

ROTİFER KÜLTÜRÜNDE BİYOTEKNOLOJİK ÇALIŞMALAR

Nilgün ÖZDEMİR, Gonca ALAK, Abdulkadir ÇİLTAŞ
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ ZİRAAT FAKÜLTESİ, SU ÜRÜNLERİ BÖLÜMÜ
nilgunsozdemir2002@hotmail.com

ÖZET

Entansif balık yetiştiriciliğinde kuluçka döneminden sonra besin kesesi çekilmiş olan yavruların yeme alıştırılma aşaması en kritik devredir. Bu safhada balığa verilecek besinlerin dikkatli bir şekilde seçilmesi ve yem kompozisyonunun artemia, rotifer, daphnia gibi canlı yemlerden oluşması gerekmektedir. Canlı yemle ilgili araştırmalar, özellikle kolayca kültüre alınabilmeleri, larva ve ergin balıklar tarafından sevilerek yenilmeleri, protein ve esansiyel yağ asitleri bakımından zengin olmaları nedeniyle rotiferler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu nedenle pek çok balık türünün larva kültürlerinin gelecekteki başarısı rotifer kültürüne bağlıdır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin diğer sektörlerinde olduğu gibi biyoteknolojinin, rotifer kültürü ile ilgili çevresel ve teknik sorunlara çözüm getireceği düşünülmektedir. Bu makalede rotifer kültürü ile ilgili yapılmış olan biyoteknolojik çalışmalar incelenecektir.

Anahtar Kelimeler: su ürünleri, biyoteknoloji, rotifer kültürü, probiyotik, zenginleştirme, moleküler biyoloji

BIOTECHNOLOGICAL STUDIES on ROTIFER CULTURE

ABSTRACT

In intensive fish culture, the most critical phase is stage that absorbed of yolk sac after hatching. In this stage the feed given to fish needs to be chosen carefully and feed composition composed of live foods such as artemia, rotifer, daphnia etc. The researches, about live food, focus on rotifers because of it is cultured easily, consumed by enjoying from larvae and mature fish, rich for protein and essential fatty acid. Therefore the success and future improvement of the larval culture of most fish species relies on rotifers. It is considered of biotechnology solving environmental and technical problems of rotifer culture such as other sectors of aquaculture. In this paper will be reviewed on biotechnological studies about rotifer culture.

Keywords: aquaculture, biotechnology, rotifera culture, probiyotic, enrichment, molecular biology

GİRİŞ

Biyoteknoloji; insan, hayvan ve bitki hücrelerinin fonksiyonlarını anlamak ve değiştirmek amacıyla uygulanan çeşitli teknikleri ve işlemleri tanımlamak için canlı organizmaların kullanıldığı disiplinler arası bir bilim dalıdır (Başaran, 2004; Díaz and Neira, 2005). İnsanlık tarihiyle eşdeğer bir geçmişe sahip olan biyoteknoloji, son elli yılda moleküler biyoloji ve genetik alanlarında gerçekleşen bilimsel ilerlemeler sayesinde, yepyeni bir anlam ve önem kazanmıştır. Bu nedenle biyoteknoloji, bilişim teknolojisi ile birlikte, 21. yüzyılda insanlığın refahında en önemli katkıyı sağlaması beklenen teknolojilerin başında gelmektedir (DPT, 2000).

Günümüzde 6 milyara yaklaşan dünya nüfusunun yirmi yıl sonra 9 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Bu güne kadar besin kaynaklarındaki artış miktarı incelendiğinde, dünya besin kaynaklarının önümüzdeki 20 yıl içinde dünya nüfusunda meydana

gelecek artışa paralel olarak artmasının mümkün olmayacağı ve dünyada var olan gıda sıkıntısının daha çok derinleşeceği belirtilmektedir (Serçe ve Çürük, 2003).

Tarımın diğer sektörlerinde olduğu gibi su ürünleri yetiştiriciliğinde de temel amaç, mümkün olan en kısa zamanda, en verimli şekilde ve sağlıklı ürün elde etmektir. Bu sonucu elde etmede; üreme teknolojisi ve genetik mühendislik uygulamalarından yararlanılır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknolojik uygulamalar; daha fazla ürün elde etmeye katkı sağlamakta; cinsel olgunlaşma yaşını düşürmekte, organizmaların büyüme hızını, yumurta verimini ve larval safhadaki yaşama oranını artırmaktadır (Şahin, 2003). Bu nedenlerle, tarımda ve özellikle su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknolojinin kullanılması gerekmektedir.

YETİŞTİRİCİLİKTE ROTİFER

Entansif balık yetiştiriciliğinde balıkların en kritik hayat devreleri, kuluçka döneminden sonra besin kesesi çekilmiş olan yavruların yeme alıştıırılma aşamasıdır. Bu dönemde iyi beslenmeyen larvalarda yaşama oranı aşırı derecede düşmektedir. Larval dönemde iyi beslenemeyen yavrular sonraki safhalarda da gelişim bozuklukları göstermektedirler. Dolayısıyla bu safhada balığa verilecek besinlerin dikkatli bir şekilde seçilmesi ve balık larvalarının canlı yemlerle (artemia, rotifer, daphnia vb.) beslenmeleri gerekmektedir (Gürbüz ve Önalın, 1996).

Canlı yemler ergin balıklar ve hatta karnivor olmayan türler için de, hem et kalitesi hem de balıkların sağlık durumları yönünden faydalıdır. Bunların doğadan toplanması uzun zaman almakta, hastalıklar açısından risk oluşturmakta ve çoğu zaman yeterli miktarda toplanması mümkün olmamaktadır (Akyurt, 1989).

Önemi her geçen gün artan kültür balıkçılığı canlı yeme olan talebi artırdığından konuyla ilgili araştırmalarda artmıştır. Canlı yemle ilgili araştırmalar, özellikle kolayca kültüre alınabilmeleri, larva ve ergin balıklar tarafından sevilerek yenilmeleri, protein ve esansiyel yağ asitleri bakımından zengin olmaları nedeniyle rotiferler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Rotiferler ile ilgili araştırmalar son 30 yılda ciddi bir şekilde artmıştır. Çünkü besinsel değerleri yüksektir ve özellikle larva yetiştiriciliğinde besin kesesi çekilmiş olan yavruların yeme alıştıırılma safhasında büyük önem arz ederler. Rotifer aşağıdaki nedenlerden dolayı yeterli yem kaynağı olarak gösterilmektedir:

- Şekilleri, büyüklükleri ve renkleri,
- Nispeten yavaş hareketleri,
- Balık larvalarının büyümesi için gerekli olan besinleri karşılamada kullanılabilen kimyasal içerikleri,
- Yüksek yoğunluklu kültürlerinin kolaylığı (Lubzens *et al.*, 2001).

ROTİFERİN BESİN DEĞERİ

Rotiferler balıkların larval dönemlerinde kullanılan en önemli besindir. Bu nedenle uygun gelişim için gerekli tüm besin maddelerini temin ederler. Rotiferin besin değeri kuru ağırlığına, kalori değerine ve kimyasal kompozisyonuna bağlıdır (Lubzens *et al.*, 1989). Ayrıca açlık, doygunluk ve üreme gibi dinamik fizyolojik işlemler rotiferin kimyasal kompozisyonunu etkilemektedir (Yuferra and Pascual, 1989; Olsen *et al.*, 1993; Øie and Olsen, 1997; Yuferra *et al.*, 1997; Makridis and Olsen, 1999). Rotiferin besinsel katkısının değerlendirilmesinde rotifer amiktik yumurtalarının ve lorikalarının

larvalarının ilk gelişim basamağında sindirilmediği de göz önünde bulundurulmalıdır (Lubzens vd., 1989).

Rotiferin kuru ağırlığı büyüklüklerine ve besin durumlarına bağlıdır (Lubzens *et al.*, 1989). Son zamanlarda Yufere ve arkadaşları (1997) *B. plicatilis*'in kuru ağırlığının *B. rotundiformis*'ten (yaklaşık 200 ng) 3-4 (yaklaşık 600-800 ng) kat daha yüksek olduğunu ve bunun üreme oranından etkilendiğini rapor etmişlerdir. Kalorik değer ise diyete bağlı olduğu ve bu değer inek mayası ile beslenen rotiferlerde 1.34 cal iken zenginleştirilmiş ticari yem ile beslenen rotiferlerde 2.00 cal'ye kadar değiştiği bulunmuştur (Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993).

Rotiferin protein içeriği kuru ağırlıkta %28 ile %63 arasında değişmektedir. Bununla birlikte rotiferlerin kuru ağırlıkta protein oranı farklı alg türleriyle veya suni bir şekilde zenginleştirilen diyetlerle yemlediklerinde değişmektedir (Frolov *et al.*, 1991; Frolov and Pankov, 1992; Nagata and Whyte, 1992; Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993; Øie and Olsen, 1997). Rotiferin amino asit profili ise ne verilen yem oranından ne de yem tipinden etkilenmektedir ((Lubzens *et al.*, 1989; Frolov *et al.*, 1991; Tamaru *et al.*, 1991, 1993; Frolov and Pankov, 1992).

Karbonhidrat içeriği de yine kuru ağırlıkta %10.5'den %27'ye kadar değişmektedir (Whyte and Nagata, 1990; Frolov *et al.*, 1991; Frolov and Pankov, 1992; Nagata and Whyte, 1992; Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993). Karbonhidrat bileşimi %61-80 glukoz (temelde glikojen olarak sunulur), %9-18 riboz ve %0.8-7.0 galaktoz, mannoz, deoksiglukoz, fukoz ve ksiloz'dan oluşmaktadır (Nagata and Whyte, 1992).

Rotiferin lipid içeriği %9'dan %28'e kadar değişen bir aralığa sahiptir ((Lubzens *et al.*, 1989; Frolov *et al.*, 1991; Frolov and Pankov, 1992; Nagata and Whyte, 1992; Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993; Reitan *et al.*, 1993; Øie & Olsen, 1997; Makridis and Olsen, 1999). Lipidlerin özellikle deniz balığı larvalarının büyümesi ve hayatta kalmaları üzerine etkileri çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Eicosapentaenoic (EPA) ve Docosahexaenoic (DHA) asitlerin (sırasıyla 20:5 n-3 ve 22:6 n-3) son on yıldır deniz balığı larvalarının hayatta kalmaları için esansiyel oldukları bilinmektedir (Owen *et al.*, 1975; Fujita, 1979; Watanabe *et al.*, 1983). Rotiferlerde lipidin yaklaşık %34-43'ü fosfolipidlerden bununda %20-55'i triasilgliserol, az miktarda monoasilgliserol, diasilgliserol, sterol esterleri ve serbest yağ asitlerinden oluşur (Teshima *et al.*, 1987; Frolov *et al.*, 1991; Nagata and Whyte, 1992; Fernandez-Reiriz *et al.*, 1993; Rainuzzo *et al.*, 1997). Fosfolipidler ve triasilgliserol yağ asitleri profiliyle benzerlik gösterir fakat bunlar rotiferlerin gıdasıyla aşırı şekilde etkilenirler. Mayayla kültüre edilen rotiferler DHA, EPA veya AA (amino asit) yönünden eksik olduklarından balık larvalarına verilmeden önce zenginleştirilmeleri gerekir (Lubzens *et al.*, 2001).

ROTİFERLERİN ZENGİNLEŞTİRİLMESİ

Zenginleştirme metotları rotiferlerin alglerle, lipid, protein ve karbonhidratlı lipid içeren mikropartikül veya mikrokapsüllerle yemlenmesini içerir (Lubzens *et al.*, 1989; Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1997). Rotiferlerin lipid içeriğinin kalite ve kantitesi lipid emülsiyonu içeren çeşitli diyetlerle uzun veya kısa dönemli zenginleştirme periyotları ile değiştirilebilir (Rainuzzo *et al.*, 1997).

Lipid içeriği ayrıca rotiferlere besin olarak verilen alglerle de zenginleştirilebilir; örneğin, Nannochloropsis EPA, Isochrysis DHA, her iki tür AA açısından zengindir. EPA yönünden noksan olan mutasyona uğramış bir Nannochloropsis AA yönünden oldukça zengin olup yağ asitleri açısından alternatif olarak kullanılabilir. Bu alg türleri kültürlerden direk bir şekilde veya dondurulmuş konsantre olarak ya da dondurulmuş-kurutulmuş olarak temin edilebilir ((Watanabe *et al.*, 1983; Lubzens *et al.*, 1989; Fulks

and Main, 1991; Frolov et al., 1991; Lubzens et al., 1995; Takeyama et al., 1996; Navarro and Yufera, 1998). Üstelik son zamanlarda Antartica'dan izole edilen ve yüksek miktarda EPA içeren bir bakterinin potansiyel bir zenginleştirici olduğu ileri sürülmüştür (Nichols et al., 1996).

Rotiferlerin zenginleştirilmesinde vitaminlerin önemi geniş bir şekilde çalışılmamıştır. Yağda çözünen vitaminlerin (A,D ve E) rotiferin üreme oranını ilerlettiği bulunmuştur (Hirayama, 1990). Rotiferlerde suda çözünen vitaminlerin içeriği ekme mayası ve lipid emülsüyonlu *Isochrysis* diyetlerinin değişiminden sonra artmıştır. En önemli artış askorbik asit ile tiamin içeriğinde ve bu vitaminlerin yeterli miktarını içeren algle beslenen rotiferlerde gerçekleşmiştir. Bununla birlikte rotiferdeki vitaminlerin içeriği balık larvalarının büyümesi için gerekli seviyeyi aşmaktadır (Lie et al., 1997). Örneğin vitamin C (askorbik asit) rotiferin büyümesini teşvik etmekle kalmayıp aynı zamanda balık larvalarının yaşama gücünü de katkıda bulunmaktadır (Dabrowski and Ciereszko, 1993; Dabrowski and Blom, 1994). Rotiferlerde vitamin C içeriği birkaç alg türünü içeren diyete bağlı olup, zenginleştirmenin maksimum seviyesi askorbik palmitat ile inkübe edilen rotiferlerde elde edilmiştir (Merchie et al., 1997).

Rotiferle yapılan larval beslemede karşılaşılan temel problemlerden biri, balık tanklarında rotiferin uzun süre kalmasıyla birlikte, açıklıktan dolayı besin değerinin düşmesidir. Rotiferler 4-5 günlük açlık periyodunun sonunda vücut ağırlıklarının yaklaşık %40-50'sini kaybederler. Bu ağırlık kaybı sıcaklıkla doğrusal bir ilişkiye sahiptir (Makridis and Olsen, 1999). Her bir rotiferin protein içeriği açlık esnasında azalır fakat amino asit içeriği daha stabil kalmaktadır (Frolov and Pankov, 1992). Açlığın bu ve benzeri olumsuz etkileri balık tanklarına alg tedariki ile kısmen azaltılabilir (Makridis and Olsen, 1999). İşte bu sebeplerden dolayı larva kültüründe zenginleştirilmiş rotiferlerin günlük olarak yenilenmesi ve tanklara verilmesi gerekmektedir (Lubzens, 2001).

ROTİFER KÜLTÜRÜNDE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN KULLANIMI

Probiyotikler; insanların veya hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketilmeleri sonucunda ağızda, gastrointestinal sistemde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığında iyileşmeye sebep olan tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleridir (Fuller, 1989; Guarner and Schaafsma, 1998; Klaenhammer, 1998; Irianto and Austin, 2002).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyolojik kontrol veya biyolojik iyileştirmeden sorumlu mikrobiyal bir formülasyon olarak tanımlanan "probiyotik" terimi (Verschuere et al., 2000; Vine et al., 2006), sucul mikroorganizmaların kontrolünde kullanılan antibiyotiklerin miktarını ve maliyetini azaltmak, hastalıklara karşı mücadele etmek, sindirim sistemini düzeltmek için özellikle larval kültürde yaygın bir hal almıştır (Gomez-Gil et al., 2000). Kullanılan probiyotikler mikroalg (*Tetraselmis*), maya (*Debaryomyces*, *Phaffia*, *Saccharomyces*), gram-pozitif (*Bacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Weissella*) ve gram-negatif (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Photorhodobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio*) bakterilerdir (Irianto and Austin, 2002).

Söz konusu probiyotikler yetiştiricilikte genellikle kuru ve canlı yemler aracılığı ile uygulanmaktadır. Uygulama özellikle rotifer (Munro et al., 1999; Rombaut et al., 1999) ve artemia (Abreu-Grobois et al., 1994; Theisen et al., 1998) gibi canlı yemlerin dezenfeksiyonundan ve sonrasında da probiyotiklerin inkübasyonundan ibarettir (Makridis et al., 2000a, 2000b; Gatesoupe, 2002).

Bunların ötesinde rotifer gerçekten de balık larvalarının terapötik ajan transferinde biyo-kapsül veya vasıta olarak görev alabilir. Gatesoupe (1991) larval kültürlerde görünen *Aeromonas salmonicida*'nın rotifer kültürüne ilave edilen *Lactococcus plantarum* tarafından inhibe edildiğini rapor etmiştir. Ayrıca rotifere yüklenen laktik asit bakterileri ile yemlenen kalkan larvalarının *Vibrio sp.* türüne daha dayanıklı hale geldikleri bildirilmiştir (Gatesoupe, 1994). Sonuç olarak bu konuda yapılan tüm deneyler rotiferin balık larvaları için probiyotik bakteri transferinde kullanılabileceğini göstermektedir (Gatesoupe, 1991, 1999; Gomez-Gil *et al.*, 2000).

Ayrıca Hirata *et al.*, (1998) probiyotik kültür sisteminin rotifer *Brachionus plicatilis* kültüründe populasyon yoğunluğunu artırdığını bildirmişlerdir.

MOLEKÜLER BİYOLOJİDE ROTİFER

Rotiferle ilgili araştırmalar direkt veya su ürünleri endüstrisinin ihtiyaçlarına göre ayrılmaktadır (Lubzens *et al.* 2001). Fakat canlı yem üretiminde temel amaçlardan biri kısa zamanda hızlı bir populasyon artışı sağlamaktır. Bu nedenle son zamanlarda rotiferlerle ilgili yapılan araştırmalar bu canlıların populasyon dinamiğine etki eden genetik ve çevresel faktörler (kültür şartları, yemleme davranışları, ömür uzunluğu, vb.) üzerinde yoğunlaşmıştır (Yufere 2001).

Söz konusu bu faktörler içerisinde özellikle populasyon dinamiğini de ilgilendiren yaşlanma ve ömür uzunluğu gibi genetik araştırmalarında, kültürünün ve elde edilişlerinin kolaylığından dolayı rotiferin model organizma olarak kullanılmasına imkan vermiştir (Kaneko *et al.*, 2002; Yoshinaga *et al.*, 2003).

Papakostas *et al.*, (2006) moleküler tekniklerden RFLP (restriction fragment length polymorphism) ve SSCP (single-strand conformational polymorphism)' yi kullanarak kültür çalışmalarında *Brachionus* rotifer türlerinin identifikasyonunu belirlemeye çalışmışlardır.

SONUÇ

Yaklaşık 40 yıldır rotifer kültürü için biyoteknolojik metotlar geliştirilmektedir. Bu türler hakkındaki pek çok araştırma direkt veya su ürünleri endüstrisinin ihtiyaçlarına göre ayrılırken kültürlerinin kolaylığından dolayı temel biyolojik soruların çözümünde model organizma olarak da kullanılmaktadırlar. Rotiferlerde üreme, yemleme, hormonlar, kışlama yumurtalarının üretimi ve gen çalışmaları bu alandaki çalışmalardan birkaçıdır.

Günümüzde avcılıkla yakalanarak büyütülen hemen hemen tüm balık larvaları rotiferle yemlenmektedir. Yeterli sayıda rotiferin sürekli ve güvenilir temini özellikle küçük ağızlı deniz balığı larvalarının kültürü için esansiyeldir. Diğer tarafta küçük ebatlı rotiferlere (süper küçükler olarak adlandırılır) aşırı şekilde küçük ağza sahip (örneğin grouper türleri) deniz balığı larvalarının kültüründe artan bir şekilde ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyacın bir kısmı rotifer yumurtalarının en az 24 saat süreyle larva tanklarında kuluçkalanmasıyla sağlanabileceği gibi genetik suşlarla da karşılanabilir. Öte yandan büyük ebatlı rotiferler pahalı artemia kistlerine olan ihtiyacı azaltabilir. Bu nedenle her bir kültür çalışmasında büyüklük yada kuru ağırlığın ölçümü ile suşların veya türlerin kimliklerini belirlemeye ihtiyaç vardır (Hagiwara *et al.*, 1995). Bunun için de genetik markırlar klonların, populasyonların, suşların veya türlerin karakterizasyonunda kullanışlı olabilmektedir (Gomez *et al.*, 1998; Boehm *et al.*, 2000; Gomez and Carvalho, 2000).

Ticari yemler onların yerini alıncaya kadar rotifere olan ihtiyaç devam edecektir (Tandler, 1984/1985; Kolkovski and Tandler, 1995; Sargent et al., 1997, 1999). Bununla birlikte pek çok balık türünün larval beslenmesinde rotiferler uygun olsa bile bütün türler için uygun olup olmadıkları araştırılmalıdır.

Yeterli miktarda rotifer yetiştirmedeki başarı rotiferin biyoloji ve fizyolojisinin geniş bir şekilde çalışılmasına bağlıdır. Sonuç olarak rotiferlerin gerek besin kalitesi, gerekse kültür metodlarındaki biyoteknolojik gelişmeler ve genetik bilimindeki ilerlemeler bu organizmaların su ürünleri yetiştiriciliğindeki önemini daha da artıracaktır.

KAYNAKLAR

- Abreu-Grobois, F. A., Romero-Janero, J. & Los Herrera-Vega, M. 1994. Chemical disinfection of *Artemia nauplii*, J. World Aquaculture Soc. 25: 579–583.
- Akyurt, İ., 1989. Alabalık beslenmesinde doğal balık yemlerinin yeri ve önemi, Ege Üniv. Su Ürünleri Derg., Cilt 6, Sayı: 21-22-23-24.
- Başaran, N. 2004. Sağlık İçin Biyoteknoloji. AB. 6. Çerçeve Programı, 1. Tematik Alan. <http://traccess.tubitak.gov.tr/news/sunumlar>.
- Dabrowski, K. and A. Ciereszko, 1993. Influence of fish size, origin, and stress on ascorbate concentration in vital tissues of hatchery rainbow trout, Prog. Fish Cult. 55: 109–135.
- Dabrowski, K. and J. H. Blom, 1994. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos, Comp. Biochem. Physiol. 108A: 129–135.
- Díaz, N. F. and Neira, R. 2005. Biotechnology Applied to Aquaculture I. Classic Biotechnologies Applied to the Reproduction of Cultivated Species, Cien. Inv. Agr. (in English) 32(1): 39-52.
- DPT, 2000. 8. Beş yıllık kalkınma planı, Biyoteknoloji ve Biogüvenlik Özel İhtisas Komisyonu Raporu, DPT: 2515. ÖİK: 533.
- Fernandez-Reiriz, U. Labarta & M. J. Ferreira, 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*), Aquaculture 112: 195–206.
- Frolov, A. V., S. L. Pankov, K. N. Geradz, S. A. Pankova & L. V. Spektrova, 1991. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*, Aquaculture 97: 181–202.
- Frolov, A. V. & S. L. Pankov, 1992. The effect of starvation on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*, J. mar. biol. Ass. U. K. 72: 343–356.
- Fujita, S., 1979. Culture of red sea bream *Pagrus major*, and its food, In Styczynska-Jurewicz, E., T. Backiel, E. Jaspers & J. Persoone (eds), Cultivation of Fish Fry and its Live Food, Eur. Maricult. Soc., Spec. Publ. 4, Bredene (Belgium): 183–197.
- Fulks, F. and K. L. Main, 1991. Rotifer and microalgae culture systems, Rotifer and Microalgae Culture Systems, Proc. U.S.–Asia Workshop. The Oceanic Institute, Honolulu, HI: 364 pp.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals, J. Appl. Bacteriol. 66: 365–378.
- Irianto, A. and Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture, Journal of Fish Diseases, 25, 633–642.
- Gatesoupe, F. J. 1991. 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 a pathogenic *Vibrio*, Aquatic Living Resources 7, 277–282.
- Gatesoupe, F. J., 1999. The use of probiotics in aquaculture, Aquaculture 180: 147–165.
- Gatesoupe, F. J. 2002. Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia nauplii* as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*, Aquaculture 212: 347–360.
- Gómez, A., Clabby, C., and Carvalho, G.R. 1998. Isolation and characterization of microsatellite loci in a cyclically parthenogenetic rotifer, *Brachionus plicatilis*, Mol. Ecol. 7:1619–1621.
- Gómez, A. and Carvalho, G. R. 2000. Sex, parthenogenesis and genetic structure of rotifers: microsatellite analysis of contemporary and resting egg bank populations, Molecular Ecology, 9, 203–214.

- Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J. F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms, *Aquaculture* 191,259–270.
- Guarner, F. and Schaafsma, G. J. 1998. Probiotics, *Int. J. Food Microbiol.* 39: 237–238.
- Gürbüz, H., Önalın, S. K., 1998. Su Piresi (*Daphnia magna*)'nın Farklı Kültür Ortamlarında Yetiştirilmesi, *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences* 22 , 237-242.
- Hagiwara A., T. Kotani, T. W. Snell, M. Assava-Aree and K. Hirayama, 1995. Morphology, reproduction, genetics and mating behavior of small, tropical marine *Brachionus* strains (Rotifera), *J. exp. mar. Biol. Ecol.* 194: 25–37.
- Hirata, H., Murata, O., Yamada, S., Ishitani, H. and Wachi, M. 1998. Probiotic culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Hydrobiologia* 387/388: 495–498.
- Hirayama, K., 1990. A physiological approach to problems of mass culture of the rotifer, NOAA Technical report No. NMFS 85. U.S. Dept. Commerce, U.S.A.: 73–79.
- Kaneko, G., Kinoshita, S., Yoshinaga, T., Tsukamoto, K. and Watabe S. 2002. Changes in expression patterns of stress protein genes during population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*, *Fisheries Science*, 68: 1317–1323.
- Klaenhammer, T. R. 1998. Functional activities of Lactobacillus probiotics: genetic mandate, *Int. Dairy J.* 8: 497–506.
- Kolkovski, S. and A. Tandler, 1995. Why microdiets are still inadequate as available alternative to live zooplankters for developing marine fish larvae, *Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc.* 24: 265–266.
- Lie, O., H. Haaland, G.-I. Hemre, A. Maage, E. Lied, G. Rosenlund, K. Sandnes and Y. Olsen, 1997. Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast emulsified oil to microalgae, *Aquaculture Int.* 5: 427–438.
- Lubzens, E., 1989. Possible use of rotifer resting eggs and preserved live rotifers (*Brachionus plicatilis*) in aquaculture and mariculture, In De Paw, N., E. Jaspers & H. Ackeford (eds), *Aquaculture – A Biotechnology in Progress*. Eur. Aquacult. Soc, Bredene, Belgium: 741–750.
- Lubzens, E., D. Rankevich, G. Kolodny, O. Gibson, A. Cohen and M. Khayat, 1995. Physiological adaptations in the survival of rotifers (*Brachionus plicatilis* O. F. Muller) at low temperatures, *Hydrobiologia* 313/314: 175–183.
- Lubzens, E., Zmora, O. and Barr, Y. 2001. Biotechnology and aquaculture of rotifers, *Hydrobiologia*, 446/447: 337–353.
- Makridis, P. and Y. Olsen, 1999. Protein depletion of the rotifer *Brachionus plicatilis* during starvation, *Aquaculture* 174: 343–353.
- Makridis, P., Fjellheim, A. J., Skjermo, J. and Vadstein, O. 2000a. Control of the bacterial flora of *Brachionus plicatilis* and *Artemia franciscana* by incubation in bacterial suspensions, *Aquaculture* 185: 207–218.
- Makridis, P., Fjellheim, A. J., Skjermo, J. and Vadstein, O. 2000b. Colonization of the gut in first feeding turbot by bacterial strains added to the water or bioencapsulated in rotifers, *Aquaculture Int* 8: 367–380.
- Merchie, G., Pl. Lavens and P. Sorgeloos, 1997. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review, *Aquaculture* 155: 165–181.
- Munro, P. D., R. J. Henderson, A. Barbour and T. H. Birkbeck. 1999. Partial decontamination of rotifers with ultraviolet radiation: the effect of changes in the bacterial load and flora of rotifers on mortalities in start-feeding larval turbot, *Aquaculture* 170: 229–244.
- Nagata, W. D. and J. N. C. Whyte, 1992. Effect of yeast and algal diets on the growth and biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller) in culture, *Aquacult. Fish. Manage.* 1992. 23: 13–21.
- Navarro, N. and M. Yufera, 1998. Population dynamics of rotifers (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in semicontinuous culture fed freeze-dried microalgae: influence of dilution rate, *Aquaculture*, 166: 297–309.
- Nichols, D. S., P. Hart, P. D. Nichols and T. A. McMeekin, 1996. Enrichment of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed an *Antarctic bacterium* containing polyunsaturated fatty acids, *Aquaculture*, 147: 115–125.
- Øie, G. and Y. Olsen, 1997. Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding conditions, *Hydrobiologia* 358: 251–258.
- Olsen, Y., K. I. Reitan and O. Vadstein, 1993. Dependence of temperature on loss rates of rotifers, lipids and ω 3 fatty acids in starved *Brachionus plicatilis* cultures, *Hydrobiologia* 255/256: 13–20.

- Owen, J. M., J. W. Adron, C. Middleton and C. B. Cowey, 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot (*Scophthalmus maximus L.*) and rainbow trout (*Salmo gaidneri rich*), *Lipids* 10: 528–531.
- Papakostas, S., Dooms, S., Christodoulou, M., Triantafyllidis, A., Kappas, I., Dierckens, K., Bossier, P., Sorgeloos, P., Abatzopoulos, T. J. 2006. Identification of Cultured *Brachionus* Rotifers Based on RFLP and SSCP Screening, *Marine Biotechnology*, Volume 8, 547–559.
- Rainuzzo, J. R., K. I. Reitan and Y. Olsen, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review, *Aquaculture* 155: 103–115.
- Reitan K. I., J. R. Rainuzzo, G. Øie and Y. Olsen, 1993. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus L.*) larvae, *Aquaculture* 118: 257–275.
- Rombaut, G., Ph. Dhert, J. Vandenberghe, L. Verschuere, P. Sorgeloos and W. Verstraete, 1999. Selection of bacteria enhancing the growth rate of axenically hatched rotifers (*Brachionus plicatilis*), *Aquaculture* 176: 195–207.
- Sargent, J. R., L. A. McEvoy and J. G. Bell, 1997. Requirements, presentation and sources of unsaturated fatty acids in marine fish larval feeds, *Aquaculture* 155: 117–127.
- Sargent, J., L. McEvoy, A. Estevez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson and D. Tocher, 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions, *Aquaculture* 179: 217–229.
- Serçe, S., Çürük, S. 2003. Ülkemizde Bitki Biyoteknolojisi, *Cine-tarım Dergi*, Sayı:50.
- Şahin, T., 2003. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Biyoteknoloji, *SÜMAE YUNUS Araştırma Bülteni*, 3:1, Mart 2003
- Takeyama, H., K. Iwamoto, S. Hara, H. Takano and T. Matsunaga, 1996. DHA enrichment of rotifers: a simple two-step culture using the unicellular algae *Chlorella reularis* and *Isochrysis galbana*, *J. Mar. Biotechnol.* 3: 244–247.
- Tandler, A., 1985/1985. Overview: food for the larval stages of marine fish. Live or inert? *Isr. J. Zool.* 33: 161–166.
- Tamaru, C. S., C.-S. Lee and H. Ako, 1991. Improving the larval rearing of stiped mullet (*Mugil cephalus*) by manipulating quantity and quality of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, In
- Fulks W. & K. L. Main (eds), *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. Proc. U.S.- Asia Workshop. The Oceanic Insitute, Honolulu, HI: 61–71.
- Tamaru, C. S., R. Murashige, C.-S. Lee, H. Ako and V. Sato, 1993. Rotifers fed various diets of baker's yeast and/or *Nannochloropsis oculata* and their effect on the growth and survival of striped mullet (*Mugil cephalus*) and milkfish (*Chanos chanos*) larvae, *Aquaculture* 110: 361–372.
- Teshima, S.-I., A. Kanazawa, K. Horinouchi, S. Yamasaki and H. Hirata, 1987. Phospholipids of the rotifer, prawn and larval fish, *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 609–615.
- Theisen, D. D., Stansell, D.D. and Woods, L.C. III. 1998. Disinfection of nauplii of *Artemia franciscana* by ozonation, *Progr. Fish. Cult.* 60: 149–151.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P. and Verstraete, W. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* Vol. 64, No. 4 p. 655–671.
- Vine, N. G., Leukes, W.D. & Kaiser, H. 2006. Probiotics in marine larviculture, *FEMS Microbiol Rev* 30, 404–427
- Watanabe, T., C. Kitajima and S. Fujita, 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review, *Aquaculture* 34: 115–143.
- Whyte, J. N. C. and W. D. Nagata, 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast and phytoplankton, *Aquaculture*: 89: 263–368.
- Yoshinaga, T., Kaneko, G., Kinoshita, S., Tsukamoto, K., Watabe, S. 2003. The molecular mechanisms of life history alterations in a rotifer: a novel approach in population dynamics, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 136, 715–722.
- Yufera, M. and E. Pascual, 1989. Biomass and elemental composition (C.H.N.) of the rotifer *Brachionus plicatilis* cultured as larval food, *Hydrobiologia* 186/187: 371–374.
- Yufera, M., G. Parra and E. Pascual, 1997. Energy content of rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in relation to temperature, *Hydrobiologia* 358: 83–87.
- Yufera, M. 2001. Studies on *Brachionus* (Rotifera): an example of interaction between fundamental and applied research, *Hydrobiologia* 446/447: 383–392.