**شیلات، مجله منابع طبیعی ایران**
دوره ۷۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱
صفحات ۲۶۶-۲۵۵

# تأثیر غذایی روتیفر غنی شده با جلبک‌های میکروسکوپی بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و کیفیت لاشهٔ لارو ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

**عرفان سلمرودی[۱]، غلامرضا رفیعی[۲*]، کامران رضایی توابع[۳]**

*۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*
*۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*
*۳. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران*

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱**

## چکیده

پژوهش حاضر با هدف غنی‌سازی روتیفر با جلبک‌های میکروسکوپی به منظور تأثیر غذایی آن بر شاخص‌های رشد و افزایش بازماندگی لارو قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گردید. در راستای انجام این بررسی از جلبک‌های کلرلا(*Chlorella vulgaris*) و جلبک سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*) جهت تغذیه روتیفر *Brachionus plicatilis* استفاده شد. تراکم سلول‌های جلبک جهت تغذیه روتیفر $۵ \times ۱۰^{۷}$ سلول در میلی‌لیتر بود. در هر مخزن ۶۰ لیتری تعداد ۳۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) ذخیره گردید. تغذیه لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب در تیمار ۱ با روتیفر غنی‌شده با جلبک کلرلا، در تیمار ۲ با روتیفر غنی‌شده با جلبک سندسموس و در تیمار ۳ با روتیفر غنی‌شده با ترکیبی از جلبک‌های کلرلا و سندسموس (به نسبت ۵۰ درصد) انجام شد. تغذیه لاروها در گروه شاهد با استفاده از غذای تجاری انجام گردید. حداقل میانگین (± انحراف معیار) وزن لارو در روز ۱۴ و ۲۱ در گروه شاهد به ترتیب به مقدار۲/۵۱± ۴۰۹/۶۶ و ۴/۹۳ ± ۵۹۴/۶۶ میلی‌گرم و حداکثر وزن در روز ۲۱ در تیمار ۳ به میزان۷/۵۰ ± ۶۹۴/۳۳ میلی‌گرم بود. در بررسی‌های آماری، شاخص‌های نرخ رشد ویژه، نرخ تبدیل غذایی، نرخ کارایی پروتئین و نرخ بقاء نیز در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ دارای اختلاف معنی‌دار بودند (P<۰/۰۵). نتایج حاصل از بررسی بیو شیمیایی لاشهٔ لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز ۲۱ حاکی از تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های پروتئین خام و چربی خام در تیمارهای ۱ و ۳ بود (P<۰/۰۵). نتایج این آزمایش نشان داد که با استفاده از روتیفر غنی شده با جلبک کلرلا و ترکیب جلبک‌های کلرلا و سندسموس می‌توان شاخص‌های رشد و بقاء لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش داد.

**واژگان کلیدی:** روتیفر، جلبک کلرلا، جلبک سندسموس، لارو، قزل‌آلای رنگین‌کمان

* نویسنده مسئول: غلامرضا رفیعی
Email: ghrafiee@ut.ac.ir

**Journal of Fisheries**
Vol. 75, No. 2, Summer 2022
pp. 255-266

# The effect of enriched rotifers with microscopic algae as a feed on growth indices, survival and composition of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) carcasses

**Erfan Salamroodi[1], Gholamreza Rafiee[2*], Kamran Rezaei Tavabe[3]**

*1- M.sc, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*
*2- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*
*3-Associate professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran*

**Received: 02-Sep-2020** **Accepted: 22-Nov-2020**

## Abstract

The aim of this study was to enrich the rotifer with microscopic algae as a feed in order to investigate their effects on growth indices and survival rates of rainbow trout larvae. For this purpose, *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* were used as foods, separately and together, for feeding the rotifer *Brachionus plicatilis*. In treatment 1, the larvae fed the enriched rotifers with chlorella, in treatment 2 fed the enriched rotifers with *Scenedesmus* algae and in treatment 3, fed the enriched rotifers with a combination of *chlorella* and *Scenedesmus* (50%). The control was performed using commercial feed. The density of algae cells per milliliter of water kept at $10 \times 10^7$ cells in each medium. In each experimental unite, a 60 liter of fish tank, 30 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were stored. The mean (± SD) larvae weight reached to 409.66 ± 2.51 and 594.66 ± 4.93 mg on days 14 and 21 in the control group and the maximum weight was 694.33 ± 7.50 mg on day 21 in treatment 3. The specific growth, feed conversion ratio and protein efficiency and survival rates were also significantly different among treatments 1, 2 and 3 ($P < 0.05$). The body composition analysis showed significant ($P < 0.05$) differences in crude protein and crude fat indices in treatments 1 and 3 on day 21. The results of this experiment showed that the enriched rotifers with *Chlorella* and a combination of Chlorella and *Scenedesmus* could significantly improve the growth and survival indices in Larvae of Rain bow trout.

**Keywords**: Rotifer, *Chlorella*, *Scenedesmus*, Larvae, Rainbow trout.

Corresponding author: Gholamreza Rafiee Email: ghrafiee@ut.ac.ir

## ۱. مقدمه

تکثیر و تولید لاروهای مقاوم با میزان رشد و بازماندگی بالا خصوصاً در گونه‌هایی که در دوران لاروی به غذاهای زنده وابستگی کامل دارند از مهمترین مشکلات آبزی‌پروری در قرن حاضر است (Cho and Cowey, 1991). علت استفاده از غذای زنده این است که در ابتدای دوران لاروی دستگاه گوارش لاروها به صورت یک لوله ساده و مستقیم بوده و تغییرات دستگاه گوارشی با ایجاد چین خوردگی‌هایی در روده، تشکیل غدد ترشحی و شکل‌گیری معده تقریباً در انتهای دوره لاروی به پایان می‌رسد (Kolkovski, 2001). افزایش قابلیت هضم و جذب بهتر غذای خورده شده توسط ماهی، باعث افزایش کارایی تغذیه و به دنبال آن رشد بیشتر لارو ماهیان می‌شود (Ghosh *et al*., 2003). یکی از گونه‌های آبزی که خصوصیات مناسبی برای پرورش در مزارع را دارا ست، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) است (Leonard and Lennard, 2006). قزل‌آلای رنگین کمان دارای ویژگی‌های مثبت، مانند غذا گیری مناسب، رشد سریع، مقاومت در برابر بیماری‌ها و تولید قابل اطمینان در شرایط مزرعه است و به همین علت پرورش آن به عنوان یک گونه پرورشی توسعه بیشتری یافته است و یکی از ماهیان پرتولید در صنعت آبزی‌پروری است که با توجه به کیفیت گوشت و بازارپسندی به عنوان یک گونه ارزشمند در میان ماهیان سردآبی پرورشی محسوب می‌شود (Hebb *et al*., 2003).

زئوپلانکتون‌های فیلترکننده در یک اکوسیستم آب شیرین را اساساً پروتوزوئرها، روتیفرها، کلادوسرها و کوپه پودها تشکیل می‌دهند (Horn, 1981; Wetzel, 1983; Herzing, 1987). کلادوسرها و روتیفرها از نظر فراوانی، توده زنده و تولید در بدنه آبهای شیرین غالبیت دارند. تراکم و تنوع کلادوسرها، کوپه پودها و روتیفرها تحت تاثیر عوامل زیستی و غیر زیستی‌اند. در میان عوامل زیستی تراکم و تنوع فیتوپلانکتون بطور موثری ترکیب و فراوانی زئوپلانکتون‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Flores-Burgos *et al*., 2003). به عنوان مثال، روتیفرها (گردان تنان) به عنوان یک ماده غذایی با ارزش در پرورش لارو برای آبزیان به خصوص ماهی‌ها استفاده می‌شوند (Morten *et al*., 2007). روتیفرها به علت نازک‌بودن پوسته بدن، جذب سریع و آسان، کوچک بودن اندازه (۱۵۰-۲۰۰ میکرون)، تحرک نسبتاً پایین و شناور بودن آن‌ها در ستون آب، غذایی بسیار مناسب در مرحله شروع تغذیه فعال لارو ماهیان محسوب می‌شوند (Lubzens, 1998; Fenchen, 2005; Fukusho, 2010; Doohan, 2012). نتایج یافته‌های تحقیقاتی حاکی از آن است که به همان اندازه‌ای که ناپلیوس آرتمیا به عنوان غذای زنده در تغذیه آبزیان نقش دارد، روتیفر نیز با اهمیت بوده و حتی در مواردی از اهمیت بیشتری برخوردار است (Yufera and Darias, 2007).

روش‌های مختلفی جهت غنی‌سازی غذای زنده وجود دارد که غنی‌سازی از طریق جلبک از متداول‌ترین روش های موجود است (Ravet *et al*., 2003; Martin Creuzburg and Von Elert, 2004). جلبک‌ها نیز به دلیل قرارگرفتن در ابتدای زنجیرهٔ غذایی اکوسیستم‌های آبی و نقش اساسی آنها در تولیدات اولیه، از اهمیت ویژهٔ ای برخوردارند. در ادامه زنجیرهٔ غذایی در اکوسیستم‌های آبی، زئوپلانکتون ها قرار دارند. این موجودات غالبا از جلبک ها تغذیه می‌کنند. جلبک‌ها با جذب نیترات، فسفات، دی اکسید کربن و سایر مواد مغذی و با استفاده از نور خورشید، غذای خود، آبزیان، انسان‌ها و دام‌ها را فراهم می‌کنند. جلبک‌ها از اهمیت بوم‌شناختی، تجاری، صنعتی، دارویی و غذایی برخوردار بوده و دارای مواد معدنی ضروری، پروتئین قابل هضم (که مقدار بالای آن قابل مقایسه با سایر گیاهان است)، ویتامین‌های A، $B_2$، $B_{12}$، C، E و چربی نسبتا کم (اما مقدار متناسب اسید چرب غیر اشباع امگا ۳) و ریز مغذی‌ها (سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس، ید و سایر عناصر کمیاب) هستند. از جلبک‌ها همچنین برای استخراج آنتی اکسیدان و فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد ویروسی در سنجش آزمایشگاهی استفاده می‌شود (Indy *et al*., 2014; Ale *et al*., 2011; Moustafa and

saeid, 2014; MacArtain *et al*., 2007). پرورش جلبک‌های دریایی یک صنعت جهانی شده است و پرورش جلبک‌ها در آسیا رونق بیشتری دارد، به طوری که چین ۶۰ درصد تولید جهانی جلبک را به خود اختصاص می‌دهد. در سال ۲۰۱۰ گزارش شده است که کل جلبک پرورش یافته در جهان به ۱۹ میلیون تن و به ارزش ۵/۷ بیلیون دلار آمریکا رسیده است (Sherrington, 2013). جلبک سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*) و جلبک‌های کلرلا به لحاظ دارا بودن مواد غذایی ضروری برای تغذیه روتیفرهای آب شیرین نیز استفاده می‌شوند (Ahlgren *et al*., 1992). هم اکنون، ازجلبک کلرلا (*Chlorella vulgaris*) به طور گسترده‌ای در مطالعات فتوسنتتیک، آزمایش‌های کشت انبوه و پاک‌سازی فاضلاب‌های شهری استفاده می‌شود. این جلبک به سرعت تکثیر شده و غنی از ویتامین‌های گروه B است و به عنوان منبع غذایی مهم به شمار می‌رود و میزان پروتئین آن به ۴۵ ، چربی ۲۰ ، کربوهیدرات ۲۰ ، فیبر ۵ و مواد معدنی آن به ۱۰ درصد می‌رسد و سرشار از گروهی از ویتامین‌ها است (Belasco, 1997).

در آبزی پروری، توجه به نوع غذای مصرفی و استفاده از انواع جلبک‌ها بسیار حایز اهمیت است. از آنجاییکه ترکیب شیمیایی بدن روتیفر به مقدار زیادی تحت تأثیر نوع غذای مصرفی قرار دارد. لذا، نقش نوع جلبک مصرفی به عنوان جیرهٔ غذایی مناسب روتیفر نقش مهمی را در کیفیت روتیفر خواهد داشت و به تبع آن درکیفیت موجود مصرف کننده آن نیز اثر خواهد گذاشت. بنابراین، این پژوهش با هدف غنی‌سازی روتیفر به وسیلهٔ ریزجلبک کلرلا و سندسموس و تأثیر آن به عنوان غذا بر شاخص‌های رشد و کیفیت لاشهٔ لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۱.۲. غذادهی و سازگاری ماهیان با محیط پرورش

تعداد ۳۶۰ قطعه لارو ماهی نورس قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۵± ۱۳۰ میلی‌گرم از یک مرکز پرورشی خصوصی در روستای دوهزار (ماهی سرای دوهزار) واقع در استان مازندران تهیه گردید. ماهی‌ها به کارگاه تکثیر و پرورش آبزیان رنگین‌کمان (خصوصی) واقع در شهر رامسر انتقال داده شدند و پس از بررسی‌های ظاهری و اطمینان از سلامت ظاهری به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید به مدت ۲ روز در مخازن ۲۰۰ لیتری فایبرگلاس و با تعویض آب روزانه ۲۰ درصد قرار داده شدند. به منظور جلوگیری از ایجاد اختلاف در تراکم پرورشی، لاروهای ذخیره شده در شرایط یکسان از نظر آب، غذا و فضای پرورش به طور هم زمان نگهداری شدند. پس از پایان دورهٔ سازگاری، جهت شروع آزمایش ماهی‌ها به طور تصادفی در ۱۲ تشتک ۶۰ لیتری (حجم آبگیری ۱۵ لیتر) توزیع شدند (۳۰ عدد ماهی در هر واحد) (Mohler *et al*., 2000) و تحت اثر تیمارهای آزمایش قرار گرفتند. تلفات به طور روزانه ثبت گردید و در صورت نیاز لاروهای جدید از مخازن ذخیره جایگزین شدند تا تراکم برابر تا پایان آزمایش در تمام تیمارها حفظ گردد. روزانه یک بار عمل سیفونه کردن کف مخازن انجام شد.

در این تحقیق جهت غنی سازی روتیفر از جلبک‌های کلرلا (*Chlorella vulgaris*) از شاخه کلروفیت‌ها (جلبک‌های سبز) و جلبک سندسموس (*Scenedesmus quadricauda*) با استفاده از محیط کشت Bold's Basal Medium (Borowitzka and Borowitzka, 1988) در فلاسک‌های ۲ لیتری جهت تغذیه روتیفر استفاده شد. شرایط محیط آزمایش شامل پی-اچ، دما و روشنایی برای پرورش روتیفر و جلبک کلرلا و سندسموس در جدول ۱ آورده شده است (Cho and Jo, 2005). برداشت جلبک‌ها بعد از رسیدن مرحله رشد سریع در روز ۱۰ کشت با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه پس از گذشت ۵ دقیقه جمع آوری شد. سپس جلبک‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان تغذیه روتیفر نگه‌داری شدند. برای تعیین میزان تراکم جلبکی با استفاده از لام هماسایتومتری ( ۰/۲× ۰/۰۶۲۵ $mm^2$ ) و میکروسکوپ اینورت بر اساس روش Martinez و Chakroff پس از تثبیت نمونه‌ها توسط محلول لوگول

ایدین ( ۰/۱ در هر میلی‌لیتر نمونه) شمارش گردید. تراکم سلول‌های جلبک جهت تغذیه روتیفر $۵\times۱۰^{۷}$ سلول در میلی‌لیتر بود.

**جدول ۱- میزان تغییرات پی-اچ، دما (درجه سانتیگراد) و میانگین روشنایی(لوکس) جلبک *Chlorella vulgaris* و دافنی *Daphnia magna* در طول دوره پرورش**

| فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی | Chlorella vulgaris | Scenedesmus quadricauda | Brachionus plicatilis |
|---|---|---|---|
| پی- اچ | ۷/۷-۳/۷ | ۶/۷-۹ | ۷/۸-۵/۳ |
| دما (سانتی گراد) | ۲۷-۲۴ | ۲۴-۲۳ | ۳۰-۲۵ |
| میزان روشنایی (لوکس) | ۲۵۰±۳۳۰۰ | ۲۵۰±۳۳۰۰ | ۳۵۰±۲۰۰۰ |

### ۲.۲. طرح و واحدهای آزمایش

در این پژوهش از ۳ تیمار (با ۳ تکرار) و یک گروه شاهد استفاده شد. تغذیهٔ لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به ترتیب در تیمار یک با روتیفر تغذیه شده از جلبک کلرلا، در تیمار دو با روتیفر تغذیه شده با جلبک سندسموس و در تیمار سه با روتیفر تغذیه شده با نسبت‌های برابر از جلبک کلرلا و سندسموس انجام شد. لاروها در تیمار شاهد با غذای تجاری (شرکت ساخت غذای آبزیان فرادانه، $SFT_1$) تغذیه شدند. غذادهی لاروها طی ۶ نوبت در شبانه روز (۹ صبح، ۱۳ ظهر، ۱۵ بعد از ظهر، ۹ شب، ۱ و ۵ صبح) انجام شد (Awaiss and Kestemont, 2009). با توجه به نیاز ماهی و برنامه زمانی تغذیه، لاروها به اندازهٔ ۶-۵ درصد وزن بدن خود تغذیه شدند (Lovell, 1993). این بررسی‌ها طی ۲۱ روز انجام پذیرفت و غلظت اکسیژن محلول در آب (DO) و دمای‌آب مخازن پرورشی سه بار در هفته به ترتیب با دستگاه اکسیژن متر و دماسنج لوترون مدل DO-5510 اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان اکسیداسیون و احیا (ORP) نیز از دستگاه ORP متر پرتابل AZ Instrument مدل ۸۶۵۱ استفاده شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی آب (EC) و pH، به ترتیب از دستگاه‌های (HANA, HI 8033) و pH سنج Orion (مدل 410A) استفاده شد.

### ۳.۲. سنجش شاخص‌های رشد ماهی

در پایان دورهٔ آزمایش، غذادهی برای مدت ۲۴ ساعت متوقف گردید و پس از آن تمام ماهیان هر مخزن برداشت شدند و جهت آرام‌سازی به مدت ۵ دقیقه در محلول ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پودر گل میخک قرار گرفتند (Torrecillas *et al*., 2011). در انتها وزن و طول تمام ماهی‌ها به ترتیب توسط ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم و خط‌کش بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد و شاخص رشد و بقا توسط فرمولهای زیر محاسبه گردید (Kitabayashi *et al*., 1971):

$$\text{درصد افزایش وزن (گرم)} = \frac{\text{(میانگین وزن نهایی- میانگین وزن اولیه)}}{\text{میانگین وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{ضریب رشد ویژه (درصد در روز)} = \frac{\text{(لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن اولیه)}}{\text{تعداد روزها}}$$

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} = \frac{\text{گرم غذای خورده شده}}{\text{گرم افزایش وزن}}$$

$$\text{ضریب کارایی پروتئین} = \frac{\text{گرم افزایش وزن}}{\text{گرم پروتئین دریافتی}}$$

$$\text{درصد بقاء} = \text{(تعداد نهایی ماهیان} - \text{تعداد اولیه ماهیان)} \times ۱۰۰$$

### ۴.۲. تجزیهٔ بیوشیمیایی لاشهٔ لاروها

تعیین ترکیب تقریبی لاشهٔ لاروها ماهی مطابق استانداردهایAOAC (۱۹۹۰) انجام شد. نمونه‌ها پس از توزین ۲۴ ساعت در دمای ۱۵۰ درجهٔ سانتی گراد در آون کاملاً خشک شدند و رطوبت آن‌ها از دست رفت. سپس، با یک محاسبهٔ ساده از طریق روابط: درصد رطوبت =(وزن نمونه قبل از قرار دادن در آون - وزن نمونه پس از خارج کردن از آون) / وزن نمونه قبل از قرار دادن در آون × ۱۰۰ و درصد مادهء خشک = ۱۰۰ - درصد رطوبت × ۱۰۰، رطوبت و مادهء خشک لاشه، به طور وزنی تعیین شد (Azevedo *et al*., 2004). سپس، مادهٔ خشک به دست آمده از طریق دستگاه‌های مختلف تجزیه شد. پروتئین خام با استفاده از روش میکروکلدال و یا تعیین مقدار نیتروژن کل و تبدیل آن به پروتئین خام بر اساس ۰/۰۱۶ نیتروژن، مطابق رابطهٔ پروتئین خام = نیتروژن کل به دست آمده× ۶/۲۵ تعیین شد. چربی خام مطابق روش سوکسله از طریق استخراج چربی به وسیله اتر و خاکستر نیز از طریق سوزاندن در کوره با ۶۰۰ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۲ ساعت تعیین شد (Sorensen *et al*., 2005).

### ۵.۲. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون شاپیرو-ویلک سنجش گردید و سپس با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از آزمون چند دامنه ای دانکن برای تعیین سطح معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵$) میانگین داده‌ها بین تیمارها استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه گردید. برای تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌ها، از نرم افزار تحت ویندوز SPSS نسخه ۲۴ استفاده گردید.

## ۳. نتایج

### ۱.۳. عملکرد رشد و بقای ماهی

شاخص‌های رشد از قبیل وزن نهایی، درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین ماهیان تغییرات معنی‌داری را در تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند ($P<۰/۰۵$). نرخ بقاء در بین تیمارهای مختلف فاقد تفاوت معنی‌داری بود ($P\geq ۰/۰۵$) (جدول ۲).

**جدول ۲- شاخص‌های رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در بین تیمارهای آزمایش در روز ۱۴**

| تیمارها | وزن اولیه (میلی‌گرم) | وزن نهایی (میلی‌گرم) | درصد افزایش وزن نهایی | نرخ رشد ویژه (درصد در روز) | ضریب تبدیل غذایی | نرخ کارایی پروتئین | درصد بقا |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۲/۰۸$^{a}$ ± ۱۳۰/۶۶ | ۲/۵۱$^{a}$± ۴۰۹/۶۶ | ۵/۱۹$^{a}$± ۲۱۴/۳۷ | ۰/۰۳$^{a}$± ۱۷/۴۷ | ۰/۰۱$^{a}$± ۱/۵۰ | ۰/۰۲$^{a}$ ± ۲/۵۷ | ۳/۸۵$^{a}$ ± ۹۱/۱۰ |
| ۱ | ۱/۵۲$^{a}$ ± ۱۳۰/۶۶ | ۴/۵۰$^{b}$± ۴۳۶/۳۳ | ۳/۲۷$^{b}$± ۲۳۳/۹۴ | ۰/۰۳$^{b}$± ۱۷/۷۵ | ۰/۰۱$^{b}$± ۱/۳۷ | ۰/۰۳$^{b}$ ± ۲/۸۲ | ۱/۹۲$^{a}$± ۹۷/۷۷ |
| ۲ | ۲/۵۱$^{a}$ ± ۱۳۰/۳۳ | ۵/۶۸$^{b}$± ۴۲۸/۶۶ | ۴/۰۵$^{b}$± ۲۲۸/۹۳ | ۰/۰۴$^{b}$± ۱۷/۶۷ | ۰/۰۱$^{b}$± ۱/۴۱ | ۰/۰۳$^{b}$ ± ۲/۷۵ | ۵/۰۹$^{a}$ ± ۹۴/۴۴ |
| ۳ | ۱/۵۲$^{a}$ ± ۱۳۱/۶۶ | ۱۳/۰۵$^{b}$± ۴۴۲/۳۳ | ۱۱/۴۲$^{b}$± ۲۳۵/۹۹ | ۰/۱۳$^{b}$± ۱۷/۸۰ | ۰/۰۵$^{b}$± ۱/۳۵ | ۰/۱۲$^{b}$ ± ۲/۸۶ | ۱/۹۲$^{a}$ ± ۹۷/۷۷ |

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست ($P<۰/۰۵$).

شاخص‌های رشد از قبیل وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، نرخ تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین ماهیان دارای تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها بودند ($P<۰/۰۵$). تیمارهای ۱ و ۳ از نظر شاخص درصد افزایش وزن فاقد تفاوت معنی‌دار بودند ($P\geq ۰/۰۵$) اما در مقایسه با سایر تیمارها (۱ و ۳) دارای تفاوت معنی‌دار بودند ($P<۰/۰۵$).

نرخ بقاء در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود ($P<۰/۰۵$) (جدول ۳).

### ۲.۳. تجزیه لاشهٔ لاروها

شاخص‌های ترکیب بیو شیمیایی لاشه از قبیل پروتئین خام و چربی خام در تیمارهای ۱ و ۳ نسبت به

تیمار ۲ و شاهد دارای تفاوت معنی‌داری در پایان آزمایش بودند (P<۰/۰۵). در شاخص‌های مادهٔ خشک و خاکستر تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها مشاهده نشد (P≥۰/۰۵) (جدول ۴).

**جدول ۳- شاخص‌های رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در بین تیمارهای آزمایش در روز ۲۱**

| تیمارها | وزن اولیه (میلی‌گرم) | وزن نهایی (میلی‌گرم) | درصد افزایش وزن نهایی | نرخ رشد ویژه (درصد در روز) | ضریب تبدیل غذایی | نرخ کارایی پروتئین | درصد بقا |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۲/۰۸$^{a}$± ۱۳۰/۶۶ | ۴/۹۳$^{a}$± ۵۹۴/۶۶ | ۹/۷۳$^{a}$±۳۵۷/۳۸ | ۰/۰۳$^{a}$ ± ۱۹/۰۵ | ۰/۰۱$^{d}$ ±۱/۳۳ | ۰/۰۳$^{a}$ ± ۲/۵۶ | ۶/۹۶$^{a}$ ± ۷۲/۲ |
| ۱ | ۱/۵۲$^{a}$± ۱۳۰/۶۶ | ۱۵/۵۳$^{c}$±۶۶۷/۶۶ | ۱۴/۱۷$^{c}$±۴۱۳/۰۷ | ۰/۰۸$^{c}$± ۱۹/۵۱ | ۰/۰۳$^{b}$±۱/۱۵ | ۰/۰۸$^{c}$ ± ۲/۹۷ | ۳/۳۳$^{bc}$±۸۳/۳۳ |
| ۲ | ۲/۵۱$^{a}$±۱۳۰/۳۳ | ۵/۱۳$^{b}$± ۶۲۳/۳۳ | ۶/۰۹$^{b}$±۳۷۸/۳۳ | ۰/۰۱$^{b}$± ۱۹/۲۳ | ۰/۰۰۴$^{c}$±۱/۲۵ | ۰/۰۰۹$^{b}$ ± ۲/۷۱ | ۳/۳۳۵$^{ab}$±۷۶/۶۶ |
| ۳ | ۱/۵۲$^{a}$± ۱۳۱/۶۶ | ۷/۵۰$^{d}$± ۶۹۴/۳۳ | ۸/۵۹$^{c}$±۴۲۷/۱۴ | ۰/۰۳$^{d}$ ± ۱۹/۶۴ | ۰/۰۱$^{a}$ ±۱/۱۰ | ۰/۰۳$^{d}$ ± ۳/۱ | ۱/۹۲۸$^{c}$ ±۸۸/۸۸ |

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (P<۰/۰۵).

**جدول ۴ – میانگین ترکیب بیوشیمیایی لاشهٔ لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پایان آزمایش (روز ۲۱)**

| تیمارها | پروتئین خام(درصد) | چربی خام (درصد) | مادهٔ خشک (درصد) | خاکستر (درصد) |
|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۰/۷۳$^{a}$ ± ۷۱/۱۸ | ۰/۴۰$^{b}$± ۱۳/۵۲ | ۰/۶۰$^{a}$± ۲۵/۲۷ | ۰/۲۰$^{a}$ ± ۱۲/۴۰ |
| ۱ | ۰/۳۶$^{b}$ ± ۷۴/۲۲ | ۰/۱۵$^{b}$± ۱۲/۹۶ | ۰/۵۵$^{a}$± ۲۴/۹۶ | ۰/۸۶$^{a}$ ± ۱۱/۹۸ |
| ۲ | ۰/۷۳$^{a}$ ± ۷۱/۷۵ | ۰/۶۲$^{a}$± ۱۲/۰۶ | ۰/۷۷$^{a}$± ۲۵/۰۴ | ۰/۴۹$^{a}$ ± ۱۲/۳۱ |
| ۳ | ۰/۷۲$^{b}$ ± ۷۴/۸۰ | ۰/۱۶$^{b}$± ۱۳/۱۹ | ۰/۵۷$^{a}$± ۲۴/۶۵ | ۰/۳۸$^{a}$ ± ۱۲/۴۰ |

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست (P<۰/۰۵).

## ۴. بحث و نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش در روز چهاردهم نشان داد که تیمارهای ۱ و ۲ و ۳ دارای تفاوت معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد بودند، ولی اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشتند. بررسی‌های آماری نشان داد که این اختلاف معنی‌دار ناشی از تغذیه تیمارها(۱، ۲ و ۳) با گذشت زمان بیشتر خواهد شد و پس از گذشت ۲۱ روز از شروع آزمایش، تغییر معنی‌داری در افزایش وزن لاروها مشاهده شد و متعاقب آن سایر عملکردهای رشد ماهی از قبیل درصد افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، نرخ تبدیل غذایی و نرخ کارایی پروتئین نیز تغییر معنی داری را در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داد. در این راستا مطالعات محققین نشان داده است که روند رشد در هفته نخست بعد از شروع تغذیه فعال در لاروهای تغذیه شده با روتیفر نسبت به سایر تیمارها از روند بالاتری برخوردار خواهد بود، و علت این امر را به اندازه غذای زنده مرتبط دانستند. همچنین تراکم و اندازه غذا عامل اصلی افزایش کارایی و جذب غذا در مراحل آغازین تغذیه نیز می‌تواند باشد. نشان داده شده است که افزایش تراکم غذا و اندازه مناسب غذای مصرفی، با تاخیر در میزان‌جذب، روند رشد لاروها و مدت زمان سیری آن‌ها را افزایش خواهد داد (Boehlert *et al*., 1984; Lubzens, 1989; Kraul *et al*., 2010). این امر می‌تواند نقش مهم خود را در رشد لاروها در این پژوهش و در مقایسه با شاهد توضیح دهد. به غیر از اندازه سلول، عواملی از قبیل شکل سلول یا شرایط کشت جلبک بر میزان رشد روتیفرهایی که از جلبک‌های مختلفی تغذیه می‌کنند اثر گذار است. کیفیت غذایی جلبک و قابلیت هضم پذیری سلول‌ها به وسیله روتیفرها می‌تواند به عنوان عوامل تاثیر گذار بر

الگوی رشد زئوپلانکتون مورد آزمایش نیز باشد (Lucia-Pavon *et al*., 2001) . رشد کمتر لاروها در هنگام تغذیه از جلبک سندسموس را می‌توان به توانایی کمتر روتیفر در پالایش و مصرف این جلبک از محیط کشت نیز نسبت داد. 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 در این شرایط، یک حالت ضد تغذیه‌ای را برای زئو پلانکتون تغذیه کننده از آنها گسترش می‌دهند. این موضوع در مورد جلبک کلرلا به اثبات نرسیده است (Flores-Burgos *et al*., 2003). بنابراین نقش این عامل قابلیت هضم پایین یا جذب جلبک سندسموس به وسیله روتیفرها را می‌تواند توجیه کند ( Flores-Burgos *et al*., 2003). در این مطالعه مشخص شد که لاروهایی که با روتیفر غنی شده توسط جلبک کلرلا (تیمار ۱) و روتیفر غنی شده توسط جلبک کلرلا و سندسموس (تیمار ۳) تغذیه شدند، از نظر بقاء درصد بالاتری را نسبت به تیمار شاهد (تغذیه شده توسط غذای فرموله) داشتند. غذای فرموله شده شاهد، حاوی پروتئین و دیگر موادی است که قابلیت هضم کمتری را نسبت به روتیفر دارد، این موضوع نیز می‌تواند رشد کم لاروها را تفسیر کند. گرچه، به طور میانگین غذای زنده حاوی حدود ۱۰ درصد مادهٔ خشک است در حالیکه غذای فرموله شده حاوی ۶۰ تا ۹۰ درصد ماده خشک است (Kolkovski, 2001). در بسیاری از پژوهش‌ها، مشخص گردیده است که کیفیت نامناسب غذای زنده نیز در مراحل تغذیه لاروی، منجر به کاهش رشد و کارایی تغذیه می‌شود (Wandermeeren *et al*., 2008). از این رو در کارگاه‌های تکثیر و پرورش آبزیان، بیشتر تلفات لاروها را در دوران تغذیه خارجی، به عدم کیفیت غذای زنده مصرفی نسبت می‌دهند (Hunter and Kimbrell, 1980). گرچه مشخص شده است که روتیفر به عنوان یک منبع غذایی با ارزش در مراحل ابتدایی تغذیهٔ لاروهای ماهیان استخوانی محسوب می‌شود و نقش مهمی را بر بازماندگی لارو خواهد گذاشت ( Cho and Jo, 2005; Wang *et al*., 2005). در این مطالعه مشخص شد که ماهیان تغذیه شده با روتیفر غنی شده توسط جلبک کلرلا (تیمار ۱) و نیز ترکیب کلرلا و سندسموس (تیمار ۳)، دارای رشد و بقاء معنی داری نسبت به تیمار شاهد و تیمار غذایی روتیفر تغذیه شده با جلبک سندسموس به تنهایی بودند. لذا، نقش نوع تغذیه غذای زنده بر شاخص‌های رشد لارو ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به اثبات رسید. نقش تغذیه ای جلبک را می‌توان به بالا بودن میزان اسیدهای چرب لینولییک و لینولنیک در جلبک کلرلا نسبت داد که متعاقبا باعث افزایش شاخص‌های رشد لاروها شده است. علی رغم یکسان بودن شرایط پرورش جلبک کلرلا و سندسموس، تفاوت‌های ساختاری و وراثتی در میان آن‌ها باعث تفاوت در مواد تشکیل‌دهندهٔ آن‌ها نیزمی‌شود. در تحقیقاتی دربارهٔ پروفیل اسیدهای چرب جلبک کلرلا و سندسموس مشخص شده است که میزان اسیدهای چرب لینولئیک (۶-۱۸:۲n) و لینولنیک (۳-۱۸:۳n) در جلبک کلرلا به ترتیب ۱۱/۵ و ۲۰/۴ و در جلبک سندسموس به ترتیب ۱۳ و ۹ است (Jensen and Verschoor, 2004). همچنین در مطالعات دیگری مشخص شده است که جلبک کلرلا حاوی ۳/۴ درصد اسید چرب بلند زنجیره EPA است (Işik *et al*., 1999). از آنجایی که اسید چرب‌های بلند زنجیره (به خصوص EPA) برای رشد و بالا بردن ارزش غذایی روتیفرها مورد نیاز است، جلبک کلرلا با دارا بودن اسید چرب EPA و فقدان آن در جلبک سندسموس تعیین کننده ارزش غذایی روتیفر و به تبع آن کیفیت ماهیان استفاده کننده از این نوع روتیفرها خواهد بود (Sarma, 1991). لذا، با تغییر جیرهٔ غذایی روتیفر می‌توان ترکیب بیوشیمیایی آن را کنترل نمود (Watanabe *et al*., 1983). پس میزان کربوهیدرات، پروتئین، چربی و نرخ تولید روتیفر، متأثّر از نوع جیرهٔ غذایی آن‌ها ست. در تحقیق حاضر بیشترین میزان پروتئین و چربی در لاشهٔ لاروهای تغذیه شده با کلرلا (۱) و تیمار مخلوط (۳) ثبت شد و داری تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد بود. نشان داده شده است که

محتوای پروتئین روتیفرها را می‌توان از طریق تغذیه تا ۸۰ درصد افزایش داد ولی پروفایل اسیدهای آمینه بدون تغییر می‌ماند و تحت تأثیر جیره قرار نمی‌گیرد (Scott and Baynes, 1978; Lubzens, 1989). بیشترین میزان پروتئین بدست آمده (۶۱/۵ درصد) در روتیفرهای غنی‌شده توسط جلبک کلرلا بدست آمده است که با تحقیق حاضر مطابقت کامل دارد و پروتئین روتیفر بین ۲۸ تا ۶۸ درصد متغیر بود (Frolov and Pankov, 1992; Carić *et al*., 1993; Fernández-Reiriz *et al*., 1993; Makridis and Olsen, 1999). محتوای چربی روتیفرها به طور میانگین بین ۲۸-۹ درصد وزن خشک است که تأثیر بسزایی بر رشد و بقای لارو ماهیان نیز دارد (Lubzens, 1989; Brown *et al*., 1997). حدود ۴۳-۳۴ درصد چربی روتیفر را فسفولیپید و حدود ۵۵-۲۰ را تری گلیسرید به همراه مقدار کمی از مونو گلیسیرید، دی گلیسیرید، استرول‌ها، استرول استرها و اسیدهای چرب تشکیل می‌دهند (Rainuzzo *et al*., 1989). تحقیقات نشان داده است که میزان کل HUFA در روتیفر *Brachionus plicatilis* تغذیه شده با چهار غلظت بالا از جلبک کلرلا (۱۰$^{۶}$ × ۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵ و ۴۰ cells/mL) با افزایش تراکم غذا افزایش می‌یابد (Sarma and Rao, 1991). میزان چربی موجود در جلبک کلرلا ۲۲-۱۴ درصد تعیین شده است که میزان بالایی در میان جلبک‌ها ست (Brown *et al*., 1997). تحقیقات نشان داده است که گونهٔ *Brachionus plicatilis* قادر به ساختن اسید چرب‌های بلند زنجیره از اسیدهای چرب کوتاه زنجیره است و همچنین می‌تواند این ترکیبات را از طریق غنی سازی در بدن ذخیره کند (Ben-Amotz *et al*., 1987). در تحقیقات پیشین مشخص شده است که برخی ماهیان قادر به ساختن اسیدهای چرب بلندزنجیره نیستند (Kanazawa *et al*., 1979)، در حالی که روتیفرها می‌توانند مقدار جزیی از PUFAn-3 را بسازند (Lubzens *et al*., 1985). بنابراین با تغذیه لارو از جلبک این کمبود تا حدودی قابل جبران خواهد شد و در نتیجه نوع غذا و میزان استفاده از جلبک‌ها می‌تواند در کیفیت و تراکم روتیفر به خصوص در ترکیب اسیدهای چرب آن‌ها تأثیر مهمی داشته باشد و استفاده از این نوع غذای زنده در مقایسه با سایر غذاهای زنده و غذای فرموله شده برای مهم ترین دوران زندگی ماهی‌ها یعنی دورهٔ لاروی حایز اهمیت است. لذا، این موارد نشان دهنده تاثیر مثبت تغذیه روتیفر پرورش یافته با تیمارهای غذایی جلبک کلرلا و درترکیب با سندسموس بود.

## نتیجه‌گیری نهایی

د ر این پژوهش مشخص شد که نوع غذا و میزان استفاده از جلبک‌ها می‌تواند در کیفیت و تراکم روتیفر به خصوص در ترکیب اسیدهای چرب آن تأثیر مهمی داشته باشد و استفاده از این نوع غذای زنده در مقایسه با سایر غذاهای زنده و غذای فرموله شده برای مهم ترین دوران زندگی ماهی‌ها یعنی دورهٔ لاروی حایز اهمیت است. نتایج این آزمایش نشان داد که با استفاده از روتیفر غنی شده با جلبک کلرلا و ترکیب جلبک‌های کلرلا و سندسموس می‌توان شاخص‌های رشد و بقاء لاروهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش داد.

## ۵. منابع

## References

Ahlgren, G., Inga-Britt, G., Boberg, M., 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *Journal of Phycology* 28(-), 37-50.

Ale, M.T., Mikkelsen, J.D., Meyer, A.S., 2011. Differential growth response of Ulva lactuca to ammonium and nitrate assimilation. *Journal of Applied Phycology* 23(3), 345-351.

AOAC, 1990. Official method of analysis of Association of Official Analitical Chemist. Vol. 1, 15th ed. Assoc. Official Analytical Chemist, Washington.

Awaiss, A., Kestemont, P., 2009. Feeding sequences (rotifer and dry diet), survival, growth and biochemical composition of African cat fish, Clarias garieptinus. *Aquaculture Research* 29(-), 731-741.

Azevedo P.A., Leeson S., Cho C.Y., Bureau D.P., 2004. Growth and feed utilization of large size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in freshwater: diet and species effects, and responses over time. *Aquaculture Nutrition* 10(6), 401-411.

Belasco, W., 1997. Algae burgers for a hungry world the rise and fall of Chlorella cuisine. Technology and culture, 608-634.

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.

Boehlert, G.W., Yoklavich, M.M., 1984. Carbon assimilation as a function of ingestion rate in larval pacific herring, *Clupea harengus pallasi*. *Journal of Biology* 79, 251-262.

Borowitzka, M.A., Borowitzka, L.J., 1988. Micro-Algal Biotechnology. Cambridge University Press, London, UK.

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.

Cho, C.Y. and Cowey, C.B., 1991, Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. In: Wilson, R.P (ed.) Handbook of Nutrient Requirement of Finfish. *CRC Press, Boca Reation* 131-143.

Cho, S.H., Jo, H., 2005. Effect of enriched live feeds on survival and growth rates in larval Korean rock fish, Sebastes *sehlegeli hilgendorf*. *Aquaculture Research* 32, 192-208.

Doohan, M., 2012. An energy bud gets for adult, *Brachionus plicatilis*. *Journal of Oceanography* 13, 351-362.

Fenchen, J., 2005. Commercial production of micro algae and rotifer culture in China. *Aquaculture* 39, 54-63.

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.s.s., Nandini, S.S., 2003. Population Growth of Zooplankton (Rotifers and Cladocerans) Fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in Different Proportions. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* 31(3), 240-248.

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.

Fukusho, K., 2010. Review of the research status of Zooplankton production Japan. *Journal of Aquaculture and Fisheries Technology*, 2, 232-240.

Ghosh, K., Sen, S. K., Ray, A. K., 2003. Supplementation of an isolated fish gut bacterium, *bacillus circulans*, in Formulated diets for Rohu, *Labeo rohita*, Fingerlings. *Bamidgeh* 55(1), 13-21.

Hebb, C.D., Castell, J.D., Anderson, D.M., Batt, J., 2003. Growth and feed conversion of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*) in relation to different proteinto-lipid levels in isocaloric diets, *Aquaculture* 221(1), 439 - 449.

Herzing, A., 1987. The analysis of planktonic rotifer population: A plea for long term investigation. *Hydrobiologia*147, 163-180.

Horn, W., 1981. Phytoplankton grazing in the drinking water reservoir. Int. Rev Ges. *Hydrobiology* 66, 787 – 810.

Hunter, J.R., Kimbrell, C.M., 1980. Early life history of pacific mackerels, Scomber japonicus. *Fishery Bulletin* 78, 98-102.

Indy, J.R., Yasui, H., Rodríguez, L.A., González, C.A.Á., Sánchez, W.M.C., 2014. Seaweed: for food, medicine and industry. *Kuxulkab*' 16 (29).

Işik, O., Sarihan, E., Kuşvuran E., Gül Ö., Erbatur, O., 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(3–4), 299-311.

Jensen, Th. C., Verschoor, A. M., 2004. Effects of food quality on life history of the rotifer *Brachionus calyciflorus Pallas*. *Freshwater Biology* 49(9), 1138-1151.

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.

Kitabayashi K., Kurata H., Shudo K., Nakamura K., Ishikawa S., 1971. Studies of formula feed fokuruma prawn: I. On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. *Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory* 65, 91-107.

Kolkovski S., 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles - Implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200 (1), 181-201.

Kraul, S., Nelson, A., Brittain, K., Ako, H., Ogasawara, A., 2010. Evaluation of live feeds for larval and post larval mahimahi, *Coryphaena hippurus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 23, 299–307.

Lennard, W.E., Leonard, B.V., 2006. A Comparison of Three Different Hydroponic Sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic Test System. *Aquaculture International* 14 (6), 539-550.

Lovell, T., 1993. Nutrition and feeding of fish. Published by Van Nostrand Reinhold. New York. 185-203.

Lubzens, E., 1989. Possible use of rotifers resting eggs and preserved live rotifer, Brachionus plicatilis, in aquaculture. *Aquaculture* 1, 741-750.

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

Lucía-Pavón, Sarma S.s.s., Nandini, S.S., 2001. Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Revista de Biología Tropical* 49(3-4), 895-902.

MacArtain, P M., Gill C.I.R., Brooks M., Campbell R., Rowl, I.R., 2007. Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews* 65(12), 535-543.

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

Martin Creuzburg D. and Von Elert E., 2004. Impact of 10 dietary sterols on growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *Journal of Chemical Ecology* 30, 483-500.

Martinez, M.P., and Chakroff, J.B.P., 1975. Direct phytoplankton counting technique using the hemacytometer. *Philippine Agricultural Scientist* 59, 43-50.

Mohler J.W., King M.K., Farrell P.R., 2000. Growth and survival of first-feeding and fingerling Atlantic Sturgeon under culture conditions. *Journal of Aquaculture* 62, 174-183.

Morten, V., Torodd, Y., Gunvor, I., 2007. Automatic measurement of rotifer, *Brachionus plicatilis*, densities in first feeding tanks. *Aquacultural Engineering* 36, 115–121.

Moustafa, Y.T., Saeed, S.M., 2014 Nutritional evaluation of green macroalgae, Ulva sp. and related water nutrients in the Southern Mediterranean Sea coast, Alexandria shore, Egypt. 4th Conference of Central Laboratory for Aquaculture Research, 35-55.

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.

Ravet J.L., Brett M.T. and Muller-Navarra D.C., 2003. A test of the role of polyunsaturated fatty acids in phytoplankton food quality for *Daphnia* using liposome supplementation. *Limnology and Oceanography* 48(5), 1938-1947.

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

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.

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.

Torrecillas S., Makol A., Caballero M.J., Montero D., Gines R., Sweetman J. and zquierdo M.S., 2011. Improved feed utilization, intestinal mucus production and immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Aquaculture Nutrition* 17, 223-233.

Von Elert E., 2002. Determination of limiting polyunsaturated fatty acid in *Daphnia galeta* using a new method enriches food algae with single fatty acid. *Limnology and Oceanography* 47(6), 1764-1773.

Von Elert E., 2002. Determination of limiting polyunsaturated fatty acid in *Daphnia galeta* using a new method enriches food algae with single fatty acid. *Limnology and Oceanography* 47(6), 1764-1773.

Wandermeeren, T., Olsen, R.E., Hamre, K., Fyhn, H.J., 2008. Biochemical composition of rotifer for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture* 274, 375-397.

Wang, X., Kim, K.W., Bai, S.C., Huh, M.D., Cho, B.Y., 2005. Effect of the different levels of dietary vitamin C on growth and issue ascorbic acid changes in parrot fish *oplegnathus fasciattuse*. *Aquaculture* 20, 203-211.

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.

Sherrington, N.A., 2013. Ulva lactucaL. as an inorganic extractive component for Integrated multi-trophic aquaculture in British Columbia: An analysis of potentialities and pitfalls. MSc. Thesis. University of Liverpool John Moores University. *Department of Geography*.137P.

Wetzel, R.G., 1983. Limnology. 2nd Edition. CBS College publishing, Philadelphia, USA. PP: 125-320.

Yufera, M., Darias, M.J., 2007. The consent of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268, 53-63.