

SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE PROBİYOTİK UYGULAMALARI

Seval Bahadır Koca^{1*}, Behire Işıl Didinen¹, Seçil Ekici¹, Arife Dulluç²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Eğirdir, Isparta

²Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Isparta İl Müdürlüğü, Isparta

Özet:

Akuakültürde üretimin artması patojen çeşitliliğini artırmakta ve bakteriyel direnç gelişimini de içine alan pek çok ekolojik etkiye yol açmaktadır. Bu olumsuz etkiler, üretim periyodu boyunca yapılan uygulamaların (gelişi güzel kemoteropatik madde kullanımı vb.) bir sonucu olarak görülmektedir. Akuakültürde probiyotik kullanımı, bu olumsuz etkilerin azaltılması için yeni bir yaklaşım olarak yer almaktadır. Bu derlemede, probiyotik kavramının tanımı, probiyotiklerin etki mekanizmaları, konakçıya kolonizasyonları, probiyotiklerin seçimi, balıklarda, kabuklularda, yumuşakçalarda ve canlı yemlerde probiyotik kullanımı ile ilgili çalışmalar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Bakteri, Akuakültür

Abstract: Applications of Probiotic in Aquaculture

Ecological impacts including emergence of a large variety of pathogens and bacterial resistance is caused in increase of productivity in aquaculture. This negatively effects are seen as a results of made applications in production cycles (such as randomly use kemoteropatik). Using probiotic in aquaculture is a new approach to reduce these negatively effects. In this study is submitted, definition of the concept probiotic, effect mechanisms of probiotics, colonization to host, selection of probiotics, use probiotic in fish, crustacean, the mollusk and the live feed.

Keywords: Probiotic, Bacteria, Aquaculture

* Correspondence to:

Seval Bahadır KOCA, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, 32500, Eğirdir-Isparta-TÜRKİYE

Tel: (+90 246) 313 34 47-1422 Fax: (+90 246) 313 34 52

E-mail: skoca@sdu.edu.tr

Giriş

Probiyotikler, konağın intestinal mikroflorasının gelişimini teşvik eden, tüketilmeleri sonucunda sindirim sisteminde yararlı etkileri ile konağın sağlığında iyileşmeye ve hızlı büyümeye neden olan tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleri veya bunların metabolitleridir (Gomez-Gill vd., 2000; Vine vd., 2006). Probiyotikler konakçıya yararlı yem katkı maddeleri olarak da tanımlanmaktadır (Wang, 2007).

Laktik asit bakterileri karasal hayvanların beslenmesinde en yaygın olarak kullanılan probiyotikler olduğu için, sucul türler için de probiyotik olarak kullanılması önerilmektedir (Gatesoupe, 1991; Ringo ve Gatesoupe, 1998). Laktik asit bakterileri probiyotik olarak pek çok potansiyele sahiptirler: gelişimi uyarabilirler, zararlı bakterilerle rekabet edebilirler ve organizmanın doğal bağışıklık mekanizmasını güçlendirebilirler (Vandenberg, 1993; Villamil vd., 2002). Sucul türler üzerindeki etkileri değerlendirilen suşlar genellikle *Lactobacillus acidophilus*, *L. sporogenes*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *Carnobacterium divergens* sp., *Lactococcus lactis* ve *Pediococcus acidilactici*'dir (Casteks, 2008). Yaygın olarak kullanılan diğer probiyotikler, spor üreten *Bacillus* spp. ve mayalardır. *Bacillus* spp.'lerin tutunma yetenekleri, bacteriocin (antimikrobiyal peptitler) üretimi ve bağışıklık sistemini uyarıcı etkileri kanıtlanmıştır. Spor formunda oldukları için raf ömürleri de uzundur. *Saccharomyces cerevisiae* de yaygın olarak kullanılan bağışıklık sistemini uyarıcı etkisi kanıtlanan, inhibitör maddeler ürettiği görülmüş bir maya türüdür (Kesarcodi-Watson, 2008).

Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Rekabet Etkisi

Probiyotiklerin sucul hayvanlara etki mekanizmaları konusundaki çalışmalar daha çok inhibitör madde üretimi ile ilgilidir (Kesarcodi-Watson vd., 2008). Bakteriyel antagonizm doğada yaygın bir olaydır. Mikrobiyal etkileşimler, potansiyel patojen mikroorganizmalar ile rekabetçi faydalı organizmalar arasındaki dengede asıl rolü oynarlar. Yine de mikrobiyal toplulukların kompozisyonu yetiştiricilik uygulamaları ve çevre koşullarıyla değişebilir ki, bu da seçilmiş bakteriyel suşların çoğalmasını uyarır. Bilindiği gibi sucul hayvanların sindirim kanalındaki mikrobiota

değiştirilebilir. Bu nedenle mikrobiyal manuplasyon, fırsatçı patojenlerin azaltılması ya da elimine edilmesinde uygun bir yoldur (Balcázar, 2002). Akuakültürde *Thalassobacter utilis*'in *V. anguillarum*'a karşı inhibitör etkisi gösterilmiştir. Bu suş, yengeç larvalarının (*Portunus trituberculatus*) yaşama oranlarını artırmış ve larvaların yetiştirildiği sudaki *Vibrio* sp. miktarını azaltmıştır (Nogami ve Madea, 1992; Nogami vd., 1997). Daha sonra Olsson vd., (1992), tarafından ergin *Scophthalmus maximus* ve *Limanda limanda*'ların bağırsak ve deri mukusundaki bakteriyel suşların *Vibrio anguillarum*'un üzerinde baskılayıcı etki yaptığı bildirilmiştir (Balcázar vd., 2006). Ekvatorda, *Litopenaeus vannamei* (beyaz karides)'nin post larva döneminde *V. alginolyticus* suşunun probiyotik olarak kullanılması ile büyüme ve yaşama oranını artırdığı saptanmıştır (Garriques ve Arevalo, 1995).

Enerji kaynakları için rekabet yoluyla oluşan probiyotik etki, hücre dışı ürünlerle gerçekleşmez, canlı bakteriyel hücrelere ihtiyaç vardır. Demir için rekabet deniz bakterilerinde önemli bir faktör olarak rapor edilmiştir. Demir bağlayan maddeler, sideroforlar, mikrobiyal gelişim için uygun demirin sağlanmasına izin verir. Probiyotiklerin siderefor üretimi, sınırlı demir şartları altında patojen bakterileri demirden mahrum bırakır. Sınırlı demir şartlarında gelişen *Pseudomonas fluorescens*'in kültür supernatantının, *Vibrio anguillarum*'un gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Kesarcodi-Watson vd., 2008).

Etki mekanizmasında geniş olarak yer alan bir diğer kavram tutunma bölgeleri için rekabettir. Vine vd., (2006), 5 adet probiyotiğin, balık bağırsağındaki iki patojen bakteri ile rekabetini göstermişlerdir. Probiyotiklerin önceden kolonize olması, iki patojenin tutunmasını zorlaştırmış ve probiyotikler patojenlerle yer değiştirmiştir.

Besin Kaynağı ve Sindirime Enzimatik Destek

Bazı araştırmacılar, mikroorganizmaların sucul canlıların sindirim işleminde yardımcı olduğunu bildirmektedirler. Balıklarda *Bacteroides* ve *Clostridium* sp.'nin, konakçının beslenmesini özellikle vitaminler ve yağ asitleri sağlama yoluyla destekledikleri rapor edilmiştir (Sakata, 1990). Bazı mikroorganizmalar, *Agrobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Brevibacterium* sp., *Mic-*

robacterium sp. ve *Staphylococcus* sp., *Salvelinus alpinus*'larda besinsel işlemleri destekleyebilmektedir (Ringo vd., 1995). Ayrıca bazı bakteriler ekstrasellüler enzimler (proteaz, lipaz vb) ve hatta gerekli büyüme faktörleri üreterek bivalve'lerin sindirim işlemine yardımcı olurlar. Benzer bulgular ergin karideslerin mikrobiyal florası için de bildirilmiştir. Mikrobiyota, yemlerde ek kaynak olarak görev alabilir ve sindirim kanalındaki mikrobiyal aktivite, vitamin ve esansiyel aminoasit kaynağı olabilir (Balcázar vd., 2006).

Bairagi vd., (2002), 9 adet tatlı su balığının bağırsaklarından izole ettikleri seçilmiş bakteriyel suşların, sindirim enzimleri ürettiklerini ve böylece yemden yararlanmayı ve sindirimi kolaylaştırdıklarını saptamışlardır. Ramirez ve Dixon (2003), 3 balık türünden izole ettikleri anaerobik bağırsak bakterilerinin enzimatik özelliklerini ortaya koymuşlar ve potansiyel olarak probiyotik rol oynayabileceklerini ifade etmişlerdir. Bairagi vd., (2004) *Labeo rohita*'ların yemlerine, *B. subtilis* ve *B. circulans*'ın ilavesi gelişim, yem dönüşüm oranı, protein etkinlik oranı gibi faktörleri etkileyerek performansını artırmıştır. Bakteriler bu gelişimi, selülozu ve nişastayı hidrolize edebilen hücre dışı sellülotik ve amilolitik enzim üreterek sağlamaktadırlar (Kesarcodi-Watson vd., 2008).

Su Kalitesi Üzerindeki Etki

Probiyotiklerin sucul çevredeki etkilerini anlamak için pek çok çalışma yapılmıştır. Bir grup yararlı mikroorganizmanın (*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodoseudomonas*, *Nitrosomonas* ve *Acinetobacter*) sudaki organik yükün mineralizasyonuna yardımcı olarak, su kalitesi ve patojen mikroorganizmaların kontrol için yararlı olabilecekleri ifade edilmektedir (Shariff vd., 2001; Irianto ve Austin, 2002).

Su kalitesinin düzeltilmesinde, özellikle *Bacillus* türleri kullanılmaktadır. Gr(+) bakteriler, organik maddeyi CO₂'e, Gr(-) bakterilerden daha iyi dönüştürürler. Üretim döngüsü sırasında yüksek seviyedeki Gr(+) bakteriler, çözünmüş ve partiküler organik karbonu minimize edebilirler. *Bacillus* türleri, yetiştiriciliğin yapıldığı su ortamındaki patojenlerin sayısını azaltarak ve sudaki mikrobiyal popülasyonun kompozisyonunu etkileyerek su kalitesini iyileştirmektedir. Bu nedenle *Bacillus* türlerinin, sucul ortamdaki potansiyel patojenlere karşı antagonistik etkilerinin olduğu

düşünülmektedir (Irianto ve Austin, 2002). *Bacillus* sp.'nin kullanımının su kalitesini iyileştirmesiyle, *Penaeus monodon* juvenillerinin sağlık durumlarını, büyüme ve yaşama oranlarını artırdığı ve patojenik *Vibrio*'ları azalttığı bildirilmiştir (Balcázar vd., 2006).

Bağışıklık Reaksiyonunun Artması

Sucul organizmaların spesifik olmayan bağışıklık sistemi, probiyotiklerle uyarılabilir. *Clostridium butyricum* bakterisinin gökkuşağı alabalığına verilmesi, balığın vibriosise karşı direncini yükseltmiştir. Bu yükseltme, lökositlerin fagositik aktivitesinin artmasıyla sağlanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada *Bacillus* sp.'nin kullanımının *P.monodon*'da hem humoral bağışıklık savunmasını, hem de hücresel aktivasyon yoluyla hastalıklardan korunmayı sağlamıştır. *Bacillus* ve *Vibrio* sp. karışımı suşların kullanılması da beyaz karides yavrularının büyüme ve yaşama oranlarını etkilemiş, ayrıca beyaz benek sendromu virüsü ve *Vibrio harvei* patojenlerine karşı koruyucu etkileri bulunmuştur. Bu koruyucu etki, fagositozis ve antimikrobiyal etkinin artmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca *Lactobacillus rhamnosus*'un 10⁵ kob/gr dozunda yeme uygulanmasıyla gökkuşağı alabalıklarında respiratory burst aktivitesini uyardığı bildirilmektedir (Balcázar vd., 2006).

Itami vd. (1998), *Bifidobacterium thermophilum*'un oluşturduğu peptidoglukanın, kuruma karideslerinde *V. penaeicida* ile infeksiyon oluşturduğunda karideslerin hayatta kalma oranlarını önemli ölçüde arttırdığı bildirilmektedir. Bu olumlu etki karideslerin granülositlerinin fagositik aktivitesindeki bağışıklık sistemini uyarıcı etki ile sağlanmıştır. Gullian vd. (2004), bakteriyel ürünlerin (örneğin glukanlar ya da lipopolisakaritler) bağışıklık sistemini uyarıcı etkilerini test etmişler ve *Bacillus* türünün bağışıklık sistemini uyarıcı etkisi olduğunu belirlemişlerdir.

Antiviral Etkiler

Yapılan çalışmalarda salmonid balıkların kuluçkahanelerinden izole edilen *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp. ve *Coryneform* grup bakterilerin IHNV (İnfeksiyöz hematopoietik nekrozis virüsü)'ne karşı antiviral etki sağladığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, bir siyah kaplan karidesi kuluçkahanesinden izole edilen iki farklı *Vibrio* suşunun, IHNV (İnfeksiyöz hematopoietik nekrozis virüsü) ve OMV (*Onchocorhynchus masou* virüsü)'ne karşı etkileri belirlenmiştir (Balcázar vd., 2006).

Probiyotiklerin seçimindeki en yaygın yol, *in vitro* antagonizm testidir. Bu testte patojenler, aday probiyotiklere ya da onların sıvı ortamdaki hücre dışı ürünlerine maruz bırakılmaktadır. Bununla birlikte bu testler, *in vivo* etkinin tahmininde kullanılamaz. Örneğin, *Pseudomonas fluorescens*'in *Aeromonas salmonicida*'ya karşı *in vitro* olarak antagonistik etkisi belirlenmesine rağmen, Frunkulosise karşı Atlantik salmonlarını korumada etkili olmamıştır. Bu nedenle, probiyotığın orjini, güvenilirliği ve suşların sindirim kanalında yaşayabilme yetenekleri (safra tuzlarına, düşük pH ve proteazlara direnci) önemlidir. Mikroorganizmaların kolonize olma yeteneği, potansiyel probiyotik değeri bakımından asıl seçim kriteridir. Kolonizasyon işlemi, bakterinin mukozal yüzeye tutunmasıyla başlar. Bunu, mukus jeli içine girmesi veya epitel hücrelerine tutunması izler. Mukozal yüzeylere tutunma ve kolonizasyon ile patojenlere karşı oluşan koruyucu mekanizma, besin ve bağlanma yeri için rekabet yada bağışıklığı harekete geçirme şeklindedir (Westerdahl vd., 1991; Salminen vd., 1998).

Sonuç olarak probiyotik bakteri seçim metodlarında akuakültürdeki kullanım için; geçmişe yönelik bilgilerin toplanması, potansiyel probiyotığın kazanılması, potansiyel probiyotiklerin patojen suşlarla rekabete girerek elemine etmelerinin sağlanması, potansiyel probiyotiklerin patojenitesinin denenmesi, konakçıdaki potansiyel probiyotiklerin etkisinin değerlendirilmesi, ekonomik kar/zarar analizi yapılması gerekmektedir (Balcázar vd., 2006).

Balıklarda Probiyotik Uygulamaları

Akuakültürde biyolojik kontrol ajanları olarak önerilen probiyotiklerin çoğunluğunu, laktik asit bakterileri (*Lactobacillus* ve *Carnobacterium*), *Vibrio* (*V. alginolyticus*), *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler oluşturmakla birlikte, *Aeromonas* ve *Flavobacterium* cinslerinin de probiyotik etkileri söz konusudur (Tablo 1) (Balcázar vd., 2006).

Gatesoupe, (1994), laktik asit bakterileri ile zenginleştirdiği rotiferleri, kalkan balığı larvalarının beslenmesinde kullanımı ile ortalama ağırlı-

ğın ve hayatta kalma oranlarının önemli ölçüde arttığını ve patojenik *Vibrio* türlerine karşı önemli bir koruma sağladığını bildirmektedir. *Gadus morhua* frylarına aynı yolla *Carnobacterium divergens* verilmesi sonucu, *Vibrio anguillarum*'a karşı hastalık direnci geliştirdiği görülmüştür (Gildberg ve Mikkelsen, 1998).

Larval kalkan balıklarının yetiştiriciliğinin yapıldığı bir çalışmada, 400 adet denizel bakteri suşundan 34'ünün *V. anguillarum*, *V. splendidus* ve bir *Pseudoalteromonas* türüne karşı *in vitro*'da antibakteriyel etkileri saptanmıştır. Bu suşlar *Roseobacter* spp., *Vibrio* spp. ve *Pseudoalteromonas* olarak teşhis edilmiş olup, bir *Roseobacter* suşunun 10^7 kob ml⁻¹ olarak larvalara uygulandığında, larvalarda mortaliteleri azalttığı görülmüştür (Hjelm vd., 2004).

Bacillus türlerinin karışımını içeren ticari probiyotığın yetiştiricilik suyuna ilavesinin, kanal yayın balıklarında (*Ictalurus punctatus*) üretimi ve larvalarda hayatta kalma oranlarını artırdığı bildirilmektedir (Queiroz ve Boyd, 1998).

Atlantik salmonlarının bağırsaklarından izole edilen *Carnobacterium* sp. suşunun 5×10^7 kob/g oranında yeme ilavesinin, salmonid fry ve fingerlinglerinde *A. salmonicida*, *Vibrio ordalli* ve *Yersinia ruckeri*'nin neden olduğu enfeksiyonların kontrolünde etkili olduğu tespit edilmiştir (Robertson vd., 2000).

Aeromonas hydrophila, *Vibrio fluvialis*, *Carnobacterium* sp. ve Gr(+) kok kültürleri gökkuşağı alabalıklarının yemlerine ilave edildiğinde, rekabet etkisi ve balıkta hücrel bağışıklığı artırarak frunkulozisin etkisinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (Irianto ve Austin, 2002). Benzer şekilde *Vibrio alginolyticus* suşunun 10^8 hücre/ml oranında banyo yoluyla Atlantik salmonlarına uygulanması sonucu, *A. salmonicida*, *V. anguillarum* ve *V. ordalli*'den kaynaklanan ölümleri azalmıştır (Austin vd., 1995).

Paralichthys olivaceus larva ve juvenillerinden elde edilen bağırsak bakterilerinin antibakteriyel özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Vibrio* spp.'nin %53'ünün *Pasteurella piscicida*'nın gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Sugita vd., 2002).

Tablo 1. Akuakültürde balıklarda ve crustaceanlarda biyolojik kontrol ajanı olarak probiyotikler (Balcázar vd., 2006).**Table 1.** Probiotics as biological control agent in aquaculture of Fish and crustacea

Probiyotik suş	Kaynağı	Kullanıldığı canlı	Uygulama metodu	Referans
Balıklar				
<i>Streptococcus lactis</i> ve <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	?	Kalkan larvaları (<i>Scophthalmus maximus</i>)	Canlı yeme ilave	García de la Banda vd. (1992)
<i>Lactobacillus</i> sp. ve <i>Carnobacterium</i> sp.	Rotiferler (<i>B. plicatilis</i>)	Kalkan larvaları	Rotifere ilave	Gatesoupe (1994)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Ticari karides kuluçkahanesi	Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i> L.)	Bakteriyel süspansiyonla banyo	Austin vd.(1995)
<i>Carnobacterium divergens</i>	Atlantic salmon bağırsakları	Atlantic cod fry	Yeme ilave	Gildberg ve Mikkelsen (1998)
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. licheniformis</i>	Ticari ürün (Biostart)	Kanal yayın balıkları	Havuz suyuna ilave	Queiroz ve Boyd (1998)
<i>Vibrio pelagius</i>	Kalkan larvaları	Kalkan	Kültür suyuna ilave	Ringø ve Vadstein (1998)
G-probiotic	Ticari ürün	<i>Oreochromis niloticus</i>	Yeme ilave	Naik vd. (1999)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Dondurulmuş <i>Lates niloticus</i>	Gökkuşuğu alabalığı	Kültür suyuna ilave	Gram vd. (1999)
<i>Carnobacterium</i> sp.	Atlantic salmon bağırsakları	Atlantic salmon	Yeme ilave	Robertson vd. (2000)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 53103	Kültür koleksiyonu	Gökkuşuğu alabalığı	Yeme ilave	Nikoskelainen vd. (2001)
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Vibrio fluvialis</i> , <i>Carnobacterium</i> sp., <i>Micrococcus luteus</i>	Gökkuşuğu alabalığı sindirim sistemi	Gökkuşuğu alabalığı	Yeme ilave	Irianto ve Austin (2002)
<i>Enterococcus faecium</i> SF68	Ticari ürün (Cernivet)	<i>Anguilla anguilla</i>	Yeme ilave	Chang and Liu (2002)
<i>L. rhamnosus</i> JCM 1136	Kültür koleksiyonu	Gökkuşuğu alabalığı	Yeme ilave	Panigrahi vd. (2004)
<i>Roseobacter</i> sp. strain 27-4	Kalkan larvaları	Kalkan larvaları	Kültür suyuna ilave	Hjelm vd. (2004)
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Labeo rohita</i> bağırsakları	<i>L. rohita</i>	Yeme ilave	Ghosh vd. (2004)
Crustacean'lar				
<i>Bacillus</i> sp. S11	<i>Penaeus monodon</i>	<i>P. monodon</i>	Yeme ilave	Rengpipat vd. (1998)
<i>Bacillus</i> sp.	Ticari ürün (DMS)	<i>P. monodon</i>	Kültür suyuna ilave	Moriarty (1998)
<i>Lactobacillus</i> spp.	Tavuk sindirim sistemi	<i>P. monodon</i>	Yeme ilave	Phianphak vd. (1999)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. exiguus</i> , <i>Phaffia rhodozyma</i>	Ticari ürün	<i>Penaeus vannamei</i>	Yeme ilave	Scholz vd. (1999)
<i>Vibrio hepatarius</i> , <i>Vibrio</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	<i>P. vannamei</i>	<i>P. vannamei</i>	Yeme ilave	Balcázar (2003)
<i>Vibrio</i> P62, <i>Vibrio</i> P63, <i>Bacillus</i> P64	<i>P. vannamei</i>	<i>P. vannamei</i>	Kültür suyuna ilave	Gullian vd. (2004)
<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>P. monodon</i>	<i>P. monodon</i>	Kültür suyuna ilave	Alavandi vd. (2004)

Lactobacillus rhamnosus'un gökkuşuğu alabalıklarının yemine ilave edilerek 51 gün süreyle kullanımı balıklarda *A. salmonicida*'dan kaynaklanan ölümleri azaltmıştır (Nikoskelainen vd., 2001). *Enterococcus faecium*'un da yılan balıklarının yemlerine ilavesinin *Edwardsiella tarda* ile epruvasyone sonrası hayatta kalma oranlarını önemli ölçüde artırdığı görülmüştür (Chang ve Liu, 2002).

Yaman (2007), levrek balıklarında probiyotik olarak *Lactobacillus rhamnosus* gelişim üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kontrol grubu, yetiştirme suyuna 10^6 kob/ml bakteri ilavesi, Artemia kültürüne 10^8 kob/ml bakteri ilavesi yapmışlardır. Bu besleme planına 50. güne kadar devam edilmiş ve daha sonra her iki grubunda toz yemine 2,5 ay boyunca 10^9 kob/g düzeyinde bakteri ilave edilmiştir. Deformasyon oranları; yetiştirme suyuna bakteri ilave edilen larvalarda % 5, Artemia kültürüne bakteri ilave edilen larvalarda % 2 ve kontrol grubundaki larvalarda % 7 olarak tespit edilmiştir. Larval yaşama oranı deneme gruplarında % 27,4 ve kontrol grubunda % 18,9 olarak belirlenmiş olup aradaki fark önemli bulunmuştur. Probiyotik uygulamasının larva, yavru ve yetişkin dönemdeki balıkların aylık ağırlık artışları ve yem değerlendirme oranları üzerinde etkisi olmadığını belirlemişlerdir.

Dulluç, (2011), çalışmalarında tilapia (*O. niloticus*) ve aynalı sazan (*C. carpio*) yavrularının yemlerine $1,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$, $1,0 \times 10^7$ kob/g oranlarında Bactocell® (*Pediococcus acidilactici*)'un büyüme ve yem değerlendirmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Deneme sonunda probiyotik ilavesinin tilapia ve sazan yavrularının büyümesi üzerine etki etmediği belirlenmiştir.

Crustacean'larda Probiyotik Uygulamaları

Rengpipat vd. (1998), kaplan karideslerinde *Bacillus S11*'in yeme ilavesi ile *Penaeus monodon* postlarvalarında patojenik luminescent bakteri kültürü ile epruvasyon yapıldığında hayatta kalma oranlarının arttığını belirtmişlerdir.

Vaseharan ve Ramasamy (2003), siyah solungaç hastalığına yakalanmış *Penaeus monodon*'lardan izole edilen patojenik *Vibrio harveyi*'nin *in vitro* ve *in vivo* şartlar altında gelişiminin, patojenik olmayan *Bacillus subtilis* BT23 tarafından kontrol altına alındığını göstermişlerdir.

Ajitha vd. (2004), çalışmalarında laktik asit bakterilerinin yaygın olarak kullanılan suşlarından *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus cremoris* ve iki farklı *L. bulgaricus* suşunun *Penaeus (Fenneropenaeus) indicus*'larda patojen olan *Vibrio alginolyticus*'a karşı *in vitro*'da antagonistik etkileri olan bu bakterilerin her birini karideslerin yemlerine, son konsantrasyon 5×10^6 hücre/yem olacak şekilde balık yağıyla karıştırılıp yeme ilave ederek 4 hafta boyunca beslenmeleri sonrasında, *V. alginolyticus*'un (3×10^9 hücre/ml konsantrasyonunda) i.m.(kas içi) enjeksiyonla juvenil karideslere verilmesi sonucunda, mortalite oranları *S. cremoris* ile beslenen karideslerde %20, *L. bulgaricus* ile beslenenlerde %40 ve kontrol grupta %80 olarak bulunduğu belirtilmiştir.

Rattanacyhuary vd. (2007), Güney Tayland'daki intensif karides havuzlarının sularından izole ettikleri 5 adet proteolitik aktiviteye sahip olan bakteriyi, karides patojeni olan *Vibrio harveyi*'ye karşı kullanım olanaklarını araştırmışlar ve en büyük inhibisyon zonunu (21.62 mm), *Pseudomonas sp.*'nin gösterdiğini kanıtlamışlardır. Fakat, karideslerin kültürünün yapıldığı akvaryum sularına, *Pseudomonas sp.*'nin ilave edilmesinin karideslerin gelişim oranlarına ve sudaki *V. harveyi* sayısının azalmasına önemli bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir.

Gullian vd. (2004), karidesler için bağışıklık sistemini uyarıcı özellikte probiyotik bakteriyel suşlar elde etmek istedikleri çalışmalarında, doğadan toplanmış sağlıklı karideslerin hepatopankreaslarından toplam 80 suş izole edilmiş ve *V. harveyi*'ye karşı inhibitör etki gösteren 3 suş (*Vibrio* P62, *Vibrio* P63, *Bacillus* P64) belirlenmiştir. Daha sonra bu bakteri suşlarının, karides hepatopankreasında kolonizasyon yüzdeleri araştırılmıştır. Suşların kolonizasyon oranları sırasıyla %83, %60 ve %50, probiyotik suşların *V.harveyi*'ye karşı inhibisyon yüzdesi sırasıyla %54, %19 ve %34 olduğu, probiyotikle beslenen karideslerde ortalama ağırlığın kontrol grubundan önemli ölçüde daha yüksek bulunduğu ifade edilmiştir.

Vijayan vd. (2006), *Penaeus monodon* ve *Maccrbrachium rosenbergii* larvalarının yetiştirildiği sistemlerden ve infekte karides örneklerinden *Vibrio spp.* ve *Aeromonas spp.* izole etmişlerdir. Daha sonra bu izolatlara karşı, Muttukadu Lagünü'nden izole edilen *Pseudomonas* PS 102'nin penaid ve *Macrobrachium* larval yetiştiricilik sistemlerinden izole edilen patojenik *Vib-*

rio türlerine karşı antagonistik özellik gösterdiği saptanmıştır.

Balcázar vd. (2007), ergin *Litopenaeus vannamei* lerin sindirim sisteminden izole edilen *Vibrio alginolyticus* UTM 102, *Bacillus subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallaeciensis* SLV03 ve *Pseudomonas aestumarina* SLV22'nin karidesler için probiyotik olarak potansiyel kullanımları araştırmışlardır. İzole ettikleri bu bakteriler, karidesler için patojen olan *V. harvei*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis* ve *V. parahemolyticus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitelerine göre seçilip, karideslerin yemlerine 10^5 kob/g olacak şekilde ilave edilip 28 gün boyunca besleme yapılmıştır. Sonuç olarak, izole ettikleri potansiyel probiyotik bakterilerin *V. parahemolyticus*'a karşı 8-12mm çapında zonlar oluşturduğu ve ağırlık kazançlarının tüm bakteri gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Bacillus subtilis* UTM 126, *Roseobacter gallaeciensis* SLV03 ve *Pseudomonas aestumarina* SLV22 ile beslenen gruplarda, deneme sonunda *V. parahemolyticus* ile yapılan challenge sonrası hayatta kalma oranları kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, potansiyel probiyotik bakterilerin kullanıldığı gruplarda, yem dönüşüm oranlarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğu ifade edilmiştir.

Didinen ve ark., (2008), II. dönem tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus* yavrularının büyüme ve yaşama oranı üzerine ticari probiyotik Biyoteksin LC ve potansiyel probiyotik bakteri *Hafnia alvei* suşunun etkileri araştırmışlardır. Biyoteksin LC günlük olarak canlı yemlerin yetiştiricilik sularına 1.5g/100lt ve potansiyel probiyotik bakteri *Hafnia alvei* suşu, kerevit yavrularının yetiştiricilik sularına ve canlı yemlere (10^6 hücre/ml) günlük olarak eklenmiştir. Kontrol grubunda ise probiyotik uygulaması yapılmamıştır. Tüm gruplarda elde edilen yaşama oranları ve gelişim parametreleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Sonuç

- Probiyotik bakteri seçiminde, canlının kendi bünyesinden ya da bulunduğu ortamdaki seçilen probiyotiklerin daha iyi sonuçlar vereceği düşünülmektedir.
- Probiyotik bakteri seçiminde, probiyotik bakteri ile patojen türlerin ayırt edilmesi konusuna açıklık getirilmelidir.
- Probiyotiğin hareket mekanizması bilinmeli, konak-mikro organizma etkileşimi araştırılmalı, diğer mikroorganizmalar arasındaki rekabet düzeyi ve probiyotiğin tutunma yeteneği belirlenmelidir.
- Çalışmalarda probiyotik seçimleri tahmini gözlemlere değil, bilimsel verilere dayandırılmalıdır.
- Araştırmalarda dikkat edilmesi gereken bir diğer husus antibiyotik direnç genlerini aktarabilen suşların probiyotik olarak seçilmemesidir.
- Taksonomik analizleri gelişmiş yöntemler kullanılarak tanımlanmayan suşlar probiyotik olarak değerlendirilmemelidir.
- Ayrıca probiyotik kullanımları sonucu oluşacak çevre düzeyindeki etkileşimler araştırılmalı ve probiyotiklerin akuakültürde kullanılmalarında ekonomiklik analizlerinin yapılması gerekmektedir.
- Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotikler gelecek için umut vericidir, fakat bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Ajitha, S., Sridhar, M., Sridhar, N., Singh, I.S.B., Varghese, V., (2004). Probiotic effect of lactic acid bacteria against *Vibrio alginolyticus* in *Penaeus (Fenneropenaeus) indicus* (H. Milne Edwards), *Asian Fisheries Science*, **17**: 71-80.
- Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Efendi, J., Griffith, D.R.W., (1995). A probiotic reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*, *Journal of Fish Diseases*, **18**: 93-96. [doi:10.1111/j.1365-2761.1995.tb01271.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1995.tb01271.x)
- Bairagi, A., Sakar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts, *Aquaculture International*, **10**: 109-121. [doi:10.1023/A:1021355406412](https://doi.org/10.1023/A:1021355406412)
- Bairagi, A., Sakar Ghosh, K., Sen, S.K., Ray, A.K., (2004). Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets

- for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings, *Aquaculture Research*, **35**: 436–446. [doi:10.1111/j.1365-2109.2004.01028.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01028.x)
- Balcázar, J.L., (2002). Use of probiotics in aquaculture: General Aspects. In: I. de Blas, Editor, *Memorias del Primer Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura Zaragoza*, Spain, 877–881.
- Balcázar, J.L., Blas, I., Zarzuela, I.R., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J.L., (2006). The role of probiotics in aquaculture, *Veterinary Mikrobiology*, **114**: 173-186.
- Balcázar, J.L., Rojas-Luna, T., Cunningham, D.P., (2007). Effect of the addition of four potential probiotic strains on the survival of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) following immersion challenge, with *Vibrio parahaemolyticus*, *Journal of Invertebrata Pathology*, **96**: 147-150.
- Casteks, M., Chim, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J.L., Schmidely, P., Mariojous, C., (2008). Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia, *Aquaculture*, **275**: 182-193. [doi:10.1016/j.aquaculture.2008.01.011](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.011)
- Didinen, B., (2008). Probiyotik uygulamalarının *Astacus leptodactylus* yavrularının büyüme ve yaşama oranı üzerine etkisi. TÜBİTAK Proje No: 106O353.
- Dulluç, A., (2010). Probiyotik ilaveli beslemenin Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) ve Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L. 1758) yavrularının büyüme ve yem değerlendirmesine etkileri. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü*.
- Chang, C.I., Liu, W.Y., (2002). An evaluation of two probiotic bacterial strains, *Enterococcus faecium* SF68 and *Bacillus toyoi*, for reducing Edwardsiellosis in cultured european eel, *Anguilla anguilla* L., *Journal of Fish Diseases*, **25**: 311–315. [doi:10.1046/j.1365-2761.2002.00365.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00365.x)
- Garriques, D., Arevalo, G., (1995). An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus vannamei* postlarvae in Ecuador, In C.L. Browdy J.S. Hopkins (ed) *Swimming through troubled water*. proceedings of the special session on shrimp farming, *World Aquaculture Society*, 53-59.
- Gatesoupe, F.J., (1991). The effect of three strains of lactic bacteria on the production rate of rotifers, *Brachionus plicatilis*, and their dietary value for larval turbot, *Scophthalmus maximus*, *Aquaculture*, **96**: 335–342. [doi:10.1016/0044-8486\(91\)90162-Z](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90162-Z)
- Gatesoupe, F.J., (1994). Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio, *Aquatic Living Resources*, **7**: 277–282. [doi:10.1051/alr:1994030](https://doi.org/10.1051/alr:1994030)
- Gildberg, A., Mikkelsen, H., (1998). Effect of supplementing the feed of atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immunostimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum*, *Aquaculture*, **167**: 103–113. [doi:10.1016/S0044-8486\(98\)00296-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00296-8)
- Gomez-Gill, B., Roque, A., Turnbull, J.F., (2000). The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms, *Aquaculture*, **191**: 259-270. [doi:10.1016/S0044-8486\(00\)00431-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00431-2)
- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J., (2004). Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *P.vannemei*, *Aquaculture*, **233** (1-4): 1-14. [doi:10.1016/j.aquaculture.2003.09.013](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.013)
- Hjelm, M., Bergh, O., Rianza, A., Nielsen, J., Melcheiørsen, J., Jensen, S., Duncan, H., Ahrens, P., Birkbeck, H., Gram, L., (2004). Selection and identification of autochthonous potential probiotic bacteria from turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) rearing units, *Systematic and Applied Microbiology*, **27**: 360-371. [doi:10.1078/0723-2020-00256](https://doi.org/10.1078/0723-2020-00256)
- Irianto, A., Austin, B., (2002). Use of probiotics to control furunculosis in Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), *Journal of Fish Diseases*, **25**: 333–342. [doi:10.1046/j.1365-2761.2002.00375.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00375.x)
- Itami, T., Kubono, K., Asano, M., Tokushige, K., Takeno, N., Nishimura, H., Kondo, M., Takahashi, Y., (1998). Enhancement of disease resistance of Kuruma Shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan

- derived from *Bifidobacterium thermophilum*, *Aquaculture*, **164**: 277-288.
[doi:10.1016/S0044-8486\(98\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00193-8)
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.L.J., Gibson, L., (2008). Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanism of action and screening processes, *Aquaculture*, **274**: 1-14.
[doi:10.1016/j.aquaculture.2007.11.019](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.019)
- Nikoskelainen, S., Ouwehand, A.C., Bylund, G., Salminen, S., (2001). Protection of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* from furunculosis by *Lactobacillus rhamnosus*, *Aquaculture*, **198**: 229-236. [doi:10.1016/S0044-8486\(01\)005932](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)005932)
- Nogami, K., Hamasaki, K., Maeda, M., Hirayama, K., (1997). Biocontrol method in aquaculture for rearing the swimming crab larvae *Portunus trituberculatus*, *Hydrobiologia*, **358**: 291-295. [doi:10.1023/A:1003149306511](https://doi.org/10.1023/A:1003149306511)
- Nogami, K., Maeda, M., (1992). Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **49**: 2373-2376. [doi:10.1139/f92-261](https://doi.org/10.1139/f92-261)
- Olsson, J.C., Westerthal, A., Conway, P.L., Kjelleberg, S., (1992). Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*) and dab (*Limanda limanda*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*, *Applied Environmental Microbiology*, **58**: 551-556.
- Queiroz, F., Boyd, C., (1998). Effects of a bacterial inoculum in channel catfish ponds, *Journal of the World Aquaculture Society*, **29**: 67-73.
[doi:10.1111/j.1749-7345.1998.tb00300.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00300.x)
- Öztürk, F., (2007). Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında probiyotik olarak (*Lactobacillus rhamnosus*) kullanılmasının performans üzerine etkisi. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- Ramirez, R.F., Dixon, B.A., (2003). Enzyme production by obligate intestinal anaerobic bacteria isolated from oscars (*Astronotus ocellatus*), angelfish (*Pterophyllum scalare*) and southern flounder (*Paralichthys lethostigma*), *Aquaculture*, **227**: 417-426.
[doi:10.1016/S0044-8486\(03\)00520-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00520-9)
- Rattanachyuary, P., Kantachote, D., Sutinanalert, P., (2007). Selection of proteolytic bacteria with ability to inhibit *Vibrio harveyi* during white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation, *Songklanakar Journal of Science and Technology*, **29** (2): 235-243.
- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., (1998). Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth, *Aquaculture*, **167**: 301-313.
[doi:10.1016/S0044-8486\(98\)00305-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00305-6)
- Ringo, E., Strøm, E., Tabacheck, J., (1995). Intestinal microflora of salmonids: a Review, *Aquaculture and Research*, **26**: 773-789.
[doi:10.1111/j.1365-2109.1995.tb00870.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1995.tb00870.x)
- Ringo, E., Gatesoupe, F.J., (1998). Lactic acid bacteria in fish: a Review, *Aquaculture*, **160**: 177-203. [doi:10.1016/S0044-8486\(97\)00299-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00299-8)
- Robertson, P., ÓDowd, C., Burrells, C., Williams, P., Austin, B., (2000). Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), *Aquaculture*, **185**: 235-243.
[doi:10.1016/S0044-8486\(99\)00349-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00349-X)
- Sakata, T., (1990). Microflora in the digestive tract of fish and shell-fish, In R. Lesel [eds.], *Microbiology in Poecilotherms*, Elsevier, 171-176.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M., Cumming, J., Franck, A., Gibson, G., Isolauri, E., Moreau, M., Roberfroid, M., Rowland, I., (1998). Functional food science and gastrointestinal physiology and function, *British Journal of Nutrition*, **80**: 147-171.
[doi:10.1079/BJN19980108](https://doi.org/10.1079/BJN19980108)
- Shariff, M., Yusoff, F.M., Devaraja, T.N., Srinivasa Rao, P.S., (2001). The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds, *Aquaculture and Research*, **32**: 181-187.
[doi:10.1046/j.1365-2109.2001.00543.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00543.x)
- Sugita, H., Okano, R., Suzuki, Y., Iwai, D., Mizukami, M., Akiyama, N., Matsuura, S., (2002). Antibacterial abilities of intestinal bacteria from larval and juvenile Japanese flounder against fish pathogens, *Fisheries Sci-*

- ence, **68**: 1004-1011. [doi:10.1046/j.1444-2906.2002.00525.x](https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00525.x)
- Vaseeharan, B., Ramasamy, P., (2003). Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*, *Letters in Applied Microbiology*, **36**: 83-87. [doi:10.1046/j.1472-765X.2003.01255.x](https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01255.x)
- Vijayan, K.K., Bright Singh, I.S., Jayaprakash, N.S., Alavandi, S.V., Somnath Pai, S., Preetha, R., Rajan, J.J.S., Santiago, T.C., (2006). A brackishwater isolate of pseudomonas P-S102, a potential antagonistic bacterium against pathogenic vibrios in penaeid and non-penaeid rearing systems, *Aquaculture*, **251** (2-4): 192-200. [doi:10.1016/j.aquaculture.2005.10.010](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.010)
- Villamil, L., Tafalla, C., Figueras, A., Novoa, B., (2002). Evaluation of immunomodulatory effects of lactic acid bacteria in turbot (*Scophthalmus maximus*), *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, **9**: 1318-1323.
- Vine, N.G., Leukes, W.D., Kaiser, H., (2006). Probiotics in marine larviculture, *FEMS Microbiology Reviews*, **30**: 404-427. [doi:10.1111/j.1574-6976.2006.00017.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00017.x)
- Wang, Y., (2007). Effect of probiotics on growth performance and digestive enzyme activity of the *Shrimp penaeus vannamei*, *Aquaculture*, **269**(1-4): 259-264. [doi:10.1016/j.aquaculture.2007.05.035](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.05.035)
- Westerdahl, A., Olsson, J., Kjelleberg, S., Conway, P., (1991). Isolation and characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*, *Applied and Environmental Microbiology*, **57**: 2223-2228.