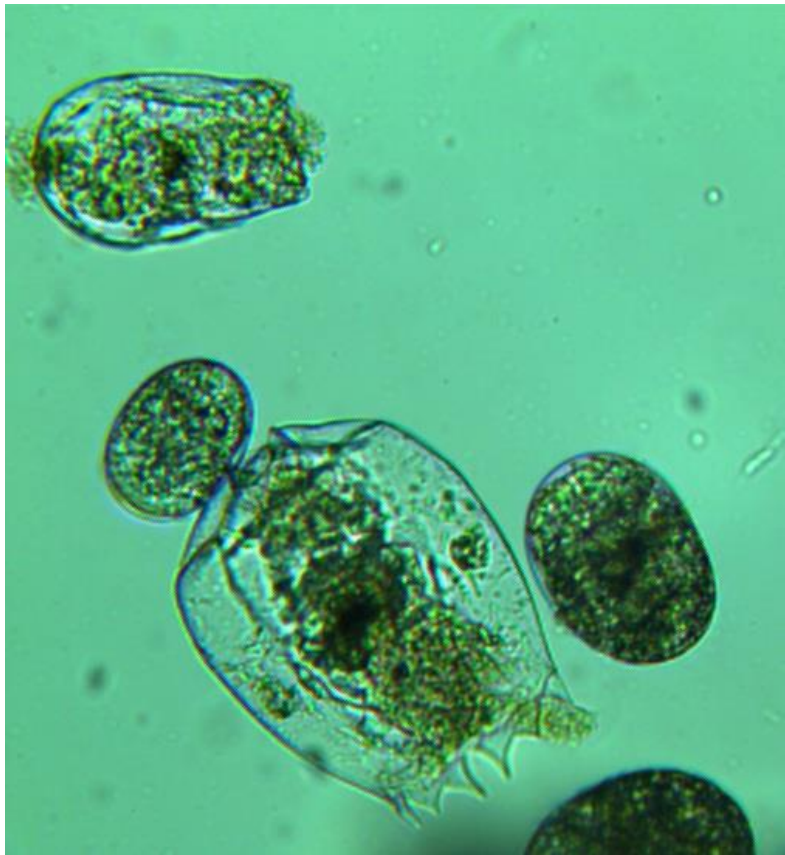


بسمه الله الرحمن الرحيم
موسسه تحقیقاتی علوم شیلاتی کشور
پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور - اهواز
ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)

پرورش روتیفر (*Brachionus rotundiformis* (s-type))



نگارش: اسمعیل یقه ، شاپور گاه کش

فهرست مطالب:

۴	هدف:
۴	دامنه:
۴	مسئولیت:
۵	پیشگفتار:
۵	مقدمه:
۶	رده بندی:
۸	مورفولوژی:
۹	زیست شناسی و چرخه زیستی:
۱۰	اختلافات نژادی:
۱۱	شرایط عمومی پرورش روتیفرهای دریایی (MARINE ROTIFERS):
۱۲	شوری (SALINITY):
۱۲	دما (TEMPERATURE):
۱۳	اکسیژن محلول (DISSOLVED OXYGEN):
۱۳	PH:
۱۳	نور:
۱۳	آمونیم:
۱۳	تغذیه روتیفرها:
۱۴	روشهای پرورش (CULTURE PRODUCTION):
۱۵	کشت ذخیره روتیفرها (STOCK CULTURE OF ROTIFERS):
۱۶	ارتقاء کشتهای ذخیره به کشتهای آغازین:
۱۷	تولید انبوه (MASS PRODUCTION):

- ۱ - پرورش دسته ای - دوره ای (BATCH CULTURE): ۱۸.....
- روش کشت روتیفر در بندر امام خمینی (ره): ۱۹.....
- ۲ - پرورش نیمه مداوم (SEMI-CONTINUOUS CULTURE): ۲۲.....
- ۳ - سیستم پرورش مداوم (CONTINUOUS CULTURE): ۲۲.....
- جداسازی بچه روتیفرها (روتیفر BABY): ۲۲.....
- شمارش و برآورد تراکم و بیوماس: ۲۳.....
- تغذیه لارو ماهیان دریایی با استفاده از روتیفر: ۲۴.....
- مراقبت های بهداشتی: ۲۴.....
- غنی سازی روتیفر (ENRICHMENT OF ROTIFER): ۲۵.....
- تولید و استفاده از تخم نهفته روتیفر (PRODUCTION AND USE OF RESTING EGG): ۲۶.....
- استفاده از تخمهای نهفته بعنوان کشت آغازین کشتهای انبوه چند مزیت دارد: ۲۶.....
- کشت روتیفرها در استخرهای پرورش ماهیان گرمابی: ۲۷.....
- نگهداری روتیفر در دمای ۴ درجه سانتی گراد: ۲۷.....
- فهرست منابع: ۲۸.....

هدف:

در کارگاه های تکثیر ماهیان دریایی غذای آغازین برای تغذیه لاروهای ماهیان دریایی از روتیفر و معمولاً گونه *Brachionus rotundiformis* که اصطلاحاً به آن روتیفر s-type گفته می شود، استفاده می گردد. همچنین در سالهای اخیر استفاده از این روتیفر در مراکز تکثیر میگو بخصوص در کشورهای جنوب شرق در مرحله تغذیه مایسیس میگو معمول شده است. این دستورالعمل سعی دارد روش عملی برای پرورش روتیفر s-type به ساده ترین روش موجود که در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) شرح داده شود تا کارشناسان و تکنسینهای مراکز تکثیر ماهیان دریایی و میگو بتوانند با پیش رو قرار دادن این دستورالعمل و با بکار بستن مراحل که در این دستورالعمل آمده روتیفر را به شکل انبوه پرورش داده، در تغذیه لارو ماهیان و میگو مورد استفاده قرار دهند.

دامنه:

همانطور در بالا ذکر شد از این روتیفر می توان در پرورش لاروی ماهیان دریایی و مرحله مایسیس میگو استفاده کرد. روتیفر کیفیت غذایی فوق العاده خوبی دارد و می تواند نیازهای غذایی اساسی این لاروها را که هنوز دستگاه گوارش آنها تکامل نیافته اند به خوبی تامین کند.

مسئولیت:

مسئولیت انجام این دستورالعمل با مسئولان، کارشناسان و تکنسینهای بخش پرورش روتیفر در مراکز یاد شده فوق خواهد بود.

پیشگفتار :

این نوشتار قصد ندارد اطلاعات کلی در مورد انواع ریزجلبکها و پرورش و استفاده از آنها به خواننده بدهد، بلکه این نوشتار تنها راهنمایی برای پرورش انبوه روتیفر s-type (*Brachionus rotundifomis*) و استفاده از آن در مراکز تکثیر ماهیان دریایی و میگو است. سعی شده است که مراحل کار کشت و پرورش این روتیفر به ترتیب آورده شود طوری که خواننده اعم از اینکه تحصیلات شیلاتی داشته باشد یا تنها فردی علاقمند به این کار باشد، بتواند با پیش رو گذاشتن این نوشتار و با پیگیری مراحل نوشته شده در آن، این روتیفر را پرورش دهد و مورد استفاده قرار دهد.

مقدمه:

در دهه ۱۹۷۰ پرورش ماهیان و سخت پوستان بیشتر به فراهم کردن بچه های آنها از محیط های آبی و ذخیره سازی در استخرهای پرورش بود ولی پس از آن با گسترش مراکز پرورش این موجودات آبی دیگر صید بچه های آنها از محیط آبی برای تامین بذر لازم برای کشت در استخرها و قفسهای پرورش جوابگو نبود و کم کم تکثیر گونه های تجاری و مهم در شرایط مصنوعی شروع شد و امروزه تقریباً تمام نیاز به بذر آبزیان پرورشی اعم از ماهیان آب شیرین (گرمابی و سردآبی)، ماهیان دریایی، سخت پوستان و صدفها از مراکز تکثیر این گونه ها تامین می شود. تا وقتی که بذر لازم برای کشت آبزیان در مراکز پرورش از محیط های آبی تامین می شد نیاز به غذای زنده احساس نمی شد ولی با گسترش تکثیر آبزیان در شرایط کنترل شده و نبود غذای مصنوعی مناسب برای سنین ابتدایی این گونه ها که معمولاً هنوز از لحاظ ارگانسیم های حیاطی از جمله دستگاه گوارش ناقص هستند، با الگو برداری از طبیعت برای پرورش آنها در دوران اولیه زندگی از غذاهایی که طبیعت (غذاهای زنده ای چون انواع ریزجلبکها و زئوپلانکتونها) مصرف می کردند استفاده کردند.

در دهه های پنجاه و شصت روتیفر بعنوان یک آفت در استخرهای پرورش مارماهی شناخته می شد که با تخلیه فیتوپلانکتونهای استخرهای پرورش و همچنین مصرف اکسیژن باعث کاهش شدید در محتوای اکسیژن استخرها می شد که این امر باعث بروز تلفات شدید در مارماهیان پرورشی می شد، ولی محققین ژاپنی خیلی زود پی بردند که روتیفر می تواند به عنوان یک غذای زنده بسیار مناسب برای مراحل ابتدایی لارو ماهیان دریایی استفاده گردد. استفاده موفقیت آمیز روتیفر در کارگاههای هجری ماهیان دریایی باعث گسترش سریع پرورش انبوه این موجود برای آبی پروری گردید. در طی ۲۵ سال پس از آن پرورش روتیفر در کارگاههای تکثیر سرتاسر جهان معمول شد و تکنیکهای پرورش متراکم آن گسترش یافت. در دسترس بودن انواع بسیاری از منابع این غذای زنده باعث شده است امروزه در پرورش بیش از ۶۰ گونه

ماهی دریایی و ۱۸ گونه از سخت پوستان بعنوان غذای زنده مناسب مورد استفاده قرار گیرد. متنوع بودن، مقاومت بالا در مقابل شرایط مختلف محیطی، قدرت بالای زاد و ولد (۰/۷ تا ۱/۴ نوزاد به ازای هر ماده در یک روز)، همچنین اندازه کوچک و سرعت شنای آهسته روتیفر باعث شده است که آن غذای بسیار مناسبی برای لاروهایی باشد که کیسه زرده خود را تمام کرده اند و هنوز کوچکتر از آن هستند که بتوانند از ناپلی آرتمیا تغذیه کنند. همچنین با توجه به اینکه اندازه روتیفرها بزرگتر از جلبکها و کوچکتر از ناپلی آرتمیا می باشد گزینه بسیار مناسبی برای پر کردن خلاء بین ریزجلبک و ناپلی آرتمیا در تغذیه مراحل لاروی باشد.

هم اکنون در ایران در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) که گونه های ماهیان دریایی شانک زرد با له (*Acanthopagrus latus*)، صیبتی (*Sparidentex hasta*) و هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) به صورت تجاری مورد تکثیر قرار می گیرد، روتیفر فرم S (s-type) یا همان *Brachionus rotundiformis* به صورت انبوه پرورش داده می شود که برای تغذیه آنها از ریزجلبک نانوکروپسیس اوکولاتا و مخمر نانویی استفاده می شود. همچنین در استخرهای پرورش ماهیان آب شیرین نیز قبل از معرفی بچه ماهیان به استخرهای پرورش تدابیری جهت افزایش بیوماس روتیفر در استخر اتخاذ می شود مانند استفاده از سموم خاصی که موجودات غیر از روتیفر را می کشند که به این ترتیب روتیفرهای موجود در آب استخرها در محیطی بدون رقیب غذایی و دشمن طبیعی با استفاده از ریزجلبکهای موجود در استخر افزایش می یابند و پس از آن بچه ماهیان را به آنجا منتقل می کنند.

رده بندی:

شاخه گردن تنان (روتیفرآ *Rotifera*) شاخه ای از بی مهرگان می باشند که شامل حدود ۲۰۳۰ گونه هستند. جانورشناسان در طبقه بندی و جایگاه این گروه هم عقیده نیستند. برخی این گروه را رده ای از شاخه کرم سانان (*Aschelminthes*) می شناسند. از نظر رده بندی به سه رده تقسیم بندی می گردد:

۱ - رده *Seisonida*

۲ - رده *Bdelloidea*

۳ - رده *Monogonata*

البته برخی این سه را به عنوان زیررده ای از رده *Eurotatoria* تقسیم بندی می کنند.

رده *Seisonida*

این رده منحصر به روتیفرهای دریایی هستند. بدن معمولاً بزرگ، تاج کوچک و تحلیل یافته است و یک جنس تحت عنوان *Sesion* و سه گونه دارد.

رده *Bdelloidea*

به آن زالوسانان یا جفت تخمگان گفته می شود. انتهای بدن قدامی بوده و حالت انقباضی دارد و شامل دو صفحه چرخان است. در این رده آسیابک (*mastax*) به همراه یک جفت صفحه پهن برای خرد کردن و خوردن مواد غذایی به آن کمک می کند. غدد جنسی معمولاً جفت بوده و بدن استوانه ای و تلسکوپی است. در این رده گونه های شناگر و همچنین خزنده وجود دارد. این رده حدوداً شامل ۴۶۱ گونه می باشد.

رده Monogonata (تک تخمکان)

به طور کلی ۹۰ درصد گونه های روتیفر را به خود اختصاص می دهد که شامل حدود ۱۵۷۰ گونه در تقریباً ۹۰ جنس کفزی، دارای شنای آزاد و چسبنده می باشند. در این رده یک غده جنسی وجود دارد و آسیابک اگر چه برای خرد و له کردن مواد اختصاص یافته است ولی از لحاظ ساختاری شبیه رده قبلی هستند. خانواده Brachionidae شامل ۶ جنس از روتیفرهای معمولی می باشد که جنس *Brachionus* دارای ۲۵ گونه ساحلی و پلانکتونی می باشد که گونه های معروف آن عبارتند از *B. plicatilis* (فرم بزرگ L-type) و *B. rotundiformis* (فرم کوچک S-type) که گونه های پرورشی این جنس می باشند.

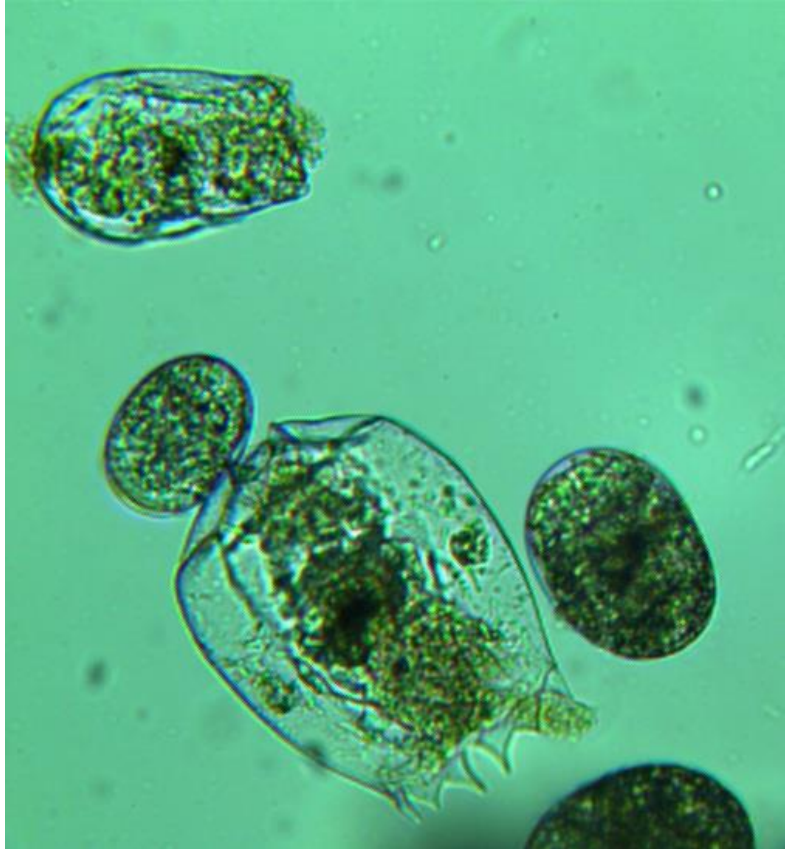
رده بندی گونه *B. rotundiformis* به شکل زیر است (Segers, 2007):

Kingdom	Animalia
Phylum	Rotatoria
Class	Eurotatoria
Subclass	Monogonata
Superorder	Pseudotrocha
Order	Ploima
Family	Brachionidae
Genus	<i>Brachionus</i>

B. rotundiformis

از دیگر گونه های این جنس می توان به موارد زیر اشاره کرد:

B. plicatilis, *B. calyciflorus*, *B. amsterdamensis*, *B. angularis*, *B. rubens*, *B. urceolaris*



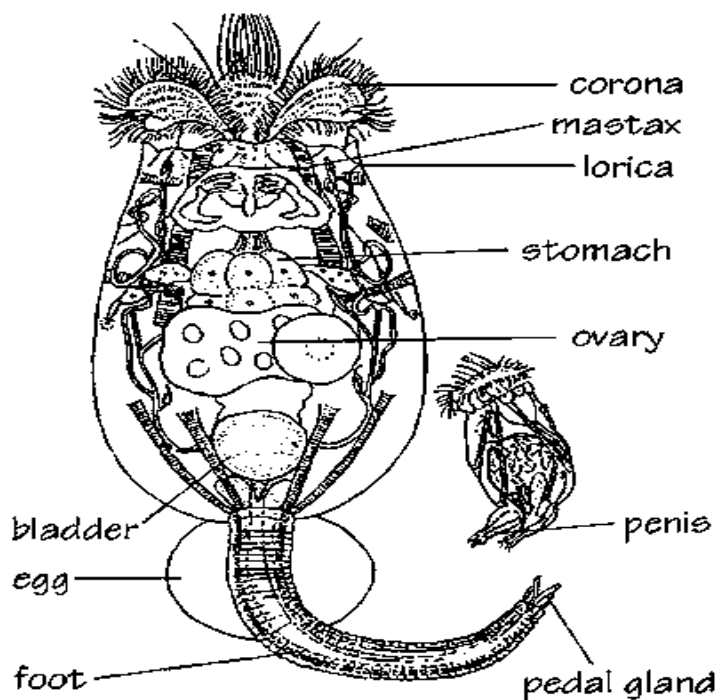
شکل ۱- تصویر روتیفر نوع *S (Brachionus rotundiformis)* در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره): در تصویر روتیفر بالغ دارای تخم، بچه روتیفر (baby) و تخم آزاد روتیفر دیده می شود (عکس از مؤلف)

مورفولوژی :

روتیفرها (روتاتوریا Rotatoria) جزء کوچکترین متازوآ (موجودات پرسلولی) هستند که دارای بیش از ۲۰۰۰ گونه می باشند که ۹۰ درصد از آنها در محیط های آب شیرین یافت می شوند. بندرت اندازه بدن آنها به ۲ میلی متر می رسد. نرها کوچکتر از ماده ها هستند و نسبت به آنها کمتر توسعه یافته اند. بعضی از آنها تنها ۶۰ میکرومتر طول دارند. بدن همه گونه ها از تعداد مشخصی سلول تشکیل شده است که تا آخر عمرشان ثابت می ماند. گونه های مختلف جنس *Brachionus* تقریباً دارای ۱۰۰۰ سلول هستند، رشد این جانوران با افزایش مقدار پلازما صورت می گیرد نه با افزایش در تعداد سلولها.

اپیدرم حاوی یک لایه متراکم از پروتئینهای شبیه کراتین است که لوریکا (lorica) نامیده می شود. شکل لوریکا و پروفیل خرها و پیرایه ها (ornaments) به تشخیص گونه ها و مرفوتیپ های مختلف کمک می کنند. بدن روتیفر به سه قسمت متمایز از سر، تنه و پا تقسیم می شود. سر شامل اندام چرخاننده یا کرونا (corona) است که به آسانی توسط مژه هاس دور تا دور آن شناسایی می شوند که دلیل اصلی نامگذاری این گروه از موجودات به نام روتاتوریا (Rotatoria) می باشد. این شکل کرونا و مژه های اطراف آن در آب ایجاد چرخش کرده، آب را به سمت دهان روتیفر حرکت می دهند که

روتیفر بدین صورت می تواند ذرات غذایی درون آب (عمدتاً ریزجلبک و دتریت ها) را بگیرد. تنه شامل دستگاه گوارش، سیستم دفع و اندامهای تناسلی است. یک از ارگانسیم های خاص روتیفرها، آسیایک (mastax) (یک دستگاه کلسیفه در منطقه دهان) است که در ساییدن ذرات تغذیه شده بسیار مؤثر است. پا یک ساختار کشویی حلقوی شکل است که بدن تقسیم بندی به یک یا چهار انگشت ختم می شود.

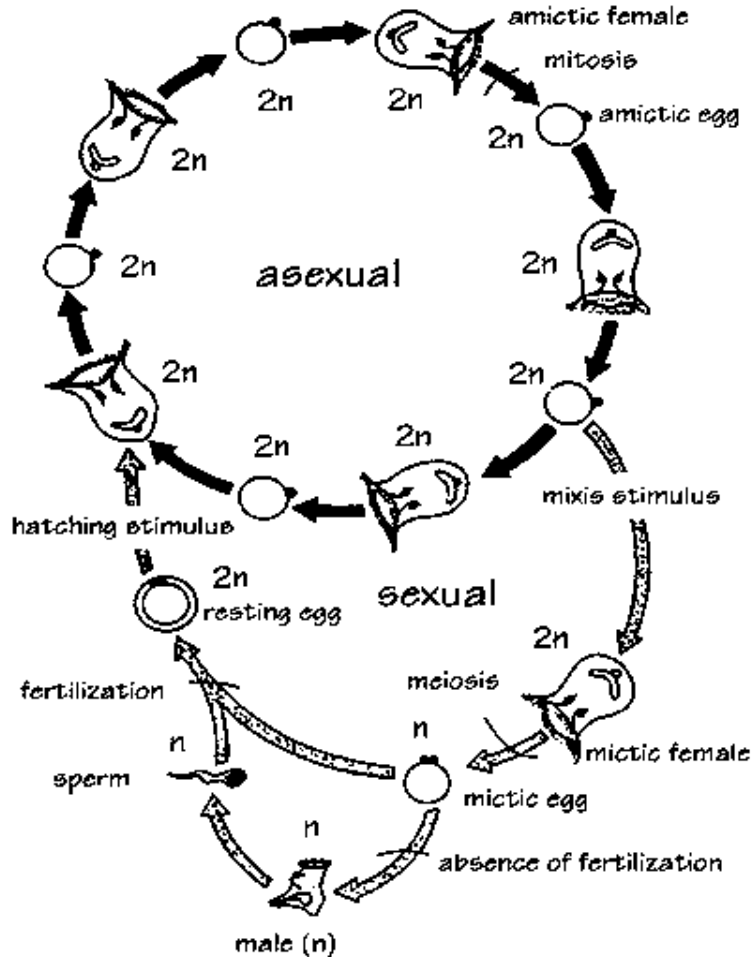


شکل ۲- روتیفر فرم L (*Brachionus plicatilis*)، ماده و نر

زیست شناسی و چرخه زیستی :

طول عمر روتیفرها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۱۰ تا ۱۵ روز و حتی در شرایط پرورشی تا ۲۰ روز می باشد. در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد جمعیت روتیفرها عموماً بین ۳/۴ تا ۴/۴ روز تخمین زده می شود. معمولاً لارو بعد از ۰/۵ تا ۱/۵ روز بالغ می شود و بعد از آن ماده ها شروع به گذاشتن تخم، تقریباً هر ۴ ساعت یکبار می کنند. ماده ها قادرند قبل از مردنشان ده نسل را تولید بکنند. فعالیت تولید مثل جنس *Brachionus* وابسته به شرایط دمایی محیط است. روتیفرها دو نوع تولید مثل دارند، در شرایط مساعد ماده ها تولید مثل بکرزایی (parthenogenesis) دارند که ماده های آمیکتیک (amictic) تخمهای دیپلوئید (۲n کروموزومی) آمیکتیک تولید می کنند که از طریق تقسیم میتوزی به جنس ماده دیپلوئید آمیکتیک بوجود می آیند. در شرایط نام مساعد ماده های روتیفر به تولید مثل جنسی روی می آورند که منجر به تولید ماده های آمیکتیک و میکتیک (mictic) می شود که آنها از نظر ظاهری قابل تشخیص نیستند. ماده ها میکتیک به روش بکرزایی و از طریق تقسیم میوزی تخمهای هاپلوئید تولید می کنند. چنانچه ماده های میکتیک جفت گیری نکنند و تخم های آنها لقاح نیابند، این تخمهای هاپلوئید روتیفرهای نر را به وجود می آورد که هاپلوئید (n کروموزومی) هستند و اندازه ای بسیار کوچکتر از ماده (حدود یک چهارم) دارند. نرها بسیاری از ارگانهای زیستی مانند

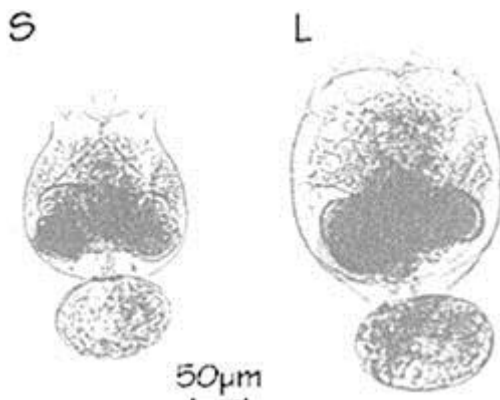
دستگاه گوارش را ندارند و تنها یک گناد تک دارند که پر از اسپرم است. وظیفه نر تنها جفت گیری کردن با ماده هایی میکتیک و تلقیح تخم $2n$ کروموزومی آنها می باشد و بعد از جفت گیری می میرند. پس لقاح تخم مقاوم تولید می شود که این تخمهای دیپلوئید می توانند شرایط سخت محیطی را تحمل کنند و نسل روتیفرها را از این شرایط سخت عبور دهند. وقتی شرایط محیطی مساعد شد این تخمهای مقاوم شکفته شده ماده های دیپلوئید تولید خواهند کرد که آنها تا وقتی که شرایط مساعد است به روش بکرزایی تولید مثل خود را ادامه خواهند داد. بدین ترتیب روتیفرها می توانند نسل خود را در شرایط مختلف حفظ کنند.



شکل ۳- چرخه تولیدمثل روتیفر در دو حالت بکرزایی و جنسی

اختلافات نژادی :

تنها تعداد کمی از گونه های روتیفر متعلق به جنس *Brachionus* در آبی پروری مورد استفاده قرار می گیرند. گونه ای که در تمام نقاط دنیا پرورش داده می شود گونه *Brachionus plicatilis* است که در آبهای شور داخلی و لب شور ساحلی پرورش داده می شود.



شکل ۴- *Brachionus rotundiformis* یا نوع S (سمت چپ) و *Brachionus plicatilis* یا نوع L (سمت راست)

برای استفاده در آبی پروری یک تقسیم بندی ساده بر اساس دو مورفوتیپ مختلف به نام *Brachionus rotundiformis* یا روتیفرهای کوچک (S-type) و *Brachionus plicatilis* یا روتیفرهای بزرگ (L-type) وجود دارد. اختلافات بین این دو نوع را به راحتی با توجه به خصوصیات ریخت شناسی آنها تشخیص داد: طول لوریکای نوع L در محدوده ۱۳۰ تا ۳۴۰ میکرومتر (میانگین ۲۳۹ میکرومتر) و در مورد نوع S در محدوده ۱۰۰ تا ۲۱۰ میکرومتر (میانگین ۱۶۰ میکرومتر) می باشد. علاوه بر این لوریکای نوع S دارای خارهای نوک تیز است در حالیکه نوع L خارهایی با زاویه باز هستند.

در آبی پروری مناطق گرمسیری برای تغذیه اولیه لارو ماهیان دریایی از قبیل هامور که دهانی کوچکتر از ۱۰۰ میکرومتر دارند، نوع خاصی تحت عنوان (Super small rotifers) ss-type ترجیح داده می شود. این روتیفرها مشخصاً به لحاظ ژنتیکی از نوع s-type جدا نیستند ولی از s-type ها معمولی کوچکتر هستند. در ایران بجای استفاده از نوع ss-type از لارو تازه هچ شده روتیفر که baby نامیده می شود و اندازه ای بین ۱۰۰ - ۶۰ میکرومتر دارند استفاده می شود.

انواع s-type و L-type همچنین از لحاظ شرایط بهینه دمایی برای رشد نیز با یکدیگر فرق می کنند. S-type بهترین رشد را در دمای ۲۸ - ۳۵ درجه سانتی گراد دارد در حالیکه نوع L-type بهترین رشد را در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد دارد. اگر این دو نوع با یکدیگر آلوده شوند با تغییر در دمای پرورش آنها می توان کشتهای خالص از آنها جدا کرد به این ترتیب که با نگهداری دمای کشت در محدود ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد می توان نوع L و با افزایش دما تا حد ۲۸ تا ۳۵ درجه سانتی گراد و نگه داشتن در آن دما می توان نوع S را داشته باشیم. اختلاف اندازه های درون گونه های ممکن است به خاطر سطح شوری یا رژیم غذایی پیش بیاید که این چند شکلی ها حداکثر تا ۱۵ در صد خواهد بود. روتیفرهای تغذیه شده با مخمر نانواپی در مقایسه با روتیفرهای تغذیه شده با ریزجلیکها، معمولاً بزرگتر هستند.

در ایران (ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره)) نوع S (*Brachionus rotundiformis*) پرورش و برای تغذیه لارو ماهیان دریایی مورد استفاده قرار می گیرد.

شرایط عمومی پرورش روتیفرهای دریایی (marine rotifers):

شوری (salinity):

هر چند روتیفر می تواند دامنه وسیعی از شوری محدوده ۱ تا ۹۷ قسمت در هزار را تحمل کند ولی بهترین شرایط تولید مثلی را در شوری زیر ۳۵ ppt (۱۰ تا ۳۵ قسمت در هزار) دارد. در ایران (بندر امام خمینی) برای پرورش روتیفر *Brachionus rotundiformis* از شوری ۱۲۵ ppt استفاده می گردد. در یک مطالعه تاثیر شوری های مختلف بر کشتهای روتیفر مشاهده شد که روتیفر نوع S بیشترین میزان افزایش جمعیت در یک دوره ۴۸ ساعته پرورش در شوری ۲۰ قسمت در هزار بدست آمد، همچنین در این شوری بیشترین میزان جمعیت روتیفر بالغ، روتیفرهای تخمدار و بچه روتیفر (baby) بدست آمد که نشان می دهد که بهترین شوری برای پرورش این روتیفر شوری ۲۰ قسمت در هزار است (منعم، ۱۳۹۰).

دما (temperature):

انتخاب دمای بهینه پرورش وابسته به نوع مورفوتایپ (morphotype) روتیفر است. نوع L-type روتیفرها در دمای پایینتری نسبت به نوع S-type پرورش داده می شوند. (L-type در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و S-type در دمای ۳۵ - ۲۸ درجه سانتی گراد). عموماً افزایش دما در محدوده مناسب معمولاً باعث افزایش فعالیت تولید مثلی روتیفر می گردد. در ایران (ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی) با توجه به اینکه نوع S-type پرورش داده می شود پس دمای پرورش را سعی می شود در محدوده ۳۲ - ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شود. لذا بهتر است که پرورش روتیفر در داخل سالن یا گلخانه ای که بتوان دمای آنرا کنترل نمود صورت گیرد. برای کنترل دمای کشتهای روتیفر در محدوده مورد نظر هم می توان با استفاده از دستگاه های گرمازا یا سرمازا دمای سالن کشت را در آن محدوده نگه داشت، چرا که در تانکهای کشت روتیفر از آب جاری استفاده نمی شود و با کنترل کردن دمای سالن کشت می توان دمای آب کشتهای روتیفر را نیز کنترل کرد. البته در بیشتر موارد برای کشتهای روتیفر نوع S که دمای پرورش آنها ۲۸ تا ۳۵ درجه سانتی گراد است، لازم می شود که دمای تانکهای کشت را به خصوص در حد فصل آبان ماه تا اواخر فروردین (در شرایط بندرامام خمینی)، افزایش داد که این کار را می توان با گذاشتن هیترهای آکواریوم مناسب در تانکهای کشت انجام داد. تجربیات ما ثابت کرده است که در محدوده دمایی مناسب برای پرورش روتیفر نوع S هر چه دمای تانکهای کشت بیشتر باشد، روتیفرهایی با اندازه کوچکتر تولید می شود.

جدول ۱- اثر دما بر فاکتورهای مختلف زندگی روتیفر فرم L (*Brachionus plicatilis*)

فاکتور	۲۵ °C	۲۰ °C	۱۵ °C
مدت تکامل جنینی (روز)	۰/۶	۱/۰	۱/۳
مدت زمانی که لازم است تا لارو برای اولین بار تخم بگذارد (روز)	۱/۳	۱/۹	۳/۰
فاصله زمانی بین دو تخم گذاری (ساعت)	۴/۰	۵/۳	۷/۰
مدت زمان زندگی (روز)	۷	۱۰	۱۵
تعداد تخمهایی که توسط یک ماده در طول عمر گذاشته می شود.	۲۰	۲۳	۲۳

ممکن است جمعیت روتیفرهایی که در یک مرکز تکثیر ماهیان دریایی یا میگو کشت داده می شوند، جمعیت خالص از یک نوع نباشند. مثلاً اگر مرکز تکثیری روتیفر نوع S را پرورش می دهد ممکن است مقدار کمی جمعیت نوع L نیز در بین جمعیت روتیفرها نوع S وجود داشته باشد که اگر دمای پرورش در مقطعی از پرورش در محدوده مناسب برای نوع L قرار گیرد (مثلاً در زمستانها) ممکن است جمعیت نوع L غالب شود که کار شنا سان پرورش روتیفر باید مراقب این موضوع

باشند. مساله دیگری که ممکن است در کار پرورش روتیفر نوع S به لحاظ دمایی مشکل ساز شود این است که ریزجلبک نانوکلوپوسیس اوکولاتا در دمای بالاتر از ۲۷ درجه سانتی گراد به تدریج تلف می شوند و اگر به مدت طولانی در این دما بماند ممکن است کراش کند. برای حل این مشکل می توان این ریزجلبک ها را تا لحظه استفاده در دمای زیر ۲۷ درجه نگهداری کرد و پس از استفاده برای کشت دمای آن را کم کم بالا برد.

اکسیژن محلول (dissolved oxygen):

روتیفرها در آبهایی که اکسیژن محلول آنها تا حد ۲ mg/lit می باشد هم قادر به زندگی هستند. روتیفرها دستگاه تنفس ندارند و اکسیژن مورد نیاز خود را از طریق انتشار از طریق سپر محافظ دریافت می کنند. سطح اکسیژن محلول در آب کشتهای روتیفرها بستگی به دما، شوری، تراکم روتیفر و نوع غذایی که استفاده می شود دارد. هوادهی نباید آنقدر قوی باشد که به لحاظ فیزیکی آسیبی به روتیفرها برسد.

pH:

روتیفرها در سطوح pH بالای ۶/۶ زندگی می کنند. ولی بهترین نتایج در شرایط پرورش در pH بالای ۷/۵ بدست آمده است. روتیفرها نوسانات pH از ۴/۵ تا ۱۱ را تحمل نموده و زندگی عادی خود را ادامه می دهند. بهینه pH برای رشد روتیفرها از ۷ تا ۱۰ گزارش شده است. این نشان می دهد که روتیفرها دامنه تحمل pH بالایی دارند.

نور:

میزان نور باید در محدوده ۳۰۰۰ تا ۵۰۰۰ لوکس قرار داشته باشد. مدت روشنایی نیز مهم است و باید ۱۶ ساعت دوره روشنایی داشته باشیم.

آمونیم:

سطح بالای آمونیاک برای روتیفر کشنده است و بهترین شرایط پرورش در غلظتهای آمونیاک کمتر از ۱ mg/lit بدست آمده است. هر چه pH بالاتر باشد اثرات سوء آمونیاک بیشتر می باشد. آمونیاک یونیزه (NH_4^+) خطرناک نیست ولی چون در اسیدیته بالا به NH_3 تبدیل می شود که خطرناک می باشد.

تغذیه روتیفرها:

روتیفرهای نوع S (*Brachionus rotundiformis*) از جلبک ها و باکتری ها تغذیه می کنند. روتیفرها غذای خود را با حرکت مژه های اطراف قیفی شکل آب را به طرف حفره دهان می برند و به این ترتیب ذرات غذایی آب را می گیرند.

روتیفرها جانورانی پرخور هستند. یک نژاد خالص از نوع L هر روز حدود ۱۱۵۰۰۰ سلول ریزجلبک نانوکلوپوسیس را مصرف می کند، لذا با توجه به تراکم ذخیره سازی باید میزان ریزجلبک مصرفی برای آن را تنظیم کرد. به طور مثال اگر یک کشت روتیفری با تراکم ۱۰۰ عدد در سی سی کشت داده شود و با توجه به اینکه در شرایط عادی بیوماس روتیفرها در ۲۴ ساعت دو تا سه برابر می شود، برای تغذیه یک روز این کشت لازم است که میزان تراکم ریزجلبکی در آنها از ۱۷ تا ۲۳

میلیون سلول در سی سی فراهم باشد. برای تغذیه روتیفرهای در حال رشد ترکیبی از ۹۰ درصد ریزجلبک *Nannochloropsis* و ۱۰ درصد ریزجلبک *Tetraselmis* پیشنهاد شده است. البته می توان به جای ریزجلبک *Tetraselmis* از ریزجلبک *Isochrysis* استفاده کرد. نکته کلیدی در حفظ موفق یک کشت روتیفر، نگهداری مقدار صحیح جلبک در آب است. اگر جلبک زیادی به آب اضافه کنید، خورده نخواهند شد و در نهایت منجر به آلودگی آب می شود و احتمالاً ممکن است سبب آلودگی باکتریایی شود و اگر مقدار اندکی ریزجلبک اضافه کنید جانوران گر سنه مانده و شروع به تولید روتیفر نر می کنند و در نهایت سیست تشکیل می شود. روتیفرها در آب نیاز به ذخیره پایداری از ریزجلبک های آزاد دارند تا به آن ها اجازه مصرف مداوم را بدهد. به علت بالا بودن شدت متابولیسم در آن ها حدود ۲-۴ ساعت پس از آن که تمامی فیتوپلانکتون های در دسترس شان را به اتمام برسانند شکمشان خالی می شود و گرسنگی شدید به آن ها دست می دهد به طوری که شوک به سیستم بدنی آن ها وارد کرده و سبب قطع قدرت تولیدمثل آن ها می شود. غیر از ریزجلبک های یاد شده برای تغذیه روتیفرهای *B. rotundiformis* می توان از ریزجلبکهای *Chlorella* یا ریزجلبکهای مشابه آن (ریزجلبکهایی با اندازه قطر سلول کمتر از ۱۰ میکرومتر) استفاده کرد. همچنین در پرورش انبوه این روتیفر علاوه بر ریزجلبکهای مختلف از مخمر نانوائی نیز استفاده می شود. مخمرها غذای مناسب و خوبی هستند ولی روتیفرهایی که فقط از مخمر تغذیه شده باشند ارزش غذایی چندانی برای آبزیان پرورشی ندارند. مخمر نانوائی اندازه کوچکی دارد (۷-۵ میکرومتر) و دارای پروتئین بالایی است و به عنوان یک رژیم غذایی پذیرفته شده برای روتیفرهای *Brachionus* می باشد. از جمله موجوداتی که می توان برای تغذیه روتیفرها استفاده کرد باکتری های *Acinetobacter* و *Pseudomonas* می باشد. این باکتری ها ویتامین B₁₂ را تولید می کنند که این ویتامین توسط روتیفرها مصرف شده و سرانجام مورد استفاده آبزیان پرورشی قرار خواهند گرفت. در هنگام تغذیه روتیفرها با باکتری باید دقت شود تا باکتری ویبریو تولید نشود چون برای روتیفرها مضر می باشد. همچنین انواعی از غذاهای مصنوعی مانند سوپرسلکو، کالچرسلکو و پروتئین سلکو تولید دشه و با توجه به انواع اسیدآمینه و چربی و سایر مواد تقسیم بندی می شوند که می توان آنها را برای تغذیه روتیفر به کار برد. در رژیم غذایی که مقدار HUFA در حد عالی باشد روتیفرها دارای رشد خوبی هستند. در پرورش لارو ماهیان دریایی DHA بسیار مهم است و بیشترین تلاشهای اخیر در جهت افزایش سطح DHA و یا نسبت یالای DHA/EPA در روتیفرها است. این نوع ترکیبات به عنوان یک جایگزین برای ریزجلبک ها فرموله شده اند. این ذرات دارای اندازه ای چند میکرومتری می باشند که به طور عمده در ستون آب باقی می مانند.

روشهای پرورش (culture production):

معمولاً پرورش متراکم روتیفرها به صورت کشت دوره ای (batch culture) در داخل سالن صورت می گیرد. که اخیراً در کشورهایی که شرایط آب و هوایی مناسبی جهت کشتهای بیرون ندارند ترجیح داده می شوند. اساساً استراتژی پرورش در داخل سالن (indoor) یا بیرون (outdoor) مشابه است. اما در داخل سالن در تانکهایی با حجم کمتر (معمولاً یک تا دو مترمکعب) می توان با تراکم بالاتری کشت داد و با تراکم بالاتری نیز برداشت کرد.

مواد و وسایل مورد نیاز:

- تانک فایبرگلاس با ظرفیت ۰/۵ تا ۲ مترمکعبی مجهز به خروجی مرکزی
- شلنگ ها و سنگ های هوا
- ریزجلبک مثل ریزجلبک *Nannochloropsis oculata*
- مخمر نانوائی

- توری های کیسه ای نایتکس با اندازه چشمه های ۴۵ تا ۱۰۰ میکرومتری
- سطل های پلاستیکی با گنجایشهای مختلف و ترجیحاً مدرج
- میکروسکوپ نوری یا لوپ به همراه لام حفره دار جهت شمارش
- ترازو با دقت بالا
- منبع آب شیرین و آب مقطر
- منبع آب دریا
- هیتر غوطه ور در آب (ضد آب) و یا سیستم گرمایش مناسب
- شوری سنج، pH متر، دماسنج، اکسیژن متر
- پیپت و وسایل نمونه برداری
- ارلن و بشر آزمایشگاهی در حجم های مختلف

کشت ذخیره روتیفرها (stock culture of rotifers):

پرورش تعداد زیادی از روتیفرها بر اساس استفاده از ریزجلبک، مخمر نانویی و غذاهای مصنوعی استوار است. همیشه احتمال گرفتار شدن در خطر مرگ ناگهانی جمعیت وجود دارد. کوتاهی های انسان، کمبود امکانات، همچنین آلودگیهای ناشی از عوامل بیماریزا یا فیلتر فیدرهای رقیب از عوامل اصلی کاهش زاد و ولد روتیفرها هستند که در نهایت می تواند باعث نابودی کل جمعیت گردد. اعتماد کردن به کشتهای انبوه برای کشت مجدد می تواند عملی مخاطره آمیزی باشد. به منظور به حداقل رساندن این خطر، معمولاً کشتهای ذخیره کوچکی داخل لوله هایی (ویال vials) در شرایط محیط بسته و ایزوله به منظور جلوگیری کردن از آلودگیهای ناشی از باکتریها و مژه داران صورت می گیرد. این کشتهای ذخیره که لازم است بتوانند در اسرع وقت جمعیتهای زیادی از روتیفر را تولید کنند معمولاً در محیط سر شار از جلبک نگهداری می شوند.

روتیفرهایی که برای کشتهای ذخیره استفاده می شوند می تواند از طبیعت، یا موسسات تحقیقاتی یا کارگاههای تکثیر تجاری بدست آمده باشند. بهر حال قبل از آنکه چرخه تولید آغاز شود باید روتیفر مادر (روتیفر منشاء) ضد عفونی گردد. یکی از مؤثرترین گندزدایی ها عبارتند از کشتن روتیفرهایی که شنای آزاد دارند بوسیله محلول آنتی بیوتیکها طوری که تخمها زنده بمانند. (مثل اریترومايسين ۱۰ mg/lit و پنی سیلین ۱۰۰ mg/ml، کلروامفنیکل ۱۰ mg/ml) سپس تخمها با استفاده از توریهای ۵۰ میکرومتر از اجساد جدا شده و در شرایط مناسب نگهداری می شوند تا لاروهای روتیفر از تخمها خارج شوند و از این نتایج برای شروع کار پرورش استفاده می کنند. این کشتهای داخل لوله ایی (vials) مخروطی با حجم حدود ۵۰ ml پرورش داده می شوند، بسته به تیپ روتیفر مورد نظر دمای کشتهای کنترل می شوند (دمای ۲۸ - ۳۲ درجه سانتی گراد برای روتیفر s-type یا دمای ۲۶ - ۲۵ درجه سانتی گراد L-type)، و توسط ریزجلبک (ترجیحاً *N. oculata*) غذادهی می شوند طوری که همواره تراکم ریزجلبک در محیط کشت آنها در حد ۲۰ - ۱۲ میلیون سلول در سی سی نگه داشته شود. برای کشت این ویالها می توان از تخمهای ضد عفونی شده را با تراکم ۱۰ تا ۵۰ عدد در سی سی ذخیره سازی کرد.

در یک کارگاه تکثیر ماهیان دریایی یا میگو که در آن پرورش روتیفر جزء فعالیتهاى روزمره کارگاه می باشد نیز در تمام طول سال باید کشتهای ذخیره روتیفر وجود داشته باشند. برای این منظور می توان اگر به ویال های کشت فوق دسترسی وجود نداشته باشد می توان به راحتی از بطری های ۰/۵ تا ۱/۵ لیتری (مانند بطری های پلاستیکی نوشابه یا آب معدنی)

استفاده کرد. در این کشتهای ذخیره همیشه باید از ریزجلبکهای مانند نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در سی سی برای تغذیه روتیفرها استفاده کرد. همچنین در این کشتها به جای استفاده از تراکمه‌های بالای کشت می توان از تراکم بسیار پایینتر (۱۰ تا ۵۰ عدد در سی سی) استفاده کرد. همچنین می توان از استراتژی کشت یک هفته ای استفاده کرد به این ترتیب که در ابتدا در درون ظروف کشت به مقدار ۵ درصد حجم نهایی ظرف کشت جلبک تازه ریخت و آنرا با تراکم ۵۰ عدد در سی سی با روتیفر (بالغ، بچه روتیفر و یا تخم روتیفر) ذخیره سازی کرد و در ادامه هر روز حجم کشت را با استفاده از ریزجلبک تازه دو برابر کرد. البته برای غذایی به روتیفر همیشه باید به میزان مصرف ریزجلبکها توسط روتیفرها دقت شود و با توجه به رنگ آب کشت ها و همچنین میزان تراکم سلولی ریزجلبک می توان مقدار غذای لازم را تنظیم کرد. بدین ترتیب پس ۵ تا ۷ روز ظروف کشت پر خواهند شد و کشت ها باید تجدید بشوند یعنی در یک ظرف خالی دیگر به قرار فوق دوباره کشت داد و پرورش را ادامه داد.

روش دیگر این است که در همان روز اول می توان کل حجم ظرف کشت را از ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم مناسب پر کرد و با مقدار تراکم بسیار پایین تر (مثلاً ۵ عدد در سی سی و یا حتی کمتر) آن را کشت داد و شرایط لازم را برای آن فراهم کرد و تا زمانی که کشت ها از ریزجلبک خالی شود (رنگ آب کشت نشان خواهد داد) کشتها را دنبال کرد و پس از آنکه مشاهده شد روتیفرها غذای درون ظرف را مصرف کرده و رنگ آب کشت نسبتاً شفاف شده باید کشت ها تجدید شوند.

بهتر است همیشه چند ظرف کشت ذخیره داشته باشید تا در صورت بروز اتفاق حداقل یکی از کشتها سالم بمانند.



شکل ۵- کشت روتیفر در ویالهای ۵۰ میلی لیتری و ارلن های ۵۰۰ سی سی بعنوان ذخیره سازی (stock culture) در محیط آزمایشگاه

ارتقاء کشتهای ذخیره به کشتهای آغازین:

در صورتی که بخواهیم برای شروع کشت های با حجم بالای روتیفر از کشت های روتیفرهای موجود در ویالهای ۵۰ سی سی استفاده کنیم، کشتهای ذخیره به داخل ارلنهای ۵۰۰ میلی لیتری که شدت نور ۵۰۰۰ لوکس بو سیله لامپهای فلورسنت و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد برای آنها مهیا شده، منتقل می گردد. روتیفرها با تراکم ۵۰ عدد در میلی لیتر در آن ذخیره سازی می شوند و با افزایش ۴۰۰ سی سی ریزجلبک تازه برداشت شده (ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در سی سی) غذایی می شوند و هر روز حدود ۵۰ میلی لیتر ریزجلبک به آن اضافه می گردد تا

غذادهی آنها فراهم گردد برای اینکار باید مقداری از آب کشت را با استفاده از فیلتر ۵۰ میکرومتر کم کرده و در فضای خالی شده ریزجلبک تازه اضافه کرد. بعد از سه روز تراکم روتیفرها می تواند تا حد ۲۰۰ عدد در میلی لیتر اضافه گردد. در طول این دوره پرورش کوتاه لازم نیست هوادهی صورت گیرد.

وقتی تراکم به ۳۰۰ - ۲۰۰ عدد در میلی لیتر رسید محتویات ارلن کشت روتیفر از دو نوع فیلتر گذرانده می شوند، فیلتر بالایی با اندازه چشمه های ۲۰۰ میکرومتری اجسام بزرگتر را جدا می کند و پایینی فیلتر ۵۰ میکرونی که روتیفرها را جمع می کند. سپس روتیفر متراکم را در داخل بشکه های ۱۵ لیتری ریخته می شود و تا دو لیتر آبگیری می شود طوری که تراکم اولیه به ۵۰ عدد در میلی لیتر برسد. در اینجا هوادهی لازم است. هر روز جلبک تازه به آن اضافه می گردد، هر روز روتیفرها بوسیله فیلترهای دوتایی (double-screen filtration) تمیز می شود و با تراکم ۲۰۰ عدد در میلی لیتر دوباره ذخیره سازی می شوند. بعد از یک هفته غذادهی بوسیله جلبک بشکه ۱۵ لیتری پر خواهد شد و کشت برای تلقیح در کشتهای انبوه دوره ای آماده خواهد بود.

روتیفرها قدرت تولیدمثلی بسیار بالایی دارند و در مدت زمان کوتاهی می توان به جمعیت زیادی از آنها دست یافت. با روتیفرهای درون یک بشکه ۱۵ لیتری به راحتی می توان یک تانک ۱۰۰۰ لیتری را کشت داد. به این ترتیب که در داخل تانک کشت به میزان ۱۰۰ لیتر با ریزجلبک تازه با تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در سی سی ریخته می شود و روتیفرهای برداشت شده از بشکه ۱۵ لیتری به آن اضافه می گردد و هر روز با ریزجلبک تازه غذادهی می شوند تا در نهایت وقتی تانک پر شده، برداشت شده و از روتیفرهای آن می توان برای کشت دادن تانکهای دیگر استفاده کرد.

تولید انبوه (mass production):

تولید انبوه می تواند به سه صورت زیر صورت گیرد:

۱ - کشت انبوه فقط با استفاده از جلبک

۲ - کشت انبوه فقط با استفاده از مخمر نانوائی

۳ - کشت انبوه با استفاده از جلبک و مخمر نانوائی توأم

اغلب لازم می شود که از روش سوم برای اینکار استفاده شود.

بدون تردید، ریزجلبک دریایی (مثل *Nannochloropsis*) بهترین رژیم غذایی برای روتیفرهاست و اگر به اندازه کافی جلبک در دسترس باشد و از مدیریت مناسبی پیروی شود می توان محصول بسیار بالایی را برداشت کرد. متأسفانه در اغلب مکانها امکانپذیر نیست که همیشه جلبک شکوفا شده بطور مداوم روزانه در دسترس باشد لذا در اغلب مراکز لازم می شود از استراتژی سوم (یعنی تغذیه توأم با ریزجلبک و مخمر نانوائی) استفاده شود.

بسته به روش و کیفیت جلبک شکوفا شده ممکن است مخمر نانوائی برای پرورش روتیفر مناسب باشد. مقدار تغذیه بوسیله مخمر روزانه نیم تا یک گرم مخمر به ازای یک میلیون روتیفر است، هر چند این میزان بسته به نوع روتیفر (S-type یا L-type) و شرایط پرورش متفاوت است. تا آنجا که امکان دارد بیشتر از جلبک استفاده می شود.

تولید انبوه روتیفر با استفاده از جلبک و مخمر می تواند به یکی روشهای زیر صورت گیرد:

۱ - پرورش دسته ای - دوره ای (batch culture)

۲ - پرورش کشت مداوم (continuous culture)

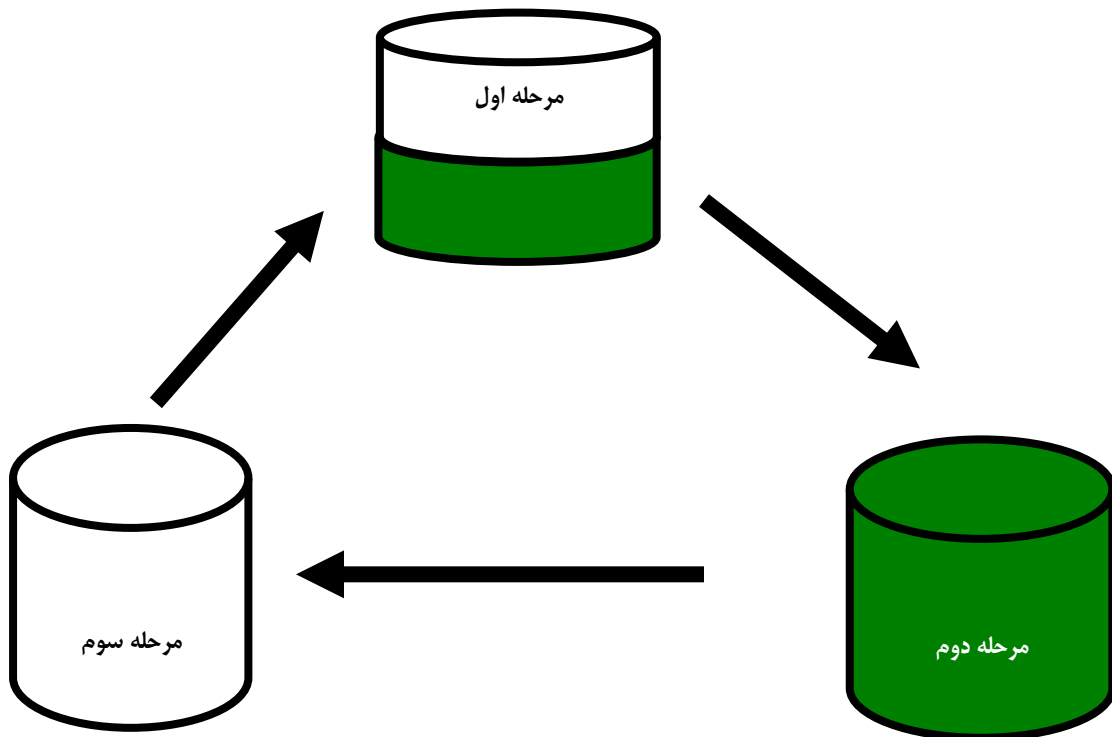
۳ - پرورش نیمه مداوم (Semi-continuous culture)

۱ - پرورش دسته ای - دوره ای (batch culture):

علی رغم بازدهی نه چندان بالا، روش پرورش دوره ای معمول ترین روش برای پرورش انبوه روتیفر می باشد که دلیل کاربرد وسیع این روش سادگی این روش می باشد. در این روش از تانکهای یک مترمکعبی (یک تنی) استفاده می شود. بدلیل کوتاه بودن زمان تولید نسل روتیفرها در تولید مثل غیر جنسی (بکرزایی)، پرورش دهندگان ترجیح می دهند که آنها را مجبور به تولید مثل غیرجنسی بنمایند که این با تنظیم میزان غذا، درجه حرارت آب، شوری و هوادهی طی فرآیند پرورش صورت می گیرد.

پارامترهای مؤثر روزانه عبارتند از: فراهم نمودن تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در میلی لیتر ریزجلبک *Nannochloropsis oculata* (یا جلبکی مشابه آن) برای روتیفرها، تغذیه روتیفر با مخمر فشرده شده تازه به میزان ۰/۵ - ۰/۲۵ گرم به ازای یک میلیون روتیفر، فراهم نمودن درجه حرارت ۲۸ - ۳۲ درجه سانتی گراد (برای s-type) و شوری آب ۲۵ ppt.

شکل شماتیک برای تولید انبوه روتیفر به روش پرورش دوره ای (batch culture) در تانکهای ۱۰۰۰ لیتری.



شکل ۶- تصویر شماتیک از روش کشت مرحله ای یا توده ای (batch culture)

مرحله اول: در یک تانک ۱۰۰۰ لیتری، ۵۰۰ لیتر آب شور حاوی ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در میلی لیتر آگیری می شود سپس با تراکم ۱۵۰ - ۱۰۰ عدد در میلی لیتر روتیفر به آن تلقیح می شود.

مرحله دوم: ۲۴ ساعت بعد تانک پرورش روتیفر با آب حاوی ریزجلبک تازه نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم ۱۲ تا ۲۰ میلیون سلول در میلی لیتر می شود

مرحله سوم: روتیفرها با استفاده از توری ۵۰ میکرومتر برداشت می شود و پس از شمارش و تعیین تراکم جهت تغذیه لارو ماهیان دریایی یا لارو میگوها استفاده می گردد. تانکها شسته شده، ضدعفونی می شود و برای کشت دوره بعدی آماده می شود.

روش کشت روتیفر در بندر امام خمینی (ره):

در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) برای کشت انبوه روتیفر از روش پرورش دوره ای (batch culture) در داخل تانکهای یک مترمکعبی (۱۰۰۰ لیتری) در داخل سالن استفاده می شود. روش کار به صورت زیر است:



شکل ۷- سالن کشت روتیفر نوع *S (Brachionus rotundiformis)* ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) با تانکهای کشت یک مترمکعبی با ظرفیت برداشت حدود ۳ میلیارد روتیفر در روز (عکس از مؤلف)

ابتدا تانکهای یک تنی خوب شسته و ضد عفونی می گردد، سپس این تانکها تا نصف (۵۰۰ لیتر) با آب شور حاوی ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا با تراکم ۲۰ - ۱۲ میلیون سلول در سی سی آگیری می شود. شوری آب شور حاوی ریزجلبک در حد ۲۵ قسمت در هزار تنظیم می شود، معمولاً ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا در تانکهای پرورش انبوه با شوری ۲۰ قسمت در هزار پرورش داده می شود و چون تحت تابش خورشید هستند مقداری از آب آنها تبخیر می شود و طبعاً شوری آن مقداری بیشتر می شود. همین ریزجلبک ها برداشت شده و با استفاده از پمپ کف کش به بخش پرورش روتیفر منتقل می شود و برای کشت دادن روتیفر استفاده می شود و معمولاً نیازی به تنظیم مجدد شوری آن نمی باشد.

کشته‌ها داخل سالنی که سعی می‌شود دمای آن در حدی نگهداری شود که دمای آب داخل تانکهای پرورش در حد ۳۲ - ۲۸ درجه سانتی‌گراد ثابت بماند صورت می‌گیرد برای این منظور در فصول سرد سال از بخاری برقی فن دار استفاده می‌شود و در فصل گرما (از اردیبهشت ماه تا اواخر شهریور) نیازی به استفاده از بخاری برای گرم کردن سالن نیست. روشنایی بوسیله لامپهای فلورسنت و یا لامپ‌های کم مصرف و هوادهی بوسیله پمپهای هوا که از طریق لوله و شلنگ هواده هدایت می‌شود تامین می‌گردد.

روتیفرها با تراکم ۱۰۰ تا ۱۵۰ عدد در میلی لیتر در تانکها تلقیح می‌شود (یعنی برای هر تانک که داخل آن ۵۰۰ لیتر آب حاوی جلبک وجود دارد حدود ۵۰۰۰۰۰۰ تا ۷۵۰۰۰۰۰۰ روتیفر برای تلقیح اولیه لازم است). روتیفرهای موجود در داخل تانکهای کشت شروع به تغذیه از ریزجلبکهای موجود در تانک می‌کنند و با تولید مثلی سریع جمعیتش زیاد می‌شود و تا چند ساعت بعد از کشت ریزجلبکهای موجود در آن مورد تغذیه قرار خواهند گرفت.

حدود شش ساعت بعد از معرفی روتیفرها به داخل تانکهای پرورش، به ازای هر یک میلیون روتیفر با مقدار ۰/۲۵ گرم مخمر نانوائی غذادهی می‌شوند (یعنی برای تغذیه روتیفرهای هر تانک بر اساس میزان بیوماس ذخیره شده در زمان کشت در مثال فوق، مقدار ۱۲/۵ تا ۱۸/۷۵ گرم مخمر نانوائی لازم است در اینجا مبنای محاسبه تراکم تلقیح اولیه است). در هنگام تغذیه کشتهای روتیفر با مخمر نانوائی باید دقت شود که ابتدا مقدار مخمر مورد نیاز را در یک ظرف کوچکتر به مدت حدود یک تا دو ساعت در آب بخیسانیم تا اصطلاحاً مخمرها فعال شوند و سپس آنرا به کشت روتیفر اضافه می‌کنیم. حدود ۲۴ ساعت پس از معرفی روتیفرها به داخل تانکها، بیوماس و در نتیجه تراکم روتیفرهای موجود در تانکهای پرورش حداقل دو برابر خواهد شد و آب کشت درون تانک تقریباً از نظر ریزجلبک در اثر تغذیه روتیفرها تخلیه خواهد شد که این امر از میزان شفافیت آب تانکها مشهود خواهد بود. این امر یعنی اینکه در داخل تانکها دیگر ریزجلبک به اندازه کافی برای تغذیه جمعیت دو برابر شده روتیفرها وجود نخواهد داشت. لذا لازم می‌شود که به آنها غذادهی صورت بگیرد که در این جا برای غذادهی از ریزجلبک تازه نانوکروپسیس اوکولاتا استفاده می‌شود. فضای خالی موجود در تانکهای کشت با آب شور حاوی ریزجلبک نانوکروپسیس اوکولاتا با تراکم ۲۰ - ۱۲ میلیون سلول در سی سی پر می‌شود. البته اگر ریزجلبکی با تراکم بیشتر در دسترس باشد، بهتر است که از آن استفاده شود. دقت باید شود که شوری آب در حد ۲۵ ppt باشد تا از وارد شدن شک به روتیفرها جلوگیری شود. با اینکار تراکم روتیفرهای موجود در اثر دو برابر شدن حجم آب موجود در تانک، دوباره به حالت اول (زمان کشت) برمی‌گردد و فضای برای افزایش جمعیت بیشتر فراهم خواهد شد.

عصر روز دوم (۳۶ ساعت پس از معرفی روتیفرها به داخل تانکها) باز لازم می‌شود که با استفاده از ریزجلبک غذادهی شود چرا که ریزجلبکهای موجود در تانک تقریباً به صورت کامل مصرف شده است ولی دیگر در تانکها فضای خالی برای افزودن ریزجلبک به آنها وجود ندارد ولی می‌توان با استفاده از توری ۴۰ تا ۵۰ میکرومتری حجم تانک را کم کرد تا فضای خالی برای افزودن مجدد ریزجلبک به آن ایجاد شود. کاهش حجم تانک به این صورت است که یک سر شلنگ تخلیه را داخل تانک قرار می‌دهند و به سر دیگر شلنگ که آب حاوی روتیفر از آن خارج می‌شود توری ۴۰ تا ۵۰ میکرومتری می‌بندند تا آب و جلبک و مخمرهای باقی مانده از توری عبور کنند و روتیفرها داخل توری جمع شوند، پس از به نصف رسیدن حجم تانک شلنگ را از تانک خارج کرده و روتیفرهایی را که روی توری جمع شده اند را دوباره به داخل همان تانک برمی‌گردانیم. در این مرحله اگر بتوان از ریزجلبک تغلیط شده بوسیله سانتریفیوژ استفاده کرد می‌توان با افزودن حجم کمی از آن به تانک پرورش روتیفر مقدار غذای لازم برای آن را فراهم کرد و دیگر لازم نیست که حجم بالایی از ریزجلبک استفاده گردد که مجبور باشیم در این مرحله برای غذادهی در تانکها پرورش روتیفر از روش کاهش حجم تانکها استفاده کنیم. از طرفی می‌توان در فصول خارج از فصل تکثیر که شرایط آب و هوایی برای پرورش ریزجلبک مهیا است، به پرورش آن

اقدام کرده، آنها را تغلیظ و در شرایط مناسب ذخیره کرد و در مواقع لزوم استفاده کرد و به این طریق می توان از تامین ریزجلبک مورد نیاز در فصل تکثیر اطمینان حاصل کرد.

چهار ساعت بعد از عمل فوق (یعنی ساعت ۱۲ - ۱۱ شب) به ازای هر یک میلیون روتیفر مقدار ۰/۳۷۵ گرم مخمر به کشتهها اضافه می گردد (برای محاسبه مقدار مخمر مورد لزوم، لازم است که از تراکم روتیفرهای داخل تانک کشت آگاهی داشته باشیم که برای اینکار از تانکهای پرورش نمونه گیری شده، تراکم هر تانک بصورت جداگانه تعیین می شود و مقدار مخمر لازم برای هر تانک جداگانه محاسبه می گردد).

صبح روز بعد (۴۸ ساعت پس از معرفی روتیفرها به داخل تانکها) در صورتیکه کشتهها به درستی و به میزان لازم غذایی شده باشند، تراکم روتیفرهای موجود در تانکهای کشت حدود ۳ تا ۵ برابر تراکم اولیه خواهد بود (در واقع به لحاظ تعداد روتیفر در داخل تانکها حدود ۶ تا ۱۰ برابر تعداد اولیه تلقیح روتیفر خواهیم داشت). در این زمان می توان کشتهها را برداشت نمود.

ابتدا به مدت حداقل ۱۰ دقیقه هوادهی تانکها را قطع می کنیم و می گذاریم کشتهها را کد بمانند تا اجسام درشت (یادمان باشد در کشت انبوه محیط ایزوله نیست) ته نشین شوند، سپس کل حجم داخل تانکها را از توری ۴۵ - ۴۰ میکرومتری عبور می دهیم، بدین ترتیب روتیفری که روی توری باقی می ماند حاوی روتیفر مخلوط (یا به عبارتی بهتر حاوی هم بچه روتیفر (baby) و هم روتیفرهای بالغ یا حاوی تخم و همچنین تخمهای رها شده) خواهد بود، که بعد از تعیین تراکم و تعداد روتیفرها برای تغذیه لارو ماهیان استفاده می گردد.



شکل ۸- برداشت روتیفر در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) به کمک شلنگ تخلیه که به انتهای آن توری ۴۵ میکرومتری بسته شده است (عکس از مؤلف)

۲- پرورش نیمه مداوم (Semi-continuous culture):

در این روش نیز از مخازن یک مترمکعبی و با تراکم مشابه روش دوره ای، برای مدت ۵ روز استفاده می شود. در دو روز اول، حجم آب دو برابر می شود تا تراکم نصف شود. در روزهای بعد نیمی از حجم تانکها برداشته شده و مجدداً به منظور کاهش تراکم نصف خالی تانکها با آب شور حاوی جلبک پر می شود و در روز پنجم تمام یا قسمتی از حجم مخازن برداشت شده و عملیات آماده سازی مجدد مخازن برای پرورش دوره بعدی انجام می گیرد و در صورت برداشت بخشی از آن می توان بقیه تانک پرورش را با ریزجلبک تازه پر کرده به پرورش درون همان تانک ادامه داد.

۳- سیستم پرورش مداوم (continuous culture):

به طور کلی امروزه سیستمهای پرورش پیوسته به منظور بهره برداری پایدار در پرورش روتیفر و از سوی دیگر کاهش هزینه ها توسعه یافته است. در این نوع محیط پرورش پارامترهایی نظیر دما، pH، اکسیژن کاملاً کنترل شده است و معمولاً ذخیره سازی (تلقیح) روتیفر با تراکم بالا در محیط پرورش صورت می گیرد. این سیستم شامل واحدهای پالایش، پرورش و برداشت می باشد. در این سیستم آب پالایش شده و غذا به طور مداوم به مخازن پرورش روتیفر معرفی می گردد. بدین معنا که به همان اندازه ای که آب از داخل مخازن پرورش به داخل مخازن برداشت روتیفر انتقال می یابد، به همان اندازه نیز آب به مخازن پرورش اضافه می گردد. می توان از جلبک و مخمر بعنوان غذا استفاده کرد و اگر بتوان تراکم روتیفر را بین ۳ تا ۶ هزار روتیفر در میلی لیتر حفظ کرد، بطور میانگین نزدیک ۰/۱۷ میلیارد روتیفر در روز از یک تانک ۵۰۰ لیتری بدست آورد. البته در سالهای اخیر موفقیت های خوبی در زمینه پرورش روتیفر در تراکمهای بسیار بالا (بالا تر از ۲۰۰۰۰ قطعه در میلی لیتر بدست آمده است). در این روش پرورش بهتر است که از ریزجلبکهای تلغیظ شده بوسیله سانتریفیوژ استفاده نمود تا لازم نباشد حجم بالایی ریزجلبک برای تغذیه استفاده شود.

جداسازی بچه روتیفرها (baby روتیفر):

لاروهای ماهیان دریایی بسیار ریز هستند و به طبع اندازه دهان آنها بسیار ریز خواهد بود طوری که برای تغذیه اولیه آنها در روزهای اولیه عمر شون (پس از جذب کیسه زرده) باید از غذایی با اندازه کمتر از ۸۰ میکرومتر استفاده شود. برای این منظور در مراکز تکثیر مناطق گرمسیری از نوع خاصی از روتیفر که نوع بسیار ریز (super small type: ss-) استفاده می شود، ولی این نوع در ایران (ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی) وجود ندارد. در این ایستگاه برای تغذیه لارو ماهیان دریایی مورد تکثیر (صیبتی، شانک زردباله و هامور معمولی که دهانی بسیار ریز دارند) از روتیفرهای تازه خارج شده از تخم که اصطلاحاً rotifer baby (بچه روتیفر) خوانده می شوند استفاده می شود که لازم است که آنها را با به کار بردن توری با اندازه چشمه مناسب از روتیفرهای بالغ جدا کرده مورد استفاده قرار داد.

روتیفرهای برداشت شده به روش فوق را داخل سطلهایی با حجم ۱۰ تا ۲۰ لیتر ریخته حجم تانک را با آب شور پر می کنیم و کل حجم آنرا از توری با چشمه ۸۰ میکرومتر عبور می دهیم و آب خروجی از توری را داخل یک سطل یا تشت دیگر جمع می کنیم. با این کار روتیفرهای کوچکتر از ۸۰ میکرومتر که اصطلاحاً به آنها بچه روتیفر (یا baby) گفته می شود و تخمهای آزاد موجود در روتیفر برداشت شده از توری ۸۰ میکرومتر عبور می کند.

هنگامی که همه کشت روتیفر به درون تور جمع کننده تخلیه شد، روتیفرهای جمع شده را درون سطل پلاستیکی ۱۵ لیتری حاوی ۵-۳ لیتر جلبک *N. oculata* قرار می دهیم و هواده داخل سطل می ریزیم و با برآورد میزان بیوماس موجود در سطل و تراکم در هر میلی لیتر آن تحویل بخش پرورش لاروی به منظور استفاده در تغذیه لاروها قرار می گیرد.



شکل ۹- جداسازی بچه روتیفر از روتیفر بالغ در ایستگاه تحقیقاتی ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) (عکس از مؤلف)

شمارش و برآورد تراکم و بیوماس:

بعد از برداشت روتیفرها لازم است آنها شمارش شوند، برای اینکار بدین ترتیب عمل می کنیم: از داخل سطلی که روتیفرها را در آن جمع کرده ایم، یک سی سی نمونه برداشت شده و داخل بشر ۱۰۰ سی سی ریخته می شود و روی آن مقدار ۹۹ سی سی آب شیرین (آب مقطر) ریخته شده، مخلوط می شود (اینکار باعث خواهد شد که در اثر شوک شوری که روتیفرها وارد می شود حرکت آنها بسیار آرامتر از وقتی گردد که در محیط بهینه خود زندگی می کنند)، با این غلظت نمونه را ۱۰۰ برابر رقیق کرده ایم. از مخلوط حاصل یک سی سی نمونه برداشته و داخل حفره های لام حفره دار می ریزیم و روتیفرهای موجود در آن را با کمک یک میکروسکوپ نوری (با عدسی شی ای ۴*) یا لوپ شمارش می کنیم، مقدار عددی حاصل را در عدد ۱۰۰ ضرب می کنیم تا مقدار روتیفر موجود در ۱۰۰ سی سی مخلوطی روتیفر و آب شیرینی که ساخته بودیم بدست آید، که این عدد خود نشاندهنده مقدار تعداد روتیفر موجود در یک سی سی از روتیفر متراکم اولیه ما که در داخل سطل پلاستیکی ریخته بودیم خواهد بود که این عدد را به حجم سطل تامیم می دهیم تا کل روتیفر موجود در داخل سطل بدست آید. مثلاً اگر کل روتیفر برداشت شده از یک تانک پرورش یک مترمکعبی را داخل یک سطل ۱۰ لیتری جمع کرده باشیم و برای شمارش از آنها یک سی سی برداشته و آنرا ۱۰۰ برابر رقیق کرده باشیم و با شمارش نمونه یک سی سی از مخلوط رقیق شده در زیر میکروسکوپ یا لوپ تعداد ۳۵۰ عدد شمارش شده باشد میزان بیوماس روتیفر موجود در داخل سطل ۱۰ لیتری (و در نتیجه بیوماس برداشت شده از تانک یک متر مکعبی) به روش زیر محاسبه خواهد شد:

بیوماس داخل سطل = حجم سطل (سی سی) * ضریب رقیق سازی * تعداد شمارش شده
 تراکم در یک سی سی از سطل ده لیتری $350 * 100 = 35000$
 بیوماس داخل سطل (بیوماس داخل تانک پرورش) $350 * 100 * 10000 = 350000000$
 تراکم روتیفر در تانک پرورش در زمان برداشت $350 = 1000000 * (\text{حجم تانک پرورش به سی سی}) \div 350000000$

البته برای بدست آوردن تراکم تانک های پرورش در هر زمان می توان مستقیماً از خود تانک نمونه برداشته شمارش نمود. در صورت لزوم و شمارش راحتتر می توان روتیفرها را با استفاده از لوگل کشت و در عین حال رنگ آمیزی نمود تا بتوان با دقت بیشتری شمارش کرد.

تغذیه لارو ماهیان دریایی با استفاده از روتیفر:

بعد از بدست آوردن مقدار روتیفر موجود، روتیفرها به منظور تغذیه لاروها به بخش پرورش لاروی انتقال داده می شود. در بخش پرورش لاروی، لارو ماهیان از روز دوم پس از هچ به میزان ۵-۷ عدد روتیفر baby در هر میلی لیتر از حجم آب تانک پرورش لاروی تغذیه می شوند و در ادامه بر اساس ۲۰ تا ۴۰ عدد روتیفر در میلی لیتر آب حجم تانکهای پرورش لاروی تغذیه می شوند. یعنی برای تغذیه لاروهای موجود در داخل تانکهای هچری با حجم مفید ۴ مترمکعب آب لازم است در داخل تانک ۸۰ تا ۱۶۰ میلیون روتیفر موجود باشد. هر روز در دو نوبت (صبح و عصر) میزان روتیفر در داخل تانکهای پرورش لاروی روی این عدد بالانس می شود. اینکه روی کدام عدد در این محدوده بالانس شود به عهده مدیریت کارگاه تکثیر ماهیان دریایی خواهد بود.

با توجه به مطالب گفته شده لازم است که قبل از غذادهی لاروها با روتیفر از میزان روتیفرهای باقیمانده داخل تانکهای پرورش لاروی آگاهی داشته باشیم، برای اینکار لازم است که آب داخل تانکهای پرورش لاروی نمونه گیری بعمل آید و نمونه ها شمارش شود، در اینجا لازم نیست که نمونه ها رقیق شوند ولی لازم است که برای توقف حرکت روتیفرها، با افزودن مقداری فرمالین به نمونه ها، روتیفرها کشته (فیک است) شوند و با استفاده از لام حفره دار و میکرو سکوپ نوری شمارش گردند. بسته به مقدار روتیفر باقیمانده در آب تانکهای هچری مقدار روتیفری که باید به تانکها داده شود تا تراکم ۲۰ تا ۴۰ عدد روتیفر در میلی لیتر حفظ شود، محاسبه و داده می شود. مثلاً اگر تصمیم بر بالانس کردن بیوماس روتیفر داخل تانک پرورش لاروی روی عدد ۲۰ عدد روتیفر در سی سی باشد و در شمارش صبح از نمونه گرفته شده از تانک پرورش لاروی ۴ مترمکعبی تعداد ۸ عدد روتیفر شمارش شده باشد، بدین معنی خواهد بود که به ازای هر سی سی از آب این تانک پرورش لاروی مقدار ۱۲ عدد روتیفر یا به عبارتی لازم است که به این تانک ۴ مترمکعبی مقدار $4800000 = 1000 * 1000 * 4 * 12$ عدد روتیفر اضافه شود تا تراکم روتیفر موجود در داخل تانک پرورش در عدد ۲۰ روتیفر در سی سی بالانس شود.

مراقبت های بهداشتی:

بهداشت عمومی و مطلوب بودن شرایط روتیفرها نکته مهمی است که پرورش دهنده همواره باید آنها را بررسی و مورد ارزیابی قرار دهد. روشهای اصلی ارزیابی کشت روتیفر، بررسی مداوم تکثیر از طریق میزان رشد و باروری آنها می باشد. اگر کلیه عوامل کیفیت آب و غذای داده شده در شرایط مطلوب قرار داشته باشند، بطور طبیعی ۲۴ ساعت پس از تلقیح، جمعیت

آنها دو برابر خواهد شد. بنابراین، بررسی مداوم و روزانه تعداد روتیفرهای تانکهای پرورش ضروری می باشد. میزان باروری آنها را می توان از محاسبه درصد روتیفرهای دارای تخم سنجید که همان میزان تولید مثل (زادآوری) می باشد. در شرایط طبیعی، ۲۴ ساعت پس از ذخیره سازی اولیه، بیش از ۳۰ درصد روتیفرها باید حامل تخم باشند. این مقدار هنگام برداشت (یعنی ۴۸ ساعت پس از کشت آغازین)، به کمتر از ۱۰ درصد کاهش می یابد. کم بودن میزان غذای داده شده طی دومین مرحله انکوبا سیون، علت باروری پایین هنگام برداشت می باشد که این امری اجتناب ناپذیر در سیستم پرورش مرحله ای است. وضعیت کیفی روتیفرها را می توان با مشاهده سرعت و یا رفتار شنای آنها ارزیابی نمود. البته اگر از نظر میزان غذایی به روتیفر با استفاده از ریزجلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا محدودیتی وجود نداشته باشد و در روز دوم پرورش با استفاده از ریزجلبک با تراکم زیاد غذایی شوند می توان انتظار داشت که در صد روتیفرهای تخم دار پس از ۴۸ ساعت بیشتر از حالت قبل باشد. البته بررسی ها نشان داده است که شوری محیط کشت نیز بر درصد روتیفرهای تخمدار پس از ۴۸ ساعت تاثیر دارد (منعم، ۱۳۹۰).

غنی سازی روتیفر (enrichment of rotifer):

روتیفرها موجودات فیلتر فیدر غیرانتخابی هستند یعنی هر چیزی که اندازه دهانشان باشد می خورند و این امر فرصت خوبی فراهم کرده که در صورت لزوم قبل از استفاده از آنها برای تغذیه لارو ماهیان دریایی یا لاروهای میگو مواد مغذی و یا دارویی را به آنها اضافه کرده و از طریق آنها به خورد لاروهای ماهیان دریایی و میگو داد. غنی سازی روتیفر به این معنی است که موادی را که می خواهیم به لارو ماهیان بدهیم را ابتدا به طریقی به روتیفر می خورانیم تا از این طریق روتیفرها از لحاظ آن مواد غنی شوند. مثلا اسیدهای چرب ضروری، ویتامینها، پروتئین ها، داروها و
برای غنی سازی روتیفر از سه روش مختلف می توان استفاده نمود:

۱ - استفاده از جلبکهای خاص

۲ - استفاده از غذاهای فرموله شده (formulated feed)

۳ - غوطه وری در روغن (Oil emulsions)

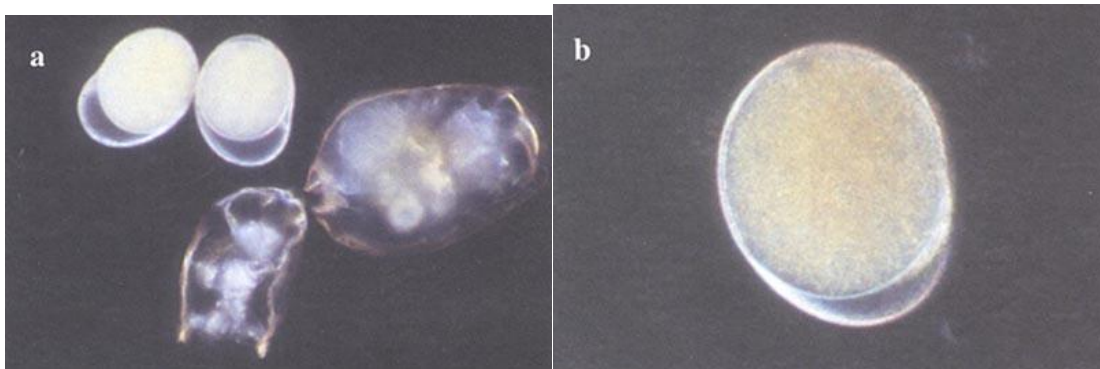
بعضی از اسیدهای چرب ضروری برای لارو ماهیان در بعضی از جلبکها زیاد بوده، در حالیکه در جلبکهای دیگر کمتر یافت می شوند، مثلا اسید چرب ایکو ساپنتائوئیک اسید (eicosapentaenoic acid) (EPA 20:5n-3) در جلبک نانوکلوپسیس اوکولاتا زیاد بوده در حالیکه جلبک آیزوکرایزیس گالابانا سر شار از اسید چرب دو کو ساهگزائوئیک اسید (docosahexaenoic acid) (DHA 22:6n-3) است. پس می توان با استفاده توأم از این دو جلبک برای تغذیه روتیفر، مقادیر هر دو اسید چرب را به اندازه کافی در اختیار روتیفر و از آن طریق در اختیار لارو ماهیان قرار داد.
برای اینکار بدین ترتیب عمل می شود که شش ساعت قبل از برداشت روتیفر به منظور تغذیه لارو ماهیان، کشتهای روتیفر با جلبک آیزوکرایزیس غذایی می شوند که مقدار این غذا به اندازه ده درصد مقدار جلبک نانوکلوپسیس خواهد بود. بدین ترتیب در طول مدت باقیمانده تا زمان برداشت روتیفرها از جلبکهای آیزوکرایزیس تغذیه خواهند کرد و اسید چرب DHA به این طریق در اختیار لارو ماهیان قرار خواهد گرفت.

لازم به ذکر است که برای غنی سازی روتیفر از محلولهای غنی سازی فرموله شده که مقادیر مواد لازم برای غنی سازی با فرمولی مشخص در آن وجود دارد، استفاده نمود مثل محلول غنی سازی super selco که از آن هم برای غنی سازی روتیفر و هم برای غنی سازی آرتمیا استفاده می گردد. غوطه ور کردن روتیفر در روغن که از اسیدهای چرب ضروری تهیه شده اند نیز یکی دیگر از روشهای مرسوم برای غنی سازی روتیفر می باشد.

تولید و استفاده از تخم نهفته روتیفر (production and use of resting egg):

برای پرورش انبوه روتیفر بعنوان غذای لارو، باید روش تولید مثلی بکرزایی مورد توجه قرار گیرد (یعنی شرایط را برای تولید مثل بکرزایی موجود، بهینه کرد تا روتیفر به این طریق تولید مثل کند). بهر حال، هنگامی تولید مثل تخم نهفته (resting egg) مورد توجه قرار می گیرد که لازم می شود که روتیفرها به مدت نسبتاً طولانی ذخیره سازی شوند. این تخمهای نهفته را سیست نیز می نامند، که نسبتاً بزرگ هستند (حجم آنها تقریباً ۶۰ درصد اندازه طبیعی یک ماده بالغ است اندازه ای حدود ۱۰۰ تا ۱۷۰ میکرومتر)، آنها برای ذخیره سازی و جابجایی ایده آل هستند و می تواند برای تلقیح کردن کشتهای انبوه مورد استفاده قرار گیرند. پرورش انبوه روتیفر برای تولید سیست به روش کشت مرحله ای (batch culture) در تانکهای بتنی یا پلی اتیلنی صورت می گیرد. هنگامی که شرایط پرورش روتیفرها شرایط مناسب و ایده آل آنها فاصله می گیرد به جای تولیدمثل بکرزایی شروع به تولیدمثل جنسی می کنند که حاصل آن تولید تخم نهفته (resting egg) خواهد بود. روتیفرها را می توان با محدود کردن غذای آنها یا تغییر در دما یا شوری به تولیدمثل جنسی و تولید تخم نهفته مجبور کرد. تخمهای نهفته ته نشین می شوند و لازم است که آنها را از کف برداشت نمود، که این امر باعث خواهد شد مقدار زیادی از آنها هدر بروند لذا بهتر این است که آب تانکها را تعویض کنیم و آب آنها را تخلیه کرده و بجای آن با آب شور جایگزین کرد که این کار باعث خواهد شد که سیستها روی سطح آب شناور شوند و آنها را می توان از روی سطح آب جمع کرد. تخمهای نهفته خشک را می توان به مدت بیش از یک سال نگه داشت. هنگامی که سیستها را در آب شور در شرایط ۲۵ درجه سانتی گراد و نور کافی کشت بدهیم تقریباً بعد از ۲۴ ساعت تفریح خواهند شد که روتیفرهای تازه تفریح شده بصورت غیرجنسی تولید مثل کرده، ادامه حیات خواهند داد.

شکل مقایسه بین اندازه یک ماده بالغ و تخم نهفته را نشان می دهد (تخم نهفته تقریباً ۶۰ درصد اندازه یک ماده بالغ طول دارد).



شکل بالا میکروسکوپ یک تخم نهفته روتیفر (اندازه تخم را با روتیفر بالغ مقایسه کنید)

استفاده از تخمهای نهفته بعنوان کشت آغازین کشتهای انبوه چند مزیت دارد:

اگر تصمیم داشته باشیم از سیست روتیفر بعنوان کشت آغازین استفاده گردد دیگر لازم نیست که در کل سال کشتهای ذخیره (stock) را داشته باشیم که این امر خود باعث خواهد شد در هزینه های نگهداری استوکها و همچنین کشت و

پرورش جلبک صرفه جویی قابل توجه ای شود (چرا که وقتی کشت استوک روتیفر نداریم دیگر کشت انبوه جلبک نخواهیم داشت).

بعلاوه، با استفاده از سیستم می توان زمان ارتقاع از کشت استوک به مراحل کشت انبوه را کاهش قابل ملاحظه ای داد چرا که می توان حجم لازم از تخمهای نهفته را بعنوان کشت آغازین یک کشت انبوه استفاده نمود. همچنین استفاده از سیستم باعث کاهش قابل توجه آلودگیها می شود. سیستمها را به آسانی می توان قبل از کشتهای انبوه با غلظتهای بالای آنتی بیوتیکها ضد عفونی کرد و بدین طریق از داشتن کشت عاری از آلودگیهای باکتریایی و یا مژه داران اطمینان حاصل کرد.

کشت روتیفرها در استخرهای پرورشی ماهیان گرمابی:

از آنجا که روتیفرها در اکثر محیطهای آبی یافت می شوند، نیازی به کشت آنها از یک استخر به استخر دیگر نمی باشد. برای بالا بردن تراکم آنها در استخر، کافی است موجودات جانوری را که رقیب غذایی آنها هستند، با استفاده از سمپاشی با مقدار ۱ ppm از سمهای اسید فسفریک نابود شوند. سپس با استفاده از کوددهی شیمیایی و حیوانی، غذای مورد نیاز روتیفرها تامین می شود. در نتیجه تراکم آنها در استخر بالا خواهد رفت. در نمونه برداری از آب استخر با استفاده از تور پلانکتونی با چشمه کمتر از ۵۰ میکرومتر، تراکم روتیفرها حتی با چشم غیر مسلح نیز به خوبی قابل تشخیص است و چون آنها به صورت مجموعه زندگی می کنند، لذا پس از خارج کردن آنها از تور پلانکتونی قیفی شکل و ریختن در داخل لیوان یا بشر، با حرکات موجی شکلی که دارند، به راحتی قابل تشخیص هستند.

نگهداری روتیفر در دمای ۴ درجه سانتی گراد:

برای جلوگیری از کاهش کیفیت غذایی روتیفرها، آنها را می توان در دمای ۴ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری کرد. روتیفر به هنگام گرسنگی در یک روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ۲۶ درصد از انرژی خود را از دست می دهد.

فهرست منابع:

- آذری تا کامی، ق. و امینی چرمهینی، م. ۱۳۸۷. (ترجمه). تکثیر و پرورش غذای زنده، دستورالعمل تکثیر و پرورش پلانکتون ها. تالیف فرانک. اچ. هاف و تری. دابلیو. اسنل. مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران. ۳۱۹ صفحه.
- حسینی، س. ع. و جلالی، م. ع. ۱۳۸۸. کاربرد غذای زنده در پرورش آبزیان. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹۴ صفحه
- گاه کش، ش. ، پقه، پ. ، ذبیح نجف آبادی، م. و رنجبر، ا. ۱۳۹۴. تاثیر تراکم کشت اولیه و نوع غذا بر تولید روتیفر S- type (*Brachionus rotundiformis*). همایش ملی - منطقه ای آبی پروری ماهیان دریایی، پژوهشکده آبی پروری جنوب کشور. ۱۳-۱۱ اسفند ۹۴
- منعم، ج. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر شوریهای مختلف بر میزان تراکم روتیفر (*Brachionus rotundiformis*). پروژه کارشناسی رشته تکثیر و پرورش آبزیان. مجتمع آموزش جهاد کشاورزی خوزستان. ۳۶ صفحه

de la Peña MR. 2015. Culture of Rotifer (*Brachionus rotundiformis*) and brackishwater Cladoceran (*Diaphanosoma celebensis*) for aquaculture seed production. Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department, Tigbauan, Iloilo, Philippines. 36 pp

.....Jung, M.M. 2012. Survival Strategies of the Rotifer *Brachionus rotundiformis* for Coexisting with the Copepod *Apocyclops borneoensis* in Laboratory Culture. Fish Aquat Sci 15(1), 57-62

Kostopoulou, V. and Vadstein, O. 2007. Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, B. 'Nevada' and B. 'Cayman' under different food concentrations. Aquaculture, vol. 273, pp: 449-458

Lavens, p. & Sorgeloos, p. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical paper. No. 361, FAO, Rome. 305 pp.