی در روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس گالبانا به دست آمد که به طور معنی‌داری بیش از چربی روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس و پودر جلبک کلرلا بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که میزان چربی روتیفرها تحت تأثیر نوع جلبک بود. تفاوت معنی‌داری در میزان چربی روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس و پودر جلبک کلرلا مشاهده نشد که به نظر می‌رسد ناشی از میزان چربی پایین جلبک‌ها بوده است.

پروفایل اسید چرب

ارزش غذایی گونه‌های مختلف پلانکتون‌های گیاهی متفاوت بوده و به ترکیب اسیدهای چرب ضروری آنها مرتبط است (Brown et al. 1997; Shin et al. 2003). ترکیب اسید چرب غذا (جلبک) برای رشد روتیفرهای جنس *Brachionus* بسیار حائز اهمیت بوده و به ویژه نرخ رشد روتیفر به میزان اسیدهای چرب دارای زنجیره بلند (HUFA) غذای آنها بستگی دارد (Lubzens et al. 1989). تحقیقات نشان داده که میزان کل HUFA در روتیفر *B. plicatilis* تغذیه شده با چهار غلظت بالای کلرلای آب شور (cells/mL $۱۲/۵\times۱۰^{۶}$، ۲۵، ۳۷/۵ و ۴۰) با افزایش تراکم غذا افزایش یافت (Sarma and Rao, 1991). بررسی پروفیل اسید چرب روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا نشان داد که اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک به ترتیب ۱۶/۲۴۸ و ۱۵/۱۴۵ درصد از مهم‌ترین اسیدهای چرب بوده که درصد بیشتری از اسیدهای چرب را به خود اختصاص داده‌اند (Abedian-Kennari et al. 2008). علاوه بر این، جلبک کلرلا حاوی ۳/۲۴۱٪ از اسید چرب زنجیره بلند EPA است. اسیدهای چرب با زنجیره بلند برای رشد و بالا بردن ارزش غذایی روتیفرها مورد نیاز است (Rodrıguez et al. 1998). به طور کلی پروفیل اسید چرب نشان داد که میزان اسیدهای چرب با زنجیره بلند (EPA) در روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس بیش از روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس و کلرلا بود و مطالعات نشان داده‌اند که روتیفر براکیونوس به EPA و DHA و به طور کلی به اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیره بلند برای رشد نیاز دارند. از آنجا که اسیدهای چرب آراشیدونیک، لینولنیک و دوکوزاهگزونیک در روتیفرهای تغذیه شده با ایزوکرایسیس و اسید ایکوزاپنتانوئیک در روتیفرهای تغذیه شده با نانوکلروپسیس بیش از اسید چرب روتیفرهای تغذیه شده

با پودر جلبک کلرلا است، لذا جلبک‌های ایزوکرایسیس و نانوکلروپسیس از کیفیت بهتر یا ارزش غذایی بالاتری برخوردار هستند. تحقیقات نشان می‌دهد که گونه *B. plicatilis* قادر به ساختن اسیدهای چرب بلند زنجیره از اسیدهای چرب کوتاه زنجیره بوده و یا با تأمین آنها از غذا، تجمع مقادیر جزئی این اسید چرب در بدن روتیفر رخ می‌دهد (Ben-Amotz et al. 1987). Lubzens و همکاران (۱۹۸۵) بیان کردند که روتیفرها می‌توانند از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، اسیدهای چرب با زنجیره بلند بسازند. برخی از محققین گزارش نموده‌اند که ماهیان آب شور قادر به ساخت اسیدهای چرب چند غیر اشباع نیستند (Kanazawa et al. 1979)، در حالی که روتیفرها می‌توانند مقادیر کمی از PUFAn-3 را بسازند (Lubzens et al. 1985).

بنابراین، این اسیدهای چرب با تغذیه از روتیفرها برای تأمین نیاز لارو برآورده می‌شود. نتیجه آنکه نوع غذا و غلظت‌های مورد استفاده می‌تواند در کیفیت روتیفرها به خصوص در ترکیب اسیدهای چرب آنها مؤثر بوده و این موضوع از لحاظ استفاده از این نوع غذای زنده در تغذیه لاروی آبزیان بسیار مهم است.

در تحقیق حاضر که از جلبک خشک کلرلا در مقایسه با دیگر جلبک‌ها برای بررسی عوامل رشد و ترکیبات بدنی استفاده شد، نشان داد که جلبک خشک موجود در کشور که برای غذای دام تولید می‌شود، با این شرایط تهیه و آماده‌سازی این جلبک، توانایی جایگزینی با جلبک‌های تازه را ندارد و نیازمند تحقیقات بیشتری در این زمینه است.

منابع

احمدی، ا.، احمدی فرد، ن. ۱۳۹۳. تأثیر غلظت‌های مختلف جلبک *Tetraselmis suecica* بر شاخص‌های تولیدمثلی روتیفر *Brachionus plicatilis* مجله علوم و فنون شیلات ۴: ۹۳-۹۶.

احمدی فرد، ن. عابدیان کناری، ع. فلاحی کپورچالی، م. ۱۳۸۷. اثر مقدار و نوع غذای جلبکی بر اندازه بدن و تخم جمعیت روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus*) تالاب انزلی. مجله زیست شناسی ایران ۳: ۳۸۲-۳۹۳.

عبدالهی فینی ح.، یحیوی، م. ۱۳۹۲. تأثیر دما و تغذیه جلبکی بر تراکم روتیفر *Brachionus plicatilis* در شرایط آزمایشگاهی. مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر ۲: ۴۳-۵۰.

کرمی فر، س.، آذری‌تاکامی، ق.، خارا ح .، حافظیه م. ۱۳۹۱. مقایسه درصد اسیدهای چرب در ناپلیوس آرتمیا غنی‌سازی شده به وسیله دو نوع جلبک نانوکلروپسیس اکولاتا و ایزو کرایسیس گالبانا، نشریه بهره برداری و پرورش آبزیان، ۱: ۴۵-۵۶.

Abedian-Kennari, A., Ahmadifard, N., Seyfabadi, J., Kapourchali, M.F. 2008. Comparison of growth and fatty acids composition of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, fed with two types of microalgae at different concentrations. Journal of the World Aquaculture Society 39: 235-242.

AOAC. 1990. Association of official analytical chemists, official methods of analysis, 15 ed. Arlington, VA, USA.

Ben-Amotz, A., Fishler, R., Schneller, A. 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids. Marine Biology 95: 31-36.

Brown, M., Jeffrey, S., Volkman, J., Dunstan, G. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture 151: 315-331.

Carić, M., Sanko-Njire, J., Skaramuca, B. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller). Aquaculture 110: 141-150.

Coutteau, P., Sorgeloos, P., Howell, B., Olsen, Y., Iglesias, J. 1995. Intercalibration exercise on the qualitative and quantitative analysis of

fatty acids in Artemia and marine samples used in mariculture. International Council for the Exploration of the Sea., Copenhagen, Denmark, p 32.

Dhert, P., Rombaut, G., Suantika, G., Sorgeloos, P. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. Aquaculture 200: 129-146.

Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U., Ferreiro, M. 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture 112: 195-206.

Flores-Burgos, J., Sarma, S., Nandini, S. 2003. Population growth of zooplankton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica 31: 240-248.

Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal Biological Chememistry 226: 497-509.

Frolov, A., Pankov, S. 1992. The effect of starvation on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 72: 343-356.

Gilbert, J.J. 1985. Competitionbetween rotifers and Daphnia. Ecology 6: 1943-1950.

Godet, S., Loiseau, C., Pencreac'h, G., Ergan, F., Hérault, J. 2010. Isolation and sequence analysis of a cDNA encoding a novel putative esterase from the marine microalga *Isochrysis galbana* (prymnesiophyceae, haptophyta). Journal of Phycology 46: 679-684.

Hamre, K., Srivastava, A., Rønnestad, I., Mangor-Jensen, A., Stoss, J. 2008. Several micronutrients in the rotifer *Brachionus sp.* may not fulfil the nutritional requirements of marine fish larvae. Aquaculture Nutrition 14: 51-60.

Kanazawa, A., Teshima, S.-I., Ono, K. 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. Comparative Biochemistry and Physiology 63B: 295-298.

Kandilian, R., Lee, E., Pilon, L. 2013. Radiation and optical properties of *Nannochloropsis oculata* grown under different irradiances and spectra. Bioresource Technology 137: 63-73.

Kim, S.M., Kang, S.-W., Kwon, O.-N., Chung, D., Pan, C.-H. 2012. Fucoxanthin as a major carotenoid in *Isochrysis aff. galbana*: Characterization of extraction for commercial application. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry 55: 477-483.

Krebs, C.J. 1995. Two paradigms of population regulation. Wildlife Research 22: 1-10.

Lavens, P., Sorgeloos, P. 1987. The cryptobiotic state of Artemia cysts, its diapause deactivation andhatching: a review. In: Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W., Jaspers, E. Eds.., Artemia Research inits Applications, Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, 27-63.

Lubzens, E., Marko, A., Tietz, A. 1985. De novosynthesis of fatty acids in the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 47: 27-37.

Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G. 1989. Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia 186: 387-400.

Lucía-Pavón, E., S-Sarma, S., Nandini, S. 2001. Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). International Journal of Tropical

Biology and Conservation 49: 895-902.

Makridis, P., Olsen, Y. 1999. Protein depletion of the rotifer *Brachionus plicatilis* during starvation. Aquaculture 174: 343-353.

Peredo-Álvarez, V.M., Sarma, S., Nandini, S. 2003. Combined effect of concentrations of algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). International Journal of Tropical Biology and Conservation 51: 399-408.

Rainuzzo, J.R., Olsen, Y., Rosenlund, G. 1989. The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 79: 157-161.

Rezeq, T., James, C. 1987. Production and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed marine *Chlorella sp*. at different cell densities. In: Rotifer Symposium IV, Springer, 257-261.

Rodrıguez, C., Pérez, J., Badıa, P., Izquierdo, M., Fernández-Palacios, H., Hernández, A.L. 1998. The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae when using an appropriate DHA/EPA ratio in the diet. Aquaculture 169: 9-23.

Sarma, S., Gulati, R., Nandini, S. 2005. Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. In: Rotifera X, Springer. 361-373.

Sarma, S., Larios Jurado, P.S., Nandini, S. 2001. Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). Revista de Biología Tropical 49: 77-84.

Sarma, S., Rao, T.R. 1991. The Combined Effects of Food and Temperature on the Life History Parameters of *Brachionus patulus* MULLER (Rotifera). Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie 76: 225-239.

Sayegh, F.A., Radi, N., Montagnes, D.J. 2007. Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*? Aquaculture 273: 665-678.

Scott, A.P., Baynes, S.M. 1978. Effect of algal diet and temperature on the biochemical composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 14: 247-260.

Shin, K., Jang, M.-C., Jang, P.-K., Ju, S.-J., Lee, T.-K., Chang, M. 2003. Influence of food quality on egg production and viability of the marine planktonic copepod *Acartia omorii*. Progress in Oceanography 57: 265-277.

Snell, T.W., Carrillo, K. 1984. Body size variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Aquaculture 37: 359-367.

Støttrup, J., McEvoy, L. 2008. Live feeds in marine aquaculture. John Wiley & Sons, 459P.

Suchar, V.A., Chigbu, P. 2006. The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurelladicentra*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 337: 96-102.

Vanni, M.J., Lampert, W. 1992. Food quality effects on life history traits and fitness in the generalist herbivore Daphnia. Oecologia 92: 48-57.

Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture 34: 115-143.

The effect of dried algae (powdered chlorella) on growth factors and body composition of rotifer *Brachionus plicatilis* in comparison of fresh algae (*Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata*)

Ahmad Ahmadi[1], Nasrollah Ahmadifard[*1], Ebrahim Hosain Najd-Gerami[2]
1- Department of Fisheries and Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Iran
2- Department of Botany, Faculty of Science, Urmia University, Iran

Received 11 April 2015; accepted 31 May 2015

Abstract
Various researches have proved that growth and biochemical content of rotifers can be affected by type and concentration of food. Microalgae as a source of food are essential for the rotifer rearing, especially for its growth, survival, protein, lipid and fatty acids contents. The present study was carried out to compare the effects of dried algae (powdered chlorella) (equivalent weight of fresh algae) on growth factor, and proximate body composition of rotifer *Brachionus plicatilis* in comparison with fresh algae (*Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata*) at 5×10^6 cells/mL. Rotifers were cultured in standard conditions in 500 mL plastic containers with initial density of 30 ind/mL. The results showed that the population growth rate of rotifers fed with *I. galbana* (5×10^6 cells/mL) was higher than the treatments fed with the chlorella powder and *N. oculata* ($P<0.05$). High specific growth rate was in treatment fed with *I. galbana* ($P<0.05$), while the lowest was in rotifers fed with powdered chlorella. The protein and lipid contents were significantly higher in rotifers fed with chlorella powder and *I. galbana*, respectively. The highest DHA and DHA/EPA were significantly found in treatments fed with *I. galbana*, while the high amount of EPA was significantly showed in treatment fed with *N. oculata*. The present study showed that fresh algae can be better to create growth in marine rotifer than chlorella powder.

Keywords: *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, Powder chlorella, Growth, Reproduction, Marine rotifer

*Corresponding author: N.ahmadifard@urmia.ac.ir