

استزراع الدواري (*Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1799))

باستخدام أوساط غذائية مختلفة تحت الشروط المخبرية

أ.د. محمد مجاهد بطل *

أ.د. أديب زيني **

خلدون جابر ***

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٤/٨/٢٨ - تاريخ النشر ٢٠٢٤/١٢/٣)

□ ملخص □

يعتمد نجاح المراحل اليرقية للأسماك والقشريات المستزرعة بشكل كبير على نوعية الغذاء الحي وكميته وبسبب الحجم الصغير للدواري *B. calyciflorus* جعله الغذاء الأولي لمعظم يرقات أسماك المياه العذبة. قارنا نمو جماعة الدواري *B. calyciflorus* باستزاعة مخبرياً على عدة أوساط غذائية: الطحلب الأخضر كلوريلا، خميرة الخباز، مزيج متساو من الطحالب والخميرة، مسحوق السبانخ المجففة والخميرة، وسط السبانخ مع صفار البيض والطحالب والخميرة SEE ، أظهرت النتائج بعد مرور ١٠ أيام أن أعلى كثافة لجماعة الدواري 143 ± 12 فرد/مل في اليوم الثامن، وبلغ معدل التكاثر حده الأقصى $0,36$ باستخدام وسط SEE ، بلغت الكثافة العليا للدواري *B. calyciflorus* (10.2 ± 1.0 ، 4.5 ± 4 ، 11.3 ± 1.0 ، 8 ± 8.5 فرد / مل) على التوالي مع باقي الأوساط، لوحظ إنخفاض معدل التكاثر إلى حده الأدنى باستخدام وسط الخميرة لوحدها وبلغ $0,14$ مع أعلى زمن تضاعف $4,75$ / يوم، كما لوحظ أن استخدام مزيج الطحلب الأخضر كلوريلا وخميرة الخباز بشكل متساو أظهرت تحسناً ملحوظاً في الكثافة بالنسبة للتركيز نفسها. الكلمات مفتاحية: الدورات - *B. calyciflorus* - الغذاء الحي - وسط SEE - معدل التكاثر.

* أستاذ في قسم علم الحيوان بكلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

** أستاذ في قسم علم الحيوان بكلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

*** طالب دكتوراه في قسم علم الحيوان بكلية العلوم، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

Culture of *Brachionus calyciflorus* (Pallas,1799) Using different food media under laboratory conditions

Dr. Mohamed Mojahed Batal *

Dr. Adib Zeini**

Khaldoun Jaber***

(Received 28/8/2024. Accepted 3/12/2024)

□ABSTRACT □

The successful larval stages of cultured fish and crustaceans depends on the quality and quantity of live food, *B. calyciflorus* as starter food for most freshwater fish larvae fry because of its small size

We compared the population growth of *B. calyciflorus* which was cultured in the laboratory using several food media: the green alga Chlorella, baker's yeast, mixture in equal of algae and yeast, dried Spinacia and yeast, and Spinacia with egg yolk, Chlorella and baker's yeast (SEE). after 10 days experiments showed that the highest population density of the rotifer population was 143 ± 12 ind/ml on the eighth day, the maximal reproduction rate was 0.36 using SEE medium, the maximal population densities of *B. calyciflorus* was (102 ± 10 , 45 ± 4 , 113 ± 10 , 85 ± 8 ind/ml) respectively. The lowest value of reproduction rate on a diet of yeast 0.14 with the highest doubling time 4.75/day. using mixture of Chlorella and yeast, can improve density for the same concentrations.

Key words: , *B. calyciflorus* ,live food , see media -reproduction rate

*Professor ,Department of zoology ,Faculty Of Sciences, Tishreen University , Lattakia ,Syria .

**Professor ,Department of zoology ,Faculty Of Sciences, Tishreen University , Lattakia ,Syria .

***Postgraduate student Dep. of zoology ,Faculty Of Sciences, Tishreen University, Lattakia ,Syria

E-mail:khldounjaber@gmail.com

المقدمة:

الزراعة المائية في البلدان النامية تمثل حاجة ملحة للمساهمة في تأمين الأمن الغذائي، ولإنجاح هذا النوع من النشاط البشري لا بد من حضان المراحل اليرقية للأسماك والقشريات ذات الأهمية الاقتصادية التي تعد الحلقة الأهم والتي بدورها تؤثر في دورة التربية بأكملها وهذا يتطلب تأمين الغذاء الحي ذو الكفاءة والقيمة الغذائية العالية الذي يحقق أعلى نسبة من البقاء لليرقات مقارنة بالأغذية الصناعية والتي أشارت العديد من الأبحاث إلى نسب استهلاكها المنخفضة إضافة للمشاكل الناجمة عن استخدامها من قبل اليرقات من حيث ارتفاع معدلات النفوق والأمراض (2012, Rufchaie *et al*) وأشارت دراسة الباحثان (1980, Bryant and Matty) إلى أن بعض أنواع الأسماك لا تقبل الأعلاف الاصطناعية وتعتمد على العوالق الحيوانية بشكل أساسي، وأكد الباحثان (1993, Arrhenius and Hanso) أن بعض أنواع الأسماك تتغذى حصراً على العوالق الحيوانية خلال حياتها بأكملها في حين أن حوالي ٩٠٪ من غذاء الرنجة *Clupea harengus* يتكون من العوالق الحيوانية. وأفادت دراسة (Sipaúba-Tavares and Bachion, 2002) أن معدل نمو العوالق الحيوانية ونكاتها يزيدان من توافر نوعية غذائية أفضل للمستويات الغذائية اللاحقة ونظراً لما يوفر استخدام هذه العوالق في المساحة المستغلة للاستزراع والعمالة والطاقة المستهلكة. ذكر الباحث (1999, Kassim *et al*) بأن نسبة الهلاك في يرقات أسماك الشبوط *Barbus grypus* انخفضت إلى أقل من ١٥٪ باستخدام الدورات كغذاء حي مقارنة بالغذاء الصناعي حيث وصلت النسبة إلى ٦٥٪ في مفاص الأسماك العراقية.

ومع ازدياد الطلب على البروتين الحيواني من أجل الاستهلاك البشري، إضافة للحالة الاقتصادية التي تعاني منها معظم البلدان حالياً فإن معظم مربي الأسماك ليس لديهم القدرة على تحمل كلف الغذاء والمتممات الصناعية عالية التكلفة، وبالتالي كان لا بد من البحث عن البدائل الأرخص واستخدام الغذاء الحي في المياه العذبة لتعزيز الإنتاج في المفرخات المحلية وبعد ذلك أمراً لا مفر منه في إطار السعي الدائم لتحقيق الإستدامة للمشاريع الإنتاجية الغذائية في المياه العذبة.

ولقد ركزت البرامج البحثية في تربية الأحياء المائية بشكل رئيس على تقنيات الإنتاج للأصناف المنتشرة والشمينة وتحسين الإنتاجية والتغذية وإنتاج أغذية مجدية اقتصادياً والاعتماد بدرجة أقل على التحسين الوراثي، تتطلب العديد من زريعة الأسماك غذاءً حياً في بداية تغذيتها على الغذاء الطبيعي. وتعد العوالق الحيوانية هي المصدر الرئيس للغذاء الحي التي تستمد منه يرقات الأسماك حاجتها من المغذيات كالأحماض الأمينية الأساسية والفيتامينات والإنزيمات وفي بعض الحالات المضادات الحيوية، حيث وجد أن نسبة البروتين في الغذاء الطبيعي Natural Food تشكل حوالي ٦٠٪ من المادة الجافة مقارنة بالعلف الاصطناعي الذي لا يعطي النتائج المرجوة فقد وجد أن ٥٠٪ على الأقل من غذاء أسماك الكارب العادي *Cyprinus carpio* لا بد أن يأتي من البيئة المائية وكذلك الحال بالنسبة لأسماك البلطي *Tilapia spp* التي تحتاج إلى أكثر من ١٠٪ من متطلباتها الغذائية من الغذاء الطبيعي بسبب احتوائه على نسبة عالية من البروتين يزيد من سرعة نمو هذه الأسماك (2011, Hassan; 2022, Lubzens *et al*).

وقد أظهرت الدورات ككائنات حية صغيرة القد أهمية في تغذية وتربية الأحياء المائية وبشكل خاص النوع *B. calyciflorus* في المياه العذبة والنوع *B. plicatilis* في المياه المالحة وأول ما عرفت الدورات في اليابان كحشرة مائية صغيرة في مياه الاستزراع ومنذ ذلك الحين فكر الباحثون اليابانيون في إمكانية استخدام هذا الكائن الدقيق كغذاء حيواني حي وبدأ استخدامه أول مرة في تفرخ أسماك الدنيس Sea bream وسمك الإنقليس وحقق نجاحاً كبيراً، ويعود ذلك لامتلاكها العديد من الصفات الحيوية الهامة ومنها التعدد الشكلي Polymorphism ضمن النوع ((Hoff 1987, and Snell ; 2006, Arimoro) ، وصغر قدها بما يناسب فتحة فم يرقات الأسماك والقشريات، إضافة لاحتوائها على البروتينات والأنزيمات التي تساعد في عمليات الهضم، وإمكانية إغنائها بالأحماض الدهنية الأساسية غير المشبعة HUFA واستزراعها بكثافة عالية في المختبر وفي أحواض صناعية وبأنواع مختلفة من الغذاء كالتحالب النباتية والجراثيم والخمائر ومرق الحيوانات وغيرها، حيث يكفي إنتاج حوض واحد من الدورات سعة ٢٠٠ لتر تغذية ٥٠٠ ألف يرقة في اليومين الأوليين لحضنها و٤٠٠ ألف يرقة في اليومين التاليين.

وبسبب طريقة تكاثرها فهي تملك أسرع معدل للتكاثر بين الحيوانات التوالي ويمكن أن تصل كثافتها إلى (٥٠٠) ألف فرد في اللتر (Shiel, 1995) وخاصة أنواع جنس *Brachionus* ومنها النوع *B. calyciflorus* إضافة لتحملها للعوامل البيئية غير المناسبة بشكل جيد فهي متسامحة مع درجات الحرارة، كما أن حركتها البطيئة تمكن يرقات الأسماك من اقتناصها بسهولة، وبعد حوالي نصف قرن أصبح هذا الكائن أساسي في عمليات التفرخ لأكثر من ٦٠ نوعاً من الأسماك البحرية و١٧ نوعاً من القشريات وغيرها الكثير من أنواع الأسماك في المياه العذبة (فكري، ٢٠٠٦؛ Indy et al ; 2012, Glime; 2013, Brezas; 2010, Arimoro; 2006, Ivleva; 1969).

يستخدم في عمليات استزراع الدورات العديد من الأوساط الغذائية أو خلائطها وبتراكيز مختلفة وتعد الطحالب الخضراء من أكثر الأوساط استخداماً ولكن وبسبب كلفة انتاجها المرتفعة والتقنيات العالية التي تحتاجها لإنتاج كميات كبيرة منها تلبية حاجة المزرعة يقوم الباحثون بمزجها مع خميرة الخبز الذي بدوره يمكن استخدامه بشكل مستقل في تغذية الدواري ولكنه لا يحقق الهدف المرجو منه في تحقيق إنتاجية مرتفعة يضاف إلى ذلك وفي سبيل البحث عن الأوساط الأرخص والإنتاجية العالية استخدمت فضلات الحيوانات بشكل مستقل أو كوسط لتنمية الطحالب بما يخفف من تكاليف استزراع الطحالب ثم بدأ الباحثون باستخدام كل ما هو موجود في الطبيعة في سبيل تحقيق الغاية المرجوة منها كاستخدام مخلفات مصانع الأغذية أو قشور النباتات ومخلفاتها والحبوب بأنواعها. (Okunsebor; 2015, Ekelemu; 1997, Dahril; 2017, Agbakimi et al) ، ٢٠١٢ وبالرغم من البحوث الهامة في بعض البلدان فإنه بشكل عام لاتزال البحوث التطبيقية متأخرة حول الموضوع. ففي العراق أجريت تجارب تغذية يرقات الأسماك على الغذاء الحي في السنوات الأخيرة وتناولت سمكة الكارب العادي وبعض الأسماك المحلية كانت أفضل نسب البقاء ٥٢% ليرقات الشلك (Heckle) *Aspius vorax* عند تغذيته على غذاء حي مقارنة بالغذاء الصناعي وأفضل نسب بقاء ليرقات الشبوط *Barbus grypus* حصل عليها عند تغذيتها على الدواري *B. calyciflorus* خلال الأسابيع الثلاثة الأولى من عمرها (Kassim et al, 1998, 1999) ، كما أجريت دراسة استخدمت فيها الأغذية الحية في تغذية يرقات أسماك الكطان حديثة الفقس والمقارنة مع أحد الأغذية الصناعية تحقق أعلى معدل وزن وطول عند تغذية

اليرقات على الدورات ووصلت نسبة بقاء اليرقات المغذاة على الدورات إلى ٨٥% بينما نسبة اليرقات المغذاة على العوالق النباتية والغذاء الصناعي ٧٩ و٦٥% على التوالي (غازي، ٢٠٠٩). في تجارب أجريت في اليابان إنخفضت نسبة الوفيات عند يرقات الأسماك وربما يعود السبب لإمكانية مرور الأحماض الدهنية من الطحالب إلى الدورات وبدورها ليرقات الأسماك (Hoff and Snell, 1987).

أهمية البحث وأهدافه:

مع تطور قطاع الإستزراع المائي وازدياد الطلب على البروتين الحيواني بدأ الاهتمام باستخدام الأغذية الحية في صالات التفريخ في سورية ومع وجود العديد من المزارع السمكية التي تقوم بتربية أسماك الكارب العادي والعشبي والفضي وغيرها من أنواع الأسماك المحلية والتفكير الجدي في إنشاء هذه الصالات لحضن يرقات الأسماك ذات الأهمية الاقتصادية، تأتي أهمية هذا البحث في الإطار نفسه ووفقاً لتوجيهات الهيئة العامة للثروة السمكية في سورية من أجل تأمين غذاء حي من الدورات واختيار الدواري *B. calyciflorus* واستزراعه على أوساط غذائية متعددة مع خلئطها وتحقيق أفضل إنتاجية له.

طرائق البحث ومواده:

استخدمت في تجارب الإستزراع عدة أوساط غذائية مختلفة التركيز أو خليط من بعضها كما هو موضح في الجدول (١) بهدف معرفة أفضلها في نمو جماعة الدواري *B. calyciflorus* وذلك في ظروف المختبر قسم الدراسات العليا جامعة تشرين - كلية العلوم، باستخدام أفراد من إناث بكرية بعمر أقل من ٢٤ ساعة وتحت تأثير مجموعة من العوامل البيئية المتحكم بها من درجة حرارة ($1 \pm 25^\circ C$) وذلك في حمام مائي مسيطر عليه حرارياً باستخدام منظمات حرارية و PH (٨,٥-٧,٨) وفترة ١٨ ساعة إضاءة / ٦ ظلام باستخدام مصباح ومؤقت كهربائي، وتزود المزرعة بالتهوية المستمرة بوساطة مضخة هوائية، مدة التجربة ١٠ أيام وبواقع ٣ مكررات لكل وسط غذائي.

إستخدام وسط EPA وهو وسط أيوني صناعي معتدل القساوة (EPA) Environmental Protection Agency في ١ لتر من الماء المقطر (USEPA, 1985) مؤلف من: $4\text{mg} - \text{KCl}$ ، $60\text{mg} - \text{MgSO}_4$ ، $60\text{Mg} - \text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، $96\text{mg} - \text{NaHCO}_3$. لإستزراع الدواري في عبوات زجاجية سعة ٥٠٠ مل تحوي ٢٠٠ مل من وسط الإستزراع الذي لقع من معلق إستزراع الدواري وبكثافة أولية ١٠ أفراد/مل باستخدام ماصة دقيقة.

أخذت قياسات العوامل البيئية يومياً بانتظام خلال فترة الإستزراع، كما قدرت كثافة الدواري يومياً باستخدام عدادة Sedgwick Rafter (SR) وهي عبارة عن شريحة من الزجاج أو البلاستيك أبعادها (طولها ٥سم* عرضها ٢سم* عمقها ١سم) المساحة الكلية لها ١مل. تستخدم قطرة من محلول لوغول (٢,٠ غ يوديد بوتاسيوم و ١,٠ غ بلورات يوديد و ١٠٠مل ماء مقطر) لشل حركة الدواري وحساب العدد بشكل دقيق، ويفضل استخدام المجهر بتكبير $10 \times$ (Weber, 1970) بعد تقدير الكثافة كانت تنقل الدورات إلى عبوات جديدة تحوي وسط جديد من الغذاء وبالتركيز المناسب والعوامل البيئية المحددة باستخدام شبكة ٥٠ ميكرون بعد غسلها بالماء المقطر، أنهيت التجربة بعد ١٠ أيام عندما بدأت جماعة الدواري بالتدهور وموت أغلب الأفراد .

معدل التكاثر r للدورات حسب من متوسط ثلاث عينات وذلك في اليوم السادس من بدء التجربة بالمعادلة:

$$r = \ln(Nt) - \ln(N0) / t \quad (\text{James and Dias, 1984})$$

Nt: العدد النهائي للدواري **N0**: العدد البدائي للدواري **t**: الزمن / يوم
كما تم حساب زمن تضاعف الجماعة/ يوم **td** : $td = \ln 2 / r$ (James and Dias, 1984)
حيث **td**: الزمن / يوم $\ln 2 = 0,6931$ كما هو موضح في الجدول رقم (٢).
الأوساط الغذائية المستخدمة:

الطحلب الأخضر *Chlorella sp.* وهو من الطحالب وحيدة الخلية صغيرة القد بيضوية أو كروية الشكل قطرها من ٢-١٥ μm غير متحركة تملك ٦٠% بروتينات تتضمن ١٩ حمض أميني (حوالي ٨٠% محتواه من مجموع الأحماض الدهنية) وأكثر من ٢٠ فيتامين ومعدن حيوي إضافة لغناه ببيتا كاروتين والدهون متعدد السكاريد (Sharma *et al*, 2012).

تم الحصول على عزلة نقية من هذا الطحلب من مخبر الدراسات العليا في قسم علم الحياة النباتية ونميت باستخدام وسط بريستول (Bristol, 2011) في حوجلات زجاجية سعة ٢ لتر مضافاً إليها وسط الإستزراع المؤلف من الأملاح الآتية المحلولة في لتر واحد من الماء المقطر.

NaNO₃- 250 mg, CaCl₂·2H₂O-25 mg, MgSO₄·7H₂O-75 mg, K₂HPO₄-75 mg, KH₂PO₄- 175 mg , NaCl- 25 mg.

خميرة الخباز Baker's yeast: تتميز بصغر حجمها من (٧-٥ ميكرومتر) ومحتواها العالي من البروتين تم تحضير معلق الخميرة عن طريق حلّه بماء دافئ باستخدام وسط أيوني صناعي معتدل القساوة EPA معقم ومن ثم رشح الوسط باستخدام شبك ٢٠ ميكرون لازالة البقايا وقدرت الكثافة بواسطة Hemacytometer.

مسحوق السبانخ المجففه Dryer Spinacia: غسلت أوراق السبانخ بالماء المقطر وجففت في المجففة بدرجة حرارة ٧٠ م° لمدة ١٨ ساعة، ثم هرست بشكل جيد جداً للحصول على مسحوق ناعم بشكل بودرة في المدق ونخلت لإزالة الأجزاء الكبيرة ثم حفظت في عبوات بلاستيكية لحين الإستخدام.

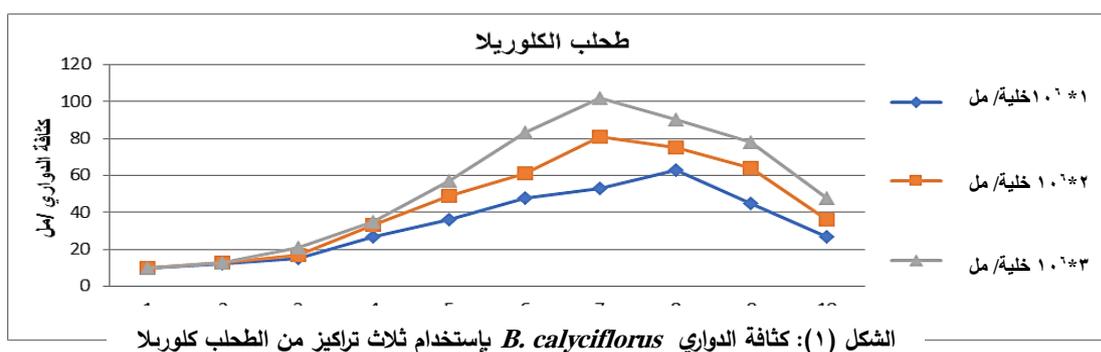
نبات السبانخ المجففة مع صفار البيض Spinacia & Egg extract (SEE): أخذ (٤) غ من السبانخ المجففة وأضيفت إلى (١) لتر من الماء المغلي سابقا في بيشر، ثم غلي المزيج لمدة نصف ساعة مع التحريك المستمر ترك حتى يبرد ثم صفي عبر حاجز قطني، حضر ٤ غرام من صفار البيض مع (١) لتر من الماء غلي المزيج لمدة نصف ساعة وبعدها رشح عبر حاجز قطني، أخذت كمية متساوية من الراشحين السابقين وخطت جيداً ثم عقت في الأوتوغلاف لمدة ربع ساعة وحفظت في الثلاجة بعدها لحين الاستخدام.

الجدول: ١ الأوساط الغذائية وتراكيزها المستخدمة في تغذية الدواري *B. calyciflorus* أثناء تجارب الاستزراع.

التركيز			الوسط الغذائي
٣ * ١٠ ^٦ خلية/مل	٢ * ١٠ ^٦ خلية/مل	١ * ١٠ ^٦ خلية/مل	الطحلب الأخضر Chlorell sp
٣ * ١٠ ^٦ خلية/مل	٢ * ١٠ ^٦ خلية/مل	١ * ١٠ ^٦ خلية/مل	خميرة الخباز Baker's yaset
٣ * ١٠ ^٦ خلية/مل %٥٠.٠+٥٠.	٢ * ١٠ ^٦ خلية/مل %٥٠.٠+٥٠.	١ * ١٠ ^٦ خلية/مل %٥٠.٠+٥٠.	خميرة الخباز + طحلب Chlorella sp.
١ غ/ل + ٠,٥ غ/ل			مسحوق السبانخ المجفف + خميرة
١ * ١٠ ^٦ خلية/مل Ch	٠,٥ * ١٠ ^٦ خلية/مل BY	٢٥ مل SEE	SEE مسحوق السبانخ المجفف مع صفار البيض + الخميرة + الكلوريل

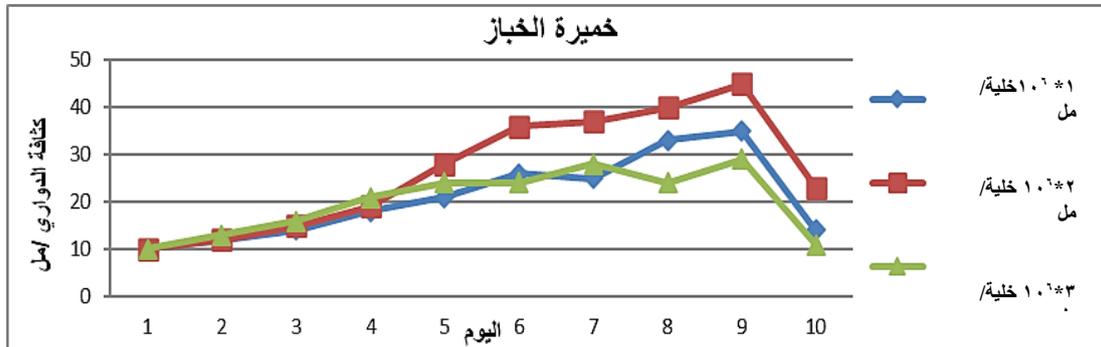
النتائج والمناقشة:

تم استخدام الطحلب الأخضر *Chlorell sp.* و خميرة الخباز كغذاء للدواري *B. Calyciflorus* كل على حدة أو بشكل مزيج متساو من كليهما باستخدام ثلاثة تراكيز مختلفة. بلغت أعلى كثافة للدواري على الطحلب كلوريل عند التركيز ٣ * ١٠^٦ خلية/مل، ووصلت إلى ١٠٢ ± ١٠ فرد / مل في اليوم السابع بمعدل تكاثر ٠,٣٥ وزمن تضاعف ١,٩٦ / يوم، والكثافة الأدنى عند تركيز ١ * ١٠^٦ خلية/مل وبلغت ٦٣ ± ٨ فرد / مل في اليوم الثامن كما هو موضح في الشكل رقم (١)، وبلغت قيمة معدل التكاثر ٠,٢٦ وزمن التضاعف ٢,٦٥ / يوم. وهذا ما أكده للباحثان (2023,Dang Mau and Hung) حيث يعدّ تركيز الطحالب أحد أهم العوامل في نمو وتكاثر الدورات، وقد وجدت هذه الظاهرة في الطبيعة فكما ازداد تركيز الطحالب في المياه العذبة كلما وجدت الدورات حاجتها من الغذاء وبالتالي نموها وانتاجيتها بشكل أفضل.



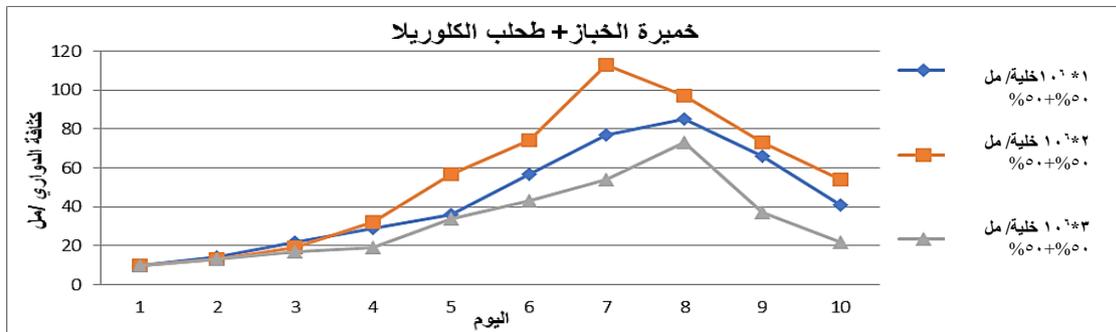
لوحظ عند استخدام خميرة الخباز لوحدها كوسط غذائي في تغذية الدواري *B. calyciflorus* انخفاض في معدل التكاثر (٢) بشكل كبير، حيث بلغت قيمة معدل التكاثر ٠,١٤ مع أعلى زمن تضاعف ٤,٧٥ / يوم مترافقة مع أدنى كثافة لجماعة الدواري والتي وصلت إلى ٢٩ ± ٤ فرد / مل عند التركيز ٣ * ١٠^٦ خلية / مل، بينما لوحظ ازدياداً واضحاً في كثافة جماعة الدواري عند التركيز ٢ * ١٠^٦ خلية / مل في اليوم التاسع من

التجربة ووصل إلى 4 ± 45 فرد / مل مع ارتفاع معدل التكاثر إلى $0,21$ وانخفاض زمن التضاعف إلى $3,24$ / يوم كما هو موضح في الشكل رقم (٢)



الشكل (٢): كثافة الدواري *B. calyciflorus* باستخدام ثلاث تراكيز من خميرة الخباز

إن استخدام مزيج متساوٍ من الطحلب الأخضر كلوريلا وخميرة الخباز أظهرت تحسناً في نمو جماعة الدواري بالنسبة لنفس التراكيز الغذائية، حيث وصلت أعلى كثافة لجماعة الدواري إلى 113 ± 10 فرد / مل عند تركيز الغذاء 2×10^6 خلية / مل في اليوم السابع، وتتاقص معدل التكاثر إلى $0,33$ ، بينما ارتفع زمن التضاعف إلى $2,07$ / يوم، ولوحظت أدنى كثافة 73 ± 5 فرد / مل عند التركيز 3×10^6 خلية / مل كما هو موضح في الشكل رقم (٣). وبالتالي يعد استخدام الطحلب الأخضر كلوريلا مع الخميرة كغذاء للدواري *B. calyciflorus* أفضل من الخميرة لوحدها عند التراكيز المنخفضة إلى حد ما.

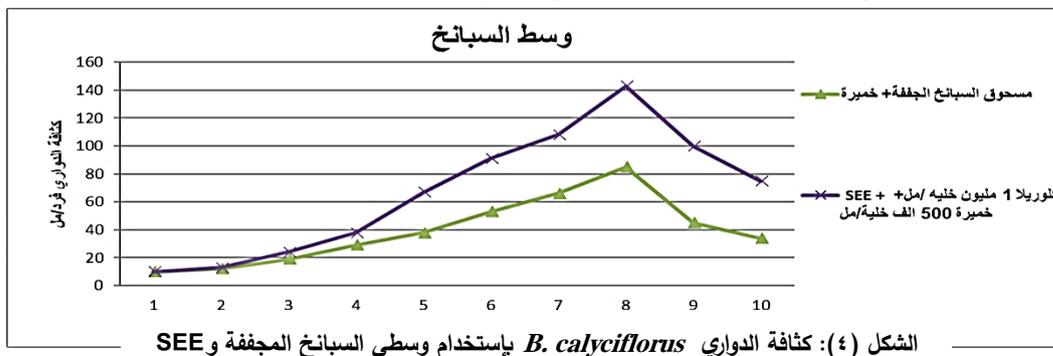


الشكل (٣): كثافة الدواري *B. calyciflorus* باستخدام مزيج من الطحلب كلوريلا وخميرة الخباز

تعد السبانخ من النباتات ذات القيمة الغذائية العالية رخيصة الثمن عموماً وهي متوفرة طيلة أيام العام استخدمت بشكل مسحوق مجفف مدعماً بالخميرة، ونتج عنها نمو جيد في كثافة المزرعة ووصلت كثافة الدواري إلى 8 ± 85 فرد/مل وبلغ معدل تكاثر $0,32$.

كما استخدمت السبانخ بشكل مزيج مع صفار البيض وذلك حسب طريق الباحث (غازي، ٢٠٠٥) الذي استخدم أوراق السلق مع صفار البيض CEE والخميرة لتغذية الدواري *B. calyciflorus* وبلغ فيها معدل التكاثر $0,24$ ، وتوافقت هذه النتائج مع نتائجنا بإعطاء هذه الأوساط معدلات نمو عالية ولوحظ عندها أفضل كثافة لجماعة الدواري وبلغت ذروة الكثافة 12 ± 143 فرد/مل في اليوم الثامن وبمتوسط عدد أفراد $66,9$ فرد/مل خلال فترة التجربة ووصل زمن التكاثر إلى حده الأقصى $0,36$ وأدنى زمن تضاعف وقدره $1,88$ /

يوم . الشكل رقم (٤) وذلك قبل أن تبدأ كثافة جماعة الدواري بالانخفاض، وقد عزيت الزيادة هذه إلى حصول الدواري على احتياجاته الأساسية من الأحماض الأمينية والفيتامينات والبروتينات التي تؤثر بشكل فعال في النمو، حيث يعد هذا الوسط من أفضل الخلطات الغذائية وأرخصها وهي تدعم نمو جماعة الدواري بشكل سريع وبالتالي استخدامه كغذاء حي ليرقات الأسماك والقشريات في المزارع والمفرخات السمكية.



الجدول ٢: زمن التضاعف ومعدل التكاثر لجماعة الدواري خلال ٦ أيام من الاستزراع حسب المصدر الغذائي المستخدم

المصدر الغذائي	معدل التكاثر (r)	زمن التضاعف/يوم
كلوريلا ١ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.26	2.65
كلوريلا ٢ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.31	2.29
كلوريلا ٣ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.35	1.96
خميرة ١ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.15	4.35
خميرة ٢ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.21	3.24
خميرة ٣ * ١٠ ^٦ خلية/مل	0.14	4.75
خميرة + كلوريلا ١ مليون خلية ٥٠+٥٠%	0.29	2.36
خميرة + كلوريلا ٢ مليون خلية ٥٠+٥٠%	0.33	2.07
خميرة + كلوريلا ٣ مليون خلية ٥٠+٥٠%	0.24	2.85
مسحوق السبانخ المجفف + خميرة	0.32	2.12
SEE + خميرة + كلوريلا	0.36	1.88

وبمقارنة نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة التي اقترحت إمكانية استخدام الخميرة والطحالب كل على حدة أو بشكل مزيج يلاحظ توافق في النتائج، فعلى الرغم من اقتراح إمكانية استخدام الخميرة كغذاء جيد للدورات إلا أن الأفضلية للطحلب الأخضر كلوريلا والسبب في ذلك يعود إلى نقص الفيتامينات وخاصةً فيتامين B12 عند الخميرة، عكس الطحالب التي تحتوي مستويات عالية منه وبناءً عليه لوحظ إنتاج منخفض للدواري عند تغذيته على الخميرة لوحدها مقارنة مع خليط الطحالب والخميرة (Odo et al, 2015). وهذا ما أكده الباحثان (Arimoro and Ofojekwu, 2004) في تجاربهما عن تغذية الدورات على الخميرة لوحدها التأثير المثبط لنمو الأفراد، بسبب انتقال الخميرة إلى الأحماض الدهنية غير المشبعة وخاصةً حمض Eicosapentaenoic الضروري لنمو وبقاء يرقات الأسماك في المراحل المبكرة من حياتها، إضافة لذلك فإن استخدام الخميرة لوحدها بشكل مستحلب قد يؤثر في عملية الاستزراع وبشكل خاص عامل التهوية (الذي يحدد

الأوكسجين المنحل في الماء (DO) والذي بدوره يشكل عاملاً حاسماً لنمو للدواري (Ashraf et al, 2010). من ناحية أخرى فإن ارتباط الكائنات المجهرية بالخميرة تكون مفيدة بالنسبة للدواري ومع ذلك فإن الخميرة لوحدها غير ملائمة لإستزراع الدواري (Sarma et al, 2001) إنما خليط الطحلب الطازج والخميرة يعد مناسباً وذو تكلفة أقل لإستزراع الدواري وأفضل من الأغذية المشتركة الأخرى.

ولدى مقارنة نتائج البحث مع النتائج التي توصل إليها الباحث (Sarma et al, 2001) مع فريقه حيث درس تأثير الكلوريل و خميرة الخبز كل على حده أو بشكل مزيج متساو بتركيزين 1 و 3 مليون خلية/مل لكل وسط غذائي، في غذاء نوعين من الدورات *B. calyciflorus* , *B. patulus* ، فقد توافقت النتائج إذ بلغت أعلى كثافة للجماعة لكل نوع عند تقديم الكلوريل لوحدها ووصل تعداد الأفراد عند كلا النوعين *B. calyciflorus* . *B. patulus* إلى أعلى كثافة (296 ± 20 , 103 ± 8) فرد/مل

على التوالي عند التركيز 3 مليون خلية/مل، بينما لوحظ انخفاض في كثافة جماعة الدواري *B. calyciflorus* عند استخدام مزيج من الكلوريل والخميرة مقارنة مع وسط الكلوريل لوحدها حتى لو زيد التركيز من 1 إلى 3 مليون خلية /مل وهذا ما لوحظ في دراستنا من حيث انخفاض الكثافة عند التركيز العالي.

كما أثبت الباحث (Sulehria, 2008) عندما درس كثافة الدواري *B. calyciflorus* باستخدام أوساط مختلفة من الطحالب، والطحالب مع الخميرة، والخميرة لوحدها المدعمة بفيتامين B₁₂ مع تقديم الغذاء مرتين في اليوم فقد لاحظ ازدياد في كثافة الدواري بشكل مستمر خلال الأيام التسع الأولى وأعلى كثافة في اليوم التاسع إذ بلغت (799.67 فرد/مل) (608.33 فرد/مل) (380.33 فرد/مل) على التوالي، ثم بدأت الكثافة بالتناقص، وبلغ معدل الزيادة ذروته ($r=0.6$) في اليوم السادس مع تسجيل إنخفاض مستمر حتى نهاية التجربة.

ولا بد من التنكير بأن أغلب الدراسات والأبحاث أشارت إلى افتقار الدورات التي غُذيت على الخميرة لوحدها إلى بعض الأحماض الدهنية الضرورية ليرقات الأسماك على عكس الدورات التي غُذيت على خليط الخميرة والطحالب، حيث تتميز بغناها بالأحماض الدهنية الضرورية لها وتحقق نمواً جيداً ليرقات الأسماك (Chew Lim, 2005).

ومن جهة أخرى فإن التغذية على الطحالب لوحدها رغم محتواها الغذائي العالي الداعم لنمو الدورات إلا أن تنمية الطحالب الخضراء مكلف ويحتاج إلى المكان المناسب والوقت الكافي لتوفير كميات كبيرة تقي بغرض التغذية ولذلك تلجأ بعض المفاقد إلى استخدام الخميرة فقط ذات التكلفة الأقل لتغذية الدورات المستزرعة مخبرياً. وقد ذكر العديد من الباحثين ما تتعرض له يرقات الأسماك المغذاة على الدورات المستزرعة على الخميرة فقط وحصول نسبة هلاك أكبر (Fukusho, 1977; Kitajima and Koda, 1975; Howell, 1973) ، كما أن وجود الهديبات في وسط الإستزراع كمتعضيات دخيلة يقلل من عدد الإناث حاملة البيض، حيث تقوم الهديبات بالتغذي على البكتريا وكذلك الخمائر وهذه كلها تدخل في غذاء الدواري وبوجود الهديبات تقل نسبتها في الوسط وبالتالي خفض كفاءة تكاثرها (Hoff and snell, 1987) لذلك وبغرض تحسين القيمة الغذائية للدورات يتم استخدام خلائط وأوساط غذائية ذات محتوى غذائي غني وداعم لها وبمردود إنتاجي عالي يخفض التكلفة الاقتصادية العالية وتحقيق مردود إنتاجي جيد للعاملين في المفرخات والمزارع السمكية.

إن إغناء مسحوق السبانخ بمجموعة من العناصر الغذائية كالبروتينات والأحماض الدهنية وغيرها أعطاه قيمة غذائية أعلى لتغذية الدواري وتكاثره بشكل مثالي بحيث استخدم هذا الوسط لأول مرة في عملية إستزراع الدواري *B. calyciflorus* وأعطى نتائج جيدة وبكلفة أقل من باقي الأوساط وبشكل خاص الطحالب ذات التكلفة العالية لإنتاجها.

وبإجراء مقارنة بين هذه الأوساط الغذائية من حيث معدل التكاثر وزمن التضاعف الموضحة في الجدول (٢) يلاحظ أنه يمكن الإستعاضة عن الطحالب الخضراء عند تركيز ٣ مليون خلية/مل بوسط SEE ذو التكلفة الإقتصادية المنخفضة والقيمة الغذائية العالية، كذلك الأمر يمكن الإستعاضة عن الطحالب الخضراء بتركيز ٢ مليون خلية/مل أو مزيج الطحالب والخميرة عند هذا التركيز بوسط قليل التكلفة من مسحوق السبانخ المجففة مع الخميرة ويعطي نتائج متقاربة من حيث معدلات النمو للدواري عند استزراعه على إحدى هذه الأوساط.

إن انخفاض كثافة جماعة الدواري *B. calyciflorus* في جميع الأوساط بعد بلوغها الذروة يعزى إلى تدهور حالة الجماعة في نطاق استزراع ضيق، إضافة إلى تجمع المتعضيات الميتة والمتعفنة في قاع الأحواض وتراكم الفضلات وهذا ما يرفع الأكسدة وبالتالي إنخفاض O_2 ، مما يخفض تعداد الدواري *B. calyciflorus* في ١ مل من ماء الحوض، إضافة لذلك فإن تراكيز الغذاء المنخفضة لا توفر الكميات المطلوبة من المغذيات التي تحتاجها الدورات المستزرعة من أجل تحقيق كثافة عالية للجماعة ما يؤدي إلى زيادة مدة نمو المتعضيات بدءاً من نشوئها، حيث تزداد كثافة جماعة الدواري بمعدل بطيء جداً بسبب المنافسة العالية التي تحد من فرصة وجود بيئة مناسبة (Okunsebor, 2012).

ومن ناحية أخرى فإن الكثافة العالية للدورات في أحواض الإستزراع والمواد الغذائية المصاحبة سيؤدي إلى زيادة المواد العضوية في قاع الأحواض مما يزيد من نمو الجراثيم ويؤدي إلى تدهور المزرعة.

الدراسة الإحصائية :

جدول ٣: نتائج إختبار LSD لقيم الكثافة في الأوساط الغذائية المختلفة

المعاملة	تركيز 1 * 10 ⁶	فرق المتوسط	تركيز 2 * 10 ⁶	فرق المتوسط	تركيز 3 * 10 ⁶	فرق المتوسط
طحالب مع خميرة	26.374 ± 43.70		35.630 ± 54.20		20.148 ± 32.20	
طحالب	18.38 ± 33.60	10.1	25.981 ± 43.90	10.3	33.546 ± 53.70	-21.5 *
خميرة	8.753 ± 20.80	22.9 *	12.519 ± 26.50	27.7 *	6.992 ± 20.00	12.2
						33.7*

SEE + خميرة + كلوريل	سبانخ مجففة + خميرة	طحالب + خميرة	خميرة	طحالب	SEE + خميرة + كلوريل
23.167*	-4.63	-0.37	-21.3*		
44.467*	16.67	20.933*		21.3*	
23.533*	-4.27		-20.933*	0.37	
27.8*		4.27	-16.67	4.63	
	-27.8*	-23.533*	-44.467*	-23.167*	

* الفروق معنوية عند مستوى معنوية 0.05

أظهرت نتائج تحليل التباين (ANOVA 1) الجدول رقم (٣) بهدف تحديد الفروق المعنوية بين متوسطات المعاملات عند مستوى معنوية ٠,٠٥، وإجراء إختبار LSD الذي يعبر عن أقل فروق معنوية إلى وجود فروق معنوية هامة بين كثافة جماعة الدواري والأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة وبشكل خاص

الوسط الجديد SEE مع باقي الأوساط المستخدمة. وبالتالي مما تقدم نؤكد أن الوسط SEE هو من أفضل الأوساط لاستزراع الدواري *B. calyciflorus* كغذاء حي ليرقات الأسماك في صالات التفريخ.

الإستنتاجات:

- ١- تأثر نمو جماعة الدواري *B. calyciflorus* باختلاف الوسط الغذائي وتركيزه.
- ٢- سجّل أفضل معدل للتكاثر ٠,٣٦، وأدنى زمن تضاعف ١,٨٨/ يوم عند تغذية الدواري على وسط صناعي أستخدم لأول مرة (SEE) مقارنة مع أدنى معدل للتكاثر وأعلى زمن للتضاعف ٠,١٥، ٤,٣٥/يوم على التوالي عند تغذيته على الخميرة لوحدها.
- ٣- يعدّ الطحلب الأخضر كلوريلا غذاءً متوقفاً و ذو قيمة غذائية عالية مقارنة مع الخميرة في تغذية الدورات
- ٤- يمكن تحسين إنتاجية الدواري بإضافة الخميرة الى الطحالب الخضراء ذات الكلف الاقتصادية العالية بما يخفض هذه التكاليف
- ٥- يمكن الإستعاضة عن الطحالب الخضراء عند تركيز ٣ مليون خلية/مل بوسط SEE ذو التكلفة الاقتصادية المنخفضة والقيمة الغذائية العالية في إستزراع الدواري *B. calyciflorus*.

التوصيات والمقترحات:

- ١- متابعة الدراسات في هذا المجال والبحث عن البدائل الغذائية الأرخص التي تساهم في دعم الإنتاج المحلي من الأسماك ذات القيمة الاقتصادية العالية.
- ٢- الاستمرار في إجراء التجارب على الأنواع الأخرى من الدورات أو القشريات التي يمكن استخدامها في تغذية يرقات الأسماك والقشريات ذات الأهمية الاقتصادية في مجال الاستزراع الكثيف أو البحث عن البدائل الغذائية الأرخص بما يساهم دائماً في تحقيق التنمية الاقتصادية المستدامة.

المراجع العربية والأجنبية:

- ١- فكري، محمد عاشور. ٢٠٠٦. *الروتيفير الغذاء الأساسي لمفرخات الجمبري والأسماك البحرية*. مشروع تطوير وإنتاج مفرخات ومزارع الأسماك، أكاديمية البحث العلمي والتكنولوجيا، المعهد القومي لبحوث البحار والمصايد نشرة إرشادية (٥)، ١٨-١ص.
- ٢- غازي، عبد الحسين حاتم. ٢٠٠٩. *استخدام الغذاء الطبيعي في تغذية يرقات اسماك الكطان *Barbus xanthopterus Heckel**. المجلة العراقية للاستزراع المائي المجلد ٦، العدد ١، ٣٦-٢٥ ص.
- ٣- غازي عبد الحسين حاتم. ٢٠٠٥. *استخدام أغذية حية في تربية يرقات أسماك الكارب الاعتيادي *Cyprinus carpio* والكارب العشبي *Ctenopharyngodon Idella**. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة، ١-١٨٥ص.

٤-AGBAKIMI, I. O; ARIMORO, F. O; AYANWALE, A. V; KEKE, U. N;

GANNA, J; ABAFI, J. 2017. *Mass culture and growth response of rotifer (Brachionus calyciflorus) fed different combinations of manure filtrates and algae*. IJABR Vol. 8(1): 70 – 84p.

٥-ARIMORO, F. O; OFOJEKWU, P. C. 2004. *some aspects of the culture, population dynamics and reproductive rates of the freshwater rotifer, Brachionus calyciflorus fed selected diets*. Journal of Aquatic Sciences 19(2): 95 – 98P.

٦-ARIMORO, F.O. 2006. *Culture of the freshwater rotifer, B. calyciflorus and its application in fish larviculture technology*. African Journal of Biotechnology, 5 (7): 536-541pp.

٧-ASHRAF, M; ULLAH,S; RASHID,T; AYUB,M; BHATTI, E.M;; NAQVI,S.A; JAVAID ,M. 2010. *Optimization of Indoor Production of Fresh Water Rotifer, Brachionus calyciflorus*, A Preliminary Study, Int. J. Agric. Biol., 12: <http://www.fspublishers.org> 719–723 P.

8-BRISTOL MEDIUM. 2011. UTEX the Culture Collection of Algae. <http://www.sbs.utexas.edu/utex/mediaDetail.aspx?mediaID=29> (16-08-2011)

9-ARRHENIUS, F; HANSON, S. 1993. *Food Consumption of Larval, Young and Adult*

Herry and Sprat in the Baltic Sea. Marine Ecology Progress Series 96: 125-137p.

10-BRYANT, P.L. ; MATTY, A.J. 1980. *Optimisation of Artemia feeding rate for carp (Cyprinus carpio L.)*. Aquaculture, 21: 203-212p.

11-BREZAS, A. 2010. *Live food in fish larvae*. J.Aquaculture NO:257, April 21, 204–213p.

12-Chew, W. Y. S ; Lim, H .S. 2005. *Some Improvements To The Rotifer (Brachionus Rotundiformis) Mass Culture Method*. Singapore J Pri Ind 32: 52-58 pp.

13- DAHRIL,T.1997. *A study of the freshwater rotifer Brachionus calyciflorus inPekanbaru, Riau, Indonesia*. Hydrobiologia 358: 211–215.

14-DANG MAU, TRINH; HUNG, DUONG .Q. 2023. *Effects of cultural conditions on life history characteristics of the freshwater rotifer Brachionus calyciflorus* . Int. J. Aquat. Biol. 11(2): 104-114.

15- EKELEMU, J .K .2015. *Isolation and Mass Culture of Freshwater Rotifer (B. calyciflorus) Using Different Organic Media*, Int. J. Adv. Biol. Res 5, 67-72p.

16- FUKUSHO,K. 1977. *Nutritional effects of rotifer, Brachionus plicatilis raised bybaking yeast on larvae fish of Oplegnathus fasciatus ,by enrichment with Chlorell sp. befor feeding*. Bull. of Naga. Prefe. Inst. of fisheries , 3:153 –154p.

17- GLIME, J. M.2013. *Invertebrates: Rotifers*. chapter 4-5, 4-6, 4-7 bryophyte ecology. Volume 2. Bryological Interaction, Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Last updated 6 July .

18- HOWELL,B.R. 1973. *The effects of unicellar algae on the growth of early larvaeof the turbut (Scopthalmus L.)*. International Council for the Exploration of the sea ,CM 1973/E:21,7pp.

19-HOFF, F. H; SNELL, T. W. 1987. *Plankton culture manual*. sixth edition ,published by ,Florida Aqua Farms,inc.33418 old Saint Joe Road ,Dade City, ,186p.

20-HASSAN ABD EL-RAHMAN, A. 2011. *Zooplankton as natural live food for three different fish species under concrete ponds with mono-and polyculture conditions*. Egyptian Journal for Aquaculture Vol. 1 No. 1 , 27-41 pp.

21-IVLEVA, I. V. 1969. *Mass cultivation of invertebrates*. Biology and methods. Moscow. (in Russian), 119-125 pp.

22-INDY, J. R; RODRÍGUEZ, L. A; COUTURIER, G. M; SEGERS, H; GONZÁLEZ ,C. A. Á; SÁNCHEZ , W. M. C. 2012. *Freshwater rotifer: (part I)*

importance, larvi food, and culture. División Académica de Ciencias Biológicas, V x v i i i , N 34 , ISSN 1665-0514, 89-97p.

23- JAMES, C.M ; DIAS, P. 1984. *Mass culture and production of the rotifer Brachionus plicatilis using Baker's yeast and marine yeast*. Annual Research Report Kuwait Inst. For Science Research, 49-51p.

24-KASSIM ,T .I ; MANGALO, H.H ; ABDULKAREEM ,T .K . 1999. *Seasonal variation of zooplankton population in Qadisia lake north west Iraq*. III Cladocera. Al -Mustansiriyah J. Sci, 10 (3) :30-39p.

25-KASSIM, T.I; ALSAADI, H.A; SALMAN, N.A. 1999. *production of some phyto and zooplankton and their use as live food for fish larvae*. Iraqi j. agric, vol.4 no.5, 18-201p.

26-KASSIM, T. I.; SALMAN, N. A.; AI-LAMI, A. A.; MUFTEN, F. S.; ABOOD, S. M. & SHKAER, H. K. 1998. *The use locally raised live food and artificial diet for feeding*

Cyprinid Larvae in Iraq. Marina Mesopotamica, 13 (1): 77-90p.

27-KITAJMA, C; KODA, T. 1975. *Influence of the rotifer produced by feeding yeast on the fry of red sea bream*. Presented at all meeting of Jap. Soc. Sci. Fisheries ,303 pp.

28- LUBZENUS, E; TANDLER, A; MINKOFF, G. 2022. *Rotifers as food in aquaculture*. *Hydrobiologia* 186/187: 387-400 pp.

29- ODO ,G. E; AGWU, J. E ; IYAJI, F. O ; MADU, J. C ; OSSAI, N. I ; ALLISON, L. N. 2015. *Mass production of rotifer (Branchionus calyciflorus) for aquaculture in south-eastern Nigeria*. Int. J. Fish. Aquac, Vol. 7(9), pp. 151-159, DOI: 10.5897 /IJFA15.0497, 151-159pp.

30- OKUNSEBOR, S.A. 2012. *Effects of Concentrations of Different Combinations of Manure Culture Medium and Period of Growth on Population Density of Brachionus calyciflorus*. International Journal of Science and Advanced Technology (ISSN 2221-8386) Volume 2, No 5, <http://www.ijst.com>, 7-16p.

31-RUFCHAIE, R; KAPOURCHALI, M. F; ARMOUDLI ,R; AZIZZADEH, L; SALAVATIAN, M; CHUBIAN, F; PAJAND, Z. 2012. *Potential to use the native freshwater rotifer, Brachionus calyciflorus in feeding Acipenser persicus larvae*. Annals of Biological Research, 3 (2), 965-974p.

32-SIPAÚBA-TAVARES, L. H; BACHION, M. A. 2002. *Population growth and development of two species of Cladocera, Moina micrura and Diaphanosoma birgei, in Laboratory*, Brazilian Journal of Biology, 62 (4): 20pp.

33-SHIEL, R.J. 1995. *Aguide to identification of rotifers, cladocerans and cope pods from Australian inland waters*. The Murray-Darling Freshwaters research centre, albury, 150p

34-SHARMA, R; SINGH, G.P ; SHARMA, V.K. 2012. *Effects of Culture Conditions on Growth and Biochemical Profile of Chlorella Vulgaris*. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 3:131. doi:10.4172/2157-7471.1000131.

35-SARMA, S.S.S; JURADO, L, P. S ; NANDINI, S. 2001. *Effect of three food types on the population growth of Brachionus calyciflorus and Brachionus patulus (Rotifera: Brachionidae)*. Rev. Biol. Trop., 49(1): 77-84P.

36- SULEHRIA, A. Q. K. 2008. *Planktonic rotifers and their role in fish growth and farm fisheries*. roll no. 245-8-2005, department of zoology, gc university lahore ,1-133p.

37-UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1985. *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms*. EPA/600/4-85/013,216 pp.

38- WEBER, C. I. 1970. *Methods Of Collection And Analysis Of Plankton And Periph- yton Samples In The Water Pollution Surveillance System*. Stanford University - Epa-600/D-70-002, 1-27pp.