

T.C.
TUNCELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**SARIAĞIZ BALIKLARINDA (*Argyrosomus regius* Asso,1801) *Vibrio anguillarum*
ENFEKSİYONUNA KARŞI TİCARİ BİR PREBİYOTİK OLAN GROBİYOTİK-A NIN
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ulviye KARACALAR

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Doç. Dr. Murathan KAYIM

TEMMUZ – 2016

T.C.
TUNCELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SARIAĞIZ BALIKLARINDA (*Argyrosomus regius* Asso,1801) *Vibrio anguillarum*
ENFEKSİYONUNA KARŞI TİCARİ BİR PREBİYOTİK OLAN GROBİYOTİK-A NİN
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ulviye KARACALAR
(111106105)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Doç. Dr. Murathan KAYIM

TEMMUZ – 2016

T.C.
TUNCELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SARIAĞIZ BALIKLARINDA (*ARGYRO SOMUS REGIUS* ASSO, 1801) *VİBRİO ANGUİLLARUM* ENFEKSİYONUNA KARŞI TİCARİ BİR PREBİYOTİK OLAN GROBİOTİK- A'NIN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Ulviye KARACALAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 22 /07/ 2016 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

İmza:.....



Doç. Dr. Murathan KAYİM
(T.Ü)

DANIŞMAN

İmza:.....



Doç. Dr. Erkan CAN (T.Ü)

ÜYE

İmza:.....



Prf.Dr. Nuri BAŞUSTA
(F.Ü)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Durali DANABAŞ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı "Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu"ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Bu araştırmada, ticari bir probiyotik olan Grobiotik-A'nın *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiş sariağız balıkları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada başlangıçta ortalama 2.95 ± 0.21 g canlı ağırlığında 44 adet sariağız balığı kullanılmıştır. Balıklara 90 gün boyunca kontrol grubu haricinde % 2, % 3 ve % 4 oranında Grobiotik-A katkılı yemlerle besleme yapılmıştır. Besleme 44 adet balığın her biri ayrı olmak üzere canlı ağırlıkları üzerinden ağırlıklarının % 2'si oranında uygulanmıştır. 90 günlük yemleme sonrasında balık grupları *V. anguillarum* ile intraperitoneal olarak deneysel enfeksiyona tabi tutulmuşlardır. Deneysel enfeksiyon sonucunda ölen balıkların i organlarından (beyin, böbrek, dalak, solungaç vb.) alınan örnekler ayrı ayrı aseptik koşullarda besi ortamlarına ekilmiş ve etken identifikasyona tabi tutulmuştur. Denemeler sonucunda ölen balık sayısı belirlenerek deneysel enfeksiyonla oluşturulan *Vibrio anguillarum*'un Grobiotik-A katkılı diyetlerle beslenen balık grupları üzerindeki yaşama oranları belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sariağız Balığı, *Argyrosomus regius*, Prebiyotik, Grobiotik-A, *Vibrio anguillarum*

ABSTRACT

Determination Of The Effects Of The Grobiotic-A, A Commercial Prebiotic Product Against *Vibrio anguillarum* Infection In Meagre Fish

In this study, the effects of a commercial probiotic called *Grobiotik-A* on Meagre, *Argyrosomus regius*, finfish infected by *Vibrio anguillarum* were researched. A total of 44 fish with initial mean body weight of 2.95 ± 0.21 g were used. During 90-days study period, Grobiotic A was used at 2, 3, and 4 % of the fish diet in treatment groups, except the control group which received 0 % Grobiotic-A added in the diet. During the feeding studies, fish groups were fed on 2 % of their body weight. At the end of the experiment, the fish treatment groups were infected by *V. anguillarum* intraperitoneally. The samples of brain, kidney, spleen, gills were taken from the dead fish. First, the samples were inoculated on aseptic medium and r-isolation was applied for pathogen identification. At the end of the study, final body weight and survival rate of fish groups were measured and the effects of Grobiotic-A on the performans of *Vibrio anguillarum* infected fish were determined and the results were summarized in the present study.

Key words: Meagre, *Argyrosomus regius*, Prebiotic, Grobiotic-A, *Vibrio anguillarum*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda yardım ve hoşgörüsü ile desteğini gördüğüm danışman hocam Doç. Dr. Murathan KAYIM'a, tez konumun belirlenmesinde büyük katkıları olan Doç. Dr. Erkan CAN'a;

Tez çalışmalarım süresince metod belirlemede gerekli donanım ve ortamın sağlanmasında, ayrıca kuluçkahane ve mekanizasyon konularında derin deneyim ve tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Halil ŞEN'e, balık temini ve ulaşımı konularında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Kutsal GAMSIZ'a, denemede kullanılan katkı maddelerinin temini, istatistiksel analizler ve yönlendirmede her türlü desteğini ve dostluğunu gördüğüm Arş. Gör. Dr. Gamze TURAN'a, eğitimime vesile olan ve öğrenimim süresince beni gayretlendirerek dostluğunu esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Şafak Seyhaneyıldız CAN'a, deneme çalışmalarım boyunca yardımlarına minnettar olduğum Oğuzhan TAKICAK'a, besleme konusunda bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Doç. Dr. Aysun KOP'a, çalışmalarım süresince her zaman ilgi, destek, sonsuz sabrını ve dostluğunu gördüğüm Duygu ŞEN'e;

Hayatımın her safhasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme sabır ve anlayışlarından ötürü teşekkürü bir borç bilirim.

Ulviye KARACALAR
TUNCELİ – 2016

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	I
TEŞEKKÜRLER.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Prebiotiğin Tanımı ve Fonksiyonları	4
1.2. Prebiotiklerin İmmün Sisteme Etkisi.....	6
1.3. Prebiyotiklerin Kullanımı ve Yapılan Çalışmalar	7
1.3.1. İnülin.....	7
1.3.2. Mannanooligosakkarit (MOS).....	10
1.3.3. Fruktooligosakkarit (FOS).....	12
1.3.4. Kısa Zincirli Fruktooligosakkarit (scFOS).....	13
1.3.5. Gro Biotic-A.....	14
1.3.6. Galaktooligosakkarit (GOS).....	15
1.3.7. Ksilooligosakkarit (XOS).....	15
1.3.8. Arabinoooligosakkarit (AXOS).....	16
1.3.9. İzomaltooligosakkarit (IMO).....	17
2. MATERYAL ve METOT.....	20
2.1. Deneme Yeri.....	20
2.2. Balık Materyali	20
2.3. Yem Materyali	21
2.4. Enfeksiyon Materyali	23
2.5. Deneme Planı.....	23
2.6. Deneysel Enfeksiyon	24
2.7. İstatistik Analizler	25
3. BULGULAR.....	25
3.1. Enfekte Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları	25
3.2. Enfekte Balıklardan İzole Edilen <i>Vibrio anguillarum</i> 'un Etken Özellikleri.....	27
3.3. <i>Vibrio anguillarum</i> 'un API Yöntemiyle İdentifikasyonu	30

3.4. Deneme Boyunca Balıklardaki Canlı Ağırlık Kazancı.....	30
3.5. Deneme boyunca balıklardaki yaşama oranı	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	45



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

- Şekil 2.1.** E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dr. H. Okan KAMACI Yetiştiricilik Araştırma ve Uygulama Ünitesi 20
- Şekil 2.2.** Araştırmada Kullanılan Sariağz balığı 21
- Şekil 3.1.** Deneysel enfeksiyon sonucu sariağz balığında operkulum ve anüs civarında kızarıklık 25
- Şekil 3.2.** Deneysel enfeksiyon sonucu karaciğerde solgunluk ve hemoroji 27
- Şekil 3.3.** Deneysel enfeksiyon sonucu dalakta büyüme ve bağırsakta sarımsı renkte kanlı sıvı 27
- Şekil 3.4.** *Vibrio anguillarum*'un Triptik Soy Agar (TSA)'daki görünümü 28
- Şekil 3.5.** *Vibrio anguillarum*'un Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS)'daki görünümü 29
- Şekil 3.6.** Kontrol grubu ile % 2 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı ağırlık artışının karşılaştırılması 31
- Şekil 3.7.** Kontrol grubu ile % 3 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı ağırlık artışının karşılaştırılması 31
- Şekil 3.8.** Kontrol grubu ile % 4 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı artışının karşılaştırılması 32
- Şekil 3.9.** Grobiotik-A katkılı yem ile beslenen sariağz balıklarında yaşama oranına ait sonuçlar 33

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Prebiyotik Kullanımı	17
Tablo 2.1. Grobiotik-A'nın Besinsel Profili	22
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan <i>V. anguillarum</i> suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	29
Tablo 3.2. Farklı oranlarda Grobiotik-A içeren yemlerle beslenen sarıağz balıklarına ait toplam ağırlık kazancı.....	30
Tablo 3.3. Farklı oranlarda (Kontrol-% 2-% 3-% 4) Grobiotik-A katkılı yem ile beslenen sarıağz balıklarında yaşama oranına ait sonuçlar	32

1. GİRİŞ

Geçtiğimiz on yıl içinde su ürünleri yetiştiriciliği, dünya nüfusunun katlanarak artmaya devam etmesiyle, avcılık yoluyla elde edilen su ürünlerine güvenli bir alternatif olarak ticari balıkçılığın sürdürülebilir bir duruma getirilmesinde önemli roller üstlenmiştir.

Su ürünleri yetiştiriciliği insanların beslenmesi ve yetiştiriciliğin istihdamı açısından önemli bir sektördür, bu nedendir ki yönetim ve işletmede çeşitli nedenlerle oluşan kayıpları en aza indirmek ve alınması gerekli önlemleri belirlemek araştırma sektörlerinin öncelikleri arasındadır. Hastalık konusu ise sektörde ve devam eden süreçlerde oluşan kayıpların büyük bir kısmını oluşturduğu için gün geçtikçe önem kazanmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalarla hem ekonomik kayıplar en aza indirgenmiş, hem de üretimi yapılan türlerin korunma aşamasında güncel ve etkili yöntemlerin gelişmesi sağlanmıştır. Kayıpların azaltılması konusunda ise dayanıklı türlerin daha yoğun yetiştirilmesi yönteminin etkili olabileceği belirtilmektedir (Tekelioğlu, 2000).

Deniz balıkları yetiştiriciliğinin son yıllarda gözle görülür bir şekilde artmasıyla sektörden elde edilen kar marjının giderek azalması olasıya ortaya çıkmıştır. Bunun sonucu olarak yeni türlerin sektördeki önemi giderek önem kazanmaya başlamıştır. *Argyrosomus regius*, sciaenidae familyasının bir türüdür ve özellikle Akdeniz, Marmara Denizi, Karadeniz'in batı sınırlarında, Kızıldeniz'de ve az da olsa Hint Okyanusu'nda dağılım göstermektedir (Quemener, 2002). Sariağz balığı, yem dönüşüm oranının yüksek olması, geniş tuzluluk oranlarında yaşayabilmesi, hızlı büyümesi ve kaliteli et yapısı ile yetiştiricilik sektörü için büyük getiriye sahip alternatif bir tür olarak kabul edilmektedir (Poli ve ark., 2001).

Günümüzde su ürünlerine ve dolayısıyla alternatif türlere talebin yoğun bir şekilde artmasıyla yetiştiricilikte kullanılan üretim sistemlerinin de giderek daha verimli olması gerektiği gözardı edilemez bir şekilde öne çıkmaktadır. Ancak, yüksek stoklama yoğunlukları, yeni türlerin koşullara adaptasyonunun sağlanması, kötü su kalitesi koşulları ve yetersiz beslenme gibi çeşitli faktörlerin ortaya çıkardığı hastalıkların büyük üretim kayıplarına sebebiyet vermesi, günümüzde tek ve en pahalı sorun olarak üreticilerin karşısına çıkmakta, sonuç olarak da üretim sonucu alınacak verimi sınırlı hale getirmektedir.

Hastalık etkenlerinin çoğalmasıyla su ürünlerinde antibiyotiklerin geleneksel kullanımı, sucul çevredeki mikrobiyal yoğunluğu yok ettiğinden ve sucul hayvanların bağışıklık sistemlerini baskıladığından dolayı tartışılmaktadır (Ringø ve ark., 2010). Antibiyotiklerin yetiştiricilik sektöründe yoğun olarak kullanımı, bu kimyasal ajanların çiftlik hayvanlarının dokularında birikmesine, bağırsak florasındaki faydalı mikrobiyal popülasyonu azaltarak normal floranın dengesinin bozulmasına ve antimikrobiyel ajanlara dirençli bakteri jenerasyonlarının oluşmasına neden olmaktadır. Direnc gelişiminin diğer türlere de geçmesiyle de, mevcut genomun değişiminin hızlanmasını tetiklemekte dolayısıyla bakteriyofajlar veya plazmidler aracılığıyla genetik materyalin hücreler arası transferine neden olmaktadır. Diğer taraftan antibiyotikler, mide bağırsak ekosistemi içinde yararlı olan mikrobiyal florayı inhibe edip öldürürken, bu gıdalardan beslenen insan topluluklarının da tüketimini olumsuz yönde etkilemektedirler (WHO, 2006). Bu ve bunun gibi önemli faktörler gözönüne alınarak, özellikle Avrupa Birliği ve ABD, antibiyotik kullanımının sınırlandırılması ve yasakların uygulanması konusunda ciddi sınırlamalar getirmiş (Kesarodi-Watson ve ark., 2008), Avrupa Birliği (EU) 1 Ocak 2006'dan başlayarak antibiyotiklerin yem katkısı olarak kullanımını yasaklamıştır. Karşı karşıya kalınan bu gibi negatif sonuçları en aza indirerek, çevreye ve ekolojiye zarar vermeden su ürünleri yetiştiriciliğini geliştirmek ve çoğaltmak için yeni alternatif koruyuculara gerek duyulmaktadır.

Son yıllarda bağırsak mikrobiotasının değişmesi yoluyla hayvanlar üzerinde yararlı etkisi olan diğer maddeleri belirlemek için birçok uygulama başlatılmış ve çeşitli immünomodülatörlerin diyet içerikleri ile ilişkili önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Antibiyotiklere seçenek olan bu maddeler arasında probiyotik denilen canlı mikroorganizmalar tarafından beslenen mikrobiyel hücreler, bira mayasından elde edilmiş hücre fraksiyonları ve β -glukan, peptidoglikanlar, kitin ve oligonükleotidler gibi besleyici olmayan fakat immun sistemi uyarıcı bileşikler de dahil olmak üzere çeşitli yem katkı maddeleri bulunmaktadır (Nakagawa ve ark. 2007; Gatlin ve Li 2008). Bağırsak florasının düzenlenmesinde probiyotikleri tamamlayan bir mekanizma olarak öne çıkan ve ilk kez Gibson ve Roberfroid tarafından kullanılan prebiyotik sözcüğü, bağırsak florasında mevcut olan bir tür veya sınırlı sayıdaki birkaç tür yararlı mikroorganizmanın çoğalmasını ve/veya aktivitesini seçici bir şekilde belirleyerek konağın sağlığını olumlu yönde etkileyebilen karbonhidrat yapısında metabolize edilemeyen besin bileşenleri olarak tanımlanmıştır

(Gibson ve Roberfroid 1995; Manning ve Gibson 2004; Li ve ark. 2004; Burr ve Gatlin 2005).

Prebiyotikler, mide-bağırsak kanalında az veya sınırlı sayıda olan yararlı mikroorganizmaları seçici bir şekilde uyarak, aktive edilmesini sağlayan sindirilemeyen gıda maddeleridir (Gibson ve Roberfroid 1995). Son yıllarda yapılan araştırmalarla prebiyotiğin tanımı, mide-bağırsak kanalının mikrobiyotasını ve bileşimini konağının yararına olarak belirli değişikliklerle arttıran seçici fermente bileşen olarak güncellenmiştir (Gibson ve ark. 2004).

Çeşitli sucul türlerde yaygın olarak kullanılan prebiyotikler; inulin, mannanooligosakkaritler (MOS), fruktooligosakkaritler (FOS), kısa zincirli fruktooligosakkaritler (scFOS), GroBiotic®-A (GBA) ve daha az bir ölçüde, galaktooligosakkaritler (GOS), xylooligosakkaritler (XOS), arabinoxyloligosakkaritler (AXOS) ve isomaltoligosakkaritler (IMO) dir.

GroBiotic-A tilapia, yayın balığı, alabalık, hibrit çizgili levrek, iştine ve diğer balık türleri ile karidesler üzerinde de kanıtlanmış anlamlı pozitif etkileri olan tamamen doğal immün uyarıcı özelliği olan bir prebiyotiktir. Ayrıca büyümedeki performansı, canlılığının dayanıklılığının ve bağışıklığının gelişmesinde gastrointestinal yapının mikrobiyel popülasyonunu pozitif bir şekilde değiştirerek sindirimi olumlu bir şekilde arttırmasıyla da diyetdeki önemini yapılan çalışmalarda göstermiştir. Bunların dışında protein bazlı içeriğiyle de sindirimi arttırmasının yanında bakteriyel (*Streptococcus iniae*, *Mycobacterium marinum*, *Flavobacterium columnare*) ve viral (IHNV) hastalıklar da dahil olmak üzere, kötü su kalitesi, düşük tuzluluk ve genel ticari koşullardan kaynaklanan stres yönetimine de olumlu yönde etkisi olduğu bildirilmiştir.

Vibriosis çoğu tatlı su balığı türünde ve deniz balıklarında görülmekle beraber tuzlu sularda yetiştiriciliği yapılan balıkların en önemli ve en fazla bilinen hastalıklarından biridir. *Vibrio anguillarum*, vibriosis vakalarında deniz balıklarından en sık izole edilen ve en etkili patojen vibrio olarak kabul edilen türlerdendir. Bu çalışmada ticari bir prebiotik olan Grobiotic-A nın patojen bir bakteri olan *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiş sariağız balıklarında (*Argyrosomus regius* Asso,1801) koruma sağlayıp sağlamadığı araştırılmış ve prebiyotiğin koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Prebiotiğin Tanımı ve Fonksiyonları

Son yıllarda su ürünleri sektöründe hastalık kontrolü olarak yaygın antibiyotik kullanımı azalmaya başlamış, enfeksiyonların yayılımının kontrolünde alternatif stratejilerin yönlendirilmesi yoluna gidilmiştir (Kelly - Quagliana ark., 1998; Gibson, 1999; Niness, 1999). Bu alternatif yöntemlerden ve en önemlilerinden olan prebiyotiklerin sağlık üzerine önemli etkileri, insan ve karasal hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışma ile de kanıtlanmıştır (Cooper, 1995; Causey ve ark., 1998; Kelly-Quagliana ve ark., 1998; Gibson, 1999; Niness, 1999; Cerezuela ve ark. 2008).

Birçok görüş açısından prebiyotik, kalın bağırsakta sınırlı sayıdaki yararlı bakterilerin aktivitesini ya da gelişmesini selektif olarak arttıran, canlılığın sağlığını faydalı bir şekilde etkileyen metabolize edilemeyen gıda bileşenidir (Gibson ve Roberfroid, 1995). Prebiyotiklerin spesifik olarak kalınbağırsaktaki flora üzerine etkileri bilinmektedir. Prebiyotikler kısaca metabolize edilemeyen besin öğeleridir. Ancak bu karbonhidrat yapısındaki besin maddelerinin prebiyotik olarak adlandırılabilmesi için; hidrolize olmadan mide ve ince bağırsaktan geçmesi ve kalın bağırsakta mevcut olan yararlı bakteriler için besin özelliği taşıması ve onların sayıca çoğalmasını uyaran bir etkisinin olması gerekmektedir. Prebiyotikler kolondaki faydalı mikroorganizmalar tarafından fermente edilmekte ve ortaya çıkan metabolit ürünlerde mikroflora için enerji kaynağı oluşturmaktadır. Ekolojik sistemin desteklenmesi ve sistemin olumlu yönde sürecinin devam etmesi de bu şekilde sağlanmaktadır.

Günümüzde bilinen çoğu prebiyotik besin lifidir. Ancak bütün besin lifleri prebiyotik olarak adlandırılmamaktadır. Prebiyotik olabilmenin gerçeği, canlılığın sağlık sistemi için gerekli belirli sayıdaki bakterinin büyümesini ve/veya aktivitesini arttırmak, kalın bağırsak florasındaki bakteriler tarafından da fermente olabilmektir. Prebiyotikler ince bağırsakta da metabolize olabilmektedir ancak kalın bağırsakta fermente olmaktadırlar. Prebiyotiklerin az enerji vermek, glisemik indekslerinin düşüklüğü, dışkı hacmini ve sıklığını arttırıcı olmaları gibi özellikleri vardır.

Prebiyotikler; kalsiyum ve magnezyum gibi minerallerin emilimini ve biyoyararlılığını (vücutta kullanım etkinliği) arttırmakta, bağırsak mikroflorasının yapısını ve aktivitesini pozitif yönde etkileyerek, bağırsak hareketlerini düzenlemekte ve hastalık yapıcı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyebilmektedir.

Çoğu araştırmacıya göre yukarıda sayılan özelliklerin her biri çok fazla önem taşımakla birlikte, prebiyotiklerin özellikle yararlı bakterilerin aktivitesini çoğaltmak ve stimüle edilmesini sağlamakla ilgili özellikleri, en önemli ayrıcalık olarak belirtilmektedir. Bu durum özellikle anaerobik mikroorganizmalarla çalışılan kantitatif araştırmalarda toplam bakteri miktarının (aerobik ve anaerobik) güvenli bir şekilde gözlemlenilebilmesi açısından geniş bir yelpazeye fayda sağlamaktadır. Bazı bilim adamlarının araştırma sonuçlarına göre ise, proteinler, belirli lipitler, bazı peptidler ve kalın bağırsağa ulaşan gıda maddelerinden metabolize olmayan karbonhidratlar da prebiyotik olmaya aday olarak belirtilmektedirler (Gibson ve ark., 2004; Mahious ve Ollevier, 2005). Araştırma sonuçlarına göre , prebiyotik olarak kullanılacak bir gıda bileşeni; kanserojen olmamalı , içeriğine karıştırılacak yeme kolay ilave edilebilmeli, mide ve ince bağırsakta absorbe veya hidrolize olmamalı, bağırsak akışkanlığını düzenlemeli, besinsel polisakkaritlerden elde edilebilmeli, kalori değeri düşük olmalı, patojen mikrobiyal içeriği azaltmalı, düşük dozlarda etkili olmalı, yararlı bağırsak mikroorganizma seviyesini arttırmalı, herhangi bir atık etkisi üretmemeli, kalın bağırsak mikroflorasındaki yararlı mikroorganizmalar için seçici olmalı ve sayıca çoğalmalarını stimüle ederek konağa yararlı bölgesel anlamda ve sistemik olarak zenginleştirici etkilere sahip olmalıdır (Gibson ve Roberfroid, 1995; Milner, 1999; Yılmaz, 2004; Gibson ve ark., 2004; Yousefian ve Amiri, 2009; Ganguly ve ark., 2009).

Bifidobacteria spp., *Lactobacillus* spp. ve *Bacteroides* spp. gibi bazı kalın bağırsak için yararlı bakteri türleri tarafından kolayca fermente edilebilen prebiyotikler, potansiyel patojen bakteri türleri tarafından etkili olarak kullanılamamaktadırlar. Fermantasyon işlemi sonrası bütirat, laktat, propiyonat ve asetat gibi kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) üretilir; böylece mide bağırsak sistemindedeki pH değeri düşürülmüş olur ve dolayısıyla *Salmonella*, *Listeria* ve *Escherichia coli* gibi zararlı patojenlerin kolonize hale gelmeleri önlenmiş olur (Klewicki ve Klewicka, 2004). Prebiyotiklerin sahip oldukları bağlama kapasitesi nedeniyle bağırsaktaki pH düşer ve kalsiyum, magnezyum ve demir gibi minerallerin emilimi artar (Yousefian ve Amiri, 2009). Dolayısıyla prebiyotikler, kan, kolesterol ve trigliserid düzeylerini olumlu yönde düzenleyerek sistemi güçlendirir, konağın bağışıklık sistemini arttırarak kolon kanseri gelişim riskini azaltır, patojen yapıdaki mikroorganizmaların artışını engelleyerek intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonun yükselme riskini azaltır, canlı ağırlık artışına sebep olur, laktik asit düzeyini artırır, bağırsak mukozasını iyileştirir, bağırsak villuslarının standart bir biçim almasını sağlar ve miktar olarak arttırır, özellikle ince bağırsağın üst kısmında maltaz, aminopeptidaz ve alkali fosfataz aktivitesini arttırır, feçes

hacminde artış sağlarlar (O'Sullivan, 1996; German ve ark., 1999; Milner, 1999; Holzapfel ve Schillinger, 2002; Burr ve Gatlin, 2005).

1.2. Prebiotiklerin İmmün Sisteme Etkisi

Günümüzde su ürünleri yetiştiriciliğinde ekonomik ve çevresel kayıplara neden olan hastalık etkenlerinin ortadan kaldırılması veya üretimi yapılan ürünlerin besleme ve büyütme aşamalarında enfeksiyonlara karşı dirençli bireyler yetiştirilmesi süreçlerinde besin içeriklerinde kullanımı artan probiyotiklerin, diyet hazırlığı süresince içerikte kullanılan bakteri kesitlerinin saklanması, peletleme sonrası oluşan probiyotik bakterinin düşük canlılığı vb birçok durumdan kaynaklı sorunlar nedeniyle, yem içeriklerinde probiyotik kullanımında ticari anlamda sıkıntılar sözkonusu olabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı probiyotik kullanımıyla birlikte prebiyotik ve sinbiyotiklerin yem içeriklerine uygulanması diyetlerin zenginleştirme ve iyileştirilmesi açısından ileri bir girişim olarak öne çıkmaktadır.

Yetiştiricilikte prebiyotikler, sindirim sisteminin bakteriyel florasını değiştirmesinin yanısıra immün sistemin gelişmesinde ve büyüme hızına verdikleri katkılarla da bağışıklık sisteminde önemli bir role sahiptirler. Bu olumlu özelliklerinden dolayıdır ki çoğu bilim adamı yem tamamlayıcı olarak önerilen bu maddelerin dozajlarını optimize etmek için ayrıntılı çalışmalar yapmışlardır (Merrifield ve ark., 2010c).

Farklı işletmeler ve araştırmacıların çalışmalarına rağmen, prebiyotik alımı beslenme formülasyonunda kullanılan içeriklerin türlerine bağlıdır ve bu nedenle, prebiotiklerin performansa katkıları türler ve diyetleri arasında çok büyük değişiklikler gösterir. Balık yemlerinde kullanılacak prebiyotiklerin o hayvanın belirli özelliklerine (tür, yaş, üretim aşaması) ve diyet türünün içeriklerine göre değişim göstereceği aşikardır. Bununla birlikte bu türlü pratik formülasyonlarda ekonomik hususların da çok fazla önem arzettiği gözden kaçırılmamalıdır.

Prebiyotikler canlı organizma için bağışıklık sistemini stimüle eden maddeler üreterek enfeksiyonlara karşı konakçının korunmasını arttırmakta ve dolayısıyla etkin enerji sağlayıcı bir role sahip olabilmektedirler (Mussatto ve Mancilha, 2007). İnsanlar ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda prebiyotiklerin immünoglobulin ve sitokin miktarını artırdığı gözlemlenmiştir (Fukushima ve ark., 1998; Picchietti ve ark., 2007).

Ayrıca prebiyotikler, vitamin ve enzimlerin üretimine dair aktivasyonlarıyla sindirim işlevine de katkıda bulunmaktadırlar (Ramirez ve Dixon, 2003). Doğal olarak yem katkı

hammaddesi yapısında olmaları avantajının dışında, yem içeriğine eklenirken özel işlem istememeleri, kolay elde edilebilir olmalarıyla da yetki gereksinimine ihtiyaç duymamaları açısından prebiyotikler, gözardı edilemeyecek katkı maddeleri arasında önemli bir yere sahiptir (Yousefian ve Amiri, 2009).

1.3. Prebiyotiklerin Kullanımı ve Yapılan Çalışmalar

Yetiştiricilik faaliyetlerinde maliyetin % 50'sinden fazlasını yem giderleri oluşturmaktadır. Bu açıdan yetiştiricilikte yem maliyetini olumlu bir şekilde optimize etmek ve en iyi şekilde beslenme stratejisi belirlemek yetiştiricilik sektöründe aşılması gereken birincil hedef olarak ortaya çıkmaktadır. Geçerli bir beslenme stratejisi oluşturmak hem daha fazla balığın enfeksiyonlara karşı dayanabilirliğini arttırmayı sağlamakta hem de pazarlanabilir boyuta kadar sağlıklı bir süreçle hayatta kalabilme oranını arttırmaktadır. Dolayısıyla ilaç ve genel üretim maliyetleri de büyük ölçüde azaltılarak yemden yararlanma ve balık sağlığını az maliyetle korumada önemli aşamalar sağlanacaktır.

Su ürünleri yetiştiriciliği başlığı altında prebiyotikler üzerine olan ilk çalışma 1995 yılında bildirilmiştir (Hanley ve ark., 1995). Yetiştiricilik sektöründe hastalık etmenlerinin çoğalması ve dolayısıyla bağışıklık arttırıcı maddelerin arayışı prebiyotiklere eğilimi gün geçtikçe artmaktadır. Bu artışla birlikte diyet içeriğindeki prebiyotiklerin özellikleri de farklı sucul türlerin beslenme standardizasyonuna göre değişiklik göstermektedir. Besin içeriklerinde yaygın olarak kullanılan prebiyotikler; inulin, mannanooligosakaritler (MOS) , fruktooligosakaritler (FOS) , kısa zincirli fruktooligosakaritler (scFOS) , GroBiotic® -A (GBA) ve daha az bir ölçüde, galaktooligosakaritler (GOS), xylooligosakaritler (XOS) arabinoxyloligosaccharides (AXOS) ve isomaltooligosaccharides (IMO) olarak isimlendirilmektedir.

1.3.1. İnülin

Diyetlerde inülinin dekstrin ile muamelesinde mikrobiyal popülasyonun indirgenmesiyle birlikte mikrobiyal habitatda da değişiklikler gözlemlenmiştir. Bifidobakterler ve laktobasiller probiyotik bakterilerdir ve bu bakterilerin mide bağırsak sisteminde aktivitelerini arttırması sonucunda, bağırsak florasında bulunan ve herbiri patojen olan, Clostridiumların, Fusobacterilerin, Bakteroidlerin ve bu bakterilere benzer diğer

patojenlerin aktivitelerinin azaldığı ve inulinin bu süreçte dolaylı bir etkisinin söz konusu olduğu çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. Ayrıca inulinin Enterobakterler, *C. maltaromaticum*, *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. gibi mikroorganizmaların popülasyonlarında önemli miktarda azalmalar meydana getirdiği öngörülmektedir. Ancak, inulinin fermente yeteneği yalnızca *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. suşlarıyla sınırlı değildir. Mikrobiyotaya içerisindeki *Carnobacterium*lar da da kantitatif değişimler görüldüğü belirlenmiştir. İnülin doğal olarak bitkisel kökenli kaynaklardan izole edilmekte, örneğin soğan, pırasa, yenilebilir tahıllar, enginar, kuşkonmaz meyve ve buğday ile sarımsak ve muzda da bulunmaktadır (Roberfroid, 1993). İnülin su ürünleri yetiştiriciliğinde yararlı bağırsak bakterilerini aktive ederek konağa ulaşan patojenleri bastırabilmekte, yem içeriklerine özgü doğal bir lif olmasa da bağışıklık yanıtını çoğaltan bir özelliğine sahip olabilmektedir (Ringø, 2010a).

Yapılan bir araştırmada beyaz balina (*Huso huso*) diyetlerine konulan inulinin % 1, 2 ve 3 lük oranlarında balığın (WG), spesifik büyüme oranı (SGR), protein etkinlik oranı (PER) ve enerji tutma (ER) seviyesi de dahil olmak üzere yemden yararlanma (FE) ve protein tutma (PR) gibi bazı performans endeksleri arasında negatif ilişki olduğu ortaya konmuştur. Ayrıca inülinle katkılı diyetle balıklarda büyüme parametreleri kontrol grubuna göre daha düşük olmuştur (Akrami ve ark., 2013). Çalışma sonucunda tedavi gruplarındaki bazı büyüme parametrelerinin eksilmesi, balığın fizyolojik durumu veya deneysel çalışmanın bu sonuçlara etkisi olduğu düşünülse de araştırma sonucunda diyetlerde inülin katkısının olumlu olmadığı sonucu ortaya konulmuştur.

Dağ göllerinde ve kıyı sularında yaşayan bir alabalık türü olan *Salvelinus alpinus* (ortalama 218 g)'un kullanıldığı dört haftalık bir çalışmada yem içeriğine 150 g/kg inulin eklenmiş ve besleme sonucunda bağırsaklarda hasar meydana geldiği ve ince bağırsak hücrelerinde inulinin hasar verici etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmalar sonucunda bu olumsuz etkinin bağırsaktaki katmanlı yapıların ve büyük vakuollerin akümüasyonu ile ilişkili olabileceği tahmin edilse de kesin bir sonuca ulaşılamamıştır (Olsen ve ark., 2001).

Balıkların bağırsaklarından izole edilen *C. maltaromaticum*, *Carnobacterium mobil* ve *Carnobacterium* spp. gibi laktik asit bakterileri ile inulinin fermantasyonu hakkında mevcut olan bilgiler önemlidir (Ringo, 2004). Bu bulgulara dayanarak, % 15 inülin eklenerek beslenen alabalıkların (*Salvelinus alpinus*) bağırsak içeriğinde aerobik ve fakatif aerobik mikrobiyotadaki gözle görülür etkinin kantitatif kanıtı 16S rRNA identifikasyonu ve elektron mikroskobu ile ortaya konulmuştur (Ringo ve ark., 2006). Araştırmacılar inülin

katkılı diet kullanılan alabalıklarda (*Salvelinus alpinus*), inülinin bağırsak kolonizasyonunu uyardığını bildirmişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda, inülin eklenmiş yem ile beslenen balıkların kalın bağırsağında kolonize haline gelmiş bakterilerden, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium* ve *Bacillus*'un gram-pozitif türlerinin daha fazla baskın olduğu gözlemlenmiştir (Ringø ve ark., 2006).

Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) ile İbrahim ve ark. (2010)'nın yaptıkları çalışmada, balıklar besin içeriklerine 5 g/kg miktarında inulin eklenmiş yemlerle 8 hafta süreyle beslenmişler ve çalışma sonucunda inulinin eklendiği yemlerle beslenen grubun kontrol grubuna göre daha iyi bir büyüme performansı gösterdiği ortaya konulmuştur. Bunun dışında besin içeriğine eklenen inülinin, lizozim aktivitesini geliştirdiği de elde edilen sonuçlar arasında göze çarpmaktadır.

Bir başka çalışmada, ortalama ağırlıkları 172 g olan ve deniz suyunda yetiştirilen Atlantik somon (*Salmo salar*) balıkları, içeriğinde soya küspesi, balık unu ve 75 g/kg inulin bulunan katkı yemlerle beslenmiş ve denemeler sonucunda inülinin, balığın sindirim parametresi ve bağırsak florası üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda bu seviyedeki inulin miktarının son bağırsakta hasar oluşturmadığını ve bağırsak villuslarının artışı stimüle ettiğini ancak mide bağırsak sisteminin besin hidrolitiğini ve emme yapısını değiştirmediğini bildirmişlerdir (Refstie ve ark., 2006).

Refstie ve arkadaşlarının (2006) yaptıkları denemelerde, oksitetrasiklin (% 0.3) ve inülin (% 7.5) katkıli diyetlerle Atlantik somon balıklarını 3 hafta süreyle besleyerek deneme grupları oluşturmuşlardır. Deneme sonucunda kan plazmasında glikoz ve kolesterol konsantrasyonunda bir değişiklik olmadığı, dolayısıyla oksitetrasiklinin diyet takviyesinin negatif bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca inülin katkıli diyetle beslenen balıkta karaciğer ve mide ağırlıklarının toplam vücut ağırlığına oranında da bir değişiklik belirtilmemiştir. Aminoasit emiliminin de inülin takviyesiyle etkilenmediği analiz sonuçlarında açık bir şekilde belgelenmiştir.

Refstie ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmaya benzer diğer bir deneysel tasarım da Bakke-McKellep ve ark. (2007) tarafından yapılmıştır. Denemeler sonucunda elde edilen verilerin bir önceki çalışmayla benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Hindiba köklerinin sıcak su ile ekstraksiyonuyla inülinin enzimatik hidrolizi üretilen oligofruktose ve fructooligosaccharidin (FOS) kg başına 20 g katkısıyla beslenen kalkan larvalarıyla yapılan başka bir çalışmada da larvalarda büyüme gözlemlendiği ancak inülinin tek başına büyümede hiçbir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Mahious ve ark., 2006).

1.3.2. Mannanligosakkarit (MOS)

Maya hücre duvarının üst katmanlarında bakteriler için özgün yapışma yüzeyi bulunan mannan şekerleri, karbonhidrat bileşiklerinden biridir. Bu şekerler özellikle hayvan metabolizmasında; toksik metabolitlerin zararlı etkilerini indirmek, bağışıklık sistemini olumlu anlamda düzenlemek, ve patojenik mikroorganizmaları nötr hale getirmek (Newman, 1994) gibi olumlu etkilere sahip gıda bileşenleridir.

Genç ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada değişik oranlardaki mannanligosakkaritin (MOS) hibrit tilapyalarda (*O. niloticus* × *O. aureus*) vücut kompozisyonu, büyüme, barsak ve karaciğer histolojisine etkileri incelenmiş, bazal yeme (ticari alabalık yemi) ‰ 1.5; ‰ 3.0 ve ‰ 4.5 oranında MOS eklenmesi yaparak araştırmalarını gerçekleştirmişlerdir. Denemelerinin sonucunda, spesifik büyüme oranı, canlı ağırlık kazancı, protein etkinlik oranı ve yem çevirim oranı gibi büyüme parametreleri ve hepatosomatik ve viserosomatik indeks değerlerinde çalışılan gruplar arasında önemli farklılık ($P>0.05$) olmadığı bildirilmiştir. Bunun yanısıra bazal yeme eklenen MOS'un artışı seviyesinde, protein ve kuru madde içeriğinin de artış gösterdiği araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur. ($P<0.05$).

MOS eklenmiş yemlerle yapılan başka bir çalışmada da araştırmacılar, (‰ 0, ‰ 2.5, ‰ 3.5, ve ‰ 4.5) *Oreochromis niloticus*'u belirlenen yem içerikleriyle altmış gün süreyle beslemişler, denemeler sonucunda ‰ 3.5 MOS katkılı yemle beslenen balıkların protein etkinlik oranı, büyüme ve yem dönüşüm oranı ile besin madde bileşenlerinin olumlu etkilendiği bildirilmiştir. Bunun dışında MOS katkılı tüm gruplarda antioksidan enzimlerin oluşumu açısından olumlu bir istatistiksel fark belirlenmiştir. ($P<0.05$) (Özlüer-Hunt ve ark., 2011).

Torrecillas ve ark. (2011)'nin mannanligosakkarit ilaveli yemlerle deniz levreğinde (*Dicentrarchus labrax*) yapmış oldukları bir başka çalışmada da, balıkların altmış günlük besleme periyodunda büyüme parametrelerinde herhangi bir değişiklik belirlenmediği, ancak besin madde bileşenlerinden olan lipid oranında ise istatistiksel olarak düşük oranda da olsa beslenmeyenlere göre belirli bir farklılık gözlemlenmiştir ($P<0.05$).

Ticari olarak tarım koşullarında yetiştirilen yavru (başlangıç ağırlığı ~ 38 g) ve ergin (başlangıç ağırlığı ~ 112 g) gökkuşaağı alabalıklarında yapılan başka bir araştırma da da, MOS in bağırsak mikrobiyotasına ve balığın histolojisinde net bir etki gösterdiği ortaya konulmuştur (Dimitroglou ve ark., 2009). Diyete eklenen % 0.2 oranında MOS ilavesinin

mide-bağırsak sistemindeki aerobik özellikteki bakteri yükünü azalttığı denemeler sonucunda ortaya çıkarılmış, bunun yanında mikrobiyota miktarının da göreceli bir şekilde arttığı görülmüştür. MOS ile beslenen yavru balık grubunda, gram pozitif tanımlanmamış basiller, *Micrococcus* spp. ve *Aeromonas / Vibrio* spp. miktarlarında da önemli bir azalma gözlemlenmiş, bu değişimlere enterokok miktarlarındaki göreceli artışlar da eklenmiştir. Çalışmada sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, MOS ile beslenen ergin alabalıklarda *Micrococcus* spp. ve *Enterobacteriaceae* de önemli bir azalma, *Pseudomonas* spp. de ise önemli artış olduğu bildirilmiştir. PCR- DGGE kullanılarak yapılan analiz sonuçlarında da MOS takviyeli diyetlerle beslenen genç ve ergin grupta bakteri türlerinin indirgenmiş olduğu görülmüştür.

Staykov ve ark. (2007)'nin ağ kafeslerde ve tatlı su kanallarında yetiştirilen Gökkuşluğu alabalıkları üzerinde yaptıkları araştırmada, mannanoligosakkarit (MOS) in balığın büyüme ve bağışıklık parametreleri üzerindeki etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Kontrol grubu balıklarla karşılaştırıldığında diyete eklenen % 2'lik MOS takviyesinin vücut ağırlığını arttırdığı, ayrıca hem ağ kafes hem de kanallarda yetiştirilen balıklarda ölüm oranını azalttığını ortaya koymuştur. Sonuçta diyetlere eklenen MOS in kontrol grubuna göre bağışıklık parametrelerinde önemli gelişmeler sağladığı görülmüştür. Ancak gözlenen bu faydalı değişikliklerde ağ kafes ile su kanallarında yetiştirilen alabalıklar arasında farklılıklar olduğu da bildirilmiştir. Ayrıca ağ kafeste yetiştirilen alabalıkta serum antikor titresi, bakterisidal aktivite ve lizozim aktivitesinin de önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir.

Başka bir gökkuşluğu alabalığı ile Yılmaz ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, MOS in büyüme performansı ve vücut kompozisyonu üzerine (% 1.5, % 3.0 ve % 4.5) etkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda MOS in diyet içeriğinde en düşük (% 1.5) kullanılan dozunda bile artan bir büyüme performansı olduğu görülmüş, karkas protein içeriğinin ise MOS takviyesi ile birlikte arttığı gözlemlenmiştir. Ancak, FCR, PER ve hepatosomatik indeksi (SBE) etkilenmemiştir.

Gökkuşluğu alabalığı yavru üzerinde yapılan diğer in vivo çalışmada (Rodriguez-Estrada ve ark., 2009) ise, 12 hafta boyunca % 0.4 MOS beslenen balıkta büyüme, haemolitik ve fagositik aktivite ve mukoza ağırlığının arttığı ve özellikle *V. (L.) anguillarum* ile enfekte edildiğinde yaşama oranında önemli bir ölçüde artış görüldüğü bildirilmiştir.

1.3.3. Fruktooligosakkarit (FOS)

FOS karasal hayvanlarda ve İnsanlarda araştırmaları yapılan ve sindirim sağlığı için yaygın olarak kullanılan prebiyotiklerden biridir ve tüm sindirilemeyen oligosakkaritleri (NDO) içeren ve glukoz ve fruktoz ve glukoz birimlerinden oluşan genel bir terimdir (Swanson ve ark., 2002). Kısa ve orta zincirlerin β -Dfruktanları olan FOS, terminal glikoz ünitesine bağlı. β -(2-1) glikosidik bağları ile kaplanmış fruktozil birimlerdir. Buğday, muz, soğan ve sarımsakda daha yoğun olmak üzere biręok sebze, meyve ve tahıllarda bulunan Fruktooligosakkarit'ler, inülinin hidrolizi ile endoinülinaz enzimi tarafından elde edilir. Fruktoziltransferazların meydana getirildiği *Aspergillus* sp. ve *Aureobasidium* sp. gibi bakterilerle birlikte sükrozdan FOS'lar üretilmektedir. Ayrıca fruktoziltransferazlar tarafından sükrozdaki fruktoza 1-3 adet miktarında fruktoz transfer edilerek FOS sentezi geręekleřtirilir (Yun, 1996).

Beyaz karides (*Litopenaeus vannamei*, 75.40 ± 0.80 g)'ler üzerinde Li ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, sekiz hafta süreyle FOS ilaveli yemlerle (0.40; 0.80; 1.20 ve 1.60 g/kg) beslenen canlılarda, FOS uygulaması yapılan yemin çalışma sonucunda yaşama oranı, ağırlık artışı veya yem donüşüm oranı üzerinde bir değişikliğe sebep olmadığını sadece bağırsak florasının etkilendiğini ortaya koymuşlardır

Akrami ve ark. (2013)'nın Mersin balığı (*Acipenser stellatus*) yavruları üzerinde yaptığı bir çalışmada da, FOS eklenmiş (% 1 ve % 2) yemlerin onbir hafta boyunca yavrulara verildiği ve denemeler sonucunda da, spesifik büyüme oranı (SBO), ağırlık kazancı, protein etkinlik oranı (PEO) ve yem evirim oranı (YCO)'nın % 1 FOS ilaveli yemle beslenen grupta daha yüksek bir performansta olduğu gözlemlenmiştir.

Atlantik salmon balıklarında yapılan bir araştırmada da balık unu temelli diyetlere mannanoligosakkarit, Fruktoligosakarit ve galactooligosaccharide prebiyotiklerinden 1 kg'ya 10 g prebiyotik eklenmiş ve balıkların büyüme ve sindirilebilirlik performanslarına bakılmıştır. Araştırma sonucunda balıkların gelişimlerinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Grisdale-Helland ve ark., 2008).

1.3.4. Kısa Zincirli Fruktooligosakkarit (scFOS)

Sıcakkanlı hayvan türlerinin beslenmesinde, diyet içeriklerine Kısa Zincirli Fruktooligosakkarit ilave edilmesi durumunda, diyet kullanımının sindirim sistemleri boyunca, hastalıklara duyarlılık ve büyüme üzerinde olumlu etkilere sebebiyet verdiği belirlenmiştir.(Respondek ve ark., 2008).

Hui-Yuan ve ark. (2007) tarafından hibrit tilapyaları (5.60 ± 0.02 g) üzerinde yapılan bir çalışmada, yemlerine sekiz hafta süreyle 0.80 ve 1.20 g/kg scFOS ilave edilmiş içeriklerle beslenen balıklarda çalışma sonucunda, büyüme oranının scFOS seviyesine paralel olarak artış gösterdiği, yem alımı ve yem değerlendirme oranında istatistiki olarak bir artış gözlemlendiği ($P < 0.05$), hepato somatik indeksin ise düşüştü olduğu, kondisyon faktörü ve hayatta kalma oranının istatistiksel olarak bir değişme göstermediği ortaya konulmuştur ($P > 0.05$).

Zhou ve ark. (2007)'nin Pasifik beyaz karidesi (*Litopenaeus vannamei*) (ortalama ağırlıkları 0.17 g) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farklı derişimlerde yem içerisinde kullanılan scFOS'in (% 0.04 - % 0.16 İnulin + FOS) yem dönüştürme oranı ve spesifik büyüme oranını geliştirdiği gözlemlenmiştir. Çalışmada hayatta kalma oranı (% 42-61) düşüktür ancak araştırılan diğer oranlarda gelişme performansı gözle görülür bir değişim göstermiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise gökkuşuğu alabalıkları (*Onchorhynchus mykiss*)'nin yemlerine 49 gün boyunca inülin ve FOS ilave edilmiş (5 ve 10 g/kg) ve bu şekilde beslenen balıklarda büyüme, gelişme ve yem dönüşüm oranının daha iyi bir performans oluşturduğu bildirilmiştir. Bunun dışında FOS ve inulin eklenmiş yemle beslenen balıklarda fileto ve kalsiyum miktarında da artış görüldüğü denemeler sonucunda ortaya konmuştur ($P < 0.05$) (Ortiz ve ark., 2013).

Frukto-oligosakkaritler üzerinde yapılan araştırmalardan biri Grisdale-Helland ve arkadaşları (2008) tarafından alabalıklarda yapılan bir çalışmadır. Bu çalışmada araştırmacılar Atlantik somonların diyetlerine % 1 FOS ilave ederek 16 hafta boyunca beslemişler ve büyümenin etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırma sonucunda FOS katkılı diyetle beslenen Atlantik somonlarda kontrol grubuna oranla yemden yararlanmada önemli oranda bir iyileşme gözlemlenmiştir. Ancak, nihai vücut ağırlığı ve karkas analizlerinde belirgin bir artış görülmemiştir.

1.3.5. Gro Biotic-A

GroBiotik-A, otolize bira mayası, kurutulmuş fermantasyon ürünleri ve süt madde bileşenlerinden oluşturulmuş ticari bir ürün karışımıdır. Bu ürünün diğer kaynaklardan elde edilen β -glukanlarda olduğu gibi balık immünolojik yanıtlarının stimüle edilmesine neden olduğu araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur (Dalmo ve Bøgwald, 2008).

Li ve Gatlin (2004) tarafından melez çizgili levreklerde (*Morone chrysops* \times *Morone saxatilis*) yapılan bir çalışmada, otolize bira mayası glukan, oligonükleotid levamisole ve mayaya dayalı prebiyotik karışımı (Grobiotics TM-A)'nın hastalıklara karşı dayanıklılığını ve bağışıklık sistemini olumlu yönde aktive eden farklı katkı maddeleri olduğunu araştırmalarla değerlendirmişlerdir. Çalışmada diyetle eklenen % 2.0 oranındaki Grobiotics TM-A ilavesinin *Streptococcus inae* ve *Mycobacterium marinum* gibi patojen bakterilere dayanıklılığı arttırdığını, yem değerlendirme performansını da önemli ölçüde etkilediğini gözlemlemişlerdir.

Burr ve ark. (2010)'nın da ortalama ağırlıkları 200 g olan Hibrit çizgili levrek (*M. chrysops* \times *M. saxatilis*) balıkları ile yapmış oldukları çalışmada ise, GroBiotic-A'nın 10 g/kg miktarında eklenmiş olduğu yemlerle sekiz hafta boyunca beslenen balıklarda, yem dönüşüm oranı bazal yemle beslenen gruba göre bir değişim göstermemiş ancak balığın vücudundaki protein yüzdesinde istatistiksel olarak bir artış olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0.05$).

Li ve ark. (2004), ticari prebiyotik (Grobiotic®-AE) ve bira mayasının birlikte kullanıldığı bir çalışmada 7 hafta boyunca hibrit çizgili levrek balıklarına % 1 ve % 2 oranında muamele diyetlerden verilmiş, 7 haftalık besleme süresi sonunda ticari prebiyotikle beslenmiş olan gruplarda yüzde ağırlık kazancının diğer gruplara göre daha yüksek değerlerde (% 1 grubunda % 420, % 2 grubunda % 405) olduğunu fakat sadece yemden yararlanma oranının önemli derecede (her iki grupta da 1.0) değişiklik gösterdiğini bildirerek hayatta kalma oranının yüksek çıktığını (% 1 grubunda % 95.4 ve % 2 grubunda % 96.9) fakat istatistiki olarak önemli bulunmadığını ifade etmişlerdir.

Sealey ve ark. (2007)'nin gökkuşağı alabalıkları üzerinde yaptıkları bir çalışmada GroBiotic-A'nın etkisi araştırılmış ve yavru balıklar 9 hafta boyunca % 2 Grobiotik-A içeren diyetlerle beslenmiştir. Denemeler sonucunda büyüme performansı, TNF- α mRNA ekspresyon seviyesi etkilenmemiş, ancak (IHNV) hematopoetik nekroz virüsüne karşı

yaşama oranının ve vücut enerji içeriğinin prebiotikle beslenen balıklarda anlamlı bir şekilde artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

Z. L. Zheng (2011) ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışma Grobiotic-A'nın diyet içerisindeki kademeli seviyelerindeki etkilerini belirlemek ve *Aeromonas hydrophila* ile enfekte Nil tilapularında bağışıklık tepkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada bir negatif kontrol (% 29 ham protein) ve pozitif kontrol (% 33 ham protein) diyet içerikleri kullanılmış ve balıklar *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilmişlerdir. Deneme sonucunda % 29 ham protein içerikli Grobiotic-A katkılı diyetle beslenen balıklarda mortalitede önemli azalmalar kaydedilmiş, en iyi yaşama oranı ise % 1.2 Grobiotic-A içerikli yemle beslenen grupta olmuştur.

1.3.6. Galaktooligosakkarit (GOS)

Bitki kaynaklarından (soya fasülyesi, baklagiller vb.) ekstrakte edilerek elde edilen galaktooligosakkaritler glukoz ve galaktoz moleküllerinden oluşan laktozun enzimatik dönüşümüyle elde edilir (Bouhnik ve ark., 1997) Grisdale-Helland ve ark. (2008) tarafından Atlantik salmon (*Salmo salar*) balıkları (200 ± 0.60 g) ile yapılan 120 günlük bir çalışmada bilinen deneysel protokolleri kullanarak 16 hafta boyunca katkılı yemlerle alabalıkları beslemişler ve kontrol gruplarına göre büyüme parametrelerinin etkilendiklerini gözlemlenmişlerdir. Bir başka çalışma da Kızılgöz (*Rutilus rutilus*) (1.36 ± 0.03 g) balıkları ile yapılmış ve % 1 ve % 2 GOS katkılı diyetlerle 49 gün süresince beslenen balıklarda kontrol grubuna göre önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Denemeler sonucunda % 2 GOS katkılı diyetle beslenen balıkların kontrol grubuna göre kondisyon faktörü, ağırlık kazancı, yem çevirim oranı, spesifik büyüme oranı ve yaşama oranının daha iyi olduğu ve ayrıca balığın dokusunda protein ve lipit düzeyinin olumlu yönde yükseldiği belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Hoseinefar ve ark., 2013).

1.3.7. Ksilooligosakkarit (XOS)

Ksilooligosakkaritler, gıdalarda fonksiyonel gıda bileşenleri olarak kullanılan ksiloz tabanlı oligomerlerdir ve gıdaların besinsel ve duyuşal özelliklerini olumlu yönde etkileyen özelliklere sahiptir. Ksilooligosakkaritler, meyve, sebze, süt bambu filizleri ve balda doğal olarak bulunur (Vazquez ve ark., 2000). Xu ve ark. (2009) tarafından Allogenetik sazanlar

(*Carassius auratus gibelio*) (16.80-17.60 g) ile yapılan bir çalışmada balıklar kırk beş gün boyunca 50, 100 ve 200 mg/kg XOS ilave edilmiş yarı yaş yemlerle beslenmişler ve denemeler sonucunda hayatta kalma oranları açısından hiçbir deneme grubunda performans görülmediği, ancak XOS içeren diyetle beslenen balıklarla kontrol grubu karşılaştırıldığında 100 mg/kg XOS ile beslenen balıklarda ağırlık kazancının en yüksek olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar bağırsak florasındaki değişimin XOS'un olumlu etkisinden kaynaklandığını ve bu gıda bileşeni ile büyüme ve iyi enzim aktiviteleri arasında önemli ilişki olabileceğini vurgulamışlardır.

1.3.8. Arabinooligosakkarit (AXOS)

Arabinooligosakkaritler birçok tahıl tanelerinde bulunan temel nişasta olmayan polisakkaritlerdir ve besin lifinin bir parçasıdır (Grootaert ve ark., 2007). Bunlar arabinofuranosil bağları β -(1,4) bağlantılı D-ksilopiranosil artıklarından oluşmaktadır. Bu lif parçaları memelilerin kalın bağırsağında belirleyici bağırsak bakterileri tarafından metabolize olup indirgenmişlerdir. AXOS'un hidrolize olmuş ürünlerinin etkileri sağlığa yönelik anlamda incelenmiş olmasına rağmen araştırmalarda kullanımı fazla değildir (Grootaert ve ark., 2007). Rurangwa ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada Sibirya Mersin Balığı (*Acipenser baerii*) (ortalama ağırlıkları 20 g) ve Afrika yayın balıkları (*Clarias gariepinus*) 70 gün süreyle 10 g/kg ve 20 g/kg AXOS içeren diyetlerle beslenmişler ve denemenin sonucunda balıkların büyüme performansı ve SCFA üretimi etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonuçları AXOS'un diyetlere ilavesinin her iki türün de büyüme performanslarında bir etki oluşturmadığını ancak propiyonat, asetat ve toplam SCFA üretiminde AXOS'un belirleyici bir şekilde etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır. Yayın balığı türünde bu etkinin çok daha az olduğu, bunun sebebinin arka bağırsak florasının içeriğinin iki türde birbirinden farklı olmasının sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Geraylou ve ark. (2012) da Sibirya Mersin balığı (*A. baerii*) (25.80 ± 0.90 g) ile yaptıkları bir diğer çalışmada, ticari olarak geliştirilmiş iki farklı (AXOS-32-0.30; AXOS-3-0.25) AXOS içeren diyet denemesi yapmışlar ve yem içeriklerinde balık unu yerine bu gıda bileşenlerini kullanmışlardır. Denemede balıklar 84 gün boyunca bu katkılı yemlerle beslenmiş ve çalışma sonunda AXOS-32- 0.30 yem grubuyla beslenen balıklarda büyüme performansı daha fazla olmuş ancak gruplar arasında istatistiki anlamda bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Yaşama oranları açısından bütün gruplar benzer oranlara sahiptirler. Ancak

AXOS-32-0.30 gıda bileşeniyle beslenen balıkların fagositoz aktivasyonu diğer gruplara oranla daha yüksek ve istatistiki anlamda farklı çıkmıştır (P<0.05).

1.3.9. İzomaltooligosakkarit (IMO)

İzomaltooligosakkaritler (IMO), $\alpha(1-6)$ glukozidik bağlarla bağlı glukoz monomerlerinden oluşan oligosakkaritlerdir. İzomaltooligosakkaritler nişasta sükröz ve maltöz gibi karbohidratlar kullanılarak farklı metodlarla üretilebilmektedirler ve bunların bir parçası olan izomaltoz ince bağırsakda metabolize olabilmektedir (Kaneko ve ark., 1995). Li ve ark. (2009)'nın Pasifik beyaz karidesi (*L. vannamei*) ile yirmi sekiz gün süreyle yaptıkları bir çalışmada 2 g/kg IMO gıda bileşeni eklenmiş diyetle besledikleri balıklarda immun yanıt ve bağırsak florasında belirleyici bir artış gözlenmiş ancak bunun aksi olarak beyaz nokta sendromu virüsüne karşı herhangi bir direnç gözlenmemiştir.

Tablo 1.1 de su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan prebiyotikler ve dahil edildikleri çalışmalar özetlenmiştir.

Tablo 1.1. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Prebiyotik Kullanımı (RingØ ve ark;2010 Yousefian ve Amiri 2009)

Prebiotic	Doz (g kg ⁻¹) Deneme Süresi	Tür	İlk Ağırlık (g)	Yanıt	Referans
İnulin	150;4 hafta	Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i> L.)	218	Bağırsak hücre hasarı	Wang&Wang (1997)
	75;3 hafta	Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	218	→Bağırsak hücre hasarı, ↑Bağırsak gelişimi ve mide-bağırsak kanalının bağıl yoğunluğu	Refstie ve ark. (2006)
	5 ve 10;1 hafta	Gilthead seabream(<i>Sparus aurata</i> L.)	175	Fagositozun engellenmesi, lökositlerde solunum artışı	Cerezuela ve ark.(2008)
	20;1 ay	Turbot larvae (<i>Psetta maxima</i>)	n/a	↑Büyüme hızı, Bağırsak mikrobiotasına etkiler(Bacillus ve Vibrio)	Mahious ve ark.(2006b)
MOS	10;4 ay	Atlantic salmon	200	↓Oksijen tüketimi, Tüm vücutta ↓ protein ve ↑enerji konsantrasyonu	Grisdale-Helland ve ark. (2008)
	2;4 hafta	Channel catfish (<i>Ictalurus punctatus</i>)	16.0	→Büyüme performansı, kanda veya bağırsıklıkta olumlu gelişme	Welker ve ark. (2007)
	20 ve 40;67 gün	European sea bass(<i>Dicentrarchus labrax</i>)	33.7	↑Büyüme, →yem dönüşümü, ↓Yağ vokalizasyonu, ↓ön	Torrecillas ve ark. (2007)

				böbrekte <i>Vibrio alginolyticus</i> varlığı	
	2;90 gün	Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	30.0	↑Büyüme ve yaşam oranı, ↑Antikor titresini ve lizozim aktivitesi	Staykov ve ark. (2007)
	2;8 hafta	Rainbow trout	n/a	↑ arka bağırsak bölgesinde emici yüzey ↑Mikrovilli kalınlık ve uzunluk	Dimitroglou ve ark. (2008)
	0 ve 4;12 hafta	Rainbow trout	13.2	↑Büyüme, ↑Hemolitik ve fagositik aktivite, ↑Mukus yoğunluğu, ↑ <i>Vibrio anguillarum</i> a karşı yaşama oranı	Rodrigues Estrada ve ark. (2008)
	0,2 ve 6;58 gün	Hybrid tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i> × <i>O.aureus</i>)	8.1	→Büyüme oranı, ↑Hayatta kalma, ↑Nonspesifik bağışıklık	He ve ark. (2003)
	10;4 hafta	Red drum (<i>Sciaenops ocellatus</i>)	10.9	↑Beslenme verimi, ↑parazit enfestasyonlarına dayanıklılık, ↑Nonspesifik bağışıklık	Buentello ve ark. (2010)
FOS	10;4 ay	Atlantic salmon	200	→Besin alımı, büyüme ve sindirilebilirlik	Grisdale-Helland ve ark. (2008)
	10;4 hafta	Red drum	10.9	↑Nonspesifik bağışıklık	Buentello ve ark. (2010)
	0,2 ve 6;58 gün	Hybrid tilapia	57.0	→Büyüme oranı, ↑Hayatta kalma, ↑Nonspesifik bağışıklık	He ve ark. (2003)
	20;1 ay	Turbot larvae	n/a	↑Büyüme oranı, Bağırsak mikrobiotasında olumlu gelişme (<i>Bacillus</i> ve <i>Vibrio</i>)	Mahious ve ark. (2006b)
	2,5;100 gün	Soft-shell turtle (<i>Trionyx sinensis</i>)	n/a	↑Büyüme oranı, ↑SOD aktivitesi, ↓Lizozim aktivitesi	Ji ve ark. (2004)
scFOS	0.8 ve 1.2; 8 hafta	Hybrid tilapia	5.6	↑Büyüme oranı, besin alımı, yem dönüştürme, →Hayatta kalma	Hui-Yuan ve ark. (2007)
GBA	10 ve 20;4 (Deneme1)ve7 (Deneme 2) hafta	Hybrid striped bass (<i>Morone chrysops</i> × <i>M.saxatilis</i>)	91.4 (Deneme 1) ve 19.7 (Deneme 2) 2.4	↑Beslenme etkinliği, ↑Solunumda artış, ↑ <i>Streptococcus iniae</i> ye karşı direnç	Li & Gatlin (2004)
	10;6 hafta	Red drum	2.4	→WG veya FE, →Bağırsak mikrobiotası	Burr ve ark. (2009)
	10;4 hafta	Red drum	10.9	↑Beslenme etkinliği, WG artışı, ↑parazit enfestasyonlarına dayanıklılık, ↑Nonspesifik bağışıklık	Buentello ve ark. (2010)
	20;16 hafta	Hybrid striped bass	64.5	↑Büyüme performansı, ↑ <i>Mycobacterium marinum</i> a karşı direnç	Li & Gatlin (2005)
	20;16 hafta	Golden shiner (<i>Notemigonus crysoleucas</i>)	1.06	↑ <i>Flavobacterium columnare</i> ye karşı direnç	Sink ve ark. (2007)
	20;10 hafta	Golden shiner	0.46	→Hayatta kalma, ↑ <i>Flavobacterium columnare</i> ye karşı direnç	Sink & Lochmann (2008)

	10;3 hafta	Red drum	500	↑Protein, yağ ve organik ADC değerleri,	Burr ve ark. (2008)
	10;4 hafta	Red drum	10.9	↑FE, ↑ağırlık kazanımı, ↑Amyloodinium ocellatum enfestasyonu sonrası hayatta kalma, ↑Nonspesifik bağışıklık yanıtı	Burr ve ark. (2009)
	10 ve 20;8 hafta	Hybrid striped bass	34.4	→WG veya FE	Burr ve ark. (2010)
	20;9	Rainbow trout	14.3	→WG veya FE, →antikor seviyeleri,	Sealey ve ark. (2007)
XOS	0,0.15,2.1 ve 3.2; 45 gün	Crucian carp (<i>Carassius auratus gibelio</i>)	17.0	↑Büyüme, →Hayatta kalma, ↑ Enzimatik aktivite	Xu ve ark. (2009)



2. MATERYAL ve METOT

2.1. Deneme Yeri

Çalışma, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dr. H. Okan KAMACI Yetiştiricilik Araştırma ve Uygulama Ünitesi (Urla/İzmir)'nde, Temmuz - Ekim 2013 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.1).



Şekil 2.1. E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Dr. H. Okan KAMACI Yetiştiricilik Araştırma ve Uygulama Ünitesi

2.2. Balık Materyali

Araştırmada kullanılan Sariağz balığı (*Argyrosomus regius* Asso, 1801), Ege Bölgesinde alternatif balık türleri yetiştiriciliği yapılan özel bir işletmeden temin edilmiştir (Şekil 2.2). Bu amaçla alınan ortalama ağırlıkları 2.95 ± 0.21 olan 60 adet balık, fakültede bulunan yetiştiricilik uygulama laboratuvarına getirilmiş ve adaptasyonları sağlanmak üzere, içinde havalandırma bulunan ve sürekli filtre edilmiş su girişi olan 430 lt'lik silindir konik fiberglas tanklarda 1 ay süresince adaptasyonları sağlanmıştır.

Bu süre içerisinde balıklar denemede uygulanacak olan ışık rejim alıştırmak amacıyla 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ışık periyoduna tabi tutulmuştur. Bir aylık adaptasyon döneminden sonra balıklar denemenin başlatılması amacıyla tekrar ağırlıkları ölçülerek bir tank içinde ayrı plastik kavanozlarda 11 birey olmak üzere toplam 44 adet birey 4 ayrı tanka konulmuşlardır.

Kontrol : 11 adet balık
% 2 GBA katkılı yemle beslenen: 11 adet balık
% 3 GBA katkılı yemle beslenen: 11 adet balık
% 4 GBA katkılı yemle beslenen: 11 adet balık



Şekil 2.2. Araştırmada Kullanılan Sariağız balığı (*Argyrosomus regius* Asso, 1801)

2.3. Yem Materyali

Araştırmada ticari bir firmadan (Çamlı Yem-İzmir) temin edilen, balık unu, balık yağı, soya yan ürünleri, vitamin ve mineraller karmasından oluşan % 48 ham protein, % 18 ham yağ, % 3 ham selüloz, % 10 nem, % 11 kül , % 1.5 ham selüloz ve sindirilebilir enerji değerinin ise 4450 kcal/kg olduğu, 2 mm'lik ticari ön besi levrek yemi kullanılmıştır.

Balıkların beslenmesi için oluşturulan yem içeriğinde ticari bir prebiyotik olan GroBiotik-A kullanılmıştır. GroBiotik-A kanıtlanmış pozitif etkileri ile olup tamamen doğal prebiyotik ve immün uyarıcı olan, karides, tilapia, yayın balığı, alabalık, hibrit çizgili levrek, kırmızı davul, baitfish ve diğer balık türlerinde gastrointestinal mikrobiyal içeriği değiştirip besin sindirimini arttırarak büyüme, yem verimliliği, dayanıklılık ve bağışıklık işlevlerini geliştirerek uygun beslenme olanağı sağlayan protein bazlı bir diyetdir. GroBiotik-A kötü su kalitesi, düşük tuzluluk, bakteriyel (*Streptococcus iniae*, *Mycobacterium marinum*, *Flavobacterium columnare*) ve viral (IHNV) hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli stres durumlarında pozitif anlamda etkili olduğu kanıtlanmış ticari bir diyet katkı maddesidir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Grobiotik-A'nın Besinsel Profili

Esensiyal Amino Asit	Total Değer %	Sindirilebilir Amino Asit %
Arjinin	1.74	1.39
Sistein	0.39	0.19
Histidin	0.85	0.65
İzolösin	1.53	1.10
Lösin	2.23	1.63
Lizin	2.27	1.68
Metionin	0.52	0.36
Fenilalanin	1.26	0.83
Treonin	1.59	1.05
Triptofan	0.41	0.23
Tirozin	1.15	0.74
Valin	1.83	1.21
Mineraller	Total Değer	
Kalsiyum	0.21	
Klorid	0.42	
Magnesium	0.19	
Fosfor	0.99	
Potasyum	2.70	
Sodyum	0.30	

Öğütülerek un haline getirilmiş olan yemler kontrol (prebiyotik içermeyen) ve farklı oranlarda (% 2, % 3 ve % 4) prebiyotik içeren diyetler haline getirilmiştir. Yem örnekleri etüvde kurutularak besleme süresince uygun sıcaklıkta depolanmıştır.

2.4. Enfeksiyon Materyali

V. anguillarum, deniz balıklarında ve hatta tatlı su balıklarında da vibriosis vakalarından sıklıkla izolasyonu yapılmakta ve vibriosis türleri içinde en etkili hastalık yapıcı vibrio olarak kabul edilmektedir. Bakterinin patojenitesi sahip olduğu pJM I plazmiti nedeniyledir. Etkenin identifikasyonunda gram (-), hareketli, kıvrık bir basil olduğu, besi yeri üzerinde krem renginde opak, yuvarlak ve kenarları düzgün S koloni biçiminde görüntü verir. Oksidaz, katalaz, beta-galaktozidaz, indol, ve ADH pozitif, H₂S, lizin, ornitin dihidrolaz ve üre negatiftir. % 0.5-3 tuzlu ortamlarda kolaylıkla ürer ve 0/129 10 mg vibriostatik ajana duyarlıdır (Austin, B. ve Austin, A.D., 1993).

V. anguillarum enfeksiyonunun inkübasyon süresi, virülense sıcaklık ve balıkta oluşan stres ve yaralanmalara göre değişmektedir. İnkübasyon süresinin doğal enfeksiyonlarda 2-4 gün, deneysel enfeksiyonlarda 24-48 saat arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Deneysel enfeksiyon oluşturmak için kullanılan bakteri, daha önce laboratuvara getirilen hasta balıklardan izole edilmiştir. Bakteri morfolojik ve fiziksel özellikleri incelendikten sonra API 20E ile identifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

2.5. Deneme Planı

Araştırmada her biri 450 lt olan 4 adet fiberglas deneme tankları kullanılmıştır. Deneme öncesinde dezenfekte edilen tankların her birine 150 lt su doldurulmuş ve tankların üzeri, balıkların atlamalarını önlemek için balık ağı ile örtülmüştür. Tanklarda fotoperiyot uygulanmış (12 saat karanlık:12 saat aydınlık), havalandırma hava taşları ile, filtrasyon ise protein skimmer kullanılarak yapılmıştır. Deneme süresince oksijen 6.0 ± 0.3 mg/lt, ve su sıcaklığı 25.8 ± 0.2 °C olarak belirlenmiştir.

Araştırma süresince kullanılan balıklar, mikroskopik ve parazitik yönden muayeneden geçirilerek, stok tanklarında adaptasyon amaçlı 1 ay süreyle bekletilmiş ve bazal yemle beslenmişlerdir. Adaptasyon sonrası tek tek ağırlıkları kaydedilip deneme tanklarına alınan balıklar, kontrol grubu dışında GroBiotic-A katkılı yemle beslenilmeye

başlanmışlardır. Çalışmada 3 ayrı deneme grubu ve kontrol grubu vardır. Her bir deneme grubunda spesifik ağırlığına göre özel yemlenen 11 ayrı birey bulunmaktadır. Kontrol grubu dışında kalan tüm gruplar 90 gün süreyle, farklı oranlarda Grobiotik-A ile beslenirken, kontrol grubu bu süre içinde bazal yemle beslenmiştir.

Deneme 1: % 0 Grobiotik-A içeren yem (Kontrol)

Deneme 2: % 2 Grobiotik-A içeren yem

Deneme 3: % 3 Grobiotik-A içeren yem

Deneme 4: % 4 Grobiotik-A içeren yem

Denemelerde Grobiotik-A, 100g yeme 0; 2; 3 ve 4 g olacak şekilde eklenmiştir.

Kontrol ve deneme grupları, günde 2 kez, vücut ağırlıklarının % 2'si oranında yemlenmiştir. 90 günlük beslemenin ardından intraperitoneal olarak *V. anguillarum* enjeksiyonu uygulanmıştır. Hastalık belirtilerinin tam olarak gözlemlendiği günde nekropsi yöntemiyle iç organ bakılarına yer verilmiştir.

2.6. Deneysel Enfeksiyon

+ 4 °C'de korunan *V.anguillarum* stok kültüründen alınan bakteri izolatları Triptik Soy Agar (TSA) (Oxoid) besi yerine aseptik koşullarda ekilerek 22 ± 1 °C'de 24 saat inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen koloniler Triptik Soy Broth (TSB)'a aktarılmıştır. Inkübasyondan sonra, yayma yöntemi ile bir mililitredeki canlı bakteri sayısı tespit edilmiştir (Temiz, 1994; Atlas ve ark., 1995). Deneysel enfeksiyonu oluşturmak için genel bakterilerde sayım yöntemine göre 1 ml örnek alınarak 9 ml seyreltme çözeltilisinde homojenize edilmiş ve ardışık dilüsyonlar yapılmıştır. Seyreltme çözeltilisi olarak Triptik Soy Broth (TSB) kullanılmıştır. Bakteri sayısı belirlendikten sonra kontrol grubundaki balıklar da dahil olmak üzere deneme gruplarındaki balıkların her birine intraperitoneal (i.p.) olarak 1×10^7 kob/ml *V.anguillarum* içeren süspansiyondan 100 µl enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan 24 saat önce yemleme kesilmiştir.

Enfekte edilen balıklar deneme süresince gözlenmiş, gözlenen değişiklikler günlük olarak kaydedilmiştir. Deneysel enfeksiyon sonucunda ölen veya semptom gösteren balıkların iç organlarından (böbrek, dalak, solungaç, beyin vb.) alınan örnekler ayrı ayrı aseptik koşullarda TCBS besi yerine ekim yapılmış, petri kutuları 22 ± 1 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İzole edilen tipik koloniler TSA'ya pasajlanmış ve üreyen kolonilerden O/129, hareket, oksidaz ve katalaz testi uygulanmıştır.

2.7. İstatistiksel Analizler

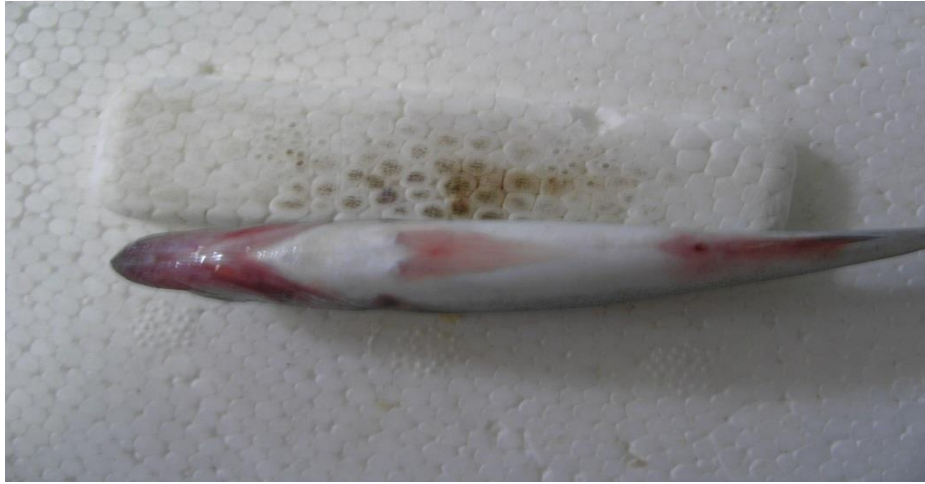
Başlangıçta tüm değişkenlere normal dağılıma uygunluk testi yapılarak parametrik test ölçütlerine uyumu değerlendirilmiştir. Tüm gruplar için deneme başlangıç ve bitiş zamanlarına ait ağırlık ortalama, standart sapma, min max değerlerle ilgili tüm data analizleri yapılmıştır. Araştırmada elde edilen veriler One-way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler, prebiyotik Grobiotik-A'nın hem birbiriyle hem de kontrol grubu ile olan ilişkisinin belirlenmesi şeklinde olmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılıklar, 0.05 önem düzeyinde Duncan testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS 18 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Enfekte Balıkların Klinik ve Otopsi Bulguları

90 günlük yemleme sonunda ortalama ağırlıkları 10.55 ± 1.67 g olan balıklara, intraperitoneal olarak *V.anguillarum* enjeksiyonu yapıldıktan sonra hastalık bulguları 24-48 saat içerisinde gözlemlenmeye başlamıştır.

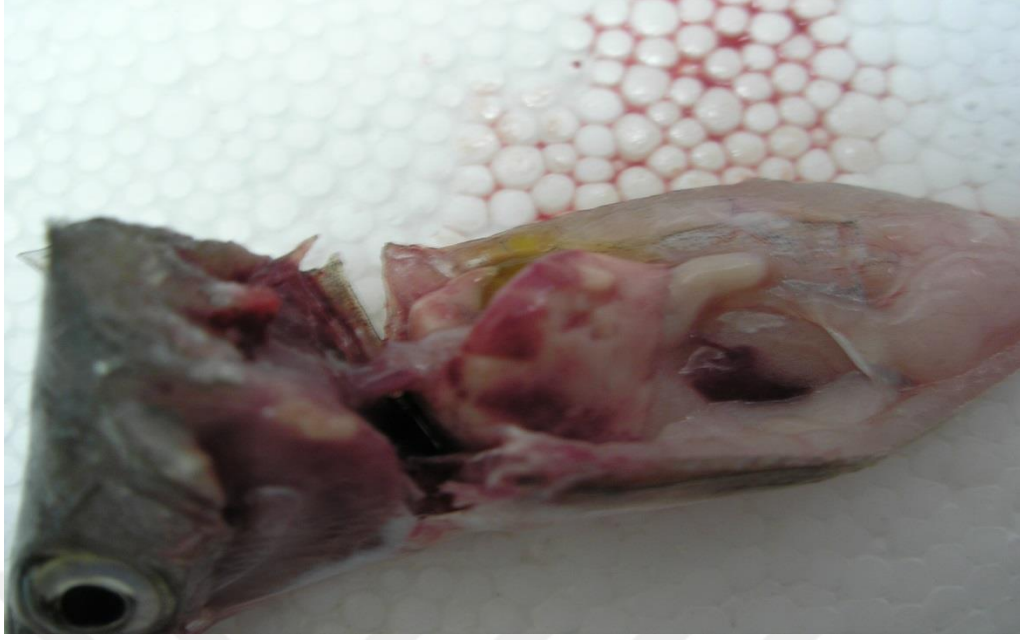
V.anguillarum ile enfekte edilen balıklarda enfeksiyonun 48 saat sonrasında balıkların dış yönden muayenesinde iştahsızlık, durgunluk, pul kaybı, solungaçlarda solgunluk, ağızda, operkulumda, deride ve özellikle anüs civarında kızarıklık görülmeye başlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneysel enfeksiyon sonucu sarıağız balığında operkulum ve anüs civarında kızarıklık

İç organların muayenesinde, hasta balıklarda, dalak, karaciğer ve böbrekte solgunluk, karaciğerde hemoraji, dalakta genişleme, ascites, bağırsakta sarımsı renkli kanlı sıvı ile mukoid kitlenin bulunduğu tespit edilmiş (Şekil 3.2, Şekil 3.3), yem almada azalma görüldüğü için de mide bağırsakta gıda maddelerinin bulunmadığı görülmüştür.

Nekropsi sonrası hastalık semptomlarını gösteren tüm gruplardan; karaciğer, böbrek ve intraperitoneal sıvıdan TCBS ve detaylı identifikasyonları yapılmak üzere TSA besiyerine reizole bakteri ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.2. Deneysel enfeksiyon sonucu karaciğerde solgunluk ve hemoraji



Şekil 3. 3. Deneysel enfeksiyon sonucu dalakta büyüme ve bağırsakta sarımsı renkte kanlı sıvı

3.2. Enfekte Balıklardan İzole Edilen *Vibrio anguillarum*'un Etken Özellikleri

V. anguillarum TSA besiyerinde üretildiğinde krem renge, parlak, kenarları düzgün S tipi koloniler verir. Gram negatif, hareketli, oksidaz, katalaz, jelatin, β -galaktosidaz ve arjinin dihidrolaz (ADH) testleri pozitif; H₂S, lizin dekarboksilaz (LDC), üreaz, metil red testleri, ornitin dekarboksilaz (ODC), ise negatiftir. *V. anguillarum*,

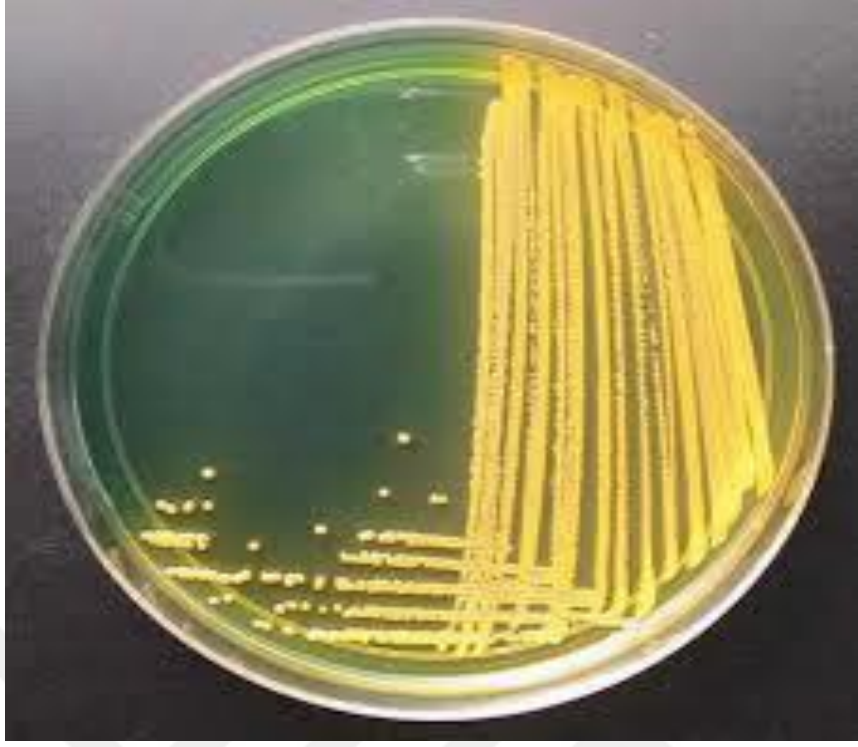
arabinoz, maltoz, mannit ve sakkarozdan asit meydana getirir ve O/129'a duyarlıdır. (Baumann ve ark., 1984; Austin, B. 1987).

Denemede kullanılan *V.anguillarum*'un koloni morfolojisi, saf kültür identifikasyonu ve gram boyama tekniğinin kullanılmasıyla (Bilgehan, 2002), hareket muayenesi, katalaz testi, lama bir damla % 3'lük H₂O₂ ile koloninin karıştırılmasıyla ve oksidaz testi, test stripine (Merck) koloninin sürülmesiyle; yapılmıştır.

Etkenin izolasyonu böbrek, dalak ve karaciğerden yapılan TSA, TCBS ve tuz ilave edilmiş genel identifikasyon vasatlarında yapılmıştır. Bu besi yerleri 22 °C de 48 saat inkübe edilmiş sonunda bakteri suşu; konveks, krem, parlak, opak kolonileri oluşturmuştur (Şekil 3.4;Şekil 3.5). *Vibrio anguillarum* % 1.5-2 tuz ilave edilmiş besi yerlerinde üreyebilmektedir.



Şekil 3.4. *Vibrio anguillarum*'un Triptik Soy Agar (TSA)'daki görünümü



Şekil 3.5. *Vibrio anguillarum*'un Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBS)'daki görünümü

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan *V. anguillarum* suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Morfolojik ve Biyokimyasal Testler	Sonuçlar
Gram Boyama	-
Hareket	+
Oksidaz	+
Katalaz	+
O/F	F
Arjinin dihidrolaz	+
β -Galoksidaz	+
Lizin dekarboksilaz	-
Ornitin dekarboksilaz	-
H ₂ S üretimi	-
Ureaz üretimi	-
Jelatin hidrolizi	+
Nişasta hidrolizi	+
İndol üretimi	+
MR	+
VP	+
O/129	+
25°C	+
37°C	+
Glukoz	+
Arabinoz	+

3.3. *Vibrio anguillarum* 'un API Yöntemiyle İdentifikasyonu

İzolasyon, hasta balıkların iç organları özellikle böbrek ve dalaktan normal ekim yöntemiyle % 1.5 NaCl ilave edilmiş Triptik Soy Agar (TSA)'a ekilmesiyle yapılmıştır. Ekim yapılan besi yerleri 22 °C'de 24-36 saat inkube edilmiştir. Primer izolasyondan sonra tipik *Vibrio anguillarum* kolonileri saflaştırmak için bir kez, Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) ağara pasaj edilmiş, 22 °C'de 24 saatlik üremeden sonra biyokimyasal testler için % 1.5 NaCl ilave edilerek TSA'ya ekilmiştir. Bakterinin tam otomatize olan API kitine inokulasyonunda saf su yerine fizyolojik tuzlu su (FTS) kullanılmıştır. Koloni FTS ile tam homojenize edildikten sonra McFarland No: 3 yoğunluğunda standardize edilmiştir. API stripleri 22 °C'de 24-36 saat süresince inkube edilip, Austin ve Austin (1999) tarafından belirtilen tabloya göre tanımlanmıştır.

3.4. Deneme Boyunca Balıklardaki Canlı Ağırlık Kazancı

Farklı oranlarda prebiyotikle beslenen sarıağız balıkları için 90 günlük besleme denemesi sonunda elde edilen toplam ağırlık kazancı Tablo 4.2 de verilmiştir.

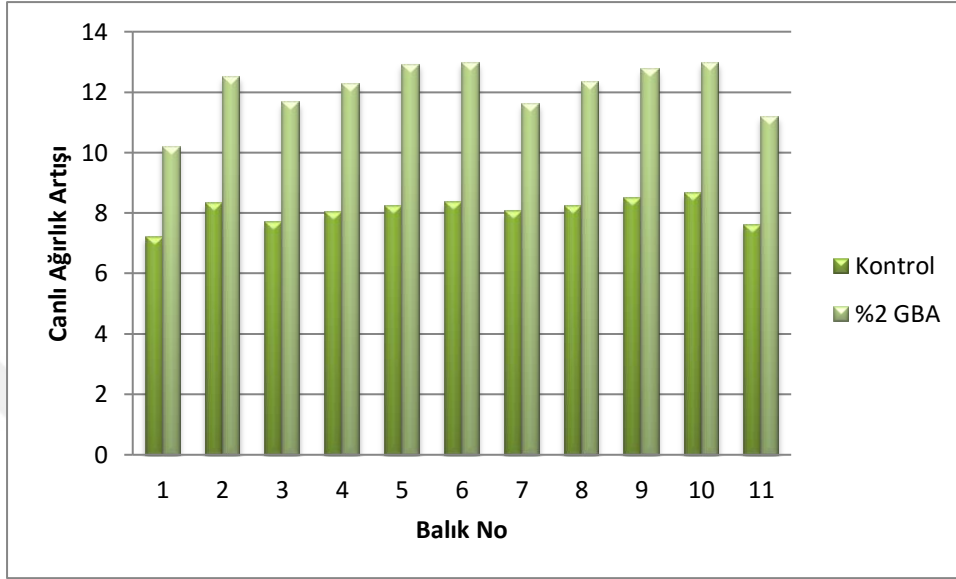
Tablo 3.2. Farklı oranlarda Grobiotik-A içeren yemlerle beslenen sarıağız balıklarına ait toplam ağırlık kazancı (P<0.05)

	Kontrol	% 2 GBA*	%3 GBA*	%4 GBA*
İlk Ağırlık(g)	2,92±0,16	2,95±0,19	2,97±0,19	2,99±0,20
Son Ağırlık(g)	8,08±0,42	12,12±0,87	11,47±0,71	10,58±0,64

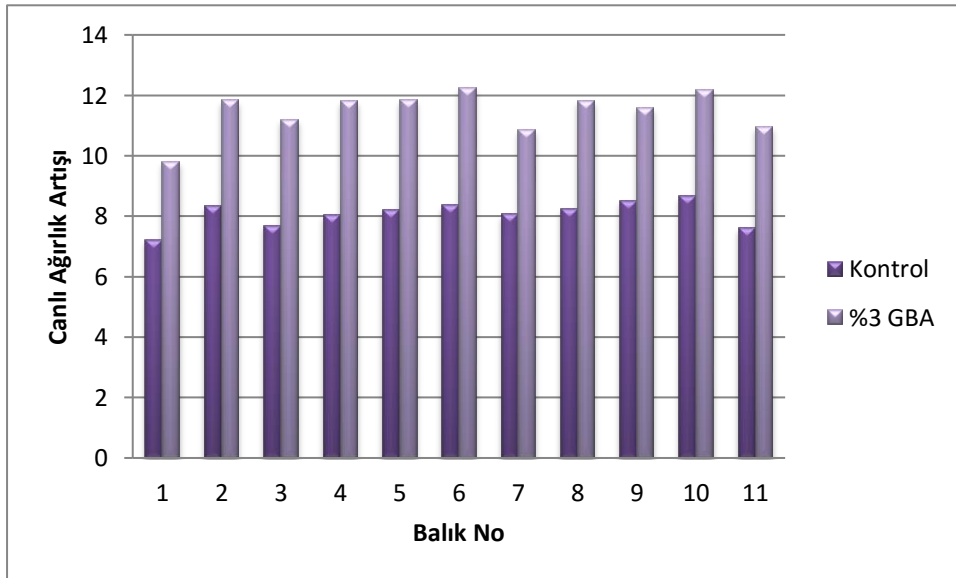
*Grobiotik-A

Tablo 3.2'de görüldüğü gibi kontrol ve muamele gruplarının tamamında besleme denemesi süresince canlı ağırlık artışı belirlenmiştir. Muamele grupları içerisinde en yüksek canlı ağırlık kazancı 12.12 g ile % 2 Grobiotik-A içeren yemle beslenmiş grupta belirlenirken söz konusu gruplar içerisinde en düşük canlı ağırlık kazancı 8.08 g ile kontrol grubunda kaydedilmiştir. Muamele grupları kontrol ile kıyaslandığında tüm gruplar arasında canlı ağırlık kazancı bakımından en iyi sonucu sırasıyla, % 2, % 3, % 4 ve kontrol grupları vermiştir. İstatiski olarak da gruplar arasında belirli bir fark olduğu bulunmuştur. Söz konusu prebiyotik uygulamasında canlı ağırlık kazancı açısından optimum seviyenin % 2 olduğu

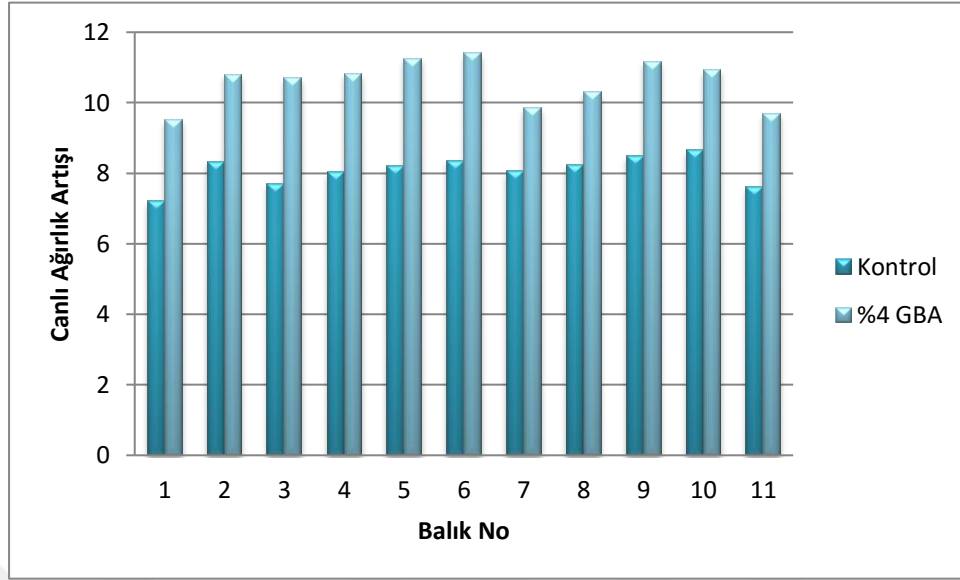
bunun daha üst seviyelerinin ise kontrole kıyasla olumlu ancak % 2 seviyesine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Kontrol grubu ile % 2 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı ağırlık artışının karşılaştırılması



Şekil 3.7. Kontrol grubu ile % 3 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı ağırlık artışının karşılaştırılması



Şekil 3.8. Kontrol grubu ile % 4 GBA içeren yemle beslenen balıkta canlı artışının karşılaştırılması

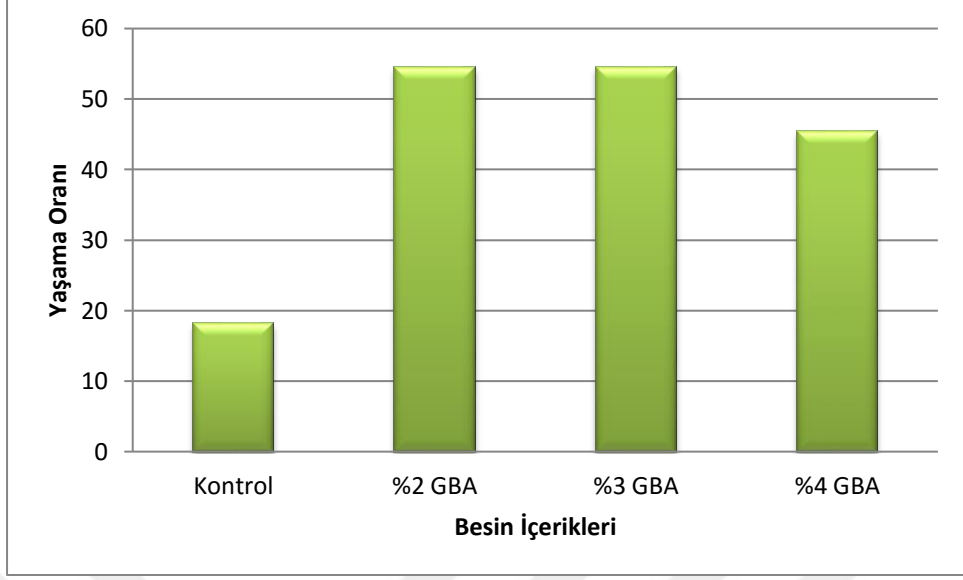
3.5. Deneme boyunca balıklardaki yaşama oranı

Deneme periyodu boyunca yaşama oranı gruplar arasında farklılıklar göstermiş, en yüksek yaşama oranı % 2 ve % 3 Grobiotik-A katkılı yemle beslenen balıklarda görülmüştür. Sonuçlarımıza paralel olarak Grobiotik-A ile yapılan bir çalışmada söz konusu prebiyotik hibrit çizgili levreklerde yaşama oranını artırdığı bildirilmiştir (Li ve Gatlin, 2004). Benzer olarak Z. L. Zheng (2011) prebiyotikle besleme yaptığı çalışmasında muamele gruplarında ölüm olmadığını kaydetmiştir.

Tablo 3.3. Farklı oranlarda (Kontrol-% 2-% 3-% 4) Grobiotik-A katkılı yem ile beslenen sarıağız balıklarında yaşama oranına ait sonuçlar ($p>0.05$)

	Kontrol	% 2 GBA*	% 3 GBA*	% 4 GBA*
Deneme Başlangıç Sayısı	11	11	11	11
Deneme Sonu Balık Sayısı	2	6	6	5
Yaşama Oranı	18.18 ± 40.45	54.54 ± 52.22	54.54 ± 52.22	45.45 ± 52.22

*Grobiotik-A



Şekil 3.9. Grobriotic-A katkılı yem ile beslenen sarıağız balıklarında yaşama oranına ait sonuçlar ($P>0.05$)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada ticari bir probiyotik olan Grobiotik-A'nın 3 farklı konsantrasyonunu (% 2, % 3, % 4) içeren yemlerle beslenen sarıağız balıklarında (*Argyrosomus regius* Asso 1801) *Vibrio anguillarum* ile enfeksiyon sonrası yaşama oranlarının araştırılması hedef alınmıştır.

Deneme süresince balıkların canlı ağırlıkları, besleme öncesi ve besleme sonrası olmak üzere toplam iki defa kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, farklı oranlarda Grobiotik-A uygulaması Sarıağız balıkları (*Argyrosomus regius* Asso 1801)'nin canlı ağırlıklarında gözle görülür bir artışa olanak sağlamıştır. Canlı ağırlık artışlarındaki oranlar prebiyotik içeriğinin artışıyla doğru orantılı değildir. Li ve ark. (2004)'nin yaptığı bir çalışmada 7 hafta boyunca hibrit çizgili levrek balıklarına % 1 ve % 2 oranında muamele diyetlerden verilmiş, 7 haftalık besleme süresi sonunda ticari prebiyotikle beslenmiş olan gruplarda yüzde ağırlık kazancının diğer gruplara göre daha yüksek değerde (% 1 grubunda % 420, % 2 grubunda % 405) olduğu görülmüştür. Araştırma bulgularımızda da yeme katılan % 2, % 3 ve % 4 oranındaki prebiyotik içeriklerinin de canlı ağırlıkta artışa neden olduğu görülmüş ancak artan oranlarda (% 3, % 4) kullanılan prebiyotik katkısının canlıda % 2 oranına göre daha az ağırlık kazandırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak da bu gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu kaydedilmiştir.

Sealey ve ark. (2007)'nin gökkuşuğu alabalıkları üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada da Grobiotik-A'nın etkisi araştırılmış ve yavru balıklar 9 hafta boyunca % 2 Grobiotik-A içeren diyetlerle beslenmiştir. Çalışmanın sonunda vücut enerji içeriğinin prebiyotikle beslenen balıklarda anlamlı bir şekilde artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum çalışmamızda elde edilen verilerle örtüşmektedir.

Çalışmada uygulanan % 2; % 3 ve % 4 oranlarındaki Grobiotik-A katkısının, etkili bir şekilde *Vibrio anguillarum*'a karşı koruyucu gücü arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca enjeksiyon sonrası hızlı bir ölüm görülmemiştir. Le ve Gatlin (2004) tarafından yapılan bir çalışmada Grobiotik-A katkılı yemle beslenen hibrit-çizgili levrek ve kırmızı tambur balıklarında hayatta kalma oranının yüksek çıktığını (% 1 grubunda % 95.4 ve % 2 grubunda % 96.9) fakat istatistiki olarak önemli bir fark bulunmadığını ifade etmişlerdir.

Denememiz sonucunda ulaşılan oranlar ise; Kontrol grubunda % 18.18 iken, % 2 GBA, % 3 GBA ve % 4 GBA katkılı yemlerde sırasıyla % 54.54; % 54.54 ve % 45.45 gibi kontrol grubuna göre yüksek sonuçlar alınmış, ancak istatistiki olarak bir fark bulunmadığı görülmüştür. Ancak daha yüksek oranlardaki (% 3 ve % 4) prebiyotik katkılı yemlerle beslenen balıklarda da yaşama oranı % 2 katkılı yemle beslenen bireylere yakın bir oranda seyretmektedir. Çalışmamızda kullanılan ticari prebiyotiğin bu oranlarla aynı miktarda olan denemesine rastlanmadığından karşılaştırma yapılamamaktadır.

Buentello ve ark. (2010) tarafından yapılan bir başka çalışmada da yine önceki çalışmaya (Li ve Gatlin, 2004) eşdeğer bir sonuç bulunmuş deneme süresince hayatta kalma oranları diğer diyetlere göre artış göstermiştir.

Staykov ve ark. (2007) tarafından hibrid tilapya ve gökkuşağı alabalıklarında yapılan bir başka araştırmada besin içeriklerine sırasıyla FOS ve MOS ilave edilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Burada önemli bir konuya dikkat çekmek gerekir ki; Grobiotik–A ticari prebiyotiği herbivor ve omnivorlara kıyasla karnivor türlerde çok daha etkili bir prebiyotiktir. Çalışmamızda kullanılan sariağız balığının (*Argyrosomus regius* Asso 1801) da karnivor bir tür olması sebebiyle, beslenmesinde kullanılan prebiyotik katkılı besin içeriğinin pozitif sonuçlar meydana getirdiği gözlemlenmektedir.

Mevcut çalışmada % 2 prebiyotik içeren diyetin gözle görülür bir şekilde hayatta kalma oranını yükselttiği araştırmalarla desteklenmiştir. Bu teori Zheng ve ark. (2011) tarafından yapılan araştırma tarafından desteklenmektedir. Desteklenen bu çalışmada Grobiotik-A nın diyet içerisindeki kademeli seviyelerindeki etkilerinin belirlenmesi ve *Aeromonas hydrophila* ile enfekte Nil tilapyelerinde bağışıklık tepkilerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Grobiotik-A ticari prebiyotiğinin besin içeriklerine eklenerek yaşama oranını arttırdığını destekleyen diğer araştırmalar, Cyprinidae familyasına ait *Golden shiner* in *Flavobacterium columnare* bakterisine karşı yaşama oranı (Sink ve ark., 2007; 2008; 2010), hibrit çizgili levreklerde *Aeromonas hydrophila* ve *Streptococcus iniae* (Li ve Gatlin 2004; 2005)'ya karşı hayatta kalma oranının artışını gösteren çalışmalardır. Besin içeriklerinde Grobiotik-A kullanılmış gökkuşağı alabalıklarının da Infectious hematopietic necrosis virüsü (IHNV) ile enfekte edildiğinde etkili bir yaşam oranına ulaştığı denemelerde kanıtlanmıştır. Mevcut çalışmamızın da bu araştırma sonuçlarıyla paralellik gösterdiği gözlenmiştir.

Prebiyotik ile ilgili çalışmaların çoğunda canlının intestinal mikrobiyota bileşimindeki farklılıkların test edilmemiş olmasından dolayı, türler içinde değişiklikler olduğu kadar türler arasında da çeşitliliklere rastlanılmaktadır (Ringo ve ark., 2010).

Dolayısıyla intestinal mikrobiyotanın belirli üyeleri belirli prebiyotiklerden yararlanmaya daha uygundur (Cummings ve ark., 2001; Sanz ve ark., 2006). Özellikle intestinal flora içerisindeki bakterilerin varlığı veya yokluğu genel sonucu etkileyecektir. (Çapak ve ark 2009; Nayak 2010). Bu farklılıklar balığın boyutu, yaşı, yaşama ortamı vb. olabilir (Li ve Gatlin 2004; 2005; Hui-Yuan ve ark., 2007; Li ve ark., 2007; Zhou ve ark., 2007). Yapılan araştırma sonuçlarında görülen değişikliklere rağmen denemeler sonrası gözlenen farklılıkların, yem içeriklerine eklenen prebiyotik takviyesi ile oluştuğu gözardı edilmemesi gereken bir olgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca çalışmamızdaki yaşama oranlarıyla diğer çalışmaları karşılaştırdığımızda bizdeki oranların daha düşük seyretmesi, yine balığın yaşama ortamı vb. olduğu kadar deneme süresinin uzunluğu ile de doğru orantılı olabileceği gözönüne alınmalıdır.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle ürün kalitesini artırarak yetiştiriciliği yapılan tür bazında sektörü geliştirmek ve gelişimi hızlandırmak için, antimikrobiyal ajanlar yerine insan ve hayvan sağlığına zarar vermeyen organik asit, probiyotik ve prebiyotik gibi alternatif materyallerin kullanımına ilgi artmıştır. Bu doğal ajanların, özellikle mide bağırsak ekosistemine zarar vermemesi hatta florayı güçlendirmesi, hayvansal ürünlerde kalıntı bırakmaması ve bu niteliklerinin yanısıra performansı artırıcı etkiye sahip olmaları gibi özelliklerinden dolayı bu doğal gıda bileşenlerinin farklı türlerde ve yetiştiricilik alanında kullanımı üzerinde önemle durulmaktadır (Parlat ve ark., 2002).

Su ürünleri kapsamında prebiyotik çalışmaları ile ilgili farklı balık türleri ve kabuklu su canlıları için yapılan araştırmalarda bu gıda bileşenlerinin her zaman önemli bir etki oluşturmadığı, ancak farklı dozlarda farklı bileşenlerin etkisinin araştırılması gerektiği, özellikle türlerin değişik yaşam süreçlerinde büyüme ve gelişmede önemli katkıları olduğu sonucuna varılmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği açısından farklı prebiyotik maddelerin önemli türlerde etki mekanizmalarının açığa çıkarılması için detaylı araştırmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir. Hem sağlıklı ürün yetiştirme hem de ürünlerin verimini arttırmaya yönelik uygulamalarda bu tür gıda bileşenlerinin kullanımlarıyla ilgili olarak daha çok deneme ve araştırmaların yapılması, biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin belirlenmesi ve verimli kullanım alanlarının oluşturulması halinde yetiştiricilik sektörüne ve insan sağlığına önemli getiriler kazandıracığı gözardı edilmemesi gerekli konular arasındadır.

KAYNAKLAR

- Akrami R, Iri Y, Khoshbavar Rostami H, Razeghi Mansour, M.** 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population ve hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1235-1239.
- Atlas, R.M., Brown, A.E., Parks L.C.,** 1995. Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, Missouri. pp.119-127.
- Austin, B., D.A. Austin,** 1987. *Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish.* Ellis Horwood Limited, Chichester, England.
- Austin, B., Austin, A.D.** 1993 *Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and Wild Fish.* 2nd. Ed. Simon and Schuster, Chichester, UK.
- Austin, B., Austin, D.A.,** 1999b. Chapter 2 -Characteristics of the diseases. *In Bacterial Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish.* 13–15pp.
- Bakke-McKellep, A. M., Penn, M. H., Salas, P. M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringo, E., Krogdahl, A.** 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial cell stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). *Br J Nutr.* 97:699–713.
- Baumann, P., Furniss, A.L., Lee, J.V.** 1984. Genus I. Vibrio. *In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, N.R. Krieg (Ed.), p. 518-538. Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
- Bilgehan, H.,** 2002. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı.* Barış Yayınları, 777, İzmir.
- Bouhnik Y, Flourie B, D'Agay-Abensour L.** 1997. Administration of transgalactooligosaccharides increases fecal bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutrition*, 127: 444-448.
- Burr G, Gatlin D.** 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish ve the potential application of prebiotics ve probiotics in finfish aquaculture, *Journal of the World Aquaculture Society*, 36: 425-436.
- Burr G, Hume M, Ricke S, Nisbet D, Gatlin III D.** 2010. In vitro and In vivo evaluation of the prebiotics GroBiotic®-A, inulin, mannanoligosaccharide and galactooligosaccharide on the digestive microbiota and performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Microb Ecol.*, 59: 187-198.
- Causey JL, Slain JL, Tangled BC, Meyer PD** 1998. Stimulation of human immune system by inulin in vitro. *Proc of Danone Conf On Probiotics and Immunity.* Germany: Bonn; 1998.

- Cerezuela R, Cuesta A, Meseguer J, Esteban MA** 2008. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata L.*) innate immune parameters. *Fish Shellfish Immunol.* 24: 663-668.
- Cooper PD** 1995. Vaccine adjuvants based on gamma inulin. *Pharm. Biotechnol.* 6: 559-580
- Cummings, J.H., Macfarlane, G.T., Englyst, H.N.,** 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 415Se420S.
- Dalmo RA, Bøgwald J.** 2008. β -glucans as conductors of immune symphonies. *Fish Shellfish Immunol.*, 25: 384-396.
- Dimitroglou A, Merrifield DL, Moate R, Davies SJ, Spring P, Sweetman J, Bradley G.** 2009. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Animal Science*, 87: 3226-3234.
- Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, Terada A, Mitsuoka T.** 1998. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int J Food Microb*, 42: 39-44.
- Ganguly S, Paul I, Mukhopadhyay SK.** 2009. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics and prebiotics in aquaculture: A Review. *The Israeli Journal of Aquaculture*, 62(3): 130-138.
- Genç MA, Yılmaz E, Genç E, Aktaş M.** 2007. Effects of dietary mannanoligosaccharide (MOS) on growth, body composition, intestine ve liver histology of the hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* \times *O. aureus*). *Isr.J. Aquaculture*, 59(1): 10-16.
- Geraylou Z, Souffreau C, Rurangwa E, D'Hondt S, Callewaert L, Courtin CM, Delcour J. A, Buyse J, Ollevier F.** 2012. Effects of arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) on juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance, immune responses and gastrointestinal microbial community, *Fish & Shellfish Immunology*, 33: 718-724.
- Gibson, G. R., Beatty, E. B., Wang, X. & Cummings, J. H.** 1995 Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108:975-982.
- Gibson GR, Roberfroid MB** 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Gibson GR** 1999. Dietary Modulation of the Human Gut Microflora Using the Prebiotics Oligofructose and Inulin. *J. Nutr.* 129: 1438- 1441
- Gibson, G.R., Robert, H.M., Van Loo, J., Rastall, R.A. & Roberfroid, M.** 2004 Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr.Res. Rev.*, 17, 259–275

- Gilmozzi.** 2001. The meagre (*Argyrosomus regius*), a new species for Mediterranean aquaculture. 1. Morphological, merchantable and nutritional traits in a commercial wide size-range. *European Aquaculture Society Special Publication*, 29: 209-210.
- Grisdale-Helland B., Helland SJ, Gatlin DM III.** 2008. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 283: 163-167.
- Grootaert C, Delcour JA, Courtin CM, Broekaert WF, Verstraete W, Van de Wiele T.** 2007. Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine, *Trends Food Sci. Technol.*, 18; 64-71.
- Hanley F, Brown H, Carbery J.** 1995. First observations on the effects of mannan oligosaccharide added to hatchery diets for warmwater hybrid red tilapia, Poster at the *11th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry*, Lexington, KY, USA.
- Holzapfel WH, Schillinger U.** 2002. Introduction top re-and probiotics. *Food Res. Int.*, 35: 109-116.
- Hoseinefar SH, Khalili M, Khoshbavar MR, Esteban ME.** 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stres resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology*, 35: 1416-1420.
- Hui-Yuan L, Zhigang Z, Rudeaux F, Respondek F.** 2007. Effects of dietary short chain fructo-oligosaccharides on intestinal microflora, mortality and growth performance of *Oreochromis aureus* (♂) x *O. niloticus* (♀). *Chinese J. Anim. Nutr.*, 19: 1-6.
- Hunt-Özlüer,A.,Özkan-Yılmaz,Çetinkaya,M.** 2015. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(10): 841-848, ISSN: 2148-127X
- Ibrahim MA, Fathi M, Mesalhy S, El-Aty A.** 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innateimmunity and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 29: 241-246.
- Kaneko T, Yokoyama A, Suzuki M.** 1995. Digestibility characteristics of isomaltooligosaccharides in comparison with several saccharides using the rat jejunum loop method. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 57: 1190-1194.
- Kelly-Quagliana KA, Buddington RK, Van Loo J, Nelson PD** 1998. Immunomodulation by oligofructose and inulin. Proc Nutritional and Health Benefits of inulin and oligofructose. Bethesda. HIH; p. 53.
- Kesarcodi-Watson A., Kaspar H., Lategan J., Gibson L.** 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture* 274 1–14. 10.1016/j.aquaculture. 2007.11.019

- Klewicki R, Klewicka E.** 2004. Antagonistic activity of lactic acid bacteria as probiotics against selected bacteria of the Enterobacteriaceae family in the presence of polyols and their galactosyl derivatives. *Biotechnol. Lett.*, 26: 317-320
- Li, P. & Gatlin, D.M. III** 2004 Dietary brewers yeast and the prebiotic GroBiotic-AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*·*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, 231, 445–456.
- Li, P. & Gatlin, D.M. III** 2005 Evaluation of the prebiotic Gro-Biotic® -A and brewer's yeast as dietary supplements for sub-adult hybrid striped bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis* challenged in situ with *Mycobacterium marinum*. *Aquaculture*, 248, 197-205.
- Li, P., Burr, G.S., Gatlin, D.M. III, Hume, M.E., Patnaik, S., Castile, F.L., Lawrence, A.L.** 2007 Dietary supplementations of short-chain fructooligosaccharides influences gastrointestinal microbiota composition and immunity characteristics of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, cultured in a recirculating system. *J. Nutr.*, 137, 2763- 2768.
- Li J, Tan B, Mai K.** 2009. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 291: 35-40.
- Mahious AS, Ollevier F** 2005. Probiotics and Prebiotics in Aquaculture. 1st Regional Workshop on Techniques for Enrichment of Live Food for Use in Larviculture-2005, AAARC, Urmia, Iran. p. 67
- Mahious, A.S., Gatesoupe, F.-J., Hervi, M., Metailler, R. & Ollevier, F.** 2006b Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquacult. Int.*, 14, 219–229.
- Manning, T.S., Gibson, G.R.** 2004. Probiotics. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol* 18, 287–298.
- Mayhew TM** 2010. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastro-intestine of fish: a review. *Aquac. Res.* 41:451-467
- Merrifield DL, Burnard D, Bradley G, Davies SJ, Baker RTM** 2009 Microbial community diversity associated with the intestinal mucosa of farmed rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Aquaculture research*. 40: 1064-1072.
- Merrifield DL, Dimitroglou A, Foey A, Davies SJ, Baker RMT, Bogwald J, Castex M, Ringo E** 2010c. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture* 302:1- 18
- Milner, J.A.** 1999. Functional foods and health promotion. *J. Nutrition* 129:1395-1397.

- Mussatto SI, Mancilha IM.** 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review, *Carbohydr. Polym.*, 68: 587-597.
- Nakagawa, H., Sato, M. & Gatlin, D.M. III (Editors)** 2007 Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish. *CABI*, Oxon UK, 244 pp
- Nayak, S.K.** 2010 Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquac. Res.*, 41, 1553- 1573.
- Newman K.** 1994. Mannan-oligosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora ve the immune system, *Biotechnology in the Feed Industry*, Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium, (Lyons TP, Jacques KA., Eds.), *Nottingham University Press*, Nottingham, UK, 167-175.
- Niness, K.R., 1999.** Inulin and oligofructose: what are they?.*American Society for Nutritional Sciences* 129: 1402S-1406S.
- Olsen RE, Myklebust R, Kryvi H, Mayhew TM, Ringø E.** 2001. Damaging effect of dietary inulin to intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquacult. Res.*, 32: 931-934.
- Ortiz LT, Rebolé A, Velasco S, Rodríguez ML, Treviño J, Tejedor JL.** 2013. Effects of inulin ve fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition ve intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Nutrition*, 19:475-482.
- Özlüer Hunt A, Berköz M, Özkan F, Yalin S, Erçen Z, Erdogan E, Gunduz SG.** 2011. Effect of mannan oligosaccharide on growth, body composition, and antioxidant enzyme activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*), *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, IIC*, 63(2): 619-627.
- Parlat SS, Yıldız AÖ, Yazgan O, Bahtiyarca Y.** 2002. Düşük protein içerikli rasyonlara prebiyotik veya antibiyotik katkısının Japon bıldırcınlarının (*Coturnix coturnix japonica*) besi performansına etkisi. *S.Ü. Ziraat Fak. Dergisi*. 16(30):38-42.
- Picchietti S, Mazzini M, Taddei AR, Renna R, Fausto AM, Mulero V, Carnevali O, Cresci A, Abelli L.** 2007. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: immunohistochemical and ultrastructural studies. *Fish & Shellfish Immunol*, 22: 57-67.
- Poli B.M., G. Parisi, M. Mecatti, P. Lupi, F. Iurzan, G. Zampacavallo and M. Tokşen,E.; Gamsız, K.; Nemli,E.** 2006. E.U. *Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* 2006 Cilt/Volume 23, Sayı/Issue (3-4): 351–352
- Quemener L.** 2002. La maigre commun (*Argyrosomus regius*) Biologie, peche, marche et potential aquacole. Editions Ifremer, Plouzane, France.
- Ramirez RF, Dixon BA.** 2003. Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from Oscars (*Astronotus ocellatus*), angel fish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*), *Aquaculture*, 227: 417-426.

- Refstie S, Bakke-McKellep AM, Penn MH, Sundby A, Shearer KD, Krogdahl Å.** 2006. Capacity for digestive hydrolysis and amino acid absorption in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with soybean meal or inulin with or without addition of antibiotics. *Aquaculture*, 261: 392-406.
- Respondek F, Goachet AG., Julliand V.** 2008. Effects of dietary short-chain fructooligosaccharides on the intestinal microflora of horses subjected to a sudden change in diet. *J. Anim. Sci.*, 86: 316-323.
- Ringø, E.** 2004 Lactic acid bacteria in fish and fish farming. In: Lactic Acid Bacteria (Salminen, S., Ouwehand, A. & von Wrigth, A. eds), pp. 581–610. *Marcel Dekker Inc*, New York.
- Ringø E, Sperstad S, Myklebust R, Mayhew TM, Olsen RE.** 2006. The effect of dietary inulin on bacteria associated with hindgut of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquacult. Res.*, 37: 891-897.
- Ringø E, Løvmo L, Kristiansen M, Bakken Y, Salinas I, Myklebust R, Olsen RE, Mayhew TM.** 2010a. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. *Aquacult. Res.*, 41:451-467.
- Roberfroid M.** 1993. Dietary fibre, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects, *CRC Crit. Rev. Food Sci. Technol.*, 33:103-148.
- Rodriguez, U., Estrada, Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H., Sweetman, J.** 2009. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydrobutyric acid on growth performance and immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Aquacult. Sci.*, 57 (2009), pp. 609–617
- Rurangwa E, Delaedt Y, Geraylou Z, Van De Wiele T, Courtin CM, Delcour JA, Ollevier F.** 2008. Dietary effect of arabinoxylan oligosaccharides on zootechnical performance and hindgut microbial fermentation in Siberian sturgeon and African catfish. *Aquaculture Europe*, Krakow, Poland, September 15–18, 569–570.
- Sanz, M.L, Côte, G.L., Gibson, G.R. & Rastall, R.A.** 2006 Influence of glycosidic linkages and molecular weight of maltose-based oligosaccharides by human gut bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9779-9784.
- Sealey, W.M., F.T. Barrows, K.A. Johansen, K. Overturf, S.E. LaPatra, R.W. Hardy.** 2007. Evaluation of the ability of partially autolyzed yeast and GroBiotic®-A to improve disease resistance in rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture* 69:400–406.
- Sink, T., R. T. Lochmann, A. E. Goodwin, and E. Marecaux.** 2007. Mortality rates in golden shiners, *Notemigonus crysoleucas*, fed diets high in fat and the prebiotiGroBiotic-A prior to challenge with *Flavobacterium columnare*. *Aquaculture America* 2007, February 26 - March 3, San Antonio, Texas.

- Sink, T.D., and R.T. Lochmann.** 2008. Preliminary observations of mortality reduction in stressed, *Flavobacterium columnare*, challenged golden shiners after treatment with a dairy-yeast prebiotic. *North American Journal of Aquaculture* 70:192–194.
- Staykov, Y., Spring, P., Denev, S. & Sweetman, J.** 2007 Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Int.*, 15, 153–161.
- Swanson KS, Grieshop CM, Flickinger EA, Bauer IL, Wolf BW, Chow J, Garle, KA, William JA, Fahey JC.** 2002. Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify bowel function and protein catabolites excreted by healthy humans. *J. Nutr.*, 132: 3042-3050.
- Tekelioğlu, N.,** 2000. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği. *Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*. Yayın No: 2, Adana.
- Temiz, A.,** 1994. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Ankara. 274s.
- Torrecillas SA, Makol MJ, Cabellero D, Montero R, Gines R, Sweetman J, Izquierdo M.** 2011. Improved feed utilization, intestinal mucus production ve immune parameters in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Aquaculture Nutrition*, 17 (2): 223-233.
- Vazquez MJ, Alonso JL, Dominguez H, Parajo JC.** 2000. Xylooligosaccharides: manufacture and applications. *Trends Food Sci. Technol.*, 11: 387-393.
- WHO (World Health Organization)** 2006 Guidelines for Drinking-water Quality [Electronic Resource]: *Incorporating First Addendum Recommendations* (third ed), vol. 1 (2006)
- Xu B, Wang Y, Li J, Li Q.** 2009. Effects of prebiotic xylooligosaccharides on growth performance and digestive activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Physiol. Biochem.*, 35: 351-357.
- Yılmaz M** 2004. Prebiyotik ve probiyotikler. *Güncel Pediatri*. 2: 142-145.
- Yılmaz, E., Genc, M.A. & Genc, E.** 2007.Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, and intestine and liver histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Isr. J. Aquacult-Bamid.*, 59, 182–188.
- Yousefian M, Amiri MS.** 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology*, 8 (25): 7313-7318.
- Yun JW.** 1996. Fructooligosaccharides-occurrence, preparation and application. *Enzyme Microb Technol*, 19:107-117.
- Zheng, Z.L., K.Y. Wang, D.M. Gatlin, III, and J.M. Ye.** 2011. Evaluation of the ability of GroBiotic®-A to enhance growth, muscle composition, immune responses, and

resistance against *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.
Journal of the World Aquaculture Society 42:549–556.

Zhou ZG, Ding Z, Huiyan LV. 2007. Effects of dietary shortchain fructooligo-saccharides on intestinal microflora, survival, and growth performance of juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. World Aquac. Soc.*, 38: 296-301.



ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamlayıp, 1985 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ ni kazandı. 1987-1992 yılları arasında eğitimine bir süre ara verdikten sonra 1994 yılında fakülteden mezun oldu.1995 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Görevliliği sınavını kazandı.2011 yılında Tunceli Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

