



## متمامورفوز لارو کشتی چسب *Amphibalanus amphitrite* تحت رژیم‌های غذایی تک جلبکی و ترکیبی

شهریار زمانی<sup>۱</sup>، علی نصرالهی<sup>۲\*</sup>، مرتضی یوسف‌زادی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

<sup>۲</sup>گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

### نوع مقاله:

پژوهشی

### تاریخچه مقاله:

دریافت: ۹۲/۱۲/۸

اصلاح: ۹۳/۰۵/۱۷

پذیرش: ۹۳/۰۵/۲۵

### کلمات کلیدی:

سیپریس

کشتی چسب

ناپلیوس

### چکیده

کشتی چسب‌ها از موجودات غالب گروه ماکروفولینگ‌ها (macrofouling) هستند که در نواحی بین جزرومدی سراسر جهان یافت می‌شوند. در این مطالعه، اثرات تغذیه‌ی جلبکی با استفاده از گونه‌های *Tetraselmis suecica*، *Isochrysis galbana*، *Ch. muelleri*، *Chaetoceros calcitrans* و *Chlorella vulgaris* به صورت تک جلبکی و ترکیبی بر روی میزان متمامورفوز لارو کشتی چسب *Amphibalanus amphitrite* مورد بررسی قرار گرفت. لاروهای گرفته شده از کشتی چسب‌های بالغ در ظروف ۶ خانه‌ای کشت داده شد و روزانه توسط جلبک با غلظت  $2 \times 10^5$  (سلول/ میلی لیتر) مورد تغذیه قرار گرفتند. نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان متمامورفوز در لاروهای پرورش یافته با جلبک‌های مختلف وجود دارد ( $p < 0.05$ ). لاروهای تغذیه شده با رژیم غذایی تک جلبکی (به جز *T. suecica*) و غذای ترکیبی در ۵ روز به مرحله سیپریس رسیدند، درحالی‌که لاروهای تغذیه شده با *T. suecica* در ۶ روز به این مرحله رسیدند. بیشترین درصد متمامورفوز در لاروهای تغذیه شده با غذای ترکیبی *Ch. calcitrans* و *T. suecica* مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که تغذیه ترکیبی و مخصوصاً در حضور دیاتومه‌ها باعث کوتاه‌تر شدن دوره ناپلیوسی و افزایش درصد متمامورفوز ناپلیوس‌ها و تبدیل آن‌ها به لارو سیپرید می‌شود.

### مقدمه

کشتی چسب‌ها از غالب‌ترین موجودات فولینگ می‌باشند که دارای پراکنش جهانی بوده و با زندگی به صورت ساکن و چسبیده سازش یافته‌اند (Marechal and Hellio, 2011). چرخه‌ی زندگی کشتی چسب‌ها شامل دو بخش پلانکتونی و بنتیکی است. بخش پلانکتونی خود شامل شش مرحله لاروی ناپلیوسی و یک مرحله لاروی سیپریسی است. لاروها به جز مرحله I ناپلیوسی و مرحله سیپریس پلانکتون‌خوار هستند (Anderson, 1994). لارو ناپلیوس کشتی چسب آزادانه در آب شنا می‌کند که با متمامورفوز به لارو دیگری موسوم به سیپرید تبدیل شده و سپس با متمامورفوز بعد از استقرار به صورت یک فرد جوان بر روی سطح مستقر می‌شود (Shahdadi et al., 2014). کشتی چسب‌ها به عنوان یک مدل زیستی گسترده و در دسترس، برای ارزیابی فعالیت‌های آنتی‌فولینگی از منابع طبیعی به خصوص منابع دریایی به شمار می‌روند (Marechal and Hellio, 2011).

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: [a\\_nasrolahi@sbu.ac.ir](mailto:a_nasrolahi@sbu.ac.ir)

از آنجاکه لارو کشتی چسب‌ها مدلی مناسب برای مطالعات آنتی‌فولینگ هستند و همچنین کشت و پرورش آنها در آزمایشگاه آسان است، از این موجودات به طور گسترده‌ای در تحقیقات علمی استفاده می‌شود. در هر صورت به دست آوردن شرایط بهینه آزمایشگاهی برای رشد و پرورش لارو کشتی چسب‌ها نیازمند آزمایشات متعدد مخصوصاً در شرایط خاص محلی برای آن گونه است. شرایط بهینه منجر به ایجاد بقا و رشد کافی و همچنین تولید سپرید بیشتر و با کیفیت بالاتر می‌شود (Nasrolahi *et al.*, 2007; Anil and Kurian, 1996; Moyse, 1936). بقا و رشد لاروها به عوامل متعددی نظیر دما، شوری و دسترسی غذایی وابسته است (Desai and Anil, 2004). مطالعات آزمایشگاهی بر روی لارو بی‌مهره‌گان دریایی نشان داده که دسترسی به مواد غذایی و همچنین نوع ماده غذایی از مهمترین عوامل بقا و رشد لاروی است (Hemaiswarya *et al.*, 2011; Desai and Anil, 2002; Dinet *et al.*, 1991).

با استناد به مقالات ثبت شده بین سال‌های ۱۹۸۴ تا ۲۰۱۱، دو گونه کشتی چسپ *Amphibalanus amphitrite* و *A. improvisus* به عنوان دو مدل پرکاربرد در مطالعات آنتی‌فولینگ می‌باشند (Holm, 2012). *A. amphitrite* به طور گسترده‌ای در خطوط ساحلی و مصب‌های نواحی گرمسیری و آب‌های سراسر جهان پراکنده شده است. این گونه حتی قادر است در آب‌های سردتر از ۱۲ درجه سانتی‌گراد زندگی کند، اما در آب‌های سردتر از ۱۸-۱۵ درجه سانتی‌گراد معمولاً تولیدمثل انجام نمی‌دهد (Marechal and Hellio, 2011). این گونه همچنین از نمونه‌های غالب و رایج سواحل خلیج فارس و دریای عمان است که با فراوانی بالا در سطوح میانی تا بالایی منطقه‌ی بین جزر و مدی روی بسترهای مختلف به خصوص صخره‌ها و اسکله‌ها مشاهده می‌شود (Shahdadi *et al.*, 2014).

با توجه به اینکه تحقیقات آنتی‌فولینگ در ایران در مراحل اولیه است، به دست آوردن شرایط بهینه کشت آزمایشگاهی کشتی چسب‌ها امری ضروری می‌باشد. بنابراین در این مطالعه، اثرات تغذیه‌ی جلبکی با استفاده از گونه‌های مختلف به صورت تک جلبکی و ترکیبی بر روی میزان متموفوز لارو کشتی چسپ *A. amphitrite* مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### کشت میکروجلبک‌ها

استوک خالص میکروجلبک‌های *Cha. muelleri*، *Chaetoceros calcitrans*، *Tetraselmis suecica*، *Isochrysis galbana* و *Chlorella vulgaris* در محیط کشت f2 کشت داده شد. ابتدا آب دریا با شوری ppt ۳۵ تهیه و فیلتر شد. سپس آب به ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل و اتوکلاو شد و در نهایت در معرض اشعه UV قرار داده شد. پس از سرد شدن آب دریا و رسیدن به دمای اتاق، استوک میکروجلبک به آن اضافه شده و هوادهی به صورت مداوم انجام گرفت. میکروجلبک‌های کشت داده شده در دمای  $27 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند تا به غلظت مناسب برسند.

### نمونه برداری و تهیه لارو کشتی چسب‌ها

کشتی چسپ *A. amphitrite* از خانواده Balanoidae در زمان بیشینه جزر از سواحل بندرعباس جمع‌آوری و به همراه آب دریا به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه و حذف سایر گونه‌های بیوفولینگ، به خوبی با آب دریا تمیز شدند. کشتی چسب‌ها سپس در ظرف‌های حاوی ۲ لیتر آب دریا با شوری ppt ۳۵ و دمای  $27 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری و روزانه به وسیله ناپلیوس آرتمیا با غلظت ۷ ناپلیوس در میلی‌لیتر تغذیه شدند (Piazza *et al.*, 2011; Nasrolahi *et al.*, 2007).

## رژیم غذایی جلبکی

برای بررسی اثر تغذیه جلبکی بر درصد موفقیت متامورفوز و زمان رسیدن لاروها به مرحله سیپریس، ۱۵ نوع رژیم غذایی شامل ۵ نوع تغذیه تک جلبکی و ۱۰ نوع تغذیه ترکیبی (ترکیب دو گونه با حجم یکسان) استفاده شد (جدول ۱). ناپلیوس‌های مرحله‌ی دوم توسط نور جمع‌آوری شده و به ظروف استریل کشت بافت ۶ خانه‌ای (Six-well plate) منتقل شد. به هر کدام از خانه‌ها ۸ میلی‌لیتر آب دریا فیلتر و استریل شده حاوی رژیم غذایی مورد نظر با غلظت  $2 \times 10^5$  سلول در میلی‌لیتر اضافه شد. سپس به هر خانه ۱۰ عدد لارو ناپلیوس مرحله دوم اضافه شد. آب هر خانه به صورت روزانه با آب تازه و غذای مورد نظر تعویض شد. هر ۲۴ ساعت یک بار وضعیت لاروها از نظر مرگ و میر، زمان و درصد رسیدن لاروها به مرحله سیپریس مورد ارزیابی قرار گرفت (Nasrolahi et al., 2007). در نهایت درصد موفقیت متامورفوز از ناپلیوس به سیپریس پس از گذشت ۷ روز از شروع آزمایش محاسبه شد.

جدول ۱. رژیم‌های غذایی مورد بررسی به صورت تک جلبکی و ترکیبی

شماره	رژیم غذایی جلبکی	شماره	رژیم غذایی جلبکی	شماره	رژیم غذایی جلبکی
۱	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	۶	<i>Cha. calcitrans</i> و <i>Cha. muelleri</i>	۱۱	<i>Cha. muelleri</i> و <i>T. suecica</i>
۲	<i>Chaetoceros muelleri</i>	۷	<i>Cha. calcitrans</i> و <i>I. galbana</i>	۱۲	<i>Cha. muelleri</i> و <i>Chl. vulgaris</i>
۳	<i>Isochrysis galbana</i>	۸	<i>Cha. calcitrans</i> و <i>T. suecica</i>	۱۳	<i>I. galbana</i> و <i>T. suecica</i>
۴	<i>Tetraselmis suecica</i>	۹	<i>Cha. calcitrans</i> و <i>Chl. vulgaris</i>	۱۴	<i>I. galbana</i> و <i>Chl. vulgaris</i>
۵	<i>Chlorella vulgaris</i>	۱۰	<i>Cha. muelleri</i> و <i>I. galbana</i>	۱۵	<i>T. suecica</i> و <i>Chl. vulgaris</i>

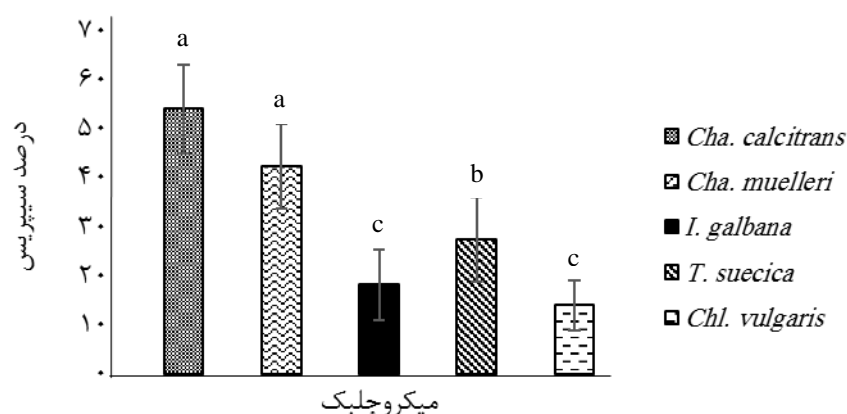
## آنالیز آماری

برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excell (Microsoft Office 2013) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نیز با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics 22 انجام گرفت. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از تست Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. اثر رژیم غذایی بر متامورفوز لاروها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) بررسی و میانگین داده‌ها توسط آزمون Tukey مقایسه شد.

## نتایج

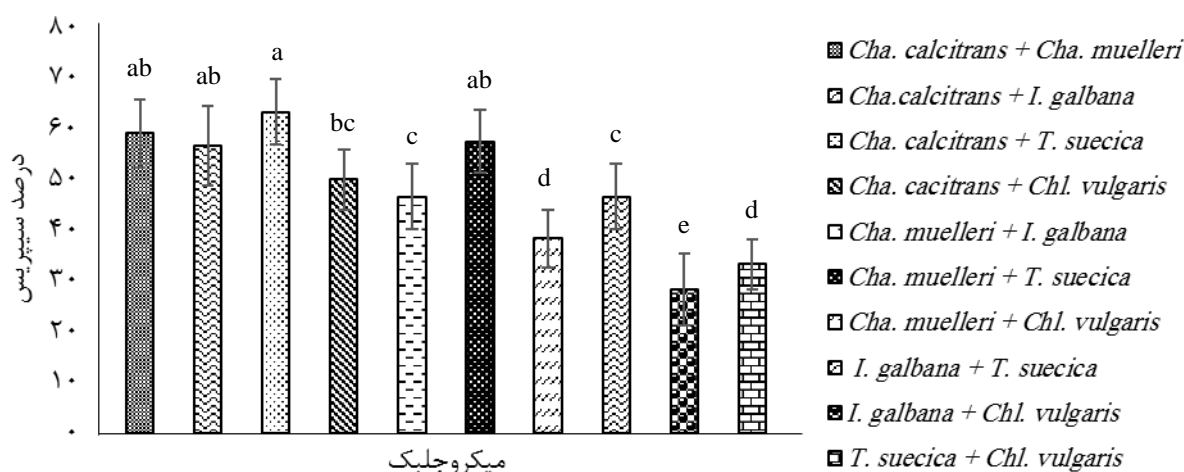
در کشت لارو کشتی چسپ *A. amphitrite* با تغذیه تک جلبکی (به جز گونه‌ی *T. suecica*) و همچنین تغذیه‌ی ترکیبی، لاروها پس از ۵ روز به مرحله‌ی سیپریس رسیدند، اما در تغذیه توسط *T. suecica* لاروها پس از ۶ روز به مرحله‌ی سیپریس رسیدند.

نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین متامورفوز در لاروهای پرورش یافته با جلبک‌های مختلف وجود دارد ( $p < 0.05$ ). در تغذیه‌ی تک جلبکی پس از ۷ روز از شروع آزمایش، بیش‌ترین درصد متامورفوز به مرحله‌ی سیپریس با استفاده از *Cha. calcitrans* (۵۴/۱۷ درصد) مشاهده شد و پس از آن *Cha. muelleri*، *T. suecica*، *I. galbana* و *Chl. vulgaris* (به ترتیب با ۴۲/۵، ۲۷/۵، ۱۸/۳۳ و ۱۴/۱۴ درصد) بیش‌ترین درصد متامورفوز را داشتند (شکل ۱).



شکل ۱. درصد رسیدن لارو ناپلیوس به سیپریس تحت تاثیر رژیم غذایی تک جلبکی پس از هفت روز. آنتنک‌ها نشان دهنده‌ی انحراف معیار است (حروف غیر همنام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد،  $p < 0.05$ ).

نتایج تغذیه ترکیبی نشان داد که موفقیت لاروها برای رسیدن به مرحله‌ی سیپریس نسبت به رژیم غذایی تک جلبکی بیشتر است. تغذیه ناپلیوس‌ها با استفاده از ترکیب دو گونه‌ی *Cha. calcitrans* و *T. suecica* منجر به بیش‌ترین درصد تمام‌ورفوز و رسیدن به مرحله‌ی سیپریس شد (۶۳/۳۳٪). همچنین تغذیه با ترکیب دو گونه‌ی *I. galbana* و *Chl. vulgaris* کم‌ترین موفقیت در رسیدن به مرحله‌ی سیپریس را داشت (۲۸/۳۳٪) (شکل ۲).



شکل ۲. درصد رسیدن به سیپریس تحت تاثیر رژیم غذایی ترکیبی پس از هفت روز. آنتنک‌ها نشان دهنده‌ی انحراف معیار است (حروف غیر همنام نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد،  $p < 0.05$ ).

## بحث

رژیم غذایی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار بر بقا، رشد و تمام‌ورفوز لاروها است. رژیم غذایی نامناسب سبب طولانی‌تر شدن مراحل لاروی و عدم توانایی لاروها در تمام‌ورفوز و در نهایت از بین رفتن آن‌ها می‌گردد. مناسب بودن یک میکرو جلبک به عنوان غذا برای بی‌مهرگان دریایی به ارزش غذایی آن بستگی دارد (Nasrolahi et al., 2007). عوامل متعددی بر ارزش غذایی میکرو جلبک‌ها مؤثر است که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به اندازه، شکل، قابلیت هضم میکرو جلبک، ترکیب بیوشیمیایی آن

و همچنین توانایی تغذیه جانور از میکروجلبک اشاره کرد. گونه‌های مختلف میکروجلبکی از نظر ارزش غذایی دارای تفاوت‌های قابل توجهی هستند و بنابراین در موارد زیادی یک رژیم غذایی ترکیبی می‌تواند غذای مناسبی جهت تغذیه لاروهای موجودات دریایی باشد (Hemaiswarya et al., 2011). مقدار این مواد همچنین در محتوای انرژی سیپریس و کیفیت استقرار آن مؤثر است. انرژی کافی که از یک غذای مناسب کسب می‌شود بر بقا و به تبع آن بر رشد و متمامورفوز لارو مؤثر است. در نتیجه تفاوت در مقدار انرژی که از یک غذای جلبکی به دست می‌آید می‌تواند باعث تفاوت در رشد و بقای ناپلیوس گردد. با انجام متمامورفوز، بزرگ شدن و افزایش طول بدن، لاروها می‌توانند از غذاهای با اندازه‌ی بزرگتر نیز استفاده نمایند (Nasrolahi et al., 2007).

در این مطالعه درصد موفقیت متمامورفوز ناپلیوس کشتی چسب *A. amphitrite* به سیپرید تحت اثر گونه‌های مختلف میکروجلبکی به دو صورت واحد و ترکیبی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نتایج به طور کلی نشان داد که رژیم غذایی ترکیبی نسبت به رژیم غذایی تک جلبکی باعث ایجاد درصد بیشتری از متمامورفوز می‌شود. این میزان به طور متوسط ۵۱ درصد برای غذای ترکیبی و ۲۷ درصد برای غذای تک جلبکی به دست آمد. این نتایج با نتایج Nasrolahi و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی لارو گونه *A. improvisus* در دریای خزر انجام شد همسو می‌باشد. نتایج آنها نشان داد که تغذیه‌ی لاروها با استفاده از ترکیب دو *Cha. calcitrans* و *Chl. vulgaris* منجر به متمامورفوز لاروها به میزان ۷۰ درصد می‌شود. به نظر می‌رسد که ترکیب دو جلبک اثر هم‌افزایی مثبت در متمامورفوز لاروها دارد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دیاتومه‌های *Cha. calcitrans* و *Cha. muelleri* در بین میکروجلبک‌های مورد بررسی بیشترین موفقیت را به صورت رژیم تک جلبکی ایجاد کردند. این دو دیاتومه در حالت ترکیب با هم و یا در ترکیب با دیگر گونه‌ها نیز (به جز ترکیب *Cha. muelleri* و *Chl. vulgaris*) نتایج مثبتی نشان دادند. این دیاتومه‌ها به عنوان پرکاربردترین میکروجلبک‌ها در پرورش آبزیان، خصوصاً در پرورش میگو در نظر گرفته می‌شوند. *Cha. calcitrans* دارای انرژی حیاتی و مواد آلی از جمله اسیدهای چرب غیر اشباع برای رشد و گسترش لاروها و جمعیت‌های جوان موجودات دریایی است (Raghavan et al., 2008). این گونه همچنین در مزارع پرورش میگو جهت افزایش سطح ویتامین استفاده می‌شود (Hemaiswarya et al., 2011). گونه *Cha. calcitrans* به طور گسترده‌ای در پرورش نرم‌تنان و سخت‌پوستان استفاده می‌شود (Borowitzka, 1997).

در این مطالعه بهترین رژیم غذایی جهت کشت لارو کشتی چسب *A. amphitrite* ترکیب دو گونه میکروجلبک *Cha. calcitrans* و *T. suecica* به دست آمد. جنس *Tetraselmis* از میکروجلبک‌های دریایی است که دارای خواص ضدباکتریایی گسترده و همچنین محتوای زیادی از ویتامین E می‌باشد (Zittelli et al., 2006). این جلبک همچنین حاوی مقدار زیادی از اسیدهای آمینه‌ی طبیعی می‌باشد که سبب تحریک تغذیه در لاروها می‌گردد (Hemaiswarya et al., 2011). اگرچه این جلبک دارای میزان نسبتاً زیادی از لیپیدهاست (Rodolfi et al., 2008) اما محتوای اسیدچرب غیر اشباع آنان مخصوصاً در مقایسه با جنس *Chaetoceros* نسبتاً پایین است (Volkman et al., 1989). در مطالعه Laing و Verdugo (۱۹۹۱) نتایج نشان داد هنگامی که *T. suecica* به همراه *Cha. calcitrans* به کار رود، درصد رشد صدف‌های دوکفه‌ای و اویسترها بسیار بیشتر می‌گردد. در نتیجه استفاده از *T. suecica* به عنوان رژیم غذایی تک جلبکی برای پرورش لارو کشتی چسب‌ها پیشنهاد نمی‌شود. با این وجود این میکروجلبک می‌تواند به صورت ترکیبی با میکروجلبک‌های دیگر مفید باشد (Robert, 2001).

در بررسی انجام شده در این تحقیق، رژیم غذایی تک جلبکی *I. galbana* نتیجه‌ی چندان موفقیت آمیزی در پی نداشت. نتایج مشابه به دست آمده از تحقیق Phatarpekar و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد که این میکروجلبک نسبت به جنس *Chaetoceros* نرخ رشد و اسیدهای چرب غیراشباع پایین‌تری دارد و تنها در مراحل اولیه‌ی پروتوزوایی به علت اندازه‌ی کوچک آن کاربرد دارد و اغلب به صورت مخلوط با سایر میکروجلبک‌ها به کار می‌رود. بررسی‌ها همچنین نشان داده که در تغذیه‌ی لارو میگو *Litopenaeus Vannamei* با *I. galbana* علی‌رغم اندازه‌ی مناسب این میکروجلبک برای لاروها اما متوسط طول آن‌ها کمتر از هنگامی است که این میکروجلبک به صورت ترکیبی مورد استفاده لاروها قرار می‌گیرد (Borowitzka, 1997).

بررسی ما نشان داد که تغذیه‌ی لاروها با *Chl. vulgaris* در بین رژیم‌های تک جلبکی کمترین موفقیت را داشته است. البته تغذیه ترکیبی این میکروجلبک با میکروجلبک‌های دیگر مورد بررسی در این مطالعه میزان متامورفوز را در لاروها افزایش داد. این میکروجلبک علیرغم داشتن اندازه‌ی مناسبی که دارد، دارای محتوای اسید چرب بسیار کمی است (Hemaiswarya *et al.*, 2011). این میکروجلبک همچنین دارای مقداری اثرات سمی بر لارو کشتی چسب‌ها است (Nasrolahi *et al.*, 2007). بررسی‌های دیگر نیز نشان داده در غلظت‌های بالا این میکروجلبک بر لارو دوکفه‌ای‌ها دارای اثر سمیت است و حتی برای لارو برخی از گونه‌های اویسترها غیرقابل هضم است. *Chlorella* همچنین دارای دیواره‌ی ضخیم و تا حدی غیر قابل هضم است و در نتیجه به دلیل تأمین نشدن انرژی مورد نیاز برای رشد طبیعی نمی‌توان این رژیم غذایی را مناسب دانست (Vilchis and Voltolina, 2003).

میکروجلبک‌ها در دریا نقش مهمی در تغذیه‌ی مراحل لاروی ماهی‌ها و سخت‌پوستان، همه‌ی مراحل دوکفه‌ای‌ها و غذای زئوپلانکتون‌ها (روتیفرها، کوبه‌پوداها و میگوهای دریایی) دارند (Volkman *et al.*, 1989). این میکروجلبک‌ها در آبرزی پروری و همچنین در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی نیز می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. در انتخاب گونه میکروجلبکی برای این مقاصد تنها درک درست از ترکیبات بیوشیمیایی کافی نیست، بلکه قابلیت جذب و هضم این میکروجلبک‌ها توسط جانوران نیز باید در نظر گرفته شود (Borowitzka, 1997). به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از میکروجلبک‌ها به صورت ترکیبی مخصوصاً ترکیب گونه‌های دارای ارزش غذایی بالا می‌تواند اثر هم‌افزایی داشته و درصد موفقیت متامورفوز لاروی را افزایش دهد. از آنجا که گونه‌های مختلف میکروجلبکی دارای ارزش غذایی متفاوت بوده و همچنین لارو گونه‌های مختلف زئوپلانکتونی نیز جلبک‌های متفاوتی را ترجیح می‌دهند، به دست آوردن ترکیب و غلظت بهینه غذایی برای هر گونه مهم به صورت اختصاصی ضروری به نظر می‌رسد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات کلیه کارکنان آزمایشگاه سنجش آلودگی اداره کل محیط زیست استان هرمزگان که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را نمایند.

## منابع

- Anderson, D.T. 1994. Barnacles: structure, function, development and evolution. Chapman and Hall, London. 357 p.
- Anil, A.C., Kurian, J. 1996. Influence of food concentration, temperature and salinity on the larval development of *Balanus amphitrite*. Journal of Marine Biology. 127: 115-124.
- Borowitzka, M. A. 1997. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. Journal of Applied Phycology. 9: 393-401.
- Desai, D.V., Anil, A.C. 2002. Comparison of nutritional status of field and laboratory reared *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia: Thoracica) larvae and implication of starvation. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 280: 117-134.
- Desai, D.V., Anil, A.C. 2004. The impact of food type, temperature and starvation on larval development of *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia: Thoracica). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 306: 113-137.
- Dinet, M.J.C., Vaultot, D., Galois, R., Spano, A.M., Robert, R. 1991. Analysis of larval oyster grazing by flow cytometry. Journal of Shellfish Research. 10: 457-463.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Kumar, R.R., Ganesan, V., Anbazhagan, C. 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. World Journal of Microbiol Biotechnol. 27: 1737-1746.
- Holm, E.R. 2012. Barnacles and Biofouling. Journal of Integrative and Comparative Biology. 52: 348-55.
- Laing, I., Verdago, C.G. 1991. Nutritional value of spray-dried *Tetraselmis suecica* for juvenile bivalves. Journal of Aquaculture. 92: 207-218.

- Marechal, J.P., Hellio, C. 2011. Antifouling activity against barnacle cypris larvae: Do target species matter (*Amphibalanus amphitrite* versus *Semibalanus balanoides*)?. Journal of International Biodeterioration and Biodegradation Society. 65: 92-101.
- Moyse, J. 1936. A Comparison of the Value of Various Flagellates and Diatoms as Food for Barnacle Larvae. Journal of Marine Science. 28: 175-187.
- Nasrolahi, A., Sari, A., Saifabadi, S., Malek, M. 2007. Effects of algal diet on larval survival and growth of the barnacle *Amphibalanus (=Balanus) improvises*. Journal of the Marine Biological Association of the UK. 87: 1227-1233.
- Phatarpekar, P.V., Sreepada, R.A., Pednekar, Ch., Achuthankutty, C.T. 2000. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. Journal of Aquaculture. 181: 141-155.
- Piazza, V., Roussis, V., Garaventa, F., Greco, G., Smyrniotopoulos, V., Vagias, C., Faimali, M. 2011. Terpenes from the Red Alga *Sphaerococcus coronopifolius* inhibit the Settlement of Barnacles. Journal of Marine Biotechnology. 13: 764-772.
- Raghavan, G., Haridevi, C.K., Gopinathan, C.P. 2008. Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. Journal of Aquaculture Research. 39: 1053-1058.
- Robert, R., Parisi, G., Rodolfi, L., Poli, B.M., Tredici, M.R. 2001. Use of fresh and preserved *Tetraselmis suecica* for feeding *Crassostrea gigas* larvae. Journal of Aquaculture. 192: 333-346.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M.R. 2008. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Journal of Biotechnology and Bioengineering. 102: 100-112.
- Shahdadi, A., Sari, A., Naderloo, R. 2014. A checklist of the barnacles (Crustacea: Cirripedia: Thoracica) of the Persian Gulf and Gulf of Oman with nine new records. Journal of Zootaxa. 3784: 201-223.
- Vilchis, M.C.L., Voltolina, D. 2003. Growth and survival of *Artemia franciscana* (Kellogg) fed with *Chaetoceros muelleri* Lemmerman and *Chlorella capsulata* Guillard. Journal of Revista de Investigaciones Marinas. 24: 241-246.
- Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Nichols, P.D., Rogers, G.I., Garland, C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 128: 219-240.
- Zittelli, G.C., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M.R. 2006. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. Journal of Aquaculture. 261: 932-943.