

Büyük Hacimli Rotifer (*Brachionus plicatilis* O.F. Müller, 1758) Kültürlerindeki Aerobik Bakteriyel Floranın Kantitatif Tayini

Sevgi Savaş¹, Şevket Gökpınar²

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 32500, Eğirdir, Isparta, Türkiye.

² Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye

Abstract: *The quantitative determination of aerobic bacterial flora in rotifer (Brachionus plicatilis O.F. Müller, 1758) in large scale rotifer cultures.* In this study, depending on the nutritional regime, quantitative analysis of aerobic bacterial flora in both culture media and rotifers grown in large scale tanks (2700 L.) was carried out. M65 agar, TCBS-Cholera Medium Agar (Oxoid) and Pseudomonas-CFC-Agar (Oxoid) were used for counting of total bacteria, *Vibrio* spp. and *Pseudomonas* spp. respectively. Protein selco, algae (*Isochrysis galbana*; Tahitian strain, *Tetraselmis suecica*; *Nannochloropsis oculata*; Droop 1955), and baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were favored as food stuff for rotifer cultures. Although bacterial counts increased in rotifer cultures fed with yeast, these numbers reached maximum levels after protein selco treatment (total bacteria count 92x106 cfu ml⁻¹; *Vibrio* spp. count 20x106 cfu ml⁻¹; *Pseudomonas* spp. count 25x105 cfu ml⁻¹).

Key Words: *Brachionus plicatilis*, nutrition regimes, total bacteria count, *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp.

Özet: Bu çalışmada besleme rejimine (alg+maya+protein selko) bağlı olarak büyük hacimli (2700 L) tanklarda üretilen rotifer ve kültür ortamlarındaki aerobik bakteriyel flora kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bakteri sayımlarında toplam bakteri M65 agar, *Vibrio* spp TCBS-Cholera Medium agar (Oxoid), *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* –CFC-agar (Oxoid)'da yapılmıştır. Rotiferler çeşitli alg türleri (*Isochrysis galbana*; Tahiti suşu, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*; Droop 1955), ekmekek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve protein selko ile beslenmiştir. Rotifer ve kültür ortamlarında bakteriyel sayılar maya beslemesi ile artmasına rağmen, protein selko uygulamasından sonra maksimuma ulaşmaktadır (Toplam bakteri 92x106 kob ml⁻¹; *Vibrio* spp. sayısı 20 x106 kob ml⁻¹; *Pseudomonas* spp. sayısı 25 x105 kob ml⁻¹)

Anahtar Kelimeler: *Brachionus plicatilis*, besleme rejimleri, total bakteri sayısı, *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp.

Giriş

Deniz balığı yetiştiriciliğinde larvaların ilk beslenme periyodunda kullanılan besin kalitesi, üretimdeki başarıyı etkileyen en önemli faktördür. Larvaların büyüme ve yaşama oranı ilk besin kaynağı olan *B. plicatilis*'in n-3ω yüksek doymamış yağ asitlerince (HUFA) zengin olmasına bağlıdır. Rotiferin besin içeriği aldığı

besin maddelerine göre değişir (Watanabe ve diğ., 1983; Estevez ve Planas, 1988; Sorgeloos ve Leger, 1990). Rotifer üretiminde ekmekek mayası yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat maya ile beslenen rotiferlerin biyokimyasal yapısı uzun zincirli doymamış yağ asitlerince fakirdir. Besin içeriği düşük olan rotiferlerle beslenen larvalarda görülen ölüm oranının azaltılması amacıyla rotiferin yağ asitlerince zenginleştirilmesi gerekmektedir.

dir (Fukusho, 1985; Kissil ve Koven, 1989). Besin içeriğinin arttırılmasında alglerin yanı sıra geliştirilen ticari ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Komis ve diğ., 1991; Fernandez-Reiriz ve diğ., 1993). Buna karşın günümüzde larvalarda ilk beslenme periyodunda görülen ölüm oranının yüksek olması üretimi sınırlayan önemli bir problem olmaya devam etmektedir (Muroga ve diğ., 1987; Tanasomwang ve Muroga, 1988; Gatesoupe, 1989-1990). Bu problemin çözümü için canlı yem organizmalarındaki bakteriyel floranın ve rotiferlerdeki bakteri yükünün tespiti önem taşımaktadır. Zira bakteri yükü fazla olan rotiferlerle beslenen larvaların besinini sindiremediği ve ölüm oranının yüksek olduğu bilinmektedir (Gatesoupe, 1982; Nicolas ve diğ., 1989).

Bu çalışmada büyük hacimli (2700 L) tanklardaki rotifer kültürlerinde besin rejimine bağlı olarak bakteriyel yükün tespiti amacıyla aerobik bakteriyel flora kantitatif olarak incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bu araştırmada S tipi *B. plicatilis* 2700 L'lik tanklarda $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'lık sıcaklıkta kültüre edilmiştir. Rotifer kültüründe kullanılan deniz suyu kum ve diatom filtresinden geçirildikten sonra UV (ultraviole) lambası ile sterilize edilmiştir. Denemeye başlamadan bir gün önce tanklar ‰ 20 tuzlulukta 2000 L deniz suyu ile doldurulmuştur. Her m^{-3} su için 5 gr aktif klor ilave edilerek gece boyu güçlü havalandırma uygulanmıştır. Ekimden önce suda klor olma ihtimaline karşı sodyumtiyosülfat ilave edilmiştir. Denemede 1. tanka *Isochrysis galbana* (Tahiti suşu), 2. tanka *Tetraselmis suecica*, 3. tanka *Nannochloropsis oculata* (Droop 1955) olmak üzere 3 farklı alg türünden her tanka 700 L ilave edilerek hacim 2700 L'ye tamamlanmıştır. Bu alglerle beslenmiş rotiferlerden başlangıç

yoğunluğu $200 \text{ birey ml}^{-1}$ olacak şekilde her tanka ekim yapılmıştır. Rotifer kültürüne günde 4 kez olacak şekilde maya beslemesi ile devam edilmiştir. Tanklarda maya ile besleme ekimin yapıldığı gün ve 1. gün $2 \text{ g milyon birey}^{-1}$ olacak şekilde yapılmıştır. Denemenin 2. ve 3. gün maya ile beslemede $1 \text{ g milyon birey}^{-1}$ olarak uygulanan maya miktarı 4. gün rotiferlerin sayısına bakılmaksızın 600 g tank^{-1} şeklinde gerçekleştirilmiştir. Tanktaki rotiferlere 5. gün 125 gr m^{-3} den oluşan protein selko miktarı ile günde iki kez beslenmiştir (Loix ve Freedi, 1985).

Toplam bakteri sayımı; ekime hazırlanan örneklerdeki kültüre edilebilir bakterilerin toplam aerobik bakteri sayımı M65 (Seawater Ager) agarda yapılmıştır. M65 agar; 0.5 g tripton, 0.5 g pepton, 0.5 g yeast ekstrakt, 15.0 agar, ‰ 20 tuzlulukta deniz suyundan hazırlanmıştır. Besiyerine yapılan ekimler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de 5 - 7 gün inkübe edilmiş ve oluşan bakteri kolonileri sayılmıştır (Skejeremo ve Vadstein, 1993; Qie ve diğ., 1994).

Toplam *Vibrio* spp. Sayımı: Ekim hazırlanan örneklerdeki kültüre edilebilir toplam *Vibrio* spp sayımı için TCBS Cholera Medium (Oxoid) kullanılmıştır. Besiyerine yapılan ekimler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de 48 saat inkübe edilmiş ve oluşan koloniler sayılmıştır (Skejeremo ve Vadstein, 1993; Gatesoupe 1994, 1995; Tanasomwang ve Muroga, 1992).

Toplam *Pseudomonas* spp. sayımı: Ekime hazırlanan örneklerdeki kültüre edilebilir toplam *Pseudomonas* spp. sayımı için *Pseudomonas* C-F-C Agar (Oxoid) kullanılmıştır. Besiyerine yapılan ekimler $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de 48 saat inkübe edilmiş ve oluşan koloniler sayılmıştır (Skejeremo ve Vadstein, 1993). Besiyerlerinde oluşan bakterilerin koloni sayımı yapılırken koloni sayısı 30 - 300 arasında olan petrilere sayım yapılmıştır (Arda, 1985). Denemede başlangıçtaki bakteri yükünü belirlemek için rotifer ve besleme algleri ile tanklarda

oluşturulan besleme programına göre rotiferlerden ve kültür suyundan bakteriyel ekimler için örnekler alınmıştır. I. gün alg beslemesinden 2 saat sonra hem kültür suyu, hem de rotiferlerden örnekleme yapılmıştır. Diğer örnekleme maya beslemesinin son kez yapıldığı 4. gün ve son örnekleme ise rotifer kültürlerine protein selko verilmesinden 2 saat sonra kültür suyu ve rotiferlerden yapılmıştır (Nicolas ve diğ., 1989).

Rotifer kültürlerinden alınan örnekler 60 µm'lik filtreden süzölmüş ve % 20 tuzluluktaki steril deniz suyu ile bir kaç kez yıkanmıştır (Nicolas ve diğ., 1989; Qie ve diğ., 1994). Süzölen rotiferlerden 1 ml alınarak, 9 kat seyreltikten sonra homojenize edilmiştir. Homojenizat önceden belirlenen seyreltilme aralığına göre her seyreltme için 3 paralel olacak şekilde besiyerlerine 0.1 cc'lik ekimler yapılmıştır. Kültür suyundan da 1 ml alınarak 9 kat sulandırılan örnekler homojenizatta olduğu gibi besiyerlerine ekimler

yapılmıştır.

Bu çalışmada verilerin değerlendirilmesinde istatistiki önem kontrolleri “Student's t-test” $P \leq 0.05$ güven sınırı esas alınarak yapılmıştır (Koray, 1993).

Araştırma Bulguları

Araştırmada tanklarda beslemede kullanılan alglerdeki bakteri yükü Tablo 1'de verilmiştir.

Denemede 3 farklı alg türü ile beslenen ve tanka ekilen rotiferlerin başlangıçtaki bakteri yükü Tablo 2'de görülmektedir.

Tanklardaki rotiferlerin günlük populasyon artışı izlenmiş ve en yüksek birey sayısı 2. tankta 780 birey ml^{-1} olarak saptanmıştır (Tablo 3).

Araştırmada tanklara uygulanan besleme rejimine göre kültür suyu ve rotiferlerdeki bakteriyel sayımlar Tablo 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Tablo 1. Beslemede kullanılan alg kültürlerindeki bakteriyel sayımlar (M65=Toplam Bakteri Sayısı; TCBS=Toplam *Vibrio* spp. Sayısı; CFC=Toplam *Pseudomonas* spp. sayısı).

Alg kültürü	M65 (kob ml^{-1})	TCBS (kob ml^{-1})	CFC (kob ml^{-1})
<i>Isochrysis galbana</i>	13×10^4	66×10^2	430
<i>Tetraselmis suecica</i>	13×10^4	56×10^2	81
<i>Nannochloropsis oculata</i>	70×10^3	35×10^3	370

Tablo 2. Deneme gruplarına göre farklı alglerle beslenen ve tanklara ekilen başlangıç rotiferlerdeki bakteriyel sayımlar (a=*I. galbana* ile beslenen; b=*T. suecica* ile beslenen; c=*N. oculata* ile beslenen).

Alg kültürü	M65 (kob ml^{-1})	TCBS (kob ml^{-1})	CFC (kob ml^{-1})
a	22×10^4	18×10^3	13×10^4
b	17×10^4	11×10^4	10×10^3
c	18×10^4	18×10^3	14×10^3

Tablo 3. Deneme gruplarına göre rotiferlerdeki populasyon artışı

	0	1	2	3	4	5
1. Tank	200	360	480	520	690	760
2. Tank	200	380	440	570	650	780
3. Tank	200	300	360	580	720	730

Tablo 4. *I. galbana*+Maya+Protein Selko ile beslenen I. tanktaki kültür suyu ve rotiferlerdeki bakteriyel sayımlar

Örnek/gün	I.gün (Alg) (kob ml ⁻¹)	IV.gün (Maya) (kob ml ⁻¹)	V.gün (Protein Selko) (kob ml ⁻¹)
Kültür suyu			
CFC	13x10 ³	45x10 ⁴	56x10 ⁴
TCBS	84x10 ³	20x10 ⁴	23x10 ⁴
M65	24x10 ⁴	13x10 ⁵	20x10 ⁵
Rotifer			
CFC	40x10 ³	47x10 ⁴	14x10 ⁵
TCBS	54x10 ³	68x10 ⁵	20x10 ⁶
M65	11x10 ⁵	13x10 ⁶	25x10 ⁶

Tablo 5. *T. suecica*+Maya+Protein Selko ile beslenen II. tanktaki kültür suyu ve rotiferlerdeki bakteriyel sayımlar

Örnek/gün	I.gün (Alg) (kob ml ⁻¹)	IV.gün (Maya) (kob ml ⁻¹)	V.gün (Protein Selko) (kob ml ⁻¹)
Kültür suyu			
CFC	12x10 ³	21x10 ⁴	80x10 ⁴
TCBS	16x10 ³	14x10 ⁴	89x10 ⁴
M65	13x10 ⁴	12x10 ⁵	22x10 ⁵
Rotifer			
CFC	44x10 ³	22x10 ⁴	25x10 ⁵
TCBS	17x10 ⁴	11x10 ⁵	12x10 ⁶
M65	10x10 ⁵	24x10 ⁶	92x10 ⁶

Tablo 6. *N. oculata*+Maya+Protein Selko ile beslenen III. tanktaki kültür suyu ve rotiferlerdeki bakteriyel sayımlar

Örnek/gün	I.gün (Alg) (kob ml ⁻¹)	IV.gün (Maya) (kob ml ⁻¹)	V.gün (Protein Selko) (kob ml ⁻¹)
Kültür suyu			
CFC	68x10 ³	24x10 ⁴	27x10 ⁴
TCBS	22x10 ³	92x10 ⁴	20x10 ⁵
M65	24x10 ⁴	16x10 ⁵	26x10 ⁵
Rotifer			
CFC	58x10 ³	12x10 ⁴	14x10 ⁵
TCBS	14x10 ⁴	25x10 ⁴	21x10 ⁵
M65	12x10 ⁵	15x10 ⁶	26x10 ⁶

Tartışma ve Sonuç

Büyük hacimli rotifer üretimi yapılırken kültürü kontaminasyona karşı korumak daha zordur ve genellikle dezenfeksiyon için sodyum hipoklorit kullanılır. Bu işlem özellikle protozoanlara karşı bir önlemdir fakat bakteriyel kontaminasyonu

önlemek için yetersizdir. Rotifer kültürlerindeki bakteriyel florayı belirlemek için yapılan çalışmalarda dominant bakteri gruplarını *Vibrio* ve *Pseudomonas* suşlarının oluşturduğu ve bu gruplara ait bazı suşların larvalarda patojenik etki yaptığı bildirilmektedir (Tanasomwang ve Muroga, 1988; Muroga

ve diğ., 1990; Yamanoi ve diğ., 1990). Rotifer kültürlerindeki bakteriyel flora kalite ve kantitesi beslenmeye bağlı olarak değişim göstermektedir (Qie ve diğ., 1994). Bu çalışmada büyük hacimli rotifer kültürü için oluşturulan besleme programına göre rotifer ve kültür suyundaki aerobik bakteriyel flora kantitatif olarak izlenmiştir. Tanklarda alg, maya ve protein selko ile besleme sonrası hem kültür suyu hem de rotiferlerden bakteriyel sayımlar yapılmıştır. Denemede başlangıç alg kültürü ve rotiferlerdeki bakteri sayılarının deneme süresince tespit edilen değerlere göre düşük olduğu dikkati çekmektedir (Tablo 1, 2) Buna göre tanklarda kültür suyundaki toplam bakteri sayısı alg beslemesinden sonra 13×10^4 - 24×10^4 kob ml^{-1} ($P > 0.05$), maya beslemesinden sonra 12×10^5 - 16×10^5 kob ml^{-1} ($P > 0.05$) ve protein selko beslemesinden sonra 20×10^5 - 26×10^5 kob ml^{-1} ($P > 0.05$) değerler arasında değişim göstermiştir. Rotiferlerdeki toplam bakteri sayısı ise alg beslemesinden sonra 10×10^4 - 12×10^5 kob ml^{-1} , maya beslemesinden sonra 13×10^6 - 24×10^6 kob ml^{-1} ($P > 0.05$), protein selko ile beslemesinden sonra 25×10^6 - 92×10^6 kob ml^{-1} 'lik ($P > 0.05$) değerler arasında değişim göstermiştir. Uygulanan besleme programına göre hem kültür suyu hem de rotiferlerde *Vibrio* spp. ve *Pseudomonas* spp. sayılarında artış olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4, 5, 6). Bu durumun üretime başlarken rotiferlerin dış çeperinde belirli miktarda bakteri taşınması, rotifer ekimlerinden kaynaklanabilecek bakteriyel kontaminasyon ve kültürlerdeki rotiferlerin metabolik atıklarının yanısıra yenmeyen besin atıklarından dolayı organik maddenin de etkisiyle bakteriyel artışın olabileceği düşünülmektedir. Kuluçkahanelerde larvaya verilecek rotiferin besin içeriğinin artırılması amacıyla protein selko gibi yağ asitlerince

zengin ticari ürünler yaygın olarak kullanılmaktadır. Rotiferlerin besin içeriğini artırmada kullanılan bu ürünlerin rotiferlerdeki bakteri miktarını arttırdığı bu rotiferlerle beslenen larvaların yaşama oranının düşük olduğu bildirilmiştir (Gatesoupe, 1982, 1989). Qie ve diğ. (1994) yaptıkları çalışmada rotiferleri alg ve maya+yağ ile beslemişler ve alg ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayısının 77 - 140 cfu ml^{-1} iken, maya+yağ ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayısının 750 cfu ml^{-1} olduğunu belirtmişlerdir. Skejermo ve Vadstein (1993) kültüre ettikleri rotiferlerin besin içeriğini arttırmak için kalamar unu kullandıklarında rotiferlerdeki bakteri yükünün % 50-150 oranında arttığını kaydetmişlerdir. Miyakawa ve Muroga (1988) tanklarda yaptıkları rotifer kültürlerini *Chlorella* ve maya+yağ ile besleyerek kültür süresince bakteriyel florayı izlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre kültür suyundaki bakteri sayısı 10^5 - 10^6 cfu ml^{-1} , rotiferlerdeki bakteri sayısı 10^7 - 10^8 cfu ml^{-1} olduğunu bildirmişlerdir. Rotiferlerdeki en yüksek bakteri sayısının maya+yağ beslemesinden sonra olduğunu ve larvaya verilecek rotiferler için bu bakteri miktarının yüksek olduğunu ayrıca yaşama oranını olumsuz yönde etkileyeceği belirtilmektedir. Tanklardaki beslemeye göre bakteriyel artış değerlendirildiğinde maya ve protein selko ile beslenen rotiferlerde bakteri sayıları yüksek olmasına rağmen protein selko ile en yüksek sayıya ulaştığı saptanmıştır. Araştırmada yağ asitlerince zengin protein selko ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayılarının yüksek olarak saptanması araştırmacıların belirttiği bilgilerle benzerlik göstermekle birlikte rotifer popülasyonundaki artış ve tanktaki su kalitesinin bozulması gibi çevresel faktörler ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Deniz balığı yetiştiriciliğinde başarı larvanın ilk

beslenme periyodundaki önemli bir besin organizması olan *B. plicatilis*'in yeterli kalite ve miktarda üretilmesine bağlıdır. Rotifer kültürlerindeki bakteriyel floranın kontrolü larvanın büyüme ve yaşama oranını olumsuz yönde etkileyen patojen bakterilerin rotiferlerle larvaya taşınmasını engelleyecektir. Ayrıca rotifer kültüründe maya ve besin içeriğinin artırılması amacıyla yağ asitlerince zengin besin maddelerinin kültürde kullanılmasında daha dikkatli davranılması bakteriyel yükün artmasını engelleyecektir.

Kaynaklar

- Arda, M., 1985. Genel Bakteriyoloji, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ank. Basımevi Yayın No: 402, 531.
- Estevez, A., Planas, M., 1988. Efecto de Diferentes Fuentes Alimenticias en la Composición en Ácidos Grasos del Rotífero *Brachionus plicatilis* O.F. Muller (1786). *Inv. Pesq.* 52(1), 67-76.
- Fukusho, K., 1985. Status of marine larval culture in Japan, in: Ed. By. Lee. C.S and Liao, I. C., *Reproduction and Culture of Milkfish*, The Oceanic Institute and Tungking Marine Laboratory, 127-139.
- Fernandez-Reiriz, M.J., Labarta, U., Ferreira, M.J., 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 112: 195-206.
- Gatesoupe, F. J., 1982. Nutritional and antibacterial treatments of live food organism: the influence on survival growth rate and weaning success of turbot (*Scophthalmus maximus*), *Ann. Zootech.*, 31: 353-368.
- Gatesoupe, F. J., Arakawa, T., and Watanabe, T., 1989. The effect of bacterial additives on the production rate dietary value of rotifers as food for Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, *Aquaculture.*, 83: 39-44.
- Gatesoupe, F. J., 1990. The continuous feeding and turbot larvae *Scophthalmus maximus* and control of the bacterial environment of rotifers, *Aquaculture*, 89: 139-148.
- Gatesoupe, F. J., 1994. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*, *Aquat. Livng Resour.*, 7: 277 - 282.
- Gatesoupe, F. J., 1995. A method for the early assessment quality turbot larvae, *Aquaculture International*, 3: 150-154.
- Kissil, G. Wn., Koven, W. M., 1989. Preparation of oils enhanced in highly unsaturated fatty acid (HUFA) content, by low temperature crystallization separation, for rotifer (*Brachionus plicatilis*) enrichment, *Aquaculture*, 88: 69-77.
- Komis, A., Candreva, P., Franicevic, U., Morau, V., Van Ballaer E. Leger, Ph., Sorgeloos, P., 1991. Successful application of a new combined culture and enrichment diet for the mass cultivation of the rotifer *Brachionus plicatilis* at commercial hatchery scale in Monaco, Yugoslavia, France and Thailand In: Lavens, P.P., Sorgeloos, E. Jaspers and F. Ollevier (Eds) *LARVI'91-Fish and Crustacean Larvae Culture Symposium EAS Spec. Publ*, No: 15, 102-103.
- Koray, T., 1993. Su Ürünleri Araştırmalarında Biyometrik Yöntemler, Ege Üniv. Su Ürünleri Fak. Yayınları 1, 166.
- Loix, B., Freedi, A., 1985. Training Course in Aquaculture at Policord 3. Phyto-Zooplankton Rearing and Utilization seabass (*D. labrax*) and gilthead seabream (*S. aurata*), F.A.O. Mediterranean Regional Aquaculture Project.
- Miyakawa, M., and Muroga, K., 1988. Bacterial flora of cultured *Brachionus plicatilis*, *Suisanzoshoku*, 63: 237-247.
- Muroga, K., Higashi, M., and Keiteku, H., 1987. The isolation of intestinal microflora of farmed Red Seabream (*Pagrus major*) and Black Seabream (*Acanthopagrus schlegelii*) at larval and juvenile stages, *Aquaculture*, 65: 79-88.
- Muroga, K., Yasunobu, H., Okada, N., and Masumura, K., 1990. Bacterial enteritis of cultured Flounder *Paralichthys olivaceus* larvae, *Diseases of Aquatic Organism*, Vol 9: 121-125.
- Nicolas, J. L., Robic, E., and Ansguer, D., 1989. Bacterial flora associated with a trophic chain consisting of microalgal rotifers and turbot larvae: Influence of

- Bacteria on Larval Survival, Aquaculture, 83: 237 - 248.
- Qie, G., Retian, K. I., and Olsen, Y., 1994. Comparison of rotifer culture quality with yeast plus oil and algal - based cultivation diets, Aquaculture International, 2: 238 - 255.
- Skejermo, J., and Vadstein, O., 1993. The effect of microalgae on skin and gut bacterial flora of halibut larvae, Fish Farming Technology Ed. By. Reinertsen H, Dahle, L.A., Jargensen L., and Tvinnereim, The Research Council of Norway, 61 -67.
- Sorgeloos, P., and Leger, Ph., 1990. Rotifers without algae and yeast in:Meulemeester, D.A., For Higher Productivity and Profitability in Aquaculture a.s Flash, Vol.2, No:2, 3-6.
- Tanasomwang, V. and Muroga, K., 1988. Intestinal microflora of larval and juvenile stages in japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), Fish pathology, 23(2): 77-83.
- Tanasomwang, V., and Muroga, K., 1992. Effect of sodium nifurstyrenate on the reduction of bacterial contamination of rotifer (*Brachionus plicatilis*) Aquaculture, 103:221-228.
- Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S., 1983. Nutritional values of live organism used in Japan for mass propagation of fish: A Review.Aquaculture 34: 115-143.
- Yamanoi, H., Oda, K. and Ukida, K., 1990. Growth response of *Vibrio*, *Pseudomonas* and *Moraxella* in rotifer *Brachionus plicatilis*, Nippon Suisan Gakkaishi, 56(3), 461-466.