

Su Ürünleri Dergisi J.Fish.Aquat.Sci.	Cilt No.18/1 Vol.18/1	Özel Sayı Suppl.	101 - 116 101 - 116	İzmir – Bornova 2001 İzmir – Bornova 2001
--	--------------------------	---------------------	------------------------	--

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* (O.F. Müller, 1786) (Rotifera) Üretimi *

Hilal Kargın

Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Mersin, Türkiye.

Abstract : *Production of Brachionus plicatilis* (O.F. Müller, 1786) in a Continuous Algae Culture System. Continuous culture system is one of the techniques used in algal biotechnology. In this system, growth of the algae is provided by continuous and constant feed supply as well as constant removal of the factors preventing growth from the system. In this manner, disadvantages of the non-continuous production systems are solved by employing continuous system.

The main goal of this study was mass production of *Brachionus plicatilis* (O.F. Müller, 1786). To achieve this goal we detected daily cellular increase and nutritional ratios of *B. plicatilis* by feeding it with 5 different algal and yeast species in continuous production system. The species used for this are as follows: 1-*Tetraselmis* sp. 2- *Chlorella* sp. 3- *Tetraselmis* sp. plus yeast 4- *Chlorella* sp. plus yeast 5- yeast only. In continuous production system, algae was grown in 400 liter polyethylene bags. The amount of algae harvested was the same to the amount of algae added to culture system and was given to the rotifer tanks. The dilution rate was adjusted to the specific growth rate of each species. In monotonous feeding system, dilution rate of *Chlorella* and *Tetraselmis* species were 0.12-0.20 lt/d and 0.15-0.35 lt/d, respectively. In monotonous feeding with yeast, dilution rate was 0.20-0.40 g/lt. In monotonous feeding system with *Chlorella* species plus yeast and *Tetraselmis* species plus yeast, dilution rates were 0.12-0.20 lt/d and 0.20-0.55 lt/d, respectively and the amount of yeast were 0.15-0.40 gr/lt for each species. The culture system has been harvested daily in an amount equaled to the volume of rotifera entered to the system.

This continuous cultivation system used for rotifer growth is more sensitive than other biotests based on intensive culture. Our study clearly demonstrated this.

Key Words : *B.plicatilis*, *Tetraselmis* sp, *Chlorella* sp, Continuous system.

Özet : Çalışmada *B. plicatilis*'in kitlesel yoğun üretimi amaçlanmış ve deniz rotiferi *B. plicatilis* sürekli kültür sisteminde çeşitli alg türleri ve maya ile (1-*Tetraselmis* sp., 2- *Chlorella* sp, 3- *Tetraselmis* sp ile maya, 4- *Chlorella* ile maya, 5- Maya) beslenerek, günlük hücre artışları ve besin değerleri tespit edilmiştir. Sistemde algler, 400 lt hacimli polietilen torbalarda üretime alınmıştır. Alglerin kültür ortamlarına ilave edilen kısmı kadar ürün rotifer tanklarına aktarılmıştır. Seyreltme hızı algin spesifik büyüme hızına göre ayarlanmış olup, *Chlorella* sp ve *Tetraselmis* sp alg türünün tek düze beslenme şeklinde seyreltme hızı sırası ile 0.12-0.20 lt/gün, 0.15-0.35 lt/gün arasında değişim göstermiştir. Maya ile tek düze beslemede seyreltme hızı 0.20-0.40 gr/lt olarak belirlenmiştir. *Chlorella* sp alg türü ile maya ve *Tetraselmis* sp alg türü ile

H. Kargın

maya'nın ikili beslenme şeklinde ise seyreltme hızı sırasıyla 0.12-0.20 lt/gün maya miktarı ise; 0.15-0.40 gr/lt, diğesinde algin seyreltme hızı 0.20-0.55 lt/gün, maya miktarı ise 0.15-0.40 gr/lt olarak değişim göstermiştir. Kültür, sürekli büyüme esnasında yirmidört saat aralıklarla hasat edilerek, rotifer tanklarına günlük giren miktar kadar ürün hasat edilmiştir.

Rotifer üretiminde kullanılan sürekli kültür tekniğinin, yoğun kültüre dayanan diğeri üretim tekniklerinden daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : *Brachionus plicatilis*, *Tetraselmis* sp, *Chlorella* sp, Sürekli Kültür Sistemi.

* Bu çalışma E.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir

Giriş

Deniz balıklarının larval gelişimlerinin belirli dönemlerinde yeterli miktarda rotifer temini, pek çok balığın üretilmesinde karşılaşılan en önemli sorundur (Lubzens 1989). Mikroalg, ticari öneme sahip pek çok su canlısının, özellikle balıkların en önemli besin kaynağıdır. Bazı balıklar erişkin dönemlerinde bile algleri tüketirken, alglerin bazıları balığın larval aşamasında gerekli bir yem olan rotiferin beslenmesinde dolaylı olarak kullanılır. Bivalve kültürleri için fazla miktarda alg'e ihtiyaç varken; ticari mollusk'ların ve krustase'lerin üretiminde daha az miktarda alge ihtiyaç duyulmaktadır. Bütün bu hususlar dikkate alındığında canlı yemden rotifer ve algin üretiminde güvenli, uygun bir üretim sisteminin seçilmesi önemli bir husus olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sürekli kültür sistemi algal biyoteknolojide uygulanan tekniklerden biridir. Droop (1975) sürekli kültür sistemlerinde üreme hızını ortama sürekli olarak ilave edilen besin desteği ile sağlanacağını, steril koşullarda sürekli ve sabit bir besin desteği yanında dengeli ortam koşullarına sahip kültür sistemlerinde ortama verilen yıkama sıvısının hassasiyetle ayarlanması gerektiğini belirtmiştir. Böyle bir sistemde sürekli ve sabit besin desteği

yanında ortamdaki belli oranda ürün ve yan ürün çıkışı sağlanarak büyümenin durmasınana neden olan toksik madde birikiminin oluşmasına engel olunur (Cirik ve Gökpınar 1993). Böylece kesikli üretimin neden olduğu olumsuzluklar sürekli üretimle ortadan kaldırılmış olur.

Günümüzde plankton üretiminde kullanılan birçok kültür tekniği vardır ve birçok ülkede bu tekniklerin uygulandığı sistemler kullanılmaktadır. Trotta (1980)'de alg besini kullanarak *B. plicatilis*'in sürekli sistemde yoğun üretimini basit ve ucuz bir şekilde başarmıştır. James ve Abu-Rezeq (1989)'da entansif kemostat kültür sisteminde *Brachionus plicatilis*'in sürekli üretimini gerçekleştirmiştir. Farklı akış hızı ve iki farklı besin tipinde (*Chlorella* sp., *Nannochloropsis* sp.) üretim ve gelişme oranında farklılık tespit etmiştir. Snell (1991)'de kesikli ve kemostat sürekli kültür sisteminde rotifer ve alg stok kültürlerini sağlamak için birçok işlemin bilinip uygulanması gerekliliğine değinmiştir. Kültür ortamı, tank hacmi ve büyüklüğü, havalandırma oranı, başlangıç yoğunluğu, besin tipi ve şekli, hasat metodu, hasat sonrası zenginleştirme gibi konuların önceden bilinmesi ve üretim planının bu kriterler dikkate alınarak yapılması gerekliliği açıklanmıştır. Rotifer büyüklüğü sıcaklığa bağlı olarak kullanılan besin cinsine, kalitesine, popülasyon yoğunluğuna ve

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

kültür suyunun kalitesine göre de değişiklik gösterir (Fukusho 1989). *Tetraselmis tetrathele* rotiferin besini olarak kullanıldığında, *Chlorella* sp ve ekme mayası ile yapılan beslemeye göre rotiferin büyüklüğü daha fazla olmaktadır. Fukusho (1989)'da sıcaklığın rotifer boyuna etkisi üzerine çalışmış ve yaz aylarında ölçülen rotiferler, kış aylarında ölçülenlerden 1,3 kez daha küçük olduğunu tespit etmiştir.

Planktonik canlılar besin değeri açısından incelenirse, besin miktarı ve beslenme sıklığı rotiferlerin besin içeriğini ve büyüme değerlerini etkileyen en önemli faktör olarak karşımıza çıkar. Deniz balıklarının larval üretiminde *B. plicatilis* besin olarak kullanılır (Fukusho 1989). Rotiferin besin değeri verilen yemin partikül büyüklüğü ve yoğunluğuyla paralellik gösterir. Bu sebeple alg sayısı ve ölçütleri rotiferin beslenme oranlarını etkileyen en önemli

parametre haline gelir. Chen ve diğ. (1991) rotiferlerin besinsel içeriğinin beslenmelerine göre değişim gösterdiğini bildirmiş ve rotiferin besinsel kalitesi beslenme sıklığına ve aldıkları besine bağlı olduğunu bildirilmiştir (Watanabe ve diğ. 1978, 1983; Fujita 1979).

Çalışmanın amacı; *B. plicatilis*'in sürekli kültür yönteminde yoğun üretimini sağlamak ve besin değeri açısından incelemektir.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, *B. plicatilis* önceki üretim döneminden kalan stoklardan temin edilmiştir. Rotiferin besin kaynağı olarak *Chlorella* sp, *Tetraselmis* sp alg türleri ve maya kullanılmıştır (Tablo1). Ana suş'lar Tarım ve Köyişleri Bakanlığına bağlı Beymelek üretim çiftliğinden temin edilmiştir.

Tablo 1. *B. plicatilis* 'in araştırmada denenilen beslenme tipleri.

ROTİFER	1. Deneme	2. Deneme	3. Deneme	4. Deneme	5. Deneme
<i>B. plicatilis</i>	Maya	Maya+Chlorella sp	Maya+Tetraselmis sp	Chlorella sp	Tetraselmis sp

Dış ortamda yapılan sürekli kültür sisteminin büyük ölçekli üretimlere uzanması alternatif olarak görülmüştür (De Pauw ve diğ. 1984). Bu nedenle, çalışmada büyük ölçekli hacimler kullanılarak sistem dizayn edilmiştir.

Sistem, sera ortamında alglerin doğal ışıktan faydalanmasına olanak sağlayacak şekilde kurulmuştur. Alg üretim torbaları polyester kaplı tel kafesler içerisine yerleştirilmiş polietilen torbalarda üretime alınmıştır. Algler 4 adet 2m boyunda 60 cm çapında tel kafes içerisine yerleştirilmiş olup, torbalara, basınçlı

hava uygulanarak gerginleştirilmiştir. Kültür torbalarına havalandırma; hava kompresöründen çekilen hava hortumları ile sağlanmıştır. Fotosentezi hızlandırmak amacıyla 1 atm. basınçta CO2 verilmiştir. Çalışma boyunca pH 8 olarak belirlenmiştir. Alglerin sıcaklığı için sera ortam sıcaklığı sabit tutulmuştur (15-18°C). Kültür ortamının tuzluluk ölçümü için Refraktometre'den faydalanılmıştır (%o25'tir). Alglerin aydınlatılmasında doğal ışık ve alg kafeslerinin ön-arka kısmında 2'şerli olarak yer alan 4 adet 40 watt'lık florasan lamba kullanılmıştır. Rotifer üretiminde 500 lt hacminde

H. Kargın

polyester kare tanklar kullanılmıştır. Aydınlatma tankların 15 cm yukarısına yerleştirilen 40 watt'lık florasan lambayla sağlanmıştır. Havalandırma, hava kompresöründen sağlanan hava hortumları yardımıyla tanklara verilmiştir. Kültür tanklarının sıcaklığı 25-28°C arasında değişim göstermiştir. Sıcaklık ayarlanmasında 200 watt'lık termostatlı ısıtıcılardan yararlanılmıştır. Deneme boyunca tuzluluk ‰25 olup, pH 7 olarak belirlenmiştir. Depo tankı olarak 1 ton'luk dikdörtgen tank kullanılmıştır. ‰25 tuzlulukta nutrientce zenginleştirilmiş deniz suyunun bulunduğu tanktan alg torbalarına sürekli olarak su basma motoru vasıtasıyla deniz suyu borulara basılmıştır. Depo tankına verilen deniz suyunun yabancı maddelerden ve mikroorganizmalardan arındırılması için 5µm'lik 2 adet kartuş filtre kullanılmış ve sisteme 2 adet U.V. lambası ilave edilmiştir. Zenginleştirici ortam olarak Super ortam (Üre 5gr, EDTA 7.5 gr, Super fosfat 3.5 gr, Amonyum sülfat 50 gr) ve vitamin olarak Biotin, B6, B12 karışımı kullanılmıştır.

Sistemde, nutrientce zenginleştirilmiş deniz suyu sürekli ve sabit hızla ilave edilmiş ve ilave edilen miktar kadar kısım ortamdan uzaklaştırılmıştır. Böylelikle kültür kabındaki hücre konsantrasyonu zamana bağlı olarak değişmez ve sabit kalır. Nutrientce zenginleştirilmiş deniz suyunun giriş hızı türün spesifik büyüme hızına (μ) ve hücrelerin ortamda kalış süresine uygun bir şekilde düzenlenir.

(D:seyreltme hızı VA:Akış hızı
 $D=\mu=VA/VKh$
 μ :spesifik büyüme hızı VKh: Kültür hacmi)

$$k = \frac{1}{t_1 - t_0} \log \frac{N_{n+1}}{N_n}$$

B.plicatilis'in büyüme hızının hesaplanmasında kullanılan taban ln tabanıdır. Büyüme hızı (k) Planas ve Estevez (1989)'da verdiği formülden yararlanılarak yapılmıştır.

$$k = \frac{\ln N_{n+1} - \ln N_n}{t_{n+1} - t_n}$$

$\ln = n$ tabanına göre log, $N_{n+1} =$ son hücre sayımı, $N_n =$ ilk hücre sayımı,
 $k =$ kültürün büyüme hızı

Çalışmada rotiferin besin kaynağı olarak kullanılan alg türlerinin (*Tetraselmis* sp, *Chlorella* sp.) hacimleri göreceli olarak artırılarak üretimleri gerçekleştirilmiştir. *Tetraselmis* sp alg türü $5,9 \times 10^5$ hüç/ml yoğunluğa ulaştığında 200lt'lik büyük hacimli alg torbalarına ilave edilmiştir. *Chlorella* sp alg türü ise $2,0 \times 10^6$ hüç/ml yoğunluğuna ulaştığında 200 lt'lik kültür torbasına ilave edilmiştir. Algin spesifik büyüme hızına göre, hücrelerin ortamda kalış süresine uygun bir şekilde periyodik aralıklarla besin maddelerince zenginleştirilmiş deniz suyu kültür ortamına verilerek kültür 400 lt'lik hacme ulaştırılmıştır. Başlangıç hücre sayısı sabit alınarak alg türlerinin günlük hücre artışları tespit edilmiştir. Günlük sayımlar Naubauer sayma kamerasında yapılmıştır. Maksimum büyüme hızına ulaşan kültürün aynı büyüme hızında devamlılığını sağlamak için sürekli kültüre başlanmıştır.

B.plicatilis'in farklı besin ortamlarındaki morfometrik ölçümleri için, 5 adet rotifer tankının her birinden 250 ml'lik beherle

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

örnek alınıp en az 40 adet rotifer bireyinin tek tek mikroskopta en ve boy ölçümleri yapılmıştır. Bu elde edilen veriler sonucunda ilk morfometrik en ve boy ölçümleri tespit edilmiş ve onikinci günün sonunda beslemeye tabi tutulan her bir rotifer tankından tekrar 250 ml'lik beherle örnekler alınıp en az 40 adet rotifer bireyinin en ve boy ölçümleri alınıp rotiferin son morfometrik ölçümleri saptanmıştır (Tablo 2).

Rotiferin boy ölçümleri, anterior ucundan kuyruk sapına kadar olup, en ölçümü vücudun en geniş bölgesinden ölçülerek yapılmıştır. Ölçümler Euromex HWF model mikroskopta yapılmıştır.

Deneme boyunca rotifer tanklarından ölçümü yapılan farklı besleme ortamındaki *B.plicatilis*'in morfometrik ölçümleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 2. *B.plicatilis*'in ilk ve son ortalama en ölçümü

GRUPLAR	İLK ORTALAMA EN ÖLÇÜMÜ	SON ORTALAMA EN ÖLÇÜMÜ
	μ	μ
1. <i>Tetraselmis sp</i> +maya	114,4	132,8
2. <i>Tetraselmis sp</i>	131,8	141,6
3. <i>Chlorella sp</i> +maya	121,6	132,8
4. <i>Chlorella sp</i>	119,8	135
5. Maya	120,2	138,6
Σ	607.8	680.8

Tablo 3. *B.plicatilis*'in ilk ve son ortalama yumurtalı-yumurtasız boy ölçümü

GRUPLAR	İLK ORTALAMA BOY ÖLÇÜMÜ		SON ORTALAMA BOY ÖLÇÜMÜ	
	μ		μ	
	YUMURTALI	YUMURTASIZ	YUMURTALI	YUMURTASIZ
1. <i>Tetraselmis sp</i> +maya	278	183,6	276,8	290,0
2. <i>Tetraselmis sp</i>	292	200,2	288,8	213,6
3. <i>Chlorella sp</i> +maya	264	186,4	255,4	220,8
4. <i>Chlorella sp</i>	104,2	192,1	263,2	201,8
5. Maya	266,0	183,8	282,4	280,9
Σ	1204.2	946.1	1366.6	1207.1

Morfometrik ölçüm sonuçlarına göre, Fukusho (1989), Planas ve Estevez (1989)'da yaptıkları çalışmaya uygun olarak *Tetraselmis* ve *Chlorella* ile beslenen rotiferlerin boy ölçümlerinde yumurta boyutlarının daha iri, maya ile tek düze beslemede birey boyutlarının daha büyük ancak yumurta boyutlarının daha küçük olduğu gözlenmiştir. En

ölçümlerinin de özellikle *Tetraselmis* alg türü ile beslenen rotiferin en ölçümünün daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak diyebiliriz ki *Tetraselmis* alg türü ile beslenen rotiferler daha büyük boyutludur. Deneme sonunda alınan en ve boy ölçümleri başlangıçta alınan ölçüm sonuçlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Buna göre de *Tetraselmis* ve

H. Kargın

Chlorella ile maya'nın kullanıldığı besleme sonucunda en yüksek verim elde edilmiştir.

Deneme öncesi rotifer üretim tankına besin girişi yapmaksızın alınan örneklerde bireylerin morfometrik ölçümlerinin düşük olduğu, buna karşın deneme sonunda sürekli olarak besin girişi yapılan üretim tanklarından alınan örneklerde bireylerin morfometrik ölçüm sonuçlarının yüksek olduğu gözlenmiştir. Buna göre besin sıklığı ve besleme miktarının rotiferin büyüme değerlerini etkilediği sonucuna varılmıştır. Yine yumurtalı bireylerin morfometrik boy ölçümlerinde yumurta oranlarında da artış olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

Yağ analizleri için alınan rotifer örnekleri E.Ü Fen Fakültesi Biyokimya bölümünde **Steldt- Weibnil** Analiz yöntemine göre analiz edilmiştir (Telefoncu 1989).

$$\% \text{ YAĞ} = \frac{(\text{Balonun son tartımı} - \text{Balonun ilk tartımı})}{\text{Başlangıçtaki madde miktarı}} \times 100$$

Yağ Asid Tayini

$$\text{Asid sayısı} = \frac{a \times 28.05}{T}$$

a=Harcanan 0.5 N KOH miktarı(ml)

T=Tartım(gr)

B.plicatilis'in Hamyağ- Yağ asid Bulguları

Tablo 4. *B.plicatilis*'in hamyağ-yağ asit oranı

NUMUNE NO	%HAMYAĞ ORANI	SERBEST YAĞ ASİTİ SAYISI
1, TETRA+ROT	7,82	6
2, CHL+MAYA	1,00	9
3, TETRA+MAYA	3,98	7
4, CHL+ROT	6,03	4
5, MAYA+ROT	3,06	8

Protein Analizi

Deneme materyallerinin protein analizi **Kjeldahl analiz** yöntemine göre analiz edilmiştir.

$$\% \text{ N} = \frac{(B-S) \times N \times 1.4007 \times f}{T}$$

formülü ile hesaplanır (Telefoncu, 1989).

B=Baz sarfiyatı

S=HCl'den yapılan sarfiyat

f=faktör,

T=tartım(gr)

AminoAsit Tayini

5 farklı besleme uygulanan rotifer örneklerinin ayrı ayrı aminoasit tayini yapıldı. Bu amaçla E.Ü Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezindeki **Eppendorf Biotronik LC 3000** Amino Asit Analizöründe yapılmış olup; her bir örnekten, 1. Örnek 5.4 mg/ml, 2. Örnek 5.9 mg/ml, 3. Örnek 5.1 mg/ml, 4. Örnek 5.0 mg/ml, 5. Örnek 5.7 mg/ml alınıp, çözelti hazırlandı. Bu çözeltilerden 25 kat seyreltik çözelti hazırlandı. Cihaza 20 ml örnek enjekte edildi. Sonuçlar mg

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

cinsindedir. Örnekler 6 N HCl asit ilave edilip; 1.0 °C'de 24 saat etüvde kurutuldu.

B. plicatilis'in Hamprotein ve Aminoasit Bulguları

Tablo 5. *B.plicatilis* 'in hamprotein içeriği

NUMUNE NO	HAMPROTEİN ORANI
1. TETRA+ROT	10,93
2. CHL+MAYA	11,04
3. TETRA+MAYA	11,17
4. CHL+ROT	9,66
5. MAYA+ROT	3,24

Tablo 6. *B.plicatilis* 'in Aminoasit oranı

Aminoasitler	1,numune <i>Tetraselmis</i> sp	2,numune <i>Chlorellasp</i> +Maya	3,numune <i>Tetraselmis</i> sp+Maya	4,numune <i>Chlorella</i> sp	5,numune Maya
Alanin	26,69	27,25	26,527	26,65	26,208
Arginin	58,129	61,256	59,878	60,222	59,385
Aspartik asit	11,442	13,713	13,008	13,083	12,151
Fenilalanin	41,209	41,907	40,306	40,512	40,477
Histidin	46,118	47,347	46,247	47,159	47,097
Glutamik asit	19,894	20,773	19,545	19,693	18,924
Glisin	25,663	26,263	25,441	25,568	25,017
İsolösin	32,885	33,514	32,695	32,821	32,721
Lösin	34,374	35,125	33,982	34,152	34,042
Lizin	50,372	53,007	51,875	51,93	51,521
Metiyonin	31,485	31,989	31,087	31,203	31,11
Prolin	22,035	22,899	21,912	22,067	-
Serin	16,943	17,793	17,17	17,266	16,521
Sistein	-	-	-	-	-
Tirozin	12,607	40,157	38,173	38,371	15,126

Watanabe ve diğ. (1978)'de yaptıkları çalışmaya uygun olarak hamyağ oranı sadece fitoplanktonla beslenen rotiferlerde daha yüksek değerde bulunmuş, yağasit değerleri ise fitoplankton ve maya kullanılarak beslenen rotiferler sadece fitoplanktonla beslenen rotiferlere göre daha yüksek oranda ancak yakın değerler göstermiştir (Tablo 4). Ancak tek düze mayayla beslemede hamyağ değerine göre yağasit değeri daha yüksek ve ikili besleme

uygulanmaların değerine yakın bir değer vermiştir. Nichols (1965) ve Olson (1975) yağasidi kompozisyonunun besinmadde içeriğine bağlı olduğunu belirtmektedir. Koşulların tamamı ise pH, sıcaklık, tuzluluk, besin maddelerine bağlı değişim göstermektedir. Örneğin; rotiferde tuzluluk oranı düşük tutulduğunda protein değerinde artış olduğu gözlenmektedir.

Hasat sonucu elde edilen rotiferlerin kurumadde üzerinden yapılan analizleri

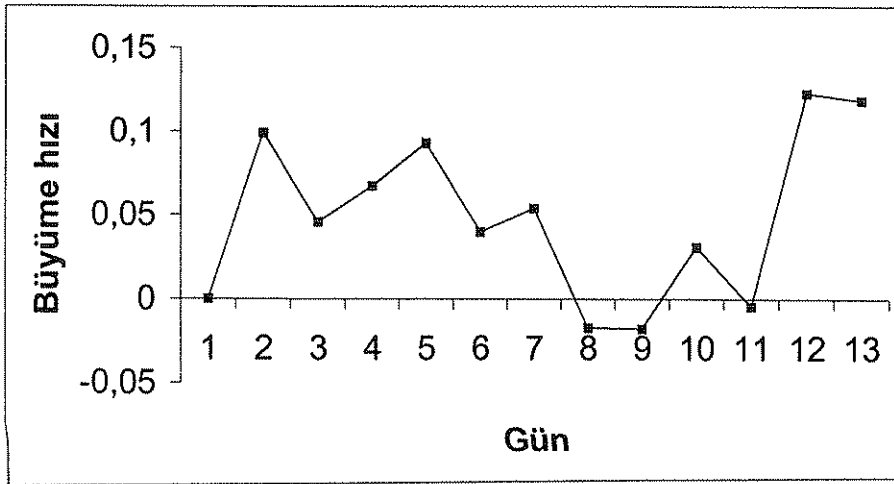
sonucu en yüksek hamprotein oranı; ikili besleme uygulanan *Tetraselmis* sp ve mayayla yapılan beslemede elde edilmiştir. Rotiferin hamprotein değeri 11.17 olarak belirlenmiş, sırayı ikinci olarak yine ikili besleme uygulanan *Chlorella* sp alg türü ve mayayla beslenen rotiferin hamprotein değerini de 11.04 ile yakın bir değer göstermiştir. Üçüncü sırayı tek düze besleme ile *Tetraselmis* sp alg türü ile beslenen rotiferin hamprotein değeri 10.93 alır ve *Chlorella* sp ile beslenen rotiferin hamprotein değeri ise 9.66 ile dördüncü sırayı almıştır. En düşük hamprotein değerini 3.24 ile maya ile beslenen rotiferin aldığı görülmüştür (Tablo 5).

Veri sonuçlarına göre, aminoasitlerden Sistein beş farklı beslemede de görülmemiş, mayayla beslemede ise Prolin-Sistein aminoasitleri tespit edilememiştir. Aminoasit içeriği bakımından beş farklı beslemede de yakın değerler gözlenmiştir (Tablo 6).

Tetraselmis sp alg türünün seyreltme hızı 0,15-0,35 lt/gün arasında değişim göstermiştir. Büyüme hızı 0,15 bölünme/gün olarak tespit edilmiştir. *Chlorella* sp alg türünün seyreltme hızı 0,15-0,20 lt/gün arası değişim göstermiştir. Büyüme hızı 0,23 bölünme/gün olarak tespit edilmiştir. Rotifer tanklarından hasat 24 saat'lik periyotlarla yapılmıştır. Rotiferlerin 12 gün boyunca Dolfus cuve sayma kamerasında sayımları yapılmıştır. Günlük ml'de elde edilen rotifer sayısı böylece tespit edilmiştir. Alg kültür tanklarına ilave edilen miktar kadar kısım rotifer tanklarından hasat edilmiştir. Rotifer tanklarının hacmi 200 lt hacimde sabitlenmiş olup, 200 lt'nin üstünde giren ürün miktarı kadar kısım rotifer tanklarından periyodik aralıklarla hasat edilmiştir.

Alglerin büyüme hızı grafiklerde verilmektedir.

Bulgular

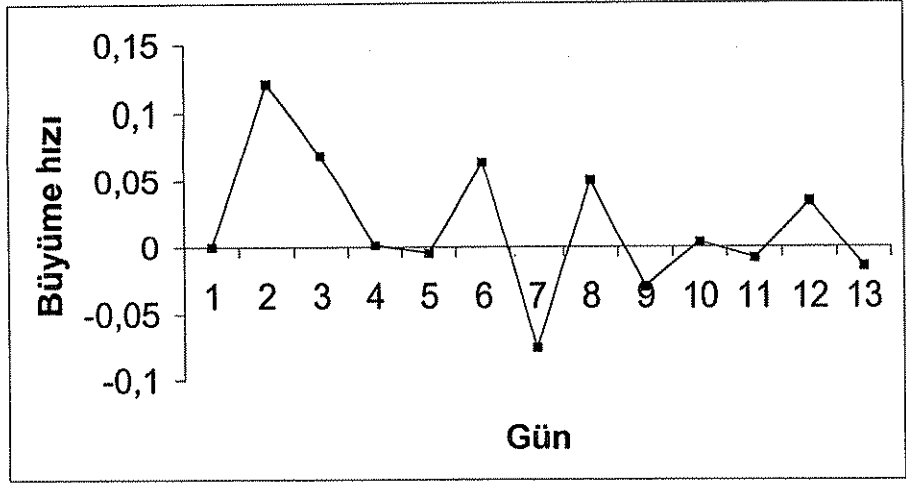


Şekil 1. *Tetraselmis* sp büyüme hızı

*Kültür ortamının tuzluluğu ‰25, pH 7.0'dir.

*k=0.1

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi



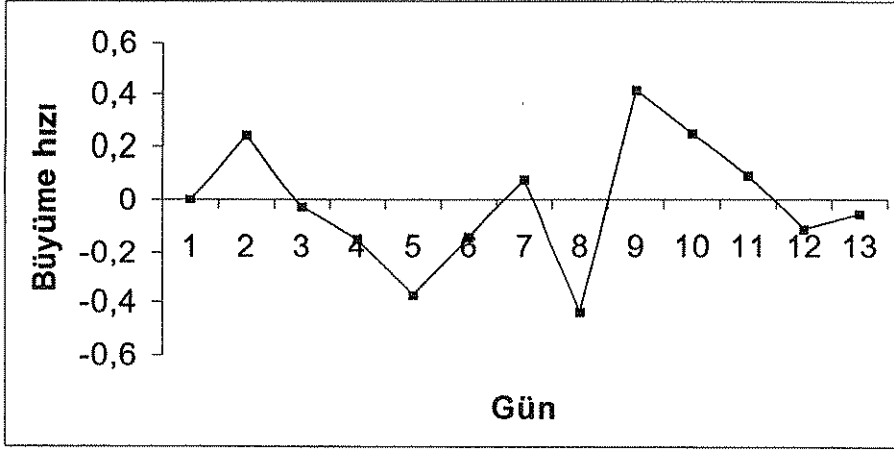
Şekil 2. *Chlorella sp* büyüme hızı

*Kültür ortamının tuzluluğu %025, pH7.0

*k= 0.23

Tetraselmis sp. alg türünün başlangıç hücre konsantrasyonu $1,43 \times 10^5$ hüç/ml olarak kültür ortamına ekilmiş ve üreme periyodu sonunda hücre konsantrasyonu $5,86 \times 10^5$ hüç/ml olarak tespit edilmiştir. Son iki gün içinde ise maksimum bir artış gözlenip bu esnada sürekli sisteme başlandığında ml'deki hücre sayısı $3,20 \times 10^6$ hüç/ml, $3,40 \times 10^6$ hüç/ml arası sabit tutulmuştur (Şekil 1).

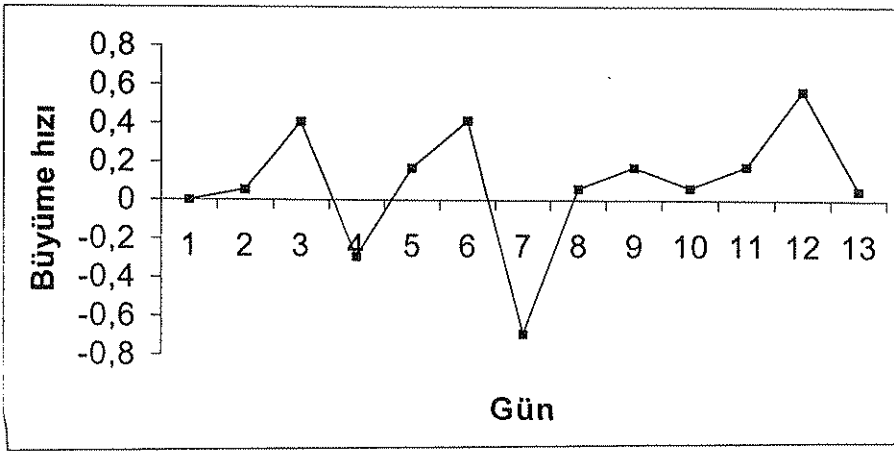
Diğer alg türü *Chlorella sp.* nin başlangıç hücre konsantrasyonu $12,86 \times 10^6$ hüç/ml olarak kültür ortamına ekilen alg 12 günlük üreme periyodu boyunca periyodik olarak artış göstermiştir. Yedinci gün içinde ise hücre artışı maksimuma ulaşmış ve $21,7 \times 10^6$ hüç/ml olarak belirlenmiştir. Algin maksimuma ulaştığı noktada sürekli üretime başlanmış ve hücre sayısı sabitlenmiştir. Seyreltme hızı 0.15-0.20 lt/gün olarak belirlendi (Şekil 2).



Şekil 3. *Tetraselmis* ile beslenen *B.plicatilis* büyüme hızı
*Kültür ortamının tuzluluğu ‰25, pH8.0

Tetraselmis sp. alg türüyle beslenen rotiferin üreme periyodu boyunca günlük hücre konsantrasyonu başlangıçta 740 rot/ml kültür ortamına ekilmiş olup, günlük yapılan hasatlar sonucu elde edilen hücre konsantrasyonu ilk 3 gün içinde periyodik olarak artmış, devam eden günlerde 500-600 rot/ml elde

edilmiştir. Rotiferin ml'deki hücre konsantrasyonu ile besin miktarı arasında bir paralellik görülmektedir. Ortalama rotifer tanklarına verilen besin 0.048lt/dk ile 0.021lt/dk, arasında değişim göstermiştir. Seyrelme hızı 0.15-0.35 lt/gün'dür (Şekil 3).

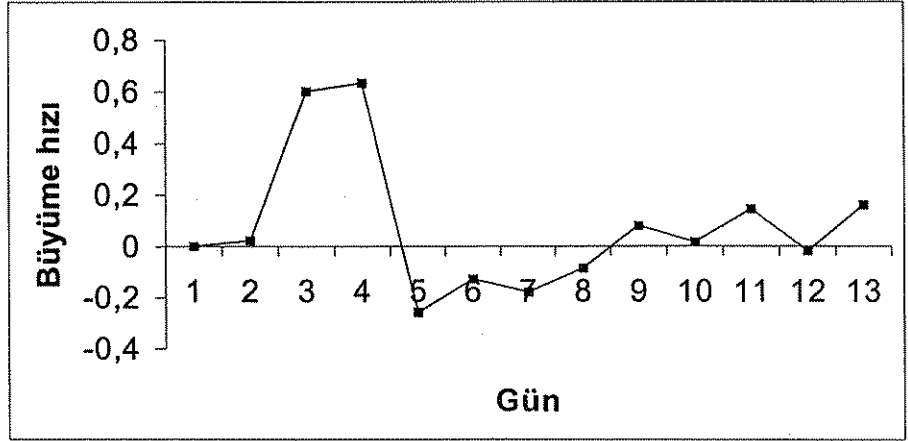


Şekil 4. *Tetraselmis*+maya ile beslenen *B.plicatilis* 'in büyüme hızı.
*Kültür ortamının tuzluluğu ‰25, pH8.0

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

Tetraselmis sp ve mayayla beslenen rotiferlerin başlangıçtaki hücre konsantrasyonu 485 rot/ml olup, beşinci günde hücre konsantrasyonu maksimuma ulaşmış 1026 rot/ml olarak tespit edilmiştir. Onuncu ve onikinci günde de aynı şekilde bir artış söz konusu olup 1449-1525 rot/ml elde edilmiştir. Ortalama rotifer tanklarına verilen besin *Tetraselmis* sp. alg türü için 0.021 lt/dk ile 0.048 lt/dk'dır ve maya oranı 0.15 gr/lt ile 0.40 gr/lt

olarak belirlenmiştir. Verilerden elde edilen sonuca göre besin miktarındaki artış, rotiferin hücre artışı olumlu yönde etkilemiştir. Beşinci günde maksimum hücre artışı alg miktarının yüksek tutulduğu maya miktarının düşük olduğu besleme şeklinde sağlanmıştır. Alg miktarının 0.048 lt/dk ve maya oranı 0.40 gr/lt olduğu 28°C'de en yüksek hücre artışı elde edilmiştir (Şekil 4).

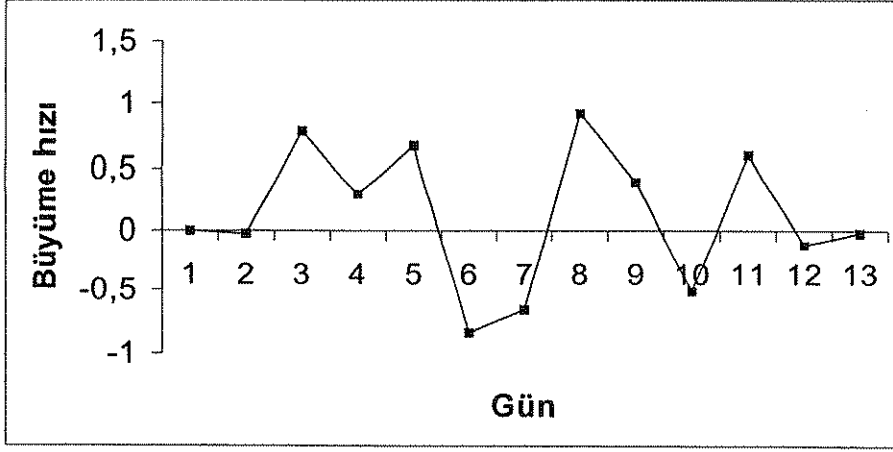


Şekil 5. *Chlorella* ile beslenen *B.plicatilis*'in büyüme hızı
*Kültür ortamının tuzluluğu ‰25, pH8.0

Chlorella sp alg türüyle beslenen rotiferin başlangıç hücre konsantrasyonu 271 rot/ml olup, üçüncü güne kadar artış göstermiştir. En çok rotifer 734 rot/ml 0.042 lt/dk'lık besin miktarında sağlanmıştır. Tek düze alg'le yapılan

beslemede kültür tankına verilen besin miktarındaki artışla bağlantılı olarak hücre konsantrasyonunda da olumlu bir artış görülmüştür. Seyrelme hızı 0.15-0.20 lt/gün olarak belirlenmiştir (Şekil 5).

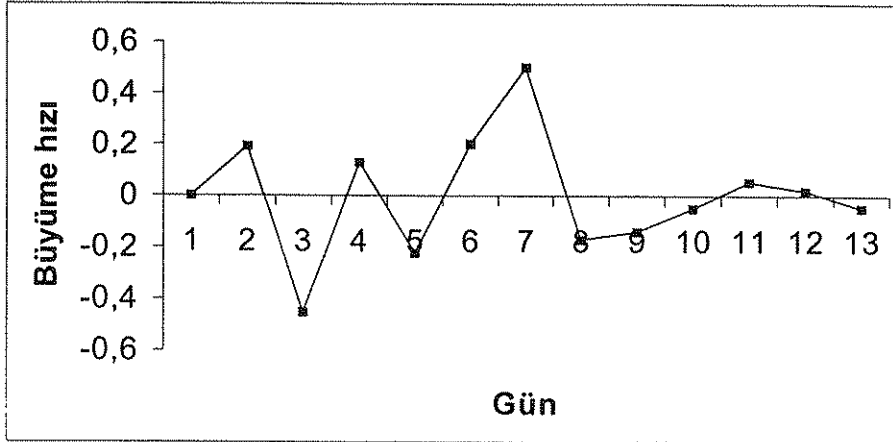
H. Kargın



Şekil 6. *Chlorella*+maya ile beslenen *B.plicatilis*'in büyüme hızı
*Kültür ortamının tuzluluğu%o25, pH8.0

Chlorella sp alg türü ve mayayla beslemede ise başlangıçtaki hücre sayısı 232 rot/ml'dir. Birinci günden üçüncü güne kadar hücre konsantrasyonunda periyodik bir artış görülmüştür. Dördüncü ve sekizinci günde onuncu, onbirinci, onikinci günde hücre konsantrasyonu

maksimuma ulaşmış, 1287, 1073 ,1168, 1041, 1023 rot/ml olarak tespit edilmiştir. En iyi hücre konsantrasyonu alg besin miktarının 0.021 lt/dk olduğu ve maya miktarının 0.30-0.40 gr/lt olduğu günlerde gözlenmiştir. Algin seyrelme hızı 0.12-0.20 lt/gün'dür (Şekil 6).



Şekil 7. Maya ile beslenen *B.plicatilis*'in büyüme hızı
*Kültür ortamının tuzluluğu %o25, pH8.0

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

Tek düze mayayla beslenen rotifer tanklarının başlangıçtaki hücre konsantrasyonu 497 rot/ml olup, altıncı gün maksimum 705 rot/ml elde edilmiştir. Ortalama rotifer tanklarına verilen maya miktarı 0.20 gr/lt, 0.30 gr/lt ve 0.40 gr/lt olarak uygulanmıştır. *B.plicatilis* ikili besleme ve tek düze maya ile sürekli olarak beslenmiştir. Maya miktarının 0.30-0.20 gr/lt olduğu sıcaklığın 28-29°C olduğu günlerde en yüksek hücre artışı sağlanmıştır (Şekil 7).

Verilere göre en iyi randıman *Tetraselmis* sp. alg türüyle beslenen rotiferlerin hücre konsantrasyonlarında görülmüştür. Bununla birlikte ikili besleme uygulanan (alg+maya) gruplarda hücre konsantrasyonunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Fukusho ve diğ. (1985)'de Pisi balığı larvaları için (*Paralichthys olivaceus*) *Tetraselmis tetrathele* ile kültüre alınan *Brachionus plicatilis*'in besin değerini incelemiş ve karışık besinlerle beslenen rotiferin larvalara verilmesi durumunda besin değerinin daha yüksek olduğunu ve yaşama oranının arttığını bildirmişlerdir. Tek düze mayayla yapılan beslemede rotiferlerin hücre artışları gözle görülür bir şekilde daha az olmaktadır.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmadaki amaç, rotifer üretiminde sürekli kültür sistemini rotifer kültür ünitesine uygunluğunu araştırmaktır. Çünkü rotifer kültürünün başarısı aynı zamanda uygulanan kültür sistemine bağlı olmaktadır. Sürekli kültür sisteminin pek çok avantajı söz konusudur. Sürekli kültür sistemi büyümeyi logaritmik fazdaki maksimum değerinde sabit kılar ve maksimum büyüme hızına ulaşan bir kültürü aynı büyüme hızında devamlılığını sağlar. Sürekli kültür sistemlerinde kültürün daha uzun süre

maksimum üreme fazında bulunması ürün verimliliği yüksek türlerin teminini mümkün kılar. Bu sebeple yüksek kalitede alg ve rotifer üretiminin en uygun yoludur. Türlerin büyük hacimlerde üretimini mümkün kılar, üretime süreklilik getirirken; otomasyona olanak sağlar. Emdadi ve Broggen (1990)'da rotifer kültürlerine yapılan sürekli fitoplankton girişinin rotiferin üreme oranı üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Sistemde kültür ortamının kimyasal kompozisyonu değişmez ve hızlı üreme dönemlerinde türün bakteri ve diğer kontamine edici etkenlerle gelişen enfeksiyonlara karşı direnci artar. Hızlı üreme dönemlerinde hücrelerin yıkanması suretiyle kontamine edici etkenler ortamdaki uzaklaşır. Sistem kültür çökmesi olmaksızın (4 aydan fazla) çalışır. Besin değeri ve üreme hızı yüksek canlı teminine olanak sağlar (Rocford 1987).

Avantajları yanında bazı dezavantajları vardır. Ticari yönden uygunluklarını kısıtlayan en önemli faktör ışık ve sıcaklıktır. Büyük hacimli ölçeklerde kitlesel çökelmeler meydana gelebilir. Snell (1991)'de rotifer kültürlerinin çökmesi modern hacimli üretim tesislerinde sıklıkla raslanan bir durum olduğunu bildirmiş ve bu soruna tavsiyesi yüzme aktiviteleri ve yumurta oranlarının gözlenerek çökme olayına karşı tedbir alınması yolundadır. Büyük hacimlerde maliyet artar. Buna karşın, sistem kurulduktan sonra hem masraf hem işçilik azaltılmış olunur. Saf kültürlerin sistemde özenle kullanılması gerekir. Aksi halde kontaminasyon kolaylıkla meydana gelebilmektedir. Sistem besin değeri ve üreme hızı yüksek canlı teminine olanak sağlar. James ve Abu-Rezeq (1989)'da entansif kemostad kültür sisteminde *Brachionus plicatilis*'in sürekli üretimini araştırmış ve şimdiye kadar kullanılan

H. Kargın

kültür sistemlerine göre çok daha yüksek rotifer üretimi elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Veri sonuçlarına göre, besin olarak fitoplanktonun kullanımı ile büyüme hızı artmaktadır. Maya ile yapılan kültür çalışmalarında fitoplanktonla yapılan beslemeye oranla düşük bir büyüme hızı elde edilmiştir. Liao ve diğ. (1991) yılında *Tetraselmis chui* ile beslenen rotiferlerin büyüme hızının daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Besin olarak fitoplankton ve ek besin olarak maya kullanıldığında büyüme hızı sadece fitoplankton kullanılarak yapılan rotiferin besin yöntemine göre daha yüksek değerde tespit edilmiştir. Albaz (1990)'da mayanın tek başına yem olarak kullanılması yerine yoğun kültürlerde ek bir yem olarak yararlanılmasının en doğru yol olacağını bildirmiştir. Stenberger ve Gilbert (1985, 1987)'de yapmış olduğu araştırmalarına göre besin miktarı ve beslenme sıklığı rotiferin besin içeriğini ve büyüme değerini etkileyen önemli bir parametre olduğunu bildirmiştir. Rotiferin büyüklüklerinde ise besine bağlı olarak farklılık tespit edilmiştir. *Tetraselmis suecica* ile beslenen rotiferlerin *Chlorella* sp ile beslenenlere oranla boy ve en ölçümlerinin daha büyük oldukları bulunmuştur. Fukusho (1989), Planas ve Estevez (1989)'da *Tetraselmis* ile beslenen rotiferlerin daha büyük boyutta olduklarını bildirmişlerdir. Lubzens ve diğ. (1989)'da farklı besin tiplerinin kullanımı ve farklı sıcaklıklarda kültüre alınan rotiferin farklı büyüklükte olduğunu belirtmiştir. Rotiferin büyüklüklerinde yine *Tetraselmis suecica* ve ek besin maya kullanılarak yapılan besleme yönteminde boy-en ölçümlerinin sadece fitoplankton kullanılarak yapılan beslemeye göre daha yüksek değerde olduğu bulunmuştur.

Bu sonuca göre larvaların ilk beslenme dönemlerinde (prelarval dönem) rotiferlere *Chlorella* sp besin olarak verilerek, rotiferlerin daha küçük boyutta kalmaları sağlanabilir. Larvaların ağız açıklığı büyüdüğünde *Tetraselmis suecica* ile beslenmiş daha büyük rotiferler verilebilir. Daha ileri safhalarda *Tetraselmis suecica* ve maya ile beslenmiş rotiferler larvalara verilerek larvalar besine bağlı olarak boylandırılmış ve daha kolay bir şekilde beslenmeleri sağlanmış olur.

Watanabe ve diğ. (1978)'de yaptıkları araştırmaya uygun olarak rotiferin hamyağ oranı besine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Besin olarak rotiferin sadece fitoplanktonla beslenmesi sonucu hamyağ oranı yüksek değerde bulunmuş, fitoplankton ve maya kullanılarak yapılan beslemede hamyağ oranı yarı yarıya daha düşük değerde bulunmuştur. Yağasit değerleri Watanabe ve ark. (1978)'de yaptığı çalışmaya uygun olarak *Tetraselmis suecica* ve ek besin maya kullanılarak yapılan beslemede, tek düze fitoplanktonla beslenen rotifere göre daha yüksek ancak yakın değerler göstermiştir. Bu sonuca göre yağasit içeriği ve proteince zengin *Tetraselmis suecica* ve mayanın rotiferin beslenmesinde yararlı olduğu söylenebilir. Rotiferin aminoasit içeriği beslemeye bağlı olarak yakın değerler göstermiştir. Aminoasitlerden Arginin beş farklı beslemede yüksek değerde gözlenmiştir. Aminoasitlerden Sistein ise beş farklı besleme yönteminde de tespit edilememiştir. Aminoasitlerden Aspartik asit düşük düzeyde bulunmuştur. Sonuç olarak bu sistemde farklı besleme yöntemlerinde kültüre alınan rotiferin besin değerliliği açısından zengin olduğunu söyleyebiliriz.

Yapılan bu çalışma ile ülkemiz kuluçkahanelerinde kültürü yapılan

Sürekli Alg Kültür Sisteminde *Brachionus plicatilis* Üretimi

rotiferlerin üretimine süreklilik getirirken; kullanılması, hem de daha sonraki besin değeri yüksek rotifer eldesini çalışmalara ışık tutması açısından yararlı sağlayacak uygun bir kültür sisteminin olacağı kanısındayım.
hem üreticilerimiz tarafından

Kaynakça

- Chen, X.Q., L.J. Long. 1991. Research and Production of Live Feeds in China. In: FULKS, W., MAIN, K. The Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 187-201.
- Cirik, S., Ş., Gökpinar. 1993. Plankton Bilgisi ve Kültürü. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:47. Bornova/ İzmir, 230-233, 242-244.
- De Pauw, N., J., Moreles, and G., Persoone. 1984. Mass culture of microalgae in aquaculture system: progress and constraints. Hydrobiologia 116/117: 121-134.
- Droop, M., R. 1975. The chemostat in mariculture 10th European Symposium on Marine Biology, 1: 71-93.
- Emdadı, D., C. H., Brognen. 1990. Effect de la variation de la teneur en nitrates dans une culture continue a deux stades: algae- rotifera: croissance et classes de lipides. Oceanis. 16: 409-418.
- Fujita, S. 1979. Culture of Red Sea Bream, *Pagrus major*, and its Food. In: Styczynska Jurewicz, E., Backiel, T., Jaspers, E., Persoone, G. Cultivation of Fish Fry and Its Live Food., E.M.S. Spec. Publ. No: 4, 183-197.
- Fukusho, K., M., Okauchi, H., Tanaka, S.T., Wahyuni, P., Kraisingdecha, and T., Watanabe. 1985. Food Valve of a Rotifer *Brachionus plicatilis*, Cultured With *Tetraselmis tetrahele* for Larvae of a Flounder *Paralichthys alivaeus*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 29-36.
- Fukusho, K. 1989. Biology and Mass Production of the Rotifer *Brachionus plicatilis* (1). Int. J. Aq. Fish. Technol, 232-240.
- Gökpinar, Ş., B., Büyükişık. 1994. Mikroalg kültürleri:II. Kültür Yöntemleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Bornova- İzmir, 1989 SÜFAK 002 Araştırma Fon Saymanlığı, G.T 90, 95-105.
- Halbach, V. 1970. Ginfluss der Temperatur auf die Population- dynamik des planktischen Radertiers *Brachionus colyflorus* Pallas. Decologia 4: 176-207.
- Hindioğlu, A. 1995. Rotifera (*Brachionus plicatilis* O. F. Müller) Kültürü Üzerine Araştırmalar. E.Ü. Fen Bilimleri Enst. Su Ürünleri Anabilim Dalı, Bornova- İzmir, 116-117.
- James, C.M., T., Abu Rezeq. 1989. Intensive Rotifer Cultures Using Chemostats. Hydrobiologia, 186/187: 423-430.

H. Kargin

- Liao, I. C., M. S., Su, H. M., Su. 1991. An Overview of the Live Feeds Production System Desing in Taiwan. In: Fulks, W., Mam, K. The Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U. S. Asia, Honollulu, 135-150.
- Lubzens, E. 1989. Rotifers as food in aquaculture, Natonel Institute of Oceanography, Israel Oceanographic and Linnological Research, Tel- Shikmona, P.O.B. 8030, Haifa 31080, ISRAEL, Hydrobiologia 186/187: 387-400.
- Mitchell, S.A., J.H.B., Joubert. 1986. The Effect of Elevated pH on the Survival and Reproduction of *Brachionus calyciflorus*. Aquaculture 55: 215-220.
- Nichols, B. W. 1965. Light induced changes in the lipids of *Chlorella vulgaris*. Biochemica et Biophysica Acta 106: 274-279
- Olsen, G. J., and J., Ingram. 1975. Effects of temperature and nutritional changes on the fatty acids of *Agmenellum quadruplicatum*. Journal of Bacteriology 124: 373-379.
- Planas, M., A., Estevez. 1989. Effects of Diet on Population Development of the Rotifer *Brachionus plicatilis* in Culture. Helgolander Meere Sunter Suc Hungen. 43: 171-181.
- Snell, T.W. 1991. Improving the Desing of Mass Culture Systems for the Rotifer, *Brachionus plicatilis*. In: Fulks, W., Mam, K. The Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 61-71.
- Stemberger, R., S., J., J., Gilbert. 1985. Body size food concentration, and population growth in planktonic rotifer. Ecology 66 (4): 1151-1159.
- Stemberger, R., S., J., J., Gilbert. 1987. Rotifer threshold food concentration and the size-efficiency hypothesis Ecology 68 (1): 181-187
- Telefoncu, A. 1989. Besin Kimyası Laboratuvarı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Teksirler Serisi No:50 Bornova/İzmir, 22-23.
- Trotta, P. 1980. A Simple and Inexpensive System For Continuous Monoxenic Culture of *Brachionus plicatilis* Muller Ras in Basis for Mass Production. Aquaculture 28: 40-45.
- Watanabe, T., C., Kitajima, T., Arakawa, K., Fukusho, and S., Fusita. 1978. Nutritianol quality rotifer *B. plicatilis* as aliving feed the view point of essential faaty acids for fish. Nippon Suisan Gakkaishi 44 (9): 1109-1144 .
- Watanabe, T., T., Arakawa, C., Kitajima, and S., Fujita. 1978. Nutritional Evaluation of Proteins of Living Feeds Used in Seed Production of Fish. Nippon Suisan Gakkaishi 44 (9): 985-988.