مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۰ شماره ۳، تابستان ۱۴۰۰، صفحات ۲۸۶ تا ۳۰۰

اثر تغذیه با مخلوط ریزجلبک‌های نانوکلروپسیس و ایزوکرایسیس غنی شده با عنصر روی بر میزان ترکیب مواد معدنی و فاکتورهای رشد روتیفر آب شور *Brachionus plicatilis*

سروه قادرپور[۱]، نصراله احمدی فرد[۱*]، ناصر آق[۲]، ذکریا وهاب زاده[۳]، آلیسیا استوز[۴]

۱- گروه شیلات و آبزیان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران.
۲- گروه آرتمیا، پژوهشکده آرتمیا و آبزی پروری، دانشگاه ارومیه، ایران.
۳- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ایران.
۴- مرکز تحقیقات و فناوری غذای آبزیان (IRTA)، تاراگونا، اسپانیا.

چکـــیده

علیرغم نقش مثبت روتیفر در تغذیه مراحل اولیه لارو ماهیان و سخت پوستان، میزان پایین ماده معدنی روی (Zn) به عنوان یکی از معایب این غذای زنده محسوب می‌شود. بنابراین افزایش مقادیر روی از طریق غنی‌سازی ضروری است. بدین منظور، در پژوهش حاضر ترکیب ۲ ریزجلبک *Isochrysis aff. galbana* و *Nannochloropsis oculata* با سولفات روی به مدت زمان‌های ۱ و ۳ ساعت غنی شدند و با توجه به مشاهده نتایج بهتر در مدت زمان ۱ ساعت، اثرات تیمارهای آن بر رشد و غنی سازی روتیفر مورد مطالعه قرار گرفت. ترکیب ۱:۱ ریزجلبک‌ها با سولفات روی (غلظت‌های۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر) غنی شدند. بیشترین میزان روی در مخلوط جلبکی غنی شده با 90 mg/l به مدت ۱ ساعت مشاهده شد و میزان مس آن با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، همچنین میزان منگنز آن در مقایسه با بقیه تیمارها به جز گروه شاهد، بیشترین مقدار بود. بعد از تغذیه روتیفرها با جلبک‌های غنی شده به مدت ۱ ساعت، بهترین تیمار روتیفر 45 mg/l بود که حاوی سطح دوم روی و سطح اول منگنز، مس، پتاسیم و سدیم نیز بود. از طرف دیگر این تیمار بیشترین تعداد تخم را در روز اوج تولیدمثل تیمارها (روز سوم) داشت و تراکم جمعیت آن در روزهای آخر با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشت ($P>0.05$). روتیفرهای غنی شده با Zn می‌توانند برای تغذیه ماهیان دریایی جهت برآورده کردن نیازهای غذایی لارو آبزیان استفاده شوند.

کـــلید واژه‌ها: غنی‌سازی، جلبک، رشد، ماده معدنی، روتیفر.

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۵
تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۶/۵

***نویسنده مسول:**
n.ahmadifard@urmia.ac.ir

مقدمه

صنعت آبزی‌پروری به سرعت در حال رشد است و موفقیت آن به سلامت ذخایر پرورشی، عرضه ثابت تخم و لارو ماهی بستگی دارد. یکی از چالش‌های پرورش آبزیان، تهیه غذای مناسب برای مراحل اولیه لاروی جهت تولید انبوه آبزیان است. یکی از مشکلات اصلی در زمینه پرورش آبزیان دریایی، تولید غذای زنده مناسب (مانند روتیفر، آرتمیا و پاروپایان) است [۱]. زئوپلانکتون بخش عمده جیره غذایی لارو ماهیان دریایی را در شبکه غذایی طبیعی تشکیل می‌دهد که معمولاً محققین بر این باورند پاروپایان نیاز غذایی لارو ماهیان را برآورده می‌کنند [۲]. اما پرورش این زئوپلانکتون‌ها بدلایل حساسیت بالای پرورش (حساس بودن به آلودگی)، خطر ابتلا به عفونت‌های انگلی در صورت صید بالغین آن‌ها از طبیعت، تولید تعداد کم تخم در یک دوره پرورشی و طولانی بودن دوره تکثیر آن‌ها چندان موفقیت‌آمیز نبوده است [۳]. در بسیاری از مراکز تکثیر و پرورش

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

لارو ماهی برای تغذیه از روتیفرها به دلایلی از قبیل اندازه کوچک، حرکات کند، تولیدمثل سریع و کشت آسان استفاده می‌شود [۴-۷]. همچنین روتیفرها تا زمانی که شرایط کشت مناسب باشد، رشد نمایی دارند [۸].

با وجود اینکه روتیفر ویژگی‌های مطلوبی دارد اما استفاده از آن جهت تغذیه لارو ماهیان دریایی چندان موفقیت‌آمیز نبوده که به دلیل کمبود برخی مواد مغذی روتیفر در مقایسه با پاروپایان می‌باشد [۹]. بنابراین افزایش مقادیر این مواد مغذی با استفاده از روش‌های غنی‌سازی مستقیم یا غیرمستقیم ضروری است. مواد معدنی کم نیاز از جمله روی، سلنیوم، آهن و منگنز گروهی از ریزمغذی‌ها هستند که در روتیفرها در مقایسه با پارورپایان به میزان کمتری یافت می‌شود. به عنوان مثال مقدار عنصر روی در روتیفر (۴۹ mg/kg وزن خشک) تا ۵ برابر کمتر از مقادیر موجود در پاروپایان (۳۴۰–۵۷۰ mg/kg وزن خشک) می‌باشد [۵ و ۱۰-۱۳]. علاوه بر این میزان روی در روتیفر کمتر از نیاز ماهی است [۱۴].

عنصر روی، یک ریزمغذی ضروری برای ماهیان و دیگر جانوران می‌باشد که فراوانترین ماده معدنی کمیاب در ماهیان است [۱۰]. این عنصر در عملکردهای فیزیولوژیکی از جمله رشد، نمو، تولیدمثل، تشکیل استخوان، تکثیر سلولی و عملکرد ایمنی نیز نقش دارد [۱۵-۱۸]. همچنین، فلز روی به عنوان کوفاکتور در بیش از ۳۰۰ آنزیم از جمله کربونیک انیدراز، سوپراکسید دیسموتاز، آلکالین فسفاتاز، DNA پلیمراز و RNA پلیمراز وجود دارد که سبب حفظ پایداری غشای پلاسما می‌شود [۱۹ و ۲۰]. مواد معدنی در طبیعت به شکل معدنی و آلی وجود دارند. مواد معدنی به شکل آلی در مقایسه با شکل معدنی، قابلیت دسترسی زیستی بیشتر و سمیت کمتری دارند، همچنین دوستدار محیط زیست هستند [۲۱، ۲۲ و ۲۳]. مفید یا مضر بودن عنصر روی بستگی به شکل مورد استفاده و مقدار آن دارد، که بسته به آن‌ها می‌تواند به عنوان ماده مغذی، آنتی اکسیدان یا سم عمل کند [۲۴]. شکل آلی روی عملکرد رشد را بهبود می‌بخشد [۵ و ۲۵] و می‌توان از جلبک‌ها جهت جذب فلز روی معدنی و تبدیل آن به شکل آلی استفاده کرد.

از آنجایی که پاروپایان غذای اصلی لارو ماهیان دریایی در طبیعت است، بنابراین پیشنهاد شده که ترکیب غذایی موجودات غذای زنده غنی شده مورد استفاده در پرورش لارو ماهیان دریایی مشابه آن در نظر گرفته شود [۶]. روتیفر از لحاظ بسیاری از مواد مغذی از جمله ویتامین‌های محلول در آب و چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب در مقایسه با پاروپایان کمبود دارد [۶]. از طرف دیگر، با توجه به صافی خوار بودن روتیفر، موثرترین روش جهت افزایش سطح این مواد مغذی در روتیفر، غنی‌سازی روتیفرها با مواد مغذی است تا آن‌ها در دسترس سطح غذایی بالاتر یعنی لارو آبزیان قرار گیرند. غنی‌سازی مستقیم روتیفر با چندین ماده مغذی و طی چند مرحله، آن را در معرض غلظت زیاد ماده مغذی قرار داده که سطح اکسیژن محیط را کاهش داده و سبب کاهش کیفیت فیزیکی روتیفر و احتمالاً آلوده شدن آن به عوامل بیماریزا شود. بنابراین، بهترین روش برای غنی‌سازی روتیفرها با چندین ماده مغذی، غنی‌سازی ریزجلبک‌ها و سپس تغذیه روتیفر با آن‌ها است [۲۶].

در این مطالعه دو ریزجلبک *Isochrysis* aff. *galbana* و *Nannochloropsis oculata* به ترتیب به دلیل سطح بالای دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) ، برای غنی‌سازی با روی (Zn) انتخاب شدند [۲۷]. بنابراین، این ریزجلبک‌ها می‌توانند همزمان مقادیر زیادی مواد معدنی آلی و اسیدهای چرب ω3 را تأمین کنند. بعلاوه، ریزجلبک‌ها می‌توانند ماده معدنی را با سرعت بیشتری در مقایسه با روتیفر جذب کنند [۱۷]. همچنین، غنی‌سازی روتیفرها با مواد معدنی در صورت اتصال به یک ذره قابل هضم در مقایسه با اشکال محلول، کارآمدتر است [۵].

بر این اساس، افزایش کیفیت غذایی ریزجلبک‌ها در کنار تولید زیست توده از اهمیت بالاتری برخوردار است زیرا آن‌ها ترکیب بیوشیمیایی روتیفرها را تعیین می‌کنند [۲۸]. مطالعات مختلفی در مورد نقش ریز جلبک‌ها در بهبود کیفیت روتیفرها صورت گرفته است [۱۷] و لیکن در مورد تغذیه روتیفر با مخلوط ریزجلبک‌های *I. galbana* و *N. oculata* غنی شده با روی (Zn) در پرورش آبزیان گزارشی موجود نیست. در مطالعه حاضر اهداف اصلی غنی‌سازی طولانی مدت روتیفر با این ریزجلبک‌های غنی از فلز روی نه تنها تامین نیاز روتیفر و تجمع روی در بدن آن، بلکه غنی‌سازی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

تدریجی روتیفرها بدون مصرف اکسیژن بیش از حد و یا به خطر انداختن سلامت روتیفرها و تولیدمثل بود. بنابراین در این مطالعه اثرات استفاده از ریزجلبک‌های غنی شده با فلز روی بر رشد جمعیت، نسبت تخم و ترکیب مواد معدنی روتیفر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده سازی روتیفر و ریزجلبک‌ها

در این مطالعه، دو ریزجلبک I. galbana و N. oculata و روتیفر Brachionus plicatilis (با طول لوریکا بالغین برابر با ۱۸۵ میکرومتر) از موسسه تحقیقات میگو بوشهر، ایران تهیه شد. برای تهیه محیط کشت ریزجلبک¬ها و روتیفرها از آب دریا با شوری ۲۰ گرم در لیتر که در۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده بودند؛ استفاده شد. از سولفات روی ۷ آبه($ZnSO4.7H2O$) تهیه شده توسط شرکت Sigma-Aldrich برای غنی‌سازی ریزجلبک‌ها استفاده شد.

کشت ریزجلبک‌ها و غنی‌سازی با سولفات روی

ریزجلبک‌های I. galbana و N. oculata در ظروف ۱۰ لیتری در دمای ۱±۲۶ درجه سانتیگراد و ۲۴ ساعت روشنایی با استفاده از محیط کشت f/2 Guillard کشت شدند [۲۹]. سپس ریزجلبک‌ها در مرحله رشد نمایی برداشت و با استفاده از سانتریفیوژ (یخچالدار ۱۲ لیتری، شرکت Sigma آلمان) در ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه تغلیظ شدند. ریزجلبک‌های تغلیظ شده با تراکم 18 × cell/mL109 در آب دریا با شوری 20 ppt به حالت تعلیق درآمده و سپس بر اساس پروتکل پیشنهادی Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷] با اندکی اصلاح با غلظت های مختلفی از عنصر روی غنی شدند. بدین منظور سه غلظت مختلف (۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) از سولفات روی در آب دیونیزه به عنوان محلول اولیه تهیه شدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از هر غلظت در ۹۰ میلی‌لیتر (۹۰:۱۰) از مخلوط ریزجلبک‌ها با تراکم مذکور ریخته شد. بر این اساس، غلظت عنصر روی در محلول غنی‌سازی به میزان ۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی گرم روی (Zn) در لیتر بودند. ریزجلبک‌های بدون غنی‌سازی به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. غنی‌سازی ریزجلبک‌ها در دو گروه آزمایشی (۱ و ۳ ساعت) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و هر کدام در سه تکرار انجام شد. سوسپانسیون جلبک و مواد غنی‌ساز بعد از سپری شدن مدت زمان لازم (۱ و ۳ ساعت) با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا ماده معدنی محلول باقیمانده در محیط (در قسمت رویی) حذف شود و ریزجلبک‌های غنی‌شده (رسوب شده) جمع‌آوری گردد. عمل شستشو با کمک آب دریا با شوری ۲۰ گرم در لیتر انجام و سپس سوسپانسیون دوباره سانتریفوژ شدند. بعد از جمع آوری جلبکهای رسوب کرده مقداری از آن‌ها جهت آنالیز مواد معدنی درون فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. در نهایت، اثر تغذیه با ریزجلبک های غنی شده بر میزان تجمع روی در بدن روتیفر بررسی شد. برای تغذیه روتیفرها، جلبکهای غنی شده با استفاده از آب شور استریل به حالت معلق در آمدند و در مقادیر لازم به محیط کشت روتیفر اضافه شدند.

کشت روتیفر

کشت روتیفر در زوگ‌های شیشه‌ای ۷ لیتری با دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سانتیگراد، pH تقریباً برابر با ۸/۳، اکسیژن محلول بیش از 5 ppm، شوری 20 ppt، روشنایی ۱۰۰۰ لوکس به مدت ۲۴ ساعت و تراکم 40 ind/ml انجام شد. هوادهی روتیفرها طوری بود که در قسمت مخروطی زوگ جمع نشده و حرکت آهسته آب در قسمت بالایی ظروف وجود داشت. روتیفرها در یک سیستم دسته‌ای و بدون تعویض آب در طی ۴ روز کشت داده شدند. روتیفرها در سه تکرار با استفاده از مخلوط ریزجلبک‌های غنی شده N. oculata وI. galbana (نسبت ۱:۱ با تراکم cell/ml 3 ×106) دو بار در روز تغذیه شدند.

سنجش میزان مواد معدنی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

روتیفرها در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت درون آون خشک شدند. پس از آن، نمونه‌های خشک شده در ظروف ۱۰ میلی‌لیتری پیرکس جهت هضم قرار گرفتند. سپس ۹ میلی لیتر از HNO_3 با خلوص ۶۵٪ در سه نوبت با فاصله ۱۰ دقیقه) به همراه ۱۲۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اضافه شد تا زیست توده کاملاً هضم شود. هضم در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و طی ۳۰ دقیقه انجام شد. در نمونه‌های هضم شده، غلظت روی، مس، منگنز، سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (novAA® 400 PAtomic Analytic Jena, Germany) اندازه‌گیری شد [۳۰].

پارامترهای رشد روتیفر

از هر زوگ سه نمونه ۳ میلی‌لیتری روزانه گرفته شد تا تعداد روتیفرها و تخم‌ها با استفاده از لام بوگاوروف شمارش شود. سپس نرخ رشد ویژه (SGR) [۳۱ و ۳۲] و مدت زمان دو برابر شدن (DT) [۳۳] با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$SGR = (Ln\ N_t - Ln\ N_0)/2$$

$$DT = (Ln\ 2)/SGR$$

N_0 و N_t تراکم اولیه و نهایی روتیفرها هستند و t مخفف دوره آزمایش (روزها) است. مقدار SGR در مرحله کشت نمایی محاسبه شد.

در پایان دوره تغذیه، همه روتیفرها از طریق فیلتر با اندازه چشمه برابر با ۵۰ میکرومتر فیلتر شدند، و پس از شستشو به درون میکروتیوب‌ها منتقل و تا زمان تجزیه و تحلیل در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی برنامه‌ریزی و اجرا شد. برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SPSS با نسخه ۲۱ و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده شد. داده‌های به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار با ۳ تکرار گزارش گردیدند. قبل از انجام آنالیز واریانس، نرمال بودن داده‌های خام با استفاده از آزمونShpiro- wilk و همگنی واریانس‌ها توسط آزمونLeven's بررسی شدند. برای آنالیز داده‌های نرمال از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف از آزمون Tukey HSD استفاده شد. حداقل سطح معنی‌دار بودن آزمون‌ها $p\leq0.05$ در نظر گرفته شد.

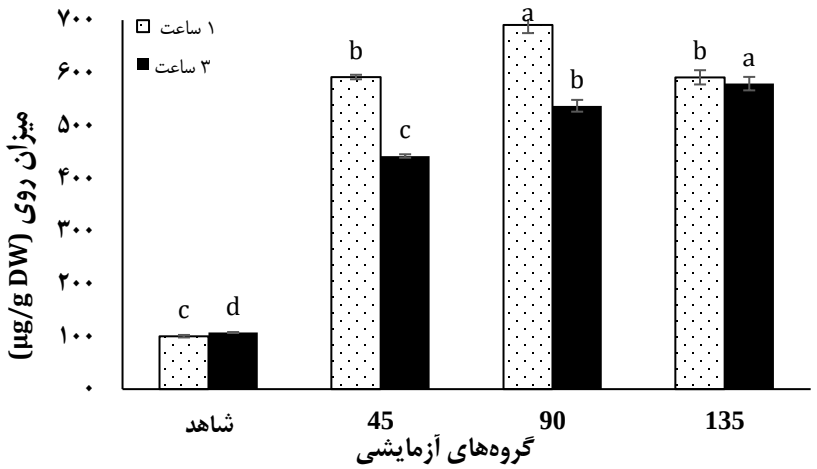
نتایج

ترکیب مواد معدنی ریزجلبک‌ها

محتوای عنصر روی در ریزجلبک‌ها به عنوان تابعی از غلظت فلز روی در محیط برای گروه‌های ۱ و ۳ ساعت افزایش یافت. در همان زمان، مقدار عنصر روی در ریزجلبک‌های تیمار mg/l ۱۳۵ کاهش یافت. بیشترین میزان فلز روی (۱۱/۱۶ ± ۶۹۰/۹۷ میکروگرم در گرم وزن خشک) در تیمار mg/l ۹۰ (به مدت ۱ ساعت) به طور معنی‌داری در مقایسه با دیگر تیمارها مشاهده شد ($p<0.05$) (شکل ۱). محتوای مس در ترکیب ریزجلبک‌های مخلوط غنی شده به مدت ۱ ساعت به طور قابل توجهی در تیمار mg/l ۱۳۵ کاهش یافت و تیمارهای غنی‌سازی ۳ ساعته در مقایسه با گروه شاهد محتوای مس کمتری داشتند (جدول ۱). علاوه بر این، محتوای منگنز در تیمارها در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود. با این وجود، بیشترین مقدار منگنز در بین تیمارها مربوط به تیمار mg/l ۹۰ بعد از گروه شاهد بود (جدول ۱).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]



شکل ۱- تغییرات میزان روی در مخلوط ریزجلبک‌های غنی شده با روی در گروه‌های ۱ و ۳ ساعت (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار). اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی‌سازی مخلوط ریزجلبک‌هاست.

جدول ۱- تغییرات مس و منگنز در ریزجلبک‌های غنی شده با غلظت‌های متفاوت روی (۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر)، (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار).

تیمارها	مس		منگنز	
	۱ ساعت	۳ ساعت	۱ ساعت	۳ ساعت
شاهد	^{a}۳۱/۰۲ ± ۰/۴۷	^{a}۳۲/۰۵ ± ۰/۳۹	^{a}۲۴/۰۴ ± ۰/۷۳	^{a}۲۶/۷۸ ± ۱/۸۳
mg/l۴۵	^{a}۳۱/۷۸ ± ۰/۳۶	^{b}۲۴/۸۵ ± ۰/۱۷	^{c}۰/۹۴ ± ۰/۳۴	^{d}۸/۸۷ ± ۳/۱۷
mg/l۹۰	^{a}۳۱/۰۰ ± ۰/۴۰	^{b}۲۵/۹۵ ± ۰/۰۶	^{b}۳/۶۱ ± ۰/۲۳	^{b}۱۴/۳۷ ± ۰/۱۴
mg/l۱۳۵	^{b}۲۵/۲۷ ± ۰/۷۰	^{b}۲۵/۶۴ ± ۰/۰۸	^{c}۰/۱۴ ± ۰/۰۱	^{c}۱۱/۹۰ ± ۰/۶۹

تذکر: اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی سازی مخلوط جلبک‌هاست.

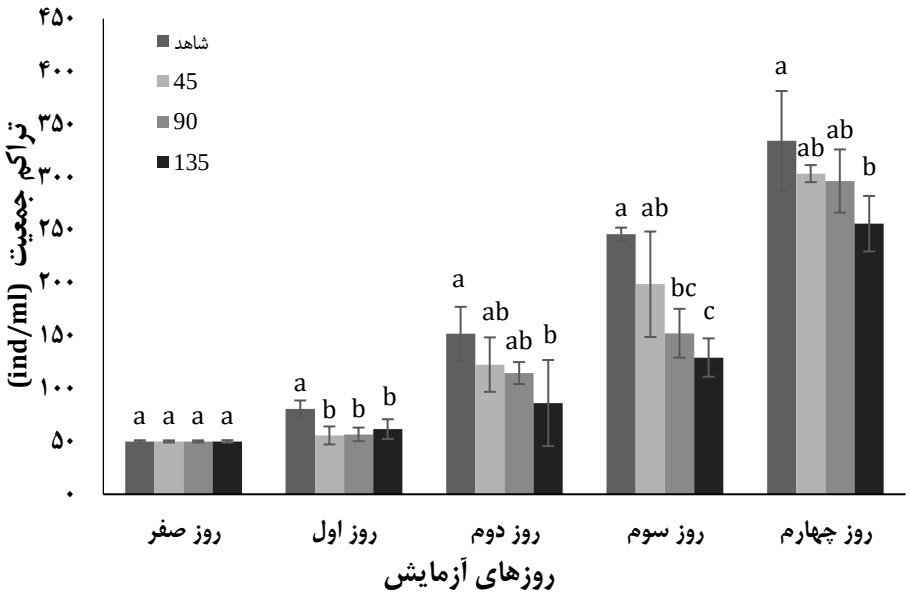
فاکتورهای رشد روتیفر

گروه شاهد، بیشترین تراکم روتیفر را در همه روزهای آزمایش نشان داد. با این حال، تراکم روتیفرهای تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۴۵ mg/l از سولفات روی و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p>0.05$). همچنین، هیچ اختلاف معنی‌داری بین تراکم روتیفرهای تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۹۰ mg/l و گروه شاهد در روزهای دوم و چهارم مشاهده نشد اگرچه تراکم روتیفر روز سوم این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم داشتند ($p<0.05$). کمترین تعداد روتیفر در تیمار تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۱۳۵ mg/l از سولفات روی در همه روزهای آزمایش در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ($p<0.05$) (شکل ۲). در مقایسه N_{max}، مدت زمان دوبرابر شدن روتیفرها (DT) و نرخ رشد ویژه (SGR) تیمارهای مختلف این آزمایش، هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و گروه شاهد مشاهده نشد و گروه شاهد بیشترین مقدار SGR برابر با (۰/۴۷ ± ۰/۰۳۴ day^{-1}) داشت (جدول ۲).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

نتایج تعداد تخم روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های تقویت شده با مقادیر مختلف سولفات روی در شکل ۳ ارائه شده است. روتیفرهای تیمارهای ۴۵ mg/l و ۹۰ در مقایسه با گروه شاهد یک روز دیرتر (روز دوم آزمایش) به اوج تولیدمثل خود رسیده است و در روزهای سوم و چهارم در مقایسه با آن افزایش یافتند. بیشترین تعداد تخم در تیمار ۴۵ mg/l در روز سوم مشاهده شد اگرچه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و تیمار ۹۰ mg/l نداشت ($p>0.05$). همچنین کمترین تعداد تخم در روزهای دوم و سوم در تیمار ۱۳۵ mg/l مشاهده شد ($p<0.05$) که اوج تولیدمثل این تیمار در روز چهارم (آخرین روز آزمایش) مشاهده شد.



شکل ۲- تراکم جمعیت روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های تقویت شده با مقادیر مختلف سولفات روی، به مدت ۴ روز (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار). اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی‌سازی مخلوط ریزجلبک‌هاست.

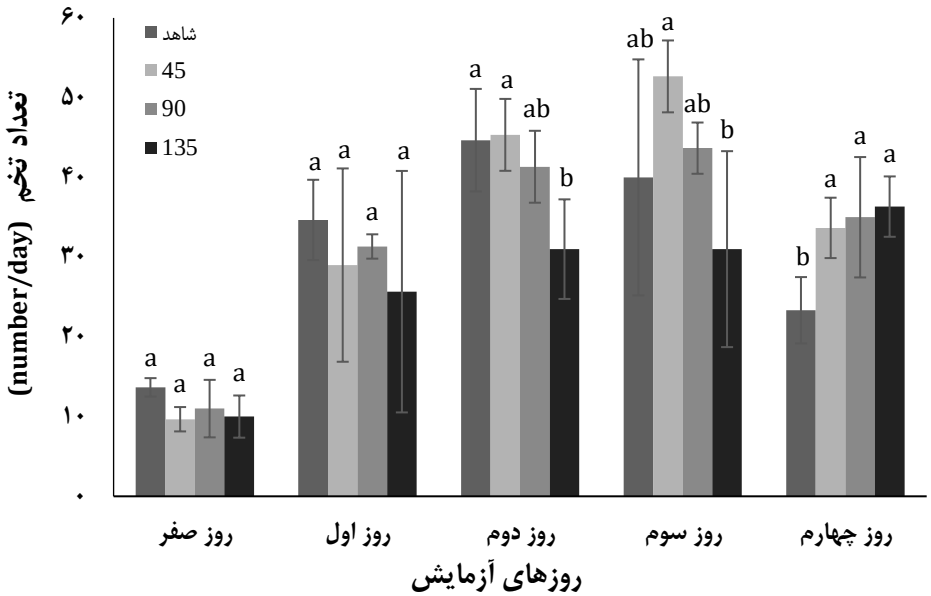
جدول ۲- نرخ رشد ویژه (SGR)، N_{max} و DT در روتیفرهای تغذیه شده با مخلوط ریزجلبک غنی شده به مدت ۴ روز (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار).

تیمارها	N_{max} (ind/ml)	SGR (day^{-1})	DT (روزها)
شاهد	۳۳۵ ± ۴۶/۹۸	۰/۴۷ ± ۰/۰۳۴	۱/۴۷ ± ۰/۱۰۱
mg/l ۴۵	۳۰۳ ± ۸/۰۸	۰/۴۵ ± ۰/۰۰۷	۱/۵۴ ± ۰/۰۲۳
mg/l۹۰	۲۹۶ ± ۲۹/۹۱	۰/۴۴ ± ۰/۰۲۶	۱/۵۶ ± ۰/۰۹۲
mg/l۱۳۵	۲۵۶ ± ۲۶/۲۳	۰/۴۱ ± ۰/۰۲۵	۱/۷۱ ± ۰/۱۰۵

تذکر: اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی سازی مخلوط جلبک‌هاست.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]



شکل ۳- تعداد تخم روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های تقویت شده با مقادیر مختلف سولفات روی، به مدت ۴ روز (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار). اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی‌سازی مخلوط ریزجلبک‌هاست.

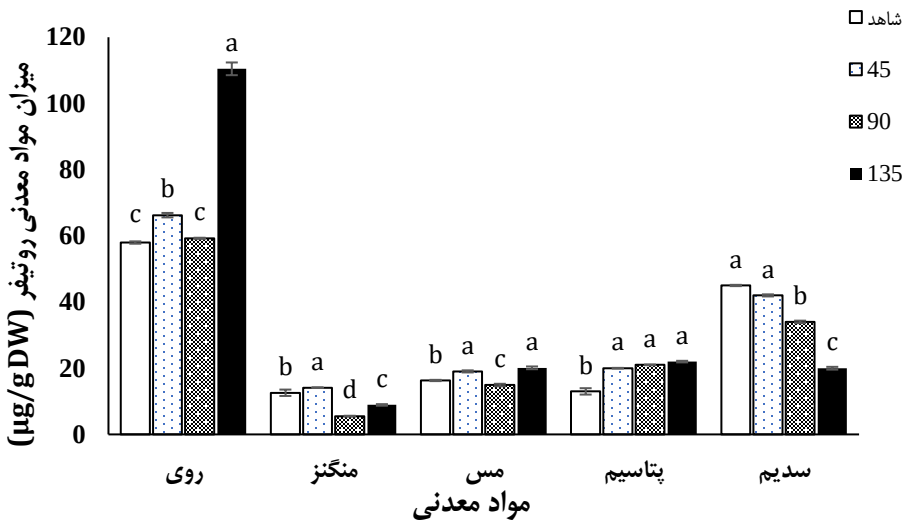
غنی‌سازی روتیفر با ریزجلبک‌های تقویت شده با سولفات روی

نتایج مربوط به مقادیر مواد معدنی روی، مس، پتاسیم و سدیم در روتیفرهای تغذیه شده با مخلوط ریزجلبک‌های غنی شده ۴۵، ۹۰ و ۱۳۵ میلی‌گرم در لیتر سولفات روی در نمودار ۴ ارائه شده است. بیشترین مقدار روی (۱/۹۲ ± ۱۱۰/۴۵ µg/g DW)، مس (۰/۲۳ ± ۲۰/۱۲ µg/g DW) و پتاسیم (۰/۲۳ ± ۲۲/۰ µg/g DW) در روتیفرهایی مشاهده شد که با مخلوط ریزجلبکی غنی شده با ۱۳۵ mg/l سولفات روی تغذیه شدند. از طرف دیگر، کمترین مقدار منگنز (۰/۳۸ ± ۵/۵۳ µg/g DW) و مس (۰/۱۰ ± ۱۴/۹۲ µg/g DW) در روتیفر تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۹۰ mg/l مشاهده شد. همچنین کمترین مقدار سدیم (۰/۴۱ ± ۲۰/۰ µg/g DW) در روتیفر تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۱۳۵ mg/l یافت شد.

مقدار پتاسیم در تیمارهای روتیفر تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با سولفات روی به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد است ($p<0.05$)، با این حال اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای غنی شده با سولفات روی وجود نداشت ($p>0.05$). جذب سدیم در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های غنی شده با روی، همزمان با افزایش غلظت روی در تیمارهای جلبک، الگوی کاهشی نشان داد. میزان منگنز (۰/۳۱ ± ۱۴/۱۳ µg/g DW) در روتیفر تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۹۰ mg/l به طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<0.05$). میزان مس در تیمارهای روتیفر تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با ۱۳۵ mg/l و ۴۵ mg/l به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود ($p<0.05$) و میزان مس در این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p>0.05$)

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]



شکل ۴- تغییرات میزان مواد معدنی روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های تقویت شده با مقادیر مختلف سولفات روی به مدت ۴ روز (میانگین ± انحراف معیار، ۳ تکرار). اعداد مشخص شده در گروه‌های آزمایشی برابر با مقدار روی سولفات مورد استفاده در غنی‌سازی مخلوط ریزجلبک-هاست.

بحث

سلول‌های جلبکی با کمک جذب سطحی، انتقال و رسوب فلزات درون سلول، قادر به تجمع زیستی فلزات هستند [۲۱]. تعیین میزان توانایی تجمع زیستی عناصر کم نیاز توسط جلبک‌ها به عنوان یک غذای مناسب برای روتیفرها از اهمیت بالایی برخوردار است در این مطالعه مخلوط دو گونه جلبکی باارزش با سولفات روی غنی شدند و به دنبال آن در تغذیه روتیفرها به کار برده شد که تاکنون این مطالعه بر روی این ریزجلبک‌ها صورت نگرفته است. در مطالعات قبلی، محتوای مواد معدنی در روتیفرهای تغذیه شده با مخمر غنی شده و جیره‌های روتیفر و یا اینکه به صورت مستقیم از طریق افزودن مواد معدنی به درون محیط کشت روتیفر مورد مطالعه قرار گرفته است [۵، ۶، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۳۳ و ۳۵]. جلبک‌ها این توانایی را دارند که فلزات را از محیط اطراف خود از محیط مایع جذب کنند [۳۶ و ۳۷] و این توانایی جذب فلزات از آب در بعضی از جلبک‌ها هزاران برابر بیشتر از غلظت آن در آب می‌باشد، بطوری که در تصفیه آب‌ها کارکرد بسیار قابل قبولی را از خود نشان دادند [۳۸]. در تغذیه آبزیان از همین خاصیت جذب فلزات دو ظرفیتی (به عنوان مثال روی) جلبک‌ها استفاده می‌شود ولیکن باید توجه داشت که مقدار جذب بسیار بالا از نظر تغذیه نه تنها سودمند نخواهد بود بلکه می‌تواند نقش سمیت داشته باشد. به همین منظور در مطالعه حاضر میزان مطلوب غنی‌سازی جلبک‌ها در ۲ زمان یک و سه ساعته مورد بررسی قرار گرفت.

فلز روی محلول در آب بوده و موجودات آبزی مصرف کننده برخلاف جلبک‌ها قادر به جذب مقادیر بسیار کمی از فلز روی از آب را می‌باشند. در مطالعه Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷] مشخص شده که روتیفرها قادر به جذب و حفظ سطح مطلوب فلز روی در بدن خود نیستند. طبق مطالعات صورت گرفته، دو مرحله تجمع یون‌های فلزی توسط ریزجلبک‌ها وجود دارد [۱۷، ۳۹ و ۴۰]. در مرحله اول بصورت سریع و بدون دخالت در متابولیسم سلولی، در سطح سلول جذب می شود. بدین معنی که یون فلزی متصل به مکان‌های اتصال فلز روی سطح سلول قرار می گیرند. در مرحله دوم که کندتر و بهمراه متابولسم سلولی بوده؛ یون فلزی با استفاده از ناقل‌هایی به درون سلولی منتقل شده و در پیوند با دیگر ترکیبات سلولی تجمع پیدا می‌کنند. در مطالعه حاضر، مخلوط ریزجلبک‌های *N. oculata* و *I. galbana* به صورت کوتاه مدت در معرض یون فلز روی

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

قرار گرفتند و بعد از اتصال یون فلزی بر سطح سلول به عنوان غذا در تغذیه روتیفر استفاده شدند. بیشترین میزان فلز روی در مخلوط ریزجلبک‌های غنی شده در تیمار mg/l ۹۰ به مدت ۱ ساعت مشاهده شد (نمودار ۱)، که ۷ برابر کمتر از بالاترین مقدار فلز روی (تقریباً ۵۰۰۰ میکروگرم در گرم وزن خشک) در ریزجلبک کلرلا در مطالعه Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷] می‌باشد. در آن مطالعه آن‌ها از تیمارهای ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۶ میلی‌گرم روی بر گرم وزن جلبک جهت غنی‌سازی استفاده شده است. این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در گونه‌های ریزجلبک مورد استفاده، اندازه سلول‌های ریزجلبک‌ها و روش غنی‌سازی باشد. سلول‌های ریزجلبک هنگامی که در معرض ۱۳۵mg/l قرار گرفتند، فلوکه می‌شدند که نشان دهنده تاثیر استرس‌زای میزان بیشتر Zn بر سلول‌های ریزجلبک در طی یک ساعت غنی‌سازی است و از جذب یون‌های فلزی جلوگیری می‌کند. طبق یافته‌های ما مخلوط ریزجلبک‌ها می‌توانند با افزودن mg/l ۹۰ از سولفات روی به مدت زمان یک ساعت، فلز روی را به طور کارآمدی جمع کنند. محتوای عنصر روی ریزجلبک‌های غنی شده با روی به مدت زمان ۳ ساعت کمتر از تیمار مشابه در طول یک ساعت غنی‌سازی بود. این می‌تواند به دلیل پوشاندن کامل همه اتصال دهنده‌های سطح سلول ریزجلبک‌ها باشد که دیگر جایی برای اتصال باقی نمانده است. علاوه بر این، سلول‌های جلبکی نمی‌توانند یون‌های فلزی بیشتری را با افزایش مدت زمان غنی‌سازی جذب کنند، همچنین برخی از یون‌های فلزی جذب شده را رد می‌کنند، یا اینکه اتصال آن‌ها به حدی ضعیف است که به راحتی از هم جدا می‌شوند. این نتایج مشابه با یافته‌های Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷] بود، که آن‌ها ریزجلبک کلرلا را با عنصر روی در ۲ زمان یک و سه ساعته غنی‌سازی کردند. غنی‌سازی کوتاه‌مدت ریزجلبک‌ها با mg/l ۹۰ عنصر روی به مدت یک ساعت می‌تواند برای افزایش محتوای روی در مخلوط ریزجلبک‌ها کافی باشد. میزان فلز روی در تیمار mg/l ۹۰ به میزان ۶/۹ برابر بیشتر از ریزجلبک‌های غنی نشده (شاهد) بود. با توجه به نتایج، تیمار mg/l ۹۰ جلبک غنی شده مقرون به صرفه‌تر بود و نیاز به مدت زمان کمتری برای غنی‌سازی داشت.

علیرغم وجود بیشترین میزان روی در مخلوط ریزجلبک‌های غنی شده با mg/l ۹۰، روتیفرهای تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی‌شده با mg/l ۱۳۵ از سولفات روی، بیشترین مقدار فلز روی را نشان دادند. این نتایج می‌تواند بدلیل سوخت و ساز و مصرف روی درون بدن روتیفر در واکنش به عنصر روی باشد که قبلاً نیز در مطالعه Nordgreen و همکاران (۲۰۱۳) [۵] مشاهده شده است. با این حال، کاهش قابل توجهی در رشد روتیفر در پاسخ به تغذیه با این مقدار بالای سولفات روی در مقایسه با دیگر تیمارها در همه روزها وجود داشت. بنابراین این تیمار روتیفر برای تغذیه لارو در آینده توصیه نمی‌شود. یافته‌های این پژوهش در راستای نتایج مطالعه Nordgreen و همکاران (۲۰۱۳) [۵] است و میزان روی در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های غنی شده با سولفات روی به صورت یک تابع غیر خطی نشان داده شد که دلیل این تغییرات نامشخص است. کاهش میزان روی در روتیفرهای تغذیه شده با ریزجلبک‌های غنی شده با mg/l ۹۰ با وجود بیشترین مقدار فلز روی در جلبک‌های غنی شده با این تیمار می‌تواند به دلیل قرار گرفتن روتیفر در شرایط استرسی و مصرف فلز روی بوده باشد. در این پژوهش، بیشترین مقدار فلز روی به ترتیب ۶ و ۷ برابر کمتر از بیشترین مقدار بدست آمده در دیگر مطالعات مشابه [۱۳ و ۱۷] بود، که دلیل این می‌تواند تفاوت در غذای مورد استفاده، گونه ریزجلبک و مدت زمان غنی‌سازی روتیفر باشد.

بر طبق یافته‌های Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷]، همزمان با افزایش فلز روی در روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا غنی از روی، میزان منگنز کاهش یافت در حالی که نتایج مطالعه حاضر متناقض با این نتیجه بود. همچنین کاهش میزان منگنز در ناپلی آرتمیا غنی شده با فلز روی و منگنز گزارش شده است [۴۱]. افزایش میزان روی و مس در روتیفرها می‌تواند یک تعامل هم افزایی را نشان دهد که در تناقض با یافته‌های Matsumoto و همکاران (۲۰۰۹) [۱۷]، است. بنابراین نیاز است تا تحقیقات بیشتری بر روی این یافته صورت گیرد.

براساس یافته‌های فاکتورهای رشد، بیشترین تعداد تخم در روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های غنی شده با mg/l ۴۵ از سولفات روی در روز سوم مشاهده شد، در حالی که روتیفرهای تغذیه شده با جلبک‌های غنی شده با mg/l ۱۳۵ کمترین تعداد تخم را داشتند. بنابراین غنی‌سازی روتیفر با روی به صورت غیرمستقیم می‌تواند بر تولیدمثل روتیفر و تعداد تخم آن تاثیر بگذارد. در حالی که در مطالعه Nematzadeh و همکاران

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

(۲۰۱۸) [۱۳] تغذیه روتیفر با مخمر غنی شده با سولفات روی تاثیر معنی‌داری بر تعداد تخم روتیفر نداشت. تفاوت یافته‌ها می‌تواند به دلیل جیره غذایی متفاوت و تداخل برخی از عناصر موجود در ریزجلبک‌ها در مقایسه با مخمر باشد.

میزان فلز روی در تیمار ۴۵ mg/l روتیفر بیشتر از میزان مورد نیاز ماهیان (۲۰–۳۰ µg/g) بود اما به طور معنی‌داری کمتر از میزان آن در پاروپایان (۳۴۰–۵۷۰ µg/g) است [۱۰ و ۴۰]. با وجود این، باید در نظر داشت که فراهمی زیستی روی به دست آمده از غنی‌سازی جلبک‌ها با فلز روی بسیار بیشتر از غنی‌سازی مستقیم روتیفرها است [۵]. برای ارزیابی ارزش غذایی غذاهای مختلف لارو ماهیان دریایی، میزان ریز مغذی‌ها و فراهمی زیستی آن‌ها اهمیت دارند [۱۰]. همچنین این تیمار حاوی بیشترین میزان مس و منگنز بود که هر دو مقدار در محدوده مقادیر آن‌ها در پاروپایان (به ترتیب ۳۸–۱۲ و ۲۵–۸ میکروگرم در گرم) می‌باشند. غنی‌سازی روتیفر با تیمار ۴۵ mg/l می‌تواند نیازهای اولیه لارو ماهی کاد به مس و منگنز (منگنز ۸ mg/kg و مس ۵ mg/kg) را برآورده کند [۳۵]. بنابراین تیمار روتیفر تغذیه شده با ۴۵ mg/l از سولفات روی می‌تواند از لحاظ میزان روی، مس، منگنز، پتاسیم و سدیم، همچنین رشد روتیفر بهترین تیمار باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن عنصر روی در محیط غنی‌سازی باعث افزایش مقدار آن در زیست توده ریزجلبک‌های *N. oculata* و *I. galbana* و روتیفرهای تغذیه کننده از آن‌ها می‌شود. لازم به ذکر است که عناصر روی و مس الگوی افزایشی مشابهی داشتند اما منگنز الگوی متناقضی داشت. بنابراین، غنی‌سازی با عنصر روی باعث کاهش میزان منگنز می‌شود. یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان فلز روی در روتیفر به راحتی قابل دستکاری است. با این وجود، در صورت مقادیر زیاد این ماده معدنی، میزان جذب منگنز از ریزجلبک‌ها توسط روتیفرها کم خواهد شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کارکنان بخش شیلات دانشگاه ارومیه و پژوهشکده تحقیقات آرتمیا و آبزی پروری جهت همکاری و ارائه امکانات لازم تشکر می‌کنند.

تاییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1- Hagiwara A, Marcial HS. The use of non-*Brachionus plicatilis* species complex rotifer in larviculture. Hydrobiologia. 2019 Nov;844(1):163-72.

2- Evjemo JO, Reitan KI, Olsen Y. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture. 2003 Nov 10;227(1-4):191-210.

3- Ajiboye OO, Yakubu AF, Adams TE, Olaji ED, Nwogu NA. A review of the use of copepods in

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

marine fish larviculture. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 2011 Jun;21(2):225-46.

4- Sayegh FA, Radi N, Montagnes DJ. Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*?. Aquaculture. 2007 Dec 20;273(4):665-78.

5- Nordgreen A, Penglase S, Hamre K. Increasing the levels of the essential trace elements Se, Zn, Cu and Mn in rotifers (*Brachionus plicatilis*) used as live feed. Aquaculture. 2013 Mar 4;380:120-9.

6- Hamre K. Nutrient profiles of rotifers (*Brachionus* sp.) and rotifer diets from four different marine fish hatcheries. Aquaculture. 2016 Jan 1;450:136-42.

7- Loo PL, Chong VC, Vikineswary S, Ibrahim S. Waste-grown phototrophic bacterium supports culture of the rotifer, *Brachionus rotundiformis*. Aquaculture Research. 2016 Oct;47(10):3029-41.

8- Mejias C, Riquelme C, Sayes C, Plaza J, Silva-Aciares F. Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller 1786) in closed outdoor systems fed with the microalgae *Nannochloropsis gaditana* and supplemented with probiotic bacteria *Pseudoalteromonas* sp.(SLP1). Aquaculture International. 2018 Jun;26(3):869-84.

9- Srivastava A, Stoss J, Hamre K. A study on enrichment of the rotifer *Brachionus* "Cayman" with iodine and selected vitamins. Aquaculture. 2011 Oct 1;319(3-4):430-8.

10- Hamre K, Mollan TA, Sæle Ø, Erstad B. Rotifers enriched with iodine and selenium increase survival in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. Aquaculture. 2008 Nov 1;284(1-4):190-5.

11- Penglase S, Hamre K, Sweetman JW, Nordgreen A. A new method to increase and maintain the concentration of selenium in rotifers (*Brachionus* spp.). Aquaculture. 2011 May 1;315(1-2):144-53.

12- Kim HJ, Nakamura K, Hagiwara A. Dietary effect of selenium-fortified *Chlorella vulgaris* on reproduction of *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera: Monogononta). International Review of Hydrobiology. 2014 Mar;99(1-2):161-5.

13- Nematzadeh K, Ahmadifard N, Samadi N, Agh N, Ghaderpour S. The effects of zinc-enriched Saccharomyces cerevisiae on the growth and mineral composition of marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. International Journal of Aquatic Biology. 2018 Apr 25;6(2):88-94.

14- National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp. National academies press; 2011 May 25.

15- Ibs KH, Rink L. Zinc-altered immune function. The Journal of Nutrition. 2003 May 1;133(5):1452S-6S.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

16- Yamaguchi M, Fukagawa M. Role of zinc in regulation of protein tyrosine phosphatase activity in osteoblastic MC3T3-E1 cells: zinc modulation of insulin-like growth factor-I's effect. Calcified Tissue International. 2005 Jan;76(1):32-8.

17- Matsumoto S, Satoh S, Kotani T, Fushimi H. Examination of a practical method for zinc enrichment of euryhaline rotifers (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture. 2009 Jan 7;286(1-2):113-20.

18- Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. 2009 Nov 1;12(6):646-52.

19- Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. Physiological Reviews. 1993 Jan 1;73(1):79-118.

20- Molina-Poveda C. Nutrient requirements. In S. F. Nates (Ed.), *Aquafeed Formulation* 2016 (pp. 75-216). San Diego: Academic Press.

21- Yang YR, Meng FC, Wang P, Jiang YB, Yin QQ, Chang J, Zuo RY, Zheng QH, Liu JX. Effect of organic and inorganic selenium supplementation on growth performance, meat quality and antioxidant property of broilers. African Journal of Biotechnology. 2012;11(12):3031-6.

22- Gharekhani A, Takami GA, Tukmechi A, Afsharnasab M, Agh N. Effect of dietary supplementation with zinc enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on immunity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Veterinary Research. 2015;16(3):278.

23- Zhang S, Zeng X, Ren M, Mao X, Qiao S. Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: a review. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2017 Dec;8(1):1-2.

24- Lin S, Lin X, Yang Y, Li F, Luo L. Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and immune response of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture. 2013 Aug 25;406:79-84.

25- Wang C, Lovell RT. Organic selenium sources, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture. 1997 Jun 1;152(1-4):223-34.

26- Dhert P, King N, O'brien E. Stand-alone live food diets, an alternative to culture and enrichment diets for rotifers. Aquaculture. 2014 Jul 20;431:59-64.

27- Nuño K, Villarruel-López A, Puebla-Pérez AM, Romero-Velarde E, Puebla-Mora AG, Ascencio F. Effects of the marine microalgae *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata* in diabetic rats. Journal of Functional Foods. 2013 Jan 1;5(1):106-15.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

28- Ferreira M, Cortina-Burgueño Á, Freire I, Otero A. Effect of nutritional status and concentration of *Nannochloropsis gaditana* as enrichment diet for the marine rotifer *Brachionus* sp. Aquaculture. 2018 Apr 1;491:351-7.

29- Guillard RR. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. InCulture of Marine Invertebrate Animals 1975 (pp. 29-60). Springer, Boston, MA.

30- Lowry OH, Lopez JA. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. Journal of Biological Chemistry. 1946;162:421-8.

31- Krebs CJ. Two paradigms of population regulation. Wildlife Research. 1995;22(1):1-0.

32- Abbasi Y, Ahmadifard N, Tukmechi A. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on growth, reproductive and bacterial count of marine rotifer *Brachionus plicatilis*. International Journal of Aquatic Biology. 2019 Feb 26;7(1):27-34.

33- Vallejo A, Newmark F, Criaies MM. Effect of salinity on population growth and yield of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Ciénaga Grande de Santa Marta strain). Marine and Coastal Research Bulletin. 1993; 22.

34- Srivastava A, Hamre K, Stoss J, Nordgreen A. A study on enrichment of the rotifer *Brachionus* "Cayman" with iodine from different sources. Aquaculture. 2012 Mar 7;334:82-8.

35- Penglase S, Harboe T, Sæle Ø, Helland S, Nordgreen A, Hamre K. Iodine nutrition and toxicity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. PeerJ. 2013 Feb 19;1:e20.

36- Wilde EW, Benemann JR. Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. Biotechnology advances. 1993 Jan 1;11(4):781-812.

37- Sandau E, Sandau P, Pulz O. Heavy metal sorption by microalgae. Acta Biotechnologica. 1996;16(4):227-35.

38- Conti, M. E., & Cecchetti, G. A biomonitoring study: Trace metals in algae and mollusks from Tyrrhenian coastal areas. Environmental Research. 2003; 93, 99–112.

39- Lopez-Suarez CE, Castro-Romero JM, González-Rodríguez MV, González-Soto E, Perez-Iglesias J, Seco-Lago HM, Fernández-Solís JM. Study of the parameters affecting the binding of metals in solution by *Chlorella vulgaris*. Talanta. 2000 Jan 10;50(6):1313-8.

40- Moreno-Garrido I, Codd GA, Gadd GM, Lubián LM. Cu and Zn accumulation by calcium alginate immobilized marine microalgal cells of *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae). Ciencias Marinas. 2002 Mar 6;28(1):107-19.

41- Council NR. Nutrient requirements of fish. Washington: National Academy. 1993.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume10, Issue 3, Summer 2021
Pages: 286-300

Effect of feeding with a mixture of Nanochloropsis and Isocrysis microalgae enriched with zinc element on mineral composition and growth factors of saline rotifers *Brachionus plicatilis*

Sirwe Ghaderpour[1], Nasrollah Ahmadifard [1*], Naser Agh[2], Zakaria Vahabzadeh[3], Alicia Estevez[4]

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Iran.
2- Department of Artemia, Artemia & Aquaculture Research Institute, Urmia University, Iran.
3- Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Iran.
4- Institute of Agrifood Research and Technology (IRTA), 43540 Tarragona, Spain.

A B S T R A C T

Despite the positive role of rotifers in many hatcheries for feeding the early stages of aquatic larvae, the lower mineral content of zinc (Zn) is one of the disadvantages of rotifer compared to copepods. Therefore, it is necessary to increase its amounts through enrichment. For this purpose, in the present study, a combination of algae *Isochrysis aff. galbana* and *Nannochloropsis oculata* were enriched with zinc sulfate for 1 and 3 hours. Due to obtaining better results in 1 hour, its effects on the growth and enrichment of rotifer were surveyed. The 1: 1 alga composition was enriched with zinc sulfate at concentrations (45, 90, and 135 mg/l). The highest amount of zinc was observed in the mixed algal enriched with 90 mg/l for 1 h, which had the highest copper amount and there was no significant difference with the control group. Also, the manganese amount was higher than the other treatments except for the control group. After feeding the rotifers with enriched algae for 1 hour, the best treatment was 45 mg/l, which also contained the second level of zinc and the first level of manganese, copper, potassium, and sodium. On the other hand, this treatment had the highest number of eggs on the peak day of reproduction treatments (third day) and its population density in the last days was not significantly different from the control group ($p < 0.05$). Zn-enriched rotifers can be used to feed marine fish to meet the nutritional needs of aquatic larvae.

KEYWORDS: Enrichment, algae, growth, mineral, rotifer.

ARTICLE TYPE
Original Research

ARTICLE HISTORY
Received: 31 January 2021
Accepted: 23 July 2021
ePublished: 27 August 2021

* Corresponding Author:
Email address: n.ahmadifard@urmia.ac.ir
Tel: +(98) 32770489
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-03-14]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1400.10.3.7.1]