

جداسازی و تولید نیمه انبوه روتیفر آب شیرین

Brachionus calyciflorus قلاب انزلینصراله احمدی فرد^(۱)؛ عبدالمحمد عابدیان کناری^(۲) و مریم فلاحی کپورچالی^(۳)

aabedian@modares.ac.ir

۱ و ۲- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۱۴۱۱۵

۳- مرکز تحقیقات آبزی پروری آبهای داخلی، بندر انزلی صندوق پستی: ۶۶

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۵

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۵

چکیده

گونه *Brachionus calyciflorus* روتیفر آب شیرین بوده که بعنوان غذای زنده برای تولید انبوه لارو ماهیان آب شیرین مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه امکان جداسازی، تخلیص و تولید نیمه انبوه روتیفر آب شیرین مورد بررسی قرار گرفت. نمونه برداری در فصل پاییز ۱۳۸۴ از تالاب انزلی انجام شد و گونه مورد نظر در آزمایشگاه مورد شناسایی و جداسازی قرار گرفت. جهت کشت روتیفر از محیط غذایی EPA به همراه کلرلای آب شیرین (*Chlorella sp.*) با تراکم $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ استفاده گردید. کشت روتیفر *B. calyciflorus* بصورت دسته‌ای انجام شد. تراکم اولیه روتیفر در بال‌های ۱ لیتری 30 ind/ml بود. مطابق نتایج حاصله، حداکثر تراکم روتیفر در روز هفتم به میزان $453 \pm 43 \text{ ind/ml}$ رسید و میانگین نرخ رشد به ازای هر روز 0.50 بدست آمد. میانگین طول و عرض لوریکا بترتیب 20.4 و 16.7 میکرون و میانگین طول و عرض تخم 21 و 9.5 میکرون بدست آمد. این آزمایش نشان داد که روتیفر آب شیرین در مدت زمان کوتاهی به میزان رشد مناسبی در شرایط آزمایشگاهی می‌رسد. همچنین چگونگی تولید نیمه انبوه این گونه در شرایط مصنوعی مشخص گردید.

لغات کلیدی: روتیفر، *Brachionus calyciflorus*، خالص سازی، کشت نیمه انبوه

مقدمه

تقریباً مدت چهاردهه از روتیفرها بعنوان غذای زنده در کشت لارو ماهیان آب شور و شیرین استفاده شده است. تولید پایدار و همچنین رضایت مندی از ارزش غذایی روتیفرها باعث شده که تکثیر و پرورش کلیه ماهیان در نقاط مختلف جهان رونق یابد. روتیفر *Branchionus calyciflorus* یک گونه دائمی و فراوان و دارای انتشار جهانی است. در کانالها، آبگیرها، رودخانه های بزرگ و حتی آبهای لب شور وجود دارد. این گونه دارای پلی مورفیسم (Polymorphism) است و واریته‌ها و شکلهای متفاوتی از آنها شناسایی شده است. دارای یک عدد پای متحرک نسبتاً درازی می‌باشند که معمولاً هنگام شنا به داخل لوریکا کشیده می‌شود (Pontin, 1978).

مهمترین غذاهای زنده برای لارو ماهیان، جلبکهای تک سلولی و زئوپلانکتونها می‌باشند. روتیفرها جزء زئوپلانکتونها بوده که در تغذیه لارو ماهیان آب شیرین از اهمیت زیادی برخوردارند (Isik et al., 1999). روتیفرها با مصرف باکتریها یا جلبکها، رابط بین تولیدکنندگان اولیه و مصرف‌کنندگان ثانویه یا شکارچینی از قبیل لارو حشرات و ماهیان می‌باشند. تقریباً تمام روتیفرهای موجود در طبیعت ماده می‌باشند و نرها فقط برای دوره کوتاهی دیده می‌شوند. در زمانی که شرایط مناسب باشد جمعیت روتیفرها از طریق پارتنوژنیز (بکرزایی) ازدیاد می‌یابد که در این حالت ماده‌های دیپلوئید، تخمهای دیپلوئید (تخمهای Amictic) تولید می‌کنند. بطور معمول در روتیفرها تولید مثل غیرجنسی غالب است اما در شرایط نامطلوب تولید مثل جنسی رخ می‌دهد (ST Øttrup & McEvoy, 2003).

پرورش روتیفر آب شیرین *B. calyciflorus* در سیستمهای پرورش آب شیرین ماهیان زینتی و ماهیان خوراکی مورد آزمایش قرار گرفته است (Gilbert, 1970 ; Galkovskaya, 1987). جهت تغذیه روتیفر آب شیرین می‌توان از جلبکهای مختلفی از جمله *Chlorella vulgaris* و *Scenedesmus obliquus* به همراه مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) استفاده کرد (Sarma et al., 2001).

روتیفرهای آب شور قادرند به مدت ۲ ساعت در آب شیرین زنده بمانند و بوسیله لارو ماهیان تیلاپیا، *Gobio gobio*، کپور زینتی ژاپنی و *Carassius sp.* مورد مصرف قرار گیرند. ولی به هر حال روتیفرهای آب شور بسرعت به کف سقوط کرده و

برای ماهیان آب شیرین با لاروهای پلاژیک مناسب نمی‌باشند. به همین دلیل روتیفرهای آب شیرین از جمله *B. calyciflorus* برای لاروی پروری ماهیان زینتی آب شیرین از پتانسیل‌های بالاتری برخوردارند (Isik et al., 1999).

در حال حاضر در ایران بصورت طبیعی از روتیفر آب شیرین برای تغذیه کپور ماهیان چینی و لارو بهاره ماهی سفید استفاده می‌گردد. کشت انبوه روتیفر آب شیرین در شرایط آزمایشگاهی برای تغذیه پایزه لارو ماهی سفید پاییز، اهمیت بسزایی دارد. در پاییز و زمستان بعلت مناسب نبودن شرایط محیطی استخرها، نمی‌توان تغذیه طبیعی لارو ماهیان سفید را با استفاده از روتیفرها انجام داد. بنابراین تولید روتیفر آب شیرین در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند دستیابی به روتیفر را در فصول نامناسب برطرف کند. همچنین می‌توان از آن برای ماهیان زینتی (بعنوان مثال ماهی گورامی و لارو ماهی دیسکوس) (Lim et al., 2003) استفاده کرد. با دستیابی به کشت آزمایشگاهی روتیفر آب شیرین می‌توان در مواقع مورد نیاز از آنها برای تلقیح استخرهای پرورش ماهیان آب شیرین استفاده کرد (Sarma, 1991). تولید روتیفر آب شیرین در شرایط آزمایشگاهی امکان غنی‌سازی و افزایش ارزش غذایی آن را نیز فراهم می‌آورد.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری با استفاده از یک توری پلانکتونی ۳۰ میکرونی در آبان ماه ۱۳۸۴ از تالاب انزلی صورت گرفت. روتیفرها بعد از فیلتر کردن حجم مشخصی از آب، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. با استفاده از کلید شناسایی Pontin, 1978 گونه *Branchionus calyciflorus* مورد شناسایی قرار گرفت و جداسازی شد.

طول و عرض لوریکا و تخم با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ و با میکرومتر چشمی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بطور تصادفی ۳۰ عدد روتیفر حامل یک تخم انتخاب شدند. برای اندازه‌گیری آسان و مطابق روش مرسوم، روتیفرها در اسید کلریدریک ۶/۵ درصد تثبیت شدند (Fu et al., 1991).

از آب تالاب انزلی (محل زندگی روتیفر)، جهت تعیین عوامل فیزیکی و شیمیایی آب مانند: نیترات، نیتریت، آمونیوم، فسفات، بی‌کربنات، کربنات، کلسیم، آهن، منیزیم و کلر با استفاده از

و ۲ قطره لوگل به آن اضافه تا نمونه تثبیت و سپس روتیفرها شمارش شدند. با استفاده از معادله زیر میزان رشد ویژه (SGR) (Specific Growth Rate) محاسبه شد (Krebs, 1985).

$$r = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}$$

$$\text{Specific Growth Rate} = r$$

N_t = تراکم نهایی روتیفر بعد از دوره پرورش (برحسب تعداد در میلی لیتر)

N_0 = تراکم اولیه روتیفر (برحسب تعداد در میلی لیتر)

t = دوره پرورش (۱۰ روز)

روتیفرهای موجود در لوله آزمایش به ارلن‌ها انتقال یافتند. ظروف فوق نیز بدون هوادهی در کنار نور مهتابی نگهداری شدند. هر روز تعداد روتیفر در واحد حجم شمارش شده و به محض رسیدن تراکم به بالای ۱۰۰ عدد در هر میلی‌لیتر، حجم آب آن افزایش یافت.

مرحله بعد استفاده از ظروف شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری بود. تراکم اولیه حدود ۲۰ عدد روتیفر در هر میلی‌لیتر آب با غذادهی روزانه به میزان $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ از جلبک کلرلا در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی عوامل فیزیکی و شیمیایی آب تالاب انزلی (محل زندگی روتیفر) در جدول ۱ آورده شده است. بعد از نمونه‌برداری و شناسایی روتیفر *B. calyciflorus*، طول و عرض لوریکا و تخم آن اندازه‌گیری شد که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. میانگین طول و عرض لوریکا به ترتیب ۲۰۴ و ۱۶۷ میکرون و میانگین طول و عرض تخم ۱۲۱ و ۹۵ میکرون بدست آمد. شکل ۱ نمونه‌ای از روتیفر آب شیرین حاوی تخم را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از کشت روتیفر در لوله آزمایش در نمودار ۱ آورده شده است. براساس این نتایج روتیفر *B. calyciflorus* طی ۴ روز از ۴ عدد در ۵ میلی‌لیتر به میانگین ۲۸ عدد در هر میلی‌لیتر رسید که نشان‌دهنده میزان تکثیر بالای این گونه می‌باشد.

دستگاه فوتومتر مدل ۸۰۰۰ (Palintest Ltd. Photometer) (Gateshead NE 11 ONS, Made in England) آنالیز شدند.

برای جداسازی روتیفرها از روش برداشت مستقیم از محیط اولیه با استفاده از میکروپیپت استفاده گردید. به منظور تغذیه روتیفر از کلرلای آب شیرین (*Chlorella sp.*) که در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات آبی پروری آبهای داخلی، بندر انزلی خالص‌سازی شده بود، استفاده گردید. این جلبک با استفاده از محیط کشت زاندر مثبت $Z-8+N$ در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سانتیگراد و میزان روشنایی ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس کشت داده شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه با دو نوع توری ۵۰۰ و ۱۰۰ میکرون فیلتر شده تا موجودات پلانکتونی خیلی بزرگ و خیلی کوچک از محیط حذف گردند. با استفاده از پیپت معمولی چند سی‌سی آب حاوی نمونه، برداشت و درون پلیت ریخته شد. پلیت در زیر لوپ با بزرگنمایی ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت. و گونه مورد نظر با میکروپیپت برداشت شد.

پس از آن محتویات میکروپیپت به داخل لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت EPA, 1985 به همراه جلبک کلرلا با تراکم $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ ریخته شد. در هر لوله آزمایش ۴ عدد روتیفر حاوی تخم اضافه گردید. به همین روش ۴ تکرار از روتیفر آماده شد. عمل جداسازی چندین بار انجام گرفت تا کلیه گونه‌های ناخواسته از محیط حذف گردند.

نمونه‌های خالص شده درون لوله آزمایش بدون هوادهی در زیر نور لامپ فلوروسنت (۳۰۰۰ Lux) نگهداری شدند. هر روز غذادهی بوسیله کلرلا صورت گرفت و تعداد آنها در هر میلی‌لیتر با استفاده از لام بوگاروف تخمین زده شد.

پرورش در لوله آزمایش ادامه یافت تا زمانیکه تراکم روتیفرها به ۱۰۰ عدد در هر میلی‌لیتر رسید. بعد از این مرحله، ۴ ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری انتخاب و در هر کدام ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت EPA, 1985 به همراه جلبک با تراکم $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ ریخته شد. بعد از رسیدن تراکم به 100 ind/ml کشت در ظروف ۱ لیتری صورت گرفت. کشت روتیفر در ظروف یک لیتری با غذادهی روزانه به میزان $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ انجام شد. جهت جلوگیری از کمبود اکسیژن در این مرحله از هوادهی آرام استفاده شد.

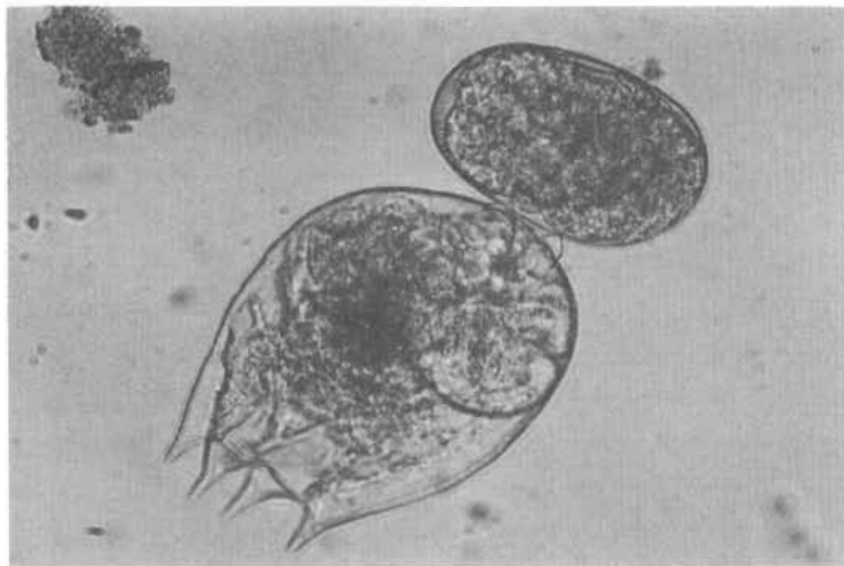
برای بررسی میزان رشد روتیفر، هر روز ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از نمونه آب حاوی روتیفر با استفاده از میکروپیپت نمونه‌برداری

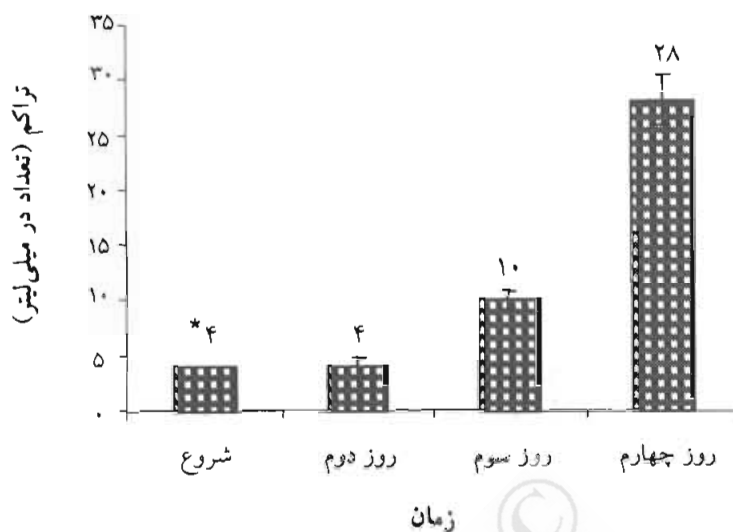
جدول ۱: نتایج عوامل فیزیکی و شیمیایی آب تالاب انزلی

عامل	نترات	نیتريت	آمونیم	فسفات	بيکربنات	کربنات	کلسیم	آهن	منیزیم	کلر
مقادير (میلیگرم در لیتر)	۲/۲۲	۰/۱۵۸	۱/۷	۰/۶۹	۲۰۰	۲۰	۷۱	۰/۰۲	۳۴۰	۴۶۰

جدول ۲: صفات مرفومتریک روتیفر حامل تخم *Brachionus calyciflorus* (تعداد ۳۰ عدد)

	طول لوریکا (میکرون)	عرض لوریکا (میکرون)	طول تخم (میکرون)	عرض تخم (میکرون)
حداکثر	۲۳۷	۲۰۹	۱۴۳	۱۲۰
حداقل	۱۷۱	۱۳۷	۶۹	۶۰
میانگین	۲۰۴	۱۶۷	۱۲۱	۹۵

شکل ۱: روتیفر حامل تخم *Brachionus calyciflorus*



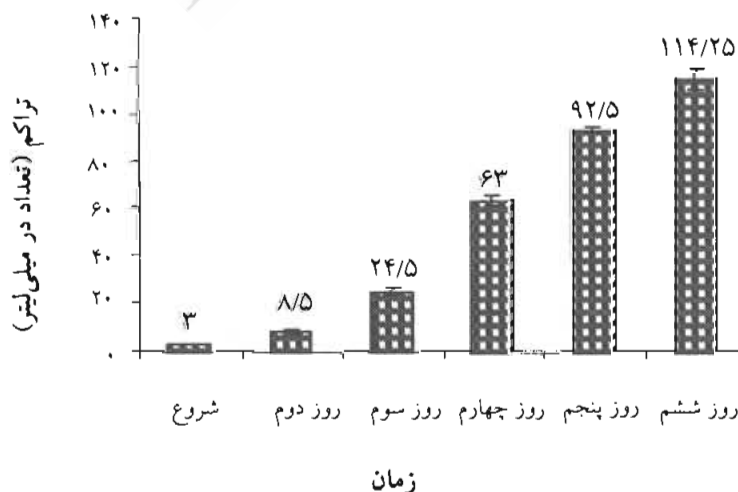
نمودار ۱: میانگین تعداد روتیفیر تولید شده در لوله‌های ۲۰ میلی‌لیتری (حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت) (* تعداد در ۵ میلی‌لیتر)

جلبک کلرلا تراکم روتیفیرها بعد از ۴ روز به میانگین ۹۷ عدد در میلی‌لیتر رسید.

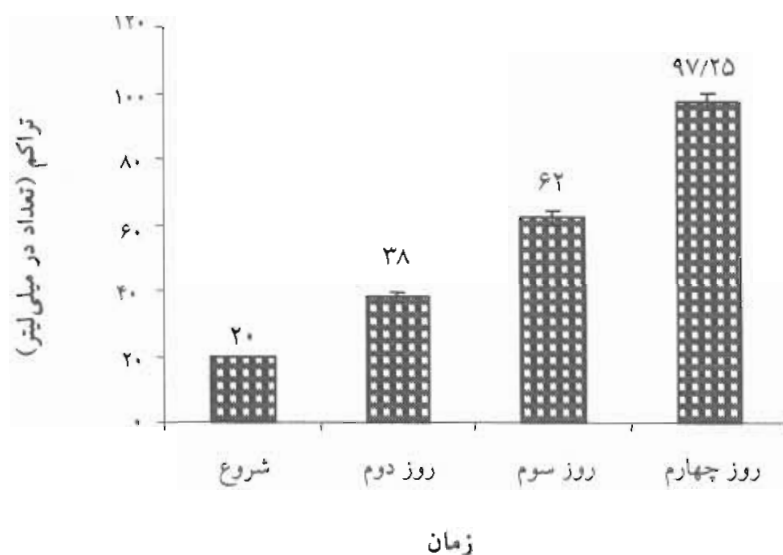
آخرین مرحله کشت روتیفیر در ظروف ۱ لیتری بود که نتایج آن در نمودار ۴ آورده شده است. مطابق نتایج حاصله حداکثر تراکم روتیفیر در روز هفتم به میزان 453 ± 43 ind/ml رسیده و میانگین نرخ رشد (r) به ازای هر روز 0.15 بدست آمد.

نتایج کشت مرحله بعد که در ظروف ۱۰۰ میلی‌لیتر انجام گرفت در نمودار ۲ آورده شده است. در این مرحله به علت اینکه تعداد نهایی روتیفیر در هر لوله در مرحله قبل بیش از ۱۵۰ عدد نبوده با تراکم ۳ عدد در هر میلی‌لیتر شروع شده و طی ۶ روز تراکم به میانگین ۱۱۴ عدد در هر میلی‌لیتر رسید.

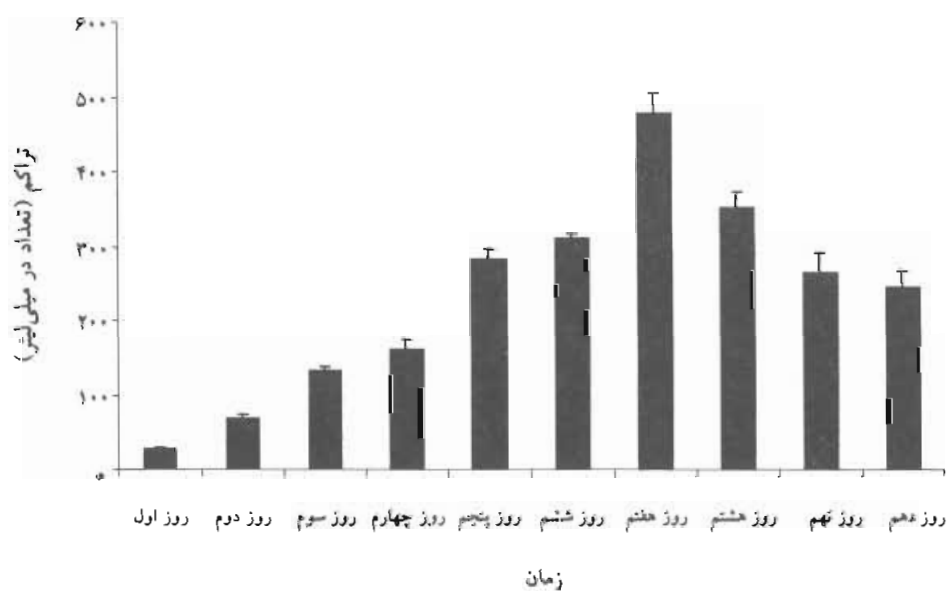
نتایج کشت روتیفیر در ظروف ۲۵۰ میلی‌لیتری در نمودار ۳ آورده شده است. با تغذیه روتیفیرها به میزان 1×10^6 cell/ml از



نمودار ۲: میانگین تعداد روتیفیر تولید شده در لوله‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری (حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت)



نمودار ۳: میانگین تعداد روتیفر تولید شده در لوله های ۲۵۰ میلی لیتری



نمودار ۴: میانگین تعداد روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا با تراکم 1×10^6 cell/ml در ظروف ۱ لیتری

بحث

غلظت غذایی ($1.0^6 \text{ cell/ml} \times 4/5$) متغیر بود (Lucia-Pavon et al., 2001).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که نرخ رشد جمعیتی (r) یک متغیر حساس بوده و متأثر از عوامل زیستی و غیرزیستی است (Flores-Burgos et al., 2003). در مطالعه حاضر نرخ رشد (r) روتیفر *B. calyciflorus* ۰/۵۰ به ازای هر روز بدست آمد که این میزان در دامنه رشد مشاهده شده برای بیشتر زئوپلانکتونها می‌باشد (Sarma et al., 2001; Nandini & Sarma, 2000).

در مطالعه‌ای که توسط Park و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفته است نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* در درجه حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد برابر 0.488 ± 0.1 بدست آمد که به نرخ رشد حاصل از این تحقیق نزدیک بود. مطابق نتایج حاصله، نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* در این بررسی از نرخ رشد روتیفر استفاده شده توسط Rico-Martinez و Dodson (1992) سریعتر بود. حداکثر نرخ رشد *B. calyciflorus* در تغذیه با کلرلا توسط Sarma و همکاران (2001) 0.63 ± 0.04 گزارش گردیده است. براساس مطالعه انجام شده توسط Flores-Burgos و همکاران (2003) نرخ رشد این گونه بین ۰/۱۸ تا ۰/۴۸ براساس نوع جلبک مصرفی متغیر بود. در حالیکه نرخ رشد براقیونوس‌ها در دامنه ۰/۱ تا ۲ قرار دارد اما بیشتر گونه‌ها نرخ رشد کمتر از ۰/۵ در روز را دارا می‌باشند که یافته حاصل از این تحقیق نیز با عدد مورد نظر تطابق دارد.

براساس مطالعات انجام شده (Sarma et al., 2001; Lucia-Pavon et al., 2001) نرخ رشد این گونه نسبت به گونه *B. Patulus* بیشتر بوده که حاکی از اهمیت این گونه می‌باشد. با انجام این آزمایش، کشت روتیفر آب شیرین گونه *B. calyciflorus* در شرایط آزمایشگاهی برای اولین بار در ایران انجام شده و اطلاعاتی از شرایط کشت آزمایشگاهی و تولید آن ارائه گردیده است. با تولید انبوه روتیفر آب شیرین در شرایط آزمایشگاهی می‌توان از آن برای تغذیه لارو ماهیان زینتی و ماهی سفید یا آزمایشات غنی‌سازی و همچنین تلقیح استخرها در صورت لزوم استفاده کرد.

تشکر و اقدردانی

از ریاست محترم و همکاران عزیز در مرکز تحقیقات آبرزی پروری آبهای داخلی استان گیلان بدلیل همکاری‌های

کشت اولیه روتیفر *B. calyciflorus* نشان داد که این گونه در محیط کشت EPA به همراه جلبک کلرلا بخوبی رشد می‌کند. این محیط کشت بدلیل دارا بودن بی‌کربنات سدیم بعنوان بافر عمل کرده و از تغییرات pH جلوگیری می‌کند، چرا که pHهای بالا و پایین سبب کاهش رشد روتیفر خواهد شد (Park et al., 2001). در بین گروههای جلبکی مختلف، جلبک سبز کلرلا برای تغذیه و رشد زئوپلانکتونها بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود (Pourriot & Rougier, 1997; Dumont et al., 1995). کلرلا بدلیل اندازه مناسب (۱۰ تا ۱۵ میکرون) و فقدان زوائد ممانعت‌کننده تغذیه، بعنوان غذای مناسب شناخته شده است. همچنین کلرلا از سرعت تکثیر بالایی برخوردار بوده (Maruyama et al., 1997) و از نظر ارزش غذایی (بعنوان مثال پروتئین و دارای اسیدهای چرب قابل توجهی می‌باشد (Flores-burgos et al., 2003). براساس مطالعات انجام شده روی روتیفر جنس براقیونوس مشخص می‌شود که از ذرات غذایی تا اندازه ۲۰ میکرون تغذیه می‌کند و بین اندازه بدن و اندازه ذرات غذایی رابطه‌ای وجود دارد (Bogdan & Gilbert, 1984).

Sarma (1991) اندازه دهان بیشتر لارو ماهیان را بین ۵۰ تا ۲۷۰ میکرون گزارش کرده است. براساس جدول ۲ دامنه اندازه روتیفر *B. calyciflorus* کشت شده در این آزمایش بین ۱۴۹ تا ۲۳۷ میکرون بدست آمد. این اندازه روتیفرهای بالغ و تخم‌دار بود، در حالیکه روتیفرهای جوان اندازه کوچکتری داشته و برای لارو ماهیان با دهان خیلی کوچک مناسب می‌باشند.

براساس نتایج بدست آمده، حداکثر تراکم روتیفر *B. calyciflorus* در دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد، بعد از مدت زمان ۶ روز به 453 ind/ml رسید که با نتایج Dahril (1997) که با استفاده از کود مرغی در سیستم کشت نیمه مداوم به تراکم 542 ind/ml دست یافته بود تا حدروزی مطابقت دارد. مطالعات دیگری روی روتیفر *B. calyciflorus* توسط Sarma و همکاران (2001) صورت گرفته است. در این مطالعات که با جلبک کلرلا با تراکم $1 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ تغذیه صورت گرفته بود به حداکثر تراکم $77 \pm 12 \text{ ind/ml}$ دست یافتند. همچنین حداکثر تراکم روتیفر *B. calyciflorus* از 55 ind/ml (در غلظت غذایی $1.0^6 \text{ cell/ml} \times 0.5$) تا $471 \pm 72 \text{ ind/ml}$ (در

- composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Branchionus calyciflorus*, and the microalgae *scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains. *Aquaculture*. Vol. 174, pp.299-311.
- Krebs, C. J., 1985.** Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance, 3rd edn. Harper and Row, New York. 789P.
- Lim, L.C.; Dhert, P. and Sorgeloos, P. , 2003.** Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture*. Vol. 227, pp.319-331.
- Lucia-Pavon, E.; Sarma, S.S.S. and Nandini, S. , 2001.** Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Branchionus calyciflorus* and *Branchionus patulus* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop.* Vol. 49, pp.895-902
- Maruyama, I.; Nakao, T.; Shigeno, I., Ando, Y. and Hirayama, K. , 1997.** Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine Rotifer *Branchionus*. *Hydrobiologia*. Vol. 358, pp.133-138.
- Nandini, S. and Sarma, S.S.S. , 2000.** Life table demography of four Cladoceran species in relation to algae food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia*. Vol. 435, pp.117-126.
- Park, H.G.; Lee, K.W.; Cho, S.H.; Kim, H.S.; Jung, M.M. and Kim, H.S. , 2001.** High density culture of the freshwater rotifer, *Branchionus calyciflorus*. *Hydrobiologia*. Vol. 446-447, pp.369-374.
- Pontin, R.M. , 1978.** A key to British freshwater planktonic rotifera. Scientific purification freshwater biological association. 527P.
- بی‌دریغشان کمال تشکر را داریم. همچنین از همکاران ایستگاه تحقیقات ساحلی غازیان تشکر و قدردانی می‌نمائیم.
- ### منابع
- Bogdan, K.G. and Gilbert, J.J. , 1984.** Body size and food size in freshwater zooplankton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 81, pp.6427-6431.
- Dahril, T. , 1997.** A study of the freshwater rotifer *Branchionus calyciflorus* in Penkanbaru, Riau, Indonesia. *Hydrobiologia*. Vol. 358, pp.211-215.
- Dumont, H.J.; Sarma, S.S.S. and Ali, A.J. , 1995.** Laboratory studies on the population dynamics of *Anuraeopsis fissa* (rotifera) in relation to food density. *Freshwater Biol.* Vol. 33, pp.39-46.
- EPA , 1985.** Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. US Environment Protection Agency, EPA/600/4-85/013.
- Flores-burgos, J.; Sarma, S.S.S. and Nandini, S. , 2003.** Population growth of zooplankton (Rotifers and Cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. *Acta hydrochim. Hydrobiol.* Vol. 31, pp.240-248.
- Fu, Y.; Hirayaman, K. and Natsukari, Y. , 1991.** Morphological differences between two types of the rotifer *Branchionus plicatilis* (O.F. Muller ed.). *Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.* Vol. 151, pp.29-41.
- Galkovskaya, G.A. , 1987.** Planktonic rotifers and temperature. *Hydrobiologia*. Vol. 147, pp.307-317.
- Gilbert, J.J. , 1970.** Monoxenic cultivation of the rotifer *Branchionus calyciflorus* in a defined medium. *Oecologia*. Vol. 4, pp.89-101.
- Isik, O.; Sarihan, E.; Kusvuran, E.; Gul, O. and Erbatur, O. , 1999.** Comparison of the fatty acid

- Pourriot, R. and Rougier, C. , 1997.** Reproduction rates in relation to food concentration and temperature in three species of the genus *Brachionus* (Rotifera). Ann. Limnol. Vol. 33, pp.23-31.
- Rico-Martinez, R. and Dodson, S.I. , 1992.** Culture of rotifer *Brachionus calyciflorus* pallas. Aqua-culture, Vol. 105, pp.191-199.
- Sarma, S.S.S. , 1991.** Rotifers and aquaculture (Review). Environment and ecology, Vol. 9, No. 2, pp.414-428.
- Sarma S.S.S.; Larios Jurado P.S. and Nandini, S. , 2001.** Effect of three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera: Brachionidae). Rev.Biol. Trop. Vol. 49, No. 1, pp.77-84.
- STøttrup, J.G. and McEvoy, L.A. , 2003.** Live feeds in marine aquaculture. Blackwell Science 2II, Oxford, UK. Vol. 318, 750P.

RICEST[©]

Isolation and semi-intensive culture of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* of Anzali Lagoon

Ahmadifard N.⁽¹⁾ ; Abedian Kenari A.M.^{(2)*} and Fallahi Kaporchali M.⁽³⁾

aabedian@modares.ac.ir

1,2- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resource and Marine Sciences, University of Tarbiat Modares, P.O.Box: 14155-356 Noor, Iran

3-Inland Waters Research Institute, P.O.Box: 66 Bandar Anzali, Iran

Received: September 2006

Accepted: February 2007

Keyword: Rotifer, *Brachionus calyciflorus*, Purification, Semi-Intensive Culture

Abstract

Brachionus calyciflorus is a freshwater rotifer that is used as a live food for intensive production of freshwater fish larvae. In this research, the possibility of isolating, purifying and semi-intensive production of freshwater rotifer was investigated in laboratory condition.

Sampling was done at Anzali Lagoon in autumn 2005 and the species was identified and isolated using invert microscope. For culture of the rotifer, EPA medium was used together with freshwater *chlorella sp.* at 1×10^6 cells/ml density. Rotifers were produced as batch culture. Primary density of rotifers in 11 balloons was considered to be 30ind/ml. Results showed that the maximum density of rotifer reached 453 ± 43 ind/ml in the seventh day and mean growth rate per day was 0.50. The average of the lorica length and width was 204 and 167 microns and the average of the egg length and width was 121 and 95 microns, respectively.

This experiment indicated that freshwater rotifer attains suitable growth parameters in laboratory condition in a relatively short time. Also, we successfully determined the protocol for semi-intensive artificial production of the species.

* Corresponding author