

Yüksek Oranda Nişasta Diyetinin Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın Büyüme Performansı, Bazı Kan Parametreleri ve Bağırsak Bakterileri Üzerine Etkileri

Sevdan YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Çanakkale.

Sorumlu Yazar: sevdanyilmaz@comu.edu.tr

Araştırma Makalesi

Geliş 16 Nisan 2018; Kabul 19 Temmuz 2018; Basım 01 Mart 2019.

Alıntılama: Yılmaz, S. (2019). Yüksek oranda nişasta diyetinin gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın büyüme performansı, bazı kan parametreleri ve bağırsak bakterileri üzerine etkileri. *Acta Aquatica Turcica*, 15(1), 1-9.

Özet

Bu çalışma gökkuşuğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss* yemlerine yüksek oranda patates nişastası (% 27) ilavesinin balıkların büyüme performansı, kan parametreleri ve bağırsak bakterileri üzerine etkisini belirlemek için yapılmıştır. 140 L tanklarda üç tekrarlı yürütülen besleme denemesinde 180 adet balık (ortalama \pm standart sapma= 17,03 \pm 2,68) kullanılmıştır. Hematolojik değişkenlerden kırmızı kan hücresi sayısı, hematokrit oranı, hemoglobin konsantrasyonu; immünolojik değişkenlerden respiratori büst aktivitesi; biyokimyasal değişkenlerden toplam protein, albümin, globülin, trigliserit, kolesterol ve glutamik-piruvik transaminaz deneme grupları arasında önemli bir değişim göstermemiştir. Ancak, % 27'lik patates nişastası ilavesi, büyüme performansını (SBO, YDO ve ağırlık artışı), bazı immünolojik parametreleri (lizozim ve miyeloperoksidaz aktiviteleri) ve bazı serum biyokimyasal değişkenleri (glukoz, laktat dehidrojenaz, glutamik oksaloasetik transaminaz, alkanin fosfataz) olumsuz yönde etkilemiştir. Ek olarak, toplam bakteri ve laktik asit bakterilerinin sayısı % 27'lik patates nişastası ilaveli grupta kontrol grubuna göre önemli derecede fazla bulunmuştur ($p<0,05$). Genel olarak, bu çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak, yeme yüksek miktarda patates nişastası (% 27) ilavesinin gökkuşuğu alabalığı üzerinde istenmeyen etkilere neden olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Oncorhynchus mykiss*, nişasta, hematoloji, immünoloji, serum biyokimyası

Effects of High Level Dietary Starch on Growth Performance, Some Blood Parameters and Intestinal Bacteria of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abstract

This study was carried out to determine the effects of the inclusion of high level of potato starch (27%) on growth performance, blood parameters and intestinal bacteria of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. A 60-day feeding trial was carried out on triplicate groups of 180 fish (mean \pm standart deviation =17.03 \pm 2.68) in 140-L fibreglass tanks. There were no significant differences in haematological variables such as red blood cell count, hematocrit ratio, hemoglobin concentration; in immunological variable such as respiratory burst activity, and in serum biochemical variables such as total protein, albumin, globulin, triglyceride, cholesterol, and glutamic-pyruvic transaminase of fish fed experimental diets. However, 27% potato starch supplementation negatively affected growth performance (FCR, SGR and weight gain), some immunological parameters (lysozyme and myeloperoxidase activities), and some serum biochemical variables (glucose, lactate dehydrogenase, glutamic oxaloacetic transaminase, alkaline phosphatase). In addition, the total counts of bacteria and lactic acid bacteria in the 27% potato starch supplementation group was found to be significantly higher than the control group ($p<0,05$). The results of the study revealed that the supplementation of high level of potato starch (27%) in aquafeed has been found to cause undesirable effects on rainbow trout.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, starch, haematology, immunology, serum biochemistry

GİRİŞ

Balıkların memelilerle karşılaştırıldığında, karbonhidratı değerlendirmelerinin sınırlı olduğu düşünülmektedir (Legate vd., 2001). Bununla birlikte karbonhidrat kullanımının balık türleri arasında da farklılık gösterdiği bilinmektedir. Örneğin, etçil soğuksu balıklarının, hem etçil hem otçul ılık su balıklarına göre daha az karbonhidrat kullandığı rapor edilmiştir (García-Gallego vd., 1995; Wilson, 1994). Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için yemdeki optimum sindirilebilir karbonhidrat oranının % 20-25'den daha az olduğu bildirilmiştir (Wilson, 1994). Ancak, yeme ilave edilen yağ oranı

azaltılıp karbonhidrat oranı arttırıldığında, alabalık yemlerinde kullanılabilir karbonhidrat oranının artabileceği görülmüştür (Yamamoto vd., 2001; Yamamoto vd., 2000).

Literatürde %9-36 oranında patates nişastası alabalık diyetlerine ilave edilmiş ve %27 oranına kadar nişastanın alabalıkların büyüme performansına amino asit ilavesi olmadan herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Yamamoto vd., 2001). Ancak, yüksek nişasta içerikli yemlerin gökkuşuğu alabalıklarının sağlık karakteristikleri üzerine etkisiyle ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmadaki amaç literatürde daha önce bildirilen yüksek oranda nişastalı (%27) yemin alabalıkların büyüme performansı, kan parametreleri ve bağırsak bakterileri üzerine etkilerinin belirlenmesidir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Deneme Yeri ve Deney Sistemi

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi Canlı Kaynaklar Ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Deneme kapalı devre sisteminde yürütülmüştür. Bu sistemde çökeltme havuzu, kaba filtrasyon, kum filtre, biyolojik filtre ve ısıtma-soğutma ünitesinden (Tuna Mac®, Çanakkale) oluşmaktadır. Deneme 140 L hacmindeki fiberglas tanklarda yapılmıştır. Denemede günlük olarak %10-15 oranlarında su değişimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca otomatik zamanlayıcılar yardımıyla 12 saat aydınlık; 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Araştırmada balık materyali olarak 17,03±2,71 (ortalama ± standart sapma) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Balıklar üniversite yakınındaki Keskin Alabalık (Evciler Köyü/Bayramiç) firmasından temin edilmiştir. Deneme için balıklar iki hafta süre ile deneme koşullarına adapte edilmişlerdir. Deneme 3 tekrarlı yürütülmüş ve her bir tankta 30 balık olmak üzere toplamda 180 adet balık (2 grup X 3 tank X 30 balık) kullanılmıştır.

Deneme Yemleri

Deneme yemlerinden kontrol yemi ticari alabalık yemlerine benzer oranda protein (%48) ve yağ (%17) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Nişasta içerikli yemin nişasta oranı için ise literatürden yararlanılmıştır (Yamamoto vd., 2001). Tablo 1' de yer alan hammaddeler ve katkı maddeleri homojen oluncaya kadar laboratuvar tipi yem karıştırıcısında karıştırılmıştır. Su ilavesi ile karıştırma işlemine devam edilmiş ve uygun kıvama gelen karışım yem makinesindeki (La Monferrina - P3) 2 mm boyutundaki aynadan geçirilerek yemler hazırlanmıştır. Pelet yemler hava sirkülasyonlu 40°C lik kurutma kabiniinde nemleri %10 oluncaya kadar kurutulmuştur.

Tablo 1. Denemede kullanılmış olan yem rasyonu (% kuru madde)

	Kontrol	Nişasta
Balık Unu	55	58
Soya Unu	15	-
Buğday Unu	10,999	5,999
Patates Nişastası ^a	5	27*
Balık yağı	12	7
Vitamin	1	1
Mineral	1	1
BHT	0,001	0,001
Protein (%)	48,47	42,12
Yağ (%)	17,36	12,55
Kül (%)	6,42	5,72
NFE (%)	17,38	28,48
Enerji (GE) ^b	21,25	19,74
Arjinin ^c	2,36	1,97
Histidin	0,91	0,77
İzolösin	2,47	2,20
Lösin	3,19	2,86
Lizin	2,96	2,68
Metiyonin+sistin	1,77	1,58
Fenilalanin	2,91	2,66
Treonin	1,95	1,73

Triptofan	0,54	0,47
Valin	1,64	1,34

^aBaşak patates nişastası (Başak Tüketim ve Gıda A.Ş. 42550-Akşehir-TÜRKİYE); Protein %0, yağ %0,3, Sodyum 55mg/100g, Potasyum 1 g/100g, Karbonhidrat 83 g/100g.

^bAlabalıkların gelişimi için bildirilen optimum % amino asit oranları (Cowey, 1994): Arjinin 1,45, Histidin 0,65,

İzolösin 0,85, Lösin 1,35, Lizin 1,75, Metiyonin+Sistin 0,95, Fenilalanin 1,75, Treonin 0,75, Triptofan 0,2, Valin 1,15.

^cEnerji 23,6 kJ/g protein, 39,5 kJ/g yağ, ve 17,0 kJ/g NFE¹ e göre belirlenmiştir.* Kaynak: (Yamamoto vd., 2001)

Balıklardan Kan Örneklerinin Alınması

Balıklar 60 gün süreyle deneme yemleriyle beslendikten sonra örnekleme için 1 gün aç bırakılmışlardır. Deneme sonunda her tanktan 3 adet olmak üzere toplamda 9 balık/grup olacak şekilde balıklardan kan alınmıştır. Balıklar deneme tanklarından rastgele hızlıca yakalandıktan sonra, en kısa sürede karanfil yağı (20 mg/L) bulunan kova içerisinde bayıltılmıştır (Iversen vd., 2003). Bayılma işleminden sonra balıkların anal yüzgecinin hemen arkası alkolle temizlenmiş (kana mukoza karışmasını önlemek amacıyla) ve sonra 2,5 mL lik plastik enjektör yardımıyla kaudal venadan yaklaşık olarak 900 µL kan alınmıştır. Alınan kan örnekleri K₃EDTA ve jelli serum tüpleri içerisinde yeteri kadar alınarak hematolojik ve bazı immunolojik analizleri yapılmıştır. Serum analizleri için ise, jelli tüplere alınan kan 5000 g devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum – 80 °C de analiz edilinceye kadar saklanmıştır.

Fiziksel ve Kimyasal Su Kalitesi Analizleri

Denemede sıcaklık, oksijen, tuzluluk ve iletkenlik ölçümleri için YSI Pro2030 su analiz cihazı kullanılmıştır. Suyun pH ölçümleri ise HANNA (HI 2221) masa üstü pH metre ile yapılmıştır. Toplam Amonyak, Nitrit ve Nitrat Optizen POP UV/VIS spektrofotometre ile ölçülmüştür.

Büyüme Performansı, Yemden Yararlanmanın Hesaplanması

Denemede büyüme performansı ve yemden yararlanmanın hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır (Yılmaz ve Ergün, 2013):

Yüzde Canlı Ağırlık Artışı CAA (%) = (Son Ağırlık g - Başlangıç ağırlığı g) / Başlangıç Ağırlığı x 100

Spesifik Büyüme Oranı: SBO (%Gün⁻¹) = [Ln (Son ortalama ağırlık g) - Ln (Başlangıçtaki ortalama Ağırlık g)] / Deneme gün sayısı x 100

Yem Dönüşüm Oranı: YDO = Yem Tüketimi (g) / Ağırlık Kazanımı (g)

Ağırlık Kazanımı: Son Ağırlık (g) - Başlangıç ağırlığı (g)

Hematolojik Analizler

Hematolojik analizlerden kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hematokrit ve hemoglobin analizleri otomatik kan sayım cihazı (Mindray/BC 3000 Plus) ile yapılmıştır. Bu cihazın alabalıklar için kalibrasyonu daha önce laboratuvarlarımızda manuel yöntemler kullanılarak yapılmıştır.

İmmunolojik Analizler

Respiratöri Burst Aktivitesi

Fagositlerin respiratöri burst aktivitesi (Stasiak ve Baumann, 1996) bildirdiği metot ile tespit edilmiştir. Analizde her bir balık için 50 µL kan örneği poli-l-lizin kaplı 96 plaka içerisine yerleştirilmiştir. Devamında örnekler 1 saat inkübasyona bırakılmış ve üst faz atılıp örnekler HBSS ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir kuyucuğa 100 µL % 0,2 NBT solüsyonu ilave edilmiş ve plaka 1 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. Devamında hücreler %100 metanol ile 5 dakika fikse edilmiş ve 3 kez % 70 lik metanol ile yıkanmışlardır. Plakalar kuruduktan sonra her bir kuyucuğa 60 µL 2 M potasyum hidroksit ve 70 µL DMSO ilave edilmiş ve okumalar multiskan spektrofotometrede (Thermo Multiskan Go) 620 nm de yapılmıştır.

Lizozim Aktivitesi

Lizozim aktivitesinin tespit edilmesi için (Nudo ve Catap, 2011) bildirdikleri metot kullanılmıştır. Kısaca 25 µL serum örneği 175 µL *Micrococcus luteus* (4698 Sigma) süspansiyonuna (pH 5,8) eklenmiştir ve 96 plakada örnekler 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Okumalar

450 nm de multiskan mikropilaka okuyucuda yapılmış ve standart kullanılarak (6876 Sigma, Lysozyme from chicken egg white) $\mu\text{g/mL}$ olarak standart eğriden hesaplanmıştır.

Myeloperoksidaz Aktivitesi

Myeloperoksidaz aktivitesi literatürde bildirilen metot kullanılarak analiz edilmiştir (Kumari vd., 2003). Analiz için 10 μL serum örneği 90 μL HBSS solüsyonu ile seyreltilmiştir. Devamında bu karışıma 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride ve hidrojen peroksit içeren solüsyon ilave edilmiş ve reaksiyon 2 dakika sonra 35 μL sülfirik asitle durdurulmuştur. Okumalar 450 nm' de multiskan mikropilaka okuyucuda yapılmıştır. Sonuçlar 450 nm olarak verilmiştir.

Biyokimyasal Analizler

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

Toplam Bakteri ve Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Çalışma sonunda nişastanın balıkların bağırsaklarındaki toplam bakteri ve laktik asit bakterilerinin sayımı seyreltme plak yöntemiyle yapılmıştır. Yaklaşık 1 gram bağırsak örneği için her tanktan 2 balığın ön bağırsağı birleştirilmiştir.

Toplam bakteri sayının tespiti, Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde, 22 °C de yapılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin sayımı, de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agarda, 36 °C de gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 19 (IBMM SPSS Statistics 19) programı kullanılarak $p < 0,05$ önemlilik seviyesinde değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin analizi, Student'ın t testi veya Mann Whitney U testi ile yapılmıştır (Logan, 2010).

BULGULAR

Fiziksel ve Kimyasal Su Kalitesi Bulguları

Deneme süresince, su sıcaklığı 16,2-17,1 °C, oksijen 7,5-8,2 mg/l, iletkenlik 435-460 $\mu\text{s cm}^{-1}$, pH 7,3-8,1, toplam amonyak 0,012-0,015 mg/l, Nitrit 0,04-0,05 mg/l ve Nitrat 0,5-0,6 mg/l aralıklarında tespit edilmiştir.

Büyüme Performansı Bulguları

Deneme sonunda balıkların büyüme performans bulguları Tablo 2'de verilmiştir. Kontrol grubunda gelişim parametreleri istatistiksel olarak nişasta içeren yemle beslenen balıklara göre daha iyi sonuçlar vermiştir ($p < 0,05$).

Tablo 2. Deneme sonunda gruplara göre elde edilen büyüme performansı ve yem değerlendirme bulguları

	Deneme Grupları	
	Kontrol	Nişasta
Deneme başı ortalama balık ağırlığı (g)	17,03±0,47 ^a	17,03±0,55 ^a
Deneme sonu ortalama balık ağırlığı (g)	38,27±0,45 ^a	32,17±0,17 ^b
Yüzde canlı ağırlık artışı (%)	124,86±3,80 ^a	89,27±6,63 ^b
YDO	1,08±0,01 ^b	1,47±0,06 ^a
SBO (% gün ⁻¹)	1,35±0,03 ^a	1,06±0,06 ^b

n=3, Ortalama \pm standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır. YDO: Yem dönüşüm oranı, SBO: Spesifik büyüme oranı.

Hematolojik Bulgular

Deneme sonunda balıkların RBC, Hb ve HCT bulguları Tablo 3’de verilmiştir. Kontrol ve nişasta gruplarının kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hemogloblin (Hb) değeri ve hematokrit (HCT) oranı istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur ($p > 0,05$).

Tablo 3. Deneme sonunda balıkların RBC, Hb ve HCT bulguları

	Deneme Grupları	
	Kontrol	Nişasta
RBC (10^6 mm^3)	1,35±0,06 ^a	1,43±0,06 ^a
Hb (g/dL)	8,23±0,30 ^a	8,51±0,35 ^a
HCT (%)	29,29±1,10 ^a	29,78±1,25 ^a

n=9, Ortalama ±standart hata. RBC: kırmızı kan hücre sayısı, Hb: hemogloblin, HCT: Hematokrit. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır.

İmmunolojik Bulgular

Deneme sonunda balıkların immünolojik parametre bulguları Tablo 4’de verilmiştir. Kontrol ve nişasta gruplarının respiratöri burst aktivitesi benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). Ancak, nişasta grubunun lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli oranda düşük göstermiştir ($p < 0,05$).

Tablo 4. Deneme sonunda balıkların bağışıklık parametre bulguları

	Deneme Grupları	
	Kontrol	Nişasta
RBA	0,10±0,01 ^a	0,09±0,01 ^a
Lizozim Aktivitesi ($\mu\text{g/mL}$)	20,0±71,10 ^a	9,55±1,23 ^b
MPO Aktivitesi (450 nm)	0,50±0,05 ^a	0,30±0,04 ^b

n=9, Ortalama ±standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır. RBA: Respiratöri Burst Aktivitesi, MPO:Myeloperoksidaz

Serum Biyokimyası Bulguları

Deneme sonunda balıkların serum biyokimyası bulguları Tablo 5’de verilmiştir. Kontrol ve nişasta gruplarının RBA aktiviteleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ancak, lizozim ve MPO aktivitelerinin nişasta grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Deneme gruplarının serum toplam protein, albümin, globülin, trigliserit, kolesterol ve glutamik pirüvik transaminaz (GPT) değerlerinin istatistiksel açıdan benzer olduğu belirlenmiştir ($p > 0,05$). Ancak, yüksek oranda nişasta içerikli yemle beslenen balıkların serum glikoz, glutamik oksaloasetik transaminaz (GOT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve alkalen fosfataz (ALP) değerleri kontrol yemi ile beslenen balıklara oranla önemli derecede artış göstermiştir ($p < 0,05$).

Tablo 5. Deneme sonunda balıkların serum biyokimyası bulguları

	Deneme Grupları	
	Kontrol	Nişasta
GLU (mg/dL)	56,54±2,37 ^b	82,39±2,27 ^a
Tprot (g/dL)	3,01±0,20 ^a	3,33±0,12 ^a
ALB (g/dL)	0,67±0,07 ^a	0,65±0,04 ^a
GLO (g/dL)	2,34±0,19 ^a	2,68±0,09 ^a
TRIG (mg/dL)	54,74±7,72 ^a	45,15±3,54 ^a
KOL (mg/dL)	120,29±10,72 ^a	131,70±7,12 ^a
GOT (U/L)	20,24±5,51 ^b	61,78±7,66 ^a
GPT (U/L)	6,20±1,45 ^a	7,92±1,83 ^a
LDH (U/L)	552,06±38,05 ^b	688,77±34,65 ^a
ALP (U/L)	58,69±10,79 ^b	139,77±11,72 ^a

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

Bağırsak Mikrobiyotası Bulguları

Deneme sonunda balıkların bağırsaklardaki toplam bakteri ve laktik asit bakterileri sayıları Tablo 6'de verilmiştir. Kontrol ve nişasta gruplarının toplam bakteri sayısı istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). Ancak, yüksek oranda nişasta içerikli yemlerle beslenen balıkların bağırsaklarında laktik asit bakterilerinin miktarı kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir ($p < 0,05$).

Tablo 6. Deneme sonunda gruplara göre bağırsaklarda üreyebilen bakteri gruplarının toplam sayım bulguları ($\log \text{CFU g}^{-1}$)

	Deneme Grupları	
	Kontrol	Nişasta
Toplam bakteri sayısı	5,37±0,88 ^a	6,03±0,33 ^a
Laktik asit bakterileri	1,93±0,35 ^b	3,56±0,01 ^a

n=6, Ortalama ± standart hata. Aynı satırda farklı üstel harfler içeren gruplar istatistiksel açıdan diğer gruplardan farklıdır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma gökkuşağı alabalığı yemlerine yüksek oranda (%27) nişasta ilavesinin balıkların büyüme performansı, kan parametreleri ve bağırsaklarda bakteri grupları üzerine etkilerinin belirlenmesini amaçlamıştır. Büyüme performansı ile ilgili elde edilen bulgulara baktığımızda yüksek oranda nişasta ilavesinin gökkuşağı alabalıklarının büyüme performansını olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Literatürde gökkuşağı alabalıklarının beslendiği yüksek oranda (%27) nişasta içerikli yemin protein oranı %42,6 iken kontrol grubunun %41 olarak değerlendirilmiştir (Yamamoto vd., 2001). Bu çalışmada ise kontrol yeminin protein oranı gerçeği yansıtmaması açısından ticari yemlerinkine benzer bir şekilde %48 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada optimum protein içeriğine sahip kontrol grubu balıkları ile yüksek oranda nişasta içeriğine sahip nişasta grubu balıklarının büyüme performansının literatürün aksine (Yamamoto vd., 2001) farklı olduğu belirlenmiştir. Bu güne kadar etçil balık yemlerinde kullanılan karbonhidrat kaynaklarının ikame oranı büyüme performansı temel alınarak belirlenmeye çalışılmıştır. Ancak, günümüzde balık yemlerinde kullanılan bu alternatif kaynakların balık sağlığına olan etkilerinin araştırılması önemli hale gelmiştir. Bu amaçla hematolojik, immünolojik ve serum biyokimyasal kan parametrelerinin kullanımı yaygındır. Hematolojik parametrelerden kırmızı kan hücre sayısı (RBC), hematokrit (HCT), hemoglobin (Hb) ve eritrosit indeksleri balıkların stres veya hastalık durumlarının tespitinde kullanılan önemli parametrelerdendir (Campbell, 2004). Bu çalışmada alabalık yemlerine yüksek oranda nişasta ilavesinin hematolojik parametrelerde herhangi bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Gökkuşağı alabalıkları için hematolojik referans değerleri RBC için: $0,74-4,45 \times 10^6 \text{ mm}^{-3}$, Hb için: 6,2-11,5 g/dL ve HCT için: %22,2-45 (Bowser, 1993; Fazio vd., 2016; Field vd., 1943; Hassan vd., 2010) aralığında bildirilmiştir. Gökkuşağı alabalıklarında elde ettiğimiz hematolojik bulguların literatürle benzer olduğu görülmektedir. Balık unu yerine %40-%100 oranlarında buğday gluteni, mısır gluteni ve soya unu içeren yemler ile beslenen alabalıkların HCT oranları ve Hb değerleri benzer bulunmuştur (Jalili vd., 2013). Ancak, çalışmamızdan farklı olarak gökkuşağı alabalığı yemlerine %35,8 ve %45 patates nişastası ilave edildiğinde HCT oranının önemli oranda arttığı bildirilmiştir (Page vd., 1999). Öte yandan, yüksek oranda bitkisel (%50) içerikli yemler ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının HCT oranı ve Hb değeri önemli oranda azalmıştır (Moniruzzaman vd., 2018). Çalışmalar arasındaki farklılıkların kullanılan bitkisel kaynağın veya kullanım miktarının farklılığından kaynaklandığı düşüncesindeyiz.

Bu çalışmada yüksek oranda nişastanın balıkların bağışıklık durumu üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, yaygın kullanımı olan immünolojik parametrelerden respiratöri burst, lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri kullanılmıştır (Yılmaz vd., 2016). Respiratöri burst aktivitesi gruplar arasında benzerlik gösterirken, yüksek oranda nişasta ile beslenen balıkların lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri önemli oranda azalmıştır. Benzer olarak yüksek oranda bitkisel kaynaklı (%50) yem ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının lizozim ve myeloperoksidaz aktiviteleri önemli oranda azalmıştır (Moniruzzaman vd., 2018). Yine bitkisel içerikli yemler levrek balıklarının serum lizozim aktivitelerini önemli oranda azaltmıştır (Geay vd., 2011). Ancak bitkisel kaynaklı yem ile beslenen *Paralichthys olivaceus* balıklarının lizozim aktiviteleri değişmemiştir (Seong vd., 2018). Farklı olarak bazı bitkisel kaynaklı yemler gökkuşağı alabalıklarının lizozim aktivitelerini arttırmıştır

(Bruce vd., 2017; Jalili vd., 2013). Bilindiği gibi serum glikoz spesifik olmayan bir stres indikatörü olarak balık çalışmalarında kullanılmaktadır (Heath, 1995). Özellikle balıkların ellenmesinde, hastalıklarda, oksijen azlığında, taşınmasında ve yoğun stoklamada artış göstermektedir (Mc Donald ve Milligan, 1992). Artan glikoz miktarı kaslarda; kortizol ve karaciğerde; adrenalin ve stres hormonlarını tetiklemektedir (Morgan ve Iwama, 2011). Bu çalışmada yüksek oranda nişasta ilavesi ile artış gösteren serum glikoz seviyelerinin direkt olarak stres ile ilişkilendirmek çok doğru olmayacaktır. Çünkü stres etkisi dışında glikoz yemin kompozisyonuna göre de değişebilmektedir. Çalışmamızla benzer olarak %35,8 ve %45 oranlarında patates nişastası ile beslenen alabalıkların serum glikoz seviyeleri önemli oranda artmıştır (Page vd., 1999).

Serum biyokimyası parametreleri genel balık sağlığı durumunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Yılmaz ve Ergün, 2012; Yılmaz vd., 2016). Balıklarda artış gösteren total protein, albümin and globülin oranları da güçlü bir innate immune cevabın göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Wiegertjes vd., 1996). Trigliseritler yağ depolarında ve besinlerdeki en çok bulunan yağ kaynağı olup, enerjinin taşınmasında ve depolanmasında, kolesterol ise tüm hücre membranları için esansiyel olup, steroid hormonları ve safra asit biyosentezlerinde görevlidir (Gaw vd., 1999; Mayes ve Botham, 2003a; Mayes ve Botham, 2003b). Bu çalışmada yeme yüksek oranda nişasta ilavesi serum proteinleri ve yağları üzerinde önemli bir değişime neden olmamıştır. Benzer sonuçlar bitkisel kaynaklı yemler ile beslenen gökkuşağı alabalıkları (Moniruzzaman vd., 2018) ve *Paralichthys olivaceus* (Seong vd., 2018) balıklarında da elde edilmiştir.

Balıklarda GOT, GPT, LDH ve ALP karaciğer enzimleri olup karaciğer ile ilgili sorunların teşhisinde değerlendirilmektedir (Campbell, 2004; Hart vd., 2010). Bu çalışmada yüksek oranda nişasta içerikli yemler ile beslenen gökkuşağı alabalıklarının serum GPT değerlerinde değişim olmazken, GOT, LDH ve ALP değerleri öneli oranda artış göstermiştir. Benzer olarak yemde bitkisel içerikli hammadde ilavesi artıktıca mercan balıklarının serum GOT değerlerinde de artış görülmüştür (Linn vd., 2014). GPT değerleri bitkisel kaynaklı yemler ile beslenen balıklarda etkilenmezken, çalışmamızdan farklı olarak GOT değerleri de değişmemiştir (Choi vd., 2004; Kumar vd., 2011; Moniruzzaman vd., 2018; Seong vd., 2018).

Doğal bağırsak mikroflorası balık sağlığında önemli bir role sahiptir (Gómez ve Balcázar 2007; Nayak, 2010). Balık yemine ilave edilecek bir katkının doğal floradaki yararlı bakteriler üzerinde öldürücü veya üremesini engelleyici bir etki göstermesi istenen bir durum olmayacaktır. Bu çalışmada yeme yüksek oranda nişasta ilavesi, gökkuşağı alabalıklarının bağırsaklarında laktik asit bakterilerinin miktarlarında önemli oranda artış sağladığı görülmüştür. Daha önce benzer sonuçlar bitkisel kaynaklı yem ile beslenen gökkuşağı alabalıklarında bildirilmiştir (Wong vd., 2013). Bilindiği gibi laktik asit bakterileri probiyotik özelliğe sahiptir. Balık gelişimini ve sağlığını olumlu yönde etkiledikleri daha önce birçok çalışmada bildirilmiştir (Balcázar vd., 2006; Irianto ve Austin 2002; Nayak, 2010). Ancak çalışmamızda bağırsaklarda artış gösteren laktik asit bakteri miktarı ile balık gelişimi ve bağışıklık parametrelerinde artış gibi bir sonuç elde edilmemiştir. Bu çalışmada yüksek oranda nişasta ilavesi ile bağırsaklarda artış gösteren laktik asit bakteri miktarının yaklaşık $10^3/g$ bağırsak seviyelerinde olduğu görülmektedir. Ancak, probiyotik bakterilerin yararlı etkilerinin genellikle $10^6-10^9/g$ bağırsak dozunda olduğu bilinmektedir (Balcázar vd., 2006; Irianto ve Austin 2002; Nayak, 2010).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda gökkuşağı alabalıklarının yüksek oranda nişastalı yemler ile beslenmesi literatürde bildirilenin (Mosberian-Tanha vd., 2018; Yamamoto vd., 2001) aksine balık gelişimini veya sağlığını olumsuz etkilemiştir. Bu durum literatürde bitkisel kaynaklı yemlerin protein oranlarının ticari yemlerdekinden farklı olarak daha düşük (%40-42) tutulmasıyla ilişkilidir. Böylece alternatif protein veya enerji için kullanılan karbonhidrat kaynaklarının balık gelişimi ve sağlığı üzerindeki etkisi tam olarak değerlendirilememektedir. Ancak çalışmamızla benzer şekilde %43 ve üzeri protein içerikli yemlerle beslenen gökkuşağı alabalıklarında, yüksek oranda bitkisel içerikli yemlerle beslemenin büyüme performansını veya sağlık durumunu olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Bruce vd., 2017; Jalili vd., 2013). Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında, ileriki çalışmalarda farklı oranlarda nişasta kullanılarak daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Düşük maliyetli yem ile daha uzun sürede porsiyonluk boya ulaşan balık yetiştiriciliği bazı ticari işletmeler açısından cazip gözükebilir. Ancak bu balıkların hastalıklara yakalanma riski ve hastalıklara karşı dirençleri tartışmalıdır. İleriki çalışmalarda alternatif protein veya karbonhidrat kaynaklarının etçil balıkların hastalık dirençleri üzerine etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Teşekkür: Deneme süresince laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Çağatay Bayizit ve Samet Alkan'a teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Múzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*, 114(3-4), 173-186.
- Bowser, P. R. (1993). Clinical pathology of Salmonid Fishes. In M. K. Stoskopf (Ed.), *Fish Medicine* (pp. 327-332). Philadelphia: Saunders.
- Bruce, T., Sindelar, S., Voorhees, J., Brown, M., & Barnes, M. (2017). Performance and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed bioprocessed plant-based proteins. *Aquaculture Nutrition*, 23(5), 1160-1168.
- Campbell, T. W. (2004). Clinical Chemistry of Fish and Amphibians. In M. A. Thrall, D. C. Baker, T. W. Campbell, D. DeNicola, M. J. Fettman, E. D. Lassen, A. Rebar, & G. Weiser (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (1 ed., pp. 499–517). Wilkins Pennsylvania Lippincott Williams.
- Choi, S. M., Wang, X., Park, G. J., Lim, S. R., Kim, K. W., Bai, S. C., & Shin, I. S. (2004). Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Research*, 35(4), 410-418.
- Fazio, F., Saoca, C., Piccione, G., Kesbiç, O. S., & Acar, Ü. (2016). Comparative study of some hematological and biochemical parameters of Italian and Turkish farmed rainbow trout *Oncorhynchus Mykiss* (Walbaum, 1792). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(3), 715-721.
- Field, J. B., Elvehjem, C., & Juday, G. (1943). A study of the blood constituents of carp and trout. *Journal of Biological Chemistry*, 148, 261-269.
- García-Gallego, M., Bazoco, J., Suárez, M., & Sanz, A. (1995). Utilization of dietary carbohydrates by fish: a comparative study in eel and trout. *Animal Science*, 61(2), 427-436.
- Geay, F., Ferrareso, S., Zambonino-Infante, J. L., Bargelloni, L., Quentel, C., Vandeputte, M., . . . Mazurais, D. (2011). Effects of the total replacement of fish-based diet with plant-based diet on the hepatic transcriptome of two European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) half-sibfamilies showing different growth rates with the plant-based diet. *Bmc Genomics*, 12(1), 522.
- Gómez, G. D., & Balcázar, J. L. (2007). A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 52(2), 145-154.
- Hart, S. D., Bharadwaj, A. S., & Brown, P. B. (2010). Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 306(1-4), 310-314.
- Hassan, M., Gholizadeh, M., & Saidi, A. (2010). Study of some hematological and biochemical parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in western part of Mazandaran province, Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(1), 185-198.
- Heath, A. G. (1995). *Water pollution and fish physiology*. London: CRC press.
- Irianto, A., & Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25(11), 633-642.
- Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R. S., & Eliassen, R. A. (2003). The efficacy of metomidate, clove oil, AquistTM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, 221(1), 549-566.
- Jalili, R., Tukmechi, A., Agh, N., Noori, F., & Ghasemi, A. (2013). Replacement of dietary fish meal with plant sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*); effect on growth performance, immune responses, blood indices and disease resistance.
- Kumari, J., Swain, T., & Sahoo, P. K. (2003). Dietary bovine lactoferrin induces changes in immunity level and disease resistance in Asian catfish *Clarias batrachus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94(1-2), 1-9.
- Legate, N., Bonen, A., & Moon, T. (2001). Glucose tolerance and peripheral glucose utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla rostrata*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*). *General and comparative endocrinology*, 122(1), 48-59.
- Linn, S. M., Ishikawa, M., Koshio, S., Yokoyama, S., Murata, T., Hamasaki, Y., & Nankervis, L. (2014). Effects of replacing fish meal with plant protein on growth performance, feed utilization and oxidative condition of red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture Science*, 62(4), 341-352.
- Logan, M., 2010. Biostatistical design and analysis using r: a practical guide. Wiley-Blackwell, London. 546 p.
- Mayes, P., & Botham, K. (2003a). Cholesterol Synthesis, Transport, & Excretion. In R. Murray, D. Granner, P. Mayes, & V. Rodwell (Eds.), *Harper's illustrated biochemistry* (26 ed., pp. 219-230). New York McGraw-Hill Education / Medical
- Mayes, P., & Botham, K. (2003b). Metabolism of acylglycerols and sphingolipids. In R. Murray, D. Granner, P. Mayes, & V. Rodwell (Eds.), *Harper's illustrated biochemistry* (26 ed., pp. 197-204). New York: McGraw-Hill Education / Medical

- Mc Donald, D., & Milligan, C. (1992). 2 Chemical Properties of the Blood. In *Fish physiology* (Vol. 12, pp. 55-133): Elsevier.
- Moniruzzaman, M., Bae, J., Won, S., Cho, S., Chang, K., & Bai, S. (2018). Evaluation of solid-state fermented protein concentrates as a fish meal replacer in the diets of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 24(4), 1198-1212.
- Morgan, J., & Iwama, G. (2011). Measurements of stressed states in the field. In G. Iwama, A. Pickering, J. Sumpter, & C. Schreck (Eds.), *Fish stress and health in aquaculture* (pp. 247-270). Cambridge Cambridge University Press.
- Mosberian-Tanha, P., Schrama, J. W., Landsverk, T., Mydland, L. T., & Øverland, M. (2018). The effect of plant-based diet and suboptimal environmental conditions on digestive function and diet-induced enteropathy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 112-122.
- Nayak, S. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(1), 2-14.
- Nudo, L. P., & Catap, E. S. (2011). Immunostimulatory effects of *Uncaria perrottetii* (A. Rich.) Merr.(Rubiaceae) vinebark aqueous extract in Balb/C mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 613-620.
- Page, G., Hayworth, K., Wade, R., Harris, A., & Bureau, D. (1999). Non-specific immunity parameters and the formation of advanced glycosylation end-products (AGE) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fed high levels of dietary carbohydrates. *Aquaculture Research*, 30(4), 287-297.
- Seong, M., Lee, S., Lee, S., Song, Y., Bae, J., Chang, K., & Bai, S. C. (2018). The effects of different levels of dietary fermented plant-based protein concentrate on growth, hematology and non-specific immune responses in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 483, 196-202.
- Stasiak, S. A., & Baumann, P. C. (1996). Neutrophil activity as a potential bioindicator for contaminant analysis. *Fish & Shellfish Immunology*, 6(7), 537-539.
- Wilson, R. (1994). Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124(1-4), 67-80.
- Wong, S., Waldrop, T., Summerfelt, S., Davidson, J., Barrows, F., Kenney, P. B., Rawls, J. F. (2013). Aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess a large core intestinal microbiota that is resistant to variation in diet and rearing density. *Applied and environmental microbiology*, 79(16), 4974-4984.
- Yamamoto, T., Konishi, K., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., & Tabata, M. (2001). Influence of dietary fat and carbohydrate levels on growth and body composition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* under self-feeding conditions. *Fisheries Science*, 67(2), 221-227.
- Yamamoto, T., Shima, T., Unuma, T., Shiraiishi, M., Akiyama, T., & Tabata, M. (2000). Voluntary intake of diets with varying digestible energy contents and energy sources, by juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, using self-feeders. *Fisheries Science*, 66(3), 528-534.
- Yılmaz, S., & Ergün, S. (2012). Effects of garlic and ginger oils on hematological and biochemical variables of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 24, 219-224.
- Yılmaz, S., & Ergün, S. (2013). Chickweed (*Stellaria media*) leaf meal as a feed ingredient for tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of applied aquaculture*, 25(4), 329-336.
- Yılmaz, S., Ergün, S., & Celik, E. S. (2016). Effect of dietary spice supplementations on welfare status of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 86(1), 229-237.