پرورش سیکلوپئید پاروپای *Metacyclops gracilis* تغذیه شده با جلبک سبز *Scenedesmus quadricauda* در سطوح مختلف اکسیژن محلول

امیدوار فرهادیان
farhadyo@yahoo.com
دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان، صندوق پستی: ۸۳۱۱۱-۸٤۱٥٦
تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۰

چکیده

یکی از شرایط ضروری در پرورش زئوپلانکتونها بخصوص پاروپایان اکسیژن محلول آب است زیرا بر رشد و پارامترهای تولید مثلی آنها تاثیرات مهمی دارد. تاثیر غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول بر رشد و تولید سیکلوپئید پاروپای *Metacyclops gracilis* تغذیه شده با جلبک میکروسکوپی سبز *Scenedesmus quadricauda* در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. تیمارهای آزمایشی حاوی ۲، ۳، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر از اکسیژن محلول بود. نتایج نشان داد که میانگین کل تولید *M. gracilis* (ناپلیوس+ کپه‌پودید + بالغین) در اکسیژن محلول ۲، ۳، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر بترتیب ۳۶۶۶/۷، ۳۱۳۳/۳، ۳۶۰۰ و ۳۷۳۳/۳ فرد در هر لیتر بدست آمد که بترتیب تولید ناپلیوس ۱۵۳۳/۳، ۲۰۰۰، ۲۴۶۶/۷ و ۲۸۰۰ فرد در هر لیتر وتولید کپه‌پودید ۱۲۶۶/۷، ۶۶۶/۷، ۶۰۰ و ۶۰۰ فرد در هر لیتر بود. میزان رشد ویژه *M. gracilis* در دوره آزمایش ۰/۰۸۸، ۰/۰۸۲، ۰/۰۶۱ و ۰/۰۸۱ بر روز بترتیب در ۲، ۳، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول بدست آمد. اگرچه در مجموع این تحقیق نشان داد که رشد و تولید گونه *M. gracilis* در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول (۲ تا ۶ میلی‌گرم در لیتر) انجام می‌گیرد، اما در غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول جمعیت ناپلیوس‌ها و در غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر از اکسیژن محلول جمعیت افراد بالغ افزایش معنی‌داری داشت. این گونه می‌تواند بعنوان غذای زنده در پرورش لارو ماهی در صنعت آبزی‌پروری استفاده شود.

لغات کلیدی: آبزی‌پروری، زئوپلانکتها، کوپه‌پودید، غذای زنده

مقدمه

پاروپایان منبع با ارزشی از پروتئین‌ها، چربیها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشند. لذا آنها می‌توانند جایگزین مناسبی برای آرتمیا و غذاهای فرموله شده در آبزی‌پروری باشند (StØttrup, 2003).

پاروپایان به لحاظ فراوانی و پراکنش مناسب، اندازه متناسب با دهان لارو ماهیان، تکثیر ساده و پرورش مناسب و اقتصادی، ارزش غذایی بالا به لحاظ اسیدهای چرب اشباع نشده و ضروری بسیار با اهمیت هستند. بیشترین غذاهای زنده (live food) که بطور گسترده در صنعت آبزی‌پروری مورد استفاده قرار می‌گیرد ناپلیوس آرتمیا (*Artemia*) و روتیفر (*Brachionous plicatilis*) است. این دسته از غذاهای زنده برای مراحل آغازین تغذیه لارو ماهیان مورد استفاده قرار می‌گیرند. آرتمیا به لحاظ اندازه بزرگ و ارزش غذایی پایین و روتیفرها به لحاظ اندازه بسیار کوچک و ناپایدار بودن محیط کشت آنها در شرایط آزمایشگاهی، مشکل ساز هستند (Sorgeloos, 1980; Kovalenko *et al*., 2002). از این رو تحقیق برای طعمه مناسب دارای ارزش غذای بالا با اندازه مناسب و متنوع نگاه بسیاری از محققین را معطوف استفاده از زئوپلانکتونها نموده است. از مهمترین اعضای زئوپلانکتونها، پاروپایان می‌باشند. پاروپایان دارای ۶ مرحله ناپلیوس و ۶ مرحله کپه‌پودید است که در مرحله آخر بالغ می شوند. وجود اندازه‌های متفاوت در بسیاری از پاروپایان (۵۰ میکرون در ناپلیوس ۱ (NI) تا کمتر از ۱ میلیمتر در مرحله بلوغ) این زئوپلانکتونها را بعنوان طعمه‌های مناسب برای انواع لارو ماهیان تبدیل کرده است(Fernando, 2002). از سوی دیگر قابلیت دسترسی در طبیعت، سرعت تکثیر و تولید بالا، ارزش غذایی بسیار بالاتر از آرتمیا و روتیفر، قابلیت کشت ارزان و ساده آنها و تحمل بالای آنها به تغییرات دمایی، شوری، شدت نور، گرسنگی و دستکاری باعث شده تا از پاروپایان بعنوان یکی از مهمترین زئوپلانکتونهای در صنعت آبزی‌پروری، مطالعات بیولوژیکی و سم‌شناسی (Toxicology) مورد توجه قرار گیرد (Dehert, 1999; Fernando, 2002; Leger *et al*., 1986).

فاکتورهای محیطی از قبیل درجه حرارت، نور، شوری، میزان اکسیژن محلول و مقدار pH بر مراحل رشد پاروپایان تاثیرگذار می‌باشند (Zillioux, 1969; Abdullahi, 1990; Hsu, 1999). در این مطالعه رشد و پرورش پاروپای آب شیرین گونه *Metacyclops gracilis* در شرایط آزمایشگاهی با جلبک *Scenedesmus quadricauda* در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

جلبک سبز *S. quadricauda* با استفاده از محیط کشت BBM (bold's basal medium) براساس ترکیبات بیان شده توسط Nichols و Bold (۱۹۶۵) در فلاسک‌های ۲ لیتری کشت گردید. برداشت جلبک بعد از رسیدن به مرحله رشد سریع در روز ۱۰ پرورش صورت گرفت. شرایط پرورش این گونه جلبک شامل: دمای آب ۲۷ درجه سانتیگراد، آب شیرین فیلتر شده و اتوکلاوه شده، دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی، شدت نور میانگین (± انحراف استاندارد) ۵±۸۵ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، pH برابر ۶/۹ در آغاز رشد و اکسیژن محلول بالای ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. جهت برداشت و جمع‌آوری جلبکها از دستگاه سانتریفوژ (Centurion Scientific Ltd) در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه استفاده گردید. جلبک‌ها بعد از جمع‌آوری در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا برای تغذیه *M. gracilis* استفاده گردد. تعیین تراکم جلبک و کنترل میزان آن در دوره آزمایش، با استفاده از لام هموسایتومتری (۰/۲ میلی‌متر × ۰/۰۶۲۵ میلی‌مترمربع) و میکروسکوپ اینورت (مدل Ceti Belgium) براساس روش Martinez و Chakroff (۱۹۷۵) بعد از تثبیت نمونه‌ها در محلول لوگول ایدین (مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر در هر ۳ میلی‌لیتر نمونه) انجام شد.

ذخیره اولیه *M. gracilis* با جداسازی یک فرد ماده حاوی تخم (Gravid female) از این گونه (جمع‌آوری شده از استخرهای پرورش ماهی کرسگان – اصفهان) و قرار دادن در بشر آزمایشگاهی با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتری و غذادهی با جلبک *S. quadricauda* در تراکم $۵-۷ \times ۱۰^{۵}$ سلول در میلی‌لیتر با توجه به تراکم جمعیت در دوره پرورش انجام شد. بشرهای آزمایشی دارای گونه مورد مطالعه بطور دقیق و منظم با جمع‌آوری پوسته‌ها و غذاهای رسوب کرده و خورده نشده هر سه روز یکبار قبل از تغذیه مورد مراقبت و نگهداری ویژه قرار گرفت. نگهداری و غذادهی به مدت ۷۰ روز انجام شد تا جمعیت حدود ۱۰ بار تخم‌ریزی و تجدید نسل نمود و تراکم جمعیت *M. gracilis* به حدود ۵ پاروپا در هر میلی‌لیتر رسید.

در این مطالعه رشد و تولید پاروپای *M. gracilis* در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول ۲، ۳، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. آزمایش در بشرهای آزمایشگاهی ۳۰۰ میلی‌لیتری با میانگین (± انحراف استاندارد) تراکم اولیه ۲±۳۵ فرد پاروپای ماده حاوی تخم در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. تغذیه با جلبک سبز *S. quadricauda* با تراکم نسبتاً ثابت $۱۰^{۵} \times ۷-۵$ سلول در میلی‌لیتر با توجه به اندازه جمعیت انجام شد. تنظیم میزان اکسیژن از طریق قرار دادن لوله‌های هوادهی و تنظیم هواده و سنجش میزان اکسیژن برای چندین نوبت با اکسیژن متر (YSI 51, OH, USA) عملی شد و تلاش گردید که سطوح مختلف هوادهی را در غلظت اکسیژن مورد نظر تنظیم گردد.

میزان تولید جمعیت و رشد ویژه *M. gracilis* طی یک دوره ۱۵ روزه مورد تحقیق قرار گرفت. در روزهای آزمایش هر ظرف به فاصله دو روز یکبار مورد شمارش و مشاهده قرار می‌گرفت و افراد تشکیل دهنده جمعیت شامل: ناپلیوس، کپه‌پودید و بالغین از هم تفکیک و پس از شمارش برای محاسبه کل جمعیت و تراکم مورد استفاده قرار گرفت. شمارش با استفاده از ظرف باگاروف (Zooplankton Plate Chamber, Bogorov's Plate) با انتقال حجم معینی به درون آن در زیر لوپ آزمایشگاهی با بزرگنمایی ۳-۶ برای هر نمونه با ۳ تکرار انجام گرفت. شرایط آزمایشگاهی پرورش این پاروپا دمای متوسط (± انحراف استاندارد) ۱±۲۵ درجه سانتیگراد، دوره نوری یا فتوپریود ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (تنظیم شده با ساعت فرمان Fur Aussen-geeignet، مدل IP44، ساخت آلمان) و آب شیرین فیلتر و اتوکلاوه شده دارای سختی برابر با ۲۰± ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر از کربنات کلسیم بود.

میزان رشد ویژه (SGR) *M. gracilis* با استفاده از رابطه

$$SGR= (\ln N_2-\ln N_1)/\Delta t$$

محاسبه گردید که در آن N_2 جمعیت نهایی *M. gracilis* بعد از زمان t و جمعیت اولیه *M. gracilis* در آغاز معرفی به محیط کشت و Δt مدت زمان انجام آزمایش است (Omori & Ikeda, 1984). زمان دو برابر شدن (D_t) جمعیت *M. gracilis* با استفاده از رابطه:

$$D_t=\ln 2 /SGR$$

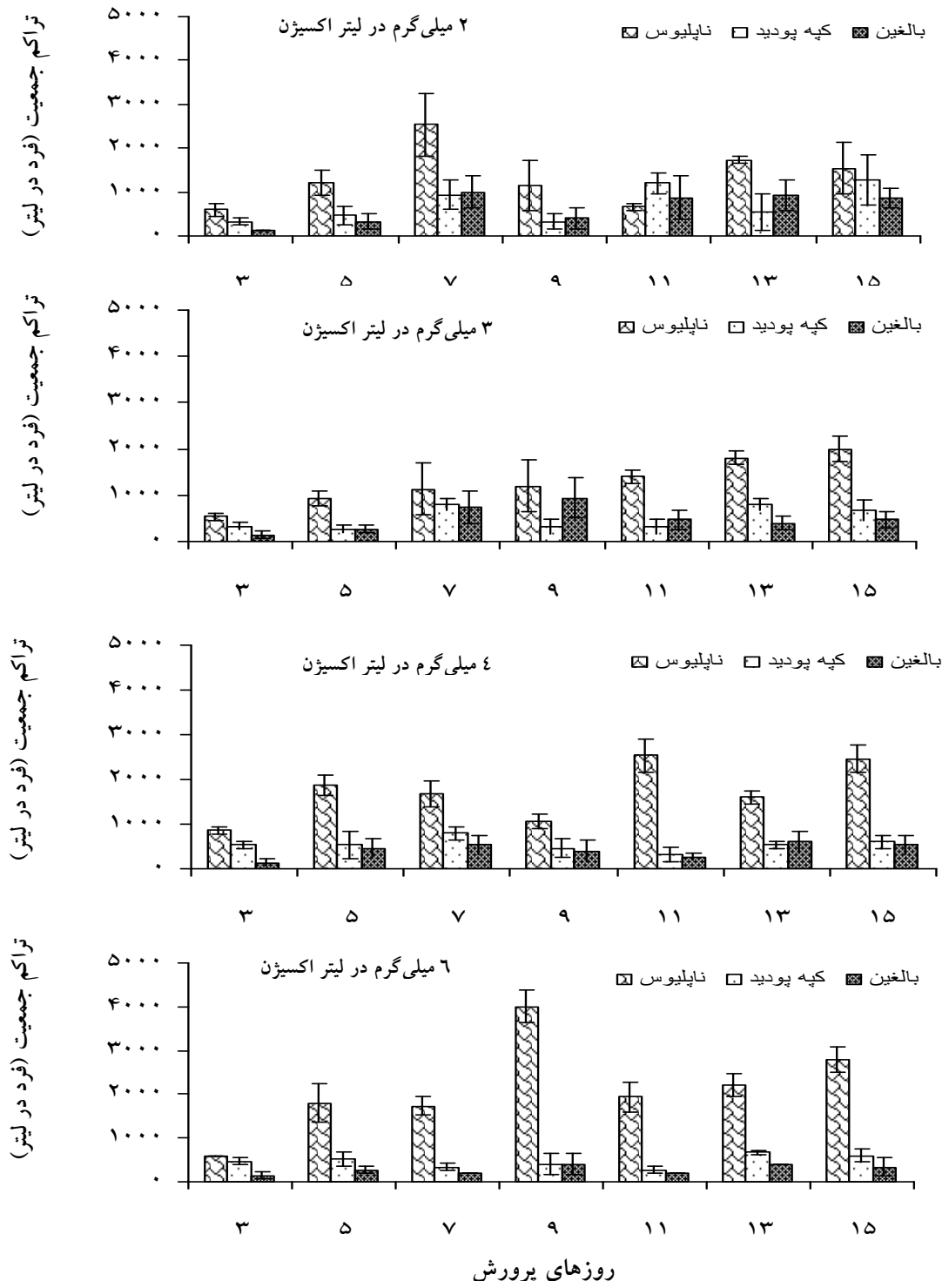
محاسبه گردید (James & Al-Khars, 1986).

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس (یکطرفه) مورد تجزیه آماری قرار گرفت. تفاوت موجود در بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن با هم مقایسه گردید. داده‌های بدست آمده از میزان رشد ویژه جمعیت ابتدا به ArcSin-square root تبدیل شده (Zar, 1984) و سپس آنالیز آماری با آنها انجام شد. تمام آنالیزها در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ با استفاده از SPSS انجام شد.

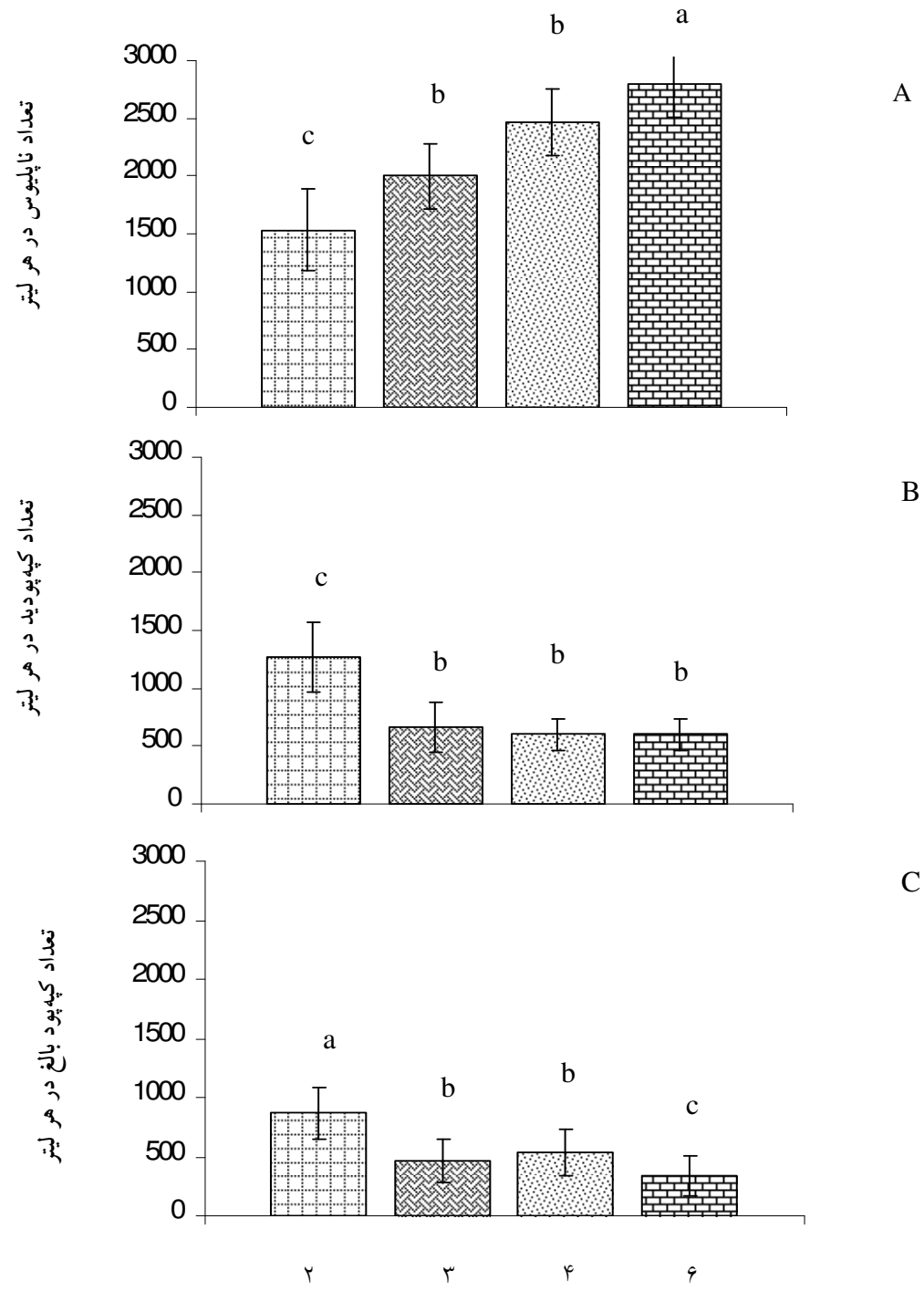
نتایج

تراکم کل جمعیت پاروپای *M. gracilis* (ناپلیوس + کپه‌پودید + بالغین) در روزهای مختلف پرورش در یک دوره ۱۵ روزه در غلظت‌های مختلف از اکسیژن محلول آب در نمودار ۱ ارائه شده است. مقایسه تولید جمعیت نشان دادکه تفاوت معنی‌داری در تراکم *M. gracilis* در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول وجود دارد (P<۰/۰۵). تولید پاروپای *M. gracilis* در غلظت‌های ۲، ۳، ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول بترتیب ۱۵۳۳/۳، ۲۰۰۰، ۲۴۶۶/۷ و ۲۸۰۰ ناپلیوس در هر لیتر (نمودار ۲A) ، ۱۲۶۶/۷، ۶۶۶/۷، ۶۰۰ و ۶۰۰ کپه‌پودید در هر لیتر (نمودار ۲B) و ۸۶۶/۷، ۴۶۶/۷، ۵۳۳/۳ و ۳۳۳/۳ فرد بالغ در هر لیتر بدست آمد (نمودار ۳C). نتایج بطور کلی نشان داد که در غلظت‌های نسبتاً بالای اکسیژن محلول (تیمارهای ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر) تولید افراد ناپلیوس و در غلظت‌های نسبتاً پایین اکسیژن محلول (تیمارهای ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) تولید افراد بالغ در جمعیت *M. gracilis* افزایش معنی‌داری می‌یابد (P<۰/۰۵).

بالاترین میزان کل تولید (۳۷۳۳/۳ فرد در لیتر) در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن بدست آمد که در مقایسه با تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن تفاوت معنی‌داری داشت (نمودار ۱، P<۰/۰۵). بالاترین میزان رشد ویژه (SGR) و کوتاهترین زمان دو برابر شدن جمعیت (Dt) در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول بترتیب ۰/۰۸۸ بر روز و ۷/۸۶ روز بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها، به استثنای تیمار ۴ میلی‌گرم در لیتر، نشان نداد (نمودار ۳ ، P>۰/۰۵).

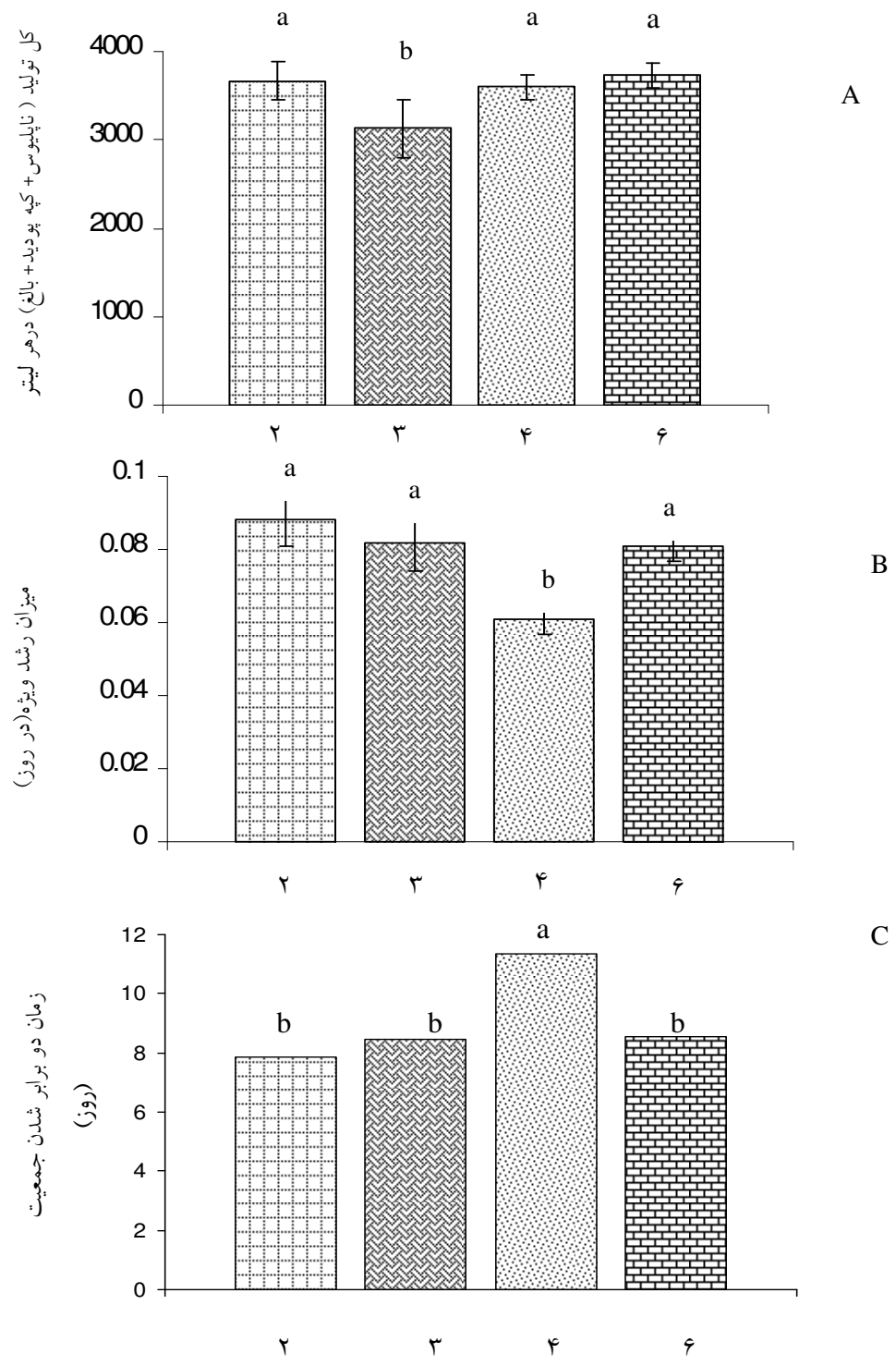


نمودار ۱: تراکم کل جمعیت (ناپلیوس+ کپه‌پودید + بالغین) *M. gracilis* در روزهای مختلف پرورش در غلظت‌های مختلف از اکسیژن محلول ۲، ۳، ٤ و ٦ میلی‌گرم در لیتر. داده‌ها میانگین (± انحراف استاندارد) هستند.



نمودار ۲: میانگین تولید ناپلیوس(A)، کپه‌پود (B) و بالغین (C) *M. gracilis* در روز ۱۵ پرورش در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول داده‌ها میانگین (± انحراف استاندارد) هستند.

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (P>۰/۰۵).



نمودار ۳: تولید کل (A)، میزان رشد ویژه (B) و زمان دو برابر شدن جمعیت (C) در *M. gracilis* در ۱۵ روز پرورش در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول. داده‌ها میانگین (± انحراف استاندارد) هستند. در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (P>۰/۰۵).

بحث

میزان اکسیژن محلول آب با درجه حرارت آب، غلظت اکسیژن محلول در محیط، اندازه آبزی، میزان فعالیت آبزی، زمان بعد از تغذیه و سایر عوامل تغییر می‌کند. معمولاً زمانی که درجه حرارت نوسان داشته باشد، تغییرات سریعی در غلظت اکسیژن محلول بوجود می‌آید. میزان اعمال سوخت و ساز آبزی بستگی به گونه آبزی دارد و با شرایط پایین بودن میزان اکسیژن محلول محدود می‌گردد. میزان مصرف اکسیژن با جنبش و حرکت آبزی افزایش می‌یابد و انرژی لازم جهت سوخت و ساز می‌تواند باعث دو برابر شدن مصرف اکسیژن از یک تا ۶ ساعت بعد از مصرف غذا گردد. اکسیژن محلول همراه با درجه حرارت، بر سوخت و ساز آبزیان تاثیر گذاشته و آن را تنظیم می‌کند (Tucker & Robinson, 1990).

سخت‌پوستان نیز مانند سایر آبزیان نسبت به شرایط اکسیژن محلول عکس‌العمل از خود نشان می‌دهند که میزان بقاء و تولید مثل آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. برای مثال چنانچه خرچنگ قرمز جوان به مدت طولانی در معرض اکسیژن محلول کمتر از یک میلی‌گرم در لیتر قرار گیرد، می‌میرد (Jarboe & Romaire, 1995). خرچنگ بزرگ در شرایطی که میزان اکسیژن محلول کمتر از ۲ میلی‌گرم در لیتر باشد از استخر خارج شده و روی دیواره می‌خزد. سخت‌پوستان نظیر میگوها در بسیاری از موارد می‌تواند غلظت‌های پایین اکسیژن محلول را بهتر از ماهیان آب شیرین تحمل کنند (Boyd, 1990).

زئوپلانکتونها به مقادیر مختلف اکسیژن محلول در محیط زندگی خود عکس‌العمل نشان می‌دهند. پاروپایان در مقایسه با گردان‌تنان (Rotifera) و آنتن منشعب‌ها (Cladocera) نمی‌توانند بخوبی مقادیر پایین اکسیژن محلول را تحمل کنند. Zillioux (۱۹۶۹) بیان کرد هنگامی که اکسیژن محلول کشت به ۲/۳ میلی‌گرم در لیتر کاهش می‌یابد تولید مثل پاروپایان نیز کاهش می‌یابد، زیرا او بعد از جدا کردن پاروپایان مرده و افزایش هوادهی، ملاحظه نمود که در روز بعد ناپلیوس‌های مرحله اول (NI) و مرحله دوم (NII) در کشت‌های پاروپایان ظاهر شدند. این موضوع نشان می‌دهد که تنها مراحل خاصی از چرخه زندگی پاروپایان می‌تواند در غلظت‌های کم اکسیژن انجام شود. در این مطالعه گونه *M. gracilis* در غلظت‌های ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول با کاهش ناپلیوس در جمعیت روبرو بوده که خود مبین کاهش تولید مثل یا مرگ و میر ناپلیوس‌ها بلافاصله بعد از تفریخ است.

آنتن منشعب‌ها و بخصوص گونه‌های جنس دافنی اغلب نسبت به کیفیت آب و اکسیژن محلول مقاوم هستند و تداوم محیط کشت‌های آنها در محیط‌های با اکسیژن محلول کم بدلیل ظرفیت آنها در ساختن هموگلوبین است. میزان ساخت هموگلوبین به مقدار کاهش اکسیژن محلول در آب بستگی دارد. تولید هموگلوبین ممکن است بوسیله درجه حرارت بالا یا تراکم جمعیت زیاد نیز افزایش پیدا کند. Kabatashi (۱۹۸۱) نشان داد که رنگ در آنتن منشعب‌های جنس مونیا (*Moina*) بطور مستقیم با غلظت هموگلوبین که خود بدلیل میزان اکسیژن محلول آب و جیره است، ارتباط دارد. همچنین در بعضی از گونه‌ها نظیر آرتمیا گزارش شده است که رژیم غذایی و رفتار تغذیه‌ای انتخابی این زئوپلانکتون تا حدودی به مقدار اکسیژن محلول بستگی دارد مثلا چنانچه میزان اکسیژن در کشت‌های آرتمیا مطلوب باشد رنگ آن صورتی کم رنگ یا زرد است حتی اگر به شدت از ریزجلبک‌های سبز تغذیه کرده باشد. در کشت‌های با شرایط بسیار خوب، رشد و تولید مثل ناپلیوس سریع است اما هنگامی که غلظت اکسیژن کاهش یابد و مواد آلی زیاد و شوری بالا می‌رود، آرتمیا از باکتری‌ها و مواد پوسیده و سلولهای مخمر استفاده می‌نماید و به میزان کم از جلبک تغذیه می‌کند. در این شرایط است که آرتمیا تخم‌گذار شده و سیست تولید می‌کند (Ivleva, 1969). برای آرتمیا میزان اکسیژن محلول باید از ۲ میلی‌گرم در لیتر بیشتر باشد هوادهی سنگین یا سطح زیاد و عمق کم اغلب به میزان کافی اکسیژن فراهم می‌کند. Srivastava و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که اکسیژن محلول باید بین ۳/۲۸ تا ۴/۶۳ میلی‌گرم در لیتر برای آنتن منشعب آب شیرین *Ceriodaphnia cornuta* در نظر گرفته شود و میزان تولید *C. cornuta* هنگامی که غلظت اکسیژن محلول پایین‌تر از این حد می‌آید، کاهش می‌یابد.

در مورد پاروپایان تولید میزان تخم عامل مهم دیگری است که می‌تواند متاثر از اکسیژن محلول باشد که در این مطالعه بطور کیفی و با مشاهده مولدین و شمارش تخمهای آنها در دو طرف بدن مورد بررسی قرار گرفت (میانگین ۱۷/۵) و تفاوت چندان بین مولدین در تیمارهای مختلف از اکسیژن محلول وجود نداشت. علت احتمالی را می‌توان در استفاده سیکلوپئیده از غذای جلبکی سندسموس با کیفیت و کمیت مشابه خلاصه نمود زیرا مهمترین عامل در تولید تخم در مولدین پاروپا غذا می‌باشد (Maier, 1994; Santer *et al.*, 1995; Farhadian *et al.*, 2008).

بطور کلی براساس تحقیق انجام شده می‌توان بیان کرد که غلظت اکسیژن محلول آب در محیط‌های کشت پاروپایان بر میزان تولید پاروپایان از طریق تاثیرات بر میزان بقاء در مراحل لاروی بخصوص در مراحل ناپلیوس تاثیرگذار می‌باشد. در مجموع این تحقیق نشان داد که رشد و تولید گونه *M. gracilis* در غلظت‌های مختلف اکسیژن محلول (۲ تا ۶ میلی‌گرم در لیتر) انجام می‌گیرد، اما در غلظت‌های ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول جمعیت ناپلیوس‌ها و در غلظت‌های ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر از اکسیژن محلو جمعیت افراد بالغ افزایش معنی داری داشت. این گونه می‌تواند بعنوان غذای زنده در پرورش لارو ماهی در صنعت آبزی‌پروری و در آزمایشات سم‌شناسی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Abdullahi B.A., 1990. The effects of temperature on reproduction in three species of cyclopoid copepods. Hydrobiologia, 196:101-109.

Boyd C.E., 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Birmingham Publishing Company, Birmingham, Alabama.

Dehert P., 1999. Culture and manipulation techniques in live food production. Advanced biotechnology in hatchery production workshop proceedings, Book of Abstract, HI: Oceanic Institute Honolulu, Hawaii, USA.

Farhadian O., Yusoff F.M. and Arshad A., 2008. Population growth and production of *Apocyclops dengizicus* (Copepoda:Cyclopoida) fed on different diets. Journal of the World Aquaculture Society, 39:384-396.

Fernando C.H., 2002. A guide to tropical freshwater zooplankton. Backhuys Publisheres, Leiden, The Netherlands. 291P.

Hsu C.H., 1999. Effects of food types and temperature on the development and reproduction of *Apocyclops royi* (Copepoda: Cyclopida). Master's thesis. National Taiwan University, Keelung, Taiwan. 357P.

Ivleva I.V., 1969. Mass cultivation of invertebrates. Biology and Methods. Academy of Sciences of the U.S.S.R. AII Union Hydrobiological Society. (Translated from Russian by A. Mercado 1973). 148P.

James C.M. and Al-Khars A.M.. 1986. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. Syllogeus, 58:333-340.

Jarboe H.H. and Romaire R.P., 1995. Effects of density reduction and supplemental feeding on stunted crayfish *Procambarus clarkia* population in earthen ponds. Journal of the World Aquaculture Society, 26: 29-37.

Kabatashi M., 1981. Respiratory function of hemoglobin in *Moina macrocopa*. Comparative Physiology A, 70: 381-386.

Kovalenko E.E., D'Abramo L.R., Ohs C.L. and Buddington R.K., 2002. A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Aquaculture, 210:385-395.

Leger P., Bengtson D.A., Simpson K.L., and Sorgeloos P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *In*: (M. Barnes ed). Marine Biology and Oceanography: An Annual Review, 24:521–623.

Maier G., 1994. Pattern of life history among cyclopoid copepods of central Europe. Freshwater Biology, 37: 77-86.

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

Nichols H.W. and Bold H.C., 1965. *Trichorsarcina polymorpha* gen. et sp. nov. Journal of Phycology, 1:34-38.

Nichols H.W., 1973. Growth media– freshwater. *In*: (J.R. Stein ed.), Handbook of phycological

SPSS, 2002. Statistical Pakage for Social Science. Version 11.5, SPSS Inc., Michigan Avenue, Chicago, Illinois, USA.

Srivastava A., Rathore R.M. and Chakrabarti R., 2006. Effects of four different doses of organic manures in the production of *Ceriodaphnia cornuta.* Bioresource Technology, 97:1036–1040.

StØttrup J.G., 2003. Production and nutritional value of copepods. *In*: (J.G. StØttrup and L.A. McEvoy eds.) Live feeds in aquaculture, Blackwell Science. pp.145-205.

Tuker C.S. and Robinsin E.H., 1990. Channel Cat fish farming hand book. Van Nostrand Reinhold. New York, USA. 454P.

Zar J.H. 1984. Biostatistical analysis. 2nd edition. Prentice Hall Inc., Engewood Cliffs, New York, USA. 718P.

Zillioux E.J., 1969. A continuous recirculating culture system for planktonic copepods. Marine Biology, 4: 215-218.

methods – culture methods and growth measurements. Cambridge University Press, Cambridge, pp.7–24.

Omori M. and Ikeda T., 1984. Methods in marine zooplankton ecology. John Wiley and Sons Inc, New York, USA. 332P.

Santer B. and Anne-Mette H., 1995. The influence of food resources on the development, survival and reproduction of the two cyclopoid copepods: *Cyclops vicinus* and *Mesocyclops leuckarti*. Journal of Plankton Research, 17:631-646.

Sorgeloos P., 1980. The use of brine shrimp Artemia in aquaculture. *In*: (G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers eds). The Brine shrimp Artemia. Proceedings of the International Symposium on the Brine Shrimp *Artemia salina*. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp.25-46.