

مطالعه میزان رشد دیاتومه *Skeletonema costatum*

تحت تاثیر رژیمهای مختلف نوری

لیلا شمس^(۱) - جعفر سیف آبادی^(۲) - عباس متین فر^(۳) - حسن ابراهیم زاده^(۴)

leyla_shams@yahoo.com

۱_ لیلا شمس، تهران، صندوق پستی: ۵۳۴-۱۴۳۳۵

۲_ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه بیولوژی دریا،

صندوق پستی: ۳۵۶-۴۶۴۱۴

۳_ مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵

۴_ دانشگاه تهران، دانشکده علوم، صندوق پستی: ۶۴۵۵-۱۴۱۵۵

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۳

تاریخ ورود: اسفند ۱۳۸۱

چکیده

تأثیر نور بر رشد فیتوپلانکتون *Skeletonema costatum* در ۲۰ تیمار نوری مختلف شامل ۵ شدت ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ لوکس هر کدام با ۴ تناوب تاریکی: روشنایی (L:D) ۲۴:۰، ۱۸:۶، ۱۲:۱۲ و ۶:۱۸ ساعت بررسی گردید. از تمام نمونه‌ها به طور روزانه نمونه برداری صورت گرفت و تراکم سلولی و نرخ رشد در همه آنها اندازه‌گیری شد. در بین دوره‌های مختلف نور دهی، در تابشهای پیوسته نور نرخ رشد حداکثر و تراکم سلولی حداقل بود. در شدت ۴۰۰۰ لوکس میزان رشد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. لیکن در مجموع غیر از تناوب تاریکی: روشنایی ۶:۱۸ ساعت اختلاف زیادی بین تیمارهای مختلف از نظر رشد وجود نداشت. در تناوب ۶:۱۸ با شدتهای نوری مختلف رشد بسیار آهسته بود و به همین دلیل بین این تناوب با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در رشد دیده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که سلولهای فعال *S. costatum* به خوبی خود را با تغییرات نور سازگار می‌کنند، اما در سلولهای پیرتر یعنی سلولهای که به انتهای فاز سکون یا مرگ رسیده‌اند، تا زمانی که رشد فعال آغاز نشده باشد، امکان ایجاد اختلال در رشد توسط عوامل محیطی وجود دارد.

کلمات کلیدی: دیاتومه، *Skeletonema costatum*، رژیم نوری

مقدمه

امروزه در صنعت آبی‌پروری، تغذیه جایگاه مهم و اساسی را بخود اختصاص داده و براساس مطالعات متعددی که تاکنون صورت گرفته است، غذا بعنوان مهم‌ترین منبع تامین مواد مصرفی سلولهای جانوری و تولید انرژی شناخته شده است. در پرورش میگو نیز در مراحل لاروی و مراحل بعدی رشد، تغذیه یک عامل مهم محسوب شده و کمبود آن با ایجاد علائم مختلف از جمله رشد همراه خواهد بود (حسینی، ۱۳۷۷).

دیاتومه *Skeletonema costatum* از دیرباز بعنوان یک منبع غذایی مهم برای مراحل ابتدایی لارو میگوهای خانواده پنائیده، بسیاری از سخت پوستان، دوکفه‌ای‌ها، روتیفر و غیره مورد توجه بوده است (Curl & McLeod, 1961; Brown & Jeffrey, 1995; Brown & Miller, 1992). امکان تولید این دیاتومه زنجیره ای که از مرحله zoa به بعد به مصرف تغذیه لارو میگو می رسد، در سراسر سال وجود دارد (Sauriau & Baud, 1994). این دیاتومه در تمام آبهای جهان غیر از مناطق قطبی وجود دارد (Hasle, 1973; Ueno, 1991; Sakshaug & Andresen, 1986; Sakshaug et al., 1989). علت این پراکنش جهانی را توانایی بالای *Skeletonema* در سازگاری با دامنه های وسیع نور، دما و شوری می‌دانند (Sakshaug & Andresen, 1986; Gurusamy 1992).

در کشور ما نیز طی سالهای اخیر تکثیر و پرورش میگو بخصوص در سواحل جنوبی توسعه یافته است و از *S. costatum* برای تغذیه لاروها استفاده می‌شود. با توجه به روند رو به گسترش این صنعت و استفاده از این فیتوپلانکتون برای تغذیه، نیاز میرمی به انجام مطالعات بیشتر در زمینه کشت و پرورش انواع فیتوپلانکتون در داخل کشور وجود دارد. از این رو در این تحقیق، نور بعنوان یکی از عوامل فیزیکی شاخص در کنترل حاصلخیزی اکوسیستمهای آبی بر روی *S. costatum* اعمال گردید تا تاثیر رژیمهای مختلف نوری بر میزان رشد و تراکم سلولی این فیتوپلانکتون بررسی گردد.

با وجود توانایی زیاد *S. costatum* در سازگاری به شرایط مختلف، از جمله تابشهای متفاوت، شدتهای زیاد نور در رشد جلبک ایجاد محدودیت می‌نمایند (Sakshaug et al., 1986). هر چند که شدتهای کم نور نیز باعث کاهش میزان رشد می‌شوند. (البته تحقیقات نشان داده که در نورهای کم می‌توان با استفاده از مکمل گلوکز، این کاهش را جبران کرد) (Fogg & Thake, 1987).

در شدتهای کم نور، به دلیل افزایش مقدار Chl a میزان فتوسنتز در سلول بالا می‌رود (Fogg & Thake, 1987). آستانه شدت نور برای حداقل فتوسنتز ۱۰۰۰ lux و برای حداکثر فتوسنتز در دمای ۵ تا ۱۸ درجه سانتیگراد، ۱۲۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰ لوکس گزارش شده است. با افزایش دما از ۱۸ درجه سانتیگراد، این شدت به ۴۰۰۰ تا ۶۰۰۰ لوکس کاهش می‌یابد (Curl & Mcleod, 1961).

S. costatum دوره های طولانی‌تر نور را برای حداکثر رشد ترجیح می‌دهد. البته این بدان معنی نیست که در نور پیوسته حداکثر رشد صورت می‌گیرد، بلکه این جلبک به چند ساعت تاریکی نیاز دارد.

با این وجود می‌تواند در تناوب‌های مختلف نور، خود را با تغییرات مدت تابش سازگار نماید (Gurusamy, 1992). مدت زمان تقسیم سلولی نیز در این دیاتومه بستگی به دوره روشنایی تاریکی دارد (Sauriau & Baud, 1994). با ثابت در نظر گرفتن Chl/C، ارتباط بین میزان رشد و مدت زمان نوردی یک ارتباط خطی (linear relation) است. در حالیکه بین میزان رشد و شدت نور ارتباط غیرخطی (curvilinear relation) وجود دارد (Sakshaug & Andresen, 1986).

مواد و روش کار

سلولهای *S. costatum* که قبلاً در ایستگاه تحقیقاتی سرتل، مرکز تحقیقات میگوی ایران (بوشهر) خالص‌سازی شده بودند در ۲۰ تیمار نوری شامل ۵ شدت ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ لوکس هر یک با ۴ دوره تاریکی: روشنایی (L:D) ۲۴:۰، ۱۸:۶، ۱۲:۱۲ و ۶:۱۸ ساعت پرورش داده شدند. محیط کشت Guillard F/2 medium (منبع اینترنت) و آب دریای مورد نیاز برای این محیط از ساحل سرتل- بوشهر تامین شد. پس از تهیه محیط کشت درون هر ظرف ۵ میلی‌لیتر از سلولهای ذخیره مادر در مرحله سکون رشد که تحت شرایط فایکولب در نور پیوسته ۲۲۰۰ lux و دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد رشد داده می‌شدند، اضافه گردید. این حجم از ذخیره معمولاً دارای $10^4 \times 1/5 - 1/5$ و بطور متوسط $10^4 \times 1/8$ سلول در هر میلی‌لیتر بود. قبل از برداشت سلول از ذخیره مادر ظرف حاوی استوک به آرامی تکان داده می‌شد تا حتی الامکان پراکندگی سلول‌ها در محیط یکنواخت گردد. دمای اتاق کشت ۲۶ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و شوری محیط کشت ۲۷ ppt تنظیم گردید. به منظور تامین اکسیژن مورد نیاز سلولها و نیز کمک به تعلیق آنها در محیط، هوادهی در تمام ظروف کشت انجام شد. نور مورد نیاز برای هر تیمار بسته به شدت نور مورد استفاده، بوسیله تعدادی لامپ فلورسنت (۲۰ و ۴۰ وات) و نیز تعدادی لامپ کم مصرف (اسرام، ۲۰ وات) تامین شد.

شدت نور در هر تیمار با استفاده از یک نورسنج (Lutron LX-107) و مدت زمان تابش توسط یک زمان‌سنج (Zeitschaltuhr 340T 15) اندازه‌گیری و کنترل گردید. از تمام تکرارهای هر تیمار روزانه نمونه برداری انجام شد و توسط لام هموسیستمتر نئوبار، تراکم سلولی (تعداد سلول در هر میلی‌لیتر) شمارش شد. پس از پایان دوره رشد هر تیمار (یعنی از آغاز رشد سلولها تا انتهای حیات آنها)، میزان رشد شامل نرخ رشد (μ) و مدت زمان تقسیم سلولی (G) با استفاده از فرمولهای زیر (Fogg & Thake, 1986) محاسبه گردید.

$$\mu = \ln N - \ln N_0 / t \quad G = \ln 2 / \mu$$

N_0 : تعداد سلول در زمان اولیه N: تعداد سلول در زمان ثانویه t: زمان

پس از گردآوری تمام داده‌ها، همبستگی بین صفات، معادلات رگرسیون، مقایسه میانگین و نیز آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم افزار آماری spss محاسبه شد.

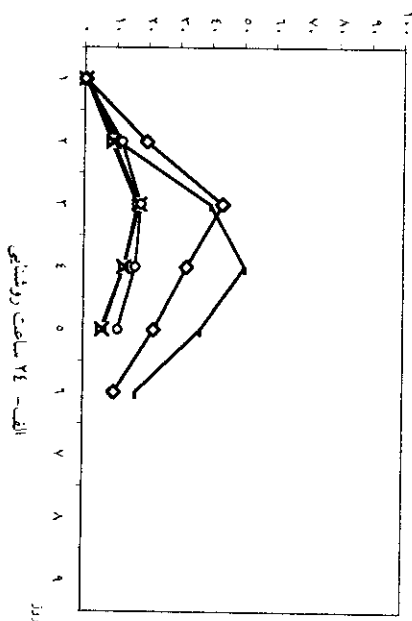
نتایج

دوره رشد: در تمام تیمارها مشاهده شد که *S. costatum* مانند سایر فیتوپلانکتون‌ها از یک منحنی رشد عمومی که دارای ۴ مرحله اصلی می‌باشد تبعیت می‌کند (Smith et al., 1993). این ۴ مرحله عبارتند از: فاز تأخیر که در آن سلولها خود را برای رشد در شرایط جدید آماده می‌کنند، فاز رشد تصاعدی که با تقسیم سریع سلولها همراه بوده و تعداد آنها به شدت افزایش می‌یابد، فاز سکون که مرحله تعادل بین میزان رشد و میزان مرگ و میر سلولهاست و فاز مرگ. در تمام شدتهای نوری بکار رفته، کوتاهترین دوره رشد در تابش پیوسته نور به مدت ۵ تا ۶ روز مشاهده شد. با کاهش مدت تابش نور دوره رشد افزایش یافت که طولانی‌ترین آن در تیمار ۶:۱۸ ساعت / ۴۰۰۰ لوکس به مدت ۱۰ روز بود. البته این تیمار از نظر سن سلولهای اولیه با سایر تیمارها متفاوت بود. در سایر تیمارها بسته به شدت و مدت تابش دوره رشد ۷ تا ۸ روز بود (نمودار ۱).

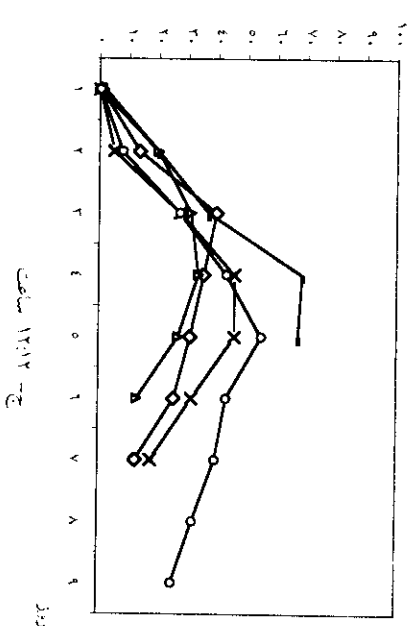
میزان رشد: در دوره نوری ۶:۱۸ ساعت در همه شدتها به غیر از ۴۰۰۰ لوکس تراکم سلولی بسیار کم بود و رشد به کندی صورت می‌گرفت (نمودار ۱-د). کمترین تراکم سلولی در این دوره تابش در شدت ۶۰۰۰ لوکس به میزان $10^4 \times 0/24$ سلول در میلی‌لیتر، با نرخ رشد $0/5$ ln روز و مدت زمان تقسیم سلولی ۳۵/۸ ساعت و نیز در شدت ۲۰۰۰ لوکس با تراکم $10^4 \times 0/16$ سلول در میلی‌لیتر، نرخ رشد $0/59$ ln روز و G برابر با ۲۷/۸ ساعت بود. پس از این چهار تیمار کمترین تراکم در تابش پیوسته نور با شدتهای ۱۰۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس مشاهده شد و بیشترین تراکم نیز در تیمار ۶:۱۸ ساعت / ۴۰۰۰ لوکس به میزان $10^4 \times 37/74$ سلول در میلی‌لیتر با نرخ رشد $0/97$ ln روز اندازه‌گیری شد (نمودارهای ۲ و ۳). البته در بین این ۲۰ تیمار بالاترین نرخ رشد مربوط به تیمار ۲۴:۰ ساعت / ۸۰۰۰ لوکس به میزان $1/55$ ln روز با مدت زمان تقسیم سلولی ۱۰/۸ ساعت بود. لازم به ذکر است که مقدار متوسط تراکم سلولی از میانگین تراکم در دوره رشد محاسبه شد. این در حالی بود که در زمان حداکثر تراکم که معمولاً در روزهای سوم و چهارم کشت بود، مقدار تراکم سلولی بسیار بیشتر از مقدار میانگین بود (نمودار ۱).

محاسبه ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که بین نور و تراکم سلولی ارتباط بسیار کم و تقریباً صفر می‌باشد ($r = 0/08$). اما همبستگی بین نور و نرخ رشد $r = 0/39^{**}$ بدست آمد. معادلات و خطوط رگرسیونی این صفات با نور نیز مؤید همین مطلب است که نور با تراکم سلولی ارتباطی بسیار ضعیف ($a = 0/15$ و $R^2 = 0/06$) و با نرخ رشد ارتباطی در حد متوسط دارد ($a = 0/02$ و $R^2 = 0/16$).

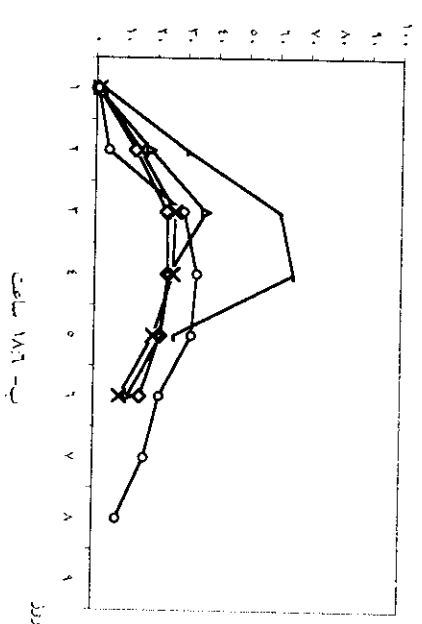
سلول در میلی لیتر ($\times 10^4$)



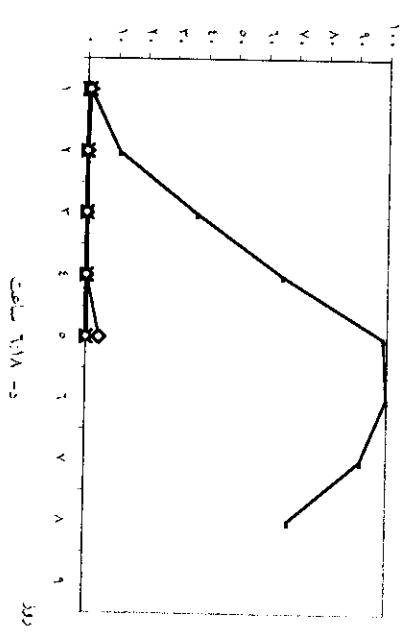
سلول در میلی لیتر ($\times 10^4$)



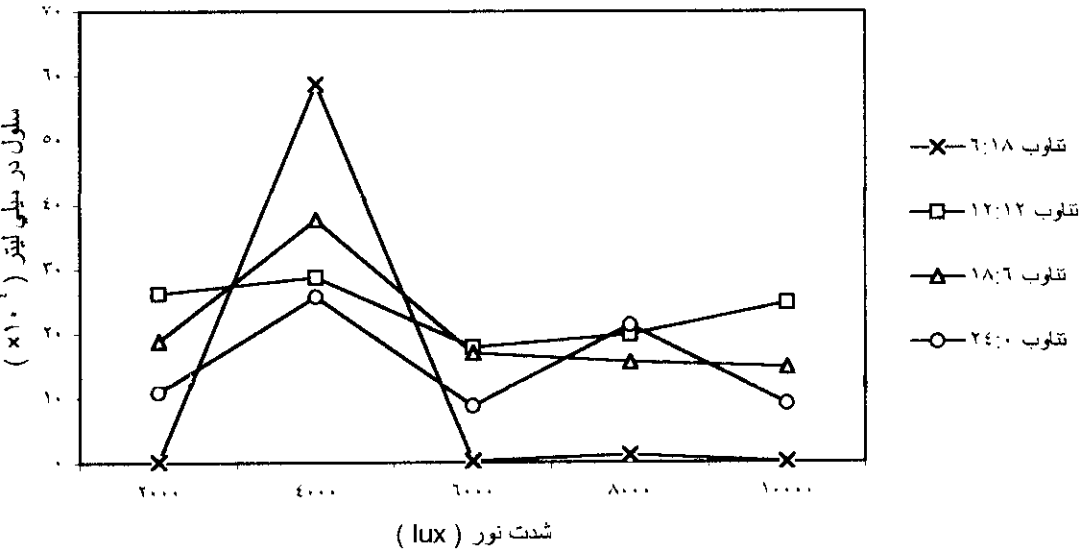
سلول در میلی لیتر ($\times 10^4$)



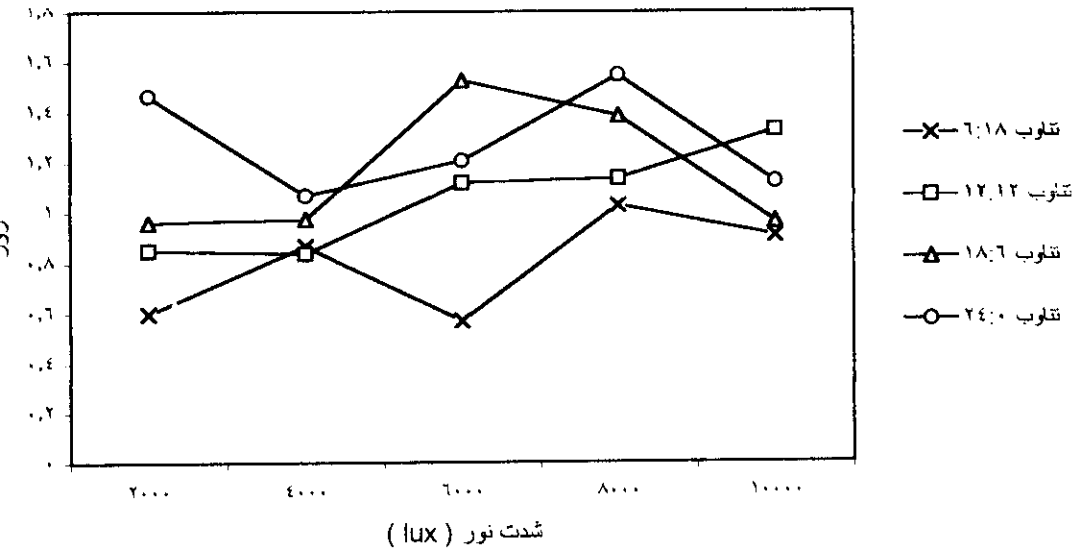
سلول در میلی لیتر ($\times 10^4$)



شماره ۱ - منحنی رشد *S. costatum* در شرایطی مختلف نور



نمودار ۲: میانگین تراکم سلولی در تیمارهای مختلف



نمودار ۳: میانگین نرخ رشد در تیمارهای مختلف

بحث

در این تحقیق برای به حداقل رساندن اثر شرایط اولیه‌ای که سلول‌ها در آن پرورش داده می‌شدند، در همه تیمارها سلول‌های اولیه از فاز سکون رشد که در آن مرحله رشد تقریباً متوقف می‌شود انتخاب می‌شدند. چنین سلول‌هایی در محیط اولیه خود به نهایت رشد رسیده بودند و عملاً در مرحله‌ای از حیات بودند که اگر به یک محیط تازه، از جمله مشابه شرایط متداول خود، انتقال نمی‌یافتند از بین می‌رفتند. بنابراین وقتی که به یک محیط جدید منتقل می‌شدند به منزله سلولی بودند که در ابتدای رشد خود قرار دارد. تنها در تیمار ۶:۱۸ ساعت / ۴۰۰۰ لوکس سلول‌های مادر از مرحله رشد تصاعدی برداشته شدند و عمده‌ترین علت تفاوت این تیمار با سایر تیمارها نیز به همین جهت است. زیرا میزان تقسیم سلولی در مرحله رشد تصاعدی بسیار بالاست (Fogg & Thake, 1987; Liao et al., 1983). بنابراین حتی زمانی که به یک محیط جدید نیز منتقل گردند، تا زمان سازگار شدن به این محیط، روند قبلی رشد خود را ادامه خواهند داد. هرچند مدت زمان مورد نیاز برای سازگاری در این فیتوپلانکتون کم می‌باشد، اما با توجه به دوره کوتاه رشد در اسکلتونما همین مدت زمان نیز می‌تواند در نتایج کلی تاثیر بگذارد.

کوتاهترین دوره‌های رشد مربوط به تابشهای پیوسته نور است. در تابش پیوسته در تمام شدتها، دوره رشد ۵ یا ۶ روز است و طبق نتایج هرچه مدت تابش کوتاه تر می‌شود، دوره رشد افزایش می‌یابد. تاثیری که شدت نور بر دوره رشد می‌گذارد در مقایسه با تاثیر مدت تابش چشمگیر نیست و این عمدتاً دوره تابش است که می‌تواند در کوتاه یا بلند شدن مدت رشد تاثیر بگذارد. Gurusamy در سال ۱۹۹۲ نیز در تحقیقی روی دو گونه *S. costatum* و *Thalassiosira fluviatilis* نتایج مشابهی را گزارش کرده است.

در تمام تیمارها تراکم سلولی با شیب نسبتاً زیادی از میزان حداقل اولیه به مقدار حداکثر نهایی که در حقیقت همان شکوفایی پلانکتونی است، می‌رسد. سپس به علل مختلف از جمله اتمام مواد غذایی، تغییر pH محیط، کاهش میزان نفوذ نور به دلیل افزایش تراکم سلولی و غیره، میزان رشد کاهش یافته و منحنی سیر نزولی را طی می‌کند. در اسکلتونما مرحله سکون رشد بسته به نور اعمال شده متفاوت می‌باشد. این مرحله در تابش پیوسته نور در قله منحنی رشد قرار دارد و علت آن احتمالاً بالا بودن نرخ رشد سلول در این نوع تابش‌هاست. کمترین مقدار تراکم سلولی نیز در شدت‌های نوری ۱۰۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۲۰۰۰ لوکس با تابش پیوسته مشاهده شد. احتمالاً زمانی که تابش نور به صورت پیوسته باشد، در سلول تنفس نوری رخ می‌دهد. انجام تنفس نوری به مصرف ATP یا انرژی حاصل از انجام فتوسنتز منجر می‌گردد. بنابراین بازده فتوسنتز کم شده، تقسیم سلولی نیز کاهش می‌یابد.

بطور کلی با افزایش مدت زمان تابش، تراکم سلولی کاهش می‌یافت و این کاهش در تابش‌های پیوسته نور مشهودتر بود. در حالی که در این نوع تابش‌ها نرخ رشد نسبت به سایر تناوب‌ها بالاترین میزان را داشته و برعکس مدت زمان تقسیم سلولی کمترین بوده است. Gurusamy در سال ۱۹۹۲ نیز

نشان داد که حداکثر تقسیم در نور پیوسته رخ می‌دهد، اما برای حصول بالاترین تراکم سلولی تابش کسسته نور نیاز می‌باشد. طبق مطالعات این محقق نیز دوره تاریکی و روشنایی غیر از تابش پیوسته، باعث اختلاف قابل توجهی در میزان تقسیم سلولی نمی‌گردد. Sakshaug و Andresen (۱۹۸۶) نیز در یک تحقیق مشابه تغییرات میزان رشد با افزایش شدت نور را اندک بدست آورده‌اند.

گونه *S. costatum* مانند *Chaetoceros sp.* توانایی رشد به صورت شیمیوتروف را ندارد، یعنی برخلاف بسیاری از جلبکها نمی‌توانند از مواد الی مثل قندها یا اسیدهای چرب استفاده کنند تا بتوانند در تاریکی مطلق رشد نمایند (Fogg & Thake, 1987). بنابراین زمانی که این فیتوپلانکتون در تاریکی‌های طولانی مدت بماند، روند رشد آن بسیار آهسته می‌شود، به خصوص اگر سلولهای اولیه پیر باشند. شاید بتوان رشد بطئی اسکلتونما در دوره نوری ۶:۱۸ ساعت را با این علت توضیح داد. حتی در شدت ۴۰۰۰ لوکس در همین تناوب که سلولهای اولیه دارای رشد تصاعدی بودند نیز نرخ رشد پایین بود.

محاسبات آماری انجام شده بر روی داده‌های حاصل از تحقیق نشان دادند که بین نور و تراکم سلولی همبستگی وجود ندارد و در مورد نرخ رشد نیز این میزان 0.39^{**} (حدود اطمینان ۹۹٪) می‌باشد. معادلات رگرسیونی نیز مؤید همین مطلب بودند.

با توجه به نتایج حاصل و مجموع مطالعات انجام شده می‌توان گفت *S. costatum* در تیمارهای مختلف، خود را با تغییرات نور سازگار می‌کند. در ابهای ساحلی که عمده‌ترین محل زندگی *S. costatum* است، میزان نور چه از نظر شدت و چه از نظر مدت تابش غیر قابل پیش‌بینی است. فیتوپلانکتونهایی که در این مناطق زندگی می‌کنند برای حداکثر استفاده از نوری که در دسترس دارند باید خود را سازگار کنند (Gurusamy, 1992). پراکنش گسترده مکانی و زمانی *S. costatum* را نیز با همین توانایی سازگاری آن توجیه می‌کنند (Sakshaug & Andresen, 1986). نکته‌ای که ذکر آن در اینجا ضروری است این است که طبق نتایج حاصل از این تحقیق سلولهای *S. costatum* از هنگامی که وارد فاز رشد شوند، توانایی سازگاری به شرایط مختلف را پیدا می‌کنند. زیرا تجربه نشان داد قبل از شروع رشد یعنی زمانی که سلولها در فاز تاخیر هستند، عوامل بازدارنده رشد بیش از عوامل ایجاد سازگاری تاثیر گذار خواهند بود. همچنان که مشاهده شد در دوره نوری ۶:۱۸ در چهار شدتی که سلولهای اولیه از مرحله سکون رشد انتخاب شدند، رشد بسیار کم بود. اما در ۴۰۰۰ لوکس که سلولهای اولیه جوان بودند، به رشد خود ادامه دادند، هرچند نسبت به سایر تیمارها دوره رشد طولانی تری داشتند. بنابراین باید گفت سلولهایی که در فاز تاخیر هستند آسیب پذیری بیشتری نسبت به عوامل محیطی دارند.

بطور کلی در میان ۵ شدت نوری که در این تحقیق روی آنها مطالعه صورت گرفته است در شدت ۴۰۰۰ لوکس تقریباً در تمام تناوبهای نوری میزان تراکم سلولی نسبت به سایر شدتها بالاتر است. در تناوبهای ۱۸:۶ ساعت و سپس ۱۲:۱۲ ساعت تعداد سلولهای بیشتری در محیط مشاهده می‌شد. بنابراین برای کشت اسکلتونما بهتر است از شدت نوری ۴۰۰۰ لوکس با تناوب ۱۲:۱۲ و ۱۸:۶ استفاده

گردد. همچنین نظر به اینکه تراکم سلولی در تابشهای پیوسته نسبت به سایر دوره های نوری کمتر بود، توصیه می شود در پرورش اسکلتونما برای استفاده در آزی پروری از تابش پیوسته نور استفاده نشود و چند ساعت تاریکی در دوره تابش لحاظ گردد.

تشکر و قدردانی

با سپاس فراوان از مسئولین مرکز تحقیقات میگوی ایران (بوشهر) و ایستگاه تحقیقات میگوی سرتل که امکانات مالی و تجهیزات آزمایشگاهی مورد نیاز برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند. از فرماندهی و جانشین محترم فرماندهی منطقه دوم نیروی دریایی ارتش جمهوری اسلامی ایران - بوشهر تشکر و قدردانی می گردد که بدون حمایت های آن بزرگواران انجام این پروژه میسر نبود.

منابع

- حسینی، م.ر.ک. : ۱۳۷۷، تولید و کشت جلبک های دریایی، معاونت تکثیر و پرورش آبزیان تحقیقات شیلات ایران، اداره کل آموزش و ترویج، ۳۲ صفحه.
- Brown, M.R. and Miller, K.A. , 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*, Vol. 4, pp. 205-215.
- Brown, M.R. and Jeffrey, S.W. , 1995. The amino acid and gross composition of marine diatoms potentially useful for mariculture. *Journal of Applied Phycology*, Vol. 7, pp. 521-527.
- Curl, H. Jr. and McLeod G.C. , 1961. The physiological ecology of a marine diatom, *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *Journal of Marine Research*, Vol. 19, pp.70-88.
- Fogg, G.E. and Thake, B. , 1987. *Algal culture and phytoplankton ecology* (3rd edition), The University of Wisconsin Press, pp.12-56.
- Gurusamy, S. , 1992. Effects of different photoperiods on diatoms *Thalassiosira fluviatilis* and *Skeletonema costatum*. *Journal of Mar. Biol. Assoc. India*, Vol. 34, No. 1-2, pp. 277-279.
- Hasle, G.R. , 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) *Norw. Journal Bot.* Vol. 20, pp.109-137.
- Internet : <http://ccmp.bigelow.org>.
- Kiorboe, T. and Hansen, J.L.S. , 1993. Phytoplankton aggregate formation: observation of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material. *Journal of Plankton Research*. Vol. 15, No. 9, pp.993-1013.

- Liao, I.C. ; Su, H.M. and Lin, H.H. , 1983. Larval foods for penaeid shrimp and prawns. *In: CRC Handbook of Mariculture. Crustacean Aquaculture (J. P. McVey), CRC Press, Boca Raton. pp. 43-69.*
- Sakshaug, E. and Andresen, K. , 1986. Effect of light regime upon growth rate and chemical composition of a clone of *Skeletonema costatum* from the Trondheimsfjord, Norway. *Journal of Plankton Research, Vol. 8, No. 4, pp. 619-637.*
- Sakshaug, E. ; Andresen, K. and Kiefer, D.A. , 1989. A steady state description of growth and light absorption in the marine planktonic diatom *Skeletonema costatum*. *Limnol. Oceanogr, Vol. 34, No. 1, pp.198-205.*
- Sauriau, P.G. and Baud, J.P. , 1994. Artificial filament breakage of the diatom *Skeletonema costatum* intended for mollusc aquaculture. *Aquaculture, Vol. 123, pp. 69-81.*
- Scoccianti, V. , 1995. Effect of heat stress on polyamine content and protein pattern in *Skeletonema costatum*. *Marine Biology, Vol. 121, pp. 549-554.*
- Smith, L.L. ; Fox, J.M. and Treece, G.D. , 1993. Intensive algae culture techniques, *In: CRC Handbook of Mariculture (2nd edition). Crustacean Aquaculture (J.P. McVey), CRC Press, pp.3-13.*
- Ueno, S. , 1991. Studies on the life cycle and the distribution of marine planktonic diatoms *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve and *Skeletonema tropicum* Cleve in Japanese coastal waters. *Journal of Shimonoseki University of Fisheries, Vol. 40, No. 1, pp. 23-58.*