

Brachionus plicatilis (Rotifer)'in Farklı Besin Ortamlarında Büyümesi

Bircan Özbaş, *Tolga Gökşan, İlknur Ak

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 17020, Terzioğlu Yerleşkesi, Çanakkale, Türkiye

*E mail: tolga_goksan@yahoo.com

Abstract: *Growth of Brachionus plicatilis (Rotifer) on various diets.* In this study, in which the effects of various food sources on the rotifer *Brachionus plicatilis* were examined, rotifers were fed with *Nannochloropsis* sp., yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and dried *Spirulina* meal. In the first trial, optimum *Spirulina* concentration was found to be 0.01 g / 10⁶ rotifers per day. In the experimental groups, 5 groups were arranged, e.g., alga, alga+yeast, alga+*Spirulina*, yeast+*Spirulina* and yeast/2+*Spirulina*. In the microscopic observations, it was seen that *Spirulina* particles were larger than that rotifer can consume. Consequently, the groups that contained alga showed the best growth pattern. *Spirulina* could not be consumed due to the larger particle size. Regarding the yeast cells, although their size are in the optimum range for rotifer feeding, they exhibited a lower growth rate compared to the groups fed with alga due to the fact that the yeast caused the culture medium to deteriorate.

Key Words: *Brachionus plicatilis*, feeding, *Spirulina*, *Nannochloropsis* sp., yeast.

Özet: Farklı besin diyeterinin rotifer (*Brachionus plicatilis*) kültürlerinin büyümesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, rotiferler *Nannochloropsis* sp., ekmekek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve kurutulmuş *Spirulina* tozu ile beslendi. İlk denemede, optimum *Spirulina* konsantrasyonu günde 0.01 g / 10⁶ rotifer olarak bulundu. Deneme gruplarında alg, alg+maya, alg+*Spirulina*, maya+*Spirulina* ve maya/2+*Spirulina* olmak üzere 5 deneme grubu oluşturuldu. Mikroskopik gözlemlerde, *Spirulina* partikülleri havanda ezilmiş olmasına rağmen rotiferler tarafından tüketilemeyecek boyutta idi. Sonuç olarak, alg içeren grupların en iyi büyümeyi gösterdiği tespit edildi. *Spirulina* ise partikül büyüklüğünden dolayı rotiferler tarafından alınamadı. Maya hücreleri ise rotifer hücreleri için optimum büyüklükte olmasına rağmen, ortam kirliliğine neden olması bakımından alg ile beslenen gruplara göre daha düşük bir büyüme gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Brachionus plicatilis*, besleme, *Spirulina*, *Nannochloropsis* sp., maya.

Giriş

Ülkemizde akuakültür çalışmaları, su ürünleri üretimindeki payını her geçen yıl arttırarak hızla gelişmektedir. Su ürünleri sektöründe canlı yemler özellikle, yetiştiriciliği yapılan çipura, levrek, kalkan, mercan gibi bazı ekonomik deniz balıklarının larval dönemlerinde büyük öneme sahiptir (Lubzens 1987, Hoff ve Snell 1987, Lubzens ve diğ. 1989).

Deniz balıkları larvası yetiştiriciliğinde canlı yem olarak en çok kullanılan zooplankton türleri rotifer ve artemia'dır. Suyu süzerek beslenen (filter-feeding) bu iki organizmanın da larvalar için besleyici bir gıda olabilmesi için, uygun besin maddeleri ile zenginleştirilmesi gerekir. Bu organizmaların besin içerikleri, kullanılan besinin türü ve ortamdaki yoğunluğuna bağlı olarak değişim gösterir (Lubzens ve diğ. 1985, James ve diğ. 1987). Larval beslemede kullanılacak rotiferlerin esansiyel yağ asitlerince (EFA) zengin olması gerekmektedir (Hirayama ve Funamoto 1983, Fukusho 1985, Kissil ve Koven 1989). Zenginleştirme amacıyla genelde *Chlorella* sp., *Isochrysis* sp. ve *Nannochloropsis* sp. gibi bazı yağ asitleri, mineraller ve vitaminler bakımından zengin mikroalg türleri (Korstad ve diğ. 1989, Hirayama ve diğ. 1989, Chen ve Long 1991, Arnold ve Holt 1991), bu yararlı maddelerin sentetik olarak laboratuvar koşullarında bir araya getirildiği SelcoTM gibi ürünler veya maya kullanılmaktadır. Fakat maya ile beslenen rotiferlerde yağ asitleri ve E vitamininin

çok az miktarda bulunmasından dolayı, bu rotiferler larvaya verilmeden önce ayrıca bir zenginleştirme işlemine tabi tutulurlar. Son zamanlarda yurtdışında çoğu kuluçkahane mikroalgler ile zenginleştirmeyi tercih etmektedir.

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde en çok kullanılan rotifer türü *Brachionus plicatilis*'tir. *B. plicatilis*, günümüzde akuakültürde vazgeçilemeyen canlı yemlerden biri halini almıştır. Rotiferler farklı büyüklükteki alg, maya, bakteri ve sentetik yemlerden oluşan besinleri tüketebilir (Yasuda ve Taga 1980, Hino ve Hirano 1984). Bununla birlikte dondurulmuş ve kurutulmuş alglerinde besin olarak kullanılabilirliği belirtilmektedir (Snell 1991, Kongkeo 1991). Rotifer tarafından optimum şekilde tüketilen besinlerin büyüklüğü genellikle 3-5 µm civarında olup, alt ve üst sınırları 2-20 µm olarak belirlenmiştir (Fulks ve Main 1991).

Bir siyanobakteri türü olan *Spirulina platensis*, zengin yağ asidi ve pigment, ayrıca % 60'ın üzerinde protein içeriğinden dolayı mikroalg biyoteknolojide en önemli türlerden biridir (Santillan 1982). Yüksek kalitedeki besin içeriği nedeniyle, *Spirulina*'nın son zamanlarda akuakültür çalışmalarında kullanımı da söz konusu olmuştur.

Bu çalışmada *B. plicatilis*'in büyümesi üzerinde farklı besin maddelerinin etkisi ve *Spirulina*'nın kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu amaçla, ticari balık üretim işletmelerinde rotiferlerin doğal yollardan zenginleştirilmesinde en çok tercih edilen mikroalg türü *Nannochloropsis* sp. ve maya denendi.

Ayrıca bunların toz halindeki *Spirulina* ile farklı oranlardaki kombinasyonları sonucunda, belirtilen besin maddeleri arasında en uygun olanı tespit edilmeye çalışıldı.

Materyal ve Yöntem

Rotiferler, deniz suyundan gelebilecek kontaminasyonun engellenmesi amacıyla, ‰ 40 oranında tuz eklenmiş distile suda büyütüldü. Denemede kullanılan stok rotiferler ‰ 40 tuzlulukta adapte olduğu için, kültürler de aynı tuzlulukta yürütüldü. Deneylerin rotifer için optimum sıcaklık olan 25 °C sabit sıcaklıkta yürütülmesi amacıyla deney grupları, içinde bir termostatlı ısıtıcısı bulunan ve bir kısmı su ile doldurulmuş 25 cm x 50 cm ebatlarındaki akvaryum içinde (Ben-Marie yöntemi) tutuldu. Deneme grupları 500 ml hacmindeki cam serum şişelerinde büyütüldü. Kullanılan besin ve rotiferlerin homojen bir şekilde dağılımını sağlamak amacıyla her deneme grubuna pastör pipetleri yardımıyla düşük şiddette hava verildi. Ayrıca denemede *Nannochloropsis* sp. ile beslenen gruplar da bulunduğundan dolayı, 3 adet floresan lamba ile düşük şiddette bir aydınlatma da sağlandı.

Rotiferin beslenmesinde 3 farklı besin maddesi kullanıldı. Bunlar *Nannochloropsis* sp., ekmeke mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve kurutulmuş *Spirulina* tozudur. Her gün hazırlanan *Spirulina* ilk olarak bir havan içinde ezilerek iyice toz haline getirildi. Daha sonra su içinde süspansiyon haline getirilip 45 µm göz açıklığındaki plankton bezinden süzülerek büyük partiküllerin geçmesi önendi. Maya konsantrasyonu ise ticari işletmelerde yaygın olarak kullanılan 0.5 g/milyon rotifer gün şeklinde ortama verildi. Mikroalglerin ortamda bulunma yoğunluğu, kültürün rengine göre saptandı. Grupların rengi açıldığında yeni alg ilavesi yapıldı. Rotifer ve yumurtalı birey sayımında şeffaf materyalden yapılmış, içinde 4 adet sayma kanalı bulunan 7,5 cm x 15 cm ebatlarında sayma kamarası kullanıldı.

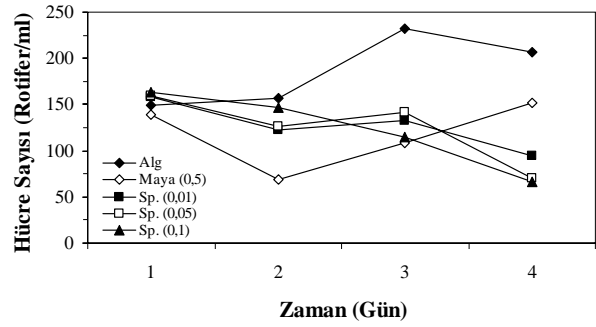
Deneme gruplarının tüketemediği besinlerin her gün dibe çökmesi ve sonuçta bu besinlerin kültür ortamını bozmasından dolayı, dipte biriken bu kısım her sabah düzenli olarak ortamdan çekildi. Bu sayede ortamdaki oksijen miktarının rotiferler için tehdit edici bir seviyeye düşmesi ve bakteriyel popülasyonun artması önendi.

Bulgular

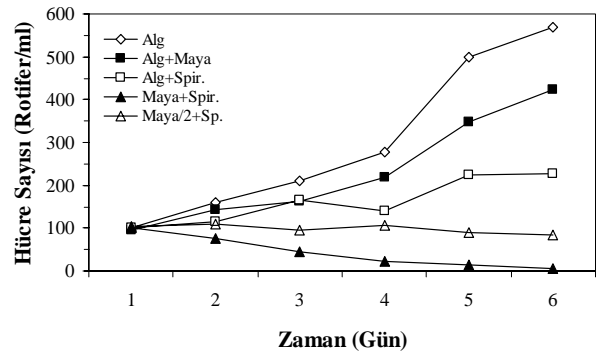
Bu çalışmada ilk olarak, rotifer beslemesi için uygun olan *Spirulina* konsantrasyonu belirlendi. Bu amaçla başlangıçta 0.01, 0.1 ve 0.5 g/milyon rotifer gün'lük değerler kültür ortamlarına ilave edildi. Fakat ertesi gün, *Spirulina* konsantrasyonunun fazla gelmesi sonucu 0.5 g'luk grubun çöktüğü görüldü.

Bu durum üzerine yeni bir deney grubu oluşturularak 0.01, 0.05 ve 0.1 g/milyon rotifer gün'lük konsantrasyonlar oluşturuldu. Maya ve alg içeren grupların da ilavesiyle 5 grup oluşturularak denemeler 4 gün sürdürüldü. Alg içeren grubun hücre sayısı sürekli artarken, maya içeren grup ikinci günden itibaren artmaya başladı. Farklı *Spirulina*

konsantrasyonlarındaki gruplarda ise rotifer sayısı tedrici olarak azaldı. Yumurtalı birey sayılarına bakıldığında da en iyi durumdaki grubun alg ile beslenen olduğu görüldü. Yumurtalı birey sayıları alg, maya ve 0.01 g, 0.05 g, 0.1 g'luk *Spirulina* gruplarında sırasıyla 73, 23, 7, 5 ve 8 rotifer/ml olarak bulundu (Şekil 1).



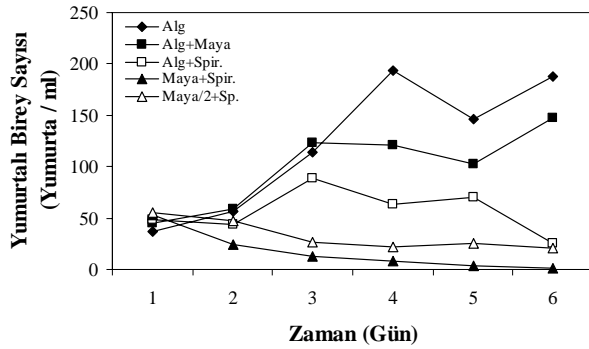
Şekil 1. Optimum *Spirulina* konsantrasyonunu tespit etmek amacıyla alg ve 0.5 g maya ile 0.001 g, 0.05 g ve 0.1 g *Spirulina* içeren kültürlerin hücre sayısında zamana bağlı meydana gelen değişimler



Şekil 2. Tüm grupların hücre sayılarında zamana bağlı meydana gelen değişimler

Yapılan bu denemenin sonucuna göre optimum *Spirulina* konsantrasyonu olarak, hem hücre sayısının diğerlerine nazaran biraz daha yüksek olmasından dolayı, hem de ortamın fazla kirletilmesini önlemek amacıyla 0.01 g *Spirulina* içeren grup esas alındı. Buna göre yeni denemede alg, *Spirulina* ve mayanın birbirleriyle kombinasyonları çalışıldı. Bu denemedeki gruplar alg, alg+maya, alg+*Spirulina*, maya+*Spirulina* ve maya/2+*Spirulina* (normal maya değerinin yarısı) olacak şekilde 100 rotifer/ml başlangıç konsantrasyonunda ayarlandı. Alg ve Alg+Maya gruplarında rotifer sayıları deneme sonuna kadar artış gösterdi. Alg+*Spirulina* grubunda ise hücre sayısı deneme sonuna kadar artış gösterse de bu artış tutarlı değildi. Maya+*Spirulina* kültüründe ise hücre sayısı denemenin başından itibaren hızla düşmeye başladı ve deneme sonunda sırasıyla 5 hücre/ml'lik değer elde edildi. Maya miktarının yarıya indirildiği maya/2+*Spirulina*'da ise deneme sonunda hücre sayısı,

başlangıç değerinden daha düşük idi (84 hücre/ml). Tüm gruplar bir arada değerlendirildiğinde ise en yüksek hücre sayısına sadece alg ile beslenen grupta ulaşıldı (Şekil 2).



Şekil 3. Tüm grupların yumurtalı birey sayılarında zamana bağlı meydana gelen değişimler

Grupların yumurtalı birey sayılarında meydana gelen değişimlere bakıldığında, hücre sayıları ile paralel bir şekilde değişim gösterdiği izlendi. En yüksek yumurta oranı yine alg içeren gruplarda elde edildi. Alg, alg+maya, alg+Spirulina, maya+Spirulina ve maya/2+Spirulina gruplarında ortalama yumurtalı birey yüzdeleri (%) sırasıyla 43, 47, 43, 32 ve 33 olarak hesaplandı (Şekil 3).

Tartışma ve Sonuç

Rotifer beslemesinde üç farklı besinin kombinasyonları halinde denendiği bu denemede, tüm gruplar arasında en iyi rotifer artışı sadece alg ile beslenen grupta gerçekleşti (Şekil 2). En uygun Spirulina konsantrasyonunun bulunmaya çalışıldığı ilk denemede (Şekil 1), uygulanan dozlar arasında en düşük konsantrasyon (0.01 g) rotifer beslemesi için uygun bulundu. Bu sonuç, toz halindeki Spirulina'nın bir havanda iyice ezilmesine ve 45 µm'lik plankton bezinden geçirilmesine rağmen, rotiferlerin besin olarak tüketebileceği ebatları daha büyük olmasına bağlandı. Çalışmada, Spirulina hücrelerinde trikom denen sarmal yapının ortalama olarak eni 6-7 µm, boyu ise 15-20 µm ve üzerinde ölçüldü. Her ne kadar büyüme ortamında 45 µm'den daha ufak Spirulina partiküllerinin bulunması sağlansa da bu uygulamanın yeterli olmadığı görüldü. Sonuç olarak Spirulina için ölçülen minimum boy uzunluğu B. plicatilis'in besin olarak tüketebileceği maksimum sınırdadır. Bu nedenle de Spirulina tozunun rotifer tarafından tüketilse de verimli bir şekilde değerlendirilemediği görüldü.

Rotiferlerin beslenmesinde mikroalglerin kullanılması ile daha etkin ve güvenilir bir zenginleştirme sağlanmış olur. Ayrıca mikroalgler, su kalitesi üzerinde de olumlu etkilere sahiptir (Hoff ve Snell 1989). Mikroalgler sahip oldukları zengin yağ asidi içeriklerini rotifer aracılığı ile larvaya aktararak, larvanın yaşama oranı ve büyümesini iyileştirir. Fakat mikroalg üretiminin beraberinde getirdiği bazı olumsuzluklar nedeni ile yoğun üretim yapan kuluçkahanelerde kültür selko, protein selko ve süper selko

gibi ticari ürünler de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Çalışmamızda, özellikle Nannochloropsis sp.'nin, rotiferin tüketebileceği besin büyüklüğü sınırları içinde yer alması, hem bu besinlerin daha fazla tüketilmesine hem de daha iyi bir hücre artışına neden oldu (Şekil 2). Gerçekleştirilen mikroskobik gözlemlerde alg ile beslenen rotiferlerin midelerinin daha dolu olduğu görüldü.

Sonuç olarak Spirulina'nın havanda öğütülmesi başarılı olmuştur. Fakat bu durum, Spirulina'nın rotifer beslenmesinde kullanılmayacağı şeklinde yorumlanmamalıdır. Hücre boyutunu daha da küçültmek için farklı yöntemler kullanılabilir. Örneğin balık üretim işletmelerinde yaygın olarak kullanılan sentetik bir besin olan Selko'da da benzer problemler ile karşılaşmaktadır. Eğer mikser ile iyice karıştırılmaz ve ufak göz açıklığında bir plankton bezinden geçirilmez ise kültüre eklenen bu besinin içindeki büyük partiküller hemen dibe çökmekte ve ortamın çok kısa sürede bozulmasına yol açmaktadır. Bu nedenle Spirulina'nın büyük hacimlerde bir mikser ile karıştırılması ve mikrokapsül yemler aracılığıyla rotiferler için uygun bir besin haline gelmesi bir çözüm olabilir.

Deneme sonuçları, rotiferlerin mikroalg türleri ile beslenmesindeki önemi göstermiştir. Gene bir mikroalg türü olan ve yüksek besin içeriğine sahip Spirulina'nın akuakültür çalışmalarında kullanılabilirliğine yönelik çalışmalara devam edilmelidir.

Kaynakça

- Arnold, C.R., G.J. Holt, 1991. Various Methods for the Culture of the: Rotifer, *Brachionus plicatilis*, in Texas In: W. Fulks and K. Main [Eds.], Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U.S. Asia, Honolulu, pp. 119-123.
- Chen, X.Q., L.J. Long, 1991. Research and Production of Live Feeds in China. In: W. Fulks and K. Main [Eds.], Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U.S. Asia, Honolulu, pp. 187-201.
- Fukusho, K., 1985. Status of Marine Larval Culture in Japon, in Ed. By. Lee C.S. and Liao, I.C., Reproduction and Culture of Milkfish, The Oceanic Institute and Tungkan Marine laboratory, pp. 127-139
- Fulks, W., K.L. Main, 1991. Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a U.S.-Asia Workshop. Hawaii, pp.3-52
- Hino, A., R. Hirano, 1984. Relationship Between Body Size of the Rotifer *Brachionus plicatilis* and the Maximum Size of Particles Ingested. Nippon Suisan Gakkaishi 46: 1217-1222
- Hirayama, K., H. Funamoto, 1983. Supplementary Effect of Several Nutrients on Nutritive Deficiency of Baker's Yeast for Population Growth of the Rotifer *Brachionus plicatilis*, Bull. Of the Jap. Sci. Of Scien. Fish., 49(4): 505-510.
- Hirayama, K., I. Maruyama, T. Maeda, 1989. Nutritional Effect of Freshwater Chlorella on Growth of the Rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 186-187: 39-42.
- Hoff, H., T.W. Snell, 1987. Plankton Culture Manual, Florida Aqua Farms, Inc., 125p
- Hoff, H., T.W. Snell, 1989. Plankton Culture Manual. 2nd Edition. Florida Aqua. Farms, Florida, pp. 126.
- James, C.M., P. Dias, A.E. Salman, 1987. The use of Marinae Yeast (*Candida*) and Baker's Yeast (*Saccharomyces*) in Combination With *Chlorella* sp. For the Rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 147:263-268.
- Kissil, G.Wn., W.M. Kovan, 1989. Preparation of oils Enhanced in Higly Unsaturated Fatty Acid (HUFA) Content, by Low Temperature Crystallization Separation, For Rotifer *Brachionus plicatilis* Enrichment, Aquaculture, 88:69-77

- Kongkeo, H., 1991. An Overview of Live feeds Production Systems Desing in Thailand. In: Fulks, W., Main, K. Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U:S. Asia, Honollulu, pp. 175-186
- Korstad, J., O. Vadstein, Y. Olsen, 1989. Feeding Kinetics of *Brachionus plicatilis* Fed *Isochrysis galbana*. Hydrobiologia 186/187. pp. 51-57.
- Lubzens, E., 1987. Raising Rotifers For Use in Aquaculture. Hydrobiologia. 147: 245-255.
- Lubzens, E., G. Minkoff, S. Marom, 1985. Salinity Dependence of Sexual and Asexual Reproduction in the Rotifer *Brachionus plicatilis* Mar. Biol. 85: 123-126,
- Lubzens, E., A. Tandler, G. Minkoff, 1989. Rotifer as Feed in Aquaculture, Hydrobiologia, 186-187:387-400
- Santillan, C., 1982. Mass production of *Spirulina*. Experientia 38: 40-43.
- Snell, T.W., 1991. Improving the Desing of Mass Culture Systems for the Rotifer *Brachionus plicatilis*. In: Fulks, W., K. Main [Eds.], the Rotifer and Microalgae Culture Systems Proce Dings of a U.A. Asia, Honollulu. Pp. 61-71.
- Yasuda, K., N. Taga, 1980. Culture of *Brachionus plicatilis* Müller using bacteria as food, Bull.of the Jap. Soc. of Scient. Fish.. 46 (8): 993 - 939