



Gökkuşuğu Alabalığı Yemlerine Probiyotik ve Antibiyotik İlavelerinin Balıkların Sağlık Karakteristikleri Üzerine Etkileri

Ekrem Şanver Çelik^{1*}, Sebahattin Ergün², Sevdan Yılmaz²

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimler Bölümü, 17100 Çanakkale, Türkiye

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği, 17100 Çanakkale, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş 25 Nisan 2018
Kabul 03 Temmuz 2018

Anahtar Kelimeler:

Gökkuşuğu alabalığı
Probiyotik
Antibiyotik
Sağlık karakteristikleri
Kan

*Sorumlu Yazar:

E-mail: sanver_celik@comu.edu.tr

Ö Z

Bu çalışmada yeme antibiyotik (amoksisilin+klavulanik asit) ve probiyotik ilavesinin gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bazı immünolojik ve serum biyokimyasal sağlık karakteristikleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Yeme ilave edilen antibiyotik veya probiyotik katkılarının lizozim aktivitesi, myeloperoksidaz aktivitesi, serum total protein, albümin, globülin, trigliserit ve kolesterol değerleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Antibiyotik ile beslenen balıkların serum glikoz düzeyleri kontrole göre önemli oranda artmıştır. Bununla birlikte antibiyotik ile beslenen balıkların GOT değeri kontrole göre önemli oranda azalmıştır. Ayrıca LDH ve ALP değerleri antibiyotik ve probiyotik ilavesi ile kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma, tek bir deneysel model olup farklı balık türlerinde ve farklı balık patojenlerinde karşı probiyotik kullanımı farklı dozlara veya zamana bağlı olarak değişebilir. Bu nedenle bu çalışma çeşitli kan parametrelerinin değerlendirilmesi açısından diğer çalışmalara ışık tutmaktadır.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(9): 1184-1190, 2018

The Effects of Dietary Probiotic and Antibiotic Supplementations on Health Characteristics of Rainbow Trout

ARTICLE INFO

Research Article

Received 25 April 2018
Accepted 03 July 2018

Keywords:

Rainbow trout
Probiotic
Antibiotic
Health characteristics
Blood

*Corresponding Author:

E-mail: sanver_celik@comu.edu.tr

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the effect of dietary antibiotic (amoxicillin/clavulanic acid) and probiotic on the some immunological and serum biochemical health characteristics of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Lysozyme activity, myeloperoksidase activity, total protein, albumin, globulin, triglyceride and cholesterol of rainbow trout was not affected by any of the dietary additives tested. The serum glucose in antibiotic group was significantly higher than the control group. However, the GOT level in antibiotic group was lower than the control group. In addition, compared with the control group, the LDH and ALP were decreased significantly in the antibiotic and probiotic treatments. This study is a single experimental model, and further investigations on the use of different concentrations of probiotic in different fish species and different fish pathogens are encouraged in terms of the evaluation of various blood parameters, since it is likely that the responses of fish seem to be subject to change in relation to different doses or time.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i9.1184-1190.1984>

Giriş

Ülkemizde iç sularda yetiştiriciliği en çok yapılan balık türü gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dir (TÜİK, 2015). Su ürünleri yetiştiriciliği yoluyla elde edilen üretimin giderek artması ve yoğun üretim yapılması stres ve hastalıklara neden olmakta ve sonuçta ekonomik kayıplar yanında çevre ve tüketici yönünden istenmeyen antibiyotik ve diğer kimyasalların kullanımını arttırmaktadır (Zilberg ve ark., 2010; Caruso ve ark., 2013; Yılmaz ve ark., 2016). Antibiyotikler uzun yıllar boyunca kültür balıklarının yemlerinde hastalıkların tedavisinde ve büyüme performansının artırılmasında yaygın olarak kullanılmıştır (Serrano, 2005). Ancak günümüzde balık ve diğer hayvanların üretiminde antibiyotiklerin kullanımı birçok ülkede yasaklanmıştır (Ng ve Koh, 2016). Mevcut durumda antibiyotik kullanımına getirilen kısıtlamalar nedeniyle alternatif yem katkılarının değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Tedavi amaçla da olsa antibiyotik kullanımı bakterilerin antibiyotiğe olan direncini arttırmaktadır. Bununla birlikte üretimin farklı dönemlerinde balıklardan ve balıkların maruz kaldığı uygulamalardan kaynaklanan sorunlar, üretimi ve işletme ekonomisini doğrudan etkilemektedir. Özellikle işletmelerde stok yoğunluğunun fazla olması, su kalitesindeki değişimler, mevsim değişimlerinden kaynaklanan hastalıklar, balık yetiştiriciliğinin en önemli sorunlar arasındadır (Ellis ve ark., 2002; North ve ark., 2006). Bu nedenle sentetik ürünlere alternatif olarak yeme çeşitli katkı maddelerinin ilave edilmesi günümüzde araştırılmakta olan ve araştırılması gereken güncel bir konudur. Balık yemlerinde antibiyotiklere karşı alternatif katkılar arasında tıbbi bitkiler (Yılmaz ve ark., 2012, 2013, 2014, 2016; Yılmaz ve Ergün, 2014), organik asitler (Ng ve Koh, 2016; Yılmaz, 2017), probiyotikler (Mohapatra ve ark., 2013; Pérez-Sánchez ve ark., 2014; Yılmaz, 2017), algler (Nakagawa ve Montgomery, 2007), kitinler (Nakagawa, 2007), bitkisel saponinler (Francis ve Becker, 2007) ve nükleotidler (Delbert ve ark., 2007) yer almaktadır. Balık yemine probiyotik ilavesi de son yıllarda balık yetiştiriciliğinde çalışılmakta olan bir konudur. Yeme ilave edilen probiyotiklerin balıkların büyüme performansına, besin değerine, bağışıklık sistemine ve hastalık direnci üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Nayak, 2010; Pérez-Sánchez ve ark., 2014; Yılmaz, 2017).

Balıklarda yapılan çalışmalarda *B. subtilis* probiyotiğinin bağırsak florasını düzenleyici ve büyüme performansı ile bağışıklığı artırıcı etkisi bildirilmiştir (Wang ve ark., 2008; Nayak, 2010; Mohapatra ve ark., 2013; Yılmaz, 2017). Ayrıca spor üretmeleri depolama süresinin uzun olmasını ve bu sayede *Bacillus* türlerinin diğer probiyotiklerden avantajlı olmalarını sağlamaktadır (Hong ve Cutting 2005). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda spor üreterek çoğalan probiyotik bakterilerden sadece *Bacillus* spp. JB-1 türünün alabalık yemlerine ilave edilerek *L. garvieae* 29-99 patojen bakterisine karşı balıkların yaşama oranını arttırdığı bildirilmiştir (Brunt ve ark., 2007). Ayrıca farklı *Bacillus subtilis* probiyotik bakterisi suşlarının gökkuşağı alabalıklarında büyüme performansını, bağışıklık parametrelerini veya hastalık direncini geliştirdiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Newaj-Fyzul ve ark.,

2007; Park ve ark., 2017; Yılmaz 2017). Ancak, aynı tür bakteri olsa da farklı suşların balıklar üzerindeki etkileri farklı olabilmektedir. Literatürde *Bacillus subtilis* SY-BS19 probiyotik bakterisi ilave edilerek gökkuşağı alabalıklarının sağlık karakteristikleri üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma kapsamında *B. subtilis* SY-BS19 probiyotik bakterisinin ve amoksisilin+klavulanik antibiyotiğinin gökkuşağı alabalıklarının bazı immünolojik ve serum biyokimyasal kan parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme Balıkları ve Yem

Deneme Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi Canlı Kaynaklar Ünitesi Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada balık materyali olarak 40,20±1,12 g ağırlığında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Balıklar üniversite yakınındaki Keskin Alabalık (Evciler Köyü/Bayramiç) firmasından temin edilmiştir. Deneme için balıklar iki hafta süre ile deneme koşullarına adapte edilmiştir. Denemede 9 adet 140 L hacmindeki fiberglas tank kullanılmıştır. Deneme sistemi kapalı devre olup günlük %10-15 oranında su değişimi yapılmıştır. Denemelerde ticari ekstrude alabalık yemi (Ecobio: %47 Protein/%20 yağ) öğütüldükten sonra kullanılmıştır. PBS içerisinde hazırlanmış *Bacillus subtilis* SY-BS19 sporları (nihai üründe:10⁷ cfu g⁻¹) yemlere emdirilmiştir (Yılmaz, 2017). Bu doz literatürde *Bacillus subtilis* probiyotik bakterisinin gökkuşağı alabalıklarında 14 gün gibi kısa bir sürede etki göstermesi nedeniyle seçilmiştir (Newaj-Fyzul ve ark., 2007). Ayrıca 28 günlük besleme denemesi süresi, *Bacillus subtilis* probiyotiğinin balık bağırsaklarına 28-30 gün içerisinde tamamıyla yerleşmesi nedeniyle seçilmiştir (Liu ve ark., 2001; Yılmaz, 2017). Spor oluşturmak için *B. subtilis* hücreleri Manganez Sülfat (MnSO₄) içerikli Nutrient Agar besi ortamında 35°C de 5 gün inkübasyona bırakılmış ve devamında agar üzerinden izole edilen koloniler 80°C de 15 dakika ısıtılıp işleme maruz bırakılmıştır (Odlag ve ark., 1981). Devamında spor yoğunluğu 10¹⁰/mL olacak şekilde PBS içerisinde hazırlanmıştır. Antibiyotik deneme grubu için yeme Amoksisilin+klavulanik asit ilave edilmiştir. Antibiyotiğin dozu 8,75 mg/kg canlı ağırlık/gün esasına göre ticari firmanın (NOROCLAV) bildirdiği gibi uygulanmıştır.

Balıklardan Kan Örneklerinin Alınması ve Analizleri

Deneme sonunda her tanktan 3 adet olmak üzere toplamda 9 balık/grup olacak şekilde balıklardan kan alınmıştır. Balıklar deneme tanklarından rastgele hızlıca yakalandıktan sonra, en kısa sürede doğal bir bayıltıcı olan ve yaygın olarak kullanılan karanfil yağı (20 mg/L) bulunan kova içerisinde bayıltılmıştır (Iversen ve ark., 2003). Bayıltma işleminde sonra balıkların anüs yüzgecinin hemen arkası alkolle temizlenmiş (kana mukoza karışmasını önlemek amacıyla) ve sonra plastik enjektör yardımıyla kaudal venadan kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri K₃EDTA ve jelli serum tüpleri içerisinde pay edilmiş ve hematolojik, immünolojik ve serum

biyokimyasal analizleri yapılmıştır. Serum analizleri için jelli tüplere alınan kan 5000 g devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum – 80°C’de analiz edilinceye kadar saklanmıştır.

İmmunolojik Analizler

Lizozim aktivitesi: Lizozim aktivitesinin tespit edilmesi için Nudo ve Catap (2011) bildirdikleri metot kullanılmıştır. Kısaca 25 µl serum örneği 175 µl *Micrococcus luteus* süspansiyonuna (pH 5,8) eklenmiştir ve 96 plakada örnekler 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Okumalar 450 nm de multiskan mikropilaka okuyucuda yapılmış ve standart kullanılarak (L6876 Sigma, Lysozyme from chicken egg white) µg/mL olarak standart eğriden hesaplanmıştır.

Myeloperoksidaz aktivitesi: Myeloperoksidaz aktivitesi literatürde bildirilen metotlarda bazı değişiklikler yapılarak analiz edilmiştir (Quade ve Roth 1997; Kumari ve Sahoo 2006). Analiz için 10 µl serum örneği 90 µl HBSS solüsyonu ile seyreltilmiştir. Devamında bu karışıma 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride ve hidrojen peroksit içeren solüsyon ilave edilmiş ve reaksiyon 2 dakika sonra 35 µl sülfirik asitle durdurulmuştur. Okumalar 450 nm’ de multiskan mikropilaka okuyucuda yapılmıştır. Sonuçlar 450 nm olarak veya sülfirik asit ilave edilmeden kinetik olarak devam ettirilip U/L olarak verilmiştir.

Biyokimyasal Analizler

Kan serumu ayrıldıktan sonra analizler kit (Bioanalytic) kullanılarak spektrofotometrede (Optizen POP UV/VIS) yapılmıştır (Yılmaz ve Ergün, 2012). Denemede glikoz, albumin, globulin, toplam protein, trigliserit, kolesterol, GOT, GPT, LDH ve ALP biyokimyasal parametreleri belirlenmiştir.

İstatistiksel Analizler

Deneme gruplarından elde edilen verilere tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve varyansların normal dağılım göstermesi ve homejen olması durumunda Tukey çoklu karşılaştırma testi, homojen olmayan varyansların karşılaştırılmasında Tamhane testi ve normal dağılım göstermeyen ancak homejen olan varyansların karşılaştırılmasında sıralamalı tek-yönlü varyans analizi olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 19 (IBM SPSS Statistics 19) programı kullanılarak $P < 0,05$ önemlilik seviyesinde değerlendirilmiştir.

Bulgular

Bu çalışmada yeme ilave edilen antibiyotik veya probiyotik katkılarının immünolojik parametrelerden lizozim ve myeloperoksidaz enzim aktiviteleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 1, $P > 0,05$). 28 günlük besleme denemesi sonunda serum biyokimyasal parametrelerdeki değişimler Çizelge 2 de gösterilmiştir. Antibiyotik ile beslenen balıkların serum glikoz düzeyleri kontrole göre önemli oranda artmıştır ($P < 0,05$). Kontrole göre fark olmamakla birlikte probiyotik ile beslenen balıkların serum protein ve

globülin düzeyleri antibiyotikle beslenen balıklarınkine göre önemli oranda artış göstermiştir ($P < 0,05$). Serum TRIG değerlerinin deneme grupları arasında bener olduğu belirlenmiştir ($P > 0,05$). Ancak serum COL değerleri probiyotik ve antibiyotik grupları arasında önemli derecede farklılık göstermiştir ($P < 0,05$). Serum GPT değerleri kontrole göre değişim göstermezken ($P > 0,05$), antibiyotik ile beslenen balıkların GOT değeri kontrole göre önemli oranda azalmıştır ($P < 0,05$). Ayrıca LDH ve ALP değerleri antibiyotik ve probiyotik ilavesi ile kontrole göre azaldığı belirlenmiştir ($P < 0,05$).

Tartışma ve Sonuç

Bacillus ailesi gram pozitif çubuk şeklinde tek endosporlu bakterilerle temsil edilmektedir. Bu türler arasında *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. clausii* ve *B. licheniformis* probiyotik olarak yaygın kullanıma sahiptir (Wang ve ark., 2008). Balıklarda yapılan çalışmalarda *B. subtilis* probiyotikliğinin bağırsak florasını düzenleyici ve büyüme performansı ile bağırsaklığı artırıcı etkisi bildirilmiştir (Wang ve ark., 2008; Nayak, 2010; Mohapatra ve ark., 2013). Ayrıca spor üretmeleri depolama süresinin uzun olmasını ve bu sayede *Bacillus* türlerinin diğer probiyotiklerden avantajlı olmalarını sağlamaktadır (Hong ve Cutting, 2005). Proje kapsamında *B. subtilis* probiyotik bakteri türünün seçilme nedeni gökkuşağı alabalıklarında yapılan çalışmalarda etkili olmasıdır. Örneğin, gökkuşağı alabalıklarının yemine *B. subtilis* AB1 bakterisi eklendiğinde immünolojik parametrelerden respiratöri burst, lizozim ve toplam peroksidaz (myeloperoksidaz) aktivitelerinde önemli oranda artış tespit edilmiş ve alabalıkların *Aeromonas sp.* bakterisine karşı direnç kazandıkları bulunmuştur (Newaj-Fyzul ve ark., 2007). Ancak *Bacillus subtilis* SY-BS19 probiyotik ilavesinin balıkların sağlık karakteristikleri ile ilgili bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Proje kapsamında yeme ilave edilen antibiyotik ve probiyotik katkılarının lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Balıklarda lizozim, serum içerisinde, mukus tabakasında ve özellikle lökosit bakımından zengin karaciğer, dalak ve mide gibi organlarda bulunmaktadır. Monosit, makrofaj ve nötrofiller lizozimin ana kaynağını oluşturmaktadırlar (Ellis, 1990). Lizozim antibakteriyal (özellikle Gram pozitif bakterilerde) özelliğe sahiptir ve spesifik substratlarını N-asetilglikosamin ve N-asetilmuramik oluşturmaktadır (Ossermann ve Lawlor, 1966). Gram (-) bakterilere direk olarak zarar vermez ancak, komplementler ve diğer enzimler bakterinin hücre duvarını erittikten sonra etkili olur (Yano, 1996). Direk olarak etkide lizozim kan serumunda bulunan ve bakteriler üzerine tesir ederek bunları fagositoza hazırlayan bir madde gibi rol oynar veya direk olarak polimorfonükleer lökositler ile makrofajları aktive eder (Ellis, 1990). Katyonik bir protein olan myeloperoksidaz; nötrofillerin fagolizozomlar içerisinde mikroorganizmaların öldürülme miktarı hakkında bilgi vermektedir (Swicki ve ark., 1993; Quade ve Roth, 1997). Ayrıca myeloperoksidaz mantarların hücre içi ölümünde de önemli rol üstlenmektedir (Arceci ve ark., 2006).

Çizelge 1 Deneme gruplarına göre immünolojik bulgulardaki değişimler

Table 1 Changes in immunological results according to experimental groups

İmmunolojik Parametreler	Kontrol	Antibiyotik	Probiyotik
Lizozim aktivitesi (µg/mL)	4,81±0,62	5,19±0,80	6,37±0,79
Myeloperoksidaz aktivitesi (OD 450 nm)	0,29±0,05	0,32±0,05	0,29±0,03

n=9, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır.

Çizelge 2 Deneme gruplarına göre serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimler

Table 2 Changes in serum biochemical results according to experimental groups

Serum Biyokimyası Parametreleri	Kontrol	Antibiyotik	Probiyotik
GLU (mg/dL)	143,29±8,25 ^b	179,46±11,07 ^a	151,66±10,50 ^{ab}
Tprot (g/dL)	8,56±0,43 ^{ab}	8,10±0,42 ^b	9,61±0,36 ^a
ALB (g/dL)	0,65±0,03	0,66±0,04	0,64±0,04
GLO (g/dL)	7,91±0,42 ^{ab}	7,44±0,40 ^b	8,97±0,35 ^a
TRIG (mg/dL)	46,91±2,81	39,43±4,21	44,02±4,50
COL (mg/dL)	269,39±9,70 ^{ab}	306,73±19,95 ^b	253,45±11,79 ^a
GOT (U/L)	81,57±4,89 ^a	58,75±6,26 ^b	65,00±6,98 ^{ab}
GPT (U/L)	11,25±1,15	8,50±0,55	11,78±1,01
LDH (U/L)	604,84±33,92 ^a	470,18±42,05 ^b	447,34±28,44 ^b
ALP (U/L)	162,88±15,29 ^a	92,67±11,25 ^b	94,49±11,29 ^b

n=9, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır. GLU: Glikoz, Tprot: Toplam protein, ALB: Albumin, GLO: Globulin, TRIG: Trigliserit, COL: Kolesterol, ALP: Alkalen Fosfat, GOT: Glutamik Oksaloasetik Transaminaz, GPT: Glutamik Pirüvik Transaminaz, LDH: Laktat Dehidrogenaz

Bu çalışmada antibiyotikli yemler ile beslenen alabalıklarda serum glikoz değerinin arttığı görülmüştür. Bilindiği gibi serum glikoz spesifik olmayan bir stres indikatörü olarak balık çalışmalarında kullanılmaktadır (Heath, 1995). Özellikle balıkların ellenmesinde, hastalıklarda, oksijen azlığında, taşınmasında ve yoğun stoklamada artış göstermektedir (MCdonald ve Milligan, 1992). Artan glikoz miktarı kaslarda; kortizol ve karaciğerde; adrenalin ve stres hormonlarını tetiklemektedir (Morgan ve Iwama, 1997). Herhangi bir stres etkisi dışında glikoz beslenmeyle de artmaktadır. Beslenme sonrası vücuda alınan enerji kaynağı glikoz karaciğerde ve kasta glikojen, adipoz dokuda trigliserid olarak depolanmaktadır (Adam ve Ardiçoğlu, 2002). Bu nedenle antibiyotik grubunda artan serum glikoz düzeyleri direkt olarak stresle ilişkilendirilmesi doğru olmamakla birlikte etki mekanizmasının ileriki çalışmalarda araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Balıklarda artış gösteren total protein, albumin and globulin oranları da güçlü bir innate immune cevabın göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Wiegertjes ve ark.,1996). Kan proteinleri; albumin, globulinler, immunoglobulinler (antikorlar), lipitleri taşıyan lipoproteinler (HDL ve LDL), bakırı ve kalsiyumu bağlayan seruloplazmin, kalsiyum bağlayan vitellogenin, metal bağlayan transferrin, anorganik iyodu bağlayan iyoduroforin, hormon bağlayan proteinler ve kanın pıhtılaşmasını sağlayan fibronojen ve protrombinden oluşmaktadır (MCdonald ve Milligan, 1992; Başusta, 2005; Timur, 2006). Balıklarda plazma protein konsantrasyonunun memelilere oranla daha az stabil olduğu bilinmektedir. Balıklarda ellenme ve benzeri stres kaynakları, uzun süreli açlık durumları sonucu plazma proteini baskılanmaktadır (Satchell, 1991; MCdonald ve Milligan, 1992). Protein miktarındaki değişimler ayrıca kötü su ve besleme koşullarında indikatör olarak değerlendirilmektedir (Morgan ve Iwama, 1997). Birçok balıkta albumin ve globulinler ana plazma

proteinlerindedirler. Ancak balıklarda albuminler, globulinlere oranla daha az bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır (Gunter ve ark.,1961). Albumin serbest yağ asitlerinin taşınmasında ve osmotik basıncın kontrol edilmesinde görevlidir (Satchell, 1991; MCdonald ve Milligan, 1992). Globulinin demirin organizma içerisindeki taşınmasında (Fange, 1986) ve cinsiyet hormonlarının bağlanmasında önemli rolleri vardır (Janz ve Weber, 2000). Bu çalışmada kontrol grubuna göre antibiyotik veya probiyotik gruplarının önemli bir etkisi olmasa da en yüksek total protein ve globulin değerlerinin probiyotik grubunda olduğu belirlenmiştir. İleriki çalışmalarda daha uzun süre besleme denemeleri ile probiyotik veya antibiyotik ilavesinin balıkların serum protein değerleri üzerine nasıl etki edeceğinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Balıklarda kan yağları fosfolipitleri, yağ asitleri ve kolesteroler ile onların esterlerini içermektedir. Özellikle fosfolipidler ve trigliseritler en bol bulunan yağ sınıflarıdır (MCdonald ve Milligan, 1992). Balıklarda fosfolipidler serbest yağ asitlerinin emilimini arttırmakta ve daha iyi bir gelişim sağlamaktadır (Geurden ve ark., 1997; Hadas, 2003). Trigliseritler yağ depolarında ve besinlerdeki en çok bulunan yağ kaynağı olup, enerjinin taşınmasında ve depolanmasında görevlidir. Kolesterol ise tüm hücre membranları için esansiyel bir komponent olup, steroid hormonları ve safra asit biyosentezlerine öncülük eder (Gaw ve ark., 1999; Mayes ve Botham, 2003a, 2003b).

Yağlar suda çözünmediklerinden tüm omurgalı hayvanlarda ve böceklerde plazma içerisinde proteinler tarafından taşınmakta ve yağların bu şekli lipoprotein olarak adlandırılmaktadır (Jonas, 2002). Lipoproteinler yoğunluklarına göre alt gruplara ayrılırlar. Bunlar; şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) olarak adlandırılmaktadır (Karagül ve ark., 2000). Yağların taşınması balıklarda da

insanlardaki gibi endojen ve eksojen olarak meydana gelir (Sheridan, 1988). Eksojen sistem diyetle alınan yağların karaciğere taşınmasını içermektedir. Bu işlev yine insanlarınkine benzer olarak balıklarda da şilomikronlar tarafından gerçekleştirilmektedir (Babin ve Vernier, 1989; Mehmetoğlu, 2007). Endojen yağlar diyetle değil vücutta sentez edilen yağlar olup, karaciğerde sentezlenir ve periferik dokulara taşınırlar (Ulukaya, 1998). VLDL endojen trigliserid bakımından oldukça zengin olup karaciğerde sentezlenmektedir. Bu lipoprotein görevi karaciğerde sentezlenen trigliserid ve kolesterolü ekstrahepatik dokulara taşımaktır. VLDL organizmada enerji yükü fazla olduğunda artış göstermektedir. LDL, VLDL artışı olarak damar içinde sentezlenmektedir. LDL ekstrahepatik dokuda, karaciğerde ve makrofaj hücrelerinde katabolize edilmektedirler (Babin ve Vernier, 1989; Mehmetoğlu, 2007; Garcia ve ark., 2009). HDL karaciğerde katabolize edilir ve başlıca görevi dokulardan karaciğere kolesterol taşımaktır. Bu olaya ters kolesterol taşınması denir ve safra asitlerinin sentezini arttırmaktadır (Mayes ve Botham, 2003b; Mehmetoğlu, 2007). Balıklarda yağlar enerji ve optimum büyüme için gerekli olmakla birlikte fazlası organlarda depo edilmektedir. Dolayısıyla balık sağlığı olumsuz etkilenecek metabolik dengesizlikler olmaktadır (Luo ve ark., 2005). Bu durum kan yağlarındaki artışla da kendini göstermektedir. Bu çalışmada serum TRIG ve COL değerlerinin probiyotik veya antibiyotik ilavesi ile değişim göstermediği belirlenmiştir. Ancak uzun süreli besleme çalışmalarında meydana gelecek değişimin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Serum enzimlerinden GOT, GPT, CK, LDH ve ALP doku ve organlarda oluşan hasarların göstergeleridir (Campbell, 2004). Balıklarda GOT, GPT, LDH ve ALP karaciğer enzimleri olup karaciğer ile ilgili sorunların teşhisinde değerlendirilmektedir (Francis ve ark., 2002b; Campbell, 2004; Hart ve ark., 2010). Balıkların derisindeki lezyonlarda, kas dokusu ve beyin hasarlarında ise CK ve GOT enzimlerinde artış görülmektedir (Messenger ve ark., 1992; Francis ve ark., 2002b). Ayrıca balıklarda GOT aktivitesindeki artışların hızlı büyüme ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Dunham, 2004). Balıklarda yaş arttıkça da enzimlerde değişimler olabilmektedir. Örneğin ALP artan yaşla azalmaktadır (Stoskopf, 1993). Bununla birlikte yaş veya hastalık dışında serum ALP aktivitesi yemden gelen fosfor miktarıyla ilişkili olarak artış göstermektedir (Eya ve Lovell, 1998). Bu çalışmada probiyotik ilavesi ile beslemenin balıkların karaciğer ile ilgili enzim değerleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ancak antibiyotik ilavesi ile azalan serum karaciğer enzimleri ve balık sağlığı üzerine olan etkilerin daha detaylı araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak 28 gün boyunca probiyotik veya antibiyotik ilavesi ile beslenen alabalıkların bazı bağışıklık ve serum biyokimyasal parametrelerindeki değişimlerin incelendiği bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha uzun süreli beslenme denemelerine ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir (proje no: FHD-2017-1357). Çalışma süresince bizden yardımlarını esirgemeyen Çağatay BAYİZİT'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Adam B, Ardiçoğlu Y. 2001. Klinik Biyokimya Analiz Metotları (1. Baskı). Atlas Kitapçılık, Ankara. 415 p.
- Babin PJ, Vernier JM. 1989. Plasma Lipoproteins in Fish. Journal of Lipid Research, 30: 467-489.
- Başusta GA. 2005. Fish Hematology and Hematological Techniques. In: Karatas, M., Ed. Research Techniques in Fish Biology (in Turkish). Nobel Publications, Ankara, 275-300.
- Brix O. 2002. The Physiology of Living in Water. In: Hart PJB, Reynolds JD, Ed. Handbook of Fish Biology and Fisheries. Blackwell Publishing, 71-96.
- Brunt J, Newaj-Fyzul A, Austin B. 2007. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 30(10), 573-579.
- Campbell TW. 2004. Clinical Chemistry of Fish and Amphibians. In: Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Eds. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, Pennsylvania. 499-517.
- Caruso D, Lusastuti AM, Slembrouck J, Komarudin O, Legendre M. 2013. Traditional pharmacopeia in small scale freshwater fish farms in west Java, Indonesia: An ethno veterinary approach. Aquaculture, 416: 334-345.
- Chesley LC. 1934. The concentrations of proteases, amylase, and lipase in certain marine fishes. Biological Bulletin, 66(2): 133-144.
- Delbert M, Gatlin III, Peng Li T. 2007. Nucleotides. Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish. Cabi, 12: 193-209.
- Dunham RA. 2004. Aquaculture and Fisheries Biotechnology Genetic Approaches. CABI Publishing, UK. 372 p.
- Ellis T, North B, Scott AP, Bromage NR, Porter M, Gadd D. 2002. The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout. Journal of Fish Biology, 61: 493-531.
- Eya JC, Lovell RT. 1998. Effects of dietary phosphorus on resistance of channel catfish to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Journal of Aquatic Animal Health, 10: 28-34.
- Fange R. 1992. Fish Blood Cells. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrel AP. Eds. Fish Physiology: The Cardiovascular System, Part B volume XII. Academic Press, Inc., California. 2-46.
- Francis G, Becker K. 2007. Plant Saponins. Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish. Cabi, 11: 178-192.
- Francis G, Makkar HPS, Becker K. 2002. Effects of cyclic and regular feeding of a Quillaja saponin supplemented diet on growth and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish Physiology and Biochemistry 24: 343-350.
- Garcia LC, Minghetti M, Navarro I, Tocher DR. 2009. Molecular cloning, tissue expression and regulation of liver X receptor (LXR) transcription factors of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 153: 81-88.

- Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, Shepherd MJ. 1999. Clinical Biochemistry: An Illustrated Colour Text (2nd Ed.). Churchill Livingstone, 165 p.
- Geurden I, Coutteau P, Sorgeloos P. 1997. Effect of a dietary phospholipid supplementation on growth and fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles from weaning onwards. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16: 259-272.
- Gunter G, Sulya LL, Box BE. 1961. Some evolutionary patterns in fishes' blood. *The Biological Bulletin* 121(2): 302-306.
- Hadas E, Koven W, Sklan D, Tandler A. 2003. The effect of dietary Phosphatidylcholine on the assimilation and distribution of ingested free oleic acid (18:1n-9) in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 217: 577-588.
- Hart SD, Bharadwaj AS, Brown PB. 2010. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 306: 310-314.
- Hong HA, Cutting SM. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS microbiology reviews*, 29: 813-835.
- Janz DM, Weber LP. 2000. Endocrine system. In: Ostrandter GK. Ed. *The Laboratory Fish*. Academic Press, London. 415-439.
- Jonas A. 2002. Lipoprotein Structure. In: Vance DE, Vance JE. Eds. *Biochemistry Lipids Lipoproteins and Membranes* (4th Ed.). Elsevier Scienc B.V. 483-504.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. 2000. Klinik Biyokimya (1. Baskı). Medisan Yayınevi, Ankara. 428 p.
- Liu CH, Chiu CH, Wang SW, Cheng W. 2012. Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 33(4): 699-706.
- Luo Z, Liu Y, Mai K, Tian L, Liu D, Tan X, Lin H. 2005. Effect of dietary lipid Level on growth performance, feed utilization and body composition of Grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. *Aquaculture international*, 13: 257-269.
- Magnadottir B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2): 137-151.
- Mayes PA, Botham KM. 2003a. Metabolism of Acylglycerols & Sphingolipids. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Eds. *Harper's Illustrated Biochemistry* (26th Ed.). McGraw-Hill. 197-204.
- Mayes PA, Botham KM. 2003b. Cholesterol Synthesis, Transport, & Excretion In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Eds. *Harper's Illustrated Biochemistry* (26th Ed.). McGraw-Hill. 219-230.
- McDonald DG, Milligan CL. 1992. Chemical Properties of the Blood. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrel AP. Eds. *Fish Physiology: The Cardiovascular System, Part B volume XII*. Academic Press, Inc., California. 56-113.
- Mehmetoğlu İ. 2007. Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı (4. Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 409 p.
- Message JL, Stéphan G, Quentel C, Laurencin BF. 1992. Effects of Dietary Oxidized Fish Oil and Antioxidant Deficiency on Histopathology, Haematology, Tissue and Plasma Biochemistry of Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Living Resour.*, 5(3): 205-214.
- Mohapatra S, Chakraborty T, Kumar V, DeBoeck G, Mohanta KN. 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97: 405-430.
- Moon TW. 2001. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 129: 243-249.
- Morgan JD, Iwama GK. 1997. Measurements of Stressed States in the Field. In: Iwama GK, Pickering AD, Sumpter JP, Schreck CB. Eds. *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge. 247-270.
- Nakagawa H. 2007. Chitin. *Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. Cabi, 10: 168-177.
- Nakagawa H, Montgomery L. 2007. Algae. *Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish*. Cabi, 9: 133-167.
- Nayak SK. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology*, 29: 2-14.
- Newaj-Fyzul A, Adesiyun AA, Mutani A, Ramsabhadra A, Brunt J, Austin B. 2007. *Bacillus subtilis* AB1 controls aeromonas infection in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Journal of Applied Microbiology*, 103: 1699-1706.
- Ng WK, Koh CB. 2017. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 9: 342-368.
- North BP, Turnbull JF, Ellis T, Porter MJ, Migaud H, Bron J, Bromage NR. 2006. The impact of stocking density on the welfare of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 255: 466-479.
- Peres H, Goncalves P, Teles AO. 1999. Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 179: 415-423.
- Park Y, Lee S, Hong J, Kim D, Moniruzzaman M, Bai SC. 2017. Use of probiotics to enhance growth, stimulate immunity and confer disease resistance to *Aeromonas salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 48(6): 2672-2682.
- Pérez-Sánchez T, Ruiz-Zarzuola I, Blas I, Balcazar JL. 2014. Probiotics in aquaculture: a current assessment. *Reviews in Aquaculture*, 6: 133-146.
- Satchell GH. 1991. *Physiology and Form of Fish Circulation*. Cambridge University Press, Cambridge. 235 p.
- Serrano PH. 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture (No. 469). Food & Agriculture Org
- Sheridan MA. 1988. Lipid Dynamics in Fish: Aspects of Absorption, Transportation, Deposition and Mobilization. *Comp. Biochem. Physiol.*, 90: 679-690.
- Stoskopf M. 1993. *Fish Medicine* (1st Ed.). Saunders Company, Philadelphia. 882 p.
- Timur M. 2006. *Balık Fizyolojisi* (1. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara. 192 p.
- Tramati C, Savona B, Mazzola A. 2005. A Study of the pattern of digestive enzymes in *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777) (Osteichthyes, Sparidae): evidence for the definition of nutritional protocols. *Aquaculture International*, 13: 89-95.
- Ulukaya E. 1998. *Klinik Biyokimya*. Melisa Matbaacılık, İstanbul. 343 p.
- Wang YB, Li JR, Lin J. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281: 1-4.
- Wiegertjes GF, Stet RJ, Parmentier HK, van Muiswinkel WB. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparative approach. *Developmental & Comparative Immunology*, 20(6): 365-381.
- Wilson RP. 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124: 67-80.
- Yılmaz S, Ergün S. 2012. Effects of garlic and ginger oils on hematological and biochemical variables of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 24: 219-224.
- Yılmaz S, Ergün S. 2014. Dietary supplementation with allspice *Pimenta dioica* reduces the occurrence of streptococcal disease during first feeding of Mozambique Tilapia fry. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26: 144-148.

- Yılmaz S. 2017. The effect of dietary cinnamic acid or *Bacillus subtilis* on growth performance and immunological parameters in rainbow trout, department of aquaculture, Çanakkale Onsekiz Mart University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Türkiye, 2017, p. 210.
- Yılmaz S, Ergün S, Çelik EŞ. 2012. Effects of herbal supplements on growth performance of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): change in body composition and some blood parameters. Journal of BioScience and Biotechnology, 1: 217-222.
- Yılmaz S, Ergün S, Çelik EŞ. 2013. Effect of dietary herbal supplements on some physiological conditions of sea bass *Dicentrarchus labrax*. Journal of Aquatic Animal Health, 25: 98-103.
- Yılmaz S, Ergün S, Çelik EŞ. 2016. Effect of dietary spice supplementations on welfare status of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B: Biological Sciences, 86: 229-237.
- Yılmaz S, Ergün S, Kaya H, Gürkan M. 2014. Influence of *Tribulus terrestris* extract on the survival and histopathology of *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) fry before and after *Streptococcus iniae* infection. Journal of Applied Ichthyology, 30: 994-1000.
- Zilberg D, Tal A, Froyman N, Abutbul S, Dudai N, Goldhirsh AG. 2010. Dried leaves of *Rosmarinus officinalis* as a treatment for smtreptococcosis in tilapia. Journal of Fish Diseases, 33(4): 361-369.