

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI TUZLULUKLARDA YAPILAN TİLAPYA (*Oreochromis niloticus*)
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE YEM KATKISI OLARAK SİMBİYOTİK VE
BİYUYUMAK UNU KULLANIMININ BÜYÜME PERFORMANSI VE
BAĞIRSAK HİSTOMORFOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mursal Abdulkadir HERİ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2022

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI TUZLULUKLARDA YAPILAN TİLAPYA (*Oreochromis niloticus*) YETİŞTİRİCİLİĞİNDE YEM KATKISI OLARAK SİMBİYOTİK VE BİYUYUMAK UNU KULLANIMININ BÜYÜME PERFORMANSI VE BAĞIRSAK HİSTOMORFOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mursal Abdulkadir HERSİ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ercüment GENÇ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında farklı tuzluluklarda yapılan tilapya (*Oreochromis niloticus*) yetiştiriciliğinde yemde simbiyotik ile biyoyumak unu katkısının büyüme performansı, sindirim kanalı mikrobiyota çeşitliliği, besin madde bileşen analizi, bakteri sayısı, karaciğer ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerinin ortaya konulmuştur. Denemede üç farklı tuzlulukta (0,5 ve 18 ppt) tek doz simbiyotik ve biyoyumak unu kombinasyonunun etkilerini test etmek üzere kontrol grupları dâhil toplam 6 grup oluşturarak 18 adet birbirine su geçişi olmayan 50 L hacimli fiberglas tank kullanılmıştır. Kontrol grupların yem katkısı uygulamaksızın uygulama gruplarının yemine 1 kg yem için probiyotik karışımı (*Lactobacillus plantarum* 10 ml $1,5 \times 10^9$ cob/g, *Saccharomyces boulardii* 250 mg 5×10^9 cob/g ve *Lactobacillus acidophilus* 25 mg 5×10^9 cob/g), prebiyotik olarak MOS (2 g/kg yem) ve biyoyumak unu (3 g/ kg yem) ilave edilmiştir. 85 gün süreyle bu denemenin sonunda son canlı ağırlık (CAs) ve ağırlık kazancı (CAK) bakımından en yüksek değerleri sırasıyla $42,70 \pm 3,25$ g ve $21,79 \pm 5,07$ g olarak tatlı su kontrol grubundan belirlenirken en düşük değerleri (CAs: $37,13 \pm 5,79$ g) ve (CAK: $15,65 \pm 6,00$ g) ile deniz suyu kontrol grubundan belirlenmiştir ($p < 0,05$). Büyüme performans bakımından artan tuzluluk seviyelerinin Nil tilapyasında büyüme parametrelerinin negatif yönde etkilenmesine neden olduğu tespit edilirken doku histomorfolojisi ve sindirim sistemi mikrobiyotasının çeşitliliği bakımından tuzluluk artışının gruplar arasında anlamlı bir farklılığa neden olmadığı da bulunmuştur.

Haziran 2022, 67 sayfa

Anahtar Kelimeler: Nil tilapyası, simbiyotik, biyoyumak unu, bağırsak histomorfolojisi

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF DIETARY SYNBIOTIC AND BIOFLOC MEAL USAGE ON GROWTH AND INTESTINAL HISTOMORPHOLOGY OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) AT DIFFERENT SALINITY LEVELS

Mursal Abdulkadir HERSI

Ankara University
Graduate School of Natural Applied Sciences
Department of Fisheries and Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Ercüment GENÇ

In this thesis project, the effects of synbiotic and biofloc meal on the growth performance, gut microbiota diversification, proximate body composition, total gut bacterial counts, liver and intestinal histomorphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under different salinities were examined. Tilapia with an initial weight of $21,52 \pm 2,21$ g was divided into three main groups (freshwater 0 ppt, brackish water 6 ppt and marine water 18 ppt) each with triplicates of control and synbiotic groups. While the control groups were not supplemented with any feed additives, a single dose of combined dietary synbiotics and biofloc meal (Probiotic mixture for 1 kg of feed (*Lactobacillus plantarum* 10 ml 1.5×10^9 cob/g, *Saccharomyces boulardii* 250 mg 5×10^9 cob/g and *Lactobacillus acidophilus* 25 mg 5×10^9 cob/g), MOS as prebiotic (2 g/kg feed) and biofloc meal (3 g/kg feed)) has been added to the tilapia feeds of all the experimental groups in this study. At the end of the experiment, the highest final body weight (42.70 ± 3.25 g) and weight gain (21.79 ± 5.07 g) as well as the lowest FCR (1.17) were found in the freshwater group fed with synbiotic and biofloc meal added feeds. The lowest final body weight (37.13 ± 5.79 g) and weight gain (15.65 ± 6.00 g) and the highest FCR (2.00) were also recorded in the marine water control group. Unlike the growth performance, which decreased with the increase of water salinity, there was no significant difference between the groups cultured under different salinities in terms of gut microbiota, proximate body composition, total gut bacterial counts, liver, and intestinal histomorphology.

June 2022, 67 pages

Key Words: Nile tilapia, synbiotic, biofloc meal, intestinal histomorphology

TEŞEKKÜR

Hayatımda önemli bir akademik yere sahip olan yüksek lisans tez projemi tamamlamış olmaktan dolayı çok mutluyum. Öncelikle, bu projenin tamamlanmasına ve başarısına katkıda bulunan önerileri, tavsiyeleri, rehberlikleri ve değerli hükümleriyle sonsuz desteği için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ercüment GENÇ (AÜ Öğretim Üyesi)'e şükranlarımı sunarım. Buna ek olarak, tez çalışmalarımın her aşamasında yanımda olup teorik bilgimin yanı sıra uygulamalı becerilerimin gelişmesine, maddi ve manevi varlığına katkılarından dolayı danışmanımla gurur duyduğumu vurgularım. Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ başta olmak üzere tüm bölümdeki hocalarıma ve özellikle bağırsak mikrobiyal analizindeki yardımları için Sayın Doç. Dr. Emre KESKİN (AÜ Öğretim Üyesi)'e de şükranlarımı sunarım.

Ayrıca okuldaki arkadaşlarıma dostlukları, empatileri ve destekleri için özellikle Ahmet GÜLER'e deney sırasındaki planlama ve destekleri için en teşekkürü bir borç bilirim. Bu süreçte yanımda olan aileme de şükranlarımı sunarım. Türkiye bursu vererek yüksek lisansımı bitirme hayalimi gerçekleştirmemi sağlayan Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar'a (YTB) ve Ankara Üniversitesi Su Ürünleri Bölümü'ne teşekkür ediyorum. Herhangi bir projenin başarılı bir şekilde tamamlanması farklı akademisyenlerden yardım almayı da gerektirir. Tez süreci öncesi ve sonrasında bana bilgi ve deneyim kazandıracak paylaşımlarda bulunan Sayın Prof. Dr. Hasan H. ATAR (AÜZF Dekanı), Prof. Dr. Ahmet Ş. KORKMAZ ve Prof.Dr. Serap PULATSÜ (AÜ Öğretim Üyesi) hocalarıma da teşekkür ederim.

Mursal Abdulkadir HERSİ

Ankara, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1 Tilapya Biyolojisi ve Çevresel İstekleri.....	5
2.1.1 Tilapyanın taksonomideki yeri ve özellikleri.....	5
2.1.2 Tilapyanın genel davranışı ve çevresel istekleri.....	6
2.2 Tilapya Yetiştiriciliğinde Probiyotik Kullanımı.....	7
2.3 Tilapya Yetiştiriciliğinde Prebiyotik Kullanımı.....	11
2.4 Tilapya Yetiştiriciliğinde Simbiyotiklerin Kullanımı.....	15
2.5 Tilapya Yetiştiriciliğinde Biyoyumak Unu Kullanımı.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1 Canlı Materyal.....	19
3.2 Araştırmanın Yeri ve Yetiştiricilik Ortamı.....	19
3.3 Denemede Kullanılan Materyaller	20
3.4 Deneme Planı.....	20
3.5 Su Kalitesi Takibi ve Analizi.....	21
3.6 Büyüme Performansı.....	22
3.7 Vücut Kompozisyonu.....	22
3.8 Histolojik Analizler.....	24
3.9 Sindirim Kanalı Bakteri Çeşitliliği Analizi.....	24
3.10 İstatistik Analizler.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	26
4.1 Büyüme Parametreleri.....	26
4.2 Karaciğer ve Bağırsak Histomorfolojisi.....	28
4.3 Besin Madde Bileşen Analizi ve Bağırsaktaki bakteri sayısı.....	31
4.4 Sindirim Kanalı Mikrobiyota Analizi.....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	41
5.1 Su Kalitesi ve Büyüme Parametrelerinin İncelenmesi.....	42
5.2 Karaciğer ve Bağırsak Histomorfolojisi Değerlendirilmesi.....	45
5.3 Besin Madde Bileşen Analizi ve Bakteri Sayısının Değerlendirilmesi.....	47
5.4 Sindirim Kanalı Mikrobiyota Değerlendirilmesi.....	49

KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	67



SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat
%	Yüzde konsantrasyon
Cm	Santimetre
M	Metre
m ²	Metrekare
Ppt	Binde bir
pH	H iyonu konsantrasyonunun 10 tabanında (-) logaritması
NH ₃	Amonyak Azotu

Kısaltmalar

FW-K	Fresh water (Tatlı su)- kontrol
FW-S	Fresh water (Tatlı su)- simbiyotik
BW-K	Brackish water (Acı su)-kontrol
BW-S	Brackish water (Acı su)- simbiyotik
MW-K	Marine water (Deniz suyu)- kontrol
MW-S	Marine water (Deniz suyu)- simbiyotik

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nil tilapyası (<i>Oreochromis niloticus</i>), (Orijinal)	6
Şekil 3.1 Sifonlama işlemi.....	19
Şekil 4.1 Simbiyotik + biyoyumak ununun farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapya larının canlı ağırlık üzerine etkileri.....	27
Şekil 4.2 Simbiyotik + biyoyumak ununun farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapya larının canlı ağırlık kazancı üzerine etkileri.....	28
Şekil 4.3 Farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyanın bağırsak histomorfolojisi.....	29
Şekil 4.4 Farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyanın karaciğer histomorfolojisi.....	30
Şekil 4.5 Tatlı su kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili	33
Şekil 4.6 Tatlı su simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili	33
Şekil 4.7 Acı su (6 ppt) kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili.....	34
Şekil 4.8 Acı su (6 ppt) simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili	34
Şekil 4.9 Deniz suyu (18 ppt) kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili.....	35
Şekil 4.10 Şekil 4.10. Deniz suyu (18 ppt) simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili	35
Şekil 4.11 Tatlı su kontrol (FW-K) ve simbiyotik (FW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu	36
Şekil 4.12 Acı su kontrol (BW-K) ve simbiyotik (BW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu	37
Şekil 4.13 Deniz suyu kontrol (MW-K) ve simbiyotik (MW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu.....	38
Şekil 4.14 Farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen (FW: Tatlı su, BW: Acı su ve MW: Deniz suyu) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu (%)......	39
Şekil 4.15 Farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen (FW: Tatlı su, BW: Acı su ve MW: Deniz suyu) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu (OTUs)......	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Tilapya yetiştiriciliğinde probiyotik kullanımının etkisi üzerine araştırmalar.....	10
Çizelge 2.2 Tilapya yetiştiriciliğinde prebiyotik kullanımının etkisi üzerine araştırmalar.....	14
Çizelge 3.1 Deneme planı (6 grup, 3 tekerrürlü, 85 gün)	21
Çizelge 4.1 Farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapya larının büyüme parametreleri üzerine simbiyotik ve biyoyumak unun etkileri.....	26
Çizelge 4.2 Farklı tuzlulukta yetiştirilen tilapya larının besin madde bileşen analizleri (%).....	31
Çizelge 4.3 Farklı tuzlulukta yetiştirilen tilapya larının toplam bakteri sayıları (CFU/g).....	32

1. GİRİŞ

2050'de dünya nüfusunun 10 milyarı geçebileceği projeksiyonu üzerinden yapılan değerlendirmelerde, küresel gıda gereksiniminin artacağı, tedarik sisteminin ise büyük bir baskı altında olacağı öngörülmektedir (Millington ve Cleland 2017). Artan nüfusun başta balık ve diğer hayvansal su ürünleri gibi nitelikli hayvansal protein kaynaklarına olan ihtiyacının karşılanabilmesi gerekli tedbirlerin uygulamaya alınması gerekmektedir (Crab vd. 2012). Aşırı avlanma yüzünden, avcılığın giderek artan protein talebimizi karşılamak için artık sürdürülebilir bir kaynak olarak görülmemektedir (Subasinghe vd. 2009). Dolayısıyla artan hayvansal protein talebimizin temini için en ekonomik ve sürdürülebilir sektörlerden birinin su ürünleri yetiştiriciliği olduğu anlaşılmaktadır (Dauda vd. 2013).

Sucul bitkisel ve hayvansal organsızların yetiştirilmesi olarak tanımlanabilen su ürünleri yetiştiriciliği, dünya çapında en hızlı büyüyen gıda üretim endüstrisidir (Bouelet Ntsama vd. 2018). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO 2020) raporuna göre, 2001 yılından bu yana su ürünleri yetiştiriciliğinde yıllık %5,3'lük bir artış görülmekte ve artmaya devam edeceği öngörülmektedir. Tilapya ve diğer ciklet türleri dahil olmak üzere ticari değeri yüksek balıklar, sektördeki en çok yetiştirilen türlerinden arasında yer almaktadırlar (Bergqvist ve Gunnarsson 2013).

Tilapya, doğal olarak göllerde, akarsularda, nehirlerde ve nadiren Afrika ve Orta Doğu'nun acı sularında dağılım gösteren, Cichlidae (ciklit) familyasındaki balıklara verilen ortak bir isimdir (Wang ve Lu 2016). Tilapya, istilacı bir tür olarak kabul edilmesine rağmen, günümüzde 90'dan fazla ülkede doğal dağılım gösterdiği bilinen tropikal ve subtropikal iklimlerde tatlı, acı ve tuzlu sularda yetiştiriciliği yapılan önemli balık türlerinden biridir (Fitzsimmons 2005, Prabu vd. 2019). Dünyada en çok tilapya üreten ülkeler basta Çin olmak üzere Mısır, Endonezya, Tayland, Filipin ve Brezilya iken, en çok yetiştiriciliği yapılan tilapya türleri Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*), Mozambik tilapyası (*O. mossambicus*), Mavi tilapya (*O. aureus*), Zanzibar tilapyası (*O. hornorum*) ve Kırmızı tilapya (*O. niloticus* x *O. mosambicus*) veya (*O. niloticus* x *O. aureus*) olarak sıralanabilir (Prabu vd. 2019).

Dünyanın farklı bölgelerinin tatlı su kaynaklarından çok acı ve tuzlu su kaynaklarına sahip olduğu bilinmektedir (Ulotu vd. 2016). Tilapya ise genel olarak diğer balık türleri ile kıyaslandığında geniş bir tuzluluk aralığını tolere edebilmesi ile tanınmaktadır (Philippart ve Ruwet 1982, Awal vd. 2012). Balığın tuzluluğa dayanıklı olma yeteneği yaşam evresine, uyum kapasitesine ve diğer çevresel faktörlere bağlıdır. Örneğin, Mozambik tilapyası (*Oreochromis mossambicus*), 120 ppt gibi yüksek tuzlulukları tolere edebildiğinden ve hatta 49 ppt tuzlulukta üreyebildiğinden tuzluluğa en dayanıklı tilapya türü olarak tanımlanmaktadır (El-Sayed 2006). Buna karşılık, 15 ppt ve üzerindeki tuzluluk seviyesinde iyi büyümediği ve üremediği için *O. niloticus* ise tilapya türleri arasında tuzluluğa en az dayanıklı bir türü olarak kabul edilmektedir (Cnaani ve Hulata 2010).

FAO verilerine göre tilapya en çok yetiştirilen balıkların üçüncü sırasında yer almaktadır. Küresel *O. niloticus* üretimi 2018 yılında 4,5 milyon tona ulaşmıştır. Bu üretimin 2030 yılına kadar 7,3 milyon tona ulaşması beklenmektedir (FAO 2020). Günümüzde en çok yetiştirilen tilapya türü ise Nil tilapyasıdır (Prabu vd. 2019). Nil tilapyası, omnivor beslenme alışkanlıkları başta olmak üzere, hızlı büyüme oranı, yüksek protein içeriği ve hastalıklara dayanımı yanında yüksek pazar talebi nedeniyle yetiştiricilik için tercih edilmektedir (Dempster vd. 1995, Eissa vd. 2021). Bununla birlikte *O. niloticus*, göllerde, kafeslerde, kanallarda ve çevresel koşulların optimize edilebildiği kapalı devre sistemlerde yoğun yetiştiriciliğe uygun bir türdür (Barroso vd. 2019, Prabu vd. 2019).

Ancak tilapya (*O. niloticus*) yetiştiriciliğinde de diğer balık türlerinin yoğun yetiştiriciliğinde olduğu gibi çevresel faktörler ve patojenlerden kaynaklanan hastalıklarla ekonomik kayıplar gündeme gelmektedir (Rasul vd. 2017). Uzun zamandır hastalıkları kontrol etmek için yaygın bir biçimde antibiyotiklerin ve diğer kimyasal maddelerin bilinçsizce kullanımı; antibiyotiklere dirençli çok sayıda patojenik mikroorganizmanın gelişmesine neden olmuştur (Das vd. 2017). Bu nedenle, son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliğinde antibiyotiklerin yerine geçecek, balıklarının sağlıklı gelişimini ve büyümesini arttıracak fonksiyonel yem katkılarının formülasyonu üzerine çalışmalar yoğunluk kazanmıştır (Limbu 2020, Dawood vd. 2020). Yetiştiricilikte yem katkısı

olarak kullanılabilen probiyotik, prebiyotik ve simbiyotikler fonksiyonel niteliği yüksek yem katkıları arasında yer almaktadırlar (Jahari vd. 2018).

Probiyotikler, konak organizmaların bağırsak ve sindirim sistemi sağlığını olumlu yönde etkileyen mikroorganizmalardır (Parker 1974). Bir başka deyişle, Probiyotikler "Bağırsaklardaki mikrobiyal dengesini geliştirerek hayvan sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal yem katkıları olarak tanımlanırlar" (Fuller 1989). Prebiyotikler ise kommensal bakterilerin çoğalmasını tetikleyen besleyici ürünlerdir (Gibson vd. 1995).

Balık yetiştiriciliğinde, katkı maddelerinden prebiyotikler ve probiyotiklerin kullanımı, hastalıklarla mücadelede ve büyüme performansını arttırmada yararlı etkileri nedeniyle tercih edilir hale gelmiştir (Laice vd. 2021). Buna ek olarak, Simbiyotikler; prebiyotik ve probiyotiklerin bir kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır ve kombinasyonları farklı ve özgün olsa da ortak bir terim altında ifade edilmektedirler. Bağırsaklardaki yararlı mikroorganizmaların gelişimini stimüle ettikleri gibi sağlığı olumlu yönde etkileyen bakteriler konağın metabolizmasını da aktive edebilmektedirler (Huynh vd. 2017). Ayrıca, biyoyumak unu, heterotrofik bakteriler, mayalar, mikroalgler, protozoonlar, nematodlar ile askıda katı maddelerden oluşan mikroorganizma kümesidir (De Schryver vd. 2008, Crab vd. 2010, Ekasari vd. 2018). Bu mikrobiyal kümelerden, yetiştiricilik faaliyetlerinde yaşam ortamı olarak son yıllarda yaygın olarak yararlanılmaktadır (Kuhn vd. 2009, Shao vd. 2017). Biyoyumak teknolojisinin temel yapısı tank suyuna dışarıdan bir karbon kaynağı ilave edilerek suda optimum karbon/azot oranının oluşturulması ile sistemdeki mikroorganizmalar ve askıda katı maddelerin mikrobiyal bir küme oluşturabilmesinin temin edilmesine dayanmaktadır (De Schryver vd. 2008). Bu sistem ile uygun karbon varlığında azotlu atıkları tüketen heterotrofik bakterilerin oluşturduğu kümeler; çevre dostu bir ürün olarak toplanarak yem katkısı olarak da kullanılabilir.

Biyoyumak sistemi kullanımının tilapyanın yetiştiricilik performansı üzerine pozitif etkileri dışında yemde ve suda probiyotik kullanımının etkilerini gösteren çalışmalar da literatürde mevcuttur (Laice vd. 2021). Ancak berrak su koşullarında farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyada simbiyotik ve biyoyumak unu kullanımının etkileri ile ilgili şimdiye

kadar literatürde herhangi bir çalışmanın varlığına rastlanılmamıştır. Bu anlamda bu tez çalışması ile geliştirilen hipotez ve gerçekleştirilen testlerin önemli olduğu ileri sürülebilir.

Bu tez projesinin araştırma sorusu; sınırlı tatlı su kaynaklarının yerine acı su ve deniz suyu kullanımı ile tilapya yetiştiriciliğinde balık refahı ve büyüme performansını arttırmanın mümkün olup olamayacağı üzerinedir. Bu soruna çözüm arayışı esnasında yetiştiricilik koşullarında sağlıklı büyümeyi indüklemek, balık refahını iyileştirmek ve büyüme performansını artırmak için son yıllarda probiyotik ve prebiyotik yem katkıları üzerine çalışmaların yoğunluk kazanmış olmasından yola çıkılmıştır (Iqbal vd. 2012).

Bu kapsamda prebiyotik ve probiyotik karışımlarının birlikte kullanımı olarak tanımlanan simbiyotik bir yem katkısının uygulanması ve bunun yanında biyoyumak ununun da bu kombinasyona dahil edilmesi fikri geliştirilmiştir. Simbiyotik ve biyoyumak unu etkinliğinin literatürde daha önce test edilmemiş olması, bir başka ifade ile büyüme parametreleri, sindirim kanalı mikrobiyota çeşitliliği, karaciğer ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkileri bakımından ortaya konulacak olması özgün bir değer taşımaktadır. Ayrıca farklı tuzluluk koşullarında bu yem katkılarını test eden bir araştırma da mevcut değildir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasında üç farklı tuzlulukta yapılan tilapya (*Oreochromis niloticus*) yetiştiriciliğinde yemde simbiyotik ile biyoyumak unu katkısının büyüme performansı, sindirim kanalı mikrobiyota çeşitliliği, karaciğer ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Tilapya Biyolojisi ve Çevresel İstekleri

Tilapyanın temel biyolojisi, dağılımı ve çevresel gereksinimlerinin incelenmesi, tilapya yetiştiriciliği endüstrisinin geliştirilmesi için gereklidir. Bu nedenle bu bölümde tilapyanın biyolojisi, dağılımı ve çevresel gereksinimleri hakkında önceki çalışmalar ışığında açıklamalara yer verilmiştir.

2.1.1 Tilapyanın taksonomideki yeri ve özellikleri

Tilapya, Cichlidae (ciklet) familyası içinde yer alan ve ticari açıdan değeri yüksek olan bir balıktır. Tilapya Actinopterygii (ışın yüzgeçliler) sınıfına, Perciformes (levrekgiller) takımına ve *Oreochromis* cinsine aittir (Chavan ve Yakupitiyage 2012). Tilapyanın taksonomik sınıflandırmasına ilişkin detaylı bilgi aşağıda yer almaktadır (Ekingen 1998).

Alem: Animal

Şube: Chordata

Alt Şube: Vertebrata

Sınıf: Actinopterygii

Takım: Perciformes

Familya: Cichlidae

Cins: *Oreochromis*

Tür: *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1766

Tilapyanın dış morfolojisi incelendiğinde balığın yanlardan basık (laterally compressed) ve küt nispeten yuvarlağımsı eliptiktir. Derinin üzeri anteriyörden posteriyöre doğru birbiri üzerine binmiş şekilde dizilmiş ve kolayca yerinden ayrılmayan büyük sikloid tip pullarla kaplıdır. Dorsal (sırt) ve anal yüzgeçlerin anteriyör kısımlarında sert, posteriyör kısımlarında ise yumuşak dikenler bulunmaktadır. Ventral (karın) ve pektoral (göğüs) yüzgeçlerin morfolojileri incelendiğinde yüzme ve dönüş hareketlerini seri bir biçimde gerçekleştirmek üzere gelişmiş bir konfigürasyona sahip oldukları ifade edilmektedir (Ross 2000). Tilapya gelişmiş duyu organlarına ve 130 dereceden daha büyük bir açıyla

görüş sağlayan gözlere de sahiptir. Integümentari sistemde dermiste kromatoforların hormonal ve strese yanıt olarak dışarıdan görünürlüğünü kontrol eden sinir sisteminin de gelişmiş olduğu bilinmektedir (El-Sayed 2019).



Şekil 2.1 Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*), (Orişinal)

2.1.2 Tilapyanın genel davranışı ve çevresel istekleri

Tipik olarak tilapya bir göl balığı olarak tanımlansa da farklı çevre koşullarında ve yoğun yetiştiricilik sistemlerine uyum sağlaması nedeniyle son yıllarda tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın bir biçimde yetiştirilmektedir. Yetiştiricilikte tercih edilmesinin diğer sebepleri arasında hızla büyüme oranı ve hastalıklara yakalanma riskinin düşüklüğü ve kolay döl alınabilmesi sayılmaktadır (Castro vd. 2009, Chavan ve Yakupitiyage 2012).

Tilapya türe özgü değişen parental maternal ve paternal bakım özelliğı ile diğer balık türlerinden farklı üreme stratejilerine sahiptir. Bazı türlerde (*Tilapia zilli*) eşler yuva yaparak yumurtalarının kuluçkasını ve yavruların bakımını beraberce gerçekleştirirler. Bazı türlerinde (*Oreochromis* sp.) dişi balık döllenmiş yumurtaları bukkal kavitesinde (ağız ve solungaç boşluğu) toplar. Bazı türlerde ise (*Sarotherodon* sp.) erkek balık ağızda kuluçkayı ve yavruların bakımını üstlenir. Her üç genusta da 15 dakika ile 60 dakika arasında bırakılan tüm yumurtalar ya vuvada bakıma alınır ya da bukkal kavitede kuluçkalanmak üzere toplanırlar. Kuluçka sıcaklığa bağılı olmak üzere 6-10 gün sürebilir.

Campos-Mendoza vd. (2004) dişi balığın büyüklüğüne bağılı olmak üzere yumurta sayısının 100-2000 adet/dişi aralığında değişim gösterebileceğini ifade etmişlerdir. Abdelghany (2020), tilapyaaların suda oluşan fitoplankton, zooplankton, makroalg, bentik omurgasızlar ve yavru balıklar yanında detritus (bitkisel ve hayvansal organik madde kalıntısı) da dahil olmak üzere çeşitli besinleri omnivor karakteristikte tüketebildiklerini bildirmiştir. Tilapya doğal ve yapay yemlere de kolayca uyum sağlayabildiği için besin seçiciliği düşük olan bir balık olarak tanınmaktadır. Tilapyanın son derece düşük su kalitesi koşullarında da hayatta kaldığı bildirilmiştir. Örneğin, Chavan ve Yakupitiyage (2012), Nil tilapyasının 0,3 mg/L çözünmüş oksijen konsantrasyonu seviyesini tolere edebileceğini ve 41-42°C su sıcaklığına kadar dayanım gösterebileceğini ancak Mjoun vd. (2010), 13°C su sıcaklığının bu tür için tehlike yaratacağını ve bunun altındaki sıcaklıkların ise letal etki gösterebileceğini not etmişlerdir. Ayrıca, Boyd (1990), tilapyanın çevresel istekleri arasında çözünmüş oksijenin 3-4 mg/L üstü, sıcaklığın 27-30°C, PH düzeyinin 6-8, tuzluluğun 0-25 ppt alkalinitenin 20 mg/L düzeyinden fazla ve amonyak düzeyinin ise 0,08 mg/L değerinden daha düşük olması önerilmiştir.

2.2 Tilapya Yetiştiriciliğinde Probiyotik Kullanımı

Su ürünleri yetiştiriciliğinde sağlıklı büyüme ve yetiştiricilik verimini arttırmak üzere antibiyotik ve diğer kimyasalların kullanımının sınırlandırılması, çevre dostu ve sorumlu yetiştiricilik uygulamaları kapsamında da probiyotiklerden yararlanılması konusunda son yıllarda kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır (Hoseinifar vd. 2018). Probiyotikler; uygun doz ve yöntemle uygulandığında balıkların büyümesini ve refahını artıran canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Abdel-Tawwab vd. 2008). Probiyotiklerin dört farklı etki modu bulunduğu bilinmektedir. Bunlar sindirim sistemi mukozasındaki patojenlerle yer kullanımı bakımından rekabet, besin kullanımı bakımından rekabet, patojenlerin çoğalmasını önlemek üzere antimikrobiyal bileşikleri salgılamaları ve balığın bağışıklık tepkisini uyarmaları olarak sayılmaktadır (Zorriehzahra vd. 2016).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan probiyotikler; mikro algleri (*Tetraselmis*, *Chlorella*, *Nannochloropsis* vb.), mayaları (*Debaryomyces*, *Phaffia*,

Saccharomyces, vb.) ve bakterileri (*Bacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Psebuliudomonas*, vb.) kapsamaktadır (Nayak 2010). Diğer balık türlerinde olduğu gibi tilapya yetiştiriciliğinde de probiyotik uygulamalarının iştahı artırdığı, sindirimi düşük olan yem bileşenlerinin sindirim oranını pozitif yönde etkileyerek, büyüme parametrelerini iyileştirdiği bildirilmiştir (Lara-Flores vd. 2010, Lara-Flores ve Olvera-Novoa 2013). Tilapya (*O. niloticus*) yetiştiriciliğinde uygulanan probiyotik katkı yemlerle yapılan beslemenin, yemden yararlanma, antioksidan enzimler, bağışıklık sistemi ve balığın tüm vücut kompozisyonunu da iyileştirdiği rapor edilmiştir (Abarike vd. 2018, Lara-Flores ve Olvera-Novoa 2013, El-Haroun vd. 2006).

Opiyo vd. (2019a), farklı probiyotik (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Bacillus subtilis*) düzeylerinin düşük verimli toprak havuzlarında yetiştirilen tilapya (*O. niloticus*) üzerindeki etkilerini belirlemek için bir çalışma yapmışlardır. Buna göre, kontrol grubu dışında toplam altı grup oluşturmuşlardır. İlk üç uygulama grubuna farklı düzeylerde (2, 4, ve 6 g/kg) ekmek mayası (*S. cerevisiae*) katkı yem, diğer üç gruba da farklı seviyelerde (5, 10, ve 15 g/kg) *B. subtilis* katkı yem uyguladıklarını kaydetmişlerdir. Yedi ay sonunda probiyotik ilave edilmiş yemlerle beslenen balıklarda, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek büyüme ve yemden yararlanma oranları elde edildiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca en yüksek ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı ve besin madde bileşen değerlerinin 4 g/kg *S. cerevisiae* ve 10 g/kg *B. subtilis* katkı yemlerle beslenen balıklardan elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Tan vd. (2019), probiyotik olarak *Rummeliibacillus stabekisii* kullanarak tilapyanın (*O. niloticus*) büyüme, bağışıklık tepkisi, hastalıklara karşı direnci ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. 60 gün süren bu denemenin sonunda, kontrol grubu kıyasla *R. stabekisii* ile beslenen balıklarda canlı ağırlık artışı ve yem değerlendirme oranında anlamlı ölçüde iyileşme kaydetmişlerdir. Ayrıca, hastalık etkeni olan patojenlerle (*Aeromonas hydrophila* ve *Streptococcus iniae*) deneysel enfeksiyonun sonuçları da *R. stabekisii* katkı yemle beslenen balıklarda hayatta kalma oranlarının önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Süperoksit dismutaz, lökosit, serum lizozim ve fagositik aktivitesi gibi bazı bağışıklık ve antioksidan belirteçler ile sindirim enzimlerinin

(proteaz, selüloz) iyileştiğini de bildirmişlerdir. Tilapyanın bağırsak mikrobiyotasında *Bacillus* ve *Lactobacillus* türlerinin önemli ölçüde çok bulunduğunu buna karşın *Streptococcus* türleri gibi patojen bakterilerin ise az miktarda bulunduğunu not etmişlerdir.

Abarike vd. (2018) tilapya yetiştiriciliğinde ticari probiyotik karışımının (BS®: *Bacillus subtilis* ve *B. licheniformis*) etkin dozunu; büyüme, immün tepki ve hastalık direnci üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kontrol dahil olmak üzere beş farklı probiyotik ilave düzeyinin (0, 3, 5, 7 ve 10 g/kg) etkinliğini 30 gün süreyle test etmişlerdir. Sonuçta, BS katkılı yem ile beslenen tüm balıkların (*O. niloticus*) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında büyüme, bağışıklık ve antioksidan parametreler (lizozim, proteaz, antiproteaz, süperoksit dismutaz aktiviteleri ve katalaz) bakımından pozitif yönde etkilendiklerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar deneme sonunda patojen bir bakteri olan *Streptococcus agalactiae* ile gerçekleştirdikleri deneysel enfeksiyonda en yüksek yaşama oranının BS 10 g/kg ilaveli yemle beslenen grupta gözlediklerini de rapor etmişlerdir.

Xia vd. (2020), *Bacillus cereus* NY5 ve *Bacillus subtilis* ilaveli yemle beslenen tilapyaaların (*O. niloticus*) son canlı ağırlığının ve yem değerlendirme oranlarının iyileştiğini, *S. agalactiae* deneysel enfeksiyonuna karşı direncin de probiyotik katkılı yemlerle beslenen balıklarda istatistiki açıdan arttığını kaydetmişlerdir. Çalışmalarında kontrol grubu hariç üç farklı probiyotik katkılı (*B. subtilis*: 10^8 CFU/g, *B. cereus* NY5: 10^8 CFU/g ve *B. cereus* NY5 + *B. subtilis*: 0.5×10^8 CFU/g) yem uygulamışlardır. Uygulama grupları arasında *B. cereus* NY5 ve *B. subtilis* türünün beraberce uygulandığı durumda bağırsak mikrobiyotası ve bağışıklık tepkisi bakımından pozitif sonuçlar almış olduklarını bildirmişlerdir.

İslam vd. (2021) yem katkısı olarak probiyotik özelliği bilinen ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanıldığı çalışmalarında 4 g/kg *S. cerevisiae* katkılı yemle beslenen tilapyanın (*O. niloticus*) büyüme performansı, yem değerlendirme oranı ve bağışıklık tepkisinin iyileştirdiğini, villus uzunluğu ve genişliğinin de önemli ölçüde geliştiğini ifade etmişlerdir.

Çizelge 2.1 Tilapya yetiştiriciliğinde probiyotik kullanımının etkisi üzerine araştırmalar

Probiyotik Türleri	Dozaj ve Süre	Sonuçlar	Referanslar
<i>Bacillus licheniformis</i> Dahb1	10 ⁵ ; 10 ⁷ CFU g ⁻¹ /4 h.	CAK, SBO, <i>A. hydrophila</i> direnç (↑); YDO (↓)	Gobi vd. (2018)
<i>Bacillus pumilus</i>	10 ⁸ ; 10 ⁹ CFU kg ⁻¹ /28 gün	GCAK, BT, YO, <i>S. agalactiae</i> enfeksiyonuna direnç (↑); YDO (↓)	Srisapoom ve Areechon (2017)
<i>B. amyloliquefaciens</i>	10 ⁴ ve 10 ⁶ FU g ⁻¹ /30 gün	CA, <i>Y. ruckeri</i> direnç (↑)	Selim ve Reda (2015a).
<i>Bacillus</i> sp. KUAQ1	1×10 ⁸ , 3×10 ⁸ ve 5×10 ⁸	<i>S. agalactiae</i> direnç (↓); CA (↑); CAK,	Sookchaiyaporn vd. (2020)
<i>Bacillus</i> sp. KUAQ2	CFU g ⁻¹ /8 h	SBO, YDO (↔)	Opiyo vd. (2019a)
<i>S. cerevisiae</i> ,	4; 10 g kg ⁻¹ /7 ay	CA, SBO (↑) YDO (↓)	
<i>B. subtilis</i>			
<i>R. stabekisii</i>	10 ⁷ CFU g ⁻¹ /8 h	CAK, CA (↑); YDO (↓)	Tan vd. (2019)
<i>B. subtilis</i>	10 g kg ⁻¹ /4 h	CAK, SBO, <i>S. agalactiae</i> direnç (↑);	Abarike vd. (2018)
<i>B. licheniformis</i>			
<i>B. cereus</i> NY5	10 ⁸ CFU g ⁻¹ /6 h	CAK, SBO, YO, <i>S. agalactiae</i>	Xia vd. (2020)
<i>B. subtilis</i>		enfeksiyonuna direnç, Bağırsak mikrobiyotasi (↑); YDO (↓)	
<i>B. subtilis</i>	%1/5 ay	CAK, SBO, YDO (↔); YO (↑)	Garcia ve Menezes (2015)
<i>B. cereus</i>			
<i>B. subtilis</i> ,	0,1; 0,2 g kg ⁻¹ /10 h	CA, SBO (↑), YDO (↓)	Elsabagh vd. (2018)
<i>B. licheniformis</i> ,			
<i>B. pumilus</i>			
Biogen®	3 g kg ⁻¹	Yüksek stoklama yoğunluğunda (30 balık/m ³) CAK, BT (↑)	Mehrim (2009)
<i>B. velezensis</i>	10 ⁷ ; 10 ⁸ CFU g ⁻¹ /30 gün	SBO, CAK, CA (↑); YDO (↓)	Van Doan vd. (2018)
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. plantarum</i>	10 ⁴ ; 10 ⁷ CFU g ⁻¹ /60gün	BT (↑)	El-Ezabi vd. (2011)
<i>S. cerevisiae</i>			
Ticari probiyotik (Protexin, Biogen-S ve Diamond V)	6×10 ⁷ ve 2,6×10 ¹⁰ CFU g ⁻¹ /8 h	<i>A. hydrophila</i> direnç (↑)	Dowidar vd. (2018)
<i>Micrococcus luteus</i>	10 ¹⁰ hücre ml ⁻¹ /90 gün	CAK, SBO, YO (↑) YDO (↓)	Abd El-Rhman vd. (2009)
<i>Pseudomonas</i> sp.			
<i>Enterococcus faecium</i>	10 ⁷ CFU g ⁻¹ /75 gün	CA, SBO, CAK, PER (↑) YDO (↓)	Mehisan vd. (2015)
<i>Bacillus cereus</i> NY5	1×10 ⁴ CFU ml ⁻¹ /3 ay	<i>Cetobacterium</i> , <i>Methylo-bacterium</i> varlığı (↑) patojen bakteri (<i>Acinetobacter</i>) (↓)	Wang vd. (2020)
<i>Alcaligenes faecalis</i>			
<i>Bacillus subtilis</i>	5×10 ⁶ CFU g ⁻¹ /84 gün	CA, (↑) CAK, VK, (↔)	Telli vd. (2014)

Birimdeki koloni adedi (Colony forming unit; CFU), canlı ağırlık (CA), canlı ağırlık kazancı (CAK), spesifik büyüme oranı (SBO), yem değerlendirme oranı (YDO), günlük canlı ağırlık kazancı (GCAK), yaşama oranı (YO), bağışıklık tepkisi (BT), villus uzunluğu (VU), protein etkinlik oranı (PER), vücut kompozisyonu (VK). Anlamlı artış (↑), anlamlı azalma (↓), fark yok (↔).

Van Doan vd. (2018), ayrı ayrı veya beraberce probiyotik uygulamalarının tilapya (*O. niloticus*) yavrularında büyüme, yaşama oranı ve bağışıklık parametreleri üzerindeki etkileri 45 gün süreyle gerçekleştirdikleri çalışmalarında; *Lactobacillus plantarum* ve *Bacillus velezensis* katkılı yemlerle dört grup oluşturmuşlardır (kontrol, 10⁷ CFU/g *B. velezensis*, 10⁸ CFU/g *L. plantarum*, 10⁷ CFU/g *B. velezensis* + 10⁸ CFU/g *L. plantarum*). Sonuçta yaşama oranları açısından probiyotik ilaveli yemlerle beslenen gruplar arasında

bir farklılığın söz konusu olmadığını, ancak probiyotik kombinasyonu içeren yemle (10^7 CFU/g *B. velezensis* + 10^8 CFU/g *L. plantarum*) beslenen grubun diğer gruplara kıyasla büyüme oranı, deri mukus lizozim ve peroksidaz aktiviteleri bakımından daha yüksek bulduklarını belirlemişlerdir. Deneme sonunda gerçekleştirdikleri deneysel enfeksiyon neticesinde lizozim aktivitesi, fagositik aktivite, serum bağışıklığı ve respiratory burst değerlerinin de kontrol grubu ile kıyaslandığında uygulama gruplarının tamamında daha yüksek düzeyde olduğunu kaydetmişlerdir.

Addo vd. (2017), probiyotik olarak *B. subtilis* katkısının (4×10^7 CFU/g *B. subtilis*) tilapyada (*O. niloticus*) büyüme ve hastalık direncine etkilerini incelemişlerdir. $16,5 \pm 0,2$ g başlangıç canlı ağırlığındaki tilapyları 45 L kapasiteli tanklarda 21 gün boyunca beslemişlerdir. Büyüme performansı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık kaydedilmemiş olsa da uygulama grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum bakterisidal ve lizozim aktivitesi bakımından nispeten olumlu sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonunda, tilapyanın bağışıklık yanıtını belirlemek için patojen bakteri *Streptococcus iniae* (8×10^6 CFU balık başına) kullanarak deneysel enfeksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla uygulama gruplarının oldukça daha yüksek yaşama oranı elde etmişlerdir.

2.3 Tilapya Yetiştiriciliğinde Prebiyotik Kullanımı

Prebiyotikler, organizmaların bağırsak sisteminin mikrobiyal dengesini düzenleyen ve probiyotik bakterilerin çoğalmasını indükleyen sindirilemeyen gıda bileşenleridir (Guerreiro vd. 2016). Prebiyotiklerin konak hayvanın hayatta kalma oranını, sindirim enzimlerini, bağışıklık tepkisini ve büyüme performans indekslerini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Ye vd. 2011, Genç vd. 2020). Yetiştiricilikte kullanılan en yaygın prebiyotikler arasında galakto-oligosakkaritler (GOS), frukto-oligosakkaritler (FOS) ve mannan-oligosakkaritler (MOS) bulunmaktadır (Torrecillas vd. 2015). Prebiyotiklerin elde edilebileceği doğal kaynaklar arasında tahıllar (arpa, buğday, yulaf, mercimek ve pirinç), meyveler (muz, çilek, domates) ve sebzeler (sarımsak, soğan, enginar) yer almaktadır (Ali ve El-Feky 2019).

Frukto-oligosakkaritler (FOS), pırasa, sarımsak, soğan, arpa ve buğday gibi farklı bitkilerden üretilen bir fruktan polimeridir. Yetiştiricilikte son zamanlarda yaygın bir biçimde kullanılan FOS formlarından biri de inülin'dir (Kassam vd. 2011). Galakto-oligosakkaritler (GOS), süt ürünleri, fasulye ve kök/yumru sebzelerden doğal olarak elde edilebilen karbonhidrat kökenli prebiyotiktir (Nedaei vd. 2019). Yetiştiricilikte kullanılan bütün prebiyotikler gibi GOS da hayvan sağlığı için vazgeçilmez bir yem katkısı olarak kabul edilmektedir. Hastalık vakalarını azaltmanın yanı sıra, oligosakkaritler, balıkların yemden yararlanmasını, büyüme performansını ve bağışıklık sistemini olumlu yönde etkilemektedir (Ringø vd. 2010). Mannan-oligosakkaritler (MOS) ise ekmek mayasının (*S. cerevisiae*) hücre duvarından elde edilmektedir. MOS patojen organizmaların çoğalmasını engellediği için su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan en etkili prebiyotiklerden biridir (Newman 1994, Samrongpan vd. 2008). Bu bölümde tilapya (*Oreochromis niloticus*) yetiştiriciliğinde prebiyotik uygulamasına ilişkin son çalışmalar özetlenmiştir.

Özlüer-Hunt vd. (2008), mannan oligosakkarit (MOS) ilaveli yem ile beslenen Nil tilapya'sının antioksidan enzim, vücut kompozisyonu, yemden yararlanma ve büyüme performans endeksleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Başlangıç canlı ağırlığı 12 g olan balıkların yemlerine farklı düzeylerde (%0; 0,25; 0,35 ve 0,45) MOS ilavesinin 60 gün sonunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, yem değerlendirme oranı, antioksidan enzimler ve büyüme performansı açısından kontrol grubuna göre pozitif sonuçlar tespit edildiği sonucuna varmışlardır.

Literatürde, farklı dozlarda prebiyotik MOS kullanımının tilapyanın (*O. niloticus*) büyüme, antioksidan, hematolojik, yemden yararlanma ve immun parametreleri üzerine etkilerini belirlemeye yönelik çok sayıda güncel çalışmalar bulunmaktadır.

Kishawy vd. (2020), tilapya (*O. niloticus*) üzerine yaptığı çalışmada büyüme ve yem değerlendirme oranı, lizozom aktivitesi, serum C-reaktif proteinleri ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı hayatta kalma oranları bakımından, yemde %0,5 MOS dozu ilavesinin faydalı olduğunu bildirmişlerdir. 60 gün süreyle %0,4 MOS dozu ilaveli yemle beslemenin büyüme oranı ve bağışıklık tepkisi açısından gruplar arasında bir farklılık

yaratmadığını ancak uygulama gruplarında bağırsak villus uzunluğunun anlamlı bir artış gösterdiğini rapor etmişlerdir (Sado vd. 2018, Yuji-Sato vd. 2015).

Dawood vd. (2020), %1 kadar MOS katkılı yem ile tilapyalı beslemenin 15-30 günlük etkilerini belirlemişlerdir. Sonuçları büyüme, yaşama oranları, eritrosit (RBC) ve hemoglobin (Hb) gibi hematolojik indekslerin yanı sıra antioksidan enzimlerde de kayda değer bir artış olduğunu ifade etmişlerdir. Dawood vd. (2020), bu çalışma kapsamında farklı stoklama yoğunluklarının tilapyanın büyüme, bağışıklık sistemi ve bağırsak morfometrisi üzerine β -glukanın (BG) etkisini belirlemek için de bir deneme yapmışlardır. Denemede 50 L tanklara 200, 400 ve 600 balık/m³ olmak üzere üç stok yoğunluğu ile iki farklı diyet (kontrol veya β -glukan katkılı yem) uygulamasını test etmişlerdir. Stok yoğunluğunun artmasıyla büyüme performansının azalmasına rağmen, yüksek stok yoğunluğunda yetiştirilen ve β -glukan içeren diyetle beslenen tilapyalı yem değerlendirme oranı bakımından daha iyi sonuç aldıklarını bildirmişlerdir. Bağırsak morfometrisi ve hematolojik indeksler bakımından, β -glukan içeren yemle beslenen grupların villus uzunluğu, villus genişliği, goblet hücreleri, hemoglobin ve eritrosit seviyelerinde anlamlı bir iyileşme izledikleri sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar, yüksek stok yoğunluğunun olumsuz etkilerini ortadan kaldırılması için tilapyanın β -glukan içeren yemle beslenmesini önermişlerdir.

Esquinas-Requena vd. (2020), tilapya (*O. niloticus*) için yemde 4 g/kg diyet MOS takviyesinin büyüme ve hematolojik parametreler üzerindeki etkilerini değerlendiren 16 haftalık bir çalışmada da olumlu sonuçlar elde edildiğini rapor etmişlerdir.

El-Latif vd. (2015), Frukt-oligosakkarit (FOS) uygulamasının tilapya (*O. niloticus*) yetiştiriciliğinde büyüme, yemden yararlanma ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Kontrol dahil toplam dört grupta yapılan bu 8 haftalık denemede tilapya yemine artan oranlarda (%0, 1, 2 ve 3) FOS ilave etmişlerdir. Sonuçlar, FOS takviyeli yemlerin, tilapya yavrularının sindirim enzimlerini, yem sindirilebilirliğini, büyüme performansını ve bağırsak morfometrisini iyileştirdiğini göstermiştir.

İbrahim vd. (2010), tilapya (*O. niloticus*) yetiştiriciliğinde prebiyotik olarak inülin ve C vitamini uygulamasının büyüme performansı, bağışıklık sistemi, hematoloji ve *A. hydrophila* enfeksiyonuna karşı direnç üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 30 günlük bu denemede kontrol, 5 g/kg inülin ve 500 mg/kg C vitamini katkısının etkilerini belirlemişlerdir. Denemenin sonunda, inülin ve C vitamini katkılı yemlerle beslenen grupların canlı ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı, *A. hydrophila* enfeksiyonu varlığındaki yaşama oranı ve lizozim aktivitesinde istatistiki açıdan önemli iyileşmeler belirlediklerini kaydedilmiştir.

Çizelge 2.2 Tilapya yetiştiriciliğinde prebiyotik kullanımının etkisi üzerine araştırmalar

Yem katkısı	Dozaj ve Süre	Sonuçlar	Referanslar
MOS	%0,5-12 h.	CAK, YDO, YO (↑)	Kishawy vd. (2020)
MOS	%0,02-6 h.	SR (↔), CAK, FA, <i>A. hydrophila</i> direnç, FCR (↓)	Azevedo vd. (2016)
MOS	%0,4-60 gün	Büyüme (↔), bağırsak villus uzunluğu (↑)	Sado vd. (2018)
MOS	%1 15-30 gün	CAK, YO (↑)	Dawood vd. (2020).
MOS	4 g kg ⁻¹ -16 hafta	Büyüme performansı (↑)	Ayyat vd. (2020)
FOS	%1, 2, 3 - 8 hafta	CAK, SBO, Villi uzunluğu (↑). YDO (↓)	El-Latif vd. (2015).
FOS	%2 - 3 ve 6 hafta	CAK (↑).	Abd El-Gawad vd. (2016)
FOS	2, 4 g kg ⁻¹ - 8 hafta	CAK, villi boyu (↑). YDO (↓)	Poolsawat vd. (2020)
β-glukan	0,1 g kg ⁻¹ - 30 gün	Büyüme, <i>S. agalactiae</i> enfeksiyonuna direnç (↑)	Pilarski vd. (2017)
β-glukan	0,5 g kg ⁻¹ - 30 gün	CAK (↑)	Dawood vd. (2020)
β-glukan	%0,4 - 90 gün	CAK, SBO (↑), FCR (↓).	Abd El Hakim vd. (2019)
β-glukan	50, 100, 200 mg -14 h.	<i>S. iniae</i> enfeksiyonuna direnç (↔)	Whittington vd. (2005)
β-glukan, MOS	1,5; 3 g ⁻¹ kg-60 gün	Büyüme, FCR, villi yük., <i>Y. ruckeri</i> direnç (↑)	Selim ve Reda (2015b).
Inulin	5 g kg ⁻¹ - 2 ay	CAK, SBO, YO (↑)	Ibrahim vd. (2010)
Inulin, GOS	%5 - 60 gün	SBO ve CAK (↑), YDO (↔), YO (↓)	Plongbunjong vd. (2011)
Mantar unu	%1 - 56 gün	SBO, PER ve YO (↑), protein, kül (↔), YDO (↓)	Abd Rahman vd. (2012)

Birimdeki koloni adedi (Colony forming unit; CFU), Final ağırlık (FA), Canlı ağırlık kazancı (CAK), spesifik büyüme oranı (SBO), Yem dönüştürme oranı (YDO), Günlük canlı ağırlık kazancı (GCAK), Bağırsak mikro-villus uzunluğu (BMU), Protein içeriği (Pİ), Protein verimliliği oranı (PER), Yem verimliliği (FE), Vücut kompozisyonu (VK). Kontrol grubuna göre varyasyonu: Anlamli artış (↑), Anlamli azalma (↓), Anlamli fark yok (↔).

Zhou vd. (2020), 16 ppt tuzluluk seviyesinin altında yetiştirilen tilapyalara (*O. niloticus*) farklı dozlarda inülin uygulayarak tuzluluğun neden olduğu stres faktörlerini azaltmak için bir çalışma yapmışlardır. Kontrol grubu olarak da kullanılan tatlı su grubu hariç, toplam üç uygulama grubu olan denemede 55 gün süreyle artan oranlarda (%0,2, 0,4 ve 0.8) inülin ilaveli yemlerle beslenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, inülin katkılı yemlerle beslenen gruplarda büyüme ve yem değerlendirme oranlarında

iyileşmeler gözlemişlerdir. 16 ppt tuzluluk seviyesinde yetiştirilen ve %0,4 inülin eklenmiş yemle beslenen grubun, tatlı su grubu dahil olmak üzere diğer gruplarına kıyasla büyüme oranı, süperoksit dismutaz, katalaz, amilaz ve proteaz gibi parametrelerinin anlamlı ölçüde bir artış söz konusu olduğu kaydetmişlerdir. Ayrıca inülinin yüksek tuzluluk seviyelerinin neden olduğu oksidatif stresi ve bağırsak mikrobiyotası bozulmasını iyileştirdiğini de ileri sürmüşlerdir.

2.4 Tilapya Yetiştiriciliğinde Simbiyotiklerin Kullanımı

Simbiyotikler, balık sağlığını olumlu yönde etkileyen probiyotikler ve prebiyotiklerin bir kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır (Gibson ve Roberfroid 1995). Başka bir deyişle simbiyotikler; probiyotikler ve probiyotiklerin karışımı sonucunda sinerjik etki oluşturmak olarak da ifade edilmektedir (Huynh vd. 2017). Genel olarak immünostimülanlar gibi simbiyotikler de yem ilavesi yoluyla ya da doğrudan yetiştiricilik suyuna eklenerek uygulanabilmektedir. Simbiyotikler sadece balık sağlığını olumlu yönde etkilemekle kalmayıp aynı zamanda büyüme performansını, yem değerlendirme oranını, yemin sindirilebilirliğini, bağışıklığı ve hastalık direncini iyileştirdiği kanıtlanmıştır (Dehaghani vd. 2015). Bu bölümde Nil tilapyası için simbiyotiklerin kullanımına ilişkin önceki çalışmalara yönelik bilgiler sunulmuştur.

Dawood vd. (2020), simbiyotiklerin (*Aspergillus oryzae* ve β -glukan) tilapyanın (*O. niloticus*) büyümesi, antioksidan enzimleri ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. İki aylık denemelerinde dört ayrı yemleme sistemi oluşturarak Kontrol; 1 g/kg *A. oryzae* ve 1 g/kg β -glukan katkıları yanında simbiyotik grubu (0,5 g/kg *A. oryzae* + 0,5 g/kg β -glukan) olarak da bakteri ve prebiyotik karışımı kullanmışlardır. Deneme sonunda immünostimulant ilaveli yemle beslenen grupların büyüme (canlı ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı ve protein verimlilik oranı) ve yem değerlendirme oranı bakımından kontrol grubundan daha iyi sonuçlar elde edildiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca simbiyotik eklenmiş yemlerle beslenen grubun bağırsak villus uzunluğunda da iyileşme belirlendiğini bildirmişlerdir.

Azevedo vd. (2016), tilapyada (*O. niloticus*) ($4,0 \pm 0,28$ g) 45 günlük bir deneme ile probiyotik (*B. subtilis*) ve prebiyotik (MOS) kullanımının (kontrol, 2 g/kg *B. subtilis*, 2 g/kg MOS ve 2 g/kg *B. subtilis* + 2 g/kg MOS) büyüme, yem değerlendirme oranı ve vücut kompozisyonunu üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Sonuçta probiyotik, prebiyotik ve simbiyotik içeren yemlerle beslenen grupların kontrol grubuna kıyasla canlı ağırlık, yem değerlendirme oranı, et verimi ve protein oranı açısından daha iyi değerlere ulaştıklarını belirtmişlerdir. Özellikle simbiyotik katkılı yemlerle beslenen balıkların bağırsak villus uzunluğunun diğer gruplara göre arttığını da rapor etmişlerdir.

Hassaan vd. (2014), simbiyotiklerin (*B. licheniformis* ve *S. cerevisiae*) tilapyanın (*O. niloticus*) büyüme, hematolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine etkilerini göstermek üzere 12 hafta boyunca süren bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmanın sonunda, simbiyotiklerin büyüme performansını iyileştirdiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, simbiyotik dozu ($0,48 \times 10^6$ CFU/g *B. licheniformis* ve %1 ekmek mayası) içeren yemlerle beslenen grubun vücut bileşenleri yönünden olumlu bir farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Mohammadi vd. (2022), fıstık kabuğundan elde edilen polisakkarit ve probiyotik bir bakteri türü olan *Pediococcus acidilactici* ile takviye edilmiş yemlerle beslenen tilapyanın (*O. niloticus*) bağışıklık tepkisini ve büyüme performansını incelemişlerdir. Kontrol grubu hariç, üç yem katkısının (%0,1 polisakkarit, %0,2 *P. acidilactici* ve simbiyotik olarak ikisinin kombinasyonu) 56 gün sonundaki etkilerini ortaya koymuşlardır. Sonuçları kontrol grubuna kıyasla tüm uygulama grupların yaşama oranlarının daha iyi olduğunu ve simbiyotik takviyeli yemlerle beslenen grupta büyüme performans endeksleri bakımından diğer gruplara göre anlamlı ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca simbiyotik ilaveli yemlerle beslenen grupta bağışıklık parametrelerinin de diğer gruplara göre daha yüksek bulunduğunu rapor etmişlerdir.

2.5 Tilapya Yetiştiriciliğinde Biyoyumak Unu Kullanımı

Biyoyumak teknolojisinin yan ürünü olduğu bilinen biyoyumak unu, yetiştiricilik tanklarındaki askıda katı maddeler, heterotrofik bakteriler, omurgasızlar, balık dışkıları

ve fazla besin maddelerden oluşturmaktadır (Avnimelech 2009). Yetiştiricilik sistemlerde aşırı biyoyumak oluşumu su kalitesi sorunları yaratmaktadır. Bunu önlemek için tanklarda oluşan fazla askıda katı maddelerin plankton ağı (50-100 mikro metre) kullanılarak uzaklaştırılması gerekmektedir (Bauer vd. 2012). Toplanan bu biyoyumak unu, önemli miktarda ham protein içerdiğinden yetiştiricilik faaliyetlerinde alternatif bir besin kaynağı olarak kullanabildiği gibi, büyüme performansını ve balık refahını artırabilecek yem katkı maddeleri olarak da kullanılabilir (Kuhn vd. 2010). Ticari yemler yetiştiricilikte üretim maliyetinin yaklaşık %60'ından fazlasını oluşturduğundan su ürünleri yetiştiriciliğinde yem katkı maddelerinin etkin kullanımı sonucu elde edilecek ürün miktarının artırılması avantaj yaratabilecek önemli bir konudur (Shao vd. 2017). Yetiştiricilikte hayvan sağlığını olumlu yönde etkilemek için yem takviyesi olarak kullanılan biyoyumak ununun bilinen yararıyla etkilerine rağmen, biyoyumak ununun tilapya üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için yapılan kapsamlı araştırmalar sınırlıdır. Sınırlı da olsa biyoyumak ununun tilapya (*O. niloticus*) üzerindeki etkilerini ve kullanımını değerlendiren çalışmalara ilişkin bilgiler aşağıda sunulmuştur.

Prabu vd. (2018), tilapya (*O. niloticus*) yemine biyoyumak unu eklenmesinin büyüme ve yaşama oranlarına etkisini belirlemişlerdir. Kontrol grubu hariç olmak üzere, üç uygulama rasyonuna artan oranlarda biyoyumak unu (%20, 30 ve 40) ilave etmişler ve 60 gün süreyle balıklarla beslenmiştir. Çalışmanın sonunda %20 biyoyumak unu içeren yemlerle beslenen grubun son canlı ağırlığı, spesifik büyüme oranı, protein etkinlik oranı ve yem değerlendirme oranı açısından diğer gruplara göre anlamlı ve iyi sonuçlar elde edildiğini ifade etmişlerdir.

Ekasari vd. (2018), biyoyumak unu ilaveli yemlerle beslenen tilapya (*O. niloticus*) ve sazan (*Cyprinus carpio*) balıkların yem sindirilebilirliğini ve yemden yararlanmaları değerlendiren bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında, %29,03 ham protein içeren ticari yem ve %30 biyoyumak unu katkılı deneme yemini, 28 gün boyunca başlangıç ortalama ağırlıkları $10,26 \pm 0,04$ g olan tilapya ve sazanlara uygulamışlardır. Araştırmalarının sonunda kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, %30 biyoyumak unu ilaveli yemlerle beslenen grupların protein, lipid ve fosfor sindirilebilirliğini açısından pozitif etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ancak, %30 biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen

tilapya ve sazanların kuru madde sindirilebilirliğinin kontrol gruplarına göre daha düşük bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Prabu vd. (2017a), tilapyları (*O. niloticus*) biyoyumak unu ve triptofan takviyeli yem ile 60 gün süreyle beslenmenin büyüme ve yaşama oranları üzerindeki etkisi değerlendirmişlerdir. Araştırma sonunda, uygulama grupları arasında, %20 biyoyumak unu ve %0,3 triptofan içeren diyetlerle beslenen grupta herhangi bir yan etki olmaksızın iyi büyüme ve yaşama oranı parametreleri elde ettiklerini kaydetmişlerdir.

Prabu vd. (2017b), tilapyların (*O. niloticus*) yemine biyoyumak unu ve lizin eklenmesinin etkilerini 60 günlük besleme neticesinde incelemişlerdir. %20 biyoyumak unu ve %1,2 lizin seviyesindeki takviyenin kontrol gruba göre büyümeye ve yaşama oranlarına pozitif etki yaptığını bildirmişlerdir.

Önceki çalışmalar yetiştiricilik faaliyetlerinde bağışıklık uyarıcı yem katkılarının uygulanmasının tilapyanın büyüme performansı üzerine pozitif bir etki yarattığı göstermektedirler.

Bu yüksek lisans tez çalışmasıyla farklı tuzluluklardaki tilapya (*Oreochromis niloticus*) yetiştiriciliğinde simbiyotik ile biyoyumak unu kullanımının büyüme performansı, bağırsak histomorfolojisi ve sindirim kanalı mikrobiyota çeşitliliği üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Canlı Materyal

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama Ünitesi'nde bulunan $21,52 \pm 2,21$ g canlı ağırlığa ulaşmış, 180 adet tilapya (*Oreochromis niloticus*), canlı organizma olarak kullanılmıştır. Bu tez çalışması, Hayvan Deneyleri merkezi etik kurulunun 2021-124 dosya numaralı ve 2021-20-178 karar numaralı ile 24.11/2021 tarihli toplantısında onaylanmıştır.

3.2 Araştırmanın Yeri ve Yetiştiricilik Ortamı

Deneme, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Araştırma ve Uygulama biriminde yapılmıştır. Bu deneme için 18 adet birbirine su geçişi olmayan 50 L hacimli fiberglas tank (su hacmi $0,05 \text{ m}^3$, $50 \times 40 \times 35$ cm) kullanılmıştır (Şekil 3.1.). Oksijenin balıkların büyümesi ve sağlığı için önemli bir rol oynadığı bilindiğinden, deneme sırasında tilapya için gerekli oranların altına düşmemesi için yoğun havalandırma ile günlük %5 su değişimi gerçekleştirmiştir.



Şekil 3.1 Sifonlama işlemi

Her tanka hava taşı ile havalandırma uygulanmıştır. Tanklardaki su sıcaklığı $26\pm1^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde ayarlanmıştır. Kuru hava üfleyen termostatlı ısıtıcı yardımıyla sıcaklık iklimlendirmesi temin edilmiştir. Çalışma boyunca, tanklardaki suların oksijen, pH, sıcaklık günlük ve amonyak ise haftalık olarak ölçülerek tanklardaki suyun aynı nitelikte tutulması sağlanmıştır. Bu çalışmada, tuzluluk su seviyeleri 0, 6 ve 18 ppt olacak şekilde planlanmıştır. Tuzluluk günlük 2 ppt artırılarak tuzluluğa uyum kademeli olarak sağlanmıştır. Ayrıca deneme sırasında tuzluluk günde bir defa refraktometre ile kontrol edilmiştir.

3.3 Denemede Kullanılan Materyaller

Simbiyotik olarak *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces boulardii* ve *Lactobacillus acidophilus* (Bactolac Sıvı Probiyotik: TÜBİTAK tarafından geliştirmiştir. BM&Co Gıda tarım. Ltd. İstanbul ve Probiomax; İmuneks Farma, İstanbul) karışımı probiyotik ve MOS (Mannan oligosakkarit) ise prebiyotik olarak ilave edilmiştir. Bu karışıma detayları deneme planında verildiği şekliyle biyoyumak unu (ünitemizde yetiştirilmiş ve 40°C sıcaklıkta kurutulmuş un) da karmaya eklenmiştir.

Ayrıca denemede kullanılan diğer materyaller arasında; hava motoru (Resun marka LP-60 model), termostatlı ısıtıcı (Kumtel marka 2000 W), hava hortumu, çözünmüş oksijen-sıcaklık- pH ölçüm cihazı (YSI model), toplam amonyak azotu tayin cihazı (Hanna İris Fotometre), bazal yem (%42 ham proteinli), hassas terazi (Radwag marka PS 360.R2 model), deniz tuzu (ReeFlowers, İstanbul), milimetre taksimatlı cetvel ve diğer laboratuvar sarf malzemeleri yer almaktadır.

3.4 Deneme Planı

Denemede farklı tuzluluklarda (0, 6 ve 18 ppt) tek doz simbiyotik ve biyoyumak unu kombinasyonunun etkilerini test etmek üzere kontrol grupları dahil toplam 6 grup oluşturulmuştur. Uygulama gruplarına 1 kg yem için probiyotik karışımı (*Lactobacillus plantarum* 10 ml $1,5\times10^9$ cob/g, *Saccharomyces boulardii* 250 mg 5×10^9 cob/g ve *Lactobacillus acidophilus* 25 mg 5×10^9 cob/g), prebiyotik olarak MOS (2 g/kg yem) ve

biyoyumak unu (3 g/ kg yem) ilave edilmiştir. Bu deneme için 18 adet fiberglas tanklar kullanılmıştır. Her bir tanka 10 adet tilapya stoklanmıştır (Çizelge 3.2.). Buna göre stok oranı 200 adet/ m³ olarak hesaplanmıştır. (18 adet tanka toplamda 180 adet tilapya stoklanmıştır).

Çizelge 3.1 Deneme planı (6 grup, 3 tekerrürlü, 85 gün)

Gruplar	Stok oranı	Tekerrür
Tatlı su (Kontrol)	10 adet/0,05 m ³	3
Tatlı su (probiyotik karışımı + MOS + Biyoyumak unu)	10 adet/0,05 m ³	3
Acı su (Kontrol)	10 adet/0,05 m ³	3
Acı su (probiyotik karışımı + MOS + Biyoyumak unu)	10 adet/0,05 m ³	3
Deniz su (Kontrol)	10 adet/0,05 m ³	3
Deniz su (probiyotik karışımı + MOS + Biyoyumak unu)	10 adet/0,05 m ³	3

Bu çalışmada %42 ham protein, %22 ham yağ, %10 nem ve %12 ham kül (Abalıoğlu yem A.Ş. Manisa) içeren alabalık için formüle edilmiş ticari bir yem bazal yem olarak kullanılmıştır. Ticari yem bir değirmenden geçirilip un haline getirildikten sonra yem katkıları ilave edilerek homojen bir karışım elde edilmiştir. Bu karışım hamur kıvamına kadar distile su ile karılmış ve bir kıyma makinesi kullanılarak 3 mm çapında ve 1-2 mm uzunlukta peletlenmiştir. Peletler 40°C hava üflemeli etüvde 24 saat süreyle kurutulmuştur. Aynı işlemler kontrol yemine de uygulanmıştır. Tilapya (O. niloticus), günde iki kez doyana kadar (*ad libitum*) bu yemi ile beslenmiştir. Tüketilmeyen yemler tanklardan sifon yardımı ile uzaklaştırılmıştır (günlük olarak %5 düzeyinde su yenilemesi yapılmıştır).

3.5 Su Kalitesi Takibi ve Analizi

Günlük olarak çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH ölçümleri dijital göstergeli prob kullanılarak (YSI model) belirlenmiştir. Haftalık olarak da toplam amonyak azotu analizleri spektrofotometrik yöntemin uygulandığı (Hanna İris Fotometre) kitlerle

yapılmıştır. Bu denemede pH 6,8-7,4 aralığında, su sıcaklığı $26\pm1^{\circ}\text{C}$, toplam amonyak miktarı $0,45\pm0,17$ mg/L, çözülmüş oksijen miktarı ise $5,7\pm0,8$ mg/L olarak ölçülmüştür.

3.6 Büyüme Performansı

85 gün süreyle yapılmış bu çalışmada büyüme performansı, iki haftada bir biyomas ölçümü ile belirlenmiştir. Tartımlardan önce 1 gün aç bırakılarak, tilapyelerin ağırlıkları hassas terazi ile ölçülenmiştir. Elde edilen veriler aşağıdaki formüllerle değerlendirmiştir.

Spesifik büyüme oranı = $[\ln(\text{son canlı ağırlığı}) - \ln(\text{başlangıç vücut ağırlığı})] / \text{deneme gün sayısı} \times 100$

Yem değerlendirme oranı = $(\text{ağırlık kazancı} / \text{yem tüketimi}) \times 100$

Yaşama oranı = $[(\text{deneme başı karides sayısı} - \text{deneme sonu karides sayısı}) / \text{deneme başı karides sayısı}] \times 100$

Canlı ağırlık kazancı = $(\text{deneme sonu vücut ağırlık} - \text{deneme başı ağırlık})$

3.7 Vücut Kompozisyonu

Her gruptan 3 adet balık ötenazi (50 mg/L dozunda karanfil yağı ile derin anestezi) sonrası vücut ve iç organ tartımları kaydedildikten sonra dondurularak (-24°C), vücut kompozisyonlarının belirlenmesi için kullanılmıştır.

Nem tayini AOAC prosedürlerine göre fan destekli etüvde, ham yağ tayini soksalet ekstrasyon yöntemiyle, ham protein tayini Kjeldahl analiziyle, ham kül tayini ise kül fırınında yapılmıştır.

Ham protein içeriğinin saptanması: Örneklerin protein içeriği Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir. Kjeldahl azot tayin metodu aşağıda anlatılan yöntemle yapılmıştır. Örnek (0,5 g), kjeldahl sindirim tüpleri içerisine yerleştirilmiş, tüpler içerisine 1 adet Kjeldahl

katalizör tableti ve 15 mL sülfürik asit (H₂SO₄) eklenmiştir. Sindirim bloğunda gerçekleştirilmiştir. Sindirim tüpleri ilk önce 250°C’de 30 dakika ardından da 380°C’de 75 dakika yakılmıştır. Sindirimden sonra soğuyan örnekler, Distilasyon ünitesinde distile su ve nötralize edilmiş %40’lık Sodyum Hidroksit (NaOH) çözeltisi ile seyreltilmiştir. Örneklerdeki inorganik amonyum 25 mL doymuş orthoborik asit çözeltisine metilen kırmızısı ve yeşilinden oluşan indikatör eklenmiştir ve örneklerdeki inorganik amonyum toplanmıştır. Örnekler 0,1 molluk hidroklorik asit (HCl) ile titrasyon yapılmıştır.

Kuru örneklerdeki protein yüzdesi (% Ham Protein = [titrasyonda harcanan – kör örnek] x 0,1 x 14,007 x 6,25 / örnek ağırlığı x 100) hesaplanmıştır.

Formülde; 0,1 = HCl mol olarak değerini, 14.007 = Nitrojenin molekül kütlesi ve 6.25 = örneğin nitrojen ve protein içeriği arasındaki ilişkiyi belirleyen sabit katsayıdır.

Ham yağ içeriğinin saptanması: Örneklerin yağ içeriği otomatik yağ tayin cihazında soksalet ekstrasyon yöntemiyle belirlenmiştir. Soksalet ekstrasyon işlemini yürütmek amacıyla, 3 g kuru madde tartılmış ve soksalet kartuşuna yerleştirilmiştir. Örnek, 50 mL petrol eteri ile 40 dakika boyunca sifonlama işlemine tabii tutulmuş petrol eteri yağ baloncuğunda toplanmıştır. Bu işlemden sonra yaklaşık 70 dakika sirkülasyon olayı devam edilmiştir. Bu periyottan sonra tekrar sifonlama işlemi olmuş ve yağ baloncuğunda geriye kalan çözelti, buharlaşma yoluyla uzaklaştırılmıştır. Yağ baloncuğunun ağırlık değişimi örneğin yağ içeriğini orantılı olarak vermiştir. Burada yağ oranı aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

Kuru maddedeki yağ oranı (% Ham yağ = Yağ balonunda biriken yağ miktarı (g) / Örnek ağırlığı (g) x 100)

Ham kül içeriğinin saptanması: 500 mg kuru örnek tartılmış ve bir porselen kaba konacak ve kül fırınında 525°C’de 8 saat yakma işlemine tabii tutulmuştur. Porselen kapların ağırlık değişimine dayanarak örneğin kül içeriği aşağıda formül ile hesaplanmıştır.

% Ham kül içeriği = Porselen kaptaki ağırlık değişimi (g) / Örnek ağırlığı (g) x 100

3.8 Histolojik Analizler

Vücut kompozisyonu analizi için alınan örneklerden ikişer tanesinin ince bağırsak ve karaciğer dokuları pens ve makas yardımıyla kesilip plastik vida kapaklı (20 mL) kapların içine 1/20 oranında fiksatif (tamponlu formaldehit) içerisine alınmıştır. 48 saatlik fiksasyonu takiben dokular histolojik takibe alınmışlardır. Takip öncesi dokular doku takip kasetlerine etiketlenerek yerleştirilmiş ve artan oranlarda etil alkol (%70-96) ile dehidrasyon, ksilen serileri ile şeffaflaştırma sonrası parafin serileri ile parafinin içerisine gömme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamadan sonra mikrotom (Thermo Shandon) kullanılarak yaklaşık 5 µm'lik kesitler alınmış, deparafinizasyon, hidrasyon aşamalarından sonra Hematoksilen ve Eosin ile boyanarak entellan ile kapatılmış, trinoküler ışık mikroskopunda (CM40 Leica) incelenmiş ve değerlendirmeler için mikrofotograflar (MicroCam) kaydedilmiştir (Genc vd. 2007; Kaya vd. 2019a; 2019b).

3.9 Sindirim Kanalı Bakteri Çeşitliliği Analizi

Balıkların anal bölgesine uygulanan hafif bir baskıyla toplanan dışkıları; içinde RNAlater bulunan eppendorf tüplerine etiketlenerek alınmıştır. Bağırsak içerik örneği 20 mL steril serum fizyolojik solüsyonu içinde steril tüp içinde süspanse solüsyon haline getirildikten sonra şırınga veya peristaltik pompa yardımıyla çekilip ayrı ayrı kapalı filtrelerden geçirilmiştir. Bu sayede kontaminasyon en düşük seviyede tutulmuştur. Her örnekten 2 adet filtrasyon (tekerrür) gerçekleştirilmiştir (Kaya vd. 2020). DNA İzolasyonlarında Spens vd. (2016) tarafından DNeasy® Blood & Tissue kit (QIAGEN, Stockach, Germany) kullanılarak geliştirilen protokol modifiye edilerek uygulanmıştır. Kütüphane hazırlaması için İzolasyon sonrasında her bir örnekteki 16S rDNA V3-V4 bölgelerinin zenginleştirilmesi için 16S Forward ve 16S Forward Reverse kodlu 16S Universal Eubacterial primerler kullanılmıştır. Dizileme uygulaması için Illumina iSeq 100 yeni nesil dizileme platformunda (Illumina, CA, USA), iSeq 100 i1 Reagent kiti ile çift yönlü (2x150bp) okuma, üretici firma yönergeleri takip edilerek kullanılmıştır. Hizalama sonrasında her bir örnekteki OTU grupları belirlenmiştir.

3.10 İstatistiki Analizler

İstatistiki analizler ve değerlendirmede her deneme grubuna ait elde edilen verileri test etmek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Analiz sonucunda söz konusu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için işlem sonrası (post hoc) testlerden Duncan testi uygulanmıştır. Tüm testler için anlamlılık düzeyi (α) 0,05 olarak belirlenmiştir (sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir) ve testlerin öncesinde teste ilişkin sayıltılar (normal dağılım, varyansların homojenliği v.b.) test edilmiştir. İstatistiki analizler SPSS 12 istatistik paket programı ile gerçekleştirilmiştir (Colman ve Pulford 2006).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Büyüme Parametreleri

85 gün süreyle yürütülen denemenin sonunda simbiyotik ve biyoyumak unu ilaveli yemlerle beslenen tilapya ve bunların kontrolleri arasında son canlı ağırlık (CAs) ve canlı ağırlık kazancı (CAK) bakımından istatistiki açıdan anlamlı bir farklılığın söz konusu olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Büyüme performansına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.1.'de sunulmaktadır. Yapılan karşılaştırmada, gruplar arasında en yüksek son canlı ağırlığın (CAs: $42,70\pm3,25$ g) tatlı suda yetiştirilen ve simbiyotik + biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen tilapya grubunda elde edildiği görülmüştür. En düşük son CAs ise $37,13\pm5,79$ g ile deniz suyu grubunda 18 ppt tuzluluk seviyesinde yetiştirilen ve yem katkısı uygulanmayan kontrol grubundan elde edilmiştir (Şekil 4.1). Benzer bir şekilde, CAK bakımından acı su grupları ile tatlı su kontrol grubu arasında önemli bir fark bulunmadığı buna karşın, tuzlu su grupları ile tatlı su grupları arasında anlamlı ölçüde yüksek bir farklılık olduğu kaydedilmiştir. Buna göre en yüksek CAK tatlı su simbiyotik grubundan $21,79\pm5,07$ g ile kaydedilirken, en düşük CAK değeri $15,65\pm6,00$ g ile deniz suyu kontrol grubundan belirlenmiştir (Şekil 4.2).

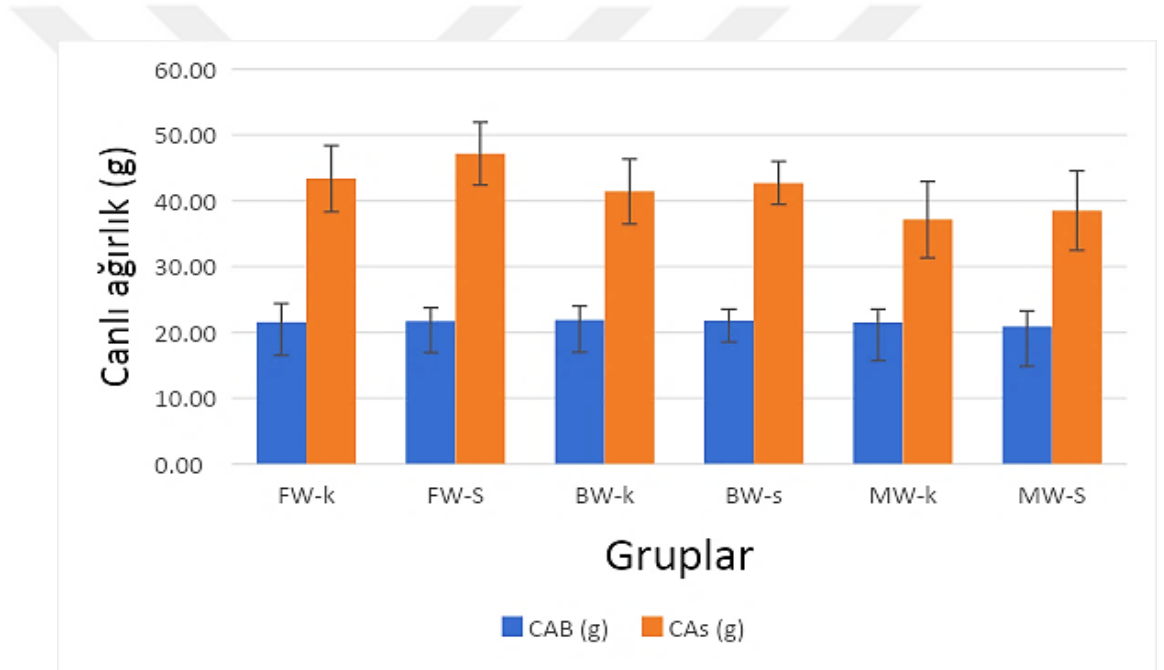
Çizelge 4.1 Farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapya grubunun büyüme parametreleri üzerine simbiyotik ve biyoyumak ununun etkileri

	Tatlı su (Fresh water)		Acı su (Brackish water)		Deniz suyu (Marine water)	
	Kontrol	Simbiyotik	Kontrol	Simbiyotik	Kontrol	Simbiyotik
CAb (g)	$21,54\pm2,85^a$	$21,65\pm2,04^a$	$21,89\pm2,07^a$	$21,73\pm1,81^a$	$21,48\pm2,04^a$	$20,87\pm2,36^a$
CAs (g)	$43,33\pm5,05^b$	$47,14\pm4,74^c$	$41,40\pm4,92^b$	$42,70\pm3,25^b$	$37,13\pm5,79^a$	$38,48\pm6,03^a$
CAK (g)	$21,79\pm5,07^c$	$25,49\pm5,12^d$	$19,51\pm5,70^{bc}$	$20,97\pm3,76^c$	$15,65\pm6,00^a$	$17,61\pm6,24^{ab}$
SBO	$0,88\pm0,19^{cd}$	$0,97\pm0,17^d$	$0,79\pm0,20^{bc}$	$0,85\pm0,14^{bc}$	$0,68\pm0,21^a$	$0,76\pm0,23^{ab}$
YDO	$1,38\pm0,08^{ab}$	$1,17\pm0,15^a$	$1,55\pm0,19^b$	$1,51\pm0,10^{ab}$	$2,00\pm0,26^c$	$1,64\pm0,26^b$
YO (%)	$100,00\pm0,00^a$	$100,00\pm0,00^a$	$100,00\pm0,00^a$	$100,00\pm0,00^a$	$90,00\pm17,32^a$	$100,00\pm0,00^a$

CAb: Başlangıç canlı ağırlığı (g), CAs: Son canlı ağırlık (g), CAK: Canlı ağırlık kazancı (g), SBO: Spesifik büyüme oranı (% g/gün), YDO: Yem değerlendirme oranı, YO: Yaşama oranı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur. Satırlardaki farklı harfler veriler arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

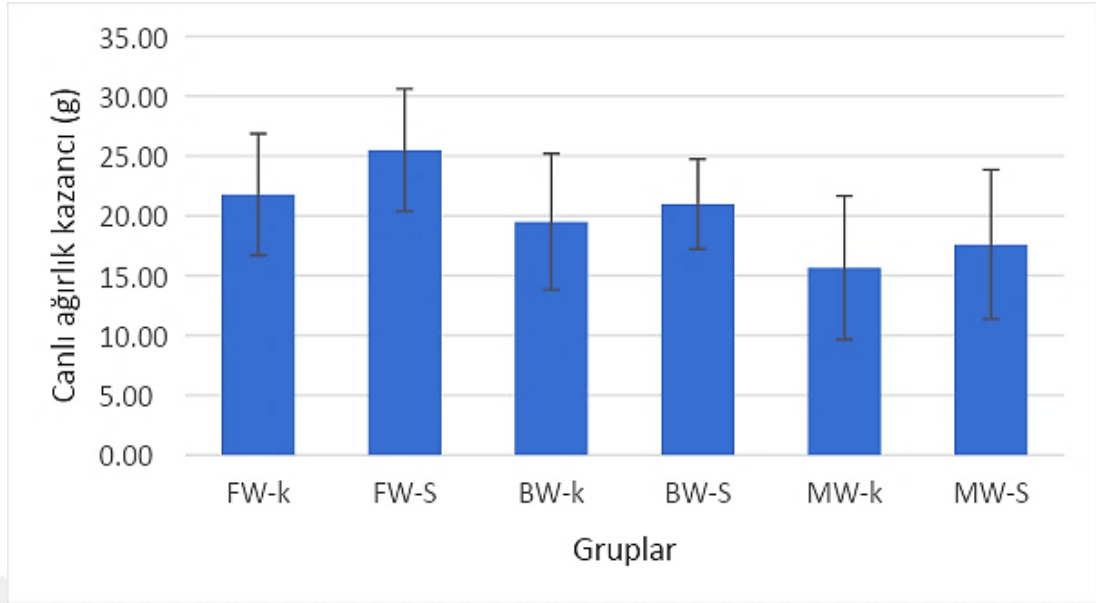
Genel bir bakışla, simbiyotik + biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen tüm grupların aynı tuzluluk koşullarında yetiştirilen kontrol grupları ile karşılaştırıldığında daha yüksek son canlı ağırlık (CAs) ve canlı ağırlık kazancı (CAK) değerlerinin elde edildiği izlenmiştir.

Deneme verileri incelendiğinde, spesifik büyüme oranı (SBO) bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunduğu ve en yüksek SBO değerinin $0,97 \pm 0,17\%$ g/gün ile tatlı sularda yetiştirilen gruplardan elde edildiği, en düşük değer $(0,68 \pm 0,21 \%$ g/gün) ise deniz suyu gruplardan kaydedildiği sonucuna varılmıştır ($p < 0,05$).



Şekil 4.1 Simbiyotik + biyoyumak ununun farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapyaaların canlı ağırlık üzerine etkileri

Yem değerlendirme endeksi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık ortaya çıktığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Yem değerlendirme oranı bakımından en düşük dolayısıyla en iyi oranı sırasıyla 1,17 ve 1,38 ile tatlı su koşullarında yetiştirilen uygulama ve kontrol gruplarından, en yüksek değer olan 2,00 ise deniz suyu kontrol grubundan belirlenmiştir. Bununla beraber, aynı tuzluluk koşullarında yetiştirilen kontrol ve uygulama grupları ile karşılaştırıldığında simbiyotik + biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen grupların YDO değerlerinin daha düşük olduğu ortaya çıkmıştır.

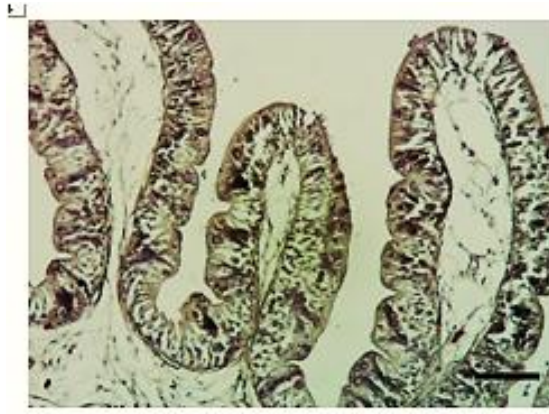


Şekil 4.2 Simbiyotik + biyoyumak ununun farklı tuzluluk seviyelerinde yetiştirilen tilapyaaların canlı ağırlık kazancı üzerine etkileri

Son olarak, istatistiki açıdan gruplar arasında hayatta kalma oranı bakımından farklılık bulunmadığı halde, deniz suyu kontrol grubunun diğer gruplara göre daha düşük hayatta kalma oranları gösterdiği kaydedilmiştir.

4.2 Karaciğer ve Bağırsak Histomorfolojisi

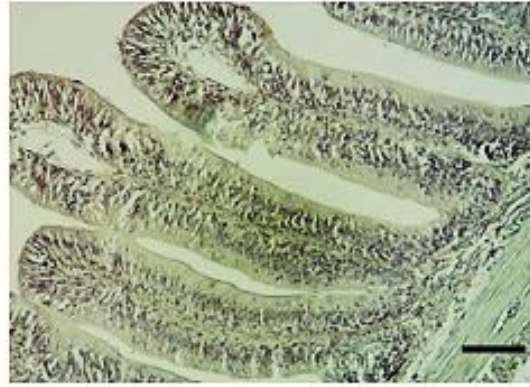
Farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen tilapyaalar üzerinde simbiyotiklerin etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmanın sonunda balık örneklerinden karaciğer ve bağırsak dokuları histomorfolojik kesitler üzerinden incelenerek simbiyotiklerin tuzluluktan kaynaklı olası değişikliklere karşı iyileştirmeleri değerlendirilmiştir. Tuzluluğun bağırsak ve karaciğer histomorfolojilerini olumsuz yönde etkilemediği değerlendirilmiştir. Bağırsak mukozası, villus ve kriptlerin epitelleri de tüm gruplar için genellikle normal olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3). Tatlı su tilapyaaların bağırsaklarında normal mukoza (Lamina epithelialis, Lamina propria ve Muscularis) izlendiğini ancak deniz suda yetiştirilen grubunda goblet hücrelerin sayısında hafif bir artış görülmektedir. Karaciğer histomorfolojisinde hepatik hücreler, kan damarları ve pankreas dokunun diffüz damarlar çevresindeki adacıkları normal olarak izlenmiştir (Şekil 4.4).



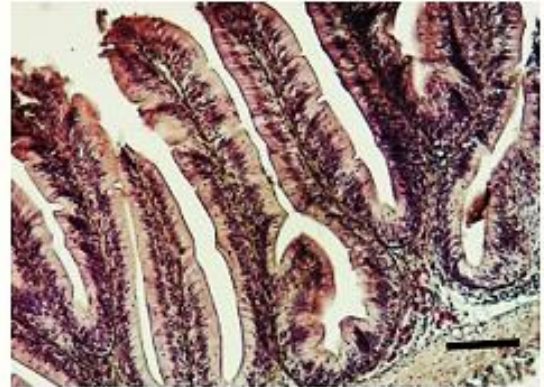
Tatlı su kontrol



Tatlı su simbiyotik + biyoyumak unu



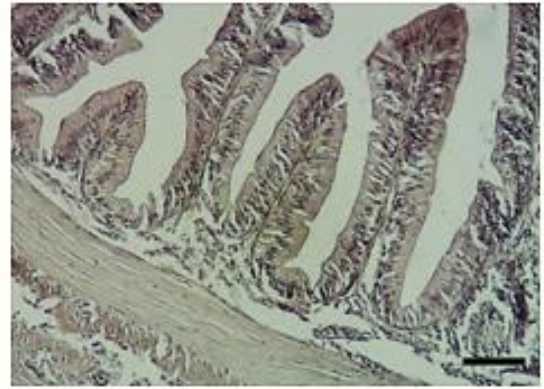
Acı su kontrol



Acı su simbiyotik + biyoyumak unu

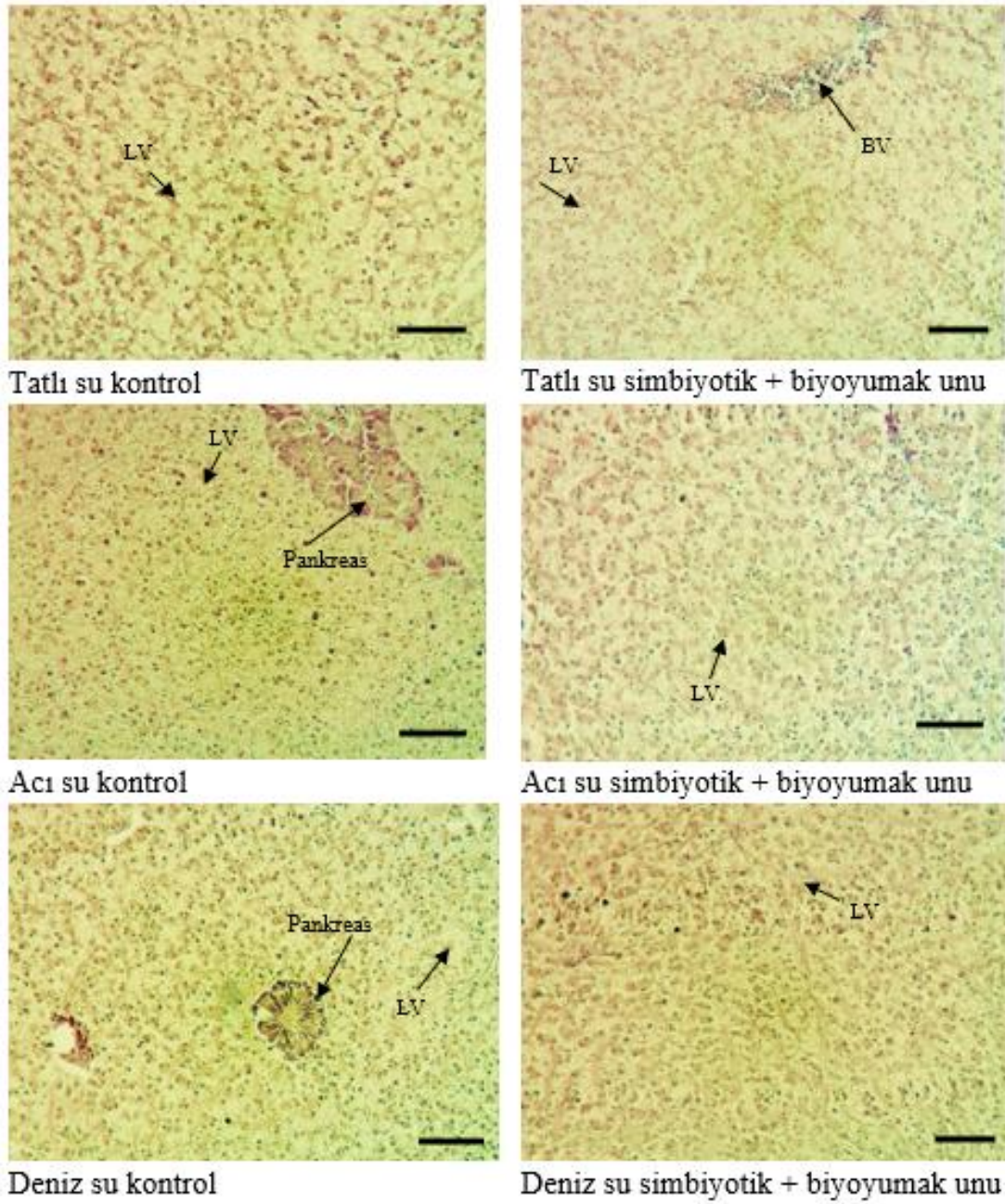


Deniz su kontrol



Deniz su simbiyotik + biyoyumak unu

Şekil 4.3 Farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyanın bağırsak histomorfolojisi. Simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemle beslenen (sağ taraf), kontrol yemle beslenen (sol taraf). Tatlı su tilapyelerinin bağırsaklarında normal mukoza (Lamina epithelialis, Lamina propria ve Muscularis) izlendiğini ancak deniz suya yetiştirilen grubun goblet hücrelerin arttığı görülmektedir. (Bar: 50 µm, x4, H&E, Orijinal)



Şekil 4.4 Farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyanın karaciğer histomorfolojisi. Simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemle beslenen (sağ taraf), kontrol yemle beslenen (sol taraf). Tüm grupların karaciğer histomorfolojisinde hepatik hücreler, lipid vakuelleri (LV), kan damarları (BV) ve pankreas dokunun diffüz damarlar çevresindeki adacıkları normal olarak izlenmiştir. (Bar: 50 μ m, x10, H&E, Orijinal)

4.3 Besin Madde Bileşen Analizi ve Bağırsaktaki Bakteri Sayısı

Çalışmamızın sonuçlarına göre besin madde bileşen analizleri açısından gruplar arasında istatistiki açıdan bir farklılığın ortaya çıktığı gözlenmiştir ($P<0,05$). Besin Madde Bileşen Analizine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.2.'de sunulmaktadır. Deneme verileri incelendiğinde ham protein ve yağ bakımından acı su ile deniz su grupları arasında önemli bir fark bulunmadığı buna karşın, tuzlu su grupları ile tatlı su grupları arasında anlamlı ölçüde bir farklılık olduğu kaydedilmiştir. Buna göre en yüksek ham protein ve yağ oranları sırasıyla $16,07\pm0,55$ ve $3,83\pm0,23$ olarak acı su koşullarında yetiştirilen ve simbiyotik+biyoyumak unu katkılı yemle beslenen gruptan elde edilirken en düşük protein ($14,97\pm0,49$) ve ham yağ ($3,33\pm0,15$) olarak tatlı su kontrol grubundan elde edilmiştir. Ayrıca ham kül açısından gruplar arasında belirgin bir farklılığın söz konusu olmadığı, ancak en yüksek ham kül değerinin ($3,57\pm0,35$) tatlı su kontrol grubundan belirlenirken en düşük değerin ($3,10\pm0,36$) ise acı su simbiyotik grubundan elde edildiği rapor edilmiştir.

Çizelge 4.2 Farklı tuzlulukta yetiştirilen tilapyaaların besin madde bileşen analizleri (%)

	Başlangıç	FW-K	FW-S	BW-K	BW-S	MW-K	MW-S
Protein	$13,73\pm0,35^a$	$14,97\pm0,49^b$	$15,40\pm0,26^{bc}$	$15,87\pm0,21^c$	$16,07\pm0,55^c$	$15,47\pm0,21^b^c$	$15,73\pm0,21^c$
Yağ	$2,67\pm0,06^a$	$3,33\pm0,15^b$	$3,53\pm0,15^{bc}$	$3,67\pm0,21^c$	$3,83\pm0,23^c$	$3,77\pm0,12^c$	$3,83\pm0,15^c$
Nem	$78,10\pm0,26^c$	$77,00\pm0,53^b$	$76,33\pm0,12^b$	$76,20\pm0,20^a$	$76,17\pm0,15^a$	$76,20\pm0,10^a$	$77,23\pm0,74^a$
Kül	$3,40\pm0,49^b$	$3,57\pm0,35^a$	$3,20\pm0,40^a$	$3,30\pm0,17^a$	$3,10\pm0,36^a$	$3,17\pm0,35^a$	$3,13\pm0,06^a$

Denemede tilapyaaların bağırsaklarındaki toplam bakteri yükünü de değerlendirmiştir. Çizelge 4.3'teki veriler incelendiğinde, farklı tuzluluklarda yetiştirilen tüm simbiyotik + biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen grupların kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ve oranla daha yüksek bakteri yükü elde edilmiştir. Ayrıca deniz ve acı su koşullarında yetiştirilen grupların tatlı su gruplarına göre bakteri sayılarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buna göre en yüksek bakteri yükü değerinin $2,53\pm0,36\times10^6$ CFU/g ile acı suda yetiştirilen ve simbiyotik+biyoyumak unu ilaveli yemle beslenen grubundan elde edildiği, en düşük değerin ($1,39\pm0,22\times10^6$) CFU/g ise tatlı su kontrol gruptan kaydedildiği sonucuna varılmıştır ($p<0,05$).

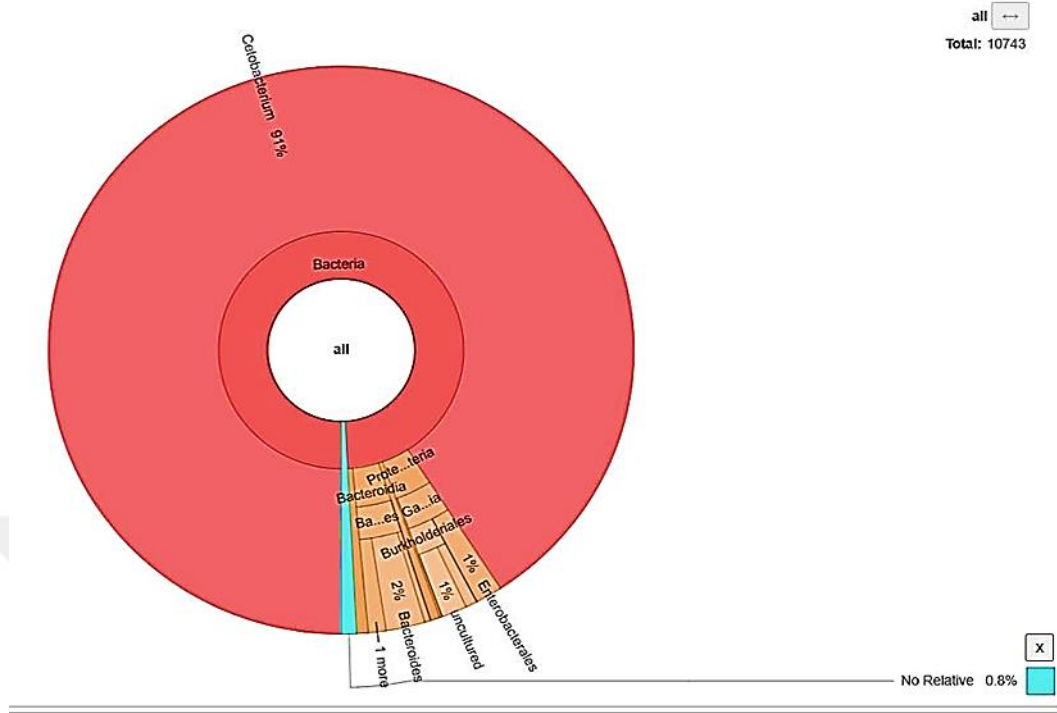
Çizelge 4.3 Farklı tuzlulukta yetiştirilen tilapyaaların toplam bakteri sayıları (CFU/g)

	FW-K	FW-S	BW-K	BW-S	MW-K	MW-S
Ortalama	1,39±0,22x10 ^{6a}	1,91±0,04x10 ^{6b}	1,51±0,23x10 ^{6a}	2,53±0,36x10 ^{6c}	1,47±0,18x10 ^{6a}	2,26±0,12x10 ^{6bc}

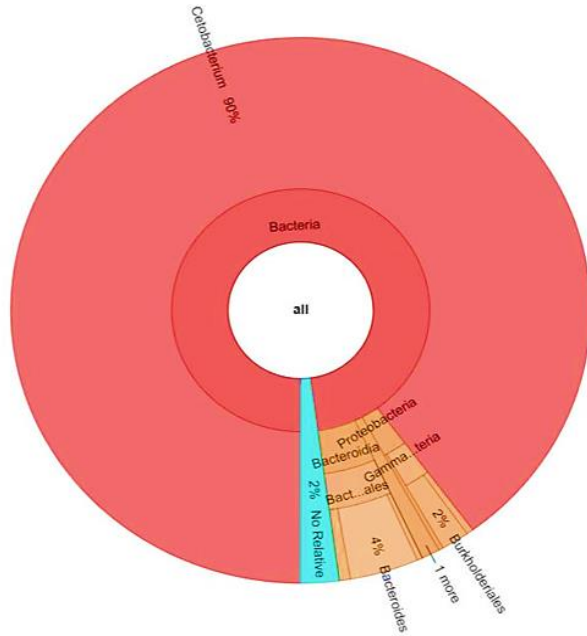
4.4 Sindirim Kanalı Mikrobiyota Analizi

Farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen tilapyaaların simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemle beslenen grupları ve uygulanmayanların bağırsak sistemindeki bakteriyel çeşitliliğin cinsi düzeyindeki dağılımına ilişkin yapılan biyoinformatik karşılaştırmalar aşağıda yer almaktadır (Şekil 4.5-4.14). Tüm grupların bakteri çeşitliliği göz önüne alındığında, Fusobacteriota filumu olan *Cetobacterium* cinsinin oransal bolluk açısından en bol bulunan bakteri grubu olduğu kaydedilmiştir. Buna göre tatlı su koşullarında yetiştirilen kontrol grubunun sindirim sisteminde (%91) bu bakterinin varlığına, simbiyotik katkılı yemle beslenen tatlı su grubunda ise (%90) bulunduğu tespit edilmiştir. Acı suda yetiştirilen kontrol ve simbiyotik grupları bakımından sırasıyla %83 ve 82 bulunurken, deniz suyunda yetiştirilen kontrol ve simbiyotik grupların sindirim sistemlerinde 83% ve 85% *Cetobacterium* varlığı kaydedilmiştir.

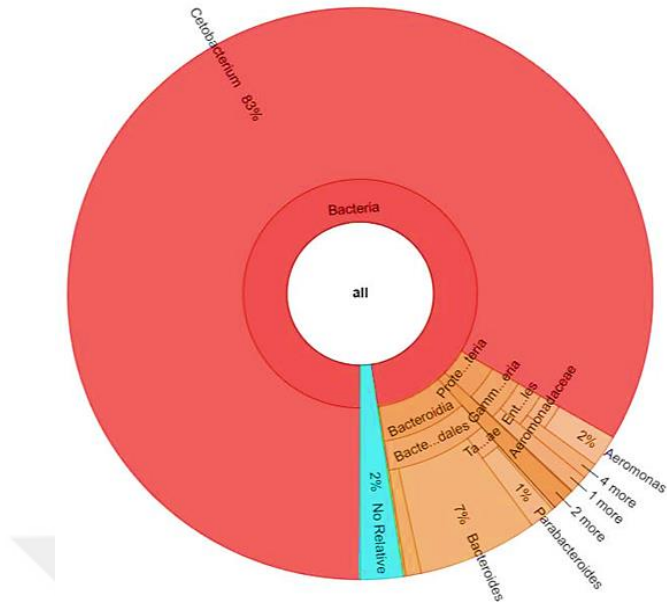
Proteobacter filumu tatlı suda yetiştirilen simbiyotik katkılı yemle beslenen (%6) ve kontrol grupların (%4) sindirim sisteminde en bol bulunan bakteri grupların ikinci sırasında yer almaktadırlar. Simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemle beslenen ve acı sularında yetiştirilen grupta en bol bulunan bakteri cinsileri *Aeromonas* (%5), *Bacterioid* (%4), ve *Parabacteroid* (%2) olarak sıralanabilir. Benzer şekilde acı su kontrolü (yem katkısız) koşullarında kültüre alınan grupta da *Bacterioid* (%7), *Aeromonas* (%2), ve *Parabacteroid* (%1) gibi bakteri cinsilerinin varlığı tespit edilmiştir. Deniz suyu (18 ppt) koşullarında yetiştirilen grupları bakıldığında, kontrol grubunun sindirim sisteminde en yaygın bakteri türleri arasında *Romboutsia* (%5), *Bacterioid* (%4), ve *Paraclostridium* (%3) yer alırken, deniz suyunda yetiştirilen ve simbiyotik katkılı yemle beslenen grubunda *Aeromonas* (%6), *Shewanella* (%3) ve *Bacterioid* (%3) gibi bakteri cinsileri gözlenmiştir.



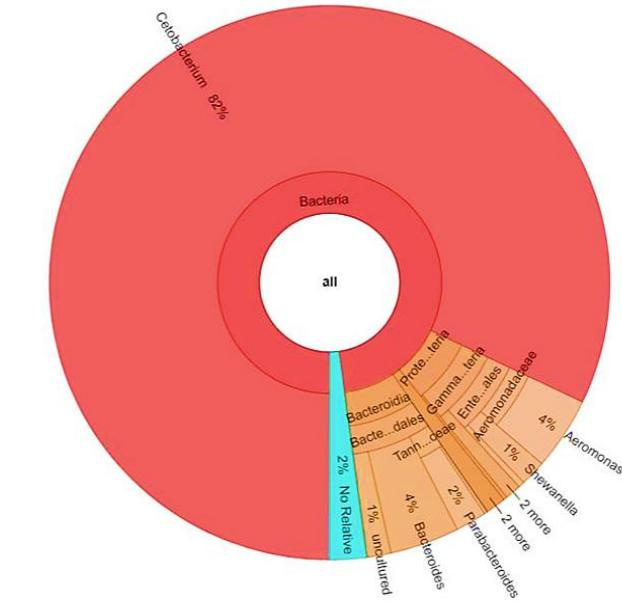
Şekil 4.5 Tatlı su kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



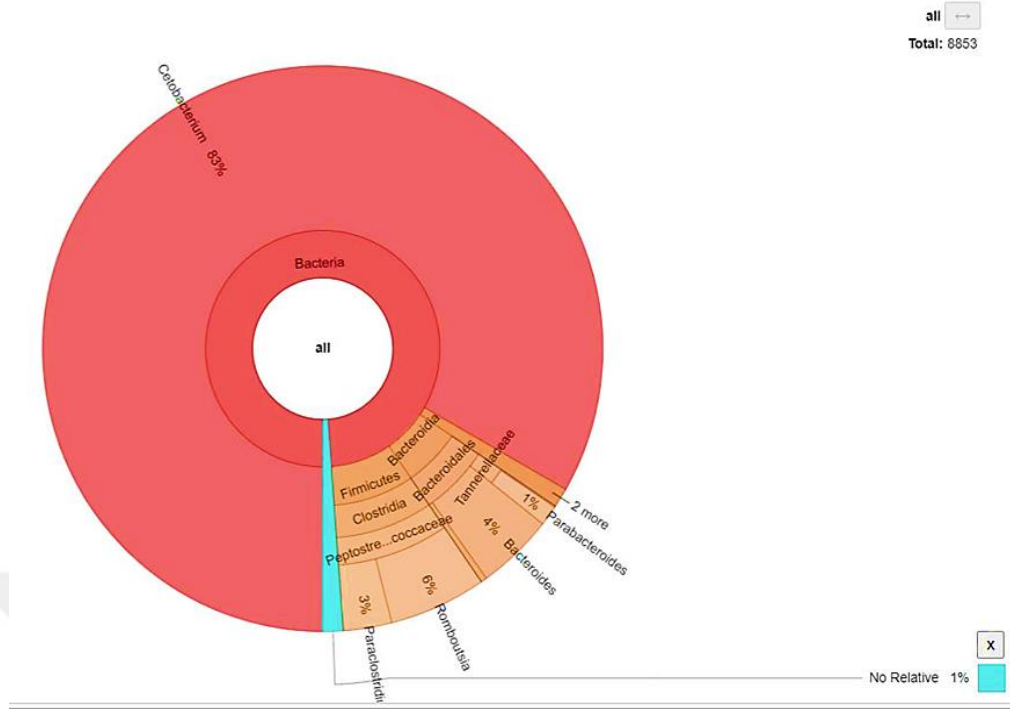
Şekil 4.6 Tatlı su simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



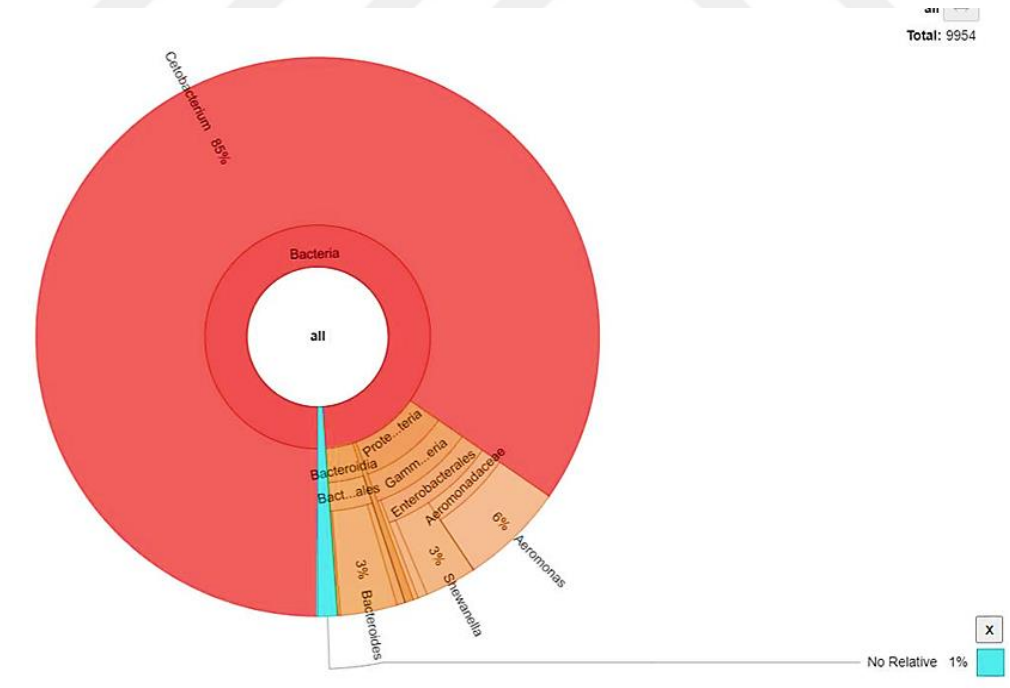
Şekil 4.7 Acı su (6 ppt) kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



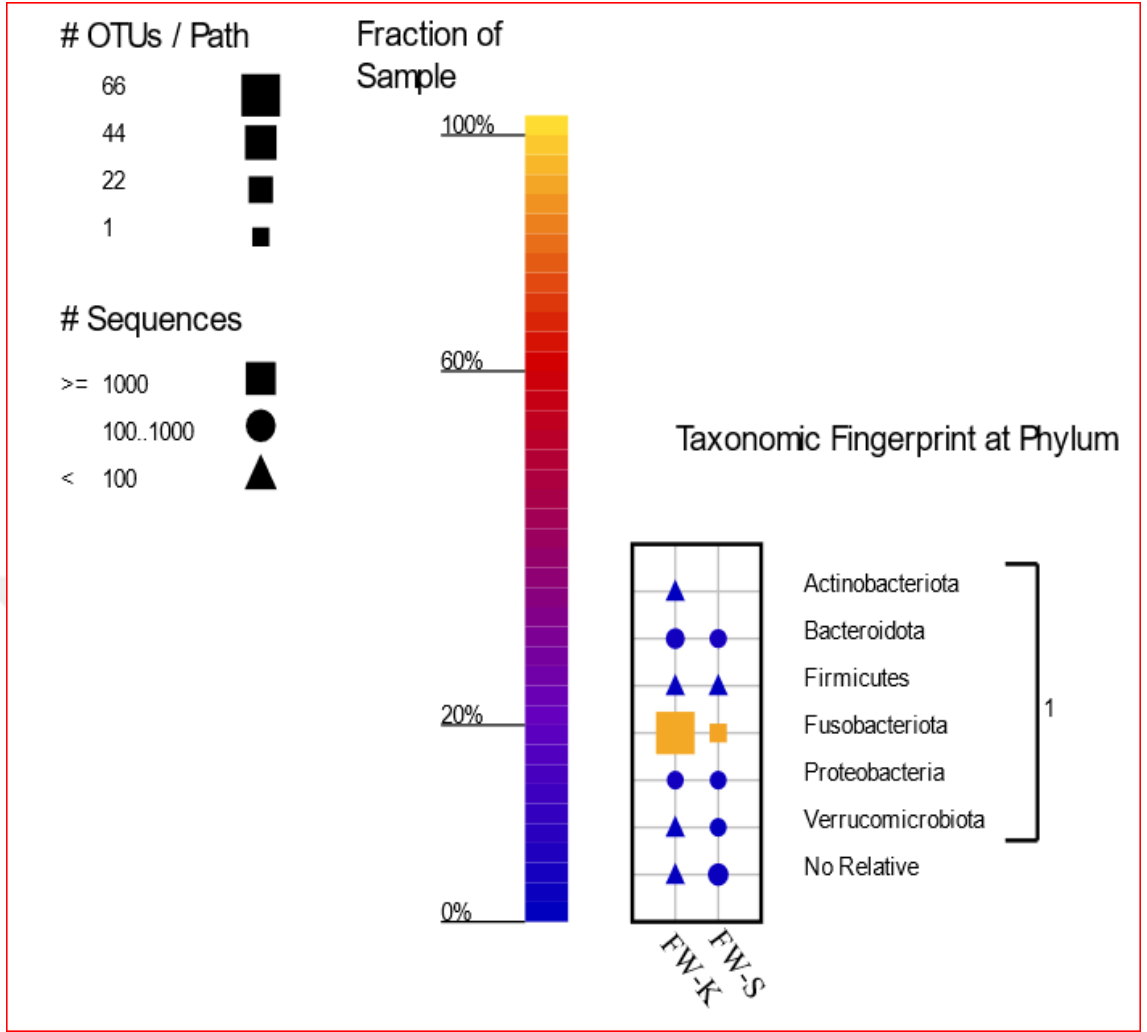
Şekil 4.8 Acı su (6 ppt) simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



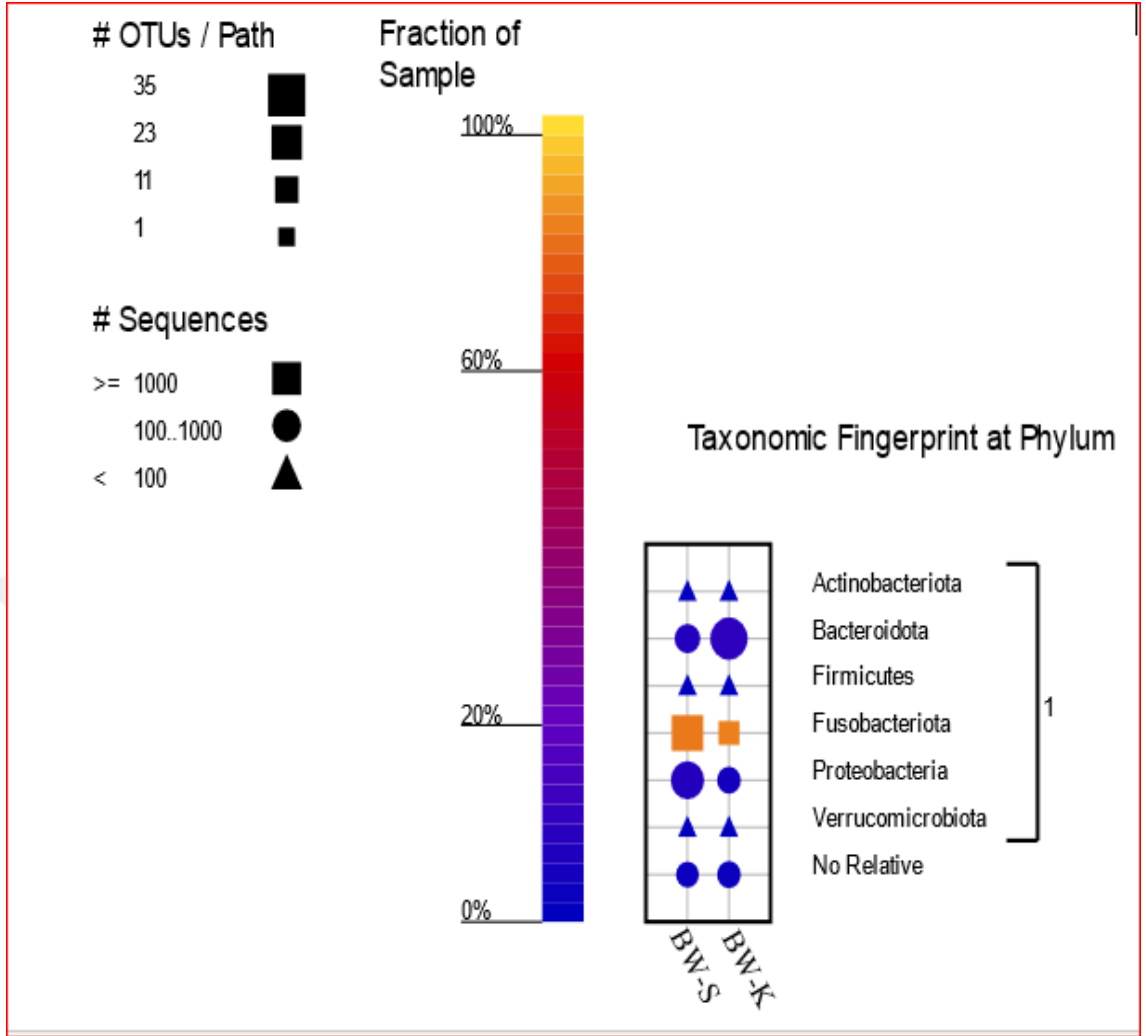
Şekil 4.9 Deniz suyu (18 ppt) kontrol grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



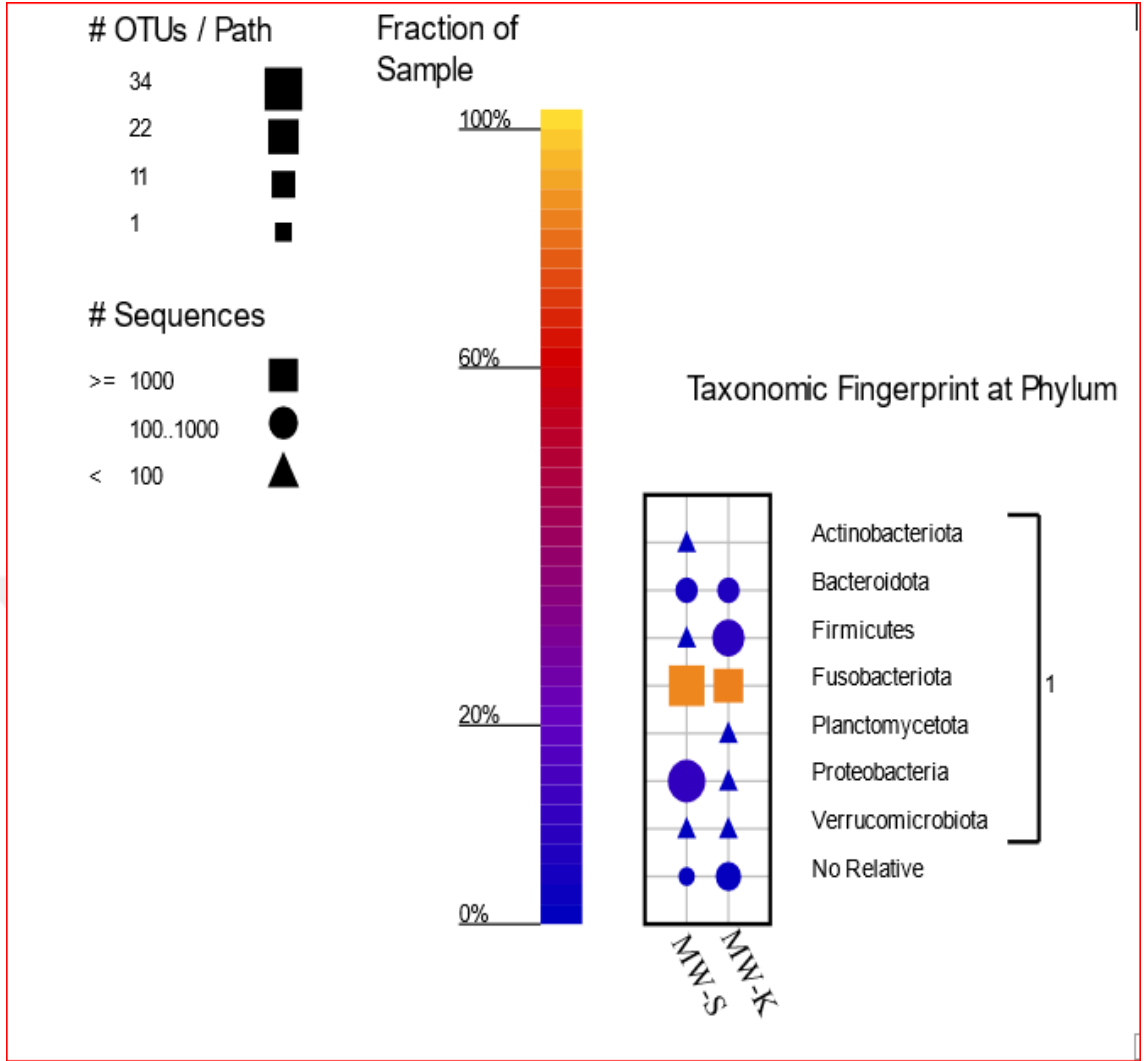
Şekil 4.10 Deniz suyu (18 ppt) simbiyotik grubu sindirim kanalı mikrobiyota profili



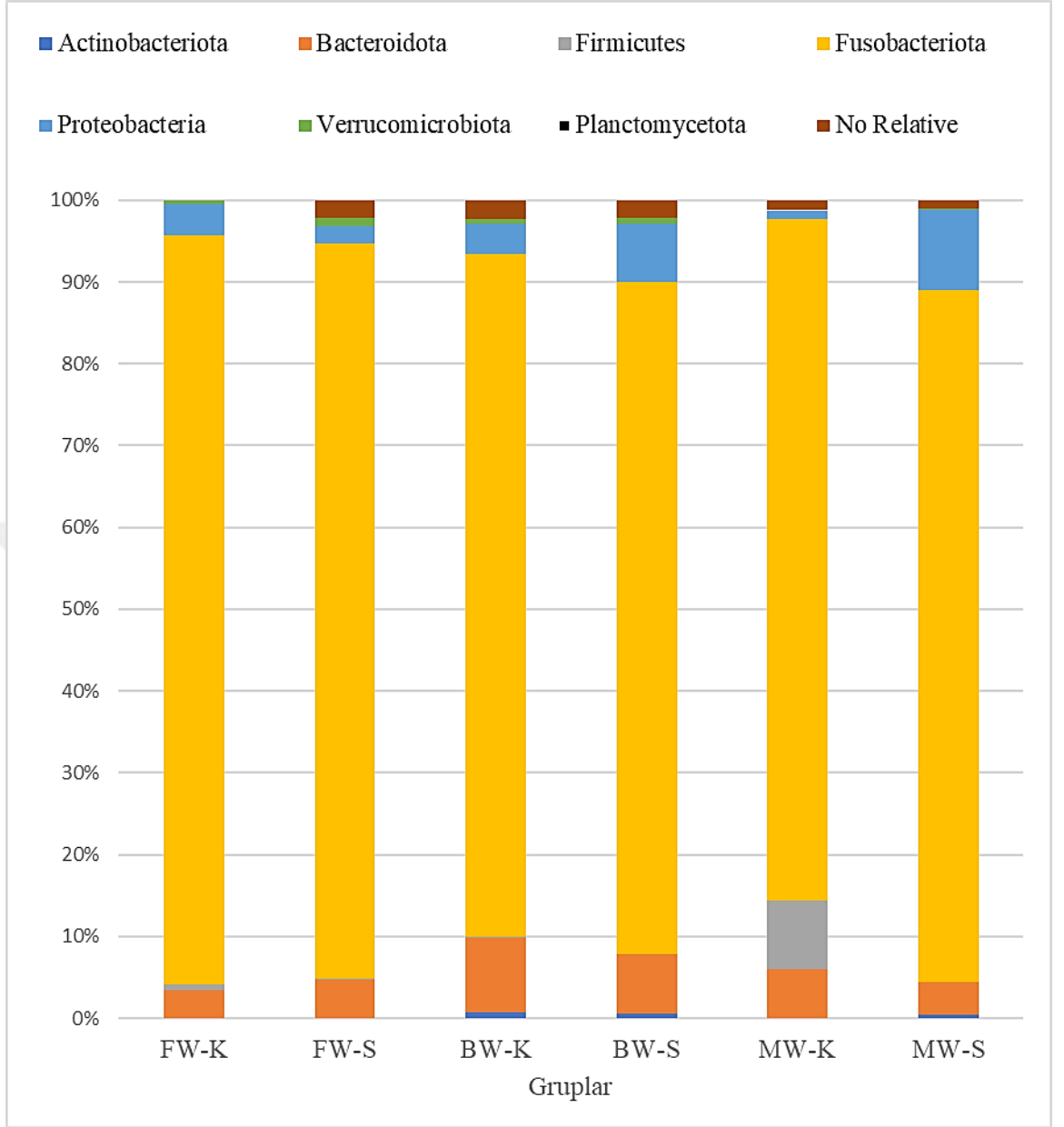
Şekil 4.11 Tatlı su kontrol (FW-K) ve simbiyotik (FW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu



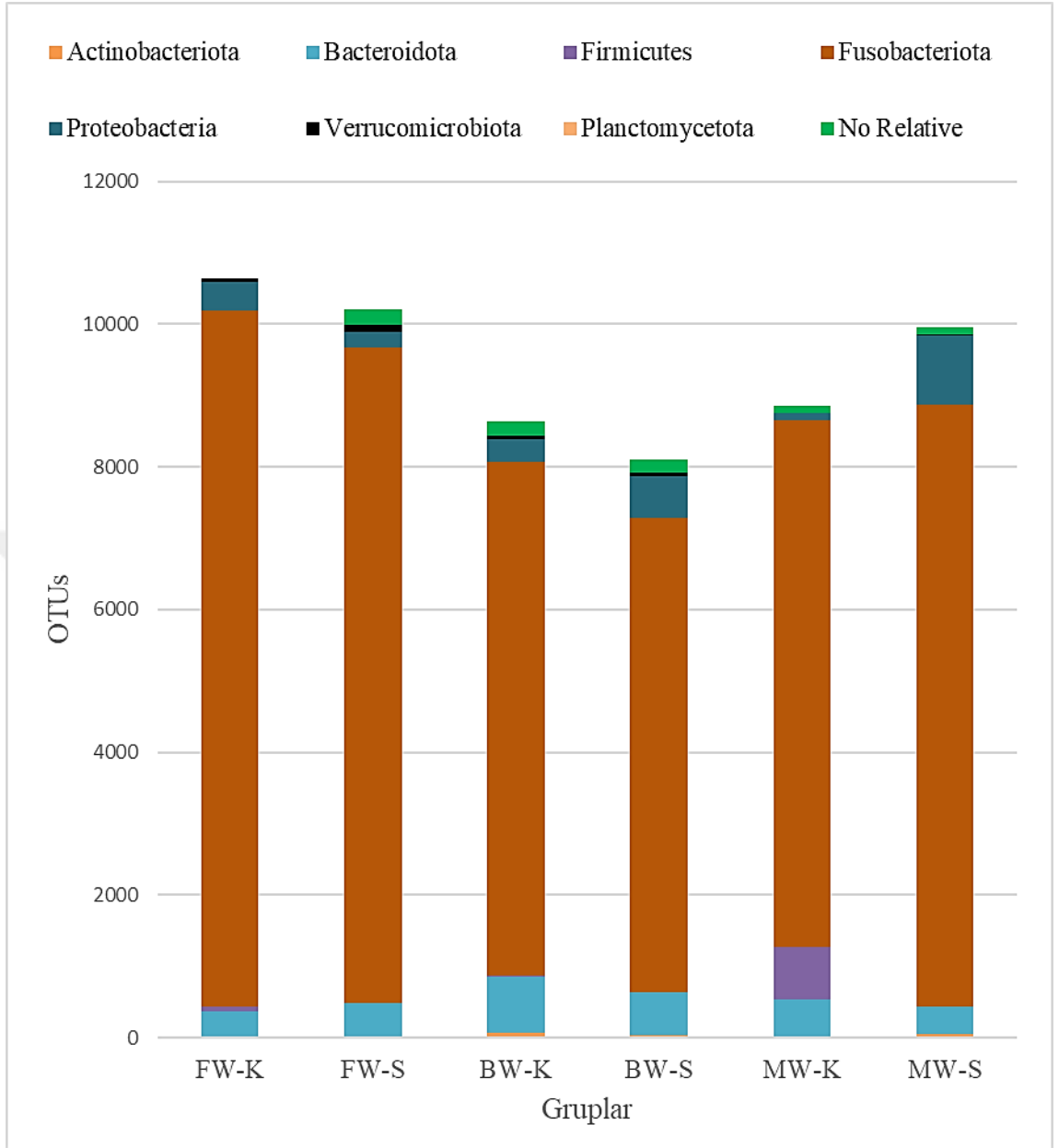
Şekil 4.12 Acı su kontrol (BW-K) ve simbiyotik (BW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu



Şekil 4.13 Deniz suyu kontrol (MW-K) ve simbiyotik (MW-S) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu



Şekil 4.14 Farkı tuzluluk koşullarında yetiştirilen (FW: Tatlı su, BW: Acı su ve MW: Deniz suyu) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu (%)



Şekil 4.15 Farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen (FW: Tatlı su, BW: Acı su ve MW: Deniz suyu) gruplarına ait sindirim sistemi mikrobiyota profilinin filum düzeyinde oransal bolluğu (OTUs)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyanın birçok bölgesi iklim değışikliklerinden kaynaklanan yağış azlığı problemi ile karşı karşıyadır. Bu çerçevede gelecekte karada tarımsal üretim ile su ürünleri yetiştiriciliği için daha az tatlı su kullanımı gündeme gelmektedir. Acı ve tuzlu su tarımsal üretimi ve aynı zamanda çoğu balık türünün yetiştiriciliğini de sınırlandırmaktadır (Beveridge ve Brummett 2015). Bu noktada, mevcut çalışmamızda farklı tuzluluk koşullarında yaşayabilen balık türlerinden biri tilapya kullanarak tatlı, acı ve deniz su ortamlarında yetiştirilerek karşılaştırması yoluna gidilmiştir. Nil tilapyası (*O. niloticus*) başka balık türleri ile kıyaslandığında genel olarak geniş bir tuzluluk aralığında yaşayabilen balık türü olarak bilinse de 15 ppt ve üzerindeki tuzluluk koşullarında iyi büyümediği ve üremediği için tilapya türleri arasında tuzluluğa en az dayanıklı türü olarak kabul edilmektedir (Cnaani ve Hulata 2010). El-Sayed (2019)'e göre, tuzluluk seviyesini 0-19 ppt aralığında tutularak tilapya yetiştiriciliğinde su kalitesi, beslenme ve çevresel faktörlerin optimum koşullarını uluşturarak büyüme ve balık refahını iyileştirmek mümkün olabileceğini ifade etmiştir. Beslenme açısından bakıldığında, son yıllarda araştırmalar, büyüme ve balık refahını olumlu yönde etkileyen probiyotikler, prebiyotikler ve simbiyotikler gibi yem katkı maddeleri ve bağışıklık uyarıcı maddelere su ürünleri yemlerinin eklenmesine özel bir önem vermiştir (Ringø 2020). Probiyotiklerin ve prebiyotiklerin bir karışımı olan simbiyotiklerin ve biyoyumak ununun balıkların patolojik ve çevresel faktörlerin yarattığı strese karşı balıkların direncini pozitif bir şekilde etkileme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir (Song vd. 2014, Avnimelech 2009). Prebiyotik ve probiyotik karışımlarının birlikte kullanımı olarak tanımlanan simbiyotik yem katkısı yanında biyoyumak ununun kullanıldığı kombinasyonların etkinliği literatürde daha önce denenmemiştir. Ayrıca farklı tuzluluk koşullarında yem katkılarını test eden çalışmaların da olmadığı belirlenmiştir. Bu anlamda, tilapya yemine simbiyotikler ve biyoyumak unu ilavesinin farklı tuzluluklarda yetiştirilen tilapyanın büyümesini, karaciğer ve bağırsak histomorfolojisini ve sindirim sistemi mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyebileceği hipotez edilmiştir. Bu bölümde şimdiye kadar yapılmış ve literatür taramasında yer alan araştırmaların sonuçları ile mevcut çalışma sonuçları karşılaştırarak değeriendirilmiştir.

5.1 Su Kalitesi ve Büyüme Parametrelerinin İncelenmesi

Bu çalışma süresince, tanklardaki suların oksijen, pH ve sıcaklık verileri günlük olarak, toplam amonyak azotu değeri ise haftalık olarak ölçülmüş ve tilapya için su kalite parametrelerinin optimum seviyede tutulması sağlanmıştır. Buna göre ortalamalar üzerinden pH 6,8-7,4 aralığında, su sıcaklığı $26\pm1^{\circ}\text{C}$, çözülmüş oksijen $5,7\pm0,8$ mg/L ve toplam amonyak azotu miktarı ise $0,45\pm0,17$ mg/L olarak ölçülmüştür. Deneme süresince elde etmiş olduğumuz su kalite parametrelerine ilişkin değerlerin önceki araştırmacıdan Dawood vd. (2020) (Sıcaklık- $26.1\pm0,8^{\circ}\text{C}$, pH 6.6–7.6, DO 6,0–7,1 mg/L) tarafından gerçekleştirilen Nil tilapyası ile yapılan çalışmadaki parametreler ile uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

Mevcut çalışmamız yem katkısı uygulanmaksızın artan tuzluluk seviyelerinin Nil tilapyasında büyüme parametrelerinin negatif yönde etkilenmesine neden olduğunu göstermiştir. Tatlı su gruplarının en yüksek son canlı ağırlık ve ağırlık kazancının yanı sıra daha düşük yem değerlendirme oranına sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.1). Likongwe vd. (1996) tatlı su dahil dört farklı tuzluluk koşulunda (0, 8, 12, ve 16 ppt) tuzluluğun Nil tilapyasının büyüme ve yemden yararlanma düzeyleri üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Deneme sonunda, büyüme performansı bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık kaydedilmemiş olsa da tuzluluk seviyelerindeki artışla birlikte canlı ağırlık kazancı ve spesifik büyüme oranı parametrelerinin azaldığını ifade etmişlerdir. Gan vd. (2016) farklı tuzlulukların (0, 8, 16 ve 24 ppt) tilapya (*O. niloticus*) yavrularının büyümesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. 60 günlük deneme sonrasında elde ettikleri canlı ağırlık kazançlarının sırasıyla 12,18; 7,08; 4,66 ve 5,53 olduğunu bildirmişlerdir. Nil tilapyası yetiştiriciliğinde tuzluluk artışının ağırlık kazancını azalttığını rapor etmişlerdir. Bu bildiriş mevcut çalışmamızın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Dawood vd. (2017), $15,60\pm0,15$ g başlangıç canlı ağırlığındaki Nil tilapyaalarını 30 gün süreyle üç farklı tuzluluk koşulunda (0, 10, 20 ppt) yetiştirmişlerdir. Büyüme performansı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olduğunu tuzluluk artışı ile (tatlısu: 54,96 g, acısu: 49,98 g ve deniz suyu: 42,42 g) canlı ağırlık kazancının düştüğünü bildirmişlerdir. Literatürde, farklı tuzluluk seviyesi uygulamalarının tilapyanın büyüme ve yemden yararlanma parametreleri üzerine etkilerini belirlemeye yönelik

güncel çalışmalar bulunmaktadır. Nil tilapyasında, 20 ppt tuzlu su koşullarında büyüme ile ilgili gen ekspresyonlarının (GH ve IGF-1) bozulduğu kaydedilmiştir (El-Leithy vd. 2019). Benzer şekilde Xu vd. (2018) başlangıç canlı ağırlığı 6,5 g olan tilapyanın iki farklı tuzluluk seviyesinde (0 ve 16 ppt) 60 gün süreyle yetiştirilmesinin etkilerinin ortaya koymuşlardır. Büyüme bakımından tatlı su ile tuzlu su grubunu yem değerlendirme oranı ve büyüme performansı açısından kıyasladıklarında tatlı su grubundan daha pozitif sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir.

Bununla birlikte, Tang vd. (2020), tilapyanın 16 ppt tuzluluk seviyesi altında yetiştirilmesinin büyüme ve yemden yararlanma parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendiren 8 haftalık bir çalışmada da tatlı su gruplarının deniz su gruplarına göre oranla daha yüksek canlı ağırlık kazancı ve düşük yem dönüştürme oranı elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Yukarıda tuzluluk artışının büyümeyi negatif yönde etkilediğini ifade eden çalışmaların aksine, tuzluluk seviyesinin artmasının tilapyanın büyüme performansında gelişmelere neden olduğunu bildiren farklı araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin Alvarenga vd. (2018), tuzluluğun başlangıç canlı ağırlığı 0,65 g olan tilapya yavrularının büyüme ve yemden yararlanma düzeylerini test etmek üzere beş farklı tuzluluk seviyesi oluşturarak (0, 4, 8, 12 ve 16 ppt) 10 haftalık bir çalışma yürütmüşlerdir. Denemelerinin sonunda grupların büyüme son canlı ağırlıklarının 19,06; 23,29; 22,25; 18,64 ve 17,29 g olarak hesapladıklarını ve buna göre acı su seviyesinin (4 ve 8 ppt) tilapyanın büyüme performansını olumlu yönde etkilediği sonucuna varıldığını rapor etmişlerdir. Benzer bir şekilde, El-Leithy vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada tilapyanın 6, 16, ve 20 ppt tuzluluklardaki optimum büyüme parametrelerini incelemişlerdir. İki aylık deneme sonunda büyüme performansı bakımından gruplar arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmadığını saptamışlardır. Xu vd. (2018) ve Zhou vd. (2020) tarafından yapılan çalışmalarda önceki araştırmacıların bulgularını destekler nitelik taşımaktadır. Özellikle 16 ppt tuzluluk seviyesinin altındaki su koşullarında yetiştirilen tilapyalarda büyüme tatlı suda yetiştirilenler ile kıyaslandığında istatistiki anlamda bir farklılık elde edilmediği kaydedilmiştir.

Tuzluluğun tilapyanın büyüme performansı üzerindeki etkisi sonuçları bakımından tartışma yaratacak nitelik taşıyabilmektedir. Özellikle çevresel koşullardan sıcaklık yanında balığın yaşam evresi ve tuzluluk koşullarına uyum süresinin büyümeyi etkileyebildiği iddia edilmiştir (Suresh ve Lin 1992). Tatlı su balıklarında yüksek tuzluluğun büyümeyi azaltmasının ana nedeni osmoregülasyon için yüksek enerji gereksinimi ile açıklanmıştır (Prunet ve Bornancin 1989). Solunum ve osmoregülasyon için harcanacak enerji ihtiyacının düşmesi büyüme için fazla metabolik enerji kalacağı anlamına gelmektedir. Bu nedenle, su sıcaklığı ve tuzluluğu, balıkların hayatta kalmasını, büyümesini ve üremesini doğrudan etkilemektedir. Bu tez çalışmasının sonuçları, büyüme parametreleri ile tuzluluk seviyeleri arasında ters orantılı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Hatta azalan büyüme performansı ile balıkların yemden yararlanma düzeylerinin de azalacağı ileri sürülebilir (Dawood 2021).

Son zamanlarda yetiştiricilik faaliyetlerinde, Simbiyotikler, yalnızca büyüme ve sindirim sistemini iyileştirmede değil, aynı zamanda bağışıklık sisteminde ve bağırsak mikrobiyal çeşitliliğinde de yararlı aktivitelerinden dolayı dikkate alınmıştır (Cerezuela vd. 2011). Önceki çalışmalarda bakıldığında gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (Rodriguez-Estrada vd. 2009), Atlantik somonu (*Salmo salar*) (Abid vd. 2013), sazan (*Cyprinus carpio*) (Modanloo vd. 2017) ve tilapya (*O. niloticus*) (Van Doan vd. 2016) gibi farklı türlerde simbiyotik uygulamanın büyüme, bağırsak histomorfolojisi, hematolojik, biyokimyasal, antioksidan ve immün sistemi parametreleri üzerindeki etkisi değerlendirilmesi yoluna gidildiği de izlenmektedir. Literatürde, simbiyotiklerin tilapyada büyümeyi ve refahını iyileştirdiğini belirten oldukça çok çalışmalar bulunmaktadır (Dawood vd. 2020, Azevedo vd. 2016, Hassaan vd. 2014, Mohammadi vd. 2022). Simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemlerin uygulaması yoluyla tilapyanın büyümesi ve sindirim kanalı mikrobiyal çeşitliliği üzerindeki etkisini test etmeyi amaçlayan mevcut çalışmamız, tuzlu suda yetiştirilen balıkların büyüme performanslarının iyileştirdiğini ortaya koymuştur. Başka bir deyişle, mevcut çalışmamızın büyüme sonuçları dikkate alındığında, simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen tüm grupların aynı tuzluluk koşullarında yetiştirilen kontrol grupları ile karşılaştırıldığında oranla daha yüksek büyüme parametreleri bulunmuştur. Bu anlamda acı ve tuzlu koşullarında yapılacak tilapya yetiştiriciliğinde yem içerisine

simbiyotik ilavesini büyüme ve yaşama oranını arttıracakı öngörülmektedir. Bu noktada, kullanılan immünostimülanların büyümeyi stimüle ettiğı ve fizyolojik değışikliklere neden olduğı öne sürülebilir (Dawood ve Koshio 2016). Prebiyotik ve probiyotik karışımlarının birlikte kullanımı olarak tanımlanan simbiyotik, balıklarda yemden yararlanmayı arttırdığı dolayısıyla büyümeyi pozitif etkide bulunduğı sonucuna varılmıştır (Carbone vd. 2016).

5.2 Karaciğer ve Bağırsak Histomorfolojisi Değerlendirilmesi

Balıklarda bağırsaklar besin maddelerin sindirimi ve emiliminin yanı sıra osmoregülasyon kapasitesinde de önemli rol oynamaktadır (Dawood vd., 2021c). Bu noktada, farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen tilapya lar üzerinde simbiyotiklerin etkisini belirlemek amacıyla yürütölen tez çalışmasının sonunda karaciğer ve bağırsak dokuları incelenmiştir. Sonuçlar tuzluluğun incelenen dokuların histomorfolojisini olumsuz yönde etkilemediğı ifade edilmektedir.

Mevcut çalışmanın bağırsak histomorfolojisinin sonuçları bakımından tatlı su tilapya ların bağırsaklarında normal mukoza (Lamina epithelialis, Lamina propria ve Muscularis) izlendiğini ancak deniz suda yetiştirilen grubunda goblet hücrelerin sayısında hafif bir artış görölmektedir. Çalışmamızın sonuçları, dört farklı tuzluluk koşullarında (0, 5, 10 ve 15 ppt) yetiştirilen tilapyanın büyüme performansı, bağırsak ve karaciğer histolojik özellikleri üzerine tuzluluğun etkisini inceleyen Dawood vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında; araştırmacıların tatlı suda yetiştirilen tilapya ların bağırsaklarında normal mukoza (Lamina epithelialis, Lamina propria ve Muscularis) izlendiğini ancak 15 ppt tuzlulukta yetiştirilen tilapya ların bağırsak mukozaları ve goblet hücreleri sayı ve düzenlerinin normal uzaklaştığına ilişkin kanıtlar bulunduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir biçimde Dawood vd. (2021), tilapya yetiştiriciliğı üzerine gerçekleştirdikleri bir önceki çalışmanın sonucunda da 20 ppt tuzluluk seviyesinin tilapya bağırsaklarının histomorfolojisinde anormalliklere neden olduğunu öne sürmüşlerdir. Tran-Ngoc vd. (2017), 15 ppt tuzlulukta yetiştirilen tilapya da submukoza ve lamina propria'da genişleme ile goblet hücrelerinin sayısında artış gibi morfolojik değışiklikler rapor etmişlerdir. Çalışmalarında tuzluluğun gastrointestinal

sistemin proksimal bölgesinde daha az etkili olmakla birlikte distal bölgesinde daha dramatik değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir. Bağırsağın distal bölgesi balıklarda osmoregülasyon fizyolojisinde görev aldığından dramatik değişikliklerin kökeninin altında tuzluluğa uyum yattığı ileri sürülebilir. Belirtilen önceki çalışmalar göz önünde alındığında, bağırsak histomorfolojisi bakımından çalışmamızda tuzluluk artışının simbiyotik yem katkısı uygulanmayan tilapyaaların ince bağırsak dokusunda uygulananlara kıyasla goblet hücre sayısındaki kısmi artışın dışında önemli bir değişikliğe rastlanılmamıştır. Genel olarak tuzluluğun tilapyanın büyüme performansı üzerindeki etkisinin karmaşık bir etki mekanizması gösterdiği ifade edilebilir. Bu mekanizmada solungaçlarda klorinite hücre sayısı artışı yanında yine solungaç ve böbrek sodyum-potasyum ATPase enzim aktivitesi, sıcaklık, yaş ve tuzluluğa kademeli uyum süresi ve protokolünün de etkili olduğu bilinmektedir. El-Sayed (2019), tuzluluk seviyesini 0-19 ppt aralığında tutularak tilapya yetiştiriciliğinde çevresel faktörlerin optimize edilmesi ile büyümenin ve doku histopatolojisinin iyileştirilmesinin olanaklı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Zararlı maddelerin uzaklaştırılmasından ve biyotransformasyondan sorumlu metabolik aktivitesi nedeniyle histolojik incelemelerde en sık kullanılan dokulardan biri karaciğerdir (Wolf vd. 2015). Karaciğer anabolizma ve katabolizma faaliyetlerinin yürütüldüğü vitalitesi yüksek aynı zamanda rejenerasyon özelliğine sahip eşsiz bir organdır. Beslenmeye bağlı patolojilerin de en kolay izlenebildiği bir dokudur. Mevcut çalışmamızda incelenen gruplara ait karaciğer dokunun histomorfolojisinde; hepatik hücreler, kılcak kan damarları, safra kanallı ve pankreas dokunu normal olarak izlenmiştir. Karaciğer histomorfolojisi açısından, tilapya yemine immünostimülanlar eklendiği sürece balığın 16 ppt tuzluluk seviyesinde yetiştirilmesinin uygun olacağı öne sürülmüştür (El-Leithy vd. 2019). Önceki çalışmalar arasında benzer sonuçlar farklı bir balık türü olan gökkuşağı alabalığı ile yapılan bir araştırmadan da rapor edilmiştir. Buna göre tatlı su ve acı sularda kültüre alınan alabalıkların karaciğer doku histomorfolojileri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmediği ifade edilmiştir (Bi vd. 2021). Fakat Dawood vd. (2022), 15 ppt tuzluluk düzeyinde yetiştirilen tilapyaaların karaciğer morfolojisinde vasküler dilatasyon ve hepatositlerde dejenerasyon görüldüğünü rapor etmişlerdir. Dawood vd. (2021) tarafından yürütülen bir başka çalışmada ise tuzluluk ve düşük

oksijen koşullarının karaciğer fonksiyonu, bağırsak sağlığı ve solungaçlar üzerindeki etkisini test edildiğini özellikle 20 ppt tuzluluk seviyesinin nekrotik odaklar ve vasküler yapıda bozulmaya neden olduğunu göstermişlerdir.

Genel hatlarıyla önceki çalışmalar arasında tilapyanın bağırsak ve karaciğer dokusuna yüksek tuzluluk düzeylerinin olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Kayıt edilen bu morfolojik anormalliklerin giderilmesi için yem katkı maddelerinin kullanımına önem verilebileceği de ifade edilmiştir. Örneğin Zhou vd. (2020) 16 ppt tuzluluk seviyesinde yetiştirilen tilapyanın yemine %0,4 inülin ilavesinin tuzluluğun neden olduğu oksidatif stresi ve bağırsak mikrobiyotası çeşitliliğini iyileştirdiğini ileri sürmüşlerdir. Benzer bir şekilde Dawood vd. (2022) tarafından 15 ppt tuzluluk düzeyinin altında yetiştirilen tilapyaaların yemine %0,25 Mentol (esansiyal yağ) ilave edilmesinin de tuzluluktan kaynaklı bağırsak ve karaciğer hasarını hafiflettiği bildirilmiştir.

Bu değerlendirmeler çerçevesinde mevcut yüksek lisans tez çalışmamızın çevresel faktörlerinin optimum seviyelerde tutulduğu için dokularda normal uzaklaşmanın izlenmediği yorumu yapılabilir. Ayrıca yem katkısı olarak kullanılan simbiyotik ve biyoyumak unu varlığının artan tuzluluk koşullarına rağmen tilapyaaların karaciğer dokularında normalden uzaklaşmaya sebep olmadığı izlenmiştir. İncelenen bağırsağın proksimal bölgesindeki epitelde (Lamina epithelialis) goblet hücre sayısı artışına neden olmamasının da önemli bir avantaj olabileceği düşünülmektedir.

5.3 Besin Madde Bileşen Analizi ve Bakteri Sayısının Değerlendirilmesi

Çalışmamızın sonunda gerçekleştirilen besin madde bileşen analiz sonuçlarına göre ham protein (14.97 ± 0.49 - 16.07 ± 0.55), ham yağ (3.33 ± 0.15 - 3.83 ± 0.23), ham kul (3.10 ± 0.36 - 3.57 ± 0.35), ve nem (76.33 ± 0.12 - 77.00 ± 0.53) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca deneme verileri göz önünde alındığında, ham protein ve yağ bakımından acı ve deniz koşullarında yetiştirilen gruplarda tatlı su gruplarına göre istatistiki açıdan anlamlı ve oranla daha yüksek değerler elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, iki farklı tuzlulukta (0 ve 8 ppt) yetiştirilen tilapyanın besin madde bileşen analizleri üzerine tuzluluğun etkisini değerlendiren Wu vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçları ile

karşılaştırıldığında; araştırmacıların acı suda yetiştirilen tilapya larının kuru madde değerlerin (HP: 16.58 ± 0.16 ; HY: 9.60 ± 0.46 ; HK: 4.26 ± 0.08 ; N: 67.68 ± 0.49), tatlı suda yetiştirilen gruplarda ise (HP: 15.94 ± 0.21 HY: 11.82 ± 0.57 ; HK: 3.87 ± 0.07 ; N: 68.99 ± 0.49) olarak hesapladıklarını bildirmişlerdir. Xu vd. (2022), iki farklı tuzlulukta (0 ve 8 ppt) yapılan tilapya yetiştiriciliğinde tuzluluğun balığın vücut bileşenleri üzerindeki etkisini incelediklerinde, ham protein, nem ve ham kul bakımından gruplar arasında farklılık söz konusu olmadığı, ancak ham yağ açısından acı suda yetiştirilen gruptan tatlı su grubuna göre daha yüksek yağ değerleri elde ettiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Gan vd. (2016), tuzluluğun tilapyanın vücut bileşenleri üzerindeki etkisini dört farklı tuzluluk koşulunda (0, 8, 16, 24) oluşturarak değerlendirdikleri bir çalışmada da ham protein, nem ve ham kul bakımından gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık kaydedilmediği sonucuna varmışlardır. Ham yağ ise tuzluluğun artmasıyla azaldığını rapor etmişlerdir. Önceki çalışmalar arasında sonuçlarımızla uyumlu olarak farklı bir balık türü olan gökkuşuğu alabalığı ile yapılan bir araştırmadan da rapor edilmiştir. Daudpota (2020) yapılan bir çalışmada beş farklı tuzluluklarda (5, 10, 14, 20, 25) yetiştirilen gökkuşuğu alabalığın besin madde bileşen analizi sonuçlarına göre (HP: 15.44 ± 0.11 - 15.48 ± 0.24 ; HY: 3.52 ± 0.24 - 3.55 ± 0.26 ; HK: 3.66 ± 0.44 - 3.68 ± 0.43 ; N: 77.12 ± 0.21 - 77.13 ± 0.24) olarak listelenmiş ve tuzluğun balıkların vücut kompozisyonunu olumsuz etkilemediği değerlendirilmiştir. Bunun dışında tuzluluğun tilapyanın vücut bileşenleri üzerine olumsuz etkilemediğini bildiren farklı araştırmalar literatür taramasında bulunmaktadır (Malik vd. 2018, El-Sayed vd. 2003). Bu değerlendirmeler çerçevesinde tilapyanın vücut bileşenleri açısından tuzluluk değişimlerine dirençli olduğu şeklinde yorumlanabilir. Son olarak, çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında simbiyotik ve biyoyumak katkılı yemle beslenen grupların kontrol gruplarına göre besin madde bileşen analizi bakımından daha iyi sonuçlar elde edildiğinden yapılan tilapya yetiştiriciliğinde yem içerisine simbiyotik eklenmesini önerilebilir.

Bu tez projesinin sonunda tilapya larının bağırsaklarındaki toplam bakteri yükünü de incelenmiştir. Sonuçlar simbiyotik + biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen grupların kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı ve oranla daha yüksek bakteri yükü elde edilmiştir. Bu, hem probiyotik hem de biyoyumak unu olarak balık yemine eklenen

kommensal bakterilerin tilapyanın toplam bakteri sayısı üzerinde olumlu etkisi olduğu ifade edilebilir. Bu denemede en yüksek bakteri yükü değerin $2.53 \pm 0.36 \times 10^6$ CFU/g ile acı suda yetiştirilen ve simbiyotik+biyoyumak unu ilaveli yemle beslenen grubundan elde edilmiştir. En düşük ise $1.39 \pm 0.22 \times 10^6$ CFU/g ile tatlı su kontrol grubundan bulunduğu belirlenmiştir. Bulduğumuz bu Sonuçlar, tilapya bağırsaklarındaki toplam bakteri yükü üzerine literatür taramasındaki çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılabilir. Opiyo vd. (2019b), probiyotiklerin (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Bacillus subtilis*) tilapyanın büyümesi ve bakteri sayısı üzerindeki etkisini araştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. Denemelerin sonunda, probiyotik katkılı yemle beslenen grupların $1.87 \pm 0.02 \times 10^4$ CFU/ml ile bakteri yükü bakımından kontrol grubuna göre daha yüksek bulunduğu ifade etmişlerdir. Tabassum vd. (2021) tarafından yapılan başka bir çalışmada da probiyotiklerin tilapyanın su kalitesi ve bakteri sayısı üzerine etkisini değerlendiklerinde; probiyotik katkılı yemle beslenen grubun kontrol grubuna göre daha yüksek bakteri sayısına (2×10^5 CFU/ml) sahip olduğu saptanmıştır. Sunulan önceki araştırmacıların tilapya bağırsaklarındaki toplam bakteri sayısına ilişkin verileri ile yapılan değerlendirme sonucunda mevcut çalışmadan elde edilen bakteri yükü oranları ile yakın olduğu ifade edilebilir. Bakteri sayılarının önceki çalışmalara göre daha yüksek oranları bulmamızın nedeni ise tilapya yemine sadece probiyotik eklenmeleri ile açıklanabilir. Çünkü çalışmamızda tilapya yemine prebiyotik ve probiyotik karışımlarının birlikte kullanımı olarak tanımlanan simbiyotik ve biyoyumak unu ilave edilmiştir.

5.4 Sindirim Kanalı Mikrobiyota Değerlendirilmesi

Balıkların bağırsak mikrobiyotası bağışıklığı, besin metabolizmasını ve enerji homeostazını modüle etmeye katkıda bulunmaktadır. Diyet, çevre ve konak filogenisi bağırsak mikrobiyotasını etkileyen başlıca faktörler olarak sıralanabilir (Butt ve Volkoff 2019). Bağırsak bakterilerinin balığın metabolik sürecinde önemli bir rol oynadığı ve besinlerin sindirimi ve emilimi, bağışıklık uyarımı ve enfeksiyonlara karşı direnç dahil olmak üzere çeşitli yaklaşımlar yoluyla konak organizmaya faydalı olduğu anlaşılmaktadır (Egerton vd. 2018). Mevcut çalışmamızın sonunda farklı tuzluluk seviyesindeki altında yetiştirilen tilapya bağırsaktaki bakteriyel çeşitliliğin ortaya konulması amaçlanmıştır. Sonuçlar, fusobacteriota filumu olan *Cetobacterium* cinsinin

oransal bolluk bakımından tüm grupların sindirim kanlındaki bakterilerin en bol bulunan (%82-92) bakteri grubu olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Tan vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Cetobacterium* ve *Paludibacter* cinsilerin tilapyada en bol saptayan bakteri grubu olmuştur. Benzer şekilde, farklı çalışmalar, tilapinin sindirim sisteminde en yaygın bakteri cinslerinin *Cetobacterium*, *Bacillus* ve *Lactobacillus* (Giorgia vd. 2018); *Cetobacterium*, *Bacillus* ve *Plesiomonas* (Standen vd.2015); ve *Cetobacterium* ve *Plesiomonas* (Adeoye vd. 2016) olduğu sonucuna varılmıştır. *Cetobacterium*, farklı balık türlerinin sindirim sisteminde bol bulunan bir bakteri olmasının yanı sıra *O. niloticus* ve *C. carpio* gibi tatlı su balıklarının bağırsak mikrobiyotasında dağılım gösterdiği bilinmektedir. Buna ek olarak *Cetobacterium*, yetiştiricilik faaliyetlerinde simbiyotik bakteri olarak kabul edilmekte ve balıklarda B-12 vitamini üretiminde ve bağırsaklarda patojenik mikroorganizmaların inhibisyonundaki rolü ile bilinmektedir (Tsuchiya vd. 2008).

Çalışmamızda, tatlı su koşullarında yetiştirilen hem kontrol hem de simbiyotik ilaveli yemle beslenen grupların sindirim sisteminde en bol bulunan bakteri grupların ikinci sırasında Proteobacteria filumu yer aldığını tespit edilmiştir. Proteobacteria, yetiştiricilikte probiyotik özellikler taşımasının yanı sıra besin maddelerin sindiriminde de etkili olduğu belirlenmiştir (Sakami vd. 2008). Xia vd. (2020) tarafından yapılan denemede çalışmamızın bulgularını destekler nitelik taşımaktadır. Tilapyanın sindirim sistemindeki bakteri gruplarının yaklaşık %75'inin Proteobacteria filumundan olduğunu rapor etmişlerdir. Denememizde, acı su (6 ppt) tuzluluk seviyesi altında yem katkısız ve katkılı koşullarında yetiştirilen tilapyaaların bağırsaklarında en yaygın bakteri cinsilerini *Bacterioid*, *Aeromonas* ve *Parabacteroid* olarak belirlenmiştir. Ramírez vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar bildirilmiştir. *Bacteroides fragilis* gibi enfeksiyonlara neden olabilen bazı türler dışında, bağırsakta simbiyotik olan çoğu *bacterioid* bakterilerin aksine, *Aeromonas* türlerinin patojen olduğu bilinmektedir (Wexler 2007). Bakteri çeşitliliği bakımından diğer tatlı ve acı su gruplarından farklı olarak deniz suyu koşullarında yetiştirilen kontrol ve uygulama gruplarında *Romboutsia* ve *Shewanella* gibi bakteri gruplarının bulunduğu anlaşılmıştır. *Romboutsia* cinsi, daha önce *Clostridium* olarak sınıflandırılan farklı türleri içeren yeni oluşturulmuş bir taksonla uyumludur (Gerritsen vd. 2014). *Shewanella* cinsi ise su ortamından balık bağırsağına

kadar farklı ortamlarda yaygın olarak bulunsa da normalde deniz suyunda bulunmaktadır (Chaudhary vd. 2022). Genel olarak, çalışmamızın sonuçları incelendiğinde, artan tuzluluk ile *Cetobacterium* cinsinin bolluğunun azaldığı ve *Aeromonas* ve *Shewanella* gibi patojen olabilecek bakterilerin tespit edildiği sonucuna varılmıştır. Buna benzer sonuçlar Zhang (2016) tarafından da rapor edilmiştir.

Sonuç olarak, sınırlı tatlı su kaynakları yerine acı su ve tuzlu su kullanımı ile balık yetiştiriciliğinde büyüme performansını arttırmanın mümkün olup olamayacağı üzerinde duran bu tez çalışmasında, geniş bir tuzluluk aralığında yaşayabilen nadir balık türlerinden biri olan *O. niloticus*, farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilerek simbiyotik ile biyoyumak unu kullanımının büyüme performansı, sindirim kanalı mikrobiyota çeşitliliği, besin madde bileşen analizi, bağırsaktaki bakteri sayısı, karaciğer ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerinin ortaya konulmuştur. Büyüme performansı açısından çalışmamızın yem katkısı uygulanmaksızın artan tuzlulukların tilapyanın (*O. niloticus*) büyüme parametrelerinin negatif yönde etkilenmesine neden olduğunu belirlenmiştir. Tatlı su gruplarının en yüksek son canlı ağırlık ve ağırlık kazancının yanı sıra daha düşük yem değerlendirme oranına sahip oldukları belirlenmiştir. Deneme sırasında simbiyotik ve biyoyumak unu katkılı yemlerle beslenen tüm grupların kontrol grupları ile karşılaştırıldığına oranla daha yüksek büyüme parametreleri bulunduğu sonucuna da varılmıştır. Ayrıca, sindirim sistemi mikrobiyota çeşitliliği, besin madde bileşen analizi, toplam bakteri sayısı ve doku histomorfolojisi bakımından tuzluluk artışının gruplar arasında anlamlı bir farklılığa neden olmadığı da bulunmuştur. Bu tez projesinin sonuçlarına göre, tatlı su yerine acı (6 ppt) ve deniz (18 ppt) sularında tilapya yetiştirilmesi önerilebilmektedir. Buna ek olarak, yüksek tuzlulukların neden olabileceği büyümedeki azalmayı hafifletmek için de tilapya yemlerine simbiyotik ve biyoyumak unu eklenmesi tavsiye edilmektedir. Gelecekte yetiştiricilik faaliyetlerinde farklı dozlarda simbiyotik ve biyoyumak unu içeren yemlerin farklı tuzluluk koşullarında yetiştirilen tilapyaaların büyüme, doku histomorfolojisi ve sindirim sistemi mikrobiyotası üzerine etkilerini ortaya koyacak çalışmalara ihtiyaç duyduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abarike, E.D., Cai, J., Lu, Y., Yu, H., Chen, L., Jian, J., Tang, J., Jun, L. and Kuebutornye, F.K. 2018. Effects of a commercial probiotic BS containing *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth, immune response and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & shellfish immunology, 82, 229-238.
- Abd El Hakim, Y., Neamat-Allah, A.N., Baeshen, M. and Ali, H.A. 2019. Immune-protective, antioxidant and relative gene expression impacts of β -glucan against fipronil toxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & Shellfish Immunology, 94, 427-433.
- Abd El-Gawad, E.A., Abd El-latif, A.M. and Shourbela, R.M. 2016. Enhancement of antioxidant activity, non-specific immunity, and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* by dietary fructooligosaccharide. J Aquac Res Development, 7(427); 2.
- Abd El-Rhman, A.M., Khattab, Y.A. and Shalaby, A.M., 2009. *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish & Shellfish Immunology, 27(2); 175-180.
- Abd Rahman, J.M.D., Razak, S.A. and Sabaratnam, V. 2012. Effect of mushroom supplementation as a prebiotic compound in super worm-based diet on growth performance of red tilapia fingerlings. Sains Malaysiana, 41(10);1197-1203.
- Abdelghany, A.E. 2020. Food and feeding habits of Nile tilapia from the Nile River at Cairo, Egypt. In Fish Farming Technology, 447-454.
- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M. and Ismael, N.E. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture, 280(1-4); 185-189.
- Abid, A., Davies, S.J., Wainess, P., Emery, M., Castex, M., Gioacchini, G., Carnevali, O., Bickerdike, R., Romero, J. and Merrifield, D.L. 2013. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity. Fish & shellfish immunology, 35(6);1948-1956.
- Adeoye, A.A., Yomla, R., Jaramillo-Torres, A., Rodiles, A., Merrifield, D.L. and Davies, S.J. 2016. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. Aquaculture, 463; 61-70.
- Ali, B.A. and El-Feky, A. 2019. Enhancing growth performance and feed utilization using prebiotics in commercial diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 22(1); 219-225.
- Avnimelech, Y. 2006. Bio-filters: the need for a new comprehensive approach. Aquacultural engineering, 34(3); 172-178.

- Awal, A., Kundri K.C. Sarker, S. (2012) Effect of Salinity on the Oxygen Consumption of Tilapia Fingerlings. *Daffodil International University Journal of Science and Technology* 7 (1); 12-14.
- Ayyat, M.S., Ayyat, A.M., Naiel, M.A. and Al-Sagheer, A.A. 2020. Reversal effects of some safe dietary supplements on lead contaminated diet induced impaired growth and associated parameters in Nile tilapia. *Aquaculture*, 515, 734580.
- Azevedo, R.V.D., Fosse Filho, J.C., Pereira, S.L., Cardoso, L.D., Andrade, D.R.D. and Vidal Júnior, M.V. 2016. Dietary mannan oligosaccharide and *Bacillus subtilis* in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38, 347-353.
- Barriga-Sosa, I.D.L.A., Jiménez-Badillo, M.D.L., Ibanez, A.L. and Arredondo-Figueroa, J.L. 2004. Variability of tilapias (*Oreochromis* spp.) introduced in Mexico: morphometric, meristic and genetic characters. *Journal of Applied Ichthyology*, 20(1), 7-14.
- Barroso, R.M., Muñoz, A.E.P. and Cai, J. 2019. Social and economic performance of tilapia farming in Brazil. Embrapa Pesca e Aquicultura-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E) and FOA, 44 p., Rome.
- Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Tesser, M.B., Wasielesky Jr, W. and Poersch, L.H. 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 342; 112-116.
- Bergqvist, J. and Gunnarsson, S. 2013. Finfish aquaculture: Animal welfare, the environment, and ethical implications. *Journal of agricultural and environmental ethics*, 26(1), 75-99.
- Beveridge, M.C. and Brummett, R.E. 2015. Aquaculture and the environment. *Freshwater Fisheries Ecology*, 794-803.
- Bi, B., Gao, Y., Jia, D., Kong, L., Su, Y., Rong, H., Wu, X., Wang, X., Hu, Z. and Hu, Q. 2021. Growth influence of juvenile golden trout (*Oncorhynchus mykiss*) in different osmotic conditions: implications for tissue histology, biochemical indicators, and gene transcription involved in GH/IGF system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 47(2); 583-597.
- Bouelet Ntsama, I.S., Tambe, B.A., Tsafack Takadong, J.J., Medoua Nama, G., Kansci, G. 2018. Characteristics of fish farming practices and agrochemicals usage therein in four regions of Cameroon. *Egypt. J. Aquat. Res.*, 44; 145–153.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Auburn University, Alabama Agricultural Experiment Station. Science, 482.
- Butt, R.L. and Volkoff, H. 2019. Gut microbiota and energy homeostasis in fish. *Frontiers in endocrinology*, 9.
- Campos-Mendoza, A., McAndrew, B.J., Coward, K., and Bromage, N. 2004. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. *Aquaculture*, 231(1-4); 299-314.

- Carbone, D. and Faggio, C. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology*, 54, 172-178.
- Castro, A.L.S., Gonçalves-de-Freitas, E., Volpato, G.L. and Oliveira, C. 2009. Visual communication stimulates reproduction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42, 368-374.
- Cerezuela, R., Meseguer, J. and Esteban, M.A. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. *Journal of Aquaculture Research & Development* 5, 1, 1-7.
- Chaudhary, A., Ketkar, O.A., Irfan, S., Rana, V., Rahi, P., Deshmukh, R., Kaur, J. and Dhar, H. 2022. Genomic Insights into Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Producing *Shewanella* sp. N2AIL from Fish Gut. *Biology*, 11(5), 632.
- Chavan, B.R., and Yakupitiyage, A. 2012. An overview of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and low-cost feed formulation technique for its culture. *Advances in Aquatic ecology*, 6, 264-284.
- Cnaani, A. and Hulata, G. (2010) Improving salinity tolerance in Tilapias: Past experience and future prospects. *The Israel Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 2 (63); 1-21.
- Colman, A., and Pulford, B. 2006. *A crash course in SPSS for Windows (the 3rd Ed.)* Blackwell Publishing, Malden, MA.
- Costa-Pierce, B.A. and Doyle, R.W. 1997. Genetic identification and status of tilapia regional strains in southern California. *Tilapia aquaculture in the Americas*, 1, pp.1-17.
- Crab, R., Defoirdt, T., Bossier, P. and Verstraete, W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*, 356, 351-356.
- Das, S., Mondal, K. and Haque, S. 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and symbiotic for sustainable development of aquaculture. *growth*, 14, 15.
- Dauda, A.B., Folorunso, L.A. and Dasuki, A. 2013. Use of probiotics for sustainable aquaculture production in Nigeria. *Journal of Agriculture and Social Research (JASR)*, 13(2), 42-52.
- Daudpota, A.M. 2020. Influence of salinity on growth increment, feed conversion and body composition of common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758) fingerlings in the captivity. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(1); 372-385.
- Dawood, M.A. and Koshio, S. 2016. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. *Aquaculture*, 454, 243-251.
- Dawood, M.A., Abdo, S.E., Gewaily, M.S., Moustafa, E.M., SaadAllah, M.S., AbdEl-Kader, M.F., Hamouda, A.H., Omar, A.A. and Alwakeel, R.A. 2020. The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*, 98, 301-311.

- Dawood, M.A., El-Shamaa, I.S., Abdel-Razik, N.I., Elkomy, A.H., Gewaily, M.S., Abdo, S.E., Soliman, A.A., Paray, B.A. and Abdelkhalek, N. 2020. The effect of mannanoligosaccharide on the growth performance, histopathology, and the expression of immune and antioxidative related genes in Nile tilapia reared under chlorpyrifos ambient toxicity. *Fish & Shellfish Immunology*, 103, 421-429.
- Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M. and Shahin, M.G. 2020. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β -glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(1); 172-183.
- Dawood, M.A., Eweedah, N.M., Moustafa, E.M. and Shahin, M.G. 2020. Synbiotic effects of *Aspergillus oryzae* and β -glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12(1); 172-183.
- Dawood, M.A., Gewaily, M.S. and Sewilam, H. 2022. The growth performance, antioxidative capacity, and histological features of intestines, gills, and livers of Nile tilapia reared in different water salinities and fed menthol essential oil. *Aquaculture*, 554, 738122.
- Dawood, M.A., Metwally, A.E.S., El-Sharawy, M.E., Atta, A.M., Elbially, Z.I., Abdel-Latif, H.M. and Paray, B.A. 2020. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. *Aquaculture*, 523, 735205.
- Dawood, M.A., Moustafa, E.M., Elbially, Z.I., Farrag, F., Lolo, E.E., Abdel-Daim, H.A., Abdel-Daim, M.M. and Van Doan, H. 2020. 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*. *Research in Veterinary Science*, 130, 212-221.
- Dawood, M.A., Noreldin, A.E. and Sewilam, H. 2021. Long term salinity disrupts the hepatic function, intestinal health, and gills antioxidative status in Nile tilapia stressed with hypoxia. *Ecotoxicology and environmental safety*, 220, 112412.
- de Alvarenga, E.R., Alves, G.F.D.O., Fernandes, A.F.A., Costa, G.R., da Silva, M.A., Teixeira, E.D.A. and Turra, E.M. 2018. Moderate salinities enhance growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings in the biofloc system. *Aquaculture Research*, 49(9); 2919-2926.
- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N. and Verstraete, W. 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture*, 277 (3-4); 125-137.
- Dehaghani, P.G., Baboli, M.J., Moghadam, A.T., Ziaei-Nejad, S. and Pourfarhadi, M. 2015. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Czech Journal of Animal Science*, 60(5); 224-232.
- Dempster, P., Baird, D.J. and Beveridge, M.C.M. 1995. Can fish survive by filter-feeding on microparticles? Energy balance in tilapia grazing on algal suspensions. *Journal of Fish Biology*, 47(1); 7-17.

- Dowidar, M., Abd ElAzeem, S., Khater, A.M., Awad Somayah, M. and Metwally, S.A. 2018. Improvement of growth performance, immunity and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by using dietary probiotics supplementation. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 3(2); 35-46.
- Egerton, S., Culloty, S., Whooley, J., Stanton, C. and Ross, R.P. 2018. The gut microbiota of marine fish. *Front Microbiol* 9, 873.
- Eissa, A.E., Attia, M.M., Elgendy, M.Y., Ismail, G.A., Sabry, N.M., Prince, A., Mahmoud, A.M., El-Demerdash O.G., Abdelsalam, M., and Derwa, H. I. 2021. *Streptococcus*, *Centrocestus formosanus* and *Myxobolus tilapiae* concurrent infections in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Microbial Pathogenesis*, 158, 105084.
- Ekasari, J., Azhar, M.H., Surawidjaja, E.H., Nuryati, S., De Schryver, P. and Bossier, P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish & shellfish immunology*, 41(2), 332-339.
- Ekasari, J., Pasha, H.K. and Priyoutomo, N.B. 2018. Utilization of biofloc meal as a feed ingredient for Nile tilapia and common carp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 17(1); 9-15.
- Ekingen, G., 1988. *Balık Sistematığı, Dizgi ve Baskı: Tolga Ofset*. Elazığ, 225s.
- El-Ezabi, M., El-Serafy, S., Essa, M., Daboor, S. and Esmael, N. 2011. The viability of probiotics as a factor influencing the immune response in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 15(1); 105-124.
- El-Haroun, E.R., Goda, A.S. and Kabir Chowdhury, M.A. 2006. Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 37(14); 1473-1480.
- El-latif, A., Ashraf, M., El-Gawad, A. and Emam, M. 2015. Effect of dietary fructooligosaccharide supplementation on feed utilization and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Egyptian Journal for Aquaculture*, 5(3); 1-16.
- El-Leithy, A.A., Hemeda, S.A., Abd El Naby, W.S., El Nahas, A.F., Hassan, S.A., Awad, S.T., El-Deeb, S.I. and Helmy, Z.A. 2019. Optimum salinity for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and mRNA transcripts of ion-regulation, inflammatory, stress-and immune-related genes. *Fish physiology and biochemistry*, 45(4); 1217-1232.
- Elsabagh, M., Mohamed, R., Moustafa, E.M., Hamza, A., Farrag, F., Decamp, O., Dawood, M.A. and Eltholth, M., 2018. Assessing the impact of *Bacillus* strains mixture probiotic on water quality, growth performance, blood profile and intestinal morphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture nutrition*, 24(6); 1613-1622.
- El-Sayed, A.F.M. (2006) Tilapia culture in salt water: environmental requirements, nutritional implications and economic potentials. In: Cruz Suárez LE, Marie DR, Salazar MT, Villareal Cavazos DA, Puella Cruz AC, García Ortega A (Eds). 8th Symposium

Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. P. 95-106

El-Sayed, A.F.M., 2019. Tilapia culture. Academic Press, London.

El-Sayed, A.F.M., Mansour, C.R. and Ezzat, A.A. 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture*, 220(1-4); 619-632.

Esquinas-Requena, J.L., Lozoya-Moreno, S., García-Nogueras, I., Atienzar-Núñez, P., Sánchez-Jurado, P.M. and Abizanda, P. 2020. La anemia aumenta el riesgo de mortalidad debido a fragilidad y discapacidad en mayores: Estudio FRADEA. *Atención Primaria*, 52(7); 452-461.

Fitzsimmons, K. 2005. Tilapia culture. In American Fisheries Society Symposium. American Fisheries Society, Volume 46, pp. 563-590.

Food and Agriculture Organization 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in Action 2020. FAO, Rome.

Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals. *J. Appl. Bacteriol*, 66, 131-139.

Fuller, R. 1992. History and development of probiotics. *Aquaculture*, 232, 1-18.

Gan, L., Xu, Z.X., Ma, J.J., Xu, C., Wang, X.D., Chen, K., Chen, L.Q. and Li, E.C. 2016. Effects of salinity on growth, body composition, muscle fatty acid composition, and antioxidant status of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 32(2); 372-374.d

Garcia-Marengoni, N. and Menezes-Albuquerque, D. 2015. Cuantificación de las bacterias intestinales, costo de operación y desempeño de alevines de tilapia del Nilo sometido a probióticos. *Latin american journal of aquatic research*, 43(2); 367-373.

Genç, E., Genç, M.A., Kaya, D., Secer, F.S., Qaranjiki, A. and Güroy, D. 2020. Effect of prebiotics on the growth performance, haematological, biochemical, and histological parameters of African catfish (*Clarias gariepinus*) in recirculating aquaculture system. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 44(6); 1222-1231.

Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E. and Yilmaz, E. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). *Aquaculture Nutrition*, 13(2); 156-161.

Gerritsen, J., Fuentes, S., Grievink, W., van Niftrik, L., Tindall, B.J., Timmerman, H.M., Rijkers, G.T. and Smidt, H. 2014. Characterization of *Romboutsia ilealis* gen. nov., sp. nov., isolated from the gastro-intestinal tract of a rat, and proposal for the reclassification of five closely related members of the genus *Clostridium* into the genera *Romboutsia* gen. nov., *Intestinibacter* gen. nov., *Terrisporobacter* gen. nov. and *Asaccharospora* gen. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(Pt_5); 1600-1616.

- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6); 1401-1412.
- Giorgia, G., Elia, C., Andrea, P., Cinzia, C., Stefania, S., Ana, R., Daniel, M.L., Ike, O. and Oliana, C. 2018. Effects of Lactogen 13, a new probiotic preparation, on gut microbiota and endocrine signals controlling growth and appetite of *Oreochromis niloticus* juveniles. *Microbial ecology*, 76(4); 1063-1074.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Chen, J.C., Rekha, R., Vijayakumar, S., Anjugam, M. and Iswarya, A. 2018. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dab1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish immunology*, 74, 501-508.
- Guerreiro, I., Couto, A., Machado, M., Castro, C., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A. and Enes, P. 2016. Prebiotics effect on immune and hepatic oxidative status and gut morphology of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Fish & shellfish immunology*, 50, 168-174.
- Hassaan, M.S., Soltan, M.A. and Ghonemy, M.M.R. 2014. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 40(2); 199-208.
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z., Wang, A. and Zhou, Z. 2018. Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2429.
- Huynh, T.G., Shiu, Y.L., Nguyen, T.P., Truong, Q.P., Chen, J.C. and Liu, C.H. 2017. Current applications, selection, and possible mechanisms of actions of synbiotics in improving the growth and health status in aquaculture: a review. *Fish & Shellfish Immunology*, 64, 367-382.
- Ibrahim, M.D., Fathi, M., Mesalhy, S. and Abd El-Aty, A.M. 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 29(2); 241-246.
- Iqbal, K.J., Qureshi, N.A., Ashraf, M., Rehman, M.H.U., Khan, N., Javid, A., Abbas, F., Mushtaq, M.M.H., Rasool, F., and Majeed, H. 2012. Effect of different salinity levels on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(4); 919-932.
- Islam, S.M., Rohani, M.F. and Shahjahan, M. 2021. Probiotic yeast enhances growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through morphological modifications of intestine. *Aquaculture Reports*, 21, 100800.
- Jahari, M.A., Mustafa, S., Roslan, M.A.H., Abd Manap, Y., Lamasudin, D.U. and Jamaludin, F.I. 2018. The Effects of Synbiotics and Probiotics Supplementation on Growth Performance

of Red Hybrid Tilapia, *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*. Journal of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, 6(1); 5-9.

- Jasim Basim, M. and Najim Salah, M. 2016. Liver of platy *Xiphophorus maculatus* (gunther, 1986) as an indicator for salinity stress. International Journal of Zoology Research, ISSN, 2231-3516.
- Kassam, L., Subasinghe, R. and Phillips, M. 2011. Aquaculture farmer organizations and cluster management: concepts and experiences.
- Kaya, D., Genc, E., Genc, M.A., Aktas, M., Eroldogan, O.T. and Guroy, D. 2020. Biofloc technology in recirculating aquaculture system as a culture model for green tiger shrimp, *Penaeus semisulcatus*: Effects of different feeding rates and stocking densities. Aquaculture, 528, 735526.
- Kaya, D., Genc, M.A., Aktas, M., Yavuzcan, H., Ozmen, O. and Genc, E. 2019. Effect of biofloc technology on growth of speckled shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricus) in different feeding regimes. Aquaculture Research, 50(10); 2760-2768.
- Kishawy, A.T., Sewid, A.H., Nada, H.S., Kamel, M.A., El-Mandrawy, S.A., Abdelhakim, T., El-Murr, A.E.I., Nahhas, N.E., Hozzein, W.N. and Ibrahim, D. 2020. Mannanligosaccharides as a carbon source in Biofloc boost dietary plant protein and water quality, growth, immunity and *Aeromonas hydrophila* resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Animals, 10(10); 17-24.
- Klindworth, A., Priesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M. and Glöckner, F.O. 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. Nucleic acids research, 41(1); e1-e1.
- Koch, J.F.A., de Oliveira, C.A.F. and Zanuzzo, F.S. 2021. Dietary β -glucan (MacroGard®) improves innate immune responses and disease resistance in Nile tilapia regardless of the administration period. Fish & Shellfish Immunology, 112, 56-63.
- Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R.O., Poersch, L.H. and Wasielesky Jr, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. Journal of the world aquaculture society, 42(5), 726-733.
- Kuhn, D.D., Boardman, G.D., Lawrence, A.L., Marsh, L. and Flick Jr, G.J. 2009. Microbial floc meal as a replacement ingredient for fishmeal and soybean protein in shrimp feed. Aquaculture, 296(1-2); 51-57.
- Laice, L.M., Corrêa Filho, R.A.C., Ventura, A.S., Farias, K.N.N., do Nascimento Silva, A.L., Fernandes, C.E., Fernando Silva, A.C., Leite Barbosa, P.T., de Souza, A.I., Coelho Emerenciano, M.G., and Povh, J.A. 2021. Use of symbiotics in biofloc (BFT)-based Nile tilapia culture: Production performance, intestinal morphometry and hematological parameters. Aquaculture, 530, 735715.

- Lara-Flores, M. and Olvera-Novoa, M.A. 2013. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), as growth promoters in fish fed low protein diets. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 41(3); 490-497.
- Lara-Flores, M., Olivera-Castillo, L. and Olvera-Novoa, M.A. 2010. Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 2(4); 93-101.
- Likongwe, J.S., Stecko, T.D., Stauffer Jr, J.R. and Carline, R.F. 1996. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture*, 146(1-2); 37-46.
- Limbu, S. M. 2020. Antibiotics use in African aquaculture: Their potential risks on fish and human health. In *Current Microbiological Research in Africa*. Springer, Cham, 2020, 203-221.
- Malik, A., Abbas, G., Ghaffar, A., Dastagir, G., Ferrando, S., Gallus, L., Muhammad, A.A. and Jabbar, A. 2018. Assessment of optimum salinity level for maximum growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758). *Pakistan Journal of Zoology*, 50(2).
- Mehisan, M., El-moghazy, G., El-Sayed, A.E.K., Iraqi, M. and Soltan, M. 2015. Role of probiotics in improving growth performance, immunity and controlling *Aeromonas hydrophila* in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 19(3); 55-70.
- Mehrim, A.I. 2009. Effect of dietary supplementation of Biogen® (Commercial probiotic) on mono-sex Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different stocking densities. *J Fish Aquat Sci*, 4(6); 261-273.
- Millington, K.A. and Cleland, J. 2017. Counting people and making people count: Key sources of population projections, K4D Helpdesk Report. Brighton, UK: Institute of Development Studies.
- Mjoun, K., Rosentrater, K. and Brown, M.L. 2010. Tilapia: environmental biology and nutritional requirements. *Fact Sheets*, 164.
- Modanloo, M., Soltanian, S., Akhlaghi, M. and Hoseinifar, S.H. 2017. The effects of single or combined administration of galactooligosaccharide and *Pediococcus acidilactici* on cutaneous mucus immune parameters, humoral immune responses and immune related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Fish & Shellfish Immunology*, 70, 391-397.
- Mohammadi, G., Hafezieh, M., Karimi, A.A., Azra, M.N., Van Doan, H., Tapingkae, W., Abdelrahman, H.A. and Dawood, M.A. 2022. The synergistic effects of plant polysaccharide and *Pediococcus acidilactici* as a synbiotic additive on growth,

- antioxidant status, immune response, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology, 120, 304-313.
- Nayak, S.K. 2010. Probiotics and immunity: a fish perspective. Fish & shellfish immunology, 29(1); 2-14.
- Nedaei, S., Noori, A., Valipour, A., Khanipour, A.A. and Hoseinifar, S.H. 2019. Effects of dietary galactooligosaccharide enriched commercial prebiotic on growth performance, innate immune response, stress resistance, intestinal microbiota and digestive enzyme activity in Narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823). Aquaculture, 499; 80-89.
- Newman, K. 1994. Mannan-oligosaccharides: Natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and the immune system. 167-174 in: Biotechnology in the Feed Industry. In Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium. TP Lyons And KA Jacques. ed. Nottingham University Press, Nottingham. UK.
- Ni, Q., Li, W., Liang, X., Liu, J., Ge, H. and Dong, Z. 2021. Gill transcriptome analysis reveals the molecular response to the acute low-salinity stress in *Cyclina sinensis*. Aquaculture Reports, 19, 100564.
- Opiyo, M.A., Jumbe, J., Ngugi, C.C. and Charo-Karisa, H. 2019b. Dietary administration of probiotics modulates non-specific immunity and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in low input ponds. International journal of veterinary science and medicine, 7(1); 1-9.
- Opiyo, M.A., Jumbe, J., Ngugi, C.C. and Charo-Karisa, H., 2019a. Different levels of probiotics affect growth, survival and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in low input ponds. Scientific African, 4, p.e00103.
- Özlüer-Hunt, A., Berköz, M., Özkan, F., Yalin, S., Erçen, Z., Erdoğan, E. and Gündüz, S.G. 2011. Effect of mannan oligosaccharide on growth, body composition, and antioxidant enzyme activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, IIC, 63(619); 8.
- Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim Nutr Health, 29, 4-8.
- Phillipart, J.C. and Ruwet, J.C. 1982. Ecology and distribution of tilapias. In he biology and culture of Tilapias.(Eds. Pullin, RSV, Lowe-McConnell, RH) ICLARM (International Centre for Living Aquatic Resources Management) Conference Proceedings, Volume 7, pp. 15-59.
- Pilarski, F., de Oliveira, C.A.F., de Souza, F.P.B.D. and Zanuzzo, F.S. 2017. Different β -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. Fish & shellfish immunology, 70, 25-29.
- Plongbunjong, V., Phromkuntong, W., Suanyuk, N., Viriyapongsutee, B. and Wichienchot, S. 2011. Effects of prebiotics on growth performance and pathogenic inhibition in sex-reversed red tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis mossambicus*). Thai Journal of Agricultural Science, 44(5); 162-167.

- Poolsawat, L., Li, X., Yang, H., Yang, P., Kabir Chowdhury, M.A., Yusuf, A. and Leng, X. 2020. The potentials of fructooligosaccharide on growth, feed utilization, immune and antioxidant parameters, microbial community and disease resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Aquaculture Research*, 51(11); 4430-4442.
- Prabu, E., Rajagopalsamy, C.B., Ahilan, B., Jeevagan, I.J. and Renuhadevi, M. 2017a. Effect of dietary supplementation of biofloc meal with tryptophan on growth and survival of GIFT Tilapia. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*, 6(8); 3426-3434.
- Prabu, E., Rajagopalsamy, C.B.T., Ahilan, B., Jeevagan, I.J.M.A. and Renuhadevi, M. 2019. Tilapia—an excellent candidate species for world aquaculture: a review. *Annual Research & Review in Biology*, 1-14.
- Prabu, E., Rajagopalsamy, C.B.T., Ahilan, B., Jeevagan, J.M.A. and Renuhadevi, M. 2018. Effect of dietary supplementation of biofloc meal on growth and survival of GIFT tilapia. *Indian Journal of Fisheries*, 65(1); 65-70.
- Prabu, E., Rajagopalsamy, C.B.T., Ahilan, B., Santhakumar, R. and Jemila, A. 2017b. Influence of Biofloc meal and Lysine supplementation on the growth performances of GIFT tilapia. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(5); 35-39.
- Prunet, P. and Bornancin, M., 1989. Physiology of salinity tolerance in tilapia: an update of basic and applied aspects. *Aquatic Living Resources*, 2(2); 91-97.
- Ramírez, C., Coronado, J., Silva, A. and Romero, J. 2018. *Cetobacterium* is a major component of the microbiome of giant Amazonian fish (*Arapaima gigas*) in Ecuador. *Animals*, 8(11); 189.
- Rasul, M.G. and Majumdar, B.C. 2017. Abuse of antibiotics in aquaculture and its effects on human, aquatic animal and environment. *The Saudi Journal of Life Sciences*, 2(3); 81-88.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I. and Bakke, A.M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16(2), 117-136.
- Rodriguez-Estrada, U., Satoh, S., Haga, Y., Fushimi, H. and Sweetman, J. 2009. Effects of single and combined supplementation of *Enterococcus faecalis*, mannan oligosaccharide and polyhydroxybutyrate acid on growth performance and immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Science*, 57(4); 609-617.
- Ross, L.G. 2000. Environmental physiology and energetics. In *Tilapias: biology and exploitation*. Springer, Dordrecht, 89-12.
- Sado, R.Y., Cechim, F.E.C.E., Sales, F.B., Signor, A.A. and Michels-Souza, M.A. 2018. Dietary mannanoligosaccharide influenced feed consumption and gut morphology of Nile tilapia raised in net-cage systems. *Boletim do Instituto de Pesca*, 41(3); 519-527.

- Sakami, T., Fujioka, Y. and Shimoda, T. 2008. Comparison of microbial community structures in intensive and extensive shrimp culture ponds and a mangrove area in Thailand. *Fisheries Science*, 74(4); 889-898.
- Samrongpan, C., Areechon, N., Yoonpundh, R. and Sirsapoome, P. 2008. Effects of mannan-oligosaccharide on growth, survival and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus linnaeus*) fry. In 8th international symposium on tilapia in aquaculture. No: 345353. Cairo.
- Selim, K.M. and Reda, R.M. 2015a. Beta-glucans and mannan oligosaccharides enhance growth and immunity in Nile tilapia. *North American Journal of Aquaculture*, 77(1); 22-30.
- Selim, K.M. and Reda, R.M., 2015b. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish & shellfish immunology*, 44(2); 496-503.
- Shao, J., Liu, M., Wang, B., Jiang, K., Wang, M. and Wang, L. 2017. Evaluation of biofloc meal as an ingredient in diets for white shrimp *Litopenaeus vannamei* under practical conditions: Effect on growth performance, digestive enzymes and TOR signaling pathway. *Aquaculture*, 479, 516-521.
- Song, S.K., Beck, B.R., Kim, D., Park, J., Kim, J., Kim, H.D. and Ringø, E. 2014. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*, 40(1); 40-48.
- Sookchaiyaporn, N., Srisapoome, P., Unajak, S. and Areechon, N. 2020. Efficacy of *Bacillus* spp. isolated from Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linn. on its growth and immunity, and control of pathogenic bacteria. *Fisheries Science*, 86(2); 353-365.
- Spens, J., Evans, A.R., Halfmaerten, D., Knudsen, S.W., Sengupta, M.E., Mak, S.S., Sigsgaard, E.E. and Hellström, M. 2017. Comparison of capture and storage methods for aqueous microbial eDNA using an optimized extraction protocol: advantage of enclosed filter. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(5); 635-645.
- Srisapoome, P. and 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 Immunology*, 67; 199-210.
- Standen, B.T., Rodiles, A., Peggs, D.L., Davies, S.J., Santos, G.A. and Merrifield, D.L. 2015. Modulation of the intestinal microbiota and morphology of tilapia, *Oreochromis niloticus*, following the application of a multi-species probiotic. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(20); 8403-8417.
- Subasinghe, R., Soto, D. and Jia, J. 2009. Global aquaculture and its role in sustainable development. *Reviews in Aquaculture*, 1(1); 2-9.
- Suresh, A.V. and Lin, C.K., 1992. Tilapia culture in saline waters: a review. *Aquaculture*, 106(3-4); 201-226.
- Tabassum, T., Mahamud, A.S.U., Acharjee, T.K., Hassan, R., Snigdha, T.A., Islam, T., Alam, R., Khoiam, M.U., Akter, F., Azad, M.R. and Al Mahamud, M.A. 2021. Probiotic

- supplementations improve growth, water quality, hematology, gut microbiota and intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquaculture Reports*, 21, 100972.
- Tan, H.Y., Chen, S.W. and Hu, S.Y. 2019. Improvements in the growth performance, immunity, disease resistance, and gut microbiota by the probiotic *Rummeliibacillus stabekisii* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*, 92; 265-275.
- Tang, S., Liu, S., Zhang, J., Zhou, L., Wang, X., Zhao, Q., Weng, W., Qin, J.G., Chen, L. and Li, E. 2020. Relief of hypersaline stress in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* by dietary supplementation of a host-derived *Bacillus subtilis* strain. *Aquaculture*, 528, 735542.
- Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., de Carla Dias, D., Sussel, F.R., Ishikawa, C.M. and 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 immunology*, 39(2); 305-311.
- Torrecillas, S., Montero, D., Caballero, M.J., Robaina, L., Zamorano, M.J., Sweetman, J. and Izquierdo, M. 2015. Effects of dietary concentrated mannan oligosaccharides supplementation on growth, gut mucosal immune system and liver lipid metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Fish & shellfish immunology*, 42(2), 508-516.
- Tsuchiya, C., Sakata, T. and Sugita, H. 2008. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish. *Letters in applied microbiology*, 46(1); 43-48.
- Ulotu, E.E., Mmochi, A.J. and Lamtane, H.A. 2016. Effect of salinity on the survival and growth of Rufiji Tilapia (*Oreochromis urolepis urolepis*) fry. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*, 15(2); 31-37.
- Van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Khanongnuch, C., Kanpiengjai, A., Unban, K. and 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., Tapingkae, W., Tongsiri, S. and Khamtavee, P. 2016. Combined administration of low molecular weight sodium alginate boosted immunomodulatory, disease resistance and growth enhancing effects of *Lactobacillus plantarum* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 58; 678-685.
- Wang, M. and Lu, M. 2016. Tilapia polyculture: a global review. *Aquaculture research*, 47(8); 2363-2374.
- Wang, M., Yi, M., Lu, M., Gao, F., Liu, Z., Huang, Q., Li, Q. and Zhu, D. 2020. Effects of probiotics *Bacillus cereus* NY5 and *Alcaligenes faecalis* Y311 used as water additives on the microbiota and immune enzyme activities in three mucosal tissues in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in outdoor tanks. *Aquaculture Reports*, 17, 100309.

- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M. and Cole, J.R. 2007. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and environmental microbiology*, 73(16); 5261-5267.
- Wexler, H.M. 2007. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical microbiology reviews*, 20(4); 593-621.
- Whittington, R., Lim, C. and Klesius, P.H. 2005. Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 248(1-4); 217-225.
- Wolf, J.C., Baumgartner, W.A., Blazer, V.S., Camus, A.C., Engelhardt, J.A., Fournie, J.W., Frasca Jr, S., Groman, D.B., Kent, M.L., Khoo, L.H. and Law, J.M. 2015. Nonlesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: a guide for investigators, authors, reviewers, and readers. *Toxicologic pathology*, 43(3); 297-325.
- Wu, L., Liang, H., Hamunjo, C.M.K., Ge, X., Ji, K., Yu, H., Huang, D., Xu, H. and Ren, M. 2021. Culture salinity alters dietary protein requirement, whole body composition and nutrients metabolism related genes expression in juvenile genetically improved farmed tilapia (GIFT)(*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 531, 735961.
- Xia, Y., Wang, M., Gao, F., Lu, M. and Chen, G. 2020. Effects of dietary probiotic supplementation on the growth, gut health and disease resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Nutrition*, 6(1), 69-79.
- Xia, Y., Yu, E., Lu, M. and Xie, J. 2020. Effects of probiotic supplementation on gut microbiota as well as metabolite profiles within Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 527, 735428.
- Xu, C., Li, E., Suo, Y., Su, Y., Lu, M., Zhao, Q., Qin, J.G. and Chen, L. 2018. Histological and transcriptomic responses of two immune organs, the spleen and head kidney, in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to long-term hypersaline stress. *Fish & shellfish immunology*, 76, 48-57.
- Xu, H., Ren, M., Liang, H., Ge, X., Ji, K., Huang, D., Yu, H. and Wu, L. 2022. Interactive effects of water salinity and dietary methionine levels on growth performance, whole-body composition, plasma parameters, and expression of major nutrient metabolism genes in juvenile genetically improved farmed Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 546, 737381.
- Xu, W.J. and Pan, L.Q. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed. *Aquaculture*, 356, 147-152.
- Ye, J.D., Wang, K., Li, F.D. and Sun, Y.Z. 2011. Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid

metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture nutrition, 17(4), e902-e911.

Ye, L., Amberg, J., Chapman, D., Gaikowski, M. and Liu, W.T. 2014. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish. The ISME journal, 8(3); 541-551.

Yuji-Sado, R., Raulino-Domanski, F., Freitas, P.F.D. and Baioco-Sales, F. 2015. Crecimiento, estado inmunológico y morfología intestinal de la tilapia del Nilo alimentadas con prebióticos (Mananoligosacáridos-MOS) en la dieta. Latin american journal of aquatic research, 43(5); 944-952.

Zhang, M., Sun, Y., Liu, Y., Qiao, F., Chen, L., Liu, W.T., Du, Z. and Li, E. 2016. Response of gut microbiota to salinity change in two euryhaline aquatic animals with reverse salinity preference. Aquaculture, 454,72-80.

Zhou, L., Zhang, J., Yan, M., Tang, S., Wang, X., Qin, J.G., Chen, L. and Li, E. 2020. Inulin alleviates hypersaline stress induced oxidative stress and dysbiosis of gut microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 529, 735681.

Zorriehzahra, M.J., Delshad, S.T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K. and Lazado, C.C. 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. Veterinary quarterly, 36(4), 228-241.