

SU ÜRÜNLERİ

YETİŞTİRİCİLİĞİNDE ALTERNATİF GELİŞMELER VE BALIK SAĞLIĞI

EDİTÖR

PROF. DR. AYSEL ŞAHAN

YAZARLAR

AYSEL ŞAHAN

OĞUZ TAŞBOZAN

SEVKAN ÖZÜTOK

CELAL ERBAŞ

MEHMET TAHİR HÜSUNET

ŞEFİK SURHAN TABAKOĞLU

Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • C. Cansın Selin Temana
Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Serüven Yayınevi
Birinci Basım / First Edition • © Kasım 2022
ISBN • 978-605-72852-0-1

© copyright

Bu kitabın yayın hakkı Serüven Yayınevi'ne aittir.
Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.
The right to publish this book belongs to Serüven Publishing.
Citation can not be shown without the source, reproduced in any way
without permission.

Serüven Yayınevi / Serüven Publishing

Türkiye Adres / Turkey Address: Yalı Mahallesi İstikbal Caddesi No:6

Güzelbahçe / İZMİR

Telefon / Phone: 05437675765

web: www.seruyenyayinevi.com

e-mail: seruyenyayinevi@gmail.com

Baskı & Cilt / Printing & Volume

Sertifika / Certificate No: 47083

SU ÜRÜNLERİ

YETİŞTİRİCİLİĞİNDE ALTERNATİF GELİŞMELER VE BALIK SAĞLIĞI

EDİTÖR

PROF. DR. AYSEL ŞAHAN

YAZARLAR

AYSEL ŞAHAN

OĞUZ TAŞBOZAN

SEVKAN ÖZÜTOK

CELAL ERBAŞ

MEHMET TAHİR HÜSUNET

ŞEFİK SURHAN TABAKOĞLU

İÇİNDEKİLER

Bölüm 1

SALMONİDLERDE PROFİLAKSİ VE AŞILAMA

Sevkan ÖZÜTOK, Aysel ŞAHAN1

Bölüm 2

AKUAKÜLTÜRDE PROBİYOTİK VE PREBİYOTİKLER

Oğuz TAŞBOZAN.....9

Bölüm 3

PROBİYOTİKLERE İMMÜNOLOJİK BAKIŞ

Sevkan ÖZÜTOK.....19

Bölüm 4

OKSİDATİF STRESE KARŞI PROBİYOTİKLERİN ETKİSİ

Sevkan ÖZÜTOK.....33

Bölüm 5

AKUAKÜLTÜR YEMLERİNDE MİKOTOKSİNLER

Oğuz TAŞBOZAN.....49

Bölüm 6

BALIK BESLEMEDE ALTERNATİF PROTEİN KAYNAĞI OLARAK BÖCEK UNLARININ KULLANIMI

Celal ERBAŞ.....59

Bölüm 7

SU ÜRÜNLERİ ALANINDA GIDA BİLİMİ VE İLAÇ KEŞFİNDEİN SILICO UYGULANAN MOLEKÜLER DOCKING TEKNOLOJİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİ

Celal ERBAŞ, Mehmet Tahir HÜSUNET71

Bölüm 8

AKUAPONİK SİSTEMLER

Şefik Surhan TABAKOĞLU.....87

Bölüm 1

SALMONİDLERDE PROFİLAKSİ VE AŞILAMA

SEVKAN ÖZÜTOK

AYSEL ŞAHAN

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330/Balcalı-Sarıçam,
Adana, Türkiye, e-mail: smuglu@cu.edu.tr

GİRİŞ

Balıklar poikilotermiktir ve bu nedenle bağışıklığın gelişme zamanı, oluşan tepki düzeyi ile bağışıklık sisteminin işleyişi ve çevresel su sıcaklığından direk etkilenirler (Bly ve Clem, 1992). Aşılamanın bulaşıcı hastalıklara karşı koruyucu bir önlem olarak kullanılmasında balıklar immünolojik hafızalarını kullanırlar (Rijkers, 1982). Balıklardaki immünolojik hafıza, memelilerde gözlenen ve eşlik eden fiziksel özelliklerden herhangi biri olmaksızın, yalnızca antijene duyarlı gibi görünmektedir (Kaattari, 1992). Bununla birlikte, balıkların timus, baş böbrek ve dalakları, bağışıklık sistemindeki ana organlarıdır. Kandaki baskın immünoglobulin, dört immünoglobulin alt biriminden oluşur (Rijkers, 1982). Balığın dış vücut yüzeyi, mukus salgılayan hücrelerce zengin, keratinize olmayan bir epidermis ile kaplıdır. Bu mukus, immünoglobulin (Rombout ve ark., 1993) ve spesifik olmayan bir bağışıklık fonksiyonuna sahip olan tamamlayıcı ve lizozim gibi faktörleri içerir (Ingram, 1980). Mukus tabakası, patojenik mikroorganizmalar ve benzer şekilde aşı antijenleri için önemli bir giriş yolu olan solungaç lamellerini kaplayacak şekilde uzanır. Balıklarda spesifik olmayan bağışıklık elemanları (granülositler, makrofajlar ve sitotoksik hücreler) enfeksiyonlara karşı yanıtta aktif olarak rol alır (Evans ve Jaso-Friedmann, 1992; Secombes ve Fletcher, 1992).

Balık yetiştiriciliğinde karşılaşılan hastalıklar için antibiyotikler, kemoterapötikler veya aşılardan kullanımı hastalık tedavisi ve/veya hastalıkların önlenmesinde önemlidir. Balık hastalıklarının önlenmesinde aşılardan kullanımına yönelik ilk rapor olarak Snieszko ve ark. 1938'de *Aeromonas punctata* ile aşılardan sazanlarda koruyucu bağışıklık hakkında bir makale yayınlamıştır. İlk İngilizce rapor Duff (1942) tarafından, parenteral aşılama ve oral uygulama ile aşılardan alabalıklarda *Aeromonas salmonicida*'ya karşı koruma gösterdiği yazılmıştır. Evelyn (1997) makalesinde, II. Dünya Savaşı'ndan sonraki yılları "kemoterapi çağı" olarak adlandırmıştır.

Su ürünleri sektöründe, ilk olarak somon balığında furunculosis'e karşı yapılmış bakteriyel aşılama çalışmaları dikkat çekmiştir (Bullock ve ark., 1971). Hayashi ve ark., (1964) bağışıklama çalışmasında, gökkuşağı alabalığında vibriosisin kontrolü için konsantre bir aşı enjeksiyonunun yararlı bir profilaktik yol olabileceği sonucuna varmışlardır. 1970'li yıllarda immünoprofilaksi, su ürünleri yetiştiriciliğinde, balık patojeni *Vibrio* ve *Yersinia* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların önlenmesi için bir yöntem olarak kabul edilmiştir. Balık aşısı için ilk ürün lisansı onayı, Enterik Kızıl Ağız hastalığı için 1976 yılında Wildlife Vaccine Inc. tarafından üretilen aşıya verilmiştir (Tebbit ve ark., 1981).

Viral hastalıklar için başlarda Enfeksiyöz Pankreas Nekrozu, Viral Hemorajik Septisemi ve Enfeksiyöz Hematopoietik Nekroza karşı aşı bulunmaktaydı. Bu hastalıklara karşı aşılama üzerine ilk başarılı deneyler, avirülent veya zayıflatılmış suşlar olan canlı aşıları içermekteydi (Fryer ve ark., 1976; Biering ve ark., 2005). Ancak bazı aşılar, uygulama yapılan balık gruplarında kabul edilemez bir düzeyde kalıntı virülens göstermiştir. Bu nedenle su ortamındaki diğer balık türleri için güvenlik endişesi, ticari olarak kullanılabilecek aşılarla ilgili araştırmaları azaltmıştır. Bununla birlikte, inaktive aşılarla sahada koruyucu bağışıklığın sağlanması, çoğu bakteriyel aşı ile elde edilen korumaya kıyasla nispeten düşük kalmıştır (Biering ve ark., 2005).

AŞILAMA YÖNTEMLERİ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde balıkların aşılmasında prensipte üç farklı yöntem vardır; enjeksiyon, daldırma ve oral yolla. Aşı sonrasında; koruyucu bağışıklık, aşının içeriği, iş gücü gereksinimleri ve yan etki riskleri de yöntemlere göre aşının etkinliğinde farklılık gösterir.

1. ENJEKSİYON

Enjeksiyon yönteminin en büyük avantajı aşılama sonrası sağlanan üstün koruyucu bağışıklıktır (Johnson ve Amend, 1983; Håstein ve Refsti, 1986). Enjeksiyon aşılarının kullanımını takiben aşılama deneyimlerinde nispi hayatta kalma yüzdesi (Amend, 1981) genellikle %95'i aşmaktadır. Ayrıca, mevcut adjuvan içeren aşılar için en uygun yöntem enjeksiyondur. Diğer yöntemler için aşı dozu toplam balık biyokütlesine göre hesaplanmalıdır, böylece balık boyutu arttıkça daha fazla aşıya gereksinim vardır. Aşı tüketimindeki bu fark, polivalan enjekte edilebilir aşılarla karşılaştırıldığında daha da fazladır.

Enjeksiyon yönteminin ana dezavantajı ise, eğitimli personelin adam-saat başına 1000'den fazla balık enjekte edebilmesine rağmen, aşılama için gereken ek iş gücüdür (Lillehaug, 1989a). İşgücü gereksinimi otomasyon yoluyla azaltılabilir ve aşıların otomatik enjeksiyonu için makinelerden faydalanılabilir. Hatta bazı makineler aynı işlem sırasında balıkları sayar, ölçer ve boyutlarına göre sıralar. Ancak, anestezi uygulaması, balıkların yakalanması ve aşı çözeltilerinin ve ekipmanının kontaminasyon olasılıkları nedeniyle enjeksiyon yönteminde yan etki oluşumu daha fazladır (Press ve Lillehaug, 1995). Yan etki oluşmaması için, balığın nazik bir şekilde ele alınmasını sağlamalı ve pratik önlemlerin dikkatle yapılması çok önemlidir. Aşıda bulunan endotoksinler ve adjuvanların yarattığı diğer bir yan etki de, balıkların karnında lokal ağrı, şişlik ve hatta bazen uzun süreli genel semptomlar yaratıp ve hatta daha şiddetli

bir anafilaktik reaksiyon türünü de meydana getirmesidir (Lillehaug ve ark., 1992).

Aşılar çoğunlukla intraperitoneal olarak enjekte edilir. 0.1 ml'lik bir aşı dozu genellikle otomatik tekrarlayan bir şırınga ile uygulanır. Her balığın yeterli miktarda koruyucu antijen alabilmesi için polivalan aşilar ve yağ bazlı adjuvan içeren aşilar ile dozun iki katına çıkarılması önerilir. Çünkü bu tür viskoz çözeltilerin 0.1 ml'lik hacimlerde doğru şekilde uygulanması zordur. Özellikle büyük balıklar için (>500 g), daha yüksek doz kullanılabilir (Munro ve Bruno,1988).

DALDIRMA

Bir aşı verme yöntemi olarak daldırma, minimum stres, yan etki ve yalnızca orta düzeyde bir iş gücü gereksinimi ile nispeten yüksek etkinlik sağlar (Lillehaug, 1989c). Düşük işgücü girdisine rağmen, otomatik dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Daldırma yönteminde çok küçük balıklar için kullanılabilir. Sınırlı miktarda balık, 1:10 aşı seyreltisine 20-30 saniye için daldırarak uygulanır. 1000 ml aşı ile 100 kg balık aşılanabilir ve su tekrar açılmadan önce balıklar bu aşı banyosunda 1 saat bekletilir (Håsteyn ve Refsti, 1986).

Püskürtme yöntemi, balığın dış yüzeyine aşının uygulandığı en yaygın kullanılan yöntemdir. Püskürtme yönteminde, bir taşıma bandı boyunca hareket eden balıkların üzerine aşı püskürtülüp, duş aldırılır. Daldırma ile püskürtme yöntemlerinde aynı derecede aşı tüketimi ile korumaya sağlanabilir (Gould ve ark., 1978).

ORAL YOLLA

Balıklar strese karşı oldukça hassasiyet gösterir ve bir balık çiftliğinde tutulan çok sayıda birey göz önüne alındığında, oral uygulama stres yönetimi açısından ideal aşılama yöntemi gibi görünmektedir. Balıklarda genellikle uzun süreli aşı içeren bir yemleme programı uygulanır. Aslında, ilk bildirilen aşının, başarılı bir şekilde oral yolla uygulandığıdır (Duff, 1942). Oral yolla aşılamanın dezavantajı ise, enjeksiyon ve daldırma yöntemlerine göre daha zayıf bir koruma gücünün olmasıdır (Hart ve ark., 1988). Ayrıca, fazla miktarda aşının tüketiminin olması, yöntemi nispeten pahalı hale getirir.

SALMONİDLERDE AŞILAMA

Furunculosis ve Vibriosis enfeksiyonlarına karşı kombinasyonlar, salmonid yetiştiriciliği için önem arz eder. Örneğin, Norveç'te, neredeyse tüm Atlantik somonu yavruları, denize nakilden 2-3 ay önce vibriosis, soğuk su vibriyozisi ve furunculosis'e karşı 'üçlü aşilar' ile aşılanmakta-

dır. En çok kullanılan aşılar yağ bazlı adjuvanlar içeren ve deniz suyu yetiştirme aşaması boyunca her üç enfeksiyona karşı da yüksek düzeyde koruma sağlar (Hjeltnes ve Roberts,1993).

Salmonidlerde hastalık önlemedeki en büyük zorluk, *A. salmonicida*'nın neden olduğu furunkülozdur. Daldırma aşıları kullanılarak *Vibrio* enfeksiyonlarının önlenmesiyle ilgili olumlu deneyime dayanarak, bir furunküloz aşısı ile benzer etkiler için büyük beklenti olmasına rağmen, furunculosis aşısının daldırılma yöntemiyle uygulanmasının yetersiz koruma sağladığı bulunmuştur. Modifiye edilmiş canlı aşılar, genellikle çoğalma yetenekleri, konakçı girişi kolaylığı ve öldürülmüş preparatlara kıyasla hem doğal hem de adaptif bağışıklıkla bağlantılı olarak daha fazla sayıda hücresel yanıt uyarımı nedeniyle canlı mikroorganizmalardan oluşur (Levine ve Sztejn 2004). Şu anda, modifiye edilmiş yaklaşık üç canlı aşının ABD'de ruhsatlı olduğu bildirilmektedir. Buna göre, yayın balıklarında Enterik Septisemi Enfeksiyonuna karşı *Edwardsiella ictaluri* aşısı, Bakteriyel Böbrek Hastalığına (BKD) karşı salmonidler için *Arthrobacter* aşısı ve Columnaris enfeksiyonuna karşı yayın balığında, *Flavobacterium columnare* aşısı kullanımdadır (Klesius ve Pridgeon, 2014). Canlı atenüe aşılar, hem hücre aracılı hem de hümmoral immün yanıtları uyarak çalışır. Bununla birlikte, canlı aşılar karşı çevre güvenliği ile ilgili endişeler dile getirilmiştir. Ayrıca, uzun süreli bir etki elde etmek için, mineral yağlar gibi yağ adjuvanlarının, su ürünleri yetiştiriciliği operasyonlarında morbidite ve mortaliteyi kabul edilebilir bir düzeye indirdiği bulunmuştur (Midtlyng, 1998).

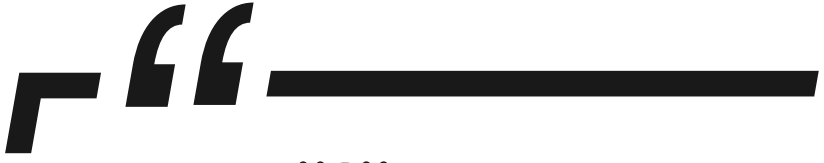
SONUÇ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalık kontrol stratejileri arasında aşılama, hastalık ve ölümleri önlemede en yüksek potansiyele sahip argümandır. Yağ ile adjuvanlanmış aşılar, antikor tepkisini artırmak ve uzun süreli koruma sağlamak için geliştirilmiştir ve şu anda Avrupa'da yetiştirilen çoğu tür için mevcuttur. Teknoloji sıçraması ise, bir plazmid DNA aşısının başarılı bir şekilde geliştirilmesidir (Priya ve Kappalli, 2022). Akdeniz kültür balıkçılığının 600 milyondan fazla aşı dozu uyguladığı tahmin edilmektedir. Yeni aşı geliştirilmesinin desteklenmesi ve mali desteklerin arttırılması önerilmektedir. Yenilikçi biyoteknoloji start-up'larının balıklar için de yeni aşı geliştirmede önemli bir rol oynayacağı sektör açısından hem aşı geliştirme süresi ve hem de maliyet kayıplarının önlenmesine fayda sağlayacağına inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Amend, D. F. 1981. Potency testing of fish vaccines. *Developments in Biological Standardization*, 49, 447-454.
- Bly, J.E. ve Clem, L.W. 1992. Temperature and teleost immune functions. *Fish & Shellfish Immunology*, 2, pp. 159-171
- Bullock, G. L., Conroy, D. A., Snieszko, S. F. 1971. Bacterial diseases of fishes. *Diseases of fish*, 10. Jersey city; 139.
- Duff, D.C.B. 1942. The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*. *Journal of Immunology*, 44,87-94.
- Evans D.L., Jaso-Friedmann L. 1992. Nonspecific cytotoxic cells as effectors of immunity in fish *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 109-121.
- Evelyn, T.P. 1997., A historical review of fish vaccinology. *Developments in biological standardization*, 90:3-12.
- Fryer, J. L., Rohovec, J. S., Tebbit, G. L., Mcmichael, J. S., Pilcher, K. S. 1976. Vaccination for Control of Infectious Diseases in Pacific Salmon. *Fish Pathology*, 10 (2), 155-164.
- Gould, R. W., O'Leary, P. J., Garrison, R. L., Rohovec, J. S., Fryer, J. L. 1978. Spray vaccination: A method for the immunization of fish. *Fish Pathology*, 13, 63-68.
- Hart, S., Wrathmell, A. B., Harris, J. E., Grayson, T. H. 1988. Gut immunology in fish: a review. *Developmental and Comparative Immunology*, 12, 453-480.
- Håstein, T., Reesti, T. 1986. Vaccination of rainbow trout against vibriosis by injection, dip and bath *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 6, 45-49.
- Hayashi, K., Kobayashi, S., Kamata, T., Ozaki, H. 1964. Computer-aided vaccine designing approach against fish pathogens *Edwardsiella tarda* and *Flavobacterium columnare* using bio-informatics softwares. *Fac. J. Studies on the vibrio disease of rainbow trout. II. Prophylactic vaccination against the vibrio disease. Fish Prefect. Univ. Mie* Volume 6, Pages 181-191.
- Hjeltnes B. ve Roberts R.J. 1993. *Vibriosis*. V. Inglis, R.J. Roberts, N.R. Bromage (Eds.), *Bacterial Diseases of Fish*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 109-121.
- Ingram, G. A. 1980. Substances involved in the natural resistance of fish to infection-A review. *Journal of Fish Biology*, 16, 23-60.
- Johnson, K.A., Amend, D.F. 1983. Comparison of efficacy of several delivery methods using *Yersinia ruckeri* bacterin on rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases*, 6, 331-336.

- Kaattari, S.L. 1992. Fish B lymphocytes: defining their form and function. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 161-180.
- Klesius, P. H. ve Shoemaker, C. A. 1998. Development and use of modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccine against enteric septicemia of catfish. *Adv Vet Med* 41:523–537.
- Klesius, P.H. ve Pridgeon, J.W. 2014. Vaccination against enteric septicemia of catfish. R. Gudding, A. Lillehaugand, Ø. Evensen (Eds.), *Fish Vaccination*, Wiley Blackwell, Chichester, 211-225.
- Levine, M. M. ve Sztein, M. B. 2004. Vaccine development strategies for improving immunization: the role of modern immunology. *Nat. Immunol* 5(5):460–464.
- Lillehaug, A. 1989. A cost-effectiveness study of three different methods of vaccination against vibriosis in salmonids. *Aquaculture*, 83, 227-236.
- Lillehaug, A., Lunder, T., Poppe, T.T. 1992. Field testing of adjuvanted furunculosis vaccines in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 15, 485-496.
- Midtlyng, P.J. 1998. Evaluation of furunculosis vaccines in Atlantic salmon: Experimental and field studies for assessment of protection and side-effects. Biering E., Villoing S., Sommerset I., Christie K.E. 2005. Update on viral vaccines for fish. *Dev. Boil.* 121, 97-113.
- Munro, A.L.S. ve Bruno, D.W. 1988. Vaccination against bacterial kidney disease. A.E. Ellis (Ed.), *Fish Vaccination*, Academic Press, London, 124-134.
- Press, C. McL ve Lillehaug, A. 1995. Vaccination in European salmonid aquaculture: A review of practices and prospects. *British Veterinary Journal*, 151, 1, 45-69.
- Priya, J. T.A ve Kappalli, S. 2022. Modern biotechnological strategies for vaccine development in aquaculture – Prospects and challenges. *Vaccine*, 40, 41, 29, 5873-5881.
- Rijkers, G.T. 1982. Kinetics of humoral and cellular immune reactions in fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 2, 93-100.
- Rombout, J.H.W.M., Tavern N., van de Kamp, M., Taverne-Thiele, A.J. 1993. Differences in mucus and serum immunoglobulins of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Developmental and Coparative Immunology*, 17, 309-317
- Secombes, C.J. 1988. Immune control of sexual maturation in fish. A.E. Ellis (Ed.), *Fish Vaccination*, Academic Press, London, 237-247.
- Tebbit, G.L.; Erickson, J.D., Vande Water, R.B. 1981. Development and use of *Yersinia ruckeri* bacterins to control Enteric Redmouth disease. *Developments in Biological Standardization*, 49, 395-401.



Bölüm 2

AKUAKÜLTÜRDE PROBİYOTİK VE PREBİYOTİKLER

Oğuz TAŞBOZAN

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330/Balcalı-Sarıçam,
Adana, Türkiye, e-mail: tasbozan@yahoo.com



Giriş

Prebiyotikler, bağırsaktaki yararlı bakterilerin sayısını, etkinliğini arttırmakla kalmaz canlı organizmalar olarak bilinen probiyotiklerin daha efektif kullanılmasını sağlar. Dolayısıyla bu iki ürün su ürünleri besleme ve yetiştiricilik alanında geniş yer bulmaktadır. Avrupa Birliği'nin 2006 yılında su ürünleri yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımını yasaklamasından sonra probiyotik ve prebiyotikler üzerine yapılan araştırmaların sayısı artmıştır (Akrami ve ark., 2009; Zhou ve ark., 2010; Ai ve ark., 2011; Piccolo ve ark., 2011; Lin ve ark., 2012; Ortiz ve ark., 2013; Rodrigez-Estrada ve ark., 2014).

Probiyotikler

Probiyotik terimi “yaşam için” anlamına gelir ve “Pro” ve “biota” kelimelerinden oluşur. Probiyotikler, organizmanın sağlığına faydalı olan canlı bakteriler içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Coşkun, 2006; Kaleli, 2007).

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine olan faydalarını ilk olarak bu yüzyılın başlarında Elie Metchnikoff ortaya koymuştur. Rus bilim adamı Bulgar köylülerinin günlük yaşamlarında çok fazla yoğurt tükettiklerini fark etmiş ve bu konu üzerine yoğunlaştığında canlı bakteriler ile karşılaşmış ve onlara *Lactobacillus bulgaricus* adını vermiştir. Laktobasiller son yıllarda üzerine en çok araştırma yapılan probiyotiklerdir (Çakır, 2003; Yağcı, 2005; Taşdemir, 2017).

Probiyotiklerin ilk kez akuakültürde rapor edilmeleri 1981 yılına dayanmaktadır. *Bacillus toyoi* sporları, *Anguilla japonica* yemlerinde kullanılarak elverlerin mortalitelerinde azalma tespit edilmiştir. Sonrasında bu probiyotik sarıkuyruk balığının büyüme performansını arttırmıştır. Bir diğer çalışmada ise, aynı ürün rotiferlere verilmiş ve rotifer üzerinden beslenen alabalıklarda büyümenin normal yemle beslenenlere göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca balıklarda *Vibrio sp.*'ye karşı antibakteriyel özellik gösterdiği belirlenmiştir (Gatesoupe, 1999; Yaman ve Esendal, 2004).

İnsan ve kara hayvanlarının embriyonik gelişimi amniyonda gerçekleşir. Bununla birlikte, birçok balık ve kabuklu türünde larva aşamasında gelişir ve bu aşamada larvalar gastrointestinal mikrobiyotiklerde yüksek düzeyde rahatsızlıklara maruz kalır. Bilindiği gibi larvaların sindirim sistemleri henüz tam olarak gelişmemiş olsa da dışardan besin alma eğilimindedirler. Dolayısıyla, özellikle larval yaşam periyodunda probiyotik uygulamalar yapılmalıdır (Gatesoupe, 1999).

Ayrıca kültür balıkları ile doğal balıklar arasında da sindirim sistemlerindeki bakteriyel floranın farklı olduğu belirlenmiştir. Kültüre alınan alabalıkların, sindirim sistemi bakteriyel floralarının bulunduğu ortam ve aldıkları yemler ile ilişkili olduğu izole edilen mikroorganizmalarla ortaya konulmuştur. Bazı araştırmalardan elde edilen verilere göre, kültür koşullarındaki balıkların bağırsak mikroflorasının, doğal balıklarından farklı olduğu ve daha az bakteri türünün bulunduğu belirtilmiştir (Reuter, 2001).

Balıklar poikiloterm canlılardır. Vücut ısıları değişkendir ve dolayısıyla mikroflora ısı değişiklikleri ile değişebilir. Aynı zamanda denizel türlerde de tuzluluk düzeyinin değişmesi ile mikroflora etkilenebilir. Tuzlu su ortamında yaşayan balıklar, vücutlarındaki su kaybını önlemek adına devamlı su içmeye gereksinim duyarlar. Dolayısıyla sudan geçen mikroorganizmalar da mevcuttur. Balıkların bağırsak mikroflorası aldıkları yem ve bulundukları ortamdaki mikroorganizmalar ile hızla değişebilir. Özellikle larval ve juvenil aşamadaki balıklarda yemlemenin etkisi açıkça ortaya çıkmaktadır. Balıkların bağırsak florasındaki baskın türler, uygulanan yemleme stratejisine göre değişmektedir (Gatesoupe, 1999).

Akuakültürde probiyotiklerin kullanımı karasal hayvanlardan farklılık göstermektedir. Zira sucul canlılardaki kullanımın bazı alternatifleri bulunmaktadır. Karasal hayvanlarda kullanılan preparatların sucul hayvanların yemlerine ya da suya karıştırılması, sulandırılmış ürünün yeme sprey ile verilmesi ve direk olarak suya karıştırılması gibi. Fakat önemli olan, probiyotiklerin balıklar ya da diğer sucul canlıların sindirim sisteminde ne kadar kalacağı ve ne oranda faydalı olacaktır. Dolayısıyla burada kullanılacak probiyotiğin de dikkatli seçilmesi gerekmektedir. Her ne kadar probiyotiğin üretim ve kullanım yöntemi ile uygulanacak mikroorganizmadaki hedef yeri önemli olsa da probiyotik bakterilerin (Pro-bak) seçiminde bazı hususlara dikkat edilmelidir. Bunlar;

1. Önceki araştırmalardan elde edilen verilerin incelenmesi
2. Pro-bak kazanımları
3. Pro-bak ile mücadele eden patojenik türlerden fayda sağlanabilirliği
4. Pro-bak patojenitesinin ortaya konulması
5. Canlıda (balık ve/veya sucul canlı) Pro-bak etkisinin belirlenmesi
6. Ekonomik masraflar ve kâr analizi şeklinde olmalıdır (Gatesoupe, 1999; Reuter, 2001)

Buna ek olarak, probiyotiklerin kullanılmadan önce in-vitro testlerinin yapılmasıyla adhezyon ve antagonizm özelliklerinin ortaya konulması gerekebilir. Böylece elde edilen sonuçlar en uygun probiyotığın seçilmesinde yol gösterici olacaktır.

Akuakültürde kullanılacak en uygun ve en iyi probiyotığın özellikleri şu şekilde olmalıdır;

1. Canlı üzerinde faydalı etki göstermesi,
2. Patojen olmaması, toksik madde üretmemesi
3. Basit ve hızlı şekilde üremesi
4. Farklı pH ve organik asitlere karşı dayanıklılığının olması
5. Depolama ve üretim esnasında uzun süre canlılığını koruması
6. Yem içeriğindeki besinsel ham maddelere ve yeme ilave edilen diğer katkılara karşı formunun değişmemesi
7. Özellikle probiyotik mikroorganizmaların *in vivo* ve *in vitro* üretimleri kolay olması
8. Bağırsak boşluğunda istenen düzeyde bulunması. (Katırcıoğlu, 2001; Çakmakçı, 2002; Yaman ve Esenal, 2004; Alak ve Atamanalp, 2012).

Akuakültürde, probiyotiklerle yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır ve araştırılması gereken birçok konu olduğu görülmektedir. Alabalık, salmon, karides, kalkan, morina, istiridye ve rotifer kültürlerinde test edilen ana gruplar Vibrionaceae, Pseudomonad, laktik asit bakterisi, *Bacillus spp.* ve maya türleridir (Gomez, 2000).

Prebiyotikler

Prebiyotikler kolondaki bir veya daha fazla bakterinin üremesini ve/veya aktivitesini teşvik ederek konakçıya faydalı olan, sindirilemeyen gıda maddeleri olarak tanımlanır (Harman ve Knol, 2006). Ayrıca, konakçı canlının büyümesini ve/veya sindirim metabolizmasını aktive eden oligosakkarit yapıda bileşikler olarak bilinir (Gibson ve Roberfroid 1995; Manning ve Gibson 2004; Li ve ark. 2004; Burr ve Gatlin 2005).

Probiyotiklerin kullanımı; yüksek maliyeti, potansiyel çevre etkisi, gıda güvenliği ve modern ekstrüzyona ekleme ile ilgili zorluklar, suda probiyotiklerin büyük ölçekli uygulamasının zorlukları nedeniyle sınırlı olmuştur. Alternatif olarak, sucul canlılarda sindirim sistemi mikrobiyotasını manipüle eden koşulları değiştiren prebiyotiklerin kullanımı daha kullanışlı olmuştur. (Gatlin 2002; Burr ve ark., 2005; Nicolas ve ark., 2007; Ringø ve ark. 2004; Birkbeck ve Ringø 2005)

Son yirmi yıldır yapılan çalışmalar ile balıkların sindirim sistemi ve bağırsak mikrobiyotası konusunda ilerlemeler kaydedilmiştir ve daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır. Akuakültürde prebiyotiklerle yapılan ilk araştırma, 1995'te rapor edilmiştir (Hanley ve ark. 1995). İlk çalışmadan bu güne kadar çok farklı konuda ve balıkta çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan yaygın prebiyotikler arasında inülin, fruktooligosakkaritler, kısa zincirli fruktooligosakkaritler, mannanoligosakkaritler, galaktooligosakkaritler, xilooligo-sakkaritler, arabinoxilooligosakkaritler, izomaltooligosakkaritler ve çok fazla çalışılmayan transgalaktooligosakkaritler bulunmaktadır (Olsen ve ark. 2001; Sweetman ve Davies, 2005; Bakke-McKellep et al. 2007; Torrecillas ve ark. 2007; Yılmaz ve ark., 2007; Dimitroglou ve ark., 2008; Salze ve ark., 2008; Sweetman ve ark., 2008).

Prebiyotiklerin sucul organizmalarda kullanıldığında beklenen fonksiyonel etkileri şu şekilde özetlenebilir. Prebiyotikler sindirilemez, düşük enerji değerine sahiptir dolayısıyla bir enerji kaynağı olarak değerlendirilemezler. Balıklarda dışkı miktarında artış görülür. Bununla birlikte, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Eubacterium spp.*'nin yani probiyotik bakterilerin stimüle edilmesini sağlarlar. Buna karşın, patojen bakterilerin (*Clostridium* ve *Bacteriodes*) ise inhibe edilmelerini sağlamaktadırlar. Prebiyotik maddeler, bağırsak pH'ını düşürerek minerallerin çözünürlüğünü ve emilimini artırır. Kan kolesterolü ile trigliserit düzeylerini olumlu yönde etkilerler. Patojen mikroorganizmaların artmasının önüne geçerek intestinal ve ekstraintestinal enfeksiyonun ortaya çıkma riskini azaltarak immün sistemin daha fazla güçlenmesi için olumlu etki gösterirler (Sağdıç ve ark., 2004; Alak, 2011).

Akuakültürde yapılan çalışmalarda kullanılan prebiyotiklerin hedef olarak etki ettiği bakteriler ise genellikle *Bifidobacterium spp.*, ve *Lactobacillus spp.* olduğu görülmektedir (Burr ve Gatlin, 2005).

Son yıllarda hem probiyotikler hem de prebiyotikler üzerine yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Bu çalışmalarda, yemden yararlanmayı arttırma, sucul organizmanın büyüme performansının arttırılması ve sağlığının korunması, ayrıca yetiştiricilik koşullarında suyun kalitesini arttırmaya kadar birçok çeşitli amaca yönelik çalışmalar yapılmış ve halen yapılmaya devam etmektedir. (Gatesoupe, 2008, Welker, 2007; Xu ve ark., 2002; Xu ve ark., 2009; Bakke-McKellep et al. 2007; Torrecillas ve ark. 2007).

KAYNAKLAR

- Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J. and Zhang, W., 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. Aquaculture, 317, 155-161.
- Akrami, R., Ghelichi, A., Manuchehri, H., 2009. Effect of dietary inulin as prebiotic on growth performance and survival of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marine Science and Technology Research, 4(3),1-9.
- Alak, G., 2011. Probiyotik ve prebiyotiklerin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) bağırsak florası ile filetolarının bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Alak, G., Atamanalp, M., 2012. Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik ve prebiyotik kullanımı. YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi, 22 (1), 62-68.
- Bakke-McKellep, A.M., Penn, M.H., Salas, P.M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringø, E. & Krogdahl, A. 2007. Effects of dietary soybean meal, inulin and oxytetracycline on gastrointestinal histological characteristics, distal intestine cell proliferation and intestinal microbiota in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Br. J. Nutr., 97, 699-713.
- Birkbeck, T.H. & Ringø, E. 2005. Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. In: Microbial Ecology in Growing Animals (Holzapfel, W. & Naughton, P. eds), pp. 208-234. Elsevier, Edinburgh, UK.
- Burr, G., Gatlin D., 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. Journal of the World Aquaculture Society. 36: 425- 436.
- Burr, G., Gatlin, D. & Ricke, S. 2005. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. J. World Aquac. Soc., 36, 425-436.
- Coşkun, T., 2006. Pro-, pre- ve sinbiyotikler. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 49: 128-148.
- Çakır, İ., 2003. Laktobacillus ve bifidobakterilerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. (Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi).
- Çakmakçı, L., Karahan, A.G., Çakır, İ. 2002. Probiyotikler ve etki mekanizmaları. Gıda Mühendisliği Dergisi, 12; 15-19.
- Dimitroglou, A., Davies, S. & Sweetman, J. 2008. The effects of dietary mannan oligosaccharides on the intestinal histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Abstracts/Comp. Biochem. Physiol., A., S63.

- Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*, 180; 147-165.
- Gatesoupe, F.-J. 2008. Updating the importance of lactic acid bacteria in fish farming: natural occurrence and probiotic treatments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 107-114.
- Gatlin, D.M. III. 2002. Nutrition and fish health. In: *Fish Nutrition* (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds), pp. 671-702. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulasyon of human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 125:1401-12.
- Gomez, B., Roque, A., Turnbull, J. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191; 259-270.
- Hanley, F., Brown, H. & Carbery, J. 1995. First observations on the effects of mannan oligosaccharide added to hatchery diets for warmwater hybrid red tilapia. Poster at the 11th Annual Symposium on Biotechnology in the Feed Industry, Lexington, KY,USA.
- Harman, M. and Knol, J. 2006. Quantitative real- time pcr analysis of fecal lactobacillus species in infants receiving a prebiotic infant formula. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(4): 2359-2365.
- Kaleli, İ., 2007. Probiyotiklerin etki mekanizması. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*. 21 (Ek 2): 238- 242.
- Katırcıoğlu, H. 2001. Gökkuşuğu alabalığı ve aynalı sazandan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Li, P., Gatlin, D.M. 2004. Dietary brewer's yeast and the prebiotic Grobiotic TM AE influence growth performance, immune response and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*. 231:445-456.
- Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Lua, L. and Pan, Y., 2012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture*, 342-343, 36-41.
- Manning T, Gibson G. 2004. Prebiotics. *Best Practice & Research in Clinical Gastroenterology*. 18: 287-298.
- Nicolas, J.L., Gatesoupe, F.-J., Froueli, S., Bachere, E. & Gueguen, Y. 2007. Quelles strategies alternatives aux antibiotiques en aquaculture? *INRA Prod. Anim.*, 20, 253-258.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T.M. & Ringø, E. 2001. Damaging effect of dietary inulin to intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquacult. Res.*, 32, 931-934.

- Ortiz, L. T., Rebole, A., Velasca, S., Rodriguez, M.I., Trevino, J., Tejedor, J. I. and Alzueta, C., 2013. Effects of inulin and fructooligosaccharide on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 19, 475-482.
- Piccolo, G., Centroducati, G., Marono, S., Bovera, F., Tudisco, R. and Nizza, A., 2011. Effects of the partial substitution of fish meal by soy bean meal with or without MOS and FOS on the growth and feed utilization of sharpshout seabream, *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777): preliminary results. *Italian Journal of Animal Science*, 10, 195-199.
- Reuter, G. 2001. Probiotics- possibilities and limitations of their application in food, animal feed, and in pharmaceutical preparations for men and animals. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114; 409-410.
- Ringø, E., Jutfelt, F., Kanapathipillai, P., Bakken, Y., Sundell, K., Glette, J., Mayhew, T.M., Myklebust, R. & Olsen, R.E. 2004. Damaging effect of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* on intestinal enterocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Cell Tiss. Res.*, 318, 305-311.
- Rodriguez Estrada , U., Satoh , S., Haga, Y., Fushimi, H. and Sweetman, J., 2014. Effects of inactivated *Enterococcus faecalis* and mannan oligosaccharide and their combination on growth, immunity, and disease protection in rainbow trout. *North American Journal of Aquaculture*, 75, 416-428.
- Sağdıç, O., Küçüköner, E. ve Özçelik, S., 2004. Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, (3-4), 221-228.
- Salze, G., McLean, E., Schwarz, M.H. & Craig, S.R. 2008. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia. *Aquaculture*, 274, 148-152.
- Sweetman, J. & Davies, S. 2005. Improving growth performance and health status of aquaculture stocks in Europe through the use of Bio-MOS_. *Eur. Aquac. Soc.*, Special publication No, 35, 445-452.
- Sweetman, J., Dimitroglou, A., Davies, S. & Torrecillas, S. 2008. Nutrient uptake. Gut morphology: a key to efficient nutrition. *International Aquafeed*, 26, 26-30.
- Taşdemir, A., 2017. Probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotikler. *Kastamonu Sağlık Akademisi*, 2 (1), 72-88.
- Torrecillas, S., Makol, A., Caballero, M.J., Montero, D., Robaina, L., Real, F. & Sweetman, J. 2007. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish Shellfish Immunol.*, 23, 969-981.
- Welker, T.L., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R. & Klesius, P.H. 2007. Immune response and resistance to stress and *Edwardsiella ictaluri* challenge in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing commercial whole-cell yeast or yeast subcomponents. *J. World Aquac. Soc.*, 38, 24-35.

- Xu, B., Wang, Y., Li, J. & Lin, Q. 2009. Effects of prebiotic xylooligosaccharides on growth performance and digestive activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Physiol. Biochem., 35, 351–357.
- Xu, Z.R., Zou, X.T., Hu, C.H., Xia, M.S., Zhan, X.A. & Wang, M.Q. 2002. Effects of dietary fructooligosaccharides on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of growing pigs. Asian Austral. J. Anim. Sci., 15, 1784–1789.
- Yağcı, R. V., 2005. Probiyotik ve prebiyotikler. Güncel Gastroenteroloji. 9(4): 223-225.
- Yaman, F., Esendal, Ö., 2004. Balıklarda probiyotik kullanımı. Orlab Mikrobiyoloji Dergisi, 2 (6); 1-18.
- Yilmaz, E., Genc, M.A. & Genc, E. 2007. Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, and intestine and liver histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Isr. J. Aquacult-Bamid., 59, 182–188.
- Zhou, Q., Buentello, J. A. and Gatlin, D. M., 2010. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture, 309, 253–257.



Bölüm 3

PROBİYOTİKLERE İMMÜNOLOJİK BAKIŞ

SEVKAN ÖZÜTOK

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330/Balcalı-Sarıçam,
Adana, Türkiye, e-mail: smuglu@cu.edu.tr



GİRİŞ

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu yoluyla konakçı organizmaya sağlık yararı sağlayan mikroorganizmaları ifade eder (Gismondo ve ark., 1999). Bu tanım, probiyotikleri antibiyotiklerden ayırmanın temelini oluşturmuştur. Probiyotikleri “bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler” olarak tanımlayan ilk kişi Parker (Parker, 1974) olmuştur. Gram ve ark., (1999) tanımlamayı “konakçı hayvanın mikrobiyal dengesini olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal takviye” olarak değiştirmiştir. Gatesoupe (2002) probiyotikleri, “Sağlığı geliştirmek amacıyla mikrobiyal hücrelerin sindirim sistemine girebilecek ve canlı kalabilecek şekilde düzenlenmesi” olarak tanımlamıştır. Bu doğrultuda probiyotik bakteri, patojen bakteri ile besin, yer ve oksijen için rekabete girerek veya patojen bakterinin büyümesini ve gelişmesini engelleyecek maddeler üreterek, patojen bakterilerin ortamda azalmasını sağlamaktadır (Vaseeharan ve Ramasamy, 2003). Probiyotikler, besinlerdeki potansiyel zararlı bileşimlerin detoksifikasyonunu sağlayarak, beslenmenin düzenlenmesine, amilazlar ve proteazlar ile diyetle sindirimin kolaylaşmasına, vitaminlerin üretimine (B7, B12 ve K) ve kısa zincirli yağ asitleri üretir, pH’yı düşürür ve ortamda mikrobiyota değişimi sağlar. Ayrıca konağın humoral ve hücrel bağışıklık sisteminin uyarılmasına yardımcı olurlar (Spanggaard ve ark., 2000; Irianto ve Austin, 2002). Patojenlere karşı humoral ve hücrel bağışıklık yanıtı uyarır. (Balcazar ve ark., 2006). Yeni bulgular ortaya çıktıkça, “probiyotik” tanımı yıllar içinde kapsamı arttırılarak evrildi. Birleşmiş Milletler/ Dünya Sağlık Örgütü’nün Gıda ve Tarım Örgütü (FAO/WHO) tüm bu tanımları bütünleştirmiş ve probiyotiklerin “yeterli miktarda verildiğinde konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar” olduğunu belirtmiştir (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2001).

Yetiştiricilikte probiyotiklerin kullanımına yönelik, ilk uygulama ise Kozasa (1986) tarafından bildirilmiştir. Kozasa (1986), topraktan izole edilen *Bacillus toyoi*’nin, *Edwardsiella* sp. ile enfekte olmuş Japon yılan balıklarında mortaliteyi azalttığını, benzer şekilde *Bacillus toyoi*’nin sarıkuyruklarda, büyüme oranını arttırdığını bildirmiştir. Sektörde sağlık problemlerinin hızlı artışı da bu tür çalışmaların sayısında artışa neden olmuş ve son yıllarda giderek yaygınlaşmıştır. Yapılan çalışmalarda; Gram-negatif bakteriler (*Aeromonas*, *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Pseudomonas* ve *Vibrio* spp), Gram-pozitif bakteriler (*Bacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Streptococcus*, *Shewanella* ve *Weissella* spp.), mikroalgler (*Tetraselmis*, *Spirulina*) ve mayalar (*Debaryomyces*, *Phaffia* ve *Saccharomyces*)

(Irianto ve Austin, 2002; Vine ve ark., 2006) probiyotik olarak yetiştiricilik sistemlerinde yerini hızla almıştır.

Moriarty (1999) sucul canlıların, sürekli olarak çevrelerindeki su ortamıyla etkileşime girdiği gerçeğini göz önünde bulundurarak, probiyotiklerin tanımını genişletmiş ve onları mikrobiyal “su katkı maddeleri” olarak da değerlendirmiştir. Daha sonra Verschuere ve ark. (2000), akuakültür probiyotikleri kavramını ileri sürerek, terimin daha geniş bir uygulamasını “yemin iyileştirilmiş kullanımını sağlayarak veya ortamdaki mikrobiyal topluluğu değiştirerek konakçı üzerinde faydalı bir etkiye sahip canlı mikrobiyal yardımcı maddeler” olarak önermiştir. Antibiyotik kullanımının azaltılması ve çevre dostu bir endüstrinin geliştirilmesi amacıyla su ürünleri yetiştiriciliğinde sürdürülebilirliği teşvik eden bu alternatiflerin popülaritesi giderek artmaktadır. Probiyotiklerin konağın bağışıklığını modüle etme yeteneğinde ortaya konan veriler, probiyotik uygulanma alanının daha da genişleyeceğini göstermektedir.

Su ürünleri sektöründe bir probiyotik uygulamaları, balığın bağışıklık sistemi üzerinde olumlu bir etki yaratarak, patojenlere karşı direncini arttırmayı amaçlamalıdır. Bu bağlamda, probiyotiklerin sağladığı korumanın bağışıklık mekanizmaları üzerindeki etkisinin ortaya konulmasının önemli olduğunu düşünülmüştür. Bu derleme yazısında, balıklarda probiyotiklerle immünomodülasyonu üzerine güncel bilgiler gözden geçirilmektedir.

Probiyotiklerin İmmünomodülatör Etkileri

Su ortamı çok çeşitli biyolojik, fiziksel ve kimyasal faktörü içinde barındırır. Balığın bağışıklık sistemindeki doğuştan gelen adaptif bağışıklık hücreleri, bakteri veya virüs gibi antijenik faktörlerin varlığında düzenlenirler. Ağızdan veya yetiştirme suyu yoluyla uygulanan probiyotikler, canlı veya spor formda uygulandıklarında konağın hem sistemik hem de lokal bağışıklığını etkileyebilmeleridir (Balcazar ve ark., 2006). Konakta yer alan kommensalleri tanıma mekanizmasının kendine özgü oluşu, probiyotiklerin immünolojik modülasyon açısından karmaşıklığını ortaya koymaktadır. Balık bağışıklık sistemi, biyolojik özgülüğe sahip moleküllerdir. Ayrıca, kommensal mikroorganizmalar mukozal yüzeylerin patojenlere karşı korunmasında biyolojik ajan görevi üstlenir. Bağışıklık açısından mukozal yüzeyler ve bunlarla ilişkili mikrobiyota arasındaki dengenin korunması bu mekanizmayla yönetilir. Bağışıklıkta oluşan böylesi bir manipülasyon, su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle salgınların uzun süre sorun olduğu dönemlerde kilit rol üstlenmektedir. Probiyotiklerin balıkların doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığını artırma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Turabian, 1996).

Probiyotiklerin İmmünomodülasyonu

Çevreyle yakından ilişkili balık mukozal dokuları, çevresel patojenlerin vücuda girdiği alanlarda stratejik olarak yer almaktadır. Bu nedenle mukozal immün sistem patojenlere karşı savunma mekanizmasında çok önemli bir role sahiptir ve bu nedenle çok aktif bir immünolojik bölge olarak kabul edilir (Picchiatti ve ark.2007). Balığın mukozal yüzeyleri, epiteli ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokuları (MALT'ler) içerir. Teleost balıklardaki ana MALT'ler şunları içerir: GALT (bağırsakla ilişkili lenfoid doku), SALT (deri ile ilişkili lenfoid doku), GIALT (solungaçla ilişkili lenfoid doku) ve NALT (nazofarenks ile ilişkili lenfoid doku).

Memelilerin aksine, balıkların bağırsak bağışıklık sistemi, Peyer plakları gibi lenfoid dokudan yoksundur, bunun yerine yaygın bir GALT'ye sahiptirler. GALT, yüksek omurgalılara benzer şekilde, epitelde bulunan veya lamina propriada yer alan lenfositler, plazma hücreleri, granülositler ve makrofajlar gibi mukozal bağışıklık hücrelerini içerir (Romano ve ark.,2007) ve mukozal dokunun aktif bir bağışıklık organı olarak güçlendirir.

Birçok çalışma, probiyotik takviyesinin, bağırsak morfolojisini ve bağırsak bağışıklık hücrelerinin miktarı ve fizyolojik aktivitelerini düzenleyerek GALT'ı etkilediğini göstermiştir (De Simone ve ark., 1986 ; Galdeano ve ark., 2004).

Probiyotik organizmalar, birçok immün yetkin hücrenin bol olduğu konakçının bağırsak mukozası ile etkileşime girerler. Konak, organizmanın patojenik olup olmadığını ise, patojenlerde yaygın olan moleküler paternleri tespit etmek için patojen patern tanıma reseptörleri (PRR) ile tespit ederler (Fleshner, 2013; Akhter ve ark. 2015). PRR'ler; patojen veya hasarla ilişkili moleküler yapılar (lipopolisakkaritleri (LPS), lipoteikoik asitleri, peptidoglikan) (PAMP ve DAMP) olarak bilinen korunmuş moleküler yapıları tanıır (Akhter ve ark. 2015). PAMP'ler patojenlerle sınırlı değildir, aynı zamanda konakçının örneğin probiyotik bakterileri tanımasını sağlayan "mikropla ilişkili moleküler modeller" (MAMP) olarak adlandırılan patojenik olmayan mikroplar için de yaygın bulunan moleküllerdir (Chu ve Mazmanian 2013).

Probiyotiklerin immünomodülatör etkisinin, interlökinler (IL), tümör nekroz faktörler (TNF), interferonlar (IFN), dönüştürücü büyüme faktörler (TGF) balıklarda bağışıklık tepkisini düzenlemede kilit düzenleyiciler hücreler (sitokinler, lenfositler, granülositler, makrofajlar, mast, epitel hücreleri ve dendritik hücreler (DC)) ile bağışıklık hücrelerinden gelen kemokinlerin salınımıyla olduğu vurgulanmıştır. (Rombout ve Van den Berg, 1985;1989).

Laktik asit bakterileri (LAB) ve *Bacillus* sp. su ürünleri yetiştiriciliğinde en yaygın kullanılan probiyotik adayları arasındadır (Maragkoudakis ve ark., 2006; Adorian ve ark., 2018). Bu nedenle, farklı balık türlerinde LAB uygulaması üzerine bağırsak bağışıklık sisteminde çeşitli etkiler bildirilmiştir. Örneğin, Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larında *Lactobacillus rhamnosus*'un uygulanması, bağırsakta villöz yüksekliğin artmasının yanı sıra intraepitelyal lenfosit ve granülositlerin artmasına neden olmuştur (Bjursell ve ark., 2006). Gökkuşluğu alabalığı (*Onchrynchus mykiss*)'nda uygulanan bir çalışmada, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Lactobacillus sakei*'nin bağırsak lökositlerinin fagositik aktivitesinin arttırdığı bildirilmiştir (Prioult ve ark., 2003). LAB ile beslenen balıklarda bağırsak bağışıklık sistemi üzerinde oluşan etkiler:

- IL-1, IL-6, IL-2, TNF- α ve IFN- γ gibi proinflatuar sitokinlerin uyarılması ve anti- IL-10 ve TGF- β gibi inflammatuar sitokinlerin salınımı,
- MHC II veya IgM gibi bağışıklıkla ilgili genlerin artan gen ekspresyonu; T hücrelerinin artan varlığı;
- mukus salgılayan goblet hücre sayıları artışı;
- toplam Ig konsantrasyonunun artışı .

Probiyotiklerin tüm bu bağışıklık etkileri, uygulanan probiyotik türlerine ve konakçı türlere bağlı olarak değişir, ancak çoğunlukla immün sistemi uyarıcı proinflatuar etkilere sahiptir (Rawls ve ark., 2007).

1. Fagositik Aktivite

Hücrelerin erken aktivasyonundan sorumludur. Antikor üretiminden önce inflammatuar yanıt ve antibakteriyel savunmada önemli bir rol oynar. Probiyotikler, konaktaki fagositik hücreleri etkin bir şekilde tetikleyebilir ve *L. rhamnosus*, *L. lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* gibi LAB grubu probiyotikler tarafından fagositik aktivitenin arttığı birçok hayvanda gözlenmiştir (Rutherford-Markwick ve Gill, 2004). Farklı *Bacillus* türlerinin probiyotik sporlarının, fagositik aktiviteyi arttırarak, Nil tilapia'sının doğuştan gelen bağışıklık tepkisini modüle ettiği gösterilmiştir (Selim ve Reda, 2015; Saputra ve ark., 2016; Srisapoom ve Areechon, 2017; Galagarza ve ark., 2018). Yüksek stok yoğunluğunda yetiştirilen Nil tilapiası, *Bacillus subtilis* içeren diyetlerle beslenmiş ve fagositik indeksin arttığı tespit edilmiştir, bu da yoğun yetiştirme koşullarıyla ilişkili stresin başa çıkabilmek için diyetlere eklenen probiyotiklerin pratikte uygulanabilirliğini göstermektedir (Telli ve ark., 2014).

2. Solunum Patlaması Aktivitesi

Solunum patlaması aktivitesi, balıklarda doğuştan gelen önemli bir savunma mekanizmasıdır. Bazı çalışmalar probiyotiklerin balığın bu spesifik olmayan savunma mekanizması üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını gösterirken (Nayak ve ark., 2007; Diaz-Rosales ve ark., 2009; Sharifuzzaman ve Austin, 2009), birkaç *in vitro* ve *in vivo* çalışma, balık dahil olmak üzere birçok sucul canlıda çeşitli probiyotiklerin solunum patlama aktivitesinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir. *Bacillus subtilis* ve LAB grubunun bazı üyeleri gibi probiyotikler balıklarda solunum patlaması aktivitesini uyarabilir. 10^7 cfu/ml *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* ve *B. subtilis* sporlarının *in vitro* koşullarda çipura (*Sparus aurata*) baş böbrek lökositlerinin aktivitesini arttırdığı bulunmuştur (Salinas ve ark., 2005). 14 gün boyunca *Bacillus subtilis* HAINUP40 içeren diyetlerle beslenen Nil tilapia yavruları, solunum patlama aktivitesinde önemli bir artış göstermiştir (Liu ve ark., 2017), ancak 51 günlük beslenme sırasında *Bacillus subtilis*'in diğer iki suşu için hiçbir farklılık tespit edilmemiştir (Galagarza ve ark., 2018). Probiyotiklerin; balık türüne bağlı olarak ideal beslenme süresi, ticari suşların tür özellikleri, dozaj, uygulamanın kısa ve/veya uzun süreli oluşuna göre yararlı etkilerini belirleyebilmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

3. Lizozim

Doğuştan gelen önemli bakterisidal enzimlerden biri olan lizozim; özellikle Gram-negatif patojenlere karşı antibakteriyel işlevine ek olarak, lizozimin mantar hücre duvarının önemli bir bileşeni olan kitin içeren yapılara saldırdığı bilinmektedir ve enfeksiyonlarına karşı balıkların vazgeçilmez bir aracıdır (Saurabh ve Sahoo, 2008; van Doan ve ark., 2018)

Probiyotiklerin tek veya kombinasyon (*L. rhamnosus*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *O. mykiss*'te *Carnobacterium divergens* (Panigrahi ve ark., 2004; Kim ve Austin, 2006) *L. lactis*, *L. mesenteroides* ve *L. sakei* *Salmo trutta*'da (Balcazar ve ark., 2007) halinde uygulandığında teleostlarda lizozim seviyesini uyardığı tespit edilmiştir. Taoka ve ark (2006), *O. niloticus*'ta ticari probiyotikleri oral yolla takviye ederek deri mukozasında önemli ölçüde yüksek lizozim seviyesi olduğunu bildirmiştir. Tilapia-daki artan lizozim seviyeleri, ya lizozim salgısının fagositoz yeteneğinin artışıyla ya da lizozim üreten hücre sayısındaki artıştan kaynaklanabilir (Engstad ve ark., 1992; Saurabh ve Sahoo, 2008).

4. Antioksidan Enzimler

Reaktif oksijen türleri (ROS) birçok aerobik hücresel süreçte üretilir ve bu üretim antioksidan sistem tarafından uzaklaştırılır (Weydert ve

Cullen, 2010). Hücreler, ROS'u düşük konsantrasyonlarda tutmak ve oksidatif hasarı ve çeşitli hastalıkların gelişimini ve ilerlemesini önlemekle görevli çeşitli antioksidanlara sahiptir (Bratovcic, 2020). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimler, çoğu balık türünde rapor edilmiştir (Midhun ve ark., 2019; Dawood ve ark., 2020a, b). Oksidatif hasarı önlemek için bir strateji olarak katkı maddelerinin kullanımına yönelik araştırmalardaki sonuçlar, katkı maddelerine olan ilgiyi artırmıştır (Esteban ve ark., 2014). Hem karaciğerde hem de bağırsakta SOD, CAT ve GPx'teki artış, balıklarda artırılmış bir antioksidan kapasiteye işaret eder (Wang ve ark., 2019).

Nil tilapia yetiştirme sistemlerinin suyuna *Bacillus subtilis*, *Bacillus coagulans* ve *Rhodopseudomonas palustris* (Zhou ve ark., 2010) ve *Bacillus cereus*'un (Wang ve ark., 2017) eklenmesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksek SOD aktivitesi ile sonuçlanmıştır. Benzer şekilde, tilapia diyetlerine eklenen *Bacillus licheniformis* HGA8B, SOD aktivitesini arttırmıştır (Midhun ve ark., 2019).

5. Kompleman Aktivitesi

Teleostlarda kompleman sistemi adaptif immün yanıtlarda anahtar rol oynar ve kemotaksis, opsonizasyon, fagositoz ve patojenlerin yıkımında rol oynar. Spesifik olmayan immün yanıtın bir bileşeni olan kompleman sistemi, mikroorganizmaların lizis yoluyla doğrudan öldürülmesi gibi efektör mekanizmalara sahiptir (Ellis, 1999). Bu yüzden, probiyotikler balıkların doğal bağışıklığını kompleman aktivitesiyle artırabilirler (Panigrahi ve ark., 2004; Salinas ve ark., 2008). Çalışmalarda araştırmacılar, balıkların diyet ve sularına eklenen birçok probiyotik kompleman aracılı hemolitik aktiviteyi artırdığını ifade etmiştir (Makled ve ark., 2017; Galagarza ve ark., 2018; van Doan ve ark., 2018). Ridha ve Azad (2016), yavru (28,3 g) ve yetişkin (93,4 g) tilapia diyetlerine *Bacillus subtilis* eklemişler ve yalnızca yetişkin balıklarda yüksek bir serum kompleman aktivitesi tespit etmişler. Probiyotiklerin, balıkların büyüme ve bağışıklık tepkisi üzerindeki etkileri hakkında ortaya konan sonuçlar, yavru aşamasından pazar büyüklüğüne kadar ayrıntılı araştırmaların önemini vurgulamaktadır.

6. Sitokinler

Sitokinler, bağışıklık hücreleri tarafından üretilen proteinlerdir. Gram pozitif ve negatif bakterilerde yaygın olarak bulunan hücre yüzeyi bileşenleri sitokin sentezini indükler (Henderson ve ark., 1999). Konağın hücre büyümesi, farklılaşması ve savunma mekanizmalarına katkıda bulunur (Peddie ve ark., 2002). Bağışıklık sisteminin bu çözünür haberci molekülleri, mukozal antikor ve hücre aracılı bağışıklık tepkileri oluşturmak için hücreler ve

reseptörlerle etkileşime girer. Mevcut literatürlerin incelendiğinde, bir çok probiyotiğin, interlökin-1 (IL-1), IL-2, IL-5, IL-6, IL-10 IL 12, tümör nekroz faktörü (TNF- α), gama interferon (IFN-g) ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF-b) gibi anti-inflamatuar sitokin üretimini uyardığı bildirilmiştir (Christensen ve ark., 2002; von der Weid ve ark., 2001).

Probiyotik bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *L. bulgaricus* suşlarının interlökin tümör nekroz faktörü üretimini indüklediği gösterilmiştir. (Kitazawa ve ark., 1992; Rangavajhyala ve ark.,1997; Marin ve ark 1998). Sitokinler, tüm immün ve inflammatuar yanıtların stimülatörleri ve efektörleri olduğundan, terapötik potansiyellerini gerçekleştirmek için normal operasyonlarının daha iyi anlaşılması gerekir (Kelso,1998)

LAB'nin farklı suşları, düzenleyici ve proinflammatuar sitokinleri indükleyebilir, diğer probiyotikler ise intestinal inflammatuar yanıtları artırabilir (Perdigon ve ark.,2002). *L. rhamnosus*, *E. faecium* ve *B. subtilis* gibi probiyotiklerin, *O. mykiss*'in dalak ve baş böbreğindeki IL-1b1 ve TGF b gibi proinflammatuar sitokinleri düzenlediği tespit edilmiştir (Panigrahi ve ark., 2007).

Sonuç

Burada sağlanan bilgiler, probiyotik uygulamanın, bağırsak bariyerinin koruyucu mekanizmalarını güçlendirerek ve nihayetinde çeşitli hastalıkların gelişmesini önleyerek bağışıklığını modüle etmek için uygulanabilir ve sürdürülebilir bir strateji olduğuna dair sağlam kanıtlar sunmaktadır. Probiyotikler su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarında özellikle kimyasallara ve antibiyotiklere alternatif olarak umut verici olduğu önceki çalışmalarla ifade edilmiştir. Rapor edilen sonuçlar, kullanılan deneysel yöntemlere bağlı olarak büyük ölçüde değişiklik göstermekte olup, mikrobiyal popülasyonları yeterli şekilde tanımlamak için standart testler geliştirme ihtiyacını doğurmaktadır. Her ne kadar su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarında bugüne kadar olumsuz sonuç doğuran bir rapor belgelenmemiş olsa da, mikrobiyotadaki patojenik suşlardan probiyotiklere bu tür yatay virülans gen transferi olasılığı göz ardı edilemez. Bu nedenle, yalnızca çeşitli probiyotikler arasındaki türler arası ve suşlar arası farklılıkları ele alınmalı ve aynı zamanda güvenilirliklerini değerlendirmek için daha temel araştırmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, Bağırsak homeostazını değiştirmeden uygun probiyotikler/prebiyotikler/sinbiyotikler ile bağırsak mikrobiyotasının manipüle edilmesi yoluyla bağırsak epiteli ve bağırsak bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimlerin tam olarak anlaşılması da gereklidir. Açık konak-tür özgüllüğünün yanı sıra, uygulama yöntemi (balık yemi veya yetiştirme suyu yoluyla), probiyotik suş, doz, sıklık ve kalite kontrolü gibi dışsal ve içsel faktörler balık mikrobiyotasını etkileyebilir ve bu nedenle balık mikrobiyotası da etkilenebilir.

KAYNAKLAR

- Adorian, T. J, Jamali, H., Farsani, H. G., Darvishi, P., Hasanpour, S., Bagheri, T., Roozbehfar, R. 2018. Effects of probiotic bacteria *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activity, and hematological parameters of Asian Sea Bass, *Lates calcarifer* (Bloch) Probio. Antimicrob. Proteins, 1-8.
- Akhter, N., Wu, B., Memon, A. M., Mohsin, M. 2015. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. Fish Shellfish Immunol 45(2):733–741.
- Balcazar J. L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Calvo, A. C., Marquez, I. 2007. Changes in intestinal microbiota and humoral immune response following probiotic administration in brown trout (*Salmo trutta*). Br J Nutr 2007;97:5. 22-7.
- Balcazar, J. L., Blas, I., Zarzuela, I. R., Cunningham, D., Vendrell, D., Mu'zquiz, J. L. 2006. The Role of Probiotics in Aquaculture. Veterinary Microbiology, 114: 173-186.
- Bjursell, M.K., Martens, E.C., Gordon, J.I. 2006. Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron* to the suckling period. J Biol Chem; 281:362. 69-79.
- Bratovcic, A. 2020. Antioxidant enzymes and their role in preventing cell damage. Acta Sci Nutr Health 4(3). 01–07
- Christensen, H.R., Frokiaer, H., Pestka, J. J. 2002. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. J Immunol;168:171-8.
- Chu. H., Mazmanian, S.K. 2013. Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. Nat. Immunol 14(7):668–675
- Dawood, M.A.O., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M., Farahat, E.M. 2020a. Probiotic effects of *Aspergillus oryzae* on the oxidative status, heat shock protein, and immune related gene expression of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under hypoxia challenge. Aquaculture 520:73.46-69.
- Dawood, M.A.O., Moustafa, E.M., Elbially, Z.I., Farrag, F., Lolo, E.E.E., Abdel-Daim, H.A., Abdel-Daim, M.M., van Doan, H. 2020b. Lactobacillus plantarum L-137 and/or β -glucan impacted the histopathological, antioxidant, immune-related genes and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. Res Vet Sci 130:212–221.
- De Simone, C., Salvadori, B.B., Negri, R., Ferrazzi, M., Baldinelli, L., Vesely, R. 1986. The adjuvant effect of yogurt on production of g-interferon by Con A-stimulated human peripheral blood lymphocytes. Nutr Rep Int; 33:4. 19-33.
- Diaz-Rosales, P., Arijo, S., Chabrillon, M., Alarcon, F.J., Tapia-Paniagua, S.T., Martinez Manzanares, E. 2009. Effects of two closely related probiotics

- on respiratory burst activity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup) phagocytes, and protection against *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. *Aquaculture*; 293:16-21.
- Ellis, A.E. 1999. Immunity to bacteria in fish. *Fish Shellfish Immunol.*; 9. 291-308.
- Engstad, R.E., Robertsen, B., Frivold, E. 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish Shellfish Immunol.*; 2:4. 287-297.
- Esteban, M.A., Cordero, H., Martínez-Tomé, M., Jiménez-Monreal, A.M., Bakhrouf, A., Mahdhi, A. 2014. Effect of dietary supplementation of probiotics and palm fruits extracts on the antioxidant enzyme gene expression in the mucosae of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.*; 39 (2). 532-540.
- Fleshner, M. 2013. Stress-evoked sterile inflammation, danger associated molecular patterns (DAMPs), microbial associated molecular patterns (MAMPs) and the inflammasome. *Brain Behav Immun.*; 27(1):1-7.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2001. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. In the Joint FAO/WHO Expert Consultation report on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria (October 2001)).
- Galagarza, O. A., Smith, S. A., Drahos, D.J., Eifert, J. D., Williams, R. C., Kuhn, D. D. 2018. Modulation of innate immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of *Bacillus subtilis* endospores. *Fish Shellfish Immunol.*; 83:171-179.
- Galdeano, C. M. ve Perdigon, G. 2004. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. *J Appl Microbiol.*; 97:6. 73-81.
- Gatesoupe, F. J. 2002. Probiotic and Formaldehyde Treatments of *Artemia nauplii* as Food For Larval Pollack, *Pollachius pollachius*. *Aquaculture*, 212 (1-4): 347-360.
- Gismondo, M. R., Drago, L., Lombardi, A. 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Int J Antimicrob Agents*;12:2.87-92.
- 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.
- Henderson, B., Wilson, M., McNab, R., Lax. A. J. 1999. The innate immune response. *Cellular microbiology*. Wiley, Chichester. 311-53.

- Irianto, A. ve Austin, B. 2002. Probiotics in Aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25: 633-642.
- Kelso, A. 1998. Cytokines: principles and prospects. *Immunol Cell Biol*, 76; 4-300.
- Kim, D.H. ve Austin, B. 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. *Fish Shellfish Immunol*; 21:5.13-24.
- Kitazawa, H., Matsumura, K., Itoh, T., Yamaguchi, T. 1992. Interferon induction in murine peritoneal macrophage by stimulation with *Lactobacillus acidophilus* *Microbiol Immunol*, 36. 311-315
- Kozasa, M. 1986. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) As Growth Promotor for Animal Feeding. *Microbiol. Aliment. Nutrition*, 4: 121-135.
- Liu, H., Wang, S., Cai, Y., Guo, X., Cao, Z., Zhang, Y., Liu, S., Yuan, W., Zhu, W., Zheng, Y. 2017. Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Shellfish Immunol*. 60:326–333
- Marin, M.L., Tejada-Simon, M.V., Lee, J.H., Murtha, J., Ustunol, Z., Pestka, J.J. 1998. Stimulation of cytokine production in clonal macrophage and T-cell models by *Streptococcus thermophilus*: comparison with *Bifidobacterium* sp. and *Lactobacillus bulgaricus*. *J Food Prot*, 61. 859-864
- Makled, S.O., Hamdan, A.M., El-Sayed, A.F.M., Hafez, E.E. 2017. Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Fish Shellfish Immunol* 61:194–200
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., Tsakalidou, E. 2006. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16 (3): 189-199.
- Midhun, S.J., Neethu, S., Arun, D., Vysakh, A., Divya, L., Radhakrishnan, E.K., Jyothis, M. 2019. Dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* HGA8B improves growth parameters, enzymatic profile and gene expression of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*; 505:289–296
- Moriarty, D. J. W. 1999. Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria *Microbial Interactions in Aquaculture*. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada
- Rangavajhyala, N., Shahani, K. M., Sridevi, G., Srikumaran, S. 1997. Nonlipopolysaccharide component(s) of stimulate(s) the production of interleukin-1 alpha and tumor necrosis factor-alpha by murine macrophages. *Nutr Cancer*, 28.130-134

- Nayak, S.K., Swain, P., Mukherjee, S.C. 2007. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham). *Fish Shellfish Immunol*; 23, 89.2-6.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H. 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Vet Immunol Immunopathol*; 102: 3. 79-88.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H. 2007. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *Dev Comp Immunol*; 31: 3.72-82.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H. 2007. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *Dev Comp Immunol*; 31: 372-82
- Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Anim Nutr Health*; 29: 4-8.
- Peddie, S., Zou, J., Secombes, C.J. 2002. Immunostimulation in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following intraperitoneal administration of ergosan. *Vet Immunopathol*; 86:101-13.
- Perdigon, G., Maldonado, Galdeano, C., Valdez, J.C. 2002. Medici M. Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Eur J Clin Nutr*; 56 (S4):21-6.
- Picchietti, S., Mazzini, M., Taddei, A.R., Renna, R., Fausto, A.M., Mulero, V. 2007. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilt-head seabream immunohistochemical and ultrastructural studies. *Fish Shellfish Immunol*.
- Prioult, G., Fliss, I., Pecquet, S. 2003. Effect of probiotic bacteria on induction and maintenance of oral tolerance to beta-lactoglobulin in gnotobiotic mice. *ClinDiagn Lab Immunol*; 10:787-92.
- Rawls, J.F., Mahowald, M.A., Goodman, A.L., Trent, C.M., Gordon, J.I. 2007. In vivo imaging and genetic analysis link bacterial motility and symbiosis in the zebra fish gut. *Proc Natl Acad Sci U S A*;104:76. 22-7.
- Ridha, M.T., Azad, I.S. 2016. Efect of autochthonous and commercial probiotic bacteria on growth, persistence, immunity and disease resistance in juvenile and adult Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquac Res* 47(9):2757–2767
- Romano, N., Rossi, F., Abelli, L., Caccia, E., Piergentili, R., Mastrolia, L. 2007. Majority of TcR β T-lymphocytes located in thymus and midgut of the bony fish, *Dicentrarchus labrax* (L). *Cell Tissue Res*; 329.

- Rombout, J.H.W.M. ve Van den Berg, A.A. 1985. Uptake and transport of ferritin in the epithelium of carp (*Cyprinus carpio* L.) and the possible immunological implications. *Cell Biol Int Rep*.
- Rombout, J.H.W.M. ve van der Berg, A.A. 1989. Immunological importance of the second gut segment of carp. I. Uptake and processing of antigens by epithelial cells and macrophages. *J Fish Biol*
- Rutherford-Markwick, K.J. ve Gill, H.S. 2004. Probiotics and immunomodulation. In: Hughes DA, Darlington LG, Bendich A, editors. Diet and human immune function. Totowa, NJ: Humana Press; 3. 27-44
- Salinas, I., Cuesta, A., Esteban, M.A., Meseguer, J. 2005. Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses. *Fish Shellfish Immunol*;19:67-77.
- Salinas, I., Abelli, L., Bertoni, F., Picchietti, S., Roque, A., Furones, D. 2008. Monospecies and multispecies probiotic formulations produce different systemic and local immunostimulatory effects in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol*; 25:114-23.
- Saputra, F., Shiu, Y.L., Chen, Y.C., Puspitasari, A.W., Danata, R.H., Liu, C.H., Hu, S.Y. 2016. Dietary supplementation with xylanase-expressing *B. amyloliquefaciens* R8 improves growth performance and enhances immunity against *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol* 58:397-405
- Saurabh, S., Sahoo, P.K. 2008. Lysozyme: An important defence molecule of fish innate immune system. *Aquac Res*. 39 (3):223-239.
- Selim, K.M., Reda, R.M. 2015. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish Shellfish Immunol* 44(2):496-503.
- Sharifuzzaman, S.M., Austin, B. 2009. Influence of probiotic feeding duration on disease resistance and immune parameters in rainbow trout. *Fish Shellfish Immunol*;27:44.0-5
- Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, J., Nielsen, T., Appel, K. F., Gram, L. 2000. The Microflora of Rainbow Trout Intestine: a Comparison of Traditional and Molecular Identification. *Aquaculture*, 182: 1-15.
- Srisapoome, P. ve Areechon, N. 2017. Efficacy of viable *Bacillus pumilus* isolated from farmed fish on immune responses and increased disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Laboratory and on farm trials. *Fish Shellfish Immunol* 67:199-210.
- Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.Y., Kim, S.M., Park, S., Yoshikawa, T. 2006. Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish Sci*; 72:7. 55-66.

- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., Dias, D. de C., Sussel, F.R., Ishikawa, C.M., Tachibana, L. 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish Shellfish Immunol.* 39(2):305–311.
- Turabian, K. L. 1996. A manual for writers of term papers, theses, and dissertations. 6th ed. Chicago: University of Chicago Press.
- van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Khanongnuch, C., Kanpiengjai, A., Unban, K., van Kim, V., Srichaiyo, S. 2018. Host-associated probiotics boosted mucosal and serum immunity, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 491:94–100
- van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Khanongnuch, C., Kanpiengjai, A., Unban, K., van Kim, V., Srichaiyo, S. 2018. Host-associated probiotics boosted mucosal and serum immunity, disease resistance and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 491:94–100.
- Vaseeharan, B. ve Ramasamy, P. 2003. Control of Pathogenic *Vibrio* by spp. *Bacillus subtilis* BT23, a Possible Probiotic Treatment For Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon*. *Applied Microbiology*,36: 83–87.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Res.*, 64(4): 655–671.
- Vine, N. G., Leukes, W. D., Kaiser, H. 2006. Probiotics in Marine Larviculture. *FEMS Microbiology Reviews*, 30 (3): 424–427.
- von der Weid, T., Bulliard, C., Schiffrin, E.J. 2001. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4⁺ T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor b and interleukin-10. *Clin Diagn Lab Immunol*;8: 695–701.
- Wang, C., Liu, Y., Sun, G., Li, X., Liu, Z. 2019. Growth, immune response, antioxidant capability, and disease resistance of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed *Bacillus velezensis* V4 and *Rhodotorula mucilaginosa* compound. *Aquaculture* 500:65–74.
- Wang, M., Liu, G., Lu, M., Ke, X., Liu, Z., Gao, F., Cao, J., Zhu, H., Yi, M., Yu, D. 2017. Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia. *Aquac Res* 48(6):3163–3173.
- Weydert, C.J. ve Cullen, J.J. 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc* 5(1):51–66.
- Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y., Li, W. 2010. Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Fish Physiol Biochem*; 36(3):501–509.



Bölüm 4

OKSİDATİF STRESE KARŞI PROBİYOTİKLERİN ETKİSİ

SEVKAN ÖZÜTOK

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330,
Balcalı-Sarıçam / Adana, Türkiye, Sorumlu yazar: smuglu@cu.edu.tr



GİRİŞ

Su ürünleri üretimi, yüksek yoğunlukta, sınırlı alanlarda sucul hayvanların yetiştirilmesidir. Yetiştiricilik koşulları (sıcaklık, pH, çözülmüş oksijen veya amonyak azotu gibi olumsuz su ve çevre) ve yetiştiricilik işlemleri (avlanma, taşıma, dezenfeksiyon) su kalitesinin bozulmasına neden olur. Bu durum, sucul organizmaların sağlığını etkiler ve fırsatçı patojenlerin çoğalmasını kolaylaştırır (Conte, 2004; Douxfils ve ark., 2017) oksidatif strese neden olabilir. Doğanın simülasyonu olan kültür ortamında yetişen balıklarda oksidatif stress, kas/karaciğer/solungaç/bağırsakta histopatolojik değişikliklere yol açarak konak-mikroflora dengesizliğine ve hatta bağışıklık sisteminde bozulmaya neden olur. Stresörlerle bozulan balık sağlığı bağışıklığı baskılar ve antioksidan sistemlerin bozulmasıyla enfeksiyöz ajanlara duyarlılık artar (Soares ve ark., 2014). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, sağlığa faydaları olan probiyotiklere olan ilginin yeniden artmasına neden oldu. Probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında, özellikle gastrointestinal sistemde mikrobiyal denge sağlayan canlı, patojenik olmayan mikroorganizmaları ifade eder (Sarowska ve ark., 2013). Kanıtlar, probiyotik bakterilerin hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak önemli antioksidan yetenekler sergilediğini göstermiştir (Persichetti ve ark., 2014). Antioksidan sistemin bozulması, oksidatif stresin yani hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin aşırı artmasıyla meydana gelir (Ashoori ve Saedisomeolia, 2014; Yang ve ark., 2020). Oksidatif stres, lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar veren yüksek hücre içi oksijen radikal seviyelerini ifade eder. Birçok farklı hücresel aktivite için az miktarda ROS gerekmesine rağmen, fazla olduğunda ROS hücresel membran bileşenlerine zarar verir, oksidatif stresi tetikler ve sonunda fonksiyonel kayıp, hücre nekrozu veya apoptoz gibi birçok zararlı olayla sonuçlanır (Schieber ve Chandel, 2014; Feng ve Wang, 2002).

Süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere ROS, oldukça aktif oksijen serbest radikallerinden biridir. Evrim sırasında, çoğu canlı organizma enzimatik savunmalara (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz, glutatyon redüktaz (GR)), enzimatik olmayan antioksidan savunmalara (glutatyon, tioredoksin, flavonoidler, A,C, E Vitamini) ve onarım sistemlerine sahiptir (Mishra ve ark., 2015). Ancak bu doğal antioksidan sistemler genellikle canlı organizmaları oksidatif hasardan korumak için yeterli değildir. Hücresel substratların oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddeler kullanan antioksidan katkı maddeleri, insan vücudunu oksidatif hasara karşı koruma kapasitesini göstermiştir. Bütillenmiş hidroksianisol ve bütillenmiş hidroksitoluen dahil olmak üzere birçok sentetik antioksidan, lipid oksidasyonunu geciktirmede yaygın olarak kullanılmasına rağmen, karaciğer hasarı ve karsinogenisitesi

nedeniyle son zamanlarda güvenlikleri sorgulanmıştır. Bu nedenle, son yıllarda sentetik antioksidanların yerine biyo-kaynaklardan daha güvenli ve doğal antioksidanların bulunması büyük ilgi görmüştür. (Ashoori ve Saedisomeolia, 2014; Mishra ve ark., 2015).

Laktik asit bakterileri (LAB) gibi probiyotikler, konakçı bağırsak yolunda çok sayıda antioksidan aktivite gösterir, antioksidan enzimlerin üretimini teşvik eder ve oksidatif hasarı azaltmak için konakçı bağırsak yolunun reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmasına yardımcı olur (Feng ve Wang, 2020). Başka probiyotik de balığın oksidan strese toleransını artırarak önemli antioksidan özellikler sergilemiştir (Giri ve ark., 2012; Yan ve ark., 2016). Antioksidan aktivitelere ek olarak, probiyotikler konakçıya başka faydalar da sağlar: inhibitör bileşikler üreterek, besinler ve kimyasallar için rekabet ederek, yapışma bölgeleri için rekabet ederek, virülans gen ekspresyonunu inhibe ederek veya çekirdek algılamaya müdahale ederek, mikro besinler sağlayarak balıkların bakteriyel hastalık direncini teşvik eder ve balık bağırsaklarının sindirimine yardımcı olur. Bu nedenle probiyotikler, balık vücudundaki oksidatif stresi hafifletmek için yüksek kaliteli immünostimulantlar olarak kabul edilebilir (Pandiyan ve ark., 2013; Sopková ve ark., 2017)

1. Reaktif Oksijen Türleri

Anaerobik organizmalar hariç, oksijen tüm hayvanlar ve bitkiler için gereklidir. Oksijen konsantrasyonunun normal seviyenin altına düşmesi (Hipoksi), tüm organizmalar için yaralanma ve hatta ölüme neden olabilir. Tersine, oksijen konsantrasyonu normal seviyenin üzerine çıktığında ise oksidatif stres meydana gelecektir. Herbisitler, nitrojen oksitler, ozon, radyasyon ve bazı metaller gibi birçok faktör organizmaları oksidatif stres oluşturabilir (Halliwell ve Cross, 1994). Oksijen iyonları ve peroksitler de dahil olmak üzere ROS, normal oksijen tüketen metabolik sürecin ürünleridir ve genellikle oksidatif stres ile ilişkilendirilir. Oldukça reaktif yapıları nedeniyle ROS, DNA'yı, proteinleri veya lipidleri değiştirebilir (Cross ve ark., 1987).

Reaktif oksijen türleri (ROS); süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$), ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikalleri olabilir. Reaktif nitrojen türlerini (RNS) ise nitrikoksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) oluşturur. ROS ve RNS diğer nonradikal reaktif türlere kolay bir şekilde dönüşebilir. Radikal olmayanlar; hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen (1O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), nitrik asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve lipid peroksit ($LOOH$) ise serbest radikaller arasında gösterilmezler. Ancak, canlılar tarafından üretilen bu oksidan türler, bazı patolojik ve fizyolojik durumlar altında canlı organizmada kolaylıkla serbest radikal reaksiyonlarına dönüşebilir

(Fang ve ark., 2002; Halliwell, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007).

2. Antioksidasyonda Probiyotik Bakterilerin Etkisi

Yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin humoral ve hücresele bağışıklığı uyardığı; kanseri önlediği; ve kolondaki amonyum ve prokanserojenik enzimler dahil olmak üzere olumsuz metabolitleri azalttığı bildirilmiştir (Mishra ve ark., 2015). Ayrıca son yıllarda çok sayıda çalışma bağırsak mikrobiyotasının bireyin metabolizma üzerindeki etkilerine odaklanmıştır (Wang ve ark., 2015, Gomes ve ark., 2014). Laktik asit bakterileri (LAB) suşları, hem gıda hem de ilaç pazarında probiyotiklerin başlıca temsilcileridir (Holzapfel ve Schillinger, 2002). Ek olarak balıklarda, *Lactobacillus rhamnosus* ve/veya *Lactobacillus lactis* mercan (*Pagrus major*)'nın büyümesini, bağışıklık sistemini ve oksidatif durumunu iyileştirmede faydalı bir rol oynadığı bildirilmiştir (Dawood ve ark., 2016). *Bacillus* türleri, spor oluşturan bakteriler olarak stabilite ve proteaz, amilaz ve lipaz gibi çeşitli enzimleri üretebilme yetenekleri nedeniyle yem endüstrisinde tercih edilmektedir (Lei ve ark., 2013).

Yukarıda bahsedilen faydalı etkilere ek olarak, son yıllarda birçok bulgu probiyotiklerin antioksidan kapasitesinin anlaşılmasına yeni ışık tutmuştur. *Bifidobacterium animalis* 01'in kültür süpernatını, bozulmamış hücreleri ve hücre içi hücresiz ekstraktlarının *in vitro* olarak hidroksil radikallerini ve süperoksit anyonunu temizlediği ve *in vivo* farelerin antioksidaz aktiviteyi arttırdığı bulunmuştur (Shen ve ark., 2011). LAB suşları, hem hayvanlarda hem de insan vücudunda geniş çapta çalışılmıştır. LAB'nin peroksit radikalleri (Stecchini ve ark., 2001), süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri (Kullisaar ve ark., 2002) dahil olmak üzere ROS'a karşı koyduğu ortaya konulmuştur. *Lactobacillus plantarum* P-8 beslenen sıçanlarda, karaciğerde lipid birikimini azaltmış ve sağlıklı karaciğer fonksiyonunu korumuş, aynı zamanda da yüksek bir antioksidan etki göstermiştir (Bao ve ark., 2012). *Lactobacillus rhamnosus*, insanların yüksek fiziksel stres durumlarında güçlü antioksidan aktivite göstermiştir. Oksidatif strese maruz kalan sporcularda yapılan çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus*'un antioksidan seviyesi artmış ve reaktif oksijen türlerinin etkilerinin nötralize ettiğini göstermiştir (Martarelli ve ark., 2011).

Geçtiğimiz on yıl boyunca, çalışmalar, farklı probiyotik bakteri suşlarının antioksidan kapasiteyi farklı şekillerde gösterdiğini ve çeşitli probiyotik suşların oksijene dirençli mekanizmalar hakkında mevcut bilgilere genel bir bakış sunmaktadır (AshaRani ve ark., 2009; Mahmoudi ve ark., 2011). Probiyotiklerin antioksidan mekanizmalarının temeli ile ilgili az sayıda inceleme bulunmuştur. Bu nedenle, aşağıdaki bölümler probiyotik bakterilerin antioksidasyondaki rollerini göstermektedir,

1. Metal iyon şelatlama yeteneği
2. Antioksidan enzim Sistemi
3. Antioksidan metabolitler
4. Mikrobiyota bileşimini düzenleyerek probiyotiklerin antioksidan etkileri

2.1. Metal İyon Şelatlama Yeteneği

Etilen diammin tetraasetik asit (EDTA), batofenantolindisülfonik asit (BPS), penisillamin ve desferrioksamin gibi şelatörlerin metal iyonlarını yakaladığı ve metal iyonlarının oksidasyonunun katalize edilmesini önlediği bildirilmiştir (Gutteridge ve ark., 1979). 19 LAB suşunun metal iyonu (demir ve bakır iyonları) şelatlama yeteneği ölçülmüş ve buna göre, *Streptococcus thermophilus* 821'in hem Fe_2+ hem de Cu_2+ için en iyi şelatlama yeteneği gösterdiği bulunmuştur (Lin ve Yen, 1999). Başka bir çalışmada, *Lactobacillus casei* KCTC 3260'ın, SOD aktivitesi göstermemesine rağmen Fe_2+ veya Cu_2+ 'yı şelatlayarak yüksek bir antioksidan yeteneğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Lee ve ark., 2015) Benzer şekilde, *Lactobacillus helveticus* CD6'nın daha yüksek Fe_2+ iyon şelasyonu göstermiştir (Ahire ve ark., 2013).

Probiyotik bakterilerde metal iyon şelasyonundan sorumlu faktörler tam olarak anlaşılmassa da, geçiş metali iyonu, enzim katalizli fosfat ester yer değiştirme reaksiyonlarını inhibe ettiği ve hidroperoksitlerin ayrışmasıyla peroksil ve alkoksil radikalleri ürettiği tespit edilmiştir (Halliwell ve ark., 1995). Bu nedenle, Lin ve Yen'in görüşüne göre (1999), bu probiyotik suşların şelatlama kapasitesi, probiyotiklerin hücre içi hücre içermeyen ekstraktında bulunan fizyolojik şelatlayıcılardan kaynaklanıyor olabilir.

2.2. Antioksidan Enzim Sistemi

Yüksek organizasyonlu canlılar gibi mikroorganizmaların da kendi antioksidan enzimatik sistemleri vardır. Bu enzimlerin en iyi bilinenlerinden biri SOD (süperoksit dismutaz)'dur. Süperoksit, mitokondri tarafından en sık üretilen ROS'lerden biridir. SOD, oluşan süperoksitin hidrojen peroksit ve suya parçalanmasını katalizler ve böylelikle ROS seviyesinin belli bir oranda kalmasını sağlar (Landis ve Tower 2005). Bakteriler sadece Fe -SOD ve Mn -SOD'u kullanabilirler, ancak memeliler Cu , Zn -SOD ve mitokondriyal Mn -SOD'un hem sitoplazmik hem de hücre dışı formlarını kullanırlar. Mitokondriyal Mn -SOD, evrimsel olarak bakteriyel Mn -SOD ile yakından ilişkilidir (Davies, 2000). Kullisaar ve ark. (2002) çalışmasında, *Lactobacillus fermentum* E-3 ve E-18, oksidatif strese direnmek için

Mn-SOD'u kullanmıştır (Kullisaar ve ark., 2002). SOD'un antioksidan aktivitesi iyi bilinmesine rağmen (Koç ve ark., 2003; Molla ve ark., 2005), biyo yararlanımda SOD'un kısıtlayıcı olması, yarı ömrü nedeniyle SOD'un terapötik özelliğinin sınırlı oluşudur. Bu sorunu gidermek için SOD'u hasarlı bölgeye verebilen probiyotik bakteriler, ROS üretimi ile karakterize edilen bağırsak hastalıklarına yeni bir soluk getirmektedir. Yakın zamanda, SOD üreten *Lactobacillus casei* BL23 suşlarının Crohn hastalığı olan fareler üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, kontrol farelerine göre probiyotik alan farelerin başlangıçtaki kilo kaybınının daha hızlı iyileştiğini, bağırsaktaki enzimatik aktivitelerin arttığını ve daha az oranda bağırsak iltihabı olduğunu göstermiştir (LeBlanc ve ark., 2011). Katalaz (CAT), hidrojen peroksidi parçalayarak hücrel antioksidan savunmaya katılır, böylece Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikallerinin oluşumunu engeller (Ho ve ark., 2004). LAB'nin bir kaç türü hariç CAT negatiftir (Spyropoulos ve ark., 2011); ancak de LeBlanc ve ark., CAT üreten bir *Lactococcus lactis*'in farelerde 1,2-dimetilhidrazin kaynaklı kolon kanserini önleyebileceğini kanıtladı. Ek olarak, CAT üreten *Lactobacillus casei* BL23 suşun ROS'un neden olduğu bağırsak iltihabını azalttığı görülmüştür (De LeBlanc ve ark., 2008). Ayrıca probiyotikler, konakçının antioksidan sistemini de uyarabilir ve antioksidazların aktivitelerini önemli ölçüde yükseltmektedir. Domuzlarda yapılan araştırmalar, diyetlere eklenen *Lactobacillus fermentum* takviyesinin, kontrol grubuna kıyasla serum SOD ve GPx'i ve hepatik CAT, kas SOD ve Cu ve Zn-SOD'yi aktivitesinin artırdığını göstermiştir (Wang ve ark., 2009). Ek olarak, farklı dozlarda probiyotik *Saccharomyces cerevisiae* alımının, civcivlerin vücut ağırlığını, CAT ve GPx aktivitesini arttırmıştır (Aluwong ve ark., 2013). Bununla tutarlı olarak, insanlarda yapılan araştırmalar, *Lactobacillus acidophilus* La5 ve *Bifidobacterium lactis* Bb12 içeren yoğurt alan tip 2 diyabetli hastalarda artmış eritrosit SOD ve GPx aktivitelerinin arttığı tespit edilmiştir (Ejtahed ve ark., 2012). Ayrıca *Bacillus amyloliquefaciens* SC06'nın domuz bağırsak epitel hücrelerinde CAT, GSH gen ekspresyonlarını ve CAT aktivitesini yükselttiğini bildirilmiştir (Wang ve ark., 2016).

Chlorpyrifos (CPF) (akuakültürde sıklıkla kullanılan pestisit) ile muamele edilen zebra balığı bağırsaklarında malondialdehit (MDA) seviyeleri arttığı ve glutatyon (GSH) düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. Bağırsak mikrobiyotası için, filum düzeyinde, Proteobacteria önemli düzeyde değişiklik gösterdiği ve bağırsaktaki yaklaşık 25 bakteri türü önemli ölçüde değiştiği bulunmuştur (Wang ve ark., 2019).

2.3. Antioksidan Metabolitler

Probiyotikler, folat, bütirat ve glutatyon (GSH) gibi antioksidan aktiviteye sahip çeşitli metabolitler üretebilir. Folat, besinlerde B9 vitamini-

nin doğal olarak bulunan şeklidir, tek karbonlu birimleri kabul eden ve birçok metabolik yolda yer alan bir vitamindir. DNA replikasyonu, onarımı ve metilasyonunun etkinliği, folat varlığında işlev görür (Pompei ve ark., 2007). Folat üretme yeteneği, çeşitli kökenlerden gelen çoklu probiyotik suşlarda yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Rossi ve ark., 2011). Kanıtlar, folat üreten Bifidobakterilerin hem sıçanlarda hem de insanlarda folat durumunu iyileştirdiğini göstermiştir (Pompei ve ark., 2007) Ek olarak Ahire ve ark., probiyotik *Lactobacillus helveticus* CD6 folat üreten suşlarının, antioksidan potansiyelinin olduğunu bildirmiştir (Ahire ve ark., 2013).

Başlıca hücrel enzimatik olmayan bir antioksidan olan glutatyon ya da GSH, hücreleri serbest radikaller, peroksitler ve ağır metaller gibi reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerinden koruyan selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz ile işbirliği yaparak ortadan kaldıran bir antioksidandır (Zilmer ve ark., 2005). Kullisaar ve ark., iki antioksidatif *Lactobacillus fermentum* suşu E-3 ve E-18'in önemli ölçüde GSH içerdiğini tespit etmişlerdir (Kullisaar ve ark., 2002). Ayrıca, araştırma grupları ilk kez *Lactobacillus fermentum* ME-3'te tam bir GSH sisteminin bulunduğunu bulmuşlardır Kullisaar ve ark., 2010).

Bütirat (C₄), kısa zincirli yağ asitleri, balık fizyolojisinde nadiren bulunsada, sindirilmemiş şekerlerin ve diyet lifinin bağırsak bakteri florasının oluşturduğu fermentasyonun son ürünüdür. *Clostridium butyricum* MIYARI 588suşu, bütirat üreten bir probiyotiktir. Karaciğer toksitesi olan sıçanlarda hepatik oksidatif stresi baskılamak için antioksidazları indüklediği gösterilmiştir (Endo ve ark., 2013).

Konağın antioksidan metabolitlerinin seviyeleri de probiyotik tedavisi ile düzenlenebilir. Folat ve B12 vitamini eksikliği, yetişkin tip 2 diyabette oksidatif stresi engellemektedir (Al-Maskari ve ark., 2012). *Lactobacillus acidophilus* La1 yoğurdunun günlük tüketimi, ilgili temel verilerle karşılaştırıldığında çalışılan çocuklarda ortalama plazma folat ve vitamin B₁₂ düzeylerini önemli ölçüde iyileştirdiği, bu da iyileştirilmiş bir oksidatif durumu göstermektedir (Mohammad ve ark., 2006).

2.4. Bağırsak Mikroflorasının Düzenlenmesi

2.4.1. Bağırsak Mikroflorası

Bağırsak mikroflorası, larva gelişimi sırasında balıklar da dahil olmak üzere sucul hayvanlarda sindirim sisteminin önemli bir bileşeni olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, osmoregülasyon için deniz balıkları larvaları yumurta sarısı tüketilmeden önce "su içmeye" başlar (Reitan ve ark., 1998) ve bakteriler aktif beslenme başlamadan önce sindirim sistemine

girerler (Hansen ve Olafsen, 1999). Bağırsak mikroflorasında yerleşimin sağlanabilmesi için; besin bileşimi, pH, anaerobiyoz, safra tuzlarının ve sindirim enzimlerinin konsantrasyonu, konağın bağışıklık sistemi ve bağırsak topluluğunun diğer üyelerinin mevcudiyeti gibi çeşitli koşullara uyum sağlamalıdır. Sugita ve arkadaşlarına (1988) göre, balık bağırsak mikroflorasının gelişimi üç aşamadan oluşur:

- Geçici mikroflora: bağırsakta uzun süre kalmaz ve sudaki bakterilerden oluşur,
- Balık yumurtalarının yüzeyindeki microflora: balık ontogenezinin tüm aşamalarında kaydedilen kalıcı yerli microflora,
- Yetişkin mikroflorası: yumurtadan çıktıktan yaklaşık iki ay sonra ilk kez ortaya çıkan mikrobiyota, yetişkin balıkların sağlığında rol oynar.

Sindirim kanalının bakteriler tarafından kolonizasyonunda; pH, bağırsak peristalsisi, safra asitlerinin içeriği, enzimler ve konağın bağışıklık tepkisi gibi farklı endojen faktörler söz konusudur (Fuller, 1989). Bu nedenle, bakterilerin bağırsakta hayatta kalması, bağırsakta işleyen antibakteriyel mekanizmalara (hem kimyasal hem de fiziksel) direnme kapasitelerine bağlıdır.

Bağırsak bakterilerinin bileşimi, deri, solungaca benzer ve çoğunlukla hem aerobik hem de fakültatif anaerobik Gram negatif bakterilerle temsil edilmektedir (Cahill, 1990). Gram negatif aeroblar daha fazla sayıda balık türünde bulunur ve tatlı su ve deniz balıklarında benzer oranlarda bulunur (Izvekova ve ark., 2007). Öte yandan, balıkların (özellikle herbivor türlerin) bağırsaklarının hem fakültatif hem de zorunlu anaerobları içerdiğini ve salmonidlerde bulunan zorunlu anaerobların popülasyon düzeylerinin fakültatif anaeroblarınkinden daha düşük olduğunu gösteren yayınlar söz konusudur (Ringo ve ark., 1995). balıkların bağırsağında *Pseudomonas*, *Aeromonas* ve *Enterobacteriaceae*, *Plesiomonas*, *Carnobacterium*, *Flavobacterium* ve zorunlu anaerobik bakterilerden *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* cinslerine aittir. Deniz balıklarında bunlara ek olarak *Vibrio* ve *Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Plesiomonas*, *Providencia*, *Serratia*, *Shewanella*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* ve *Carnobacterium* cinslerini içerdiğini göstermektedir (Cahill, 1990; Hansen ve Olafsen, 1999; Ringo ve Olsen, 1999). LAB (*Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, sub, *L. paracasei* sp. *plantarum*, *L. brevis* ve *L. fermentum*) ise çok sayıda farklı organizma için hayati öneme sahip probiyotikler grubunu temsil etmektedir (Ringo ve Gatesoupe ve ark., 1998; Itoi ve ark., 2008). Bifidobakteriler, *Bacteroides*, *Eubacterium* gibi homeotermal hayvanlara özgü diğer bakteri grupları balıklarda ya yoktur ya da çok nadir rastlanılır (Isolaure ve ark., 2004).

2.4.2. Probiyotiklerin Antioksidan Etkileri

Bağırsak mikrobiyotası, bağlanma bölgelerinin işgali, besin kaynaklarının tüketimi ve antimikrobiyal maddelerin üretimi dahil olmak üzere rekabetçi dışlama yoluyla konağı patojenlerden korur (Sekirov ve ark., 2010). Stresli durumda bağırsak mikrobiyotasında, zararlı bakteriler aşırı derecede çoğalarak kandaki endotoksini indükler ve hücrelerde önemli derecede oksidatif strese neden olur. Patojen kaynaklı epitelyal ROS üretiminin zararının en aza indilmesi, filumlar arasında oranın korunumu polikası hakimdir. Bu mekanizma, bakteri topluluklarının konaktaki homeostatik redoksu etkileyebilecek genel bir aracı rol üstlenir (Jones ve Neish, 2017) Probiyotiklerin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu ve bağırsak hastalıklarını değiştirmedeki işlevleri gözden geçirildiğinde, bağırsak mikrobiyota bileşimi ile ilgili olarak probiyotiklerin antioksidasyon üzerindeki etkisini kesin olarak karakterize eden az sayıda çalışma yapılmıştır (O'Toole ve Cooney, 2008; Butel, 2014). Probiyotikler, hem insanların hem de hayvanların gastrointestinal sisteminin düzenli sakinleridir ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimini düzenleyebilir ve oksidatif stresin azalmasına katkıda bulunabilecek zararlı bakterilerin aşırı çoğalmasını engelleyebilirler (Bhardwaj ve ark., 2011). Laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit üreten en yaygın probiyotik türler olan LAB ve *Bacillus* lar, bağırsak pH'sını düşürebilir, enzim üretebilir ve bağırsak dengesini korumak için çeşitli patojenik bakterilere karşı antagonizma yaratabilir (Alvarez-Olmos ve ark., 2006; Doron ve Gorbach, 2006. Düşük moleküler ağırlıklı bileşikler salgıladığı gösterilen *Lactobacillus rhamnosus* GG'un, geniş ölçekte Gram-pozitif, Gram-negatif ve anaerobik bakterileri inhibe ettiği tespit edilmiştir (Silva ve ark., 1987). Ek olarak, spesifik probiyotik suşlar, organik asitler, bakteriyosinler ve biyosüpfaktanlar gibi maddelerin üretimi patojenik mikroorganizmalar için toksik etki göstermektedir (Vanderhoof ve Young, 2004). Qiao ve ark. (2013), yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerin oksidatif stres ile güçlü bir şekilde bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir.

SONUÇLAR

Bu derlemede, probiyotiklerin metal iyon şelatlama yetenekleri, antioksidan sistemleri, bağırsak mikrobiyotası yoluyla konağın redoks durumunu modüle edebileceğini özetliyoruz. Ancak hala çözülmemiş birçok soru var. Hayvan deneylerinden elde edilen in vitro sonuçların insanlara aktarılıp aktarılamayacağı tartışmalıdır. Probiyotiklerin çoğu bağırsağı kolonize edemediğinden ve aldıktan kısa bir süre sonra elimine edildiğinden ne olacağı açık değildir. Uzun süreli uygulamanın sonucunda, probiyotikler ve antioksidan kapasite arasındaki etkileşimin tam resmi daha fazla araştırılmalı ve yakın gelecekte ortaya çıkarılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Ahire, J. J., Mokashe, N. U., Patil, H. J., Chaudhari, B. L. 2013. Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. J. Food Sci. Technol., 50, 26–34.
- Al-Maskari, M. Y., Waly, M. I., Ali, A., Al-Shuaibi, Y. S., Ouhtit, A. 2012. Folate and vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia promote oxidative stress in adult type 2 diabetes. Nutrition, 28, e23–e26.
- Aluwong, T., Kawu, M.; Raji, M., Dzenda, T., Govwang, F., Sinkalu, V., Ayo, J. 2013. Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. Antioxidants, 2, 326–339.
- Alvarez-Olmos, M. I. ve Oberhelman, R. A. 2001. Probiotic agents and infectious diseases: A modern perspective on a traditional therapy. Clin. Infect. Dis., 32, 1567–1576.
- AshaRani, P.V., Mun, G.L.K., Hande, M.P., Valiyaveetil, S. 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. ACS Nano, 3, 279-290.
- Ashoori, M. ve Saedisomeolia, A. 2014. Riboflavin (vitamin B2) and oxidative stress: a review British Journal of Nutrition. 111,11; 1985–1991.
- Bao, Y. Wang, Z. Zhang, Y. Zhang, J. Wang, L. Dong, X. Su, F. Yao, G. Wang, S. Zhang, H. 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* P-8 on lipid metabolism in hyperlipidemic rat model. Eur. J. Lipid Sci. Technol.,114, 1230–1236.
- Bhardwaj, A., Kaur, G., Gupta, H., Vij, S., Malik, R. K. 2011. Interspecies diversity, safety and probiotic potential of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* isolated from dairy food and human faeces. World J. Microbiol. Biotechnol., 27, 591–602.
- Butel, M. J. 2014. Probiotics, gut microbiota and health. Méd. Mal. Infect., 44, 1–8.
- Cahill, M. M. 1990. Bacterial flora of fishes: a review. Microbial Ecology, 19, 21-41.
- Conte, F. S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science 86, 205–223.
- Cross, C.E.; Halliwell, B.; Borish, E.T.; Pryor, W.A.; Ames, B.N.; Saul, R.L.; McCord, J.M.; Harman, D. 1987. Oxygen radicals and human disease. Ann. Int. Med., 107, 526–545.
- Davies, K.J.A. 2000. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB Life, 50, 279–289.
- Dawood, M. A.; Koshio, S.; Ishikawa, M.; El-Sabagh, M.; Esteban, M. A.; Zaineldin, A. I. 2016. Probiotics as an environment-friendly approach to enhance

- ce red sea bream, *Pagrus major* growth, immune response and oxidative status. Fish Shellfish Immunol., 57, 170–178.
- De LeBlanc, A.M.; LeBlanc, J.G.; Perdigon, G.; Miyoshi, A.; Langella, P.; Azevedo, V.; Sesma, F. 2008. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. J. Med. Microbiol., 57, 100–105.
- Doron, S. ve Gorbach, S. L. 2006. Probiotics: Their role in the treatment and prevention of disease. Expert Rev. Anti-Infect. Ther., 4, 261–275.
- Douxflis, J., Fierro-Castro, C., Mandiki, S. N.M., Emile, W., Tort, L., Kestemont, P. 2017. Dietary β -glucans differentially modulate immune and stress-related gene expression in lymphoid organs from healthy and *Aeromonas hydrophila*-infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish & Shellfish Immunology 63, 285–296.
- Ejtahed, H.S.; Mohtadi-Nia, J.; Homayouni-Rad, A.; Niafar, M.; Asghari-Jafarabadi, M.; Mofid, V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. Nutrition 2012, 28, 539–543.
- Endo, H.; Niioka, M.; Kobayashi, N.; Tanaka, M.; Watanabe, T. 2013. Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: New insight into the probiotics for the gut-liver axis. PLoS ONE, 8, e63388.
- Fang, Y. Z. Yang, S., Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition, 18, 10; 872-879.
- Feng, T. ve Wang, J. 2020. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. Gut Microbes, Vol. 12, no. 1, e1801944 (24
- Fuller, R. 1989. A review. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66, 365-378.
- Giri, S. S., Sen, S. S., Sukumarana, V. 2012. Effects of dietary supplementation of potential probiotic *Pseudomonas aeruginosa* VSG-2 on the innate immunity and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. Fish & Shellfish Immunology, 32, 6; 1135-1140
- Gomes, A.C., Bueno, A.A.; de Souza, R.G.; Mota, J.F. 2014. Gut microbiota, probiotics and diabetes. Nutr. J.13, 60.
- Gutteridge, J.M.C.; Richmond, R.; Halliwell, B. 1979. Inhibition of the iron-catalyzed formation of hydroxyl radicals from superoxide of lipid peroxidation by desferrioxamine. Biochem. J., 184, 469–472.
- Halliwell, B. 1999. Antioxidant defence mechanisms: From the beginning to the end (of the beginning). Free Radical Research, 31, 4, 261-272.
- Halliwell, B.ve Cross, C.E. 1994. Oxygen-derived species: Their relation to human disease and environmental stress. Environ. Health Perspect., 102, 5.

- Halliwell, B., Murcia, H. A., Chirico, S., Aruoma, O. I. 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 7–20.
- Hansen, G. H. ve Olafsen, J. A. 1999. Bacterial Interactions in early life stages of marine cold water fish. *Microbial Ecology*, 38, 1-26.
- Ho, Y.S.; Xiong, Y.; Ma, W.; Spector, A.; Ho, D. 2004. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *J. Biol. Chem.*, 279, 32804–32812.
- Holzapfel, W.H. ve Schillinger, U. 2002. Introduction to pre-and probiotics. *Food Res. Int.*, 35, 109–116.
- Isolauri, E., Salminen, S., Ouwehand, A. C. 2004. Probiotics. *Best Practice & Research, Clinical Gastroenterology*, 18, 2, 299-313
- Itoi, S., Abe, T., Washio, S., Ikuno, E., Kanomata, Y., Sugita, H. 2008. Isolation of halotolerant *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from intestinal tract of coastal fish. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 116-121.
- Izvekova, G., I., Izvekov, E. I., Plotnikov, A. O. 2007. Symbiotic microflora in fishes of different ecological groups. *Biology Bulletin*, 34, 6, 728-737.
- Jones, R. M. ve Neish, A. S. 2017. Redox signaling mediated by the gut microbiota. *Free Radic. Biol. Med.*, 105, 41-47.
- Koç, M., Taysi, S., Buyukokuroglu, M. E., Bakan, N. 2003. Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *J. Radiat. Res.*, 44, 211–215.
- Kullisaar, T., Songisepp, E., Aunapuu, M., Kilk, K., Arend, A., Mikelsaar, M., Rehemä, A., Zilmer, M. 2010. Complete glutathione system in probiotic *Lactobacillus fermentum* ME-3. *Prikl. Biokhimiia Mikrobiol.*, 46, 481–486.
- Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., Kilk, A. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *Int. J. Food Microbial.*, 72, 215–224.
- Landis, G.N. ve Tower, J. 2005. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mech. Ageing Dev.*, 126, 365–379.
- LeBlanc, J.G., Del Carmen, S., Miyoshi, A., Azevedo, V., Sesma, F., Langella, P., Bermudez-Humaran, L., Watterlot, L., Perdigon, G. 2011. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. *J. Biotechnol.*, 151, 287–293.
- Lee, J., Hwang, K.T., Chung, M.Y., Cho, D., Park, C. 2005. Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): Role for a metal ion chelating effect. *J. Food Sci.* 70, m388–m391.
- Lei, K. Li, Y.L. Yu, D.Y. Rajput, I.R. Li, W.F. 2013. Influence of dietary inclusion of *Bacillus licheniformis* on laying performance, egg quality, antioxidant enzyme activities, and intestinal barrier function of laying hens. *Poult. Sci.*, 92, 2389–2395.

- Lin, M. Y. ve Yen, C. L. 1999. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. J. Agric. Food Chem., 47, 1460–1466.
- Mahmoudi, M., Azadmanesh, K., Shokrgozar, M.A., Journeay, W.S., Laurent, S. 2011. Effect of nanoparticles on the cell life cycle. Chem. Rev., 111. 3407-3432.
- Martarelli, D., Verdenelli, M.C., Scuri, S.; Cocchioni, M., Silvi, S., Cecchini, C., Pompei, P. 2011. Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training.Curr. Microbiol., 62, 1689–1696.
- Miest, J. J., Falco, A., Pionnier, N.P.M., Frost. P., Irnazarow, I., Williams, G.T., Hoole, D. 2012. The influence of dietary β -glucan, PAMP exposure and *Aeromonas salmonicida* on apoptosis modulation in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish & Shellfish Immunology 33, 846–856.
- Mishra, V., Shah, C.; Mokashe, N.; Chavan, R.; Yadav, H.; Prajapati, J. Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. J. Agric. Food Chem. 2015, 63, 3615–3626.
- Mohammad, M. A., Molloy, A., Scott, J., Hussein, L. 2006. Plasma cobalamin and folate and their metabolic markers methylmalonic acid and total homocysteine among Egyptian children before and after nutritional supplementation with the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* in yogurt matrix. Int. J. Food Sci. Nutr., 57, 470–480.
- Mollà, M., Gironella, M., Salas, A., Closa, D., Biete, A., Gimeno, M., Coronel, P., Pique, J.M., Panes, J. 2005. Protective effect of superoxide dismutase in radiation-induced intestinal inflammation. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 61, 1159–1166.
- O'Toole, P. W. ve Cooney, J. C. 2008. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis., 2008, 175285.
- Pandiyan, P., Balaraman, D., Thirunavukkarasu, R., George, G. E. J., Subaramanian, K., Manikkam S., Sadayappan, B. 2013. Probiotics in aquaculture. Drug Invention Today, 5, 1; 55-59.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci., 4,2, 89–96.
- Pompei, A.; Cordisco, L.; Amaretti, A.; Zanoni, S.; Matteuzzi, D.; Rossi, M. 2007. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. Appl. Environ. Microbiol, 73, 179–185.
- Pompei, A.; Cordisco, L.; Amaretti, A.; Zanoni, S.; Raimondi, S.; Matteuzzi, D.; Rossi, M. 2007. Administration of folate-producing bifidobacteria enhances folate status in Wistar rats. J. Nutr. 137, 2742–2746.
- Qiao, Y., Sun, J., Ding, Y., Le, G., Shi, Y. 2013. Alterations of the gut microbiota in high-fat diet mice is strongly linked to oxidative stress. Appl. Microbiol. Biotechnol., 97, 1689–1697.

- Reitan, K. I., Natvik, C. M., Vadstein, O. 1998. Drinking rate, uptake of bacteria and microalgae in turbot larvae. *Journal of Fish Biology*, 53, 1145-1154.
- Ringø, E. ve Gatesoupe, F. J. 1998. Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160, 177-203.
- Ringø, E., Olsen, R. E. 1999. The effect of diet on aerobic bacterial flora associated with intestine of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Journal of Applied Microbiology*, 86, 22-28.
- Ringø, E., Strøm, E., Tabachek, J-A. 1995. Intestinal microflora of salmonids: a review. *Aquaculture Research*, 26, 773-789
- Rossi, M.; Amaretti, A.; Raimondi, S. 2011. Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients*, 3, 118–134.
- Schieber, M.; Chandel, N.S. 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Biol.*, 24, 453–462.
- Sekirov, I.; Russell, S. L.; Antunes, L.C.; Finlay, B. B. 2010. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.*, 90, 859–904.
- Shen, Q.; Shang, N.; Li, P. 2011. In vitro and in vivo antioxidant activity of *Bifidobacterium animalis* 01 isolated from centenarians. *Curr. Microbiol.*, 62, 1097–1103.
- Silva, M., Jacobus, N. V., Deneke, C., Gorbach, S. L. 1987. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31, 1231–1233.
- Soares, F., Fernández Monzón, I., Costas, B. & Gavaia, P. 2014. Non-infectious disorders of warmwater fish *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, 2nd Edition
- Sopková, D., Hertelyová, Z., Andrejčáková, Z., Vlčková, R., Gancarčíková, S., Petrilla, V., Ondrašovičová S., Krešáková, L. 2017. The application of probiotics and flaxseed promotes metabolism of n-3 polyunsaturated fatty acids in pigs. *Journal of Applied Animal Research*, 45:1, 93-98.
- Spyropoulos, B. G.; Misiakos, E. P.; Fotiadis, C.; Stoidis, C. 2011. Antioxidant properties of probiotics and their protective effects in the pathogenesis of radiation-induced enteritis and colitis. *Dig. Dis. Sci.*, 56, 285–294.
- Stecchini, M.L.; Del Torre, M.; Munari, M. 2001. Determination of peroxy radical-scavenging of lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 64, 183–188.
- Sugita, H., Tsunohara, M., Ohkoshi, T., Deguchi, Y. 1988. The establishment of an intestinal microflora in developing goldfish (*Carassius auratus*) of culture ponds. *Microbial Ecology*, 15, 333–344.
- Valko, M., Leibfritz, D., Marcol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39, 1, 44-84.

- Vanderhoof, J. A. ve Young, R. J. 2004. Current and potential uses of probiotics. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 93, S33–S37.
- Wang, A.N.; Yi, X.W.; Yu, H.F.; Dong, B.; Qiao, S.Y. 2009. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. *J. Appl. Microbiol.*, 107, 1140–1148.
- Wang, J., Tang, H., Zhang, C., Zhao, Y., Derrien, M., Rocher, E., van-Hylckama Vlieg, J.E., Strissel, K., Zhao, L., Obin, M. 2015. Modulation of gut microbiota during probiotic-mediated attenuation of metabolic syndrome in high fat diet-fed mice. *ISME J.*, 9, 1–15.
- Wang, X., Shen, M., Zhou, J., Jin, Y. 2019. Chlorpyrifos disturbs hepatic metabolism associated with oxidative stress and gut microbiota dysbiosis in adult zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 216, 19-28.
- Wang, Y.; Wu, Y.; Wang, Y.; Fu, A.; Gong, L.; Li, W.; Li, Y. 2016. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 101, 1–12.
- Yan, Y. Y., Xia, H. Q., Yang, H. L., Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z. 2016. Effects of dietary live or heat-inactivated autochthonous *Bacillus pumilus* SE5 on growth performance, immune responses and immune gene expression in grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture nutrition*, 22, 3; 698-707.
- Zilmer, M.; Soomets, U.; Rehema, A.; Langel, U. 2005. The glutathione system as an attractive therapeutic target. *Drug Des. Rev.*, 2, 121–127.

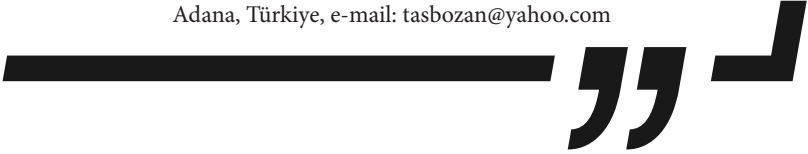


Bölüm 5

AKUAKÜLTÜR YEMLERİNDE MİKOTOKSİNLER

Oğuz TAŞBOZAN

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330/Balcalı-Sarıçam,
Adana, Türkiye, e-mail: tasbozan@yahoo.com



Giriş

Mikotoksinler, bazı küfler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir (Hussein ve Brasel 2001). Tarım ürünlerinin bozulması ve dolayısıyla ekonomik kayıplara neden olması, ayrıca mikotoksin nedeniyle bozulmuş yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesiyle canlıdaki sağlık sorunları ve yine ekonomik kayıplara neden olması önemli problemlerdendir (Shane & Eaton 1994; Vasanthi ve Bhat, 1998; CAST, 2003).

Ayrıca mikotoksinler, insanlar tarafından tüketildiğinde hayvansal gıdalar aracılığı ile de hastalık sorunlarına neden olmaktadır (Zain 2011). Sadece karasal hayvanların tüketilmesi değil mikotoksinler ile zarar görmüş ya da bozulmuş yemler ile beslenen balıkların tüketilmesi de problemlere yol açmaktadır. Yemlerde mikotoksin içeren yem ham maddelerinin kullanılmasının yanı sıra, yemlerin depolanması esnasında da bu problemlerin olduğu bir gerçektir. Bu nedenle, son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan türler ve su ürünleri endüstrisinde mikotoksin ile ilgili sorunları bildiren çalışmalar artmaktadır (Tacon ve ark., 2011).

Mikotoksinler

Mikotoksinleri üreten küflerin en bilinenleri; *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*'dur. Bu küflerin de kendi aralarında birçok farklı mikotoksin türü bulunmaktadır. Bunlar şu şekilde sıralanabilir.

***Aspergillus* toksinleri;** Aflatoxin, Ochratoxin, Cyclopyazonic acid, Sterigmatocystin, Fumitremorgens, Fumitoxin, Gliotoxin.

***Penicillium* toksinleri;** Ochratoxin, PR toxin, Citrinin, Patulin, Penicillic acid, Mycophenolic acid, Roquefortine C.

***Fusarium* toksinleri; Trichothecenes:** DAS, Deoxydivalenol, Nivalenol, T-2 toxin

Non-Trichothecenes: Zearalenone, Fumonisin, Moniliformin, Fusaric acid (Anonim, 2022)

Mikotoksinlerin su ürünleri yemlerinde bulunması konusunda farklı tespitler mevcuttur. Genel olarak, az miktarda bitkisel yem ham maddelerinin kullanımı ile akuakültürde mikotoksinlerin önemli bir sorun olmadığı ve esas problemin yalnızca kötü depolama koşullarından kaynaklanacağı konusunda kabul görmüş bir algı bulunmaktadır. *Aspergillus spp.* ve *Penicillium spp.* kötü koşullarda depolanan yemlerde gelişebilir, bu da aflatoxin (AF) ve okratoksin-A (OTA) üretimine yol açabilir. Dolayısıyla yemlerin optimum depolama koşulları sağlanmalı ve hammadde kaynaklarının ve yemlerin AF veya OTA'dan kontaminasyonu önlemelidir.

Bununla birlikte, pamuk tohumu ve yerfıstığı küspesi gibi bazı bitkisel hammadde kaynakları, uygun koşullar kullanılarak depolansalar bile, yaygın olarak AF ve/veya OTA içerebilir (Goncalves ve ark., 2017).

Mikotoksinlerin Akuakültür Yemlerinde Bulunması

Mantarların mikroorganizma olarak canlılar üzerindeki etkisine 'Mikozis', toksinlerinin oluşturduğu etkiye ise 'Mikotokzikozis' denilmektedir. Mikotokzikozis akut, kronik ve latent karakterli olabilmektedir. Akut karakterde olan mikotokzikozis durumunda, canlı organizma verilen yemle yüksek dozlarda toksini kısa sürede vücuduna alır ve alınan mikotoksinin türüne bağlı olarak karaciğer, böbrek ve dalakta hiperplazi, hemoraji, ishal, iştah kaybı, kusma, ödem ve koma gibi belirtiler ortaya çıkar. Genel olarak hastalık ölümle sonuçlanır.

Kronik ve latent karakterli olan mikotokzikozise daha sık rastlanır ve uzun süreli olarak düşük dozlarda toksin içerikli yemle beslenen hayvanlarda yemden iyi yararlanamama, canlı ağırlıkta azalma, yumurta veriminde düşme ve enfeksiyonlara karşı dayanıklılığın azalması şeklinde ekonomik açıdan oldukça önem taşıyan bir takım olumsuzluklarla karşılaşılır (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Aydın, 1989).

Akuakültürde denizel kaynaklara bağımlılığını azaltmak, bu büyük sektörü ekonomik ve ekolojik olarak sürdürülebilir kılmak için gereklidir. Bu durum, balık unu ve balık yağının uygulanabilir, düşük maliyetli ve besinsel açıdan benzer alternatiflerle ikame edilmesiyle bağlı sağlanabilmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan yemlerde balık unu ve balık yağının yerini alabilecek çeşitli bileşenler (mikroalg ve bakteriler gibi) test edilmiştir ve en yaygın alternatifler karasal ürünler olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra, son yıllarda palm, yer fıstığı veya kanola yağı gibi bitkisel yağlar balık yağının yerini almak için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Ancak bunlar düşük konsantrasyonlarda uzun zincirli omega-3 yağ asitlerine sahip olmalarından dolayı balık yağının yerine tamamen kullanılamazlar, rasyona belirli oranlarda eklenirler. (Naylor ve ark., 2009).

Bununla birlikte, balık unu, ticari ve çiftlik yapımı su ürünleri yemlerinde, yağlı tohumlar, baklagiller ve arpa, kanola, mısır, pamuk tohumu, bezelye/bakla ve buğday gibi tahıl taneleri gibi bitki bazlı malzemelerle başarılı bir şekilde değiştirilmiştir. Bu uygulamalar sonucunda, düşük trofik seviyeli balık türleri (tilapia, sazan balığı, yayın balığı) için en yüksek protein kaynağı olarak, karides ve yüksek trofik seviyeli balık türleri için ikinci önemli protein kaynağı olarak kullanılmaktadırlar (Tacon, 2011).

Balık yemlerinde bitkisel protein kaynaklarının kullanılmasının ana dezavantajı, yüksek oranda anti-besinsel faktörlere sahip olmalarıdır. Bu anti besinsel faktörler (örneğin tripsin inhibitörleri, saponinler, vb.), hayvanın sindirimini ve metabolik aktivitesini olumsuz etkiler ve dolayısıyla sağlığı üzerinde çeşitli olumsuz etkilere yol açmaktadır (Puri ver ark., 2019; Chakraborty ve ark., 2019). Bunun yanı sıra, mikotoksinler de bitkilerde sıklıkla tanımlanır. Mikotoksinler filamentli mantarlar tarafından, en yaygın olarak *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinslerinin türleri tarafından suşa özgü bir şekilde ikincil metabolitler olarak üretilen doğal olarak oluşan moleküllerdir (Egbuta ve ark., 2017; Bennett ve Klich, 2003). Küresel gıda ürünlerinin yüzde yirmi beşi bu toksinler tarafından kontamine, ancak sayı birçok faktöre (örneğin, analiz edilen ürün, çalışılan mikotoksin, vb.) bağlı olarak büyük ölçüde değişse de ve bazı mikotoksinler için aslında %60 ila %80'e kadar ulaşabilir (FAO, 1979; Eskola ve ark., 2019).

Yem üreticileri ve su ürünleri yetiştiricilik çiftlikleri sahipleri, mikotoksinlerin nihai ürün kalitesini ve güvenliği etkileme potansiyelini fark etmişlerdir. Dolayısıyla, su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde mikotoksinle ilgili konulara ilişkin çalışmalar son yıllarda artmıştır (Michelin ve ark., 2017; García-Morales ve ark., 2013). Buna ek olarak, günümüzde mikotoksinleri tespit etmek için kullanılan analitik laboratuvarlar gelişmiş, yerinde ve hızlı testler için analitik laboratuvarlara veya basit ELISA test kitlerine erişim daha kolay olmuştur. Bu nedenle, yem üreticileri ve balık yetiştiricilik çiftlikleri her an mikotoksinlerin kontrollerini daha kolay yapabilir hale gelmiştir.

Akuakültürde kullanılan yemlerdeki mikotoksin varlığı ilk kez 1994 yılında rapor edilmiştir. Filipinler'de 1990-1991 yılları arasında *Paneaus monodon* (kara kaplan) karidesinin yetiştirildiği çiftliklerden ve yem fabrikalarından alınan yem örneklerinde aflatoxin tespit edilmiştir. Yapılan örneklemeler ve analiz sonuçlarına göre 62 adet örneğin sadece iki tanesinde aflatoxin bulunmadığı görülmüştür (Bautista ve ark., 1994).

Bintvhok ver ark., (2003)'nın Tayland'da yaptığı bir çalışmada, 1997-1998 yıllarında yine kara kaplan karidesi çiftliklerinden alınan örnekler değerlendirilmiştir. Ülkenin iki bölgesinden (doğu ve güney) 10 farklı çiftlikten 50'şer adet örneklem yapılmış ve bu örneklemeler 3 farklı sezon için tekrarlanmıştır. Çiftliklerde kullanılan yemlerden alınan 150 adet örneğin hepsinde düşükten-yüksek yoğunluğa kadar değişen oranlarda aflatoxin türevleri tespit edilmiştir. Yemlerde kullanılan protein ham maddelerinin balık unu, soya unu ve mısır unu olduğu belirtilmiştir. Her ne kadar depolama süresi (çiftlikte ve yem fabrikasında) tam olarak bilinmese de yemin üretimi ve çiftliklerdeki depolama koşullarının etkili olabileceği belirtilmiştir.

Yukarıda verilen örneklerde en büyük problemin iklim koşulları (nem ve yüksek sıcaklık) nedeniyle uygunsuz depolama koşullarında, yemler ve yemlerde kullanılan ham maddelerde kaçınılmaz bir şekilde mikotoksinlere rastlandığı bildirilmiştir.

Ülkemizde 2001 yılında yapılan bir araştırmada ise alabalık, çipura ve levrek yemlerinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu yemler hem çiftliklerde kullanılan yemlerden hem de yurt dışından ithal edilen ve yerli üretim yapan yem fabrikalarından temin edilmiştir. Alına 170 örneğin hemen hepsinde düşük seviyeden yüksek seviyeye kadar farklı oranlarda AFB₁ tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çiftliklerden alınan yemlerdeki aflatoksin seviyesinin yurt dışından ve/veya yerli üretim yapan yem fabrikalarından alınan yemlerdeki aflatoksin seviyesinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni ise yine olumsuz depolama koşulları olduğu belirtilmiştir (Altuğ ve Beklevik, 2001).

Yemdeki mikotoksinler, ürünü tüketen çiftlik hayvanlarını olumsuz etkilemektedir ancak tüm mikotoksinler her canlıyı aynı şekilde etkilemez veya üretim için aynı miktarda risk oluşturmaz. Etkileşimler, mevcut mikotoksin türlerine ve sayısına, söz konusu canlı türüne, canlının yaşına ve cinsiyetine ve mikotoksine maruz kalma süresine bağlı olarak farklı olabilir. Örneğin kümes hayvanları, FUM kontaminasyonuna domuzlardan daha toleranslıdır, sığır veya süt inekleri ise diğer hayvan türlerine göre daha yüksek OTA seviyelerini tolere edebilir.

Yetiştiriciliği yapılan canlılar için kullanılan yemlerde mikotoksin riskinin net bir resmini elde etmek için yem ham maddelerinden ziyade komple hayvan yemlerinde, birden fazla mikotoksin analiz edilmesi tavsiye edilir. Tam yem analizi verileri mevcut değilse, yemin parçası olan tüm bileşenler çoklu mikotoksinler için analiz edilmelidir. Toplam risk, yemlerdeki mikotoksinlerin seviyelerine farklı içeriklerin mikotoksin katkısı eklenerek tahmin edilebilir. Yem veya ham maddelerindeki mikotoksin analizinin yanı sıra, ham madde tedarikinin geçmişi, çiftlik yöneticisinin hayvan semptomları hakkındaki geri bildirimi ve ölüm sonrası bulgularla ilgili veterinerin raporu gibi diğer faktörler de dikkate alınmalıdır (Anonim, 2022).

Tüm bu veriler ve bilgiler alındıkça akuakültür alanında kullanılan yemlerin mikotoksin analizleri daha da yoğunlaşmış (özellikle 2010 yılı ve sonrasında), farklı balık türleri için kullanılan yemler analiz edilmiş ve sadece aflatoksin değil diğer mikotoksinlerin de varlığı tespit edilmeye başlanmıştır (Goncalves ve ark., 2020).

Akuakültür yemlerinde bulunan mikotoksinler, canlıların bu yemleri tüketmesiyle ortaya çıkan olumsuzluklar ekonomik anlamda büyük kayıplar ortaya çıkarmaktadır. Zira yetiştiriciliği yapılan bu canlılarda

(balık ve kabuklular) büyüme performansının önemli ölçüde gerilemesi, yem değerlendirme oranında düşme, canlıların enfeksiyonlara karşı direncinin azalması ve hastalıklara karşı açık olması, sindirim sistemi problemleri gibi birçok olumsuz etken ortaya çıkmakta dolayısıyla balıkların pazarlanmasını da etkilemektedir (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Goncalves ve ark., 2020).

Akuakültür ve diğer karasal hayvanların yemlerinde karşılaşılan mikotoksinlerin önlenmesi için en önemli konu depolama koşulları ve kaliteli bitkisel protein kaynağının kullanılması önceliklidir. Eğer bu durumlar sağlandığı halde önlenemiyorsa dikkat edilmesi gereken detoksikasyon prosedürleri uygulanmalıdır.

İlk olarak karasal hayvanların yemlerinde 1990'lı yıllarda bu çalışmalara başlanmış ve değişik yöntemler uygulanmış, fakat bu yöntemler arasından en etkili ve ekonomik olanlar daha yaygın uygulama alanı bulmuştur. Özellikle mikotoksinli yemlere organik veya inorganik katkı maddeleri ilave edilerek bu açıdan en etkili sonuçların alındığı tespit edilmiştir (Nassif, 1991; Kubena ve ark., 1993; Harris, 1998; Oğuz ve Kurtoğlu, 2000; Raju ve ark., 2000; Trevor ve ark., 2001).

Yemlerdeki mikotoksinlerin uzaklaştırılması (detoksikasyon) için dört farklı yöntem uygulanmaktadır. Daha önce bahsedildiği üzere en etkili ve en ekonomik yöntem seçilmelidir. Fakat burada mikotoksinin türü, mikotoksin yüküne dikkat edilmeli ve ayrıca uygulanan yöntemde yemdeki ve/veya yem ham maddelerindeki besinsel kompozisyonun bozulmamasına özen gösterilmelidir. Bu yöntemler;

Fiziksel yöntem; Genel itibariyle bu yöntemde, yıkama, temizleme, eleme, mikotoksinli danelerin ayrılması, ısı ve ışın işlemlerinin uygulamaları yapılmaktadır.

Elle yapılan temizlemede %70-90 oranında, organik çözücüler ile temizlemenin yapılmasında %90 oranında başarı sağlandığı görülmüştür. Fakat organik çözücüler yerine su kullanılarak yapılan temizleme işleminde yüksek başarı elde edildiği ve ayrıca ekonomik olduğu bilinmektedir. Isı işlemlerinde de başarı elde edilmiş fakat nem ve basınç ile birlikte uygulandığında başarı oranı yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca fazla ısı, yem ve/veya yem ham maddelerinde proteinlerin bozulmasına neden olabilmektedir. Işın işleminde ise en iyi sonuç gamma ışınlarından alındığı tespit edilmiştir (Şanlı, 2001; Basmacıoğlu ve Ergül, 2003).

Kimyasal yöntem; Bu detoksikasyon işleminde kalsiyum hidroksit, sodyum bisülfid, monometilenamin, klorin gazı, amonyak, hidrojen peroksit, amonyum hidroksit, hidroklorik asit ve formaldehit gibi bazı oksitleyici ve hidrolitik ajanlar kullanılmaktadır.

Bu yöntemin olumsuz yönleri ise uygulama güçlüğü ve kalıntı kalma olasılığıdır. Özellikle yemlerdeki mikotoksinlerin uzaklaştırılmasında kullanılan kimyasal maddelerin kalıntı bırakması, hem hayvan ve hem de insan sağlığı açısından dikkat edilmesi gereken bir noktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda ise, bazı spesifik maddeler kullanıldığı ve bu maddelerin mikotoksinleri bağlayıcı etksi ile bağırsaklardan emilmeden dışarı atılmasını sağladığı bildirilmiştir. (Huwig ve ark., 2001; Oğuz ve ark., 2001).

Biyolojik yöntem; İlk iki yöntemin uygulama zorluğu, pahalı uygulamalar olması ile yem ve/veya yem ham maddelerinde besinsel, fiziksel ve tat konusunda olumsuzluklar yaratması nedeniyle biyolojik yöntemler birçok araştırmaya konu olmuştur.

Daha çok laktik asit bakteri türleri ile *Saccharomyces* türü mayaların kullanılmasında olumlu sonuçlar alınmıştır. Mayalar direk olarak yeme ilave edildiği gibi ayrıca mannanoligosakkaritlerin de kullanıldığı bildirilmiştir (Dawson ve ark., 2001).

Enzim, vitamin ve amino asit kullanımı; Son yıllarda mikotoksinli yemlere direk olarak enzim takviyesi yapılmaktadır. Enzimler mikotoksin moleküllerinin yapısında bulunan atomik grupları parçalayıp non-toksik bileşiklere dönüştürmekte ve böylece olumlu sonuçlar elde edilmektedir.

Buna ek olarak yemlerdeki vitamin dengesinin mikotoksinleri önlemede etkili olduğu, özellikle C vitamininin mikotoksin kontrolünü sağladığı ve AFB₁ epoksidasyonunu bloke ettiği bildirilmiştir (Mohiuddin, 2000; Tudor, 2001; Şanlı, 2001).

Bir diğer konu ise, yemlerdeki mikotoksinin kontrolünde metiyonin amino asidinin etkili olduğudur. Özellikle yetiştiriciliği yapılan hayvanların yemlerinde önerilen metiyonin düzeyinin %30-40 civarında üzerinde kullanılmasının faydalı olduğu bildirilmiştir (Mohiuddin, 2000).

Sonuç olarak, akuakültürde kullanılan yemlerde ve yem yapımında kullanılan hammedelerin mikotoksin açısından kontrolü; en başta kaliteli ham madde seçimi ile uygun depo koşullarının sağlanmasıdır. Buna ek olarak, mutlaka yemlerden örnekler alınarak analizlerin yapılması gerekmektedir. Zira en önemli konu, mikotoksin için önceden önlem almaktır. Aksi takdirde ekonomik kayıpların artması kaçınılmaz olacaktır. Diğer taraftan mikotoksin içermeyen yemlerin kullanılması, hem hayvan hem de insan sağlığı açısından göz ardı edilmemeldidir.

KAYNAKLAR

- Altuğ, G., Beklevik, G., 2001. Level of aflatoxin in some fish feeds from fish farming processes, feed factories and imported feeds. Turkey Journal Veterinary Animal Science 27: 1247– 1252.
- Anonim, 2022. www.feedandadditive.com (Erişim 10.10.2022)
- Aydın, N.,1989. Kanatlı Hayvanların Önemli Mikotik Enfeksiyonları ve Mikotoksikozisler .
- Tavukçuluk Bülteni, Mayıs'90, s:46.
- Basmacıoğlu, H., Ergül, M., 2003. Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. Hayvansal Üretim, 44 (1); 9-17.
- Bautista, M., Lavilla-Pitogo, C., Subosa, P., Begino, E., 1994. Aflatoxin B1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopancreas and pre-adult *Penaeus monodon*.
- Journal Science Food Agriculture 65: 5–11.
- Bennett, J.; Klich, M., 2003. Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16; 497–516.
- Chakraborty, P., Mallik, A., Sarang, N., Lingam, S.S., 2019. A review on alternative plant protein sources available for future sustainable aqua feed production. Int. J. Chem. Stud., 7; 1399–1404.
- CAST., 2003. Mycotoxins: risks in plant, animal and human systems. In: C. f. A. S. a. Technology (ed). Task Force Report, Ames, IA.
- Dawson, K. A., Evans, J., Kudupoje, M. 2001. Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin. Science and Technology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium.
- Egbuta, M.A., Mwanza, M.M., Babalola, O.O., 2017. Health Risks Associated with Exposure to Filamentous Fungi. Int. J. Environ. Res. Public. Health, 14; 719.
- Eskola, M., Kos, G., Elliott, C.T., Hajšlová, J., Mayar, S., Krska, R., 2019. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited “FAO estimate” of 25%. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.
- FAO., 1979. Perspective on Mycotoxins. FAO: Rome, Italy, Vol. 13, ISBN 92-5-100870-1.
- Garcia-Morales M.H., Perez-Velazquez, M., Gonzalez-Felix, M.L., Burgos-Hernandez, A., Cortez-Rocha, M.O., Bringas-Alvarado, L. 2013. Effects of fumonisin B1-containing feed on the muscle proteins and ice-storage life of White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Aquatic Food Product Technology 24: 340–353.

- Goncalves, R.A., Schatzmayr, D., Hofstetter, U., Santos, G.A., 2017. Occurrence of mycotoxins in aquaculture: preliminary overview of Asian and European plant ingredients and finished feeds. *World Mycotoxin Journal* 10: 183–194.
- Goncalves, R.A., Schatzmayr, D., Albalat, A., Mackenzie, S., 2020. Mycotoxins in Aquaculture: Feed and Food. *Reviews in Aquaculture*, 12; 145-175.
- Harris, B., 1998. The battle to minimise losses due to mycotoxins. *World Poultry Magazine on Production, Processing & Marketing* Volume 14, No: 4
- Hussein, H.S., Brasel, J.M., 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology and Applied Pharmacology* 167: 101–134.
- Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., Dutler, H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters* 122:179-188.
- Kubena, L.F., Harvey, R.B., Phillips, T.D., Clement, B.A., 1993. Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate on aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science*, 72:651-657.
- Michelin, E.C., Massocco, M.M., Godoy, S.H.S., Baldin, J.C., Yasui, G.S., Lima, C.G., 2017. Carryover of aflatoxins from feed to lambari fish (*Astyanax altiparanae*) tissues. *Food Additives & Contaminants: Part A* 34: 265–272.
- Mohiuddin, S.M., 2000. Handling Mycotoxin Contaminated Feedstuffs. *Poultry International*,
- June, p:46-52 Nassif, A., 1991. Mycotoxin Control. *Poultry International*, September, p:40-42
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldburg, R.J., Hua, K.; et al., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 15103–15110.
- Oğuz, H., Kurtoğlu, V., 2000. Effect of clinoptilolite on fattening performance of broiler chickens during experimental aflatoxicosis. *British Poultry Science*, 41:512-517.
- Puri, S., Shingh, S., Tiwari, P., 2019. Mycotoxins: A Threat to Food Security and Health. *Int. J. Appl. Sci. Biotechnol.*, 7; 298–303.
- Raju, M.V.L.N., Devegowda, G., 2000. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxins (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 41:640-650.
- Shane, S.H., Eaton, D.L., 1994. Economic issues associated with aflatoxins. In: Groopman JD (ed) *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*, pp. 513–527. Academic Press, San Diego.

- Şanlı, Y. 2001. Yem Küflenmeleri, Mikotoksinlerle Bulaşma Sorunu ve Çözüm Yolları. Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Temel Prensipler ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar, Editör: H. Melih Yavuz, ISBN NO:975/97831/0-X
- Tacon, A.G.J., Hasan, M.R., Metian, M., 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. FAO Fisheries and Aquaculture, Technical Paper No. 564, 87.
- Trevor, K.S., Macdonald, E.J., Haladı, S., 2001. Current concepts in feed-borne mycotoxin and the potential for dietary prevention of mycotoxicoses. Science and Technology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium.
- Tudor, D., Bunaciu, P.R., 2001. Can Vitamin C Help Fight Aflatoxicosis. Poultry International, April, p:10-14
- Vasanthi, S., Bhat, R.V., 1998. Mycotoxins in foods-occurrence, health & economic significance & food control measures. Indian Journal of Medical Research 108: 212–224.
- Zain, M.E., 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. Journal of Saudi Chemical Society 15: 129–144.

Bölüm 6

BALIK BESLEMEDE ALTERNATİF PROTEİN KAYNAĞI OLARAK BÖCEK UNLARININ KULLANIMI

*Celal ERBAŞ**

Ç.Ü. Yumurtalık Meslek Yüksekokulu, Adana
*Sorumlu yazar: cerbas@cu.edu.tr

Giriş

FAO verilerine göre dünyada üretilen su ürünleri miktarının 59,8 milyon tonu yetiştiricilik olmak üzere toplam 148,4 milyon tondur (FAO 2021). Son on yılda yetiştiricilik bakımından hızlı bir artış gözlenirken avcılık bakımından dünya genelinde azaldığı ve bu ivme ile devam edeceği düşünülmektedir. Dünyamızda su ürünleri üretiminde avcılığın payı (% 64), yetiştiriciliğin payına (% 36) oranla daha fazladır.

Ülkemizde ise, 2020 yılında su ürünleri üretimi 748 bin ton civarında olup yetiştiricilikten 373 bin ton elde edilirken avcılık yolu ile 374 bin ton elde edilmiştir. Verilerden de anlaşılacağı gibi toplam balık üretiminde yetiştiriciliğin miktarı avcılığı geçtiği görülmektedir. FAO tarafından açıklanan raporda, dünya üzerinde en hızlı büyüyen sektörler içinde yer alan balık yetiştiriciliği olduğunu, bu oranın da balık üretiminin % 40'ını oluşturduğunu belirtmişlerdir (FAO, 2021). Ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan türlerin başında tatlı suda alabalık, denizel ise levrek ve çipura olduğu bilinmektedir (TÜİK, 2022).

Beslenme için protein ve yağ kaynaklarından biri olan balık etinin kalitesi; besin içeriğinin kalitesi, kolay temin edilebilmesi, sağlıklı olması, işlenebilir olması ve fiyatının uygun olmasına bağlıdır (Tocher, 2010; Listrat ve ark., 2016). Birçok araştırmada balık yağının yüksek oranda omega-3 doymamış yağ asitleri, bunlar içerisinde önem düzeyi yüksek olan EPA (20:5 Ω -3) ve DHA (22: 6 Ω -3) bulunduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte kolesterol seviyelerini de düşürdüğü ve insan beynindeki hasarların ilerlemesini yavaşlattığını ve birçok kanser türünü engellediği ve yüksek tansiyonu kontrol ettiği belirtilmiştir (Guillaume ve ark., 2001; Vannice ve ark., 2014; Keim ve ark., 2015; Han ve ark., 2018).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, yetiştiriciliği yapılan türlerin birçoğu karnivor (etçil) türler olduğundan, ana yem bileşenlerini kaliteli balık unu ve yağı oluşturmaktadır (Oliva-Tesla ve ark., 2015).

Balık yağı üretiminde önde gelen ülkeler; Uzakdoğu ülkeleri, İskandinav ülkeleri, Fas ve Türkiye'dir. Su ürünleri yetiştiriciliği sektörü, dünya balık yağı üretiminin %75'ini tüketmekte olup, balık yağına oldukça yüksek bir talep bulunmakta ve günümüzde su ürünleri endüstrisi, sürdürülebilirlik endişeleri ve doğal deniz kaynaklarının mevcudiyeti sorunları nedeniyle sürekli ve giderek artan bir ekonomik ve ekolojik baskı ile karşı karşıyadır (Hua, 2020). Bu nedenle, balık besleme konusuyla ilgili olan araştırmacılar, balık yağı veya ununun yerine geçebilecek alternatif bitkisel yağ ve protein kaynaklarını kullanmak amacıyla çeşitli araştırmalar yapmaktadırlar (Akiyama ve ark., 1995; Torstensen ve ark., 2000; Yıldız ve Şener, 2002; Montero ve ark., 2005; Mourente ve Bell, 2006; Turchini

ve ark., 2009; Stone ve ark., 2011a; Stone ve ark., 2011b; Reis ve ark., 2014; Eroldoğan ve ark., 2018; Dernekbaşı ve ark., 2021).

Su ürünleri yemlerinde böcek unlarının kullanımı son yıllarda büyük ilgi görmüş ve son araştırmalar umut verici sonuçlar vermiştir. Dünya üzerinde bilinen 10 milyondan fazla böcek türünün varlığı tespit edilmiş ve bu böcekler arasında yaklaşık 1500 böcek türünün besin açısından ideal protein türü olduğu tahmin edilmektedir (Ng ve ark., 2001; Rumpold ve Schlüter, 2013; Magalhaes ve ark., 2017; Dumas ve ark., 2018; Vargas-Abundez ve ark., 2018). Yapılan araştırmalarda yüksek üreme, iyi bir yem çevirim oranı ve düşük yem maliyeti kabiliyetleri yüksek canlılar olduğu bilinmektedir (Veldkamp ve ark., 2012; Oonincx ve de Boer, 2012; Ratcliffe ve ark., 2014; Halloran ve ark., 2016). Böcek unlarının su ürünleri beslenmesi değerlendirildiğinde, sindirilebilirliğinin olduğu dolayısıyla esansiyel amino asit içeriklerinin ve yemden yararlanma oranlarının yüksek olması, hızlı üremeleri gibi avantajlarından dolayı, balık ununa alternatif, sürdürülebilir protein kaynağı şeklinde değerlendirilebileceğini söylemişlerdir (Veldkamp ve ark., 2012; Belforti ve ark., 2015 ; Halloran ve ark., 2016; Piccolo ve ark., 2017; Ido ve ark., 2019 ; Rema ve ark., 2019 , Stejskal ve ark., 2020). Dünya genelinde böcek ve larvaları ile yapılan besinsel analiz sonuçları tablo 1, 2 ve 3'te verilmiştir.

En çok kullanılan böcek türlerinden biri siyah asker sineğidir (Banks ve ark., 2014). Su ürünlerinde siyah asker sineği ununun yem hammadresi olarak kullanılmasının önemli nedenleri, ergin sineklerin beslenmemesi, hastalık yayıcı olmaması ve larvaların son aşamasında beslenmediklerinden dolayı vücutlarında diğer böceklerle göre daha fazla yağ barındırmalarıdır (Sheppard ve ark., 2002; Cickova ve ark., 2015; Sevilmiş ve ark., 2019). Bu tür aynı zamanda balık besleme olmazsa olmazı balık unu amino asit içeriği karşılaştırıldığında benzer sonuçların olduğu görülmüştür (Elwert ve ark., 2010; Tschirner ve Simon, 2015).

Yapılan bir çalışmada çipuralarda (*Sparus aurata*), % 25 oranında sarı un kurdu unu (*Tenebrio molitor*) yemlere eklenmesinde, yapılan analizler sonucunda kuru madde, ham protein görünür sindirilebilirlik katsayılarını etkilemediği, % 50 oranında eklendiğinde kitinden dolayı sindirimin azaldığını ifade etmişlerdir (Piccolo ve ark., 2017). Avrupa levrekleri ile (*Dicentrarchus labrax*) yapılan bir çalışmada levrek yemlerine, yaygın kara sinek olarak bilinen (*Musca domestica*) türünün unu % 19,5 dahil edilmesi, büyüme performansını ve tüm vücut kompozisyonunu etkilemediğini söylemişlerdir (Mastoraki ve ark., 2020). *Morio kurdu* (*Zophobas morio*) ile ve Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada, diyet yemlerine % 25 oranında morio kurdu unu eklenmesi, yem çevirim oranını düşürdüğü, buna karşın % 30 oranında eklendiğinde ise spesifik oranın düştüğünü söylemişlerdir (Jabir ve ark.,

2012). Lock ve ark., (2014) yaptıkları bir çalışmada Atlantik somonu rasyonlarına yem hammaddesi olarak balık unu (BU) yerine, siyah asker sineği (SAS) ununu farklı oranlarda (% 25 SAS + % 75 BU, % 50 SAS + %50 BU ve % 100 SAS) ekleyerek hazırladıkları diyet yemleriyle beslemişlerdir. Çalışma sonunda elde edilen verilerin değerlendirmesinde yem çevirim oranında bir düşüşün olduğunu söylemişlerdir. Siyah asker sineği unun Afrika yayın balığı ve kanal yayın balığı gibi yetiştiriciliği yapılan türler için protein hammadde kaynağı olarak kullanılabilineceğini ifade etmişlerdir (Anvo ve ark., 2016). Kara asker sineği ununun rasyonlara oransal olarak yoğun eklenmesi, kanal yayın balığı, gökkuşacağı alabalığı ve kalkan gibi balıkların gelişimlerinde kontrol grubuna oranla geride kaldığını ifade etmişlerdir (Kroeckel ve ark., 2012). Somon balık yemlerine kara asker sineği ununun en fazla % 25 seviyelerinde ikame edilmesi olarak belirlenmiştir (Lock ve ark., 2016). Böcek unlarının rasyonlara eklendiğinde, sindirilebilirliği ile ilgili olarak birçok dezavantajın tespit edildiği, bunun nedeninin ise kitin ve kütikül proteinlerinden oluşan böcek türüne bağlı olarak yaklaşık %1-10 oranında asit deterjan lifi içermesinden kaynaklıdır (Finke, 2002, Finke, 2013, Rumpold ve Schlüter, 2014). Kitinin çözünürlüğü sınırlıdır ve hem bağırsak içeriğinin su tutulmasını hem de bağırsak emilim süresini azaltabilir ve bu nedenle substratlar üzerindeki sindirim enzimlerinin etkinliğini azaltabilmektedir (Tharanathan ve Kittur, 2003; Sinha ve diğerleri, 2011).

Tablo 1. Bazı böceklerin besinsel değerleri (Bernard ve ark., 1997; Andrew, 2010).

Böcek Türleri	Kuru Madde (%)	Ham Protein (%)	Ham Yağ (%)	Saf Kül (Toplam Mineraller) (%)	Asit Deterjan Fiber (%)	Gross Enerji (kcal/g)
Siyah solucan	18.4	47.8	20.1	4.5	0.7	5.57
Kan solucan	9.9	52.8	9.7	11.3	*	*
Toprak solucanı	20.0	62.2	17.7	5.0	9.0	4.65
Gece solucanı	16.3	60.7	4.4	11.4	15.0	4.93
Tubifeks solucan	11.8	46.1	15.1	6.9	*	*
Hamam böceği, Amerika	38.7	53.9	28.4	3.3	9.4	6.07
Mısır kurdu Larva, Avrupa	27.3	60.4	17.2	2.9	13.1	5.69
Mısır kurdu Pupa, Avrupa	28.0	64.2	17.0	2.6	15.4	5.60
Cırcır böceği, Yetişkin	31.0	64.9	13.8	5.7	9.4	5.34
Balık sineği	26.5	63.9	19.5	5.8	10.9	5.88
Meyve sineği	29.6	70.1	12.6	4.5	27.0	5.12

Meyve sineği, Larva	21.2	40.3	29.4	9.8	5.9	5.57
Meyve sineği, Pupa	32.4	52.1	10.5	14.1	17.4	4.84
Ev sineği, Larva, Kuru	93.7	56.8	20.0	6.8	18.0	6.07
Un kurdu Böceği	38.6	63.7	18.4	3.1	16.1	5.79
Un kurdu, Larva, Kral	40.9	45.3	55.1	2.9	7.2	7.08
Sivrisinek, Larva, kuru	94.0	42.2	16.1	11.8	*	*
Su piresi, Kuru	91.7	55.2	6.6	10.8	*	*
Mum güvesi, Larva	34.1	42.4	46.4	2.7	4.8	7.06
Güve Tırtılı	*	48.7	11.1	*	*	3.75
Tırtıl	*	56.8	11.3	*	*	*
İpek böceği Larvası	*	48.7	30.1	*	*	*
İpek böceği	*	23.1	14.2	*	*	2.29

Tablo 2. Bazı böcek unlarının balık unuyla aminoasit içerikleri (Aminoasit %)
(g/100 g KM)

Aminoasit Profili	Tarla Çekirgesi (HP:%58,3)	Un Kurdu (<i>Tenebrio molitor</i> , HP:%52,8),	Cırcır Böceği (<i>Anabrus simplex</i> , HP:%59,8),	Balık Unu (HP:%60,2)
Arjinin	3,68	4,8	5,3	3,24
Histitin	1,94	3,4	3,0	3,70
İzolösin	3,09	4,6	4,8	2,33
Lösin	5,52	8,6	8,0	4,20
Lizin	4,79	5,4	5,9	4,51
Metiyonin	1,93	1,5	1,4	1,59
Sistin	1,01	0,8	0,1	0,49
Fenilalanin	2,86	4,0	2,5	2,35
Treonin	2,75	4,0	4,2	2,25
Valin	4,42	6,0	6,0	2,62
Serin	3,72	7,0	4,9	2,06
Glutamik asit	9,07	11,3	11,7	6,02
Alanin	5,55	7,3	9,5	3,33

(Wang ve ark., 2005; Anonim., 2022)

Tablo 3. *Bazı protein kaynağı olarak kullanılan böceklerin mineral içerikleri (mg/kg Kuru Madde) (Ajai ve ark., 2013;Anonim, 2022).*

Parametreler	Locust (<i>Schisocerca gregaria</i>) (Çekirge)	Cricket (<i>Gymnogryllus lucens</i>) (Cırcır Böceği)	Termite (<i>Macrotermes bellicosus</i>) (Beyaz Karınca)	Grasshopper (<i>Zonocerus variegatus</i>) (Çekirge)	Tenebrio molitor (Un Kurdu)
Bakır	99,04	69,05	77,77	73,02	16,00
Demir	574,75	519,00	205,30	349,27	57,00
Magnezyum	1484,17	1538,77	1400,17	1669,50	2300,00
Çinko	160,37	256,55	159,30	256,92	116,00
Sodyum	290,25	156,25	287,50	243,25	900,00
Potasyum	480,12	282,80	317,50	225,25	8900,00

Sonuç olarak artan su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan hammaddelerin başında balık ununun hem ekolojik hem ekonomik olarak sorunlarının ortaya çıktığı bilinmektedir. Yıllar boyunca alternatif hammaddeler incelenmiş ve kullanılmıştır. Kitin içeriğinden kaynaklanan sınırlamalara rağmen, su ürünleri rasyonlarına böcek unlarının dahil edilmesi, yeterli besin değeri ve uygun ekolojik ayak izi nedeniyle kullanılabileceği, ayrıca bir çok balık türü üzerinde çalışmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Özellikle büyüme ve yem değerlendirme oranına ek olarak sindirilebilirliğinin de ortaya konulması gerekmektedir. Artan dünya nüfusuyla beraber, geleceğin protein kaynağı olacak böcekler üzerinde daha fazla bilimsel çalışma yapılmasının önemli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ajai, A.I., Bankole, M., Jacob, J.O. and Audu, U.A., 2013. Determination of some essential minerals in selected edible insects. *African Journal of Pure and Applied Chemistr*, 7(5): 194-197.
- Akiyama, T., Munuma, T., Yamato, T., Marcouli, P., Kishi, S., 1995. Combitionall use of malt protein flour and soybean meal as altenative protein sources of fingerling rainbout trout diets. *Fisheries Science*, 61, 825-832.
- Andrew, N., 2010. Australian poultry CRC. Final Report. Program (Subprogram No. 1). Australian Poultry CRC Pty Ltd. 1-14.
- Anonim, 2022. List of animal feeds. Feedipedia-animal feed resources information system. <http://www.feedipedia.org/content/feeds?category=17919> (12.10.2022).
- Anvo MPM, Toguyéni A, Otchoumou AK, Zoungrana-Kaboré CY, Kouamelan EP, 2016. Evaluation of *Cirina Butyrospermi* Caterpillar's Meal As An Alternative Protein Source in *Clarias Gariepinus* (Burchell, 1822) Larvae Feeding. *International Journal of Fisheries Aquatic Studies*, 4(6):88-94.
- Banks I.J., Gibson W.T., Cameron M.M., 2014. Growth Rates of Black Soldier Fly Larvae Fed on Fresh Human Faeces and Their Implication for Improving Sanitation. *Tropical Medicine and International Health*, 19(1):14-22.
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Ital. J. Anim. Sci.* 14, 669–676. <https://doi.org/10.4081/ijas.2015.4170>
- Bernard, J.B., Allen, M.E. and Ullrey, D.E., 1997. Feeding captive insectivorous animals: Nutritional aspects of insects as food. *Nutrition Advisory Group Handbook. Fact Sheet 003*, August: 1-7.
- Čičková H., Newton G.L., Lacy R.C., Kozánek M., 2015. The Use of Fly Larvae for Organic Waste Treatment. *Waste Management*, 35:68-80.
- Dernekbası, S., Karayücel, I., 2021. Effect of alternate feeding with fish oil-and peanut oil-based diets on the growth and fatty acid compositions of European seabass fingerlings (*Dicentrarchus labrax*) in the recirculated systems. *Aquaculture Research*, 52(7), 3137-3147.
- Dumas A., Raggi T., Barkhouse J., Lewis E., Weltzien E., 2018. The Oil Fraction and Partially Defatted Meal of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia Illucens*) Affect Differently Growth Performance, Feed Efficiency, Nutrient Deposition, Blood Glucose And Lipid Digestibility of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Aquaculture*, 492: 24-34.
- Elwert C., Knips I., Katz P., 2010. A Novel Protein Source: Maggot Meal of The Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) in Broiler Feed. *Tagung Schweine-und Geflügelernährung*, 140-42.

- Eroldoğan, O.T., Elsabagh, M., Emre, Y., Turchini, G.M., Yilmaz, A.H., Eraslan, D., Emre, N. And Evliyaoğlu, E., 2018. Circadian feeding schedules in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) A comparative approach towards improving dietary fish oil utilization and n-3 LC-PUFA metabolism. *Aquaculture*, 495: 806-814.
- FAO, 2021. National aquaculture sector overview–Greece. Contribution to the economy. http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_greece
- Finke, M.D., 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biol.* 21, 269–285.
- Finke, M.D., 2013. Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo. Biol.* 32, 27–36. <https://doi.org/10.1002/zoo.21012>.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., Metailler, R., 2001. Nutrition and feeding of fish and crustaceans, Praxis Publishings Ltd, Chichester, UK., 408p.
- Halloran, A., Ross, N., Eilenberg, J., Cerutti A., Bruun, S., 2016. Life cycle assessment of edible insect for food protein: a review. *Argon. Sustain. Dev.* 36: 1-13.
- Han, L., Yu, J., Chen, Y.Y., Cheng, D., Wang, X., Wang, C.L., 2018. Immunomodulatory activity of docosahexenoic acid on RAW264.7 cells activation through GPR120-mediated signaling pathway. *Journal Of Agriculture And Food Chemistry*, 66, 926-934.
- Ido, A., Hashizume, A., Ohta, T., Takahashi, T., Miura, C., Miura, T., 2019. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pagrus major*). *Animals* 9, 100. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>.
- Jabir, M.A.R., Jabir, S.A.R., Vikineswary, S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *Afr. J. Biotechnol.* 11, 6592–6598. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1084>.
- Keim, S.A., And Branum, A.M., 2015. Dietary intake of polyunsaturated fatty acids and fish among US children 12 60 months of age. *Maternal and Child Nutrition* 11, 987-998
- Kroeckel S, Harjes AG, Roth I, Katz H, Wuertz S, Susenbeth A, Schulz C, 2012. When A Turbot Catches A Fly: Evaluation of A Pre-Pupae Meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) As Fish Meal Substitute—Growth Performance and Chitin Degradation in Juvenile Turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 364:345-352.
- Lock EJ, Arsiwalla T, Waagbø R, 2014. Insect Meal: A Promising Source Of Nutrients In The Diet of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*). In Abstract Book Conference Insects to Feed The World. The Netherlands, 14-17 May 2014.

- Magalhães R., Sánchez-López A., Leal R.S., Martínez-Llorens S., Oliva-Teles A., Peres H., 2017. Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) Pre-Pupae Meal As A Fish Meal Replacement in Diets for European Seabass (*Dicentrarchus Labrax*). *Aquaculture*, 476:79-85.
- Mastoraki, M., Ferrandiz, ' P.M., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E., 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 735511. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735511>.
- Montero, D., Robaina, L., Cabellora, Gines, R., Izquierdo, M.S., 2005. Growth , feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containiing vegetable oils: A time- course study on the effect of a re- feeding period with a 100 % fish oil diet. *Aquaculture*, 248, 121-134
- Mourete, G., Bell, J.G., 2006. Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 145, 389–399
- Ng WK., Liew FL., Ang LP., Wong KW., 2001. Potential of Mealworm (*Tenebrio Molitor*) As An Alternative Protein Source in Practical Diets for African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Research*, 32:273-280.
- Oliva-Teles A., Enes P., Peres H., 2015. Replacing Fishmeal And Fish Oil in Industrial Aquafeeds for Carnivorous Fish. In *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*, pp. 203-233. Woodhead Publishing.
- Oonincx D.G., De Boer I.J., 2012. Environmental Impact of The Production of Mealworms As A Protein Source For Humans–A Life Cycle Assessment. *PloS one*, 7(12):51145.
- Piccolo, G., Iaconisi, V., Marono, S., Gasco, L., Loponte, R., Nizza, S., Bovera, F., Parisi, G., 2017. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Anim. Feed Sci. Technol.* 226, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007>.
- Ratcliffe, N., Azambuja, P., & Mello, C.B., 2014. Recent advances in developing insect natural products as potential modern day medicines. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2014.
- Reis, B., Cabral, E. M., Fernandes, T. J., Castro-Cunha, M., Oliveira, M. B. P., Cunha, L. M., Valente, L. M., 2014. Long-term feeding of vegetable oils to Senegalese sole until market size: Effects on growth and flesh quality. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet. *Aquaculture*, 434, 425-433.

- Rema, P., Saravanan, S., Armenjon, B., Motte, C., Dias, J., 2019. Graded incorporation of defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diet improves growth performance and nutrient retention. *Animals* 9, 187. <https://doi.org/10.3390/ani9040187>.
- Rumpold BA., Schlüter OK., 2013. Nutritional Composition and Safety Aspects of Edible Insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5):802-823.
- Rumpold, B., Schlüter, O., 2014. Nutrient composition of insects and their potential application in food and feed in Europe. *Food Chain* 4, 129–139. <https://doi.org/10.3362/2046-1887.2014.013>.
- Sevilmiş, U., Seydosoglu, S., Ayaşan, T., Bilgili, E., Sevilmiş, D., (2019). Siyah Asker Sineğinin (*Hermetia illucens* L.) Yem Kaynağı Olarak Değerlendirilmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(4), 2379-2389.
- Sheppard D.C., Newton G.L., Thompson S.A., Savage S., 1994. A Value Added Manure Management System Using The Black Soldier Fly. *Bioresource Technology*, 50(3): 275-279.
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P.S., De Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – a review. *Food Chem.* 127, 1409–1426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.042>.
- Stejskal, V., Tran, H.Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P.T., Gai, F., Gasco, L., 2020. Partially defatted *Hermetia illucens* larva meal in diet of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) Juveniles. *Animals* 10, 1–17. <https://doi.org/10.3390/ani10101876>.
- Stone, D. A. J., Oliveira, A. C. M., Plante, S., Smiley, S., Bechtel, P., Hardy, R. W., 2011. Enhancing highly unsaturated ω -3 fatty acids in phase-fed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using Alaskan fish oils. *Aquaculture nutrition*, 17(2), 501-510.
- Tharanathan, R.N., Kittur, F.S., 2003. Chitin—the undisputed biomolecule of great potential. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 43, 61–87. <https://doi.org/10.1080/10408690390826455>.
- Torstensen, B.E., Froyland, L., 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)-effects of capelin-, palmand oleic acid enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids*, 35, 653-664.
- Tschirner M., Simon A., 2015. Influence of Different Growing Substrates and Processing on The Nutrient Composition of Black Soldier Fly Larvae Destined for Animal Feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(4):249-259.
- Turchin, G.M., Francis, D.S., 2009. Fatty acid metabolism (desaturation, elongation and beta-oxidation) in rainbow trout fed fish oil- or linseed oil-based diets. *British Journal of Nutrition*, 102, 69-81
- Vannice, G., Rasmussen, H., 2014. **Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults.** *Journal Of The Academy Of Nutrition And Dietetics*. 114, 136-153

- Vargas-Abúndez A.J., Randazzo B., Foddai M., Sanchini L., Truzzi C., Giorgini E., Olivotto I., 2019. Insect Meal Based Diets for Clownfish: Biometric, Histological, Spectroscopic, Biochemical and Molecular Implications. *Aquaculture*, 498:1-11.
- Veldkamp T., Bosch G., 2015. Insects: A Protein-Rich Feed Ingredient in Pig and Poultry Diets. *Animal Frontiers*, 5(2):45-50.
- Wang, D., Zhai, S.W., Zhang, C.X., Bai, Y.Y., An, S.H. and Xu, Y.N., 2005. Evaluation on nutritional value of field crickets as a poultry feedstuff. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 18(5): 667-670.
- Yıldız, M., Şener, E., 2002. The effect of dietary oils of vegetable origin on the performance, body composition and fatty acid profiles of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) juveniles. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 28, 553– 562.



Bölüm 7

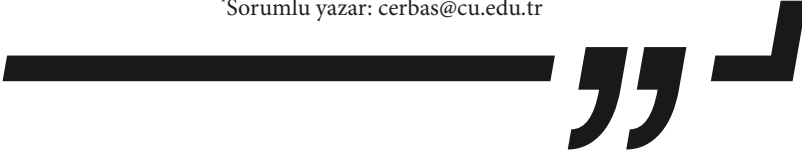
SU ÜRÜNLERİ ALANINDA GIDA BİLİMİ VE İLAÇ KEŞFİNDE *IN SILICO* UYGULANAN MOLEKÜLER DOCKING TEKNOLOJİSİNİN KULLANILABİLİRLİĞİ

Celal ERBAŞ^{1*}, Mehmet Tahir HÜSUNET²

¹Ç.Ü. Yumurtalık Meslek Yüksekokulu, Adana.

²Gaziantep İslam Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi Moleküler Genetik ABD. Gaziantep

*Sorumlu yazar: cerbas@cu.edu.tr



Moleküler yerleştirme (docking), bir molekülün (Ör. ligand) diğerine (Ör. Reseptör) olası bağlanma yöneliminin, her ikisi de kararlı bir kompleks oluşturmak için birbirleriyle etkileşime girdiğinde tahmin edilmesini kolaylaştıran bir tür bilgisayar tabanlı hesaplamalı modellemedir (Agarwal and Mehrotra, 2016). Moleküler modelleme olarak da isimlendirilen bu yöntem, yeni olguları araştırmak, yorumlamak, açıklamak ve keşfetmek için daha iyi araçlar sağlayarak biyokimyasal reaksiyonların yolaklarını ve doğasını daha iyi anlamamızı sağlar (Mukesh ve Rakesh, 2011).

Bağlı moleküllerin tercih edilen yöneliminden elde edilen bilgiler, ligand-reseptör komplekslerinin enerji profilini (serbest bağlanma enerjisi gibi), kuvvetini ve stabilitesini (bağlanma afinitesi ve bağlanma sabiti gibi) tahmin etmek için kullanılabilir. Bu, moleküler dockingin skorlama işlevi kullanılarak yapılabilir. Günümüzde moleküler docking genellikle küçük moleküllerin (ilaç adayları) biyomoleküler hedeflerine (protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi) bağlanma yönelimini tahmin etmek ve geçici bağlanma parametrelerini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Guedes ve ark. 2014).

Moleküler kenetlenmenin (docking) temel amacı, tüm sistemin azaltılmış serbest enerjisinin elde edilmesinin yanı sıra, etkileşime giren her iki molekülün optimize edilmiş bir kenetlenmiş konformerini elde etmektir. Nihai öngörülen bağlanma serbest enerjisi (ΔG_{bind}), dağılım ve itme (ΔG_{vdw}), hidrojen bağı (ΔG_{hbond}), desolvasyon (ΔG_{desolv}), elektrostatik (ΔG_{elec}), burulma serbest enerjisi (ΔG_{tor}), nihai toplam iç enerji (ΔG_{toplam}) ve bağlı olmayan sistemin enerjisinin (ΔG_{unb}) modellenmesidir. Bu nedenle, öngörülen bağlanma serbest enerjisini (ΔG_{bind}) yöneten genel ilkelere ayrıntılı bir şekilde anlaşılması, moleküllerin kenetlenmesini sağlayan çeşitli etkileşim türlerinin doğası hakkında yardımcı bilgiler sağlar (Agarwal ve ark. 2015). Bu amaçla son yıllarda aralarında AutoDock (Morris ve ark. 1998), AutoDock Vina (Trott ve Olson, 2010), DockThor (de Magalhães ve ark. 2014), GOLD (Verdonk ve ark. 2003), FlexX (Rarey ve ark. 1996) ve Molegro Virtual Docker (Thomsen ve Christensen, 2006) gibi bazı iyi bilinen örnekler de bulunan birkaç yazılım programı geliştirilmiştir.

Docking hesaplamasındaki ilk adım, genellikle büyük bir biyolojik molekülden (protein, DNA veya RNA) oluşan hedef yapıyı elde etmektir (Gioia ve ark. 2017). Bu makromoleküllerin 3D yapıları, deneysel yöntemlerle elde edilen atomik koordinatlara erişim sağlayan Protein Veri Bankasından (PDB) (Berman ve ark. 200) kolayca alınabilir. Ancak, hedefin deneysel 3D yapısının mevcut olmaması olağandışı değildir. Bu sorunun üstesinden gelmek için, proteinlerin üç boyutlu yapısı elde edilmelidir.

Bunun için ab initio modelleme gibi hesaplamalı tahmin yöntemleri kullanılabilir (Liu ve ark. 2018).

Moleküler Docking Yaklaşımları

Moleküler docking yapmak için öncelikle iki tür yaklaşım kullanılır. Yaklaşımlardan biri, ligand hedefli yerleştirilmiş konformer için enerji profilinin tahmin edildiği bilgisayar simülasyonlarını kullanır. İkinci yaklaşım ise, ligand ve hedef arasındaki yüzey tamamlayıcılığını hesaplayan bir teknik kullanır (Mukesh ve Rakesh, 2011). Her iki yaklaşım da aşağıda açıklanmıştır; kısaca ve ana özellikleri de (Tablo 1)'de özetlenmiştir (Agarwal and Mehrotra, 2016).

Tablo 1. Moleküler Docking Yaklaşımları

Simülasyon Yaklaşımı	Yüzey Tamamlayıcılık Yaklaşımı
Bu yaklaşımda, ligand-reseptör çiftine göre etkileşim enerjisi hesaplanır.	Bu yaklaşım, ligand ve reseptör yüzeyi arasındaki tamamlayıcılığın tahminini hesaplar.
Ligand ve reseptörün en iyi sabitlenmiş konformerini elde etmek için, minimum enerji değerlendirmesine dayalı olarak ligandın reseptör oluşuna kenetlenmesine izin verilir.	Bu yaklaşımla kenetlenmiş konformer elde etmek için, eşleşen yüzey açısından ligand ve reseptörün solvent ile erişilebilir topografik özellikleri açıklanmıştır. Bunu, hedefine ligand bağlanması için optimal oluk/cep bulmak için etkileşen moleküller arasındaki şekil tamamlayıcılığının tahmini takip eder.
Ligandın en iyi uyum için reseptör oluştuktaki her hareketi, minimum enerji ile en iyi yerleştirilmiş konformeri bulmak için karşılaştırılan Toplam Sistem Enerjisi olarak bir enerji üretir.	Bu yöntem, alıcı ve ligandın yüzey temsilinden (yani yüzey yapısı ve esnekliği), özellikler/eğrilik hesaplamasından sonra geometrik tamamlayıcı kriterlere bağlı olarak docking ve puanlamadan oluşur.
Bu yaklaşım, moleküler algılamanın gerçek değerlendirmesini ve ligand ve reseptör molekülleri arasındaki etkileşimi kolaylaştıran moleküler modelleme aracında ligand esnekliğini kabul etmek için daha uyumludur.	Bu yaklaşımı, hem esnek docking hem de sert docking türüne izin verir. Esnek veya yumuşak kenetlenme durumunda, bağlı ve serbest etkileşimli moleküller arasında konformasyonel değişiklikler meydana gelebilir. Buna, etkileşen her iki molekülün birbiri üzerine nüfuz etmesi ve örtüşmesi eşlik eder. Bununla birlikte, katı docking, moleküler modelleme sırasında etkileşen moleküllerin şekline uzamsal değişiklik yapılmasına izin vermez.
Bu yaklaşımla moleküler modellemenin gerçekleştirilmesi, büyük enerji profilinin tahmin edilmesi gerektiğinden çok daha uzun zaman gerektirir. Ancak, ağ tabanlı araçlar ve hızlı optimizasyon yöntemleri, bu dezavantajı önemli ölçüde değiştirmiştir.	Bu yöntem, çok sayıda ligandın hedefine bağlanması için birkaç saniye içinde hızlı bir şekilde taranmasını kapsar ve bu nedenle hızlı ve sağlam sonuçlar sağlar.

Moleküler docking yazılımı

Moleküler docking için üç ana yazılım türü listelenebilir. Esnek-rijit docking yoğun kullanılmaktadır. Ancak, esnek docking genellikle daha doğru olduğundan, ilgili araştırmalar son yıllarda bu yazılıma odaklanmıştır. Tablo 2’de yoğun kullanılan moleküler docking yazılımlara ait özellikler verilmiştir.

Rijit Docking (Esnek olmayan)

- Yalnızca docking sırasında moleküllerin konumunu değiştirir.
- Docking işlemi sırasında uzamsal şekilleri değiştiremez.
- Makromoleküller arasında docking için geçerli olan erken bir docking yöntemidir.

Esnek-Rijit Docking

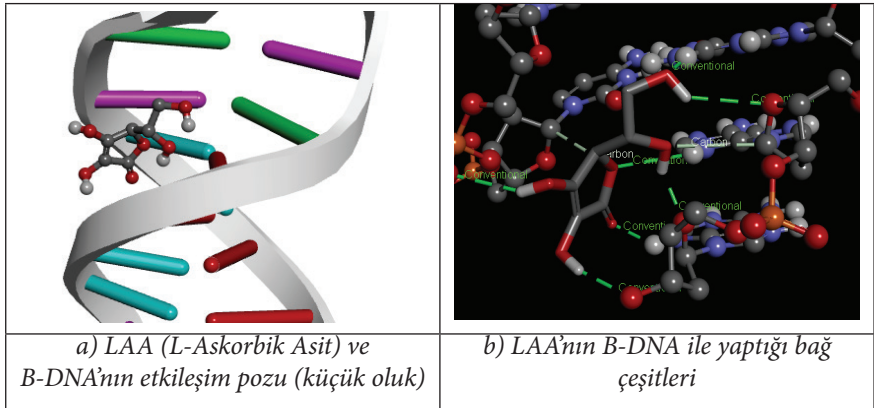
- Docking sırasında makromoleküllü reseptörün sabit yapısı korunur.
- Küçük molekülün yapısı esnektir.
- Yaygın olarak kullanılan rijit dockingden daha doğrudur.

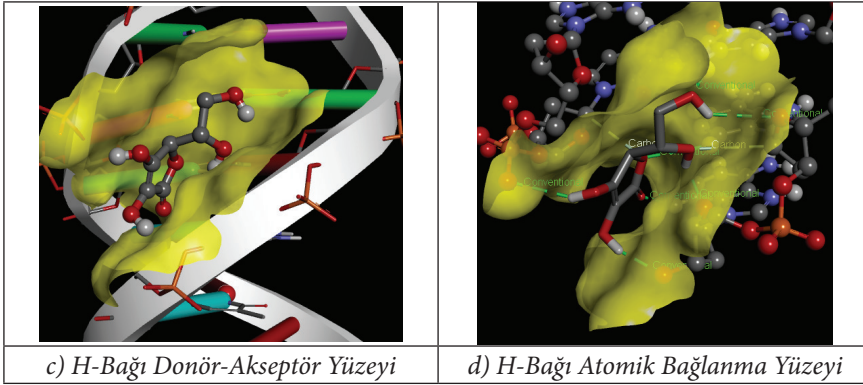
Esnek (yumuşak) Docking

- Özellikle burulma açısı ve dönebilir bağlarda hem reseptörlerin hem de ligandların yapısı esnektir.
- Bilgisayar yazılımı, donanımı ve biçimsel doğruluk konusunda yüksek gereksinimlere ihtiyaç vardır.
- Yüksek hesaplama yükü olan durumlarda docking doğruluğu büyük ölçüde geliştirilmiştir (Fan ve ark. 2019).

Tablo 2. Moleküler dockingde kullanılan yazılımlar

İsim	Araştırma Algoritması	Değerlendirme Metodu	Hız	Özellikler ve Uygulama Alanları
Flex X (Kramer ve ark. 1999)	Fragmentasyon Algoritması	Serbest enerji üzerine yarı deneysel hesaplama	Hızlı	Esnek-rijit docking. Artımlı yapı stratejisi kullanılarak küçük molekül veritabanlarının sanal olarak taranması için kullanılabilir.
Gold (Verdonk ve ark. 2003)	GA (Genetik Algoritma)			Esnek docking. GA tabanlı bir docking programıdır. Bu yazılımın doğruluğu ve güvenilirliği son derece değerlendirilmiştir.
Autodock Vina (Trott ve Olson, 2010)	GA (Genetik algoritma)			Esnek-rijit docking. AutoDock Vina, yinelenen bir lokal arama global iyileştiricisi kullanır ve AutoDock 4'ten daha hızlıdır.
Glide (Halgren ve ark. 2004)	Kapsamlı sistematik araştırma		Orta	Esnek docking. Bu yazılım, arama aralığını daraltmak için alan bilgisini kullanır ve XP (ekstra hassasiyet), SP (standart hassasiyet) ve sanal ekran modlarında yüksek değerlere sahiptir.
AutoDock (Morris ve ark. 2009)	GA (Genetik Algoritma) LGA (Lamarckian Genetik Algoritma)			Esnek-rijit docking. Bu yazılım her zaman Autodock araçlarıyla birlikte kullanılır ve akademik kullanım için ücretsizdir.
ZDOCK (Chen ve ark. 2003)	Geometrik tamamlayıcılık ve moleküler dinamikler	Moleküler kuvvet alanı	Orta	Rijit docking. İkili şekil tamamlayıcılığını desolvasyon ve elektrostatik ile birleştiren ve ZDOCK sunucusunu geliştiren yeni bir puanlama işlevi önermektedir (Chen ve ark. 2003; Pierce ve ark. 2014).
RDOCK (Li ve ark. 2003)	GA (Genetik algoritma) MC (monte carlo) MIN (Simpleks minimizasyon)			Rijit docking. İyileştirme ve puanlama için CHARMm tabanlı prosedür. Bağlama modunu tahmin etmenin yanı sıra, özellikle yüksek verimli sanal tarama (HTVS) işlemleri için tasarlanmıştır.
LeDOCK (Zhao ve Cafilich, 2013)	GA (Genetik algoritma) Stimule yerleşme (SA)		Hızlı	Esnek docking. LeDock, yeni bir moleküler docking programıdır. Bu çalışmanın sonuçlarının (Wang ve ark. 2016), hızlı olması ve yüksek doğruluk sergilemesi nedeniyle sanal ekran görevi için önerilir.
Dock (Lang ve ark. 2009)	Fragmentasyon Algoritması			Esnek docking. Yaygın olarak uygulanabilir ve her zaman esnek proteinler ve esnek ligandlar arasında kenetlenmede kullanılır.





Şekil 1. Bilgisayar-destekli oluşturulan C vitamini (LAA) ile B-DNA'nın en iyi kenetlenme pozları. Esnek-rijit docking / AutoDock (Hüsün ve ark. 2022)

Moleküler Docking Uygulamaları

Günümüzde Covid-19 pandemisiyle birlikte hedef moleküle özgü ilaçların keşfi daha fazla önem kazanmıştır. Bu amaçla son zamanlarda bu tip çalışmaların sayısı hızlı bir şekilde artmıştır. Yapılan moleküler docking çalışmalarında yeni sentezlenmiş kimyasallar, 3 boyutlu yapısı aydınlatılmış bitkisel biyomoleküller, gıda katkı, koruyucu veya renklendiricileri gibi pek çok ligandın hedef protein (enzim gibi) veya DNA formu ile yapmış olduğu komplekslerin yapısı incelenmiştir. *In silico* olarak gerçekleştirilen çalışmalarda ligand-reseptör komplekslerinin serbest bağlanma enerjileri ve inhibisyon düzeyleri deneysel çalışmalar ile tutarlılık göstermektedir. Deneysel çalışmalardan önce elde edilen bu veriler araştırmacılara büyük avantaj sağlamıştır.

Hem docking analizleri hem de deneysel araştırmaların yapıldığı çalışmalardan biri insan Katepsin K enzimidir. Katepsin K oldukça güçlü bir kollajenazdır ve osteoklastlarda eksprese edilen baskın papain benzeri sistein proteazıdır. İnsanlarda ve farelerde katepsin K eksiklikleri, bu proteazın kemik emilimindeki merkezi rolünün altını çizmiş ve böylece enzimi, anti-rezortif osteoporoz tedavisi için çekici bir hedef haline getirmiştir (Brömme ve Lecaille, 2009). İnsan Katepsin K, Schröder ve ark. yaptığı çalışmada kovalent bağlayıcıların alınması için docking tabanlı bir sanal tarama iş akışının uygulamasını sunmuştur (Schröder ve ark. 2013). Elektrofili filtreler kullanılarak, çeşitli fonksiyonel gruplara sahip yapısal olarak iki milyon çeşitli bileşik içeren bir veri tabanı, sadece 343 test bileşiğinden oluşan bir veri setine indirgenmiştir. Moleküler docking yapılar ve GoldScore sıralama listesinin en yüksek puanlı pozları, aktif bölgeye molekülün uygun oturmasının görsel olarak incelenmesine dayalı sanal isabetlerin manuel olarak seçilmesi için dikkate alınmıştır. Beş

düşük puanlı bileşiği içeren 44 bileşikten oluşan bir veri seti, sonunda deneysel değerlendirme için seçilmiştir. Seçilen 39 *in silico* uygulamadan 21'inin aktivitesi deneysel olarak doğrulanmış ve aktif olmadığı tahmin edilen beş yapıdan dördü katapsin K üzerinde hiçbir aktivite göstermemiştir. Bu çalışma, moleküler dockingin olumlu sonuçlar üretme kabiliyetini büyük ölçüde göstermiştir (Schröder ve ark. 2013).

Moleküler docking, moleküller (ligandlar ve reseptörler gibi) arasındaki etkileşimi inceleyen ve bir bilgisayar platformu aracılığıyla bağlanma modlarını ve afinitelerini tahmin eden biyoinformatik tabanlı teorik bir simülasyon yöntemidir. Bu teknoloji, bilim camiasında araştırmacılar tarafından kabul edilen yapıya dayalı rasyonel ilaç tasarımı gibi tıbbi kimyada umut verici bir araç görevi görmektedir. Son yıllarda gıda matrisindeki biyomoleküler etkileşimi içeren çeşitli temel çalışmalar yavaş yavaş ortaya çıkmıştır. Moleküler docking deneyleri tahmin etme gibi dikkate değer avantajları, çeşitli alanlarda uygulama potansiyeli nedeniyle artan ilgiyi çekmektedir. Moleküler docking, ilaç tasarımı çalışmalarının dışında beslenme bileşenleri ve gıda güvenliği dahil olmak üzere gıda bilimi alanındaki uygulamalarda da kullanılmaktadır (Tao ve ark. 2020)

Karbonhidratlar, polihidroksi aldehitler veya polihidroksil ketonların yanı sıra bunların kondensatlarından ve türevlerinden oluşur. Gıdalardaki karbonhidratlar arasında glikoz, sakaroz, laktoz, maltoz, nişasta ve selüloz bulunur. Canlıların fiziksel aktivitelerinde çok önemli bir rol oynarlar ve tüm canlı organizmaların canlılığını sürdürmeleri için birincil enerji kaynağıdır. Polisakkaritlerin ve proteinlerin docking yöntemleri sürekli olarak güncellenmektedir. Karbonhidrat aromatik etkileşimlerinin geometrik kısıtlamalarının hakim olduğu yeni bir docking yöntemi önerilmiştir (Yang ve ark. 2015). Wang ve diğerleri (2019), moleküler docking yoluyla *Ganoderma Lucidum* Polisakkaritlerinin (GLP) sığır serum albümini (BSA) üzerindeki etkisini incelemiştir. Sonuçlar, GLP'nin BSA'nın hidrofobik boşluğu ile etkileşime girmediğini, ancak yüzeyinde beş bölge ile etkileşime girdiğini göstermiştir. Bağlanma işlemi 67 amino asitten kalıntılar yer alırken, ana kuvvetler arasında hidrojen bağı ve van der Waals kuvvetleri yer almıştır. Karbonhidratların enzimlere bağlanması, onun katalitik aktivitesini modüle edebilmektedir. Ek olarak, tatlandırıcıların ve reseptörlerinin bağlanmasını simüle etmek, yeni tatlandırıcıların tasarımı için alternatif bir yön sağlamıştır (Goel ve ark. 2018). Pentagalloyl-glucose (PGG), alfa-amilazın aktivitesini inhibe etmekte ve normal glisemik seviyeleri korumak için bir gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir (Yang ve diğerleri, 2014; Kato-Schwartz ve diğerleri, 2018). Ayrıca, reseptörlerin, ligandların, bağlayıcı ara maddelerin ve komplekslerin yapılarının tanımlanması ve moleküler docking işlemi sırasında bağlanma bölgelerinin ve kuvvetlerinin belirlenmesi,

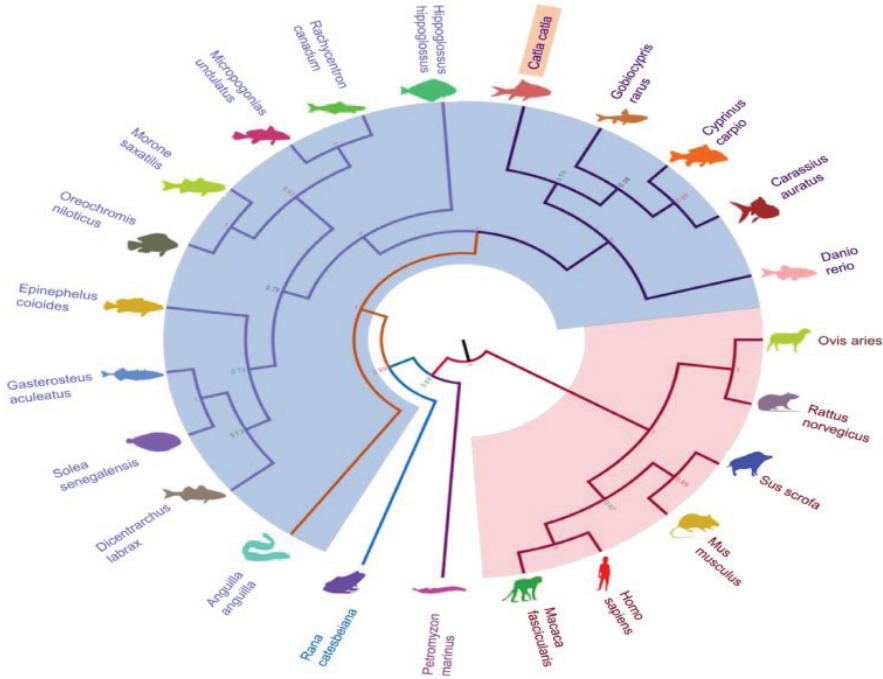
şekerlerin stereo seçiciliğini incelemek için rehberlik sağlayabilmektedir (Bras ve diğerleri, 2009).

Gıdalardaki basit lipidler, bileşik lipidler ve türev lipidleri içeren lipidler, insan vücudunun verimli bir şekilde çalışması için beslenme açısından çok önemlidir. Pankreatiklipaz, diyet yağını hidrolize eden en önemli enzimdir ve yağın sindirimi ve emilimi ile yakından ilişkilidir. Aktivitesi çevredeki diğer maddelerden etkilenir. Du ve ark. (2018) yaptığı dockin çalışmasında astaksantin ve p-NPB pankreas lipazına bağlandığını, ancak aralarında rekabet olmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada astaksantin, pankreas lipazının konformasyonunu değiştirmek için katalitik bölgenin bitişik kalıntıları ile etkileşime girerek enzimin aktivitesini inhibe etmiştir. Eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA), insan vücudundaki önemli lipid türevleridir. Moleküler docking teknolojisiyle EPA ve DHA'nın sentezi ve işlevinde geniş çapta incelenmiştir. EPA ve DHA'nın koenzim Q10 (CoQ10) ile etkileşimi, geçirgenliğini iyileştirerek CoQ10'un en iyi taşıyıcısının belirlenmesine yardımcı olmuştur (Zulfakar ve ark. 2018). Amiloid- β ($A\beta$)'nin Alzheimer hastalığına (AH) neden olabileceği bildirilmiştir (Kotler ve ark. 2014). Çalışmalar, oleik asit (OA) ve DHA'nın $A\beta$ üzerinde doğrudan inhibitör etkileri olduğunu göstermiştir. Diyet takviyeleri olarak çoklu doymamış yağ asitleri, AH tedavisinde geniş kapsamlı bir öneme sahiptir (El Shatshat ve ark. 2019). Vücut ayrıca çeşitli enzimler tarafından düzenlenen EPA ve DHA'yı sentezlemek için linoleik asit ve α -linolenik asit kullanabilir. Rong ve ark. (2019), PyMOL yazılımını (Schrödinger, New York, ABD) kullanarak substratlarla (linolenik asit ve araşidonik asit) n-3 desatürazın dockingini yapmıştır. Daha sonra n-6 çoklu doymamış yağ asidini n-3 çoklu doymamış yağ asidine dönüştürmek için n-3 desatürazın daha iyi uygulanması için rehberlik sağlayan n-3 desatürazın moleküler yapısını ve bağlanma alanını bulmuştur. Seramid, Hsd17b4 ve Pex5 enzimleri arasındaki etkileşimi de etkileyerek, dolaylı olarak DHA üretimini düzenleyebilmektedir (Zhu ve ark. 2019).

Balık üremesi, gametogenez, yumurtlama spermiasyonu, cinsiyet belirleme vb. gibi süreçleri doğrudan etkileyen hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) eksen ve sıcaklık tarafından düzenlenmektedir (Pankhurst ve Thomas 1998; Levavi-Sivan ve ark. 2010; Zeh ve ark. 2012; Rather ve ark. 2013). Hipotalamus, hem enerji dengesinin hem de üremenin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynayan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), nöropeptid-Y, ghrelin, kisspeptin, gonadotropin-inhibitör hormon vb. gibi bir dizi nöropeptid içerir (Shahjahan ve ark. 2014; Rather ve ark. 2016). Bunların arasında, kisspeptinin, balık dahil omurgalılarda üremenin kontrolünde önemli bir molekül olduğu düşünülmektedir. Kisspeptin, RF-amid ile ilişkili peptid ailesinin bir üyesidir. Bunlar Kiss

geninin peptit ürünleridir ve öncelikle memelilerde tümör metastazını baskılama kabiliyetine sahip G proteinine bağlı reseptör 54'ün (GPR54) ligandı olarak tanımlanmıştır (Kotani ve ark. 2001; Tena-Sempere ve ark. 2012). Kisspeptinin çeşitli formları ve bunların reseptör genleri, balıklar da dahil olmak üzere memeli olmayan omurgalıların çeşitli türlerinde rapor edilmiştir. Kiss1 ve Kiss2 gibi iki paralog kisspeptin geni farklı balıklarda klonlanmıştır (Biran ve ark. 2008; Selvaraj ve ark. 2010). Rather ve ark. (2017) etkileşimlerin ayrıntılı moleküler temelini incelemek ve kisspeptinin aktif bölge ile olan bağlanma afinitesini tahmin etmek için moleküler yerleştirme çalışmalarını gerçekleştirmiştir. Kisspeptinin hazırlanmış bir yapısı, proteinin hücre dışı tarafında bulunan Kiss1r'nin aktif bölgesine yerleştirilmiş ve AutoDock hesaplamalarına göre Kiss1r ile kisspeptinin kenetlenme sonuçları -11.3Kcal/mol olarak rapor edilmiştir. Docking simülasyon sonuçları, kiss1r'nin hücre dışı açılış kanalında bulunan makul derecede kritik kalıntılarla iyi etkileşimlerin yanı sıra yüksek bağlanma afinitesi göstermiştir.

Bilgisayar destekli moleküler docking analizleri ilaç keşfi ve yeni ilaçların tasarımı, karbonhidrat, lipit vb. moleküllerin metabolize reaksiyonları, endokrin sistem bileşenleri olan vitamin, enzim veya hormonların inhibisyon araştırmalarının yanı sıra su ürünleri bünyesinde yetiştirilen balıkların üreme, büyüme/gelişme ve beslenme profillerinin geliştirilmesinde de etkili bir şekilde kullanılabilmektedir.



Şekil 1. Farklı omurgalıların kisspeptin reseptörünün filogenetik ağacı (Rather ve ark. 2017)

Sonuç

Son yıllarda moleküler docking teknolojisinin gıdaya uygulanması, esas olarak insan için birçok fayda sağlayan reseptör proteinlerin veya hedef moleküllerin taranmasını ve moleküller arası etkileşimlerin keşfedilmesini içermektedir. Besinlerin ve sindirim enzimlerinin bağlanma mekanizmasını keşfetmek, gıdanın mevcudiyetini iyileştirebilir ve özel popülasyonlar için uygun diyetlerin tasarımına rehberlik edebilir. Zararlı maddeler ve alıcılar arasındaki bağlanma modunu simüle etmek, eylem mekanizmasının daha derinden anlaşılmasını sağlar. Güvenli ve toksik olmayan enzim inhibitörlerinin taranması ve tanımlanması, zararlı maddelerin emilimini düzenlemek ve maliyetlerden tasarruf etmek için kullanılabilir. Özetle, moleküler docking teknolojisi, gıda biliminde iyi bir uygulama beklentisine sahiptir. Bununla birlikte, moleküler docking deneysel sonuçları doğrulamak ve daha fazla araştırmada rehberlik için kullanılabileceğini ve gerçek deneyin tamamen yerini almadığını belirtmekte fayda var. pH, sıcaklık ve solvent gibi gerçek koşullar tam olarak simüle edilemediği için birçok docking prosedürü vakum ortamında gerçekleştirilir. Ayrıca, docking işlemi sırasında moleküler değişikliklerin aralığı dar olduğundan, proteinlerin dahil olduğu yerlerde moleküler

docking yaygın olarak uygulanır. Ayrıca docking sonuçlarının doğruluğunu belirlemek için reseptör ve ligandın bilinen kararlı yapıları sahip olması önemli faktördür. Bu nedenle, Protein Veri Bankasındaki (PDB) proteinler genellikle araştırma nesneleri olarak kullanılır, kristal yapısı belirlenemeyen moleküllerin modellenmesi gerekir, bu nedenle birçok sınırlama vardır. Su ürünleri sektöründe docking teknolojisinin kullanılması, besleme, genetik ve hastalıklar olmak üzere bir çok konuya ışık tutabilir ve bir çok soruya moleküler olarak cevap verebilir.

Sonuç olarak, moleküler docking teknolojisi, docking sonuçlarının etkinliğini sağlamak için algoritmaların geliştirilmesine daha fazla dikkat etmelidir. Reseptör ve ligandın özelliklerine göre docking yazılımı tasarlamak ve geliştirmek gereklidir. Bu şekilde, gıda biliminde moleküler dockingin daha iyi çalışması için teşvik edilebilir.

KAYNAKLAR

- Agarwal, S., and Mehrotra, R. J. J. C. (2016). An overview of molecular docking. *JSM chem*, 4(2), 1024-1028.
- Agarwal, S., Chadha, D., and Mehrotra, R. (2015). Molecular modeling and spectroscopic studies of semustine binding with DNA and its comparison with lomustine-DNA adduct formation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 33(8), 1653-1668.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... and Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242.
- Biran, J., Ben-Dor, S., & Levavi-Sivan, B. (2008). Molecular identification and functional characterization of the kisspeptin/kisspeptin receptor system in lower vertebrates. *Biology of reproduction*, 79(4), 776-786.
- Brás, N. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2009). Docking and molecular dynamics studies on the stereoselectivity in the enzymatic synthesis of carbohydrates. *Theoretical Chemistry Accounts*, 122(5), 283-296.
- Brömme, D., & Lecaille, F. (2009). Cathepsin K inhibitors for osteoporosis and potential off-target effects. *Expert opinion on investigational drugs*, 18(5), 585-600.
- Chen, R., Li, L., & Weng, Z. (2003). ZDOCK: an initial-stage protein-docking algorithm. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(1), 80-87.
- de Magalhães, C. S., Almeida, D. M., Barbosa, H. J. C., & Dardenne, L. E. (2014). A dynamic niching genetic algorithm strategy for docking highly flexible ligands. *Information Sciences*, 289, 206-224.
- Du, X., Bai, M., Huang, Y., Jiang, Z., Chen, F., Ni, H., & Li, Q. (2018). Inhibitory effect of astaxanthin on pancreatic lipase with inhibition kinetics integrating molecular docking simulation. *Journal of Functional Foods*, 48, 551-557.
- El Shatshat, A., Pham, A. T., & Rao, P. P. (2019). Interactions of polyunsaturated fatty acids with amyloid peptides Aβ40 and Aβ42. *Archives of biochemistry and biophysics*, 663, 34-43.
- Fan, J., Fu, A., and Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7(2), 83-89.
- Gioia, D., Bertazzo, M., Recanatini, M., Masetti, M., & Cavalli, A. (2017). Dynamic docking: a paradigm shift in computational drug discovery. *Molecules*, 22(11), 2029.
- Goel, A., Gajula, K., Gupta, R., & Rai, B. (2018). In-silico prediction of sweetness using structure-activity relationship models. *Food chemistry*, 253, 127-131.

- Guedes, I. A., de Magalhães, C. S., and Dardenne, L. E. (2014). Receptor–ligand molecular docking. *Biophysical reviews*, 6(1), 75-87.
- Halgren, T. A., Murphy, R. B., Friesner, R. A., Beard, H. S., Frye, L. L., Pollard, W. T., & Banks, J. L. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1750-1759.
- Hüsün, M. T., İla, H. B. ve Yılmaz, M. B. (2022). L-askorbik asitin insan sağlıklı lenfosit ve kanserli HL-60 hücre kültürü üzerine olan etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi.
- Kato-Schwartz, C. G., Bracht, F., de Almeida Gonçalves, G., Soares, A. A., Vieira, T. F., Brugnari, T., ... & Peralta, R. M. (2018). Inhibition of α -amylases by pentagalloyl glucose: Kinetics, molecular dynamics and consequences for starch absorption. *Journal of Functional Foods*, 44, 265-273.
- Kotani, M., Detheux, M., Vandenbogaerde, A., Communi, D., Vanderwinden, J. M., Le Poul, E., ... & Parmentier, M. (2001). The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry*, 276(37), 34631-34636.
- Kotler, S. A., Walsh, P., Brender, J. R., & Ramamoorthy, A. (2014). Differences between amyloid- β aggregation in solution and on the membrane: insights into elucidation of the mechanistic details of Alzheimer's disease. *Chemical Society Reviews*, 43(19), 6692-6700.
- Kramer, B., Rarey, M., & Lengauer, T. (1999). Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 37(2), 228-241.
- Lang, P. T., Brozell, S. R., Mukherjee, S., Pettersen, E. F., Meng, E. C., Thomas, V., ... & Kuntz, I. D. (2009). DOCK 6: Combining techniques to model RNA–small molecule complexes. *Rna*, 15(6), 1219-1230.
- Levavi-Sivan, B., Bogerd, J., Mañanós, E. L., Gómez, A., & Lareyre, J. J. (2010). Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 412-437.
- Li, L., Chen, R., & Weng, Z. (2003). RDOCK: refinement of rigid-body protein docking predictions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 53(3), 693-707.
- Liu, Z., Liu, Y., Zeng, G., Shao, B., Chen, M., Li, Z., ... and Zhong, H. (2018). Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. *Chemosphere*, 203, 139-150.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., and Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry*, 19(14), 1639-1662.

- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.
- Mukesh, B., and Rakesh, K. (2011). Molecular docking: a review. *Int J Res Ayurveda Pharm*, 2(6), 1746-51.
- Pankhurst, N. W., & Thomas, P. M. (1998). Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture*, 166(1-2), 163-177.
- Pierce, B. G., Wiehe, K., Hwang, H., Kim, B. H., Vreven, T., & Weng, Z. (2014). ZDOCK server: interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers. *Bioinformatics*, 30(12), 1771-1773.
- Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T., & Klebe, G. (1996). A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of molecular biology*, 261(3), 470-489.
- Rather, M. A., Basha, S. H., Bhat, I. A., Sharma, N., Nandanpawar, P., Badhe, M., ... & Sharma, R. (2017). Characterization, molecular docking, dynamics simulation and metadynamics of kisspeptin receptor with kisspeptin. *International journal of biological macromolecules*, 101, 241-253.
- Rather, M. A., Bhat, I. A., Sharma, N., Sharma, R., Chaudhari, A., & Sundaray, J. K. (2016). Molecular characterization, tissue distribution of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) beta subunit and effect of kisspeptin- 10 on reproductive hormonal profile of *Catla catla* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Research*, 47(7), 2089-2100.
- Rather, M. A., Sharma, R., Gupta, S., Ferozekhan, S., Ramya, V. L., & Jadhao, S. B. (2013). Chitosan-nanoconjugated hormone nanoparticles for sustained surge of gonadotropins and enhanced reproductive output in female fish. *PloS one*, 8(2), e57094.
- Rong, C., Chen, H., Tang, X., Gu, Z., Zhao, J., Zhang, H., ... & Chen, Y. Q. (2019). Characterization and molecular docking of new $\Delta 17$ fatty acid desaturase genes from *Rhizophagus irregularis* and *Octopus bimaculoides*. *RSC advances*, 9(12), 6871-6880.
- Schröder, J., Klinger, A., Oellien, F., Marhöfer, R. J., Duzsenko, M., & Selzer, P. M. (2013). Docking-based virtual screening of covalently binding ligands: An orthogonal lead discovery approach. *Journal of medicinal chemistry*, 56(4), 1478-1490.
- Selvaraj, S., Kitano, H., Fujinaga, Y., Ohga, H., Yoneda, M., Yamaguchi, A., ... & Matsuyama, M. (2010). Molecular characterization, tissue distribution, and mRNA expression profiles of two Kiss genes in the adult male and female chub mackerel (*Scomber japonicus*) during different gonadal stages. *General and comparative endocrinology*, 169(1), 28-38.

- Shahjahan, M., Kitahashi, T., & Parhar, I. S. (2014). Central pathways integrating metabolism and reproduction in teleosts. *Frontiers in endocrinology*, 5, 36.
- Tao, X., Huang, Y., Wang, C., Chen, F., Yang, L., Ling, L., ... & Chen, X. (2020). Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 33-45.
- Tena-Sempere, M., Felip, A., Gómez, A., Zanuy, S., & Carrillo, M. (2012). Comparative insights of the kisspeptin/kisspeptin receptor system: lessons from non-mammalian vertebrates. *General and comparative endocrinology*, 175(2), 234-243.
- Thomsen, R., & Christensen, M. H. (2006). MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. *Journal of medicinal chemistry*, 49(11), 3315-3321.
- Trott, O., and Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Trott, O., and Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
- Verdonk, M. L., Cole, J. C., Hartshorn, M. J., Murray, C. W., & Taylor, R. D. (2003). Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(4), 609-623.
- Verdonk, M. L., Cole, J. C., Hartshorn, M. J., Murray, C. W., & Taylor, R. D. (2003). Improved protein-ligand docking using GOLD. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 52(4), 609-623.
- Wang, Y., Wang, Y., Luo, Q., Zhang, H., & Cao, J. (2019). Molecular characterization of the effects of Ganoderma Lucidum polysaccharides on the structure and activity of bovine serum albumin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 206, 538-546.
- Wang, Z., Sun, H., Yao, X., Li, D., Xu, L., Li, Y., ... & Hou, T. (2016). Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein-ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(18), 12964-12975.
- Yang, J. P., He, H., & Lu, Y. H. (2014). Four flavonoid compounds from Phyllostachys edulis leaf extract retard the digestion of starch and its working mechanisms. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(31), 7760-7770.
- Yang, Y., Qian, J., & Ming, D. (2015). Docking polysaccharide to proteins that have a Tryptophan box in the binding pocket. *Carbohydrate research*, 414, 78-84.

- Zeh, J. A., Bonilla, M. M., Su, E. J., Padua, M. V., Anderson, R. V., Kaur, D., ... & Zeh, D. W. (2012). Degrees of disruption: projected temperature increase has catastrophic consequences for reproduction in a tropical ectotherm. *Global Change Biology*, 18(6), 1833-1842.
- Zhao, H., and Caflisch, A. (2013). Discovery of ZAP70 inhibitors by high-throughput docking into a conformation of its kinase domain generated by molecular dynamics. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 23(20), 5721-5726.
- Zhu, Z., Chen, J., Wang, G., Elsherbini, A., Zhong, L., Jiang, X., ... & Bieberich, E. (2019). Ceramide regulates interaction of Hsd17b4 with Pex5 and function of peroxisomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(10), 1514-1524.
- Zulfakar, M. H., Chan, L. M., Rehman, K., Wai, L. K., & Heard, C. M. (2018). Coenzyme Q10-loaded fish oil-based bigel system: probing the delivery across porcine skin and possible interaction with fish oil fatty acids. *Aaps Pharmscitech*, 19(3), 1116-1123.

Bölüm 8

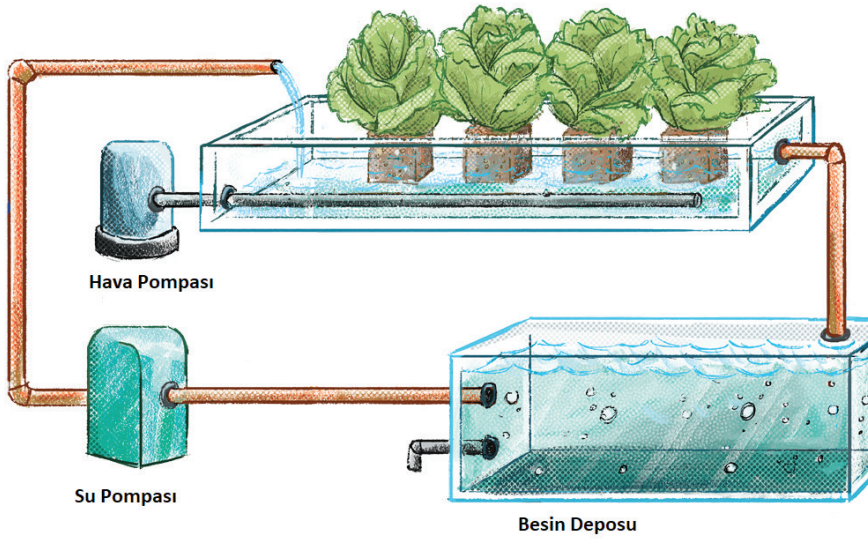
AKUAPONİK SİSTEMLER

Şefik Surhan TABAKOĞLU

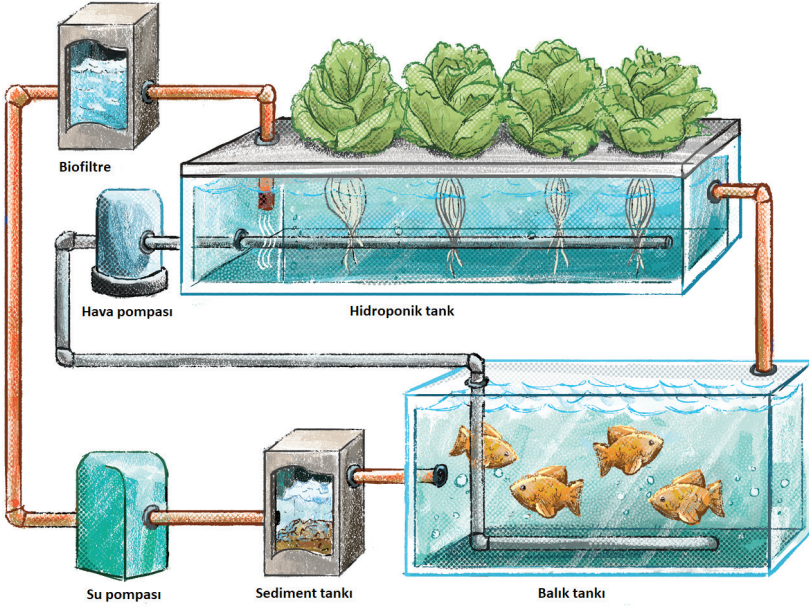
Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik ABD, 01330/Balcalı-Sarıçam,
Adana, Türkiye
e-mail: surhan@cu.edu.tr

Son yıllarda dünya nüfusunun da artmasıyla oluşan gıda talebinin fazlaşması, doğal kaynaklar ve ekosistemler üzerindeki baskıları artırmıştır. Biyosfer bütünlüğünün, azot (N) ve fosfor (P) döngülerinin dünya sınırlarını aştığı veya yakında aşacağı yapılan son çalışmalarda ortaya konmaktadır. Bu da, ekosistem dengesinde derin değişiklikler gibi öngörülemeyen sonuçlara yol açabilir ve çözüm bulunması gerekmektedir (Steffen ve ark., 2015). Su ürünleri yetiştiriciliği en hızlı büyüyen gıda üretim sektörlerinden biridir ve dünyadaki tüketim balıklarının neredeyse %50'sini karşılamaktadır. FAO'nun verilerine göre 2030 yılına kadar 40 milyon ton sucul besine gereksinim olacağı ön görülmektedir. (FAO, 2006).

Akuaponik sistemler (Şekil 2.), devridaimli akuakültür sistemlerinin (RAS) özel bir şeklidir, yani balık tankları (akuakültür) ve aynı su döngüsünde (Hidroponik Şekil 1.) yetiştirilen bitkilerden oluşan bir polikültürdür ve nitrifikasyon bakterilerini simbiyotik bir ortamda birleştiren entegre bir çiftçilik konseptidir. En yaygın biçim, hidroponik yatakların devridaimli bir su ürünleri yetiştiriciliği sisteminin (RAS) su devresine entegrasyonudur (Rakocy ve Hargreaves, 1993; Wilson, 2005).



Şekil 1. Hidroponik sistem (Purdue Ün. 2022).



Şekil 2. Akuaponik sistem (Purdue Ün. 2022).

Bu entegrasyonun amacı, balıklar tarafından atılan ve boşa harcanan besin maddelerini yararlı bitki biyokütlesine dönüştürmektir. Aynı zamanda, balık ve hidroponik bitki üretiminin ekolojiye olan olumsuz etkisini büyük ölçüde azaltan su değişimini sağlamaktadır. (Delaide ve ark., 2015; Rakocy, 2012).

Akuaponik Sistemlerin Tarihçesi

Akuaponik sistemler, M.S. 1000 civarında bir gölün yüzeyinde sallar üzerinde bitki yetiştiren Aztek Kızılderililerine kadar uzanmaktadır (Şekil 3.) (Nelson, 2008). Ancak modern bir tarım teknolojisi olarak hala başlangıç aşamasındadır. Yeni endüstriler olarak ortaya çıkan Su Ürünleri Yetiştiriciliği ve Hidroponik Sistemlerin, son yarım yüzyılda ciddi bir ivme kazandığı görülmektedir. Hidroponik tarım ve su ürünleri yetiştiriciliği tekniklerinin gelişmesiyle ikisini birleştirme fikri yeni uygulanan yöntem olarak ortaya çıkmıştır.



Şekil 3. Aztek Yerlilerinin İlkel Akuaponik Sistem Modeli (M.S. 1000) (Nelson, 2008).

Su ürünleri yetiştiriciliği geleneksel olarak hem büyük miktarlarda toprak hem de su tüketen büyük havuzlarda gerçekleştirilmektedir. Bu sorunu çözmek için su ürünleri yetiştiricileri, Devridaimli Su Ürünleri Sistemlerine (RAS) geçmişlerdir. Bu sistemlerle ilgili yapılan araştırmalarda ilk başta, sucul bitkilerin su ürünleri çiftliklerinden gelen atık sudaki besin maddelerini filtrelemede ve kullanmada ne kadar verimli olduklarını belirlemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Aynı zamanda karasal bitkiler de test edilmiş ve bunların su arıtma için etkili bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Bu iki teknolojiyi birleştirme sonucu ortaya çıkan faydaların belirlenmesi sonucu, su ürünleri yetiştiriciliği ve hidroponiğin entegre bir endüstri olarak birleştirilmesine sebep olmuştur.

Akuaponik sistemler ile ilgili araştırmalar 1970’lerde başlamış ve dünya çapındaki birçok üniversitede üretimi iyileştirmek için teknolojiler rafine edilerek devam etmektedir. Akuaponik sistemleri geliştirmek amacıyla son 25 yıldır, Virgin Adaları Üniversitesi’nden Dr. James Rakocy araştırmalar yapmaktadır. Akuaponik sistemler, son birkaç on yılda artış göstermiştir. 2000’li yılların başında, büyük ticari akuaponik uygulamaları ve üretkenliklerine ilişkin derinlemesine araştırmalar yapılmıştır.

Yetiştiricilikte balık yeminin %25-30’luk kısmı enerji olarak kullanılır (Rakocy ve ark., 1993). Sindirilen besinler katı ve çözünmüş hallerde atılır. Çözünmüş besinler, düşük su değişimi ve yüksek besleme oranlarına sahip devridaim sistemlerinde hemen hemen hidroponik besin çö-

zeltilerine yakın seviyelere kadar birikir. Devridaim akuaponik sistemi (RAS), balık ve hidroponik bitki üretiminin entegrasyonunda umut verici bir teknolojidir. Bitkiler büyümek için besin içeriği zengin balık suyunu kullanarak biyofiltre görevi görürler. Biyofiltrasyon, zararlıyı zararsıza dönüştürürken, son nokta, esas olarak nitrat ve fosfattan oluşan devridaim sistemlerinde besinlerin birikmesidir. Bitkiler tarafından besinlerin uzaklaştırılması, atık su kalitesini iyileştirir ve balık üretimini artırabilir.

Besin döngüleri ve atıkların azaltılması yoluyla daha verimli kaynak kullanımı potansiyeli, hızla genişleyen su ürünleri yetiştiriciliği sistemleri ve hidroponik üretim sektörleri için bir yenilik olarak akuaponiklere artan ilgiyi açıklayabilir (Love ve ark., 2014; Pulvenis, 2016 ; Sonneveld ve Voogt, 2009).

Akuaponik sistemler balık ve bitkilerin entegre yetiştiriciliğinin yapılmasını ve böylece su ürünleri yetiştiriciliğinin çevreye olan olumsuz etkilerinin azaltılmasını sağlar. (Adler ve ark., 2003; Tyson ve ark., 2011). Hayvanların yoğunlaştığı tüm tarımsal işletmelerde olduğu gibi, su ürünleri yetiştiriciliğinde de atıklar birikir ve uygun şekilde kullanılmadıklarında üretim sisteminin ve arazinin bozulmasına neden olur. Su ürünleri atıkları, suda çözündükleri veya askıda kaldıkları için sorun yaratır. Askıda katı maddelerin uzaklaştırılmasında sedimentasyon veya filtrasyon gibi fiziksel ayırma yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak büyük hacimlerde seyreltik sıvı atık nedeniyle çözünmüş besin salınımını sınırlamak kolay değildir. Akuaponik sistemler, akuakültür yoluyla üretilen düşük konsantrasyonlarda çözünmüş N (Azot) ve P (Fosfor)'u giderebilen mevcut birkaç teknikten biridir.

Akuaponik sistemde, balık yetiştiriciliğine bağlı olarak ortaya çıkan besinlerle zenginleşmiş atık su, besin kaynağı olarak kullanılmak üzere bitkilerin köklenme bölgesinden geçirilir. Bitkiler, büyümeyi desteklemek için besinleri kullanır ve seçilen bitkiye bağlı olarak, balık çiftçisi için ek bir ürünü temsil edebilir. Bitki biyokütlesindeki besin alımı ve sekestrasyonu, besin maddelerini atık sudan uzaklaştırarak su kalitesini iyileştirir.

Akuaponik sistemin en etkili şekilde olması için, balık yetiştiriciliği sonucu oluşan besin üretimi ile bitki bileşeni tarafından besin alımı arasındaki optimum denge oluşturulmalıdır. Yetersiz bitki yetiştirme alanı, devridaim sistemlerinde besinlerin birikmesine veya sistemlerden geçen akışta besin maddelerinin aşırı salınımına neden olacaktır. Su kalitesini iyileştirebilmek amacıyla çok büyük bir bitki yetiştirme alanı oluşturulabilir, ancak bu durumda bitkilerin büyüme oranlarında ve bitki mahsullerinin üretiminde azalma gözlenir.

Balık yetiştiriciliğinde oluşan atık üretimi, kullanılan yemin miktarı ve kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Çözünmüş besinlerin oluşumunu en aza indirmek için yüksek düzeyde sindirilebilir çok kaliteli diyetlerin kullanımı ve katı atıkların ortamdan düzenli olarak uzaklaştırılması gibi en iyi yönetim uygulamaları kullanılır. Buna rağmen, yem içerisindeki N (Azot)'un %30 ile %65'inin ve yem içerisindeki P (Fosfor)'un %40 kadarının atıldığı tahmin edilmektedir (Schneider ve ark., 2005). Bitki besin alımını düzenleyen faktörler arasında ışık yoğunluğu, kök bölgesi sıcaklığı, hava sıcaklığı, besin mevcudiyeti, büyüme aşaması ve büyüme oranı yer alır. Çeşitli yetiştirme koşulları altında, ampirik veriler veya simülasyon modelleri (Pagand ve ark., 2000; Papatryphon ve ark., 2005) balık yetiştirme bileşeninden besin salınımını tahmin edebilir, ancak bir altında üretilen çok çeşitli potansiyel bitki mahsulleri için uzaklaştırma oranlarını tahmin etmek daha zordur.

Devridaimli kültür balıkçılığı sistemlerinde, balık tankları, mekanik bir filtre, bir biyofiltre ve bir karter mevcuttur. Su bir pompa aracılığıyla sistemde sürekli devirdaim olur. Ortamdaki oksijen, hava üfleyici veya hava konileri ile sağlanır ve su sıcaklığı kontrol edilir. Bu sistemde nitrat suda birikme eğilimindedir ve balıklar için su değişimini gerektiren ilk toksik faktördür. Damlama filtreleri, farklı kaynak ve bileşimlerdeki atık suların arıtılması için iyi bilinen ve yaygın olarak uygulanan teknik çözümler sunar. Temel amaçları Biyokimyasal Oksijen İhtiyacının (BOİ) nitrifikasyonunu ve giderilmesini sağlamaktır (Gujer, 1999). Arıtma kapasitesi, bakteri üremesi için alan sağlayan filtre ortamının toplam yüzeyi ile ilgilidir. Her filtre ortamının hacim başına belirli bir alan indeksi olduğundan, arıtma kapasitesi farklı olabilir. Damlama filtreleri, farklı kaynak ve bileşimlerdeki atık suların arıtılması için iyi bilinen ve yaygın olarak uygulanan teknik çözümler sunar.

Hidroponik yatakları su döngüsüne dahil etme fikri, başlangıçta bu konuyu ele almaktan kaynaklanmaktadır (Rakocy ve Hargreaves, 1993).

Sağlıklı bitki büyümesi ek makro ve mikro besinlerin (potasyum (K), fosfor (P), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), Kükürt (S), demir (Fe), bor (B), bakır (Cu), çinko (Zn), manganez (Mn) ve molibden (Mo)) suda belirli oranlarda ve konsantrasyonlarda bulunması ile gerçekleşir (Resh, 2012; Sonneveld ve Voogt, 2009). Bugüne kadar, N, P, K (Wongkiew ve ark., 2017) haricinde bu besinlerin kütle dengesi dinamikleri ve bütçesi, akuaponik sistemlerde henüz tam olarak çalışılmamıştır, ancak bu veriler daha iyi sistem boyutlandırma, tasarım ve yem formülasyonu için temel oluşturmaktadır (Delaide ve ark., 2015).

Balık ve bitkilerin etkileşimli faaliyetleri yoluyla suyu daha verimli kullanılması entegre sistemler ile sağlanır. Balıkların ihtiyacı olan opti-

mum oksijen seviyesini ayarlamak için balık tankına eklenecek su miktarı, balığın oksijen tüketimine, giriş suyundaki oksijen konsantrasyonuna ve çıkış suyundaki kabul edilebilir en düşük konsantrasyona bağlıdır (Lekang, 2007). Entegre sistemlerde bitkilerin balıklara oranının değiştirilmesiyle besin konsantrasyonundaki değişim oranı etkilenebilir. (Rakocy ve ark., 2006). Balık atıkları sonucu hidroponik bitkilere sağlanan çözünür besinlerin nispi oranları, normal büyüyen bitkiler tarafından asimile edilen besinlerin oranlarını yansıtmadığından, bireysel besinler için konsantrasyondaki değişim oranları farklıdır. Farklı besin maddelerinin birikmesi veya azalması, besin maddelerinin hızlı bir şekilde uygun olmayan konsantrasyonlarının oluşumuna neden olur. Bunun sonucunda bitkiler için yetersiz besin içeriği oluşur. Teorik olarak, balıklar tarafından salgılanan besinlerin oranlarını, bitkiler tarafından kullanılan besin maddelerinin oranlarına daha benzer hale getirmek için uygun bir besin içeriği oluşturulabilir. Böyle bir diyetle, bitkilere optimal bir balık oranı ve optimal besin takviyesi olacaktır (Seawright ve ark., 1998).

Devridaimli bir balık kültürü sisteminde büyüyen tilapia (*Oreochromis spp.*) ve çeşitli sebze mahsullerinde balık yeminin bitki yetiştirme alanına uygunluğunu belirlemişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda 60–100 g yem/m² bitki yetiştirme alanı oranını önermişlerdir (Rakocy ve ark., 2006). El-Hafedhet ve ark. (2008) Suudi Arabistan’da bir devridaim sisteminde tilapia (*Oreochromis nilotica*) yetiştirmişler ve sistemleri için optimum oranın 56 g yem/m² olduğunu belirlemişlerdir. Endut ve ark. (2010) Malezya’da bir devridaim sisteminde su ıspanağı (*Ipomoea aquatica*) ile birlikte Afrika yayın balığı (*Clarias gariepinus*) yetiştirmiş ve sistemleri için optimum oranın 15-42 g balık yemi/m² olduğunu tespit etmişlerdir.

Akuaponik Sistem Nedir?

Akuaponik, bitkilerin ve su hayvanlarının devridaim ortamında yetiştirilmesi olarak, Gıda ve Tarım Örgütü ve SmartFish’in ortak raporlarında belirtilmiştir.

Akuaponik Sistemler, bitkiler ve balıklar arasındaki bir işbirliğidir ve terimin kaynağını su ürünleri yetiştiriciliği (balıkların kapalı bir ortamda yetiştirilmesi) ile hidroponik (genellikle topraksız bir ortamda bitkilerin yetiştirilmesi) kelimeleri oluşturur.

Akuaponik Sistemler, küçük iç ünitelerden büyük ticari ünitelere kadar çeşitli boyutlarda olabilmektedir. Bu sistemler tatlı su sistemleri olduğu gibi tuzlu veya acı su da içerebilirler.

Başka bir deyişle, Thorarinsdottir (2005) tarafından alıntılanan Akuaponik Sistemler Gardening Community’ye göre akuaponik, balık atıkla-

rını bitki beslenmesine dönüştürmek için doğal bakteri döngülerini kullanan, inşa edilmiş, devridaim yapan bir ekosistemde balık ve bitkilerin birlikte yetiştirilmesidir. Bu, su veya süzüntü veya kimyasal gübre eklemeye gerek kalmadan su ürünleri yetiştiriciliği ve hidroponiğin en iyi özelliklerinden yararlanan çevre dostu, doğal bir gıda yetiştirme yöntemidir.

Akuaponik Sistemleri Su Ürünleri Yetiştiriciliği Yoluyla Anlamak

Ulusal Okyanus Servisi'ne göre, deniz ürünlerine olan talep arttıkça, teknoloji kıyı deniz sularında ve açık okyanusta gıda yetiştirmeyi mümkün kılmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği, gıda ve diğer ticari ürünler üretmek, habitatı eski haline getirmek ve vahşi stokları yenilemek ve tehdit altındaki ve nesli tükenmekte olan türlerin popülasyonlarını yeniden inşa etmek için kullanılan bir yöntemdir.

Deniz ve tatlı su olmak üzere Su ürünleri yetiştiriciliğinin iki ana türü vardır. Ayrıca FAO, su ürünleri yetiştiriciliğini balık ve diğer suda yaşayan hayvan ve bitki türlerinin kontrollü koşullar altında yetiştirilmesi ve üretilmesi olarak tanımlamaktadır. Özellikle balıklar, kabuklular ve yumuşakçalar ile su bitkileri ve algler gibi birçok su türü, kültüre alınmıştır. Dünyamızın çeşitli bölgelerinde Su ürünleri üretim yöntemleri geliştirilmiş ve böylece farklı bölgelerdeki farklı çevresel ve iklim koşullarına uyarlanmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin dört ana kategorisi, açık su sistemlerini (ör. kafesler, paraketeler), gölet kültürünü, akış kanalları ve devridaimli su ürünleri sistemlerini (RAS) içerir.

Aquaponik Sistemleri Hydroponik Yoluyla Anlamak

Yiyecekleri doğrudan topraktan yetiştirmenin başka yolları da mevcuttur. FAO raporundan bir transkripte bakıldığında, topraksız kültürlerden, toprak kullanmadan tarımsal ürünler yetiştirmenin bir yolu olarak bahseder. Toprak yerine, substrat olarak da adlandırılan çeşitli atıl yetiştirme ortamları kullanılır. Bitki desteği ve nem tutmayı sağlayan bu ortamlara sulama sistemleri entegre edilmiştir, böylece bitkilere bir besin çözümü sunar.

Bu çözelti, bitki büyümesi için tüm önemli besin maddelerini verir. Topraksız kültürün en yaygın yöntemi, bir substrat üzerinde veya çıplak kökleri olan sulu bir ortamda bitki yetiştirmeyi içeren hidroponiktir.

Akuaponik Sistemler Nasıl Çalışır?

Balıklar, yararlı bakteriler tarafından bitkilerin kullanabileceği besinlere dönüştürülen yiyecekleri ve dışkıyı yerler. Bitkiler bu besin maddelerini tüketirken suyu arıtmaya yardımcı olurlar.

Akuaponik Sistemler, su ürünleri yetiştiriciliği ve hidroponiği tek bir üretim sistemine entegre eder. Sistemin girdisi balıklar için kullanılan yemlerdir. Balıklar bu yiyeceği yiyip işledikçe, hem amonyak açısından zengin hem de yeterli miktarlarda bitkiler ve balıklar için toksik olabilen idrar ve dışkı maddesine dönüştürürler. Daha sonra, su (artık amonyak bakımından zengin), yenmemiş yiyecekler ve çürüyen bitki maddeleriyle birlikte akvaryumdan bir biyofiltreye akar.

Biyolojik filtrelerde öncelikle nitrosomonas bakterileri amonyağı daha az toksit olan nitrite çevirirler



Toksiditesi nitrata göre yüksek olan nitrit nitrobakteriler aracılığı ile nitrata çevrilirler.



Böylelikle birinci kademe tamamlanır ve amonyak nitrata çevrilir. İkinci kademe ise denitrifikasyon kademesidir.



Bunda nitrat, azota ve suya kadar parçalanır. Nitrat, sebzeler tarafından azot kaynağı olarak kullanılır ve sistemden çıkmış olur (Cho 1991).

Akuaponik tatlı su sistemleri, tatlı su, su hayvanları (balık), nitrifikasyon bakterileri ve bitkiler olmak üzere 3 ana bileşenden oluşur ve bu üç canlı varlığın tümü hayatta kalmak için birbirine bağlıdır. Sistemdeki bakteriler sudaki balık atıklarını tüketerek bitkilere kullanılabilir bir besin formuna sahip su sağlarken bitki büyümesi sayesinde, besinler sudan çıkarılır ve balıklar için temizlenmiş olur.

Akuaponik Sistemlerin Faydaları

FAO'ya göre, gıda yetiştirmek için akuaponik gibi bir sistem tasarımı benimsemenin doğasında var olan birçok fayda vardır. Akuaponik Sistemlerin faydalarını şöyle sıralayabiliriz:

1. Akuaponik sistemlerin faydalarından biri, hala sürdürülebilir olan yoğun bir gıda üretim sistemine sahip olmayı mümkün kılmasıdır.

2. Akuaponik sistemler, bir nitrojen kaynağından (balık yemi) üretilen iki tarım ürününü (balık ve sebze) kapsar. Böylece iki farklı ürünün aynı anda üretimini sağlar.

3. Akuaponik sistemler, suyu son derece verimli bir şekilde kullanan bir sistemdir. Nelson (2008), akuaponik sistemin geleneksel tarıma kıyasla dönüm başına 8 kat daha fazla gıda yetiştirmek için suyun sadece 1/6'sına ihtiyaç duyduğunu belirtmişlerdir.

4. Akuaponik sistemler toprak gerektirmez ve bu nedenle toprak kaynaklı hastalıklara duyarlı değildir.

5. Akuaponik sistemler, gübre veya kimyasal böcek ilacı kullanılmamasını gerektirmez.

6. Akuaponik sistemler, daha yüksek verim ve kaliteli üretim sağlar.

7. Akuaponik sistemler, daha yüksek düzeyde biyogüvenlik ve dış kirleticilerden kaynaklanan daha düşük riskler anlamına gelir.

8. Akuaponik sistemler, üretimde daha yüksek bir kontrole (toprak kontrolünden daha kolay olduğu için) izin verir ve bu da daha düşük kayıplara yol açar.

9. Akuaponik sistemler, çöller, bozulmuş toprak veya tuzlu, kumlu adalar gibi ekilebilir olmayan arazilerde kullanılabilir.

10. Akuaponik sistemler, doğanın doğal döngüsü yaklaşımını taklit ettiği için çok az atık yaratır.

11. Akuaponik sistemler, ekim, hasat gibi günlük işlerde emekten tasarruf sağlar.

12. Akuaponik sistemler, topraksız ve yoksul haneler için gıda ve küçük gelirlerin sağlanmasına yardımcı olur.

13. Akuaponik sistemler balık proteini yaratır ve böylece birçok insanın diyet ihtiyaçlarına değerli bir katkı sağlar.

14. Akuaponik sistemler, dünyadaki tüm yetiştiricilik alanlarını (gölleri, göletleri, nehirleri ve su yollarını) taklit eden tamamen doğal bir süreçtir.

15. Beslenme açısından bakıldığında, Akuaponik sistemler hem protein (balıktan) hem de sebzeler şeklinde yiyecek sağlar.

Akuaponik Sistemlerin Zayıf Yönleri

FAO'nun raporuna dayanarak, bir akuaponik tasarımı benimsemenin getirdiği bazı zayıflıklar da bulunabilir. Akuaponik Sistemler'in zayıf yönleri şunlardır:

1. Akuaponik sistemlerin çok yüksek başlangıç maliyetleri (hem hidropnik hem de toprak üretim sistemleri ile karşılaştırıldığında) zayıf yönlerinden biridir.
2. Başarılı olmak için çiftçilerin sadece sebze yetiştirme konusunda değil, aynı zamanda balık ve bakterilerin nasıl çalıştığı hakkında da bilgi sahibi olmaları gerekir. Ayrıca sıhhi tesisat veya kablolama ile ilgili teknik becerilere de ihtiyaç vardır.
3. Balık ve bitkilerin ihtiyaçları (pH, sıcaklık, substrat gibi) arasında mükemmel bir eşleşme bulmak genellikle zordur.
4. Akuaponik sistemler, bağımsız su ürünleri yetiştiriciliği veya hidropnik ile karşılaştırıldığında daha az yönetim seçeneğine sahiptir.
5. Sistemi yöneten hatalar hızla çökmesine neden olabilir.
6. Günlük hem balık hem de bitki kontrolleri gereklidir.
7. Yüksek enerji maliyetlerine gereksinim vardır.
8. Balık yemi düzenli olarak satın alınmalıdır.

Ayrıca, etkili bir akuaponik sistemin, bakteri veya alglerin işlevi olan organik katıyı etkili bir şekilde filtrelemesi gerekir. Akuaponik sistemlerdeki arızaların üçte ikisinden fazlası, katı atıkların etkisiz hale getirilmesinden kaynaklanmaktadır.

Akuaponik Sistemlerinin Yönetimi

Akuaponik Sistemler, sebze ve diğer bitkileri yetiştirmenin sürdürülebilir bir yöntemidir. Bitki "krallığı", dairesel bir döngüyü kapatmak için hayvanlar aleminden (balık) arta kalanları yeniden kullandığından doğayı taklit eder. Ancak sistemin dengesini sağlamak, sürdürmek ve balıklar için en uygun koşulları sağlamak amacıyla farklı parametrelerin yakından kontrolünün yapılması gerekir.

Bitkilerin ve balıkların optimal ihtiyaçlarını karşılamak için mükemmel bir şekilde ayarlanması gereken ana üretim parametreleri şunlardır:

1. Hava sıcaklığı;
2. Su sıcaklığı;

3. Makro ve mikro besinlerin konsantrasyonu
4. Havada ve suda çözünmüş oksijen (kullanılan filtreleme yöntemi-ne bağlıdır)
5. havadaki ve sudaki CO₂ konsantrasyonları
6. pH
7. Işık

Sistemin düzgün ve üretkenliğinin yüksek olması yukardaki parametrelerin ne kadar iyi olduğuna ve karşılandığına bağlıdır. Aynı zaman da bu parametreleri kontrol etmek hastalıkları, böcekleri ve diğer kirlilik türlerinin önlenmesinde büyük rol oynar.

Ayrıca, tüm balık atıklarını dönüştürmek için bir bakteri kolonisi yetiştirmeye yeterli yüzey alanı sağlarken, balık atığı ve sebze besin talebi arasında uygun bir denge sağlamak gerekir.

Akuaponik Sistem Yöntemleri

Her akuaponik sistemde ortak olan bileşenler, akvaryum ve topraksız bir bitki yatağıdır. Değişkenler arasında filtrasyon bileşenleri, sıhhi tesisat bileşenleri, bitki yatağı tipi ve su sirkülasyonu ve havalandırma miktarı ve sıklığı yer alır. Yüksek balık ve bitki üretimi için, katı balık atıklarının giderilmesinde filtrasyon kullanan sistemler kullanmayan sistemlere oranla daha başarılıdır.

Akuaponik sistemler için Sal Yöntemi (RAFT), NFT (Besleyici Film Tekniği) ve Medya destekli yatak sistemi olmak üzere geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılan başlıca üç tasarım mevcuttur (Nelson, 2008).

Sal Yöntemi (RAFT)

Bir sal sisteminde (şamandıra, derin kanal ve derin akış olarak da bilinir), bitkiler su üzerinde yüzen polistiren levhalar (sallar) üzerinde yetiştirilir. Çoğu zaman bu, akvaryumdan ayrı bir tanktır. Akvaryumlardan alınan su filtrelerden geçirilerek bitkilerin yetiştirildiği bölümden geçer ve daha sonra balık tankına geri akar.

Sal tankında ve sistem genelinde yararlı bakteriler yaşar. Balıklar da olası stres ve su kalitesi sorunlarını azaltmak için sal tankındaki fazla su hacmi bir tampon görevi görür. Bu, sal sisteminin en büyük faydalarından biridir. Ticari bir sistemde, sal tankları geniş alanları kaplayabilir ve bir seradaki taban alanını en iyi şekilde kullanabilir. Bitki fideleri sal tankının bir ucuna ekilir. Sallar zamanla su yüzeyinde ileri doğru itilir ve daha sonra salın diğer ucundaki olgun bitkiler hasat edilir. Bir sal hasat edildikten sonra, fidelerle yeniden dikilebilir ve karşı uca yerleştirilebilir.

Hızlı büyüyen düşük besinli bitkilerin (salatalar vb.) yetiştiriciliğinde bu yöntem tercih edilir ve ticari büyük ölçekli sistemlerde sıklıkla kullanılır. Ticari bir sera ortamında özellikle önemli olan zemin alanını optimize eder.

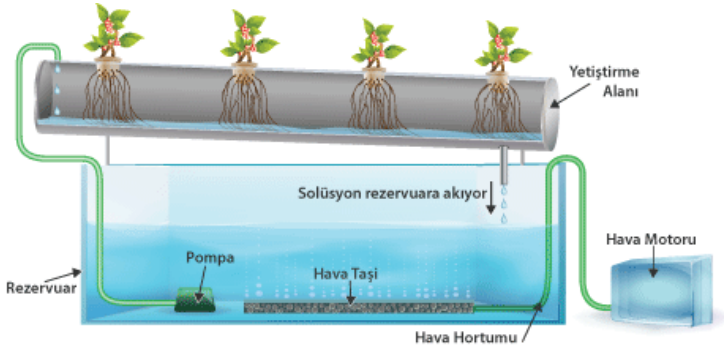


Şekil 4. RAFT (Sal) Sisteminde Strafor Kullanımı (Nelson, 2008).

Besleyici Film Tekniği (NFT)

NFT, PVC gibi uzun ve dar kanallarda bitki yetiştiriciliğinin yapıldığı bir yöntemdir. Bu sistemde boruda açılan deliklere bitkiler yerleştirilir ve kökler serbestçe durur. İnce bir su tabakası sürekli olarak her kanaldan akar ve bitki köklerine su, besin ve oksijen sağlar. Ancak faydalı bakterilerin yaşaması için çok fazla su veya yüzey olmadığından NFT sistemlerinde ek olarak biyofiltrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Raft sisteminde olduğu gibi, su devamlı akvaryumdan filtre sistemine oradan da bitkilerin büyüdüğü NFT kanallarından akar ve ardından tekrar akvaryuma geri döner. NFT ayrıca, dikey olarak tasarlanabileceği için boşta duran alanları kullanmanın harika bir yoludur.

Dikey Aquaponik sistemlerin en büyük avantajı, çok küçük bir alanda inanılmaz miktarda yiyecek yetiştirmenin mümkün olmasıdır. Hiçbir yöntem bunu dikey akuaponiklerden daha iyi yapamaz. Bu tarım biçimi, alanın her bir metrekaresinden en iyi şekilde yararlanır ve yapraklı yeşillikler, çilekler ve büyümek için desteğe ihtiyaç duymayan diğer ürünlerle çok iyi sonuç verir.



Şekil 5. NFT (Besleyici Film Tekniği) Sistemi (Hidroteksan 2015).

Medya Destekli Yatak Sistemler

Tank veya kaplara bitkinin köklerinin tutunabilmesi ve büyüebilmesi için toprak yerine çakıl, perlit veya benzeri bir medya ile doldurulur. Balık tankından periyodik olarak su ile doldurulan bu yataklardan su akışı sağlanır. Su daha sonra akvaryuma geri akar. Ortam, aynı sistemde hem biyolojik filtrasyon (amonyağın nitratlara dönüştürülmesi) hem de mekanik filtrasyon (katı atıkların uzaklaştırılması) sağlar. Katı partiküllerle birlikte tüm atıklar bitki yatağında parçalanır. Bazen atıkların parçalanmasını arttırmak için çakıllı bitki yatağına solucanlar eklenir. Bu sistem en az bileşeni kullanır ve ek filtreleme gerektirmedikinden çalışmayı kolaylaştırmasına rağmen üretim bakımından diğer iki yöntemle oranda daha azdır. Medya tabanlı sistemler, çok çeşitli bitkiler yetiştirilebildiği hobi ölçekli sistemlerdir. Özellikle büyük meyveli bitkiler, yapraklı yeşillikler, otlar ve diğer çeşitlere ek olarak gerçekten iyi sonuç verir.



Şekil 6. Medya destekli yatak sistemler (Somerville ve ark., 2014)

Akuaponik Sistemlerde Kullanılan Balık Türleri

Akuaponik sistemler için en iyi balık, sistemin boyutuna, sistemin konumuna ve sıcaklığına ve sistemin ne tür mahsul üreteceğine bağlıdır. Tilapia, yayın balığı, koi, süslü japon balığı, pacu, melek balığı, lepestes, tetra, kılıç balığı, molly gibi çeşitli süs balıkları, levrek, morina, somon, alabalık ve güneş balığı en iyi seçenekler arasındadır.

Akuaponik Sistemlerde Kullanılan Bitki Türleri

Marul, lahana, pazı, mikro yeşillikler, turp, havuçlar, pancar, fesleğen, nane, frenk soğanı gibi otlar, su teresi, brokoli, karnabahar, lahana en yaygın ev bitkileri, yenilebilir çiçekler: nasturtium, viyola, orkide, ayçiçeği, kozmos ve dahlias gibi süs çiçekleri akuaponik sistemlerde kullanılmaktadır.

Daha yüksek besin talepleri olan ve yalnızca yoğun stoklanmış, iyi kurulmuş bir akuaponik sistemde başarılı olabilecek bitkiler olan domates, biberler, salatalıklar, fasulyeler, bezelye, kavun, bamya, şeker ve mısır da akuaponik sistemlerde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- Adler, P.R., Summerfelt, S.T., Glenn, D.M., Takeda, F., 2003. Mechanistic approach to phytoremediation of water. *Ecol. Eng.* 20, 251–264.
- Al-Hafedh, Y.S., Alam, A., Salaheldin Beltagi, M., 2008. Food production and water conservation in a recirculating aquaponic system in Saudi Arabia at different concentrations of fish feed to plants. *J. World Aquacult. Soc.* 39, 510–520.
- Cho, C. Y. (1991). Quantitation of fish culture wastes by biological (nutritional) and chemical (limnological) methods; the development of high nutrient dense (HND) diets. In *Nutritional Strategies and Aquaculture Waste. Proceedings of the 1st International Symposium on Nutritional Strategies in Manage* (pp. 37-50). Fish Nutrition Research Laboratory, Department of Nutritional Sciences, College of Biological Science, University of Guelph.
- Delaide, B., Goddek, S., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K.V., Jijakli, H., Thorarinsdottir, R., (2015). Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustain* 7, 4199–4224. <http://dx.doi.org/10.3390/su7044199>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2006. The State of World Aquaculture. FAO Fisheries Department, Rome. p. 145.
- Fornshell, G., Hinshaw, J.M., 2008. Better management practices for flow-through aquaculture systems. In: Tucker, C., Hargreaves, J. (Eds.), *Environmental Best Management Practices for Aquaculture*. Blackwell Publishing Company, Oxford.
- Gujer, W., 1999. (Ed.), *Siedlungswasserwirtschaft*, Springer, Berlin, 1999.
- Hidroteksan Tarım Ürünleri San. ve Dış Tic. Ltd. Şti. İnce Besin Tabakası Sistemi – NFT., 2015. Alındığı Tarih: 05 Ekim 2022. Alındığı Yer: <https://toprakvesu.com/kb/ince-besin-tabakasi-sistemi-nft/>
- Nelson, R. (2008) *Aquaponic Food Production: Raising Fish and Plants for Food and Profit*, Published by Nelson and Pade, Inc., USA.
- Lekang, O., 2007. *Aquaculture Engineering*. Blackwell Publishing, Oxford, 2007.
- Lennard, W.A., Leonard, B.V., 2006. A comparison of three different hydroponic subsystems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an aquaponic test. *Syst. Aquac. Int.* 14, 539–550. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-006-9053-2>
- Love, D.C., Fry, J.P., Genello, L., Hill, E.S., Frederick, J.A., Li, X., Semmens, K., 2014. An international survey of aquaponics practitioners. *PLoS One* 9, e102662. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0102662>.
- Pagand, P., Blancheton, J.P., Casellas, C., 2000. A model for predicting the quantities of dissolved inorganic nitrogen released in effluents from a sea bass (*Dicentrarchus labrax*) recirculating water system. *Aquacult. Eng.* 22, 137–153.

- Papatryphon, E., Petit, J., van der Werf, H.M., Sadasivam, K.J., Claver, K., 2005. Nutrient-balance modeling as a tool for environmental management in aqua-culture: the case of trout farming in France. *Environ. Manag.* 35, 161–174.
- Pulvenis, J.-F., 2016. Fisheries and Aquaculture Topics. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Topics Fact Sheets. Fisheries and Aquaculture Department, Rome.
- Purdue University, Envision. The Big Idea: Hydroponics & Aquaponics. (29 Mayıs 2019). Alındığı Tarih: 05 Ekim 2022. Alındığı Yer: <https://ag.purdue.edu/envision/the-big-idea-hydroponics-aquaponics/>
- Rakocy, J.E., Losordo, T.M., Masser, M.P. (1992). Recirculating aquaculture tank production systems: integrating fish and plant culture. SRAC Publication No. 454, Southern Regional Aquaculture Center, Mississippi State University, Stoneville, Mississippi, USA.
- Rakocy, J.E., Hargreaves, J.A., (1993). Integration of vegetable hydroponics with fish culture: a review. In: *Techniques for Modern Aquaculture, Proceedings Aquacultural Engineering Conference*. St. Joseph, MI, USA. American Society of Agricultural Engineers. pp. 112–136.
- Rakocy, J.E., Bailey, D.S., Shultz, C., Thoman, E.S. (2004) Update on tilapia and vegetable production in the UVI aquaponic system. *Proceedings from the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Volume 2: 676–690.
- Rakocy, J., Masser, M., Losordo, T. (2006). Recirculating aquaculture tank production systems: aquaponics- integrating fish and plant culture. SRAC Publication No. 454.
- Rakocy, J.E., 2012. *Aquaponics-Integrating Fish and Plant Culture*. Wiley-Blackwellpp. 344–386. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118250105.ch14>.
- Resh, H.M., 2012. *Hydroponic Food Production: A Definitive Guidebook for the Advanced Home Gardener and the Commercial Hydroponic Grower*. CRC Press Boca Raton, FL, Boca Raton, FL.
- R., Carpenter, S.R., De Vries, W., De Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B., Sörlin, S., 2015. Planetary boundaries: guiding human development on a changing planet. *Science* (80-) 347. [http:// dx.doi.org/10.1126/science.1259855](http://dx.doi.org/10.1126/science.1259855).
- Seawright, D.E., Walker, R.B., Stickney, R.R., 1998. Nutrient dynamics in integrated aquaculture-hydroponics systems. *Aquaculture* 160, 215–237.
- Schneider, O., Sereti, V., Eding, E.H., Verreth, J.A.J., 2005. Analysis of nutrient flows in integrated intensive aquaculture systems. *Aquacult. Eng.* 32, 379–401.

- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A. & Lovatelli, A. 2014. Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 589. Rome, FAO. 262 pp.
- Sonneveld, C., Voogt, W., 2009. Plant Nutrition of Greenhouse Crops. Springer, Springer Netherlands. <http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-2532-6>.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs,
- Tyson, R.V., Treadwell, D.D., Simonne, E.H., 2011. Opportunities and challenges to sustainability in aquaponic systems. *Hortechology* 21, 6–13.
- Thorarinsdottir, R., 2005. Aquaponics Guidelines. Printed by Haskolaprent, Reykjavik, Iceland
- Wilson, G., 2005. Australian barramundi farm goes aquaponic, *Aquaponics Journal*, 37, 12–6.
- Wongkiew, S., Hu, Z., Chandran, K., Lee, J.W., Khanal, S.K., 2017. Nitrogen transformations in aquaponic systems: a review. *Aquac. Eng.* 76, 9–19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.01.004>.



www.seruvenyayinevi.com



/seruvenyayinevi



/seruvenyayinevi



/seruvenyayinevi



9

786057

285201