

اثر جلبک *Chlorella vulgaris* و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر رشد، پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه کل و آزاد روتیفر *Brachionus calyciflorus*

نصراله احمدی فرد^{۱*}، عبدالمحمد عابدیان کناری^۲، احمد احمدی^۳

۱- استادیار، گروه شیلات و آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استاد، گروه شیلات و آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران

دریافت: ۹۳/۰۸/۲۵ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۶

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

چکیده:

اثر ۳ تیمار غذایی، شامل جلبک *Chlorella vulgaris* در ۲ غلظت ۱۰۶ و ۱۰۷ سلول در میلی لیتر و یک تیمار از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* بر رشد، پروتئین و پروفیل اسیدهای آمینه کل و آزاد روتیفر *Brachionus calyciflorus* پس از ۱۰ روز تغذیه بررسی شد. نرخ رشد ویژه روتیفر تغذیه شده با جلبک نسبت به مخمر معنی دار بود ($P > 0/05$)، ولی تفاوت معنی داری بین دو غلظت جلبک مشاهده نشد. حداکثر تراکم روتیفر (1790 ± 107) تعداد در میلی لیتر) در غلظت بالای جلبک به طور معنی داری ($P > 0/05$) بیش از غلظت پایین ($525 \pm 41/1$) و تیمار حاوی مخمر ($115 \pm 2/1$) بود. میزان پروتئین در تیمار مخمر نسبت به تیمار غلظت پایین جلبک به طور معنی داری بیشتر بود ($P > 0/05$). مقادیر اسیدهای آمینه کل در تیمارهای مخمر، غلظت بالا و غلظت پایین جلبک به ترتیب $16 \pm 250/76$ ، $14 \pm 198/82$ و $10 \pm 112/15$ میلی گرم بر گرم نمونه بود ($P > 0/05$). حداکثر و حداقل مقدار اسیدهای آمینه آزاد در روتیفر تغذیه شده با مخمر نانوائی ($1/1 \pm 8/77$) و غلظت پایین جلبک ($0/3 \pm 4/04$) مشاهده شد ($P > 0/05$). بر اساس این تحقیق، روتیفر تغذیه شده با جلبک در مقایسه با مخمر میزان رشد بالاتری را نشان داد، ولی میزان پروتئین و اسیدهای آمینه در روتیفر تغذیه شده با مخمر نسبت به جلبک کلرلا بالاتر بود. همچنین در تیمار با غلظت بالای جلبک، میزان اسیدهای آمینه کل بدن افزایش نسبی نشان داد.

واژگان کلیدی: روتیفر، *Brachionus calyciflorus*، *Chlorella vulgaris*، اسیدهای آمینه

۱- مقدمه

روتیفر آب شور *B. plicatilis* از غذای های فرموله شده مصنوعی به صورت پلت های میکروکپسوله (Gatesoupe and Robin, 1982) و غذاهای طبیعی (از جلبک های سبز و مخمر نانوائی) (Sarma et al., 2005) استفاده

روتیفرهای جنس براکیونوس به طور گسترده ای به عنوان غذای زنده در تغذیه لارو ماهیان آب شور و شیرین استفاده می شود (Sarma et al., 1999). در تولید انبوه

می‌شود. پرورش روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* در سیستم‌های پرورش آب شیرین ماهیان زینتی و ماهیان خوراکی آزمایش شده است (Rico-Martínez and Ogata and Kurokura, 2012; Dodson, 1992). در تولید و پرورش روتیفر آب شیرین از غذاهای فرموله شده مصنوعی کمتر استفاده می‌شود، ولی از جلبک‌های مختلفی از جمله *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus obliquus* به همراه مخمر نانوائی *Saccharomyces cerevisiae* استفاده می‌شود (Sarma et al., 2005). اگرچه استفاده از مخمر نانوائی به تنهایی و یا به همراه دیگر غنی‌سازها گسترده است، ولی همچنان جلبک‌ها در پرورش روتیفرهای آب شور و شیرین به دلایلی از جمله قابلیت تحرک، عدم آلودگی محیط‌های کشت و ارزش غذایی کارایی زیادی دارد. به طور معمول ارتباط خوبی بین فراوانی روتیفر و ترکیب بدنی آنها با غلظت فیتوپلانکتون‌ها وجود دارد (Dumont, et al., 1995; Ahmadifard et al., 2009). براساس مطالعات صورت گرفته مشخص شد که براکیونوس‌ها به طور معمول از ذرات غذایی تا ۲۰ میکرون تغذیه می‌کنند و همچنین افزایش غلظت غذا تا یک حد مشخص بر روی تراکم روتیفرهای جنس براکیونوس تأثیر مثبت و افزایشی دارد، ولی افزایش غلظت غذا بیش از یک مقدار اثر مثبتی ندارد و حتی ممکن است با مسدود کردن کرونا و ماستاک اثر منفی داشته باشد (Sarma and Rao, 1987). براساس مطالعات پیشین (Abedian kenari et al., 2008; Ahmadifard et al., 2009) که بر روی تولید انبوه و ترکیب اسیدهای چرب روتیفرهای آب شیرین *B. calyciflorus* با استفاده از جلبک‌های آب شیرین کلرلا ولگاریس و سندسموس آبلیکوس انجام شد، نتایج قابل توجهی در رشد و ترکیب اسیدهای چرب حاصل

گردید. در تحقیق پیشین نتایج نشان داد که جلبک آب شیرین کلرلا ولگاریس نسبت به جلبک سندسموس نتایج بهتری از نظر تأثیر بر ترکیب اسیدهای چرب روتیفرهای پرورشی داشت. از این رو در تحقیق حاضر برای بررسی این جلبک بر روی سایر فاکتورها، اثر ۲ غلظت پایین (10^6 سلول در میلی‌لیتر) و بالای (10^7 سلول در میلی‌لیتر) جلبک آب شیرین کلرلا ولگاریس و همچنین یک غلظت استاندارد مخمر نانوائی (یک گرم مخمر برای یک میلیون روتیفر) بر رشد، پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه کل و آزاد روتیفر آب شیرین بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

تهیه مواد غذایی مورد استفاده

در این تحقیق جلبک آب شیرین کلرلا ولگاریس از پژوهشکده اکولوژی دریای خزر ساری تهیه شد. تولید انبوه جلبک کلرلا با استفاده از محیط کشت زاندر (Z8) (Miller and Greene, 1978) در فلاسک‌های پلاستیکی ۷ لیتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. لامپ‌های فلورسنت ۴۰ واتی نیاز روشنایی کشت‌های جلبک را تأمین می‌کرد. دو غلظت بالا و پایین (10^6 و 10^7 سلول در میلی‌لیتر) جلبک کلرلا تهیه و تا یک هفته برای مصرف در یخچال نگهداری شدند. مخمر نانوائی ساکارومایسیس سرویزیه از شرکت ایران مایه تهیه شد و به مقدار ۱ گرم برای هر یک میلیون روتیفر استفاده گردید. برای مخمر نانوائی در آب مقطر حل و سپس با توری ۱۰ میکرون عبور داده شد تا ذرات بزرگ‌تر از آن جداسازی شود. هر روز مخمر نانوائی به صورت تازه آماده و تا مصرف بعدی در یخچال نگهداری می‌شد. هر روز پیش از غذادهی تراکم روتیفرها شمارش و سپس غذادهی

انجام می‌شد.

رشد ویژه^۱ محاسبه شد (Krebs, 1995).

$$R = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

N_t = تراکم نهایی روتیفر (برحسب تعداد در میلی‌لیتر)

N_0 = تراکم اولیه روتیفر (برحسب تعداد در میلی‌لیتر)

T = دوره پرورش (۱۰ روز)

تهیه روتیفر و کشت آن

پس از آماده‌سازی کشت‌های جلبکی، روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* از استخرهای آب گرم ساری تهیه و در آزمایشگاه در زیر لوپ طبق روش Ahmadifard و همکاران (۲۰۰۹) جداسازی و خالص‌سازی شدند. روتیفرهای آب شیرین با استفاده از محیط کشت EPA (مخلوطی از بی‌کربنات سدیم، سولفات کلسیم، سولفات منیزیم و کلرید پتاسیم با نسبت‌های استاندارد و مشخص) کشت شدند (Ahmadifard et al., 2009). ابتدا کشت‌های روتیفر در لوله‌های آزمایش با تغذیه جلبکی شروع و پس از افزایش تراکم به ظروف با حجم‌های بالاتر انتقال پیدا کرد. پس از تهیه روتیفر به اندازه مناسب تیمارهای مورد آزمایش طراحی و برقرار شدند. ۳ تیمار غذایی شامل ۲ غلظت بالا و پایین (10^6 و 10^7 سلول در میلی‌لیتر) از جلبک کلرلا و یک غلظت از مخمر نانویی (یک گرم به ازای یک میلیون روتیفر) و هر کدام با ۳ تکرار تهیه شدند. پس از آغاز کشت برای آگاهی از روند رشد روزانه، تراکم روتیفرها در زیر لوپ و با استفاده از لام باگاروف تعیین شد. پس از ۱۰ روز روتیفرها برداشت و برای آنالیز ترکیب پروتئین و پروفیل اسیدهای آمینه در فریزر با دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی میزان رشد

برای بررسی میزان رشد روتیفر، هر روز ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب حاوی روتیفر با استفاده از میکروپیپت نمونه‌برداری و ۲ قطره لوگل به آب اضافه می‌شد تا نمونه‌ها ثابت و سپس با استفاده از لام باگاروف در زیر میکروسکوپ شمارش شوند. با استفاده از معادله زیر میزان

تعیین پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه کل و آزاد برای آنالیز ترکیب پروتئین و اسیدهای آمینه نمونه‌های روتیفر جمع‌آوری شده با استفاده از تانک ازت به آزمایشگاه بیوشیمی سازمان انرژی اتمی انتقال یافتند. ترکیب پروتئین با استفاده از روش میکروکجدال و ترکیب اسیدهای آمینه هیدرولیز شده و آزاد با استفاده از دستگاه HPLC (Knauer, Germany) با ستون C18 و آشکارساز فلورسانس (RF-530, Knauer, Germany) تعیین شد. نور جذب اسیدهای آمینه با استفاده از آشکارساز UV-Visible و با طول موج ۵۷۰ سنجش و با استاندارد مقایسه گردید. نمونه‌ها برای تعیین اسیدهای آمینه کل طی سه مرحله هیدرولیز، خشک کردن و مشتق‌سازی آماده و سپس به دستگاه تزریق شد. برای اندازه‌گیری اسیدهای آمینه آزاد ابتدا نمونه‌ها را در بافر فسفات هموزن کرده سپس با سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند تا پروتئین محلول به دست آید. بقیه مراحل همانند مراحل تعیین اسیدهای آمینه کل بود (Aragão, Conceição et al. 2004).

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

نتایج پس از بررسی از نظر طبیعی بودن (با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف) و همگنی واریانس با آنالیز واریانس یک طرفه مورد آزمون قرار گرفت. برای بررسی تفاوت بین میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

1. Specific growth rate

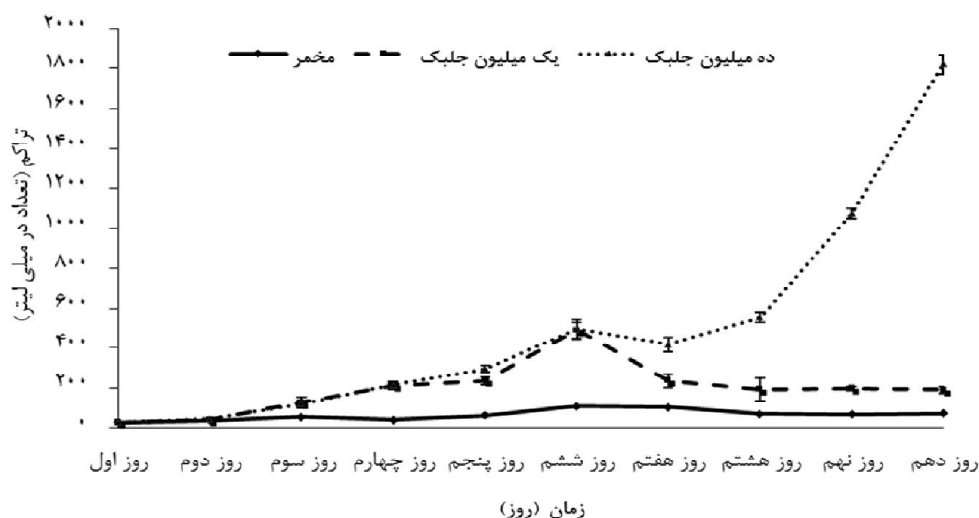
داده‌ها با استفاده از نسخه ۲۱ نرم‌افزار SPSS بررسی شدند.

۳- نتایج

میزان رشد

منحنی رشد جمعیت روتیفرهای *B. calyciflorus* در سه تیمار غذایی مختلف (غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا و یک غلظت مخمر نانوائی) در نمودار ۱ نشان داده شده است. حداکثر تراکم جمعیت روتیفرهای *B. calyciflorus* به‌طور معناداری ($p < 0/05$) تحت تأثیر تیمارهای غذایی

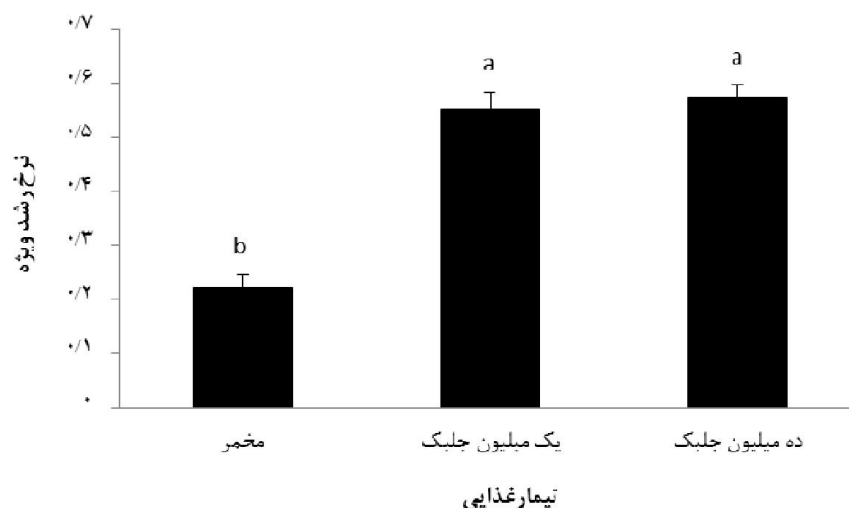
بود. در غلظت پایین (10^6 سلول بر میلی‌لیتر) و تیمار مخمر، روتیفرها در روز ششم به حداکثر تراکم خود رسیدند، درحالی‌که در غلظت غذایی بالای جلبک (10^7 سلول بر میلی‌لیتر) تا روز دهم تراکم همچنان رو به افزایش بود. حداکثر تراکم روتیفرها در تیمار غذایی حاوی مخمر و غلظت پایین جلبک به‌ترتیب $115 \pm 2/1$ و $525 \pm 41/1$ عدد در هر میلی‌لیتر بود. در صورتی‌که در غلظت غذایی بالا روتیفرها در روز دهم به حداکثر تراکم $1790 \pm 10/7$ عدد در میلی‌لیتر رسیدند (شکل ۱).



شکل ۱ روند رشد روتیفرهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف (غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا (10^6 و 10^7 سلول در میلی‌لیتر) و یک غلظت مخمر نانوائی)

تغذیه شده با مخمر نسبت به دو تیمار دیگر تفاوت معناداری داشت ($p < 0/05$)، درحالی‌که میزان رشد (R) در روتیفرهای تغذیه شده با دو غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا تفاوت معناداری نداشتند ($p > 0/05$) (شکل ۲).

میانگین نرخ رشد (R) جمعیت روتیفرهای *B. calyciflorus* بسته به نوع تیمار غذایی از $0/24 \pm 0/02$ تا $0/56 \pm 0/03$ متغیر بود. پایین‌ترین و بالاترین میزان رشد روتیفرها به‌ترتیب در تیمار غذایی مخمر و غلظت بالای جلبک کلرلا به‌دست آمد. نرخ رشد ویژه روتیفرهای



شکل ۲ میانگین نرخ رشد ویژه روتیفرهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف (غلظت بالا و پایین جلبک کلرلا (۱۰^۶ و ۱۰^۷ سلول در میلی لیتر) و یک غلظت مخمر نانوائی)

مقدار پروتئین
درصد و پروتئین جلبک آب شیرین کلرلا ۱۵/۲ درصد بود. روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا با غلظت بالا (۱۰^۷) میزان پروتئین بالاتری نسبت به ۲ تیمار دیگر نشان داد (p < ۰/۰۵).
مقادیر پروتئین تیمارهای غذایی و روتیفرهای تغذیه شده با آنها در جدول ۱ آورده شده است. براساس نتایج مقدار پروتئین کل مخمر نانوائی مورد استفاده ۲۶/۸

جدول ۱ مقدار پروتئین روتیفرهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف مورد آزمایش

تیمار مقدار پروتئین	مخمر	کلرلا	روتیفرهای تغذیه شده با مخمر	روتیفرهای تغذیه شده با تراکم پایین جلبک (۱۰ ^۶)	روتیفرهای تغذیه شده با تراکم بالای جلبک (۱۰ ^۷)
پروتئین (درصد)	۲۶/۸±۲	۱۵/۲±۱/۶	۳۹/۱±۱/۲ ^b	۳۶/۱±۰/۸ ^c	۴۲/۲±۱/۳ ^a
مجموع اسیدهای آمینه کل (میلی گرم بر گرم نمونه)	۲۱۶/۴۲±۱۵	۱۲۸/۰۲±۹	۲۵۰/۶۶±۱۶ ^a	۱۱۲/۱۵±۱۰ ^c	۱۹۸/۸۲±۱۴ ^b
مجموع اسیدهای آمینه آزاد (میلی گرم بر گرم نمونه)	۱/۸۳±۰/۹	۹/۵۷±۱/۸	۱/۱۸/۷۷± ^a	۴/۰±۰/۳ ^b	۲/۹۵±۰/۲ ^c

اعداد بیان شده به صورت میانگین ± انحراف معیار است

در جدول ۲ مقادیر اسیدهای آمینه کل ضروری و غیرضروری تیمارهای غذایی و روتیفرهای تغذیه شده با آنها آورده شده است. مقدار کل اسیدهای آمینه اندازه گیری شده در مخمر و جلبک کلرلا به ترتیب ۲۱۶/۴۲±۱۵ و

۱۲۸/۰۲±۹ میلی گرم بر گرم نمونه بود (جدول ۱). روتیفراهای تغذیه شده با این غذاها نیز مقدار اسیدهای آمینه کل مشابهی با غذاهای خورده شده نشان دادند. مقادیر کل اسیدهای آمینه روتیفراهای تغذیه شده با تیمار مخمر (۱۶ ± ۲۵۰/۶۶) به طور معناداری بیشتر از تیمارهای پایین (۱۰ ± ۱۱۲/۱۵) و بالای (۱۴ ± ۱۹۸/۸۲) جلبک بود ($p < 0.05$). آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید مقادیر بالاتری از سهم اسیدهای آمینه اندازه گیری شده در تمام تیمارها را نشان دادند. اسید آمینه ضروری هیستدین و متیونین از اسیدهای آمینه ضروری پایین ترین مقادیر را در بین سایر اسیدهای آمینه نشان داد، ولی اسید آمینه لیزین در تمام تیمارها از میزان بالاتری برخوردار بود. درصد اسیدهای آمینه ضروری در روتیفراهای تغذیه شده از مخمر (۶۷/۰۶ ± ۴۱/۳۳) و غلظت پایین جلبک (۳۸/۵۰ ± ۱/۸) بود ($p < 0.05$).

جدول ۲ مقدار اسیدهای آمینه کل روتیفراهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف (درصدی از کل اسیدهای آمینه شناسایی شده)

تیمار اسیدهای آمینه (درصد)	مخمر	کلرلا	روتیفراهای تغذیه شده با مخمر	روتیفراهای تغذیه شده با تراکم پایین جلبک (۱۰ ^۶)	روتیفراهای تغذیه با تراکم بالای جلبک (۱۰ ^۷)
اسپارتیک اسید	۱۰/۱۳	۹/۷۱	۹/۹۶ ± ۱/۶ ^a	۸/۷۵ ± ۰/۶ ^b	۸/۵۸ ± ۰/۵ ^b
گلوتامیک اسید	۲۷/۴۴	۲۶/۶۸	۲۷/۵۸ ± ۱/۸ ^b	۳۳/۶۴ ± ۱/۷ ^a	۲۲/۶۹ ± ۰/۹ ^c
سرین	۲/۹۹	۲/۹۵	۳/۱۳ ± ۰/۱ ^a	۲/۸۱ ± ۰/۲ ^b	۲/۹ ± ۰/۱ ^b
گلايسين	۴/۶۲	۴/۲۴	۴/۶۶ ± ۰/۲ ^b	۴/۶۰ ± ۰/۲ ^b	۶/۸۷ ± ۰/۲۵ ^a
هیستدین	۱/۲۷	۱/۴۲	۱/۷۵ ± ۰/۰۸ ^b	۲/۰۷ ± ۰/۰۷ ^a	۱/۱۵ ± ۰/۰۶ ^c
آرژنین	۵/۴۴	۶/۲۲	۶/۶ ± ۰/۲ ^a	۴/۵۲ ± ۰/۱ ^b	۶/۸ ± ۰/۲۳ ^a
تروئونین	۳/۴۱	۳/۴۸	۴/۰۱ ± ۰/۱ ^a	۳/۸۹ ± ۰/۱۳ ^{ab}	۳/۶۸ ± ۰/۱ ^b
پرولین	۸/۲۰	۸/۹۶	۴/۹۸ ± ۰/۱۳ ^c	۵/۵۸ ± ۰/۰۹ ^b	۷/۶۵ ± ۰/۱۲ ^a
آلانین	۴/۵۴	۴/۷۱	۲/۹۳ ± ۰/۰۵ ^c	۵/۴۷ ± ۰/۰۸ ^b	۸/۸۳ ± ۰/۲۳ ^a
تریپتوفان	۲/۵۶	۲/۴۲	۲/۷۶ ± ۰/۱۱ ^a	۱/۹۷ ± ۰/۰۶ ^b	۲/۱۲ ± ۰/۰۵ ^b
والین	۵/۲۷	۵/۲۰	۵/۸۸ ± ۰/۱۲ ^a	۵/۳۵ ± ۰/۱۳ ^b	۶/۰۸ ± ۰/۱۱ ^a
متیونین	۰/۷۵	۰/۶۴	۱/۱۶ ± ۰/۰۴ ^a	۱/۰۱ ± ۰/۰۲ ^a	۰/۴۲ ± ۰/۰۱ ^b
سیستئین	۱/۱۵	۱/۲۴	۰/۹۶ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۶۶ ± ۰/۰۳ ^b	۱/۱۵ ± ۰/۰۲ ^a
ایزولوسین	۴/۴۳	۴/۴۶	۵/۲۰ ± ۰/۱۲ ^a	۴/۵۴ ± ۰/۰۹ ^b	۳/۴۳ ± ۰/۰۸ ^c
لوسین	۷/۵۳	۷/۳۷	۶/۴۰ ± ۰/۱۵ ^b	۶/۲۰ ± ۰/۱۲ ^b	۸/۳۸ ± ۰/۱۳ ^a
فنیل آلانین	۴/۲۵	۴/۲۹	۴/۹۰ ± ۰/۱۱ ^a	۳/۶۲ ± ۰/۰۶	۴/۵۷ ± ۰/۱۱ ^a
لیزین	۶/۰۳	۶/۰۲	۷/۴۱ ± ۰/۱۲ ^a	۵/۳۳ ± ۰/۰۹ ^b	۴/۷۰ ± ۰/۱۱ ^c
مجموع اسیدهای آمینه ضروری	۴۰/۹۴	۴۱/۵۲	۴۶/۰۶ ± ۲/۱ ^a	۳۸/۵۰ ± ۱/۸ ^c	۴۱/۳۳ ± ۱/۷ ^b
مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری	۵۹/۰۶	۵۸/۵۰	۵۴/۲۰ ± ۱/۵ ^c	۶۱/۵۰ ± ۱/۶ ^a	۵۸/۶۷ ± ۱/۹

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۳ مقادیر اسیدهای آمینه آزاد ضروری و غیرضروری تیمارهای غذایی و روتیفراهای تغذیه شده با

آنها را نشان می‌دهد. مقادیر کل اسیدهای آمینه آزاد در مخمر و کلرلا به ترتیب 0.9 ± 1.83 و 1.8 ± 9.57 میلی‌گرم بر گرم نمونه بود. اگرچه میزان اسیدهای آمینه آزاد در مخمر نسبت به جلبک کلرلا کمتر بود، ولی روتیفرهای تغذیه شده با مخمر به‌طور معناداری میزان اسیدهای آمینه آزاد بالاتری نسبت به دیگر تیمارها داشت ($p < 0.05$). اسیدهای آمینه سیستین تنها در جلبک کلرلا دیده شد و در مخمر و روتیفرهای تغذیه شده با مخمر و جلبک دیده

نشد. مقدار کل اسیدهای آمینه آزاد (میلی‌گرم بر گرم نمونه) به‌طور معناداری در روتیفرهای تغذیه شده از مخمر (1.1 ± 8.77)، نسبت به دو تیمار پایین (0.3 ± 4.0) و بالای (0.2 ± 2.95) جلبک بیشتر بود ($p < 0.05$). براساس نتایج که در جداول ۲ و ۳ آورده شده است، مقدار درصدی لیزین و هیستیدین در ترکیب اسیدهای آمینه آزاد نسبت به ترکیب اسیدهای آمینه کل بیشتر بود.

جدول ۳ مقدار اسیدهای آمینه آزاد روتیفرهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف (درصدی از مجموع اسیدهای آمینه آزاد)

تیمار	مخمر	کلرلا	روتیفرهای تغذیه شده با مخمر	روتیفرهای تغذیه شده با تراکم پایین جلبک (10^6)	روتیفرهای تغذیه شده با تراکم بالای جلبک (10^7)
اسپارتیک اسید	۱۰/۳۸	۰/۴۲	7.98 ± 0.8^c	13.12 ± 0.8^b	20.78 ± 1.7^a
گلوتامیک اسید	N.D	۲/۹۳	3.42 ± 0.8^b	7.43 ± 0.7^a	ND
سرین	۳/۸۳	۳/۰۳	1.60 ± 0.11^c	2.97 ± 0.09^b	4.75 ± 0.21^a
گلایسین	۴/۳۷	۲۰/۹۰	3.08 ± 0.3^b	2.72 ± 0.31^c	3.39 ± 0.14^a
هیستیدین	۶/۰۱	۶/۶۹	4.22 ± 0.1^a	3.47 ± 0.8^b	4.75 ± 0.6^a
آرژنین	۳۰/۰۵	۱۹/۵۴	18.24 ± 1.3^a	2.72 ± 0.2^b	18.31 ± 2.3^a
تروئونین	۷/۶۵	۲/۸۲	4.10 ± 0.1^b	4.95 ± 0.3^b	11.53 ± 0.9^a
پرولین	۸/۷۴	۲/۷۲	5.25 ± 0.3^c	27.48 ± 2.9^a	8.14 ± 1.1^b
آلانین	۴/۹۲	۱۵/۲۶	2.39 ± 0.5^c	8.17 ± 0.8^a	4.75 ± 0.3^b
تریپتوفان	۳/۸۳	۰/۵۲	8.55 ± 0.9^a	3.22 ± 0.6^b	3.39 ± 0.5^b
والین	۲/۷۳	۸/۴۶	3.76 ± 0.1^b	4.95 ± 0.3^a	3.05 ± 0.12^b
متیونین	۳/۲۸	۱/۰۴	1.60 ± 0.05^b	2.23 ± 0.02^a	2.03 ± 0.03^{ab}
سیستین	N.D	۴/۶۰	ND	ND	ND
ایزولوسین	۲/۱۹	۱/۰۴	3.76 ± 0.2^a	3.22 ± 0.1^a	ND
لوسین	۲/۷۳	۰/۳۱	6.50 ± 0.14^a	3.47 ± 0.2^b	2.27 ± 0.16^c
فنیل آلانین	۳/۲۸	۷/۴۲	15.74 ± 0.1^a	2.23 ± 0.09^c	9.49 ± 1.1^b
لیزین	۶/۰۱	۲/۳۰	9.81 ± 1.12^a	7.67 ± 1.09^b	3.39 ± 0.3^c
مجموع اسیدهای آمینه ضروری	۶۷/۷۶	۵۰/۱۶	76.28 ± 4.1^a	38.12 ± 2.8^c	58.31 ± 3.7^b
مجموع اسیدهای آمینه غیرضروری	۳۲/۲۴	۴۹/۸۴	23.72 ± 1.7^c	61.88 ± 2.6^a	41.69 ± 2.9^b

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معناداری در سطح ۰/۰۵ است.

۴- بحث

در این آزمایش اثر غذاهای مختلف بر رشد و ترکیب شیمیایی روتیفر *B. calyciflorus* بررسی و مشخص شد که ارزش غذایی و میزان رشد روتیفرها تحت تأثیر نوع غذای مورد استفاده است. در روتیفرها و سخت‌پوستان پلانکتونی نوع و مقدار غذا بر میزان تکثیر جمعیت‌های روتیفر تأثیرگذار است و در صورتی که غذا کیفیت کمی داشته باشد و یا اینکه ناکافی باشد، به‌طور قابل توجهی باعث کاهش میزان تولیدمثل می‌شود (Sarma et al 2001). نرخ رشد ویژه و حداکثر تراکم جمعیتی پلانکتون‌ها از عوامل مهم برای بررسی کیفیت و کمیت غذا است و معمولاً با افزایش مقدار غذا میزان رشد جمعیت روتیفرها افزایش می‌یابد (Sarma, et al. 1996; Dumont et al., 1995). در مطالعه حاضر مشخص شد که حداکثر تراکم روتیفر تحت تأثیر نوع غذا و سطح جلبک بود که چنین نتیجه مشابهی در آزمایش سایر محققان برای چندین جنس از روتیفرهای خانواده براکیونیده (*Brachionidae*) برای مثال *Anoraepsis* (Dumont, Sarma et al. 1995)، *Keratella* (Walz 1983)، *Notholca* (May 1980) و *Brachionus* (Halbach and Halbach-Keup 1974، Lucia-Pavón, Sarma et al. 2001, Peredo-Álvarez, Sarma et al. 2003) گزارش شده است. در این مطالعه از ۳ تیمار غذایی برای بررسی رشد روتیفر استفاده شد و براساس نتایج غلظت بالا اثر بازدارنده‌ای بر رشد روتیفرها نداشت. اگرچه زمانی که از غلظت‌های بالای جلبک‌های سبز آبی استفاده شود، به‌دلیل اینکه این جلبک‌ها در غلظت‌های بالا متابولیت‌های سمی ترشح می‌کنند می‌توانند اثر منفی بر رشد روتیفرها داشته باشند (Sarma et al 2001). Sarma و همکاران (۱۹۹۶) که روتیفر *B. calyciflorus* را در دامنه وسیعی از جلبک سبز سندسموس

($10^6 \times 0/5$ تا $10^6 \times 40$ سلول بر میلی‌لیتر) پرورش دادند، اثری از غلظت بازدارنده مشاهده نکردند. در مطالعه حاضر حداکثر تراکم *B. calyciflorus*، بسته به سطح غذایی جلبک متغیر بود. Sarma و Rao (۱۹۸۷) از دو غلظت $10^6 \times 1$ و $10^6 \times 4$ سلول بر میلی‌لیتر جلبک سبز کلرلا برای بررسی رشد *B. putulus* استفاده کردند و پیک فراوانی ۱۱۰-۳۲۵ روتیفر در میلی‌لیتر را گزارش کردند. همچنین در مطالعه دیگری حداکثر تراکم روتیفر *B. calyciflorus* از ۵۵ عدد در میلی‌لیتر (در غلظت غذایی $10^6 \times 0/5$ سلول بر میلی‌لیتر) تا 471 ± 72 عدد در میلی‌لیتر (در غلظت غذایی $10^6 \times 4/5$ سلول بر میلی‌لیتر) متغیر بود (Lucía-Pavón, et al. 2001). براساس مطالعات Sarma و همکاران با استفاده از ۴ غلظت جلبک *Dictyosphaerium chlorelloides* میزان تراکم روتیفر *B. calyciflorus* با افزایش غلظت (از $10^6 \times 1$ تا $10^6 \times 8$ سلول بر میلی‌لیتر) افزایش یافت (Sarma et al. 2006). روتیفرها در غلظت‌های ۴ و ۸ میلیون سلول در میلی‌لیتر در روز پنجم به حداکثر تراکم خود رسیدند. بالاترین تراکم (۹۵ روتیفر در میلی‌لیتر) در غلظت غذایی $10^6 \times 8$ سلول بر میلی‌لیتر ثبت شد.

میزان رشد ویژه روتیفرها در مطالعه حاضر بین $0/24$ (تیمار مخمر) تا $0/3 \pm 0/56$ (تیمار غلظت بالای جلبک) در هر روز متغیر بود که این میزان در دامنه رشد مشاهده شده برای بیشتر زئوپلانکتون‌ها می‌باشد (Sarma et al., 2005). در مطالعه حاضر مشخص شد که با افزایش سطح غذا میزان رشد ویژه افزایش می‌یابد؛ این نتیجه در مطالعات سایر محققین به‌دست آمده است (Sarma et al., 2005؛ Sarma et al., 2006؛ Lucia-Pavón, et al., 2001). درحالی‌که میزان رشد براکیونوس‌ها در دامنه ۲-۱/۰ قرار دارد، اما بیشتر گونه‌ها میزان رشد کمتر از $0/5$ در روز را

روتیفرهای تغذیه شده با آن دارای مقادیر بالایی از پروتئین هستند که رابطه مثبت بین نوع غذا مورد استفاده در تغذیه روتیفرها را نشان می‌دهند. در روتیفرهای *B. plicatilis* تغذیه شده با غذاهای مختلف نیز یک رابطه مثبتی بین ترکیب پروتئین آنها و ترکیب پروتئینی غذای آنها یافت شده است (Srivastava et al 2006). Lie و همکاران (۱۹۹۷) میزان پروتئین مشابهی (۳۶-۴۰ درصد) براساس اسیدهای آمینه کل گزارش کرده‌اند. اگرچه تیمارهای غذایی مختلف بر ترکیب بدنی روتیفرها مؤثر هستند، ولی این اختلاف در میزان پروتئین گزارش شده می‌تواند ناشی از تفاوت در روش محاسبه پروتئین از روی میزان ازت کج‌لدالی باشد (Srivastava et al., 2006). همچنین Srivastava و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا و مخمر نسبت به سایر تیمارهای مورد استفاده درصد پروتئین بالاتری داشتند. Aragão و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند روتیفرهای که به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه‌داشته شده بودند، نسبت به روتیفرهای تغذیه شده پروتئین بیشتری داشتند. کاهش نسبی پروتئین در روتیفرهای تغذیه شده نشان می‌دهد که به احتمال زیاد میزان تجمع چربی نسبت به پروتئین در روتیفرهای تغذیه شده بیشتر اتفاق می‌افتد. پروتئین‌های محلول نسبت به پروتئین کل قابلیت دسترسی بالاتری برای هضم و جذب دارند (Carvalho et al., 2004). ترکیب اسیدهای آمینه تعیین کننده ارزش غذایی منابع پروتئینی می‌باشد. پروتئین‌هایی که به خوبی هضم شده باشند، اسیدهای آمینه کل آنها به درستی تخمین زده خواهند شد. در مطالعه حاضر نیز یک شباهت بالایی در میزان پروتئین، اسیدهای آمینه کل و اسیدهای آمینه آزاد نشان داده شده است، اگرچه تفاوت‌های نیز مشاهده می‌شود. مهم‌ترین تفاوت‌ها در مقادیر نسبتاً بالایی از

دارا می‌باشند (Sarma et al., 2005). میزان R برای سویه‌های *B. plicatilis* به طور معمول بین ۱/۱۵-۰/۲۳ و برای *B. rotundiformis* بین ۱/۳۷-۰/۵۴ بسته به درجه حرارت و شوری ثبت شده است (Lucía-Pavón, et al., 2001). Sarma و همکاران میزان نرخ رشد (R) ۰/۹۱ را در غلظت غذایی $10^6 \times 8$ سلول بر میلی‌لیتر جلبک *D. chlorellioides* برای روتیفر *B. calyciflorus* به دست آوردند (Sarma et al. 2006). براساس مطالعات Sarma و همکاران (۲۰۰۶) برای روتیفر *B. patulus* و *B. calyciflorus* و همچنین برای دیگر روتیفرها (Walz, 1983) ارتباط بین نرخ رشد با فاکتورهای مورد آزمایش نیز ثبت شده است.

در مطالعه حاضر براساس جدول ۱ میزان پروتئین روتیفرهای تغذیه شده با غذاهای مختلف با همدیگر دارای اختلاف معناداری می‌باشند. ارزش غذایی روتیفرها تحت تأثیر رژیم غذایی آنها بوده و با نوع و مقدار غذا قابل تغییر است (Watanabe et al., 1982; Lubzens et al. 1995). رژیم غذایی نه تنها بر نرخ تولید مثل روتیفرها بلکه بر محتوای پروتئین چربی و خاکستر آنها تأثیرگذار است. محتوای پروتئین با افزایش غلظت غذای روتیفرها تا ۸۰-۶۰ درصد قابلیت افزایش را دارد (Lubzen et al., 2001). میزان پروتئین در روتیفرها از ۲۸ تا ۶۷ درصد وزن خشک آنها گزارش شده است (Øie et al., 1997; Srivastava et al., 2006). در مطالعه حاضر میانگین مقدار پروتئین از ۳۹ درصد تا ۴۲/۲ درصد براساس نوع و غلظت غذا متغیر بود که بالاترین مقدار آن در روتیفرهای تغذیه شده با مخمر به دست آمد. کمترین مقدار پروتئین در روتیفرهای تغذیه شده با غلظت پایین جلبک شاید به دلیل نرخ پایین تغذیه باشد و از طرف دیگر، به علت بالاتر بودن مقدار پروتئین در مخمر

اسیدهای آمینه آزاد پرولین، آرژنین و فنیل آلانین است که در بین ۳ تیمار مورد مطالعه مشاهده شدند. شباهت در ترکیب اسیدهای آمینه روتیفرها در تیمارهای مختلف اهمیت تیمارهای مختلف در بررسی ارزش غذایی را کم رنگ تر می کند. براساس جداول ۲ و ۳ شباهت زیادی در ترکیب اسیدهای آمینه کل و آزاد غذاهای مورد استفاده و روتیفرهای تغذیه شده با آنها دیده شده است. شباهت در ترکیب اسیدهای آمینه کل روتیفرها با وجود تغذیه با غذاهای مختلف از سوی Øie و همکاران (۱۹۹۷) و Makridis و Olsen (۱۹۹۹) گزارش شده است.

در مقایسه با مطالعه گزارش شده از سوی Aragão و همکاران (۲۰۰۴) روتیفرهای مورد بررسی در تحقیق حاضر مقادیر پایینی از اسید آمینه متیونین را نشان دادند. اسید آمینه متیونین نوعی محدود کننده بوده و کمبود آن سبب کاهش رشد در لارو ماهیان می شود (Helland et al., 2003 2004 Aragão et al.,). یافته های تحقیق Srivastava و همکاران (2006) با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

براساس جدول ۲ میزان اسیدهای آمینه ضروری نسبت به اسیدهای آمینه کل از ۳۸ تا ۴۶ درصد متغیر بود که این میزان اسیدهای آمینه ضروری کل در روتیفرهای تغذیه شده با مخمر بیشترین مقدار را نشان داد. مقادیر بالای پروتئین در مخمر تغذیه شده شاید دلیل بالا بودن مقدار اسیدهای آمینه ضروری در این تیمار باشد. در مطالعه Lazo و همکاران (۲۰۰۰) مشخص شد که فیتوپلانکتون ها مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه آزاد را دارند و ژئوپلانکتون های تغذیه شده با جلبک ها مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه آزاد را در آنالیز نشان دادند. با در نظر گرفتن نیازهای ماهیان (Wilson, 2002) همه اسیدهای آمینه ضروری به جز اسید آمینه متیونین (مقدار نیاز: ۲-۳ درصد پروتئین) از

سطح کافی برخوردار بودند. اسیدهای آمینه آزاد که ترکیب اصلی بخش نیتروژن محلول را تشکیل می دهند با سرعت زیاد و با کارایی بالایی توسط لارو ماهی جذب می شوند (Applebaum and Rønnestad, 2004). براساس جدول ۳ درصد اسیدهای آمینه آزاد ضروری مقادیر بیشتری را نسبت به انواع غیر ضروری آن نشان دادند به طوری که به جز روتیفرهای تغذیه شده با کلرلا با تراکم پایین در بقیه تیمارها نسبت اسیدهای آمینه آزاد ضروری به اسیدهای آمینه آزاد غیر ضروری بیشتر بود. پیشنهاد شده است که سطح بالای اسیدهای آمینه آزاد در غذای لارو از اهمیت زیادی برخوردار خواهد بود، چرا که ظرفیت پروتولیتیکی روده بسیاری از لارو ماهیان ضعیف بوده و همچنین مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه آزاد در غذاهای زنده یافت می شود (Rønnestad et al., 1999 2003 Rønnestad et al.,). اسیدهای آمینه آزاد به عنوان یکی از منابع انرژی مهم در لاروهای با کیسه زرده و در مرحله تغذیه آغازین می باشد و لاروها در صورت دسترسی نداشتن به اسیدهای آمینه آزاد از اسیدهای آمینه متصل به پروتئین استفاده می کنند. (Rønnestad et al 1993). از آنجایی که در مراحل آغازین هضم پروتئین های پیچیده مشکل خواهد بود بنابراین مقادیر بالای اسیدهای آمینه آزاد در غذا منجر به افزایش قابلیت دسترسی آنها هم برای سنتز پروتئین و هم برای سوخت و ساز خواهد شد.

براساس تحقیق حاضر می توان نتیجه گرفت که با استفاده از جلبک کلرلا با غلظت بالا می توان تراکم های بسیار فشرده ای از روتیفر آب شیرین تولید کرد که ارزش غذایی مطلوبی از نظر مقدار پروتئین و ترکیب اسیدهای آمینه دارند که در صورت تغذیه لارو ماهیان با این غذای تولید شده نیاز غذایی آنان برآورده خواهد شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از تمامی افرادی که در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Fiogbe, E., Sarma, S. and Kestemont, P. 2006.** Population growth of *Brachionus calyciflorus* pallas (rotifera) in relation to algal (Dictyosphaerium chlorelloides) cell concentration. *Agronomie africaine* 18(3): 213-220.
- Gatesoupe, F. J. and Robin, J. H. 1981.** Commercial single-cell proteins either as sole food source or in formulated diets for intensive and continuous production of rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture* 25: 1-15.
- Gatesoupe, F. J. and Robin, J. H. 1982.** The dietary value for sea-bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with or without laboratory-cultured alga. *Aquaculture* 27: 121-127.
- Govoni, J. J., Boehlert, G.W. and Watanabe, Y. 1986.** The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes* 16: 59-77.
- Halbach, U. and Halbach-Keup, G. 1974.** Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populations dynamik des Rotators *Branchionus calyciflorus* Pallas. befunde aus Laboratoriums-experimenten und Freilanduntersuchungen. *Archiv fur Hydrobiologie*, 73: 273-309
- Helland, S., Terjesen, B.F. and Berg, L. 2003.** Free amino acid and protein content in the planktonic copepod *Temora longicornis* compared to *Artemia franciscana*. *Aquaculture* 215: 213-228.
- Kennari, A. A., Ahmadifard, N., Seyfabadi, J. and Kapourchali, M. F. 2008.** Comparison of growth and fatty acids composition of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, fed with two types of microalgae at different concentrations. *Journal of the World Aquaculture Society* 39: 235-242.
- Krebs, C. J. 1995.** Two paradigms of population regulation. *Wildlife Research* 22(1): 1-10.
- Lazo, J.P., Dinis, M.T., Holt, G.J., Faulk, C. and Arnold, C.R., 2000.** Co-feeding microparticulate diets with algae: toward eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 188(3): 339-351.
- Ahmadifard, N., Abedian Kenari, A. and Fallahi Kaporchali, M. 2009.** Effects of different concentration of green algae (*Chlorella sp.*) on growth and fatty acid composition of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus*, of Anzali Lagoon. *In Pajouhesh-va-sazandegi* 21(4): 52-58 (In persian)
- Applebaum, S. L. and Rønnestad, I. 2004.** Absorption, assimilation and catabolism of individual free amino acids by larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 230: 313-322.
- Aragão, C., Conceição, L. E., Dinis, M. T. and Fyhn, H. J. 2004.** Amino acid pools of rotifers and Artemia under different conditions: nutritional implications for fish larvae. *Aquaculture* 234: 429-445.
- Aragão, C., Conceição, L. E., Fyhn, H. J. and Teresa Dinis, M. 2004.** Estimated amino acid requirements during early ontogeny in fish with different life styles: gilthead seabream (*Sparus aurata*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 242: 589-605.
- Carvalho, A., Oliva-Teles Sá. R. and Bergot, A. P. 2004.** Solubility and peptide profile affect the utilization of dietary protein by common carp (*Cyprinus carpio*) during early larval stages. *Aquaculture* 234: 319-333.
- Dumont, H. J., Sarma S. and Ali A. J. 1995.** Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (Rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biology* 33(1): 39-46.
- Fernández-Reiriz, M. J., Labarta, U. and Ferreira, M. 1993.** Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture* 112: 195-206.

(*Brachionus plicatilis*) in first feeding of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 153: 103-122.

Reitan, K. and Olsen, Y. 1994. Comparison of rotifer culture quality with yeast plus oil and algal-based cultivation diets. *Aquaculture international* 2: 225-238.

Rico-Martínez, R. and Dodson, S. I. 1992. Culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Aquaculture* 105: 191-199.

Rønnestad, I., Conceição, L. E., Aragão, C. and Dinis, M. T. 2000. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*). *The Journal of nutrition* 130: 2809-281.

Rønnestad, I. and Fyhn, H.J., 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. *Reviews in Fisheries Science*, 1(3): 239-259.

Rønnestad, I., Thorsen, A. and Finn, R. N. 1999. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177: 201-216.

Rønnestad, I., Tonheim, S., Fyhn, H., Rojas-Garcia, C., Kamisaka, Y., Koven, W., Finn, R., Terjesen, B., Barr, Y. and Conceição, L. 2003. The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture* 227: 147-164.

Rust, M. B. 1995. Quantitative aspects of nutrient assimilation in six species of fish larvae. PhD thesis, University of Washington, Seattle, USA.

Sarma, S. and Rao, T. 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Muller. *Archiv für Hydrobiologie* 111(2): 245-253.

Sarma, S., Araiza, M. A. F. and Nandini, S., 1999. Competition between *Brachionus calyciflorus* Pallas and *Brachionus patulus* (Müller)(Rotifera) in relation to algal food concentration and initial population density. *Aquatic Ecology* 33: 339-345.

Sarma, S., Iyer, N. and Dumont, H. 1996. Competitive interactions between herbivorous

Lie, O., Haaland, H., Hemre, G. I., Maage, A., Lied, E., Rosenlund, G., Sandnes, K. and Olsen, Y. 1997. Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast and emulsified oil to microalgae. *Aquaculture International* 5: 427-438.

Lubzens, E., Gibson, O., Zmora, O. and Sukenik, A., 1995. Potential advantages of frozen algae (*Nannochloropsis* sp.) for rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture. *Aquaculture*, 133(3): 295-309.

Lubzens, E., Zmora, O. and Barr, Y., 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers, Rotifera IX. Springer, pp. 337-353.

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

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

May, L. 1980. Studies on the grazing rate of *Notholca squamula* Müller on *Asterionella formosa* Hass. at different temperatures, *Hydrobiologia* 73 (1-3): 79-81.

Miller, W. E. and Greene, J. C. 1978. The Selenastrum capricornutum Printz algal assay bottle test: experimental design, application, and data interpretation protocol: Corvallis, U.S. *Environmental Protection Agency*, EPA 600/9-78-018: 125 p

Ogata, Y. and Kurokura, H. 2012. Use of the freshwater rotifer *Brachionus angularis* as the first food for larvae of the Siamese fighting fish *Betta splendens*. *Fisheries science*. 78: 109-112.

Peredo-Álvarez, V. M., Sarma, S. and Nandini, S. 2003. Combined effect of concentrations of algal food (*Chlorella vulgaris*) and salt (sodium chloride) on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Revista de biología tropical* 51(2): 399-408.

Øie, G., Makridis, P., Reitan, K. I. and Olsen, Y. 1997. Protein and carbon utilization of rotifers

utilisation of dietary protein in the larval teleost Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 321: 19-34.

Walz, N. 1983. Continuous culture of the pelagic rotifers *Keratella cochlearis* and *Brachionus angularis*. *Archiv für Hydrobiologie* 98(1): 70-92.

Watanabe, Y., 1982. Intracellular digestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae and juveniles of some teleost. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 48:37-42.

Wilson, R.P., 2002. Amino acids and proteins. in: Halver, E. J., Hardy, R. W. (Eds.), *Fish nutrition*, third edition. Academic press, 143-179

rotifers: importance of food concentration and initial population density. *Hydrobiologia* 331(1-3): 1-7.

Sarma, S., Larios, P. S. Jurado and Nandini, S. 2001. Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae)." *Revista de biología tropical* 49(1): 77-84.

Sarma, S., Gulati, R. and Nandini, S. 2005. Factors affecting egg-ratio in planktonic rotifers. *Developments in hydrobiologia*, 181: 361-373.

Srivastava, A., Hamre, K., Stoss, J., Chakrabarti, R., Tonheim, S. K. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture* 254: 534-543.

Tonheim, S. K., Espe, M., Hamre, K. and Rønnestad, I. 2005. Pre-hydrolysis improves

Effect of alga *Chlorella vulgaris* and yeast *Saccharomyces cerevisiae*, on growth, protein and total and free amino acid composition of rotifer *Brachionus calyciflorus*

Nasrollah Ahmadifard^{*1}, Abdolmohammad Abedian Kenari², Ahmad Ahmadi³

1- Assistant Professor, Department of Fisheries and Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2- Professor, Department of Fisheries and Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3-M.Sc. Student, Fisheries and Aquaculture Department, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 16.11.2014 Accepted: 06.01.2016

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

Abstract

In this study the effect of three dietary treatments including; two concentrations (10^6 and 10^7 cells per ml) of the freshwater alga *Chlorella vulgaris* and one treatment of baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*) on growth, protein and total and free amino acid composition of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* were studied. Results showed that rotifers fed with high concentration of algae (10^7 cell/ml) had significantly higher growth rate (0.56 ± 0.03) than other treatments. Maximum density of rotifers fed high concentration (1790 ± 10.7 ind/ml) significantly was higher than low concentration (525 ± 41.1 ind./ml) and baker's yeast +oil treatments (115 ± 2.1 ind/ml). The crude protein of rotifers fed yeast was significantly higher than rotifers fed with low density of algae ($p < 0.05$). Total amino acids of rotifers fed yeast, low concentration and high concentration of algae were obtained 250.66 ± 16 , 112.15 ± 10 and 198.82 ± 14 mg/ g of sample, respectively that there were significant difference between them ($p < 0.05$). The highest and lowest amounts of free amino acids were observed in rotifers fed yeast (8.77 ± 1.1) and low concentration of algae (4.04 ± 0.3), respectively ($p < 0.05$). Based on this study it can be concluded that rotifers fed with algae showed a higher growth rate compared with those fed the yeast, although protein and free amino acids in rotifers fed yeast were higher in compared algae treatments. In addition, treatment with high concentrations of algae, amino acids showed a relative increase in the body.

Keywords: Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, *Chlorella vulgaris*, Amino acid

