

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**LEVREK (*Dicentrarchus labrax*, L.) JUVENİLLERİNDE  
PROBİYOTİK KULLANIMININ GELİŞİM VE  
BÜYÜME PERFORMANSINA OLAN ETKİLERİ**

**Ahmet Arda AYDIN**

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cüneyt SUZER

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Su Ürünleri Yetiştiricilik Yüksek Lisans Programı

**Sunuş Tarihi: 10.05.2019**

**İZMİR**

**2019**



**KABUL ONAY SAYFASI**

Arda AYDIN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Levrek (*Dicentrarchus labrax*, L.) Juvenillerinde Probiyotik Kullanımının Gelişim ve Büyüme Performansına Olan Etkileri” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10.05.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**Jüri Başkanı** : Prof. Dr. Cüneyt SUZER  
**Raportör Üye** : Doç. Dr. Serpil SERDAR  
**Üye** : Prof. Dr. Deniz ÇOBAN

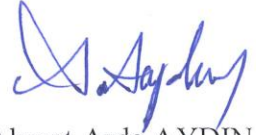
**İmza**



**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ****ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Levrek (*Dicentrarchus labrax*, L.) Juvenillerinde Probiyotik Kullanımının Gelişim ve Büyüme Performansına Olan Etkileri” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

12 / 04 / 2019



Ahmet Arda AYDIN



**ÖZET****LEVREK (*Dicentrarchus labrax*, L.) JUVENİLLERİNDE  
PROBİYOTİK KULLANIMININ GELİŞİM VE BÜYÜME  
PERFORMANSINA OLAN ETKİLERİ**

AYDIN, Ahmet Arda

Yüksek Lisans Tezi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cüneyt SUZER

Mayıs 2019, 53 sayfa

Bu çalışmada 4 farklı bakteri türü içeren probiyotik eklenmiş yemlerle beslenen levrek (*Dicentrarchus labrax*, L.) juvenillerinde gelişim ve büyüme performansları incelenmiştir. Bu kapsamda, deneme grubunda probiyotik bakteriler (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Phodopseudomonas palustris* ve *Saccharomyces cerevisiae*) pelet yeme spreyleme yöntemi ile eklenmiş (A grubu), kontrol grubunda ise herhangi bir probiyotik uygulaması yapılmamıştır (B grubu). 45 gün süren deneme süresince büyüme, spesifik büyüme oranı, yem değerlendirme oranı, yaşama oranı ile asit ve alkalın proteaz aktiviteleri incelenmiştir. Deneme sonunda, ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı ve alkalın proteaz aktivitesi açısından deneme grubu ile kontrol grubu arasında önemli farklılıklar tespit edilirken ( $p<0,05$ ) boyca büyüme, yaşama oranı ve asit proteaz aktivitesi, açısından fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak, probiyotik uygulamasının levrek juvenillerinde büyüme parametrelerinde önemli artışlara ve olumlu gelişmelere etki ettiği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Levrek, juvenil, probiyotik, büyüme performansı.



**ABSTRACT****EFFECTS OF PROBIOTIC SUPPLEMENTATION ON  
GROWTH PERFORMANCE IN SEA BASS (*Dicentrarchus  
labrax*, L.) JUVENILES**

AYDIN, Ahmet Arda

MSc in Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Cüneyt SUZER

May 2019, 53 pages

In this study, growth performances were investigated in sea bass juveniles were fed by probiotic bacteria consist of 4 different types of probiant (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Phodopseudomonas palustris* and *Saccharomyces cerevisiae*). In this sense, in experimental group, probiotic bacteria were administered by spray to the pellet food (Group A) but no probiotic were supplemented in to control group (Group B). Growth, specific growth rate, survival rate, food conversion ratio, acid and alkaline protease activity were investigated during the 45 days of experiment. At the end of experiment, significant differences were found for weight, specific growth rate and alkaline protease activity ( $p<0.05$ ), however there is no differences in terms of food conversion ratio, total length development and survival rate ( $p>0.05$ ). As a result, probiotic supplementation positively affected growth parameters in sea bass juveniles.

**Keywords:** Sea bass, juvenile, probiotic, growth performance.



## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında son yıllarda gerek insan sağlığı gerekse insan eli altında üretimi yapılan çeşitli canlıların üretiminde ön plana çıkan probiyotik bakterileri çalıştım. Bu kapsamda ülkemizde üretimi yoğun olarak yapılan levrek balıkları üzerinde bu konuyu danışmanımla birlikte çalışmaya karar verdik. Oluşturduğumuz deneme grıplarında probiyotikli ve probiyotiksiz yem kullanarak levrek balıkları üzerinde meydana gelen gelişim ve büyüme performanslarını değerlendirdik.

Deneme sonunda beklediğimiz sonuçları elde ettik. Özellikle insan sağlığı açısından da önemli bir yere sahip olan probiyotiklerin levrek juvenilleri üzerinde de önemli gelişim farklılıkları yarattığını tespit ettik. Sonuç olarak ülkemizde yoğun olarak üretimi yapılan deniz balıklarından biri olan levrek türü üzerinde bu çalışmayı yaptığımızda gerek konu ile ilgilenen bilim insanları gerekse üreticiler açısından değerli bilgiler sunacağımızı düşündük.

İZMİR

12/04/2019

Ahmet Arda AYDIN



## İÇİNDEKİLER

|                                                   | <u>Sayfa</u> |
|---------------------------------------------------|--------------|
| İÇ KAPAK...                                       | ii           |
| KABUL ONAY SAYFASI.....                           | iii          |
| ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI .....              | v            |
| ÖZET .....                                        | vii          |
| ABSTRACT .....                                    | ix           |
| ÖNSÖZ .....                                       | xi           |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                             | xv           |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                           | xvii         |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                     | xix          |
| 1. GİRİŞ .....                                    | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                           | 6            |
| 2.1. Levrek Balığının Biyolojisi .....            | 6            |
| 2.2 Levrek Larvalarının Fizyolojik Gelişimi ..... | 8            |
| 2.2.1 Prelarval Evre .....                        | 8            |
| 2.2.2 Postlarval Evre .....                       | 10           |
| 2.2.3. Sindirim Sistemi Fizyolojisi .....         | 13           |
| 2.3 Enzimler .....                                | 14           |
| 2.3.1 Enzimin tanımı.....                         | 14           |
| 2.3.2 Sindirim Enzimleri .....                    | 15           |
| 2.4 Probiyotik .....                              | 16           |
| 2.4.1 Probiyotik Bakteri Seçimi .....             | 16           |
| 2.4.2 Probiyotiklerin Etki Mekanizması .....      | 17           |
| 2.4.3 Probiyotik Olarak Kullanılan Türler .....   | 18           |
| 2.4.4 Probiyotik Uygulama Yöntemleri.....         | 20           |
| 2.4.5 Su Ürünlerinde Probiyotik Kullanımı .....   | 20           |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                        | 23           |
| 3.1 Deneme Yeri ve Deneme Planı.....              | 23           |
| 3.2 Deneme Balıkları .....                        | 24           |
| 3.3 Deneme Yemi .....                             | 24           |
| 3.3.1 Yeme Probiyotik Uygulanması.....            | 25           |
| 3.4 Büyüme Parametrelerinin Tespiti .....         | 25           |

xiv  
**İÇİNDEKİLER (devam)**

|                                       | <u>Sayfa</u> |
|---------------------------------------|--------------|
| 3.4.1 Total Boy .....                 | 25           |
| 3.4.2 Ağırlık.....                    | 25           |
| 3.4.3 SBO .....                       | 26           |
| 3.4.4 Yaşama Oranı.....               | 26           |
| 3.4.5 YDO .....                       | 26           |
| 3.5 Gastrointestinal Disseksiyon..... | 26           |
| 3.6 Enzim Analizleri .....            | 27           |
| 3.7 İstatistiksel Analiz .....        | 28           |
| 4. BULGULAR.....                      | 29           |
| 4.1 Büyüme parametreleri .....        | 29           |
| 4.2 Enzimatik Aktivite .....          | 30           |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....             | 33           |
| KAYNAKLAR DİZİNİ .....                | 42           |
| TEŞEKKÜR .....                        | 51           |
| ÖZGEÇMİŞ.....                         | 53           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil</u>                                                                                   | <u>Sayfa</u> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.1. Levrek balığının (Dicentrarchus labrax) genel görünüşü .....                              | 6            |
| 2.2. Levrek balıklarının coğrafik dağılımı .....                                               | 7            |
| 2.3. Enzimlerin genel çalışma prensibi .....                                                   | 14           |
| 3.1. Denemede kullanılan tanklar .....                                                         | 23           |
| 3.2. Denemelerde kullanılan ticari pelet yemler .....                                          | 24           |
| 3.3. Levrek balığından gastrointestinal disseksiyon için alınan bölüm .....                    | 26           |
| 3.4 Gastrointestinal sistemin izolasyonu .....                                                 | 27           |
| 4.1. Deneme süresince levrek juvenillerinde gözlenen total ağırlık gelişimi .....              | 29           |
| 4.2. Deneme süresince levrek juvenillerinde gözlenen total boy gelişimi .....                  | 30           |
| 4.3. Deneme süresince levreklerde gözlenen asit proteaz aktivitesindeki<br>değişimler .....    | 31           |
| 4.4. Deneme süresince levreklerde gözlenen alkalın proteaz aktivitesindeki<br>değişimler ..... | 32           |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Çizelge</u>                                                                           | <u>Sayfa</u> |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 11. Son 5 yılda Türkiye'deki çipura ve levrek üretimi .....                              | 1            |
| 12. Probiyotikler ile prebiyotiklerin karşılaştırması .....                              | 3            |
| 13. Akuakültürde kullanılan probiyotik bakteriler .....                                  | 4            |
| 2.1. Pankreas ve Mideden Proenzim Halinde Sentezlenen Başlıca Proteolitik Enzimler ..... | 15           |
| 2.2. Balıklarda kullanılan bazı probiyotik bakteriler .....                              | 19           |
| 3.1. Denemede kullanılan yem içerikleri .....                                            | 24           |
| 5.1. Balıklarda kullanılan probiyotikler .....                                           | 40           |



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

| <b><u>Kısaltmalar</u></b> | <b><u>Açıklama</u></b> |
|---------------------------|------------------------|
| W                         | Watt                   |
| HP                        | Ham protein            |
| HY                        | Ham yağ                |
| SBO                       | Spesifik büyüme oranı  |
| YDO                       | Yem dönüşüm oranı      |



## 1. GİRİŞ

Tarım alanlarının azalması ve daha çok barınma ve şehirleşme amacıyla kullanımı bu alanlarda tarımsal faaliyetlerin azalmasına neden olmuş, bu durum sucul kaynaklardan en üst düzeyde yararlanma zorunluluğunu gündeme getirmiştir. Bu bağlamda, akuakültür var olan su kaynaklarından teknoloji ve insan gücünün kullanımı ile besin eldesi amacını güden popüler bir endüstri kolu haline gelmiştir. Akdeniz ülkeleri ve ülkemizde denizlerde yapılan akuakültür faaliyetleri daha çok çipura (*Sparus aurata*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) üretimine yoğunlaşmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu tarafından hazırlanan 2019 yılı verilerine göre ülkemizdeki çipura üretimi 61.090 ton, levrek üretimi ise 99.971 ton olmak üzere toplam 161.061 ton dolayındadır (TÜİK, 2019). Bu üretime karşın bu türlerin dış ülkelere de ihracatı söz konusudur.

Çizelge 1.1. Son 5 yılda Türkiye’deki çipura ve levrek üretimi (TÜİK, 2019)

| YILLAR | ÇİPURA | LEVREK |
|--------|--------|--------|
| 2012   | 30,743 | 65,512 |
| 2013   | 35,701 | 67,913 |
| 2014   | 41,873 | 74,653 |
| 2015   | 51,844 | 75,164 |
| 2016   | 58,254 | 80,847 |
| 2017   | 61,090 | 99,971 |

Ancak bu üretim trendine karşın halen bu türlerin üretiminde yaşanan kimi sorunlar, artan çevresel duyarlılık, akuatik ortamların her geçen gün kirlenmesi üreticileri bu sorunların çözümünde önemli adımlar atmaya zorlamaktadır. Özellikle üretim sürecinde verilen yemlerin üretilen türler tarafından en iyi şekilde değerlendirilmesi, en az yem kaybı, en düşük yem dönüşüm oranı, en yüksek yaşama oranı, karşılaşılan hastalıklarla mücadele, erken zamanda pazar boyuna ulaştırma ve sonuçta kaliteli yavru ve porsiyonduk balık üretimi konusunda

arayışlar artarak devam etmektedir. Bu sorunların aşılmasında her geçen gün farklı teknolojik çözümler ve teknikler araştırılmakta ve üreticilerin kullanımına sunulmaktadır. Ancak son yıllarda üreticiler ve bilim insanları tarafından kamuoyunda ve halk arasında giderek popüleritesi artan probiyotik ve probiyotik ürünlerini bu sorunların aşılmasında önemli bir araç olarak akuakültür alanında da kullanılmaya başlanmıştır. Akuakültürde larval aşamadan başlayıp, pazarlama aşamasına kadar devam eden her alanda probiyotik kullanımı söz konusu olmuş ve son yıllarda bu alandaki çalışmalarda önemli gelişmeler kaydedilmiştir.

Gerek doğal koşullarda üreyip gelişen gerekse akuakültür ortamında üretilen balıkların florasında yaşayan mikroorganizmalar genellikle yararlı ve zararlı mikroorganizmalar olarak iki grup altında toplanmaktadır. Konakçı görevi gören balıklarda bu 2 grup mikroorganizma denge durumundadır ve sağlıklı bir konakçıda yararlı mikroorganizmaların yoğunluğu daha fazladır. Balıklarda özellikle bağırsak yapıda ve/veya gastrointestinal sistemde koloni oluşturan bu yararlı mikroorganizmaların başta yem sindirimi, enzim sentezi, vitamin üretimi ve zararlı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların önlenmesi olmak üzere birçok konuda balık florasına yardımcı olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, bağırsak florasını düzenleyerek, yeterli miktarlarda uygulandığında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler yapan canlı mikroorganizmalar “*Probiyotik*” olarak tanımlanmaktadır (Gatesoupe, 1999; Kuleaşan ve Çakmakçı, 2002; Yaman ve Esendal, 2004). Çoğu kez probiyotik ile prebiyotik kavramları karıştırılmaktadır. Probiyotik kısaca gastrointestinal sistemde yaşayan yararlı mikro organizmalar (Lilly and Stillwell 1965) olarak ifade edilirken prebiyotik ise bu bakterilerin sayısını, aktivitesini ve sonuç olarak etkilerini artıran sindirilmeyen karbonhidratlar olarak tanımlanmaktadır (Song et al. 2014).

Çizelge 1.2. Probiyotikler ile prebiyotiklerin karşılaştırması

| <b><i>Probiyotik</i></b>                                                        | <b><i>Prebiyotik</i></b>                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Mikroorganizma                                                                  | Karbonhidrat                                                        |
| Canlı                                                                           | Canlı değil                                                         |
| Konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkili                                          | Konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkili                              |
| Besin, besin takviyesi, ilaç olarak kullanımı vardır                            | Besin içeriğinde yer alır                                           |
| Mikrobiota üzerinde kısmen ancak diğer mekanizmalar üzerinde daha çok etkilidir | Mikrobiota üzerinde etkilidir                                       |
| Organizmanın birçok bölgesinde etki göstermektedir                              | Hedef bölge bağırsaktır ancak engelleyici etkiler de göstermektedir |

Probiyotik kullanımı antibiyotiklere bir alternatif olarak, günümüzde başta kültürü yapılan iç su ve deniz balıkları türleri olmak üzere kabuklu ve karides türlerinde hastalıkların sağaltım sürecinde yaygınlaşmıştır. Ayrıca, ortam parametrelerinin optimizasyonunda dengeleyici, yem etkinliğinin ve buna bağlı olarak sindirilebilirlik ve sindirim enzimleri aktivitesinin artırılmasında tetikleyici bir destek ürünü olarak kullanılmaktadır. Akuakültürde yaygın olarak kullanılan başlıca bakteriler *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Vibrio* sp., *Saccharomyces* sp., *Enterococcus* sp. genusunda yoğunlaşmıştır. Prebiyotikler ise canlı yem ektremiteleleri, yem hammaddeleri, etkilil maddeler ve zenginleştiricilerde yoğun olarak bulunmakta ve bu yolla balık tarafından alınmaktadır. Başlıca prebiyotikler oligosakkaritler, inulin, früktoz oligosakkaritler, lif ve lifli eklentilerdir (Song et al. 2014).

Çizelge 1.3. Akuakültürde kullanılan probiyotik bakteriler (Gatesoupe et al., 1999)

\* Mayalar \*\* Mikroalg

| <b>Gram +</b>                   | <b>Gram –</b>                  | <b>Bakteriofaj</b>                |
|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Bacillus</i> spp.            | <i>Aeromonas hydrophila</i>    | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> * |
| <i>Bacillus toyoi</i>           | <i>Aeromonas media</i>         | <i>Saccharomyces exiguous</i> *   |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> | <i>Vibrio alginolyticus</i>    | <i>Debaryomyces hansenii</i> *    |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>  | <i>Vibrio fluvialis</i>        | <i>Phaffia rhodozyma</i> *        |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i>  | <i>Vibrio proteolyticus</i>    | <i>Tetraselmis suecica</i> **     |
| <i>Lactococcus lactis</i>       | <i>Pseudomonas fluorescens</i> |                                   |
| <i>Micrococcus luteus</i>       | <i>Pseudomonas</i> spp.        |                                   |
| <i>Enterococcus faecium</i>     | <i>Roseobacter</i>             |                                   |
| <i>Weissella hellenica</i>      | <i>Alteromonas</i>             |                                   |
| <i>Carnobacterium divergens</i> | <i>Photorhodobacterium</i>     |                                   |
| <i>Carnobacterium inhibens</i>  |                                |                                   |

Balık kültüründe kullanılacak probiyotik bakterilerin seçim yöntemleri aşağıdaki aşamaları içermelidir:

- ❖ Geçmiş bilgilerin toplanması
- ❖ Probiyotik bakterinin kazanımı
- ❖ Probiyotik bakterinin patojenik türlerle mücadelesi

- ❖ Probiyotik bakterilerinin etkisinin tespiti
- ❖ Seçilen iyi bir probiyotik; ellenme, işlenme, hazırlanma ve depolama aşamalarında kayıp vermemeli ve konakçıya verildiği zaman yüksek yoğunlukta yaşamını sürdürmelidir (Reid et al., 2006).

Konakçıya verilen bir probiyotik, konakçı tarafından oluşturulan koruyucu etkiden daha fazla etki oluşturur (Balcazar et al., 2006). Temel olarak probiyotiklerin işleyiş mekanizmaları şunlardır:

- ❖ Patojen bakteriyi devre dışı bırakır.
- ❖ Sindirime enzimatik katkı sağlar.
- ❖ Su kalitesinin iyileşmesini sağlar.
- ❖ Patojen mikroorganizmalara karşı humoral ve hücrel bağışıklık yanıtını uyarır ve artırır.
- ❖ Antiviral etki gösterir.
- ❖ Mikrobiyal metabolizmanın değişimini sağlar.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Levrek Biyolojisi



Şekil 2.1. Levrek (*Dicentrarchus labrax*) genel görünüşü

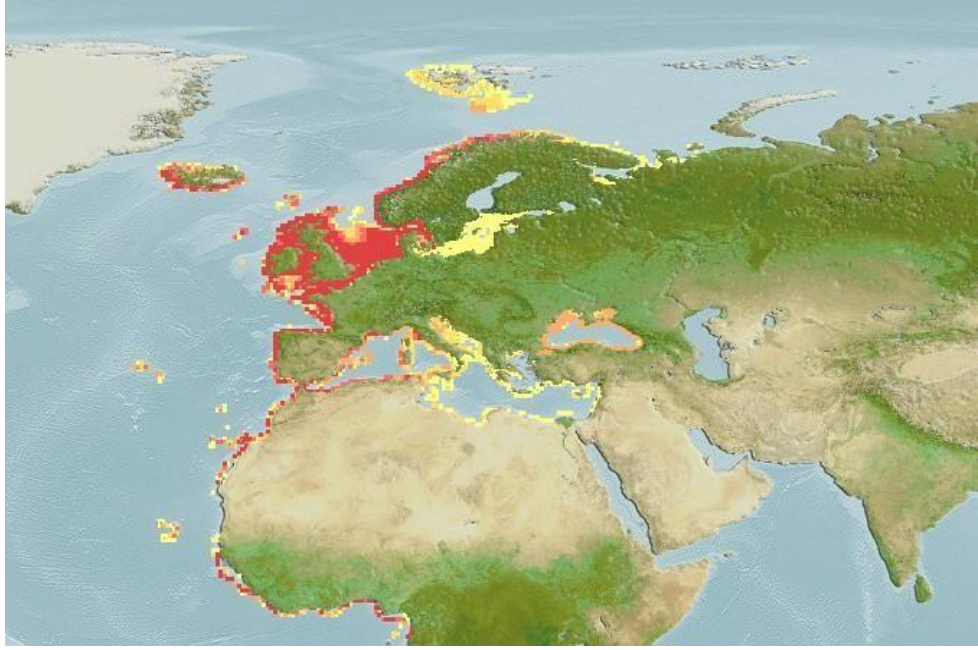
|           |                                              |
|-----------|----------------------------------------------|
| Phylum :  | Vertabrata                                   |
| Classis : | Osteichthyes                                 |
| Subordo : | Percoidei                                    |
| Familia : | Serranidae                                   |
| Genus :   | Dicentrarchus                                |
| Species : | <i>Dicentrarchus labrax</i> (Linnaeus, 1758) |

şekliyle sistematikteki yerini almıştır.

Yaklaşık 20 yıllık yaşamı olan, ortalama 50 – 60 cm. den 1 m. boy ve 10 – 12 kg. ağırlığa kadar erişebilen balık türleridir (Uçal ve Benli, 1993).

Daha çok kıyı bölgelerde yaşayan levrek, hem sıcaklığa hem de tuzluluğa karşı yüksek tolerans gösterebilen bir balıktır. Bu özelliklerinden dolayı kıyı sularında, nehir ağızlarında ve lagünlerde yaşayabilmektedirler. Karadeniz’den Atlantik kıyılarına kadar olan bölgede Kuzey Denizi’ne kadar geniş bir yaşam alanına sahiptir. Levreklerin doğal yaşam alanları Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Levrekler genellikle tek başlarına yaşamasına rağmen, bazen genç bireylerin sürü halinde hareket ettikleri görülmektedir. Deniz faneogramlarının yer aldığı kumlu-çamurlu sığ bölgelerde yaşamlarını sürdürürler. Beslenme amacıyla yaz aylarında kıyı bölgelere yaklaşırlar ve acı su, lagüner alan hatta nehir içlerine kadar ilerledikleri gözlemlenmiştir. Yaz aylarında beslenme amacıyla kıyı kesimlere

yaklaşan levreklerin, kış aylarında ise üreme amaçlı daha derin sulara göç yaptıkları saptanmıştır. (Saka ve Fırat, 2000).



Şekil 2.2. Levreklerin coğrafik dağılımı (Fishbase, 2019)

Dişi levrek bireylerinde vücut yapısı daha geniş olurken, erkekler ise fusiformdur. Levreklerde vücut iri ktenoid pullar ile kaplıyken, ense ve yanklarda ise sikloid pullar bulunur. Linea lateralde 66 ila 80 arasında pul vardır. Birinci solungacın üstünde 18-27 arasında brankiospin bulunur. Levreklerde çift dorsal bulunurken, bu yüzgeçlerin arası geniştir. Birinci dorsalın bitimine çok yakın bir bölgede ikinci dorsal başlar. İlk dorsalde X ışın bulunurken, ikinci dorsalde ise I diken ve 11 ile 13 arasında yumuşak ışın bulunur. Operkulumun üstünde gri-siyah bir leke bulunur. Ayrıca levreklerde operkulum ve preoperkulumda sert diken ışınlar mevcuttur. Levreklerin ergin bireylerinin dorsalinde lekesiz, gri-mavi koyu renklenme görülürken, gençlerde ise siyah lekelidir. Ventral bölge ise gümüş-beyaz renktedir. Gözün üstünde ise siyah lekeler vardır. (Uçal ve Benli, 1993).

Levrekler 5-28 °C arasındaki su sıcaklığında yaşarlar. Levrekler maksimum üst sınır 34 °C iken, minimum 1°C,de yaşarlar. Yumurtlar optimum döllenmeyi 12-14 °C arasında gösterir. Döllenme gerçekleştikten sonra yumurtalar 17 °C ,de 64 saatte, 15 °C ,de ise 87 saatte %100 açıldığı gözlemlenmiştir. Tuzluluk değişimine karşı oldukça yüksek tolerans gösterirler. Yüksek tuzluluğun olduğu lagünlerde de, düşük olduğu acı sularda da hayatlarına devam edebilmektedir. Tuzluluk aralığı ‰ 3’ten ‰ 50’ye kadar değişebilir. Doğal ortamlarında genç bireyler, Crangon, Gammarus ve Ligia gibi ufak karidesler ile beslenirler. Ergin bireylerin ise sardalya gibi küçük balıklar, eklembacaklılar ve kafadanbacaklılarla beslendiği, mide içerisinden alınan örneklerin araştırılması sonucu saptanmıştır. (Loy et al., 1996; Dendrinis and Thorpe, 1985; Johnson and Katavic, 1984).

## **2.2 Levrek Larvalarının Fizyolojik Gelişimi**

### **2.2.1 Prelarval evre**

Levrek larvaları, yumurtadan ilk çıktıkları anda ağız ve anüsleri kapalıdır. Larvalar aktif durumda değildir, baş aşağı dururlar ve vitellüs keselerinde bulunan enerji ile hayatlarını sürdürürler. Yumurtadan yeni çıkmış levrek larvalarının boyları 3,4-3,6 mm arasında değişim göstermektedir. Larvaların vitellüs kesesi boyu 1,1-1,3 mm uzunluğunda, yağ damlası çapı ise 0,5-0,7 mm arasındadır. Ağız ve anüs kapalı olduğundan sadece vitellüs kesesinden beslenirler. Larvanın dışarıdan besin almadığı bu döneme lecithotrophik periyot adı verilir.

Vitellüs kesesi vücudun anteriorunda yer alır. Yağ damlası ise vitellüs kesesinin içinde bulunur ve posterior konumludur. Anüs ise vücudun orta kısmında 14-15. miyomerler altında bulunur. Vitellüs kesesinin tüketiminde ve ağız ile anüsün açılmasında en önemli faktör su sıcaklığıdır (Saka ve Fırat, 2000).

Levrek larvalarında pigmentasyon ilk olarak burunda, ağız etrafında, anüsün üst kısmında besin kesesinin ön kısmında, kuyruğun ventralinde ve bağırsağın üstü boyunca yıldızimsı yapıda belirginleşmeye başlamıştır. Pektoral yüzgeçler, oluşmuş olmasına rağmen kullanılamaz durumdadır. İlk 24 saat içinde spazmatik yüzme görülür ve bu 24 saatin sonunda baş bölgesi yukarı kalkar.

Vitellüs absorbisyonu devam ederken, larvalar tank ortamında yukarıdan aşağıya doğru homojen bir şekilde dağılım göstermektedir (Saka ve Fırat, 2000).

Prelarvaların yumurtadan ilk çıktıkları anda ki davranışsal tepkileri öncelikli olarak koklama duyusuna, daha sonra ise yanal çizgiye dayanır. Koku alma duyusu plakoidleri inkubasyonun 80. saatinde epidermal hücre katları içinde kabarcık şeklinde görülür. Neusomastlar 65. saat civarında başın yan tarafında görülür. Larvalar da yumurtadan çıktıktan sonra vücutlarının yan tarafında 8 adet neuromast görülür. Yanal çizgide yer alan bu neuromastlar baştakilere göre daha büyüktür. Ayrıca neuromastlar, operkulum kenarlarında, gözlerin arasında ve kuyruk yarım dairesinde ve yanal çizgide serbest şekilde mevcuttur.

Bu dönemde larvayı saran bir promordial yüzgeç bulunur. Bu yüzgeç larvanın kafasının arkasından başlar ve vitellüs kesesine kadar uzanır. Premordial yüzgeç, ışınsız ve deri kıvrımı şeklindedir. Larva bu yüzgeç sayesinde hem suda ki yüzme hareketini hem de gerek duyduğu O<sub>2</sub> ihtiyacını karşılar. Yumurtadan yeni çıkmış bir larvanın ağız epitelyumu düzensiz ve yassı hücrelerden meydana gelir. Tek tabakadan oluşan bu yapı 3.güne gelindiğinde yer yer çift tabaka gözlenebilir. Sindirim tüpü düz bir boru şeklindedir. Pankreas ve karaciğer farklılaşmamış küçük tomurcuk yapıda, sindirim tüpünün sırasıyla dorsalinde ve ventralinde yer almaktadır (Saka ve Fırat, 2000).

Bu dönemde mide de kıvrım ve boğum bulunur ve çapı, bağırsağın çapından daha küçüktür. Bağırsak ise, larvanın yumurtadan çıktığı ilk günde düz bir yapıda ve tek bir sıra hücrelerden oluşmaktadır. 3. günde ise yoğun bir mitoz bölünme gerçekleşir ve bu tek sıra hücreler 2-3 sıra haline gelir. Ağız kapalı durumdaki larvaların bağırsak hücre çapları 40 µm dan küçüktür ve lipoproteinlerin taşınmasını ve sentezlenmesini sağlayabilir (Diaz et al., 1997). Larvanın ağız kapalı olduğu bu döneme lecithotropic dönem de denir ve bu dönemde temel besleyici rolünü vitellüs kesesi görmektedir. Bu dönem boyunca iç rezervlerin azalması ve sindirim hızının artmasıyla lecithoexotropic başlar. Bu dönemde iç rezervlerin yanında, dışarıdan beslemeye başlar. Ayrıca bu dönemde bağırsak postvalvular ve prealvular bağırsak olarak ikiye ayrılır.

Karaciğerdeki ilk günde hepatik hücreler görülmeye başlar ve bu hücreler yaklaşık 10  $\mu$  kalınlığındadır. 3. günde ise epetial kanal aracılığı ile sindirim tüpüne bağlanır. Pankreas bu periyotta proksimal, karaciğer ise distal gelişim gösterir. Larvanın 2.gününde ise sindirim tüpü 50 derecelik dönme hareketi gerçekleştirir ve bu hareket ile karaciğer sol laterale, pankreas ise sağ laterale kayar. Sindirim tüpünün üst kısmında hava kesesi oluşumu başlarken, safra kesesi karaciğer tarafından sarılır ve pankreas mesodermik hücre katmanları tarafından çevrilir. Pyriform hücre yapısı görülür. 3.günde karaciğer hepotoblast polirizasyon ile değişim görülür. Bu larval dönemde sindirim organları yeni oluşmaya başladığı için sindirim görülmez. Gözlerde ki pigmentasyon ise 3.gün ile birlikte açık bir şekilde görülmeye başlar. Bu dönemde larvalar su debisiyle birlikte hareket eder ve 20-30 sn'de bir 2-3 sn yüzme hareketi gösterirler.

### **2.2.2 Postlarval evre**

Bu evre 5.günde ağız ve anüsün açılmasıyla başlar. Bu dönemde oluşan mukositler, ilk olarak mukusla kaplı epitelium çukurları gibidir ve selüler çeperleri incedir. 7.günde çene kıkırdakları ve kaslar oluşmaya başlar. Salgı bezleri işlevini tam anlamıyla gerçekleştiremediği için sindirim performansı yüksek değildir. Sindirim tüpü 4-6 sıra epitel dokudan meydana gelir. Kalınlığı ise 45 mikrondur. 8.günde ise bu hücre sıra sayısı 6-8'e ulaşır. Bu dönemde bağırsakta bulunan emici hücreler işlev kazanır ve 10-11.günlerde ise ilkel formda phanin dişleri görülmeye başlanır (Saka ve Fırat, 2000).

Bu dönemde daralmış ve boğumlaşmış bir mide gözlenirken, bağırsaklar ile mide arasında kapak görevi gören bir yapı mevcuttur. Midesel mukozayı çevreleyen kas dokusu belirginleşmiştir. 15.güne doğru proteinler emilmeye başlanır. Protein emiliminin en önemli göstergesi ise rectum epitel hücrelerinin görülmeye başlanmasıdır. Bu emilim hücre zarı ve pinoitosis aracılığı ile gerçekleşir. Yağlar ise prevalvular bağırsakta gerçekleşir (Deplano et al., 1991). Karaciğerde bulunan glikojenin depolandığı bölüm ise 13-14.günlerde oluşur. 20.günde ise sindirim kanalı 60  $\mu$  boya gelir.

Besin kesesinin çoğunun kullanıldığı bu dönemde yağ damlası az da olsa mevcuttur ve larvalar canlı yem ile beslenmeye başlanmıştır. Bu dönemde larva 60 derecelik bir görüş açısına sahiptir. Bu alan içerisinde ki besinleri görüp algılayabilir ve 5-7 mm geri çekilerek yılanvari bir hareket ile besini tek hamlede yutar. Beslenmedeki diğer faktörler ise koku sistemleri ve yanal çizgilerdir. İlk hava kesesi bu dolumu bu günlerde olurken, 20-25.günlerde maxiller dişler görülür. Larvanın ağız genişliği ise  $820 \pm 20 \mu$ 'dur (Izawa, 1980).

Levrek larvalarında yaşama oranını ve gelişimi sınırlayan ana fiziksel etken, hava kesesi oluşumudur. Levrek genel olarak fizoglist tür olsada hava kesesi ile sindirim tüpünü bağlayan duktus pinomatikus'un post larval dönemde kopması ile parafizoglist türler içinde kendine yer bulur (Chatain, 1986). Hava kesesi sindirim tüpünün dorsal diverkülünde oluşmaya başlar. Bu dönemde duktus pinomatikus ile hava kesesi ve sindirim tüpü birbirine bağlanır. Hava kesesi gelişimi su sıcaklığına bağlı olarak 5-6.günlerde gerçekleşir. Hava kesesi bu dönemde sindirim kanalının üstünde gelişmesine devam ederken, larva 5.8 mm boyutlarına geldiğinde hava kesesinde ki vertikal büyüme belirginleşir. 5,2-6 mm boylarında levrek larvaları su yüzeyinden ilk hava kabarcığını yutarak hava kesesini oluşturur. Hava kesesi gelişirken vitellüs kesesi ve yağ damlasında önemli ölçüde azalma meydana gelir. 13 ve 15.günler arasında duktus pinomatikus kaybolarak hava kesesini sindirim tüpünden ayırır. Bu ayrılma işlemi sonrası hava kesesini doldurma görevini gaz bezi ve retya mirabilis gerçekleştirir. (Saka ve Fırat, 2000).

Levrek larva üretim teknolojisinde ilk besleme çoğunlukla Rotifer *Brachionus plicatilis* ile başlamakta, ardından küçük boyutlu *Artemia nauplii* (AF 480) ile devam etmektedir. Bunun ardından, *Artemia* naupliilerin genellikle Selco adını verdikleri ticari zenginleştiricilerle 18–24 saat süren bir zenginleştirme sonrasında *Artemia* metanauplii formu ile larval besleme devam etmektedir. Canlı yemler arasındaki geçiş, kademeli şekilde sağlanmaktadır. Özellikle levrek larvalarında 24. günün ardından pepsin enziminin ilk olarak sentezlenmeye başlaması ve fonksiyonel mide oluşumu birlikte canlı yemin ardından mikropartikül yem girilmesi söz konusudur. Genellikle levrek larva üretim teknolojisinde sövraj dönemi su sıcaklığı ve larval gelişime bağlı olarak 30–35. günler arasında başlamakta ve 45–50. güne kadar sürmektedir. Levrek larvalarının

tamamen mikropartikül yeme geçilmesi ile sövraj dönemi sona erer ve ön besi periyodunun 2. aşaması olan *nursery* ya da *on-growing* dönemi başlar.

Sövraj döneminde genellikle doğal deniz suyu tuzluluğu (‰36–40), 19–20 °C su sıcaklığı, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyot ve >500 lux ışık yoğunluğu uygulanmaktadır.

Sövraj döneminin başlangıcında *Artemia* metanaupliilerin larva tanklarındaki yoğunluğu 2 adet/ml düzeyinde iken, ilerleyen günlerde kademeli şekilde 0.5 adet/ml kadar düşürülmektedir. Bu süreç içerisinde, *Artemia* metanauplii renginde (koyu turuncu) 100–200µ boyutlarında yüksek ham protein oranına (>‰55) sahip ileri teknoloji ürünü ekstruder mikropartikül yem girilmeye başlanmaktadır. Sövrajın ilk günlerinde sadece larva tankı yüzeyine serpmek suretiyle girilmeye başlanan mikropartikül yem daha sonra larva tankındaki tahmini balık sayısı ve larva canlı ağırlığının çarpılmasıyla elde edilen biyomasa yani canlı ağırlığa göre yem girişi yapılmalıdır. Önceleri canlı ağırlığın %2'si oranında girilen mikropartikül sövraj sonlarına doğru canlı ağırlığın %10'una kadar yükselmekte canlı yem girişi kademeli olarak %2 düzeyine kadar düşürülmektedir. Sövraj döneminin sonunda ise *Artemia* metanauplii girişi tamamen kesilmektedir. Sövraj döneminde beklenen larval ölüm oranı %5 dolayında gerçekleşmekte, %10 oranını genelde aşmamaktadır.

Sövraj döneminin ilk günlerinde kullanılan ileri teknoloji ürünü ekstruder mikropartikül yemler her ne kadar biyokimyasal kompozisyonu ve besin değerleri açısından *Artemia* metanaupliye göre çok daha üstün olsa da suda hareketsiz olması nedeniyle larvaların yeterince ilgisini çekememesi, süregelen besinsel alışkanlıklarından ve yem kompozisyonundan oldukça farklı olması gibi nedenlerden dolayı larvalar tarafından istekle tüketilmemekte ve tank zemininde birikerek belirli bir kirlilik oluşturmaktadır. Bu nedenle, beslemeyi yapan mühendis ya da tekniker tarafından bu durumun iyi izlenmesi ve irdelenmesi, dolayısıyla gelişen duruma göre besleme stratejinin belirlenmesi önemli bir adımı oluşturmaktadır. Ayrıca, düzenli sifon yapılması, tank su giriş debilerinin yükseltilmesi ve ölü balıkların ortamdan uzaklaştırılması gibi bakım pratikleri de sövraj döneminin başarısını doğrudan artıran unsurlardandır.

### **2.2.3. Sindirim sistemi fizyolojisi**

Balıklarda larval dönemde meydana gelen fizyolojik değişimler çok önemlidir. Larvaların sindirim organları, yetişkin bireylerinkine göre histolojik, morfolojik ve fizyolojik olarak çok daha az ayrıntıya sahiptir. Ağız ve anüsün kapalı olduğu dönemde larvalarda çok ilkel bir sindirim yapısı görülmektedir. Ağız açılımını takiben, ilk beslenmelerin gözlemlendiği dönemde bu yapı hızlı bir değişim göstermektedir. Daha sonraki larval dönemlerde bu yapıda değişim gözlenmezken, juvenil dönemin sona ermesiyle birlikte hızlı bir şekilde erişkin yapıya doğru değişim gözlenir. Levrek larvası erişkinlerinin aksine, planktonivor beslenme göstererek, ilk olarak küçük boydardaki fitoplankton ve zooplankton ile beslenir. Larvalar büyüdükçe canlı yemlerin boyutları da büyümektedir. Larvalarda gözlenen değişimlerin hızı, verilen canlı yem miktarına ve larvaların toz yeme olan fizyolojik adaptasyona ile doğru orantılıdır. (Saka ve Fırat, 2000).

Larvalar yumurtadan ilk çıktıkları anda ağız ve anüsleri kapalı, sindirim tüpü vitellüs kesesinin üstünde düz bir yapı şeklindedir. Besin rezervlerinin emiliminin tamamlanması ile birlikte bukkofarinks ve sindirim sisteminin ön, orta ve arka bölümleri oluşmaya başlar. (Blaxter et al., 1971).

Karaciğer ve pankreas, larva yumurtadan çıktığı sırada oluşmuş durumdadır ve besin rezervlerinin emilmesiyle birlikte fonksiyonel hale gelmektedir. Bukkofarinks, tat tomurcukları ve mukus hücreleri bulunan epitelyum doku ile kaplanmıştır ve larva geliştikçe tat tomurcuklarının miktarı ve fonksiyonu da gelişmektedir. Mide ve piloruk çeka gelişerek, sindirim tüpünün en önemli değişimini gerçekleştirmiş olur (Blaxter et al., 1971).

Larvalarda orta ve son kısmın fonksiyonu ise yetişkin midesiz balıklardaki anteriör ve posteriör barsağın fonksiyonuna benzer. Lipid emilimi orta bölümde gerçekleşir. Barsak lumeninden makromoleküllerin pinoostotic emilimi ise son kısımda gerçekleşir. Orta ve son bölümdeki tripsin, kemotripsin ve aminopeptidaz aktivitesi ile proteinler, peptidlere ve aminoasitlere ayrıştır (Cahu and Infante, 2001).

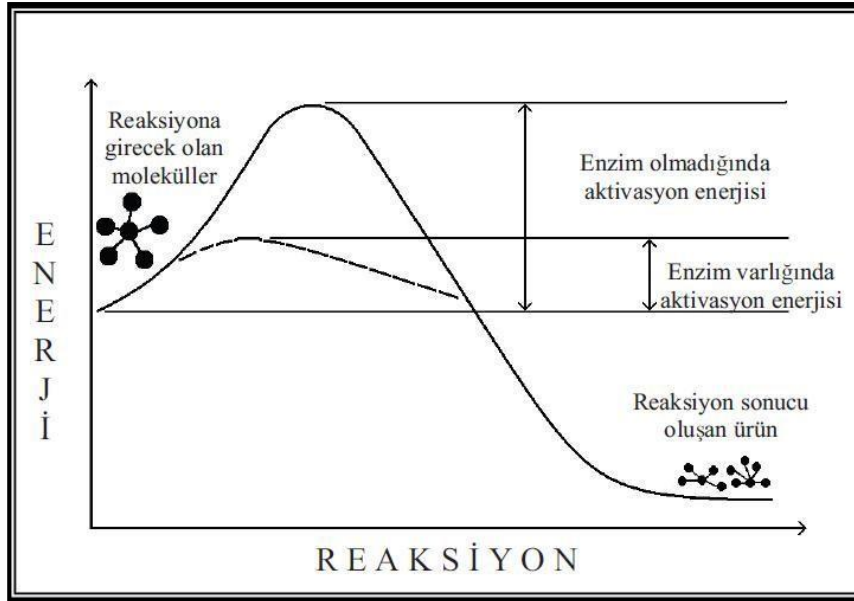
Larval dönemde sindirim hızı yüksek olmasına rağmen, juvenil döneme göre tüketilen yemin sindirim etkisi daha azdır. Örnek verecek olursak, tüketilen

canlı yem ön barsağa saniyeler içinde, orta barsağa anteriorüne ise dakikalar içinde geçer. Orta barsağın posterioründe ve arka bağırsakta ise birkaç saat kalır ve anüsten dışarıya atılır. Bu sebepten dolayı besinin vücuda girişiyle, vücuttan çıkışı kısa bir süre içerisinde gerçekleşmiş olur. (Pearson L.Ruyet., 1989).

## 2.3 Enzimler

### 2.3.1 Enzimin tanımı

Biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların, canlıda hasar oluşturmayacak şekilde uygun koşullarda gerçekleşmesini sağlayan protein yapıdaki katalizörlere enzim denir. Katalizörler, bir kimyasal tepkimeye girer ve tepkimeyi hızlandıranlar. Tepkime sonucunda hiçbir değişime uğramadan tepkimeden çıkan maddelerdir (Dinçkaya, 1997b). Yalnızca canlılar tarafından sentezlenen enzimler, canlı metabolizmasındaki binlerce tepkimenin hızını ve özgülüğünü düzenler. Solunum, büyüme, kas kısılması, sinirsel iletim, sindirim vs. gibi yaşamsal olayların temelini oluşturur.



Şekil 2.3. Enzimlerin genel çalışma prensibi (Gözükara, 1997)

### **2.3.2 Sindirim enzimleri**

Canlı organizmalardaki hayatlarını devam ettirebilmeleri için birçok metabolik reaksiyonun gerçekleşmesi gerekir. Bu metabolik reaksiyonlar genellikle hücre içinde meydana gelir. Bu reaksiyonlar sırasında ortaya çıkacak yüksek ısı, proteinlerin yapısını bozarak canlıya zarar verecektir. Hücredeki bu metabolik reaksiyonlar canlıda hasara neden olmayacak şekilde, daha az enerji kullanımı ile ve vücut ısısında gerçekleşebilmesi sadece enzimleri varlığı ile mümkündür. (Trevor Palmer, 1985; Gözükara, 1997). Enzimlerin genel çalışma prensibi, Şekil 2.3."de gösterilmiştir.

Enzimler aktif ya da inaktif durumda olabilirler. İnaktif konumdaki enzimler, kataliz görevi gördüğü reaksiyon isminin sonuna –jen ekini alacak şekilde isimlendirilir. Bu isimlendirmelere örnek verecek olursak Tripsinojen, kimotripsinojen ve pepsinojen gibi inaktif enzimleri sıralayabiliriz. Aktif durumda ki enzimler ise katalizör görevi gördüğü reaksiyonun sonuna –az eki alır ve Lipaz, amilaz, proteaz, aminopeptidaz olarak isimlendirilir. (Trevor Palmer, 1985; Gözükara, 1997).

Genellikle proteinleri parçalayan sindirim enzimleri başlangıçta pankreas ve mideden bir proenzim şeklinde sentezlenmektedir. Bu proenzimler aktif hale gelmesi ise, bir veya daha çok peptid bağının koparılması veya belli uzunlukta bir peptid kısmının asıl zincirden uzaklaştırılması ile oluşur (Trevor Palmer, 1985).

Çizelge 2.1. Pankreas ve Mideden Proenzim Halinde Sentezlenen Başlıca Proteolitik Enzimler.

| <b>Proenzimler</b>  | <b>Sentezlendiği Yer</b> | <b>Aktif Enzim</b> |
|---------------------|--------------------------|--------------------|
| Tripsinojen         | Pankreas                 | Tripsin            |
| Kimotripsinojen     | Pankreas                 | Kimotripsin        |
| Pepsinojen          | Mide                     | Pepsin             |
| Prokarboksipeptidaz | Pankreas                 | Karboksipeptidaz   |
| Proelestaz          | Pankreas                 | Elestaz            |

## 2.4 Probiyotik

Probiyotik kelimesinin kökeni eski Yunanca'dan gelmekte olup “*önce yaşam*” anlamına gelmektedir.

Probiyotikler 1920’de Parker tarafından üretilmiştir ve ticari anlamda yem katkısı olarak kullanılmaya başlanmıştır (Parker, 1974). Fuller (1989)’ın tanımına göre probiyotikler, yararlı olarak etki göstererek intestinal dengeyi geliştiren mikroorganizmalardır (Fuller, 1989). Oysaki diğer araştırmacılar bu tanımlı geliştirmişlerdir. Örneğin; probiyotik, konak canlının mikrobiyal dengesini geliştirerek canlının etki gösteren canlı mikrobiyal katkı olarak tanımlanmıştır (Gram et al., 1999). Kısaca, probiyotiklerin anlaşılmasında çeşitli varyasyonlar mevcuttur. Gözlemlere bağlı olarak bu mikroorganizmaları sedimentin, suyun ve canlının bakteriyel kompozisyonunu düzeltebilir.

Akuakültür sistemlerinde sağlıklı bir mikrobiyal çevre için alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Probiyotiklerin kullanımı potansiyel patojenlerin kontrolü için bir çeşit yöntemdir.

Büyük çaplı üretimlerde stresli koşullarda üretilen akuatik canlılar için hastalık problemleri ve kirlilik sık sık ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bu durumlar ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bunun önüne geçmek için hastalık kontrolü antibiyotiklerle sağlanmaktadır. Fakat antibiyotik kullanımı bakterilerin direncini artırır ve çok güçlü bir seleksiyona yol açar (Balcazar, 2006). Bu sebepler doğrultusunda probiyotiklere yönelim artmıştır.

### **2.4.1 Probiyotik bakteri seçimi**

Akuakültürde kullanılacak ticari probiyotiklerin geliştirilmesi multidisipliner deneyler ve temel araştırma süreci gerektirir. Probiyotik çalışmalarında birçok başarısızlık uygun olmayan mikroorganizmaların seleksiyonundan kaynaklanmaktadır. Esas anlaşılması gereken probiyotik faaliyetlerinin mekanizması ve potansiyel probiyotiklerin seleksiyon kriterlerinin belirlenmesidir.

Probiyotik bakteriler, uygulanacak canlı için patojen olmamalı, üretim koşullarına uygun olmalı ve akuatik canlı vücudunun hangi bölgesinde aktif hale geçeceği bilinmelidir. Probiyotikler, yeşil su tekniği ile yetiştirilen larvalar için kullanıldığında probiyotiklerin alg ile etkileşim içine gireceği göz önünde bulundurulmalıdır (Balcazar et al, 2006).

Probiyotiklerin, konağın gastrointestinal sisteminde baştan sona kadar aktarılırken hayatta kalması ölçülmelidir (Vine et al., 2004). Probiyotik suşları intestinal epitelyum hücrelerine tutunur olmalıdır, çünkü patojen kolonizasyonuna bu şekilde engel olur. Ayrıca, ticari probiyotikler normal şartlar altında varlığını sürdürebilmeli ve endüstriyel proseslere uygun olarak geliştirilmelidir.

#### **2.4.2 Probiyotiklerin etki mekanizması**

Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmalarda temel özellikler araştırılmıştır. Bunlar;

1. Patojen bakteriler ile probiyotik bakteriler arasındaki antogonistik etkileşim,
2. Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemde kolonizasyon potansiyeli,
3. Bazı probiyotik bakteri türlerinin konakçıda hastalıklara neden olan patojen bakterilere karşı dayanıklılığını artırdığı, araştırılmış ve bildirilmiştir (Gatesoupe, 1999).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların ilk işlevi gastrontestinal sistemde kolonize olmalarıdır. Bu nedenle probiyotik bakterinin sindirim sistemi epiteline tutunabilmesi gerekmektedir (Fernandez et al., 2003).

Bir probiyotiğin etkili olabilmesi için bir takım özelliklere sahip olması gerekir. Probiyotik bakterilerin en önemli faydalarından biri patojenlere karşı antogonistik etki yaratmasıdır. Antogonistik özellikler organik asitler, hidrojen peroksit veya sidefor gibi antimikrobiyal maddelerin üretilmesidir. Örneğin sindirim sisteminde *Lactobacillus*’lar, bulundukları bölgedeki besin maddelerini

tüketerek patajon bakteriler ile rekabet edebilir (Katırcıoğlu, 2001). Laktik asit üreten bakteriler ise, kolonize oldukları bölgede laktik asit üreterek bu bölümdeki patojen canlıların proliferasyonunun önüne geçebilir. Böylece proteolitik bakteriler oluşturduğu toksinlerin sebep olduğu hastalıklardan konakçı korunmuş olur. *Lactobacillus*’lar ayrıca patajen canlıların üreyip çoğalmasını engelleyebilecek bileşikler üretirler. Bu bileşikler hidrojen peroksit, organik asitler ve özel bileşikler olan bakteriyosinlerdir. *Lactobacillus lactis* türü bakterilerin ürettiği nisin, şüana kadar yapılan çalışmalarda en çok araştırılan bakteriosindir. Bakteriyosinler, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* ve *Staphylococcus aureus* gibi bazı patojenleri inhibe edebilirler (Ringo and Gatesoupe, 1998).

\*Probiyotik bakteriler zararlı bakterileri dışlar veya bu zararlı bakterilerin oluşumunu önleyici madde salgılarlar, bağışıklığı artırır.

\*Probiyotik bakteriler zararlı bakterilerin çoğalabildikleri ortam koşullarını ve özellikle pH’ı dengeleyerek zararlı patojenlerin oluşumlarını engeller.

\*Kültürü yapılan canlıların beslenmesini geliştirmek için yapılan vitamin sentezinde görev alırlar. Aynı zamanda yem etkinliğinin de artırılmasına katkıda bulunurlar.

\*Kültürü yapılan canlıların sindirimlerini kolaylaştırmak için sindirim enzimleri salgılarlar.

\*Probiyotik bakteriler toksik veya organik materyalleri doğrudan ayrıştırarak su kalitesini artırır.

### **2.4.3 Probiyotik olarak kullanılan türler**

Akuakültürde, probiyotiklerle yapılan araştırmalar sürmektedir ve halen çok daha fazla araştırma gerekmektedir. Atlantik somon balığı (*Salmo salar*), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), sazan (*Cyprinus carpio*) (Wang ve Xu, 2006), beyaz Hint karidesi (*Fenneropenaus indicus*) (Ziaei-Nejad et al., 2006), beyaz karides (*Penaeus vannamei*) (Wang, 2007) ve rotifer (*Brachionus*

*plicatilis*) kültürlerinde probiant olarak test edilen ana gruplar Vibrionaceae, Psedomonad, laktik asit bakterileri, *Bacillus* sp. ve maya türleridir (Gomez et al., 2000).

Çizelge 2.2. Balıklarda kullanılan bazı probiyotik bakteriler (Gatesoupe, 1999).

| Bakteri türleri                 | Balık türleri                |
|---------------------------------|------------------------------|
| <i>Bacillus toyoi</i> sporları  | Çipura, rotifer              |
| <i>Bacillus</i> spp. sporları   | Çipura, rotifer              |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>  | Alabalık, rotifer            |
| <i>Lactobacillus helveticus</i> | Alabalık, <i>Artemia</i>     |
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | Alabalık, <i>Artemia</i>     |
| <i>Vibrio pelaguis</i>          | Kalkan larvaları,<br>Rotifer |

Akuakültür sektöründe yapılan ilk probiyotik çalışmaları, karasal hayvanlar için üretilen ticari ürünler kullanılmıştır. Topraktan izole edilen *Bacillus toyoi* sporları, *Edwardsiella* spp. ile enfekte olan Japon yılan balığının (*Anguilla japonica*) yaşama oranlarında artışa neden olmuştur. *Bacillus toyoi* sporları yemlere kolayca karıştırılabilmesine rağmen bu sporların balığın sindirim sistemindeki durumu bilinmemektedir. *Bacillus toyoi* sporları, rotifer kültürü eklenmiş ve bu bakteri sporlarının rotifer tarafından filtre edilmesi sağlanmıştır. Bu rotiferler ile beslenen larvaların büyüme parametrelerinde artış gözlenmiştir. Ayrıca *bacillus* türü bakterilerin *Vibrio* spp."ye karşı antibakteriyel etki gösterdikleri gözlenmiştir. Birçok basil türü antibiyotik üretebilir ve bu özellik sporlanma ile ilgili bir durumdur. Rotiferlerin bu sporlarla beslenmesi sonucu Vibrionaceae grubundaki bakterilere karşı etkili olduğu ve bu bakterilerin sayılarında azalma olduğu görülmüştür (Gatesoupe, 1999).

*Lactobacillus*’ların *Vibrio anguillarum*, *Vibrio salmonicida*, *Proteus vulgaris*, *Aeromonas hydrophila* gibi balıklarda patojenik etki yapan bakterilerin gelişmesini yavaşlatan maddeler üretebildiği ve bu maddelerin balık sağlığı için çok önemli bir yere sahip olduğu görülmüştür (Ashraf, 2000; Katırcıoğlu, 2001; Gomez et al., 2000).

#### **2.4.4 Probiyotik uygulama yöntemleri**

Canlı yem uygulaması: Özellikle larval dönem boyunca kullanılan canlı rotifer ve *Artemia* zenginleştirme uygulamalarında likit formda kullanılmaktadır.

Mikrodiet ve pelet yem: Larval, ön büyütme, adaptasyon ve besi dönemlerinde ekstruder pelet yemlere spreyleme, daldırma, kaplama vb yöntemlerle kullanılmaktadır.

Kültür ortamına uygulama: Larval, ön büyütme, adaptasyon ve besi dönemlerinde tank ortamına belirli yüklerde likit formda eklenerek kullanılmaktadır.

#### **2.4.5 Su ürünlerinde probiyotik kullanımı**

Akuakültürde probiyotikler; özellikle üretimi arttırmak, ortamdaki patojenlerin uzaklaştırılması ve ortam parametrelerinin iyileştirilmesi amacı ile kullanılmaktadır.

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) üzerinde yapılan bir çalışmada, %27 ve %40 oranında ham protein içeriğine sahip yemlere %0,1 *Streptococcus faecium* ve *Lactobacillus acidophilus* içeren bakteri karışımı (ALL27 ve ALL40) ve %0,1 *Saccharomyces cerevisiae* mayası (Y27 ve Y40) eklenerek yapılan 9 haftalık besleme sonucunda; %40 ham proteinli yeme %0,1 maya eklenerek hazırlanan yemler ile beslenen balıkların büyüme parametreleri ve yem değerlendirme oranının diğer yemler ile beslenen gruplara göre daha iyi sonuçlar gözlemlendiği belirlenmiştir (Lara-Flores et al., 2003).

Mazurkiewicz et al. (2005), sazan juvenillerini üzerinde yaptığı çalışmada, maya, *Saccharomyces cerevisiae* suş Sc47, probiyotik ürünü olan BIOSAF eklenerek beslenen sazan juvenillerinin büyüme ve yem değerlendirme oranının incelemiştir. Farklı miktarlarda (0,5 g/kg; 1,0 g/kg; 1,5 g/kg) probiyotik BIOSAF içeren deneme grupları hazırlanmıştır. 50 günlük besleme sonucunda, probiyotik eklenmiş yemler ile beslenen balıkların kontrol grubuna göre önemli düzeyde daha yüksek ortalama canlı ağırlık değeri göstermişlerdir. Deneme boyunca spesifik büyüme oranı en düşük ( $\%1,98 \text{ d}^{-1}$ ) kontrol grubunda gözlenirken, en yüksek değer ise ( $\%2,45 \text{ d}^{-1}$ ) 1,0 g/kg grubunda gözlenmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlara göre, spesifik büyüme oranı yönünden gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir.

El-Haroun et al. (2006), 22,96-26,40 g'lık nil tilapiası (*O. niloticus*) yavrularının yemlerine farklı oranlarda ( $\%0,5$ ,  $\%1,0$ ,  $\%1,5$  ve  $\%2,0$ ) probiyotik Biogen® eklenmesinin, tilapialar üzerindeki büyüme performansı ve yemden yararlanma değerlerinde ki etkilerini belirlemeyi hedeflemiştir. 120 gün süren bu araştırma, probiyotik eklenmiş yemlerin probiyotik eklenmemiş yemlere göre daha yüksek büyüme performansı ve yemden yararlanma sağladıkları bildirilmiştir.

Gram pozitif, endospor formunda bir bakteri olan *Bacillus subtilis* Hindistan sazanı (*Labeo rohita*)'nda potansiyel probiyotik olarak değerlendirilmiştir. *Labeo rohita* ( $15 \pm 2 \text{ g}$ ), 2 hafta için 3 konsantrasyonda ( $0,5 \times 10^7 \text{ CFU/g}$  yem,  $1,0 \times 10^7 \text{ CFU/g}$  yem ve  $1,5 \times 10^7 \text{ CFU/g}$  yem) *B. subtilis* eklenen yemlerle beslenmiştir. *B. subtilis* eklenen yemlerle beslenen gruplarda oransal ağırlık kazancı önemli oranda daha fazla ( $\%35,55$ ) olduğu görülmüştür. Yaşama oranlarına bakıldığında, kontrol grubuna ( $\%18,75$ ) göre probiyotik uygulanan deneme gruplarında (T2,  $\%68,75$ ; T3,  $\%81,25$  ve T4,  $\%87,50$ ) önemli oranda daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuç olarak *B. subtilis*'in Hindistan sazanında probiyotik olarak etkili şekilde kullanılabildiği tespit edilmiştir (Kumar et al., 2006).

*Bacillus* probiyotiğinin gökkuşaklı alabalığı (*O. mykiss*) yavrularının yem sindirimi, büyüme ve yaşama oranı üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla deneme yemlerine 5 farklı seviyede ( $4,8 \times 10^8$  kob/g,  $1,2 \times 10^9$  kob/g,  $2,01 \times 10^9$  CFU/g,  $3,8 \times 10^9$  CFU/g,  $6,1 \times 10^9$  CFU/g) probiyotik ilave edilmiştir. Deneme sonunda; ticari probiyotik *Bacillus* un uygun yoğunluğunun alabalık başlangıç yemlerine katılmasının, özellikle yetiştirme koşullarında büyüme ve yaşama oranı için yararlı olduğu belirtilmiştir (Jafaryan et al., 2008).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Deneme Yeri ve Deneme Planı

Deneme Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Dr. H. Okan KAMACI Yetiştiricilik Araştırma ve Uygulama Ünitesi (Urla/İzmir)‘nde yürütülmüştür.

Çalışmada  $4\text{m}^3$  (kullanılabilir hacmi  $3.8\text{ m}^3$ ) silindirik tanklar kullanılmıştır. Balıklar 2 grupta 3 tekrarlı (2x3) yürütülen denemede her tanka 60 adet olmak üzere toplam 360 adet levrek juvenili stoklanmıştır. Çalışma doğal deniz suyu tuzluluğunda (‰38,2) ve sıcaklığında yürütülmüştür ( $23.2\pm1.6^\circ\text{C}$ ).

Deneme boyunca aydınlatma doğal fotoperiyotta yapılmıştır. Adaptasyon dönemi boyunca bütün balıklar yakından gözlemlenmiştir.



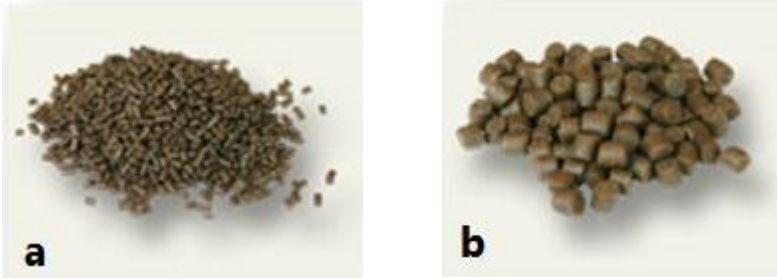
Şekil 3.1. Denemede kullanılan tanklar

### 3.2 Deneme Balıkları

Denemede özel bir firmadan temin edilen levrek juvenilleri kullanılmıştır. Her bir tanka 60'ar adet olmak üzere toplam 360 adet balık kullanılmıştır. Deneme başında yapılan ilk ölçümde toplam boy  $13.02 \pm 1.4$  cm, ağırlık ise  $14.70 \pm 4.53$  gr olarak tespit edilmiştir. Denemelerde probiyotik uygulanan grup A, kontrol grubu ise B grubu olarak adlandırılmıştır.

### 3.3 Deneme Yemi

Denemelerde pelet yem olarak tüm balıkların beslenmesi amacıyla 2 farklı boyutta levrek için üretilen 2 ve 3 mm ticari pelet yem kullanılmış ve balıklar günde 3 kere doyuncaya kadar beslenmiştir (Çizelge 3,1). Verilen yemler günlük olarak hassas terazide tartılmış ve hazırlanmıştır.



Şekil 3.2. Denemelerde kullanılan a) 2 mm ve b) 3 mm ticari pelet yemler.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yem içerikleri (Çamlı yem Besicilik Katalog)

| <i>Levrek Ön Besi Yemi</i> |       |       |
|----------------------------|-------|-------|
|                            | 2 mm  | 3 mm  |
| Ham Protein %              | 48    | 46    |
| Ham Yağ %                  | 18    | 19    |
| Ham Selüloz %              | 1,5   | 2     |
| Nem %                      | 9     | 10    |
|                            |       |       |
| Vitamin (kg/yem)           | 2 mm  | 3 mm  |
| Vitamin A (IU)             | 12000 | 12000 |
| Vitamin D3 (IU)            | 2500  | 2500  |
| Vitamin E (mg)             | 200   | 200   |

### **3.3.1 Yeme probiyotik uygulanması**

Denemede ticari olarak üretilmiş ve farklı oranlarda *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Phodopseudomonas palustris* ve *Saccharomyces cerevisiae* bakteri türlerini ve su içeren likit formda Nourivit plus® kullanılmıştır. Kullanım dozu olarak üreticinin önerdiği 1:100 oranı yani 100 kg yeme 1 lt oranında probiyotik bakteriler eklenmiştir.

Yeme homojen dağıtımı sağlayabilmek amacıyla spreyleme yöntemi kullanılmıştır.

Probiyotik bakteriler için her gün tüketilecek yem miktarı tartılıp ayrıldıktan sonra özel olarak eklenmiştir.

Her uygulama sırasında probiyotik bakterilerin tüm pelet yem tarafından homojen şekilde absorbe edilebilmesi için yemler uygulama sonrası 2-3 saat bekletilmiş ve sonrasında balıklara verilmiştir.

Yemler hazırlandıktan sonra herhangi bir bozulma ve kokuşma ile karşılaşmamak için buzdolabı ortamında +4°C'de saklanmıştır.

## **3.4 Büyüme Parametrelerinin Tespiti**

**3.4.1 Total Boy:** Juvenillere ait total boy gelişimi balıkların 2-phenoxyethanol (0,2ml/l) ile sakınleştirildikten sonra cetvel yardımıyla ölçülmesiyle elde edilmiştir.

**3.4.2 Ağırlık:** Juvenillere ait ağırlık gelişimi hassas terazi (Dikomsan, FKS-2000) yardımıyla ölçülerek elde edilmiştir.

**3.4.3 SBO:** Spesifik büyüme oranı deneme başında ve sonunda ölçülen canlı juvenil ağırlıkları üzerinden belirtilen formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$SBO = 100 (\ln SVA - \ln İVA) / \Delta t$$

**3.4.4 Yaşama oranı:** Yaşama oranı deneme sonunda tanklarda kalan canlı juvenillerin sayılmasıyla elde edilmiş ve % olarak tespit edilmiştir.

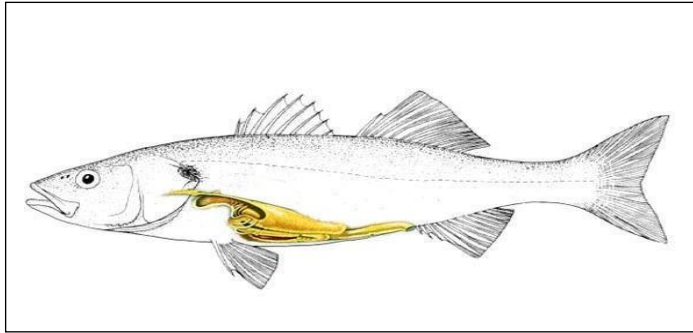
$$\text{Yaşama oranı} = \frac{\text{Deneme Sonunda Kalan Balık Sayısı} \times 100}{\text{Deneme Başındaki Balık Sayısı}}$$

**3.4.5 YDO:** Deneme süresince verilen pelet yem ağırlıkları tartıldıktan sonra deneme sonunda canlı ağırlık kazancı baz alınarak yem dönüşüm oranı hesaplanmıştır.

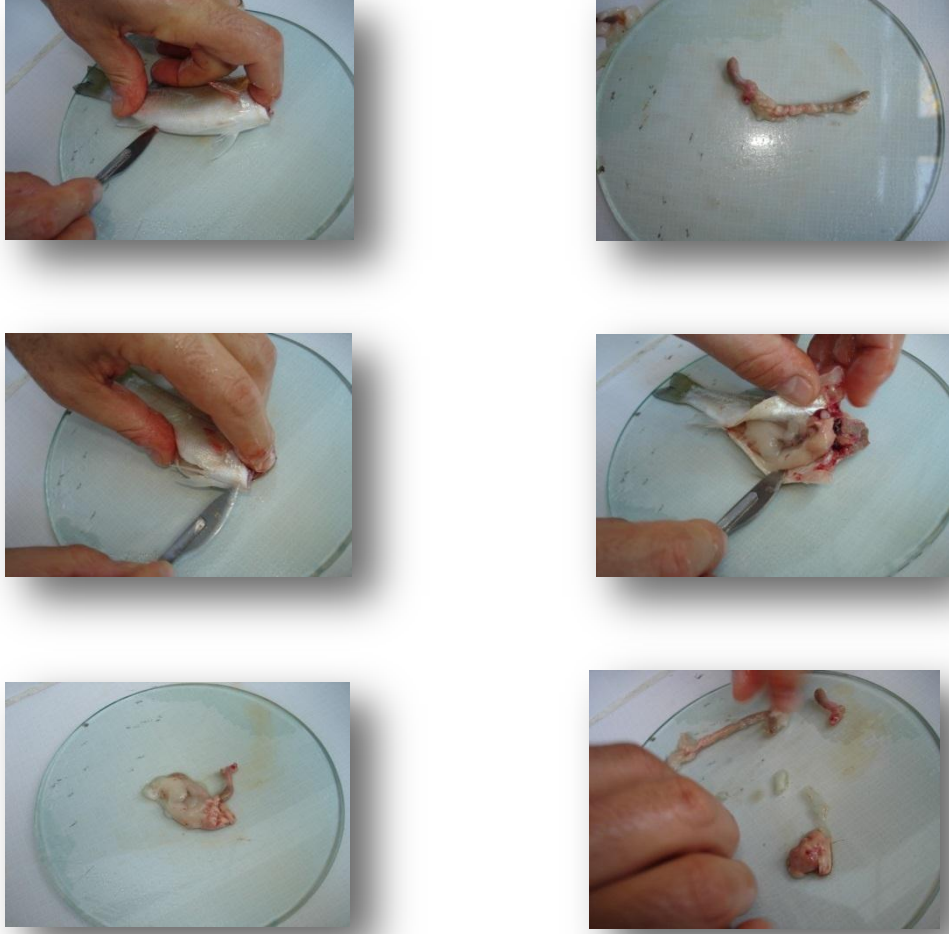
$$\text{YDO} = \frac{\text{Tüketilen yem miktarı}}{\text{Ağırlık Kazancı}}$$

### 3.5 Gastrointestinal Disseksiyon

Denemede her hafta levrek juvenillerinden örnekler alınmış ve enzim analizlerinin yürütüleceği şekil 3.3'te belirtilen gastrointestinal bölge bistüri yardımıyla izole edilerek ayrılmıştır (Şekil 3.4.). Alınan gastrointestinal içerik seramik havan içerisinde tamamen homojen hale gelinceye kadar ezildikten sonra, saf su, pH değeri 7.5 olan Tris HCl ve gliserolle birlikte Falcon tüplerine konulduktan sonra derin dondurucuda -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Levrek balığından gastrointestinal disseksiyon için alınan bölüm



Şekil 3.4 Gastrointestinal sistemin izolasyonu

### 3.6 Enzim Analizleri

Alınan homojentlar homojenizatör yardımıyla 15000xg devir, 4 °C'de 30 dakika süre ile homojenize (1/5:homojenat/soğuk saf su) edilmiş ve elde edilen homojenata 50 mM, pH 7.5, Tris HCl ile gliserol eklenerek enzim analizleri yapılmaya dek -20°C'de saklanmıştır.

Her enzim kendine özgü spesifik aktivite tayin yöntemleri ile tespit edilmiş ve spektrofotometre (Jenway 6100-Visible Spectrophotometer) cihazı yardımı ile enzim aktiviteleri ölçülmüştür.

Analizde protein tayini olarak Bradford yöntemi (Bradford, 1976) kullanılmış olup, alkalın proteaz (Walter et al., 1984) analizinde casein substratı 25 °C’de 5 dakika 253 nm dalga boyunda, asit proteaz (Anson, 1938) analizinde hemoglobin substratı 25 °C’de 30 dakika 280 nm dalga boyunda analiz edilmiştir.

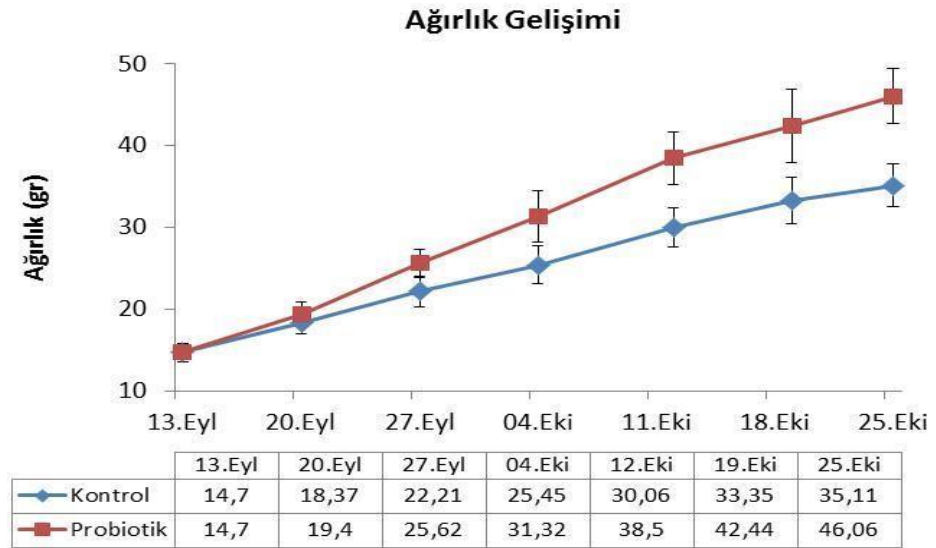
### **3.7 İstatistiksel Analiz**

Denemeler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma dikkate alınarak bulunmuştur. Varyansların homojenliği için Levene Testi uygulanmıştır. Sonuçların karşılaştırılmasında Tek Yönlü ANOVA Testi, daha sonra çoklu değişken testi (Newman Keul’s Testi) kullanılmıştır. Farklılık ve önemlilikler %95 güven aralığında hesaplanmıştır. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 ve Microsoft Excel 2010 yazılımlarından yararlanılmıştır.

#### 4. BULGULAR

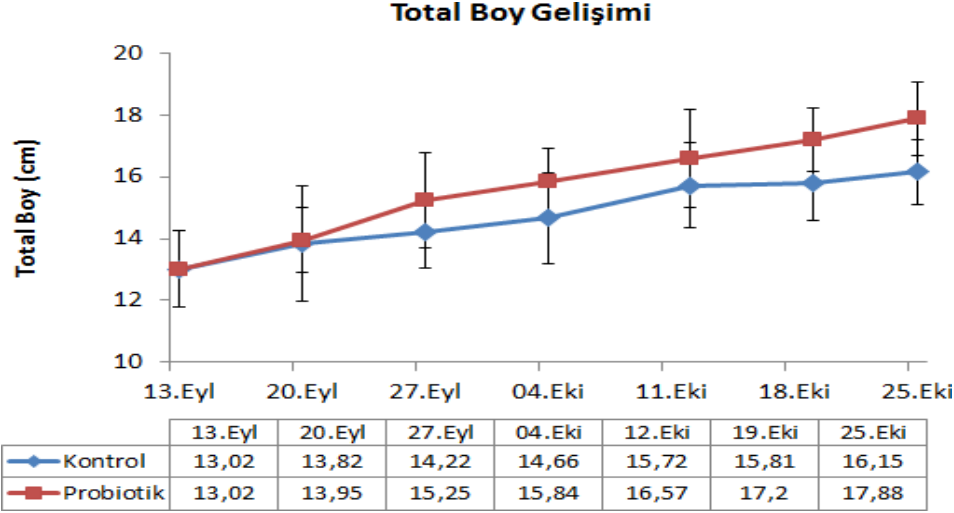
##### 4.1 Büyüme parametreleri

Juvenillerin büyüme parametreleri incelendiğinde; denemenin sona erdiği 45. günde total boy A grubunda  $17,88 \pm 0,75$  mm, ağırlık  $46,06 \pm 1,49$  mg, spesifik büyüme oranı 2,53 %/gün, yem dönüşüm oranı 1,16 ve yaşama oranı da %98,34 olarak tespit edilmiştir. B grubunda ise 45. günde total boy  $16,15 \pm 0,91$  mm, ağırlık  $35,11 \pm 3,19$  mg, spesifik büyüme oranı 1,93 %/gün, yem dönüşüm oranı 1.28 ve yaşama oranı da %97,22 olarak tespit edilmiştir. Büyüme parametreleri açısından A grubu ile B grubu arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $p > 0,05$ ).



Şekil 4.1. Deneme süresince levrek juvenillerinde gözlenen total ağırlık gelişimi

Levrek juvenilleri, total ağırlık açısından ilk hafta boyunca kontrol ve probiyotik gruplarında benzer bir gelişim göstermişlerdir. Birinci haftanın sonundan itibaren probiyotik grubu, kontrol grubuna göre daha hızlı bir gelişim göstermeye başlamış olup, denemenin sonuna kadar bu gelişim farkı sürekli olarak artmaya devam etmiştir.



Şekil 4.2. Deneme süresince levrek juvenillerinde gözlenen total boy gelişimi

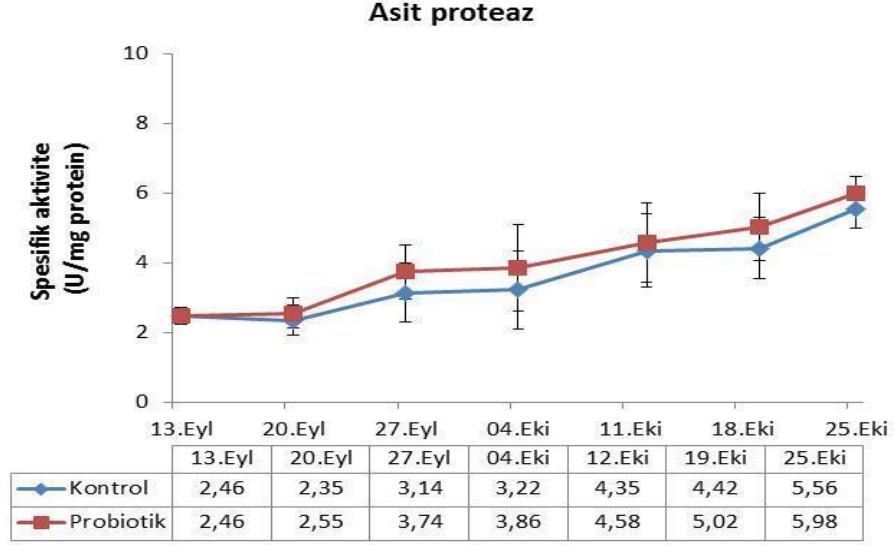
Levreklerde izlenen total boy gelişimi ise, ilk bir haftada kontrol ve probiyotik gruplarında çok yakın düzeylerde olup, 8. günden itibaren probiyotik grubu kontrol grubuna göre nispeten daha iyi bir gelişim gösterse de bu gelişimler arasındaki fark önemli bulunmamıştır ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2 Enzimatik Aktivite

Her 2 grupta da enzimatik aktivite incelendiğinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Asit proteaz aktivitesi, midede aktif olan proteinlerin sindiriminde rol alan bir enzimdir.

Deneme sonunda da, beklenildiği gibi, her 2 gruptaki aktivitede herhangi bir önemli farklılık tespit edilmemiştir.

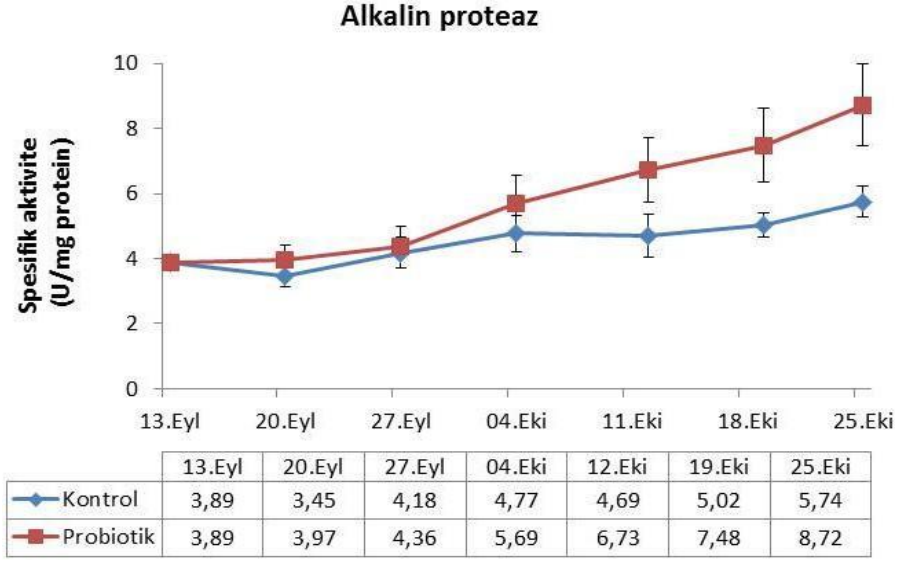
Denemenin sona erdiği 45. günde asit proteaz aktivitesi A grubunda  $5,98 \pm 0,48$  U/mg protein<sup>-1</sup> olarak, B grubunda ise  $5,56 \pm 0,52$  U/mg protein<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Deneme süresince levreklerde gözlenen asit proteaz aktivitesindeki değişimler

Ancak bağırsaklarda aktif olan ve yine proteinlerin sindiriminde rol alan alkalın proteaz enzim aktivitesine bakıldığında istatistiki olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Özellikle denemenin 2. haftasından itibaren probiyotik ile kontrol grubuna ait enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler izlenmiştir. Kontrol grubunda 45 gün boyunca önemli bir değişim izlenmezken deneme grubundaki değerlerde, özellikle denemenin başlangıcından sonraki 2. haftadan itibaren aktivitede ani ve önemli yükselmeler tespit edilmiştir. Bu bulgular bağırsak ortamında pH 8.0 civarında, probiyotik bakteri kolonizasyonunun gerçekleştiği sonucunu düşündürmektedir.

Deneme sonunda alkalın proteaz aktivitesi A grubunda  $8,72 \pm 1,26$  U/mg protein<sup>-1</sup> olarak, B grubunda ise  $5,74 \pm 0,48$  U/mg protein<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Deneme süresince levreklerde gözlenen alkalin proteaz aktivitesindeki değişimler

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Patojen çeşitliliğinin artması ve bakteriyel direncin gelişimi, akuakültürde yapılan üretimin yoğunluğu sayesinde pek çok çevresel etkiye yol açıyor. Çevresel olarak oluşan bu etkiler üretim sırasında yapılan uygulamalar sonucu (kemoteropatik maddeler gibi) oluşmaktadır. Probiyotik kullanımıyla akuakültürde olumsuz çoğu etkinin azalması için yeni bir yol yaratıyor. Ayrıca probiyotik bakterilerin etki mekanizması göz önünde bulundurulduğunda üretimi yapılan canlıların yaşama oranının arttırılması, büyüme parametreleri ve enzim aktiviteleri üzerine olumlu etkileri olduğu araştırmalarda tespit edilmiştir (Gatesoupe, 1999). Bu çalışmada, 4 farklı bakteri türü probiyotik olarak yem içerisine eklenmiş ve sonuçta bağırsakta faaliyet gösteren sindirim enzimleri aktivitesi açısından deneme gruplarında kontrol grubuna göre önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Mikroorganizmalar, bazı araştırmacılara göre suda yaşayan canlıların sindirim sistemine katkı sağladığı belirtilmiştir (Gatesoupe, 1999). *Bacteroides* ve *Clostridium* sp.'nin konakçıların beslenmesini ve gelişmesini özellikle yağ asitleri ve vitaminlerin sindirimiyle sağladıkları belirtilmiştir. Bazı mikroorganizmaların *Agrobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Brevibacterium* sp., *Microbacterium* sp. ve *Staphylococcus* sp., *Salvelinus alpinus* larda sindirimsel ve besinsel işlemlerde katkı sağlayabildiği görülmüştür (Ringo et al., 1995). Bazı yararlı bakteriler ekstraselüler enzim (proteaz ve lipaz gibi) ve devamlı büyüme faktörü üreterek Bivalvelerde sindirim sistemine destek olur. Benzer sonuçlar erginliğe erişmiş karideslerdeki mikrobiyal floralar için de görülmüştür. Mikrobiotanın en önemli özelliklerinden bir diğeri ise ek kaynak olabilmesidir. Sindirim kanalındaki aktivitelerde vitamin ve aminoasit kaynağı olarak kullanılabilir (Balcazar et al., 2006).

9 adet tatlı su balığı, sindirim sistemlerinden ayırdıkları belirli yararlı bakteriyel suşlar sayesinde sindirim enzimi ürettiği ve yemlerden yarar sağlamayı ve sindirimi kolaylıkla yapabildikleri Bairagi et al. (2002) tarafından saptanmıştır. Ramirez ve Dixon (2003), 3 farklı balık türünden ayrıştırılan anaerobik bağırsak bakterilerinin enzim yapılarını keşfetmiş ve bu yapılar sayesinde probiyotik bir rol alabileceklerini bulmuşlardır. *Labeo rohita* yemlerine ilave edilen *B.subtilis* ve

*B.circulans* sayesinde bu balıkların yem dönüşümlerinde ve protein etkinliklerinde pozitif performans etkilerine sebep olabileceği Bairagi et al. (2004) tarafından bildirilmiştir. Bakteriler bu gelişimi hem selüloz hem de nişasta hidrolizasyonunu yapabilen hücre dışı selülotik ve amilolitik enzimler sayesinde başarmaktadır (Kesarcodi-Watson et al., 2008). Suzer vd., 2008, çipura (*Sparus aurata*) larvalarıyla yaptıkları çalışmada *Lactobacillus* sp. sporları içeren ticari bir probiyotik ürün (Biotexin-LC (sıvı form), Protexin (spor form) kullanmış ve *Lactobacillus* sp. uygulanan gruplarda büyüme parametreleri ve enzim aktivitesi açısından kontrol grubuna göre önemli farklılıkların tespit edildiğini bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ).

Bu çalışmada da; deney tanklarında kontrol tanklarına oranla enzim aktivitelerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Alkalın proteaz aktivitesine bakıldığında probiyotik grubunda kontrol grubuna oranla oldukça büyük farklılık tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Bunun sebebi olarak, kullanılan *Bacillus* sp. türü probiyotiklerin salgılamış oldukları enzimlerin etkisi olduğu düşünülmektedir.

Gatesoupe (1994), rotiferleri laktik asit bakterileriyle geliştirip kalkan balığı larvalarının beslenmesinde kullanarak hem ağırlığın hem de hayatta kalma oranının arttığını ve *Vibrio* sp. türlerine karşı koruma sağlandığını bildirmiştir.

*Bacillus* sp. türlerinin karışımını içeren ticari probiyotiklerin yetiştiricilik suyuna eklenmesinin kanal yayın balıklarında (*Ictalurus punctatus*) üretimi ve larvalarda hayatta kalma oranını artırdığı bildirilmektedir (Queiroz and Boyd, 1998). Probiyotiklerin yemden yararlanma parametrelerini olumlu şekilde etkilemesi bazı araştırmacıların dikkatini son yıllarda probiyotiklerin sindirim aktivitesi üzerine olan etkilerini incelemeye yöneltmiştir (Gatesoupe, 1999).

Kültürü yapılan çipura (*Sparus aurata*), karides (*Fenneropenaeus indicus*) larvaları ile yapılan çalışmalarda üretim suyuna ve canlı yem (rotifer ve *Artemia*) ile verilen probiyotikler başta larval gelişim ve yaşama oranı olmak üzere sindirim enzimleri aktivitesini ve büyüme parametrelerini önemli derecede artırdığı bildirilmiştir (Suzer vd., 2008; Zaiaei-Nejad et al., 2006).

Bu çalışmada ise, probiyotik uygulaması yapılan tankların kontrol grubuna göre enzim aktivitesi ve büyüme parametrelerinde önemli farklılıklar tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Bu sebeple üretim suyuna ve canlı yem ile verilen probiyotiklerin başta larval gelişim olmak üzere ve yaşama oranı olmak üzere, sindirim enzimleri aktivitesine ve büyüme parametrelerine önemli katkılar yaptığı düşünülmektedir.

Probiyotiklerin su kalitesi üzerine etkisini anlamak için birçok çalışma yürütülmüştür. Sudaki organik yükün ayrıştırılmasına yardımcı olan birçok yararlı mikroorganizma (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodoseudomonas*, *Acinetobacter*) bulunmuştur. Bununla birlikte su kalitesinin ayarlanmasında ve hastalık oluşturan mikroorganizmalara karşı faydalı olabilecekleri belirtilmiştir. (Shariff et al., 2001; Irinato and Austin, 2002). *Bacillus* sp. türleri özellikle su kalitesinin ayarlanmasında kullanılmaktadır. Organik maddeyi  $CO_2$ 'de Gr (+) bakteriler Gr (-) bakterilere göre daha iyi dönüştürürler. Yüksek seviyede tespit edilen Gr(+) bakteriler üretim döngüsü içinde çözünmüş ve partiküler organik karbonu minimize edebilirler. *Bacillus* sp. türleri su kalitesini ortamdaki hastalık etmenlerinin sayısını azaltarak ve mikrobiyal popülasyonun kompozisyonuna etki ederek iyileştirdiği bildirilmiştir. Bundan ötürü *Bacillus* sp. türlerinin yetiştiricilik yapılan ortamdaki potansiyel patojenlere karşı engelleyici etkisinin var olduğu düşünülmektedir. (Irinato ve Austin, 2002). *Penaues monodon* juvenillerinde yapılan bir çalışmada, *Bacillus* sp.'nin kullanımından sonra suyun kalitesinin iyileşmesiyle birlikte canlıların sağlıksal durumlarını, büyüme ve hayatta kalma oranlarını arttırdığı bunlarla birlikte *Vibrio* sp. türlerinin de sayısının azaldığı bildirilmiştir. (Balcazar et al., 2006).

Hastalık yapan bakterilerin etkileri probiyotik kullanımı ile azaltılabilir ya da önlenabilir. Bu da balığın daha dayanıklı olmasına neden olur. Probiyotiklerin büyümeye yaptığı olumlu etki ise vitamin ya da besin sağlayarak olmaktadır. Ayrıca deneysel olarak probiyotiklerin balıklardaki büyüme performansını artırdığı gözlemlenmiştir (Skjermo, 1998). Ayrıca, probiyotiklerin immun sistemi desteklemesi nedeniyle özellikle larval dönemde yüksek mortaliteye neden olan *Vibrio* (Planas et al., 2006; Rengpipat et al., 1998), *Carnobacterium* sp.

(Robertson et al., 2000) gibi hastalıkların önlenmesinde ve mikrobiyal yükün izlenmesinde (Eddy and Jones, 2002) de yaygın olarak kullanılmaktadır.

Probiyotiklerin yardımı ile sucul canlıların spesifik olmayan bağışıklık sistemi uyarılabilir. Gökkuşığı alabalığında yapılan çalışmada *Clastridium butyricum* bakterisi verilmiş olan canlıların *Vibriosis*' e karşı daha dirençli oldukları saptanmıştır. Dirençteki artış, lökositlerin fagositik aktivitesinin artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada *P.monodon*'da *Bacillus* sp."nin kullanılmasının hastalıklara karşı korumayı hücrel aktivasyon sayesinde bununla birlikte humoral bağışıklık savunmayıda sağladığı belirtilmiştir. Beyaz karides yavruları üzerinde yapılan çalışmada *Bacillus* sp. ve *Vibrio* sp. karışımı suşların kullanılmasıyla canlının hayatta kalma ve büyümesinde olumlu etki ettiği bulunmuştur. Bununla beraber beyaz benek sendromu virüsü ile *Vibrio Harvei* patojenine karşı önleyici etkileri olduğu bulunmuştur. Bu etki, antimikrobiyal ve fagositozisin artmasından kaynaklanmaktadır (Balcazar et al., 2006). Gullian ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada *Bacillus* sp. türünün bağışıklık sisteminde bir uyaran olarak çalıştığını bulmuşlardır.

Akuakültürde kullanılan ilk probiyotik uygulamaları daha çok patojen mikroorganizmalara karşı immun sistemin güçlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Özellikle *Vibrio* sp. ve *Aeromonas* sp. orijinli enfeksiyonların kültürü sıklıkla yapılan Atlantik salmon (*Salmo salar*) ve gökkuşığı alabalıklarında (*Onchorhynchus mykiss*) izlenen mortalitelerin azaltılması amacıyla uygulandığı çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Robertson et al., 2000; Aubin et al., 2005; Panigrahi et al., 2005). Tatlı su türlerinde elde edilen bu başarıların ardından başta laktik asit bakterileri olmak üzere bazı mikroorganizmalar probiyotik olarak yine hastalıklara karşı immun sistemin güçlendirilmesi ve direncin geliştirilmesi amacıyla kültürü yapılan deniz balıkları yetiştiriciliğinde de başarı ile kullanılmıştır (Eddy and Jones, 2002; Gatesoupe, 2002; Planas et al., 2006; Carnevali et al., 2006).

Probiyotiklerin bu tip yararlarının tespitinin ardından farklı alanlarda farklı sorunların çözülmesinde de kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin, Villamil et al. (2002) kalkan (*Scophthalmus maximus*) Aubin et al. (2005) gökkuşığı alabalığı

larva üretim periyodu süresince sıklıkla izlenen iskelet deformasyonlarının önlenmesinde *Lactobacillus* sp. bakterilerinin olumlu sonuçlar verdiğini belirtmiştir. Ayrıca, larva üretim prosesi içinde önemli bir yer tutan yumurtaların ve açılımı sonrası prelarvaların dezenfeksiyon başarımının artırılması amacıyla dezenfeksiyon ortamına probiyotik eklenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Skjermo and Vadstein, 1998; Olafsen, 2001).

Probiyotiklerin özellikle alınan besin maddelerinin değerlendirilmesinde, yemden yararlanmada ve sindiriminde önemli katkılar sağladığı bir çok akuatik organizmada yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Gatesoupe et al., 1999, 2002; Rollo et al, 2006).

Ülkemizde kültürü sıklıkla yapılan levrek larva yetiştiriciliğinde mayanın (*Saccoromyces cerevisia*) yemlere eklenmesiyle yemden yararlanma ve yem dönüşüm oranlarında önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir (Tovar-Ramirez et al., 2002, 2004). Benzer şekilde, yemlere probiyotik eklenmesi sonrasında yem değerlendirme parametrelerindeki önemli iyileşmeler tilapia (*Oreochromis niloticus*) (El-Haroun et al., 2006), karides (*Litopenaeus vannamei* ve *Penaeus monodon*) (Rengpipat et al., 1998; Vaseeharan et al., 2004), abalon (*Haliotis midae*) (Macey and Coyne, 2005), tarak (*Argopecten purpuratus*) (Riquelme et al., 1997) kültürlerinde de elde edilmiştir.

Ziaei-Nejad et al. (2006) Hindistan karidesi (*Fenneropenaeus indicus*) ile yaptıkları çalışmada canlı yem kültürüne ve tank ortamına *Bacillus* sp. ait beş tür probiyotik bakteri kullanmış ve en iyi larval gelişim ve sindirim enzimleri aktivitesindeki artış canlı yem kültürüne probiyotik eklenen grupta tespit edilmiştir.

Wang et al. (2007) *Penaeus vannamei* türü karides larvalarına farklı oranlarda *Bacillus* sp. türü probiyotik vermiş ve tüm deneme gruplarındaki larval gelişim ve sindirim enzimleri aktivitesini kontrol grubuna göre göreceli olarak yüksek bulmuştur.

Rengpipot et al. (1998) Kaplan karidesi ( *Penaeus monodon*) ile yaptıkları çalışmada *Bacillus* sp. türü probiyotik kullanılmış ve büyüme parametrelerinde kontrol grubuna göre önemli farklar tespit edilememiştir. Ancak, *Vibrio harveyi*

patojenine karşı probiyotik uygulanan deneme grubu %100 yaşama oranına sahipken bu oran kontrol grubunda %26 olarak tespit edilmiştir.

Probiyotiklerin kültürü yapılan deniz ya da tatlı su balıklarında ya da larvalarında sindirim enzimleri üzerine olan etkilerinin incelendiği araştırmalar sınırlıdır.

Wang et al. (2006) sazan juvenilleri ile yaptıkları çalışmada ise, *Bacillus* sp. ve fotosentetik bakteri hücreleri ile oluşturulmuş probiyotik preparatı yemlerle karıştırılarak balığa aktarılmıştır. Sonuç olarak amilaz, lipaz ve total proteaz enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli derecede farklar elde edilmiştir. Bunun yanı sıra büyüme performansının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Makridis et al. (2005) çipura larvalarında yaptığı bir çalışmada, rotifer ve artemia kültürlerinden izole edilen probiyotik bakteriler direkt olarak ortam suyuna ilave edildiğinde yaşama oranının deneme grubunda %86, kontrol grubunda ise %39 olduğu tespit edilmiştir.

Yaygın olarak kullanılan diğer probiyotikler spor üreten *Bacillus* sp. ve mayalardır. *Bacillus* türlerinin tutunma yetenekleri, bakteriyosin üretimi ve bağışıklık sistemini uyarıcı etkisi kanıtlanmıştır (Kesarcodi-Watson et al., 2008). Kumar et al. (2006) çin sazanı (*Labeo rohita*) üzerinde *Bacillus subtilis* katkılı yem ile yapılan çalışmada deneme sonunda %87.50 yaşama oranı ve %35.5 ağırlık artışı kontrol grubuna göre göreceli olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca deneme grubu *Aeromonas hydrophila* patojeni ile mücadele ederken, kontrol grubunda bu patojen bakteriyi inhibe edebilmek için kimyasal maddeler kullanıldığı bildirilmiştir.

Kesarcodi-Watson et al. (2008) yaptığı bir çalışmada demir için rekabet deniz bakterilerinde önemli bir faktör olarak rapor edilmiştir. Demir bağlayan maddeler, sideforlar, mikrobiyal gelişim için uygun demirin sağlanmasına izin verir. Probiyotiklerin sidefor üretimi, sınırlı demir şartları altında patojen bakterileri demirden mahrum bırakır. Sınırlı demir şartlarında gelişen *Pseudomonas fluorescens*'in kültür süpernatantının *Vibrio anguillarum*'un gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Wang and Xu (2006) sazan juvenilleri ile yaptıkları çalışmada yeme farklı oranlarda *Bacillus* sp. türü probiyotik eklemiş ve bu yemle beslenen gruplarda kontrol grubuna göre larval gelişim, yem değerlendirme ve sindirim enzimleri aktivitesinde önemli farklılıklar elde edilmiştir.

Larva için sağlık ve yararlı mikrobiyal bir ortam hazırlamak oldukça önemlidir. Bakım yapılan tanklarda oluşan bakterilerin giderilmesi ya da kontrol edilmesi amacıyla yapılan antimikrobiyal malzemelerin kullanılması büyük sorunlara neden olabilir. Akuakültürde probiontların büyük bir potansiyele sahip olması bu sebepten dolayıdır. Yinede probitoiklerin akuakültürde ki kullanımıyla alakalı birçok sorunun cevabı hala yoktur. Eğer etkili ise nasıl işlem görürler? Larvaların güçsüz olduğu, stres altında bulundukları bir yerde nasıl bir rol oynarlar? Probiyotikler patojenik olabilirler mi? Örneğin *Vibrio alginolyticus* bir probiyotik olarak görülsede aynı bakterinin farklı türleri karideslerde (*Penaeus vannemei*, *Penaeus monodon*) ve levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında vibriosise neden olmaktadır. Bundan dolayı probiyotik bakteri seçilirken, canlıda var olan ve ya canlının bulunduğu ortamdan alınan potansiyel probitoiklerin daha verimli olabilecekleri düşünülmektedir. Konuyla ilgili daha fazla çalışma yapılmasının ihtiyacı vardır. Bkz. Tablo 5.1’de biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılacak probiyotiklerin nereden elde edildikleri gösterilmiştir, bu şekilde potansiyel probiyotiklerin de elde edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Çizelge 5.1. Balıklarda kullanılan probiyotikler

| <b>Tür</b>                                            | <b>Kullanılan Probiyotik</b>                                                                         | <b>Uygulama Yöntemi</b>     | <b>Literatür</b>               |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Atlantik Morinası<br>( <i>Gadus morhua</i> )          | <i>Carnobacterium divergens</i>                                                                      | Kuru Yeme Ekleme            | Gildberg ve dig., 1997         |
| Kanal Kedi Balığı<br>( <i>Ictalurus punctatus</i> )   | <i>Bacillus</i> sp.                                                                                  | Kültür Ortamına             | Queiroz ve Boyd, 1998          |
| Kalkan<br>( <i>Scophthalmus maximus</i> )             | <i>Lactobacillus helveticus</i>                                                                      | Kültür Ortamına             | Gatesoupe, 1999                |
| Gökkuşağı Alabalığı<br>( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) | <i>Pseudomona</i> ssp                                                                                | Kuru Yeme Ekleme            | Spanggaard ve dig., 2001       |
| Yılan balığı<br>( <i>Anguilla anguilla</i> )          | <i>Enterococcus faecium</i> ,<br><i>Bacillus toyoi</i>                                               | Kuru Yeme Ekleme            | Chang ve Liu., 2002            |
| Cipura<br>( <i>Sparus aurata</i> )                    | <i>Lactobacillus</i> spp.                                                                            | Canlı yeme, Kültür Ortamına | Suzer ve dig., 2008            |
| Kılıçkuyruk<br>( <i>Xiphophorus helleri</i> )         | <i>Streptomyces</i>                                                                                  | Kuru Yeme Ekleme            | Dharmaraj ve Dhevendaran, 2010 |
| Lumboz lepistes<br>( <i>Poeciliopsis gracilis</i> )   | <i>Lactobacillus casei</i>                                                                           | Canlı yeme                  | Hernandez ve dig., 2010        |
| Afrika kedi balığı<br>( <i>Clarias gariepinus</i> )   | <i>Lactobacillus acidophilus</i>                                                                     | Kuru Yeme Ekleme            | Al-Dohail ve dig., 2009        |
| Lahos<br>( <i>Epinephelus coioides</i> )              | <i>Lactococcus lactis</i>                                                                            | Kuru Yeme Ekleme            | Sun et al., 2012               |
| Dil Balığı<br>( <i>Solea senegalensis</i> )           | <i>Bacillus</i> sp.<br><i>Pediococcus</i> sp.<br><i>Enterococcus</i> sp.<br><i>Lactobacillus</i> sp. | Kuru Yeme Ekleme            | Batista et al., 2015           |
| Zargana<br>( <i>Centropomus undecimalis</i> )         | <i>Bacillus</i> sp.                                                                                  | Canlı yeme                  | Hauville ve dig., 2016         |
| İşkine balığı ( <i>Sciaenops ocellatus</i> )          | <i>Bacillus</i> sp.                                                                                  | Canlı yeme, Kültür Ortamına | Hauville ve dig., 2016         |

Sonuç olarak, bu çalışmada levrek juvenillerinde 4 tür (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Phodopseudomonas palustris*, *Saccharomyces cerevisiae*) içeren bakteriler probiyotik olarak pelet yeme eklenmiş ve sonuçta büyüme parametreleri (ağırlık), Spesifik Büyüme Oranı (SBO) ve alkalın proteaz enzim aktivitesi açısından deneme gruplarında kontrol grubuna göre önemli farklılıklar tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdullah Al-Dohail, M., Hashim, R. and Aliyu-Paiko, M.,** 2011, Evaluating the use of *Lactobacillus acidophilus* as a biocontrol agent against common pathogenic bacteria and the effects on the haematology parameters and histopathology in African catfish *Clarias gariepinus* juveniles, *Aquaculture Research* 42(2):196-209p.
- Anson, M. L.,** 1938, The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of general physiology*, 22(1), 79p.
- Ashraf, A.,** 2000, Probiotics in fish farming. Evaluation of a candidate bacterial mixture. *Vattenbruksinstitutionen. Rapport*, 19p.
- Aubin, J., Gatesoupe, F. J., Labbé, L., Lebrun, L.,** 2005, Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*, 36(8), 758-767.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., Ray, A. K.,** 2002, Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10(2), 109-121p.
- Bairagi, A., Sarkar Ghosh, K., Sen, S. K., Ray, A. K.,** 2004, Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research*, 35(5), 436-446p.
- Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J. L.,** 2006, The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary microbiology*, 114(3-4), 173-186.
- Batista, S., Ozorio, R. O., Kollias, S., Dhanasiri, A. K., Lokesh, J., Kiron, V., Fernandes, J. M.,** 2016, Changes in intestinal microbiota, immune-and stress-related transcript levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fed plant ingredient diets intercropped with probiotics or immunostimulants. *Aquaculture*, 458, 149-157.
- Blaxter, J. H. S., Staines, M. E.,** 1971, Food searching potential in marine fish larvae. In *Fourth European marine biology symposium* (pp. 467-485). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Bradford, M. M.,** 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

### KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

- Cahu, C., Infante, J. Z.**, 2001, Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200(1-2), 161-180.
- Carnevali, O., de Vivo, L., Sulpizio, R., Gioacchini, G., Olivotto, I., Silvi, S., Cresci, A.**, 2006, Growth improvement by probiotic in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*, L.), with particular attention to IGF-1, myostatin and cortisol gene expression. *Aquaculture*, 258(1-4), 430-438.
- Chang, C. I., Liu, W. Y.**, 2002, An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing edwardsiellosis in cultured European eel, *Anguilla anguilla* L. *Journal of Fish Diseases*, 25(5), 311-315.
- Chatain, B.**, 1986, La vessie natatoire chez *Dicentrarchus labrax* et *Sparus auratus*. *Aquaculture*, 53(3-4), 303-311.
- Dendrinis, P., Thorpe, J. P.**, 1985, Effects of reduced salinity on growth and body composition in the European bass *Dicentrarchus labrax* (L.). *Aquaculture*, 49(3-4), 333-358.
- Deplano, M., Diaz, J. P., Connes, R., Kentouri-Divanach, M., Cavalier, F.**, 1991, Appearance of lipid-absorption capacities in larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to the exotrophic phase. *Marine Biology*, 108(3), 361-371.
- Dharmaraj, S., and Dhevendaran, K.**, 2010, Evaluation of *Streptomyces* as a Probiotic Feed for the Growth of Ornamental Fish *Xiphophorus helleri*, *Food Technology and Biotechnology*, 48(4):497 – 504p.
- Diaz, H. F., Beniston, M., and Bradley, R. S.**, 1997, Climatic Change at High Elevation Sites, *Kluwer Acad. Publ.*, Dordrecht, 298 p.
- Dinçkaya, E.**, 1997, Enzimolojiye Genel Bakış: Enzimoloji Konulu Lisansüstü Yaz Okulu Kitabı. *Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir*.
- Eddy, S. D., Jones, S. H.**, 2002, Microbiology of summer flounder *Paralichthys dentatus* fingerling production at a marine fish hatchery. *Aquaculture*, 211(1-4), 9-28.
- El- Haroun, E. R., Goda, A. S., Kabir Chowdhury, M. A.**, 2006, Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 37(14), 1473-1480.

## KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam)

**Fernández, M. F., Boris, S., Barbes, C.,** 2003, Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94(3), 449-455.

**Fishbase,** <https://www.fishbase.org/summary/Dicentrarchus-labrax>, (Erişim tarihi: 11.03.2019)

**Fuller, R.,** 1989, Probiotics in man and animals. *Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378.

**Gatesoupe, F. J.,** 1994, Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio*. *Aquatic living resources*, 7(4), 277-282.

**Gatesoupe, F. J.,** 1999, The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180(1-2), 147-165.

**Gatesoupe, F. J.,** 2002, Probiotic and formaldehyde treatments of *Artemia* nauplii as food for larval pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture*, 212(1-4), 347-360.

**Gildberg, A., Mikkelsen, H.,** 1998, Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immuno-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture*, 167(1-2), 103-113.

**Gomez-Gill, B., Roque, A. and Turnbull, J.F.,** 2000, The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms, *Aquaculture*, 191: 259-270.

**Gözükara, E. M.,** 1997, *Biyokimya 1*. Nobel Tıp Kitabevi.

**Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, T. F.,** 1999, Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a Possible Probiotic Treatment of Fish. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 969-973.

**Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J.,** 2004, Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 233(1-4), 1-14.

**Hauville, M. R., Zambonino- Infante, J. L., Gordon Bell, J., Migaud, H., Main, K. L.,** 2016, Effects of a mix of *Bacillus* sp. as a potential probiotic for Florida pompano, common snook and red drum larvae performances and digestive enzyme activities. *Aquaculture nutrition*, 22(1), 51-60.

## KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

- Irianto, A., Austin, B.**, 2002, Probiotics in aquaculture. *Journal of fish diseases*, 25(11), 633-642.
- Izawa, K.**, 1980, Social behavior of the wild black-capped Capuchin (*Cebus apella*), *Primates*, 21(4), 443–467 p.
- Jafaryan, H., Asadi, R., Bagheri, A.**, 2008, The promotion of growth parameters and feeding efficiency of *Acipenser nudi ventris* larvae by using of probiotic *Bacillus* via bioencapsulation of *Artemia urmiana*. *Resource management, natural, human and material resources for the sustainable development of aquaculture*. *Aquacult, Europe*.
- Johnson, D. W. and Katavic, I.**, 1984, Mortality, growth and swim bladder stress syndrome of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae under varied environmental conditions. *Aquaculture*, 38(1), 67-78.
- Katırcıoğlu, H.** 2001, Gökkuşığı alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M. J., Gibson, L.**, 2008, Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1), 1-14.
- Kuleaşan, H., Çakmakçı, M. L.**, 2002, Effect of reuterin, produced by *Lactobacillus reuteri* on the surface of sausages to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. *Food/Nahrung*, 46(6), 408-410.
- Kumar, R., Mukherjee, S. C., Prasad, K. P., Pal, A. K.**, 2006, Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.). *Aquaculture Research*, 37(12), 1215-1221.
- Lara-Flores, M., Olvera-Novoa, M. A., Guzmán-Méndez, B. E., López-Madrid, W.**, 2003, Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216(1-4), 193-201.
- Lilly D.M. and Stillwell R.H.**, 1965, Growth promoting factors produced by probiotics, *Science* 147 : 747-8

## KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

**Loy, A., Cataudella, S. and Corti, M.,** 1996, Shape changes during the growth of sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Teleostea: Perciformes), in relation to different rearing conditions, An application of the Thin-Plate Splines regression analysis, In: Marcus, L.F, Corti, M., Loy, A., Naylor, G.J.P., Slice, D.E. (Eds.), *Advances in Morphometrics*, NATO ASI series A, No 284. Plenum Press, New York; 399-40 ppp.

**Macey, B. M., & Coyne, V. E.,** 2005, Improved growth rate and disease resistance in farmed *Halotilapia midas* through probiotic treatment. *Aquaculture*, 245(1-4), 249-261.

**Makridis, P., Martins, S., Vercauteren, T., Van Driessche, K., Decamp, O., Dinis, M. T.,** 2005, Evaluation of candidate probiotic strains for gilthead sea bream larvae (*Sparus aurata*) using an in vivo approach. *Letters in Applied Microbiology*, 40(4), 274-277.

**Mazurkiewicz, J., Przybyl, A., Mroczek, W.,** 2005, Supplementing the feed of common carp (*Cyprinus Carpio* L.) juveniles with the biosaf probiotic. *Archiwum Rybactwa Polskiego= Archives of Polish Fisheries*, 13(2), 171.

**Olafsen, J. A.,** 2001, Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture*, 200(1-2), 223-247.

**Panigrahi, A., Kiron, V., Puangkaew, J., Kobayashi, T., Satoh, S., Sugita, H.,** 2005, The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 243(1-4), 241-254.

**Parker, R. B.,** 1974, Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*, 29, 4-8.

**Person-Le Ruyet, J.,** 1989, The hatchery rearing of turbot larvae (*Scophthalmus maximus*). *Cuad. Area Cienc. Mar. Semin. Estud. Galegos*, 3, 57-91.

**Planas, M., Pérez-Lorenzo, M., Hjelm, M., Gram, L., Fiksdal, I. U., Bergh, Ø., Pintado, J.,** 2006, Probiotic effect in vivo of *Roseobacter* strain 27-4 against *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* infections in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*, 255(1-4), 323-333.

**Queiroz, J. F., Boyd, C. E.,** 1998, Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29(1), 67-73.

**Ramirez, R. F., Dixon, B. A.,** 2003, Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, 227(1-4), 417-426.

## KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

**Reid, R.D., Morrin, L.I., Pipe, A.L., Dafoe, W.A., Higginson, L.A., Wielgosz, A.T., McDonald, P.W., Plotnikoff, R.C., Courneya, K.S., Oldridge, N.B., Beaton, L.J., Papadakis, S., Slovinc D'Angelo M.E., Tulloch, H.E. and Blanchard, C.M.,** 2006, Determinants of physical activity after hospitalization for coronary artery disease: The tracking exercise after cardiac hospitalization (TEACH) study, *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation* : Official Journal of the European Society of Cardiology, 13:529–537 p.

**Rengpipot, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P.,** 1998, Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167(3-4), 301-313.

**Ringø, E., & Gatesoupe, F. J.,** 1998, Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160(3-4), 177-203.

**Ringø, E., Strøm, E., Tabachek, J. A.,** 1995, Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquaculture Research*, 26(10), 773-789.

**Riquelme, C., Araya, R., Vergara, N., Rojas, A., Guaita, M., Candia, M.,** 1997, Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture*, 154(1), 17-26.

**Robertson, P. A. W., O'Dowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B.,** 2000, Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Aquaculture*, 185(3-4), 235-243.

**Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Carnevali, O.,** 2006, Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(2), 167-177.

**Saka, Ş. and Firat, K.,** 2000, Reproductive Biology and Culture Techniques of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.), Republic of Turkey, The Ministry of Agriculture and Rural Affairs, General Directorate of Agricultural Research, Seminar on Reproductive Biology and Culture Techniques of Commercial Fish Species, Ankara, 57–66 p.

**Shariff, M., Yusoff, F. M., Devaraja, T. N., Rao, P. S.,** 2001, The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquaculture Research*, 32(3), 181-187.

**Skjermo, J., Vadstein, O.,** 1998, Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. *Aquaculture*, 177(1-4), 333-343.

## KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

**Song, S. K., Beck, B. R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H. D., Ringø, E.,** 2014, Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 40(1), 40-48.

**Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Sick, E.B., Pipper, C.B., Martinussen, T., Slierendrecht, W.J. and Gram, L.,** 2001, The probiotic potential against vibriosis of the indigenous microflora of rainbow trout, *Environ Microbiol.*, 3(12):755-65.

**SUN, Y. Z., YANG, H. L., MA, R. L., Song, K., LI, J. S.,** 2012, Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 18(3), 281-289.

**Suzer, C., Çoban, D., Kamaci, H. O., Saka, Ş., Firat, K., Otgucuoglu, Ö., Küçüksari, H.,** 2008, *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture*, 280(1-4), 140-145.

**Tovar-Ramirez, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F. J., Vázquez-Juárez, R., Lésel, R.,** 2002, Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 204(1-2), 113-123.

**Tovar-Ramirez, D., Infante, J. Z., Cahu, C., Gatesoupe, F. J., Vázquez-Juárez, R.,** 2004, Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Aquaculture*, 234(1-4), 415-427.

**Trevor Palmer, B.A.,** 1985, *Understanding Enzymes*, Second Edition. Ellis Horwood Limited, 1985.

**Türkiye İstatistik Kurumu** “Kültür Balıkları Üretim Miktarı” [http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab\\_id=696](http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=696) (Erişim tarihi: 11 Şubat 2019)

**Uçal, O., Benli, H. A.,** 1993, Levrek balığı ve yetiştiriciliği. *Bodrum: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Su Ürünleri, Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Seri A, Yayın, (9).*

**Vaseeharan, B., Lin, J., Ramasamy, P.,** 2004, Effect of probiotics, antibiotic sensitivity, pathogenicity, and plasmid profiles of *Listonella anguillarum*-like bacteria isolated from *Penaeus monodon* culture systems. *Aquaculture*, 241(1-4), 77-91.

### KAYNAKLAR DİZİNİ ( devam )

- Villamil, L., Tafalla, C., Figueras, A., Novoa, B.,** 2002, Evaluation of immunomodulatory effects of lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(6), 1318-1323.
- Vine, N. G., Leukes, W. D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., Hecht, T.,** 2004, Competition for attachment of aquaculture candidate probiotic and pathogenic bacteria on fish intestinal mucus. *Journal of fish diseases*, 27(6), 319-326.
- Walter, P., Gilmore, R., Blobel, G.,** 1984, Protein translocation across the endoplasmic reticulum. *Cell*, 38(1), 5-8.
- Wang, Y. B.,** 2007, Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 269(1-4), 259-264.
- Wang, Y.B., Xu, Z.R.,** 2006. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 127, 283–292.
- Yaman, F., Esendal, Ö.,** 2004, Balıklarda probiyotik kullanımı. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2(06), 1-18.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaei, M. H., Takami, G. A., Lovett, D. L., Mirvaghefi, A. R., Shakouri, M.,** 2006, The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture*, 252(2-4), 516-524.



## TEŞEKKÜR

Lisans ve Lisansüstü eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman açık yüreklilik ve içten bir istekle, bildiği her konuda eğitip bu günlere gelmemde çok büyük emekleri olan çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Cüneyt SUZER'e,

Denemelerim boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen, her an takım halinde maddi manevi her zaman yanımda olan doktora öğr. Oğuzhan TAKICAK ve yüksek lisans öğrencileri Gökmen YOLDAŞ, İbrahim KÖSE ve Ozan OKTAY'a,

Tez çalışmalarım ve yazımının en başından beri yanımda olan, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen sevgili Selin YALINTÜRK'e,

Bu günlere gelmemde üzerimde sonsuz emekleri geçen, benim için en iyisini isteyen, her zaman verdiğim kararların arkasında olan, kararlı ve güçlü bir karaktere sahip olmamı sağlayan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen AİLEME sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Arda AYDIN

Nisan, 2019



## **ÖZGEÇMİŞ**

T.C. vatandaşı olan Ahmet Arda AYDIN, 02 Ocak 1988 tarihinde İzmir’de doğdu. İlköğretim ve lise eğitimini İzmir’de tamamladıktan sonra 2007 yılında Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi’ni kazandı. 2011’de lisans eğitimini tamamlayan Aydın, Ocak 2012’de Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü’nde yüksek lisans eğitimine başladı. Aydın, daha önce sektör dışında iki farklı firmada iş deneyimi yaşamıştır.