در
امور دام و آبزیان شماره ۸۱ زمستان ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

اثر غلظت های مختلف جلبک سبز Chlorella sp بر رشد و ترکیب اسیدهای چرب روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* تالاب انزلی آلودگی

• **نصراله احمدی فرد**
کارشناسی ارشد رشته شیلات دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس
• **عبدالمحمد عابدیان کناری**
استادیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس
• **مریم فلاحی کپورچالی**
عضو هیئت علمی پژوهشکده آبزی پروری(آبهای داخلی) انزلی
تاریخ دریافت: آبان ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۶
Email: nasrollah@yahoo.com

چکیده

در سال های اخیر استفاده از روتیفرها به عنوان غذای زنده برای پرورش لارو ماهیان و سخت پوستان از اهمیت بالائی برخوردار بوده است. کیفیت غذایی و تراکم روتیفرها به عنوان فاکتورهای مهم در تغذیه لاروی ماهیان محسوب می گردد. در این پژوهش اثر ۳ غلظت مختلف جلبک سبز (10^5 ، 10^6، 10^7 Chlorella sp. cell/ml) بر رشد و ترکیب اسیدهای چرب روتیفرهای تولید شده در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. کشت روتیفرها در محیط غذایی EPAداخل بالن های ۱ لیتری براساس شرایط استاندارد صورت گرفت. تراکم اولیه روتیفرها در تیمارهای مختلف ۳۰ عدد در میلی لیتر بود. غلظت های غذایی آزمایش شده اثر معنی داری بر رشد روتیفرها در مدت زمان آزمایش(۱۰ روز) داشت($P < 0/05$). حداکثر تراکم روتیفر *Brachionus calyciflorus* در غلظت های غذایی cell/ml 10^5، 10^6 و 10^7 به ترتیب ۸ ±۱۰۸، ۴۷± ۴۸۹ و۵۱ ±۴۹۳ روتیفر در هر میلی لیتر بعد از ۵ روز پرورش رسید. در غلظت های غذایی cell/ml 10^5 و 10^6 از روز ششم به بعد تا روز آخر تراکم رو به کاهش بود در حالی که در غلظت غذایی cell/ml10^7 در پایان دوره حداکثر تراکم ۴۷± ۱۸۲۰ عدد در میلی لیتر حاصل شد. میانگین نرخ رشد در غلظت های فوق به ترتیب ۰/۲۲، ۰/۵۲ و۰/۵۷ به ازای هر روز بدست آمد. روتیفرهای تغذیه شده با غلظت های مختلف (10^5،10^6، 10^7 cell/ml) حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب لینولئیک (به ترتیب ۱۶/۷۴ ، ۱۶/۲۴۸ و ۳۹۲ /۱۷ درصد) و لینولنیک (به ترتیب ۱۱/۹۲۳، ۱۵/۱۴۵ و ۱۹/۶۶۲ درصد) بودند. هم چنین با افزایش غلظت غذا از اسیدهای چرب تک غیر اشباعی کاسته شده و بر میزان اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و مجموع اسیدهای چرب n-۳ افزوده شد. با توجه به نتایج حاصله مشخص گردید که گونه فوق درمقایسه با سایر گونه های جنس براکیونوس از سرعت رشد خوبی برخوردار بوده و در زمان مورد نیاز می توان با فراهم نمودن غلظت غذای مورد نظر به روتیفرهای با تراکم بالا و هم چنین با ارزش غذایی بهتر دست یافت.

کلمات کلیدی: روتیفر *Brachionus calyciflorus*، جلبک Chlorella sp،رشد، ترکیب اسید چرب، تالاب انزلی

Pajouhesh & Sazandegi No 81 pp: 52-58

Effects of different concentration of green algae (Chlorella sp.) on growth and fatty acid composition of fresh-water rotifer, *Brachionus calyciflorus*, of Anzali Lagoon

By: N. Ahmadifard, Student of Faculty of Natural Resources and Marine Science, Tarbiat Modares University, A. Abedian Kenari, Assistant Professor of Tarbiat Modares University, M. Fallahi Kaporchali, Aquaculture Institute of Inland Waters, Bandar Anzali.

In recent years the importance of rotifers as live food in aquaculture for rearing larval fish and crustaceans has been emphasized. The nutritional value and density of rotifers are important factors in nutrition of fish larval. In this study, effects of 3 concentration of green algae Chlorella sp. (0.1×10^6, 1×10^6 and 10×10^6cell/ml) on growth and fatty acid composition on laboratory condition was investigated. Rotifers were cultured with primary density 30 ind. /ml. and EPA medium in 1l balloons at standard method conditions. At different treatments experimented concentrations had significant effect on rotifers growth using experiment period (10 days) ($p<0.05$). Maximum rotifer density at 0.1×10^6,1×10^6 and 10×10^6cell/ml concentrations reached 108±8, 489±47 and 493±51ind./ml after 5 days respectively. At concentrations 0.1×10^6 and 1×10^6, density was decreasing from day 6 to last day of experiment. At concentration 10×10^6cell/ml, maximum density was attained in the last day. Mean growth rate at mentioned concentrations was 0.18, 0.42 and 51per day respectively. Rotifers fed different concentration of Chlorella had high amount of linoleic acid (16.74, 16.24 and 17.39 %, respectively) and linonenic acid (11.92, 15.14 and 19.66 %, respectively). With increasing of algae density, the profiles of fatty acid rotifers fed 3 concentration of Chlorella sp. showed increasing of highly unsaturated fatty acid (HUFA) and n-3 fatty acid and decreasing of saturated fatty acid (SFA). Results showed that this species has a suitable rate of growth and nutrition value in comparison with other species of Brachionus genus and when high density of rotifer is expected, we can reach this density with preparing mentioned nutritional densities.

Keywords: Chlorella sp., Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, Growth, Fatty acid composition, Anzali wetland

مقدمه

روتیفرها برای کشت لارو بیشتر گونه های ماهی به عنوان غذای ارزش مند شناخته شده است. چندین خصوصیات از روتیفرها از جمله اندازه خیلی کوچک و شنای آرام باعث شده که آنها را به عنوان طعمه مناسب برای لاروهای فعال معرفی کنند(۱۰). روتیفرها بر روی انواع مختلفی از غذاها تغذیه می کنند و نوع غذای انتخابی آنها به فاکتورهای زیادی بستگی دارد. به طور معمول ارتباط خوبی بین فراوانی روتیفر و غلظت فیتو پلانکتون ها وجود دارد(۳). بر اساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که براکیونوس ها بطور معمول از ذرات غذایی تا ۲۰ میکرون تغذیه می کنند و تناسبی بین اندازه بدن روتیفر و اندازه ذرات غذایی وجود دارد(۲ ، ۵). مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که براکیونوس ها با افزایش تراکم غذا تا یک حد مشخص مصرف جلبک زیادتری داشته ولی افزایش بیش از آن مقدار، اثر مثبتی ندارد و حتی ممکن است با مسدود کردن کرونا و ماستاک اثرمنفی داشته باشد(۲۱). بین گروه های جلبکی مختلف، جلبک سبز کلرلا برای تغذیه و رشد زئو پلانکتون ها به طور گسترده ای استفاده می شود(۳ ، ۱۸). کلرلا به دلیل اندازه مناسب (۵-۴ ~ میکرون) و فقدان زوائد ممانعت کننده تغذیه ای به عنوان غذای مناسب شناخته شده است(۱۶). همچنین کلرلا از سرعت تکثیر بالایی برخوردار بوده(۱۲) و از نظر ارزش غذایی (به عنوان مثال پروتئین و محتوی اسید چرب) (۴) قابل توجه می باشد. در این مطالعه سعی شده است تا اثر غلظت های مختلف جلبک .Chlorella sp بر میزان رشد و ترکیب اسید های چرب روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش کار

کشت جلبک

جلبک .Chlorella sp در پژوهشکده آبزی پروری انزلی از تالاب انزلی جداسازی شده بود. کشت جلبک ابتدا در ارلن های مایرهای ۵۰۰ میلی لیتری سپس برای تولید انبوه از کیسه های پلاستیکی با گنجایش ۷ لیتر استفاده گردید. هوادهی مداوم کشت ها با استفاده از یک پمپ هوا صورت گرفت. درجه حرارت اتاق کشت برای تولید جلبک دمای ۱± ۲۵ سانتی گراد بوده و برای تامین نیاز روشنایی جلبک ها از ۴ لامپ فلورسانت ۴۰ واتی استفاده گردید که شدت نور در سطح کشت هارا به ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس رساند. در تمام کشت ها از محیط کشت زایندر مثبت (۱۴) استفاده شد. برداشت جلبک جهت تغذیه روتیفرها در

اواسط مرحله رشد لگاریتمی صورت گرفت. برای آماده سازی استوک اصلی جلبک ابتدا جلبک ها تغلیظ شده و سپس با استفاده از محیط کشت EPA تا تراکم 30×10^{6} cell/ml رقیق سازی شدند(۲۱). برای تخمین تراکم جلبک استوک از لام نئوبار استفاده گردید.

جداسازی و کشت روتیفر

روتیفر *Brachionus calyciflorus* از تالاب انزلی در پاییز ۸۴ جداسازی و در شرایط آزمایشگاهی مورد کشت قرار گرفت. مرحله آغازین کشت این روتیفر با استفاده از لوله های آزمایش ۲۰ میلی لیتری انجام گرفت. ۴ عدد روتیفر ماده حامل تخم به هر لوله آزمایش که حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت EPA و جلبک Chlorella sp با تراکم 1×10^{6} cell/ml بود ، اضافه گردید. تغذیه روتیفرها با جلبک کلرلا تا زمانی که تراکم روتیفر به ۱۰۰ عدد در هر میلی لیتر رسید انجام گرفت. ادامه تولید در ارلن مایر های ۱۰۰ میلی لیتری ، ۱ و ۲ لیتری انجام گرفت. نمونه های جداسازی شده تا زمان شروع آزمایش با جلبک سبز کلرلا تغذیه شدند. روتیفرها درآب سخت EPA کشت شدند. محیط کشت EPA با حل کردن ۹۶mg بی کربنات کلسیم، ۶۰ mg سولفات کلسیم، ۶۰mg سولفات منیزیم و ۴mg کلرید پتاسیم در یک لیتر آب مقطر آماده گردید(۱).

در این آزمایش اثر غلظت های مختلف جلبک سبز Chlorella sp بر رشد روتیفر مورد بررسی قرار گرفت. بعد از کشت و آماده سازی جلبک فوق، ذخیره اصلی آن جهت انجام آزمایش در یخچال در دمای ۴ سانتی گراد نگهداری شد. برای انجام آزمایش ۹ بالن ۱ لیتری (۳ تیمار جلبکی و از هر کدام ۳ تکرار) حاوی محیط کشت EPA به همراه جلبک با غلظت های مختلف (10^{5} و 10^{6} و 10^{7} cell/ml) استفاده گردید. به هر یک از بالن ها مخلوطی از جمعیت های روتیفر (روتیفرهای بالغ تخم دار و جوان بدون تخم) با تراکم ۳۰ عدد در میلی لیتر معرفی گردید. برای آزمایش از دمای استاندارد ۲±۲۵ سانتی گراد، pH ۷/۲ تا ۷/۵ ، شدت روشنایی ۳۲۰۰-۲۸۰۰ لوکس (با استفاده از ۴ لامپ مهتابی ۲۰ وات در فاصله ۴۰ سانتی متری) و دوره نوری ۱۶:۸ (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) استفاده گردید(۲۶). در طول آزمایش بصورت یک روز در میان بعد از شمارش، روتیفرها با استفاده از توری پلانکتونی ۵۰ میکرون به محیط کشت جدید انتقال داده شد. روزانه با افزودن جلبک تازه تراکم آنها در محیط های کشت تقریبا ثابت نگه داشته شد. این آزمایش در مدت زمان ۱۰ روز انجام گرفت.

تخمین میزان رشد

برای بررسی میزان رشد روتیفر، هر روز ۱ تا ۲ میلی لیتر از نمونه آب حاوی روتیفر با استفاده از میکروپیپت نمونه برداری و ۲ قطره لوگل به آن اضافه تا نمونه ثابت و سپس روتیفرها با استفاده از لام بوگاروف در زیر میکروسکوپ شمارش شدند. با استفاده از معادله ۱ میزان رشد ویژه SGR یا (Specific Growth Rate) محاسبه شد(۸).

$$r\ LnNt - LnN0)/t$$ =(معادله ۱)

Specific growth rate = r

Nt = تراکم نهایی روتیفر بعد از دوره پرورش (برحسب تعداد در میلی لیتر)

N۰= تراکم اولیه روتیفر (برحسب تعداد در میلی لیتر)

t= دوره پرورش (۱۰ روز)

تعیین ترکیب اسیدهای چرب

برای تعیین اسید های چرب، نمونه های ۳ تکرار هر تیمار با هم مخلوط شده و سپس با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم اسیدهای چرب روتیفرهای تغذیه شده با غلظت های مختلف جلبک استخراج شدند(۶). برای آنالیز اسید های چرب نمونه ها از دستگاه گاز کروماتوگرافی(G^{c}) مدل DANI ۱۰۰۰ استفاده شد. ستون کاپیلاری مورد استفاده برای تشخیص ۳۰ متری استفاده بود. دمای تزریق در ۲۵۰ درجه سانتیگراد و دمای آشکار ساز FID روی ۲۶۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردید. دمای آون از ۱۰۰ درجه سانتیگراد شروع شده و پس از ۳ دقیقه توقف در این دما با سرعت ۳۰ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش یافته و به دمای ۱۸۳ درجه رسید. دمای آون در این مرحله به مدت ۱۰ دقیقه ثابت شده و سپس با سرعت ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه افزایش یافته و به ۲۲۰ درجه رسید و تا پایان آنالیز در آن دما باقی ماند.

آنالیز آماری

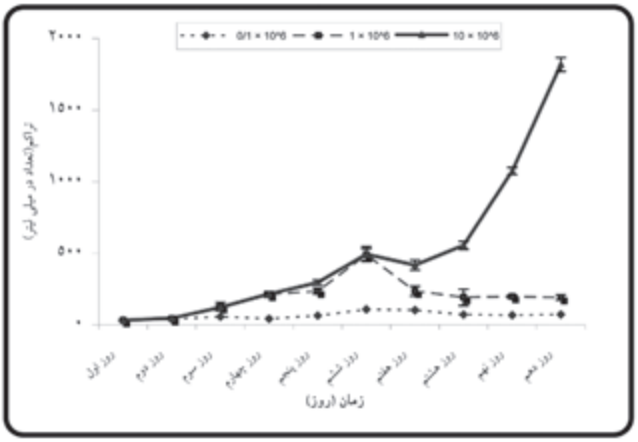
برای آنالیز ابتدا نرمالیته داده ها بررسی شد. در صورت نرمال نبودن، داده ها نرمال شدند. از آنالیز واریانس یک طرفه برای بررسی داده ها و از آزمون دانکن برای بررسی اختلاف بین میانگین ها استفاده گردید. آنالیز آماری با استفاده Spss11.5 انجام گرفت.

نتایج

بررسی میزان رشد

منحنی رشد جمعیت روتیفرها در سه تیمار غذایی مختلف کلرلا در نمودار ۱ نشان داده شده است. حداکثر تراکم جمعیت روتیفرها به طور معنی داری ($p<0/05$) تحت تاثیر انواع غلظت‌ها بود (نمودار ۲). به طور معمول در غلظت های غذایی 10^{6} cell/ml و 10^{5} cell/ml روتیفرها در روز ششم به حداکثر تراکم خود رسیدند در حالی که در غلظت غذایی 10^{7} cell/ml تا روز دهم تراکم همچنان رو به افزایش بود. در تراکم غذایی 10^{5} cell/ml و 10^{6} cell/ml جلبک کلرلا روتیفرها به ترتیب به حداکثر تراکم ۸/۷± ۱۰۸ و ۴۱/۱±۴۸۹ عدد در هر میلی لیتر رسیدند. درصورتی که در غلظت غذایی 10×10^{6} cell/ml روتیفر در روز دهم به حداکثر تراکم ۴۷/۷±۱۸۲۰ عدد در میلی لیتر رسید (نمودار۱).

روز به حداکثر رسیدن تراکم روتیفرها در غلظت‌های غذایی 10^{5} cell/ml و 10^{6} cell/ml تفاوت معنی داری نداشت($p>0/05$) در حالی که غلظت غذایی 10^{7} cell/ml اثر معنی داری از لحاظ روز به حداکثر رسیدن تراکم روتیفرها نسبت به غلظت دیگر داشت($p<0/05$).



نمودار ۱) تراکم روتیفرهای تغذیه شده با غلظت های مختلف(cell/ml ۱۰^۵، ۱۰^۶ و ۱۰^۷) جلبک .Chlorella sp .

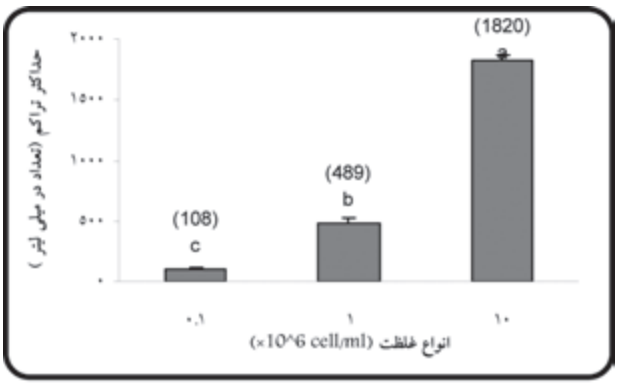
جدول ۱) نتایج آنالیز واریانس تراکم جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* تغذیه شده با غلظت های مختلف جلبک .Chlorella sp در طول دوره آزمایش (۱۰ روز)

منبع تغییرات (غلظت غذا درروزهای متفاوت)	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F
روز دوم	۸۰/۶۶۷	۴۰/۳۳۳	۲	۱/۵۵۸ns
روزسوم	۹۲۴۰/۲۲۲	۴۶۲۰/۱۱۱	۲	۱۴/۱۵۸**
روزچهارم	۵۹۱۸۴/۶۶۷	۲۹۵۹۲/۳۳۳	۲	۱۸۷/۰۳***
روز پنجم	۸۶۷۳۸/۸۸۹	۴۳۳۶۹/۴۴۴	۲	۱۲۵/۹۱***
روزششم	۲۹۴۱۷۲/۶۶۷	۱۴۷۰۸۶/۳۳۳	۲	۱۰۰/۲۳***
روز هفتم	۱۴۹۱۱۰/۸۸۹	۷۴۵۵۵/۴۴۴	۲	۸۹/۳***
روز هشتم	۳۸۱۲۳۰/۸۸۹	۱۹۰۶۱۵/۴۴۴	۲	۱۳۸/۳۱***
روز نهم	۱۸۰۵۱۰۵/۵۶	۹۰۲۵۵۲/۷۷۸	۲	۳۴۲۰/۲***
روز دهم	۵۷۲۷۵۷۲/۲۲	۲۸۶۳۷۸۶/۱۱	۲	۳۱۱۴/۷***

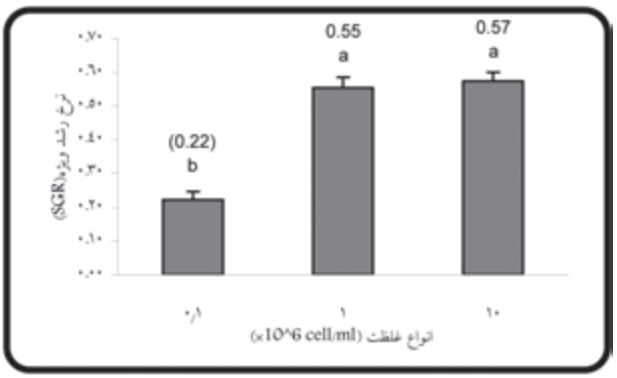
*** سطح معنی داری با درجه ۰/۰۰۱ >p

** سطح معنی داری با درجه ۰/۰۱ >p

ns عدم معنی داری



نمودار ۲) میانگین حداکثر تراکم روتیفرهای تغذیه شده با غلظت های مختلف (cell/ml ۱۰^۵، ۱۰^۶ و ۱۰^۷) جلبک .Chlorella sp.



نمودار ۳) میانگین نرخ رشد ویژه روتیفرهای تغذیه شده با غلظت های مختلف (ml/cell ۱۰^۵، ۱۰^۶ و ۱۰^۷) جلبک .Chlorella sp.

میانگین نرخ رشد(r) جمعیت روتیفرها بسته به نوع غلظت غذایی از ۰/۲۲±۰/۰۲ تا ۰/۵۷±۰/۰۳ متغیر بود. پایین ترین و بالاترین میزان رشد روتیفرها به ترتیب در غلظت های غذایی ۱۰^۵ cell/ml و ۱۰^۷ cell/ml جلبک کلرلا بدست آمد. میزان r بدست آمده در غلظت ۱۰^۵ cell/ml نسبت به دو تیمار دیگر تفاوت معنی داری داشت(p <۰/۰۵) در حالی که دو تیمار ۱۰^۶ cell/ml و ۱۰^۷ cell/ml تفاوت معنی داری در میزان رشد(r) روتیفرها نداشتند (p >۰/۰۵) (نمودار۳).

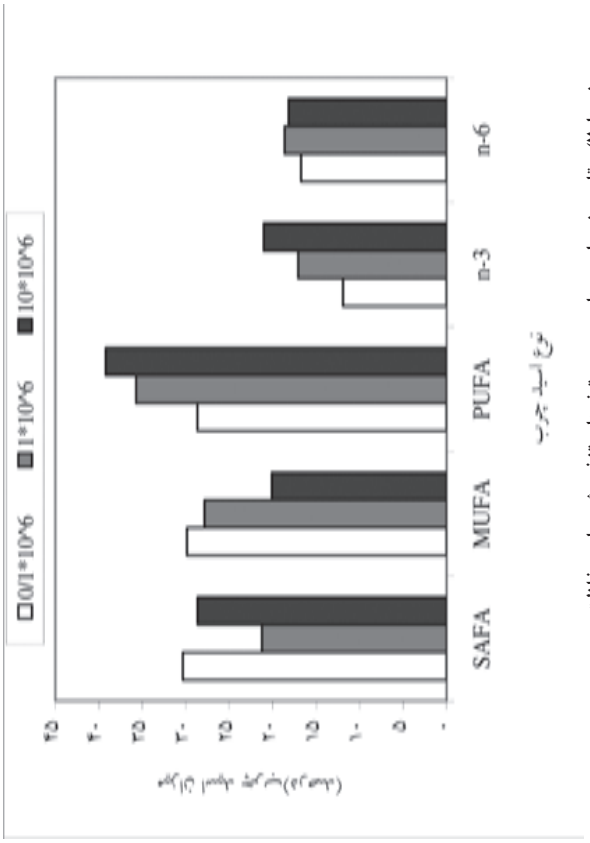
جدول ۲) نتایج آنالیز واریانس میزان رشد ویژه جمعیت روتیفر *B.calyciflorus* تغذیه شده با غلظت های مختلف (cell/ml ۱۰^۵، ۱۰^۶ و ۱۰^۷)جلبک .Chlorella sp در طول دوره آزمایش (۱۰ روز)

منبع تغییرات	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F
میانگین میزان رشد ویژه (r)	۰/۲۳۲	۰/۱۱۶	۲	۱۷۳/۸۵***

*** سطح معنی داری با درجه p <۰/۰۰۱

آنالیز پروفیل اسیدهای چرب

نتایـج آنالیز اسـیدهای چرب روتیفر تغذیه شـده با سـه غلظت مختلف (10^5 cell/ml، 10^6 و 10^7) جلبک کلرلا در جدول ۳ آورده شـده اسـت. بر اسـاس نتایج روتیفرهای تغذیه شده با غلظت 10^5 cell/ml جلبک کلرلا فاقد اسـیدهای چـرب ۶-n ۲:۲۰، ۳- ۳n:۲۰، ۶- n ۴:۲۰ و ۳- ۵n:۲۰ بودنـد در حالی که مقادیر بالایی از اسـیدهای چـرب لینولئیک و لینولنیک در بدن آنها مشـاهده شد. روتیفرهای تغذیه شده با غلظت 10^6 cell/ml جلبک کلرلا حـاوی اسـیدهای چـرب ۶-n ۲:۲۰، ۳- ۳n:۲۰، ۶- n ۴:۲۰ و ۳- ۵n:۲۰ بوده و میزان اسـید چرب لینولنیک بیشـتری نسـبت به تیمار قبلی بدسـت آمد. هم چنین میزان اسـیدهای چرب چند غیر اشـباعی در این تیمار نسبت به روتیفرهای تغذیه شـده با غلظت 10^5 cell/ml بیشـتر بود. در روتیفرهای تغذیه شـده با غلظـت 10^7 cell/ml جلبک کلرلا اسـیدهای چرب لینولئیک و لینولنیـک بالاترین درصد را داشـته و همچنین اسـیدهای چرب چند غیر اشـباعی بیشتری تجمع یافته اسـت. بر اساس نمودار ۷ با افزایش غلظت غذا میزان اسـیدهای چرب چند غیر اشـباعی(PUFA) و اسـیدهای چرب ۳-n افزایش یافته و از میزان اسیدهای چرب تک غیر اشباعی کاسته شد



نمودار ۷) مقایسه نوع اسید های چرب روتیفرهای تغذیه شده با سه غلظت مختلف (10^5، 10^6 و 10^7 cell/ml) جلبک .Chlorella sp

جدول۳) میزان پروفیل اسیدچرب روتیفر *B.calyciflorus* تغذیه شده با سه غلظت مختلف (10^5، 10^6 و 10^7 سلول در میلی لیتر) جلبک .Chlorella sp

میزان و نوع اسید چرب(٪)	*Chlorella sp.*	*B.calyciflorus* تغذیه شده با تراکم 10^5 سلول کلرلا در میلی لیتر	*B.calyciflorus* تغذیه شده با تراکم 10^6 سلول کلرلا در میلی لیتر	*B.calyciflorus* تغذیه شده با تراکم 10^7 سلول کلرلا در میلی لیتر
۱۴:۰۰	-	۳/۰۰۸	۱/۹۴۴	۲/۴۶۷
۱۴:۱n-۵	-	۱/۰۱۵	۱/۲۴۵	۱/۵۷۰
۱۵:۰۰	-	۰/۹۹۶	۱/۰۷۶	۰/۴۷۵
۱۵:۱	-	۱/۹۷۴	۰/۵۷۲	۱/۳۱۹
۱۶:۰۰	۴۳/۴	۱۹/۳۲۴	۱۱/۰۳۵	۱۸/۳۴۲
۱۶:۱n-۷	-	۲/۱۰۴	۳/۹۸۱	۱/۷۰۲
۱۷:۰۰	-	۰/۹۵۹	۱/۹۹۳	۱/۸۷۳
۱۷:۱n-۷	-	۲/۲۱۴	۲/۰۷۹	۳/۱۹۳
۱۸:۰۰	۳/۴	۶/۰۵۳	۵/۱۷۷	۵/۴۷۶
۱۸:۱n-۹	۶	۱۴/۳۲۲	۱۶/۵۷۴	۹/۷۹۱
۱۸:۱n-۷	-	۱/۳۶۵	nd	۰/۹۱۰
۱۸:۲n-۶	۱۱/۵	۱۶/۷۴۰	۱۶/۲۴۸	۱۷/۳۹۲
۱۸:۳n-۳	۲۰/۴	۱۱/۹۲۳	۱۵/۱۴۵	۱۹/۶۶۲
۲۰:۰۰	-	nd	nd	nd
۲۰:۱n-۹	-	۶/۸۶۶	۳/۳۸۴	۱/۶۰۹
۲۰:۲n-۶	-	nd	۰/۳۴۲	nd
۲۰:۳n-۳	-	nd	۰/۶۴۸	۰/۷۶۵
۲۰:۴n-۶	۳/۴	nd	۲/۰۴۱	۰/۷۹۱
۲۰:۵n-۳	-	nd	۱/۲۸۳	۰/۵۹۳
۲۲:۶n-۳	-	nd	nd	nd
مقدار کل(بر حسب درصد)		*۸۸/۸۷۰	*۸۴/۷۷۱	*۸۷/۹۳۸
∑SAFA	۴۵/۸	۳۰/۳۴۳	۲۱/۲۲۴	۲۸/۶۳۵
∑MUFA	۶	۲۹/۸۶۳	۲۷/۸۳۷	۲۰/۰۹۶
∑PUFA	۳۵/۳	۲۸/۶۶۳	۳۵/۷۰۹	۳۹/۳۰۵
∑n-3	۲۰/۴	۱۱/۹۲۳	۱۷/۰۷۷	۲۱/۰۳۱
∑n-6	۱۴/۹	۱۶/۷۴۰	۱۸/۶۳۲	۱۸/۱۸۴

* درصد بیان شده میزان اسیدهای چرب شناسایی شده می باشد
nd میزان اسیدهای چرب قابل تعیین نبود
SAFA: اسید های چرب اشباع، MUFA: اسیدهای چرب تک غیر اشباعی، PUFA: اسیدهای چرب چند غیر اشباعی

بحث

میزان رشد

در این آزمایش مشـخص شـد که با افزایش سـطح غذا تراکم روتیفر نیز افزایش یافت. چنین نتیجه‌ای در آزمایش سایر محققین برای چندین جنس از روتیفرهای خانواده Brachionidae به عنوان مثال Anoraeopsis (۳)، Keratella(۲۷)، Notholca(۱۳) و Brachionus(۵، ۱۱ ، ۱۷) بدسـت آمده اسـت. Sarma(۲۱) تاکید کرده که غذای ناکافی به طور قابل توجهی میزان هم آوری و متعاقب آن میانگین تولید مثل را کاهش می دهد هم چنین در روتیفرها و سـخت پوستان پلانکتونی بین هم‌آوری جمعیت های طبیعی و کمیت غذا ارتباط مثبتی وجود دارد.

برای مطالعات تک‌گونـه ای حداکثر تراکم روتیفر، مدت زمان به حداکثر رسـیدن تراکم و میـزان افزایش جمعیـت، متغیرهای مهمی هسـتند که به تغییرات محیط کشـت حساس می باشـند(۲۲). معمولاً با افزایش فراوانی غذا میزان رشد جمعیت روتیفرها افزایش می یابد(۳) که این امر در مطالعه حاضر

دیده می‌شود (نمودار ۱).

در این مطالعه از ۳ غلظت پایین، متوسط و بالا برای بررسی رشد روتیفر استفاده شد و بر اساس نتایج، اثر بازدارنده ای از غلظت های بالا بر رشد روتیفر یافت نشد که با نتایج Sarma و همکاران(۲۲) که روتیفر *B.calyciflorus* را در دامنه وسیعی از جلبک سبز سندسموس (cell/ml ۱۰^۶ × ۰/۵ تا ۱۰^۶ × ۴۰) پرورش دادند مطابقت دارد. با این حال میانگین حداکثر فراوانی جمعیت روتیفرها در مطالعه Sarma و همکاران(۲۲) دقیقا متناسب با سطوح غذایی نبود به طوریکه ابتدا با افزایش سطح غذا میزان رشد روتیفر بصورت خطی بوده ولی با افزایش بیش از آن میزان رشد دقیقاً خطی نبوده است در مطالعه حاضر حداکثر تراکم *B.calyciflorus*، بین ۸/۷± ۱۰۸(تیمار cell/ml ۱۰^۵) و ۴۷/۷±۱۸۲۰(تیمار cell/ml ۱۰^۷) بسته به سطح غذایی جلبک متغیر بود. Sarma و Rao (۲۰) از دو غلظت cell/ml ۱۰^۶ × ۰/۱ و ۱۰^۶ × ۴ جلبک سبز کلرلا جهت بررسی رشد *B.putulus* استفاده کردند و پیک فراوانی ۳۲۵-۱۱۰ روتیفر در میلی لیتر را گزارش کردند. همچنین حداکثر تراکم روتیفر *B.calyciflorus* از ۵۵ ind/ml (در غلظت غذایی cell/ml ۱۰^۶ × ۰/۵) تا ۷۲± ind/ml ۴۷۱(در غلظت غذایی cell/ml ۱۰^۶ × ۴/۵) متغیر بود(۱۱).

بر اساس مطالعات Sarma و همکاران (۲۴) با استفاده از ۴ غلظت جلبک *Dictyosphaerium chlorelloides* میزان تراکم روتیفر *B.calyciflorus* با افزایش غلظت (از cell/ml ۱۰^۶ ×۱ تا cell/ml ۱۰^۶ × ۸) افزایش یافت. روتیفرها در غلظت های ۴ و ۸ میلیون سلول جلبک در میلی لیتر در روز پنجم به حداکثر تراکم خود رسیدند. بالاترین تراکم (۹۵ روتیفر در میلی لیتر) در غلظت غذایی cell/ml ۱۰^۶ × ۸ ثبت شد.

در مطالعه حاضر میزان رشد ویژه روتیفرها بین ۰/۰۲±۰/۲۲ (cell/ml ۱۰^۵) تا ۰/۰۳±۰/۵۷(cell/ml ۱۰^۷) در هر روز متغیر بود که این میزان در دامنه رشد مشاهده شده برای بیشتر زئو پلانکتون ها می باشد(۱۵ و ۲۵). در مطالعه حاضر مشخص شد که با افزایش سطح غذا میزان رشد ویژه افزایش می یابد این نتیجه در مطالعات سایر محققین بدست آمده است. در حالی که میزان رشد براکیونوس ها در دامنه ۲-۰/۱ قرار دارد اما بیشتر گونه ها میزان رشد کمتر از ۰/۵ در روز را دارا می باشند(۲۵). میزان r برای سویه های *B.plicatilis* به طور معمول بین ۱/۱۵-۰/۲۳و برای *B.rotundiformis* بین ۱/۳۷-۰/۵۴. بسته به درجه حرارت و شوری ثبت شده است(۲۶). Sarma و همکاران (۲۴) میزان رشد(r) ۰/۹۱ را در غلظت غذایی cell/ml ۱۰۶ × ۸ جلبک *D. chlorelloides* برای روتیفر *B. calyciflorus* بدست آوردند.

پروفیل اسید چرب

کیفیت غذایی روتیفرها با افزایش غلظت جلبک ها افزایش می یابد(۲۱). تحقیقات نشان داده که میزان کل HUFA در روتیفر *B.plicatilis* تغذیه شده با ۴ غلظت بالای کلرلای آب شور (cell/ml ۱۰^۶ × ۵ /۱۲ ، ۲۵، ۳۷/۵ و ۴۰) با افزایش تراکم غذا افزایش یافته است(۲۱).

بررسی پروفیل اسید چرب جلبک Chlorella sp. نشان داد که اسیدهای چرب لینولئیک (۶- n ۱۸:۲) و لینولنیک (۳- n ۱۸:۳) به ترتیب با ۱۱/۵ و ۲۰/۴ ٪ از مهمترین اسیدهای چرب بوده که درصد بیشتری از اسید های چرب را به خود اختصاص داده اندکه با نتایج Isik و همکاران (۹) در رابطه با پروفیل اسیدهای چرب این جلبک مطابقت دارد. علاوه بر آن جلبک کلرلا حاوی ۳/۴٪ از اسید چرب بلند زنجیره EPA می باشد. از آن جایی که اسیدهای چرب با زنجیره بلند (بخصوص EPA) برای رشد و بالا بردن ارزش غذایی روتیفرها مورد نیاز است(۱۰) جلبک کلرلا با دارا بودن اسیدچرب EPA جهت کشت روتیفر از اهمیت بالاتری برخوردار است. اگر چه اسیدهای چرب لینولئیک (۶- n ۱۸:۲) و لینولنیک (۳- n ۱۸:۳) در روتیفرهای تغذیه شده با هر سه غلظت غذای کلرلا مشاهده شده و درصد بیشتری از اسیدهای چرب را به خود اختصاص داده است ولی با این حال با افزایش غلظت غذا بر میزان این اسیدهای چرب افزوده شده و این نتایج بیان گر آن است که با افزایش غلظت غذا علاوه بر تاثیر آن بر افزایش تراکم سبب افزایش تجمع اسیدهای چرب می‌شود که با نتایج Sarma(۲۱) مطابقت دارد.

به طورکلی در مطالعه حاضر مشخص گردید که با افزایش غلظت غذا میزان تجمع اسیدهای چرب چند غیر اشباعی زیادتر شده و از میزان اسیدهای چرب تک غیر اشباعی کاسته می شود. نتیجه فوق بیان می دارد که با افزایش تراکم غذا روتیفرها میزان غذای بیشتری مصرف کرده و در نتیجه اسیدهای چرب چند غیر اشباعی بیشتری در بدن تجمع می یابد البته می توان حصول نتیجه فوق را به تبدیل اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه به اسیدهای چرب با زنجیره بلند نیز احتمال داد که موید نتیجه Lubzens و همکاران (۱۰) است.

برخی از محققین گزارش نمودند که ماهیان آب شور قادر به ساخت اسیدهای چرب چند غیر اشباع نیستند(۱۹) در حالی که روتیفرها قادرند مقادیر کمی از n-۳ PUFA را بسازند(۱۰). بنابراین این اسیدهای چرب با تغذیه از روتیفرها جهت تامین نیاز لارو برآورده می‌شود. در آخر بر اساس یافته‌های موجود می توان اذعان کرد که سطوح غذای بکار گرفته شده می تواند در کیفیت روتیفرها به خصوص در ترکیب اسیدهای چرب ضروری آنها موثر بوده و این موضوع از جهت استفاده از این نوع غذای زنده در تغذیه لاروی آبزیان بسیار مهم است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند از پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی(انزلی) و همچنین دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس به دلیل همکاری های بی‌دریغشان کمال تشکر را ابراز دارند.

منابع مورد استفاده

1. Anonymous, 1985, Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. US Environment Protection Agency EPA/600/4-85/013.

2. Bogdan, k. G. and J. J. Gilbert, 1984, Body size and food size in freshwater zooplankton. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6427-6431.

3. Dumont, H. J., S.S.S. Sarma and A. J. Ali, 1995, Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. Freshwater Biol. 33: 39-46

4. Flores-Burgos, J., S.S.S. Sarma and S. Nandini, 2003, Population growth of zooplankton (Rotifers and Cladocerans) fed *Chlorella*

vulgaris and *Scenedesmus acutus* in different proportions. Acta hydrochim. Hydrobiol., 31:240-248.

5. Halbach, U. and G. Halbach Keup, 1974, Quantitative relations between phytoplankton and the population dynamics of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. Results of laboratory experiments and a field studies. Arch. Hydrobiol. 73: 273-309.

6. Howell, B., Y. Olsen and J. Iglesias, 1995, Intercalibration Exercise on the qualitative and quantitative analysis of fatty acids in artemia and marine samples used in mariculture, ICES Cooperative Research Report, International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen, Denmark.

7. Kerfoot, W.C., W.R. Demott and C. Levitan, 1985, Non-linearity in competitive interactions: Component variables or system response? Ecology, 66: 959-965.

8. Krebs, C. J., 1985, Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance, 3 rd edn. Harper and Row, New York. 789 pp.

9. Isik, O., E. Sarihan, E. Kusvuran, O.Gul and O. Erbatur, 1999, Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minitum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. Aquaculture, 174: 299-311.

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

11. Lucia- Pavon, E., S. S. S. Sarma and S. Nandini, 2001, Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). Rev. Biol. Trop. 49: 895-902.

12. Maruyama, I., T. Nakao, I. Shigeno, Y. Ando and K. Hirayama, 1997, Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer brachionus. Hydrobiologia 358: 133-138.

13. May, L., 1980, Studies on the grazing rate of *Notholca squamula* Muller on *Asterionella Formosa* Hass. At different temperature. Hydrobiologia, 73: 79-81.

14. Miller, W. E., J. C. Greene and T. Shiroyama, 1978, The *Selenastrum capricornutm* Printz algal assay bottle test. U.S. EPA Rep. 600/9-78-O 18.

15. Nandini, S. and S.S.S. Sarma, 2000, Life table demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. Hydrobiologia 435: 117-126.

16. Pena-Aguadoa, F., S. Nandini and S.S.S. Sarma, 2006,. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. Limnologia. Article in press.

17. Peredo-Alvarez, V., S.S.S. Sarma and S. Nandini, 2003, Combiend effect of concentration of algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus*(rotifera). Rev.Biol. Trop. 51(2): 399-408.

18. Pourriot, R. and C. Rougier, 1997, Reproduction rates in relation to food concentration and temperature in three species of the genus brachionus (Rotifera). Ann. Limnol. 33: 23-31.

19. Rezq, T.A. and C. M. James, 1987, Production and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed marine Chlorella sp. at different cell densities. Hydrobiologia, 147: 257-261.

20. Sarma, S.S.S. and T.R. Rao, 1987, Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachinus patulus* Muller. Arch Hydrobiol, 2: 245-253.

21. Sarma, S.S.S., 1991, Rotifers and aquaculture (Review). Environment and Ecology, 9(2): 414-428.

22. Sarma, S.S.S., N. Lyer and H.J. Dumont, 1996, Competitive interaction between herbivorous rotifers: Importance of food concentration and initial population density. Hydrobiologia, 331: 1-7.

23. Sarma S. S. S., R.A.A. Stevenson and S. Nandini, 1998, Influence of food (*Chlorella vulgaris*) concentration and temperature on their population dynamics of *Brachionus calyciflorus* Pallas (rotifera). Ciencia Ergo Sum 5: 77-81.

24. Sarma, S.S.S., E.D. Fiogbe and P. Kestemont, 1999, Population growth of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera) in relation to algae (*Dictyoshaerium chlorelloides*) density. Advances in fish and Wildlife Ecology and Biology, 2: 83-93.

25. Sarma S. S. S., P. S. Larios Jurado and S. Nandini, 2001, Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). Rev. Biol.Trop., 49(1):77-84.

26.ST ttrup, J. G. and L. A. McEvoy, 2003, Live feeds in marine aquaculture. Oxford ,UK: Blackwell science 2ii, ss318: illus. 750pp.

27.Walz N., 1983, Continous culture of the pelagic rotifer *Keratella cochlearis* and *Brachionus angularis*. Arch. Hydrobiol. 98: 70-92.