

Farklı Mikroalg ve Ticari Yemlerin Rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller 1786) Büyümesi, Protein ve Yağ Asidi Profiline Etkisi

Kamil Mert ERYALÇIN¹ 

¹İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Fitoplankton ve Zooplankton Kültür Laboratuvarı, Fatih/İstanbul

✉: erylalcin@istanbul.edu.tr

ÖZET

Rotifer (*Brachionus plicatilis*) deniz balıkları yetiştiriciliğinde larval dönemde kullanılan ilk canlı yemdir. Bu dönemde besince zengin ve kaliteli rotifer kullanımı larvaların hayatta kalma oranlarının yüksek olmasında rol oynamaktadır. Rotiferler esansiyel yağ asitleri, amino asitler, vitamin ve mineraller bakımından deniz balığı larvalarının doğal besinleri olan kopepodlara kıyasla besince daha eksiktir. Bu sebeple, rotifer kültüründe kısa sürede rotifer sayısının çoğaltılması ve besin değeri yüksek rotiferler elde edilmesi önem göstermektedir. Bu çalışmadaki amaç, taze olarak kültür edilen mikroalgler (*Chlorella vulgaris* ve *Dunaliella salina*) ve ticari rotifer yemleri (Ekmek mayası[®], S.parkle[®] ve Ekmek mayası+W-3[®]) ile beslenen rotiferlerin büyüme performansı, besin maddeleri ve yağ asidi kompozisyonlarının incelenmesidir. *Chlorella vulgaris* ve *Dunaliella salina* sırasıyla 3N-BBM+V ve f/2 besi yerlerinde kültür edilmiş ve 7 gün süresince 5 deney yemi ile rotiferler beslenmiştir. Deney sonunda, "Ekmek mayası+W-3" karışımı ile beslenen rotifer grubu en yüksek rotifer yoğunluğuna ulaşmıştır. *Chlorella vulgaris* ile beslenen rotiferler yüksek oranda oleik asit içermiştir. Ekmek mayası ile beslenen rotifer grubunda ise EPA yüksek oranda bulunmuştur (P<0.05). Rotifer kültüründe ticari yemlerin rotiferlerin büyüme oranlarını olumlu etkilediği, bununla birlikte besin kalitesi yönünden mikroalglerin halen öneme sahip olduğu ve esansiyel besin maddelerini sağladıkları çalışmamızda görülmüştür.

DOI:10.18016/ksudobil.305572

Makale Tarihçesi

Geliş : 11.04.2017

Kabul : 19.06.2017

Anahtar Kelimeler

Mikroalg,
Besleme,
Rotifer,
Büyüme,
Yağ asitleri

Araştırma Makalesi

Effect of Different Microalgae and Commercial Feeds on Growth, Protein and Fatty Acid Profile of Rotifer (*Brachionus plicatilis*)

ABSTRACT

Rotifer is the first live prey for marine fish larvae. At that stage, the quality of live prey such as rotifer (*Brachionus plicatilis*), which is the first feed of larvae, play an important role in survival. Rotifers are known to lack essential fatty acids (EFA), essential amino acids (EAA), vitamins and minerals in comparison to the copepods, the natural feed of marine fish larvae. Therefore, before the enrichment process, increasing growth rate of rotifer in short time with high nutritional value is very important. In this study, effects of two freshly cultured microalgae (*Chlorella vulgaris* and *Dunaliella salina*) and three commercial rotifer feeds (Beaker's yeast[®], S.parkle[®] and Beaker's yeast+W-3[®]) were evaluated for growth performance, proximate composition and fatty acid profile of rotifers. *Chlorella vulgaris* ve *Dunaliella salina* were cultivated in 3N-BBM+V and f/2 medium respectively. Rotifers were fed with five experimental diets during 7 days of feeding experiment. At the end of the experiment, rotifers fed "Beaker's yeast+W3" showed highest rotifer population among experimental groups. Oleic acid level was

Article History

Received : 11.04.2017

Accepted : 19.06.2017

Keywords

Microalgae,
Rotifer,
Nutrition,
Growth,
Fatty acids

Research Article

found higher in rotifer fed *Chlorella vulgaris* group and another important fatty acid EPA was found higher in rotifer fed Beaker's yeast. In conclusion, that commercial products have high potential on the numbers of produced rotifers, however, microalgae are still important for obtaining high essential fatty acid profile in terms of delivering essential nutrients.

To Cited : Eryalçın KM 2018. Farklı Mikroalg ve Ticari Yemlerin Rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller 1786) Büyümesi, Protein ve Yağ Asidi Profiline Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 21(2):220-228, DOI:10.18016/ksudobil.305572.

GİRİŞ

Deniz balıkları yetiştiriciliğinde larvaların ağız açıldıktan hemen sonra ilk kullanılan canlı yemlerin kalitesi, hayatta kalma ve büyüme oranlarının yüksek olmasında önemli rol oynamaktadır. Rotifer (*Brachionus plicatilis*) deniz balıklarının larval dönem beslenmelerinde kullanılan ilk canlı yemdir ve gerek boyut gerekse hareketlilik bakımından günümüzde larval dönemde alternatifi olmayan ve kuluçkahanelerde üretimi zorunlu olan canlı yemdir. Larvanın ağız açıklığına uygun büyüklükte olmaları dışında rotiferler esansiyel yağ asitleri, amino asitler, vitamin ve mineraller gibi bazı besin maddelerinin larvalara iletilmesi için uygundur. Ancak deniz ekosisteminde bulunan kopepodlar gibi diğer zooplankton türleri ile kıyaslandığında besinsel yönden yetersiz ve eksik oldukları bilinmektedir (Sargent *ve ark.* 1997; Nanton ve Castell, 1999; Drillet *ve ark.* 2011). Bu sebepten dolayı, birim hacimde üretilen rotifer sayısını ve besin değerlerini yükseltmek için besleme ve zenginleştirme işlemlerinde kullanılacak yem ve emülsiyonlar dikkatlice seçilmelidir.

Besin zincirinin temelini oluşturan mikroalgler, rotifer ve artemia gibi canlı yemlerin, midye gibi kabukluların, karides gibi krustaselerin beslenmesinde ve deniz balıklarının larva ve ergin safhalarında tanklarda 'yeşilsu tekniği' olarak kullanılmaktadırlar (Brown *ve ark.* 1997; Spolaore *ve ark.*, 2006). Ayrıca bazı mikroalg türleri, balık larvalarının gelişim ve hayatta kalmalarında büyük rol oynayan dokosaheksaenoik asit (DHA; 22:6n-3), eikosapentaenoik asit (EPA; 20:5n-3) ve araşidonik asit (ARA; 20:4n-6) gibi esansiyel yağ asitlerince zengindirler (Izquierdo, 2005; Borowitzka, 2013). Diğer taraftan mikroalg kültürünün getirdiği bazı risklerde bulunmaktadır. Özellikle, besin değerlerinin optimum düzeyde sağlanması, bakteriyel kontaminasyona açık olmaları, yüksek üretim maliyeti ve uzman çalışan ihtiyacı gibi dikkat edilmesi gereken noktalar bulunmaktadır (Lee, 2001).

Rotifer beslenmesinde mikroalglere alternatif olarak, çeşitli ticari rotifer yemleri kullanılmaktadır. Bu ürünler yüksek besin değerine sahip olmaları ve istenildiği zaman hızlı ulaşılabilir ve hazırlanabilir olmalarından dolayı ticari işletmeler tarafından tercih edilmektedirler (Dhert *ve ark.* 2001). Bir rotifer ünitesinde, besleme işlemi ile rotiferlerin sayıca hızlı

çoğalması hedeflenmektedir. Bununla birlikte total biyokütlenin artmasının dışında esansiyel besin değerleri bakımından da yüksek olmaları istenir. Yaygın olarak kullanılan ekmeke mayası ile beslenen rotiferlerin esansiyel yağ asitlerince zayıf oldukları bilinmektedir (Olsen *ve ark.* 2004). Bundan dolayı, besleme işlemi sonrasında rotiferlerin zenginleştirme işlemi ile gerekli yağ, protein, vitamin ve minerallerin hücre içinde biriktirilmesi ve bu besin maddelerinin balık larvalarına aktarılması sağlanır.

Ekmeke mayası günümüzde rotiferlerin sayıca çoğaltılmasında kullanılan yaygın rotifer yemidir. Ancak maya ile üretilen rotiferlerin besin değerleri düşüktür. Bu açıdan bakıldığında maya grubumuz negatif kontrol olarak düşünülmüştür. Diğer taraftan ekmeke mayasının esansiyel yağ asitleri içeren W-3 (Ekmeke mayası+W-3) ile birlikte kullanımının etkisinin araştırılması, yaygın olarak kullanılan ticari rotifer yemleri ve taze mikroalgler ile karşılaştırılarak güncel verilerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada; rotifer kültüründe yaygın olarak kullanılan iki mikroalg türünün (*Dunaliella salina* ve *Chlorella vulgaris*) ve ticari rotifer yemlerinin (S.parkle, Ekmeke mayası ve Ekmeke mayası+W-3) karşılaştırılarak rotiferlerin büyüme performansı, besin değerleri ve yağ asidi kompozisyonları üzerine olan etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Deney koşulları

Yapay deniz suyu polietilen fiber tank (çalışma hacmi 135 litre) içerisinde deniz tuzu (Instant Ocean®) eklenerek hazırlanmıştır. Stok rotifer kültür tankının tuzluluk oranının % 25 olması için 25 gram L⁻¹ miktarda deniz suyu hazırlanmıştır. Hazırlanan deniz suyunun sterilizasyonu için 3 ml L⁻¹ NaClO çözeltisi tank içerisine eklenmiş ve 24 saat süre boyunca havalandırma uygulanmıştır. İstenilen pH'nın sağlanması için 24 saat sonunda nötralizasyon işlemi yapılmış, 150 mg L⁻¹ NaThioSulphate (Merck, Darmstadt, Germany) eklenerek, 24 saat süre ile havalandırma sağlanmıştır. Su sıcaklığı, deneyin yapıldığı odada bulunan bir klima ile 20±0.6 °C'de sabit tutulmuştur. Deney öncesinde ve süresince suyun kimyasal ve fiziksel değerleri günlük olarak multiparametre kullanılarak kaydedilmiştir (7.0-7.5 pH; Hannah Instruments, HI 221; 9.7±0.1 mg L⁻¹

O₂; Handy Polaris; Oxy-Guard International A/S, Birkerød, Denmark).

Mikroalg kültürü

Mikroalg türleri CCAP (Culture Collection of Algae and Protozoa, Scotland, UK)'den temin edilmiştir. Mikroalg kültürlerinin hacimleri sırasıyla test tüpleri (50 ml.), 250 ml. ve 1000 ml. erlenmayerler kullanılarak arttırılmıştır. Tathisu türü *Chlorella vulgaris* 23°C oda sıcaklığında fototrofik olarak 1 L cam erlenmayer içerisinde, 3N-BBM+V (NaNO₃ + CaCl₂.H₂O + MgSO₄.7H₂O + K₂HPO₄.3H₂O + KH₂PO₄ + NaCl + iz elementler +Vitamin B₁ ve Vitamin B₁₂) kültür ortamı kullanılarak üretilmiştir. Kültür edilen *Chlorella vulgaris* santrifüj sonrasında yoğun ve macun şeklindeki biyokütle elde edilmiş ve rotiferler beslenmiştir. *Dunaliella salina* 23°C sıcaklıkta, 0.22 µm filtreden geçirilmiş % 32 tuzluluğa sahip deniz suyu içeren 1 L hacmindeki erlenlerde f/2 besi yeri kullanılarak kültür edilmiştir (Reitan ve ark., 1993). Tüm mikroalgler yarı-sürekli olarak fluorsan ışık altında 12A:12K fotoperiyot olacak şekilde yetiştirilmişlerdir. Büyüme oranlarının hesaplanması için mikroalglerin günlük sayımları Neubauer Hemocytometer sayım kamarası kullanılarak yapılmıştır.

Rotifer stok kültürü

Rotiferler (*Brachionus plicatilis*, L-tip, ortalama lorica uzunluğu 210.8±0.35 µm) Kılıç Deniz Ürünleri şirketinden temin edilmiştir. Stok rotifer kültürü 135 L hacmindeki polietilen tanklarda hazırlanmıştır. Stok kültürün başlangıç yoğunluğu 30 Rotifer ml⁻¹

olacak şekilde alt kültürlerden yeteri miktarda ekimleri yapılarak ayarlanmıştır. Rotiferler 3 ay boyunca yarı sürekli olarak deney başlayana kadar kültür edilmiştir. Stok kültürler her hafta hasat edilerek çeşme suyu ile yıkanmış ve 75µm plankton ağından geçirilerek siliatların uzaklaştırılması sağlanmıştır. Stok rotifer kültürü hergün ekme mayası ile (0.8 g 10⁶ Rotifer) beslenmiştir.

Deney yemleri ve rotiferlerin büyüme performansının hesaplanması

Rotiferler stok tankından hasat edilerek deneme gruplarına, her bir deney grubunda üç tekrarlı olmak üzere eşit sayıda olacak şekilde dağıtılmış ve başlangıç yoğunluğu 30 Rotifer ml⁻¹ olarak ayarlanmıştır. Beş deney yemi 7 gün süre boyunca rotiferlere verilmiştir. Rotiferler; a) 0.6x10⁶ hücre ml⁻¹ *Chlorella vulgaris*; b) 1x10⁶ hücre ml⁻¹ *Dunaliella salina*; c) 0.5 g 10⁵ rotifer Ekme mayası; d) 0.25+0.25 mg 10⁵ rotifer Ekme mayası + W-3 (1:1); e) 0.5 mg L⁻¹ S.parkle (Inve®) sabah ve akşam olmak üzere günde 2 öğün beslenmişlerdir. Tüm deney grupları üç paralelli olacak şekilde planlanmıştır. Rotifer besleme deneyi süresince her bir deney grubunu temsil eden paralel kültürden cam pipet ile 1 ml. örnek alınmış ve günlük sayımlar *Sedgewick-Rafter* sayım kamarası kullanılarak hesaplanmıştır.

Mikroskop altında sayımları yapılmadan önce 2-3 damla Lugol solüsyon eklenerek rotiferler hareketsiz hale getirilmiştir. Deney yemlerinin besin maddeleri miktarları ve yağ asidi kompozisyonları Çizelge 1 ve Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Taze kültür edilen mikroalg ve ticari rotifer yemlerinin besin maddeleri miktarları (P<0.05).

Besin Değerleri (%)	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ekme Mayası	S.parkle	Ekme Mayası + W3
Ham protein	50.5±0.01 ^a	53.6±0.00 ^a	37.2±0.01 ^b	39.0±0.05 ^b	39.44±0.00 ^b
Ham yağ	11.2±0.02 ^a	9.2±0.02 ^{a,b}	7.60±0.02 ^c	11.9±0.06 ^a	9.55±0.01 ^b
Ham kül	7.2±0.00 ^a	6.5±0.01 ^b	7.5±0.04 ^a	5.1±0.02 ^c	6.43±0.03 ^b
Nem	4.3±0.01 ^b	3.9±0.00 ^c	4.2±0.03 ^{b,c}	5.0±0.02 ^b	6.22±0.06 ^a

Biyokimyasal analizler

Besleme deneyi sonunda deneme gruplarında bulunan rotiferler 60 µm göz açıklığındaki plankton ağından süzülerek hasat edilmiştir. Hasat edilen rotiferler 5 dakika süresince filtre edilmiş steril deniz suyu ve ardından distile su ile yıkanmıştır. Rotifer biyokütlesinde bulunan su, kurutma kağıdı ile alınmış ve hemen ardından örnekler analiz edilinceye kadar saklanması için -80°C derin dondurucuda saklanmıştır. Deney yemlerinin ve deneme sonundaki rotiferlerin, nem (AOAC, 1998a), ham protein (AOAC, 1998b) ve ham yağ (Folch ve ark., 1957) miktarları analiz edilmiştir (Çizelge 1, Çizelge 2 ve Çizelge 3). Yağ asidi metil esterleri IUPAC (1987) metodu kullanılarak ham yağın GLC ile ayrılması ile trasmetilasyonu sağlanmıştır (SUPELCO, 18919).

Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması ve miktarının hesaplanması

Yağ asidi metil esterleri ham yağların metanol içerisinde %1'lik sülfirik asit çözeltisi ile transmetilasyonu sonucu elde edilmiştir (Christie, 1982). Kimyasal reaksiyon N₂ gazı altında karanlık ortamda 50 °C sıcaklıkta 16 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yağ asidi metil esterleri hexane:dietil eter (1:1 v/v) ile ekstrakte edilmiş ve NH₂ Sep-pack kartuşları ile saflaştırılmıştır (Waters S.A., Massachusetts, USA) (Christie, 1982). Yağ asidi metil esterleri GLC (GC-14A, Shimadzu, Tokyo, Japan) ile ayrıştırma işlemi yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Supercolvax-10-fused silica kılcal kolon (uzunluk: 30 m; iç çap: 0.32 mm; Supelco,

Bellefonte, USA) içerisinde Helyum gazı kullanılmıştır. 10 dakika süresince kolon sıcaklığı 180°C uygulanmış, sıcaklık 2.5°C dakika⁻¹ oranında 215°C'ye yükseltilmiştir (Izquierdo ve ark., 1990). Yağ asidi metil esterleri FID tarafından standart yağ çözültisi ile karşılaştırılmalı olarak tanımlanmıştır (EPA 28, Nippai, Ltd Tokyo, Japan). Deney yemlerinin yağ asidi kompozisyonu (% kuru ağırlık) Çizelge 2'de

gösterilmiştir.

İstatistiksel analizler

Bütün veriler Tek-yönlü ANOVA ile test edilmiş ve ortalamalar SPSS programında yer alan Duncan testi (P<0.05) kullanılarak karşılaştırılmıştır (SPSS for Windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Çizelge 2. Deneyde kullanılan mikroalg ve rotifer yemlerinin yağ asidi kompozisyonları (%)

	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ekmek Mayası	S.parkle	Ekmek Mayası + W-3
6:0	-	0.21±0.00	0.05±0.00	-	0.07±0.01
8:0	-	0.205±0.01	0.405±0.01	0.11±0.00	0.55±0.00
10:0	-	0.48±0.01	0.12±0.00	0.09±0.00	0.15±0.00
12:0	-	0.94±0.01	0.22±0.00	0.04±0.00	0.25±0.00
14:0	0.205±0.01	3.49±0.01	0.775±0.01	1.235±0.01	0.852±0.01
14:1	0.065±0.01	-	0.07±0.00	0.04±0.00	0.09±0.01
15:0	0.095±0.01	0.54±0.01	0.125±0.01	0.35±0.00	0.132±0.01
16:0	5.215±0.02	24.105±0.11	18.66±0.06	19.005±0.01	23.25±0.00
16:1	0.445±0.01	14.74±0.21	26.12±0.08	9.925±0.04	28.55±0.04
17:0	-	0.585±0.04	1.15±0.01	-	1.569±0.01
18:0	0.65±0.00	10.865±0.01	12.575±0.04	7.775±0.02	16.66±0.05
18:1n-9	3.795±0.01 ^c	5.73±0.03 ^c	32.59±0.14 ^a	20.91±0.01 ^b	36.99±0.01 ^a
18:2n-6	6.32±0.01 ^b	0.765±0.02 ^a	0.26±0.00 ^c	8.07±0.01 ^a	0.852±0.00 ^a
18:3n-3	8.66±0.01 ^a	1.12±0.01 ^b	0.05±0.00 ^b	0.92±0.03 ^b	0.231±0.00 ^b
18:3n-6	-	0.075±0.02 ^b	-	0.045±0.01 ^b	0.751±0.02 ^a
20:0	13.655±0.05	0.58±0.00	0.12±0.00	0.225±0.01	0.173±0.01
20:1	0.18±0.01	0.185±0.01	0.06±0.00	0.825±0.01	0.122±0.03
21:0	-	0.215±0.02	-	-	0.06±0.00
20:2	0.22±0.25	0.13±0.00	-	0.575±0.01	-
20:3n-3	-	0.1±0.00	-	-	-
20:3n-6	-	-	-	0.045±0.01	-
20:4n-6	-	0.46±0.00 ^c	0.08±0.00 ^c	0.635±0.02 ^a	0.233±0.00 ^b
20:5n-3	-	0.255±0.01 ^b	-	5.275±0.01 ^a	0.212±0.01 ^b
22:0	0.02±0.00	-	0.04±0.00	0.13±0.00	0.08±0.00
22:1n9	-	-	-	0.095±0.01	-
22:2	-	-	-	0.29±0.00	-
22:5n-3	-	-	-	0.865±0.01	-
22:6n-3	-	-	-	9.83±0.03 ^a	-
24:0	0.035±0.01	0.505±0.01	0.07±0.00	0.055±0.06	0.122±0.00
24:1	-	0.4±0.04	-	0.21±0.00	-
Σ Doymuş yağ asidi	19.875±0.04 ^d	44.16±0.17 ^a	33.84±0.02 ^b	28.83±0.04 ^c	43.918±0.01 ^a
Σ Tekli doymamış yağ asidi	4.485±0.01 ^e	20.655±0.25 ^d	58.84±0.22 ^b	32.005±0.04 ^c	65.752±0.00 ^a
Σ n-3	8.66±0.01 ^b	1.59±0.03 ^c	0.05±0.00 ^d	16.89±0.00 ^a	0.231±0.00 ^d
Σ n-6	6.32±0.01 ^a	1.3±0.03 ^b	0.34±0.00 ^c	8.795±0.01 ^a	1.836±0.02 ^b
Σ n-9	3.795±0.01 ^c	5.73±0.03 ^c	32.59±0.141 ^a	21.00±0.01 ^b	36.99±0.03 ^a
Σ n-3 HUFA	-	0.47±0.01 ^b	0.05±0.00 ^c	16.89±0.00 ^a	0.212±0.01 ^b
n-3/n-6	1.370±0.01 ^a	1.223±0.00 ^a	0.147±0.00 ^b	1.920±0.00 ^a	0.125±0.00 ^b

BULGULAR

Büyüme performansı

Deney sonunda, Ekmek mayası+W-3 ile beslenen rotifer grubu istatistiksel yönden S.parkle ve Ekmek mayası ile beslenen rotifer grubu ile benzer, ancak taze kültür edilerek kullanılan *Dunaliella salina* ve

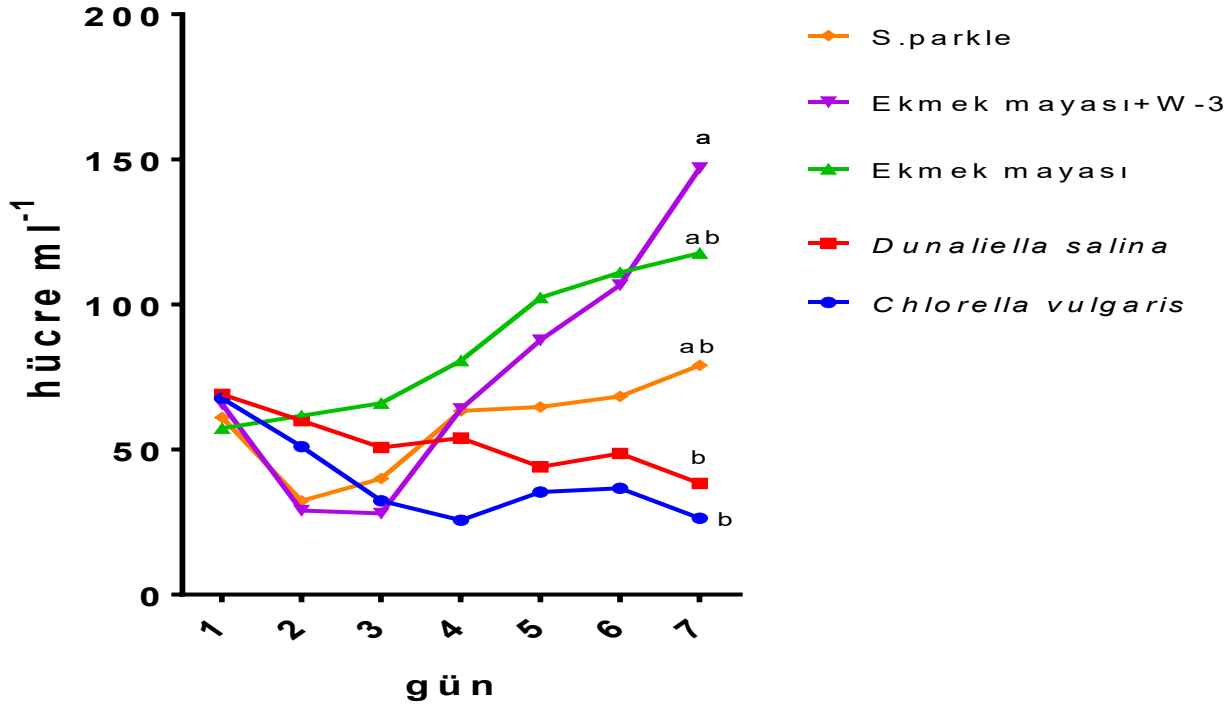
Chlorella vulgaris ile beslenen rotifer grubundan ise yüksek rotifer ml⁻¹ sonucu vermiştir (P<0.05) (Şekil 1).

Rotiferlerin besin değeri analizleri

Ham protein miktarı *Chlorella vulgaris* ve *Dunaliella salina* ile beslenen rotifer gruplarında benzer ve diğer deney gruplarından ise daha yüksek bulunmuştur

($P<0.05$). Bununla beraber rotiferlerin ham yağ içeriği gruplar arasında farklılık göstermiştir. S.parkle ile beslenen rotifer grubu diğer gruplar ile

kıyaslandığından istatistiksel olarak yüksek yağ içerdiği görülmüştür (Çizelge 3) ($P<0.05$).



Şekil 1. Farklı yemler ile beslenen rotifer gruplarının büyüme grafiği.

Çizelge 3. Farklı yemler ile beslenmiş rotiferlerin besin maddesi kompozisyonları (%). (Değerler ortalama \pm sapma şeklinde ifade edilmiştir) (n =3 tank/yem).

Besin Değerleri (%)	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ekmek mayası	S.parkle	Ekmek mayası + W-3
Ham Protein	58.2 \pm 0.05 ^a	55.21 \pm 0.01 ^a	38.55 \pm 0.10 ^c	46.52 \pm 0.06 ^b	30.96 \pm 0.02 ^d
Ham Yağ	11.02 \pm 0.09 ^b	10.12 \pm 0.11 ^b	6.55 \pm 0.05 ^c	15.12 \pm 0.04 ^a	11.22 \pm 0.03 ^b
Ham Kül	11.1 \pm 0.04 ^a	10.0 \pm 0.02 ^{ab}	9.90 \pm 0.03 ^{ab}	9.2 \pm 0.95 ^b	9.0 \pm 0.78 ^b
Nem	15.22 \pm 0.10 ^a	16.8 \pm 0.03 ^a	10.45 \pm 0.08 ^b	8.9 \pm 0.04 ^c	11.6 \pm 0.12 ^b

Rotiferlerin yağ asidi kompozisyonu

Ekmek mayası ile beslenen rotifer grubunda palmitik asit (16:0) seviyesi düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Oleik asit (18:1n-9) *Chlorella vulgaris* ile beslenen deney grubunda diğer yemlerle beslenen rotifer gruplardan istatistiksel olarak farklı ve yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Linoleik asit (18:2n-6) seviyesi sadece

Chlorella vulgaris ile beslenen grupta rastlanmıştır. Bununla birlikte uzun zincirli yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (20:5n-3) sadece ekmek mayası ile beslenen rotifer grubunda elde edilmiştir. Uzun zincirli yağ asitlerinden araşidonik asit (20:4n-6) ve dokosahekzaenoik asit (22:6n-3) ise bütün deney gruplarında rastlanmamıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. Deney sonunda farklı yemler ile beslenmiş rotiferlerin yağ asidi kompozisyonları (P < 0.05).

	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ekmek mayası	S.parkle	Ekmek mayası + W-3
10:0	-	-	-	0.66±0.06	-
12:0	0.42±0.14	-	0.435±0.13	2.025±0.08	10.475±0.11
14:0	6.985±0.04	6.515±0.05	5.33±0.01	12.505±0.12	15.15±0.61
15:0	1.88±0.07	1.445±0.01	1.67±0.14	1.77±0.07	1.99±0.28
16:0	46.37±0.92 ^a	45.74±0.18 ^a	28.675±0.57 ^b	46±09±0.54 ^a	47.68±0.35 ^a
16:1	-	0.41±0.00	-	-	-
17:0	1.745±0.06	1.96±0.06	2.355±0.06	1.335±0.05	1.735±0.01
18:0	20.01±0.61 ^b	13.355±0.15 ^c	25.405±0.11 ^a	21.26±0.30 ^b	22.44±0.66 ^b
18:1n-9	2.72±0.01 ^a	0.535±0.01 ^b	0.575±0.06 ^b	0.52±0.03 ^b	-
18:2n-6	1.205±0.08 ^a	-	-	-	-
18:3n-3	-	-	-	-	-
18:3n-6	-	-	-	-	-
20:0	0.735±0.09	0.395±0.01	0.8±0.20	0.445±0.01	-
20:1	-	-	0.635±0.16	-	-
20:2	-	-	0.685±0.15	-	-
21:0	-	1.345±0.08	-	-	-
20:3n-3	-	1.17±0.16	-	-	-
20:5n-3	-	-	2.015±0.29 ^a	-	-
22:0	1.895±0.05	-	-	1.5±0.21	-
22:2	-	0.66±0.14	2.94±0.03	-	-
22:5n-3	-	-	-	-	-
22:6n-3	-	-	-	-	-
24:0	2.32±0.06	0.995±0.02	1.825±0.12	2.23±0.10	-
Σ Doymuş yağ asidi	82.36±1.39	71.75±0.21	66.49±0.55	89.82±1.20	99.47±0.47
Σ Tekli doymamış yağ asidi	2.72±0.01 ^a	0.945±0.01 ^c	1.21±0.10 ^b	0.52±0.03 ^d	-
Σ n-3	-	1.17±0.16 ^b	2.015±0.29 ^a	-	-
Σ n-6	1.205±0.08	-	-	-	-
Σ n-9	2.72±0.01 ^a	0.535±0.01 ^b	0.575±0.06 ^b	0.52±0.03 ^b	-
Σ n-3 HUFA	-	1.17±0.16 ^b	2.015±0.29 ^a	-	-

(Değerler ortalama ± sapma şeklinde ifade edilmiştir) (n =3 tank yem⁻¹).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Deniz balıkları kuluçkahanelerinde yapılan rotifer kültürünün birinci amacı, yüksek sayıda rotifer üretmektir. Rotifer kültüründe kullanılan yemler ve besleme yöntemi üretilen rotiferlerin miktarını ve besinsel kalitesini etkilemektedir. Özellikle yarı sürekli üretim metodu uygulanan ticari canlı yem ünitelerinde rotifer yoğunluğunun fazla olması rotifer kültüründeki temel amaçtır. Rotifer beslenmesinde yaygın olarak, ticari rotifer besinleri, toz mikroalg ürünleri ve işletmede üretilen canlı-taze mikroalgler kullanılmaktadır. Rotifer besinleri arasında ekmek mayasının, mikroalg kökenli yemler ile karşılaştırıldığında daha yüksek üretim miktarı sağladığı bildirilmiştir (Qie ve ark., 1994). Kültür edilen rotiferlerin besinsel değerleri kullanılan besinlerin protein ve yağ içerikleri ile doğru

orantılıdır. Bundan dolayı, kullanılan besinler ve besleme yöntemleri rotiferlerin sadece sayı olarak yüksek miktarda üretilmeleri için değil aynı zamanda besinsel yönden ve hasat sayıları için de önem göstermektedir (Dhert ve ark. 2001; Dhert ve ark. 2014).

Dunaliella salina ve *Chlorella vulgaris* türleri hızlı büyüme potansiyeline sahip olduklarından dolayı su ürünleri yetiştiricilik sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Hemaiswarya ve ark., 2011). Bu iki tür aynı zamanda rotifer ve artemia'da içermiş oldukları besin değerlerinden dolayı zenginleştirme işleminde de kullanılmıştır (Zaki ve Saad, 2010). Yaş-taze mikroalg kullanımının önemi son zamanlarda yapılan kopepod yetiştiriciliği çalışmalarında da öne çıkmaktadır (Arndt ve Sommer, 2014). Maruyama ve ark. (1997) *Chlorella vulgaris*'in benzer besinsel

özelliklerinden dolayı *Nannochloropsis oculata* 'ya alternatif olarak kullanılabileninden bahsetmiştir. Aynı araştırmacılar yaptıkları bir diğer çalışmada *Chlorella vulgaris*'in zenginleştirilerek kullanımının rotiferlerin w-3 yağ asidi içeriğini olumlu etkilediğinden de bahsetmişlerdir (Maruyama ve ark., 2006). Sayın ve ark. (2000) beş mikroalg türünün rotifer beslenmesinde kullanımını değerlendirmişler ve *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii*, *Rhinomonas reticulata* ve *Pavlova lutheri* türleri ile karşılaştırıldığında *Chlorella vulgaris*'in rotiferler tarafından en fazla sindirilen tür olduğunu not etmişlerdir. Ancak bu iki çalışmada da mikroalgler herhangi bir vitamin ve mineral ile zenginleştirme işlemi uygulanmamıştır. Son zamanlarda mikroalglerin besinsel özelliklerinin farklı esansiyel vitamin ve mineraller ile birlikte kullanımının daha iyi büyüme performansı verdiği görülmüştür. Mikroalglerin Selenyum (Se) gibi mikro elementler ile zenginleştirildiğinde rotiferler üzerinde olumlu etkilerinden bahsedilmektedir. Kim ve ark. (2014) Se ile zenginleştirilmiş *Chlorella vulgaris* ile *Nannochloropsis oculata* ile beslenen rotiferlerin Se ile zenginleştirilmeyen *Chlorella vulgaris* ve *Nannochloropsis oculata* ile beslenen rotifere kıyasla daha yüksek büyüme yoğunluğu elde etmişlerdir. Elde edilen veriler incelendiğinde zenginleştirme işleminin günümüz bilgileri ışığında artık mikroalglerde de yapılmasının önemi vurgulanmaktadır. Buna ek olarak, *Chlorella vulgaris* kullanımının boyutça daha küçük olan *Proales similis*'in hücre yoğunluğu ve spesifik büyüme oranı değerini arttırdığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2016). Bu bulgulardan farklı olarak yapmış olduğumuz laboratuvar denemesinde, L-tip rotifer (*Brachionus plicatilis*) beslenmesinde *Chlorella vulgaris*'in 7 gün kullanımı sonucunda rotiferlerin hücre yoğunluğu diğer gruplarla karşılaştırıldığında düşük bulunmuştur. Bunun bir sebebi, tatlısu *Chlorella* türünün B₁₂ vitamini ile beraber kullanıldığında, rotiferlerin B₁₂ vitamini kullanılmayan *Chlorella* grubuna kıyasla daha yüksek büyüme performansı göstermesi olabilir (Hirayama ve ark. 1989; Hayashi ve ark. 2007). Deneyde kullandığımız yemlerin temel besin değerlerine bakıldığında, en yüksek protein ve yağ oranı *C.vulgaris*'te görülmüştür. Bu besin maddelerinin yüksek olmasına karşılık rotiferlerde yüksek büyüme oranını "Ekmek Mayası+W-3" grubu sağlamıştır. Bunun bir sebebi ekmek mayasının içerdiği yüksek orandaki B₁₂ vitamin içeriği olduğu söylenebilir. Diğer taraftan W-3 içerdiği esansiyel yağ asitleri ile rotiferlerin yağ asidi profilini desteklediğini ve yumurta verimliliğini artırarak total rotifer biyomasını arttırdığı görülmektedir (Li ve Olsen, 2015).

Rotifer besleme çalışmamızda, kullanılan bir diğer mikroalg türü *Dunaliella salina* da *Chlorella* grubu

gibi ticari yemler ile kıyaslandığında rotiferlerin büyümesinde artış göstermemiştir. *Dunaliella salina* yüksek oranda içerdiği yağlar ile birlikte β-karoten içermesi ile öne çıkmakta ancak hızlı çoğalması sebebi ile benzer olarak *Dunaliella tertiolecta* gibi farklı mikroalg türleriyle beraber su ürünleri canlı yem üretiminde ve biyoteknoloji alanında kullanılmaktadır (Pulz ve Gross, 2004). *Dunaliella* türlerinin içerdiği yüksek besin maddeleri sebebi ile toz formda da insan gıdası ve yem katkı maddesi olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Spolaore ve ark., 2006). Günümüzde rotiferlerin kopepodların içerdiği esansiyel besin maddelerine benzerlik sağlaması için besinsel içeriğinin ve kalitesinin artırılması çalışmaları hız kazanmıştır. Rotifer beslenmesinde geleneksel olarak kullanılan maya ve mikroalg gibi yemlerin yerini giderek Se, Çinko (Zn), Bakır (Cu) ve Mangan (Mn) gibi çeşitli mineralce zenginleştirilmiş maya yada mikroalgler almaktadır (Penglase ve ark., 2011; Riberio ve ark., 2011; Norgreen ve ark., 2013).

Yapmış olduğumuz rotifer besleme çalışmasında, farklı besinler ile beslenen rotifer biyokütlerinin hiçbirinde uzun zincirli esansiyel yağ asitlerine rastlanmamıştır. Benzer bulgular Kobayashi ve ark., (2008) tarafından da rapor edilmiş, *Nannochloropsis oculata* ve *Chlorella* ile beslenen gruplarda DHA gibi uzun zincirli doymamış yağ asitlerine rastlanmamıştır. Bu verilere ek olarak, Kennari ve ark., (2008) rotiferlerin *Chlorella* ya da *Scenedesmus* ile beslendiklerinde, DHA'nın vücutlarında toplanmadığından bahsetmiştir. Bu bulgular rotiferlerin oldukça hızlı yem alımı ve sindirim oranı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca beslemede kullanılan mikroalg türleri de yağ asidi kompozisyonunun direk olarak etkilemektedir. *Schizochytrium* sp. ve *Cryptocodinium cohnii* gibi heterotrofik türlerde veya akuakültürde sıklıkla kullanılan *Isochrysis galbana* gibi türler yağ asidi profilini yükseltmektedir (Ganuza ve ark., 2008; Ferreira ve ark., 2008). Ancak rotiferler aldıkları yağ ve protein içeriklerini hareket ve yumurta üretimi gibi yüksek enerji ihtiyaçları için kullanmaktadırlar. Bu sebeple, rotiferlerin yumurta verebilmeleri için ticari rotifer üretiminde sık aralıklı olmak üzere günde en az 4 ve en çok 8 öğün besin verilmektedir. Zenginleştirme işlemi ise rotifer beslenmesini takip eden süreçte gerekmektedir. Çalışmamızda, S.parkle ve "Ekmek mayası +W-3" yemleri yağ asitleri bakımından iyi bir etki yapmamış ancak rotifer yoğunluğunu arttırmıştır. Sonuç olarak, rotifer kültüründe ekmek mayasının rotiferler için içerdiği yüksek orandaki B₁₂ vitamini ile halen vazgeçilmez öneme sahip olduğu görülmüştür. Ancak, ekmek mayası kullanımının mikroalgler ile kıyaslandığında suyu kirletici özelliği, bakteri oluşturması ve suyun pH değerini değiştirdiği de unutulmamalıdır (Nhu, 2004). Bununla birlikte,

maya kullanımı ile beraber W-3 kullanımının özellikle rotifer stok yoğunluğunun yükselmesinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Elde ettiğimiz bu bulgu, ticari ölçekte canlı yem üretimi yapan deniz balığı larva ve yavru balık kuluçkahanelerinde uygulandığında, üretilen rotifer sayısını yüksek oranda etkilemesi yönünden önem teşkil etmektedir. Çoklu yem kullanımının daha iyi sonuç vermesinden dolayı çalışmamızda da görüldüğü gibi karışım ürünlerin kullanılabilmesi not edilmelidir. İleriki çalışmalarda, ticari rotifer besinlerinin içerdiği besin kompozisyonlarına benzer formülasyonlar geliştirilmesi ve mikroalg ile beraber farklı vitamin ve mineral kullanımının rotiferlerdeki yem alım oranları, sindirim hızları ve büyüme parametrelerine olan etkileri araştırılmalıdır.

TEŞEKKÜR

Projenin gerçekleşmesinde katkısı bulunan İstanbul Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (İ.Ü. BAP Proje no: 28086 ve Proje No: HIZAP 23773).

KAYNAKLAR

- AOAC 1998a. Official method 980.46, Moisture in meat. Meat and meat products (Official Methods of Analysis of AOAC International: Ed. Soderberg, D.L. Gaitherbury, Maryland, USA).
- AOAC 1998b. Official method 955.04, Nitrogen (total) in seafood. Fish and other marine products (Official methods of analysis of AOAC International: Ed: James M. Hungerford and P. Cunniff).
- Arndt C, Sommer U 2014. Effect of algal species and concentration on development and fatty acid composition of two harpacticoid copepods, *Tisbe* sp. and *Tachidius discipes*, and a discussion about their suitability for marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 20(1): 44-59.
- Borowitzka MA, 2013. High-value products from microalgae their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology*, 25(3): 743-756.
- Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK, Dunstan GA 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151(1): 315-331.
- Christie WW 1982. *Lipid Analysis*. Pergamon Press, Oxford, UK.
- Dhert P, Rombaut G, Suantika G, Sorgeloos P 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, 200(1): 129-146.
- Dhert P, King N, O'Brien E 2014. Stand-alone live food diets, an alternative to culture and enrichment diets for rotifers. *Aquaculture*, 431: 59-64.
- Drillet G, Frouël S, Sichlau MH, Jepsen PM, Højgaard JK, Joarder AK, Hansen BW 2011. Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed. *Aquaculture*, 315(3): 155-166.
- Ferreira M, Maseda A, Fábregas J, Otero A 2008. Enriching rotifers with "premium" microalgae. *Isochrysis aff. galbana clone T-ISO*. *Aquaculture*, 279(1), 126-130.
- Folch JL, Lees M, Stanley GHS 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226:497-509.
- Ganuza E, Benitez-Santana T, Atalah E, Vega-Orellana O, Ganga R, Izquierdo M 2008. *Cryptocodinium cohnii* and *Schizochytrium* sp. as potential substitutes to fisheries-derived oils from seabream (*Sparus aurata*) microdiets. *Aquaculture*, 277:109-116.
- Hayashi M, Yukino T, Watanabe F, Miyamoto E, Nakano Y 2007. Effect of vitamin B12-enriched thraustochytrids on the population growth of rotifers. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71(1): 222-225.
- Hemaiswarya S, Raja R, Kumar RR, Ganesan V, Anbazhagan C 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8): 1737-1746.
- Hirayama K, Maruyama I, Maeda T 1989. Nutritional effect of freshwater *Chlorella* on growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 186(1): 39-42.
- IUPAC 1987. *Standart Methods for The Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. 6th Edition (Fifth Edition Method II.D.19), Pergamon Press, Oxford, 96-102.
- Izquierdo MS, Watanabe T, Takeuchi T, Arakawa T, Kitajima C 1990. Optimal EFA levels in *Artemia* to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*) (The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture: Ed. by Takeda M, Watanabe T) 221-232.
- Izquierdo MS 2005. Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. *Cah. Options Mediterr*, 63: 91-102.
- Lee YK 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, 13(4): 307-315.
- Lee BI, Kim DJ, Kim SK, Lee NS, Hagiwara A, Kwon ON, Park HG, Park JC 2016. Optimal Food and Concentration for Growth of Small Rotifer, *Proales similis*. *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education*, 28(2): 315-322.
- Kennari AA, Ahmadifard N, Seyfabadi J, Kapourchali MF 2008. Comparison of growth and fatty acids composition of freshwater rotifer, *Brachionus calyciflorus* Pallas, fed with two types of microalgae at different concentrations. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2): 235-242.
- Kim HJ, Nakamura K, Hagiwara A 2014. Dietary effect of selenium-fortified *Chlorella vulgaris* on reproduction of *Brachionus plicatilis* species

- complex (Rotifera: Monogononta). *International Review of Hydrobiology*, 99(1-2): 161-165.
- Kobayashi T, Nagase T, Hino A, Takeuchi T 2008. Effect of combination feeding of *Nannochloropsis* and freshwater *Chlorella* on the fatty acid composition of rotifer *Brachionus plicatilis* in a continuous culture. *Fisheries science*, 74(3): 649-656.
- Li K, Olsen Y 2015. Effect of enrichment time and dietary DHA and non-highly unsaturated fatty acid composition on the efficiency of DHA enrichment in phospholipid of rotifer (Brachionus Cayman). *Aquaculture*, 446: 310-317.
- Maruyama I, Nakao T, Shigeno I, Ando Y, Hirayama K 1997. Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer Brachionus. *Hydrobiologia*, 358(1-3): 133-138.
- Maruyama I, Yamamoto S, Hayashi M, Murata O 2006. Rotifers fed with n-3 highly unsaturated fatty acid-enriched *Chlorella vulgaris* are suitable for the rearing of larval red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture Science*, 54(2): 229-230.
- Nanton DA, Castell JD 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 175: 167-181.
- Nhu CV 2004. A Comparison of yield and quality of the rotifer (*Brachionus plicatilis*-L. Strain) fed different diets under aquaculture conditions, Vietnam. *Asian Fisheries Science*, 17: 357-363.
- Nordgreen A, Penglase S, Hamre K 2013. Increasing the levels of the essential trace elements Se, Zn, Cu and Mn in rotifers (*Brachionus plicatilis*) used as live feed. *Aquaculture*, 380:120-129.
- Olsen Y, Van der Meer T, Reitan KI 2004. First Feeding Technology (Moksness E, Kjörsvik E, Olsen Y) 279-333.
- Qie G, Reitan KI, Olsen Y 1994. Comparison of rotifer culture quality with yeast plus oil and algal-based cultivation diets. *Aquaculture International*, 2(4): 225-238.
- Penglase S, Hamre K, Sweetman JW, Nordgreen A 2011. A new method to increase and maintain the concentration of selenium in rotifers (*Brachionus* spp.). *Aquaculture*, 315(1): 144-153.
- Pulz O, Gross W 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 65(6): 635-648.
- Ribeiro ARA, Ribeiro L, Dinis MT, Moren M 2011. Protocol to enrich rotifers (*Brachionus plicatilis*) with iodine and selenium. *Aquaculture Research*, 42(11): 1737-1740.
- Reitan KI, Rainuzzo JR, Øie G, Olsen Y 1993. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*, 118(3): 257-275.
- Sargent JR, McEvoy LA, Bell JG 1997. Requirements, presentation and sources of Polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155: 117-127.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2): 87-96.
- Sayın S, Işık O, Polat S 2000. The feeding of the rotifer *Brachionus plicatilis* Müller, 1786 with different microalgae species, *Isochrysis galbana* Parke, *Tetraselmis chuii* (Bucker), *Rhinomonas reticulata* (Lucas) Novamizo, *Pavlova lutheri* (Droop) Green and *Chlorella vulgaris* (Beijerinck). *Turkish Journal of Biology*, 24: 87-95.
- Zaki MI, Saad H 2010. Comparative study on growth and survival of larval and juvenile *Dicentrarchus labrax* rearing on rotifer and Artemia enriched with four different microalgae species. *African Journal of Biotechnology*, 9(24): 3676-3688.