

## PAPER DETAILS

TITLE: Levrek baliginda (*Dicentrarchus labrax*) vitamin ve koruyucu dozda antibiyotik uygulamalarinin larva ve genç yavrularda gelisim ve direnç üzerine etkisi

AUTHORS: Sema Akinlar YÜKSEL

PAGES: 39-50

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/214358>

## Levrek balığında (*Dicentrarchus labrax*) vitamin ve koruyucu dozda antibiyotik uygulamalarının larva ve genç yavrularda gelişim ve direnç üzerine etkisi\*

Sema Akınlar YÜKSEL

Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü  
Beymelek/ANTALYA

### ÖZET

Bu çalışmada, levrek balığının ilk beslenme döneminden itibaren 120. güne kadar besin olarak kullanılan canlı ve yapay yemlere ilave edilen katkı maddelerinin gelişim ve direnç üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında levrek balığı larvalarının ilk besini olan rotifer *Branchionus plicatilis*'in kültür verimliliğini artırmak ve onun aracılığıyla levrek larvasının vitamin gereksinimlerini karşılamak üzere rotifer kültüründe yem olarak, fitoplankton *Nannochloropsis oculata* ve maya birlikte kullanılmış ve maya süspansiyonuna vitamin A, D, E, C ve B<sub>12</sub> ilaveleri yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında; larva ve yavru levrek balıklarının besin gereksinimlerini karşılayarak daha sağlıklı ve dirençli ürün elde edilmesi amacıyla, yapay yemlere suda eriyen vitaminler ve antibiyotik (Doxycycline) ilave edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Dicentrarchus labrax*, *Branchionus plicatilis*, *Nannochloropsis oculata*, vitamin, Doxycycline

## Effects of vitamins and antibiotics applications on the growth and resistance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and juveniles

### ABSTRACT

In this study, supplementary substances were added to live and artificial feeds used during the first 120 days of sea bass *Dicentrarchus labrax* culture, and their influence on the growth and survival of the species was studied. In the first feeding period, for the nutritional improvement of rotifer *Branchionus plicatilis*, phytoplankton *Nannochloropsis oculata* and Baker's yeast were used together as food in the rotifer culture. In addition, vitamin A, D, E, C and B<sub>12</sub> were added to the suspension of the Baker's yeast to increase the rotifer populations and transfer these vitamins to sea bass larva for their vitamin requirements. In the second period, the water-soluble vitamins and antibiotic Doxycycline were added to the artificial feeds to increase survival and growth rate of sea bass larva and juveniles.

**Key words :** *Dicentrarchus labrax*, *Branchionus plicatilis*, *Nannochloropsis oculata*, vitamin, Doxycycline

\* Yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

## GİRİŞ

Su ürünleri kültürünün başarılı olabilmesi için, besin içeriği yönünden iyi dengelenmiş bir diet ve uygun yemleme tekniğinin belirlenmesi gerçekleştirilmesi gereken en önemli koşuldur. Çevresel etkenlerden bağımsız olarak, uygun yemleri almaksızın, balığın sağlıklı ve üretken olması mümkün değildir. Diet seçiminde, tüm besin maddeleri (protein, yağ, vitamin ve mineraller) bakımından kültürü yapılan türün besin gereksiniminin tür, çeşit, cinsiyet ve yaşam dönemlerine göre değişen miktarları ve diğer yandan kullanılabilir yem hammaddelerinin çeşitliliği, onların maliyet ve sindirilebilirliği ile doğallığı ve stoklarının devamlılığının hepsinin bir bütün olarak dikkate alınması gerekir (Weatherley ve Hill, 1987). Sonuçta, gelişim dönemi boyunca optimum büyüme için gerekli beslenme tabloları ve standartlar, her balık türü ve onların farklı yaş ve vücut ağırlıkları için farklıdır (Michael, 1987). Gatesoupe ve ark. (1984) tarafından yapılan çalışmada, levrek balığı juvenilleri için kullanılan yapay ve canlı yemler zenginleştirilerek farklı büyüme ve yaşama oranları elde edilmiştir. Ancak, levrek balığı besin gereksinimlerine ait yetersiz veri bulunmaktadır. Bu durumda, *Lates calcarifer* gibi komşu türlere ait veriler kullanılabilir. Böyle bir uygulama, Salmonidae'ler için hesaplanmış verileri kullanmaktan daha uygun görülür. Çünkü Salmonidae'lerden belirgin farklılıkları (Glucidleri tolere edememeleri ve özellikle linoleik asitten  $\omega$ -3 PUFA sentez edebilme kapasitelerinin olmaması) vardır.

Planktonik bir rotifer türü olan *B. plicatilis*, küçük boyutlu olması, yavaş hareket etmesi, suda asılı olarak kalma alışkanlığına sahip olması ve yüksek yoğunlukta kültüre alınabilme ile yüksek üreme oranına sahip olabilme yeteneklerinden dolayı balıkların larval dönemlerinde mükemmel bir ilk yemdir. (Hirata, 1979). Rotiferin sahip olduğu en önemli özelliklerden birisi yağ asitleri gibi besin maddeleri ve antibiyotiklerle kolayca zenginleştirilebilmesi ve bu maddelerin larvaya transferinde kullanılabilmesidir (Lubzens ve ark., 1989). Rotiferin kültür verimliliğini artırmak için en uygun beslenme şeklinin belirlenmesi levrek larvalarının ilk beslenme dönemi için en uygun besin içeriğine sahip rotiferlerin üretilmesi ile birlikte hedef alındığında, üretim maliyetinden tasarruf sağlanırken levrek larvaları için daha yüksek yaşama ve gelişme oranı elde edilmesi de mümkün olacaktır. Hem rotifer kültürü ve hem de larva ve yavru levrek balıklarının yaşamlarını ve gelişimlerini sürdürebilmeleri için mutlak gerekli olan vitaminlerin, rotiferler aracılığıyla larvaya transferi ve vitaminlerin üretim, taşıma ve stoklama aşamalarındaki olası kayıpları dikkate alınarak yapay yemlere ilave edilmesi sonucunda, yaşama ve gelişim oranı üzerine etkileri bu çalışmada incelenmiştir.

Su ürünleri kültürünü her yıl tehdit eden salgın ve bulaşıcı bakteriyel hastalıklara karşı koruyabilmek ve enfeksiyonları hızla sağıtmak zorunluluğu vardır. Overseas Development Administration (ODA) raporunda antibiyotiklerin koruyucu

dozda kullanım nedenlerini, birincil patojen kontrolü ve fungus gibi diğer hastalık yapıcı organizmalar veya yetiştirici metodlarındaki uygulamaların sonucunda oluşan stres nedeniyle zayıf düşen larvada ortaya çıkabilecek ikincil bakterilerin kontrolüne yardım etmek olarak açıklamıştır (Brown, 1989). Antibakteriyel ilaç çeşitlerinin hayvan yetiştiriciliğinde, bütün beslenme sürecinde veya bu dönemin önemli bir bölümünde sağıtım dozlarından ortalama yüz kez daha düşük derişimlerde yemlere veya sulara katılarak verilmesiyle sindirim sistemi mikroflorasının olumlu yönde değiştirilmesi sonucu canlı ağırlık kazancının hızlandırılması, yemden yararlanma oranının yükseltilmesi ve böylece belli başlı enfeksiyonlara karşı güvenli bir koruyucu etkinin sağlanması hedeflenmektedir (Siegel ve ark., 1975; Eeckhoutte, 1978; Şanlı, 1989; Şanlı ve Kaya, 1991). Su ürünleri kültüründe büyük kayıplara neden olan bakteriyel hastalıklara karşı koruyucu dozda ve hayvan yetiştiriciliğinde önemli bir kullanım alanı olarak verim artırıcı ve büyüme hızlandırıcı etkisi hedeflenerek kullanılan antibiyotiklerin, levrek balığı üretiminde de aynı amaçlarla yapay yemlere ilave edilmesi sonucunda üretimin farklı safhalarında yaşama ve gelişim oranı üzerine etkileri ve seçilen antibiyotik Doksisisiklinin uygun kullanım dozunun belirlenmesi bu çalışmanın konularından birisidir.

Levrek balığı üretiminde ilk beslenme döneminden itibaren 120. güne kadar besin olarak kullanılan canlı ve yapay yemlere, besin maddeleri yönünden dengelenmeleri ve gereksinimleri karşılamaları amacıyla, vitamin ve antibiyotik katkılarının, yaşama, büyüme, yüzmeye kesesi gelişimi ve hastalıklara karşı direnç üzerine etkisi, Bodrum Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü'ne ait Güvercinlik Üretim ve Eğitim Merkezi'nde gerçekleştirilen bir deneme ile incelenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Rotifer (*Branchionus plicatilis*) kültürü

Rotifer (*B. plicatilis* L-tip) kültürü kapalı ortamda, aksenik şartlarda ve yığın kültür metodu ile üç farklı hacimde, 30 l (21-23 °C ve %30 tuzlulukta), 60 l (21-23 °C ve % 26 tuzlulukta) ve 90 l (24-25°C ve %31 tuzlulukta) gerçekleştirilmiştir. Her hacim için, aynı stok kültürden elde edilen rotiferler ile tank açılırken, hazırlanan tanklara tank hacminin yarısı kadar, 8. gününde ve log fazda hasat edilmiş *N. oculata* ilave edilmiş ve geriye kalan hacim steril deniz suyu ve tatlı su ile tamamlanmıştır. *N. oculata* üretimi stok kültürden alınan algin hasata kadar birbirinden daha geniş hacime sahip ortamlara aktarılması ve yığın kültür metodu ile %30 tuzluluk ve 28 °C sıcaklıktaki kültür ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Rotifer kültüründe besleme, her hacimden ikişer tanka hergün maya veya mayaya vitamin (ilk gün 200 mg ml<sup>-1</sup> maya ve vitamin A, D, E, C ve B<sub>12</sub> sırasıyla 2, 0,2, 1, 4 ve 2 µg ml<sup>-1</sup> ve takip eden 5 gün süresince maya ve tüm vitaminlerin belirtilen oranlarının yarı miktarlarında) katkısı ile ve yine aynı şekilde ve aynı hacimlerde kültüre alınan her hacimden ikişer tanka besin olarak sadece maya (ilk gün 200 mg ml<sup>-1</sup> ve takip eden 5 gün süresince 100 mg ml<sup>-1</sup>) verilmiştir. Rotiferler larvaya yem olarak

verilmeden 6 gün öncesinden itibaren kültüre alınmış ve 7. gün yığın kültür sistemi ile tamamı hasat edilerek ve süzülmeden uygun miktarlarda larva tankına besin olarak sunulmuştur. Rotifer tanklarında havalandırma havataşları aracılığıyla, aydınlanma 40 watt'lık floresan ampullerle sürekli aydınlatma tarzında yapılmıştır.

#### **Yumurta eldesi, larval ve yavru büyütme dönemi**

Üretim Merkezi'ne ait yüzey kafeslerde yıl boyunca pelet yemle beslenen anaçlar su sıcaklığındaki değişimler göz önünde bulundurularak ocak ayı içerisinde kuluçkahane içerisindeki 10 m<sup>3</sup> (2mx5mx1m)'lük beton havuzlara alınmışlardır. Anaçların erkek/dişi oranı 1/1 olup şubat ayı içerisinde 14,5°C su sıcaklığında yumurtlama ve döllenme doğal olarak gerçekleşmiştir. Döllenmiş yumurtalar beton havuz dışına yerleştirilen 500 µm göz açıklığında tül ağa sahip el kollektörü içerisine su akışı yardımıyla toplanmış ve tartımları yapılarak inkubasyon odasındaki iki ayrı kuluçka tankına eşit miktarlarda aktarılmışlardır.

İnkubasyon ve takibinde larvaların ilk 41 günlük yaşama dönemlerini geçirecekleri kuluçka tankları 2 m<sup>3</sup> silindirik-konik fibreglass tanklardır. Bu dönem boyunca kullanılan su mekanik filtrelerden geçmiş, dönem içerisindeki yaşam evrelerine uygun optimum su sıcaklığına ısıtılmış ve ultraviyole altında sterilizasyona tabii tutulmuş olup, deniz suyu tuzluluğundadır. A ve B olarak adlandırılan iki deneme tankının her birine 212 g ve devam eden gastrulasyon safhasında yumurtalar konulmuştur. Yaklaşık 24 saat sonra 19°C sıcaklığındaki su düşük miktarlarda tanka alınarak, açılım süresince tank içindeki su sıcaklığının kademeli artışı ve 18°C'ye ulaşması sağlanmıştır. Kuluçka tankına konulan yumurta sayısı, 1g yumurta=1000 adet yumurta olarak (Freddi, 1985) farzedilmiştir. Larva açılım gerçekleştikten 24 saat sonra 1. günde kabul edilmiş ve larva yaşı buna göre hesap edilmiştir. Prelarval dönem süresince su sıcaklığı 19,5°C'de korunmuş ve aynı sıcaklığın 41 günlük süreçte sabitlenmesi ısıtılmış su akışıyla sağlanmıştır. 2m<sup>3</sup>'lük tanklarda dönem boyunca, oksijen düzeyinin 6-7 mg l<sup>-1</sup> aralığında kalması sağlanmıştır. Prelarvalarda 5. gün ağız açılımının gerçekleşmesi ile dışarıdan besleme başlamıştır. İlk besleme döneminden itibaren uygulanan 10-12 saatlik aydınlanma periyodunda 12 volt'luk halojen ampuller kullanılmıştır. Havataşları aracılığıyla yapılan havalandırmada, yumurta ve prelarvaların tank su hacmi içerisinde homojen dağılımına ve larval aktivite ile larva yem alımını engellemeyecek ölçüde olmamasına, sürekli gözlemlerle özen gösterilmiştir. Larvalara ilk besin olarak rotifer verilmiştir. Bu beslenme rejimi 15. güne kadar devam etmiştir. Bu dönemde A ve B tanklarına verilen yem kantitatif olarak aynı ancak; A tankına sunulan rotifere besin olarak kullanımından önceki 6 günlük süreçte *N. oculata* ve Baker's yeast mayaya ilave olarak verilen maya süspansiyonuna yukarıda belirtildiği gibi vitamin A, D, E, C ve B<sub>12</sub> katkısı uygulanmıştır. 13. günden itibaren her iki tanktaki postlarvalara *Artemia nauplii* ve 21. günden itibaren A. meta nauplii yem olarak verilmiştir. *Artemia salina*'nın

ticari olarak elde edilen kistlerinin, Sorgelos ve ark. (1977) tarafından tavsiye edilen dekapülasyon işlemine tabii tutulduktan sonra 28-30 °C'de %40 tuzlulukta açılımları sağlanmıştır. 30. günde larvanın uygun partikül büyüklüğündeki toz yeme kademeli olarak geçişi başlamış ve 41. gün sonrasında *Artemia meta nauplii* verilmesi tamamen durdurularak larvanın besin gereksinimi gelişimine uygun partikül boyutunda toz yemlerle karşılanmıştır.

42. günde A ve B tanklarında bulunan larvalar, 6 m<sup>3</sup> (6mx1mx1m)'lük tanklara alınmışlardır. Vitamin katkılı yemle beslenmiş rotiferin ilk yem olarak sunulduğu A tankından rasgele alınan 24.000 adet larva dört ayrı tankın her birine 6.000 adet olmak üzere yine rasgele aktarılmıştır. Vitamin katkısız yemle beslenmiş rotiferin ilk yem olarak sunulduğu B tankından rasgele alınan 6.000 adet larva tek bir tanka konulmuştur. A ve B tanklarından geriye kalan larvalar arasından rasgele alınan on biner adet larva, tuzluluğu %60'a yükseltilmiş ve anestetik madde (50-70 ppm MS 222) içeren, 60 l'lik kovalardaki deniz suyu ortamına uygun yoğunluklarda alınmış ve yüzme kesesi gelişimi gözlenmiştir. Chatain ve Corrad (1992) ve Coves ve ark. (1991) tarafından uygulanan bu metoda göre yüzme kesesi gelişmiş olan larvalar su yüzeyine çıkarken yüzme kesesi gelişmemiş larvalar dibe çökmektedir. Sonuçta elde edilen oran, toplam larvayı temsil edecek şekilde dikkate alınmıştır. 6 m<sup>3</sup>'lük tanklarda su girişine konulan havataşları vasıtası ile yapılan havalandırmalarla suyun doymuş oksijen kapasitesi artırılmış ve tank boyunca başka ilave havalandırma yapılmayarak larval hareketliliğe izin verecek durgun su kütlesi sağlanmıştır. Aydınlanma, tankların başlangıç kısımlarında bulunan sütunlar üzerine sabitleştirilmiş, tank yüzeyinden 4 m yükseklikteki 500 Watt'lık 3 adet halojen ampullerle gerçekleştirilmiştir. Tanklara, başlangıçta mekanik filtrasyon ve ısıtma işlemlerinden geçmiş %40 tuzlulukta deniz suyu alınırken, denemenin gerçekleştiği kuluçkahane koşullarındaki zorunluluklar nedeniyle 60. günden itibaren ısıtma ve 85. günden itibaren üretimde kullanılan suyun filtrasyonu durdurularak doğrudan deniz suyu alınmıştır.

Tanklardaki 41-120. günler arasındaki süreçte, A tankından gelen ve 1, 2, 3, 4 nolu tanklarda bulunan ve B tankından alınarak 5 nolu tanka konulan larva ve yavrulara uygulanan diyetlere denemenin amacı gereği farklı vitamin ve antibiyotik katkıları gerçekleştirilmiştir. Dönem süresince uygun partikül boyutunda yemler larva ve yavru gereksinimini karşılayacak ölçüde verilmiştir. 2 nolu tankın günlük toz yeminin sabah öğünü için sunulan miktarına, 45-50, 65-70, 85-90 ve 105-110. günler arasındaki beşer günlük dönemlerde, 1. gün 200 mg kg<sup>-1</sup> canlı ağırlık ve takip eden 4 gün için 100 mg kg<sup>-1</sup> canlı ağırlık üzerinden antibiyotik (Doksisiklin) katkısı gerçekleştirilmiştir. Diğer günlerde verilen yemlere herhangi bir katkı maddesi ilave edilmemiştir. 3 nolu tanka 2 nolu tank ile aynı beşer günlük dönemlerde, günlük toz yemlerin sabah öğünü için sunulan miktarına, aynı oranda ve aynı şekilde antibiyotik katkısı gerçekleştirilmiştir. Buna ilave olarak 45. günden 120. güne

kadar 3 nolu tanka, vitamin C, tiamin, riboflavin, pantotenik asit, niasin, piridoksin, folik asit, biotin, kolin, inositol ve B<sub>12</sub> katkıları sırasıyla 400, 80, 80, 120, 250, 40, 5, 1, 2500, 300 ve 0.04 mg kg<sup>-1</sup> yem düzeyinde gerçekleştirilmiştir. 4 nolu tanka 45. günden 120. güne kadar, 3 nolu tank için belirtilen aynı vitamin katkıları aynı oranlarda ve aynı şekilde sabah öğünleri ile verilmiş ancak hiç bir antibiyotik katkısı uygulanmamıştır. 3 ve 4 nolu tanklara sunulan yemlere, günlük yem miktarları üzerinden yapılan vitamin katkıları balıklara sabah öğünleri ile birlikte sunulmuştur. 1 ve 5 nolu tanklara sunulan yemlere herhangi bir katkı maddesi ilave edilmemiştir. Böylece, A ve B kuluçka tanklarına ilk beslenme döneminde uygulanan diet farklılığının 45-120. günler arasında gelişim ve yaşama oranı üzerindeki etkisi incelenebilmiştir. Buna ilave olarak 1 tank diğer 2, 3 ve 4. tanklar için karşılaştırma tankı olurken aynı zamanda 2, 3 ve 4. tankların herbiri bir diğeriyle karşılaştırmalı olarak incelenebilmiştir.

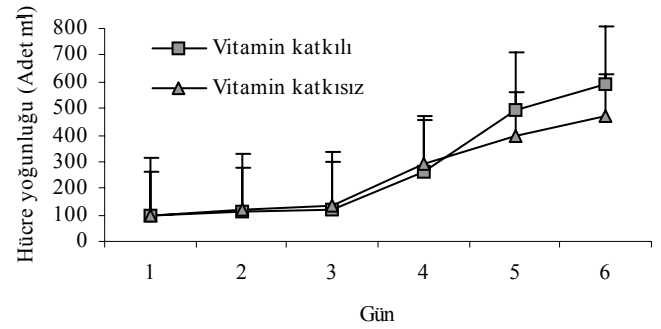
120 günlük yaşam periodu boyunca üretimde kullanılan suyun sıcaklık ve oksijen değerleri günlük ölçümlerle tesbit edilmiştir. Deneme süresince, 0, 1, 3, 5, 8, 10, 15, 20, 30 ve 40. günlerde larvaların boy ve larval gelişimleri; 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110 ve 120. günlerde boy, ağırlık ve yükseklik gelişimleri her tanktan alınan 100'er örnek üzerinden mikroskop ve hassas teraziler kullanılarak değerlendirilmiştir. 3. ve 4. tanklara bırakılan yemlere uygulanan vitamin katkıları, farklı kaynaklardan karnivor balıklar için verilen vitamin gereksinim değerleri (Halver, 1985; Ronald, 1992); Serranidae familyası ve levrek balığı için gerekli vitamin değerleri (Guillaume, 1985) ve levrek balığı dietleri için önerilen vitamin premikslerinde verilen vitamin gereksinim değerleri (Michael, 1987) dikkate alınarak, ancak yem olarak kullanılan mikrogranül ve granül yemlerin vitamin içerikleri göz önünde bulundurulmadan belirlenmiştir. Yemlere vitamin katkısı, yem ve vitaminlerin kuru ortamda karışımını takiben sıvı yağ katkısı yapılarak partiküllerin üzerlerinin kaplanması ile gerçekleştirilmiştir. Karışımların homojen olması için her seferinde karıştırıcı kullanılmıştır. Koruyucu amaçlı ve gelişimi teşvik edici olarak kullanılan antibiyotik Doksisiklin'in günlük doz ve uygulama süresinin belirlenmesinde Van Duijn (1973) tarafından verilen değerlerden yararlanılmıştır. 2. tankta son antibiyotik katkılı yem kullanımından (105. gün) 20 gün sonra alınan örneklerden balık bünyesinin tamamı üzerinden "Likit Kromatografi Metodu" (Sworth, 1985) uygulanarak antibiyotik kalıntı analizi yapılmıştır. 41-120. günler arasındaki süreçte kullanılan mikrogranül ve granül yemler 70. güne kadar elle dağıtılmış, takibinde otomatik yemliklerin kullanılmaya başlaması ile birlikte kademeli olarak azalan yem miktarları ile elle yem dağıtımına da devam edilmiştir. 120 günlük yetiştirme periodunda larva ve yavru balığın beslenmesinde kullanılan Artemia kistleri, mikrogranül ve granül yemler; yem katkısı olarak kullanılan vitaminler ve antibiyotik farklı firmalardan temin edilmişlerdir.

Yavru döneminde artan balık ölümleri ve yavru balıkların ölüm öncesi gösterdikleri semptomlar nedeniyle bakteriyel bir hastalık olasılığı göz önünde bulundurulmuştur. Dietlerinde antibiyotik katkısı olmayan ve ölüm oranının yüksek olduğu 5. tanktan alınan yavru balık böbreklerinden hazırlanan örneklerden, %1 oranında NaCl içeren Trypton Soy Agar (TSA) besiyerinin bulunduğu ortama ekim yapılarak 25 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden hazırlanan preparat üzerinde Gram boyama gerçekleştirilmiş ve aynı kolonilerin yem katkısı olarak kullanılan Doksisikline karşı duyarlılığının saptanması için tüp dilüsyon yöntemi uygulanarak minimal inhibe edici konsantrasyonu (MIC) (Öner, 1987) tayin edilmiştir.

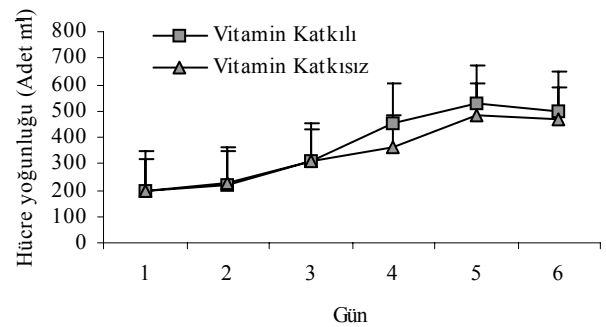
### BULGULAR

#### Rotifer (*Branchionus plicatilis*) kültürü

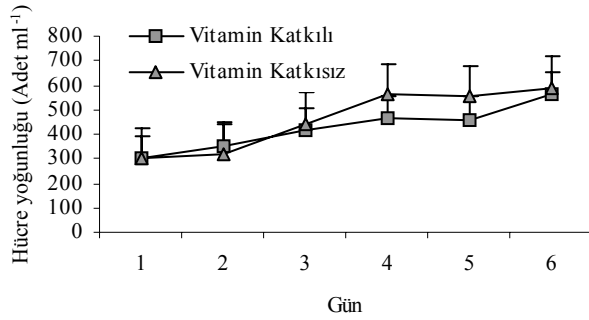
*B. plicatilis*'in 30 l, 60 l ve 90 l 'lik hacimlerde vitamin (A, D, E, C ve B<sub>12</sub>) katkılı ve vitamin katkısız gerçekleştirilen birbirinin aynı ikiyeşer çalışmadan elde edilen ortalama populasyon artışları sırasıyla Şekil 1, 2 ve 3'de görülmektedir.



Şekil 1. *Branchionus plicatilis*'in 30 l'lik hacimlerde vitamin (a, d, e, c ve b<sub>12</sub>) katkılı ve vitamin katkısız kültür sonuçları



Şekil 2. *Branchionus plicatilis*'in 60 l'lik hacimlerde vitamin (a, d, e, c ve b<sub>12</sub>) katkılı ve vitamin katkısız kültür sonuçları



Şekil 3. *Branchionus plicatilis*'in 90 l'lik hacimlerde vitamin (a, d, e, c ve b<sub>12</sub>) katkılı ve vitamin katkısız kültür sonuçları

#### Larval yetiştiricilik

Kuluçka tanklarına alım esnasında 35-40. saatlerde olduğu tesbit edilen yumurtaların açılımı, su sıcaklığının 15.5°C'den kademeli olarak 18°C su sıcaklığına kadar yükseldiği ortamda 48 saat sonra gerçekleşmiştir. Deneme başlangıcında, sırasıyla vitamin katkısı ile beslenen rotiferlerin ve vitamin katkısı olmadan beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu A ve B kuluçka tanklarının herbirine 212 g yumurta konulmuştur. Ancak, 24 saat sonra, A tankından 53 g ve B tankından 55 g ölü yumurta alınmıştır. Yumurtaların tanklara alımından 48 saat sonra tanklardan alınan dip sularında ölü yumurtaya rastlanmadığı için ilk 24 saat sonunda alınan ölü yumurtaların haricinde kalan, "açılan larva sayısı" olarak kabul edilmiştir. Larvaların ilk 40 günlük dönemde içinde bulundukları aynı tanklardaki yaşama oranları olarak 41. günlerinde alınan kesin sayılar dikkate alınmıştır. Larvaların ilk 40 günlük dönemde boy ve yüzme kesesi gelişimine ait değerler Çizelge 1'de verilmektedir.

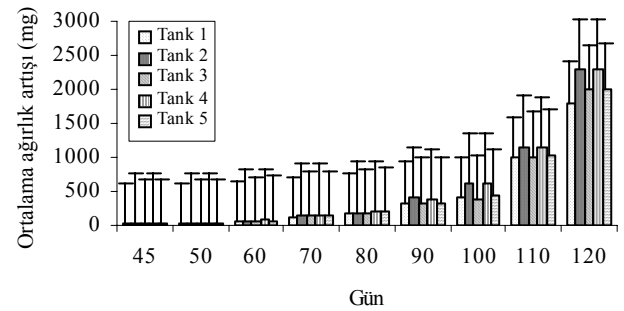
- Tanklarına konulan yumurta sayısı %100 kabul edildiğinde 41. gün sayım sonucunda elde edilen yaşama oranları: A Tankı için %17,4 ve B Tankı için %14,65'dir.
- Açılan larva sayısı %100 olarak kabul edildiğinde 41. gün sayım sonucunda elde edilen yaşama oranları: A Tankı için %23,30 ve B Tankı için %19,79'dur.

Çizelge 1. Larval dönem gelişimi

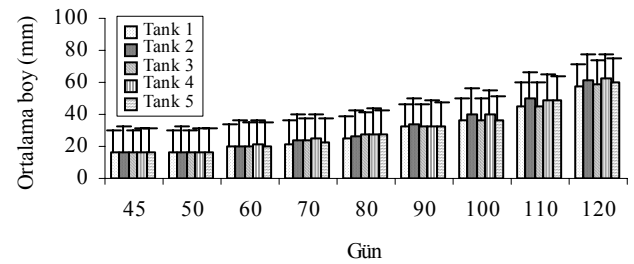
| Dönem        | Yaş (gün) | A Tankı  |                          | B Tankı  |                          |
|--------------|-----------|----------|--------------------------|----------|--------------------------|
|              |           | Boy (mm) | Yüzme kesesi oluşumu (%) | Boy (mm) | Yüzme kesesi oluşumu (%) |
| Yumurta      | 0         | 1,11     | -                        | 1,13     | -                        |
| Prelarva     | 1         | 4,00     | -                        | 4,01     | -                        |
| Prelarva     | 3         | 4,81     | -                        | 4,82     | -                        |
| İlk beslenme | 5         | 5,05     | -                        | 5,01     | -                        |
| Postlarva    | 8         | 5,46     | 67                       | 5,44     | 47                       |
| Postlarva    | 10        | 5,72     | 72                       | 5,75     | 58                       |
| Postlarva    | 15        | 7,02     | 86                       | 6,88     | 67                       |
| Postlarva    | 20        | 8,41     |                          | 8,66     |                          |
| Postlarva    | 30        | 12,83    |                          | 11,83    |                          |
| Postlarva    | 40        | 14,34    | 80                       | 14,40    | 64                       |

#### 45-120 Günler arası yetiştirme dönemi

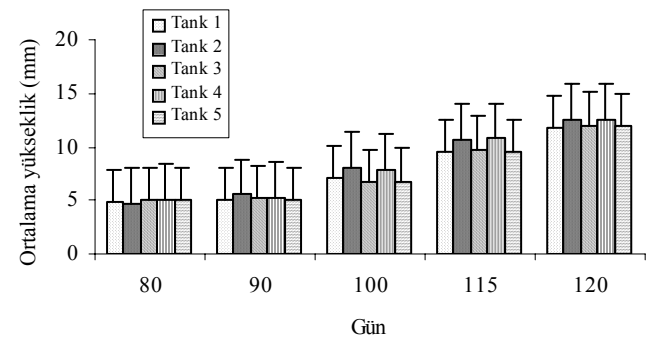
Bu dönem süresince 6 m<sup>3</sup>'lük 5 ayrı tankta bulunan larva ve yavrular için farklı besleme rejimleri uygulanmıştır. Tanklar arası ağırlık, boy, yükseklik ve yaşama oranı farklılıkları sırasıyla Şekil 4, 5, 6 ve 7'de görülmektedir. Bütün tanklarda dönem süresince günlük olarak ölçülen oksijen düzeylerinde çoğunlukla birbirine yakın değerler saptanmış, tanklar arasındaki farklılıklar maksimum 0,5 mg ml<sup>-1</sup> olmuştur. Dönem süresince ölçülen tank sularındaki oksijen miktarı minimum 6,20 mg ml<sup>-1</sup> ile maksimum 8,68 mg ml<sup>-1</sup> arasında değişmiştir. Oksijen doygunluğu minimum %66,5 ile maksimum %93,1 arasında değişmiştir.



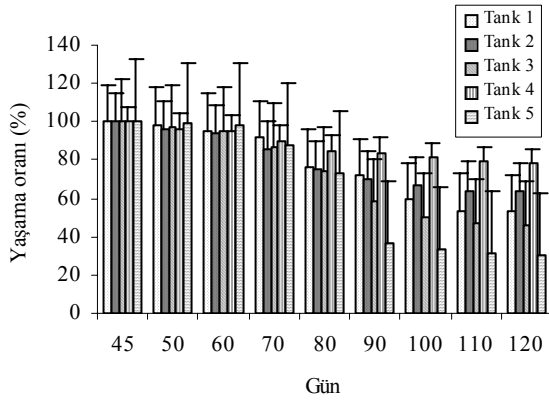
Şekil 4. Ortalama ağırlık artışı



Şekil 5. Ortalama boy artışı



Şekil 6. Ortalama yükseklik artışı



Şekil 7. Yaşama oranı

### 120 Günlük yetiştiri döneminde ölümün başlıca nedenleri

Larvaların 8. günlerinde, denemenin gerçekleştiği kuluçkahane de kullanılan su ısıtma sistemindeki arıza nedeni ile 12 saat süreyle tanklara su girişi yapılamamıştır. Tanklarda oksijen düzeyi, bu süre boyunca kontrol edilmiş ancak oksijenin risk oluşturabilecek düşüşü söz konusu olmamıştır. Fakat su sıcaklığının kuluçka odası ortam sıcaklığı ile ısı alışverişi sonucu tank su sıcaklıklarında 5°C'lik düşüş gerçekleşmiştir. 8. günü takip eden üç gün süresince A ve B tanklarının her birinden dip suyu ile tahmini sayımla (birim gram ölü larva sayısının çoklu örnekleme ile tespit edilmesiyle) 5000 adet ölü larva alınmıştır. Larvaların 12. günlerinde, sabah suni ışığın açılması ile A ve B kuluçka tanklarında su yüzeyine toplanmış büyük miktarda ölü larva gözlenmiştir. Ölü larvalardan alınan örnekler incelendiğinde yüzme kesesinin aşırı gelişmiş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 8). Ölü larva miktarı tahmini sayımla A tankı için 20 000 adet, B tankı için 15 000 adettir. 45. gün sonrasında gerçekleşen balık ölümleri, su sıcaklığının 19-20°C'ye yükseldiği 60. günden itibaren artış gösterirken; su sıcaklığının 25°C'ye ulaştığı ve ani sıcaklık düşüşlerinin durduğu 100. gün sonrasında oldukça düşük miktarlarda devam etmiştir (Çizelge 2). Larva ve yavru balıklarda ölüm öncesi 5-6 saat içinde dışbaki ile gözlenebilen belirtiler, renkte kararma, su yüzeyine yakın ve sürüden ayrı yüzme olup ölen balıkların %85'inde baş ve ağız üzerinde kızarıklık ve %50'sinde kuyruk yüzgeci deformasyonu ve erime tespit edilmiştir. Bu belirtileri gösteren balıkların iç organlarında, ölüm öncesi ve sonrası yapılan otopside, sağlıklı olanlardan farklı bir belirti tespit edilememiştir. Ancak, ilk yem olarak vitamin katkısız maya ile beslenmiş rotiferlerin verildiği ve 45-120 günler arasındaki süreçte yemlerine hiçbir katkı maddesi uygulanmamış yavru balıklardan alınan ve aynı semptomları gösteren hasta balıkların, böbreklerinden TSA (+%1 NaCl) besiyerine yapılan ekim sonrası (25°C'de 48 saat inkübasyon sonrası), besiyeri üzerinde 1-2 mm çapında ve kenarları düzgün yuvarlak, açık sarı koloniler üremiştir. Bu kolonilerden hazırlanan preparat üzerinde gerçekleştirilen

Gram boyama sonucunda, mikroskop altında incelenen preparatta, Gram (-), virgül şeklinde 2.0-4.0 µ boyunda ve 0.5-1.0 µ eninde mikroorganizmalar tespit edilmiştir.



Şekil 8. Yüzme kesesinin aşırı gelişimi nedeniyle ölen levrek balığı larvaları (12. gün)

Çizelge 2. 50-120. Günler arası onar günlük dönemlerde deneme tanklarında gerçekleşen ölüm (adet)

| Gün     | Tank 1 | Tank 2 | Tank 3 | Tank 4 | Tank 5 |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 50-60   | 22     | 11     | 10     | 8      | 13     |
| 61-70   | 54     | 52     | 50     | 28     | 61     |
| 71-80   | 54     | 61     | 72     | 29     | 87     |
| 81-90   | 27     | 30     | 89     | 11     | 214    |
| 91-100  | 73     | 26     | 24     | 16     | 30     |
| 101-110 | 31     | 15     | 9      | 11     | 12     |
| 111-120 | 5      | 5      | 6      | 6      | 7      |

### Antibiyotik kullanımı

TSA besiyerinde üreyen kolonilerden farklı yoğunluklarda Doksisisiklin içeren tüplere ekim yapılarak, bu antibiyotik üreyen mikroorganizmayı MIC'i incelenmiştir. Tüp dilüsyon yöntemi sonucunda, antibiyotik 100 ve 200 mg'ında herhangi bir değişme gözlenmezken, 400, 800 ve 1000 mg'larında mikroorganizma üremesi engellenmiştir. Deneme süresince belirli dönemlerde, Doksisisiklin katkılı yem ile beslenen 2. tanka ait yavru balık örneklerinin tüm vücudu üzerinden, antibiyotik en son kullanımından (105. gün) 20 gün sonrasında, Likit Kromatografi Metodu ile yapılan kalıntı analizi sonucunda hiç bir antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, levrek balığı üretiminde ilk beslenme döneminden itibaren 120. güne kadar besin olarak kullanılan canlı ve yapay yemlere, besin maddeleri yönünden dengelenmeleri ve gereksinimleri karşılamaları amacıyla, vitamin ve antibiyotik katkıları yapılarak bunun yaşama, büyüme, yüzme kesesi gelişimi ve hastalıklara karşı direnç üzerine etkisi incelenmiştir.

Balıkların yaşamlarını sürdürebilmeleri için mutlak gerekli olan vitaminler, balığın gereksinimi için kabul edilebilir sınırlarda ve yeterli miktarlarda yem ile verilmelidir. Balıklar için vitaminlerin gereksinimleri ve rolü üzerine pek çok çalışma vardır. Bu çalışmalar sonucu alınan

veriler, balık için besleyicilerle dengelenmiş vitamin test dietlerinin ve değişik vitamin miktarları içeren bir seri test dietinin kullanılmasından elde edilmiştir (Halver, 1972).

Yerlerine ikame edebilecek yem tiplerinin bulunması için yapılan pek çok çalışmaya rağmen, mikroalgler, başta denizel türler olmak üzere pek çok sucul organizma kültüründe önemini korumaktadır (Horstmann, 1985). Denizel balıkların pek çoğunun kültürü büyük oranda bir zooplankton olan rotiferin desteğine bağlıdır ve rotiferler genellikle mikroalgler ile yetiştirilir. *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Dunaliella* ve *Tetraselmis*, akuakültürel amaçla oldukça yaygın olarak kültürü yapılan alg cinsleridir. Mikroalg seçiminde genellikle, hücre boyutu, besin değeri ve kültürünün kolaylığı ile yem olarak tüketecek türün tercihleri dikkate alınır (Fulks ve Main, 1991). *N. oculata*, önceki yıllarda bütün Japon bilimsel kayıtlarında *Chlorella*'nın deniz türleri ile karıştırılmış, ancak 1986 yılında *Nannochloropsis*'e taksonomik olarak transfer edilmiştir (Maruyama ve ark., 1986). Japonya'da alışılmış şekilde "Marine Chlorella" olarak isimlendirilen ve en yaygın besin tipi olan bu mikroalg Eustigmatophyceae algal sınıfına dahildir (Fulks ve Main, 1991). *N. oculata*, rotifer *B. plicatilis*'in önemli kültür yemidir. Çünkü vitamin B<sub>12</sub> ve eicosapentaenoic asit (EPA) düzeyi yüksektir. Vitamin B<sub>12</sub> rotiferlerde hızlı popülasyon artışı için gereklidir (Scott, 1981; Hirayama ve Funamota, 1983); EPA denizel balıklarının larva ve juvenilleri için yem olan rotiferin besin değerini artırır (Watanabe ve ark., 1983). *N. oculata*'nın askorbik asit içeriği 1510 µg g<sup>-1</sup> kuru ağırlık olarak ifade edilmiştir (Merchie ve ark., 1995). *N. oculata* hücreleri 4.5-5.0 µ uzunluğunda ve 3.5-4.0 µ genişliğindedir (Lim, 1991). Rotiferler için uygun besin partikül boyutu 2-20 µm. arasında değişiyor olsada, besin tiplerinin çok geniş bir aralığında kültüre edilebilirler. Ancak, rotiferin besin değeri, dietinden büyük ölçüde etkilenir. Rotifer kültüründe kullanılan yem tipine, maliyet, kültüre alınan rotifer miktarı için gerekli iş gücü ve zaman miktarı ve yemlerin besinsel değeri ile elde edilebilirliği üzerinde incelemeler gerçekleştirildikten sonra karar verilir. Rotiferin yem kalitesine karar veren iki standart vardır: rotiferin en yüksek yaşama oranı ve rotiferle beslenen hedef türün yaşama ve büyüme oranı. Rotiferler, uygun partikül büyüklüğüne sahip olduğu sürece bakterilerde dahil pek çok tipte yemle beslenebilirler. Ayrıca, rotiferler vitamin B<sub>12</sub> ve vitamin A'ya gereksinim duyarlar (Yu ve ark., 1989; Fukusho, 1989a). Bazı deniz balıkları (larval dönemde rotiferle beslenen) HUFA'ya gereksinim duyarken bunu kısa zincirli yağ asitlerinden sentezleyemezler. Bu durumda yüksek düzeyde HUFA içeren belirli yemler rotifer yemi olarak daha fazla değer kazanır. Fitoplankton, rotifer kültüründe besin olarak kullanılır ve kültürü yapılan rotifer dietlerinin başlıca unsurudur. Hirata (1989), kullanılan algal yemlerden ve özellikle *N. oculata*'dan söz etmiştir. Rotifer yemi olarak *N. oculata*'nın başlıca kullanım nedenlerinden birisi de bu algin kültür suyunu temizleme yeteneğidir. *Nannochloropsis* spp. gibi yüksek oranda ω-3 HUFA içeren türler en iyi yem olarak

dikkate alınır (Hirayama ve ark., 1989). Levrek balığı için, özellikle ω-3 serisi esansiyel yağ asitlerinin yokluğunda büyüme yavaşlar ve lipid kompozisyonu bütünüyle değişir. Tatlı su balıklarının aksine, levrek balığı tarafından gereksinim duyulan 20:5 ω-3 ve 22:6 ω-3 yağ asitleri 18:3 ω-3 (linolenik asit)'den sentezlenemezler. Çünkü, bunların sentezine izin veren desaturation mekanizması (doymuş bileşiğin doymamış bileşik haline dönüşmesi) oldukça yetersizdir. Linolenik asit fazlalığı lipid metabolizması ve sonuçta balık büyümesi üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Yone, 1976; Watanabe, 1982). Levrek balığının ω-3 HUFA juvenil dönem gereksinimi %2.0 olarak ifade edilmiştir (Watanabe, 1982).

Fitoplankton kullanımındaki en önemli engel, rotifer beslenmesi için gerekli büyük miktarlarda algin üretimi için gerekli iş gücü, zaman ve tesisatın büyük çaplı olmasıdır. Maya rotifer kültürünü önemli ölçüde basitleştirir. "Deniz mayası" (*Candida* sp.), "Baker's yeast" *Saccharomyces cerevisiae* ve "Caked yeast" (*Rhodotorula* sp.) rotifer beslenmesinde başarıyla kullanılırlar. Baker's yeast, bu amaçla ilk kullanılan olup halen yüksek oranda ve bazı kuluçkahanelerde tamamiyle algin yerini almıştır. Mayanın *N. oculata*'ya göre faydaları şöyle sıralanabilir: sürekli sabit stoğun algde sağlanmasının güç olması, iş gücü, iş zamanı ve maliyetten tasarruf sağlaması, beslemenin daha kolay olması ve saklanması kolay olması (Fukusho, 1989b). Mayanın rotifer için besinsel değeri düşük olduğuna dair yaygın inanışına rağmen, maya ile beslenen rotiferler besleyicidir (Fukusho, 1989a; Hirayama ve Funamota, 1983). Maya kullanımında karşılaşılan problemler, özellikle daha sık gerçekleşen kültür yıkımları ve yüksek HUFA gereksinimi olan hedef türlerde düşük yaşama oranı olmaktadır. İkinci problemin çözümüne yönelik olarak alg ve maya rotifere karışık diet olarak sunulur. Alternatif olarak, rotiferler maya ile hasat yoğunluğuna eriştirilebilir ve hasattan bir kaç saat veya bir kaç gün öncesinde yüksek HUFA'ya sahip alg türü ile beslenirler. Diğer metodlar, ω-3 HUFA'ca zenginleştirilmiş mayalar ile rotiferlerin beslenmesi veya rotiferlerin hasat sonrası yoğun formuna ω-3 HUFA'ya sahip zenginleştiricilerin katılmasıdır (Ostrowski ve Divakaran, 1990). İkinci yol, rotiferin zenginleştirilmesi için en kolay yol olmasına rağmen, kümeleşmelere ve larval yetiştirme tankında su kalitesinin bozulmasına neden olur (Hoff ve Snell, 1989). Bugün, hasat sonrası kullanılabilen çok sayıda zenginleştirici sıvılar ticari olarak elde edilebilir. Verilen besinin miktarı ve sıklığı rotiferin büyüme oranı ve besin kalitesi üzerine etkilidir. Yemin partikül büyüklüğü, yoğunluğu, rotiferlerin son beslenme süreci ve besin tarafından açığa çıkarılan kimyasal teşvik ediciler yemin alım oranını etkilerler (Fukusho, 1989a). Rotiferlerin besin değerinin büyük bölümü, onların kendi dokularından değil, bağırsak içeriği, hazmedilen bölüm ve yüksek konsantrasyonda fitoplankton, maya ve bakteriler vb.'den gelir. Sonuçta, hasat öncesi besinden mahrum tutulan rotiferin kalitesi düşecektir. Rotiferlerde organik maddenin

hızla kaybı, genel olarak balık larva kültüründe yüksek ölüm ve kötü gelişmenin en önemli nedenlerinden birisidir (Lubzens ve ark., 1989). *B. plicatilis* populasyonları oldukça yoğun olabilir. 100-200 hücre  $\text{ml}^{-1}$  yaygın değildir; 1.000 rotifer  $\text{ml}^{-1}$ 'yi aşan yoğunluklar belirli koşullar altında başarılı olabilir. Rotifer populasyonlarındaki hızlı azalmalar yaygın olarak "crash" olarak adlandırılır. Rotifer kültüründeki bu tip yıkımlara modern kuluçkahanelerde sık sık rastlanır. Yıkımların başlıca nedenleri, yoğun kültür, su kalitesindeki bozulmalar, besinsel eksiklikler, su sıcaklığındaki ani düşüşler, yalnız maya ile besleme, seksüel üreme, viral enfeksiyonlar ve istenmeyen türlerin kontaminasyonu olabilir. Sonuçta yetiştiriciliği yapılan larvaların besin gereksinimi karşılanamaz. Kültür yıkımlarının erken ikazı için, ölçülebilen yüzme aktivitesi ve/veya yumurta oranı yoluyla rotiferlerin fizyolojik durumlarının gözlenmesi araştırılmaktadır (Meragelman ve ark. 1985; Fushimi, 1989; Reguera, 1984; Comps ve ark., 1991).

Bu çalışmada levrek balığı kuluçkahanelerinde ilk yem olarak kullanılan rotiferin kültür verimliliğini ve besin kompozisyonunu ve geliştirilen rotiferler aracılığı ile levrek balığı larvalarının yaşama ve gelişme oranını yükseltmeyi hedefleyerek canlı yem üretiminde farklı besleme teknikleri uygulanmıştır. Bu besleme teknikleri belirlenirken Hirayama ve Satuito (1991) ve Tamaru ve ark. (1991) tarafından gerçekleştirilen deneysel çalışmaların sonuçları dikkate alınmıştır. Literatürde fitoplankton *N. oculata* ile beslenen *B. plicatilis*'in daha yüksek protein ve lipid içeriğine sahip olduğu; mayanın tek başına yada fitoplankton ile birlikte rotifer besini olarak kullanıldığı durumda rotifer için yeterli bir besin olduğu, ancak *N. oculata* ve mayanın besin olarak birlikte kullanımı ile fitoplankton üretimi için harcanacak işgücü ve zamandan tasarruf sağlanırken, bu kombinasyonla beslenen rotiferlerin özellikle amino asitler bakımından daha yüksek değerlere sahip olduğu belirtilmiştir (Hirayama ve Funamota, 1983; Hirayama ve Satuito, 1991; Tamaru ve ark., 1991). Hirayama ve Satuito (1991), *B. plicatilis* için besin olarak kullanılan mayanın besinsel değerinin geliştirilmesi üzerine yaptıkları araştırmaları L- tipi rotifer ile ve yığın kültür metodu uygulayarak 23°C'de gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, rotiferlerin beslenmesinde kullanılan maya süspansiyonuna vitamin B<sub>12</sub> ilavesi (200  $\mu\text{g}$   $\text{ml}^{-1}$  maya ve 1.4  $\mu\text{g}$   $\text{ml}^{-1}$  vitamin B<sub>12</sub>) tek başına mayaya nazaran rotifer kültürünün büyüme oranını geliştirmiştir. Bu çalışmada, rotiferin yağda eriyen vitaminlere olan gereksinimi, B<sub>12</sub> ile zenginleştirilmiş maya süspansiyonuna bu vitaminlerin eklenmesiyle giderilmiştir. Sonuçta her vitaminin ayrı ayrı katılması maya süspansiyonunun besinsel değerini artırmış ancak bu vitaminlerin birlikte katımında en yüksek değer elde edilmiştir. Aynı süspansiyona vitamin C ilavesi de rotifer artışını yükseltmiştir ki bu sonuçta rotiferin C vitaminine olan gereksinimini ortaya çıkarmaktadır.

Bu çalışmada, rotifer üretimi için kullanılan üç hacimden (30, 60, 90 l) vitamin katkılı üretim ile en yüksek populasyon

artışı vitamin katkısız üretime göre 30 l'lik tanklardan elde edilmiştir. 60 l'lik hacimde vitamin katkılı rotifer kültüründe populasyon artışı vitamin katkısız kültüre göre daha yüksek oranda gerçekleşmiş, ancak çok yüksek bir farklılık gözlenmemiştir. 90 l'lik hacimde ise vitamin katkısı olumsuz etkide bulunmuştur. 30 l ve 60 l'lik hacimlerde vitamin katkılı ve katkısız rotifer kültürleri karşılaştırıldığında üretimin 3. veya 4. günlerine kadar populasyon artışları başabaş giderken takip eden günlerde vitamin katkılı tanklardan daha yüksek değerler elde edilmiştir. Bunun nedenleri olarak, tanklara kültür başlangıcında hacmin yarısı kadar ilave edilmiş *N. oculata*'nın bu günlerde giderek tükenmesi ve vitamin katkılı üretim sonuçlarının bu günlerden itibaren daha etkili olması görülmüştür. Sonuçta bu tip besleme tekniğinin daha küçük hacimlerde veya başlangıç yoğunluğu daha az olan çalışmalarda başarılı olacağı söylenebilir. Çünkü yoğun rotifer kültüründe mayaya ilave olarak verilebilecek besin maddeleriyle kültür ortamı optimum değerlerinin korunması daha güç olmaktadır. Tamaru ve ark. (1991) tarafından *Mugil cephalus* larva yetiştiriciliğinin geliştirilmesi için ilk besin olarak kullanılan rotiferin kalitesinde gerçekleştirilen farklılıkların (Yalnız *N. oculata* veya yalnız *Tetraselmis tetrathele* veya yalnız maya veya maya+N. *oculata* ile besleme) etkisi araştırılmıştır. Araştırmada *M. cephalus* larvalarının amino asit ve yağ asitleri gereksinimini belirlemek üzere, *M. cephalus* yumurtalarının bu besin maddeleri yönünden kompozisyonu baz alınmıştır. Tamaru ve ark. (1991). tarafından yapılan bu çalışmada, farklı şekilde beslenen rotiferlerin, ilk yem olduğu *M. cephalus* larvalarında farklı yaşama ve gelişme oranı gerçekleşmiştir. Larvaların yaşama oranı rotifer besini olarak *N. oculata* ve maya birlikte kullanıldığında en yüksek olurken toplam boyda bu şekilde besleme ile sadece *N. oculata* kullanma arasında pek farklılık yoktur. Bu, HUFA gereksiniminin yarı yarıya besleme ile karşılandığını göstermektedir. Ancak yalnız maya ile beslemede larvalarda hem yaşama oranı hem de büyümede düşük değerler elde edilmiştir. Tamaru ve ark. (1991) tarafından gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarında, maya ve *N. oculata* yem olarak birlikte kullanıldığında kültüre edilen rotiferlerin esansiyel amino asit içeriği daha yüksektir. Alliot ve ark. 1974 tarafından bildirilen levrek balığı kas ve yumurtasındaki esansiyel amino asit içeriği baz alındığı takdirde de ilk yem olarak kullanılan rotiferleri aynı fitoplankton ile beslemenin uygun olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada, ilk 40 günlük yaşam dönemlerini geçirdikleri A tankındaki larvalara vitamin katkılı maya ile beslenen rotiferler, B tankına ise vitamin katkısız maya ile beslenen rotiferler ilk canlı yem olarak sunulmuşlardır. Tanklara alınan yumurta sayısı veya açılan larva sayısı baz olarak alındığında A tankı ile B tankı yaşama oranları arasında sırasıyla %2.82 ve %3.51'lik A tankı lehinde farklılıklar vardır. Her iki tanktaki larvaların ortalama boy gelişmeleri birbirine yakın değerlere sahip olurken, bu tanklardaki larvalarda en önemli farklılık larvaların yüzme kesesi

gelişimlerinde gerçekleşmiştir. Bu farklılık 8. günde %20'ye ulaşırken 41. günde %16 düzeylerindedir. Vitamin katkısız yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu tanktaki larvalarda yüzme kesesi gelişimi gerçekleşmemiş diğer bir deyişle ilk beslenme döneminde ilk şişme gerçekleşmemiştir. Kullanılan vitaminlerin hepsi normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli ve metabolik olaylarda aktif görev alan vitaminlerdir.

Yüzme kesesi larvalar için hayati bir organdır. Larval yaşam süresince bu organ iki şekilde olumsuz yönden organik etkili olabilir. Az gelişmiş yüzme kesesi vücut deformasyonuna neden olur ki, bunda ilk gelişme dönemindeki yaşam şartları etkili olabileceği gibi, kalıtsal bir durum olduğu da açıklanmıştır. Pek çok larva bu hastalıkta hayatta kalabilir. Ancak fingerling duruma gelindiğinde yüzme anormallikleri, vücut deformasyonu ve yavaş gelişme kendini gösterir (Doroshev ve Cornacchio, 1979). Aşırı gelişmiş yüzme kesesi larval popülasyonda büyük ölümlere neden olur. Genellikle bu ölümler 20-30. günlerde görülür ve larva fazla gaz birikimi nedeniyle su yüzeyine çekilir. Aşırı gelişmiş kesenin etkisi ile yaşam organları baskı altında kalır ve vertebral kolumun sık sık kırıldığı görülür, sonuçta ölüm kaçınılmazdır. Aşırı şişkinliğin nedeni henüz anlaşılmış değildir. Genel bir bakış açısıyla stresli larvada bu hastalık görülür. Stres, kandaki pH'nın düşmesine neden olur, gaz transferine etki eder ve bu da hastalığa neden olur. Çünkü asitli ortamda kan yoluyla oksijen transfer kapasitesi azalır (Freddi, 1985). Larvanın stresden uzak tutulması, yaşam şartlarının optimum hale getirilmesi yanında salgı bezlerini gaz salgılama olasılığını artırmak için yüksek kaliteli besinle beslenmesi, büyük hava kabarcığı ve türbulansın önlenmesi, ani sıcaklık değişimlerinin engellenmesi ve su yüzeyindeki yağ tabakasının uzaklaştırılarak hava ile temasın sağlanması yüzme kesesinin normal gelişimine etkili olacaktır (Freddi, 1985). Sonuçta ilk şişmenin ve takibinde gelişmenin vitamin katkısız yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu tanktaki larvalarda %16 oranında daha düşük olarak gerçekleşmesi, rotifer besininde kullanılan vitaminlerin özellikle yüzme kesesi gelişimi üzerinde olumlu etkileri olduğunu, en azından larval besin gereksinimlerinin karşılanmasının normal gelişim üzerindeki etkilerini ifade etmektedir.

Denemenin 45-120. günler arasındaki ikinci döneminde larva ve yavru beslenmesinde kullanılan mikrogranül ve granül yemlerin geliştirilen besin kompozisyonlarının larva ve yavru levrek balığı yaşama ve gelişme oranları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Besin gereksinimlerini karşılama, normal ve sağlıklı gelişim ve böylece olası hastalıklara direncide beraberinde getirecektir. Sonuçta, daha yüksek yaşama ve gelişme oranı elde etme düşüncesinden hareketle larva ve yavru besin maddesi olarak kullanılan yemlere vitamin ve aynı amaçlar göz önünde bulundurularak antibiyotik ilavesi yapılmıştır. Katkı maddesi olarak seçilen vitaminler, bu hedefleri gerçekleştirmek üzere mutlak gerekli B grubu vitaminler ve özellikle C vitaminidir. Antibiyotik

seçiminde katkı maddesi olarak kullanılmasına karar verilen Doksisisiklin, Tetrasiklin grubu antibiyotikler arasında en uygun farmakolojik ve farmakokinetiğe sahip olması, diğer Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin olası olumsuzluklarını taşımaması ve levrek balığı kuluçkahanelerinde rastlanabilecek hastalık etkenlerine karşı uygun spektruma sahip olması nedeni ile seçilmiştir. Bu dönemde deneme 5 adet tankta gerçekleştirilmiştir. Her tank için, larva ve yavrularda gelişim farklı seyretmiştir. Sonuçlara göre ortalama en yüksek ağırlık ve boy artışına yemlerine vitamin katkısı yapılan tank (4. Tank) sahip olurken bunu sırasıyla yemlerine sadece antibiyotik katkısı yapılan 2. tank ile çok az gelişim farklılıklarında, vitamin katkısız yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu ve takibinde yapay yemlerine hiçbir katkı uygulanmamış 5. tank ve yapay yemlerine vitamin ve antibiyotik katkısı birlikte uygulanmış 3. tank larva ve yavruları takip etmiştir. Vitamin katkılı yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu A tankının devamı olan ve yapay yemlerine hiçbir katkı maddesi uygulanmamış 1. tank en düşük büyüme oranına sahip olurken ortalama ağırlık artışı yapay yemlerine vitamin katkısı uygulanmış 4. tank larvalarından 120. günde yaklaşık 500 mg daha düşük olarak gerçekleşmiştir. Vitamin katkısının gelişim üzerine olumlu etkileri 4. tank larvalarının ortalama ağırlık ve boy artışları ile ortaya çıkmaktadır. Mikrogranül ve granül yemlere vitamin ilavesi gerçekleştirilirken, bu yemlerin içeriğinde var olan vitamin düzeyleri dikkate alınmamış, levrek balığı larva ve yavru dönem gereksinimleri üzerinden bu katılım gerçekleştirilmiştir. Bu, yem içeriklerinin gereksinimleri tam karşılayamaması anlamına gelebileceği gibi yemlerin üretim, nakliye ve stoklama aşamalarındaki vitamin kayıplarının yüksek olabileceğini de göstermektedir. Deneme süresince kullanılan iki farklı mikrogranül yemin Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü'nde gerçekleştirilen A, E ve C vitamin analizlerinden elde edilen değerler, bu vitaminlerin yemlerin etiketlerinde yazılı içeriklerde verilen miktarlardan %50-75 oranında daha düşük olduğunu göstermiştir.

Vitamin katkılı yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu A tankından 41. günlerinde rasgele alınan larvalardan, 45-120. günler arasındaki süreçte yapay yemlerine antibiyotik katkısı uygulanmış 2. tank larvalarının karşılaştırma imkanı sağlayan ve aynı süreçte yapay yemlerine hiçbir katkı uygulanmamış 1. tank larvalarına oranla gelişim oranlarındaki yüksek değerler, Doksisisiklin'in gelişim üzerinde olumlu etkileri olabileceğini ifade etmektedir. Vitamin katkılı yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu ve takibinde yapay yemlerine antibiyotik ve vitamin katkısının birlikte gerçekleştirildiği 3. tank larvaları, aynı kuluçka tankından gelen fakat yapay yemlerine hiç bir katkı maddesi uygulanmayan 1. tank larvalarından daha yüksek değerlerde büyüme göstermelerine rağmen, farklı olarak yem katkı maddesi antibiyotik ve vitaminin ayrı ayrı kullanıldığı 2. ve 4. tank larvalarından

daha düşük düzeyde gelişme göstermişlerdir. Literatürde, Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin geniş spektrumlu olmaları nedeniyle oral yolla verilmesi sonucu insan metabolizmasında olabilecek süperenfeksiyon riskini azaltmak amacıyla B vitamin kompleksleri ile kombine verilmesinin önerilmesine (Dökmeci, 1992) ve B grubu vitaminler ile antibiyotik Doksisiklin'in olumsuz etkileşimine ait herhangi bir veriye rastlanmamasına rağmen, bu deneme sonuçları levrek balıkları için böyle bir etkileşimi akla getirmektedir. Aynı etki yaşama oranı üzerinde de kendini göstermiş ve 3. tank larvalarında gerçekleşen %45,83'lük yaşama oranı sırasıyla 2. ve 4. tankların yaşama oranlarının ve hatta karşılaştırma imkanı sağlayan ve %52,85 yaşama oranına sahip 1. tank larvalarının da gerisinde kalmıştır. Yaşama oranı bakımından %78,05 ile yapay yemlerine vitamin katkısı uygulanan 4. tank, gelişimde olduğu gibi en yüksek değere sahip olmuştur. %63,36 yaşama oranı ile yapay yemlerine antibiyotik katkısı uygulanan 2. tank ikinci sırada yer almıştır. Vitamin ve antibiyotik katkılarının etkisi yaşama oranında daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Bu, 2. ve 4. tankın kendi aralarında da görülmektedir. Vitamin katkılı yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu A ve vitamin katkısız yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu B kuluçka tanklarında uygulanan farklı ilk beslenme rejimleri ile elde edilen farklı sonuçların yavru dönemi üzerinde de olası etkilerini incelemek amacıyla sırasıyla bu tanklardan alınan 1 ve 5. tank larvalarının yemlerine katkı maddesi ilavesi yapılmamıştır. 1. tank, 5. tanktan ortalama ağırlık ve boy artışında daha düşük değerlere ulaşırken %23 daha yüksek yaşama oranına sahip olmuştur.

Yapılan araştırmalar antibakteriyel ilaç katkılı rasyonlarla beslenen gelişme dönemindeki kültür hayvanlarının katkısız yemlerle beslenmelerine göre %5-10 oranları arasında veya daha fazla canlı ağırlık kazandıkları gerçeğini ortaya koymuştur (FAO, 1985; Eeckhoutte, 1978). Antibakteriyel ilaçlarla desteklenmiş yemlerle beslenen tavuk ve hindilerde enfeksiyonlara ve stres koşullarına karşı vücut direnci artarak bütün sürüde hastalanma ve ölüm oranı anlamlı derecede azalmış, ancak uygulamaların durmasından sonra hastalık belirtileri kendini tekrar göstermiştir (Truchaud, 1980; WHO, 1974). Besin değeri olan hayvanlarda antibakteriyel ilaç kullanımı, gerektiğinde hem yasaklanmış çeşitlerin hem de tüketimine yasal olarak mücade edilmiş olanların bilinçsizce kullanımı ve kalıntı sorunu nedeniyle insan sağlığı açısından ciddi tehlikelere neden olabilir.

Kalıntı olasılığı ve düzeyi yetiştiricilerin kültür düzeyine, tecrübelerine, kalıntıların kontrolüne yönelik yasal uygulamalara, et örneklerinin taze ve dondurulmuş olmasına ve kullanılan analiz yöntemlerinin duyarlılık derecesine göre önemli oranda değişebilir (FAO, 1985; Huber, 1971; Livingston, 1985; Rico, 1986; Siegel ve ark., 1975).

Bu çalışmada su sıcaklığının 19-20°C'ye ulaştığı günlerde kuluçkahaneye üretim için alınan suyun filtrasyonu teknik nedenlerle durdurulduktan ve direk deniz suyu alımından sonra, deneme tanklarındaki yaşama oranını olumsuz yönde etkileyen hastalık belirtileri görülmeğe başlamıştır. Deneme kapsamında, vitamin katkısız yemle beslenen rotiferlerin ilk yem olarak sunulduğu ve yapay yemlerine hiçbir katkı maddesi uygulanmamış ve kuluçkahanede hastalık belirtilerinin görülmesiyle, deneme tankları arasında en fazla etkilenen ve yüksek kayıplar veren 5. tank larvalarının otopsi sonucu böbreklerinden alınan kazıntının TSA besi yeri üzerine gerçekleştirilen ekimini takiben, üreyen kolonilerin mikrobiyolojik incelemesi sonucunda Gram (-) çomakçıklar tespit edilmiştir. Besiyerinde üreyen mikroorganizmalar üzerine Doksisiklin'in MIC'ini inceleyebilmek için uygulanan "Tüp Dilüsyon Yöntemi" sonuçları yapay yemlerine katkı maddesi olarak bu antibiyotik uygulanmış 2. tank larvalarının yaşama oranlarında, aynı antibiyotik daha yüksek değerlerde katkı maddesi olarak kullanımı ile daha olumlu sonuçlar gerçekleşebileceğini göstermektedir. Doksisiklin, Gram (-) bakteriler ve bazı *Vibrio* türlerine karşı bakteriyostatik etkiye sahiptir. Bu çalışma sonucunda olumlu olarak algılanabilecek sonuçlardan birisi de 2. tank larvalarında, son antibiyotik kullanımından 20 gün sonrasında "Likit Kromotografi Yöntemi" ile yapılan kalıntı analizinde, hiç bir antibiyotik kalıntısına rastlanmamış olmasıdır.

Bu çalışma ile balıkların yaşamlarını sürdürebilmeleri için elzem olan vitaminlerin, gerek uygun şekilde kültüre edilmiş canlı yemlere ve gerekse yapay yemlere ilavesi ile levrek balığının larva ve juvenil dönemlerinde gelişme ve hayatta kalma oranlarına önemli oranda katkısı olduğu gösterilmiştir.

#### **TEŞEKKÜR**

Yem katkısı olarak kullanılan vitaminlerin saf vitamin halinde temin edildiği YEMMIKS AŞ. adlı firmaya ve antibiyotik katkısı için kullanılan Doksisiklin'i (Docycycline Hyclate şeklinde) sağlayan FAKO İlaçları A.Ş.'ye bu bilimsel çalışmaya olan katkılarında dolayı çok teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Alliot, E., Fabvre, A., Metailler, R., Pastoureaud, A. (1974). Be soins nutritifs du bar *Dicentrarchus labrax*. Etude du taux de proteine et de taux de lipide dans le regime, colloque sur l'aquaculture. Actes de collagues, CNEXO Ed., 1, 215-228 pp.
- Brown, J.H. (1989). Antibiotics: Their use. World Aquaculture, 20 No: 2, 34-43 pp.
- Chatain, B., Corrad, D. (1992). A sorting method for eliminating fish larvae without functional swimbladders. Aquaculture, 107, 81-88 pp.
- Comps, M., Menu, B., Breuil, G., Bonami, J. (1991). Viral infection associated with rotifer mortalities in mass culture. Aquaculture, 93, 1-7 pp.
- Coves, D., Dewavrin, G., Breuil, G., Devauchelle, M. (1991). Culture of sea bass. CRC Handbook of Mariculture, Finfish Aquaculture, 2, 3-20 pp.
- Doroshev, S. I., Cornacchio, J.W. (1979). Initial swim bladder inflation in the larvae of *Tilapia mosambica* (Peters) and *Morone saxatilis* (Walbaum). Aquaculture, 16, 57-66 pp.
- Dökmeci, İ. (1992). Tetrasiklinler ve amfenikoller. In İ. Dökmeci (Ed.). Farmakoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 760-761 pp.
- Eeckhoutte, M. (1978). Antibiotiques et alimentation humaine. Revue Med. Vet., 129(5), 717-740 pp.
- FAO (1985). Residues of veterinary drugs in foods. Report of joint FAO/WHO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper. Rome. No: 32, 1-54 pp.
- Freddi, A. (1985). Sea bass *Dicentrarchus labrax* and gilthead sea bream *Sparus aurata* larval rearing. Mediterranean Regional Aquaculture Project. Policoro, Italy.
- Fukusho, K. (1989a). Biology and mass production of the rotifer *Branchionus plicatilis* I. Int. J. Aqu. Fish. Technol., 1, 232-240 pp.
- Fukusho, K. (1989b). Biology and mass production of the rotifer *Branchionus plicatilis* II. Int. J. Aqu. Fish. Technol., 1, 292-299 pp.
- Fushimi, T. (1989). Sytematizing large-scale culture methods. In K. Fukusho K., Hirayama. A use feed the Rotifer, *Branchionus plicatilis*, Japan
- Fulks, W., Main, K.L. (Eds.). (1991). Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. Asia Workshop, Hawaii.
- Gatesoupe, F.J., Robin, J.H., Le Milinaire, C., Lebegue, E. (1984). Amelioratin de la valeur nutritive des filtreurs-proies par leur alimentation composee. In G. Barnabe R., Billard (Eds.). L' aquaculture du bar et des sparides. INRA Publ. Paris. 210.222 pp.
- Guillaume, J. (1985) Train sess on technics used for intensive rearing and alimentation of fish and shelfish. Marine Fish Feed, 384-412 pp.
- Halver, J.E. (Ed.). (1972). Fish nutrition. Academic Press, London.
- Halver, J.E. (1985). Recent advances in vitamin nutrition and metabolism in fish. Univesity of Washington, USA. 149-160 pp.
- Hirata, H. (1979). Rotifer culture in Japan. Spec. Publ. Eur. Maricult. Soc., 4, 361-375 pp.
- Hirata, I. (1989). Feed types and method of feeding. A Live Feed the Rotifer, *Branchionus plicatilis*. In K. Fukusho K., Kitajimi (Eds.). Koseisha-Koseikaku, Tokyo. 73-86 pp.
- Hirayama, K., Funamota, H. (1983). Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of Baker's yeast of population growth of the rotifer *Branchionus plicatilis*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish, 49(4), 505-510 pp.
- Hirayama, K., Maruyama, I., Maeda, T. (1989). Nutritional effect of freshwater Chlorella on growth of the rotifer *Branchionus plicatilis*. Hydrobiologia, 186/187, 39-42 pp.
- Hirayama, K., Satuito, C.G. (1991). The nutritional improvement of baker's yeast for the growth of the rotifer, *Branchionus plicatilis*. In W. Fulks and K.L. Main (Eds.). Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. Asia Workshop, Hawai. 151-162 pp.
- Hoff, H., Snell, T.W. (1989). Plankton culture mannual. (2<sup>th</sup> ed.). Aqua Farms, Florida.
- Horstmann, U. (1985). The use of microalgae in aquaculture. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol., 20, 153-156 pp.
- Huber, W.G. (1971). The puplic health hazard associated with nonmedical and animal health usage of antimicrobial drugs. Jornal of Pure and Applied Chemistry, 21, 277-278 pp.
- Lim, L.C. (1991). An overview of live feeds production systems in Singapore. In W. Fulks K., L. Main (Eds.). Rotifer and microalgae culture systems. Proceeding of a U.S. Asia Workshop, Hawaii. 208-209 pp.
- Livingston, R.C. (1985). Antibiotic residues in animal-derived food. J.A.O.A.C., 68(5), 966-967 pp.
- Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G. (1989). Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologie., 186/187, 387-400 pp.
- Maruyama, I., Nakamura, T., Matsubayashi, T., Ando, Y., Maeda, T. (1986). Identification of the alg known as "marine Chlorella" as a member of the Eustigmatophyceae. Jap. J. Phycol., 43, 319-325 pp.
- Meragelman, E., Lubzens, E., Minkoff, G. (1985). A modular system for small-scale mass production of rotifer *Branchionus plicatilis*. Israel Journal of Zoology, 33, 186-194 pp.
- Merchie, G., Lavens, P., Radull, j., Nellis, H., De Leenheer, A., Sorgeloos, P. (1995). Evaluation of vitamin C-enriched Artemia nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. Aquaculture International, 3, 355-363 pp.
- Michael, B.N. (1987). Feed and feeding of fish and shrimp. UNDP/FAO/ADCP., Rome. 162-176 pp.

- Ostrowski, A.C., Divakaran, S. (1990). Survival and bioconversion of n-3 fatty acids during early development of dolphin *Coryphaena hippurus* larvae fed oil-enriched rotifers. *Aquaculture*, 89, 273-285 pp.
- Öner, M. (1987). Mikrobial ekoloji. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir. No: 100
- Reguera, B. (1984). The effect of ciliate contamination in mass cultures of the rotifer, *Branchionus plicatilis* O.F. Müller. *Aquaculture*, 40, 103-108 pp.
- Rico, A.G. (1986). Drug residues in animal. Academic Press, Inc. Orlando, FL. 1-6 pp.
- Ronald, W.H. (1992). Vitamins in aquaculture feeds. Northwest Fisheries Science Center Utilization Research Division, Washington.
- Scott, J.M. (1981). The vitamin B<sub>12</sub> requirement of the marine rotifer *Branchionus plicatilis*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 61, 983-984 pp.
- Sworth, R.B. (1985). Liquid Chromatography Assay of tetracycline in tissues of food producing animals. U.S. Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Bentsville.
- Siegel, D., Huber, W. A., Drysdale, S. (1975). Human therapeutics and agriculturel uses of antibacterial drugs and resistance of the aniteric flora of humans. *Antimicrobial Agents and Chemoteraphy*, 8(5), 538-543 pp.
- Sorgelos, P., Bossuyt, E., Lauina, E., Baeza-Mesa, M., Persoone, G. (1977). Decapsulation of *Artemia* cysts a simple techniqe for the improvement of the use of Brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*, 12, 311-316 pp.
- Şanlı, Y. (1989). Hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımından kaynaklanan sağlık sakıncaları. *Vet. Hek. Der. Derg.*, 59(1-2), 37-42 pp.
- Şanlı, Y., Kaya, S. (1991). Veteriner farmokoloji ve ilaçla sağitım seçenekleri. Feryal Maat. Ltd., Ankara. 553-624 pp.
- Tamaru, C.S., Lee, C. S., Ako, H. (1991). Improving the larval rearing of striped mullet *mugil cephalus* by manipulating quantity and quality of the rotifer, *Branchionus plicatilis*. In W. Fulks K. L., Main (Eds.). Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U.S. Asia Workshop, Hawai. 89-103 pp.
- Truchaud, J. (1980). Les Residues d' antibiotuigues dans les oeufs de la poule pondeuse. These pour le Doctorat Veterinaire. L' Universite Poul-Sabatier de Toulouse.
- Van Duijn, C. (1973). Diseases of fishes (3<sup>th</sup> ed.). Coks and Wyman Ltd., London.
- Watanabe, T. (1982). Lipid nutrition in fish. *Camp. Biochem. Physiol.*, 75B, 3-15 pp.
- Watanabe, T., Kitajima, C., Fujita, S. (1983). Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish. *Aquaculture*, 34, 115-143 pp.
- Weatherley, A. H., Hill, H. S. (1987). The Biology of Fish Growth. Academic Press, Ontario. 1-17 pp.
- WHO (1974). Toxicological evaluation of certain food additives with a rewiev of general principles and specification. Tech. Rep. Ser., 539 p.
- Yone, Y (1976) Nutritional studies of red sea bream. Proc. First Intern Conf. Aquaculture Nutrition. University of Delaware, Delaware. 39-64 pp.
- Yu, J.P., Hino, A., Ushiro, M., Maeda, M. (1989). Function of bacteria as vitamin B<sub>12</sub> producers during mass culture of the rotifer *Branchionus plicatilis*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, Japan.