

## ZNAČENJE ROTATORIJA (*Brachionus plicatilis*, Müller) ZA AKVAKULTURU

B. Skaramuca

### Sažetak

U radu se iznosi značenje rotatorija (*Brachionus plicatilis* M) u prehrani ličinki i poslijeličinki morskih riba. U početku su rotatoriji sakupljeni iz jezera gdje su uzgajane jegulje. Zahvaljujući ohrabrujućim početnim rezultatima preživljavanja ličinki morskih riba i rakova, rotatoriji postaju nezamjenjiva hranidbena komponenta u prvim danima prehrane. Provedena su brojna istraživanja o uvjetima razmnožavanja, rasta populacija i njihova masovnog uzgoja. Spoznajom važnosti osnovnih masnih kiselina u prehrani ličinki i poslijeličinki riba i rakova intenzivirana su istraživanja biokemijskog sastava i hranidbene kvalitete rotatorija. Danas postoji čitav niz proizvoda kojima se obogaćuje hranidbena vrijednost rotatorija ili čak zamjenjuju alge ili pekarski kvasac kao osnovni uzgojni medij. Pokušaji da se rotatoriji potpuno zamijene drugim organizmima npr. artemijom, za mnoge vrste morskih riba npr. *Sparidae*, još se istražuju.

*Ključne riječi:* hranidba, ličinke, poslijeličinke, morske ribe, rotatorija

### UVOD

Prema Lu b z e n s u i sur. (1989), uzgoj ličinki morskih riba povijesno se može podijeliti u dvije odvojene faze; prva faza do šezdesetih i druga faza poslije šezdesetih godina ovoga stoljeća. U tijeku mnogih pokušaja masovni je uzgoj ličinki bio ograničen nemogućnošću uzgoja dovoljnih količina odgovarajuće žive hrane. Pokušavalo se s prehranom različitim ciliatima, dinoflagelatima i prirodnim planktonom, no rezultati u preživljavanju malih osjetljivih ličinaka nisu bili zadovoljavajući. Tek uvođenje širokorasprostranjenog rotatorija (*Brachionus plicatilis*), možemo označiti kao renesansu u uzgoju mnogih gospodarski interesantnih morskih riba, kao što su japanski pagar (*Pagrus major*), cipal (*Mugil cephalus*), list (*Solea solea*), komarča (*Sparus aurata*), lubin (*Dicentrarchus labrax*), turbot *Scophthalmus maximus*) i neke druge.

Dr. Boško Skaramuca, viši znan. suradnik, Biološki zavod, Dubrovnik

Sve se ovo može zahvaliti unapređenju metoda i tehnika masovnog uzgoja rotatorija, čemu su osobito pridonijeli Ito (1960), Theilacker i MC Master (1971), Fukusho i sur. (1976) Hirata (1979), Lubzens (1981) i neki drugi.

*Brachionus plicatilis* izuzetno je pogodan organizam za laboratorijska istraživanja. Prilikom partenogenetskog razmnožavanja, brzom reprodukcijom, udvostručenje populacije postiže za 0,8 do 2,9 dana. Temeljnim interdisciplinarnim istraživanjima ekologije ovog organizma i njegovim masovnim uzgojem otvorene su goleme mogućnosti razvoja akvakulture, poglavito marikulture.

Pokušaji da se ličinke riba hrane nauplijima tek izvaljene artemije odmah nakon apsorpcije žumanjčane vrećice, za sve vrste uzgajanih riba, još ne daju željene rezultate. Pokazalo se da naupliji artemije u potpunosti ne zadovoljavaju potrebe za esencijalnim masnim kiselinama kod ranih razvojnih stadija riba (Watanabe i sur., 1978; Navarro i sur., 1988). Ličinke i poslije-ličinke lubina hranjene samo nauplijima artemije zaostaju u rastu, slabija im je imunost, smanjena im je otpornost na stres, veći je u njih postotak hipertrofije plivaćeg mjehura i općenito slabije preživljavaju u uvjetima kontroliranog uzgoja (Katavić, 1986). Do sličnih je rezultata došao Webster (1989) radeći pokuse s američkim prugastim lubinom (*Morone saxatilis*).

Zbog velikoga komercijalnog značenja rotatorija u marikulturi precizniji podaci o brojnim temeljnim, a napose primijenjenim istraživanjima, malokad se detaljnije objavljuju. Svrha je ovog rada da se na osnovi literaturnih podataka i naših sustavnih istraživanja, mladim istraživačima skrene pozornost na potrebe temeljnih istraživanja u marikulturi, a sve većem broju zainteresiranih domaćih uzgajivača morskih riba omogući pristup informacijama iz ove problematike.

## **BIOLOGIJA ROTATORIJA S POSEBNIM OSVRTOM NA REPRODUKCIJU**

*Brachionus plicatilis* sitni je zooplanktonski organizam, pripada razredu *Rotatoria* (kolnjaci), red *Monogononta*, podred *Plomia*, porodici *Brachionidae*. Dužina mu je tijela 66–182  $\mu\text{m}$  (bez jajeta), širina 0,16 mm, a prosječna suha težina 0,16 mg (Theilacker i McMaster, 1971), cilindrična je vrećasta oblika, bilateralno simetričan, bez segmentacije. Tijelo je prekriveno kutikulom, skleroproteinskog sastava, zadebljalom u čvrst oklop (lorika). Na prednjem dijelu tijela nalaze se usta okružena dlačicama (trepetljike i cilije), koje se još nazivaju retraktilni organi ili korona. Udarajući u okrug, dlačice u usta povlače vodu koja sadrži hranu i kisik. Dlačice udaraju metakrono, stvarajući dojam kružnoga kretanja (rotiranja), po čemu je razred i dobio ime.

Na usta se nastavlja mišićavo ždrijelo sa žvačnjakom (mastrix) sastavljenim od tvrdo kutikuliziranih dijelova: fulkruma, manubrija, unca i rama. Oblik je žvačnjaka promjenljiv, ovisno o načinu prehrane, a služi mu za prihvaćanje,

grizenje i usitnjavanje hrane. Kod vrste *Brachionus plicatilis* rami nisu nazubljeni, a unci su svinute ploče koje imaju nekoliko zubića. Na ždrijelo se nastavlja jednjak (bez žlijezda) iza kojeg slijedi želudac u obliku proširene trepetljikave vreće ili cijevi s debelim stijenkama, u koji par želučanih žlijezda izlučuje enzime za izvanstaničnu probavu. Probava je vrlo brza u 15 do 20 minuta probavljene se tvari apsorbiraju u stanice želučane stijenke u obliku zrnaca bjelančevina i masnih kapljica. Ako rotatorij gladuje, bjelančevine i masti potroši u samo nekoliko sati. Želudac je od crijeva odvojen piloričkim sfinkterom. Crijevo završava u kloaki (nečisnici).

Ekskretorni sustav sastoji se od parnih protonefridijskih cijevi koje se posteriorno otvaraju u mokraćni mjehur. Osim izmetanja, najvažniji je zadatak protonefridija da regulicira osmotski tlak. Organizam se kisikom opskrbljuje preko vode koju guta s hranom pa preko želučanih stijenki on dospije u tjelesnu šupljinu. *Brachionus* u 20 minuta izluči toliko vode koliko iznosi njegova tjelesna težina.

Kod vrste *Brachionus plicatilis* nalazimo izmjenu partenogenetskog i spolnog razmnožavanja (heterogonija) stvaranjem trovrstnih jaja. Iz jaja s debelom ljuskom (tzv. trajna jaja), razvijaju se amiktične ženke. One nesu velika neoplodena jaja, tanke ljuske (subitana jaja) u kojima ne dolazi do redukcijske diobe pa imaju diploidni broj kromosoma. Iz tih jaja ponovno nastaju ženke koje se partenogenetski dalje razmnožavaju subitanim jajima. Nakon određenog broja generacija, promjenom vanjskih uvjeta (temperature, pH, velika gustoća naselja, izmjena godišnjih doba, isušenje vode i drugo) razvijaju se miktične ženke (seksuparne). One nose najprije mala jaja s tankom ljuskom i haploidnim brojem kromosoma iz kojih se razvijaju mužjaci. Mužjaci su manji i imaju reducirano probavilo (nemaju crijevni otvor i nečisnicu). Rojevi mužjaka oplode jaja majčine generacije. Oplodeno jaje miktične ženke diploidno je i obavijeno čvrstom opnom–lupinom. Iz tako nastalih trajnih ili zimskih jaja (»zigote«) u povoljnim se uvjetima razviju partenogenetske amiktične ženke. Trajno jaje može dugo mirovati, preživjeti smrzavanje ili pak sušenje, te biti preneseno vjetrom, na nogama ili u perju ptica i slično. Dva oblika ženki, miktične i amiktične, čine spolno dvoličje kolnjaka (rotatorija) koje se očituje samo u različitom obliku jaja. Biološki značaj ove pojave vrlo je bitan, a njegovo poznavanje ima posebnu ulogu u akvakulturi. Kod masovnog uzgoja rotatorija, u komercijalne svrhe, nastoji se onemogućiti spolno razmnožavanje, a pospješiti partenogeneza. U tom su pogledu provedena mnoga istraživanja uvjeta uzgojne sredine kao čimbenika partenogenetskog razmnožavanja.

## EKOLOGIJA ROTATORIJA S POSEBNIM OSVRTOM NA MASOVNI UZGOJ

Rotatorij su najrasprostranjenija životinjska skupina. Glavno područje naseljavanja slatke su vode, a naseljavaju i termalne, brakične i slane vode. Neke vrste naseljavaju i biotope koji su većim dijelom godine suhi ili samo vlažni, kao što su mahovine, mulj, zamuljeni pijesak, slivnici krovova i slično. Vrstu *Brachionus plicatilis* smatraju potencijalnim kozmopolitom, pripada skupini eurihalinih vrsta sa širokom ekološkom valencom. Ovaj se organizam često može naći u planktonu alkaličnih jezera, a nešto rjeđe u kiselim vodama; osim toga, nastanjuje i mezohalina i polihalina jezera u južnoj Americi.

Zbog svojih bioloških i ekoloških značajki *Brachionus plicatilis* vrlo je pogodan za masovni uzgoj. Klasična shema masovnog uzgoja temelji se na uzgoju dovoljnih količina fitoplanktona za potrebe prehrane rotatorija. U svijetu se uzgaja oko 30 vrsta različitih fitoplanktonskih mikroalgi. Optimalna gustoća uzgojenih monokultura kreće se oko  $6 \times 10^6$ /ml. Mikroalge svojom veličinom moraju odgovarati veličini usta rotatorija, a rotatoriji svojom kvalitetom, zadovoljiti potrebe za esencijalnim hranjivim komponentama nužnima za rast i razvoj ličinki i poslijeličinki riba. Veličinska je struktura fitoplanktona presudna za uzgoj rotatorija; smatra se da veličina, stanica mikroalgi ne bi smjela prijeći 30% otvora usta hranjenog organizma. Incijalna je gustoća rotatorija u uzgoju oko 100 ind./ml. uzgojnog medija, a gustoća u bazenu s ličinkama oko 10 ind./ml. Rotatoriji ne bi smjeli prijeći 38% otvora usta ličinki (Yufera, 1982; Polo i sur. 1992). Primjenom različitih zootehničkih mjera, veličina se uzgojenih rotatorija pokušava uskladiti s veličinom otvora usta ličinki. Snell i Carrillo (1984) u tu svrhu rotatorije uzgajaju na različitim temperaturama pri različitim salinitetima, a hrane ih različitom hranom, te ih na kraju siju na sitima različite veličine oka. No, nijedna navedena metoda nije u potpunosti pouzdana, a autori zaključuju da je zemljopisno podrijetlo populacije vrlo bitno za proizvodnju rotatorija različitih veličina. U novije se vrijeme primjenjuju posebni sojevi za proizvodnju različitih veličinskih frakcija rotatorija (Lubzens, 1989).

### ČIMBENICI BITNI ZA UZGOJ

Brojna su istraživanja provedena radi što bržeg rasta populacije rotatorija, njihove što veće brojnosti te hranidbene kvalitete. Različiti biotički i abiotički čimbenici presudni su za sigurnost uzgoja dovoljnih količina i zadovoljavajuće hranidbene kvalitete rotatorija.

#### 1. Prehrana i metode uzgoja

Nekada se smatralo da je velika gustoća fitoplanktona najvažniji čimbenik za brzu reprodukciju rotatorija; tako da su i primjenjivane brojne metode za

masovni uzgoj fitoplanktona i rotatorija. Tehnika svakodnevnoga pretakanja (»daily tank transfer method«), koju preporučuje Hirata (1979), nikada nije postala široko primjenjivana zbog praktičnih poteškoća u proizvodnji dovoljnih količina fitoplanktona. Dosta nesigurna i relativno skupa proizvodnja fitoplanktona brojne je istraživače ponukala na uvođenje pekarskoga kvasca (*Sacharomyces cerevisiae*) kao osnovne hrane za rotatorije, ali s promjenljivim rezultatima. U Japanu se široko rabi kombinirana metoda: 50% fitoplanktona zamjenjuje se pekarskim kvascem, kao dodatnom hranom za rotatorije (Kitajima i sur. 1979). Radi sniženja cijene uzgoja fitoplanktona i rotatorija, testirana je metoda kontinuiranog uzgoja (Trotta, 1980). Metoda se sastoji u postavljanju vreća za uzgoj fitoplanktona i rotatorija samo jedanput u trajanju od tri mjeseca, a količina profiltriranoga uzgojnog medija zamjenjuje se svježim. Giliberto i Mazzola (1981) također se bave mogućnošću racionaliziranja uzgoja fitoplanktona, produženjem faze prehrane rotatorija pekarskim kvascem, a skraćivanjem faze prehrane fitoplanktonom. Testirajući utjecaj vrste hrane na rast populacije rotatorija, Sanko i Skaramuca (1986) utvrdili su da prehrana fitoplanktonom omogućuje oko dvaput brže razmnožavanje i rast populacije nego prehrana kvascem. Čini se da je zamjena fitoplanktona pekarskim kvascem u masovnom uzgoju rotatorija vezana za veliku smrtnost ličinki riba, što je japanske istraživače uputilo na zaključak da je fitoplankton nuždan u prehrani rotatorija, zbog sinteze esencijalnih masnih kiselina, koje pekarski kvasac ne sadrži (Hirayama i Watanabe, 1973, Watanabe i sur., 1978).

U Rusiji se primjenjuje posebna metoda uzgoja i uparabe rotatorija u proizvodnji ribe. U bazen s fitoplanktonom dodaju se oplodena jaja ribe nekoliko dana prije izvaljivanja. Kada fitoplankton postigne maksimalnu gustoću, ubacuju se rotatoriji. Pokazalo se da fitoplankton svojim baktericidnim i puferskim svojstvima ima važnu ulogu u održavanju kvalitete vode u uzgoju, što rezultira boljim rastom i preživljavanjem ličinki riba (Spektrova, 1979).

Osim živih svježe uzgojenih mikroalgi, u nekim se uzgojnim metodama rabi smrznuto sušena vrsta algi *Tetraselmis suecica* i sušene i usitnjene višestanične nitaste alge *Scenedesmus sp.* i *Spirulina sp.* (Gatesoupe i Luquet, 1981). Poteškoće u prehrani rotatorija nitastim algama u odnosu na jednostanične, zbog akumulacije nepojedenih algi i poteškoća u održavanju kvalitete vode, naglašava Person-Le Rojet (1976). Radi osiguranja dovoljnih količina hrane za rotatorije, metoda zamrzavanja, bez dodatka krioprotektivnih sredstava, testirana je u našem laboratoriju. Kao najpogodnije izabrali smo dvije fitoplanktonske vrste, *Nanokloropsis sp.* i *Chlorella sp.* Pokazalo se da fitoplankton dobro podnosi niske temperature, tako da se i poslije 50 dana stajanja u hladnjaku na  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  populacija normalno može reaktivirati i nastaviti s uzgojem radi prehrane rotatorija (Skaramuca i Kožul, u pripremi).

U posljednje vrijeme fitoplankton sve više ustupa mjesto različitim organskim hranjivima prirodna podrijetla, ili se proizvodi čitav niz komercijalnih

sintetskih aditiva ili pak gotovih hranjiva. Navedeno zamjenjuje skupu i često nesigurnu proizvodnju fitoplanktona, a čini rotatorije kvalitetnijima u hranidbenom pogledu.

## 2. Temperatura

Jedan od bitnih čimbenika u akvakulturi jest i temperatura. Sva dosadašnja istraživanja upućuju na to da povišene temperature (23–25 °C) pogoduju brzom reprodukciji rotatorija (Hirayama i Kusano, 1972; Snell, 1986). Više temperature od navedenih (npr. 30–35 °C) također su pogodne, čak i ubrzavaju reprodukciju, no radi sprečavanja čestih kontaminacija uzgojnog medija u praksi se ne preporučuju, dok one preko 40 °C izazivaju potpunu smrtnost populacije (Kožul i Skaramuca, u pripremi). Dugo održavanje iste populacije na povišenim temperaturama ne omogućava razvoj partenogenetskih generacija, pa se kroz to vrijeme produciraju trajna jaja. Niže temperature (ispod 15 °C) usporavaju reproduktivne sposobnosti rotatorija te se preporučuju za održavanje matičnog stoka. Prema nekima, temperatura je bitan čimbenik kod uzgoja rotatorija različitih veličinskih frakcija. Ako se žele uzgajati rotatoriji manjih dimenzija, primjenjuju se temperature 25 °C i više, a jedinke većih dimenzija uzgajaju se na nižim temperaturama (Lubzens, 1989).

## 3. Salinitet

Unatoč spoznajama da je *Brachionus plicatilis* eurihalina vrsta, provedena su brojna istraživanja o utjecaju saliniteta na njegovu reprodukciju i rast populacije. Među ostalima, Ruttner-Kolikso (1969), Epp i Winston (1977; 1978), testirajući uspješnost uzgoja na više različitih saliniteta, donose podatke o najboljem rastu populacija rotatorija pri salinitetu između 20–25‰. Uzgojem rotatorija na dva različita saliniteta (18 i 35‰) Gatesoupe i Luquet (1981) konstatirali su brži rast populacije na salinitetu 18‰ od onog na salinitetu 35‰. Sanko i Skaramuca (1986) detaljnije studiraju ovaj problem; uspostavljajući laboratorijski eksperiment uzgoja rotatorija na salinitetima 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 i 40‰ potvrđuju prije navedene rezultate, postizujući najveću (maksimalnu) gustoću populacije kod 20 i 25‰, a najnižu kod saliniteta 40‰; ovo je tumačeno smanjenom reproduktivnom sposobnošću rotatorija uzgajanih u hipertoničnom mediju. Prema istim autorima, salinitet 5‰ uzrokovao je smrtnost cijele populacije trećeg dana uzgoja.

## 4. Svjetlo

Svjetlo je također bitan čimbenik u masovnom uzgoju rotatorija. Reprodukcijska i rast populacije intenzivniji su pri neprekidnom osvjetljenju uzgojnog medija (Ito, 1960), a kod uzgoja rotatorija u tami dolazi do razvijanja tzv. zimskih jaja, tj. javlja se tendencija k miktičnom razmnožavanju (Minkoff i sur., 1983).

Testirajući u našem laboratoriju utjecaj četiriju različitih svjetlosnih razdoblja (L–trajanje svjetlosti, D–trajanje tame), i to 12–L: 12D; 15L: 9D; 19

L: 5 D i 24 L: 0D, Vitković (1989) zaključuje da trajanje osvjetljenja uzgojnog bazena iznad 12 sati na dan nema većeg utjecaja na reprodukciju i rast populacije rotatorija, te preporučuje uzgoj rotatorija, hranjenih zelenom algom *Chlorella sp.* na svjetlosnom razdoblju 12 L: 12 D.

U posljednje vrijeme, kod primjene inertne hrane, raznih komercijalnih sintetskih aditiva, ili gotovih hranjiva, mnogi ističu mogućnost uspješna uzgoja rotatorija bez osvjetljenja.

### 5. Prozračivanje (aeracija)

Problem aeracije daljnji je čimbenik važan za uspješan uzgoj rotatorija. U uzgojnom bazenu nema protoka vode, tako da je održavanje kondicije uzgojnog medija otežano s obzirom na otopljeni kisik, pH, temperaturu i ostalo. Najjednostavniji način prozračivanja jest dovod zraka tlačnim sistemom do bazena za uzgoj. Plastično (PVC) tanko crijevo promjera oko 5 mm s perforiranim kamenčićem na kraju za raspršivanje zraka spusti se u bazen. Devauchelle i Girin (1974) rabe četiri plastična crijeva raspoređena uza stijenke bazena. Gatesoupe i Robin (1981) za uzgoj rotatorija rabe bazen cilindrična dna, a upotrebljavaju 3 plastična crijeva postavljena uza stijenke i četvrto na dnu stošca bazena kroz koje dolazi zrak oplemenjen kisikom. Učinkovitost aeracije uzgojnog bazena, s ravnim dnom, testirali smo u našem laboratoriju, primijenili smo vlastitu metodu potpune aeracije dna uzgojnog bazena, i to tako da smo otklonili sve nedostatke klasične metode aeracije (Skaramuca, 1994). Tako smo uspjeli duže održati optimalnu kondiciju uzgojnog medija te onemogućili sedimentaciju hrane i metaboličkih produkata na dnu bazena. Aeracija cijelog bazena također onemogućava termalnu stratifikaciju, te pojavu anaerobioze u uzgojnom mediju. Istodobno se na taj način pospješuje amiktična dioba rotatorija, što je u masovnom uzgoju vrlo značajno.

### 6. Uzgojni volumen

Veličina uzgojnog volumena idući je čimbenik bitan za uspješan masovni uzgoj rotatorija. Radeći eksperiment uzgoja u dva različita volumena Gatesoupe i Luquet (1981) bolje rezultate postižu kod uzgoja u volumenu 60 l od volumena 20 l. Bohač i Medaković (1983) također preporučuju bazen 60 l volumena za uspješan uzgoj rotatorija. Eksperimentirajući uzgoj rotatorija u našem laboratoriju u volumenima 0, 5, 5, 20, 50, i 150 l (Sanko, 1989), nije nađena bitna razlika, osim kod volumena 0, 5 l gdje je zabilježena spora reprodukcija i vrlo niska ukupna brojnost. Osobnim eksperimentom uzgoja rotatorija hranjenim gotovim industrijskim hranjivom (različiti »Selko« proizvodi) iskustvo nam je pokazalo najbolji rezultat u masovnoj proizvodnji u bazenima volumena većih od 300 l.

### INHIBITORNI ČIMBENICI U MASOVNOM UZGOJU

U intenzivnom uzgoju, zbog metaboličkih procesa u organizmu, nastupa mineralizacija organskih tvari od heterotrofnih bakterija i ekskrecije životinja. Glavni oblik nitrogenske ekskrecije kod najvećeg broja vodenih organizama jest amonijak; tako je i studiran utjecaj ovoga produkta na populaciju uzgajanih organizama. Koncentracija amonijaka od 3 do 5 mg/l smanjuje reproduktivnu sposobnost kod rotatorija *Brachionus rubens*, a koncentracija od 5 mg/l izazvala je smrtnost (Schluter i Groeneweg, 1985). Studirajući inhibitoryno djelovanje amonijaka na reprodukciju i rast populacije rotatorija *Brachionus plicatilis*, u našem laboratoriju, Sanko (1989) konstatira da koncentracija od 9,1 mg/l djeluje inhibitoryno, a povećane koncentracije amonijaka uzrokovale su smrtnost ukupne populacije sedmog dana uzgoja.

### HRANIDBENA (NUTRITIVNA) VRIJEDNOST ROTATORIJA

Osim potreba za uzgojem zadovoljavajućeg broja rotatorija, vrlo je važna i njihova hranidbena kvaliteta. Ova su istraživanja posebno intenzivirana otkako se spoznalo da su za normalan rast, pigmentaciju i preživljavanje ličnaka mnogih vrsta morskih riba vrlo značajne osnovne masne kiseline i njihov sadržaj u hrani (fitoplanktonu, rotatorijima i artemiji). Biokemijski sastav uzgajanih algi i njihovu hranidbenu kvalitetu istražuju Scott i Middleton (1979), Fernandez-Reiriz i sur. (1989) i mnogi drugi. Mnogi su se istraživači bavili rotatorijima hranjenima različitim mikroalgama radi utvrđivanja njihove hranidbene kvalitete, među ostalima, Watanabe i sur. (1978), James i sur. (1986), James i Abu-Rezeq (1989), Ben-Amotz i sur. (1987), Minkoff (1987), Lubzens i sur. (1989), Carić i sur. (1989, 1990, 1993), Skaramuca i sur. (1990), a hranidbenom kvalitetom artemije posebno su se bavili James i sur. (1983), Katavić i sur. (1985).

Prva istraživanja biokemijskog sastava žive hrane bila su usmjerena uglavnom na ulogu proteina, a ubrzo se spoznala nezamjenljiva važnost lipida u hrani ličinki i poslijeličinki riba. (Sukenić, 1992). Ovim je istraživanjima spoznata važnost nezasićenih masnih kiselina (n<sup>3</sup>-HUFA) koje su esencijalne za ribu (Millikin, 1982). Sada je već dobro poznato da su to eicosapentaenoic-kiselina (EPA ili 20-5n<sup>3</sup>) i docosahexaenoic-kiselina (DHA 22-6n<sup>3</sup>). Sa sigurnošću je potvrđeno da su za rast ličinki, većine osjetljivih, morskih riba i njihovo preživljenje prijeko potreban rotatoriji obogaćeni s DHA kako bi se zadovoljile potrebe ličinki i poslijeličinki riba. Svrha svih nastojanja jest proizvodnja dovoljnih količina žive hrane, zadovoljavajuće hranidbene kvalitete, za što bolji rast i preživljavanje organizama koji se hrane danom hranom. U tom se cilju danas u svijetu proizvodi niz komercijalnih sintetskih aditiva ili gotovih hranjiva, kako bi se uravnotežile esencijalne komponente kao što su masne kiseline, aminokiseline i drugo.

## ODRŽAVANJE MATIČNOG STOKA I TEHNOLOGIJA MASOVNOG UZGOJA ROTATORIJA

Tijekom godine, kada nema potrebe za masovnim uzgojem, rotatoriji se čuvaju u matičnome stoku. Za uspješno održavanje matičnoga stoka može poslužiti staklena ili plastična posuda, 10 do 50 litara volumena i pumpica za autohtonu aeraciju. Posudu napunimo jednom od uzgojenih čistih monokultura mikroalgi, i minimalan broj rotatorija (10–15 ind/ml). Matični stok bilo bi dobro održavati na temperaturi 12–15 °C. Povremeno je potrebno kontrolirati matični stok, pregledom pod binokularnim povećalom kako bismo znali stanje broja rotatorija i kvalitete medija. Kada medij poprimi žućkastokavenu boju, znak je to da se broj rotatorija povećao, a kada je medij bistar (providan) potrebno je dodati određenu količinu hrane. Mikroalge možemo zamijeniti pekarskim kvascem ili kakvim komercijalnim proizvodom, ali zbog veće mogućnosti kontaminacije medija, u tom slučaju, za održavanje matičnoga stoka pogodnije su alge. Kada broj rotatorija u matičnome stoku prijeđe 100 ind/ml, preporučuje se oduzimanjem određene količine medija smanjiti gustoću, a volumen osvježiti. Povremeno je potrebno čitav sadržaj posude profiltrirati, posudu dobro oprati, dezinficirati i ponovno je vratiti u prvobitno stanje.

Uoči početka masovnog uzgoja prijeko je potrebno planirati buduće dnevne potrebe za rotatorijima, a one ovise o kapacitetu mrestilišta i dinamici mrijescenja odraslih riba. Istodobno je potrebno odlučiti se za vrstu hrane kojom će se hraniti rotatoriji u intenzivnom masovnom uzgoju. Sve uzgojne bazene treba oprati i dezinficirati, te obaviti kontrolu čitave infrastrukture (grijanje, aeraciju, sterilizatore, pomoćne posude i ostalo).

Uzgojne bazene većeg volumena (po mogućnosti volumena više od 300 l) napuniti filtriranom i steriliziranom morskom vodom. Slanost (salinitet) sniziti također filtriranom i steriliziranom vodovodnom ili izvorskom vodom. Sadržaj zagrijati na 25–30 °C, ovisno o potrebi intenziteta uzgoja. Slanost snizimo ovisno o vrsti hrane kojom ćemo se koristiti tijekom uzgoja. Ako kao hranu rabimo mikroalge, poželjan je salinitet 25–30 ‰, a ako se koristimo različitim gotovim hranljivim proizvodima, povoljnija je niža slanost (18–25‰). Uzgojne bazene treba opskrbiti zrakom i grijačima za održavanje stalne temperature. U tako pripremljeni uzgojni bazen inokuliramo određeni broj rotatorija iz matičnoga stoka. Poželjno je da taj broj bude veći od 10 ind./ml a najpovoljnija je gustoća 50–100 ind./ml. Ako uzgoj provodimo na umjetnoj, inertnoj hrani npr. »Selko« proizvodima, poželjna je veća gustoća rotatorija u startu (150–200 ind./ml).

Svakodnevno je potrebno kontrolirati temperaturu, po mogućnosti kisik, pH i broj rotatorija. Prihranjivanje provodimo ovisno o vrsti hrane; ako hranimo algama, onda dinamika prihranjivanja ovisi o njihovoj gustoći u samom uzgojnom bazenu, a ako rabimo industrijske proizvode, poželjno je hraniti 2 puta na dan prema uputama proizvođača. Uz optimalne sve navedene uzgojne uvjete, poslije 5 do 7 dana možemo očekivati zadovoljavajuću gustoću rotatorija oko 300–600 ind./ml. Tada pristupamo filtriranju, ispiranju pod

mlazom morske vode i hranjenju ličinki riba. Prilikom filtriranja potrebno je svaki put odvojiti određeni broj rotatorija za ponovnu inokulaciju i nastavak uzgoja.

Rotatorije uzgojene na algama ili u kombinaciji alge + pekarski kvasac nužno je obogatiti s n3-HUFA, najbolje 24 sata prije raspodjele. U te su svrhe proizvedeni Culture Selco ili Protein Selko, a način uporabe priložen je uz proizvod.

## ZAKLJUČCI

Rotatorij *Brachionus plicatilis* još je uvijek nezamjenljiva početna živa hrana za ličinke i poslijeličinke mnogih uzgajanih vrsta morskih riba. To je organizam koji je do sada bio najčešći predmet istraživanja u marikulturi. Sustavnim temeljnim i primijenjenim istraživanjima ovog organizma otvorene su velike mogućnosti uzgoja morskih riba, pa tako i razvoja marikulture općenito. Značajnim vlastitim iskustvom rada na ovom organizmu i velikim brojem literaturnih podataka pokušali smo na jednome mjestu valorizirati njegov značaj i praktičnu primjenu. Na taj način želimo pomoći mladim istraživačima u marikulturi i uzgajivačima u komercijalnim mrestlištima lakši pristup brojnim podacima i rješenjima uzgoja i razvoja marikulture općenito.

Uvođenjem novih vrsta riba u uzgoj, od kojih će se neke svakako rotatorijima koristiti kao prvom živom hranom, daljnja će istraživanja biti usmjerena spoznaji sigurnije proizvodnje različitih veličinskih frakcija ovog organizma ili pronalaženju genetski čistih sojeva prilagođenih veličini otvora usta ličinki i poslijeličinki pojedinih vrsta riba. Buduća je istraživanja također potrebno usmjeriti k rješavanju mogućnosti sigurnije, željene, amiktične ili miktične diobe rotatorija.

Posebna pozornost, budućih istraživanja, i dalje će biti hranidbena (nutricionistička) vrijednost rotatorija, poglavito njihovo oplemenjivanje nezasićenim masnim kiselinama, za koje je utvrđeno da su ključni čimbenik za uspješan uzgoj i preživljavanje ranih razvojnih stadija uzgajanih riba.

## ZAHVALA

Zahvaljujem dr. Ivanu Kataviću na korisnim savjetima kod pripreme ovog rada. Također zahvaljujem osoblju Biološkog zavoda iz Dubrovnika koji su izravno sudjelovali u Programu »Biotski i abiotski čimbenici u marikulturi« ili su na bilo koji drugi način pomagali u realizaciji ovog znanstvenoi-straživačkog programa.

## Summary

### THE SIGNIFICANCE OF ROTATORIA (*Brachionus plicatilis*, Müller) IN AQUACULTURE

Presented is the significance of rotatoria (*Brachionus plicatilis* M) in the larval food and post larval sea fish. In the beginning the rotatoria were collected from the lake where cels were cultured. Due to the encouraging starting results of surviving larval of sea fish and crab fish the rotatoria became an wireplaceable feeding component in the first days of feeding. Numerous investigations were carried out on the reproduction conditions, population growth and their massive culture. Knowing the importance of the basic fatty acids in the larval food and the post larval fish and crab fish, the investigations on the biochemical components and feeding quality of rotatoria was investigated. Now there is a whole range of products which enrich the nutritional value of rotatoria or even replace algae or bakt's yeast as a basic culturing medium. Attempts to completely replace the rotatoria by other organisms ie. artemia, for many species of sea fish ie., *Sparidae*, are still being investigated.

*Key words: feeding, larval, post larval, sea fish, rotatoria*

## LITERATURA

- Ben-Amotz, A., Fishler, R., Schneller, A., (1987): Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on faty acids. Mar. Biol., 95, 31–36.
- Bohač, M., Medaković, D., (1983): Modificirana tehnika uzgoja rotatorija za hranidbu lubina. Morsko ribarstvo, 36, 13–16.
- Carić, M., B. Skaramuca and J. Sanko, (1989): Nutritional effect on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller). Period. biol. Vol. 91, (1), 128–129.
- Carić, M., B. Skaramuca, J. Sanko-Njire, (1990): Chemical composition of the Rotifer (*Brachionus plicatilis*, Müller) fed on *Brachiomonas sp.* and *Eunotia sp.*, Rapp. Comm. int. Mer Medit., 32 (1), 216–217.
- Carić, M., Sanko-Njire J., Skaramuca B., (1993): Dietary effect of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller), Aquaculture, 110, 141–150.
- Chotiyaputta, C., Hirayama, K., (1978): Food Selectivity of rotifer *Brachionus plicatilis* Feeding on Phytoplankton. Mar. Biol., 45, 105–111.
- Devauchelle, B., Girin, M., (1974): Production du rotifere *Brachionus plicatilis* en elevage mixte avec le copepode *Tisbe furcata*. Publ. CNEXO (France). Actes Colloq., 1, 87–99.
- Epp. R. W., Winston, P. W., (1977): Osmotic regulation in the brackish water rotifer *Brachionus plicatilis*. J. Exp. Biol., 68, 151–156.

- Epp, R. W., Winston, P. W., (1978): The effects of salinity and pH on the activity and oxygen consumption of *Brachionus plicatilis*. Comp. Biochem. Physiol, 59A, 9–12.
- Fernandez-Reiriz, M. J., Perez-Camacho, A., Ferreiro, M. J., Blanco, J., Planas, M., Campos, M. J., Labarta, U., (1989): Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. Aquaculture, 83, 17–37.
- Fukusho, K., Hara, O., Yoshio, J., (1976): Mass production of rotifers fed *Chlorella* and yeast in the 40-t tank. Aquaculture 24, 96–101.
- Gatesoupe, F. J., Luquet, P., (1981): Commercial single-cell proteins either as sole food source or in formulated diets for intensive and continuous production of rotifers (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture 25, 1–15.
- Gatesoupe, F. J., Luquet, P., (1981): Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*: application on larval rearing sea-bass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture, 22, 149–163.
- Giliberto, S., Mazzola, A., (1981): Mass culture of *Brachionus plicatilis* with an integrated system of *Tetraselmis suecica* and *Saccharomyces cerevisiae*. J. World Maricult. Soc., 12 (2), 61–62.
- Hirata, H., (1979): Rotifer culture in Japan. In: Cultivation of fish fry and its live food. Ed. by E. Styczynska-Jurewicz, T. Backiel, E. Jaspers and G. Persone. European Mariculture Society, Bredene, 361–376.
- Hirayama, K., Kusano, T., (1972): Fundamental studies on physiology of rotifer for mass culture. II influence of water temperature on population growth of rotifer. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 38, 1357–1363.
- Hirayama, K., Watanabe, K., (1973): Fundamental studies on physiology of rotifer for its mass culture. I. Filter feeding of rotifers. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39, 1129–1133.
- Hyman, L. H., (1951): The invertebrates: Acanthocephala, Aschelminthes and Entoprocta. MacGraw, New York, 14–38.
- Ito, T., (1960): On the culture of mixohaline rotifer, *Brachionus plicatilis* O. F. Müller in the sea water. Rep. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie, 3, 708–740.
- James, C. M., Al-Khars, A. M., Abbas, M. B. Al-Ameeri, A. A., (1983): Nutritional studies on rotifers and *Artemia* for feeding fish larvae. KISR Annu. Res. Rep., ISSN 0250–4065. pp. 61–63.
- James, C. M., Abu-Rezeq, T., Dias, P. A., Salman, A. E., (1986): Production dynamics and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* under different feed regimes. Kuwait Inst. Sci. Res., Kuwait. Technical Report KISR 2183, pp. 1–30.
- James, C. M., Abu-Rezeq, T., (1989): Production and nutritional quality of two small-sized strains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. J. World Aquacult. Soc., 20, 136–142.
- Katavić, I., (1986): Diet involvement in mass mortality of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) larvae. Aquaculture, 58, 45–54.
- Katavić, I., Tudor, M., Komljenović, J., Ružić, N., (1985): Changes in the biochemical composition of *Artemia salina* (L.) in relation to different feeding conditions. Acta Adriat., 26 (2), 123–134.

- Kitajima, C., Fujita, S., Oowa, F., Yone, Y., Watanabe, T., (1979):* Improvement of dietary value for red sea bream larvae of rotifers, *Brachionus plicatilis*, cultured with baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Bull. Jpn. Soc. Fish., 45; 469–471.
- Lubzens, E., (1981):* Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. In: Research on intensive aquaculture. Ed. by H. Rosenthal and O. H. Ore. European Mariculture Society, Bredene, 163–179.
- Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G., (1989):* Rotifers as food in aquaculture. Hydrobiologia 186/187, 387–400.
- Millikin, M. R. (1982):* Qualitative and quantitative nutrient requirements of fish: a review, Fishery Bulletin, 80, 655–686.
- Minkoff, G., (1987):* The effect of secondarily enriched rotifers on growth and survival of marine fish larvae. Ph. D. thesis. University of Stirling, UK.
- Minkoff, G., Lubzens, E., Kahan, D., (1983):* Environmental factors affecting hatching of rotifer *Brachionus plicatilis* resting eggs. Hydrobiologia, 104, 61–69.
- Navarro, J. C., Hontoria, F., Varo, I. Ahmat, F., (1988):* Effects of alternate feeding with poor long-chain polyunsaturated fatty acid *Artemia* strain and a rich one for sea bass and prawn larvae, Aquaculture, 74, 307–317.
- Person-Le Ruyet, J., (1986):* Techniques d'élevage en masse d'un rotifère *Brachionus plicatilis* Müller et d'un crustacé brachiopode *Artemia salina* L. In: Proceedings of the 10th European Symposium on Marine Biology. ed. BY g. Persoone and E. Jaspers, Universa Press, Wetteren, 1, 331–343 pp.
- Polo, A., Yúfera, Pascual, E., (1992):* Feeding and growth of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to the size of the rotifer strain used as food. Aquaculture, 103, 45–54.
- Ruttner-Kolisko, B., (1969):* Rotifers as indicators of the chemical nature of inland salt waters. Proc. Tihany-Szeged-Szarvas Salt-Lakes Symposium, 179, 8–10.
- Sanko, J., (1989):* Utjecaj nekih biotskih i abiotskih faktora na rast populacije rotatoria (*Brachionus plicatilis*, Müller), Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu 90 p.
- Sanko, J., Skaramuca, B., (1986):* Utjecaj saliniteta i vrste hrane na rast populacije rotatorija *Brachionus plicatilis* Müller. Std. Mar. 17/18, 75–86.
- Schluter, M., Groeneweg, J., (1985):* The inhibition by ammonia of population growth of the rotifer *Brachionus rubens* in continuous culture. Aquaculture, 46, 215–220.
- Scott, A. P., Middleton, C., (1979):* Unicellular algae as food for turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae — the importance of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids. Aquaculture, 14, 227–240.
- Skaramuca, B., (1994):* A new simple and inexpensive aeration system for rotifer culture. Aquacultural Engineering, 13, 153–161.
- Skaramuca, B., Sanko-Njire J., Carić M, Viličić D., (1990):* *Brachiomonas* sp. and *Eunotia* sp. two new Microalgae favourable for mariculture cultivation. Rapp. Comm. int. Mer Medit., 32, 1, 215–216.

- Snell, T. W., (1986):* Effect of temperature, salinity and food level on sexual and reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Mar. Biol.*, 92, 157–162.
- Snell, T. W., Carrillo, K., (1984):* Body size variation among starains of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 31, 21–30.
- Spectrova, L. V. (1979):* Rearing live feed in the USSR. In: Cultivation of fish fry and its live food. Ed. by E. Styczyńska–Jurewicz, T. Backiel, E. Jaspers and G. Persoone. European Mariculture Society, Bredene, 403–408 pp.
- Sukenik, A., (1992):* Production of w-3 fatty acid by marine microalgae — From laboratory to a production scale. *Bamidgeh* 44, 150.
- Theilacker, G. H., McMaster, M. F., (1971):* Mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* and its evaluation as a food for larval anchovies. *Mar. Biol.*, 183–188.
- Trotta, P., (1980):* A simple and inexpensive system for continous monoxenic culture of *Brachionus plicatilis* Müller as a basis for mass production. In: Algae biomass. Ed. byt G. Shelef and C. J., Soeder, Elsevier, Nort–Holland Biomedical Press, Amsterdam, 307–313.
- Vitković, F., (1989):* Utjecaj dužine fotoperioda na rast fitoplanktonta *Chlorella sp.* i zooplanktonta *Brachionus plicatilis*. *PMF Sveučilišta u Zagrebu* 43 pp.
- Watanabe, I., Kitajima, S., Arakawa, C., Fukusho, T., Fujita, S., (1978):* Nutricional quality of rotifer *Brachionus plicatilis* as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.*, 44, 1109–1114.
- Webster, C. D., (1989):* Nutritional value of brine shrimp nauplii for striped bass larvae. Doctoral Thesis, Auburn University, Auburn, AL, 117 pp.
- Yufera, M., (1982):* Morphometric characterization of a small-sized strain of *Brachionus plicatilis* in culture, *Aquaculture*, 27, 55–61.

*Primljeno 20. 4. 1994.*