

Farklı Sulandırma Oranlarının Rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller, 1786) Kültürü Üzerine Etkisi

Aynur HİNDİOĞLU, Serpil SERDAR
Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Bornova 35100, İzmir - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.02.2000

Özet: Bu çalışmada farklı sulandırma oranlarının rotifer kültürü üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, rotiferler 12 gün boyunca üç adet 50 lt'lik silindir-konik tanklarda ekme mayası (*Saccharomyces cereviscea*) ile beslenerek kültüre alınmıştır. Rotifer yoğunluğu 200 birey/ml'ye ulaştığında farklı sulandırma oranları (% 10, % 20, % 30) uygulanarak rotifer üretim miktarı ve büyüme hızı saptanmıştır. Deneme sonunda maksimum rotifer yoğunluğu (1149±23 adet/ml), toplam rotifer üretimi (24 626 517 adet / 21.4 lt) ve büyüme hızı (0.39±0.10) % 10 sulandırmanın uygulandığı Tank I'de bulunmuştur. Toplam rotifer miktarı Tank I'de önemli farklılık (p<0.05) gösterirken, büyüme hızı açısından tanklar arasında önemli farklılık bulunmamıştır (p>0.05).

Anahtar Sözcükler: Rotifer kültürü, *Brachionus plicatilis*, Sulandırma oranları

The Effect of Different Dilution Rates on Rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller, 1786) Culture

Abstract: In this study, the effect of different dilution rates on the rotifer *Brachionus plicatilis* was investigated. For this purpose, the rotifer was cultured in three 50 l cylinder-conic tanks for 12 days, the cultures being fed with baker's yeast (*Saccharomyces cereviscea*). The production of the rotifer and growth rate of the cultures were determined at different dilution rates (10 %, 20 %, and 30%) when the culture density reached 200 individuals/ml. At the end of the experiments, the maximum rotifer density (1149±23 individuals/ml), total rotifer production (24 626 517 individuals/21.4 l) and growth rate (0.39±0.10) were determined in Tank I, which was diluted at a rate of 10%. The total rotifer production in Tank I was significantly different from that in the other tanks (p<0.05), but the growth rates between tanks were not significantly different (p>0.05).

Key Words: Rotifer culture, *Brachionus plicatilis*, dilution rates

Giriş

İlk olarak rotifer kültürü, 1960'lı yıllarda Japon araştırmacı Ito tarafından gerçekleştirilmiş ve deniz balıkları larvalarının beslenmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (1). Yoğun miktarda kısa sürede rotifer üretmek amacıyla birçok kültür sistemi geliştirilmiştir (2, 3, 4). Bunların içinde en çok uygulanan yığın, yarı sürekli ve sürekli kültür sistemleridir. Kültür sistemlerine bağlı olarak birkaç yüz litrelik hacimlerden 200 ton büyüklüğündeki tanklara kadar farklı hacimlerde üretim yapılabilir ve aynı kültür suyunda uzun süre rotifer üretmek mümkün olabilir (5, 6). Fakat aynı kültür suyunun uzun süre kullanılmasından dolayı tüketilmeyen yemler, rotiferlerin metabolik artıkları ve suda bulunabilecek diğer organizmaların aktiviteleri kültürlerin uzun süre devam etmesini engellemekte veya kültürün çökmesine neden olmaktadır (7).

Bu çalışmada 20-25 birey/ml ile başlayan rotifer kültürleri 200 birey/ml'ye ulaşınca farklı oranlarda (% 10, % 20 ve % 30) sulandırma yapılmış ve kültürün artış hızına bağlı olarak en iyi sulandırma oranı ve kültürün artış hızı tespit edilmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Metot

Denemede kullanılan rotiferlerin ön kültürü % 20 tuzlulukta, 28±1°C sıcaklıkta ekme mayası (*Saccharomyces cereviscea*) ile 15 gün beslenerek yapılmıştır. Deneme için 3 adet 50 lt'lik şeffaf silindir-konik tank hazırlanarak, her tank 9 lt, % 20 tuzlulukta su ile doldurulmuştur. Ön kültürden 1'er litre rotiferli su alınarak kültür yapılacak tanklara aynı zamanda eklenerek deneme başlatılmıştır. Tüm tanklardaki ilk hacim 10 lt olarak belirlenmiş ve ortam sürekli olarak 40 wattlık floresan lamba ile aydınlatılmıştır.

Rotifer kültüründe mililitredeki birey sayısı 200 birey/ml oluncaya kadar taze su ilavesi yapılmamıştır. Birey sayısı ml'de 200'ü geçtiğinde Tank I'e % 10, Tank II'ye % 20 ve Tank III'e % 30 oranında taze su (% 20 tuzlulukta ve $27\pm 1^\circ\text{C}$) eklenmiştir. Deneme süresince sulandırma işlemleri rotifer sayısına bağlı olarak 200 birey/ml olduğunda veya bu sayıyı geçtiğinde yapılmıştır.

Rotiferleri beslemek için ekme mayası kullanılmıştır. Aşağıdaki besleme protokolü uygulanarak, verilmesi gereken maya miktarı hesaplanmış ve üç öğüne bölünmüştür.

Rotifer Sayısı (birey/ml)	Verilecek Maya Miktarı
0-100 arası	1.3 g/10 ⁶
100-200 arası	1.0 g/10 ⁶
200-300 arası	0.75 g/10 ⁶
300'den fazlası	0.5 g/10 ⁶

Sabahları rotifer sayımı yapıp besin miktarı belirlendikten sonra tanklara su ekleme işlemi yapılmıştır. Deneme 12 gün sürmüş ve deneme süresince sıcaklık $27\pm 1^\circ\text{C}$ 'de tutulmuştur.

Rotifer sayma işleminde Dolphus-cuve sayma kamarası kullanılmış ve daha kolay sayım yapabilmek için rotiferler lugol ile fikse edilmiştir. Her sayım işleminde 5 örnekleme yapılarak ortalama rotifer sayısı belirlenmiştir.

Rotiferlerin büyüme hızı (K) Planas ve Estevez (8) in verdiği aşağıdaki formülden yararlanarak hesaplanmıştır:

$$K = \ln N_{n+1} - \ln N_n / t_{n+1} - t_n$$

N_n = Başlangıçtaki rotifer sayısı (adet)

N_{n+1} = Belli bir süre sonra ulaşılan rotifer sayısı

Sulandırma oranlarına bağlı olarak saptanan rotifer miktarı ve büyüme hızı arasındaki istatistiki farklılıklar Anova testi uygulanarak incelenmiştir.

Bulgular

Tanklara rotifer ekim işlemi yapıldıktan sonra, ilk sayımda Tank I'de 22 ± 2 birey/ml, Tank II'de 23 ± 1 birey/ml ve Tank III'de 25 ± 1 birey/ml olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Tüm deneme tanklarında, 4.gün rotifer sayısı 200 birey/ml'yi geçtiği için, tanklara ilk su ekleme işlemi yapılmıştır. Araştırma süresince tüm tanklara belirlenen oranlarda sulandırma yapılırken, sadece 7. günde Tank III'de rotifer sayısı 200 birey/ml'nin altında olduğu için sulandırma işlemi yapılmamıştır. Tank III'ün hacmi daha fazla sulandırma oranı uygulandığı için Denemenin 10. gününde dolmuştur.

Tablo 1. Deneme süresince tanklardaki hacim değişimi ve rotifer miktarı.

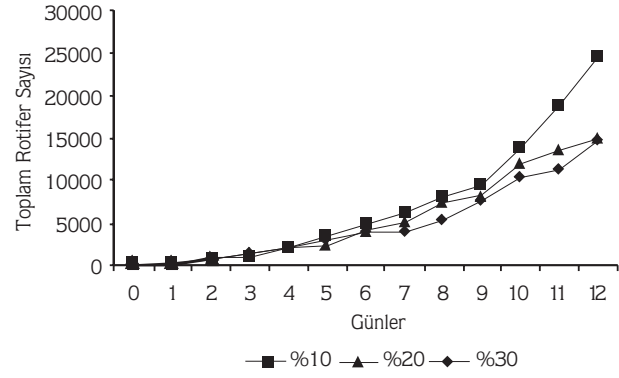
Gün	Tank I			Tank II			Tank III		
	Rotifer sayısı (birey/ml)	Toplam rotifer	Son hacim (lt)	Rotifer sayısı (birey/ml)	Toplam rotifer	Son hacim (lt)	Rotifer sayısı (birey/ml)	Toplam rotifer	Son hacim (lt)
0	21±01	210 000	10	22±02	220 000	10	25±01	250 000	10
1	20±00	200 000	10	28±02	280 000	10	25±03	250 000	10
2	79±03	790 000	10	70±02	700 000	10	68±02	680 000	10
3	102±06	1 020 000	10	137±15	1 370 000	10	137±19	1 370 000	10
4	224±06	2 240 000	10+1.0	216±12	2 160 000	10+2.0	217±07	2 170 000	10+3.0
5	319±07	3 509 000	11+1.1	205±21	2 460 000	12+2.4	239±01	3 107 000	13+3.9
6	406±22	4 912 600	12.1+1.2	279±35	4 017 600	14.4+2.8	227±15	3 836 300	16.9+5.0
7	471±19	6 269 010	13.3+1.3	298±22	5 125 600	17.2+3.5	178±04	3 898 200	21.9
8	542±36	7 935 422	14.6+1.5	351±21	7 265 700	20.7+4.1	240±06	5 256 000	21.9+6.6
9	586±80	9 437 530	16.1+1.6	330±38	8 236 273	24.8+5.0	271±09	7 723 500	28.5+8.6
10	782±26	13 853 130	17.7+1.7	397±11	11 830 600	29.8+6.0	283±21	10 499 300	37.1+11.3
11	960±40	18 725 085	19.4+2.0	379±1	13 568 200	35.8+7.1	234±22	11 325 600	48.4
12	1149±23	24 626 517	21.4+2.1	349±3	14 972 100	42.9	303±29	14 665 200	48.4

Tanklardaki rotifer üretim miktarları karşılaştırıldığında, aynı zamanda, aynı stok kültürden alınıp, aynı hacimde başlayan rotifer kültürlerinde düşük sulandırma (%10) oranının 4.günden itibaren daha fazla rotifer üretimine imkan verdiği saptanmıştır.

Denemenin son günü Tank I'de 1149 ± 23 birey/ml sayılmış ve tankın hacmi 21.4 litre olmuştur, Tank II'de 349 ± 3 birey/ml sayılmış denemenin hacmi 42.9 litre olmuştur, Tank III'de 303 ± 29 birey/ml sayılmış ve tankın hacmi 48.4 litre olmuştur. Tank toplam hacminin 50 litre olması nedeniyle, 11.gün bu tanka herhangi bir sulandırma işlemi yapılmamıştır. Tank I (% 10 sulandırma) ve Tank II (% 20 sulandırma)'de ise sulandırma işlemine devam edilmiştir.

Buna göre Tank I (% 10 sulandırma), Tank II (% 20 sulandırma) ve Tank III'de (% 30 sulandırma) 12 gün sonunda toplam hacimde elde edilen rotifer miktarı sırasıyla; 24 626 517, 14 972 100, 14 665 200 adet olarak bulunmuştur (Şekil 1). Tank I'deki rotifer üretim miktarı istatistiksel olarak diğer tanklardan yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$).

Denemenin bittiği 12.günde Tank I de, Tank II ve Tank III'e göre sırasıyla % 39.08 ve % 40.42 daha fazla rotifer üretimi gerçekleştirilmiştir ($p < 0.05$). Rotifer üretim miktarı açısından Tank II ve Tank III arasında ise % 2.21 oranında fark olduğu saptanmıştır. Bu farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı bulunmuştur ($p > 0.05$).



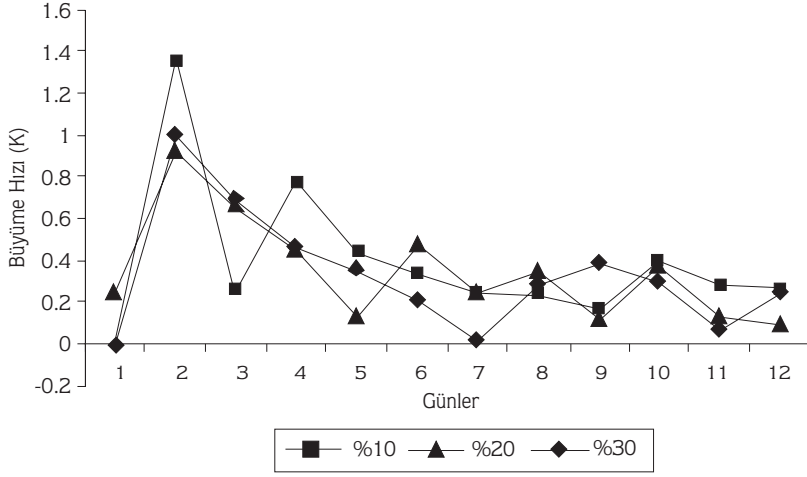
Şekil 1. Farklı sulandırma oranlarında elde edilen rotifer miktarı. %10 sulandırmanın uygulandığı Tank I değerlerine göre istatistiki açıdan önemli farklılık göstermiştir ($p < 0.05$).

Elde edilen verilere göre kültürün günlük büyüme hızı hesaplandığında, tüm tanklarda maksimum büyüme hızı denemenin 2.gününde sırasıyla Tank I'de 1.37, Tank II'de 0.91 ve Tank III'de 1.0 olarak saptanmıştır (Tablo 2, Şekil 2). Deneme sonunda elde edilen ortalama rotifer büyüme hızı ise sırasıyla Tank I için 0.39 ± 0.10 , Tank II için 0.34 ± 0.07 ve Tank III için 0.33 ± 0.08 'dir (Şekil 3). Tanklar arasında büyüme hızı karşılaştırıldığında istatistiki açıdan önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Ancak tankların kendi içinde günlere bağlı olarak büyüme hızlarının farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

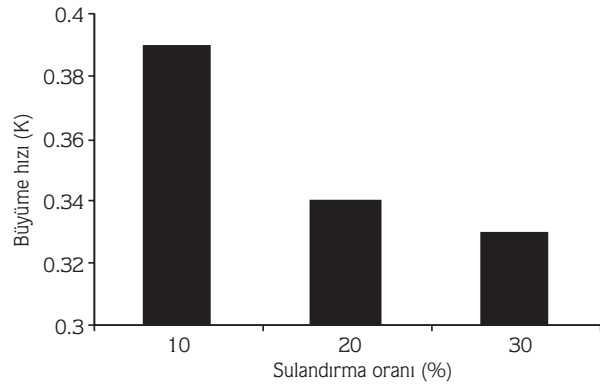
Tablo 2. Kültürün günlük büyüme hızı (K).

Gün	n	Tank I				Tank II				Tank III			
		X±Sx	Min.	Mak.	V*	X±Sx	Min.	Mak.	V*	X±Sx	Min.	Mak.	V*
1	5	-0.047±0.04	-0.095	0	0.004	0.24±0.16	0.08	0.40	0.052	-0.006±0.08	-0.08	0.07	0.0120
2	5	1.37±0.03	1.33	1.41	0.002	0.91±0.04	0.87	0.96	0.003	1.00±0.15	0.85	1.15	0.0450
3	5	0.25±0.02	0.23	0.27	0.0008	0.66±0.08	0.58	0.74	0.013	0.69±0.11	0.58	0.80	0.0240
4	5	0.78±0.08	0.23	0.27	0.014	0.45±0.16	0.29	0.62	0.054	0.46±0.17	0.29	0.64	0.0590
5	5	0.44±0.04	0.40	0.49	0.004	0.12±0.04	0.07	0.17	0.004	0.35±0.03	0.32	0.39	0.0020
6	5	0.33±0.03	0.30	0.36	0.002	0.48±0.22	0.25	0.71	0.104	0.20±0.06	0.14	0.27	0.0070
7	5	0.24±0.09	0.14	0.33	0.017	0.24±0.20	0.04	0.44	0.080	0.017±0.043	-0.02	0.06	0.0030
8	5	0.23±0.10	0.12	0.33	0.022	0.34±0.13	0.21	0.48	0.035	0.29±0.04	0.25	0.34	0.0040
9	5	0.16±0.20	-0.03	0.37	0.083	0.11±0.17	-0.06	0.28	0.061	0.38±0.008	0.37	0.39	0.0001
10	5	0.39±0.17	0.22	0.56	0.058	0.37±0.14	0.23	0.58	0.041	0.30±0.04	0.26	0.34	0.0030
11	5	0.29±0.07	0.22	0.37	0.011	0.13±0.03	0.10	0.16	0.001	0.07±0.01	0.05	0.09	0.0007
12	5	0.27±0.06	0.21	0.34	0.007	0.09±0.01	0.08	0.10	0.002	0.258±0.001	0.256	0.25	0.0000

*V: Varyasyon: Standart sapmaya dayalı değişim katsayısı



Şekil 2. Farklı sulandırma oranlarında kültürün büyüme hızı. Farklı sulandırma oranlarına göre büyüme hızı karşılaştırıldığında istatistikî açıdan önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 3. Farklı sulandırma oranlarında elde edilen ortalama büyüme hızı ($P>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Deneme, rotifer sayısına bağlı olarak belli oranlarda sulandırılan yığın kültür sistemi olarak kurulmuştur. Lim (9) fitoplankton ve ekmek mayasını besin olarak kullandığı yığın kültür çalışmasında 5 m³'lük tankın günlük % 20'sini fitoplankton ile yaptığı besleme esnasında doldurarak, deneme sonunda 750 milyon ile 1.5 milyar arasında rotifer elde ettiğini bildirmiştir.

Kurutulmuş mikroalgın besin olarak kullanıldığı yarı-sürekli kültürlerde, rotiferlerin büyüme hızı, besinsel durumları ve besin dönüşüm etkisi iyi bir sulandırma oranı ile kontrol edilmelidir. Besin olarak kurutulmuş *Nannochloropsis oculata*'nın (25 mg/lt/gün (=3.3 milyon hücre/ml)) kullanıldığı kültürlerde, en iyi günlük sulandırma oranı *Brachionus plicatilis* için %3, *Brachionus rotundiformis* için ise günde %2'dir. Burada önemli olan

24 saat içinde kültürün hangi oranda sulandırılacağıdır (10).

B. calyciflorus'un açık alanlardaki büyük havuzlarda yapılan kültüründe rotifer biyoması günlük sulandırma oranı arttıkça orantılı olarak azalmaktadır (11). Boraas (12) ise sulandırma oranı arttıkça rotifer biyomasının nispeten belli oranda sabit kaldığını bildirmektedir.

Araştırma farklı sulandırma oranlarında yığın kültür olarak kurulduğundan, deneme süresince rotifer hasatı yapılmamış ve en yüksek büyüme hızı (K) düşük sulandırma oranının uygulandığı Tank I'de tespit edilmiştir. Tank III'ün hacmi ise 10. günde dolmuştur. Bu şekilde kurulan üretimlerde tank hacmi dolduğunda sulandırma oranı kadar rotifer hasat edilip, aynı oranda taze su veya fitoplankton girdisi yapılarak kültür yarı-sürekli kültüre dönüştürülüp rotifer üretimi devam ettirilebilir. Çalışmada kullanılan sistemin yarı-sürekli kültürlerden farkı ise su ilavesi yapılırken rotifer hasatının yapılmamasıdır.

Tank hacminde herhangi bir değişikliğin yapılmadığı yığın kültüre göre hacim azar azar artırıldığından, tankta sürekli taze su ortamı olmuş ve böylece kültür suyu bozulmamıştır. Bilindiği gibi rotifer kültürlerinde aynı suyun uzun süre kullanılması ile suyun kalitesi bozulmakta ve kültürün büyüme hızı olumsuz etkilenmektedir. Suyun kirlenip (besin artıkları, metabolik artıklar ve ölü hücreler) kalitesinin bozulması ile rotiferler aseksüel üremeden seksüel üremeye geçmekte ve kültürün büyüme hızı yavaşlamakta veya düşmektedir (13, 14, 15, 16). Kültür suyu çok kötü bir hal aldığı anda ise rotiferler tamamen ölmektedirler.

Sulandırma oranı, kültürü yapılan rotifer popülasyonunun artış hızına göre yapılmalıdır. Kültüre bir seferde tek oranda taze su girilmesinden ziyade az miktarda sık yapılan sulandırmanın daha iyi sonuç verebileceği söylenebilir.

Groeneweg ve Schlüter (17) % 25 sulandırma oranında % 50'ye göre rotifer yoğunluğunun daha fazla arttığını ve % 50 sulandırma oranında besinin tamamının kullanılmadığını bildirmiştir.

Sulandırma oranının yüksek olması ile ortamdaki besinin daha az kullanılması rotifer popülasyonunun artış hızının daha düşük olmasına neden olmaktadır. Sulandırma oranına bağlı olarak rotiferin ortamdaki besin tüketimi değişmektedir (11).

Deneme süresince kullanılan besin miktarı tüm tanklarda rotifer sayısına bağlı olarak materyal metod kısmında belirtilen miktarda yapılmıştır. Rotifer sayısının artmasına paralel olarak 5.günden itibaren Tank I'e en düşük besleme oranı (0.5 g/10⁶ rotifer) uygulanmış ve diğer gruplara göre daha az maya kullanılmıştır.

Rotifer kültürlerinde düşük sulandırma oranı uygulandığında kısa sürede daha az hacimde yoğun üretim gerçekleştirilirken, rotifer yoğunluğunun artması ile daha az maya besin olarak kullanıldığından ekonomik açıdan da kazanç sağlanabilmektedir. Ayrıca kültür suyunun kalitesinin kısa sürede bozulması engellenmekte ve aynı tank daha uzun süre kullanılarak hem işçilikten hem de zamandan tasarruf sağlanmaktadır.

Kaynaklar

- Hirata, H., Rotifer culture in Japan. Spec. Publ. Eur. Maricult. Soc. 1979; 4: 361-375.
- Fukusho, K., Biology and mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis* II. Int. J. Aqu. Fish. Techno. 1989; 1: 292-299.
- Hino, A., Present culture systems of the rotifer *Brachionus plicatilis* and the function of micro-organisms. In: C. S. Lee, M. S. Su, I. C. Liao (eds). Finfish hatchery in Asia: Proc. Finfish Hatchery in Asia '91. TML Conf. Proc. Tungking Marine Lab., Taiwan Fisheries Research Inst., Tungking, Taiwan, 1993; 3: 51-59.
- Fengqi, L., Production and application of rotifers in aquaculture. Aquaculture Magazine, 1996; 22, (3): 16-22.
- Lubzens, E., Raising rotifer for use in aquaculture. Hydrobiologia. 1987; 71:245-255.
- Hindioğlu, A., Rotifera (*Brachionus plicatilis* O.F.Müller) Kültürü Üzerine Araştırmalar. E.Ü. Fen Bil. Enst. Doktora Tezi Bornova İZMİR. 1995; p. 159
- Fulks, W., Main, K.M., Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S.-Asia Workshop. 1991; 3-52.
- Planas, M., Estevaz, A., Effects of diet on population development of the rotifer *Brachionus plicatilis* in culture. Helgolander Meere Sunter Suc Hungen. 1989; 43, 171-181
- Lim, L.C., An overview of live feeds production in Singapore. In: Fulks, W., Main, K., The rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. Asia Workshop, Honolulu, 1991; 203-220.
- Navarro, N., Yufera, M., Population dynamics of rotifer (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in semicontinuous culture rate. Aquaculture, 1998; 166: 227-309.
- Mitchell, S.A., Experiences with outdoor semi-continuous mass culture of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). Aquaculture, 1986; 51: 289-297.
- Boraas, M.E., Population dynamics of food-limited rotifers in a two-stage chemostat culture. Limnol. Oceanogr., 1983; 28 (3): 546-563
- Lubzens, E., Possible use of rotifer resting eggs and preserved live rotifers (*Brachionus plicatilis*) in aquaculture. In: N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackeford (eds), Aquaculture - A Biotechnology in Progress. European Aquaculture Society, 1989; 388-396.
- Hagiwara, A., Practical use of rotifer cysts. The Israel Journal of Aquaculture- Bamidgeh, 1994; 46, (1), 13-21
- Hagiwara, A., Balompapung, M.D., Munuswamy, N., Hirayama, K., Mass production of the resting eggs of the euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis*. Aquaculture, 1997; 155: 223-230.
- Serdar, S., Rotiferlerden *Brachionus plicatilis*'te kış yumurtalarının oluşturulması, stoklanması ve açılım oranlarının incelenmesi. E.Ü. Fen Bil. Ens. Yüksek Lisans Tezi. Bornova-İZMİR, 1998; p. 113.
- Groeneweg, J., Schlüter, M., Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes. II. Mass production of *Brachionus rubens* Ehrenberg 1838 in the effluent of high rate algal ponds used for the treatment of piggery waste. Aquaculture, 1981; 25: 25-33.