



بررسی اثر تراکم‌های مختلف ریز جلبک‌های *Chaetoceros* و *Isochrysis aff. galbana* بر برخی از فاکتورهای رشد و بقای صدفچه صدف مرواریدساز زنی *Calcitrans* بر برخی از فاکتورهای رشد و بقای صدفچه صدف مرواریدساز زنی *Pteria penguin*

سید امین عمرانی^۱، احمد نوری^{۱*}، حسین رامشی^۲

^۱گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

^۲ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرم‌تنان، بندرلنگه

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	عملکرد رشد و بازماندگی صدفچه صدف مرواریدساز زنی تغذیه شده با دو ریز جلبک <i>Isochrysis aff. galbana</i> و <i>Chaetoceros calcitrans</i> و نیز ترکیب هر دو گونه در یک دوره ۶۰ روزه بررسی شد. در تمام تیمارها ۵۰۰۰۰ سلول ریز جلبک در میلی‌لیتر اضافه شد. در این آزمایش ۵ تیمار تغذیه‌ای شامل تغذیه تک گونه‌ای با <i>I. aff. galbana</i> (تیمار ۱)، تغذیه ترکیبی با نسبت ۷۰:۳۰ از <i>I. aff. galbana</i> و <i>C. calcitrans</i> (تیمار ۲)، نسبت ۵۰:۵۰ از <i>I. aff. galbana</i> و <i>C. calcitrans</i> (تیمار ۳)، نسبت ۳۰:۷۰ از <i>I. aff. galbana</i> و <i>C. calcitrans</i> (تیمار ۴)، و تغذیه تک گونه‌ای با <i>C. calcitrans</i> (تیمار ۵) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تیمارهای ۲، ۳ و ۴ به طور معنی‌دار طول کل بیشتری از دو تیمار ۱ و ۵ داشتند. از نظر طول پاشنه در پایان آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. تیمار ۲ به طور معنی‌دار ضخامت بیشتری را از دو تیمار ۱ و ۵ نشان داد. دو تیمار ۳ و ۴ تفاوتی را با تیمار ۱ نشان ندادند ولی از تیمار ۵ میانگین بیشتری داشتند. از نظر بازماندگی تفاوتی بین تیمارها مشاهده نشد. جهت پرورش صدفچه صدف مروارید ساز زنی ترکیب دو ریز جلبک <i>I. aff. galbana</i> و <i>C. calcitrans</i> پیشنهاد می‌گردد.
تاریخچه مقاله:	
دریافت: ۹۴/۱۱/۰۶	
اصلاح: ۹۵/۰۵/۲۹	
پذیرش: ۹۵/۰۵/۳۰	
کلمات کلیدی:	
صدفچه	
صدف مرواریدساز	
ریز جلبک	
طول کل	

مقدمه

امروزه یک از جنبه‌های مهم صنعت آبی پروری، تکثیر و پرورش نرم تنان می باشد. از جمله نرم تنان اقتصادی و با ارزشی که تکثیر و پرورش آنها رو به توسعه است، صدف های مروارید ساز هستند که تولید صدفچه های آنها با اهداف مختلف از جمله پرورش در محیط های پرورشی و تولید مروارید و یا رها سازی در محیط های آبی صورت می گیرد. موفقیت در تولید صدف های مروارید ساز از جمله صدف مروارید ساز زنی و اویستر به شدت تحت تاثیر گونه های ریز جلبک مناسب جهت تغذیه این دو کفهای می باشد (Ronquillo *et al.*, 2012). معیار انتخاب این ریز جلبک ها علاوه بر تامین نیازهای غذایی ضروری مورد نیاز برای رشد، سلامت و بازماندگی صدفچه ها، سهولت در تولید آنها می باشد (Knauer and Southgate, 1999). با توجه به تفاوت موجود در

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: noori@hormozgan.ac.ir

ترکیبات مغذی ریزجلبک‌ها، استفاده از گونه‌های مختلف تاثیرات متفاوتی بر رشد و بازماندگی دو کفه‌ای‌های تغذیه‌کننده از آنها نشان می‌دهند (Volkman *et al.*, 1989). به طور کل، حضور اسیدهای چرب غیراشباع خصوصاً اکوزاپنتانوئیک اسید، دکوزاهگزانوئیک اسید و آراشیدونیک اسید، ارزش تغذیه‌ای گونه مورد استفاده را تعیین می‌کند (Knauer and Southgate, 1999). اسیدهای چرب غیر اشباع باعث تحریک رشد و بازماندگی بالا در تکثیر و پرورش نوزادگاهی لارو و نمونه‌های نوجوان بسیاری از ماهیان، سخت پوستان و نرم تنان می‌شود. یک گونه ریزجلبک به تنهایی نمی‌تواند نیازهای غذایی لارو در حال تکامل دو کفه‌ای‌ها و همچنین نمونه‌های نوجوان را به طور کامل فراهم کند (Benemann, 1992). به منظور تامین نیازهای غذایی دو کفه‌ای‌ها و موفقیت در تولید این گونه‌های آبی و کاهش هزینه‌های تکثیر و پرورش دو کفه‌ای‌ها، استفاده از ترکیب گونه‌ای ریزجلبک‌ها امری لازم و ضروری است. تکثیر و پرورش صدف‌های مروارید ساز وابسته به تولید انبوه ریزجلبک‌ها است که حجم زیادی از این ریزجلبک‌ها در مراکز تکثیر تولید و مصرف می‌شود (Caers *et al.*, 1998). تا کنون مطالعات مختلفی بر روی استفاده از گونه‌های مختلف ریزجلبک بر روی رشد و تکامل صدف‌های گوناگون صورت گرفته است (Delaunay *et al.*, 1993; Doroudi *et al.*, 2003; Martínez-Fernández *et al.*, 2004; Milke *et al.*, 2008). با این وجود، اطلاعات در زمینه تاثیر ترکیب گونه‌ای مختلف از ریزجلبک‌های متداول در امر تغذیه صدف مروارید ساز زنی بسیار محدود می‌باشد.

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات رژیم‌های غذایی متشکل از درصدهای متفاوت از دو ریزجلبک *Isochrysis aff. galbana* و *Chaetoceros calcitrans* بر برخی از فاکتورهای رشد و بقای صدفچه صدف مرواریدساز زنی *Pteria penguin* در یک دوره پرورشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تامین صدفچه‌های مورد آزمایش و شرایط نگهداری آنها

صدفچه‌های مورد آزمایش از طریق کار گذاشتن جمع‌آورها از سواحل بندرلنگه صید شدند. نمونه‌ها بعد از صید به سالن ایستگاه تحقیقات شیلاتی نرم‌تنان خلیج فارس- بندرلنگه منتقل شدند و در مخازن ۲۰۰ لیتری نگهداری شدند. این مخازن با آب دریای فیلتر شده و ضدعفونی شده با اشعه ماوراء بنفش آبیگری شدند. درجه حرارت و شوری آب مورد استفاده به ترتیب ۲۶/۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۶/۵ قسمت در هزار اندازه‌گیری شد.

پرورش گونه‌های ریزجلبک مورد استفاده

دو گونه ریزجلبک *Isochrysis aff. galbana* و *Chaetoceros calcitrans* در ارلن‌های ۳ لیتری حاوی ۲/۵ لیتر آب دریای فیلتر و استریل شده که با محیط کشت اف-۲ غنی شده بود، کشت داده شده‌اند. پرورش تحت شرایط یکسان با درجه حرارت ۱۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد، شوری ۲۶-۲۸ قسمت در هزار، قلیائیت ۸ و دوره روشنایی: تاریکی ۱۲-۱۲ ساعت صورت گرفت (Richmond, 2008). به منظور تعیین تراکم سلولی محیط پرورش، هر روز دو نمونه ۱-۲ میلی‌لیتری از ریزجلبک کشت داده شده برداشت شده و بعد از تثبیت با محلول فرمالین، با استفاده از لام شمارش هموسیتمتر اقدام به شمارش سلولی گردید. زمانی که تراکم سلولی ریزجلبک‌ها حداقل به پنج میلیون سلول در یک میلی‌لیتر رسید، از آن جهت تغذیه صدفچه استفاده گردید.

تیمارهای آزمایشی و نحوه تغذیه صدفچه‌ها

بعد از گذشت ۱۴ روز سازگاری با شرایط آزمایش، صدفچه‌ها با تراکم ۱۰ عدد در ظروف ۲۰ لیتری حاوی ۱۵ لیتر آب دریای فیلتر شده و ضدعفونی شده با اشعه ماوراء بنفش، ذخیره‌سازی شدند. در این آزمایش ۵ تیمار مختلف با سه تکرار در نظر گرفته شد. در تیمار اول، به منظور تغذیه صدفچه‌ها تنها از گونه *I. aff. galbana* استفاده شد. در تیمارهای دوم، سوم و چهارم، از ترکیب دو

گونه ریزجلبک پرورش داده شده به ترتیب به نسبت ۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد از گونه *I. aff galbana* و ۳۰، ۵۰ و ۷۰ درصد از گونه *C. calcitrans* استفاده شد. در تیمار پنجم به طور کامل از گونه *C. calcitrans* به منظور تغذیه نمونه‌ها استفاده گردید. جهت تغذیه صدفچه‌ها با ریزجلبک‌های پرورش یافته، محیط پرورش ریزجلبک به نحوی به تیمارها اضافه گردید تا تراکم نهایی آن در هر تیمار ۵۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر باشد. میزان تراکم ریزجلبکی مورد تغذیه صدفچه‌ها با استفاده از رابطه زیر ارزیابی گردید:

$$V_a = V_t (C_d - C_r) / (C_a - C_r)$$

که در آن V_a حجم ریزجلبک مورد نیاز، V_t حجم ریزجلبک موجود در مخازن تیمار، C_d تراکم مورد نظر ریزجلبک، C_r تراکم ریزجلبک باقیمانده در مخازن تیمار و C_a تراکم ریزجلبک که باید به مخازن تیمار اضافه گردد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد

نمونه برداری هر ۱۵ روز یک بار از هر تیمار صورت گرفت. به منظور ارزیابی پارامترهای رشد در هر تیمار، طول کل، طول پاشنه و ضخامت با استفاده از کولیس با دقت ۰/۱ میلی متر اندازه‌گیری شد.

میزان بقای صدفچه‌های هر تیمار نیز با شمارش تعداد صدفچه‌ها در هر تیمار و به کمک فرمول زیر به دست آمد:

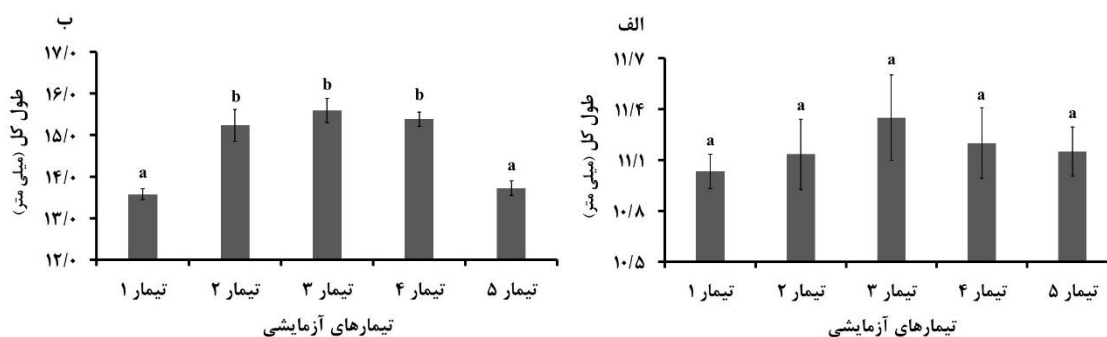
$$\text{میزان بقاء (درصد)} = (\text{تعداد صدفچه در زمان مشخص} \div \text{تعداد صدفچه ذخیره سازی شده}) \times 100$$

آنالیز آماری

در ابتدا تمام داده‌های حاصل، از نظر نرمال بودن با استفاده از آزمون شاپیروویلیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. در صورتی که داده‌ها شروط آزمون پارامتریک را دارا بودند، مقایسه بین تیمارها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تفریقی دانکن صورت گرفت. در غیر این صورت از آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس و مان ویتنی استفاده شد. جهت مقایسه میانگین تیمارها سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. تمام مقادیر به صورت میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شد (Zar, 2010).

نتایج

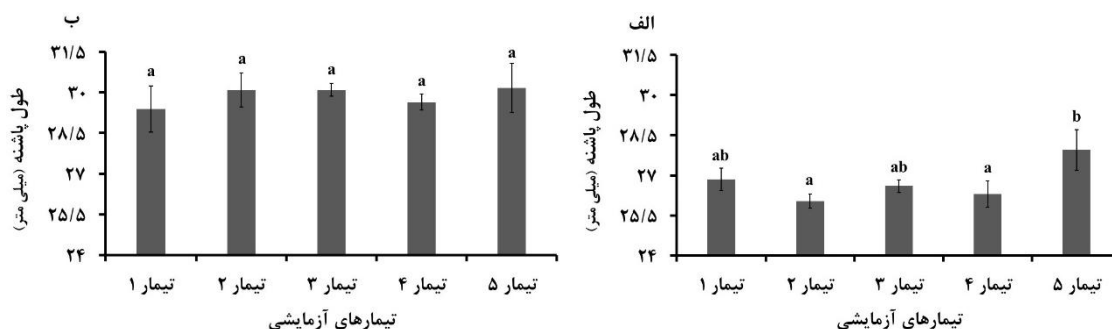
میانگین طول کل (میلی‌متر) در صدفچه صدف مرواریدساز زنی که از دو گونه ریزجلبک *I. aff galbana* و *C. calcitrans* با نسبت‌های مختلف تغذیه نمودند، در شروع و پایان آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. میانگین طول کل صدفچه صدف مرواریدساز زنی تغذیه شده با تیمارهای مختلف رژیم غذایی در شروع (الف) و پایان آزمایش (ب)؛ حروف متفاوت در بالای هر ستون نمایانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. تیمار اول (*I. aff galbana*)؛ تیمار دوم (۷۰ درصد *I. aff galbana* و ۳۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار سوم (۵۰ درصد *I. aff galbana* و ۵۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار چهارم (۳۰ درصد *I. aff galbana* و ۷۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار پنجم (*C. calcitrans*)

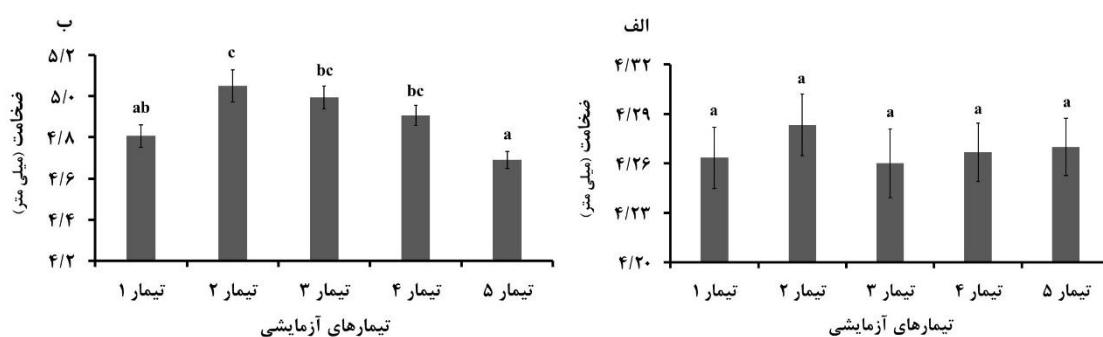
میانگین طول کل صدفچه‌های مورد بررسی شده در پایان آزمایش نشان داد که رشد صدفچه در تیمارهای یک و پنج با سایر تیمارهای آزمایش از نظر آماری اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) و کمترین میانگین رشد به دست آمده در این تیمارها ثبت شد.

از نظر میانگین طول پاشنه در صدفچه‌های تغذیه شده با رژیم‌های غذایی متفاوت، در پایان آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت ($P > 0.05$) (شکل ۲).



شکل ۲. میانگین طول پاشنه صدفچه صدف مرواریدساز زنی تغذیه شده با تیمارهای مختلف رژیم غذایی در شروع (الف) و پایان آزمایش (ب)؛ حروف متفاوت در بالای هر ستون نمایانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. تیمار اول (*I. aff galbana*)؛ تیمار دوم (۷۰ درصد *I. aff galbana* و ۳۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار سوم (۵۰ درصد *I. aff galbana* و ۵۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار چهارم (۳۰ درصد *I. aff galbana* و ۷۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار پنجم (*C. calcitrans*)

با توجه به شکل ۳، نتایج آماری روند تغییرات مربوط به میانگین ضخامت صدفچه‌های مورد بررسی شده نشان داد که رشد صدفچه در پایان آزمایش تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف نشان داد ($P < 0.05$) به نحوی که در تیمارهای دو، سه و چهار این مقدار به طور معنی‌دار بیشتر از میانگین تیمار پنج بود ($P < 0.05$)، هر چند دو تیمار سه و چهار با تیمار یک تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) و تنها تیمار دو به طور معنی‌دار میانگین بیشتری را از تیمار یک نشان داد ($P < 0.05$).



شکل ۳. میانگین رشد ضخامت صدفچه صدف مرواریدساز زنی تغذیه شده با تیمارهای مختلف رژیم غذایی در شروع (الف) و پایان آزمایش (ب)؛ حروف متفاوت در بالای هر ستون نمایانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد. تیمار اول (*I. aff galbana*)؛ تیمار دوم (۷۰ درصد *I. aff galbana* و ۳۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار سوم (۵۰ درصد *I. aff galbana* و ۵۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار چهارم (۳۰ درصد *I. aff galbana* و ۷۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار پنجم (*C. calcitrans*)

جدول ۲. میانگین بازماندگی صدفچه صدف مرواریدساز زنی تغذیه شده با تیمارهای مختلف رژیم غذایی

تیمارهای تغذیه‌ای*	تراکم ابتدایی	تراکم پایانی	میزان بقاء (درصد)
تیمار اول	۳۰	۲۷	^a ۹۰
تیمار دوم	۳۰	۲۸	^a ۹۳/۳
تیمار سوم	۳۰	۲۸	^a ۹۳/۳
تیمار چهارم	۳۰	۲۸	^a ۹۳/۳
تیمار پنجم	۳۰	۲۶	^a ۸۶/۶

* تیمار اول (*I. aff galbana*)؛ تیمار دوم (۷۰ درصد *I. aff galbana* و ۳۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار سوم (۵۰ درصد *I. aff galbana* و ۵۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار چهارم (۳۰ درصد *I. aff galbana* و ۷۰ درصد *C. calcitrans*)؛ تیمار پنجم (*C. calcitrans*).

بر اساس جدول شماره ۲، نتایج آماری نشان داد که بازماندگی صدفچه های صدف مرواریدساز زنی در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشته است ($P > 0.05$).

بحث

در این مطالعه عملکرد رشد در صدفچه صدف مرواریدساز زنی در تیمارهای غذایی متشکل از دو ریزجلبک *I. aff galbana* و *C. calcitrans* در مقایسه با تیمارهایی که با هر یک از این دو ریزجلبک به تنهایی تغذیه شدند، بیشتر بود. نتایج حاصل بیانگر این مورد است که فاکتورهای مختلفی می‌تواند بر عملکرد رشد در صدفچه مروارید ساز زنی تاثیر گذار باشد. یکی از این عوامل موثر ترکیبات بیوشیمیایی موجود در مواد غذایی است. از آنجاییکه ریزجلبک‌ها دارای مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع شامل آراشیدونیک اسید، ایکوزاپنتانویک اسید و دیکوزاهگزانویک اسید هستند، به طور گسترده در مراکز تکثیر ماهیان دریایی، میگو و صدف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Brown et al., 1997). گونه های مختلف ریزجلبک از نظر ترکیبات مغذی دارای تفاوت‌های بسیاری با یکدیگر می‌باشند. دو ریزجلبک *I. aff galbana* و *C. calcitrans* از نظر دو اسید چرب غیراشباع ایکوزاپنتانویک اسید و دیکوزاهگزانویک اسید تفاوت زیادی با هم دارند، به طوری که ریزجلبک *I. aff galbana* تقریباً بیش از ۲۴ برابر بیشتر از ریزجلبک *C. calcitrans* دارای اسید چرب غیراشباع ایکوزاپنتانویک اسید است و ریزجلبک *C. calcitrans* حدود ۱۷ برابر بیش از *I. aff galbana* دارای مقادیر دیکوزاهگزانویک اسید می‌باشد (Napolitano et al., 1990). با توجه به تفاوت معنی دار بین ارزش غذایی این دو ریزجلبک از نقطه نظر اسیدهای چرب غیراشباع، احتمالاً تفاوت در میزان رشد و عملکرد آن در صدفچه های صدف مرواریدساز زنی مرتبط با این ترکیبات می‌تواند باشد. در تحقیقی که بر روی صدف *Pictata margaritifera* صورت گرفت، عملکرد رشد بعد از تغذیه صدف‌ها با ۱۰ نوع ریزجلبک متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که صدف های تغذیه شده با ریزجلبک های *Isochrysis sp.*، *Pavlova salina*، *Pavlova sp.* و *C. muelleri* به مراتب بیشترین رشد را نشان دادند. همچنین میزان رشد با هر یک از دو اسید چرب غیراشباع ایکوزاپنتانویک اسید و دیکوزاهگزانویک اسید به تنهایی فاقد رابطه معنی دار بود، اما با مجموع این دو اسید چرب ارتباط معنی داری را نشان داد (Martínez-Fernández et al., 2006). در تحقیق حاضر نیز عملکرد رشد در صدفچه های صدف مرواریدساز زنی در صورت تغذیه با هر یک از دو ریزجلبک مورد استفاده به مراتب کمتر از استفاده از ترکیب هر دو گونه ریزجلبک بود که نتایج تایید کننده اثر مثبت استفاده توأم این دو ماده مغذی بر رشد این صدف مروارید ساز می‌باشد.

در مطالعه دیگری که بر روی صدف *Crassostrea gigas* صورت گرفت، میزان شدت رشد در صدف هایی که با *C. calcitrans* و *Isochrysis sp.* تغذیه شده بودند بیش از صدف های تغذیه شده با ریزجلبک *Pavlova pinguis* بود. همچنین در این تحقیق

صدف‌هایی که با *Dunaliella tertiolecta* تغذیه شده بودند به مراتب رشد کمتری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. ریزجلبک *D. tertiolecta* از نظر اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید و دیکوزا‌هگزانوئیک اسید بسیار فقیر می باشد و احتمالاً رشد کم در صدف های تغذیه شده با این ریزجلبک به دلیل عدم تامین نیازهای زیستی به اسیدهای چرب غیراشباع از طریق تغذیه بوده است (McCausland et al., 1999).

معمولاً رژیم های غذایی متشکل از چند گونه ریزجلبک، رشد بهتری را در دوکفه ای‌ها در مقایسه با تغذیه از رژیم های تک گونه‌ای باعث می شود (Pettersen et al., 2010). یکی از مزایای این رژیم های متشکل از چند گونه ریزجلبکی، تامین متعادل مواد مغذی و ضروری مورد نیاز رشد و تکامل بدن خصوصاً اسیدهای چرب غیراشباع است (Ronquillo et al., 2012). تغذیه لاروهای صدف *Pecten maximus* با چهارگونه ریزجلبک به طور جداگانه نشان داد که در رژیم های مختلف تغذیه ای، سطوح اسیدهای چرب غیراشباع با هم تفاوت معنی داری را نشان می دهد. در این تحقیق که از چهار گونه ریزجلبک *I. sp.*، *P. lutheri*، *C. calcitrans* و *D. tertiolecta* استفاده شد، بیشترین سطوح کل اسیدهای چرب غیراشباع در صدف هایی مشاهده شد که از دو ریزجلبک *C. calcitrans* و *I. sp.* تغذیه می کردند (Delaunay et al., 1993).

با توجه به موارد ذکر شده، به منظور پرورش صدفچه های صدف مرواریدساز زنی استفاده از ترکیب دو گونه ریزجلبک *I. aff. galbana* و *C. calcitrans* پیشنهاد می گردد. از نظر عملکرد رشد صدفچه ها، تفاوتی بین نسبت ترکیبی بین این دو گونه ریزجلبک دیده نشد و بازماندگی نیز بین تمام گروه ها یکسان بود.

منابع

- Benemann, J.R. 1992. Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Phycology*. 4(3): 233-245.
- Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151(1-4): 315-331.
- Caers, M., Coutteau, P., Lombeida, P., Sorgeloos, P. 1998. The effect of lipid supplementation on growth and fatty acid composition of *Tapes philippinarum* spat. *Aquaculture*. 162(3-4): 287-299.
- Delaunay, F., Marty, Y., Moal, J., Samain, J.F. 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 173(2): 163-179.
- Doroudi, M., Southgate, P.C., Lucas, J. 2003. Variation in clearance and ingestion rates by larvae of the black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) feeding on various microalgae. *Aquaculture Nutrition*. 9(1): 11-16.
- Knauer, J., Southgate, P.C. 1999. A review of the nutritional requirements of bivalves and the development of alternative and artificial diets for bivalve aquaculture. *Reviews in Fisheries Science*. 7(3-4): 241-280.
- Martínez-Fernández, E., Acosta-Salmón, H., Rangel-Dávalos, C. 2004. Ingestion and digestion of 10 species of microalgae by winged pearl oyster *Pteria sterna* (Gould, 1851) larvae. *Aquaculture*. 230(1-4): 417-423.
- Martínez-Fernández, E., Acosta-Salmón, H., Southgate, P.C. 2006. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, L.) larvae. *Aquaculture*. 257(1-4): 491-503.
- McCausland, M.A., Brown, M.R., Barrett, S.M., Diemar, J.A., Heasman, M.P. 1999. Evaluation of live microalgae and microalgal pastes as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*. 174(3-4): 323-342.
- Milke, L.M., Bricelj, V.M., Parrish, C.C. 2008. Biochemical characterization and nutritional value of three *Pavlova spp.* in unialgal and mixed diets with *Chaetoceros muelleri* for postlarval sea scallops, *Placopecten magellanicus*. *Aquaculture*. 276(1-4): 130-142.

- Napolitano, G.E., Ackman, R.G., Ratnayake, W.M.N. 1990. Fatty Acid Composition of Three Cultured Algal Species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) Used as Food for Bivalve Larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*. 21(2): 122-130.
- Pettersen, A.K., Turchini, G.M., Jahangard, S., Ingram, B.A., Sherman, C.D.H. 2010. Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae. *Aquaculture*. 309(1-4): 115-124.
- Richmond, A. 2008. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*, John Wiley & Sons. 566 p.
- Ronquillo, J.D., Fraser, J., McConkey, A.J. 2012. Effect of mixed microalgal diets on growth and polyunsaturated fatty acid profile of European oyster (*Ostrea edulis*) juveniles. *Aquaculture*. 360-361: 64-68.
- Volkman, J., Jeffrey, S., Nichols, P., Rogers, G., Garland, C. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 128(3): 219-240.
- Zar, J.H. 2010. *Biostatistical analysis*. Fifth edition. Upper Saddle River, New Jersey, Pearson Prentice Hall. 947 p.