Archive of SID

مقایسه رشد و ترکیب اسید چرب روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* تغذیه شده با دو جلبک سبز *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus*

نصراله احمدی فرد[۱] ؛ عبدالمحمد عابدیان کناری[۲]* و مریم فلاحی کپورچالی[۳]
aabedian@modares.ac.ir
۱و۲- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴
۳- پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، بندر انزلی صندوق پستی: ۶۶
تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۸۶

چکیده

روتیفر *Brachionus calyciflorus* با اندازه مناسب و میزان تولیدمثل بالا یک گونه مرغوب برای تغذیه ماهیان آب شیرین است. در مطالعه حاضر اثر دو نوع جلبک سبز *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* بر رشد جمعیت *B. calyciflorus* مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از محیط کشت EPA و دو نوع جلبک سبز با تراکم یکسان (10^6 cell/ml) استفاده گردید. تراکم اولیه روتیفرها در بالن های ۱/۵ لیتری که با ۱ لیتر آب پر شده بودند ۳۰ individual/ml در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج، بین روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک، تفاوت معنی‌داری از نظر رشد مشاهده شد ($P<0.05$) . حداکثر تراکم روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های کلرلا و سندسموس در روز هفتم بترتیب ۴۷۸ ind/ml و ۳۲۸ ind/ml بدست آمد. نرخ رشد جمعیتی (r) روتیفر تغذیه شده با کلرلا و سندسموس بترتیب برابر با ۰/۶۱ و ۰/۴۲ در هر روز بدست آمد که از نظر آماری تفاوت معنی داری با هم داشتند ($P<0.05$). روتیفرهای تغذیه شده با دو جلبک کلرلا و سندسموس حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب لینولئیک (بترتیب ۱۶/۲۴ و ۱۸/۴۷ درصد) و لینولنیک (بترتیب ۱۵/۱۴ و ۱۶/۵۹ درصد) بودند. میزان اسیدهای چرب با زنجیره بلند (HUFA) در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا (۷/۷ درصد) نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس (۴/۲۴۶ درصد) بیشتر بود. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص می گردد که گونه *B. calyciflorus* درصورت تغذیه با جلبک کلرلا نسبت به جلبک سندسموس از سرعت رشد بهتری برخوردار می باشد و در تولید انبوه می توان از جلبک فوق جهت تغذیه روتیفر استفاده کرد.

لغات کلیدی: روتیفر، *Brachionus calyciflorus*، جلبک، *Chlorella sp.*، *Senedesmus obliquus*

* نویسندهٔ مسئول

۱۵/۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

زئوپلانکتون‌های آب شیرین اساساً شامل پروتوزوئرها، روتیفرها، کلادوسرها و کوپه پودها می‌باشند (Wetzel, 1983; Herzing, 1987). روتیفرها و کلادوسرها از نظر فراوانی، توده زنده و تولید در بدنه آبهای شیرین غالبیت دارند. تراکم و تنوع روتیفرها، کلادوسرها و کوپه‌پودها تحت تاثیر عوامل زیستی و غیرزیستی می‌باشند و عوامل زیستی مثل وجود و نوع فیتوپلانکتون بطور موثری ترکیب و فراوانی زئوپلانکتون‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Flores-Burges *et al.*, 2003). براساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که روتیفرهای جنس براکیونوس بطور معمول از ذرات غذایی تا ۲۰ میکرون تغذیه می‌کنند و بین اندازه بدن روتیفر و اندازه ذرات غذایی یک رابطه مثبت وجود دارد (Halbach & Halbach keup, 1974; Bogdan & Gilbert, 1984). منبع غذای طبیعی روتیفرها مخلوطی از جلبکها، باکتریها (با ابعاد وسیع و ارزش غذایی متفاوت) می‌باشد (Sarma, 1991). برای پرورش و کشت روتیفرهای آب شیرین عمدتاً از دو جنس جلبک سبز *Chlorella* و *Scenedesmus* استفاده می‌شود. اندازه سلولهای کلرلا تقریباً ۴ تا ۵ میکرون است در حالی که اندازه سلولهای سندسموس تقریباً بین ۸ تا ۱۰ میکرون می باشد (Pena-Aguadoa *et al.*, 2006). برخی محققین هم از جلبکهای دیگر برای تغذیه زئوپلانکتونها استفاده کرده‌اند بعنوان مثال می‌توان از (*Chlamydomonas*) La-Rocca *et al.*, 1994؛ (*Selenastram*) Barry *et al.*, 1995 و Kitham *et al.*, 1998 (*Ankistrodesmus*) نام برد. با این حال کریپتوفیتها (Cryptophycaea) و جلبکهای تاژکدار (Flagellates) از منابع شناخته شده و با ارزش غذایی بالا بوده و از مهمترین منبع غذایی برای زئوپلانکتونهای گیاهخوار می‌باشند و این گروه از جلبکها در محیطهای طبیعی به سادگی و با راندمان بالا بوسیله زئوپلانکتونهای فیلترکننده مورد مصرف قرار گرفته و با درصد بالایی هضم و جذب می‌شوند (Knisley & Schindler, 1971; Geller, 1986).

سیانوباکترها بدلیل سمیت بعنوان گروه غیرقابل چرا توسط زئوپلانکتونها مطرح می‌شوند (Brook & Dodson, 1965). با توجه به اینکه گونه‌های مختلف کلرلا و سندسموس می‌توانند از نظر ارزش غذایی متفاوت بوده و اثرات مختلفی در تولید روتیفرها داشته باشند، در این مطالعه از دو نوع جلبک سبز *Chlorella sp* و *Scenedesmus obliquus* برای بررسی نرخ رشد روتیفر *Brachionus calyciflorus* و ارزش غذایی آن استفاده گردید.

مواد و روش کار

جلبکهای سبز *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* [illegible] پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی کشت داده شدند. کشت جلبک ابتدا در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری و سپس برای تولید انبوه در کیسه‌های پلاستیکی با گنجایش ۷ لیتر انجام گرفت. هوادهی مداوم کشتها با استفاده از یک پمپ هوا صورت پذیرفت. برای کشت جلبک دمای ۱± ۲۵ درجه سانتیگراد و روشنایی ۳۵۰±۳۵۰۰ لوکس استفاده گردید. در تمام کشتها از محیط کشت زایندر مثبت (Z-8±N) (Miller *et al.*, 1978) استفاده شد. بعد از رسیدن کشتهای جلبک به مرحله رشد لگاریتمی، برداشت جهت تغذیه روتیفرها صورت گرفت. برای آماده‌سازی ذخیرهٔ اصلی جلبک، ابتدا جلبکها تغلیظ شده و سپس با استفاده از محیط کشت EPA تا تراکم ۳۰×۱۰^{6}cell/ml رقیق‌سازی شدند. محیط کشت EPA با حل کردن ۹۶ میلی‌گرم بیکربنات کلسیم، ۶۰ میلی‌گرم سولفات کلسیم، ۶۰ میلی‌گرم سولفات منیزیم و ۴ میلی‌گرم کلرید پتاسیم در یک لیتر آب مقطر آماده گردید (EPA, 1985). برای تخمین تراکم جلبک از لام نئوبار استفاده شد.

روتیفر *Brachionus calyciflorus* از تالاب انزلی در پاییز ۱۳۸۴ جداسازی و در شرایط آزمایشگاهی پرورش داده شد. مرحله آغازین کشت آن با استفاده از لوله‌های آزمایش ۲۰ میلی‌لیتری انجام گرفت. ۴ عدد روتیفر ماده حامل تخم به هر لوله آزمایش که حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت EPA و جلبک *Chlorella sp.* با تراکم ۱۰^{6} cell/ml بود، معرفی گردید. تغذیه روتیفرها با جلبک کلرلا تا زمانی که تراکم روتیفر به ۱۰۰ عدد در هر میلی‌لیتر رسید، انجام گرفت. ادامه تولید در ارلن مایرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۱و ۲ لیتری و سرانجام در مخازن ۶۰ لیتری انجام گرفت. نمونه‌های جداسازی شده تا زمان شروع آزمایش با جلبک سبز کلرلا تغذیه شدند. روتیفرها درآب سخت EPA کشت شدند.

برای انجام آزمایش، ۶ بالون ۱/۵ لیتری (۲ تیمار جلبکی و از هر کدام ۳ تکرار) حاوی ۱ لیتر محیط کشت EPA به همراه جلبک مورد نظر با تراکم ۱۰^{6}cell/ml استفاده گردید. به هر یک

www.SID.ir

Archive of SID

از بالونها جمعیتهای مخلوط روتیفر *B. calyciflorus* (روتیفرهای بالغ تخم دار و جوان بدون تخم) با تراکم ۳۰ind/ml معرفی گردید. برای آزمایش از دمای استاندارد ۲±۲۵ درجه سانتیگراد، pH ۷/۲ تا ۷/۵، شدت روشنایی ۲۸۰۰ تا ۳۲۰۰ لوکس (با استفاده از ۴ لامپ مهتابی ۲۰ وات در فاصله ۴۰ سانتیمتری) و دوره نوری ۸ : ۱۶ (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) استفاده گردید. در طول آزمایش روتیفرها یک روز در میان بعد از شمارش، با استفاده از تور پلانکتونی ۵۰ میکرون به محیط کشت جدید منتقل و روزانه با افزودن جلبک تازه، تراکم آنها در محیط کشت روتیفر در حدود 10^6cell/ml ثابت نگه داشته شد. آزمایش تا زمانی که تراکم روتیفرها به حداکثر تراکم رسیده و دوباره حالت نزولی به خود بگیرد، ادامه داشت (۱۰ روز).

جهت برآورد نرخ رشد روتیفرها، روزانه ۲ تا ۳ نمونه ۱ میلی‌لیتری از هر کدام از بالونهای حاوی نمونه برداشت و میزان آن تخمین زده شد. براساس داده‌های بدست آمده نرخ رشد ویژه (r) با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Krebs, 1985).

$$r = (LnNt - LnN_0) / t$$

r = Specific growth rate (نرخ رشد ویژه)

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

N_0 = تراکم اولیه روتیفر (برحسب تعداد در میلی لیتر)

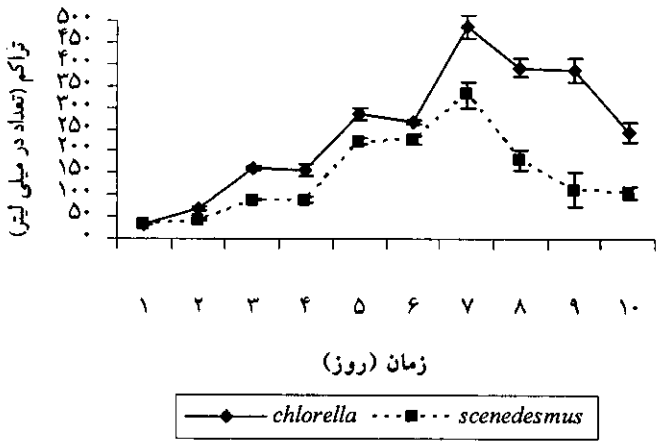
t = دوره پرورش (۱۰ روز).

از دستگاه کروماتوگرافی مدل DNAI ۱۰۰۰ جهت سنجش اسیدهای چرب استفاده شد. استخراج اسیدهای چرب با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم انجام گرفت (Howell *et al.*, 1995).

برای آنالیز آماری اطلاعات ابتدا نرمالیته داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگراف – اسمیرنف بررسی گردید. سپس با استفاده از آزمون t غیرجفتی، تفاوت بین نوع غذا بر نرخ افزایش جمعیت و فراوانی جمعیت روتیفرها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

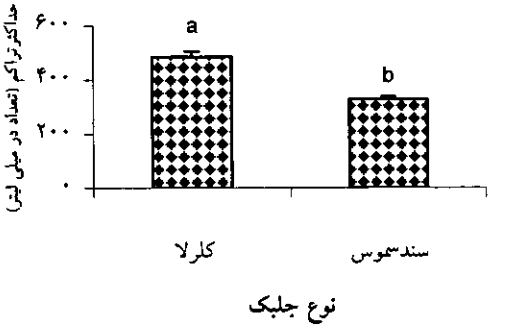
جدول۱ نتایج آزمون t بر تراکم روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک را نشان می دهد. منحنی رشد روتیفرهای تغذیه شده با دو گونه جلبک سبز کلرلا و سندسموس در نمودار ۱ آورده شده است. حداکثر تراکم جمعیت روتیفرها بطور معنی داری ($P<0.05$) تحت تاثیر نوع جلبک بود. در این مطالعه میانگین حداکثر تراکم روتیفر ۴۸۷ ind/ml و ۳۲۸ ind/ml بترتیب در زمانی که با کلرلا و سندسموس تغذیه شدند، بدست آمد (نمودار۲). برای هر دو جلبک حداکثر تراکم در روز هفتم مشاهده شد.



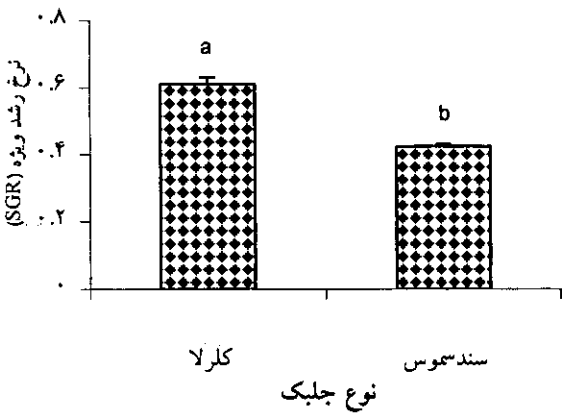
نمودار ۱: مقایسه میزان رشد روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* (در مدت زمان ۱۰روز)

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۲: مقایسه حداکثر تراکم روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* (در مدت زمان ۱۰ روز)



نمودار ۳: مقایسه میانگین نرخ رشد ویژه (r) روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* (در مدت زمان ۱۰ روز)

میانگین نرخ رشد ویژه (r) جمعیت روتیفرهای تغذیه شده با جلبکهای مختلف از ۰/۰۱±۰/۴۲ برای سندسموس تا ۰/۰۲±۰/۶۱ برای کلرلا متغیر و دارای اختلاف معنی‌داری بین دو نوع جلبک بود ($P<0.05$) (جدول۱ و نمودار۳).

بین داده‌های بدست آمده از نرخ رشد ویژه و تراکم جمعیت روتیفرها یک رابطه رگرسیونی ترسیم شد که نشاندهندهٔ رابطه معکوس بین آنها بود (نمودارهای ۴ و ۵).

جدول۱: نتایج آزمون t نرخ رشد ویژه (r) در روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus*

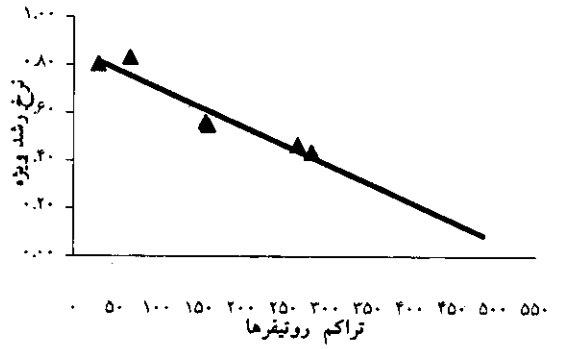
منبع تغییرات	آزمون لونز برابری واریانس		آزمون t برای برابری میانگین ها						
	F	p-value	t مقدار	حدود اطمینان در سطح ۹۵ درصد		انحراف معیار	میانگین خطای استاندارد	درجه آزادی	درجه معنی داری
				پایین	بالا				
نرخ رشد ویژه (به ازای روز)	۰/۰۱۸۲	۰/۶۹۲	۱۲/۵	۰/۱۰۵۲۸	۰/۲۲۸۰۵	۰/۱۶۶۶۷	۰/۰۱۳۳۳	۴	۰/۰۰۱***
حداکثر تراکم	۲/۱۲۸	۰/۲۱۸	۷/۱۶۱	۹۶/۹۴۳۸۲	۲۱۹/۷۲۲۸۴	۱۵۸/۳۳	۲۲/۱۱۰۸۳	۴	۰/۰۰۲**

*** سطح معنی داری با درجه $P<0/001$

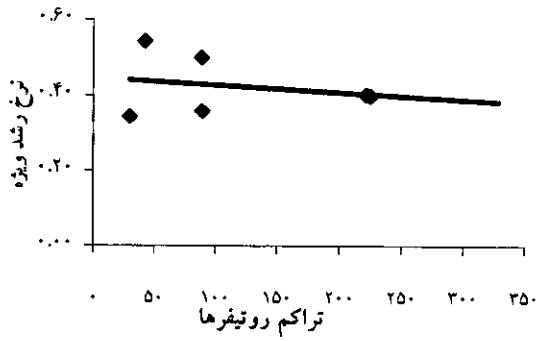
** سطح معنی داری با درجه $P<0/01$

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار٤: رابطه بین نرخ رشد ویژه و تراکم روتیفرهای تغذیه شده با *Chlorella sp.*



نمودار ۵: رابطه بین نرخ رشد ویژه و تراکم روتیفرهای تغذیه شده با *Scenedesmus obliquus*

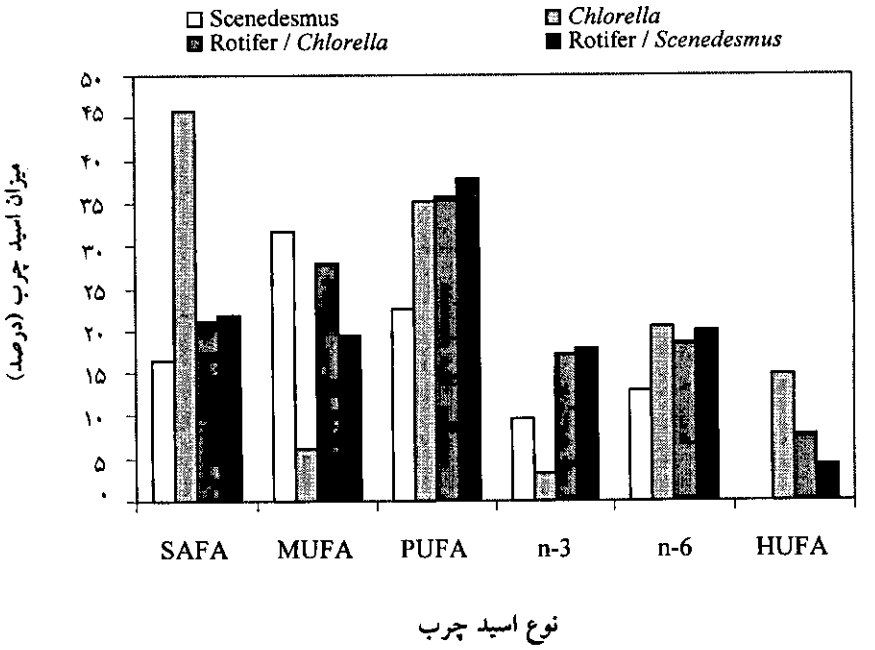
میزان پروفیل اسیدهای چرب دو جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* و روتیفرهای *B. calyciflorus* تغذیه شده با آن دو نوع جلبک در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج حاصله جلبک سندسموس حاوی مقادیر نسبتاً بالای اسیدهای چرب ضروری لینولئیک (۱۸:۲n-۶) و لینولنیک (۱۸:۳n-۳) بود ولی در عین حال عاری از اسیدهای چرب۹ - ۲۰:۱n ، ۲۰:۲n-۶، ۲۰:۳n-۳، ۲۰:۴n-۶ و ۲۰:۵n-۳ می‌باشد. همچنین میزان اسیدهای چرب تک زنجیرهٔ غیراشباعی نسبت به اسیدهای چرب چند زنجیرهٔ غیراشباعی بیشتر بود. میزان اسیدهای چرب n-۳ وn-۶ در جلبک سندسموس به ترتیب ۹/۵۸۲ و ۱۳/۰۰۹ درصد از کل اسیدهای چرب بدست آمد. اسیدهای چرب لینولئیک ، لینولنیک و آراشیدونیک (۲۰:۴n-۶) به ترتیب ۱۱/۵، ۴/ ۲۰ و ۳/۴ درصد کل اسیدهای چرب کلرلا را تشکیل داد. میزان اسیدهای چرب n-۳ وn-۶ در جلبک کلرلا به ترتیب ۲۰/۴ و ۱۴/۹ بدست آمد.

بر اساس جدول ۲ روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا حاوی مقادیری از اسیدهای چرب ۹ -۲۰:۱n ، ۲۰:۲n-۶، ۳-۲۰:۳n، ۲۰:۴ n-۶ و ۲۰:۵n-۳ بود. همچنین میزان اسیدهای چرب چند زنجیرهٔ غیراشباع (PUFA) و اسیدهای چرب غیر اشباع با زنجیرهٔ بلند (HUFA) در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا بترتیب ۳۵/۷۰۹ و ۷/۷ درصد کل اسیدهای چرب را بخود اختصاص داد. میزان اسیدهای چرب n-۳ وn-۶ در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا بترتیب در حدود ۱۷ و ۱۸ درصد کل اسیدهای چرب بود. روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس حاوی مقادیر نسبتاً بالایی از اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک بوده ولی میزان اسیدهای چرب ۲۰:۲n-۶ و ۲۰:۳n-۳ در حد بسیار ناچیز بود که قابل تعیین نبود. همچنین میزان اسیدهای چرب n-۳، n-۶ و اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند (HUFA) در روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس به ترتیب ۱۷، ۱۹ و ۴/۲۴ درصد بود (جدول ۲ و نمودار ۶). با توجه به پروفیل اسید چرب روتیفرهای تغذیه شده با دو جلبک کلرلا و سندسموس مشخص شد که روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا حاوی ۲ اسید چرب ۶-۲۰:۲n و ۳-۲۰:۳n بوده که روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس فاقد این اسیدهای چرب بودند. همچنین ترکیب بدنی روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس میزان اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند (HUFA) بیشتری نشان داد. با این حال مقادیر اسیدهای چرب لینولیئیک و لینولنیک در روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس نسبت به تیمار دیگر بیشتر بود.

با توجه به نتایج مربوط به میزان رشد روتیفرهای تغذیه شده با هر دو جلبک، وجود ۲ اسید چرب ۶-۲۰:۲n و ۳-۲۰:۳n در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا و فقدان آن در روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس، بالاتر بودن میزان اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند (HUFA) در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا و قابل قبول بودن میزان اسیدهای چرب لینولیئیک و لینولنیک در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا، جلبک کلرلا بعنوان جلبک برتر انتخاب گردید.

www.SID.ir

Archive of SID



SAFA: اسیدهای چرب اشباع **PUFA** : اسیدهای چرب چند زنجیرهٔ غیراشباع **n-6** : اسیدهای چرب لینولئیک

MUFA: اسیدهای چرب تک زنجیرهٔ غیراشباع **n-3** : اسیدهای چرب لینولنیک **HUFA** : اسیدهای چرب با زنجیره بلند

نمودار ٦: مقایسه نوع اسیدهای چرب روتیفرهای تغذیه شده با دو نوع جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus*

بحث

در میان گروههای مختلف فیتوپلانکتونی، جلبکهای سبز بویژه کلرلا و سندسموس برای رشد زئوپلانکتونها هم در شرایط صحرایی و هم در شرایط آزمایشگاهی بطو رگسترده ای استفاده شده‌اند (Sarma *et al.*, 2001,1996 ;Flores- Burgos *et al.*, 2003). براساس نمودار ۱ در ظروف ۱ لیتری (با انجام عمل هوادهی) و در شرایط استاندارد حداکثر تراکم روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا (۴۷۸ عدد در میلی‌لیتر) نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس (۳۲۸ عدد در میلی‌لیتر) بیشتر بود. این نتایج بیانگر آن است که جلبک کلرلا باعث رشد بیشتر روتیفر *B. calyciflorus* می‌شود. Flores-Burgos و همکاران (2003) گزارش کردند که تراکم روتیفر *B. calyciflorus* در ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتری و بدون هوادهی در محدوده ۵۰ تا ۲۰۰ عدد در میلی‌لیتر بوده و در صورت تغذیه از جلبک کلرلا نسبت به جلبک سندسموس تراکم بیشتر حاصل شده است. از آنجایی که در تراکمهای بالا میزان اکسیژن بسیار حائز اهمیت بوده، با هوادهی محیطهای کشت روتیفر در آزمایش حاضر تراکم بالاتری بدست آمد. بعضی از گونه‌های سندسموس از قبیل *S. quadricauda* می‌تواند ساختاری را توسعه دهد (با تغییر اندازه زوائد) که از تغذیه توسط زئوپلانکتونها جلوگیری کند (Van Donk *et al.*, 1999). در مطالعه حاضر چنین تغییرات ساختاری در سندسموس به دلایل زیر مشاهده نشد:۱) هر روز از جلبک تازه استفاده گردید و ۲) گونه مورد استفاده *S. obliquus* بود که زوائد ممانعت کننده تغذیه‌ای (خار) ندارد (Lurling, 2003). بنابراین میزان رشد پایین روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس می‌تواند در اثر عوامل دیگری باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: میزان پروفیل اسید چرب روتیفر *B. calyciflorus* تغذیه شده با دو نوع جلبک *Scenedesmus obliquus* و *Chlorella sp.*

میزان و نوع اسید چرب (درصد)	*Chlorella sp.*	*Scenedesmus obliquus*	*B. calyciflorus* تغذیه شده با جلبک *Chlorella sp.*	*B. calyciflorus* تغذیه شده با جلبک *Scenedesmus obliquus*
۱۴:۰۰	-	۰/۹۴۰	۱/۹۴۴	۱/۷۷۵
۱۴:۱n-۵	-	۰	۱/۲۴۵	۱/۴۲۸
۱۵:۰۰	-	۱/۸۹۵	۱/۰۷۶	۰/۸۸۷
۱۵:۱	-	۲/۳۶۵	۰/۵۷۲	۱/۰۰۳
۱۶:۰۰	۴۳/۴	۴/۹۸۱	۱۱/۰۳۵	۱۳/۷۰۳
۱۶:۱n-۷	-	۱۲/۲۲۳	۳/۹۸۱	۳/۸۷۹
۱۷:۰۰	-	۷/۹۴۱	۱/۹۹۳	۲/۶۲۴
۱۷:۱n-۷	-	۴/۰۹۱	۲/۰۷۹	۰/۷۹۱
۱۸:۰۰	۲/۴	۰/۷۲۵	۵/۱۷۷	۲/۹۱۴
۱۸:۱n-۹	۶	۵/۲۰۵	۱۶/۵۷۴	۹/۲۰۶
۱۸:۱n-۷	-	۷/۸۵۵	nd	۱/۶۲۱
۱۸:۲n-۶	۱۱/۵	۱۳/۰۰۹	۱۶/۲۴۸	۱۸/۴۷۱
۱۸:۳n-۳	۲۰/۴	۹/۵۸۲	۱۵/۱۴۵	۱۶/۵۹۹
۲۰:۰۰	-	۰	nd	nd
۲۰:۱n-۹	-	۰	۳/۳۸۴	۱/۶۰۲
۲۰:۲n-۶	-	۰	۰/۳۴۲	nd
۲۰:۳n-۳	-	۰	۰/۶۴۸	nd
۲۰:۴n-۶	۳/۴	۰	۲/۰۴۱	۱/۳۸۹
۲۰:۵n-۳	-	۰	۱/۲۸۳	۱/۲۵۴
۲۲:۶n-۳	-	۰	nd	nd
مقدار کل (برحسب درصد)		۷۰/۸۱۳**	۸۴/۷۷۱**	۷۹/۱۵۴**
∑SAFA	۴۵/۸	۱۶/۴۷۹	۲۱/۲۲۴	۲۱/۹۰۶
∑MUFA	۶	۳۱/۷۴۲	۲۷/۸۳۷	۱۹/۵۳۲
∑PUFA	۳۵/۳	۲۲/۵۹۱	۳۵/۷۰۹	۳۷/۷۱۴
∑HUFA	۳/۴	۰	۷/۷۰۰	۴/۲۴۶
∑n-3	۲۰/۴	۹/۵۸۲	۱۷/۰۷۷	۱۷/۸۵۳
∑n-6	۱۴/۹	۱۳/۰۰۹	۱۸/۶۳۲	۱۹/۸۶۱

** درصد بیان شده میزان اسیدهای چرب شناسایی شده می‌باشد.

nd : میزان اسیدهای چرب قابل تعیین نبود.

SAFA: اسیدهای چرب اشباع، MUFA : اسیدهای چرب تک زنجیرهٔ غیراشباع، PUFA : اسیدهای چرب چند زنجیرهٔ غیراشباع، HUFA : اسیدهای چرب با زنجیره بلند

www.SID.ir

Archive of SID

و همکاران در سال ۲۰۰۱ حداکثر نرخ رشد *B. calyciflorus* در صورت تغذیه از کلرلا را ۰/۰۴ ± ۰/۶۳ گزارش کردند.

در مطالعه حاضر روتیفرهای تغذیه شده با *Chlorella sp.* نسبت به روتیفرهای تغذیه شده با *Scenedesmus obliquus* نرخ رشد (r) بیشتری داشتند که با یافته‌های Flores-Burgos و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد. براساس یافته‌های آنها نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* بین ۰/۱۸ تا ۰/۴۸ در روز براساس نوع جلبک مصرفی بدست آمد. با این حال Geng و همکاران در سال ۲۰۰۳ از دو نوع جلبک *Scenedesmus obliquus* و *Chlorella pyrenoidos* برای تغذیه روتیفر استفاده کردند و بالاترین نرخ رشد (r) را با استفاده از جلبک *Scenedesmus obliquus* بدست آوردند و روتیفرهای تغذیه شده با *Chlorella pyrenoidosa* کمترین نرخ رشد را داشتند.

براساس نمودارهای ۴و ۵ بین تراکم جمعیت و نرخ افزایش جمعیت (r) روتیفر *B. calyciflorus* یک ارتباط معکوس ثبت شد. براساس مطالعات Sarma و همکاران در سال ۲۰۰۱ چنین رابطه‌ای برای روتیفر *B. patulus* و *B. calyciflorus* نیز به ثبت رسیده است. چنین رابطه‌ای برای دیگر زئوپلانکتونها نیز ثبت شده است Kerfoot *et al.*, (1995) (*Amuraeopsis*) Dumont *et al.*, (1985) (*Daphnia*). براساس مطالعه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جلبک سبز کلرلا نسبت به سندسموس به میزان موثرتری جمعیت روتیفر *B. calyciflorus* را افزایش می‌دهد.

ارزش غذایی فیتوپلانکتونها در بین گروههای مختلف تاکسونومیک متفاوت بوده و به وضعیت اسیدهای چرب ضروری آنها مرتبط است (Brown *et al.*, 1989). ترکیب اسید چرب غذا (جلبک) برای رشد روتیفرهای جنس *Brachionus* بسیار حائز اهمیت بوده (Olsen, 1999) و خصوصاً میزان رشد روتیفر به میزان اسیدهای چرب با زنجیره بلند (HUFA) غذای آنها بستگی دارد (Lubzens *et al.*, 1989).

از آنجایی که هر دو گونه جلبکی از محیط کشت یکسان تحت شرایط مشابهی استفاده کردند، انتظار می‌رود تفاوت معنی‌دار 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 تاثیرگذار باشد. بررسی پروفیل اسید چرب دو جلبک *Chlorella sp.* و *Scenedesmus obliquus* نشان داد که اسیدهای چرب لینولئیک (۱۸:۲n-۶) و لینولنیک (۱۸:۳n-۳) در جلبک

Erman در سال ۱۹۶۲ عنوان کرده که بغیر از اندازه سلول، عواملی از قبیل شکل سلول یا شرایط کشت جلبک بر میزان رشد روتیفرهایی که از جلبکهای مختلفی تغذیه می‌کنند اثرگذار است. کیفیت غذایی جلبک و قابلیت هضم‌پذیری سلولها بوسیله روتیفرها می‌تواند بعنوان عوامل تاثیرگذار بر الگوی رشد زئوپلانکتون مورد آزمایش باشد (Vanni & Lampert, 1992 ; Lucia-Pavon *et al.*, 2001). احتمالاً میزان فیلتراسیون پایین روتیفرها از جلبک سندسموس دلیل کاهش میزان رشد آن باشد. Lurling در سال ۲۰۰۳ گزارش کرد که تغذیه روتیفرها و دافنی از جلبکهای سندسموس تحت تاثیر نوع گونه سندسموس است. سندسموس‌های خاردار با ایجاد و گسترش ضمائم اطراف خود مانع از تغذیه توسط زئوپلانکتونها خواهند شد و یک حالت ضد تغذیه‌ای گسترش می‌یابد. در صورت استفاده از سندسموس‌های بدون خار (همانند مطالعه حاضر که از جلبک سبز *S. obliquus* استفاده شد) ضمائمی گسترش نخواهد یافت، در عوض جلبک سندسموس با ایجاد کلونی حالت ضد تغذیه‌ای را بوجود می‌آورد. شواهد بسیار کمی وجود دارد که کلرلا بتواند تغییرات مرفولوژیک ضد تغذیه‌ای در خود ایجاد کند (Flores-Burgos *et al.*, 2003). قابلیت هضم پایین یا جذب جلبک *S. obliquus* بوسیله روتیفرها می‌تواند سبب میزان رشد پایین روتیفر *B. calyciflorus* باشد (Flores-Burgos *et al.*, 2003).

مطالعات مختلفی نشان می‌دهد که نرخ رشد جمعیتی (r) یک متغیر حساس بوده و تحت تاثیر عوامل زیستی و غیرزیستی است (Flores-Burgos *et al.*, 2003). نرخ r مشاهده شده برای روتیفر *B. calyciflorus* در مطالعه حاضر از ۰/۴۴ تا ۰/۶۱ برای هر روز برحسب نوع جلبک متغیر بود که این میزان در دامنه رشد مشاهده شده برای بیشتر زئوپلانکتونها می‌باشد (Nandini & Sarma, 2000 ;Sarma *et al.*, 2001). اگر چه نرخ رشد براکیونوس‌ها در دامنه ۰/۱ تا ۲ قرار دارد اما بیشتر گونه‌ها نرخ رشد کمتر از ۰/۵ در روز را دارند (Sarma *et al.*, 2001). در مطالعه‌ای که Park و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام دادند نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* در درجه حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد برابر ۰/۰۱±۰/۴۸۸ بدست آمده است. همچنین نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* استفاده شده در این مطالعه از نرخ رشد روتیفر استفاده شده توسط Rico-Martinez و Dodson در سال ۱۹۹۲ که در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و با استفاده از جلبک *Chlorella* بین ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۳۶ (در غلظت غذایی $1-50\times10^{6}$ cell/ml) بدست آمده، سریعتر است. Sarma

www.SID.ir

Archive of SID

روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس است و مطالعات نیز نشان داده‌اند که روتیفر براکیونوس به EPA و DHA و بطور کلی به اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیرهٔ بلند جهت رشد نیاز دارد (Lubzens *et al.*, 1985).

اگر چه اسیدهای چرب ۹-n۱:۲۰، ۶-n۴:۲۰ (آراشیدونیک اسید) و ۳-n۵:۲۰ (EPA) در روتیفرهای تغذیه شده با هر یک از جلبکهای *Chlorella sp.* و *S. obliquus* مشاهده گردید ولی این میزان در روتیفرهایی که از کلرلا تغذیه کرده بودند بیشتر بوده و لذا جلبک کلرلا از این نظر و همچنین دارا بودن اسیدهای چرب ۶-n۲:۲۰ و ۳-n۳:۲۰ که در سندسموس و همچنین روتیفرهای تغذیه شده با آنها وجود نداشت کیفیت بهتر یا ارزش غذایی بالاتری را نشان می‌دهد. همچنین این نتایج مشخص می‌کند که روتیفر *B. calyciflorus* قادر به ساختن اسیدهای چرب بلند زنجیره از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه بوده یا اینکه با مصرف غذا تجمع مقادیر جزئی این اسیدهای چرب در بدن روتیفر اتفاق افتاده است. نتایج مشابهی برای گونهٔ *B. plicatilis* درخصوص انتقال و ذخیره اسیدهای چرب در فرآیند تغذیه گزارش شده است (Scott & Middleton, 1979; Ben-Amotz *et al.*, 1987 ; Whyte & Nagata, 1990). Lubzens و همکاران در سال ۱۹۸۵ بیان کردند که روتیفرها قادرند اسیدهای چرب با زنجیره بلند را از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه بسازند.

تشکر و قدردانی

از پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی، بندر انزلی بدلیل همکاریهای بیدریغشان کمال تشکر را داریم. همچنین از همکاران ایستگاه تحقیقاتی ساحل غازیان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Barry, M.J.; Logan, D.C.; Ahokas, J.T. and Holdaway, D.A. , 1995. Effect of algal food concentration on toxicity of two agriculture pesticides to *Daphnia carinata.* Ecotoxicol. Environ. Saf. Vol. 32, pp.273-279.

Ben-Amotz, A.; Fishler, R. and Schneller, A. , 1987. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with

سندسموس بترتیب با ۱۳ و ۹ درصد و در جلبک کلرلا با ۱۱/۵ و ۲۰/۴ درصد از مهمترین اسیدهای چرب بوده که درصد بیشتری از اسیدهای چرب را بخود اختصاص داده‌اند. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه Jensen و Verschoor در سال ۲۰۰۴ (در جلبک سندسموس) و Isik و همکاران در سال ۱۹۹۹ (برای جلبک کلرلا) در رابطه با پروفیل اسیدهای چرب این جلبکها مطابقت دارد. علاوه بر آن جلبک کلرلا حاوی ۳/۴ درصد از اسید چرب بلند زنجیرهٔ EPA می‌باشد. از آنجایی که اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند (بخصوص EPA) برای رشد و بالا بردن ارزش غذایی روتیفرها مورد نیاز است (Rodriguez *et al.*, 1997)، جلبک کلرلا با دارا بودن اسیدچرب EPA و فقدان آن در جلبک سندسموس جهت کشت روتیفر از اهمیت بالاتری برخوردار است.

بررسی یافته‌ها نشان داد که نوع جیرهٔ غذایی بر ترکیبات اسیدهای چرب بدن *B. calyciflorus* تاثیرگذار است (جدول ۲) که مطابق با نتایج Lubzens و همکاران (1985) و Isik و همکاران (1999) می‌باشد. در جلبک سندسموس اسیدهای چرب لینولنیک و لینولئیک درصد بیشتری از اسیدهای چرب را تشکیل می‌دهند و متعاقب آن در روتیفرهای تغذیه شده با سندسموس اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک بترتیب ۱۸/۴ و ۱۶/۵ درصد اسیدهای چرب را تشکیل دادند. در مطالعه Jensen و همکاران در سال ۲۰۰۴ روتیفر *B. calyciflorus* تغذیه شده با جلبک *S. obliquus* بترتیب حاوی ۲۲ و ۹/۶ درصد از اسیدهای چرب لینولنیک و لینولئیک بودند. همچنین براساس مطالعات Isik و همکاران در سال ۱۹۹۹، روتیفر *B. calyciflorus* تغذیه شده با *S. abundans* بترتیب حاوی ۱۲/۹ و ۱۱/۳۵ درصد از اسیدهای چرب لینولنیک و لینولئیک بودند. این نتایج نشاندهندهٔ آن است که این دو اسید چرب از اسیدهای چرب مهم در روتیفرها بوده که درصد بیشتری را دارا هستند. روتیفرهای تغذیه شده با *Chlorella sp.* حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک بودند که با نتایج Isik و همکاران (1999) در گونه *B. calyciflorus* مطابقت می‌کند. براساس مطالعه Isik و همکاران در سال ۱۹۹۹ روتیفر *B. calyciflorus* تغذیه شده با جلبک *Chlorella vulgaris* بترتیب حاوی ۱۱/۲ و ۱۳ درصد از اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک می‌باشند.

بطور کلی پروفیل اسیدهای چرب نشان داد که میزان اسیدهای چرب با زنجیرهٔ بلند (HUFA) (از جمله اسید چرب EPA) در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا بیش از

www.SID.ir

Archive of SID

Comparison of the growth and fatty acid compositions of Rotifer *Brachionus calyciflorus* fed with two freshwater microalgae *Chlorella sp.* and *Scenedesmus obliquus*

Ahmadifard N.[1] ; Abediyan Kenari A.M.[2]* and Fallahi Kaporchali M.[3]

aabedian@modares.ac.ir

1,2 - Department of Fisheries, Faculty of Natural Resource and Marine Science, University of Tarbiat Modares, P.O.Box: 14155-356 Noor, Iran

3- Inland Waters Research Institute, P.O.Box: 66 Bandar Anzali, Iran

Received: October 2006 Accepted: September 2007

Keywords: Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella sp.*

Abstract

The rotifer *Brachionus calyciflorus* is a promising candidate for feeding freshwater fish larvae with its suitable size and the high reproductive rate in cultural media. In this research, effects of two microalgae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella sp.* on growth rate and fatty acid composition of *Brachionus calyciflorus* was investigated. We used EPA medium together with two freshwater microalgae at the same density to culture the rotifer. Primary density of rotifers in 11 balloons was 30ind.ml^{-1}. Results showed that the rotifers fed with *Chlorella sp.* had significantly higher growth rate than those fed with *Scenedesmus obliquus*. Maximum density of rotifers fed with *Chlorella sp.* and *Scenedesmus obliquus* reached 478 and 328ind. ml^{-1} after 7 days, respectively. Mean daily growth rate was 0.61 and 0.42 for rotifers fed with *Chlorella sp.* and *Scenedesmus obliquus*, respectively. Rotifers fed with *Chlorella sp.* and *Scenedesmus obliquus* had high amount of linoleic acid (16.24 and 18.47 %, respectively) and linolneic acid (15.14 and 16.59 %, respectively). The amount of highly unsaturated fatty acid (HUFA) in the rotifers fed with *Chlorella sp.* was 7.7% which was much higher than those fed with *Scenedesmus obliquus* (4.246%). Results show that *B. calyciflorus* fed with *Chiorella sp.* had higher growth and nutritional quality than those fed with *Scenedesmus obliquus*. We suggest that *Chlorella sp.* be used in mass culture of the rotifer.

* Corresponding author

www.SID.ir