

تأثیر دما و تغذیه جلبکی بر روی تراکم روتیفر (*Brachionus rotundiformis* Tschugunoff) در شرایط آزمایشگاهی

چکیده

این مطالعه با هدف دستیابی به بهترین تراکم روتیفر تحت تأثیر دو فاکتور دما و تغذیه جلبکی در دی ماه ۱۳۸۸ انجام شد. در این بررسی روتیفر گونه *Brachionus rotundiformis* در شرایط آزمایشگاهی در سه سطح دمای (۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و تغذیه جلبک با سه نوع جیره جلبکی شامل (تغذیه منحصراً با *Chlorella*، تغذیه منحصراً با *Nannochloropsis oculata* و تغذیه با ترکیب دو جلبک *Nannochloropsis* و *Chlorella*) مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش دما تراکم روتیفرها افزایش می‌یابد، بطوری که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با کمترین میانگین تراکم و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با بیشترین میانگین تراکم روتیفر مواجه شده که اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد و تغذیه با *Nannochloropsis oculata* بیشترین تراکم روتیفرها مشاهده شد (۳۰۸/۷۵ روتیفر در میلی لیتر).

واژگان کلیدی: روتیفر *Brachionus rotundiformis* تراکم، دما، *Nannochloropsis*، *Chlorella*

حامد عبدالهی فینی^{۱*}

مازیار یحییوی^۲

غلامرضا اکبرزاده^۳

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس، دانش آموخته کارشناسی ارشد شیلات، بندرعباس، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بندرعباس، استادیار گروه شیلات، بندرعباس، ایران
۳. پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، بندرعباس، ایران

*مسئول مکاتبات:

Hamed_1532@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۳

تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۳

مقدمه

روتیفر متعلق به شاخه جانوری گردتنان یا چرخ تنان (Rotatoria) بوده و تاکنون بیش از دو هزار گونه از آن شناسایی شده است که ۹۰ درصد آنها در آب‌های شیرین یافت می‌شوند و به ندرت اندازه آنها به ۲ میلی متر می‌رسد.

روتیفرها در دهه های ۱۹۶۰-۱۹۵۰ به عنوان آفت استخرهای پرورشی مارماهی به حساب می‌آمدند، اما بعدها محققین ژاپنی متوجه شدند که این موجود می‌تواند غذای مناسبی برای لاروهای ماهیان دریایی باشد. این موضوع موجب شد که روش‌های گوناگونی برای تولید انبوه روتیفر در مراکز تکثیر ابداع گردد. در سال ۱۹۶۴ اولین روش برای تولید انبوه روتیفرها گزارش گردید که تغذیه روتیفرها از جلبک‌ها را بیان می‌کرد، بطوری که تولید روتیفرها در این روش به پرورش موفقیت آمیز جلبک‌هایی دریایی نظیر کلرلا، نانوکلوپسیس، تتراسلمیس و غیره نسبت داده شد (Hirata, 1964). البته نوع گونه‌های جلبکی و اندازه ذرات آنها در نرخ تولید مثل روتیفرها تأثیر گذار

است (Hansen et al., 1997). سال‌ها بعد این امر گسترش جهانی یافت، به گونه‌ای که امروزه مقادیر فراوانی از این غذای زنده جهت تغذیه بیش از ۶۰ گونه ماهی و ۱۸ گونه از سخت پوست مورد استفاده قرار می‌گیرد (Dhert, 1996).

به طور کلی در ارزی‌پروری گونه‌ای از روتیفرها مورد استفاده قرار می‌گیرد که در آب‌های لب شور ساحل و آب‌های شور داخلی زیست نموده و از لحاظ شکل ظاهری به ۲ گروه *B. plicatilis typicus* یا L-Type و روتیفر *B. plicatilis* *rotundiformis* یا S-Type روتیفر متمایز شده است. لوریکی نمونه‌های S-Type دارای خارهای پس سری نوک تیز و اندازه دامنه ۲۱۰-۱۰۰ میکرون بوده، در حالی که در نمونه‌های L-Type، خارهای مذکور نوک گرد و گوشه دار بوده و اندازه دامنه آن بین ۳۴۰-۱۳۰ میکرون تعیین شده است (Fu et al., 1991). Segers در سال ۱۹۹۵ تشخیص داد که S-Type روتیفر *B. plicatilis* می‌تواند همان *B. rotundiformis* باشد و از آن زمان به بعد این نام در

تاثیر دما و تغذیه جلبکی بر روی تراکم روتیفر (*Brachionus rotundiformis* Tschugunoff) در شرایط آزمایشگاهی

جمله لوله آزمایش، ارلن ۲۵۰ یا ۵۰۰ میلی لیتری (کشت استوک) و ارلن های ۲ تا ۵ لیتری بود. در این مرحله آب دریا پس از ذخیره شدن در تانک های بتنی ۱۰-۵ متر مکعب با استفاده از یک دستگاه پمپ پر قدرت از داخل یک دستگاه فیلتر شنی و سپس از داخل فیلتر های ۲۰ و ۱ و ۰/۵ میکرونی و در نهایت از زیر اشعه ماوراء بنفش (UV) عبور داده تا آبی عاری از هر گونه ذرات معلق و تقریباً استریل مهیا گردد (Doroudi et al., 2000). سپس جلبک ها در داخل ظروف شیشه ای تمیز وارد و شوری آن توسط آب مقطر (۲۵ قسمت در هزار) کاهش یافت. پس از آن براساس حجم آب استوک ها، مواد مغذی و سیلیکات به داخل ظروف محتوی آب ریخته و با استفاده از استایر و فویل و پارافیلیم در آنها بسته و در داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه و فشار ۱/۵ اتمسفر قرارداداده تا استریل شوند (Suva, 1999). کشت های جلبک بسته به شرایط محیط ۲-۱ هفته نگهداری و با استفاده از محیط کشت f/2 غنی شده و تحت شرایط ۱۲:۱۲ (روشنایی: تاریکی) در دمای ۲۶-۲۲ درجه سانتی گراد تحت شرایط هوادهی ملایم نگهداری شدند (Ignoffo et al., 2005).

پس از شکوفایی جلبک ها برداشت با شمارشگر هماسیتومتر شمارش انجام شد. برای کشت روتیفر از گونه *Brachionus rotundiformis* که از آب های ساحلی اطراف شهر بندرعباس جمع آوری و کشت ذخیره آن در آزمایشگاه محل انجام آزمایش موجود بود، استفاده گردید. روتیفرها، مجدداً مورد بررسی قرار گرفتند تا اگر عوامل مزاحم مانند مژه داران در محیط آنها وجود داشته باشد، نسبت به رفع آنها با استفاده از فرمالین با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر اقدام گردد (Dhert, 1996).

پس از تهیه یک نمونه خالص از روتیفر کشت آنها در ۶ لوله آزمایش ۵۰ میلی لیتری با تراکم ۵-۴ روتیفر در هر میلی لیتر آغاز و غذا شامل *Chlorella* با تراکم 1×10^6 سلول در میلی لیتر (Hirayama and Ogawa, 1972) و *Nannochloropsis*. با تراکم 1×10^6 سلول در میلی لیتر (Lebedeva and Orlenko, 1995) بود. کشت های ذخیره روتیفر در دمای 20 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری و برای تأمین اکسیژن مورد نیاز آنها هوادهی خفیفی انجام شد. لوله ها با فاصله

سرتاسر جهان پذیرفته و مورد استفاده قرار گرفت. مطالعات زیادی بر روی رشد جمعیت و جنبه های مختلف پرورش روتیفر خصوصاً گونه *Brachionus rotundiformis* در سرتاسر دنیا انجام شده است.

در پرورش روتیفرها یکی از مهم ترین عوامل موثر بر رشد جمعیت آنها دما و نوع غذا می باشد، به طوری که Snell در سال ۱۹۸۶ بیان کرد که رشد جمعیت روتیفرها به عواملی محیطی نظیر دما و نوع غذا بستگی دارد. همچنین Dhert در سال ۱۹۹۵ اذعان داشت که دما یکی از مهم ترین عوامل موثر بر تولید مثل و رشد جمعیت روتیفرها می باشد. از این رو در این مطالعه به بررسی اثرات دما و تغذیه جلبکی بر روی تراکم روتیفر مورد نظر پرداخته شده است. در ایران بخصوص استان های جنوبی این گونه غذای اصلی لارو ماهیان دریایی نظیر شانک و هامور (از ماهیان مهم تجاری) می باشد که بدلیل اهمیت بالای این ماهیان و نیاز مبرم منطقه و شیلات، مطالعه شرایط بهینه در رشد بهتر روتیفر ضروری به نظر می رسد.

هدف از انجام این تحقیق رسیدن به بیشترین تراکم روتیفر با توجه به دما و غذا های مختلف است که این موضوع برای کارگاه های تکثیر و پرورش لارو آبزیان مهم بوده تا با بکارگیری دما و غذای مناسب به حداکثر تراکم برسند.

مواد و روش ها

این تحقیق در دی ماه سال ۱۳۸۸ از روتیفر گونه *Brachionus rotundiformis* با استفاده از جلبک های *Chlorella* *Nannochloropsis oculata* و ترکیبی از دو جلبک *Chlorella* و *Nannochloropsis* در سه دمای ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی گراد در قالب یک طرح فاکتوریل کشت شد که جمعاً از ۹ تیمار و در هر تیمار از ۳ تکرار استفاده گردید. در پایان دوره کشت نیز روتیفرها شمارش و میزان تراکم روتیفر در میلی لیتر محاسبه گردید.

به منظور فراهم نمودن امکانات اولیه برای تغذیه روتیفر، استوک مورد نیاز برای کشت جلبک از بخش تکثیر و پرورش آبزیان پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان تأمین گردید. این مرحله شامل کشت جلبک در ظروف با اندازه های مختلف از

آزمون تجزیه و تحلیل واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و برای تعیین اختلاف معنی دار بین سطوح مختلف (فاکتورهای دما و غذا) از آزمون توکی استفاده گردید.

نتایج

میانگین تراکم روتیفر تغذیه شده با کلرلا، ترکیب دو جلبک نانوکلوپسیس- کلرلا و نانوکلوپسیس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۱۲/۶۷، ۱۳۰/۶۷ و ۱۸۶ روتیفر در میلی لیتر و میانگین تراکم روتیفر تغذیه شده با کلرلا، ترکیب دو جلبک نانوکلوپسیس-کلرلا و نانوکلوپسیس در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۵۵/۳۳، ۱۸۸/۳۳ و ۲۵۶ روتیفر در میلی لیتر، میانگین تراکم روتیفر تغذیه شده با کلرلا، ترکیب دو جلبک نانوکلوپسیس-کلرلا و نانوکلوپسیس برای دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲۱۶، ۲۵۶/۳۳ و ۳۰۸/۷۵ روتیفر در میلی لیتر بود (جدول ۱).

نتایج تحقیق نشان داد که تاثیر دما و تغذیه جلبکی بر تراکم روتیفر *Brachionus rotundiformis* در دماهای مختلف و تغذیه جلبکی مختلف معنی دار بوده است ($p < 0.05$). آزمون توکی اختلاف معنی داری را بین دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با سایر دماها نشان داد. همچنین تغذیه با جلبک نانوکلوپسیس اختلاف معنی داری با سایر سطوح تغذیه جلبکی داشت ($p < 0.05$). در این آزمایش در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد و تغذیه با جلبک نانوکلوپسیس بیشترین میانگین تراکم روتیفر مشاهده شد (۳۰۸/۷۵ روتیفر در میلی لیتر).

۲۰ سانتی متر از لامپ فلورسنت (با شدت نوری ۱۵۰۰ لوکس) قرار گرفته و روزانه تعدادشان در زیر میکروسکوپ شمارش و ثبت گردید. در روز پنجم با استفاده از الک با چشمه ۲۰۰ میکرونی شستشو، به ظروف نیم لیتری منتقل و به همین ترتیب کشت داده تا به حجم ۵ لیتری رسانده شدند.

پس از به حجم رساندن روتیفرها، مرحله نهایی کشت آنها آغاز شد. در ابتدا ۲۷ عدد ظرف ۱/۵ لیتری از جنس پلاستیک آماده و بعد از ضد عفونی کردن، به میزان یک سوم یا ۵۰۰ میلی لیتر آبگیری و روتیفرها را با تراکم ۶ عدد در میلی لیتر درون آنها ذخیره نموده و با تراکم قبلی جلبک مورد نیاز شامل نانوکلوپسیس، کلرلا و ترکیبی از دو جلبک نانوکلوپسیس و کلرلا اضافه و درون آکواریوم های تعبیه شده قرار گرفتند. میزان شوری آب هم در حد ۲۵ قسمت در هزار (Hagiwara, 1989) و pH بین ۷/۷ تا ۹/۹ و آکواریوم ها با فاصله ۲۰ سانتی متر از لامپ فلورسنت با شدت نور ۱۵۰۰ لوکس قرار گرفتند (Hotos, 2002).

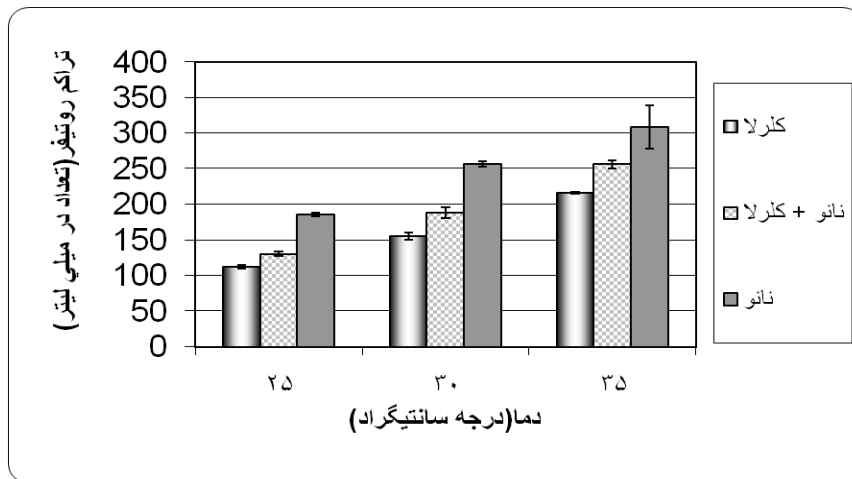
هوادهی به صورت مداوم و ملایم در طول دوره آزمایش برای بر طرف کردن نیازهای اکسیژنی روتیفرها انجام پذیرفت. دوره کشت روتیفرها در حدود ۷ روز بوده که در نهایت بعد از پایان دوره کشت میزان تراکم روتیفرها با یک میلی لیتر نمونه تخمینی در زیر میکروسکوپ نوری بعد از تثبیت کردن با محلول لوگول شمارش شد. برای اطمینان از ارزیابی صحیح تراکم قبل از هر بار نمونه برداری محیط کشت مخلوط و همگن گردید.

برای تجزیه و تحلیل آماری داده ها و همچنین رسم نمودارها از نرم افزار SPSS.14 و اکسل استفاده شد. در آنالیز داده ها از

جدول ۱: میانگین تراکم روتیفرها در دماها (*B. plicatilis roundiformis*) و تغذیه جلبکی مختلف

در سال ۱۳۸۸

جلبک‌های مورد استفاده			دما
کلرلا	نانوکلوپسیس و کلرلا	نانوکلوپسیس	
۱۱۲/۶۷	۱۳۰/۶۷	۱۸۶	۲۵ درجه سانتی‌گراد
۱۵۵/۳۳	۱۸۸/۳۳	۲۵۶	۳۰ درجه سانتی‌گراد
۲۱۶	۲۵۶/۳۳	۳۰۸/۷۵	۳۵ درجه سانتی‌گراد



شکل ۱: اثر متقابل دما و تغذیه جلبکی بر تراکم روتیفر (*B.plicatilis rotundiformis*) در سال ۱۳۸۸

بحث و نتیجه گیری

حدود چهار دهه است که روتیفر را به عنوان غذای زنده برای پرورش لارو ماهیان و سخت پوستان دریایی استفاده می نمایند (Lubzens *et al*, 2001). یک ذخیره مستمر، با ثبات و قابل اطمینان از روتیفر با ارزش غذایی کافی کلید موفقیت پرورش آبزیان دریایی بشمار می رود. اکثریت گونه های ماهیان تولیدی امروزه در مرحله اولیه تکوین خود از روتیفر استفاده می نمایند (FAO, 1998).

یکی از مهم ترین عوامل محیطی موثر بر تولید مثل روتیفرها دما می باشد. دماهای مورد انتخاب در این آزمایش ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد بودند که علت انتخاب این دماها با توجه به گفته Dhert در سال ۱۹۹۵ که دمای قابل قبول را برای روتیفر گونه *Brachionus plicatilis* ۲۰-۳۰ درجه سانتیگراد در نظر گرفته و اذعان داشت که پرورش آنها در دماهای پایین تر از حد مطلوب سبب کاهش قابل ملاحظه در رشد جمعیت آنها می شود. از این رو در این آزمایش به دلیل فوق و نیز به دلیل این که انتخاب باید در دامنه خاصی از دماها باشد تا بتوان به نتیجه مطلوب دست یافت، این دماها برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش دما از ۲۵ به ۳۵ درجه سانتیگراد تراکم روتیفرها به طور معنی داری افزایش می یابد، بطوری که در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد با کمترین میانگین تراکم و در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد با بیشترین

میانگین تراکم روتیفر در بین تیمارهای دمایی مواجه شده که اختلاف معنی داری را نشان دادند ($p < 0.05$).

Dhert در سال ۱۹۹۵ در همین خصوص بیان نمود که با افزایش دما مدت زمان تکامل جنین، مدت زمان لازم برای اولین تخم ریزی و فاصله زمانی بین دو تخم ریزی روتیفرها بطور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. همچنین Lubzens در سال ۱۹۸۷ بیان کرد که نرخ تولید مثل روتیفرها به عواملی از قبیل درجه حرارت، شوری و غیره بستگی دارد. در مطالعه Vasile و همکاران در سال ۲۰۰۶ درخصوص تاثیر عوامل محیطی بر روی رشد جمعیت روتیفر دریایی *Colurella dicentra* مشخص شد که نرخ رشد روتیفر مورد نظر با افزایش دما از ۲۱ به ۲۴/۵ درجه سانتیگراد افزایش یافته و اظهار داشتند که درجه حرارت بهینه برای دستیابی به بیشترین نرخ رشد حتی ممکن است بالاتر از این درجه حرارت باشد. علت استفاده از جلبکها بنا به گفته Fukusho در سال ۱۹۸۹ این بود که پرورش روتیفرها اغلب توسط جلبکهای دریایی از قبیل کلرلا، نانوکروپسیس، تتراسلمیس و غیره صورت می پذیرد که این امر باعث بالا رفتن ارزش غذایی و بازماندگی روتیفرها و در نهایت لاروهای آبزیان می گردد.

در ارتباط با تاثیر تغذیه جلبکی بر روی تراکم روتیفر *Brachionus rotundiformis* نتایج این تحقیق نشان داد که تیمارهای تغذیه جلبکی شامل تیمار تغذیه شده با جلبک کلرلا، تیمار تغذیه شده با جلبک نانوکروپسیس و تیمار تغذیه

بارانی رئیس محترم شیلات شهرستان قشم و کارشناسان محترم بخش آبی پروری آن اداره آقایان مهندس محمد پرورش و مهندس حمیدرضا صادقی سپاسگزاری می گردد.

منابع

- Dhert, Ph., Schoeters, K., Vermuclen, P., Sun, I., Gio, S., Sang, Z. and Sorgeloos, P., 1995.** Production and evaluation of the resting eggs of *Brachionus plicatilis* originating from the P.R. of China. In: Llavens, P., E. Jaspers and Roelants (Eds.), Larva 95 Fish and Shellfish Larviculture Symposium. European Aquaculture Society. Special Publication, Gent. VOL. 24, 315-319.
- Dhert, P., 1996.** Rotifers. In: Sorgeloos, P. Llavens, P. (Eds), Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. Fisheries Technical Paper No.361. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp. 49- 78.
- Doroudi, M. S. and Southgate, P. C., 2000.** The influence of algal ration and larval density on growth and survival of black-lip pearl oyster *Pinctada margaritifera* (L.) larvae. Aquaculture Research 31:621- 625.
- FAO, 1998.** The State of World Fisheries and Aquaculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
- Fu, Y., Hirayama, K. and Natsukari, Y., 1991.** Morphological differences between two type rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Muller. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 151, 29-41.
- Fukusho, K., 1989.** Biology and mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis*. International Journal of Aquaculture and Fisheries Technology 1: 232-240.
- Hagiwara, A., Kotani, T., Snell, T. W., Assava-Aree, M. and Hirayama, K., 1995.** Morphology, reproduction, genetics and mating behavior of small tropical marine *Brachionus* strains (Rotifer). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 194(1): 25-37.
- Hagiwara, A., 1989.** Recent studies on the rotifer *Brachionus plicatilis* as a live food for the larval rearing of warinye fish. Lamer 27: 116 – 121.
- Hansen, P. J., Bjornsen, P. K. and Hansen, B. W., 1997.** Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2-2000µm body size range. Limnol Oceanogr 42: 687-704.

شده با ترکیب دو جلبک کلرلا-نانوکلروپسیس در محدوده دمایی بین ۲۵-۳۵ درجه سانتی گراد توانسته تاثیر قابل توجهی بر روی تراکم روتیفر مورد مطالعه بگذارد، بطوری که کمترین میانگین تراکم مربوط به تیمار تغذیه شده با جلبک کلرلا و بیشترین میانگین تراکم مربوط به تیمار تغذیه شده با جلبک نانوکلروپسیس بوده که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$). در همین ارتباط Hagiwara و همکاران در سال ۱۹۹۵ پیشنهاد دادند که جلبک نانوکلروپسیس بیشترین تناسب غذایی برای دستیابی به پتانسیل تولید مثل بهینه روتیفر *Brachionus rotundiformis* را دارد. همچنین مطالعه Varghese و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی عوامل محیطی نظیر نوع غذا بر روی پتانسیل تولید مثل روتیفر *Brachionus rotundiformis* نشان داد که تغذیه با جلبک نانوکلروپسیس بالاترین میزان پتانسیل تولید مثل را در بین سایر غذاها داشته است. Vasile و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه بر روی تغذیه و پرورش روتیفر دریایی *Colurella dicentra* با استفاده از شش جیره غذای جلبکی نشان داد که بیشترین میزان تولید روتیفر در تغذیه با جنس کیتوسروس و نانوکلروپسیس بوده که یافته های تحقیق حاضر با نتایج آنها مطابقت دارد. البته میانگین تراکم روتیفرهای بدست آمده در این مطالعه کمی پایین تر از میانگین برخی از مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا بود که احتمال می رود دلیل این امر شرایط محیطی خاص محل انجام آزمایش نظیر شوری، pH و غیره باشد.

در جمع بندی نهایی از این مطالعه و با در نظر گرفتن اثرات متقابل عوامل دمایی و نوع تغذیه جلبکی بر روی تراکم روتیفر *Brachionus rotundiformis* می توان پیشنهاد نمود که بهترین میانگین تراکم روتیفر مربوط به دما ۳۵ درجه سانتی گراد و استفاده از جلبک انفرادی نانوکلروپسیس بود.

سپاسگزاری

از حمایت های بی دریغ جناب آقای دکتر سالارزاده، جناب آقای مهندس حجت الله فروغی فرد ریاست محترم بخش آبی پروری پژوهشکده اکتولوژی خلیج فارس و دریای عمان و کارشناسان محترم آن پژوهشکده مهندس مریم معزی و مهندس عبدالعلیان و همچنین از همکاری صمیمانه جناب آقای مهندس مسعود

- Segers, H., 1995.** Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera: Brachionidae). *Hydrobiologia*, 313/314: 121-122.
- Snell, T. W., 1986.** Effect of temperature, salinity and food level on sexual and asexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (rotifer). *Mar. Biol.* 92: 157-162.
- Suva, F., 1999.** Technical guidance on pearl hatchery development in the kingdom of Tonga. FAO, GCP/RAS/115/JPN.
- Varghese, M. and Krishnan, L., 2010.** Reproductive potential of rotifer, *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff in relation to salinity, feed type and feed concentration, *Indian J. Fish.* 57(1):31-37.
- Vasile, A. and Suchar, P. C., 2006.** The effects of algae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. Elsevier, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, No. 337, 96-102.
- Hirata, H., 1964.** Cultivation of live food organisms at the Yashima Station. *Saibai-Gyogyo*: 2-4, 4 (in Japanese).
- Hirayama, K. and Ogawa, S., 1972.** Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter feeding of rotifer. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38: 1207- 1214.
- Hotos, G. N., 2002.** Selectivity of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed mixtures of algal species with various cell volumes and cell densities. *Aquaculture Research*, Vol. 33, pp. 949-957.
- Ignoffo, T. R., Bollens, S. M. and Bochdansky, A. B., 2005.** The effect of thin layer on the vertical distribution of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 316, pp. 167-181.
- Lebedeva, L. I. and Orlenko, O. N., 1995.** Feeding rate of *Brachionus plicatilis* O.F. Muller on two type of food depending on ambient temperature and salinity. *Int. Rev. Ges. Hydrobiology*, 80: 77- 87.
- Lubzens, E., 1987.** Raising rotifer for use in aquaculture. *Hydrobiologia* 147, 245-255.
- Lubzens, E., Zmora, O. and Barr, Y., 2001.** Biotechnology and aquaculture of rotifer, *Hydrobiologia*, 446/447: 337- 353.