magiran.com

جداسازی و تولید نیمه انبوه روتیفر آب شیرین *Brachionus calyciflorus* تالاب انزلی

نصراله احمدی فرد[۱]؛ عبدالمحمد عابدیان کناری[۲]* و مریم فلاحی کپورچالی[۳]
aabedian@modares.ac.ir
۱ و۲- دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، نور صندوق پستی: ۳۵۶-۱۴۱۱۵
۳- مرکز تحقیقات آبزی‌پروری آبهای داخلی، بندر انزلی صندوق پستی: ۶۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: اسفند 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. نمونه‌برداری 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 1×10^6 cell/ml استفاده گردید. کشت روتیفر *B. calyciflorus* بصورت دسته‌ای انجام شد. تراکم اولیه روتیفر در بالن‌های ۱ لیتری ۳۰ind/ml بود. مطابق نتایج حاصله، حداکثر تراکم روتیفر در روز هفتم به میزان ۴۵۳±۴۳ ind/ml رسید و میانگین نرخ رشد به ازای هر روز ۰/۵۰ بدست آمد. میانگین طول و عرض لوریکا بترتیب ۲۰۴ و ۱۶۷ میکرون و میانگین طول و عرض تخم ۱۲۱ و ۹۵ 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

* نویسنده مسئول

magiran.com

مقدمه

تقریباً مدت چهاردهه ازروتیفرها بعنوان غذای زنده درکشت 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 *Brachionus 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 شکارچیانی 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 پارتنوژنزیز (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* درسیستمهای 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 obliqus* به همراه مخمر نانوایی (*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 پاییزه 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 گونهٔ *Brachionus 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

magiran.com

دستگاه فتومتر 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 آبزی 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 ۱±۲۵ 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 گونهٔ 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 1×10^{6}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 فلوئورسنت (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 بهمراه جلبک با تراکم 1×10^{6}cell/ml ریخته شد. بعد از رسیدن تراکم به ۱۰۰ind/ml کشت در ظروف ۱ لیتری صورت گرفت. کشت روتیفر در ظروف یک لیتری با غذادهی روزانه به میزان 1×10^{6}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 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).

$$r = LnNt - LnN0)/t$$

Specific Growth Rate = r

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

N0 = 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 1×10^{6}cell/ml از جلبک کلرلا در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی عوامل فیزیکی وشیمیایی آب تالاب انزلی (محل زندگی روتیفر) در جدول ۱ آورده داده 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 بترتیب 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 نشاندهندهٔ میزان تکثیر بالای این گونه می‌باشد.

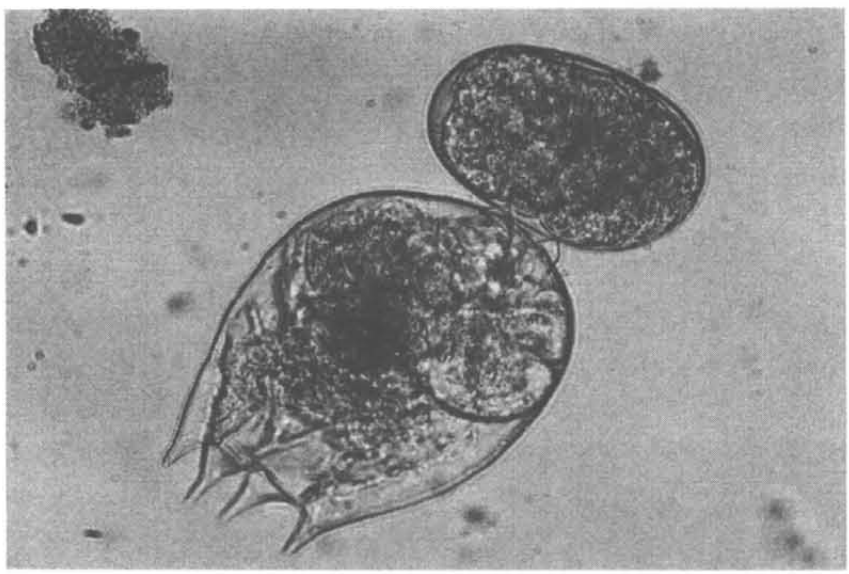
magiran.com

جدول ۱ : نتایج عوامل فیزیکی و شیمیایی آب تالاب انزلی

عامل	نیترات	نیتریت	آمونیوم	فسفات	بیکربنات	کربنات	کلسیم	آهن	منیزیم	کلر
مقادیر (میلیگرم در لیتر)	۲/۲۲	۰/۱۵۸	۱/۷	۰/۶۹	۲۰۰	۲۰	۷۱	۰/۰۲	۳٤۰	٤٦۰

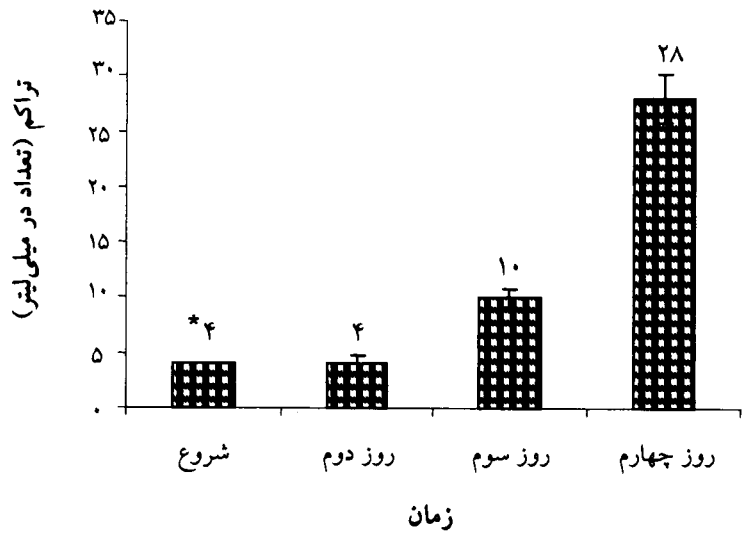
جدول ۲: صفات مرفومتریک روتیفر حامل تخم *Brachionus calyciflorus* (تعداد ۳۰ عدد)

	طول لوریکا (میکرون)	عرض لوریکا (میکرون)	طول تخم (میکرون)	عرض تخم (میکرون)
حداکثر	۲۳۷	۲۰۹	۱٤۳	۱۲۰
حداقل	۱۷۱	۱۳۷	٦۹	٦۰
میانگین	۲۰٤	۱٦۷	۱۲۱	۹۵



شکل۱: روتیفر حامل تخم *Brachionus calyciflorus*

magiran.com

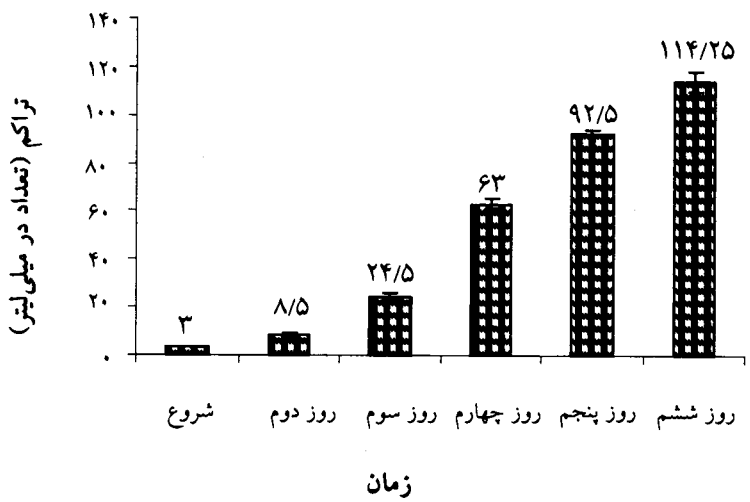


نمودار ۱ : میانگین تعداد روتیفر تولید شده در لوله‌های ۲۰ میلی‌لیتری (حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت) (* تعداد در ۵ میلی‌لیتر)

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 روتیفر 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.

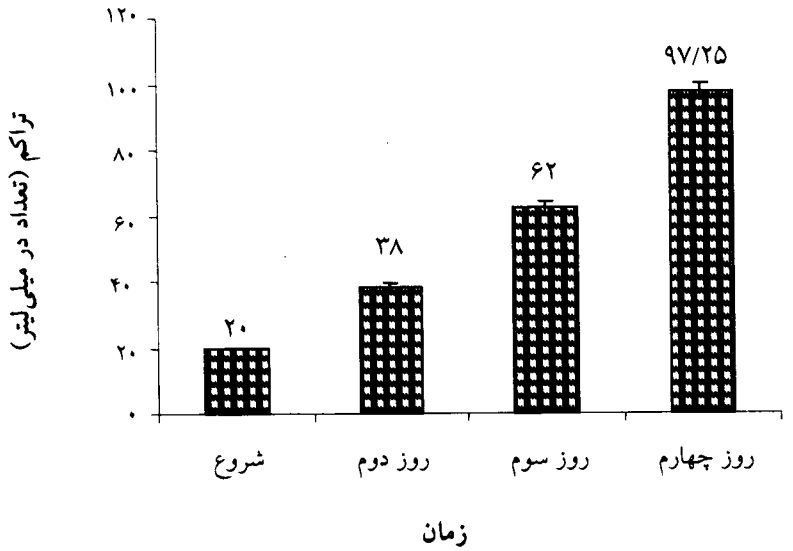
نتایج کشت روتیفر در ظروف ۲۵۰ میلی‌لیتری در نمودار ۳ آورده شده است. با تغذیه روتیفرها به میزان ۱×۱۰^{۶} cell/ml از جلبک کلرلا تراکم روتیفرها بعد از ۴ روز به میانگین ۹۷ عدد در میلی‌لیتر رسید.

آخرین مرحله کشت روتیفردر ظروف ۱ لیتری بود که نتایج آن در نمودار ۴ آورده شده است. مطابق نتایج حاصله حداکثر تراکم روتیفر در روز هفتم به میزان ۴۵۳±۴۳ ind/ml رسیده و میانگین نرخ رشد (r) به ازای هر روز ۰/۵۰ بدست آمد.

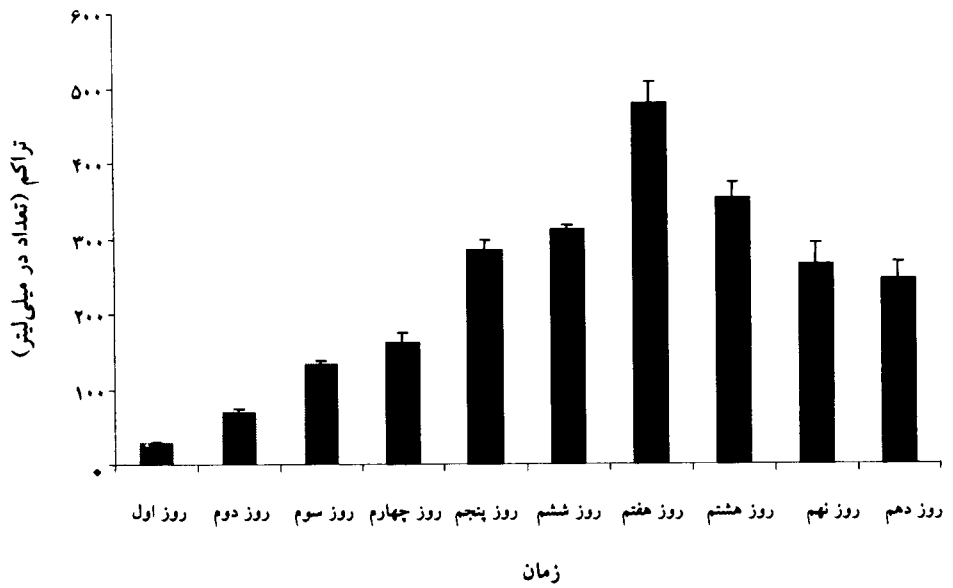


نمودار ۲: میانگین تعداد روتیفر تولید شده در لوله‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری (حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت)

magiran.com



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



نمودار٤: میانگین تعداد روتیفرهای تغذیه شده با جلبک کلرلا با تراکم ۱×۱۰^{۶} cell/ml در ظروف ۱ لیتری

magiran.com

بحث

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 (۱۰تا 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 براکیونوس 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 جدول۲ دامنه اندازه روتیفر *B. calyciflorus* کشت شده در این آزمایش بین ۱۴۱ تا ۲۳۷ میکرون بدست آمد. این اندازهٔ 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 ۲±۲۵ درجه سانتیگراد، بعد از مدت زمان ۶ روز به ۴۵۳ ind/ml رسید که با نتایج Dahril (1997) که با استفاده از کود مرغی در سیستم کشت نیمه مداوم به تراکم ۵۴۲ ind/ml دست یافته بود تا حدودی 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 1×10^{6} cell/ml تغذیه صورت گرفته بود به حداکثر تراکم ۱۲±۷۷ ind/ml دست یافتند. همچنین حداکثر تراکم روتیفر *B. calyciflorus* از ۵۵ ind/ml (در غلظت غذایی $10^{6}\times0/5$ cell/ml) تا ۷۲±۴۷۱ind/ml (در غلظت غذایی $10^{6}\times4/5$ cell/ml) متغیر بود (Lucia- Pavon *et al.*, 2001).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که نرخ رشد جمعیتی (r) یک متغیر حساس بوده و متاثر 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 (Nandini & Sarma, 2000 ;Sarma *et al.*, 2001).

در مطالعه‌ای که توسط Park و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفته است نرخ رشد روتیفر *B. calyciflorus* در درجه حرارت ۲۴ درجه سانتیگراد برابر ۰/۰۱±۰/۴۸۸ 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) ۰/۰۴±۰/۶۳ 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 براکیونوس‌ها 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 گونهٔ *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 قدردانی

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

magiran.com

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 *Brachionus 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 *Brachionus 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 *Brachionus 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 composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus*, and the microalgae *scenedesmus abundans, Monoraphidium minitum* 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, 3 rd 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 *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus 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 *Brachionus.* 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, *Brachionus 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.

magiran.com

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.

magiran.com

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

Ahmadifard N.[(1)] ; Abediyan 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±43ind/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