

65836

ROTİFER (*Brachionus plicatilis* O.F.Müller, 1758)
KÜLTÜRLERİNDEKİ BAKTERİYEL FLORANIN
KANTİTATİF TAYİNİ



Sevgi SAVAŞ

DOKTORA TEZİ

Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilimdalı

10.7777.1000.000

1997- İZMİR

ULUSLARARASI FAKÜLTESİ
BÜYÜK MANTARCI

Kabul ve Onay Sayfası

Sevgi SAVAŞ'ın DOKTORA tezi olarak hazırladığı "Rotifer (Brachionus Plicatilis O.F.Müller, 1758) Kùltürlerindeki Bakteriyal Floranın Kantitatif Tayini" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

25 / 06 / 1997

Başkan:.....
 Üye:.....
 Üye:.....

Doç.Dr.Sevket GÖKPINAR

Prof.Dr.Semra CİRİK

Doç.Dr.H.Avni BENLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü yönetim kurulunun
/...../1997 gün ve/..... sayılı
 kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr.İsmet ERTAŞ
 Enstitü Müdürü

ÖZET

**ROTİFER (*Brachionus plicatilis* O.F.Müller,1758) KÜLTÜRLERİNDEKİ
BAKTERİYEL FLORANIN KANTİTATİF TAYİNİ**

SAVAŞ, Sevgi

Doktora Tezi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi; Doç. Dr. GÖKPINAR, Şevket

Haziran 1997, 81 Sayfa

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde plankton üretim zincirinden gelen bakteriyel bulaşma larvanın büyüme ve yaşama oranını etkileyen faktörlerden biridir. Bu araştırmada üretim zincirinde farklı hacimlerde (0,5 – 2700 L) bulunan rotifer ve kültür ortamlarındaki aerobik bakteriyel flora kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Bakteri sayımlarında toplam bakteri M65 agar, *Vibrio spp.* TCBS – Cholera Medium agar (Oxoid), *Pseudomonos spp.* *Pseudomonos*-CFC- agar (Oxoid) da yapılmıştır. Rotiferler çeşitli alg türleri (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*), ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve protein selco ile beslenmiştir.

Sadece alg türleri ile beslenen başlangıç rotifer kültürlerindeki bakteri sayıları (toplam bakteri sayısı $10 \pm 0,8 \times 10^4$ kob/ml; *Vibrio spp.* $57 \pm 6 \times 10^3$ kob/ml ve *Pseudomonos spp.* sayısı $94 \pm 7,9 \times 10^2$ kob/ml) yığın kültürlerle göre daha düşüktür. Bu sayılar alg ve maya karışımı ile beslenen rotifer kültürlerinde daha yüksektir ve protein selco uygulamasından sonra maksimuma ulaşmaktadır (Toplam bakteri $92 \pm 24 \times 10^6$ kob/ml; *Vibrio spp.* sayısı $20 \pm 0,9 \times 10^6$ kob/ml; *Pseudomonos spp.* sayısı $25 \pm 1,6 \times 10^5$ kob/ml)

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

ABSTRACT**THE QUANTITATIF DETERMINATION OF BACTERIAL FLORA IN
ROTIFER (*Brachionus plicatilis* O.F.Müller,1758) CULTURES****SAVAŞ Sevgi****Ph D Thesis, Aquaculture Dept.****Süpervisor: Assoc. Prof. Dr. GÖKPINAR ŞEVKET****June 1997, 81 pages**

In the production of marine fishes, bacterial contamination in the chain of planktonic food is one of the factors affecting the growth and survival of larvae. In this study, aerobik bacterial flora of rotifer and culturing media in different volumes (0,5-2700 liters) were quantitatively investigated. M65 agar, TCBS-Cholera Medium Agar (Oxoid) and Pseudomonas-CFC- agar were used for counting of total bacteria, *Vibrio* spp. and Pseudomonas spp. respectively. Protein selco, algae (*Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*) and yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) were favored as food stuff for rotifer cultures.

The total bacteria concentrations in the starter rotifer cultures which were fed only algal cells were lower than that of the mass cultures (total bacteria count: $10 \pm 0,8 \times 10^4$ cfu ml⁻¹; *Vibrio* spp. count: $57 \pm 6 \times 10^3$ cfu ml⁻¹ ve *Pseudomonas* spp. count $94 \pm 7,9 \times 10^2$ cfu ml⁻¹). These quantites were higher in the rotifera cultures fed algae and yeasts and reach maximum after the protein selco treatment (total bacteria count: $92 \pm 24 \times 10^6$ cfu ml⁻¹; *Vibrio* spp. count $20 \pm 0,9 \times 10^6$ cfu ml⁻¹; *Pseudomonas* spp. count $25 \pm 1,6 \times 10^5$ cfu ml⁻¹)

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

TEŞEKKÜR

Bu çalışma konusunu öneren ve araştırma süresince her türlü yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Şevket GÖKPINAR'a, çalışmalarımı yakından takip eden ve destek olan Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dekanımız Sayın Prof. Dr. Yaşar AKSOYLAR'a ve Temel Bilimler Bölüm Başkanımız Sayın Doç.Dr. Ö. Osman ERTAN'a, deneysel çalışmalarım için tüm deney olanaklarını bana açan Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Beymelek Su Ürünleri Araştırma ve Geliştirme Merkez Müdürü Ziraat Yük. Müh. Sayın Oktay ATILLA ve Kuluçkahane Yöneticisi Ziraat Yük. Müh. Selçuk ERBAŞ'a, çalışmalarımda yardımcı olan canlı yem ünite sorumluları Su Ür. Yük. Müh. Nevin BASMAZ, Su Ür. Yük. Müh. Hülya ERBAŞ ve tüm personele en içten teşekkürlerimi arz ederim.

Arş. Gör. Sevgi SAVAŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1. Erkek ve dişi <i>Brachionus plicatilis</i>	6
2. Erlendeki (2L) kültürlerde hücre sayısı	36
3. Balondaki (6L) kültürlerde hücre sayısı	37
4. Torbalardaki (70L) kültürlerde hücre sayısı	37
5. Büyük torbalardaki (350L) kültürlerde hücre sayısı	38
6. Erlendeki (2L) kültürlerde rotifer büyümesi	39
7. Balondaki (6L) kültürlerde rotifer büyümesi	39
8. Torbalardaki (70L) kültürlerde rotifer büyümesi	40
9. Büyük torbalardaki (350L) kültürlerde rotifer büyümesi	40
10. Tanklardaki (2700 L) kültürlerde rotifer büyümesi	41
11. Erlendeki (2L) alg kültürlerinde bakteri sayıları	43
12. Balondaki (6L) alg kültürlerinde bakteri sayıları	44
13. Torbalardaki (70L) alg kültürlerinde bakteri sayıları	45
14. Büyük torbalardaki (350L) alg kültürlerinde bakteri sayıları	46
15. Stok rotiferlerdeki bakteri sayıları (500 ml)	47
16. Erlendeki (2L) rotiferlerde bakteri sayıları	48
17. Balondaki (6L) rotiferlerde bakteri sayıları	49
18. Torbalardaki (70L) rotiferlerde bakteri sayıları	50
19. Büyük torbalardaki (350L) rotiferlerde bakteri sayıları	51
20. 1. Tanktaki kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar	52
21. 1. Tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar	53
22. 2. Tanktaki kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar	54
23. 2. Tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar	55
24. 3. Tanktaki kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar	56
25. 3. Tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar	57

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
1. Plak yöntemine göre farklı uygulamalar yapılan rotiferlerdeki bakteri miktarı	19
2. Rotiferlere uygulanan bazı kimyasal maddeler	20
3. Araştırmada oluşturulan deneme grupları	28
4. Tank besleme programı	32
5. Tanklardan yapılan oksijen ölçümleri	42
6. Tanklardan yapılan amonyum ölçümleri	42
7. Tanklardan yapılan pH ölçümleri	42
8. İzole edilen bakterilerden yapılan biyokimyasal testler	58



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	4
2.1. <i>Brachionus plicatilis</i> 'in Sistematikteki Yeri ve Morfolojisi	4
2.2. <i>Brachionus plicatilis</i> 'in Biyolojisi	6
2.3. <i>Brachionus plicatilis</i> 'in Üremesi	7
2.4. <i>Brachionus plicatilis</i> 'in Beslenmesi	8
2.5. Rotifer Kültürlerinde Kontaminasyon	10
2.6. Akvatik Bakteriler	13
2.7. Rotifer Kültürlerinde Bakteriyel Flora	14
2.8. Rotifer Kültürlerinde Bakteri Yükünün Azaltılması	19
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1. Kullanılan Kültür Kapları	27
3.2. Rotifer Kültürlerinde Kullanılan Besin Maddeleri	27
3.3. Deney Grupları	28
3.4. Alg Kültürleri	28
3.5. Rotifer Kültürleri	30
3.5.1. Tankların Hazırlanması	31
3.5.2. Tank Denemelerinde Uygulanan Besleme Programı	31
3.6. Alg ve Rotifer Sayımı	32
3.7. Su Kalitesi İçin Yapılan Ölçümler	33

İÇİNDEKİLER (Devam)

	Sayfa
3.8. Alg ve Rotifer Kùltürlerindeki Bakteriyel Yùkùn Tayini	33
3.8.1. Bakteriyel Ekimler İçin Örnekle rin Alınması ve Hazırlanması	33
3.8.2. Besiyeri	34
3.9. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyonu	34
4. BULGULAR	36
4.1. Alg Kùltürlerine Ait Bulgular	36
4.2. Rotifer Kùltürlerine Ait Bulgular	38
4.2.1. Tank Denemelerinde Su Kalitesine Ait Bulgular	42
4.3. Alg Kùltürlerindeki Bakteriyel Sayımlara Ait Bulgular	43
4.4. Rotifer Kùltürlerindeki Bakteriyel Sayımlara Ait Bulgular	46
4.5. Bakterilerdeki Biyokimyasal Testlere Ait Bulgular	57
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
7. KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	81

1. GİRİŞ

Ülkemizde deniz balıkları yetiştiriciliği 1980'li yıllarda başlamış ve her geçen gün hızla gelişen bir sektör haline gelmiştir. Deniz balıkları yetiştiriciliğinde yavru temini ya doğadan yavru balık toplama veya kültür koşullarında yavru üretimi yoluyla olmaktadır. Yetiştiriciliği yapılan çipura, levrek, kalkan, mercan gibi ekonomik deniz balıklarının larvaları ilk beslenme döneminde canlı yem organizmalarına ihtiyaç duyarlar. Larvanın ağız açıklığına uygun büyüklükte olmasından dolayı *Brachionus plicatilis* ilk besin organizmasıdır (Lubzens, 1987; Hoff and Snell, 1987; Lubzens *et al.*, 1989). Rotiferler ilk kez 1965 yılında mercan balıkları için besin olarak kullanılmıştır (Hoff and Snell 1987). Japonya başta olmak üzere birçok ülkede kültür amacıyla rotiferlerin biyolojisi ve optimum kültür koşullarını belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmıştır.

İlk besin kaynağı olan *Brachionus plicatilis*'in $n-3\omega$ yüksek doymamış yağ asitlerince (HUFA) zengin olması larvanın büyüme ve yaşama oranını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Rotiferin besin içeriği aldığı besin maddelerine göre değişir (Watanabe *et al.*, 1983; Lubzens *et al.*, 1985; James *et al.*, 1987; Walford and Lam, 1992). Yoğun rotifer kültüründe ekmek mayası yaygın olarak kullanılmaktadır fakat maya ile beslenen rotiferlerin biyokimyasal yapısı yağ asitleri bakımından fakir olmaktadır. Besin içeriği düşük olan rotiferlerle beslenen larvalarda görülen ölüm oranının azaltılması amacıyla ve rotiferin yağ asitlerince zenginleştirilmesi için bir çok araştırma yapılmıştır (Hoff and Snell 1987). Besleyici içeriğin artırılmasında alglerin yanısıra geliştirilen ticari ürünler de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Komis *et al.*, 1991; Fernandez Reiriz *et al.*, 1993). Buna karşın günümüzde larvalarda ilk besleme periyodunda görülen ölüm oranının yüksek olması üretimi sınırlayan önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Bu problemin çözümü için araştırmacılar canlı yem organizmalarındaki bakteriyel floranın belirlenmesine yönelik çalışmalarda bulunmuşlardır. Besleyici değeri yüksek rotiferlerle beslenen larvaların, bu rotiferlerdeki bakteri yükü fazla olmasından dolayı besinini sindiremediği ve

ölüm oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir (Gatesoupe, 1982; Nicolas *et al.*, 1989). Rotiferin besin değerinin artırılması amacıyla kullanılan zenginleştirici besin maddeleri, gerek ortamdaki gerekse rotiferlerdeki bakteri yükü artışına neden olmaktadır (Gatesoupe, 1982, 1989; Qie *et al.*, 1993; Skjermo and Vadstein, 1993). Aynı zamanda larvaların bu dönemde görülen bakteriyel enfeksiyonların fazla olması da üretimi sınırlayan bir faktör olmaya devam etmektedir. Rotifer kültüründe özellikle beslenmeye bağlı olarak patojen bakterilerin ortamda çoğalması ve bu bakterilerin larvalara taşınabileceği ihtimalinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Muroga *et al.*, 1987). Yapılan bir çalışmaya göre maya ile besleme yapılan rotifer kültüründe *Vibrio alginolyticus* miktarının artması ile rotifer popülasyonunda azalma olduğu ve bu patojenin rotiferlerle larvaya taşınması halinde larvalarda yüksek ölüm oranına neden olabileceği bildirilmiştir (Yu *et al.*, 1990). Larvalarda görülen patojen organizmaların kaynağını belirlemek için yapılan çalışmalarda, canlı yemdeki (rotifer + artemia) bakteriyel flora ile larvanın bağırsak florası arasında sistematik bir benzerlik olduğu ortaya konmuş ve patojen bakterilerin rotiferlerle larvaya taşınabileceği bildirilmiştir (Muroga *et al.*, 1987; Tanasomwang and Muroga, 1987; Skjermo and Vadstein, 1993). Rotifer kültüründeki bakteriyel florada *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Moraxella* suşlarının dominant bakteri grupları olduğu bildirilmiştir (Muroga *et al.*, 1987; Nicolas *et al.*, 1989; Verdonck *et al.*, 1994). Bununla birlikte rotifer kültüründeki bakteriyel flora kültür koşulları, kültüründeki üretim basamakları ve beslenmeye bağlı olarak hızlı bir değişim göstermektedir (Verdonck *et al.*, 1994).

Yetiştiricilik yapılan bir çiftlikte alg ve rotifer kültürleri rutin olarak sürdürülür. Gerek alg ve gerekse rotifer kültürleri için önce stoklar (10 ml, 500 ml, 2L, 6L vs.) hazırlanır. Bu stoklar yoğun kültürlerin (70L, 350L vs) aşılmasında kullanılır. Yoğun kültürler ise büyük hacimli (1m³, 150 m³ vs) kültürlere geçişte kullanılır. Bu üretim zinciri içinde bakteriyel floranın kalitatif ve kantitatif olarak tespiti ile zincirin hangi noktasında bakteriyel yükün arttığının belirlenmesi larval yetiştiricilik açısından büyük önem arz etmektedir. Son yıllarda bu amaçla çalışmalar

yapılmasına rağmen rotifer kültüründeki bakteriyel flora hakkında fazlaca bilgi yoktur. Bu çalışmada farklı besinlerle beslenen rotifer kültürlerinin larval beslemede kullanılmasına kadar olan üretim basamaklarındaki aerobik bakteriyel flora kantitatif olarak tespit edilmeye çalışılmıştır.



2. LİTERATÜR BİLGİSİ

2.1. *Brachionus plicatilis*'in Sistematikteki Yeri ve Morfolojisi

Rotiferler ilk kez 1786 yılında O. F. Müller tarafından protozoan olarak tanımlanmıştır (Fukusho, 1989). Bazı araştırmacılar rotiferleri Aschelminthes filumuna dahil etmiştir (Birky, 1967). Son yıllarda yapılan araştırmalara göre ise Rotifera filumunda ele alınmıştır. Buna göre *Brachionus plicatilis*'in sistematigi aşağıda verilmiştir (Edmondson, 1959; Kolisko, 1974; Fitterand and Manuel, 1986; Pennak, 1989; Snell and Wallace, 1991; Pechenic, 1996)

Phylum: *Rotifera*

Classis: *Monogonanta*

Ordo: *Ploima*

Familya: *Brachionus*

Species: *Brachionus plicatilis*

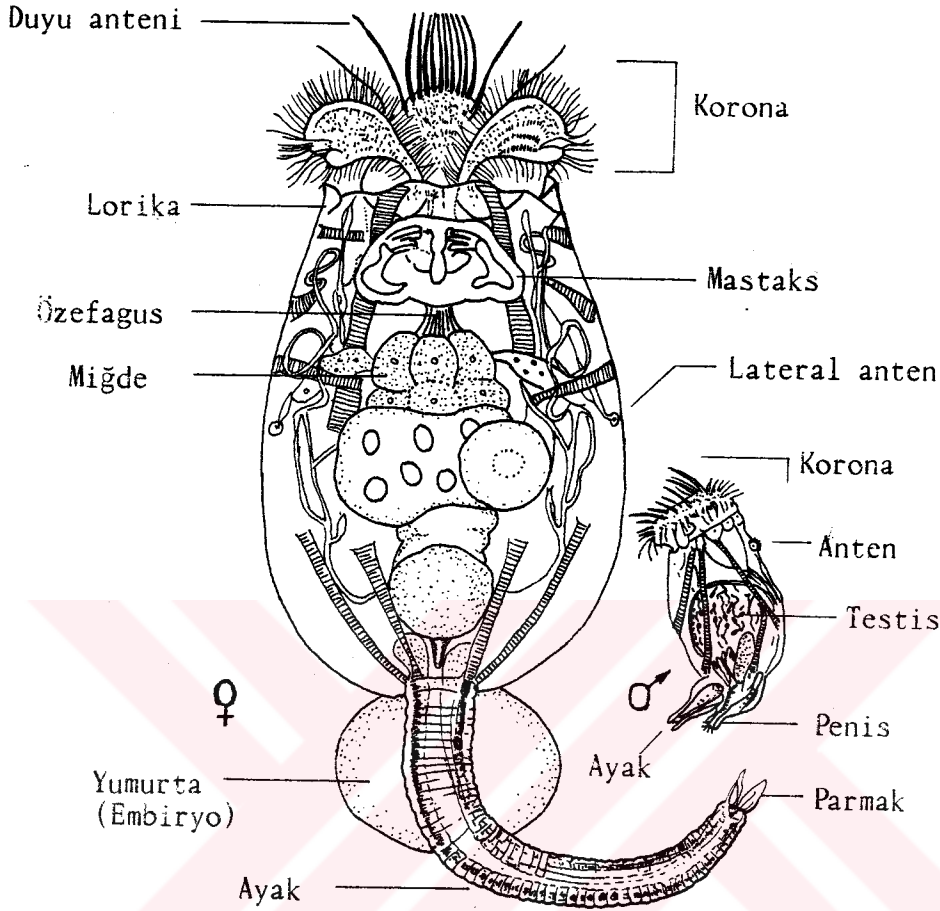
Rotiferlerin 2000'e yakın türü mevcuttur, bunlardan % 95'i tatlı sularda, % 5'i deniz ve acı sularda yaşamaktadır (Manuel, 1986; Snell and Wallace, 1991; Pechenic, 1996). Dünyada *Brachionus*'un 34 türü olduğu, bunlardan 12 türün bir çok alt türünün ise Japonya'da bulunduğu bildirilmiştir. *Brachionus plicatilis*'in alt türleri aşağıdaki gibi tanımlanmıştır (Fukusho, 1989).

1. *Brachionus plicatilis asplanchnoides*,
2. *Brachionus plicatilis decemnornis*,
3. *Brachionus plicatilis rotundiformis*,
4. *Brachionus plicatilis longicomis*,
5. *Brachionus plicatilis aorientalis*,
6. *Brachionus plicatilis plicatilis*,

Brachionus plicatilis'in biyosferdeki bütün sulardan toplanan 67 suşundan 37'si S ve 30'u L tipi olarak sınıflandırılmıştır. Rotiferlerde gruplama yapılırken lorica uzunluğu ve şekli dikkate alınmıştır (Fu *et al.*, 1991a; Hirayama and Natsukari;

1991). Rotiferlerin uzunluğu S tipinde 100 - 210 μm , L tipinde ise 130 - 340 μm arasında değişim gösterir (Fukusho, 1989). Snell and Carillo (1984) 13 *Brachionus plicatilis* suşunun vücut büyüklüklerini belirlemek için yaptıkları çalışmada bu rotiferlerin lorika uzunluklarının 123 - 292 μm ve genişliklerinin 114 - 199 μm olduğunu bildirmişlerdir. *Brachionus plicatilis*'in büyüklüğü mevsimsel olarak farklılıklar gösterir (Fukusho, 1989; Fulks and Main, 1991). L tipi rotiferler 1 yıl boyunca dışarıdaki tanklarda kültüre edildiğinde amiktik dişinin Temmuz ayında minimum lorika uzunluğu 253,2 $\pm$ 21,7 μ , Şubat ayında maksimum lorika uzunluğu ise 321,9 $\pm$ 17,2 μ olarak ölçülmüştür. *Brachionus plicatilis* kış mevsimin de yaz mevsimine göre 1,3 kez daha uzun ve 2,2 kez daha geniştir (Fukusho, 1989). S tipi rotiferler yüksek sıcaklığı tolere ederken, L tipi rotiferler daha geniş bir sıcaklık aralığında büyüme gösterir (Rumengan and Hirayama, 1990). Bunun yanı sıra bu iki tipin değişen karyotip ve genetik yapı göstermelerinden dolayı farklı türler olarak düşünölebileceği bildirilmiştir (Fu *et al.*, 1991b; Rumengan *et al.*, 1991; Hirayama and Hagiwara, 1995).

2.2. *Brachionus plicatilis*'in Biyolojisi



Şekil1.Dişi ve erkek *Brachionusplicatilis* (Snell and Wallace, 1991)

Rotiferler de vücut yapısı korona ile birlikte baş, gövde ve kuyruk olarak 3 bölümden oluşur (Kolisko, 1974; Manuel, 1986). Gövde bilateral simetri gösterir ve silindirik bir yapıya sahiptir (Edmondson, 1959). Gövde ve bacak kısımları belirgindir. Saydam olan gövdeleri sayesinde hareket halindeki iç organları mikroskop altında kolayca görülür. Başta, kenarında siller bulunan transversal disk bulunur. Bu silli kısım rotiferin anterior ucunda silden bir taç (korona) meydana getirir. Bu siller hem yüzme hareketini sağlar, hemde ağız kısmına doğru besinlerin getirilmesinde rol oynar. Rotiferler ağız etrafını çeviren sillerle karakterize edilir. Tacı oluşturan sillerin hareketi yalancı bir dönme görüntüsü yaratır (Edmondson, 1959; Manuel, 1986; Pennak, 1989). Ağız sillerin bulunduğu anterior uca yer alır ve

mastaks adı verilen daha geniş bir organa açılır. Burada çene benzeri 7 değişik parçadan oluşan ve vücudun en katı kısmı olan bir yapı bulunur. Mastaks ve çeneleri oluşturan bu yapılardan besinlerin sindiriminde rol almasının yanısıra sistematikte rotifer türlerinin identifikasyonunda da yararlanılmaktadır (Edmondson, 1959; Manuel, 1986; Snell and Wallace, 1991; Pechenic, 1996). Mastaksdan sonra özefagus gelir ve o da mideye açılır. Besinlerin sindirimi mide de gerçekleşir ve mide de bulunan gastrik bezler sindirim enzimleri içerir (Kolisko, 1974). Mideyi takip eden bağırsaklar kloak ve nihayet anüsle son bulur. Anüs ayak adı verilen kısımdan dışarıya açılır (Edmondson, 1959; Pennak, 1989; Snell and Wallace, 1991). Rotiferlerde beyin dorsal de mastaksta bulunan bir ganglion maddesinden oluşur. Ayrıca kas, duyu ve organ sistemleri birbirine bağlıdır. Duyu organları beynin altındadır ve beyinle bağlantılıdır. Duyusal 3 adet antenleri vardır; 2 tanesi lateralde bir tanesi mediodorsaldedir. Sinir sistemleri nonlinear'dır (Pennak, 1989; Snell and Wallace, 1991). Rotiferler lorika adı verilen bir kabukla sarılıdır. Türlerle göre farklı yapılar gösteren lorikadan sistematikte yararlanılır (Manuel, 1986; Pennak, 1989; Snell and Wallace, 1991).

2.3. *Brachionus plicatilis*'in Üremesi

Brachionus plicatilis partenogenetik üreyen bir organizmadır. Seksüel (miktik) ve aseksüel (amiktik) üremeden oluşan hayat devirleri optimum koşullarda çoğunlukla aseksüel fazda geçer. Aseksüel üremede posteriorunda yumurta taşıyan amiktik dişiler oluşur. Amiktik dişiler amiktik yumurtalar verir ve 1 günde oluşan yumurtadan 3-5 gün sonra yavru çıkar. Kültür koşullarında *Brachionus plicatilis*'de üreme bu şekilde devam eder. Rotiferlerin üreme hızında sıcaklık ve tuzluluk gibi çevresel faktörler önemli rol oynar (Pozuele and Lubian, 1993). Fakat ortam koşullarının bozulması ile rotiferler seksüel üreme fazına geçer ve miktik dişi oluşur. Miktik dişi mayoz bölünme ile miktik yumurtayı oluşturur ve bu yumurtadan çıkan dişiler ise erkek bireylerdir. Erkek bireyler miktik dişiye dölleyerek kıs yumurtalarını

oluşturur (Fukusho, 1989; Fulks and Main, 1991; Cirić ve Gökpinar, 1993). Dolayısıyla rotiferlerin hayat siklusundaki seksüel safhada *Artemia kistlerine* benzeyen ve rotifer embiriosunun uyku halinde olduğu kış yumurtaları oluşur. Kış yumurtaları 20 yıldan fazla uyku halinde kalabilir ve yumurtaların kuluçkalanması için çevresel şartların optimal olması gerekir (Snell and Hoff, 1988; May, 1987). Kış yumurtaları ile besine ihtiyaç duyulmadan stok rotifer kültürlerinin korunması sağlanabilir. Aynı zamanda yüksek açılma ve üreme kabiliyetleri sayesinde yoğun üretime başlarken de kış yumurtalarından yararlanılabilir. Rotifer kültüründe kış yumurtalarından faydalanabilmek amacıyla kış yumurtalarının saklanması, embiryonun kuluçkalanması ve yumurtadan çıkan *neonates*'lerin besin değeri üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir (Minkoff *et al.*, 1983; Lubzens, 1989; Hagiwara and Hino, 1989; Hagiwara, 1994; Hagiwara *et al.*, 1989, 1993, 94, 95).

2.4. *Brachionus plicatilis*'in Beslenmesi

Brachionus plicatilis su içerisindeki organik partikülleri süzerek (filter-feeding) beslenen bir organizmadır ve farklı büyüklüklerdeki alg, maya, bakteri ve yapay yemden oluşan besinleri tüketebilirler (Yasuda and Taga, 1980; Hino and Hirano, 1984). Tüketilen besinin büyüklüğü 3 - 5 μm - 30 μm arasındadır (Fulks and Main, 1991). Besinin büyüklüğü, sindirilme ve tüketilme oranını etkiler. *Brachionus plicatilis*'in 2 μm ve daha fazla büyüklükteki besinlerin sindirilme oranının maksimum seviyede olduğu ve optimum büyüklükte olan bakterilerin ise tüketilme oranının % 15 - 50 arasında olduğu belirtilmektedir (Vadstein *et al.*, 1993). Rotifer beslenmesinde *Chlorella* sp. *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis tetrathele*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Dunaliella* sp. *Phaeodactylum tricorutum*, *Nitzschia* sp., *Chlamydomonas* sp. *Chlorella vulgaris* (tatlı su *Chlorella*'sı) gibi değişik alg türleri kullanılabilir (Korstad *et al.*, 1989; Hirayama *et al.*, 1989; Kongkeo, 1991; Cheng-Long, 1991; Arnold and Holt, 1991). Bununla birlikte dondurulmuş ve kurutulmuş alglerin de besin olarak

kullanılabileceği belirtilmektedir (Snell, 1991; Kongkeo, 1991). Rotifer popülasyonunun büyümesi ve rotiferin besin içeriği beslendiği alg türü ve yoğunluğu ile doğru orantılı olarak artış göstermektedir (Moon, 1981; Hirano and Hirayama, 1984; Abu Rezeq and James, 1985; James *et al.*, 1986; Estevaz and Planas, 1988; Nagata and Whyte 1992; Caric *et al.*, 1993). Alg ile beslenen *Brachionus plicatilis* kültüründe popülasyonda büyüme iyi olmasına rağmen, büyük hacimler de üretim yapan kuluçkahanelerde ilave besin olarak maya kullanılmaktadır. Zira yeteri kadar alg üretilmesi hem harcanan zaman hem de ekonomik maliyeti artırmaktadır (Hiramaya and Funamoto, 1983; Hirayama, 1987; Sorgeloos and Leger, 1990). Dolayısıyla büyük hacimlerde rotifer üretiminde ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve deniz mayası (*Candida sp.* ve *Saccharomyces sp.*) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (James *et al.*, 1987; James and Dias, 1984; Kongkeo, 1991). Bu mayalar ile beslenen rotiferlerde popülasyon artışı ve besin içeriği açısından farklılıklar görülmüştür. Aynı koşullarda her iki deniz mayası ile beslenen rotiferlerde popülasyon artışı ve besin içeriğinin ekmek mayası ile beslenenlerden daha iyi olduğu, buna karşın *Chlorella sp.* ile beslenen rotifer kültüründeki büyüme ve rotiferin besin içeriğinin deniz mayasından daha iyi olduğu tespit edilmiştir (James *et al.*, 1987; Satuito and Hirayama, 1990). *Chlorella sp.* ile beslenen *Brachionus plicatilis*'lerde yapılan biokimyasal analizlere göre protein % 75, lipid % 22, kül % 3 iken, maya ile beslenen rotiferlerde protein % 71, lipid % 17 ve kül % 12 olarak saptanmıştır (Hoff and Snell, 1987). Rotiferlerin besin içeriğindeki bileşiklerin miktarı beslenmeye bağlı olarak değişim gösterir (Watanabe *et al.*, 1983; Lubzens *et al.*, 1985; James *et al.*, 1987). Yoğun bir şekilde maya ile beslenen rotiferler yağ asitlerince yetersizdir. Larva beslemesinde kullanılacak rotiferin n-3ω yüksek doymamış yağ asitlerince (HUFA) zengin olması gerekmektedir (Hirayama and Funamoto, 1983; Fukusho, 1985; Kissil and Koven, 1990; Walford and Lam, 1992). Son yıllarda maya ile beslenen rotiferler, larvaya verilmeden önce besin içeriği artırılmaktadır. Bunun için çeşitli mikroalgler, lipid emülsiyonlar, mikropartiküller

yada lipid + protein içeren kapsüller kullanılmaktadır (Fernandez Reiriz *et al.*, 1993). Bir çok kuluçkahanede zenginleştirme için mikroalgler tercih edilmektedir. Mikroalgler ile zenginleştirme daha etkili ve güvenilir olmasının yanısıra su kalitesini de bozmaz (Hoff and Snell, 1987). Mikroalgler esansiyel yağ asitleri ve diğer bileşiklerin larvaya taşınmasında önemli rol oynar (Watanabe *et al.*, 1983; Ben - Amotz *et al.*, 1987; James and Abu Rezeq, 1988; Whyt and Nagata, 1990). Bununla birlikte yoğun üretim yapan kuluçkahanelerde protein selko, dry selko, süper selko gibi ticari ürünler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ürünlerle 6 saat zenginleştirilen rotiferlerin protein ve lipid oranlarında belirgin bir artış olduğu bildirilmiştir (Komis *et al.*, 1991; Lavens *et al.*, 1992). Larva tankına verilen rotiferlerde 6 saat sonra HUFA içeriğinin 2 / 3'sinin kaybolduğu ve 24 saat sonra ise HUFA içeriğinin başlangıçtaki seviyeye düştüğü belirtilmektedir (Hoff and Snell, 1987). Araştırmacılar rotiferlerdeki yağ asidi miktarının besindeki yağ asidi miktarına bağlı olduğunu ve bu zenginleştiricilerin rotiferin besin içeriğinin artırılması amacıyla kullanılmasının yararlı olabileceğini belirtmişlerdir (Rainuzzo *et al.*, 1989; Fernandez Reiriz *et al.*, 1993).

2.5. Rotifer Kültürlerinde Kontaminasyon

Yoğun rotifer kültürü yapılan kuluçkahanelerde bazen hiç beklenmedik bir şekilde rotifer popülasyonunda azalma görülür. Böyle aksaklıklar larvaya yeterli miktarda rotifer temin edilememesi nedeni ile larvaların büyüme ve yaşama oranını olumsuz yönde etkileyerek kuluçkahanelerde ciddi kayıplara neden olmaktadır. Günümüzde gelişen teknoloji ve üretim metodlarına rağmen, rotifer popülasyonunda görülen ölüm olayları, rotifer kültüründe çözülmesi zorunlu bir problemdir. Rotifer popülasyonundaki bu ani azalmaların nedenleri değişik araştırmacılar tarafından farklı açılardan ele alınmıştır (Hagiwara *et al.*, 1994; Yu *et al.*, 1990a; Coloni *et al.*, 1991; Comp *et al.*, 1991).

Rotifer kültüründeki bu ani ölümlerin sebeplerinden birinin, B₁₂ vitamini eksikliği ya da B₁₂ vitaminini üreten bakterilerin ortamda bulunmaması ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Zira *Brachionus plicatilis* büyüme ve üreme için B₁₂ vitaminine ihtiyaç duyar (Scott, 1981; Yu *et al.*, 1994).

Yu *et al.*, (1988) rotifer kültürüne 10⁷-10¹¹ cfu/ml yoğunlukta ilave ettiği 6 bakteri suşunun B₁₂ vitamin üretkenliğini araştırmış ve kültürde 8. günde B₁₂ vitamin miktarının 1.18 - 16.50 µg/ml'ye ulaştığını ve rotifer büyümesinde belirgin bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Yu *et al.*, (1989) yarı-sürekli rotifer kültüründe yaptıkları diğer bir çalışmada B₁₂ vitamini üreten bakterilerin yoğunluğunu araştırmışlardır. Kültüründeki toplam bakteri yoğunluğu 10^{6.2} - 10^{8.2} cfu/ml iken B₁₂ vitamini üreten bakterilerin yoğunluğunun ise 10^{5.9} - 10^{7.3} cfu/ml olduğunu saptamışlardır. Kültürde B₁₂ vitamini üreten bu bakterilerin % 65.7'sinin *Pseudomonas*, % 11.4'nün *Moraxella*, % 8.6'sının *Vibrio*, % 8.6'sının *Bacillus* ve % 5.7'nin diğer bakterilerden oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Yu *et al.*, (1994) rotifer kültürüne B₁₂ vitamini üreten TP4 suşunu 10⁷ - 10¹⁰ cfu/ml yoğunlukta ilave ettiklerinde rotifer büyümesinin hızlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre maya ile besleme yapılan geleneksel yoğun rotifer kültüründe B₁₂ vitamini üreten bakterilerin, kültürde besinsel tamamlayıcı olarak önemli rol oynadıklarını tespit etmişlerdir. Buna karşın rotifer kültüründe hızlı değişim gösteren mikroflora sebebi ile her zaman aynı sonuç alınamayacağı ihtimalinin göz önünde tutulması gerektiğini belirtilmiştir (Yu *et al.*, 1990a,b).

Rotifer kültüründe popülasyonda azalmaya neden olan kontaminasyon kaynaklarından diğeri siliyattır. *Brachionus plicatilis* kültürünün bir *protozoan* olan siliyat ile kontamine olması istenmez ve bu nedenle de hijenik koşullara uygun olarak rotifer kültürünün yapılması gerekmektedir (Hoff and Snell, 1987). Buna karşın siliyatın, kültüründeki ölü alg ve bakterileri besin olarak kullanması ile de rotifer kültürünün temizlenmesinde yararlı olabileceği belirtilmektedir (Reguare, 1984). Kültürde istenmeyen bu organizmalardan korunmak için bazı çözüm yolları

önerilmiştir; siliyatın üreme sıcaklığı 20 - 25°C'dir ve eğer rotifer kültürü 17°C'de yapılırsa siliyat çoğalmasına engel olunabilir. Fakat bu sıcaklık rotifer büyümesi için düşük olduğundan pratikte uygulama şansı azdır. Rotifer kültürü yüksek sıcaklıkta yapılırken suyun dezenfeksiyonu için formaldehit kullanılabileceği önerilmektedir (Requera, 1984).

Rotifer kültüründe pH'nın düşmesi ve nitrit konsantrasyonunun yükselmesinden dolayı bozulan su kalitesi ve sudaki bakteriyel büyüme ile kültürde siliyat sıkça görülür (Hoff and Snell, 1987).

Maeda (1991) rotifer kültüründeki bakteri florası ve protozoanlar arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. 500 L'lik kaptaki rotifer kültürünü (5.13⁷h/ml) *Nannochloropsis oculata* ve maya ile düzenli olarak beslemiş ve 3 gün sonra rotifer yoğunluğu 1000 birey/ml'ye ulaşan kültüründeki bakteri sayısının 10⁸ cfu/ml olduğunu saptamıştır. Deneme başlangıcında kültüründeki dominant suşlar *Actinobacter* sp. iken, florada *Flovobacterium* ve *Pseudomonas* suşlarının da bulunduğunu tespit etmiştir. Kültürde 9 saat sonra *Pseudomonas*'lardan NT₉, NT₁₀, ve NT₁₁ suşlarının dominant olduğu ve N₁₀ suşunun rotifer büyümesini inhibe ederken, NT₁₁ suşunun büyümeyi artırdığını belirtmektedir. Araştırmacı deneysel olarak kültüre siliyat aşıladığında NT₁₀ suşunun etkisiyle siliyat artmış ve *Euplotes* sp.'nin 5000 h/ml'ye ulaştığını saptamıştır. Rotifer kültüründe *Euplotes* sp. ve *Urenema* sp. olmak üzere 2 tip siliyat tespit etmiş ve başlangıçta *Urenema* sp. türlerinin rotiferlerden zayıf olan bireylerin vücutlarına girmeye çalıştıklarını gözlemlemiştir. Kültürde *Euplotes* sp. popülasyonu artarken, *Urenema* sp. popülasyonu azalmış ve bu durumun özellikle *Urenema* sp.'nin besini olan bakterilerin azalmasından kaynaklandığını bildirmiştir. Araştırmacı rotifer kültüründeki bakteriyel floranın hızlı bir değişim gösterdiği ve siliyat türlerinde bununla bağlantılı olarak değiştiğini belirtmektedir.

Comps *et al.* (1991) Fransa'daki kuluçkahanelerde yoğun rotifer kültüründe *Brachionus plicatilis*'lerde görülen ani azalma ve ölüm olaylarının sebebini araştırmışlardır. Kültürde çok sayıda enfekte olmuş rotifer olduğunu saptamışlardır. Rotiferlerdeki bu enfeksiyon kaynağının bakteriyel kontaminasyondan çok

rotiferlerden izole edilen virüs olabileceği belirtilmiştir. İzole edilen bu virüsün salmon balıklarında görülen IPN virüsüne benzediği ve bununla ilgili olarak laboratuvar çalışması yapılması gerektiği bildirilmektedir. Larvanın yaşama oranında önemli rol oynayan rotiferlerin bu virüsü larvaya taşıyabileceği ihtimalinin ise tartışmaya açık bir durum olduğu belirtilmiştir.

Coloni *et al.* (1991) yoğun kültürde besin olarak maya kullanıldığında enfekte olmuş rotiferler ve bu rotiferlerden 5 farklı maya türü izole etmişlerdir. İzole edilen maya hücrelerinden ikisi *Candida* sp. biri *Saccharomyces cerevisia* olarak idendifiye edilmiş diğer ikisi ise identifiye edilememiştir. Deneysel olarak izole edilen maya hücreleri ile *Brachionus plicatilis* kültürüne bir bulaşma meydana getirildiğinde, rotiferlerin enfekte olduğu ve rotiferlerin büyümesinin engellendiği tespit edilmiştir. Bu nedenle besin olarak maya kullanırken dikkatli olmak gerektiği bildirilmektedir.

Yu *et al.* (1990a) yoğun rotifer kültüründe popülasyonda görülen ani azalmaların patojen bakterilerle ilgili olabileceğini düşünmüşlerdir. Yaptıkları çalışmada, rotifer popülasyonunda azalma görülen kültürden *Vibrio alginolyticus* izole edilmiştir. Bu bakteri türünün maya ile beslenen rotifer kültüründe dikkati çekecek kadar fazla miktarda bulunduğu ve rotiferlerde ölümlere yol açtığı tespit edilmiştir. *Vibrio alginolyticus*'un rotiferlerde 24 saat de toksitide değeri LD₅₀: 10⁵ cfu/ml olarak saptanmış ve yoğun rotifer kültüründeki bu ani azalmaların sebebinin *Vibrio alginolyticus* olduğu bildirilmiştir.

2.6. Akvatik Bakteriler

Bütün dünyada balık patojeni olarak yaklaşık 21 cinse ait bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerden 9 cinse ait 12 tür bakterinin başlıca balık patojeni olduğu, 5 türün ise obligat patojen olduğu kabul edilmektedir. Balıklarda ve diğer soğuk kanlı su canlılarında yaşayan bakteriler psikrofilik bakterilerden oluşmaktadır. Balıklarda patojen bakteriler *Pasteurellaceae*, *Cytophagaceae*, *Vibrionaceae*,

Pseudomonadaceae gibi familyaları içerir. Bakterilerin tanımlanması için izole edilen bakterinin hücre morfolojisi, boyanma özelliği, koloni morfolojisi, hareketli olup olmadığı ve bazı diagnostik testlerle (Stokrom oksidaz testi, O/129 testi yani vibriostat, oksidatif/ fermentatif testi, katalaz, oksidaz gibi) ve bakterilerin fizyolojik reaksiyonları tespit edilir (Austin, 1988).

Balıklarda hastalık etkeni olan *vibrionaceae* familyasına ait bakteriler küçük, gram negatif (-), düz veya kıvrılan çubuklardır. Tek polar flagellumları ile genellikle hareketlidirler. *Vibrio*'larda stokrom oksidaz +, O/F (glukoz) testi fermentatif ve bu bakteriler vibriostat ve novobiocine duyarlıdırlar. *Vibrio* türleri büyümek için sodyuma (Na) ihtiyaç duyarlar ve D- glukoz, D-fruktoz, maltoz ve glycerol kullanabilmelerine rağmen bu testler türler arasında değişen sonuçlar verir. *V. anguillarum*, *V. ordalli* gibi *vibrio* türleri deniz balıklarında patojen bakterilerdir. Balıklardaki patojen diğer bir bakteri grubunda *Pseudomonadaceae* familyasına aittir. *Pseudomonas*'ların şekli düzden hafif eğriye değişebilen gram (-) çubuklardır. Polar flagellaları ile hareket ederler. Morfolojik olarak Entorobakterilere benzemekle birlikte bu mikroorganizmalar kuvvetli aerob ve O/F (glukoz) ortamında oksidatifdirler. *Pseudomonas* suşlarında katalaz ve stokrom oksidaz pozitifdir. Arginin dihidrolaz enzimi üretirler. Bu familyaya ait bakterilerden iki türün balıklarda hastalık meydana getirdiği bildirilmekle birlikte sadece *Pseudomonas fleuroscens* daima balıklarda patojen etki yapar (Austin 1988; Austin and Austin 1989).

2.7. Rotifer Kùltürlerinde Bakteriyel Flora

Deniz balığı yetiştiriciliğinde larvaların ilk beslenme periyodunda kullanılan besinin kalitesi, üretimdeki başarıyı etkileyen en önemli faktördür. Larvanın beslenmesinde ilk besin olarak kullanılan *Brachionus plicatilis*'in besin içeriğinin yüksek olması ise ayrı bir önem taşır. Larvaların büyüme ve yaşama oranının artırılması amacıyla yıllardan beri *Brachionus plicatilis*'in yağ asitlerince

zenginleştirilmesi üzerine araştırmalar yapılmaktadır (Watanabe *et al.*, 1983; Esteves and Planes, 1988; Watanabe *et al.*, 1989; Sorgeloos and Leger, 1990). Buna rağmen hala larvaların ilk beslenme periyodunda ölüm oranının yüksek olması yetiştiricilikte önemli bir problem olmaya devam etmektedir (Muroga *et al.*, 1987; Tanasomwang and Muroga, 1988; Gatesoupe, 1989,90a). Özellikle larva ve juvenil safhalarda görülen enfeksiyonlar üretimdeki başarıyı sınırlamaktadır. Araştırıcılar larva ve juveniller de enfeksiyona neden olan patojen bakterilerin oral yolla ya da su ile larvaya ulaştığına dikkati çekmişlerdir. Larva ve juvenillerin bağırsaklarındaki bakteriyel flora ile canlı yemdeki (Rotifer + Artemia) bakteri florasının benzerlik gösterdiği bildirilmektedir (Tanasowang and Muroga, 1988; Miyakawa and Muroga, 1988; Muroga *et al.*, 1990; Yamanoi *et al.*, 1990). Bu nedenle rotifer kültüründeki bakteriyel flora ve rotiferlerdeki bakteri yükünün belirlenmesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır.

Nicolas *et al.*, (1989) mikroalg ve rotiflerden oluşan besin zincirindeki bakteriyel floranın kalkan larvalarının yaşama oranı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla iki hafta süren denemelerinde *Platymonas suecica* ve *Pavlova lutheri*'den oluşan alg kültürlerini *Brachionus plicatilis* besini olarak kullanılmıştır. Beslemede kullanılan alg türlerine göre oluşturulan iki deneme grubundaki rotiferlere ilave besin olarak maya verilmiştir. Larvaya verilmeden önce vitamin, mineral ve karaciğer yağı ile zenginleştirilmiştir. Besin dağılımından 2 saat sonra rotifer ve larvalardan yapılan bakteriyel sayımlar için direk sayım ve plak yöntemi ile yapılan ekimlere göre bakteri sayısı 10^4 - 10^5 bakteri/birey olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda alg kültürü ve rotifer kültür suyundan yapılan bakteriyel ekimlerde bakteri sayısının 10^7 bakteri/ml olduğu saptanmıştır. Her iki kültüründeki bakteri miktarının $7,1 \times 10^6$ - $3,9 \times 10^7$ bakteri/ml arasında olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte rotiferler ile kültür suyundaki bakteriyel flora arasında sistematik bir benzerlik olduğunu tespit etmişlerdir. Rotifer kültüründen izole edilen 345 suşdan %91'ni idendifiye etmişler ve floranın büyük bir çoğunluğunu *Vibrio* sp. suşlarının oluşturduğunu, ayrıca florada *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Actinobacter*,

Alteromonas suşlarının da bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre larvanın sindirim sisteminde bulunan bazı *Vibrionaceae* suşlarının rotiferlerle larvaya taşınmış olabileceğini düşünmüşlerdir. Zenginleştirmeden sonra bakteri yükü fazla olan rotifer gruplarıyla beslenen larvaların besinlerini sindiremeyerek 7 - 8. günde öldükleri, buna karşın bakteri yükü az olan rotifer grubuyla beslenen larvaların 10. günde %40-60'ının hala canlı kaldığını bildirmişlerdir.

Brachionus plicatilis kültüründeki bakteriyel flora ile ilgili diğer bir araştırma Skjermo and Vadstein (1993) tarafından yapılmıştır. Soğuk su balıklarında canlı yem olarak kullandığı *Brachionus plicatilis*'in besin içeriğinin zenginleştirilmesi amacıyla kalamar unu kullanan araştırmacılar denemelerini 6°C'de gerçekleştirmişlerdir. Zenginleştirme sonrası rotifer ve kültür suyundaki bakteriyel sayının % 50-150 oranında arttığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte rotifer kültürünü 6°C sıcaklıkta 3 gün boyunca muhafaza ettiklerinde ise kültüründeki bakteri sayısının başlangıçtaki seviyeye düştüğünü belirlemişlerdir. Zenginleştirme sonrası rotifer ve kültür suyunda oluşan bakteriyel floranın benzerlik gösterdiği ve floranın *Cytophaga* / *Flovabacterium* ve *Pseudomonas/Alcaligenes* suşlarından oluştuğunu saptamışlardır. Öte yandan soğuk su balıkları için yaptıkları bu denemeye göre, rotiferlerde zenginleştirmenin düşük sıcaklıkta yapılması gerektiğini belirtmektedirler (Skejermo and Vadstein, 1993).

Qie *et al.*, (1994) farklı besinlerle beslediği *Brachionus plicatilis*'deki besin içeriğinin yanısıra rotiferlerdeki bakteriyel florayı da incelemişlerdir. Denemede rotifer kültürü 20L'lik kaplarda, ‰20 tuzlulukta, 20°C sıcaklıkta yapılmıştır. *Brachionus plicatilis* beslenmesinde *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* ve *Tetraselmis* sp. ile ekmek mayası ve maya + yağ kullanılmıştır. Kültüründeki bakteri miktarını belirlemek için toplam bakteri sayımı yapılmıştır. Alg ile beslenen rotiferlerin besinsel içeriğinin (protein+ lipid), maya ve maya + yağ ile beslenen rotiferlerden iyi olduğunu bildirmişlerdir. Maya + yağ ile beslenen rotiferlerdeki bakteri miktarının ise alg ile beslenenlere göre daha yüksek olduğunu tespit

etmişlerdir. Buna göre maya + yağ ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayısı 750 cfu/ml iken, alg ile beslenenlerde 77 - 140 cfu/ml olarak saptanmıştır. Maya + yağ ile beslenen rotifer kültürünün 10. günde bakteri miktarının ise $2,2 \times 10^6$ cfu/ml'ye ulaştığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda her iki kültüründeki bakteriyel floranın sistematik olarak bir farklılık göstermediğini belirtmişlerdir.

Muroga *et al.*, (1987) *Pagrus major* ve *Acanthopagrus schlegeli* balıklarının larva ve juvenillerinde bağırsak florası ile birlikte onların besini olan *Brachionus plicatilis*, *Artemia salina* kültürleri ve yetiştirme suyundaki bakteriyel florayı araştırmışlardır. Balıkların bağırsak florasındaki *Vibrio* (% 45) ve *Pseudomonas*'dan (% 30) oluşan bakterilerin dominant olduğunu tespit etmişlerdir. *Pagrus major* larvalarında yapılan toplam bakteri sayımları $7,4 \times 10^4$ cfu/fish, *Acanthopagrus schlegeli* larvalarında bakteri sayısı yetiştirme suyunda $3,1 \times 10^4$ cfu/ml, canlı yemde (Rotifer + Artemia) $2,1 \times 10^7$ cfu/gr ve suni yemde ise $1,2 \times 10^4$ cfu/gr olarak belirlenmiştir. Yetiştirme suyundaki dominant bakteri grubu (%22) *Pseudomonas* ve (% 29) *Moraxella* suşlarından oluşurken, canlı yemde *Pseudomonas* suşlarının (% 48) dominant grubu oluşturduğunu bildirmişlerdir. Denemede canlı yemdeki *Vibrio* miktarı ise (% 7- 11) düşük olarak bulunmuştur. Besin zinciri ve bağırsak florasından yapılan bakteriyel izolasyon sonuçlarına göre, besindeki bakteri suşlarını bağırsakta da tespit etmişler fakat florada bulunan grupların bulunma oranlarının farklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Yapılan çalışmalara göre larva ve juvenillerin bağırsak florası ve canlı yemin bakteri florası arasında farklı korelasyonlar olduğu bildirilmiştir (Muroga and Yasanobu 1987). Aynı zamanda kültür koşullarında farklı balık çiftlikleri ve rotifer üretim metodlarına göre de kültüründeki bakteriyel floranın kalite ve kantitesinde de farklılıklar görülmüştür (Miyakawa and Muroga, 1988; Tanosomwag and Muroga, 1988; Verdonck *et al.*, 1994).

Verdonck *et al.*, (1994) 3 farklı deniz balıkları üretim çiftliğindeki canlı yem kültürlerinin (Rotifer + Artemia) farklı üretim basamaklarındaki bakteriyel florayı araştırmışlardır. Kuluçkahanelerden ikisinde rotifer kültürlerinin başlangıç basamağı

olan küçük hacimlerdeki mikrofloranın % 45-73'ünün *Vibrio* suşlarından oluştuğu, büyük hacimlerdeki yoğun kültürde ise %15-67 oranında *Vibrio* bulunduğunu saptamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre canlı yem üretiminin farklı basamaklarına göre bakteriyel florada bulunan bakteri suşlarının bulunma oranının farklılıklar gösterdiğini bildirmektedirler.

Tanasomwang and Muroga (1988) iki balık çiftliğinde üretilen kalkan balıklarının (*Paralichthys olivaceus*) larva ve juvenillerinde aerobik bağırsak florasını araştırmışlardır. Aynı zamanda onların besini olan *Brachionus plicatilis*, *Artemia salina* ve yapay yemin yanısıra kültür suyundaki bakteriyel florayı da incelemişlerdir. 10 mm boydaki larvanın bağırsak florasındaki bakteri miktarının 10^5 cfu/fish olduğu, larvalar 14 mm boya ulaşınca kadar bu sayının değişmediği ve 15-19 mm boya ulaşan larvalarda ise bakteri miktarının 10^4 cfu/fish olarak azaldığını tespit etmişlerdir. Bakteri miktarındaki bu azalmanın canlı yemden yapay yeme geçiş nedeniyle olabileceğini düşünmüşlerdir. Denemelerinde larva besinlerinden yapılan bakteriyel sayımlara göre bakteri miktarı, canlı yem de (Rotifer + Artemia) 10^8 cfu/g, suni yem de 10^5 cfu/g, balıkta 10^6 cfu/g ve suda 10^4 cfu/ml olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bir çiftlikte, rotiferin mikroflorasındaki bakteri gruplarını *Pseudomonas* %40.8, *Vibrio* % 34.9 ve *Moraxella* % 10.4 olarak, diğer çiftlikteki S tipi rotiferlerde *Vibrio* % 26.8, *Moraxella* % 26.2 ve *Pseudomonas* % 25, L tipi rotiferlerde ise *Vibrio* % 59.8 ve *Pseudomonas* % 33.4 olarak saptamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre farklı balık çiftliklerindeki bakteriyel floranın farklılıklar gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Miyakawa and Muroga (1988) Japonya'daki bir balık çiftliğinde $150m^3$ 'lük dışardaki tanklarda ve $4 m^3$ 'lük içerdeki tanklarda üretilen *Brachionus plicatilis* ve kültür suyundaki aerobik bakteri florasını araştırmışlardır. Dışardaki tanklarda yaptıkları sayımlara göre bakteri miktarını rotiferlerde 10^7 - 10^8 cfu/g, kültür suyunda 10^5 - 10^6 cfu/ml olarak tespit etmişlerdir. Denemelerinde bakteri yükünü azaltmak için rotiferleri 1 saat 10 ppm sodyum nifursitranat (NFS Na) solusyonunda tuttuklarında bakteri miktarının 1/10 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

2.8. Rotifer Kùltürlerinde Bakteri Yùkùnün Azaltılması

Yapılan çalışmalarda bakteri yùkù fazla olan rotiferlerin bünyelerinde patojen bakterileri de taşıdıkları ve bunlarla beslenen larvaların rotiferleri sindiremeyerek öldükleri belirlenmiştir (Nicolas *et al.* 1989; Gatesoupe 1982). Dolayısıyla larvalara verilmeden önce rotiferlerdeki bakteri yùkùnün elimine edilmesi amacıyla rotifere farklı uygulamalarda bulunulmuştur.

Rotiferlerin bünyesinde bulunan bakterilerin sindirim sisteminde mi yoksa dış yüzeylerinde mi olduğunu araştıran Munro *et al.*, (1993) rotiferlerdeki bakteri miktarını tarayıcı elektron mikroskobu (SEM: Scanning Electron Mikroskop) ve plak yöntemi ile tespit etmişlerdir. Bu iki metotda elde edilen sonuçlara göre rotiferlerdeki bakteri sayısının birbirine yakın değerlerde olduğu ve bakterilerin büyük çoğunluğunun rotiferlerin dış yüzeyinde bulunduğunu saptamışlardır. Araştırıcılar rotiferlerin yüzeyinde bulunan bakteri yùkùnü azaltmak amacıyla denemeler yapmışlardır. Buna göre kimyasal maddelerden benzalkonium klorid solusyonu ve steril deniz suyu ile durulanan rotiferlerden plak yöntemine göre sayılan bakteri miktarı Çizelge 1’de verilmiştir (Munro *et al.* 1993).

Çizelge 1: Plak yöntemine göre farklı uygulamalar yapılan rotiferdeki bakteri miktarı

Yapılan İşlem	cfu/rot
İşlem Görmemiş	$4,85 \times 10^3 \pm 0,84 \times 10^3$
Steril Deniz suyu	$1,02 \times 10^3 \pm 0,27 \times 10^3$
Benzalkonium klorid	$0,49 \times 10^3 \pm 0,02 \times 10^3$

Çizelge 1’de görüldüğü gibi steril deniz suyu ile yıkanan rotiferlerde bakterilerin % 79’u uzaklaştırılırken benzalkonium klorid solusyonu ile bakterilerin % 99’u uzaklaştırılabilmiştir (Munro *et al.*, 1993). Bununla birlikte araştırıcılar % 0.01’lik benzalkonium klorid solusyonunda 30dk tutulan rotiferlerin %50’den fazlasının öldüğünü saptamışlardır. Rotiferlerdeki bakteri yùkùnü azaltmak amacıyla,

benzalkonium kloridin yanısıra kimyasal maddelerden; Tween 20, Tween 80, Triton x-100, sodyum nifursitranat ile geniş spektrumlu biyosidlerden; Phylatol, Panacide ve Lysozym değişik konsantrasyonlarda uygulanmıştır (Munro *et al.*, 1993).

Rotiferler %5'lik Tween 20 solusyonunda tutulduğunda sindirim sistemlerindeki içeriğin boşaldığı, bununla birlikte %1'lik Tween 20 solusyonunda 15 dk tutulduklarında ise etkilenmedikleri saptanmıştır. Rotiferlerde Tween 80 ile yapılan uygulamalarda da benzer sonuçlar alınmıştır. % 0.001'lik konsantrasyondaki Triton x-100 ise rotiferler için toksik etki yapmıştır. % 0.01'lik phylatol de tutulan rotiferler sindirim sistemindeki içeriği hemen boşaltmıştır. Fakat 20 dk. boyunca bu solusyonda canlı kalabilmişlerdir. Diğer biyosid Panacide'nin % 0.002'lik gibi düşük konsantrasyonu bile rotiferlerde letal bir etki yapmıştır. Öte yandan düşük tuzlulukta 1 mg/L'lik Lysozym solusyonunda kısa bir süre için tutulan rotiferlerdeki bakteri yükü azalmıştır. Fakat düşük tuzlulukta ozmik şoktan dolayı rotiferlerde yüzme ve beslenme aktiviteleri yavaşlamış ve larva için uygun bir besin olmaktan çıkmıştır. Araştırmacılar bu kimyasallar ile rotiferlerdeki bakteri yükünün azaltılmasının mümkün olmadığını belirtmektedir (Munro *et al.*, 1993).

Rotiferlerdeki bakteri yükünü azaltmak amacıyla kullanılan bazı kimyasal maddeler ve bunların rotiferler üzerindeki yaptığı etki Çizelge 2'de özetlenmiştir (Munro *et al.* 1993).

Çizelge 2. Rotiferlere uygulanan bazı kimyasal maddeler

Düşük sıcaklık (7 ⁰ C ya da 14 ⁰ C)	Rotiferler için öldürücü
Benzalkonium Klorid	Çok düşük konsantrasyonlarda rotiferlere toksik
Tween 20	Bakteri miktarında azalma olmadı
Tween 80	Bakteri miktarında azalma olmadı
Triton x-100	Çok düşük konsantrasyonlarda rotiferler için toksik
Phylatol	Çok düşük konsantrasyonlarda rotiferler için toksik
Panacide	Çok düşük konsantrasyonlarda rotiferler için toksik

Kalkan balıklarının larvalarında intestinal enfeksiyona neden olan *Vibrio* INFL'nin kaynağının canlı yemler (Rotifer + Artemia) olabileceği belirtilmiştir. Japonya'daki kuluçkahanelerde canlı yemde bu bakteri miktarının azaltılmasında sodyum nifursitranat (NFS-Na) kullanıldığı bildirilmiştir (Miyakawa and Muroga, 1988; Muroga *et al.*, 1990).

Tanasomwang and Muroga (1992) yüksek yoğunluklardaki (1610, 8060, 16100 rot./ml) rotifer kültürlerine ve deneysel olarak *Vibrio* INFL ile kontamine edilen rotiferlere NFS-Na uygulamışlardır. Rotifer yoğunluklarının sırasına göre, 5 saat boyunca 5 µg/ml NFS-Na solusyonunda tutulan rotiferlerden TCBS agarda yapılan bakteriyel sayımlar $2,6 \times 10^6$ - $2,9 \times 10^4$ cfu/g, $2,0 \times 10^4$ cfu/g, $4,0 \times 10^3$ cfu/g olarak tespit edilmiştir. 10 µ/ml'lik NFS-Na solusyonunda tutulan rotiferlerde ise TCBS agardaki bakteri miktarının $4,0 \times 10^3$ cfu/g, $4,0 \times 10^3$ cfu/g ve $7,0 \times 10^3$ cfu/g olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda *Vibrio* INFL ile kontamine edilen rotiferler NFS-Na solusyonunda tutulduğunda sonra bakteri miktarının düştüğü saptanmıştır. Araştırmacılar özellikle yüksek yoğunluklardaki (16100 birey/ml) rotiferlerde, kontaminasyonun ve *Vibrio* sp. miktarının azaltılmasında bu maddenin etkili olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda büyük hacimlerde yapılan rotifer kültüründe bakteriyel kontaminasyonun fazla olmasından dolayı rotiferlerdeki bakteri yükünün artacağını da bildirmişlerdir. Büyük hacimlerde yapılan rotifer kültürünü dakikada 1,5 L'lik akıntı ile UV lambasından geçirerek sterilize etmişler ve rotiferlerdeki bakteri yükünün % 99'dan fazlasının azaldığını tespit etmişlerdir (Munro *et al.*, 1993).

Rotiferlerdeki bakteri yükünün azaltılması için 3-5°C gibi düşük sıcaklıkta aç bırakılan rotiferlerdeki bakteri miktarında azalma olmuştur. Buna karşın 20°C'de kültüre edilen rotiferlerin 7°C ya da 14°C gibi düşük sıcaklıkta aç bırakıldıklarında düşük sıcaklığa toleranslı olmamalarından dolayı 24 saat içinde rotifer popülasyonun hızla azaldığı saptanmıştır. Rotiferlerdeki bakteri miktarında ise hiç bir azalma olmadığı tespit edilmiştir (Munro *et al.*, 1993).

Vibrio anguillarum'un Ayu balıklarının (*Plecoglossus aLivelis*) larva ve erişkin bireylerinde patojen olduğu (Kasuda *et al.*, 1986) ayrıca *Vibrio* sp. INFL grubunun ise son yapılan çalışmalara göre *Paralichthys olivaceus* larvasında bağırsak enfeksiyonuna neden olduğunun belirlenmesinden sonra Yamanoi *et al.*, (1990) bu iki bakteri için kontaminasyon kaynağının yoğun rotifer kültürü olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Rotiferlerdeki bu bakteri miktarının azaltılmasında dondurmanın etkisini araştırmışlardır. Yığın rotifer kültüründen hasat ettikleri rotiferlerdeki bakteri miktarını 6.3×10^8 cfu/g olarak belirlemişlerdir. Toplanan rotiferler ve deniz suyunu -15°C sıcaklıkta dondurarak depolamışlar ve 2, 5, 10, 30 ve 40. günlerde bakteriyel sayımlar yapmışlardır. Dondurma sonunda her iki patojen miktarında (10^8 cfu/g) azalma olduğu saptanmış ve donmuş rotifer ile deniz suyunda 30. günde *Vibrio* INFL grubunun, 40. günde ise *Vibrio anguillarum* suşlarının yok olduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre bakterinin azalması amacıyla rotiferleri dondurmanın iyi bir yöntem olabileceğini fakat rotiferlerin besin değerinin ise düştüğünü belirtmişlerdir (Yamanoi *et al.*, 1990). Aynı zamanda dondurulmaya karşı floradaki bakterilerden *Vibrio* suşlarının, *Pseudomonas* ve *Moraxella* suşlarına göre daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Yamanoi and Katayama, 1989).

Plankton kültürlerinde bakteriyel kontaminasyona karşı antibiyotikler kullanılmaktadır. Özellikle stok rotifer kültürlerin bakteriyel kontaminasyonlardan korunması amacıyla antibiyotikler yaygın olarak kullanılır. Saf rotifer kültürünün yapılması ve bakteriyel yükün azaltılması amacıyla, amiktik rotiferi antibiyotik solusyonunda tutmak, kış yumurtalarını %1'lik sodyum ya da potasyum hipoklorit solusyonunda 1-5 dk. tutmak, kuluçkalanmadan hemen önce amiktik yumurtanın steril ortama inoküle edilmesi gibi farklı uygulamalar önerilmiştir (Pouriout, 1977).

Canlı yem üretiminde bakteriyel kontaminasyonun azaltılmasında alg kültürünün steril koşullarda yapılması önemli rol oynar (Hoff and Snell, 1987). Levis *et al.*, (1988) bir çok kuluçkahanede 220-2000 L'lik kaplarda alg üretimi yapıldığını ve bu kültürlerdeki bakteri miktarının tam olarak bilinmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar *Crassostrea gigas* larvalarını beslemek için kültüre

ettikleri *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Chroomonas salina*, *Dunaliella tertiolecta*, *Thalassiosira pseudonona*, *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri*'nin yarı- sürekli kültüründeki bakteri miktarını kontrol etmek için deniz suyunu 0.2 µm flitreden geçirmişlerdir. Pastörize edilen ve 0.2 µm flitreden geçirilen deniz suyundan yapılan bakteri sayımlarına göre, flitreden geçen sudaki bakteri miktarı 6.3 bakteri/ml'den fazla olan alg kültürü ile beslenen *Crassostrea gigas* larvalarının yaşama oranının sınırlandığı bildirilmiştir.

Rotiferlerdeki bakteri yükünün ve kontaminasyonun azaltılması için yukarıda anlatılan fiziksel ve kimyasal uygulamalarda amaç deniz balıkları larvalarının büyüme ve yaşama oranının artırılmasıdır. Rotiferler ve *Artemia*'daki bakterilerin azaltılmasında antibiyotiklerin etkili olduğu tespit edilmiştir. Canlı yem kaynağı olan bu organizmalarla beslenen larvalarda büyüme ve yaşama oranının daha iyi olduğu bildirilmiştir (Gatesoupe, 1982; Perez - Benavente and Gatesoupe 1988; Gatesoupe *et al.*, 1989; Minkoff *et al.*, 1992). Son yıllarda yapılan çalışmalar, rotiferlerde antibiyotiklerin kullanılmasına alternatif olarak probiotiklerin kullanılmasına yöneliktir (Gatesoupe *et al.*, 1989, 90; Gatesoupe, 1990,1991a,1991b,1994). Rotifer besini olarak kullanılan probiotikler ile rotifer kültürü ve larvadaki *Vibrio* suşlarının azaltılması hedeflenmiştir. Larvalarda kitlesel ölümlere yol açan bu bakteriler alkalifilik özellik gösterirler. Probiotik olarak kullanılan *Lactikasit* bakteriler ortam pH'sını düşürerek *Vibrionaceae* suşlarının artışına engel olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bu probiotiklerin rotifer üreme oranı ve besin içeriğine etkisi de araştırılmıştır (Gatesoupe, 1991c).

Gatesoupe *et al.*, (1989)'da bu amaçla yaptıkları çalışmada S tipi rotifer kültüründe *Chlorella sp.* ve mayanın yanısıra probiotikleri besin olarak kullanmışlardır. 500 L'lik kaplarda yaptığı denemede kontrol grubu dışındaki diğer gruplara *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus helveticus* (1 milyon bak/mg) ve bir grup *acosil* (Laktik bakterilerin fermente olmuş bir şuşu) 8 mg/L lik konsantrasyonda ilave besin olarak kullanmışlardır. Bakteri ilaveli ve ilavesiz

besleme uygulanan rotiferler larvaya verilmeden önce 17 saat karaciğer yağı ve *Chlorella* ile zenginleştirilmiştir ve bu kültürlerden bakteriyel sayımlar yapılmıştır. Bakteri ile beslenen rotiferlerin besin değeri düşük fakat rotifer populasyonundaki büyüme oranı yüksek, kontrol grubunda ise üreme oranı düşük, buna karşın besin değeri yüksek olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar rotiferlerdeki bakteriyel artışın özellikle zenginleşme sonrası olduğunu bildirmişlerdir. Bakteri ilavesi ile beslenen rotiferlerde bakteri sayısı 54.000 iken kontrol grubundaki bakteri miktarının 99.000 gibi yüksek bir değerde olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda bakteri ilavesi ile beslenen rotiferler larva besini olarak kullanıldığında larva boyu 7.5 mm'ye ulaşırken, kontrol grubu rotiferler ile beslenen larvaların boyunun 7.3 mm'ye ulaşabildiği tespit edilmiştir (Gatesoupe *et al.*, 1989).

Gatesoupe (1982) yaptığı çalışmada rotifer kültürünü 2 gün boyunca balık yağı ile zenginleştirdikten sonra antibiyotik ile muamele etmesine rağmen rotiferlerdeki bakteri artışının engellenemediğini bildirmiştir. Zenginleştirici ile beslenen rotiferlerdeki yağ asidi miktarı arttırılmasına rağmen bunlarla beslenen larvaların büyüme ve yaşama oranında artış olmadığı ve bunun rotiferlerdeki bakteri yükü ile ilgili olabileceğini bildirmiştir.

Gatesoupe (1990)'da yaptığı başka bir denemesinde kalkan larvasını beslemek için rotiferleri sürekli kültür sisteminde üretmiştir. Bu sistemde yapılan denemelerde C kontrol grubunda; pH ve sıcaklık normal, PT grubunda; düşük pH ve yüksek sıcaklık, A grubunda; rotifer ortamına ilave besin olarak laktik bakteri verilmiş ve pH ile sıcaklık normal, PTA grubunda; bakteri ilavesi yapılmış ve düşük pH yüksek sıcaklık olmak üzere 4 farklı koşulda deneme grupları oluşturulmuştur. Üretilen rotiferler larvaya verilmeden önce 6 saat zenginleştirilmiş ve yıkandıktan sonra sürekli pompalama ile larvalar beslenmiştir. Denemede rotiferler antibiyotikle muamele edilmemiş, fakat canlı laktik bakteri ilavesi ile beslenmiştir. Laktik bakteri ilavesi ile beslenen rotiferlerin larvanın büyüme ve yaşama oranına olumlu etkisi olmuştur. Araştırmacı rotifer kültürlerinde bakteri artışı olmadan besin değerinin artırılabilceğini fakat rotifer kültüründeki bakteri miktarının gözardı

edilemeyeceğini de bildirmiştir. Bu denemelerde normal koşullardaki grupta *Vibrio alginolyticus* balık ve rotiferlerde dominant tür olarak tespit edilmesine rağmen denemede bu bakterinin patojen bir etki yapmadığı saptanmıştır. Larvanın yaşama oranı ile bakteri florası arasında pozitif bir ilişki olduğu da belirlenmiştir. Denemede düşük pH ve yüksek sıcaklıkta kültüre edilen rotiferlerle beslenen larvalarda *Aeromonas*'ın fırsatçı suşlarının enfeksiyona neden olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacı bakteri ile pH ve sıcaklık arasındaki ilişkinin daha detaylı araştırılması gerektiğini ve böyle bir deneme yapılırken de laktik bakterinin asidofilik türlerinin seçilmesinin ilginç olabileceğini bildirmiştir.

Gatesoupe (1991b) yaptığı diğer bir denemede *Bacillus* sp. sporlarını rotifer besini olarak kullanmış ve bu bakterinin rotifer kültüründeki bakteriyel floraya etkisini araştırmıştır. Aynı zamanda *Bacillus* sp. ile beslenen rotiferlerin larvanın yaşama oranına etkisini belirlemeyi amaçlamıştır. Denemede kontrol grubu rotiferler maya, ciğer yağı, soya fasulyesi, keithin ve vitamin premix ile beslenirken, deney grubuna ilave besin olarak *Bacillus* sp. 115832 verilmiştir. *Bacillus* sp.'nin tüketilme oranını belirlemek amacıyla 0.5, 1, 1.5, 2,4 saatlik zaman aralılarında yapılan bakteriyel sayımlara göre bakterilerin 1 saatte % 96'dan fazlasının tüketildiği ve besinin 2 saatte sindirildiğini tespit etmiştir. Bu bakterilerle beslenen rotiferler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneme grubundaki rotiferlerde *Vibrio*'nun fırsatçı ve dominant suşlarında artışın engellendiğini ve larvanın yaşama oranının arttığını belirtmiştir. Buna göre kalkan larvasının 10-15 günlük beslenme periyodunda larva besini olarak verilen rotiferlerin *Bacillus* sp. sporlarıyla beslenmesi ve daha sonra rotifer kültürünün klorlanması ya da antibiyotiklerle muamele edilmesini tavsiye etmektedir.

Gatesoupe (1991c) probiotik olarak kullandığı 3 laktik bakterinin (*Lactobacillus plantharum*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*) rotiferlerin üreme hızına etkisini araştırmıştır. Aynı zamanda bu bakterilerle beslenen rotiferlerin besleyici değerini de incelemiştir. Araştırmacı *L. plantarum* ve *L. helveticus* ile beslenen rotiferlerde populasyon artışının iyi olduğunu fakat *S.*

thermophilus ile beslenen rotiferlerde popülasyonda önemli bir artış olmadığını tespit etmiştir. Bu bakteri suşu ile beslenen rotiferlerin besin içeriğinin arttırılmasına karşın rotiferlerle beslenen larvaların ağırlıklarında önemli bir artış olmadığını saptamıştır. Araştırmacı yeni bir suş olan *L. plantharum*'un aerobik bakterilerin azaltılmasında etkili olduğunu ve bu suş ile daha detaylı çalışma yapılması gerektiğini belirtmektedir.

Gatesoupe (1994) patojen *Vibrio sp.* ye karşı kalkan larvasının direncini artırmak amacıyla laktik bakterileri rotifer besini olarak kullanmıştır. Laktik bakterileri *Brachiomus plicatilis*' den izole eden araştırmacı bakteri suşlarını *Lactobacillus plantharum* ve *Carnobakterum sp.* olarak tanımlamıştır ve bu bakteri suşlarını rotifer besini olarak kullanmıştır. Laktik bakteri suşları ile beslenen rotiferler deneysel olarak *Vibrio sp.* ile enfekte edilen larvalara besin olarak verildiğinde, larvaların 9. günde *Vibrio sp.*'ye karşı direnç kazandığını tespit etmiştir. Rotifer besini olarak kullanılan bakterilerin yoğunluğunun başarıyı etkileyen en önemli faktör olduğunu belirten araştırmacı, yaptığı bu denemesinde optimum bakteri konsantrasyonunun $10^7 \sim 2 \times 10^7$ cfu/ml olduğunu bildirmiştir.

Doğal ortamlara göre kültür koşullarında mikrobiyal kominitenin kontrolünün daha kolay olduğu belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda kültür ortamına eklenen mikroorganizmalarla deniz suyundaki patojenik bakterilerin çoğalmasının engellenebileceği bildirilmiştir (Maeda, 1988, 1991, 1992a, 1992b, 1994a,b,c). Maeda (1992a) (*Penaeus monodon*) Karides larvalarının beslenmesinde *Navicula sp.* ile birlikte kültür ortamından izole ettiği PM₄ suşunu besin olarak kullanmış ve larvaların yaşama oranının yüksek olduğu ve PM₄ suşunun patojen *Vibrio sp.*'nin çoğalmasını engellediğini tespit etmiştir. Sonuç olarak larva havuzlarındaki bakteriyel floranın ve patojen mikroorganizmaların biyokontrolü sayesinde, larvalarda büyüme ve yaşama oranının artırılabilirliği belirtilmektedir (Maeda, 1992a,1994a; Skjermo and Vadstein, 1993b).

3. MATERYAL VE METOD

Araştırmalar Tarım ve Köy İşleri Bakanlığına bağlı Beymelek Su Ürünleri Araştırma ve Geliştirme Merkez Müdürlüğünün Kuluçkahanesindeki canlı yem ünitesinde yürütülmüştür. Araştırma Kasım 1995 - Temmuz 1996 tarihleri arasında yapılmış ve materyal olarak S tipi *Brachionus plicatilis* kullanılmıştır.

3.1. Kullanılan Kültür Kapları

Alg ve rotiferin stok kültürleri için 500 ml ve 2 L'lik erlenler, 6 L'lik balonlar, yoğun kültürler için 70 L ve 350 L'lik plastik torbalar ve büyük hacimli rotifer kültürü için 2700 L silindirik yapıdaki tanklar kullanılmıştır. Denemeler canlı yem ünitesindeki saf kültür odası ve yoğun kültür odasında yapılmıştır.

Araştırmada erlen ve balonlarda yapılan alg ve rotifer kültürleri için, saf kültür odasında bulunan alttan aydınlatmalı cam raflardan yararlanılmıştır. 70 L ve 350 L'lik plastik torbalarda yapılan alg ve rotifer kültürleri ile 2700L'lik tanklardaki rotifer kültürleri için yoğun kültür odası kullanılmıştır.

Deniz suyu: Alg ve rotifer kültürlerinde kullanılan deniz suyu kum ve diyatom filtresinden geçirildikten sonra UV (Ultraviyole) lambası ile sterilize edilmiştir.

3.2. Rotifer Kültürlerinde Kullanılan Besin Maddeleri

Rotiferlerin beslenmesinde alglerden *Isochrysis galbana* (Tahiti şuşu), *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata* (Droop 1955), Ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ve zenginleştirme için protein selco kullanılmıştır.

3.3. Deney Grupları

Rotiferlerin beslendikleri alg türü ve hacim dikkate alınarak oluşturulan deneme grubu Çizelge (3) de verilmiştir.

Çizelge 3. Araştırmada oluşturulan deneme grupları

Deneme Grubu	Hacim (L)	Besin
I	2	<i>Isochrysis galbana</i>
	6	<i>Isochrysis galbana</i>
	70	<i>Isochrysis galbana</i>
	350	<i>Isochrysis galbana</i>
	2700	<i>I. galbana</i> + Ekmek Mayası + Protein selco
II	2	<i>Tetraselmis suecica</i>
	6	<i>Tetraselmis suecica</i>
	70	<i>Tetraselmis suecica</i>
	350	<i>Tetraselmis suecica</i>
	2700	<i>T. suecica</i> + Ekmek Mayası + Protein selco
III	2	<i>Nannochloropsis oculata</i>
	6	<i>Nannochloropsis oculata</i>
	70	<i>Nannochloropsis oculata</i>
	350	<i>Nannochloropsis oculata</i>
	2700	<i>N. oculata</i> + Ekmek mayası + Protein selco

3.4. Alg Kültürleri

I. galbana, *T. suecica*, *N. oculata*’dan oluşan alg türlerinin erlenlerdeki (500 ml) stok kültürleri ile 2-6L’lik balonlarda alg üretimine başlanmıştır . Bu kaplardaki alg kültürleri, sıcaklığı 22-24⁰C’ye ayarlı, 24 saat floresan (40 Watt) lambalarla

aydınlatılan saf kültür odasında yapılmıştır. Erlen ve balonlarda yapılan alg kültürleri için UV den geçmiş deniz suyu 5 saat 180°C de sterilize edilmiş ve Walne ortamı ile zenginleştirilerek ekime hazırlanmıştır. 6L'lik balonlardaki alg kültürleri 70 L'lik küçük torbalara ve bunlarda 350L'lik büyük torbalara ekilmiştir. Torbalardaki alg kültürleri sıcaklığı 24 - 26°C'ye ayarlı yoğun kültür odasında yapılmıştır. 70 L'lik torbalar floresan (40 Watt) lambalarla aydınlatılmıştır. 350 L'lik torba kültürlerin aydınlatılmasında ise gün ışığından yararlanılmıştır. Bu torbalar UV'den geçmiş steril deniz suyu ile doldurularak bir gece havalandırılmış ve Walne ortamı ilave edilerek ekime hazırlanmıştır. Alg kültürleri yaklaşık % 2 CO₂ ile zenginleştirilmiş merkezi havalandırma ünitesi ile havalandırılmıştır. Alg kültürü için ‰ 25 tuzluluktaki deniz suyu kullanılmıştır. Alg kültürlerinin üretilmesinde kullanılan Walne ortamı aşağıda verilmiştir (Loix and Freedi, 1985).

Mineral Tuz Solusyonu

NaNO₃300 gr

KH₂PO₄30 gr

NH₄Cl20 gr

Bu maddeler 1L 'lik distile su içinde çözündürülerek otoklavda sterilize edilir.

İz Element Solusyonu:

Solusyon A

ZnSO₄H₂O30 gr

CuSO₄ 5H₂O25 gr

CoSO₄ 7H₂O30 gr

MnSO₄.H₂O20 gr

Solusyon B

FeCl₃ .6H₂O50 gr

Solusyon C

Na₂MoO₄2H₂O .25 gr

Solusyon D

Na₂EDTA.H₂O..50 gr

Her solusyon için 1L distile su hazırlanır ve maddeler eritilerek otoklavlanır.

Bunlar soğuduktan sonra çalışma solusyonu hazırlanır.

Çalışma Solusyonu

Solusyon D100 cc

Solusyon A10 cc

Solusyon B.....10 cc

Solusyon C.....10 cc

Yukarıda belirtilen miktarlarda alınan solusyonun hacmi 1L'ye tamamlanır ve otoklavda sterilize edilir.

3-) Vitamin solusyonları

B₁₂ 100 mg

Biotine 100 mg

Thiamine.....10 gr

Bu vitaminlerin her biri önceden otoklavlanmış 1L deniz suyunda eritilir. Ana solusyondan çalışma solusyonu hazırlanır.

Çalışma Solusyonu

B₁₂10 cc

Biotine10 cc

Thiamine.....10 cc

Solusyonlardan yukarıda belirtilen miktarlarda alınarak, önceden sterilize edilmiş 1L deniz suyuna eklenir. Alg ekimi için hazırlanan deniz suyunun 1L 'si için bu 3 solusyondan 1 ml. olacak şekilde ilave edilir .

3.5. Rotifer kültürü

Stok rotifer kültüründe (500 ml) *I. galbana*, *T. suecica*, *N. oculata*'dan oluşan alg kültürleri ile en az 2 hafta boyunca beslenen bireyler ile kültüre

başlanmıştır. Bu rotiferler 2 L'lik erlenler ve daha sonra 6L'lik balonlardaki alg kültürüne ekilmiştir. Erlen ve balonlardaki rotifer kültürleri alg kültürlerinde olduğu gibi saf kültür odasında kültüre edilmiştir. Balonlardaki rotifer kültürleri 70L ve 350L'lik torbalardaki alg kültürlerine ekilmiştir. Torbalardaki rotifer kültürleri, alg kültürlerinin de bulunduğu yoğun rotifer odasında aynı koşullarda kültüre edilmiştir. 350L'lik torbalardaki aynı alg türü ile beslenen rotiferler büyük hacimdeki rotifer kültürü için hazırlanan tanklara ekilmiştir. Tank denemelerinde rotiferlerin başlangıç yoğunlukları 200 birey/ml olarak kültüre başlanmıştır (Loix and Freedi, 1985).

3.5.1. Tankların Hazırlanması

Denemeye başlamadan bir gün önce oluşturulan gruplara göre 3 tank %20 tuzlulukta ve UV'den geçmiş deniz suyu ile doldurulmuştur. Her m³ su için 5 gr aktif klor ilave edilerek gece boyu güçlü bir havalandırma uygulanmıştır. Ekimden önce suda klor olması ihtimaline karşı sodyumtiyosulfat (500 gr/L saf suda hazırlanan) solusyonundan her bir tanka 25 ml ilave edilerek rotifer ekimine hazırlanmıştır (Loix and Freedi, 1985).

3.5.2. Tank Denemelerinde Uygulanan Besleme Programı

Araştırmada 3 deneme tankı için Çizelge 4'de belirtilen besleme programı uygulanmıştır.

Çizelge 4. Tank besleme programı

GÜN	Alg (L)	Maya (gr/10 ⁶ .rot.)	Vit. Stok (ml)	Protein Selco (gr/m ³)
0	700	2	2.7	-
1	-	2	-	-
2	-	1	-	-
3	-	1	2.7	-
4	-	600	-	-
5	-	-	-	250

Yukarıda belirtilen besleme programına göre ilk besin olarak 1. tanka *I. galbana* 85.10⁶ h/ml, 2. tanka *T. suecica* 14.10⁶ h/ml, 3 tanka *N. oculata* 1180.10⁶ h/ml'lik konsantrasyondaki alg kültürleri ile besleme yapılmış ve tank hacmi 2700 L'ye ulaşmıştır. Tanklara daha sonra ilk gün saat 22.00 ve 03.00 da maya ile besleme yapılmıştır. Maya ile besleme yapılan diğer günlerde tanklarda besleme saat 10.00, 16.00, 22.00, 04.00 olmak üzere günde 4 kez yapılmıştır. Tanklara 1. ve 4. gün stok vitamin solusyonundan 2.7 ml ilave edilmiştir. Tanklara verilen stok vitamin solusyonu ;100 gr B₁, 1 gr H ve 1 gr B₁₂ vitaminlerinin 1L distile suda eritilmesiyle hazırlanmıştır. Tanktaki rotiferler 5. gün saat 21.00 ve 03.00'de 125 g/m³ olacak şekilde protein selco ile beslenmiştir (Loix and Freedi 1985).

3.6. Alg ve Rotifer Sayımı

Araştırma süresince kültüre edilen alglerin günlük sayımları Burker hemositometresi (derinlik 0.1 mm, en küçük karesi 0.025 mm²) ile ters mikroskopta sayılmıştır. Rotiferlerin günlük sayımı için 1 ml'lik pipetlere alınan örnekler stereo mikroskopta sayılmıştır (Loix and Freedi 1985).

3.7. Su Kalitesi Ölçümleri

Yoğun rotifer kültürü yapılan tank denemelerinde günlük olarak su sıcaklığı ve oksijen miktarı YSI 51 B model oksijenmetre, pH orion model SA 520 model pHmetre ile amonyum miktarları ise spektrofotometre de ölçülmüştür.

3.8. Alg ve Rotifer Kültürlerinde Bakteriyel Yükün Tayini

3.8.1. Bakteriyel Ekimler için Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Bakteriyel sayımlar için çeşitli hacimlere ekilen (Çizelge 3) *I. galbana*, *T. suecica* ve *N. oculata* kültürlerine rotifer ilavesinden önce bakteriyel testler için örnekler alınmıştır. Deneme gruplarına göre alg ile beslenen rotiferlerden ise besinlerini tükettikleri son gün bakteriyel sayımlar için örnekleme yapılmıştır. 2700 L'lik tanklarda yürütülen denemelerde ise bakteriyel ekim için 1. gün alg beslemesi yapılmasından 2 saat sonra hem kültür suyu, hem de rotiferlerden örnekleme yapılmıştır (Nicolos *et al.*, 1989). Tanklardan yapılan diğer örnekleme maya beslemesinin son kez yapıldığı 4. gün kültür suyu ve rotiferlerden yapılmıştır. Tanklardaki son örnekleme ise rotifer kültürlerine protein selco verilmesinden 2 saat sonra kültür suyu ve rotiferlerden yapılmıştır (Nicolas *et al.*, 1989).

Rotifer kültürlerinden alınan örnekler 60 µ'luk filtreden süzölmüş ve ‰ 20 tuzluluktaki steril deniz suyu ile bir kaç kez yıkanmıştır (Nicolas *et al.*, 1989; Qie *et al.*, 1994). Süzülen rotiferlerden 1 ml alınarak, 9 ml dilusyon sıvısı ile sulandırıldıktan sonra dilusyon homojenize edilmiştir. Homojenizat önceden belirlenen dilusyon aralığına göre her dilusyon için 3 paralel olacak şekilde besiyerlerine 0.1 cc'lik ekimler yapılmıştır. Besiyeri üzerine konulan inokulumlar ucu L şeklinde kıvrılmış steril cam çubuklar ile yüzeye yayılmıştır. Alg kültürleri ve kültür suyunda 1 ml alınarak 9 ml'lik dilusyon sıvısı ile sulandırılan örneklerin homojenizatta olduğu gibi besiyerlerine ekimleri yapılmıştır (Arda, 1985).

3.8.2. Besiyeri

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

Toplam *Vibrio spp* Sayımı: Ekime 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 (Skejermo and Vadstein, 1993; Gatesoupe, 1994, 1995; Tanasomwang and 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 (Skjermo and Vadstein, 1993). Besiyerlerinde oluşan bakterilerin koloni sayımı yapılırken koloni sayısı 30 - 300 arasında olan petrilerden sayım yapılmıştır (Arda, 1995).

Bu çalışmada verilerin değerlendirilmesinde istatistiki metotlar kullanılmıştır. İstatistiki önem kontrolleri “t” testi $P= 0.05$ güven sınırı esas alınarak yapılmıştır (Düzgüneş ve ark., 1993; Koray, 1993)

3.9. İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyonu

Besiyerlerinde oluşan tipik kolonilerden izole edildikleri agara yapılan ekimlerle elde edilen saf bakteri suşlarının idendifikasyonu için bakterilerin biokimyasal testleri yapılmıştır. Bakteri kültürüne; gram boyama, hareketlilik, oksidazyon- fermentasyon (O/F), sitokram oksidaz, katalaz, vibriostat (O/129), nitrat,

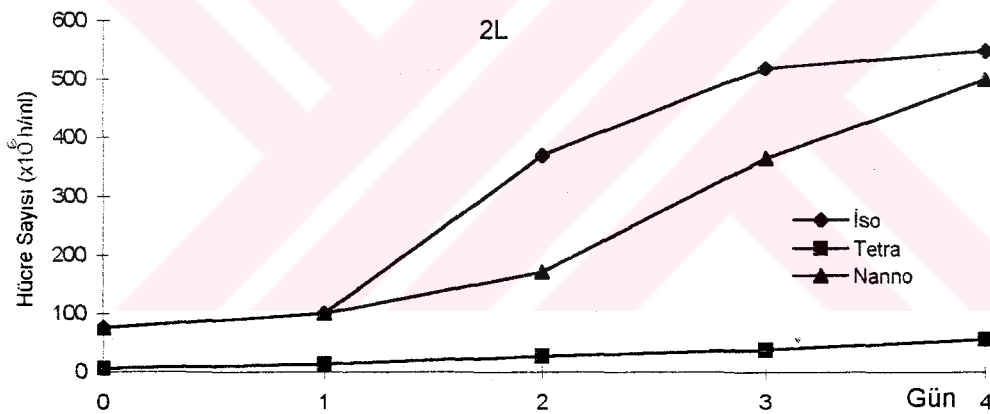
nitrit, indol, voges proskaver, sitrat, H₂S, Jelatin hidrolizinden, oluşan testler yapılmıştır. Bununla birlikte karbonhidrat fermentasyonu için, glikoz, sakkaroz, inasitol, laktozdan oluşan şeker testleri, %0, 2, 4, 6 (NaCl) tuzlulukta ve 4 - 37⁰C sıcaklıktaki büyüme testleri de yapılmıştır (Collins and Lyne, 1979; Arda, 1985; Grisez *et al.*, 1991; Alsina and Blanch, 1994).



4. BULGULAR

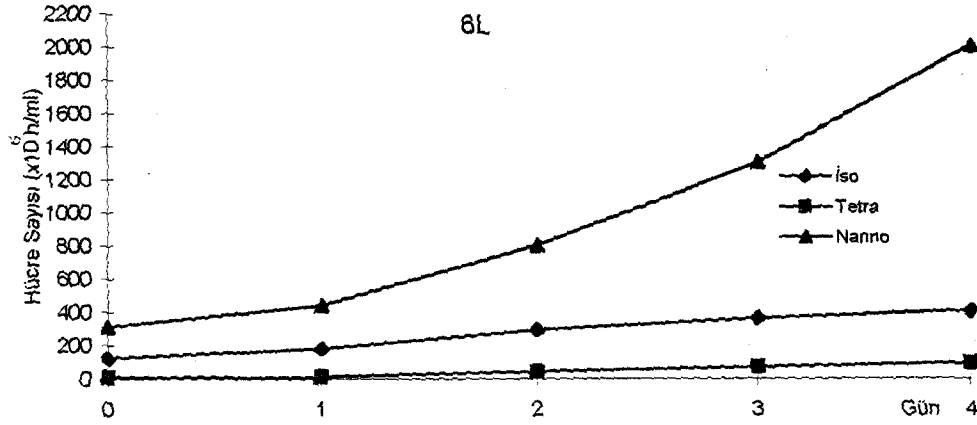
4.1. Alg Kültürüne Ait Bulgular

Deneme gruplarında rotifer besini olarak kullanılan *I. galbana*, *T. suecica* ve *N. oculata* alglerinin üretimine 2 L'lik erlende başlanmıştır. 4. günde *I. galbana* kültürü 55×10^7 h/ml, *T. suecica* 6×10^6 h/ml ve *N. oculata* 50×10^7 h/ml hücre yoğunluğuna ulaşmıştır. *I. galbana* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 1,89 bölünme/gün olarak tespit edilmiştir. *T. suecica* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 1,12 b/g, *N. oculata* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 1,10 b/g olarak saptanmıştır. Bu deney grubunda en yüksek büyüme hızı *I. galbana* kültürlerinde gözlenmiştir (Şekil 2).



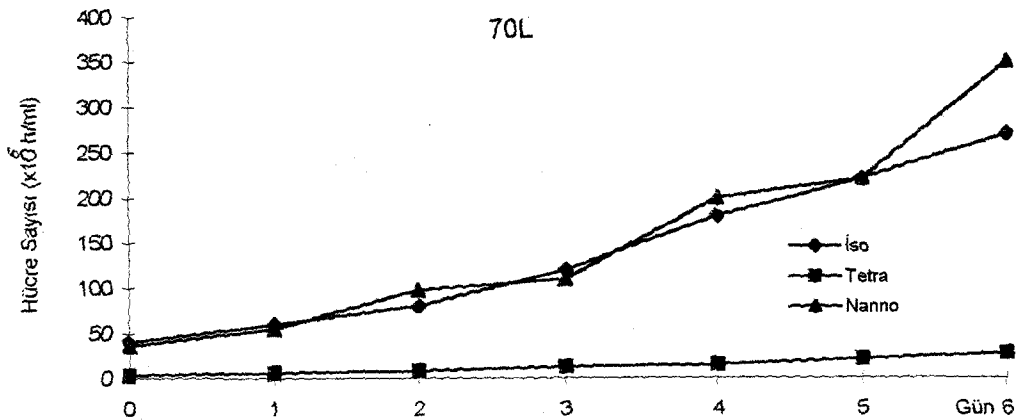
Şekil 2. Erlendeki (2L) kültürde hücre sayısı

Alg üretiminin 2. basamağı olan 6L 'lik balonlarda üretimin 4. gününde *I. galbana* kültürü 40×10^7 h/ml, *T. suecica* kültürü 90×10^6 h/ml, *N. oculata* kültürü 200×10^7 hücre yoğunluğuna ulaştıkları tespit edilmiştir. *I. galbana* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 0,69 b/g, *T. suecica* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 2,00 b/g ve *N. oculata* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 0,86 b/g olarak saptanmıştır. Bu deney grubunda en yüksek büyüme hızı *T. suecica* gözlenmiştir Şekil (3).



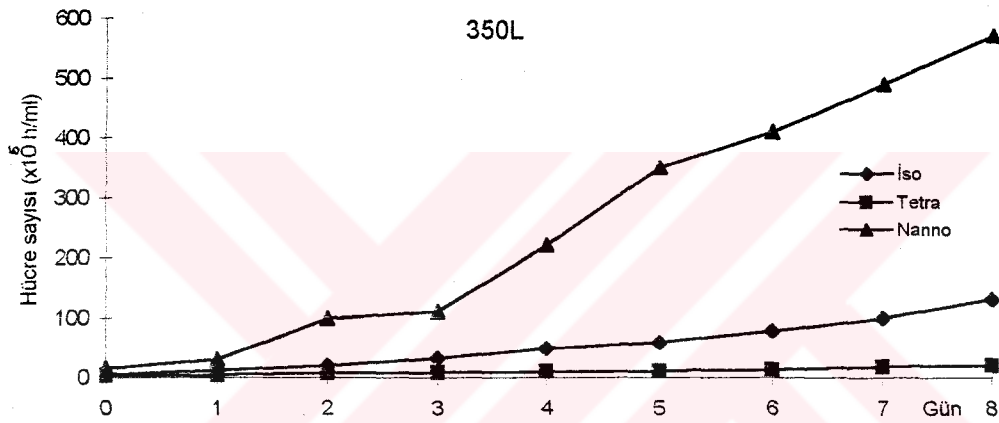
Şekil 3. Balondaki (6L) kültürde hücre sayısı

Alg kültüründeki 3. üretim basamağı olan (70L)'lik küçük torbalara ekilen alg türleri 6 gün izlenmiş ve *I. galbana* kültürünün 27×10^7 h/ml, *T. suecica* kültürünün 27×10^6 h/ml, *N. oculata* kültürünün 35×10^7 h/ml hücre yoğunluğuna ulaştıkları tespit edilmiştir. *I. galbana* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 0,58 b/g olarak saptanmıştır. *T. suecica* kültürünün maksimum spesifik büyüme hızı 1,00 b/g ve *N. oculata* kültürünün maksimum spesifik büyüme hızı 0,86 b/g olarak tespit edilmiştir. Torbalarda üretilen kültürlerde büyüme hızının *T. suecica* ve *N. oculata* kültürlerinde *I. galbana* kültürüne göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Torbalardaki (70 L) kültürde hücre sayısı

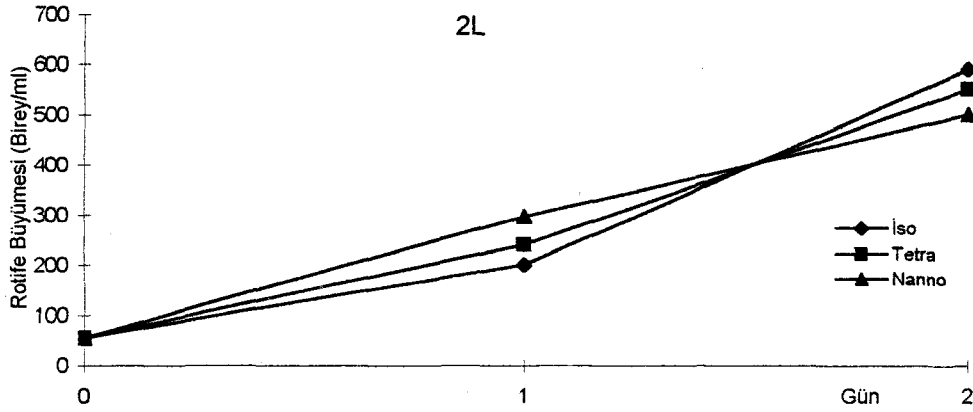
Alg kültüründe son üretim basamağı olan büyük torbalara (350L) ekilen alg türleri 8. gün izlenmiş ve *I. galbana* kültürü $1,3 \times 10^6$ h/ml, *T. suecica* kültürü 18×10^6 h/ml ve *N. oculata* kültürünün 57×10^7 h/ml'lik yoğunluğa ulaştıkları tespit edilmiştir. *I. galbana* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 1,58 b/g, *T. suecica* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 0,70 b/g ve *N. oculata* kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 1,71 b/g olarak saptanmıştır. Bu torbalarda üretilen alg türlerinden *N. oculata* kültüründeki büyüme hızının diğer alg türlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 5. Büyük torbalardaki (350L) kültürde hücre sayısı

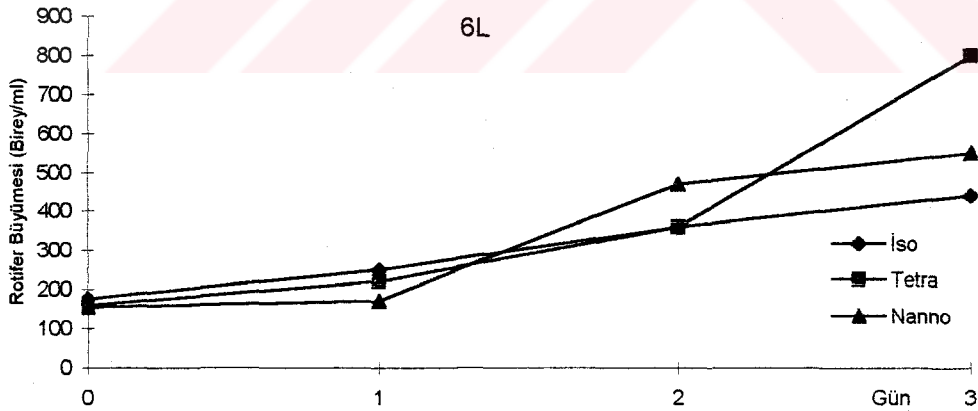
4.2. Rotifer Kültürüne Ait Bulgular

Rotifer üretimine stok rotifer kültürlerinin erlende (2L) üretilen alg kültürlerine ekilmesi ile başlanmıştır. Alg kültürlerine başlangıç yoğunluğu 55 birey/ml olarak ekilen rotiferlerdeki birey sayısı 2. gün *I. galbana* kültüründe 590 birey/ml, *T. suecica* kültüründe 550 birey/ml ve *N. oculata* kültüründe 500 birey/ml olarak saptanmıştır. En yüksek birey sayısı *I. galbana* ile üretilen kültürde tespit edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Erlendeki (2L) kültürlerde rotifer büyümesi

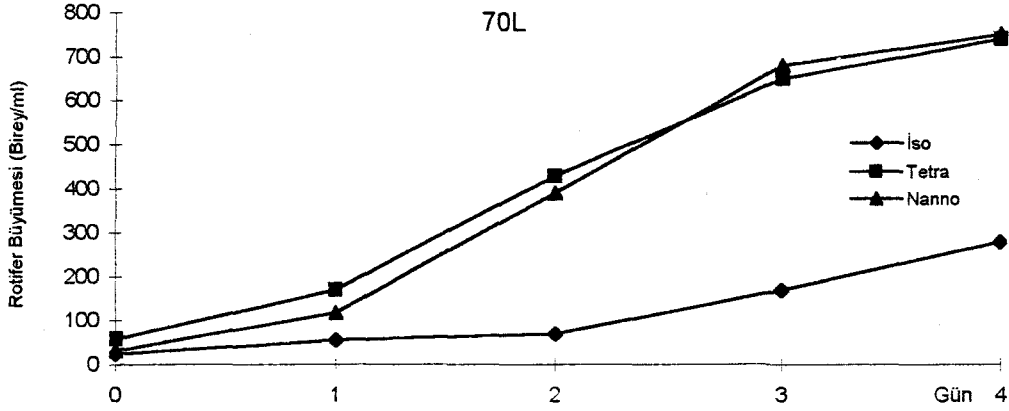
Erlendeki rotifer kültürleri besinlerinin tükendiği 2. gün süzülerek balonlar da hazırlanan alg kültürüne ekilmiştir. *I. galbana* kültürüne 175 birey/ml olarak ekilen kültürde rotifer sayısı 440 birey/ml, *T. suecica* kültürüne başlangıç yoğunluğu 160 birey/ml olarak ekilen kültüründeki rotifer sayısı 800 birey/ml ve *N. oculata* kültürüne 154 birey/ml başlangıç yoğunluğunda ekilen kültüründeki rotifer sayısı 550 birey/ml olarak saptanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Balondaki (6L) kültürlerde rotifer büyümesi

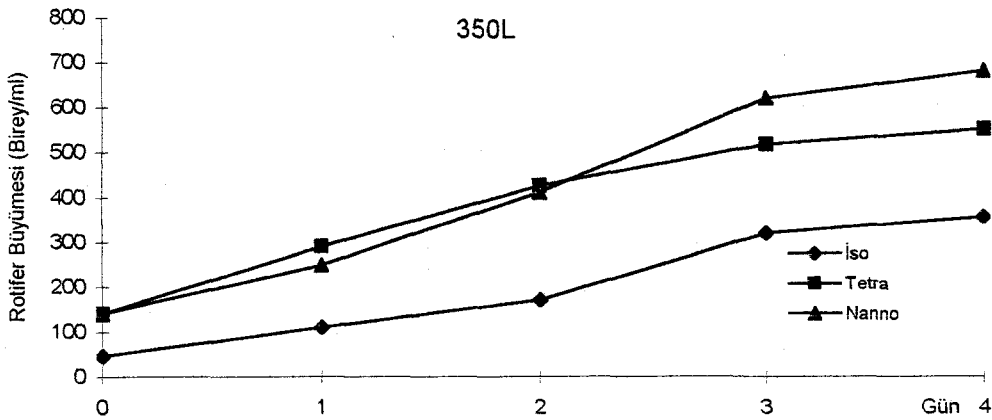
Balonlar da 3. gün besinleri tükenen rotiferler süzülerek 3. üretim basamağı olan torbalardaki (70L) alg kültürlerine ekilmiştir. Torbalardaki (70L) *I. galbana* kültürüne başlangıç yoğunluğu 25 birey/ml olarak ekilen kültüründeki rotifer sayısı

280 birey/ml, *T. suecica* kültürüne 58 birey/ml olarak ekilen kültüründeki rotifer sayısı 740 birey/ml ve *N. oculata* kültürüne başlangıç yoğunluğu 32 birey/ml olarak ekilen kültüründeki rotifer sayısı 750 birey/ml olduğu tespit edilmiştir (Şekil 8).



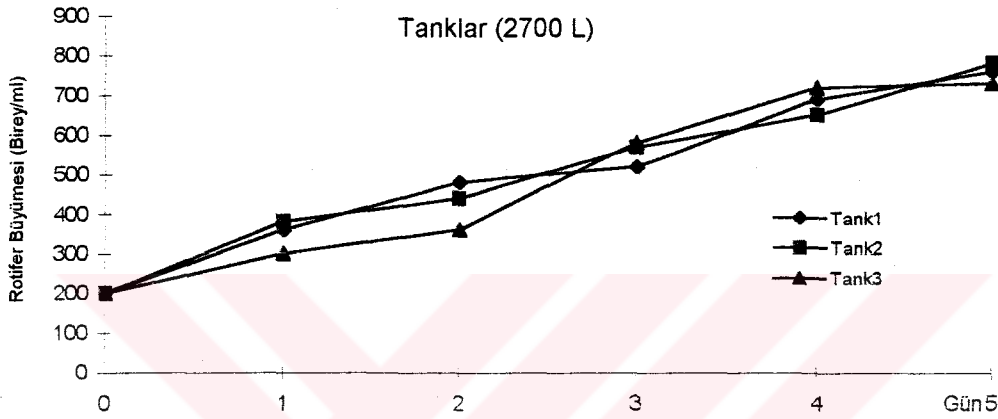
Şekil 8. Torbalardaki (70L) kültürlerde rotifer büyümesi

Küçük torbalarda 4. gün besinleri tükenen rotiferler süzülerek 4. üretim basamağı olan büyük torbalardaki (350L) alg kültürlerine ekilmiştir. Torbalardaki (350L) *I. galbana* kültürüne 45 birey/ml başlangıç yoğunluğunda ekim yapılan kültüründeki rotifer sayısının 355 birey/ml, *T. suecica* kültürüne 140 birey/ml olarak ekilen kültürlerdeki rotifer sayısı 550 birey/ml ve *N. oculata* kültürüne başlangıç yoğunluğu 140 birey/ml olarak ekim yapılan kültüründeki rotifer sayısının 700 birey/ml olduğu tespit edilmiştir (şekil 9).



Şekil 9. Torbalardaki (350L) kültürlerde rotifer büyümesi.

Araştırmada oluşturulan deneme gruplarına göre büyük hacimli rotifer kültürü için 2700 L'lik 3 tank kullanılmıştır ve tanklarda başlangıç yoğunluğu 200 birey/ml olacak şekilde ekim yapılarak üretime başlanmıştır. Deneme sonunda 1. tankta rotifer sayısı 760 birey/ml, 2. tankta 780 birey/ml, 3. tankta 730 birey/ml olarak tespit edilmiştir (Şekil 10). Aynı besleme programı uygulanan tanklarda 5. gün sonunda en yüksek rotifer sayısı 2. tankta saptanmıştır.



Şekil 10. Tanklardaki kültürlerde rotifer büyümesi

4.2.1. Tank Denemelerinde Su Kalitesine Ait Bulgular

Tanklardaki rotifer kültürlerinde günlük yapılan su analiz sonuçları Çizelge 5,6 ve 7'de gösterilmiştir. Tuzluluğu ve sıcaklığı sabit olan tank denemelerinde günlük yapılan su analizlerinde oksijen, pH ve amonyum miktarlarının farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Çizelge 5'de görüldüğü gibi ilk gün yüksek olan oksijen miktarının kültürün son gününe doğru azaldığı saptanmıştır. Buna karşın ilk gün düşük olan amonyum miktarının son gün arttığı tespit edilmiştir. Tanklardaki pH değerleri ise farklılıklar göstermiştir ve ilk gün düşük olan 1. tankta son güne doğru artış olurken diğer tanklarda son güne doğru azalma olduğu saptanmıştır (Çizelge 7).

Çizelge 5. Tanklardan yapılan oksijen ölçümleri

Gün / Oksijen (mg/L)	Tank 1	Tank 2	Tank 3
1	7.90	8.40	8.50
2	8.00	7.90	8.20
3	7.00	6.80	7.80
4	4.80	5.10	5.80
5	3.20	4.10	3.70

Çizelge 6. Tanklardan yapılan amonyum ölçümleri

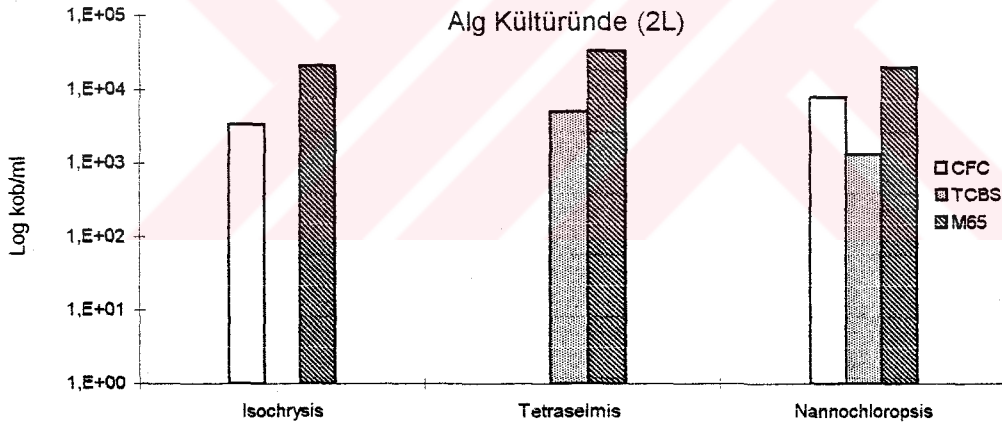
Gün / Amonyum (mg/L)	Tank 1	Tank 2	Tank 3
1	0.30	0.80	0.60
2	3.20	2.30	2.80
3	4.80	4.20	3.70
4	5.30	4.90	4.30
5	6.20	5.70	5.90

Çizelge 7. Tanklardan yapılan pH ölçümleri

Gün / pH	Tank 1	Tank 2	Tank 3
1	7.00	8.80	8.70
2	7.50	7.30	7.90
3	8.80	8.00	7.80
4	8	7.50	7.90
5	8.00	7.80	7.30

4.3. Alg Kültüründeki Bakteri Sayımlarına Ait Bulgular

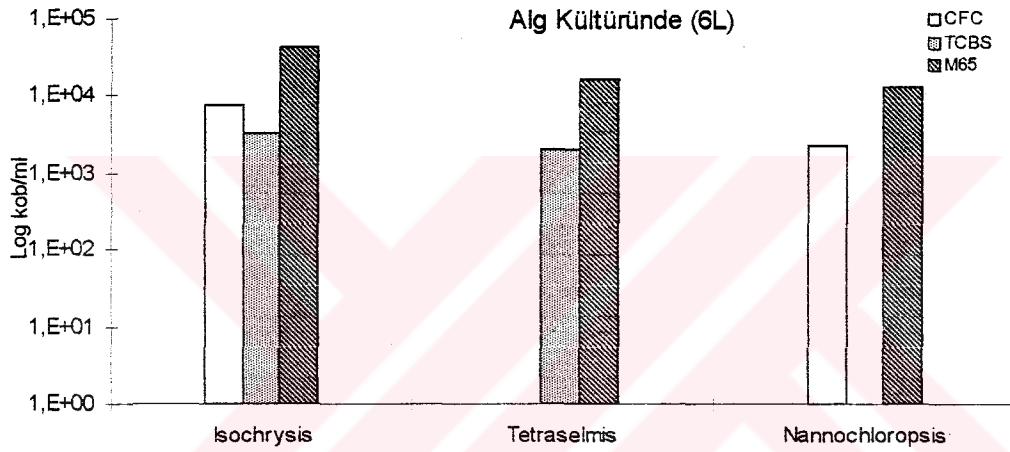
Erlendeki *I. galbana* kültüründen yapılan bakteriyel ekimlere göre toplam *Pseudomonas spp.* $34 \pm 2,3 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $30 < \text{kob/ml}$ ve toplam bakteri sayısı $21 \pm 12 \times 10^2$ kob/ml olarak tespit edilmiştir. *T. suecica* kültüründen yapılan sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $30 < \text{kob/ml}$, toplam *Vibrio spp.* $51 \pm 6,0 \times 10^2$ ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $34 \pm 2,3 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olduğu saptanmıştır. *N. oculata* kültüründe ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $80 \pm 8,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $13 \pm 2,1 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı ise $20 \pm 1,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Denemede alg üretiminin başlangıç basamağı olan erlendeki alg kültürünün toplam bakteri sayıları birbirine yakın olmakla birlikte *T. suecica* kültüründe biraz daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 11).



Şekil 11. Erlendeki (2L) alg kültüründe bakteri sayıları

Balonda (6L) üretilen alg kültürlerinden yapılan bakteriyel sayımlara göre *I. galbana* kültüründe toplam *Pseudomonas spp.* $77 \pm 3,9 \times 10^2$ kob/ml, toplam *Vibrio spp.* $34 \pm 3,0 \times 10^2$ kob/ml, toplam bakteri sayısı $44 \pm 3,7 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *T. suecica* kültüründe yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $30 < \text{kob/ml}$, toplam *Vibrio spp.* $21 \pm 2,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $15 \pm 6,8 \times 10^2$ kob/ml olarak bulunmuştur. *N.*

oculata kültürlerinde ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $38 \pm 28 \times 10^2$ kob/ml ($P < 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $30 < \text{kob/ml}$, toplam bakteri sayısı $13 \pm 2,1 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Denemede alg üretimindeki 2. basamak olan balonlarda alg kültürlerindeki toplam bakteri sayısı türlere göre farklılıklar göstermiştir. Şekil 12’de görüldüğü gibi toplam bakteri sayısı *I. galbana* kültüründe artarken, bu türün ilk üretim basamağında düşük olan *Vibrio spp.* sayısında artış olmuştur. *T. suecica* kültüründe ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı düşük bir değerdedir. *N. oculata* kültürünün ise toplam *Vibrio spp.* sayısının erlendeki alg kültürüne göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Şekil 12).

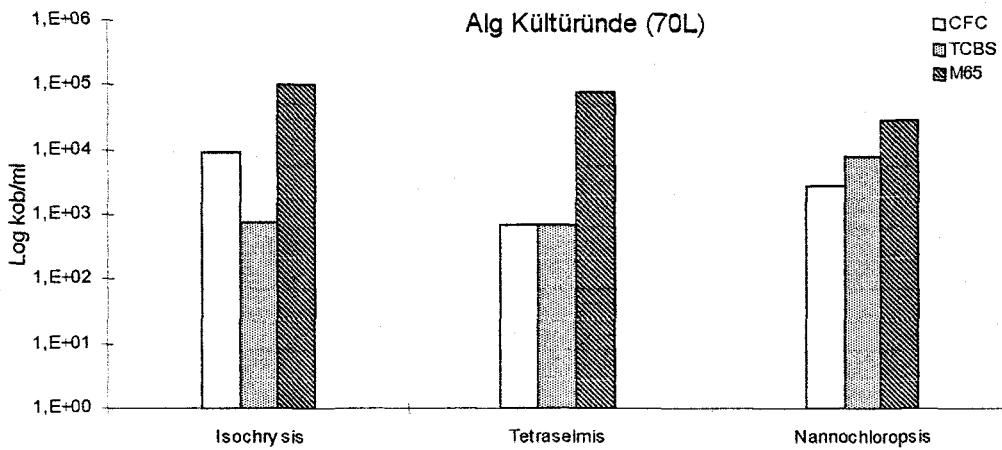


Şekil 12. Balondaki (6L) alg kültüründe bakteri sayıları

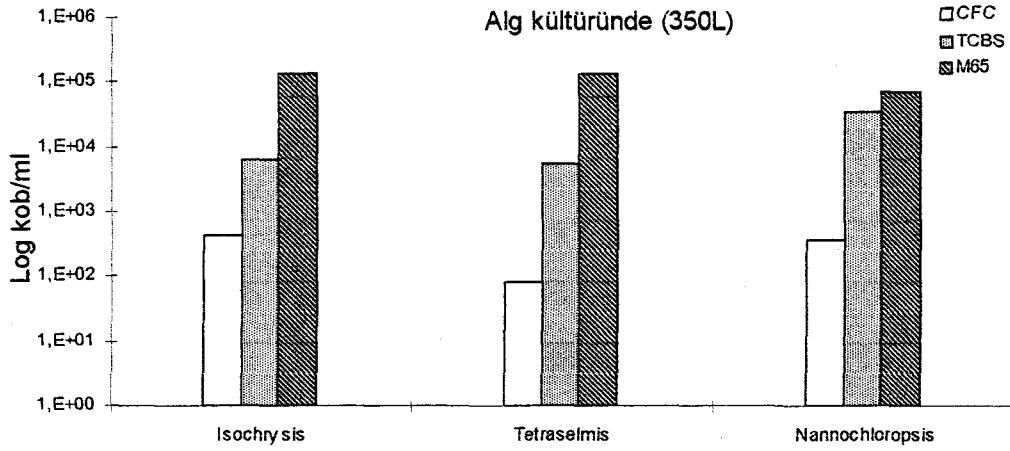
Torbalarda (70L) üretilen alg türlerinden yapılan bakteriyel sayımlarda *I. galbana* kültüründe toplam *Pseudomonas spp.* $93 \pm 8,8 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $7,6 \pm 1,6 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $10 \times 10^4 \pm 6,3 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *T. suecica* kültüründen yapılan bakteri sayımlarında toplam *Pseudomonas spp.* 720 ± 78 kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* 710 ± 60 kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $76 \pm 8,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$)’dir. *N. oculata* kültüründe ise toplam *Pseudomonas spp.* $26 \pm 0,8 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $83 \pm 14 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) toplam bakteri sayısı $28 \pm 1,1 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Torbalardaki alg

türlerinde bakteri gelişimi şekil 13’de verilmiştir. Alg kültüründe en yüksek toplam *Pseudomonas spp.* ve toplam bakteri sayısı *I. galbana* kültüründe saptanmıştır. Alg kültüründe toplam bakteri sayısı artmasına karşın *Pseudomonas spp.* ve *Vibrio spp.* sayılarında artış olmamıştır.

Alg üretiminde 4. basamak olan (350L) büyük torbalarda yapılan bakteriyel sayımlarda *I. galbana* kültüründe toplam *Pseudomonas spp.* 430 ± 57 kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $66 \pm 8,8 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısının $13 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Torbadaki *T.suecica* kültüründen yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* 81 ± 6 kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $56 \pm 12 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı ise $13 \pm 1,2 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$)’dir. *N. oculata* kültüründen yapılan bakteriyel sayımlarda toplam *Pseudomonas spp.* 370 ± 53 kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $35 \pm 2,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $70 \pm 5,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. Şekil 14’da görüldüğü gibi büyük torbalardaki kültürlerde toplam bakteri sayısının küçük torbalardaki kültüre göre arttığı saptanmıştır. Buna karşın *Pseudomonas spp.* ve *Vibrio spp.* sayısında artış olmamakla birlikte elde edilen değerlerin alg türlerine göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 13. Torbalardaki (70L) alg kültüründe bakteri sayıları

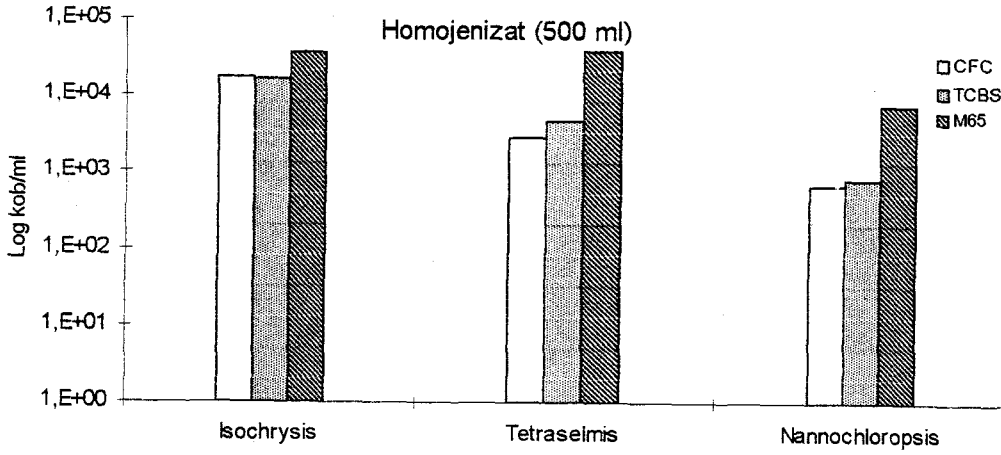


Şekil 14. Torbalardaki (350L) alg kültüründe bakteri sayıları

4.4. Rotifer Kültürlerindeki Bakteriyel Sayımlar İle İlgili Bulgular

Test tüplerinden 500 ml'deki *I. galbana*, *T. suecica* ve *N. oculata* kültürlerine ekilen rotiferler 2 hafta boyunca bu alg kültürlerinde üretilmiştir. Stokdaki bu rotifer kültürlerinden yapılan bakteriyel sayımlar şekil 15'de verilmiştir. *I. galbana* kültüründeki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $17 \times 10^3 \pm 4,5 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $16 \pm 2,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $35 \pm 4,9 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$)'dir. *T. suecica* kültüründeki rotiferlerden yapılan bakteri sayımlarında toplam *Pseudomonas spp.* $28 \pm 1,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $47 \pm 6,4 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $38 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *N. oculata* kültüründeki rotiferlerde ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı 670 ± 90 kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı 810 ± 85 kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $75 \pm 7,6 \times 10^2$ kob/ml olarak tespit edilmiştir. III. grupta *N. oculata* ile kültüre edilen rotiferlerdeki toplam bakteri sayısı I ve II. gruptaki rotiferlere göre düşük bir değerdedir. I. grup stok rotiferlerde ise toplam *Pseudomonas spp.* ve

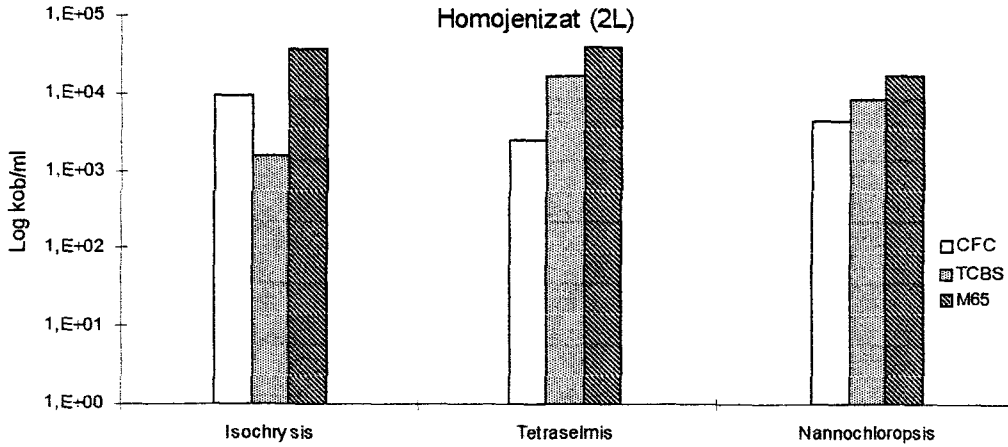
toplam *Vibrio spp.* sayılarının ise diğer gruptaki bakteri sayılarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 15. Stok Rotiferlerdeki Bakteri Sayıları

Stok rotiferlerin erlendeki (2L) alg kültürlerinde üretilmesinden sonra rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar şekil 16 de gösterilmiştir. *I. galbana* kültüründeki rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $17 \times 10^3 \pm 4,5 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $16 \pm 1,3 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), bakteri sayısı $36 \pm 2,6 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *T. suecica*'dan oluşan II. deneme grubundaki rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $25 \pm 1,7 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $16 \pm 1,1 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $3,9 \times 10^4 \pm 4,5 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$)'dir. *N. oculata* kültüründeki rotiferlerde ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $44 \pm 3,4 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $84 \pm 3,4 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $16 \times 10^3 \pm 9,2 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. I. ve II. deneme gruplarındaki rotiferlerin toplam bakteri sayıları 3. grup rotiferlere göre yüksek bir değerde olmasına karşın bu gruplar stok rotifer kültürüne paralellik göstermektedir. Erlende (2L) *N. oculata* ile kültüre edilen rotiferlerde toplam bakteri sayısı stok rotifer kültüründeki toplam bakteri sayısına göre artış göstermiştir. Deneme grubundaki rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayılar ile toplam *Vibrio spp.* sayıları birbirlerine yakın

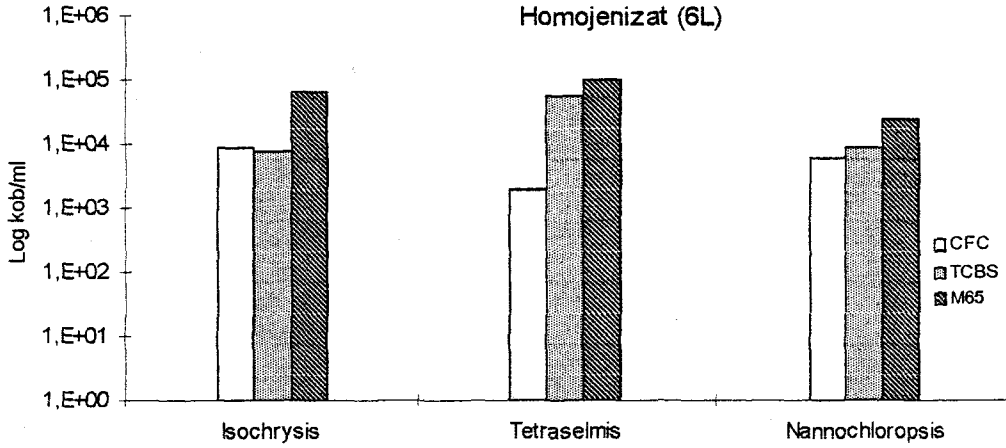
değerlerde bulunmuş ve sadece 2. deneme grubunda toplam *Vibrio spp.* sayısının daha yüksek olduğu saptanmıştır.



Şekil 16. Erlendeki (2L) rotiferlerde bakteri sayısı

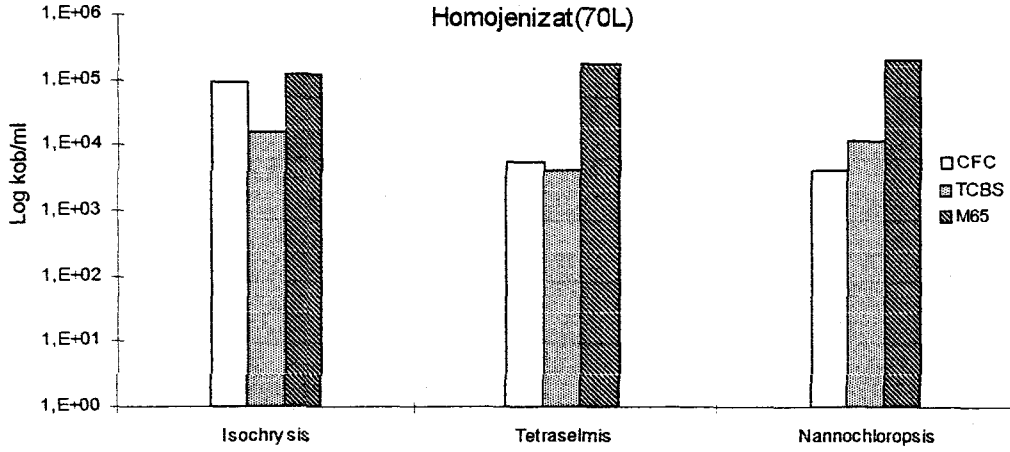
Oluşturulan deneme gruplarına göre rotifer kültüründeki 2. üretim basamağı olan balonlarda kültüre edilen rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar şekil 17’de gösterilmiştir. *I. galbana* ile kültüre edilen rotiferlerden yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $85 \pm 6,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $77 \pm 3,7 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $67 \pm 5,3 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *T. suecica*’da kültüre edilen rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $19 \pm 1,4 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $58 \pm 6,3 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $10 \times 10^4 \pm 8,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$)’dir. *N. oculata* kültüründe ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $62 \pm 9,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $86 \pm 8,8 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $23 \pm 2,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır.

Şekil 17’de görüldüğü gibi *T. suecica* ile beslenen rotiferlerdeki toplam bakteri sayısı ve toplam *Vibrio spp.* sayılarının diğer gruptaki rotiferlere göre yüksek olduğu saptanmıştır. I. ve III. grubunda da rotiferlerin toplam bakteri sayılarının artış gösterdiği ve deneme gruplarındaki rotiferlerde toplam *Vibrio spp.* sayılarının birbirine yakın değerlerde olduğu saptanmıştır.



Şekil 17. Balonlardaki (6L) rotiferlerde bakteri sayısı

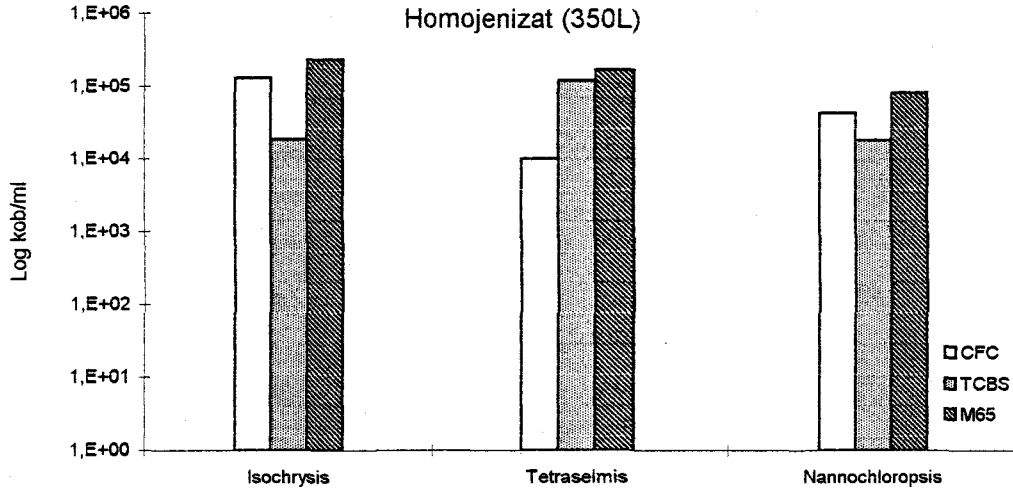
Küçük torbalarda üretilen rotiferlerdeki bakteri sayısı şekil 18 de gösterilmiştir. *I. galbana* ile kültüre edilen rotiferlerde yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $93 \pm 3,6 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $16 \times 10^3 \pm 5,7 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $12 \pm 1,3 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$)'dir. *T.suecica* kültüründe üretilen rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* $55 \pm 3,3 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $41 \pm 7,2 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $17 \pm 1,2 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *N. oculata* da üretilen rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $42 \pm 5,7 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $11 \pm 2,9 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $19 \pm 1,2 \times 10^4$ kob/ml olarak tespit edilmiştir. *I. galbana* ile beslenen rotiferlerde *Pseudomonas spp.* sayısının diğer gruptaki rotiferlere göre yüksek bir değerde olduğu ve bu gruptaki *Vibrio spp.* sayısının da yüksek olduğu saptanmıştır. Torbalarda kültüre edilen rotifer gruplarındaki toplam bakteri sayısının ilk üretim basamağındaki rotifer gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 18. Torbalardaki (70L) rotiferlerde bakteri sayısı

Şekil 19'de büyük torbalarda üretilen rotiferlerdeki bakteri gelişimi gösterilmiştir. Büyük torbalarda üretilen rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlara göre *I. galbana* ile kültüre edilen rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $13 \times 10^4 \pm 8,6 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $18 \times 10^3 \pm 6,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $22 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. *T. suecica* ile üretilen rotiferlerde toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $10 \times 10^3 \pm 9,7 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $11 \times 10^4 \pm 3,7 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $17 \pm 2,4 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$)'dir. *N. oculata* ile kültüre edilen rotiferlerde ise toplam *Pseudomonas spp.* sayısı $43 \pm 7,2 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* sayısı $18 \pm 2,1 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) ve toplam bakteri sayısı $18 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir.

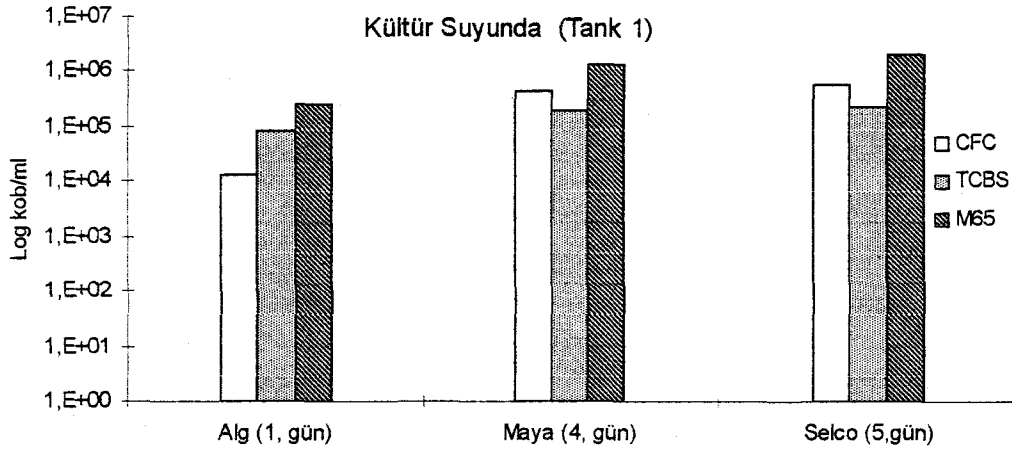
Büyük torbalarda I. deneme grubundaki rotiferlerin bakteri sayısının küçük torbalarda üretilen rotiferlere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda I. deneme grubundaki *Pseudomonas spp.* sayısı küçük torbalardaki rotiferlerde olduğu gibi diğer gruplara göre yüksek bir değerdedir. Bu torbalarda üretilen II. ve III. deneme grubundaki rotiferlerin toplam bakteri sayısında ise belirgin bir artış olmadığı saptanmıştır. II. deneme grubundaki rotiferlerin toplam *Vibrio spp.* sayısının ise diğer rotifer gruplarına göre yüksek bir değerde olduğu saptanmıştır.



Şekil 19. Büyük torbalardaki (350L) rotiferlerde bakteri sayısı.

Büyük hacimli rotifer kültürünün yapıldığı tank denemelerinde hem kültür suyu hem de rotiferden bakteriyel sayımlar yapılmıştır. I. tank denemesinden kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar Şekil 20’de verilmiştir. I. tankta alg ile besleme sonrası kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $13 \pm 1,7 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $84 \pm 14 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $24 \pm 1,6 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir.

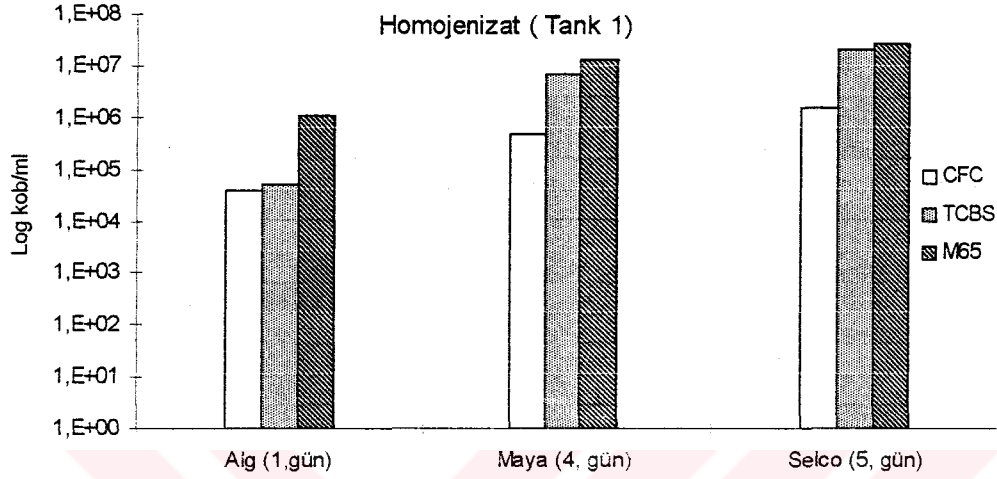
Rotiferlere uygulanan maya beslenmesinden sonra kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $45 \pm 7,5 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $20 \pm 1,1 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $13 \times 10^5 \pm 6,0 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Rotifer kültürünün en son protein selco ile zenginleştirilmesinden sonrası kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlara göre , toplam *Pseudomonas spp.* $56 \pm 5,5 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $23 \times 10^5 \pm 1,0 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $20 \pm 1,1 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Kültür suyunda yapılan bakteriyel sayımlarda, 1. günden 5. güne toplam bakteri sayısı , toplam *Pseudomonas spp.*, toplam *Vibrio spp.* sayılarının belirgin bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. 1. tanktaki kültürü suyundan yapılan bakteriyel sayımlar

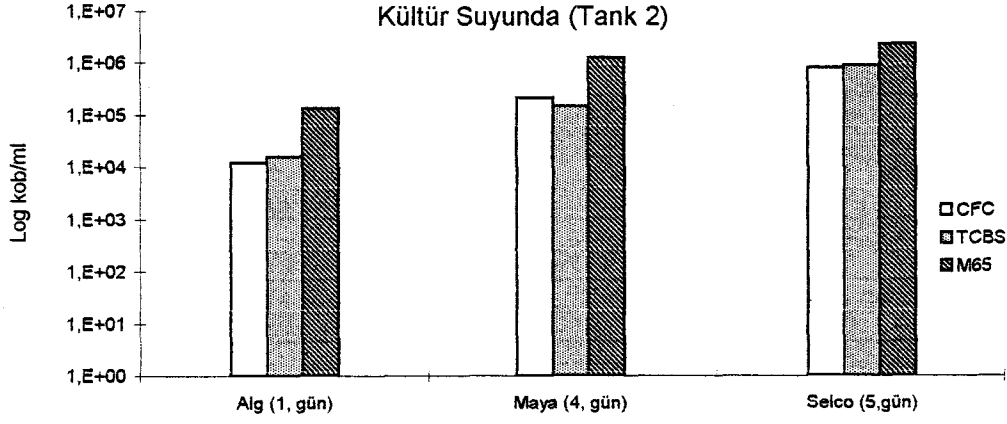
1. tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar Şekil 21’de gösterilmiştir. Tank denemesinde 1. günde alg ile beslenen rotiferlerden yapılan bakteri sayımlarında, toplam *Pseudomonas spp.* $40 \pm 3,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $54 \pm 10 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $11 \times 10^5 \pm 7,2 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. 4. gün maya beslemesinden sonra rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar da toplam *Pseudomonas spp.* $47 \pm 6,6 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $68 \pm 9,8 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $13 \times 10^6 \pm 7,3 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. Maya ile beslenen rotiferlerde toplam *Vibrio spp.* sayısı , toplam *Pseudomonas spp.* sayısına göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Aynı zamanda toplam bakteri sayısının da arttığı tespit edilmiştir. Rotifer kültürüne protein selco ile zenginleştirme yapılmasından sonra rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $14 \pm 1,0 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $20 \times 10^6 \pm 9,6 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı, $25 \pm 1,6 \times 10^6$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. Protein selco ile zenginleştirilen rotiferlerdeki *Vibrio spp.* ve toplam bakteri miktarının başlangıçtaki bakteri miktarına göre yüksek olduğu ve bu artışın kültür suyundaki bakteriyel artışa paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

2. tank denemesinde kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlarda 1. gün toplam *Pseudomonas spp.* $12 \pm 1,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $16 \pm 2,7 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $13 \pm 2,5 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir.



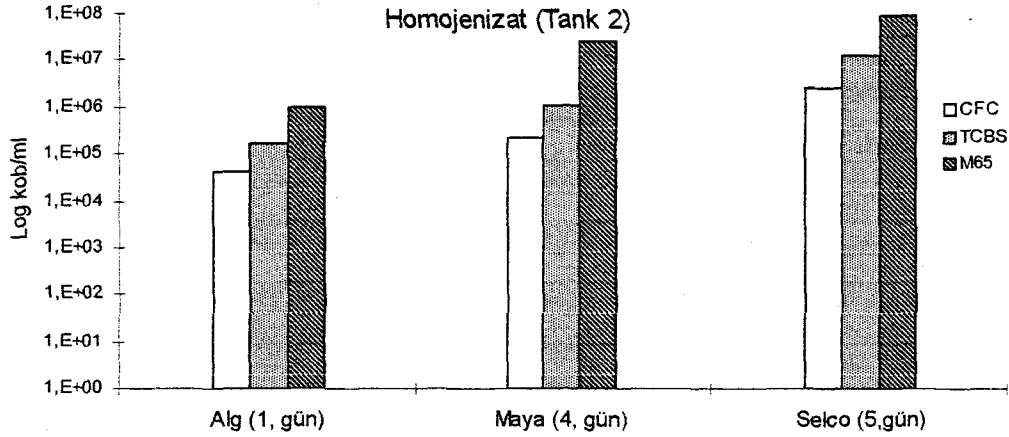
Şekil 21. 1. Tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar.

Rotiferlerin kültür suyunda maya beslemesinden sonraki 4. günde toplam *Pseudomonas spp.* $21 \pm 2,0 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $14 \pm 1,8 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $12 \pm 1,9 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak bulunmuştur. Protein selco ile zenginleştirme sonrası kültür suyundan 5. gün yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $80 \pm 7,9 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $89 \pm 11 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $22 \pm 3,2 \times 10^5$ kob/ml olarak bulunmuştur. Tank denemesinde beslemeye bağlı olarak 1. günden itibaren kültür suyundaki toplam *Vibrio spp.* ve toplam *Pseudomonas spp.* miktarı birbirine yakın değerlerde artış gösterirken toplam bakteri sayısında belirgin bir artış olduğu saptanmıştır.



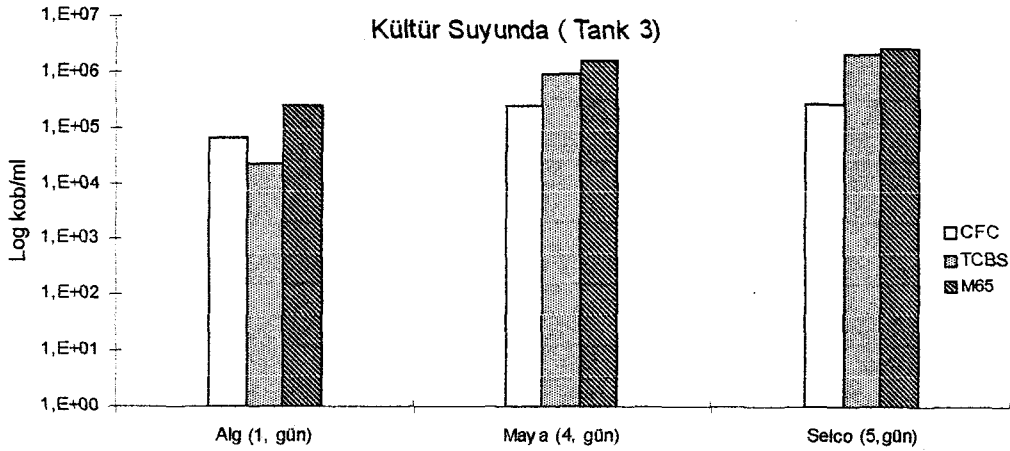
Şekil 22. 2. Tanktaki kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar

2. tankdaki rotifer kültüründe 1. gün rotiferden yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $44 \pm 4,410^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $17 \times 10^4 \pm 9,8 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $10 \pm 4,3 \times 10^5$ kob/ml ($P < 0,05$) olarak bulunmuştur. Rotiferlerden maya beslemesinden sonraki 4. gün yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $22 \pm 2,5 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $11 \pm 3,3 \times 10^5$ kob/ml ($P < 0,05$), toplam bakteri sayısı $24 \pm 1,4 \times 10^6$ kob/ml ($P > 0,05$) olduğu saptanmıştır. Toplam bakteri sayısı 1. güne göre belirgin bir artış göstermiştir. Protein selco ile zenginleştirilen rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $25 \pm 1,6 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $12 \times 10^6 \pm 8,8 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $92 \pm 24 \times 10^6$ kob/ml ($P < 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Rotiferlerde toplam bakteri sayısı ile birlikte toplam *Vibrio spp.* sayısı da yüksek olarak saptanmıştır.



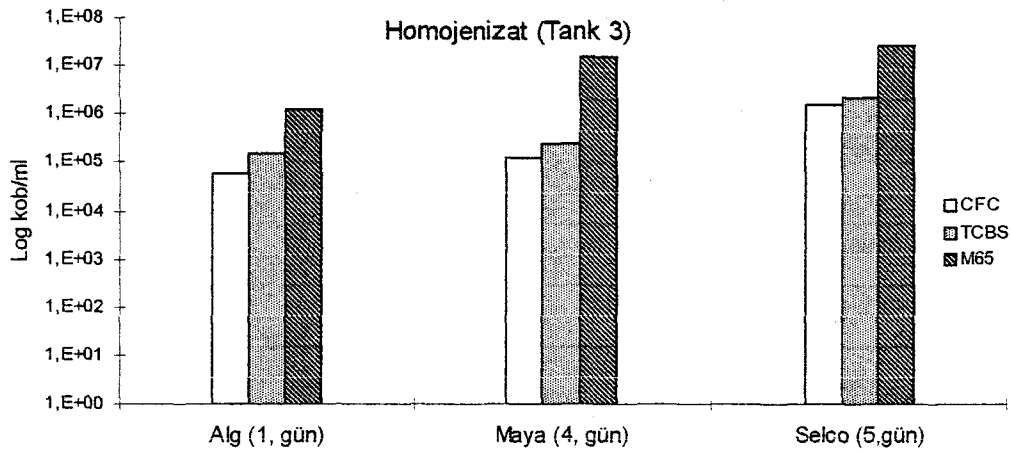
Şekil 23. 2.Tantaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar.

3. tank denemesinde rotiferlere alg ile besleme yapıldıktan sonra kültür suyundan bakteri sayımları yapılmıştır. Buna göre; toplam *Pseudomonas spp.* $68 \pm 9,7 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $22 \pm 2,1 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) toplam bakteri sayısı $24 \pm 1,6 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak tespit edilmiştir. Maya beslemesinden sonra 4. gün kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.*, $24 \pm 1,8 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $92 \pm 9,2 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $16 \pm 1,9 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. Kültür suyunda 5. gün protein selco ile zenginleştirme sonrası yapılan bakteri sayımlarına göre ise toplam *Pseudomonas spp.* $27 \pm 2,8 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $20 \pm 1,0 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $26 \pm 4,5 \times 10^5$ kob/ml olarak bulunmuştur. Kültür suyunda 1. günden 5. güne doğru bakteri sayılarında belirgin artış olduğu saptanmıştır.



Şekil 24. 3. Tanktaki kültür suyundan yapılan bakteriyel sayımlar.

Yoğun rotifer kültürü yapılan tank denemesindeki rotiferlerden 1. gün yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $58 \pm 9,2 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $14 \pm 2,8 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $12 \pm 1,2 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır. Maya beslenmesi sonu rotiferlerden yapılan bakteri sayımlarına göre toplam *Pseudomonas spp.* $12 \pm 1,1 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $25 \pm 1,9 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $15 \times 10^6 \pm 7,8 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak bulunmuştur. Protein selco ile zenginleştirilen rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlara göre toplam *Pseudomonas spp.* $14 \pm 1,9 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam *Vibrio spp.* $21 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$), toplam bakteri sayısı $26 \pm 2,5 \times 10^6$ kob/ml olarak bulunmuştur. Rotiferlerdeki toplam *Vibrio spp.* ve toplam *Pseudomonas spp.* sayısında maya ve protein selco ile besleme sonrası belirgin bir artış olmuştur. Rotiferlerdeki bakteri sayısı kültür suyundaki bakteri sayısına benzer şekilde artış göstermiştir. Buna karşın rotiferdeki bakteri sayısının kültür suyundaki bakteri sayısına göre daha yüksek miktarda olduğu saptanmıştır.



Şekil 25. 3. Tanktaki rotiferlerden yapılan bakteriyel sayımlar.

4.5. Bakterilerden Yapılan Biyokimyasal Testlerle İlgili Bulgular

Araştırma boyunca selektif besiyerleri *Pseudomonas*-CFC- agar (OXOID), TCBS chlorea Medium (OXOID) agar da oluşan tipik kolonilerden izole edilen bakterilerin biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Yapılan biokimyasal sonuçlara göre bakteriler cins seviyesinde belirlenmiştir. Buna göre *Pseudomonas*- CFC- agar dan izole edilen bazı suşlar *Pseudomonas spp.* TCBS Chlorea Medium'dan izole edilen bazı suşlar *Vibrio spp.* olarak tespit edilmiştir. Bakterilerin biyokimyasal testleri Çizelge 8'de verilmiştir.

Çizelge 8. İzole edilen bakterilerden yapılan biyokimyasal testler

<i>Biyokimyasal testler</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Vibrio spp.</i>
Gram Boyama	-	-
Hareketlilik	+	+
Pigment	+	-
Stokramoksidaz	+	+
Kataloz	+	+
Oksidasyon Fermantasyon (O/F)	O	F
O/129	-	+
Sitrat	-	+
Nitrat	+	+
Nitrit	-	+
H ₂ S	-	-
Jelatin	-	+
İndol	+	+
Voges porger	-	-
Glikoz- gaz	-	-
Glikoz	-	+
Laktoz	-	-
Sakkaroz	-	+
Inasitol	-	-
4°C	-	-
37°C	+	+
% 0 Tuzluluk (NaCl)	+	-
% 2 Tuzluluk (NaCl)	+	+
% 8 Tuzluluk (NaCl)	-	+

5. TARTIŞMA

Yoğun üretim yapan kuluçkahanelerde rotifer üretimi seçilen kültür metodu ve besin maddelerine bağlıdır. Araştırmada rotifer besini olarak kullanılan *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* ve *Nannochloropsis oculata*'dan oluşan algler üretim yapan kuluçkahanelerde rotifer beslemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Arnold and Holt, 1991; Kongkeo, 1991; Fulks and Main, 1991). Alg kültürlerinin ilk üretim basamağı olan 2L ve 6L'deki alg kültürlerinde *Isochrysis galbana* 55×10^7 h/ml, *Tetraselmis suecica* 90×10^7 h/ml ve *Nannochloropsis oculata* 200×10^7 h/ml'den oluşan maksimum hücre konsantrasyonlarına ulaştıkları saptanmıştır. Fulks and Main (1991) alg kültürlerindeki maksimum hücre konsantrasyonlarını *Isochrysis galbana*'da 2×10^6 h/ml, *Tetraselmis suecica*'da 2×10^6 h/ml ve *Nannochloropsis oculata*'da 38.10^6 h/ml olduğunu kaydetmiştir. Deneme alglerinin hücre konsantrasyonları araştırmacının belirttiği değerlerden daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum yığın kültür metoduna göre üretilen alg kültürlerine yüksek hücre konsantrasyonlarında başlanmış olmasına ve kültür koşullarına bağlıdır. Torbalarda (70L ve 350L) üretilen alg kültürlerine ise daha düşük hücre konsantrasyonunda başlanmış olmasından dolayı kültür sonunda ulaşılan hücre konsantrasyonları daha düşüktür. Özellikle 350L'lik torbalarda üretilen alg kültürlerinin aydınlatılmasında gün ışığından yararlanılması nedeni ile logaritmik safha daha uzun sürmüştür.

Ekim yapılan ilk gün gecikme fazındaki alg kültürlerinde büyüme hızı düşük olur ve kültür sonraki günlerde logaritmik faza ulaşarak hücre konsantrasyonu artar (Cirik ve Gökpınar, 1993). Alg kültürlerinde 2. günden itibaren başlayan logaritmik safhada alg türlerinin maksimum spesifik büyüme hızları üretim basamaklarına göre farklılıklar göstermiştir Şekil (2,3,4,5). Maksimum spesifik büyüme hızı (k) *Isochrysis galbana*'da 1,89 b/g, *Tetraselmis suecica*'da 2,00 b/g ve *Nannochloropsis oculata*'da 1,71 b/g olarak saptanmıştır. Farklı kültür koşullarında alg kültürleri üzerine yapılan bir çalışmada 25°C 'de, ‰ 33 tuzlulukta ve 24 saat aydınlatma ile

üretileen alglerdeki maksimum spesifik büyüme hızının; *Isochrysis galbana*'da 0,55 b/g, *Tetraselmis suecica*'da 0,46 b/g ve *Nannochloropsis oculata*'da 0,92 b/g olduğu bildirilmiştir (Hur, 1991). Deneme alglerindeki maksimum spesifik büyüme hızı belirtilen bu değere göre daha yüksektir.

Yığın rotifer kültüründe başarıyı etkileyen en önemli faktör rotiferlere yeterli kalite ve miktarda besin sağlanmasıdır (Lubzens, 1987). Denemede yığın kültür metoduna göre üretilen rotiferler yüksek hücre konsantrasyonundaki alg kültürlerine ekilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki *Chlorella sp.* ile beslenen rotifer kültürlerinde en iyi büyümenin denemede seçilen 50×10^6 h/ml'lik yüksek konsantrasyondaki alg ile beslenen rotiferlerde olduğu belirtilmiştir (Rezeq and James.,1987). Araştırmada yüksek alg konsantrasyonunda üretilen rotifer kültürlerinde büyümenin daha yüksek elde edilmesi bu sonuçla uyum göstermektedir.

İlk üretim basamağı olan 2L ve 6L'lik kaplarda yüksek konsantrasyonlardaki alglerle üretilen rotiferlerdeki maksimum spesifik büyüme hızı (k) *Isochrysis galbana* ile beslenenlerde 1,29 birey/ml, *Tetraselmis suecica* ile beslenenlerde 1,47 birey/ml ve *Nannochloropsis oculata* ile beslenenlerde 1,55 birey/ml olarak saptanmıştır. Beslendikleri alg türlerine göre farklı üretim basamaklarındaki maksimum rotifer sayısı *Isochrysis galbana*'da 590 birey/ml, *Tetraselmis suecica*'da 800 birey/ml ve *Nannochloropsis oculata*'da 680 birey/ml olarak tespit edilmiştir. *Tetraselmis* ile beslenen rotiferlerde popülasyon artışının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Planes and Estevez, 1989; Tamaru et al.,1991; Chen, 1991; Caric et al., 1993). Araştırmada rotifer kültürlerinde en yüksek birey sayısına *Tetraselmis suecica* ile ulaşılması bu bilgilerle benzerlik göstermektedir. Buna karşın *Isochrysis galbana* ile üretilen rotiferlerde popülasyon artışının yüksek olduğu bildirilmiştir (Korstad et al.,1989). Araştırmada ilk üretim basamaklarında *Isochrysis galbana* ile üretilen rotifer kültürlerinde birey sayısı yüksek olmasına rağmen büyüme hızı diğer deneme alglerinden daha düşük olarak bulunmuştur.

Büyük hacimlerde yoğun rotifer üretiminde maya ilave besin olarak kullanılır (Hirayama and Funamota, 1983; Sorgeloos and Leger, 1990). Maya ile besleme

yapılırken besin miktarının kültür koşullarına göre iyi belirlenmesi gerektiği bildirilmiştir (James *et al.*, 1987; Albaz, 1990). Aynı zamanda kültüre verilecek maya miktarının rotifer tipine (S ve L) ve su sıcaklığına bağlı olarak değişeceği belirtilmiştir (Morizane, 1991).Yapılan bir çalışmada farklı besleme programı uygulanan rotifer kültürlerinde populasyon gelişmesi izlenmiştir. Buna göre *Tetraselmis suecica*, *Isochrysis galbana* ve ekmek mayasından (*Saccharomyces cerevisiae*) oluşan besinlerin tek ve karışık olarak rotifer kültürlerine verilmesi sonucu *Tetraselmis suecica* ve *Tetraselmis suecica* + ekmek mayası ile yapılan beslemede büyüme hızının 0,72 b/g olduğu bildirilmiştir (Komis *et al.*, 1991). Araştırmada büyük hacimli rotifer kültürünün yapıldığı tanklarda Loix and Freed (1985) göre besleme programı uygulanmıştır. Denemede her 3 tankta da rotifer populasyonu kültür süresince birbirine paralel olarak artmış ve en yüksek birey sayısı 2. tankta 780 birey/ml olarak tespit edilmiştir.Buna göre *Tetraselmis suecica* + maya + protein selko ile beslenen rotifer kültüründe maksimum spesifik büyüme hızı 0,64 b/g olarak bulunması bu bilgilerle benzerlik göstermektedir.

Alg ve rotifer kültüründe mikrobiyolojik koşullara uygun olarak çalışmak esastır. Üretim tümü ile kontrollü şartlarda yapılsada elde olmayan nedenlerle bakteri yada siliyat gibi kontaminasyon kaynaklarının üretimi sınırlama riski her zaman mevcuttur (Cirik ve Gökpınar, 1993). Alg, rotifer ve larvadan oluşan besin zincirinde alg kültürlerindeki bakteriyel kontaminasyona karşı kontrolün önemli olduğu ve özellikle patojen bakterilerin rotiferlerle larvaya taşındığı bildirilmiştir (Sato, 1991; Nicolas *et al.*,1989). Yetiştiricilik ünitesinde en önemli bakteriyel kontaminasyon kaynaklarının alg stokları olduğu ve toplam bakteri sayısı yüksek olan alg kültürlerinin sistemden uzaklaştırılması gerektiği belirtilmiştir (Donaldson, 1991). Araştırmamızda farklı hacimlerde üretilen alg ve rotifer kültürleri stok kültürlerden başlayarak farklı üretim basamaklarındaki bakteriyel flora kantitatif olarak izlenmiştir.

Alg kültürlerinin ilk üretim basamağı olan 2L ve 6L'de üretilen alg türlerinde toplam bakteri sayıları (Şekil 11,12), 70L ve 350L'lik torbalardaki (Şekil 13,14) alg

kültürlerine göre daha düşük olarak saptanmıştır. 2-6L'lik kaplarda üretilen alg kültürlerinde elde edilen bu sonuçların, kullanılan deniz suyunun etüvde 180°C'de 5 saat sterilize edilmiş olması ve alg ekimlerinin mikrobiyolojik koşullara uygun olarak yapılması ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Torbalarda üretilen alg kültürlerinde toplam bakteri sayısının yüksek olması ise kültürlerde sadece UV'den geçmiş deniz suyunun kullanılması ve ekim sırasında meydana gelebilecek kontaminasyonların etkisi olduğu, ayrıca aşı olarak kullanılan alg kültürlerinde belirli miktarda bakteri bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Stok alg kültürlerinin kontaminasyondan korunması için kültürlerde kullanılacak zenginleştirici ortamın otoklavda sterilize edilerek, alg ekimlerinin mikrobiyolojik tekniklere uygun olarak yapılması ve stok alglerin saf kültür odasında muhafaza edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Sato,1991). *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* ve *Nannochloropsis oculata*'nın 2L'lik ilk üretim basamağındaki kültürlerinde *Vibrio spp.* sayısı $30 < 50 \pm 6,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), *Pseudomonas spp.* sayısı $30 < - 79 \pm 8,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) arasında değişim göstermiştir. Aynı koşullarda üretilen alg türlerinin 6L'lik balonlarda yapılan kültürlerinde *Vibrio spp.* sayısı $30 < - 77 \pm 3,9 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), *Pseudomonas spp.* sayısı $30 < - 33 \pm 3,0 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) olduğu saptanmıştır. Torbalarda yapılan alg türlerinin kültürlerinde ise 70L'lik torbalarda *Vibrio spp.* sayısı $7,1 \pm 60 - 80 \pm 14 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), *Pseudomonas spp.* sayısı $710 \pm 78 - 92 \pm 8,8 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), 350L'lik torbalarda *Vibrio spp.* sayısı $54 \pm 1,2 \times 10^2 - 34 \pm 28 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$), *Pseudomonas spp.* sayısı $81 \pm 6 - 420 \pm 57$ kob/ml ($P > 0,05$) arasında saptanmıştır. Torbalardaki alg kültürlerindeki toplam bakteri sayısı başlangıç kültürlerine göre artmasına karşın *Vibrio spp.* ve *Pseudomonas spp.* sayıları çok fazla artmamıştır. Kontrollü koşullarda yapılan 2L ve 6L'deki alg kültürlerinde *Vibrio spp.* ve *Pseudomonas spp.* bulunması muhtemelen aşı kültürlerden kaynaklanıyor olabilir. Levis *et al.*, (1988) yığın kültür sisteminde bakteri girişine neden olan kaynakların mikroalg başlangıç kültürlerinin aksenik olmaması ve kullanılan deniz suyunun

yeterince steril olmamasından ileri geleceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada pastörize edilen deniz suyunda 500L'lik kaplarda üretilen alg kültürlerindeki bakteri sayısını $6,27 \pm 0,73$ bakteri/ml, $0,2 \mu\text{m}$ 'lik filtreden geçen deniz suyu kullandıklarında ise alg kültürlerindeki bakteri sayısının $5,79 \pm 0,62$ bakteri/ml olduğunu bildirmişlerdir. Başlangıç kültürlerde (2L ve 6L) etüvde sterilize edilmiş deniz suyu ile üretilen alg kültürlerindeki bakteri sayısı araştırmacının belirttiği değerlerden daha yüksektir.

Nicolas *et al* (1989) 20L'lik kaplarda yarı sürekli kültür metoduna göre ürettiği *Platymonas suecia* kültüründeki toplam bakteri sayısını $2,6 \pm 1,7.10^6$ cfu/ml ve *Vibrio spp.* sayısını $< 0,01.10^3$ cfu/ml, *Pavlova lutheri*'deki toplam bakteri sayısını $6,1 \pm 7,2.10^6$ cfu/ml ve *Vibrio spp.* sayısını $0,3 \pm 0,6.10^3$ cfu/ml olarak bildirmiştir. Yığın kültür metoduna göre üretilen deneme alglerinde maksimum toplam bakteri sayısı *Isochrysis galbana*'da $13 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P>0,05$), *Tetraselmis suecica* $13 \pm 1,2 \times 10^4$ kob/ml ($P>0,05$) ve *Nannochloropsis oculata*'da $70 \pm 5,8 \times 10^3$ kob/ml ($P>0,05$) olarak, *Vibrio spp.* sayısı ise *Isochrysis galbana*'da $65 \pm 8,8 \times 10^2$ kob/ml ($P>0,05$), *Tetraselmis suecica*'da $54 \pm 12 \times 10^2$ kob/ml ($P>0,05$) ve *Nannochloropsis oculata*'da $34 \pm 2,8 \times 10^3$ kob/ml ($P>0,05$) olarak tespit edilmiştir. Deneme alglerindeki toplam bakteri sayısı Nicolas *et al* (1989) bildirdiği sayılardan daha düşük olmasına karşın *Vibrio spp.* sayıları araştırmacıların sonuçlarına göre daha yüksek olarak bulunmuştur.

Rotifer kültürlerindeki bakteriyel floranın kalitatif ve kantitatif durumu hakkında çok az bilgi vardır. Gatesoupe (1989) rotifer kültüründeki bakteriyel floranın büyük ölçüde *Pseudomonas spp.* den oluştuğunu, Miyakawa and Muroga (1988) ise *Pseudomonas spp.* nin %62'lik bir oranla baskın bakteri grupları olduğunu belirtmiştir. Verdonck *et al.*, (1994) iki üretim çiftliğindeki rotifer kültürlerinden yapılan bakteriyel sayımlarda başlangıç kültürlerde *Vibrio spp.* % 45-73 oranında, yoğun kültürlerde ise *Vibrio spp.* %15-67 oranında bulunduğunu bildirmiştir. Tanasomwang and Muroga (1989, 1990) ve Muroga *et al* (1987) ise rotifer

kültürlerinde yaptıkları çalışmalarda başlangıç kültürlerdeki *Vibrio spp.* % 6,5 - 35,9 oranında bulunduğunu saptamışlardır. Rotifer kültürlerinde dominant bakteri grupları olan *Vibrio* ve *Pseudomonas* suşlarının bazı türlerinin larvalarda patojenik etki yaptığı ve bu bakterilerin larvaya taşınmasının ise rotiferlerle olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Tanasomwang and Muroga, 1988; Muroga *et al.*, 1990; Yamanoi *et al.*, 1990).

Araştırmada farklı üretim basamaklarındaki rotifer kültürlerinde bu grup bakterilerin kantitatif sayımları yapılmıştır. Stok rotifer kültürlerindeki (500ml) rotiferlerin bakteriyel yükünü belirlemek için yapılan sayımlarda *Nannochloropsis oculata* ile beslenen rotiferlerde toplam bakteri sayısı $74 \pm 7,6 \times 10^2$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak diğer gruplara göre daha düşük değerde bulunmuş fakat üretim basamaklarında yoğun kültürlerdeki bu rotiferlerde toplam bakteri sayısı artış göstermiştir. Torbalarda (350L) üretilen rotiferlerdeki toplam bakteri sayıları *Isochrysis galbana* ile beslenenlerde $22 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$), *Tetraselmis suecica* ile beslenenlerde $16 \pm 2,4 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$) ve *Nannochloropsis oculata* ile beslenenlerde $18 \times 10^4 \pm 4,4 \times 10^3$ kob/ml ($P > 0,05$) olarak saptanmıştır.

Araştırmada *Isochrysis galbana* kültürlerindeki *Pseudomonas spp.* sayısının *Vibrio spp.* sayısına göre daha yüksek olduğu ve bu alglerle beslenen rotiferlerdeki *Pseudomonas spp.* sayısının da yüksek bir değerde olduğu saptanmıştır. Öte yandan *Tetraselmis suecica* kültürlerinde ise *Vibrio spp.* sayısının yüksek olduğu ve bu alglerle beslenen rotiferlerdeki *Vibrio spp.* sayısının da yüksek olarak bulunması dikkat çekicidir. Bu durum alg kültürlerindeki bakteri miktarı ile rotifer kültürlerindeki bakteri miktarı arasında bir ilişki olduğunun göstergesidir. Zira rotiferlerin bünyesinde taşıdığı bakteri miktarının sindirim sisteminden ziyade rotiferin dış çevresindeki bakteri miktarı arasında bir paralellik olduğu bildirilmiştir (Munro *et al.*, 1993). Araştırmada 2L, 6L, 70L ve 350L üretim basamaklarındaki alg ve rotifer kültürlerindeki bakteri miktarları birbirine paralel artış ve inişler göstermekle birlikte rotiferlerdeki bakteri sayıları daha yüksek olarak bulunmuştur.

Bu durumun üretime başlarken rotiferlerin dış çeperlerinde belirli miktarda bakteri taşınması, rotifer ekimlerinde bakteriyel kontaminasyon olması, yenmeyen ya da ölü alg hücreleri ve rotiferlerin metabolik atıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Büyük hacimli rotifer üretimi yapılırken kültürü kontaminasyona karşı korumak daha zordur ve genellikle dezenfeksiyon için sodyum hipoklorid kullanılır. Bu işlem özellikle protozoanlara karşı kullanılan bir önlemdir fakat bakteriyel kontaminasyonu önlemek için yetersizdir (Sato, 1991; Donaldson, 1991). Rotifer kültürlerindeki bakteriyel floranın kalite ve kantitesinin beslenmeye bağlı olarak değişim gösterdiği bildirilmiştir (Qie *et al.*, 1994). Denemede büyük hacimli rotifer kültürü için oluşturulan besleme programına göre rotifer ve kültür suyundaki bakteriyel flora kantitatif olarak izlenmiştir. Araştırmada oluşturulan 3 tank denemesinde Çizelge 4’de belirtilen besleme programı uygulanmıştır. Tanklardan alg, maya ve protein selco ile besleme sonrası hem kültür suyu hemde rotiferlerden bakteriyel sayımlar yapılmıştır. Buna göre tanklarda kültür suyundaki toplam bakteri sayısı alg beslemesinden sonra $13 \pm 2,5 \times 10^4$ - $24 \pm 1,6 \times 10^4$ kob/ml ($P > 0,05$), maya beslemesinden sonra $12 \pm 1,9 \times 10^5$ - $16 \pm 1,9 \times 10^5$ kob/ml ($P > 0,05$) ve protein selco beslemesinden sonra $22 \pm 3,2 \times 10^5$ - $26 \pm 4,5 \times 10^5$ kob/ml’lik ($P > 0,05$) değerler arasında değişim göstermiştir. Rotiferlerdeki toplam bakteri sayısı ise alg beslemesinden sonra $94 \pm 23 \times 10^4$ - $12 \pm 1,2 \times 10^5$ kob/ml, maya beslemesinden sonra $13 \times 10^6 \pm 7,3 \times 10^5$ - $24 \pm 1,4 \times 10^6$ kob/ml ($P > 0,05$), protein selco beslemesinden sonra $25 \pm 1,6 \times 10^6$ - $92 \pm 24 \times 10^6$ kob/ml’lik ($P > 0,05$) değerler arasında olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda uygulanan bu besleme programına göre kültür suyu ve rotiferlerdeki *Vibrio spp.* ve *Pseudomonas spp.* sayılarında da artış olduğu tespit edilmiştir şekil (20,21,22,23,24,25). Ayrıca tanklardaki rotifer kültürlerinde son güne doğru rotifer popülasyonunun arttığı ve oksijen miktarı düşerken amonyum miktarının yükseldiği belirlenmiştir. Tank kültürlerinde yüksek birey sayısına ulaşan rotiferlerin metobolik atıklarının yanısıra yenmeyen besin artıklarından dolayı organik maddenin

parçalanmasının su kalitesindeki bozulmaya ve bakteriyel artışa neden olduğu düşünülmektedir. Kuluçkahanelerde larvaya verilecek rotiferin besin içeriğinin artırılması amacıyla protein selco gibi yağ asitlerince zengin ticari ürünler yaygın olarak kullanılmaktadır. Rotiferlerin besin içeriğini artırmada kullanılan bu ürünlerin rotiferlerdeki bakteri miktarını artırdığı ve bu rotiferlerle beslenen larvaların yaşama oranının düşük olduğu bildirilmiştir (Gatesoupe, 1982,1989). Qie *et al* (1994) yaptıkları çalışmada rotiferleri alg ve maya + yağ ile beslemişler ve alg ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayısının 77-140 cfu/ml iken maya + yağ ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayısının 750 cfu/ml olduğunu belirtmişlerdir. Skjermo and Vadstein (1993) kültüründeki rotiferlerin besin içeriğini artırmak için kalamar unu kullandıklarında rotiferlerdeki bakteri yükünün % 50 - 150 oranında arttığını kaydetmişlerdir. Miyakawa and 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, rotiferlerdeki bakteri sayısı 10^7 - 10^8 cfu/g olduğunu bildirmişlerdir. Rotiferlerdeki en yüksek bakteri sayısının maya + yağ beslemesinden sonra olduğunu ve larvaya verilecek rotiferler için bu bakteri miktarının yüksek olduğunu ayrıca larvanın yaşama oranını olumsuz yönde etkileyeceğini kaydetmişlerdir. Tanklardaki beslemeye göre bakteriyel artış değerlendirildiğinde en yüksek bakteri sayıları protein selco ile beslenen rotiferlerde saptanmıştır. Araştırmada yağ asitlerince zengin protein selco ile beslenen rotiferlerdeki bakteri sayılarının yüksek olarak saptanması araştırmacıların belirttiği bilgilerle benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı besleme uygulanan stok rotifer kültürlerinden başlayarak yoğun kültür ve büyük hacimli rotifer kültürlerinden oluşan üretim zincirindeki bakteriyel flora kantitatif olarak tespit edilmiştir. Rotifer besini olarak seçilen *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* ve *Nannochloropsis oculata* türlerinin başlangıç ve yoğun kültürlerindeki bakteriyel florada kantitatif olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda alg kültürlerinin hücre yoğunlukları ve rotifer kültürlerindeki birey sayıları da tespit edilmiştir. Rotiferlerdeki maksimum birey sayısı *Tetraselmis suecica* ile beslenen rotifer kültüründe elde edilmiş. Başlangıç alg ve rotifer kültürlerindeki bakteri sayılarının yoğun kültürlerle göre daha düşük miktarda olduğu, büyük hacimli rotifer kültürlerinde ise bakteri sayılarının en yüksek sayıya ulaştığı belirlenmiştir. Büyük hacimli rotifer kültürlerinde beslemeye bağlı olarak bakteri sayıları maya ve protein selco ile beslenen rotiferlerde daha yüksek olmasına rağmen protein selco ile besleme sonrası rotiferlerdeki bakteri miktarının en yüksek sayıya ulaştığı saptanmıştır.

Deniz balığı yetiştiriciliğinde başarı larvanın ilk beslenme periyodunda önemli bir besin organizması olan *Brachionus plicatilis*'in yeterli kalite ve miktarda üretilmesine bağlıdır. Rotifer kültüründeki bakteriyel floranın kontrolü, larvanın büyüme ve yaşama oranını olumsuz yönde etkileyen patojen bakterilerin rotiferlerle larvaya taşınmasını engelleyecektir. Rotifer kültüründe bakteriyel kontaminasyona karşı kontrol üretim sistemindeki alg ve rotifer kültürlerinin mikrobiyolojik koşullara uygun olarak kontrollü şartlarda yapılmasına bağlıdır.

Üretim yapan kuluçkahanelerde bakteriyel kontaminasyona karşı aşağıda belirtilen bazı önlemler alınabilir. Canlı yem ünitesinde kullanılacak deniz suyu steril olmalı ve bu amaçla çalışan UV lambaları sık sık kontrol edilmelidir. Stok alg ve rotifer kültürleri ile küçük hacimli başlangıç kültürlerde kullanılacak suyun otoklavda sterilize edilmesi ve bu kültürlerin saf kültür odasında muhafaza edilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra alg kültürlerinde kullanılan zenginleştirici ortam steril

olarak hazırlanmalıdır ve kültürde kullanılan kaplar steril olmalıdır. Havalandırma sisteminden kaynaklanabilecek kontaminasyonlarında önlenmesi gerekmektedir. Canlı yem ünitesinde alg ve rotifer üretimine başlarken bakterisiz stok kültürler kullanılmalı ve bakteri sayısı yüksek olan kültürler sistemden uzaklaştırılmalıdır. Ayrıca rotiferlerin besin içeriğinin artırılması amacıyla yağ asitlerince zengin besin maddelerinin kültürlerde kullanılmasında daha dikkatli davranılması bakteriyel yükün artmasını engelleyecektir. Deniz balıkları larvalarının ilk beslenme periyodunda larvanın yaşama oranının artırılması için rotifer kültürlerindeki bakteriyel floranın kalite ve kantitesinin belirlenmesi ve rotiferlerdeki bakteri yükünün azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Alpbaz, A. G., 1990, Deniz Balıkları Yetiştiriciliği, Ege Üniv. Su Ürün. Fak. Yayın No: 20, 350 s.
- Alsina, M. and Blanch, A. R., 1994, A set of keys for biochemical identification of environmental *Vibrio* species, Journal of Applied Bacteriology, 76: 79 -85.
- Arda, M., 1985, Genel Bakteriyoloji, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ank. Basımevi Yayın No: 402, 531 s.
- Arnold, C. R., and Holt, G. J., 1991, Various methods for the culture of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, in Texas, in: Fulks W. Main, K., the Rotifer and Microalgae Culture Systems Proceedings of U. S. Asia, Honolulu, 119 - 123.
- Austin, B., 1988, Methods in Aquatic Bacteriology, John Wiley and Sons, 425 p.
- Austin, B., Austin, D.D., 1989, Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish, Ellis Harwood Lmt. 317 p.
- Birky, C. W., 1967, Rotifers methods in developmental biology in wilt, F. H., Wessells, N. K., Newyork, Thomas, Y. Crowell Company, 225 - 255.
- Caric, M., Sanko- Njire, J. and Skaramuca, B., 1993, Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis* - Müller), Aquaculture, 110: 141-150.
- Chen, X. Q., and Long, L. J., 1991, Research and production of live feeds in China, in., Fulks, W. Main, K. the Rotifer and Mikroalgal Culture Systems Proceedings of U.S. Asia Honolulu, 187-201.
- Cirik, S., Gökpınar, Ş., 1993, Plankton bilgisi ve kültürü, E. Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 47, Ders Kitabı No: 19 İzmir, 274s.
- Collins, C. H. and Lyne, M. P., 1979, Microbiological Methods, Butterwerths and Co. Publishers, London.

- Colorni, A., Zimera, O., and Kuttin, E.S., 1991, Systemic infection in the rotifer *Brachionus plicatilis* by an invasive yeast, Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol., 11 (3): 116.
- Comps. M., Menu, B., Brevil, G., and Bonami, J.R., 1993, Viral infection associated with rotifer mortalities in mass culture, Aquaculture ,93: 1 -7.
- Donaldson, J., 1991, Commercial production of microalgae at coast oyster company in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proceedings of a U.S. Asia, Honolulu, 229-237.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F., 1993, İstatistik Metotları II. Baskı, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yay. 1291, Ders kitabı 369, Ank Üniv. Ziraat Fak. Baskı Ofset Ünitesi, 218 s.
- Edmondson, W.T., 1959, Fresh - Water biology, Second Edition, Vol: 18, 1248p.
- Fu, Y., Hirayama, K., and Natsukari, Y., 1991a, Morphological differences between two types of the rotifer *Brachionus plicatilis* of Muller, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 151: 29 -41.
- Fu. Y., Hirayama, K., and Natsukari, Y., 1991b, Genetic divergence between S. and L. type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller, J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 151: 43 - 56.
- 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 Tungkang Marine Laboratory, 127 - 139.
- Fukusho, K., 1989, Biology and mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis* (1), Int. J. Ag. Fish. Technol, Vol., 1: 232 - 240.
- Fulks: W., and Main, K. L., 1991, Rotifer and microalgae culture systems, proceedings of a U. S. Asia Workshop, Honolulu, Hawaii, 355p.
- Gatesoupe, F. J., 1982, Nutritional and antibacterial treatments of live food organisms: 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., 1990a, The continuous feeding and turbot larvae *Scophthalmus maximus*, and control of the bacterial environment of rotifers, Aquaculture, 89: 139 - 148.
- Gatesoupe, F.J., Fukusho, K. and Watanabe, T., 1990b, The bacterial growth in rotifers *Brachionus plicatilis* as food for fish larvae, In: Ed. By. Lesel R. Microbiology in Poecilotherms Proceedings of the International Symposium on Microbiology in Poecilotherms, 235 - 238.
- Gatesoupe, F. J., 1991a, The use of probiotics in fish hatcheries result and prospect, Mariculture Committee, Paper No: 37, 1 - 6.
- Gatesoupe, F. J., 1991b, Bacillus sp. spores as food additive for the rotifer *Brachionus plicatilis*: Improvement of their Bacterial Environment and their Dietary Value for Larval Turbot, *Scophthalmus maximus*, 1. Fish Nutrition in Practice, Biarritz (France), 560 - 568.
- Gatesoupe, F. J., 1991c, The effect of three strains of lactic bacteria on the production rate of rotifers *Brachionus plicatilis* and their dietary value for larval turbot *Scophthalmus maximus*, Aquaculture, 96: 335 - 342.
- Gatesoupe, F. J., 1994, Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*, Aquat. Living Resour., 7: 277 - 282.
- Gatesoupe, F. J., 1995, A method for the early assessment quality turbot larvae, Aquaculture International, 3: 150-154.
- Grisez, L., Ceusters, R. and Ollevier, F., 1991, The use of API 20E for the identification of *Vibrio anguillarum* and *V. ordalii*, Journal of Fish Disease, 14: 359 - 365.

- Hagiwara, A., and Hino, A., 1989, Effect of incubation and preservation on resting egg hatching and mixis in the derived clones of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, 186 / 187: 415 - 421.
- Hagiwara, A., Lee, C. S., Miyamoto, G., Hino, A., 1989, Resting egg formation and hatching of the S type rotifer *Brachionus plicatilis* at varying salinity, *Marine Biology*, 103: 327-332.
- Hagiwara, A., Hamada, K., Nishi, A., Imaizumi, K., Hirayama, K., 1993, Mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis* resting eggs in 50 m³ tanks, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59 (1): 93-98.
- Hagiwara, A., Hamada, K., Hori, S., and Hirayama, K., 1994, Increased sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera) with the addition of bacteria and rotifer extracts, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 181: 1 - 8.
- Hagiwara, A., 1994, Practical use of rotifer cysts, the *Israel Journal of Aquaculture*, Bamidgah, 46 (1): 13 - 21.
- Hagiwara, A., Hoshi, N., Kawahara, F., Tominaga, K., and Hirayama K., 1995, Resting eggs of the marine rotifer *Brachionus plicatilis* Müller: Development and Effect of Irradiation on Hatching, *Hydrobiologia*, 313 / 314: 223 -229.
- Hino, A., and Hirano, R., 1984, Relationship between body size of the rotifer *Brachionus plicatilis* and minimum size of particles ingested, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50: 1139-1144.
- Hirayama, K., and Funamoto, H., 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., 1987, A consideration of why mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with bakers yeast unstable, *Hydrobiologia*, 147: 269-270.
- Hirayama, K., Maruyama, I., and Maeda, T., 1989, Nutritional effect of freshwater chlorella on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, 186/187: 39-42.

- Hirayama, K., and Hagiwara, A., 1995, Recent advance in biological aspect of mass culture of rotifer (*Brachionus plicatilis*) in Japan, ICES Mar. Sci. Symp., 201: 153 - 158.
- Hoff, F. H., and Snell, T. W., 1987, Plankton culture manual, florida aqua farms, Inc., 125p.
- Hur, S. D., 1991, The selection of optimum phytoplankton species for rotifer culture during cold and warm seasons and their nutritional value food marine finfish larvae in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 163-173.
- James, C. M., Dias, P., and Salman, A. E., 1987, The use of marine yeast (*Candida sp.*) and bakers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in combination with *Chlorella sp.* for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, Hydrobiologia, 147: 263 - 268.
- Kasuda, R., Yokoyama, J., and Kawai, K., 1986, Bacteriological study on cause of mass mortalities in cultured black seabream fry, Bull. of the Jap. Soc. of Scien. Fish., 52 (10): 1745 - 1751.
- Kissil, G.Wn., Kovan, W. M., 1989, Preparation of oils enhanced in highly unsaturated fatty acid (HUFA) content, by low temperature crystallization seperation, for rotifer (*Brachionus plicatilis*) enrichment, Aquaculture, 88: 69-77.
- Kolisko, A.R., 1974, Plankton Rotifers Biology and Taxonomy, E. trans by Kolisko G., E. Schweizerbartsche Verlongsbuchhundlung, Stuttgart 146 p.
- Komis, A., Candreva, P., Franicevic, U., Morau, V., Van Ballaer E. Leger, Ph., Sorgeloos, P., 1991, Successfull 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.

- Konkeo, H., 1991, An overview of live feeds production systems desing in Thailand.
in : Fulks, W., Main K., The Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proce
Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 175-186.
- Koray, T., 1993, Su Ürünleri Araştırmalarında Biyometrik Yöntemler, Ege Üniv. Su
Ürünleri Fak. Yayınları 1, 166 s.
- Lavens, P., Sorgeloos, P., Dhert, P., Devresse, B., 1992, Latest developments in
larval food production, Aquaculture and Fisheries Management (In Press), 1-9.
- Levis, T. E., Garland, C. D., O'brien, T. D., Fraser, M. I., Tong, P. A., Ward, C. Dix,
T. G., and Mcmeekin, T. A., 1988, The use of 0,2 µm membranc filtered
seawater for improved control of bacterial level in microalgal cultures fed to
larval pacific oysters (*Crassostrea gigas*), Aquaculture, 241 - 251.
- Liao, I. C., Su, M. S., Su, H. M., 1991, An overview of the live feeds production
system desing in Taiwan ,in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and
Microalgae Culture Systems, Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 135 - 151.
- 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.
- Lubzens, E., 1987, Raising rotifer for use in aquaculture, Hydrobiologia ,147: 245 -
255.
- Lubzens. E., 1989, Possibble use of rotifer resting eggs and preserved live rotifer
(*Brachionus plicatilis*), In: eds. By. Pauw. N. De., Jaspers E., Ackefors. H.,
Wilkins, N., European Aquaculture Society, Bredene, Belgium, 741 -750.
- Lubzens, E.,Tandler, A., and Minkoff, G., 1989, Rotifers as food in aquaculture,
Hydrobiologia, 186/187: 387 - 400.
- Maeda, M., 1988, Microorganisms and protozoa as feed in mariculture, Prog.
Oceanog., Vol: 21, 201 - 206.
- Maeda, M., and Hino, A., 1991, Environmental management for mass culture of the
rotifer *Brachionus plicatilis*, Rotifer and Microalgal Culture Systems,
Proceedings of a U. S. - Asia Workshop, Honollulu. 119 - 123.

- Maeda, M., and Liao, I. C., 1992a. Effect of bacterial population on the growth of a prawn larva, *Penaeus monodan*, Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture. No: 21, 25 - 29.
- Maeda, M., Nogami, K., and Ishibashi, N., 1992b, Utility of microbial food assemblages for culturing a crab, *Portunus trituberculatus*, Bull. Natl. Res. Inst. Aqua. No: 21, 31-38.
- Maeda, M. and Liao, C. L., 1994, Microbial process in aquaculture environment and their importance for increasing crustacean production, Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JARQ) Vol: 28, No: 4 283 - 288.
- Maeda, M., 1994, Biotechnology of microorganisms in aquaculture, Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, No: 23, 1 - 15.
- Maeda, M., 1994. Biocontrol of the larval rearing biotope in aquaculture, Bull. Natl. Res. Inst. Aqua. Suppl., 1: 71 - 74.
- Manuel, R., 1986. Fresh-Water Life of Britain and North - West Europe, London, Chapter 14, 382p.
- May, L., 1987. Effect of incubation temperature on the hatching of rotifer resting eggs collected from sediments, Hydrobiologia, 147: 335 - 338.
- Minkoff, G., Lubzens, E., and Kahan, D., 1983, Environmental factors affecting hatching of rotifer (*Brachionus plicatilis*) resting eggs, Hydrobiologia, 104: 61-69.
- Minkoff, G., Blanch, A. R., Alsina, M., and Jofre, J.T., 1992, Control of microflora associated with rotifer *Brachionus plicatilis* ISR-J. Aquacult. Bamidgeh, Vol. 44, No. 4, 130
- Miyakawa, M., and Muroga, K., 1988, Bacterial flora of cultured *Brachionus plicatilis*, Suisanzoshoku, 63: 237 - 247.
- Moon, Y. B., 1981, Optimal density of Initial Inoculation of the rotifer and optimal density chlorella for sustainable daily harvest of rotifer, Bull. Korean Fish. Soc. Vol: 14, No: 2, 86-93

- Munro, P. D., T. H., and Barbour, A., 1993, Bacterial flora of rotifer (*Brachionus plicatilis*): Evidence for a major location on the external surface and methods for reducing the rotifer bacterial load, Fish Farming Technology Reinertsen, Dahle, Trondheim - Norway, 93 - 100.
- Muroga, K., Higashi, M., and Keiteku, H., 1987, The isolation of intestinal microflora of farmed Red Seabream (*Pagrus major*) and Black Seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) at larval and juvenile stages, Aquaculture ,65: 79 - 88.
- Muroga, K., Yasunobu, H., 1987, Uptake of bacteria by rotifer, Nippon Suisan Gakkaishi, 53(11), 2091.
- Muroga, K., Yasunobu, H., Okada, N., and Masumura, K., 1990, Bacterial enteritis of cultured Flounder *Paralichthys olivaceus* larvae, Diseases of Aquatic Organisms, 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.
- Okauchi, M., 1991, The status of phytoplankton production as food organisms in Japan in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proceedings of a U.S. Asia, Honolulu, 247-257.
- Pechenik, J. A., 1996, Biology of the Invertebrate, Third Edition. Wm. C. Brown Publishers., Tufts Univ., Chapter 13, 554.
- Pennak R. W., 1989. Fresh-Water Invertebrates of the United States Protozoa to Mollusca, Third Edition A Wiley - Interscience Pub. John Wiley - Sons, New York 225.
- Perez, Benaveta, G., and Gatesoupe, F. J., 1988, Bacteria associated with cultured rotifer and artemia are detrimental to larval turbot *Scophthalmus maximus* L. Aquaculturing Engineering, 7: 289-293.
- Pourriot, R., 1977, Food and feeding habits of rotifera, Arch. Hydrobiol. Beih, 8: 242 - 260.

- Pozuelo, M., Lubian, L. M., 1993, Asexual and sexual reproduction in the rotifer *Brachionus plicatilis* cultured at different salinities, *Hydrobiologia*, 255/256: 139-143.
- Qie, G., and Olsen, Y., 1993, Influence of rapid changes in salinity and temperature on the mobility of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, 255/256: 81 - 86.
- 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.
- Rainazzo, J.R., Olsen, Y., and Rosenlund, G., 1989, The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Aquaculture*, 79: 157-161.
- Reguera, B., 1984, The effect of ciliate contamination in mass cultures of the rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller, *Aquaculture*, 40: 103 - 108.
- Rumengan, I.F., and Hirayama, K., 1990, Growth responses of genetically distinct S and L Type (*Brachionus plicatilis*) strains to different temperatures, in the Second Asian Fisheries Forum, (Eds) By. Hirana, R., Hanju, I., Asian Fish. Sec. Monila, Philippines. 33 - 36.
- Rumengan, I.F., Kayano, H., and Hirayama, K., 1991, Karyotypes of S and L types rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Müller, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 154: 171 - 176.
- Sato, V., 1991, Development of a phtoplankton production system as a support base for finfish larval rearing research in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 257-275.
- Scott, J. M., 1981, The vitamin B₁₂ requirement of the marine rotifer *Brachionus plicatilis*, *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 61: 983 - 994.
- Skjermo, J. and Vadstein, O., 1993a, 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, K., The Research Council of Norway, 61 - 67.
- Skjermo, J., and Vadstein, O., 1993b, Characterization of the bacterial flora of mass cultivated *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, 255/256: 185 - 191.
- Snell, T., and Carrillo, K., 1984, Bodysize variation among strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Aquaculture*, 37: 359 -367.
- Snell, T. W., 1986, Effect of temperature salinity and food level on sexual and asexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera), *Marine Biology*, 92: 157-162.
- Snell, T. W., Childress, M. J., Boyer, E. M., and Hoff, F. M., 1987, Assessing the status of rotifer mass culture, *Jour of the World. Aqua. Soc.* ,Vol: 18, No: 4 270 - 277.
- Snell, T. W., 1991, Improving the desing of mass culture systems for the rotifer *Brachionus plicatilis* in: Fulks, W., Main, K., the Rotifer and Microalgae Culture Systems Proce Dings of a U. S. Asia, Honollulu, 61 - 71.
- Sorgeloos, P., and Leger, Ph., 1990, Rotifers without algae and yeast in: Meulemeester, D.A., For Higher Productivty and Profitability in Aquaculture a.s Flash, Vol. 2, No: 2, 3-6.
- Tamaru, C.S., Lee, C. S., and Ako, H., 1991, Improving the larval rearing of striped mullet (*Mugil cephalus*) by manipulating quantity and quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* in: Fulks, W. And Main, K. L., Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proce Dings of a U.S. Asia, Honollulu, 89-105.
- Tanasomwang, V. and Muroga, K., 1988, Intestinal microflora of larval and juvenile stages in japanase 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.

- Vadstein, O., Qie, G., and Olsen, Y., 1993, Particle size dependent feeding by the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia*, 255 / 256: 261 - 267.
- Vera, B. P., Navas, J. I., and Frouz, B., 1991, First isolation of *Vibrio damsela* from seabream (*Sparus aurata*), *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol.*, 11 (3):112.
- Verdonck, L., Swings, J., Kerters, K., Dehaspue, M., Sorgeloos, P., and Leger. P., 1994, Variability of the microbial environment of rotifer *Brachionus plicatilis* and artemia production systems, *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol: 25, No:1, 55-59.
- Wallace, L. R., and Snell, T. W., 1991, Rotifera in: *Ecology and Classification of North American Freshwater, Invertebrata* Ed. Thorp. J. H., and Covich. A. P.) Academic Press Inc. ,187 - 228.
- Yamanoi, H., and Katayama, K., 1989, Effect of freezing on bacterial flora of rotifer and brine shrimp nauplii, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 2207.
- 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.
- Yamanoi, H., Oda, T., Ukida, K., and Muroga, K., 1990, Effects of freezing on survival of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio* sp. INFL group in rotifer, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56 (7): 1163.
- Yasuda, K., and Taga, N., 1980, Culture of *Brachionus plicatilis* Müller using bacteria as food, *Bull. of the Jap. Soc. of Scient. Fish.*, 46 (8): 993 - 939.
- Yu, J. P., Hino, A., Hirano, R., and Hirayama., 1988, Vitamin B₁₂ producing bacteria as complement for culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1873 - 1880.
- Yu, J.P., Hino, A., Ushiro M., and Maeda. M., 1989. Function of bacteria as vitamin B₁₂ producers durring culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Nippon Suisan Gakkaishi* ,55: 1799 - 1806.

- Yu, J. P., Hino, A., Noguchi, T., and Wakabayashi, H., 1990a. Toxicity of *Vibrio alginolyticus* on the survival of the rotifer *Brachionus plicatilis*, Nippon Suisan Gakkaishi, 56 (9), 1455 - 1460.
- Yu, J. P., Hino, A., and Hirayama, K., 1990b., The role of bacteria in mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, in (Eds) Hirano, R and I, Hanyu, Proceeding of the Second Asian Fisheries Forum, Asian Fish. Soc. Manila, Philippines, 29 - 32.
- Yu, J.P., Hirayama, K., and Hino, A., 1994, The role of bacterial mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, Suppl., 1: 67-70.
- Yufera, M., and Pascual, E., 1985, Effects of algal food concentration on feeding and ingestion rates of *Brachionus plicatilis* in mass culture, Hydrobiologia, Vol: 22, 181 - 187.

ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Isparta'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Isparta'da tamamladım. 1985 yılında Akdeniz Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Yüksekokuluna girerek 1989 yılında mezun oldum. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek lisans programına kaydoldum ve 1992 yılında Su Ürünleri Yüksek Mühendisi olarak mezun oldum. 1993 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü doktora programına kaydoldum, aynı yıl Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesine Araştırma Görevlisi olarak atandım ve halen aynı fakültede Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

