

Türkiye İçin Ekonomik ve Sürdürülebilir Bir Karides Üretim Modeli Geliştirilmesi

Program Kodu: 1003

Proje No: 2150006

Proje Yürütücüsü:
Prof. Dr. Metin KUMLU

Araştırmacılar:

Prof. Dr. O. Tufan EROLDOĞAN
Doç. Dr. Hüseyin SEVGİLİ
Doç. Dr. Mahir KANYILMAZ
Dr. H. Asuman YILMAZ
Assist. Prof. Dr. Prapansak SRİSAPOOME
Dr. İrfan ÇOBAN

Bursiyerler:

Dr. Asuman BEKSARI
Ar. Gör. Merve SARIİPEK
Ar. Gör. Ece EVLİYAOĞLU
Enes KINAY
Derya DAĞDANAŞAR
Mehmet Bedrettin DUMAN
Nafiye PERKER

TEMMUZ 2018
ADANA

ÖNSÖZ

Bu projenin temel amacı; Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nde elde edilen 28 yıllık bilimsel ve teknolojik Ar-Ge birikimi sayesinde, ticari değeri yüksek bir insan gıdası olarak yurtiçi ithalatı giderek artan, üretilmesi halinde yanı başımızda büyük bir pazar olarak duran Avrupa piyasasına ihraç edilebilme potansiyeli çok yüksek olan ve ülkemiz su ürünleri sektörü için desteklenmesi gereken yeni ve alternatif türler kapsamında öncelikli türler arasında görülen karideslerin ülkemiz koşullarında ekonomik ve sürdürülebilir üretimlerinin yapılabilmesi için tamamen endüstriyel uygulamalara yönelik düşük maliyetli bir prototip üretim sistemi ve modeli geliştirilmesidir. Bu projenin spesifik hedefleri ise;

- * Minimal su kullanımı ve deşarj imkanı veren ekonomik bir resirküle sistem ile daha ekolojik ve çevre-dostu bir üretim modeli ortaya koyarak, birim alandan yüksek ve yılda üç ürün alınmasına imkan verebilecek araştırmalar yapmak,
- * Düşük veya sıfır balık unu (BU) ve ağırlıklı olarak yerli hammaddeler kullanarak karideslere yönelik düşük-maliyetli ve suda stabilitesi yüksek, ekonomik ve aynı zamanda üstün performans sağlayan yem rasyonları geliştirmek,
- * Yüksek stoklama yoğunluklarının karideslerin lizozim aktivitesi ile kan parametrelerinden hemosit miktarı, fagositik aktivite ve ayrıca stres indikatörü olarak da HSP genlerinin ekspresyonuna etkilerini inceleyerek en uygun stoklama yoğunluğunu belirlemek,
- * Resirküle sistemlerde su kalitesini iyileştiren ve karideslerde bağışıklık sistemini güçlendiren ve bağırsak florasını destekleyen probiyotikler ile fitojenik maddelerin farklı kombinasyonlarda kullanımının (suda ve/veya yemde) karideslerin yem tüketimi ve büyüme üzerine etkilerini incelemek,
- * Deniz kenarlarına bağımlı olmadan karides üretimi yapılabilmesine imkan veren ve doğrudan ticarileştirilebilir kompakt bir prototip üretim sistemi tasarlamak,
- * Kapalı bina veya seralardan daha yüksek miktarda ürün alınabilmesini sağlamak amacıyla çok katlı tank sisteminin kullanılabilirliğini ve ekonomikliğini araştırmak,
- * Fotovoltaik paneller kullanarak solar enerjiden elde edilecek olan elektrik ile daha ekonomik ve sürdürülebilir bir üretim yapılabileceğini ortaya koymaktır.

Bu projeden elde edilecek sonuçlar direkt olarak ekonomik değeri çok yüksek olan karideslerin ülkemiz koşullarında ticarileştirilebilmesine ve su ürünleri yetiştiricilik endüstrisine yeni ve alternatif bir ürün kazandırılabilmesi ve bunun sürdürülebilir olabilmesine yöneliktir.

Bu proje kapsamında yürütülen çalışmaların tamamı **215O006 kodlu proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.**

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	10
2.1. Karides Yetiştiricilik Sektörünün Durumu Nedir?	10
2.2. Ülkemizde Karides Yetiştiriciliğine Yönelik Ar-Ge çalışmalarının Durumu Nedir?	11
2.3. Neden Karides Yetiştiriciliği Ülkemizde Henüz Ticarileştirilememiştir?.....	11
2.4. Neden Yeşil Kaplan karidesi ve Pasifik Beyaz Karidesi Bu Projede Birlikte Ele Alınmıştır?	12
2.5. Ekonomik ve Hidrostabilesi Yüksek Yemler Karides Yetiştiriciliğinde Neden Önemlidir?	13
2.5.1. Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları	25
2.5.2. Hidrostabilesi Testleri	13
2.6. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik Kullanımı Önemli midir?	26
2.7. Ülkemizde Neden Entansif Resirküle Sistem Tercih Edilmelidir?.....	31
2.8. Süper-Entansif Stoklama ve Uygun Olmayan Koşullar Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?	32
2.9. Bir Stressor Olarak Süper-Entansif Stoklama Koşullarında Karides Yetiştiriciliğinde Ekonomik ve Sürdürülebilir Olabilir mi?	42
2.10. Karides Yetiştiriciliğinde Bir Resirküle Sistem Ekonomik Bir Şekilde Kurulup İşletilebilir mi?	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Materyal	49
3.2. Metot	49
3.3. I. DENEME	
Yeşil Kaplan Karidesi (<i>Penaeus semisulcatus</i>) İçin Ekonomik ve Su Stabilesi Yüksek Yemler Geliştirilmesi	50
3.3.1. Deneme Materyali	50
3.3.2. Denemenin Ünitesinin Kurulumu ve Tasarımı	51
3.3.3. Deneme Yemlerinin Yapımı	52
3.3.4. Deneme Yönetimi	55
3.3.5. Su Kalitesi Parametreleri	59

3.3.6. Büyüme Performans Ölçümleri	59
3.3.7. Besin Maddeleri İçeriği Analizi	60
3.3.7.1. Kuru Madde ve Kül	60
3.3.7.2. Protein ve Amino Asit Analizi	60
3.3.7.3. Lipit ve Yağ Asitleri Analizi	61
3.3.8. Sindirilebilirlik Analizi	62
3.3.9. Yemlerin Su Stabilitésinin Arttırılması (Bağlayıcı Maddeler)	63
3.3.10. İstatistik Analiz	67
3.2.2. II. DENEME	
Stoklama Yoğunluğunun Yavru Karideslerde Büyüme Performansı ve Stres Parametreleri Üzerine Etkileri	67
3.2.2.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi	67
3.2.2.2. Dayanıklılık (Stres) Testleri	70
3.2.2.2.1. Formalin Testi	70
3.2.2.2.2. Tuzluluk Testi	70
3.2.2.3. Büyüme ve Yem Tüketimi	70
3.2.3. III. DENEME	
Probiyotik ve Fitojenik Maddelerin Karideslerde Büyüme, ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri	71
3.2.3.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi	71
3.2.3.2. Bakteri (<i>Vibrio parahaemolyticus</i>) Dayanıklılık Testi	75
3.2.3.3. Vibrio ve Toplam Bakteri Sayımı	75
3.2.3.3.1. TCBS Agarın (<i>Vibrio</i> için) Hazırlanışı	67
3.2.3.3.2. TSA Agarın (<i>Tryptic Soy agar</i>) Hazırlanışı.....	67
3.2.3.4. Bakteri Koloni Sayımı	64
3.2.3.4.1. Karides Bağırsak Örneklerinde Bakteri Kolonisi Sayımı	67
3.2.3.4.2. Tank Su Örneklerinde Bakteri Kolonisi Sayımı	67
3.2.4. IV. DENEME	
Katlı Tank Sisteminde Sürdürülebilir ve Ekonomik Bir Üretim Modeli Geliştirilmesi	79
3.2.4.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi	80
3.2.4.2. Su Kalitesi	80
3.2.4.3. Performans Ölçümü	82
3.2.4.4. Hemolenf Alımı ve Hematosit Sayımı	82
3.2.4.5. Analizler	84
3.2.4.5.1. Biyokimyasal Analizler	84
3.2.4.5.2. Fagositik Aktivite.....	84

3.2.4.5.3. Lizozim Aktivitesi	85
3.2.4.5.4. Isı Şok Proteinleri (HSP) Analizi	86
3.2.4.5.4. İstatistik Analizler	87
4. BULGULAR	89
4.1. I. DENEME	
Yeşil Kaplan Karidesi (<i>Penaeus semisulcatus</i>) İçin Ekonomik ve Su Stabilitesi Yüksek Yemler Geliştirilmesi	88
4.1.1. Su Kalite Parametreleri	88
4.1.2. Deneme Yemleri	88
4.1.3. Büyüme Performans Ölçümleri.....	91
4.1.4. Su Kalitesi Parametreleri	93
4.1.5. Besin Madde İçeriği	94
4.1.6. Kuru Madde ve Ham Kül İçerikleri	94
4.1.7. Protein ve Amino Asit İçeriği	95
4.1.8. Lipit ve Yağ Asitleri	99
4.1.9. Sindirilebilirlik	100
4.1.10. Su Stabilité Testleri	101
4.1.10.1. Kuru Madde Kaybı	101
4.1.10.2. Protein Kaybı	103
4.1.11. Yem Maliyetleri	106
4.2. II. DENEME	
Farklı Stoklama Yoğunluklarının <i>Penaeus vannamei</i>'de Büyüme Performansı ve Stres Parametreleri Üzerine Etkileri	116
4.2.1. Büyüme Performansı	116
4.2.2. Stres Testleri	118
4.2.2.1. Tuzuluk Testi.....	118
4.2.2.2. Formalin Testi	118
4.2.3. Isı Şok Proteinleri	121
4.3. III. DENEME	
Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımının <i>Penaeus vannamei</i>'nin Büyüme Performansı ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri	123
4.3.1. Su Kalite Parametreleri	123
4.3.2. Büyüme ve Yem Tüketim Performansı	123
4.3.3. Tuzuluk Stres Testi	125
4.3.4. Bakteri Dayanıklılık Testi	127
4.3.5. Bakteri Kolonilerinin Kıyaslanması	128

4.3.5.1. Bağırsakta Bakteri Kolonileri	128
4.3.5.2. Suda Bakteri Kolonileri	131
4.4. IV. DENEME	
Katlı Tank Sisteminde Farklı Stok Yoğuluklarında Yetiştirilen Karideslerde Büyüme, Yem Tüketimi ve Stres Parametrelerinin Belirlenmesi	133
4.4.1. Su Kalite Parametreleri	133
4.4.2. Stoklama ve Yemleme	133
4.4.3. Biyokimyasal Parametreler	139
4.4.4. Bazı İmmünolojik Parametreler	145
4.4.5. Isı Şok Proteinlerinin Gen Ekspresyon Analizleri	146
4.4.6. Solar Elektrik Kullanımı Ekonomisi	152
5. TARTIŞMA.....	153
5.1. Ülkemizde Karides Yetiştiricilik Sektörü Hangi Teknikle ve Hangi Karides Türü İle Daha Hızlı ve Başarılı Bir Şekilde Geliştirilebilir?	153
5.2. Yeşil Kaplan Karidesinin Yemlerinde Bitkisel Kaynaklar ve Tavuk Unu Kullanarak Balık Unu Azaltılabilir mi?	156
5.2.1. Karideslerin Besin Gereksinimleri	157
5.2.2. Karides Yemlerinde BU Miktarı ve Kalitesi	162
5.2.3. Alternatif Protein Kaynaklarının BU Yerine Kullanılması	163
5.2.4. Yemde Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları Kullanımı Yem Maliyetinde Ekonomi Sağlar mı?	168
5.2.5. Yemlerin Hidrostatikliğinde Hangi Bağlayıcı Madde Daha Avantajlıdır?	169
5.3. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı Önemli midir?	172
5.4. Süper-Entansif Stoklama Yoğunlukları Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?	177
5.4.1. Ön-büyütmeye (II. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki	178
5.4.1.1. Biyolojik Performans	178
5.4.1.2. Isı Şok Proteinleri	179
5.4.2. Büyütmeye (IV. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki	180
5.4.2.1. Biyolojik Performans	181
5.4.2.2. Biyokimyasal ve İmmün Parametreler	181
5.4.2.3. Isı Şok Proteinleri	186
5.5. Ülkemizde Ekonomik Bir Entansif RAS Karides Üretim Sistemi Başarıyla Kurulup İşletilebilir mi?	189

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	195
6.1. Ülkemizde Karides Yetiştiricilik Sektörü Hangi Teknikle ve Hangi Karides Türü İle Daha Hızlı ve Başarılı Bir Şekilde Geliştirilebilir?	195
6.2. Yeşil Kaplan Karidesi Yemlerinde Bitkisel Kaynaklar ve Tavuk Unu Kullanarak Balık Unu Ne Oranda Azaltılabilir?	196
6.2.1. <i>Alternatif Protein Kaynaklarının BU Yerine Kullanılması</i>	196
6.2.2. <i>Yemde Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları Kullanımı Yem Maliyetinde Ekonomi Sağlar mı?</i>	198
6.2.3. <i>Yemlerin Hidrostabilesinde Hangi Bağlayıcı Madde Daha Avantajlıdır?.....</i>	198
6.3. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı Önemli midir?	199
6.4. Süper-Entansif Stoklama Yoğunlukları Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?.....	200
6.4.1. <i>Ön-büyütmeye (II. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki</i>	200
6.4.2. <i>Büyütmeye (IV. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki ...</i>	201
6.5. Ülkemizde Ekonomik Bir Entansif RAS Karides Üretim Sistemi Başarıyla Kurulup İşletilebilir mi?	202
KAYNAKLAR	205

ÖZET

Bu proje ekonomik ve sürdürülebilir bir karides üretim modeli geliştirebilmek amacıyla kapalı devre sistemlerde (RAS) dört deneme yürütülmüştür; **1. Denemede;** *Penaeus semisulcatus* için balık ununa (BU) alternatif hammaddeler [(tavuk unu, soya unu (SU), mısır glütenu (MGU), yer fıstığı ve fındık küspesi] kullanarak yemler üretilmiştir. İki ay süren denemede SU+MGU karışımı (MİKS2), özellikle %10 BU+MİKS2 karideslerde yüksek yaşama oranı ve büyüme sağlamıştır. Bulgularımız *P. semisulcatus* için BU'nun formülasyonlardan çıkartılabileceğini, ancak cezbedicilik ve besinsel denge açısından, yeme %10 seviyesinde eklenmesinin daha uygun olabileceğini göstermiştir. Alternatif hammaddeler yem maliyetini %18.42-29.82 azaltmıştır. Hidrostatilite testlerinde, kuru madde/protein kayıpları ve ekonomiklik açısından en başarılı bağlayıcılardan birisi olarak buğday glütenu öne çıkmıştır. **2. Denemede;** üç stoklama yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) *P. vannamei* yavruları, sırasıyla, %77, %78 ve %82 yaşama oranları ile 1.35, 1.09 ve 1.12 grama ulaştırılmıştır. Tuzluluk ve formalin stres testleri yüksek stoklamanın karideslerde hassasiyete neden olduğunu göstermiştir. HSP70 ve HSP90 seviyeleri stoklama yoğunluklarıyla artmış, ancak 1-2 gün içerisinde regüle edilerek normal düzeye indirilmiştir. Kronik yüksek stoklama stresörüne karidesler zamanla adaptasyon göstermişlerdir. **3. Denemede;** probiyotik/fitojenik madde kullanımı ile karideslerin (*P. vannamei*) biyolojik performansından ziyade, sudaki azotlu atıkların ve *Vibrio* bakteri gelişiminin baskılabileceği ortaya çıkartılmıştır. **4. Denemede;** altı katlı tanklarda 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama gruplarında, 4 ay sürdürülen deneme sonunda, karideslerde yaşama oranları %62 ile %77.50 ve ağırlıkları 18.31 ile 22.15 g arasında değişmiştir. Altı katlı tanklarda 1 m²den (6 kat olarak) 4.14-11.88 kg ürün alınabilmiştir. HSP bulguları, *P. vannamei*'nin 2 kg/m² veya 4.74 kg/m³ biyomas seviyesinde kronik stres yaşadığını göstermiştir. Karides yetiştiriciliğinde büyütmenin 3.5-4 ay gibi kısa sürmesi, yüksek stoklama koşullarında hastalık riskini azaltmakta ve daha fazla ürün üretilebilmesine imkan vermektedir. Sonuç olarak, bu proje; *P. vannamei* ile, düşük maliyetli bir RAS yatırımı, ekonomik ve hidrostatilitesi yüksek yemlerle ve solar enerji desteği ile ülkemizde başarılı, sürdürülebilir ve çevreci bir üretim yapılabileceğini kanıtlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Resirkülasyon Sistemi, Karides, Yetiştiricilik, Stoklama Yoğunluğu, Katlı Tank, Probiyotik, Büyütme

ABSTRACT

In order to develop an economical and sustainable shrimp production model, four experiments were carried out in recirculating aquaculture systems (RAS) in this project. At the **1st experiment**; for *Penaeus semisulcatus*, feeds were produced by using alternative raw materials to fish meal (FM), i.e. poultry meal, soybean meal (SM), corn gluten (CGM), peanut meal and hazelnut meal. In the experiment lasting two months, the mixture of SM+CGM (MIX2), especially of 10% FM+MIX2 provided high survival rate and growth in shrimp. We found that for *P. semisulcatus*, FM could be totally removed from the formulation, but it might be still be more appropriate to add it at 10% to the formulations for improving attractability and nutritional balance. The use of alternative raw materials decreased feed costs by 18.42-29.82%. In hydrostability tests, wheat gluten was found to be one of the most appropriate binders in terms of dry matter/protein losses and price. In the **2nd experiment**, *P. vannamei* were reared in three stocking densities (200, 400 and 800 pcs/ m²) at 77, 78 and 82% survival rates and 1.35, 1.09 and 1.12 g weights, respectively. Salinity and formalin stress tests have shown that high stocking leads to susceptibility in shrimp. HSP70 and HSP90 levels increased with stocking densities but were regulated to normal levels within 1-2 days. Over time, the shrimp showed adaptation to chronic high stocking stress. At the **3rd experiment**; the use of probiotic/phytogenic substances has revealed that the abundance of nitrogenous wastes and *Vibrio* bacterial growth are suppressed rather than improving the biological performance of *P. vannamei*. At the **4th experiment**; in the six-stacked tanks, at the end of the growout phase which lasted four months, the shrimps in 40, 80 and 160 pcs/m² stocking densities reached at average weights of 18.31 to 22.15 g with survivals ranging from 62% to 77.50%. The six-stacked tanks produced yields of between 4.14 and 11.88 kg per m² of bottom area of all six tanks combined. HSP findings have shown that *P. vannamei* is experiencing chronic stress at the level of 2 kg/m² or 4.74 kg/m³ biomass. The grow-out period, which lasts as short as 3.5-4 months, in shrimp farming reduces the risk of diseases in high stocking conditions and allows more products to be produced. As a result, this project carried out with *P. vannamei* has proven that a successful, sustainable and environmentally friendly shrimp production can be achieved in Turkey on conditions that low-cost RAS, inexpensive and water-stable feeds as well as renewable energy sources (i.e. solar panel systems) are all combined in the production model.

Key Words: Recirculation System, Shrimp, Culture, Stocking Density, Stacked-tanks, Probiotic, Growth

Çizelge 3.1. Deneme 1'de kullanılacak protein kaynaklarının kullanım oranları ve besin madde düzeyleri (% kuru madde üzerinden)	54
Çizelge 3.2. Deneme yemlerinin formülasyonu ve besin madde düzeyleri (% kuru madde üzerinden)	56
Çizelge 3.3. Pelet su stabilite testinde kullanılan yem formülasyonu	63
Çizelge 4.1. Deneme yemlerinde kullanılan hammaddelerin temel besin bileşenleri (%)	88
Çizelge 4.2. Deneme yemlerinin yağ asidi kompozisyonu (% yağ asidi)	89
Çizelge 4.3. Deneme yemlerinin esansiyel ve esansiyel olmayan gruplar bazında amino asit kompozisyonları (%/protein)	91
Çizelge 4.4. Deneme sonunda yeşil kaplan karidesi (<i>Penaeus semisulcatus</i>) bireylerinde hesaplanan büyüme ve yem tüketim parametreleri	93
Çizelge 4.5. Deneme sonunda örneklenen karideslerin et dokusunda belirlenen temel besin bileşenleri (%)	95
Çizelge 4.6. Deneme sonunda karideslerin et dokularında belirlenen amino asit kompozisyonu (%/protein). İçinde tavuk unu (TU) kullanılan yem gruplarında yaşama oranı düşük çıktığından yeterli miktarda et doku temin edilemediği için bu gruplarda analizler yapılamamış ve dolayısıyla bu gruplar (10BU+TU ve TU+MİKS2) çizelgeye dahil edilmemiştir	96
Çizelge 4.7. Denemede kullanılan yemler ve bunlarla beslenen karideslerin deneme sonu esansiyel amino asit oranları (A/E) ¹ . İçinde tavuk unu (TU) kullanılan yem gruplarında yaşama oranı düşük çıktığından yeterince et örneği temin edilememiş ve dolayısıyla da bu gruplarda (10BU+TU ve TU+MİKS2) analizler yapılamamıştır	97
Çizelge 4.8. Deneme yemleri ile beslenen karideslerin et dokularında hesaplanan esansiyel amino asit indeksleri (EAAİ)	97
Çizelge 4.9. Deneme yemleriyle 8 hafta boyunca beslenen <i>P. semisulcatus</i> bireylerinin kas doku yağ asidi kompozisyonları (%).....	99
Çizelge 4.10. Sekiz hafta boyunca deneme yemleri ile beslenen karideslerde kuru madde, protein, lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirliği (%)	100
Çizelge 4.11. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formüle edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen kuru madde ve protein kayıpları ..	101
Çizelge 4.12. Denemede kullanılan yem formülasyonlarındaki tüm hammaddelerin ton/USD ve kg/USD (ABD doları) olarak fiyatları	106
Çizelge 4.13. Denemede kullanılan kontrol yeminin (balık unu) içeriğinde bulunan hammaddelerin formülasyonlardaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları	107
Çizelge 4.14. Denemede kullanılan 10BU+TU (balık unu ve tavuk unu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları	108

Çizelge 4.15. Denemede kullanılan 10BU+MİKS1 (%10 balık unu + soya küspesi, mısır glütenu, yer fıstığı ve fındık küspeleri) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları	109
Çizelge 4.16. Denemede kullanılan 10BU+MİKS2 (%10 balık unu + soya küspesi ve mısır glütenu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları....	110
Çizelge 4.17. Denemede kullanılan MİKS1 (soya küspesi, mısır glütenu, yer fıstığı ve fındık küspeleri) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları...	111
Çizelge 4.18. Denemede kullanılan MİKS2 (soya küspesi ve mısır glütenu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları	112
Çizelge 4.19. Denemede kullanılan TU+MİKS2 (soya küspesi ve mısır glütenu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları	113
Çizelge 4.20. Tüm deneme yemlerinin formülasyonunda kullanılan hammaddelerin ABD doları (USD) üzerinden tek tek maliyet kalemleri, her bir yemin kg maliyeti, kontrol yemine göre hesaplanan maliyet farkı (kg/USD ve % olarak), canlı ağırlık artışı için yem maliyeti (CAA _M) ve bunun kontrole grubuna göre kıyaslaması (%)	114
Çizelge 4.21. Üç farklı stoklama yoğunluğunda dört hafta süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonu performans değerleri	117
Çizelge 4.22. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen tuzluluk ve formalin stres testlerinin neticesinde elde edilen yaşama oranları	120
Çizelge 4.23. Denemenin farklı dönemlerinde örneklenen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 0, 1, 3, 7 ve 30. günlerdeki HSP70 gen ekspresyon seviyeleri	121
Çizelge 4.24. Denemenin farklı dönemlerinde örneklenen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 0, 1, 3, 7 ve 30. günlerdeki HSP90 gen ekspresyon seviyeleri	122
Çizelge 4.25. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) elde edilen deneme sonu performans verileri	123
Çizelge 4.26. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonu alınan et örneklerinde yapılan temel besin bileşenleri analiz sonuçları	125
Çizelge 4.27. Deneme sonunda hayatta kalan karideslerin dirençlerini ölçmek için 6 saat süreyle uygulanan tuzluluk stres testi sonuçlarında elde edilen yaşama oranları (%)	126
Çizelge 4.28. Probiyotikli ve probiyotiksiz su içerisinde farklı yemlerle beslenen karideslerin iki ay süren deneme sonunda alındıkları 7 günlük bakteri dayanıklılık testi neticesinde elde edilen yaşama oranı (%) verileri	127
Çizelge 4.29. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan bakteri (<i>Vibrio</i>) kolonilerinin sayısı (CFU/mL)	128
Çizelge 4.30. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan alınan örneklerde katı besi ortamında çoğaltılan bakteri (<i>Vibrio</i>) kolonilerinin sayısı (CFU/mL).	131

Çizelge 4.31. Katlı sistemde 4 ay süren deneme boyunca ölçülen ortalama aylık su parametre değerleri	133
Çizelge 4.32. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonu performans değerleri	138
Çizelge 4.33. Üç farklı stok yoğunluğunda katlı tank sisteminde yetiştirilen karideslerde 2. ve 4. aylarda örneklenen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) bazı biyokimyasal parametrelerinin seviyeleri	140
Çizelge 4.34. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 2. ayda örneklenen karideslerin hemolenflerinde belirlenen lizozim aktivitesi (Unit/Protein), toplam hematosit sayısı ($\times 10^6$ hücre/mL), fagositik aktivite (%) ve fagositik indeks verileri	145
Çizelge 4.35. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 2. ve 4. aylarında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP70 gen ekspresyon seviyeleri	146
Çizelge 4.36. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 2. ve 4. aylarında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri	149
Çizelge 4.37. Katlı sistemde 4 ay süreyle yürütülen denemede solar enerji sisteminin ürettiği ve RAS ile havalandırma sistemlerinin günlük enerji üretim/tüketim değerleri (kw).....	152
Çizelge 4.38. Katlı sistemde 4 ay süreyle yürütülen denemede solar enerji sisteminin ürettiği ve RAS ile havalandırma sistemlerinin toplam enerji üretim/tüketim değerleri (kw)	152

Şekil 3.1. Proje bütçesinden inşa edilen 200 m ² boyutunda sera, 10 KW elektrik üretebilen solar sistem ve sera içerisinde bulunan RAS sistemlerinin sera dışından görüntüleri.....	49
Şekil 3.2. İlk denemede kullanılacak olan deneme ünitesi planı. A: Rezervuar/Çökeltme Tankı, B: Pompa, C: Kum Filtresi, D: Biyofiltre, E: Temiz Su Dönüş Hattı, F: Karides Tankları, G: Drenaj Su Hattı	50
Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü kapalı devre sistemin sera içerisinden genel görünümü.....	51
Şekil 3.4. Deneme yemlerinin preslendiği pelet makinası (üstte), hammaddelerin öğütüldüğü makina (solda) ve peletlerin pişirildiği düzeneğe (sağda).....	52
Şekil 3.5. Deneme yemlerinin hazırlanmasında kullanılan alet-ekipmanlar ve kaplar.....	53
Şekil 3.6. İlk denemede kanibalizmi azaltmak amacıyla karideslerin (<i>Penaeus semisulcatus</i>) saklanabilmelerine yardımcı olacak substratların tank içerisindeki görünümü.....	55
Şekil 3.7. Deneme yürütülürken bir tankın üzerindeki örtü kaldırıldıktan sonra çekilen bir görüntü. Bu fotoğrafta RAS'tan gelen su girişi, havalandırma, saklanma substratları ve karidesler görünmektedir.	55
Şekil 3.8. Sifonlama yoluyla tanklardan dışkı toplama işlemi	57
Şekil 3.9. Deneme sonunda karideslerde alınan doku örneklemeleri	58
Şekil 3.10. Yemlerimizin peletlenmesi işleminden bir görüntü	64
Şekil 3.11. Su stabilite testi için üretildikten sonra kurutmaya alınan bir yem grubu (kalsiyum ve sodyum bentonit)	64
Şekil 3.12. Su tabilite testlerinde kullanılan diğer bazı yemlerin pişirildikten sonra kurutulması.....	65
Şekil 3.13. Su stabilite testinde kullanılan düzeneğe ve test edilen yem örnekleri	65
Şekil 3.14. Farklı stoklama yoğunluklarında stoklanan Pasifik beyaz karidesinde (<i>Penaeus vannamei</i>) büyüme, yem tüketimi, stres testleri ile stres parametrelerinden ısı şok proteinlerinin gen ekspresyon analizlerinin yapılabilmesi için yürütülen denemenin kurulum aşaması	67
Şekil 3.15. Karides yavruarında yüksek stoklama çalışmasının (2. Deneme) yürütüldüğü ünite	68
Şekil 3.16. Sera içerisinde, proje önerimizde planladığımız gibi, aynı anda kurulan 2. Deneme ile 3. Denemenin yürütüldüğü RAS ünitelerimizin genel görünümü	71
Şekil 3.17. Denemenin 2. haftasında tanklardan birinin içinde bulunan karides (<i>Penaeus vannamei</i>) yavruları	72
Şekil 3.18. Probiyotik solüsyonunun püskürtme tabancasıyla yem üzerine püskürtülmeye hazırlanması.....	73
Şekil 3.19. Probiyotik püskürtülmeden önce düz bir zemin üzerine serilen ve kromik oksit içeren deneme yemlerimiz	74
Şekil 3.20. Deneme gruplarından alınan karideslerde bakteri enjeksiyonu işleminin yapılması....	75
Şekil 3.21. Bakteri dayanıklılık testinde kullanılan <i>Vibrio</i> 'nun yoğunlaştırılmış hali ve petri kutularına bakteri ekim hazırlıklarının yapılışını gösteren görüntüler	76

Şekil 3.22. Projenin 4. Denemesinin yürütülmesinde kullanılacak olan ve iki katlı tank sisteminden oluşan deneme ünitesi	80
Şekil 3.23. Katlı tank sistemlerinin yan profilden görünümü	80
Şekil 3.24. IV. Denemede kurulan ve RAS olarak kullanılan katlı tank sistemi	81
Şekil 3.25. Katlı sistemde kullanılan tankların su ile doldurulması ve denemeye hazır hale getirilmesi	81
Şekil 3.26. Deneme sonunda araştırma ekibimizin doku örnekleme	83
Şekil 3.27. Elisa okumaları için hazırlık aşamalarından görüntüler	85
Şekil 4.1. Toplamda 8 hafta süren deneme sonunda karideslerde (<i>Penaeus semisulcatus</i>) belirlenen yaşama oranı değerleri (ortalama \pm standart sapma, n = 3)	92
Şekil 4.2. Toplamda 8 hafta süren deneme sonunda karideslerde (<i>Penaeus semisulcatus</i>) belirlenen yaşama oranı değerleri (ortalama \pm standart sapma, n = 3)	92
Şekil 4.3. Deneme esnasında deneme tanklarının içerisinde bulunan substrat ve hareket eden karideslerin görüntüleri	94
Şekil 4.4. Deneme yemleri ile beslenen karideslerin amino asit profilleri. 45'lik çizgi ideal çizgiyi göstermek-tedir. Arg; arginin, Hist; histidin, İlös; izolösin, Lös; lösin, Lis; lisin, Met; metiyonin, Fenl; fenilalanin, Treo; treonin, Trp; triptofan, Val; valin	98
Şekil 4.5. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen % kuru madde kayıpları. Her sembol bir ortalamayı ifade etmektedir (n = 3)	102
Şekil 4.6. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen % protein kayıpları. Her sembol bir ortalamayı ifade etmektedir (n = 3)	103
Şekil 4.7. Dokuz farklı bağlayıcı madde ile üretilen ve su stabilite testlerinde kullanılan yemlerin 7 saat süren testleri neticesinde belirlenen ortalama kuru madde kayıpları (%). Her sütun bir ortalama (1, 3, 5 ve 7. saat kayıpları x 3 tekrür) \pm standart sapmadan oluşmaktadır. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P<0.05)	104
Şekil 4.8. Dokuz farklı bağlayıcı madde ile üretilen ve su stabilite testlerinde kullanılan yemlerin 7 saat süren testleri neticesinde belirlenen ortalama % protein kayıpları (%). Her sütun bir ortalama (1, 3, 5 ve 7. Saat kayıpları x 3 tekrür) \pm standart sapmadan oluşmaktadır	105
Şekil. 4.9. Denemede kullanılan yemlerin kg/USD olarak maliyetleri	114
Şekil 4.10. Denemede kullanılan yemlerde yapılan maliyet hesaplamalarında kontrol yemi ile diğer deneme yemleri arasında çıkan yem maliyet farkı (kg/USD olarak)	115
Şekil 4.11. Denemede kullanılan yemlerde yapılan maliyet hesaplamalarında kontrol yemi ile diğer deneme yemleri arasında çıkan yem maliyet farkı (kg/USD olarak)	115
Şekil 4.12. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonuna kadar elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır (n = 3 tank)	116
Şekil 4.13. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonuna kadar elde edilen ortalama ağırlık değerleri. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır (n = 3 tank)	116
Şekil 4.14. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme	117

sonuna kadar tüketilen grup ortalama günlük yem tüketim değerleri. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır (n = 3 tank)	
Şekil 4.15. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen tuzluluk stres testi esnasında elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır	118
Şekil 4.16. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen formalin stres testi esnasında elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır	119
Şekil 4.17. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) elde edilen deneme sonu karides ortalama ağırlık verileri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadan oluşmakta olup, ortalamalar 3 tankın verilerinden elde edilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir istatistiki farklılık görülmemiştir.	124
Şekil 4.18. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) elde edilen deneme sonu karides yaşama oranı (%) verileri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadan oluşmakta olup, ortalamalar 3 tankın verilerinden elde edilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir istatistiki farklılık görülmemiştir.	124
Şekil 4.19. Deneme sonunda hayatta kalan karideslerin dirençlerini ölçmek için 6 saat süreyle uygulanan tuzluluk stres testi sonuçlarında elde edilen yaşama oranları (%). Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır (n = 10 adet).	126
Şekil 4.20. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>), deneme sonunda yapılan bakteri dayanıklılık testi neticesinde elde edilen yaşama oranı sonuçları (%)	128
Şekil 4.21. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan toplam bakteri (kırmızı) ve <i>Vibrio</i> (yeşil renkli) kolonilerinin petri kutularındaki görünümü	129
Şekil 4.22. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan bakteri (<i>Vibrio</i>) kolonilerinin sayısı (CFU/mL)	130
Şekil 4.23. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan toplam bakteri kolonilerinin sayısı (CFU/mL)	130
Şekil 4.24. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan <i>Vibrio</i> bakterilerinin toplam koloni sayısı (CFU/mL)	132
Şekil 4.25. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan bakteri toplam kolonilerinin sayısı (CFU/mL)	132
Şekil 4.26. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda elde edilen yaşama oranı (%). Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır (P < 0.05)	134
Şekil 4.27. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda ortalama ağırlıkları (g/karides). Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır (P < 0.05)	134

Şekil 4.28. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda tank su seviyeleri düşürülürken çekilen görüntüleri	135
Şekil 4.29. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda hasat edilirken çekilen görüntüleri	135
Şekil 4.30. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda her tanktan elde edilen ortalama ürün miktarı (kg/tank). Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır ($P < 0.05$)	136
Şekil 4.31. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda tankların her m ² 'sinden elde edilen ortalama ürün miktarı (kg/m ²). Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır ($P < 0.05$)	136
Şekil 4.32. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonunda her m ³ su hacminde üretilen ortalama ürün miktarı (kg/m ³). Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır ($P < 0.05$)	137
Şekil 4.33. Hasat esnasında kepçede ve ele alınan karideslerin görüntüleri	137
Şekil 4.34. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (<i>Penaeus vannamei</i>) deneme sonu YÇO değerleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmayı ifade etmektedir. Tek-yönlü ANOVA sonuçları gruplar arasında fark olmadığını göstermiştir ($P < 0.05$)	138
Şekil 4.35. Katlı sistemde yetiştirilen karideslerin hasat edildikten hemen sonra çekilen görüntüsü	139
Şekil 4.36. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 2. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen protein (g/dL), trigliserit (mg/dL) ve laktat (mmol/L) seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 6$ karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır ($P < 0.05$)	141
Şekil 4.37. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 4. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen protein (g/dL), trigliserit (mg/dL) ve laktat (mmol/L) seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 6$ karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır ($P < 0.05$)	142
Şekil 4.38. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 2. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen ALP: Alkalın fosfataz, ASP (Aspartat Aminotransferaz) ve ALT: Alanin Aminotransferaz seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 6$ karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır ($P < 0.05$)	143
Şekil 4.39. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) 4. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen ALP: Alkalın fosfataz, ASP (Aspartat Aminotransferaz) ve ALT: Alanin Aminotransferaz seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 6$ karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır ($P < 0.05$)	144
Şekil 4.40. Üç farklı stok yoğunluğunda katlı RAS sisteminde yetiştirilen karideslerde 2. ayda alınan örneklerde belirlenen plazma lizozim aktivitesi. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 8$ karides) ($P > 0.05$)	145

Şekil 4.41. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 2. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır	147
Şekil 4.42. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 4. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır	148
Şekil 4.43. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 2. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır	150
Şekil 4.44. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m ²) yetiştirilen karideslerde (<i>Penaeus vannamei</i>) denemenin 4. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır	151

1. GİRİŞ

Karides yetiştiricilik sektörü dünyada hızla büyümeye devam etmektedir. Günümüzde Dünya'da 60'ın üzerinde ülkede yetiştirilen karides miktarının 3.4 milyon tonun üzerine çıktığı ve üretimin ekonomik değerinin 13-15 milyar ABD Doları'nı bulduğu bildirilmektedir. Ülkemizde üretimi yapılan balıkların aksine, karidesler 3.5-4 ay gibi kısa bir sürede hızla büyüyerek pazarlama boyutlarına (20-25 g) kadar ulaşabilen su ürünleridir. Ancak, tropik kökenli olmaları itibarıyla bu canlıların kış ayları süresince soğuklarda üretimlerine devam edilebilmesi veya kışlatılabilmeleri için sera altında ekonomik ısıtma sistemleri (solar enerji, rüzgar enerjisi vb.) veya yeraltı ılık su veya jeotermal enerji kaynakları kullanılarak en ekonomik şekilde üretilebilmeleri büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle ülkemizde ticari ölçekte üretimlerine girilmeden önce karideslerin bu tip sistemlerde yüksek stoklama yoğunluklarında ve resirküle sistemler kullanılarak büyütülmeleri, bu esnada beslenmelerinde kullanılacak olan yapay pelet yemlerin yüksek stabilitede ve düşük maliyetli hammaddelerle üretilmiş olması şarttır.

Karides yetiştiriciliği Dünya'da ağırlıklı olarak tropik ülkelerde (Tayland, Vietnam, Endonezya, Hindistan vb.) ve açık sistemler olarak tanımlanan akışkanlığı olan (flow-through) büyük toprak havuzlarda ve daha çok yarı-entansif veya entansif stoklama koşullarında yürütülmektedir. Ancak, daha ılıman (ABD, Çin, Japonya, İspanya, İtalya ve Yunanistan) ve hatta soğuk ülkelerde (Almanya, Hollanda, Belçika vb.) üretim çok daha küçük sera/kapalı binalar (indoor) içerisinde resirküle (kapalı-devre: RAS) sistemler kullanılarak yapılmaktadır. Bu tip yetiştiricilik sistemlerinde ticari olarak başarıyla kullanılabilen tek karides türü Pasifik beyaz karidesi olarak bilinen *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*'dir.

Geleneksel olarak büyük toprak havuzlarda yapılan karides yetiştiriciliği için deniz kenarında büyük arazilere ihtiyaç duyulmaktadır. Oysa ülkemizin Akdeniz ve Ege kıyılarında özellikle çok hızlı gelişen turizm sektörü ve Doğu Akdeniz'deki doğal hayatı koruma alanları nedeniyle karides yetiştiriciliği için geniş araziler bulmak neredeyse imkansız hale gelmiştir. Temelde kıyasal bölgeler için diğer sektörlerle (ömeğin turizm) yaşanan sıkıntılar ve buna ilaveten ağırlığını her geçen yıl hissettiğimiz küresel ısınmayla birlikte önemi daha da artacak olan su kaynaklarının kullanımı ve yönetimi, yetiştiricilik modellerimizi çok daha az su kullanımına olanak sağlayan resirküle sistemlere doğru kaymaya zorlamaktadır. Diğer taraftan, geleneksel üretim metotlarının çevresel kirliliğe neden oldukları da dikkate alındığında, daha az su tüketerek akışkan havuz sistemlerine göre 100 kat daha az deşarj suyu vermeleri (Blancheton, 2000), ayrıca yetiştiricilik su kalite kriterleri üzerinde de tam kontrol imkanı sağlamaları RAS sistemlerinin avantajları arasındadır. Yapılan hesaplamalarda geleneksel olarak toprak havuzlarda yapılan entansif karides yetiştiriciliğinde 1 kg karides için yaklaşık olarak 20 ton deniz suyu kullanılması ve eğer artım işlemi yapılmaz ise bu miktar deşarj edilen kirli suyun doğaya bırakılması gerekmektedir (Losordo ve Simmons, 1994). Oysa bazı entansif karides yetiştiricilik sistemlerinde günlük %1-3'ten daha az su değişkenliği gerekmemekte, hatta bazen sıfır su değişkenliği ile üretim yapılabilmektedir. Ancak bu sistemlerde yem kalitesinin yüksek olması ve yemlemenin doğru tekniklerle yapılması, yeterli havalandırma ve su sirkülasyonuna

ilaveten doğal produktivite ve besin olarak nitrojen döngüsünün dikkatli bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Doğru işletilen entansif sistemlerde 1 m³ havuz hacminden tek üründe 4 kg'ın (Cohen vd., 2005; Krummenauer vd., 2011) üzerinde hatta bazen 10-11 kg'a kadar (Reid ve Arnold, 1992; Davis ve Arnold, 1998) ürün (*P. vannamei*) alabilmek mümkün olmaktadır. Birim yetiştiricilik havuz alanından yüksek ürünlerin alınabilmesi için, karidesin hangi yoğunluklara kadar akut veya kronik stres yaşamadıklarını belirlemek üst stoklama limitinin anlaşılabilmesi açısından önem arz etmektedir.

Karides yetiştiriciliğindeki başarı temelde birim alandan elde edilecek üretimin artırılmasına yönelik teknolojik gelişmeler ve havuz su kalitesinin sürdürülebilirliğine bağlıdır. Bina-içi veya sera-içi süperentansif üretim sistemleri özellikle ılıman iklim kuşağında (ülkemiz gibi) yüksek stok yoğunluklarında ve mevsimlere bağlı kalmadan yıl boyu üretim yapabilmeye şansı verebilmektedir. Bu çeşit sistemlerde çoğu zaman hastalık bulaşma riski çok düşük olup, özellikle yararlı bakterilerin (probiyotikler) kullanımı ve atıkların kontrol altında tutulmasıyla önemli başarılar elde edilebilmektedir (Schock vd., 2013). Akdeniz'in Çukurova Bölgesi'nde düşük tuzlulukta ve 21-24°C sıcaklıkta çıkan yer altı suları karides yetiştiriciliği için (özellikle de sera altında bulunan toprak veya beton havuzlarda) mükemmel fırsatlar sunmaktadır. Bu bölgede yapılan araştırmalarda yeşil kaplan karidesinin (*Penaeus semisulcatus*) yüksek stoklama yoğunluklarında iyi bir büyüme performansı göstermediği belirlenmiştir (Kumlu vd., 2003; 2010c; Türkmen vd., 2007a,b). Bunun sebebinin ne olduğu net olarak henüz belirlenememiş olmasına rağmen elde edilen bulgular çerçevesinde bunun türsel bir özellik olduğu düşünülmektedir.

Ülkemizde yeşil kaplan karidesinde ilk stoklama ve büyütme çalışmaları Akdeniz'in Çukurova ve Ege Bölgelerinde başlatılmıştır (Şerefişan vd., 1998; Kumlu vd., 2003; Türkmen vd., 2007a,b; Kumlu vd., 2010c). Bu çalışmalarda bu karides türünün m²'de 30 adet yoğunluğa kadar başarıyla yetiştirilebileceği, daha düşük stoklama yoğunluklarında karideslerin ancak 140 günde 20 gram civarına kadar büyütülebileceği gösterilmiştir. Türkmen (2007a,b) de benzer şekilde, Ege Bölgesi'nin çevresel koşulları altında, bu karides türünü 15 adet/m² yoğunlukta havuzlarda 0.02 g ağırlıktan 5 ayda 16.46 gram ağırlığa ulaştırmıştır. Türkiye'de yeşil kaplan ile yürütülen çalışmalarda da beslemede (karides yemi ülkede bulunmadığından) genellikle çipura için formülize edilmiş yemler kullanılmak zorunda kalmış ve bu da ister istemez türün optimum performansının net olarak ortaya çıkartılmasını gölgelemiştir. Bir araştırmada 0.8-1 m çapında (500-L) tanklarda bu karides türü 24, 50, 74 ve 100 adet yoğunluklarda yetiştirilmiş ve umut vadeder bir şekilde 100 adet/m³ (m²'de 50 adet) yoğunlukta bile bu karidesin iyi büyüdüğü ancak yem değerlendirme oranının bu yoğunlukta 3.17'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir (Al-Ameeri ve Cruz, 2006). Bu araştırmacıların çalışmasında *P. japonicus* için geliştirilmiş kaliteli bir yem kullanıldığı ve bu yüksek performansın bundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Türsel ihtiyaca yönelik yürütülen bir çalışmada Ölçülü ve Kumlu (2010) yeşil kaplan karidesinin juvenillerinin beslenmesinde %38 civarında bir protein seviyesinin uygun olacağını bildirmiştir. Ticari olarak ülkemiz sularındaki en değerleri karides türlerinden birisi olan yeşil kaplan karidesinin beslenmesinde kullanılabilecek uygun ve ekonomik yem formülasyonlarının daha da kapsamlı araştırmalarla geliştirilmesine büyük bir gereksinim olduğu ortadadır.

Uzunca yıllar ıslah edilmiş, hızlı büyüyen ve hastalıklara dirençli (spesifik pathogen-free; SPF) varyeteleri geliştirilmiş olan Pasifik beyaz karidesi (*P. vannamei*) dünyada yetiştiriciliği yapılmakta olan en önemli karides türüdür. Tatlı suda yetiştirilen karideslerde dahil olmak üzere, bu karides türünün global ölçekte gerçekleştirilen üretimdeki payı 2016 yılında %75 ve 2017-2018 yıllarında ise %76-77'yi bulmakta olup, üretim tonajı 3 milyon tonun altına inmemektedir (FAO, 2016). Son yıllarda penaeid karideslerin su ürünleri yetiştiriciliğindeki ekonomik önemi nedeniyle, birim alandan elde edilebilecek ürün miktarının artırılmasına yönelik çalışmalar hız kazanmış olup, bunun başarılabilmesi doğrudan stok yoğunluğuna bağlıdır. Bilindiği üzere, stok yoğunluğu büyüme ve hayatta kalma oranını etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (Suriya vd., 2016). En uygun stoklama yoğunluğu, yetiştiricilik sistemi ve yönetim uygulamalarına bağlı olarak değişmekte (Ravuru ve Mude, 2014) ve ayrıca karides türlerinin yüksek stok yoğunluklarına verdikleri tepkiler de farklılıklar göstermektedir.

Sıcaklık veya diğer çevresel stres kaynaklarının herhangi birinde ani bir artış spesifik bazı proteinlerin sentezlenmesine neden olur ki bunlara ısı şok proteinleri (HSP) denmektedir. HSP'lerin iyi bir stres-indikatörü olarak kullanılabilmesi bilinmektedir (Sanders, 1993). Stoklama yoğunluğu doğrudan sucul canlıların yaşam konforunu ve üreticinin birim alandan elde edeceği ürün miktarını etkileyen önemli parametrelerdendir. Optimal stok yoğunluğu sucul canlılarda iyi bir büyüme oranının sürdürülebildiği ve aynı zamanda su kalite kriterlerini olumsuz etkilemeyen yoğunluk olarak tanımlanmaktadır. Aşırı stoklamada büyüme çoğu zaman düşer ve ayrıca karideslerin davranışları ve bağışıklık sistemi de bu faktörden olumsuz etkilenebilir. Son zamanlarda Pasifik beyaz karidesinde (*P. vannamei*) termal stres, pH dayanıklılık testi, ağır metal testi (Qian vd., 2012) ve bakteriyel dayanıklılık testi (Zhou vd., 2010) neticesinde, bu çevresel stres faktörlerinin akut etkilerinin veya uzun açlık periyodu ve ardından yeniden beslemenin (Lin vd., 2012) farklı HSP gen ekspresyonlarına (HSP60 ve HSP70) etkileri çalışılmıştır. Yüksek stoklama yoğunluklarında karideslerin strese girdiği ve bunun da gerek yaşama oranı gerekse büyüme performansına etki ettiği düşünülmektedir. Ancak, karideslerde stoklama yoğunluğunun stres oluşturduğuna (akut veya kronik) ve bunun farklı dokularda (et, solungaç ve hepatopankreas) HSP'lerin sentezlenmesine yol açtığına dair bugüne kadar herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, yine karideslerin bağışıklık sistemlerinin yüksek stok yoğunluklarında nasıl etkilendiğine dair stres testleri ile hemolenf ve immünolojik parametreler üzerine etkileri de henüz karideslerde çalışılmamıştır. Desteklenen bu proje ile ekonomik değeri yüksek olan ve yetiştiricilikte tercih edilen *Litopenaeus vannamei*'nin üstte belirtilen stoklama yoğunluğu ile bunun neden olduğu stres arasındaki ilişkisi konusundaki eksiklikleri gidermeyi ve ülkemizde resirküle sistemlerde karides yetiştiricilik potansiyelinin daha da net bir şekilde ortaya çıkartılması amaçlanmıştır.

Yüksek yem maliyetleri araştırmacılar ve üreticileri daha ucuz ve etkin yem kaynaklarının kullanılmasına yönelik araştırma ve incelemelere yöneltmiştir. Su ürünleri üretiminde yem tek başına en yüksek girdi maliyetini oluşturduğundan, çalışmalar ağırlıklı olarak pahalı olan denizel protein kaynaklarından (balık unu ve balık yağı) daha ucuz ve sürdürülebilir olan bitkisel ve bazı karasal hayvanlardan elde edilen

protein kaynaklarına yönelmiştir. Karides yetiştiriciliğinde yem maliyeti toplam üretim maliyetinin %40-60'ını oluşturmakta olup, bu alanda besinsel kaliteden önemli ödümler vermeden, daha ekonomik hammaddeler ile düşük maliyetli yemler üretilebilmesi ticari ölçekte büyük bir anlam ifade etmektedir. Ülkemizde karidesler henüz yetiştiriciliğe aday yeni/alternatif türler kapsamında olduğu için, bu canlıların yetiştiriciliğinde kullanılmak üzere ulusal bazda ticari yem tedariği sözkonusu değildir. Alternatif türler için ülkemizde yürütülmeye çalışılan Ar-Ge çalışmaları esnasında bile zaman zaman istenen özellikte deneme yemleri temin etmek zor olmaktadır. Pasifik beyaz karidesinin yurtdışında üretilen yemleri (büyütme için) %35-38 aralığında protein ve %6-9 arasında lipit içermektedir. Son zamanlarda bu yemlerde balık unu (ki en pahalı protein hammadde kaynağıdır) miktarının ciddi oranlarda azaltılması ve bazı bitkisel/hayvansal protein kaynaklarıyla %100'e kadar ikame edilebilmesi birim yem fiyatlarının belirgin bir şekilde düşmesine neden olmuştur (Olmos vd., 2011). Önerdiğimiz proje kapsamında geliştirmeyi tasarladığımız düşük maliyetli yem formülasyonu geliştirme çalışmasının özgünlüğü soya ve mısır glutenine ilaveten yerli bitkisel protein kaynakları olan fındık ve yerfıstığı unlarının ve ilaveten hayvansal protein kaynaklarından tavukunun kombinasyonlar halinde kullanılması üzerine odaklanmıştır.

Cheng vd. (2002) *P. vannamei*'nin yemlerinde kullanılan balık ununun %66.7'sinin, Chi vd. (2009) %70'inin, Cruz-Suarez vd. (2007) ise %80'ninin tavuk unu ile değiştirilebileceğini ve bunun karideslerde büyüme performansında önemli bir sorun yaratmadığını bildirmişlerdir. Hatta, bu karides türü için Markey vd. (2010) tavuk ununun da yerine, rahatlıkla sadece bitkisel protein kaynaklarından mısır gluteni ve soyanın da başarıyla kullanılabilirliğini kanıtlamıştır. Suarez vd. (2009) %70 soya + %30 kanola ile Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) balık unu miktarını %30'dan %6'ya kadar düşürebildiklerini (kuru ağırlık üzerinden) bunun da yaklaşık balık unu kullanımını %80 oranında azaltarak ciddi bir ekonomi sağlanabileceğini bildirmişlerdir. Pattnaik vd. (2006) bitkisel protein kaynakları ve denizel olmayan yağ kaynakları kullanarak karides yemlerinde balık ununun tamamen kaldırabileceğini belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar soya ile birlikte ekstrüde edilmiş tavuk unu kullanarak *P. vannamei*'nin esansiyel aminoasit ihtiyaçlarının karşılanabileceğini, alglerden elde edilen yağ ile de balık yağının tamamen ikame edilebileceğini kanıtlamışlardır. Garza de Yta vd. (2012) kırmızı kısıkaçlı kerevitlerde %25 soya unu ile %10 tavuk atığı ununun iyi bir büyüme, yaşama oranı ve yem değerlendirme oranı sağladığını bildirmişlerdir.

Balık yemlerinden farklı olarak, beslenme özellikleri nedeniyle, karides yemlerinin özellikle suda en az 3-4 saat süreyle bütünlüklerini korumaları ve bunun için de çeşitli bağlayıcı maddelerin yem formülasyonlarında kullanılması gerekmektedir (Argüello-Guevara ve Molina-Poveda, 2013). Projemizin 1. Denemesinde temel amacımız akademik kaygılardan ziyade, yerli bazı bitkisel protein kaynaklarının (yerfıstığı, mısır glutei, soya küspesi ve fındık küspesi) kullanarak düşük maliyetli ve suda stabilitesi yüksek ticari yem formülasyonlarının geliştirilmesi suretiyle, olası yeni bir sektörün (karides yetiştiriciliği) geliştirilmesi halinde bu alandaki eksikliklerimize çözüm üretmektir. Yeşil Kaplan karidesi juvenillerinde yaptığımız bir çalışmada (Ölçülü ve Kumlu, 2010) yapay yemlerde optimal protein oranının %38 olduğu anlaşıldığından, bu projede de yem formülasyonlarında bu protein oranı tercih edilmiştir.

Son zamanlarda yemde alternatif protein kaynakları kullanma seçeneğine ilaveten, hem yem maliyetlerini düşürmek hem de yemden yararlanmayı yükselterek saha sağlıklı ürünler elde etmeye yönelik olarak yem formülasyonlarına immünostimulantlar, prebiotikler, probiyotikler, ve diğer bazı yem katkı maddeleri (organik asitler vb.) konmaya yönelinmiştir (Ringø vd., 2012). Son on yılda, bazı bitkisel ekstraktların da yem katkı maddesi olarak yem formülasyonlarına girmeye başladığı ve su ürünleri yem sektöründe bitkisel ürünlerin formülasyonlarda her geçen gün daha da yüksek oranlarda artarak kullanılacağı öngörülmüştür (Gatlin vd., 2007).

Karides yetiştiricilik sektöründe yaşanan hızlı gelişme *Vibrio* bakteri genusu tarafından tehdit edilmiş ve sektörde bu sorundan kaynaklanan büyük sıkıntılar yaşanmıştır (Aguirre-Guzman vd., 2001). Fırsatçı olan bu mikroorganizmalar karideslerin florasının bir parçası olup, iyi olmayan çevresel koşullarda hastalıklara neden olurlar. Antimikrobiyal ilaçların, pestisit ve dezenfektanların gereksiz ve aşırı şekilde kullanılmaları dirençli bakteri varyetelerinin oluşumuna neden olduğu (Boyd ve Massaut 1999; Esiobu vd., 2002) ve bu nedenle daha doğal ve çevreci çözümlere yönelinmesi gerektiği bilinen bir gerçektir (Avella vd., 2010). Bunların içerisinde probiyotiklerin kullanımı olumlu sonuçlar vermiş ve artık akvatik canlıların hastalıklarının önlenmesinde ve performanslarının artırılmasında yaygınlaşmaya başladıkları bildirilmiştir (Wang vd., 2008). Cutting (2011) probiyotiklerin antimikrobiyal özelliklerinin yanısıra karideslerde büyümeyi arttırdıklarını ve immün sistemlerini uyarmak suretiyle hastalıklara dirençlerini de yükselttiklerini (Erickson ve Hubbard 2000; Picchiatti vd., 2007), ve general sağlık durumlarını iyileştirdiklerini bildirmişlerdir (Balcazar vd., 2006; Silvi vd., 2008). Probiyotik olarak adlandırılan yararlı mikroorganizmalar uygulama sonrasında hedeflenen akvatik canlıların sindirim sistemlerinde (bağırsak) kolonize ederek hızla çoğalırlar ve konakçı canlıda birçok biyolojik olay üzerinde olumlu etkilerde bulunurlar (Cross 2002; Nayak 2010). Ek olarak, Wang vd. (2008) probiyotiklerin suda toplam nitrojen ve havuzların sediment yapısında ise toplam organik karbon, fosfor ve inorganik fosfor seviyelerini de azalttıklarını gözlemlemiştir.

Üretim tekniklerinin daha yüksek stoklama yoğunluklarına doğru kayması üretimde bakteriyel ve viral hastalık tehditlerinin artmasına neden olmuştur. Bu tehditlerin azaltılması veya ortadan kaldırılabilmesi için kimyasalların, özellikle de antibiyotiklerin kullanımı dirençli bakterilerin gelişmesine neden olmakta (Jayasree vd., 2006) ve çevre kirliliğine ilaveten, insan sağlığını da tehdit etmektedir. Kimyasal maddelerin kullanımının bu dezavantajlarını ortadan kaldırmak ve ayrıca, gelişmiş ülkelerin tüketimlik su ürünlerinde antibiyotik atıklarına karşı uyguladıkları ithalat bariyerlerini aşmak amacıyla üreticiler daha doğal çözümlere odaklanmaya başlamışlardır. Bu çerçevede, su ürünleri üretiminde antibiyotiklerin yerine, daha sağlıklı ve etkin bir şekilde üretim yapılabilmesine imkan verebilecek olan bazı probiyotikler ve fitobiyotik veya fitojenik denem bitkisel ekstraktlar tercih edilmeye başlanmıştır. Defoirdt vd. (2007) akvakültür sistemlerinde antibiyotik yerine hastalıklara direnç kazandırabilen, bağırsak mikroflorasının daha dengeli hale getirerek su canlılarının daha iyi performans gösterebilmelerini sağlayan probiyotiklerin kullanımını önermektedir. Pek çok araştırmacı akvakültürde suya probiyotik eklenmesinin *Vibrio* kaynaklı hastalıkların azaltılmasında veya önlenmesinde çözüm olabileceğini bildirmektedir (Balcazar vd., 2006; Kesarcodi-Watson vd., 2008).

Probiyotikler doğal canlı mikrobiyal yem katkı maddeleri olup, balık ve karideslerin bağırsaklarında mikrobiyal dengeyi sağlar ve dolayısıyla büyüme, yem değerlendirme, yaşama oranı ve bağırsıklık sistemi üzerinde olumlu etkilerde bulunurlar. Sucul ortamlarda üretilen balık ve karidesler aslında içinde yaşadıkları suda bolca bulunan bakterileri besin alımları esnasında ve osmoregulasyon ile sürekli olarak vücutlarına alırlar (Verschuere vd., 2000a). Üretilen su ürünleri için herhangi bir yan etkisi olmayan probiyotikler, ayrıca su kalite kriterlerini de dengeleyerek olumlu etkilerde bulunurlar (biyoremediasyon). Farklı bakteri karışımlarından oluşan probiyotikler akvakültürde canlı yem aracılığıyla, banyo tarzında, kültür suyunda eritilerek veya ticari yapay yemlere karıştırılmak suretiyle verilebilir. Son zamanlarda karides yetiştiriciliğinde su kalitesinin iyileştirilebilmesi ve sürdürülebilirliği için de probiyotikler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu çeşit probiyotikler suya belli oranda eklendiğinde zararlı patojen bakterileri azaltırlar, organik maddenin parçalanması ve mineralizasyonunu artırarak istenmeyen atıkları da elimine ederler. Böylece yetiştiricilik esnasında havuz tabanında biriken ve daha sonraları anaerobik ortamda balçık haline dönüşen organik atıklar ortadan kaldırılmış olur. Supamattaya vd. (2005), probiyotiklerin karideslerin (*P. vannamei*) bağırsak bakteriyel ekolojisini olumlu etkilediğini ve diğer bakterilerle rekabet ederek bağırsaklardaki *Vibrio* türlerini azalttığını bildirmişlerdir. İçinde birçok bakteri karışımının olduğu bir probiyotik ürününün *Vibrio* ile enfekte edilmiş karideslerde yaşama oranını %30 civarında arttırdığı, belirgin bir şekilde daha iyi büyüme ve yem değerlendirme sağladığı görülmüştür (Krummenauer vd., 2014). Bu çerçevede, geliştirmek istediğimiz prototip resirküle üretim modelimizde, Dünya'nın en büyük probiyotik üreticilerinden Biomin (Avusturya)'in ürettiği bazı probiyotik (AquaStar-Growout® ve AquaStar-PondZyme®) ve fitojenik ürünlerin (Digesterom PEP MGE®) değişik kombinasyonlarda, hem yem katkı maddesi hem de su kalitesini iyileştirici özelliklerinden dolayı test edilmek istenmiştir.

Bir çok araştırmacı (Decamp vd., 2008; Rengpipat vd., 1998) *Bacillus* bakteri varyetelerinin *Vibrio* ile enfekte edilen karideslerde yaşama oranını yükselttiğini göstermiştir. Krummenauer vd. (2014), probiyotik uygulanan karides grubunda yaşama oranının (%83), kontrol grubuna (%52) kıyasla çok daha yüksek çıkmasının, bu probiyotik bakterilerin karidesleri *V. parahaemolyticus*'a karşı koruyabildiğini göstermişlerdir. Benzer şekilde, Swain vd. (2008) de probiyotik olarak *E. faecium* bakterisinin *V. parahemolyticus* ile enfekte edilen *P. monodon* postlarvarını koruduğunu bildirmişlerdir. Probiyotik kullanımının en önemli avantajlarından birisi de özellikle yüksek stoklama yoğunluklarında yaşama ve büyüme oranlarının kontrol gruplarına göre daha yüksek çıkmasıdır. Bunun sebeplerinden birisinin de probiyotiklerin tank veya havuz koşullarında su kalite kriterlerine olumlu etkilerde bulunarak, karideslerin daha optimal koşullarda büyümelerine imkan vermeleridir. Benzer şekilde, Widanami vd. (2010) de *P. vannamei* yavrularının probiyotikli tanklarda daha iyi bir büyüme performansı gösterdiklerini belirtmişlerdir. Üretim açısından değerlendirildiğinde, Krummenauer vd. (2014) açıkça göstermiştir ki, probiyotik kullanımı *P. vannamei*'de büyüme ve yaşama oranlarını önemli ölçüde yükseltmek suretiyle, deneme sonu karides biyomasını %70 oranında arttırmıştır. Bu araştırmacılar 300 adet/m² yoğunlukta yetiştirilen karideslerde probiyotik kullanımının

yem çevrim oranını (YÇO) da belirgin bir şekilde azalttığını bildirmişlerdir (Krummenauer vd., 2011). Araştırmalar göstermiştir ki, probiyotikler suda ve bağırsaklarda bulunan patojenlere karşı habitat ve besin rekabeti, bazı antimikrobiyal maddelerin üretimi (lactoferrin, lizozim, bacteriocins) ve bağırsaklardaki çevresel koşulları değiştirebilmeleri ve bazı uçucu yağ asitleri ve laktik asiti üreterek pH'yı düşürmek suretiyle koruma sağlarlar (Balcazar vd., 2006). Ayrıca, probiyotikler karides yetiştiricilik sektöründe büyük sorunlara neden olan lüminesan bakterilerden *Vibrio*'ları (*Vibrio harveyi* gibi) da su kolonu ve havuz sediment yapılarından da elimine edebilmektedir (Verschuere vd., 2000b). Supamattaya vd. (2006) yemde probiyotik kullanımının karideslerin bağırsak ve hepatopankreaslarında *Vibrio* yükünü azaltarak enfeksiyonlara kapılma risklerini düşürdüğünü de bildirmiştir.

Ziaei-Nejad vd. (2006) Sanolife Pro-W® adlı bir probiyotik ürününün içeriğinde farklı bakteri türlerinin bulunduğunu (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* ve *B. pumilus*) ve bunların proteaz ve diğer bazı enzimleri ürettikleri için konakçı su canlısının sindirimine katkı getirebildiğini, Arena vd (2006) ise *B. licheniformis*'in antiviral bir özelliğe de sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çevresel koşulların uygun olmadığı durumlarda probiyotiklerin etkilerinin daha da yüksek olduğu belirtilmiştir (De Souza vd., 2012). Probiyotik kullanımında fagositik hematosit sayısında, kapsül ve nodül oluşumları ile toksik molekül ve mikrobisitlerde artışlar olacağı ve tüm bunların immün yanıtlar olarak üretimi yapılan canlıların iyi olmayan koşullara direncini arttıran yanıtlar olduğu bildirilmiştir (Hose vd., 1990; van de Braak vd., 2002). De Souza vd. (2012) çalışmalarında probiyotik uyguladıkları tanklarda *Vibrio* spp. sayımının kontrol tanklarından daha düşük seviyeye indirilebildiğini, bunun da probiyotiklerin antibiyotik yerine alternatif olarak kullanılabilirliğini kanıtladığını belirtmişlerdir.

Fitojenik maddeler henüz yem sektöründe nispeten yeni kullanılmaya başlanan ve halen etkileri tam olarak bilinmeyen, uygulama stratejileri ve protokolleri de tam olarak oturtulamamış olan yem katkı maddeleridir. Bitkisel kaynaklı olan fitojenik ürünler yapraklar, kökler, yumrular, otlar, baharatlar ve diğer bazı aromatik bitkilerden üretilmektedir. Katı, kuru, öğütülmüş veya ekstraktlar halinde hatta uçucu yağlar halinde satılırlar. Fitojenikler antioksidatif ve/veya antimikrobiyal özelliklere sahip olabilirler. Bazıları lezzet attırıcı olarak etkide bulunarak hayvanlarda büyümeyi olumlu etkileyebilirler. Fikofitik maddeler ise deniz alglerinden, özellikle kahverenkli alglerden, *Fucus*, *Macrocystis*, *Laminaria* genuslarından üretilirler. Bu ürünler kompleks immün uyarıcı karbonhidratlar içerirler ve bu sayede hastalıklara karşı direnç açısından destek olurlar. Yapılan araştırmalar, bu doğal yem katkı maddelerinin yetiştirilen sucul canlılarda bağırsak mikroflorasını dengeleyerek sağlık ve büyüme performansları açısından yararlar sağladığına dair güçlü kanıtlar göstermektedir. Bu ürünler doğal çözümler sunarak daha sürdürülebilir bir yaklaşımla antibiyotik yerine sucul ortamlarda patojenik bakteri yükünü azaltmada, bağırsak mikroflorasının dengelenmesinde ve büyüme performansının artırılmasında kullanılabilirler. Fitojenik yem katkı maddeleriyle yapılan çalışmalarda, örneğin kanal kedi balığında (Zheng vd., 2009) ve gökkuşağı alabalığında (Giannenas vd., 2012) canlı ağırlıkta artış, YÇO'da azalış, ve hastalıklara dirençte bir yükseliş belirlenmiştir. Peterson vd. (2014) bir fitojenik ürün (Digestarom® P.E.P MGE) kullandıklarında (carvacrol, thymol, anethol, ve

limonene) kanal kedi balıklarında büyüme performansı, yaşama oranı ve YÇO'da herhangi bir iyileşme görmemişler, ancak fileto yağ oranında bir düşüş ve protein içeriğinde bir yükselme belirlemişlerdir. Bunun tersine, kekik yağı ile beslenen kedi balıklarında YÇO azalmış, diğer bazı fitojenik katkı maddelerinde de olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Zheng vd., 2009). Gökkuşluğu alabalıklarında, fitojenik maddelerin kullanıldığı gruplarda YÇO'lar, kontrol grubuna kıyasla, 1.78'den 1.59-1.73 düşmüştür (Giannenas vd., 2012).

Akvakültürde fitojenik maddelerin antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmalarının yanısıra, bu ürünler aynı zamanda bağışıklık güçlendirici olarak hastalıkların önlenmesinde ve stress direncinin artırılmasında da kullanılabilirler. Fitojeniklerin akvakültür sektöründe kullanımının yararlı olduğu bilinen bir diğer alanın ise antioksidan özellikleri sayesinde balık filetolarının depolamada raf ömrünü uzatmalarıyla ilgili olmalarıdır. Bir araştırmada, antioksidan özellikleri nedeniyle, fitojenik yem katkı maddeleriyle beslenen balıkların filetolarının 5 gün süreyle buzdolabı koşullarında rahatlıkla besin içerikleri ve kalitelerinde herhangi bir kayıp olmadan bekletilebildiği belirlenmiştir (Basharat ve Santos, 2013). Pasifik beyaz karidesi ile yapılan bir çalışmada, bir fitojenik ürün (Digestaron® P.E.P MGE) 56 gün süreyle denemede kullanılmış ve final ölçümlerinde fitojenik ürün içeren yemle beslenen karideslerin daha iyi büyüdüğü ve YÇO'nun önemli oranda düşük çıktığı belirlenmiştir (Encarnaçao, 2014). Ayrıca, bu çalışmada, deneme sonunda yürütülen *Vibrio* dayanıklılık testinde de bu fitojenik madde uygulanan grupta daha yüksek bir direnç ve neticede daha düşük oranda bir mortalite görülmüştür.

Entansif stok koşulları gibi uzun süreli stres (kronik) durumlarında fizyolojik denge kurulamaz (en azından uzunca bir süre için) ve hastalıklara direnç azalır; üreme ve büyüme de bundan olumsuz etkilenir (Van Weerd ve Komen, 1998). Yüksek stoklama koşullarında su kalitesinde gerçekleşen düşüşlerin de su canlılarında büyümeyi olumsuz etkilediği, yem alımını ve yemden yararlanmayı düşürdüğü bilinmektedir. Kronik stresin giderilmesi, su canlılarının sağlık durumu ve büyüme performansı açısından su ürünleri yetiştiriciliğinde (akvakültürde) büyük önem taşımaktadır. Stres durumunda yüksek enerji ihtiyacı nedeniyle oksijen taşıma kapasitesinin artmasından dolayı kırmızı kan hücreleri ve hematokrit düzeyleri artış gösterir (Montero vd., 1999). Yapılan çalışmalarda, artan stok yoğunluğunun balıklarda metabolik ve antioksidan enzimlerinin miktarını azalttığı ve aksine stres ile ilişkili proteinlerden HSP70'i yükselttiği belirlenmiştir (Aksakal vd., 2011). Bu araştırmacılar gökkuşluğu alabalığı ile yaptıkları bir çalışmada, 15, 20, 25 ve 30 kg/m³ stok yoğunluklarını test etmiş ve en yüksek stok yoğunluklarında HSP70'in ekspresyon seviyesinin yükseldiğini ve dolayısıyla kas dokuda ölçülen bu değerlerinin balıkta ciddi bir stres yaşandığını gösterdiğini bildirmişlerdir. Dil balığı (*Solea senegalensis*) juvenillerinde yapılan bir çalışmada yüksek stoklama yoğunluklarında HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarına bakılmış, denemede balıkların yeterli bir büyüme gösterdiği, ancak bu koşullarda ölçülen plasma kortizol seviyesinin stoklama ile ilgili stresten kaynaklanabileceği ve bunun da bazı genlerin ekspresyonlarını olumsuz etkileyebileceği bildirilmiştir (Salas-Leiton vd., 2010). Karideslede stoklama yoğunluğu ile ilişkili olarak HSP gen görünüm seviyeleri henüz bilimsel çalışmalara konu edilmemiştir.

Bu proje çalışmasında dört ana deneme planlanmıştır. Bunlardan;

- I. **Denemede:** Yerli türlerimizden olan *P. semisulcatus* için ekonomik ve su stabilitesi yüksek yem formülasyonları geliştirmek amacıyla balık unu yerine alternatif hayvansal protein kaynağı olarak tavuk unu ve bitkisel kaynaklar olarak da soya, fındık ve fıstık küspeleri ile mısır glütenu değerlendirilmiş, üretilen yemlerin iki ay süreyle karideslerin büyüme ve yem tüketim performansları üzerine etkileri araştırılmış ve ardından stres testleri yürütülmüştür. Bu denemede ayrıca dokuz adet farklı bağlayıcı madde ile yemlerin hidrostabilite testleri gerçekleştirilmiştir.
- II. **Denemede:** Yavru büyüme döneminde (ön-büyütme) farklı stok yoğunluklarında karideslerde (*P. vannamei* ve *P. semisulcatus*) büyüme ve yem tüketim performanslarının yanı sıra 0, 1, 4, 7 ve 30. günlerde alınan örneklerde, tüm vücut/kas dokuda ısı şok proteinleri (HSP70 ve HSP90) seviyelerine bakılmış ve ayrıca deneme sonunda formalin ve tuzluluk dayanıklılık testleri ile yavruların dirençleri araştırılmıştır.
- III. **Denemede:** *P. vannamei* için resirküle yetiştiricilik sisteminde karideslerde büyümeyi ve yemden yararlanma oranını yükseltici etkileri olan ve ayrıca su kalitesini iyileştirici özelliklere sahip probiyotik ve fitojenik maddelerin kullanımı, bunların gruplarda immün direnç üzerine etkileri (tuzluluk testi, bakteri dayanıklılık testi, bağırsak ve suda toplam ve *Vibrio* bakteri sayımları) incelenmiştir.
- IV. **Denemede:** Karides üretiminde yıl boyu ekonomik bir üretim yapabilme olanağı veren çok-katlı tank sistemi ve güneş enerjisinden üretilen elektrik desteğiyle süper-entansif üretim yapılabilecek bir üretim modeli geliştirilmesi ve farklı stok yoğunluklarında yetiştirilen karideslerde büyüme ve yem tüketim performansları, ısı şok proteinleri (HSP70 ve HSP90) ve bazı biyokimyasal ve immün parametrelerin analizleri (serum protein, laktat, trigliserit, lizozim, fagositik aktivite vb.) araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bu proje birisi yerli (*P. semisulcatus*) diğeri ise yurtdışından ithal edilen (*Penaeus vannamei*) iki farklı karides türü için ekonomik ve su stabilitesi yüksek yem formülasyonları ve katlı sistemlerden oluşan sürdürülebilir bir entansif RAS sistemi geliştirmektir. Stres kaynağı olarak (stresör) stoklama yoğunluğunun büyüme, yem tüketimi ve bazı fizyolojik ve immünolojik hemolenf parametreleriyle birlikte ısı şok proteinlerinin gen görünümleri üzerine etkileri projenin alt amaçlarındandır.

Bu proje; tür çeşitliliğini arttırmaya, yeni bir ürünün pazara süreklilik arz edecek şekilde sunulabilmesini sağlamaya, yerli hammaddeler ile maliyeti düşük, suda stabilitesi yüksek ve türe özgü yem üretilmesine, birim alandan maksimum ürün elde edilebilmesine, kronik stres yaratmadan gerek ön-büyütme gerekse büyütme aşamalarında tanklara stoklanabilecek maksimum karides stoklama yoğunluklarının belirlenebilmesine, resirküle sistem sayesinde çok düşük su kullanımı ve deşarjı ile daha çevreci bir üretim sistemi geliştirilmesine, fotovoltaiik solar panellerden üretilen elektriğin sera / katlı tank sistemine entegre edilmesi ile daha ekonomik ve sürdürülebilir bir prototip üretim modeli geliştirmeye ve genel olarak da su ürünleri yetiştiriciliğinde yeni bir sektör oluşturmaya yönelik çalışmalardan oluşmaktadır. Bu projenin konusu, kapsamı ve literatür özeti detaylı bir şekilde aşağıda verilmiştir.

2.1. Karides Yetiştiricilik Sektörünün Durumu Nedir?

Bilindiği gibi ülkemizde yetiştiricilik yapan yüzlerce işletmenin ürettiği ürünler sadece alabalık, çipura ve levrek ile sınırlı kalmıştır. Bu ürünlerin pazarlanmasındaki kıyasıya rekabet koşulları işletmelerin karlılık oranlarını sürekli aşağılara çekerek pek çok firmanın ayakta kalmasına imkân bırakmamıştır. Oysa bu ürünlerin dışında, ülkemizde üretimi yapılarak ulusal veya Avrupa piyasasına sunulabilecek pek çok farklı su ürünü mevcuttur. Bunlar içerisinde; bazı alternatif balık türlerinin (sinagrıt, mercan, kalkan, dil balığı vb.) yanı sıra midye, kum midyesi, istiridye, deniz karidesi, tatlı su karidesi, makro ve mikro-alg sayılabilir. Ekonomik değeri çok yüksek olan karides üstte sayılan alternatiflerin başında yer almaktadır.

Karides yetiştiricilik sektörü dünyada hızla büyümeye devam etmektedir. Günümüzde 50'nin üzerinde ülkede yetiştirilen karides miktarının 3.4 milyon tonun üzerine çıktığı ve üretimin ekonomik değerinin 13 milyar ABD Dolarını bulduğunu bildirmektedir. Aslında, yan sanayi kollarıyla (yem, imalat, kimyasallar, işleme, depolama, ticari faaliyetler, pazarlama vb.) bu rakamın çok daha yüksek olduğu bilinmektedir. Ülkemizde üretimi yapılan balıkların aksine, karidesler 3.5-4 ay gibi kısa bir sürede hızla büyüyerek pazarlama boyutlarına (20-25 g) kadar ulaşabilen su ürünleridir. Ancak, tropik kökenli olmaları itibarıyla bu canlıların kış ayları süresince soğuklarda üretimlerine devam edilebilmesi veya kışlatılabilmeleri için sera altında ekonomik ısıtma sistemleri (solar enerji, rüzgar enerjisi vb.), yeraltı ılık su veya jeotermal enerji kaynakları kullanılarak en ekonomik şekilde üretilmelerini büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle ülkemizde ticari ölçekte üretimlerine girilmeden önce karideslerin bu tip sistemlerde yüksek stoklama yoğunluklarında ve resirküle sistemler kullanılarak büyütülmeleri, bu esnada beslenmelerinde kullanılacak olan yapay pelet

yemlerin yüksek stabilitede ve düşük maliyetli yerli hammaddelerle üretilmiş olması şarttır. Su ürünleri sektörü için yeni türlerde başarı; iyi bir bilgi ve tecrübe birikimi, düşük maliyetli ve sürdürülebilir bir üretim modeli ve iyi bir pazar ve pazarlama stratejisi ile mümkün olabilir. Desteklenmek üzere önerdiğimiz bu proje karides yetiştiriciliğinde; 25 yıllık tecrübe ve bilgi birikimimizin son halkalarını oluşturarak, ekonomik, çevre-dostu ve sürdürülebilir bir üretim stratejisi ile yıl boyunca karides üretilmesine imkan verebilecek şekilde bir üretim modeli oluşturmak amacıyla tasarlanmıştır.

2.2. Ülkemizde Karides Yetiştiriciliğine Yönelik Ar-Ge çalışmalarının Durumu Nedir?

Ülkemizde 1990'lı yılların ortasından itibaren karides türlerinin biyo-ekolojik özellikleri (Kumlu vd., 1999a; Bayhan vd., 2005; Turkmen ve Yılmazyerli, 2006) ve yerel türlerin Akdeniz (Aktas ve Kumlu, 1998; Kumlu vd., 1999b; Kumlu ve Eroldoğan, 2000; Kumlu vd., 2001a,b; Soyel ve Kumlu, 2003; Aktaş vd., 2003; Kumlu vd., 2003; Aktaş vd., 2004; Kır vd., 2004; Kiriş vd., 2004; Kumlu ve Kır, 2005; Kır ve Kumlu, 2006; Kumlu ve Lök, 2007; Kır ve Kumlu, 2008a,b) ve Ege Bölgelerimiz (Türkmen 2003; 2005; 2007a,b) için yetiştiricilik potansiyellerinin araştırılması bir çok çalışmaya konu olmuştur. Geline nokta, son 10 yıl içerisinde, sularımızdan avlanan bazı karides türlerinden özellikle yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*), Japon karidesi (*Marsupenaeus japonicus*) ve benekli karidesinin (*Metapenaeus monoceros*) biyolojik gereksinimleri, bölgesel çevre koşullarına toleransları, soğuk kış aylarında kışlatılmaları, yavru üretimleri ve büyütülmeleri gibi konularda önemli tecrübeler kazanılmıştır. Ancak, halen elde edilen tecrübe ve birikimlerin ülkemizin ekonomik gelişimine katkı getirecek şekilde karides yetiştiriciliğinin ticari boyutlara yansıtılabilmesi mümkün olamamıştır. Yeni türlerin üretimine geçilmesi (örneğin başka balık türleri, midye ve özellikle de ekonomik değeri yüksek olan karides gibi) piyasayı rahatlatacak ve üreticilerin daha yüksek kazançlarla satış yapabilmelerine olanak yaratacaktır.

2.3. Neden Karides Yetiştiriciliği Ülkemizde Henüz Ticarileştirilememiştir?

Ülkemizin Akdeniz kıyıları; yarı-tropik iklim koşulları, uzun kıyasal bölgeleri, temiz suları ve Avrupa piyasasına yakınlığı ile karides yetiştiriciliğine uygun koşullara sahip bir coğrafya üzerinde yer almaktadır. Tropik ülkelerde mevsim sınırlaması olmadığı için, üç aşamada (kuluçkahane, ön-büyütme ve büyütme) gerçekleştirilen karides yetiştiriciliği yılın herhangi bir döneminde yapılabilmektedir. Oysa ülkemizin Akdeniz kıyılarında sezon sınırlaması vardır ve büyütme aşamasının ekonomik olabilmesi için karides yavrularının Mayıs ayında havuzlara stoklanmaları ve Ekim ayı sonunda da hasat edilmeleri (5-6 aylık bir büyütme periyodundan sonra) gerekmektedir. Bu esnada 10-15 mg ağırlıkta (Post-larva 10-15) havuzlara stoklanan karidesler ortalama yaklaşık 20-25 g ağırlığa ulaştırılmalıdır. Sezon sınırlamasının temel sebebi karideslerin biyolojik gereksinimleriyle ilgilidir; karidesler en hızlı büyümeyi 28-30°C su sıcaklığında gösterirler, ancak su sıcaklığı 20°C'nin altına indiğinde büyümeleri yavaşlar ve kış aylarında su sıcaklığının 11-12°C'nin altına inmesi halinde ise ölüm riski ile karşı karşıya kalırlar. Sezon sınırlaması ve yılda ancak tek ürün elde edilebilmesi ülkemiz gibi yarı-tropik ülkelerde karides çiftliklerinin kurulmasına yönelik yatırım

yapmanın cazibesini azaltmakta ve piyasaya yılboyu ürün sunulabilmesine engel olmaktadır. Oysa bir üreticinin piyasa koşullarında rekabetçi olabilmesi hem ekonomik bir üretim yapabilmesi hem de piyasaya düzenli olarak ürün sürebilmesine bağlıdır. Bu sorunların önemli bir kısmı resirküle (kapalı devre) sistemlerle ortadan kaldırılabilmekte, büyüme yıl boyunca sürekli hale getirilebilmekte ve ayrıca çevre kirliliği önemli oranda azaltılabilmektedir.

Bu sebeplerden dolayı, bu projede 20-25 senedir üzerinde sürekli olarak Ar-Ge çalışmaları yaptığımız yeşil kaplan karidesinin ilk kez resirküle sistemlerde büyüme ve yem tüketim performansı denenecek ve bu tür için elde ettiğimiz bulgular resirküle sistemlerde yetiştiriciliğe uygunluğu pek çok ülkede kanıtlanmış olan Pasifik beyaz karidesininkiler ile kıyaslanacaktır. Gelitirilmesi hedeflenen prototip üretim modelimizin Pasifik beyaz karidesinde de test edilmesi çıktılarımızın uluslararası arenada daha fazla ilgi görmesine ve etki derecesinin yükselmesine neden olacaktır.

2.4. Neden Yeşil Kaplan karidesi ve Pasifik Beyaz Karidesi Bu Projede Birlikte Ele Alınmıştır?

Sularımızda bulunan ekonomik karides türleri içerisinde yetiştiriciliğe en uygun olduğu kabul edilen ve bugüne kadar üzerinde en fazla çalışma yürüttüğümüz türlerin başında yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) gelmektedir. Özellikle İskenderun Körfezi'nde çok yaygın olarak avlanan bu karides türümüz, diğer pekçoğu gibi (Ömek; *P. japonicus*, *Penaeus aztecus*, *Metapenaeus monoceros* vb.) aslında egzotik (İndo-pasifik) bir türdür. Halen, gerek Kızıldeniz gerekse Atlas Okyanusu'ndan ve bazen de gemilerin balast sularıyla denizlerimize yabancı türlerin girişi devam etmektedir. Bugüne kadar yaptığımız tüm bilimsel araştırmalarda ve bazı ticari girişimlerde ve son zamanlarda TAGEM destekli projemizde yürüttüğümüz çalışmalarımızda sularımızdan yakalanan türlerde yaptığımız yetiştiricilik çalışmalarında; büyümenin yavaş olduğu, ve yem çevrim oranının (YÇO) yüksek çıktığı (>3) görülmektedir. Yeşil kaplan karidesinde bugüne kadar pazarlama boyutlarına kadar test edilen en yüksek stoklama oranı 30-50 adet/m²yi geçmemektedir (Al-Ameeri ve Cruz, 2006; Kumlu vd., 2010c). Bu özelliklere sahip karides türleriyle yılda tek ürün elde edilmesi üzerine kurulu bir üretim modeliyle ülkemizde bir karides yetiştiricilik sektörü geliştirmek mümkün gözükmemektedir. Dolayısıyla bu karides türümüzün kendisine özgü tasarlanacak yem formülasyonları sayesinde üretilecek ekstrüde yemler ve probiyotiklerin de desteğiyle performansının daha yüksek stoklama yoğunluklarında mutlaka denenmesi gerekmektedir. İşte önerdiğimiz bu proje üstte belirtilen bu eksiklikleri hızla gidermeyi amaçlamakta ve daha da ötesinde karidesler içerisinde yetiştiricilik potansiyeli en yüksek olan Pasifik beyaz karidesine kıyaslamalı olarak çalışılması yeşil Kaplan karidesinin yetiştiricilik potansiyelinin daha da net bir şekilde ortaya çıkartılmasına neden olacaktır.

Karides yetiştiriciliği Dünya'da ağırlıklı olarak tropik ülkelerde (Tayland, Vietnam, Endonezya, Hindistan vb.) ve açık sistemler olarak tanımlanan akışkanlığı olan (flow-through) büyük toprak havuzlarda ve daha çok yarı-entansif veya entansif stoklama koşullarında yürütülmektedir. Ancak, daha ılıman (ABD, Çin, Japonya, İspanya, İtalya ve Yunanistan) ve hatta soğuk ülkelerde (Almanya, Hollanda, Belçika vb.) üretim çok daha küçük sera/kapalı binalar (indoor) içerisinde resirküle (kapalı-devre) sistemlerde yapıl-

maktadır. Bu tip yetiştiricilik sistemlerinde başarıyla kullanılabilen en yaygın karides türü Pasifik beyaz karidesi olarak bilinen *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*'dir. Son 15-20 seneden beri sürekli olarak ıslah edildiği için yüksek stoklama yoğunluklarında bile hızlı büyüyebilmesi, pazarlama boyutlarına 3.5 ay gibi çok kısa bir sürede ulaşabilmesi, kanibalistik davranışlarının son derece düşük olması, hastalıklara dirençli (SPR/SPF) varyetelerinin mevcudiyeti ve düşük proteinli yemleri iyi değerlendirebilmesi gibi özellikleri bu karides türünün doğal yaşam alanlarından tüm Dünya'ya (ABD'den Brezilya'ya, Çin'den Endonezya'ya, Hindistan'dan Tayland'a kadar 60'tan fazla ülke) yayılmasına neden olmuştur. Şu anda karides yetiştiricilik sektörünün %90'ından fazlası ıslah edilmiş olan Pasifik beyaz karidesine endekslenmiştir.

Sularımızda da bulunan türlerde ıslah çalışmalarının yapılmasına büyük bir gereksinim vardır. Ancak, ıslah araştırmaları uzun süreli, yüksek maliyetli çalışmalar olup iyi bir organizasyon ve altyapı gerektirir. Ayrıca, tüm imkanlara ve çabalara rağmen çoğu zaman başarılı bir sonuç garanti değildir. Örneğin, Uzakdoğunun meşhur dev siyah kaplan karidesinde (*Penaeus monodon*) bile ABD, Avustralya ve Tayland'ta yürütülen pek çok ıslah çalışması, mükemmel imkanlar, yüksek bütçe ve son derece uzman araştırmacılara rağmen halen arzulanan başarıyla sonuçlanamamıştır (Withyachumnamkul vd., 1998; Norman-López vd., 2015). Avrupa ülkelerinde (Almanya, Hollanda, İspanya vb.) olduğu gibi bu karides türünün ülkemizde de özellikle kapalı (resirküle) sistemlerde üretiminin teşvik edilmesi, ancak bunun için ıslah edilmiş SPF/SPR (spesifik pathogen-free/specific pathogen resistant) ve tek kullanımlık hibrit yavruların tercih edilmesi hem yeni bir ürün ve sektör geliştirilmesini sağlayacak hem de çevresel kaygılar minimize edilecektir. Dolayısıyla, yayılımcı özelliği olmayan, özellikle resirküle sistemlerde yoğun üretilen, ıslah edilmiş ve hastalık taşımayan/dirençli (SPF/SPR) anaçlardan elde edilecek yavrularla, tüm Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de başarılı sonuçlar alınabileceği ve bunun da ülkemizde yürüttüğümüz çeşitli çalışmalarla da kanıtlanmaya başlandığı ortadadır (Kumlu vd., 2011; Aktaş vd., 2014).

2.5. Ekonomik ve Hidrostabilesi Yüksek Yemler Karides Yetiştiriciliğinde Neden Önemlidir?

Su ürünleri yetiştiriciliğinde en yüksek işletim maliyeti gideri olan yemde daha ekonomik ve besin açısından dengeli yem üretimine yönelik çalışmalar akvakültür sentörünün en büyük hedeflerinden birisidir. Bunun başarılabilmesi için geleneksel hammaddelerin dışında başka alternatiflere yönelmek ve bunları formülasyonlarda kullanarak üretimi yapılacak türler üzerinde test etmek gerekmektedir. Daha ekonomik yem hammaddelerine yönelindiğinde daha düşük besin içeriği, zayıf sindirilebilirlik oranı, yüksek aminoasit dengesizliği ve karbonhidrat içeriği ile daha yüksek selülozik yapı gibi sorunlarla karşılaşılması büyük olasılıklardandır. Bu durumda, ilgili türlerin yetiştiriciliğinde yem değerlendirme ve büyüme performanslarında düşmeler ile karşılaşılabilir. Bunun önlenmesi için yem formülasyonlarında ekonomik hammaddelerin besin açısından zengin diğer hammaddelerle ve çoğu zamanda bazı yem katkı maddeleriyle harmanlanıp, yetiştiriliği hedeflenen türün sağlık ve büyüme performanslarından ödün vermeden besin ihtiyacını dengeli olarak karşılayabilecek formülasyonların üzerinde çalışılması gerekmektedir.

Yüksek yem maliyetleri araştırmacılar ve üreticileri daha ucuz ve etkin yem kaynaklarının kullanılmasına yönelik araştırma ve incelemelere yöneltmiştir. Su ürünleri üretiminde yem tek başına en yüksek girdi maliyetini oluşturduğundan, çalışmalar ağırlıklı olarak pahalı olan denizel protein kaynaklarından (balık unu ve balık yağı) daha ucuz ve sürdürülebilir olan bitkisel ve bazı karasal hayvanlardan elde edilen protein kaynaklarına yönelmiştir. Karides yetiştiriciliğinde yem maliyeti toplam üretim maliyetinin %40-60'ını oluşturmakta olup, bu alanda besinsel kaliteden önemli ödümler vermeden, daha ekonomik hammaddeler ile düşük maliyetli yemler üretilebilmesi ticari ölçekte büyük bir anlam ifade etmektedir. Ülkemizde karidesler henüz yetiştiriciliğe aday yeni/alternatif türler kapsamında olduğu için, bu canlıların yetiştiriciliğinde kullanılmak üzere ulusal bazda ticari yem tedariği sözkonusu değildir. Alternatif türler için ülkemizde yürütülmeye çalışılan Ar-Ge çalışmaları esnasında bile zaman zaman istenen özellikte deneme yemleri temin etmek zor olmaktadır.

Pasifik beyaz karidesinin yurtdışında üretilen yemleri (büyütme için) %35-38 aralığında protein ve %6-9 arasında lipit içermektedir. Son zamanlarda bu yemlerde balık unu (ki en pahalı hammaddedir) miktarının ciddi oranlarda azaltılması ve bazı bitkisel/ hayvansal protein kaynaklarıyla %100 ikame edilmesi birim yem fiyatlarının belirgin bir şekilde düşmesine neden olmuştur (Samocha vd., 2004; Olmos vd., 2011). Bu proje kapsamında geliştirmeyi tasarladığımız düşük maliyetli yem formülasyonunda pahalı olan balık unu (BU) yerine soya ve mısır glütene ilaveten diğer yerli bitkisel protein kaynaklarından olan fındık ve yerfıstığı küspeleri ve ayrıca karasal hayvansal protein kaynaklarından tavuk atıkları unu (TAU) kombinasyonlar halinde kullanılacaktır.

Ölçülü ve Kumlu (2010) yaptıkları bir çalışmada, ülkemiz için çok önemli ticari karides türlerinden birisi olan yeşil kaplan karidesinde (*Penaeus semisulcatus*) optimal protein gereksinimini araştırmışlar ve bunun için izokalorik beş farklı protein düzeyi (%25, %30, %35, %40 ve %45) içeren yemler üretmişlerdir. Deneme ortalama 1.52 g ağırlığında bireylerin üç tekerrürlü olarak tanklara stoklandıkları bir düzenekte 42 gün süreyle yürütülmüştür. Deneme sonunda ağırlıkça en iyi büyümenin %40 ve %45 protein içeren yemlerle beslenen karideslerde gerçekleştiği ve büyümenin %30'un altındaki protein seviyelerinde olumsuz etkilendiği belirlenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda 1-2 g'lık juveniller için optimum protein oranının, 28°C sıcaklık ve %40 tuzlulukta %38.3 olduğu saptanmıştır. Gopakumar (2002) ise yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) için yemde optimal protein oranını %35-40 olarak bildirmiş ve bu çalışmada yemlerin sindirilebilirlik oranlarını %83.6 ile %85.2 olarak bildirmiştir.

Bir çalışmada Pike vd. (1990) yüksek kalitede BU kullanımının salmonlarda büyümede ortalama %15, YÇO'da ise %10 düşmeye neden olduğunu bulmuşlardır. Farklı kaynaklardan temin edilen BU'larda protein sindirilebilirliğinin değişebildiği ve örneğin Atlantik salomonlarda bu oranının %86 ile %98 arasında varyasyon gösterdiği belirlenmiştir (Anderson vd., 1997). *P. chinensis* ile yürütülen bir araştırmada, Kangsen (1986) Peru orijinli BU'da sindirilebilirliği %88, diğer yandan Çin menşeli BU'nun ise %71 olduğunu bulmuşlardır. Smith vd. (1985) protein sindirilebilirliğinin yüksekliği ile *L. vannamei*'de büyüme arasında doğrusal bir ilişki olduğunu belirtmiştir.

Mengqing ve Aksnes (2001) Çin karidesinde (*P. chinensis*) ve Tantikitti vd. (2016) Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) yüksek kalitede BU kullanımının YÇO'da, ağırlık kazancında ve protein sindirilebilirliğinde avantajlar sunduğunu bildirmişlerdir. Sindirilebilirlik oranının yüksek olması demek, yetiştiricilik esnasında daha yüksek oranda AA mevcudiyetinde karidesin daha fazla miktarda kas üreterek daha hızlı büyümesi demektir. Bazı durumlarda, 1. kalite olmasına rağmen BU'nun sindirilebilirlik oranının düşük olması, karideslerin daha düşük performans göstermesine neden olabilmektedir. Bazı araştırmacılar, BU'nun tazeliğinin de karideslerde büyüme üzerine etkili olduğunu bildirmektedir (Ricque-Marie vd., 1998). Bu araştırmacılar, özellikle küçük boyutlu karideslerde (0.9 g, *L. vannamei*) taze BU ile üretilmiş yem ile beslenen grupta, daha uzun süre bekletilmiş veya bayatlamış BU kullanılan yemlerle beslenen gruplara kıyasla, yem tüketiminin daha yüksek çıktığını ve büyümenin de %25 oranında arttığını bildirmişlerdir. Bunun sebebinin yem tüketimi, sindirilebilirlik ve esansiyel AA/esansiyel olmayan AA oranlarının düşüklüğünden kaynaklandığı belirtilmiştir. Gerçekten de, uzun süreli kargolama sürecinde hammaddelerde lipit oksidasyonunu engellemek amacıyla yemlere eklenen antioksidanların karideslerde yem tüketimini etkileyebileceği bildirilmektedir. Bir çalışmada Laohabanchon vd. (2009), 1.5 ay depolanmış ve bu arada antioksidan kullanılmamış BU ile üretilen ve diğer yandan uzun süreli depolama esnasında ethoxyquin uygulanmış BU ile üretilen yemlerle beslenen siyah kaplan karideslerini kıyaslamışlar (*P. monodon*) ve ikinci grubun daha az yem tükettikleri, düşük büyüme gösterdikleri ve hepatopankreaslarında daha fazla oranda anormal hücreler gördüklerini bildirmişlerdir. Terrazas-Fierro vd. (2010), dört farklı ticari BU'da sindirilebilirlik oranlarını karşılaştırmış ve sardalya (% 66 ham protein) içeren BU'nun %84, diğerlerinin ise %71 (sardalya, %70 ham protein), %70 (ton balığı %60 ham protein) ve %63 (sardalya %70 ham protein) olduğunu belirlemişlerdir. Yüksek sindirilebilirlik oranına sahip olan BU'larda dengeli AA oranı karideslerde daha yüksek yem tüketimine neden olmuş ve ayrıca tripsin gen ekspresyonu sayesinde daha yüksek büyüme performansı elde edilmiştir (Tantikitti vd., 2016).

Tantikitti vd. (2016) yürüttükleri bir araştırmada, kullanılan hammadde ve işleme teknikleri ile balık unu (BU) kalitesinin etkilendiğini, bunun karides üretiminde büyük önem arz ettiğini bildirmişlerdir. Yemlerde BU ana protein kaynağıdır, ki bu kaynak yemdeki esansiyel AA dengesi, esansiyel yağ asitleri, fosfolipitler, cezbedicilik ve tad ile ayrıca sindirilebilirlik parametrelerini etkiler. Genel olarak BU'nun protein içeriklerinin %50 ile %65 ve yağ içeriklerinin %4 ile %20, kül içeriklerinin %11 ile >%23 arasında değişim gösterdiği bilinmektedir. Bir yemin formülasyonunda en yüksek kalitede BU kullanılması dahi karides üretiminde iyi bir büyüme ve ürün garantisi sağlayamaz. Bu doğrudan BU üretiminde kullanılan balık türü, avcılık metodu, kullanılan hammaddenin çeşidi (tüm vücut, yan atık ürünler veya hedef dışı türler), hammaddenin tazeliği ve işleme metotları ile de ilgili olup, tüm bunlar BU'nun AA kompozisyonunu, esansiyel AA/esansiyel olmayan AA oranını ve proteinlerin sindirilebilirliklerini etkileyebilecek faktörlerdir.

Cheng vd. (2002) *P. vannamei*'nin yemlerinde kullanılan balık ununun %66.7'sinin, Chi vd. (2009) %70'inin, Cruz-Suarez vd. (2007) ise %80'nin TU ile değiştirilebileceğini ve bunun karideslerde büyüme performansında önemli bir sorun yaratmadığını bildirmişlerdir. Hatta, bu karides türü için Markey vd.

(2010) TAU'nun da yerine rahatlıkla sadece bitkisel protein kaynaklarından mısır glütenu ve soyanın başarıyla kullanılabilceğini kanıtlamıştır. Suarez vd. (2009) %70 soya ve %30 kanola ile *L. vannamei* yemlerinde BU miktarını %30'dan %6'ya kadar düşürebildiklerini (kuru ağırlık üzerinden), bununla da yaklaşık BU kullanımının %80 oranında azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Pattnaik vd. (2006) bitkisel protein kaynakları ve denizel olmayan yağ kaynakları kullanarak karides yemlerinde BU'nun tamamen kaldırılabilceğini belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar soya ile birlikte ekstrüde edilmiş TU kullanarak Pasifik beyaz karidesinin esansiyel aminoasit ihtiyaçlarının karşılanabileceğini, alglerden elde edilen yağ ile de balık yağının tamamen ikame edilebileceğini kanıtlamışlardır. Muzinic vd. (2004) kırmızı kiskaçlı kerevitlerin bina için RAS sisteminde beslenmesinde BU'nun %80 oranında soya unu ve %5 bira mayası atıkları ile değiştirilebileceğini bildirmiştir. Daha da ötesinde, Thompson vd. (2005) kırmızı kiskaçlı kerevitlerin (*Cherax quadricarinatus*) beslenmesinde BU kullanılmadan sadece bitkisel protein kaynaklarının karışımından oluşan %35 protein içerikli bir yemle beslenebileceklerini bildirmiştir. Protein seviyesinin %30'a inmesi durumunda ise tanklarda üretimlerinde BU'ya ihtiyaç duyduklarını belirtmişlerdir.

BU uzun zamandır karides yemlerinde esansiyel bir hammadde olarak kullanılmıştır. Yakın bir zamana kadar, yemlerde %12 oranında BU ilavesi kritik olarak kabul edilir ve bu oranın altında yem alımının düşmesi nedeniyle, karideslerde büyümenin de azalacağı öngörülürdü. Bu öngörünün test edilmesi amacıyla, Suarez vd. (2009) uzun soluklu bir denemeyi dört tekerrürlü olarak planlamış ve yürütmüşlerdir. Denemede *L. vannamei* için içeriğinde %0, %6, %10 ve %15 BU içeren dört izonitrojenik ve izoenerjetik yem formülasyonu yapılmış ve bu yemlerin (referans yemi de kontrol yemi olarak kullanılmış) yaşama oranı, canlı ağırlık kazancı, YÇO ve PER üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Deneme sonunda yaşama oranı %84 ile %86.5 olarak belirlenmiştir. %0 BU içeren yemle beslenen karideslerde ortalama karides ağırlıkları ve SBO düşük çıkmıştır ($P < 0.05$). Referans yemi ile beslenen karideslerde YÇO en düşük çıkmıştır. Veriler canlı ağırlık kazancı açısından %6, %10 ve %15 BU eklenmiş yemler ile referans yemi arasında (0.98 g/hafta) herhangi bir farklılık göstermemiştir ($P < 0.05$). Uzun süreli büyüme bulguları temiz suda *L. vannamei*'nin beslenmesinde BU yerine soya ve kanola unlarının başarı ile kullanılabilcekleri potansiyelini göstermiştir.

Davis ve Sookying (2009) ucuz ve yüksek kalitede bitkisel (örneğin solventlerle ekstrakte edilen soya, mısır glüten unu, fermentasyon atıkları, ve bezelye unu vb.) veya bazı karasal hayvansal protein kaynaklarının (örneğin tavuk atıkları unu) karides yem formülasyonlarında başarı ile kullanılabildiğini bildirmişlerdir. Bu hammaddelerin ekonomik avantajları ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye değişim göstermektedir. Ancak, her neresi olursa olsun, yem formülasyonlarında BU'da bir azalma her şekilde yem maliyetlerinde düşmelere neden olacaktır. Ticari karides yemlerinde geleneksel olarak BU'nun seviyesi %25 ile %50 aralığında olduğundan formülasyondaki en pahalı hammadde kaynağını BU oluşturmaktadır (Dersjant-Li 2002). Bu hammadde, esansiyel besinlerden özellikle AA'lerin, esansiyel YA'lerinin enerji, kolesterol, vitamin, mineral, atraktan ve bilinmeyen bazı büyüme faktörlerinin ana kaynağıdır (Samocho vd., 2004). Akvakültür yemlerinde alternatif hayvansal protein kaynakları olarak et ve kemik unu, kan unu,

tavuk atıkları unu, tüy unu (hidrolize edilmiş veya enzim ile muamele edilmiş) ve bazı özel protein karışımları kullanılmaktadır. Bu yem kaynaklarının ortak özellikleri yüksek miktarlarda ve ucuza temin edilebilmeleridir, ancak bu hammaddeler çoğu zaman içerik ve kalite standartları açısından güvenilmezdir. Ayrıca, tek hammadde olarak değerlendirildiklerinde bazı besinler açısından dengesiz oldukları (EAA vb.) görülür ve mikrobiyal açıdan sıkıntılı olabileceklerinden her parti ürünün dikkatlice analiz edilmeleri gereklidir.

Karidesler vücutlarının ihtiya ı olan esansiyel aminoasitleri (EAA) kullandıktan sonra geri kalanları enerji amacıyla metabolize ederler. Karideslerde ihtiyaç duyulan AA'lar bir yaklaşıma göre toplam vücut ya da et içerisindeki AA miktarlarına bakılarak belirlenir (Conklin, 2017). Teorik olarak, bir yemden gelen amino asit (AA) seviyesi karidesin vücudundaki seviyeye ne kadar yakın olursa, yemdeki protein o kadar etkin bir şekilde karides tarafından kullanılabilir. Yüksek kalitede protein yapısına sahip ve AA kompozisyonları karidesin vücudundaki kompozisyona yakın besinlerle beslenen karideslerin yüksek bir büyüme oranıyla büyümeleri beklenir. Ancak bunun gerçekleşebilmesi için proteinin sindirilebilirliğinin de yüksek ve ayrıca enerji içeriğinin de uygun olması gereklidir. Çoğu zaman karides yemlerinde kullanılan yüksek kalitede protein kaynaklarının sindirilebilirlik oranlarının >%90 olması beklenir. Eğer yemdeki enerji çok yüksek ise o zaman yem tüketimi düşer ve büyüme yavaşlar, eğer enerji düşükse, bu seferde de, bazı proteinler enerji amaçlı kullanıldığı için bu durumda doku sentezlemesinde sıkıntılar yaşanabilir (Conklin, 2017).

Karidesler lipitlerden ziyade lipidlerin içeriğini oluşturan yağ asitleri, kolesterol ve fosfolipitlere ihtiyaç duyarlar. Bu canlılar, 20 ile 22 karbon zincirine sahip olanları da dahil olmak üzere, doymuş yağ asitlerini basit prekürsörlerden sentezleyebilmektedirler (Conklin, 2017). Karidesler enzimatik olarak bu doymuş yağ asitlerini tekli doymamış yağ asitlerine  evirebilirken, çoklu doymamış yağ asitlerine çevirebilme yeteneğine sahip değillerdir. Oysa,  oklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) hücre membranlarının yapılarında ve bazı hormonların perk rs rleri olarak çok önemli işlevlere sahiptirler. Bitkilerde yaygın olarak bulunan ancak hayvanlar tarafından sentezlenemeyen (esansiyel) iki temel PUFA olarak linoleik (18:2n-6) ve linolenik (18:3n-3) asitler sayılabilir. Karbon zincirinin elongasyonu (yeni karbon atomlarının eklenmesi) ve desaturasyonu (yeni çift bağ oluşturulması) ile pekçok hayvan türü bu esansiyel yağ asitlerinden (EFA) yeni PUFA'lar sentezleyebilirler. Ancak, deniz karideslerinin PUFA'lardan HUFA'lar sentezleme yetenekleri çok sınırlıdır (Kanazawa vd., 1979a). Kanazawa vd. (1979b) Japon kuruma karideslerinin bu yağ asitlerini kendi bünyelerinde sentezleyemediklerini ve büyüme ve sağlıkları için yemleriye dışardan almak zorunda olduklarını kanıtlamışlardır. Bugüne kadar yürütülen bilimsel çalışmalar neticesinde n-3 yağ asitlerinin deniz karidesleri için önem sırası 18:2n-6<18:3n-3<20:5n-3<22:6n-3 olarak bildirilmiştir. EPA ile DHA arasında düşük oranda biyo evrim olduğu bilinmekle birlikte, karideslerde bu yağ asitlerine olan ihtiya ın aynı zamanda linolenik asit ile de ilgili olduğu bilinmektedir (Teshima vd., 1992).

Karideslerde yemlerde n-6 ve n-3 yağ asitleri arasında bir dengeye de ihtiyaç olduğu (Xu vd., 1993), optimal EPA ve DHA gereksiniminin Japon kuruma ve Çin karideslerinde yemin %1 civarında olduğu (Kanazawa vd., 1979b) bildirilmiştir. Karides yem formülasyonlarında kullanılan bitkisel yağ kay-

naklarında n-3 HUFA'lar yeteri kadar mevcut olmaları için, bu yağların balık yağı ile birlikte kullanılmaları önerilmektedir. Karides türleri içinde Pasifik beyaz karidesinin HUFA ihtiyaçlarını karşılayabilme açısından en esnek özelliğe sahip oldukları ve bu türün bu amaçla hem n-3 hem de n-6 grubu yağ asitlerini değerlendirebildikleri bildirilmiştir (Conklin, 2017).

BU yerine TU veya bitkisel protein kaynaklarından soya unu, mısır glütenu, yer fıstığı unu ve fındık unu ile ilgili ve ayrıca bunların akvakültür yem sektöründe kullanımlarına yönelik kaynaklar ve özetleri daha detaylı olarak aşağıda verilmiştir;

2.5.1. Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları

Balık ve krustaselerin beslenmelerinde dengeli besin içeriği, yüksek protein ve dengeli aminoasit (AA) içeriği, sindirilebilirliği, mükemmel esansiyel yağ asitleri içeriği, enerji düzeyi, lezzet ve aroma içeriği sayesinde BU en çok tercih edilen hayvansal protein kaynağıdır. Protein seviyesinin yemlerde %30'a indirilmesi durumunda tanklarda üretiminde daha fazla BU'ya ihtiyaç duydukları bilinmektedir. Colvin ve Brand (1977) *Farfantepenaeus californiensis* için 1:1 oranında BU ve karides ununu %42 soya unu ile ve %0.8 DL-lisin ilavesi ile %50'ya kadar azaltılabileceğini göstermiştir.

Lim ve Dominy (1990) ise *L. vannamei* için soya unu kullanarak BU'nun 100% oranında değiştirilebileceğini kanıtlamıştır. Araştırmacılar, %28'in üzerinde değişim gerçekleştiğinde büyüme oranının düşmeye başladığını ancak bunun pelet stabilitesiyle ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Conklin (2017) protein değerlendirme açısından bakıldığında %56 BU ikamesinin Pasifik beyaz karidesi için başarılı olabileceğini bildirmişlerdir.

Karidesler büyütme esnasında kısa (saat veya gün) veya uzun süreli (bir veya birkaç hafta) çevresel, biyolojik veya elle muameleden kaynaklı olarak strese maruz kalabilirler. Stres karideslerin hastalıklara karşı hassasiyetlerini artırır ve bağışıklık savunma kapasitelerini düşürür (Le Moullac ve Haffner 2000). Bazı immünolojik değişkenlerden toplam hematosit sayımı (THS) ve plazma protein seviyesi immün durumun belirlenmesinde kullanılmıştır (Rodríguez ve Le Moullac 2000). Bazı fizyolojik değişkenler; glukoz (Racotta ve Palacios 1998), laktat (Racotta ve Palacios 1998), ve osmoregülasyon kapasitesi (Charman-tier ve Soyey 1994) stres indikatörleri olarak kullanılmıştır. Diğer bazı fizyolojik parametreler içerisinde; toplam protein, toplam lipid, trigliseridler, ve kolesterol de karideslerde besinsel durum ve sağlık durumunun analiz edilmesinde kullanılmıştır (Sánchez vd., 2001).

Bir çalışmada Mercier vd. (2006) Pasifik beyaz karideslerini (*L. vannamei*) 4 hafta süreyle tekrar tekrar stres koşullarına maruz bırakmış ve bu koşullarda denemenin sonunda plazma protein, toplam lipid ve trigliseritlerde düşmeler belirlemişlerdir. Ancak, THS ve superoksit anyon seviyelerinde stres koşullarında herhangi bir değişiklik belirlememişlerdir.

Alternatif bitkisel protein kaynakları büyük miktarlarda üretilebilirler, üretimleri daha süreklilik arz eder, çoğu zaman daha ekonomiktirler ve aşırı miktarlarda kullanımları herhangi bir tehdit oluşturmazlar. Bitkisel protein kaynaklarından soya unu en bol bulunabilen ve en yaygın kullanılan alternatif protein

kaynaklarındandır (Hertrampf ve Piedad-Pascual 2000; Amaya vd., 2007a,b). Soya ununun rahatlıkla herhangi bir olumsuzluk yaratmadan %58 oranında *L. vannamei*'nin büyüme yemlerinde kullanılabilirdiği gösterilmiştir (Markey vd., 2010). Diğer bitkisel protein kaynaklarından pamuk tohumu unu, yarfıstığı unu, kanola unu, fermentasyon atık ürünleri ve diğer bazı bakliyatların da değerlendirilebildikleri bilinmektedir (Li vd., 2000). Bu bitkisel kaynakların rasyonlarda kullanılma limitleri EAA dengesizlikleri, anti-besinsel faktörler veya toksinler ya da düşük palatabilite (lezzet) nedeniyle sınırlı olabilmektedir. Bu sınırlamalar uygun karışımlar kullanılarak besin dengesizlikleri (dışardan ek yem katkı maddeleri eklemek suretiyle EAA veya EYA) giderilebilmekte, bazı işleme teknikleriyle (örnek; ısı uygulamalarıyla), anti-besinsel faktörler inaktive edilemekte, oranları azaltılmakta veya tamamıyla giderilebilmekte, bazen de rasyonlara sınırlı miktarlarda ilave edilmektedirler (Li vd. 2000).

Balık unu yerine bitkisel protein kaynaklarının kullanıldıkları durumlarda bazı esansiyel amino asitlerin yem formülasyonlarına eklenmeleri gerektiği ve bunlardan özellikle arginin, metiyonin ve lisinin önemli oldukları bilinmektedir. Chen vd. (1992) mikroenkapsüle edilmiş arginin kullanarak *Penaeus monodon* için gerekli arginin miktarının %5.5 (protein seviyesinin) olduğunu belirlemişlerdir. Fox vd. (1995), *L. vannamei* için %45 oranında protein içeren yem kullanıldığında, lisin ihtiyacının %4.7 olduğunu bildirmiştir. Millamena vd. (1996) siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) metiyonin ihtiyacının %2.4, metiyonin+sistin gereksiniminin %3.5, treoninin %3.5, valinin %3.4 olduğunu bildirmişlerdir. Millamena vd. (1999) gerekli histidin seviyesini, %2.0, izölösün seviyesini %2.5, lösün seviyesini %4.3, ve fenilalanin +triptofan seviyesini ise %4.0 olarak önemmiştir.

Soya proteini konsantresi kullandıklarında Paripatananont vd. (2001), *P. monodon* için BU'nun karides büyümesini olumsuz etkilemeden %50 oranında değiştirilebileceğini göstermişlerdir. Forster vd. (2002) ise *L. vannamei* için BU'nun %75 oranında soya protein konsantresi ile değiştirilebileceğini bulmuşlardır. Tanklarda ve bina içerisinde (indoor) yapılan çalışmalarda BU'ya yapılan ikame çalışmalarında arginin, metiyonin ve fenilalanin AA'larının kullanılmasına gerek duyulmuştur. Sadece lisin kullanılarak soya protein konsantresi ile BU'nun %50'ye kadar başarıyla değiştirilebileceği belirlenmiştir. Doğal verimliliğin etkili olduğu açık havuzlarda soya protein konsantresi kullanıldığı durumlarda %100 BU ikamesinde bile ilave AA'ların yemlere eklenmesine gerek duyulmamış, bu ihtiyaç doğal besinlerden sağlanabilmiştir.

Soya ununun fazla kullanıldığı yemlerde peletlerin su stabiliteğinde sorunlar yaşanmakta ve bunu önlemek için bağlayıcı maddeler kullanılmaktadır. Genel olarak deniz karideslerinin yemlerinde %5-8 oranında lipit kullanılması önerilir (D'Abramo, 1997). Daha yüksek lipit oranlarında enerji fazlalığı nedeniyle tüketim azalır ve ayrıca hepatopankrasta yağ birikimi gerçekleşebilir (Gonzalez-Felix vd., 2002).

Alvarez vd. (2007), beyaz karides *L. schmitti* juvenillerinin yemlerinde BU yerine kısmi olarak soya ununun kullanılması ile ilgili yürütülen bir denemede, yeme BU'ya ikame olarak %76.5 oranında soya unu eklendiğinde maksimum büyüme sağlanabileceği belirtilmiştir.

Bulbul vd. (2016) Japon kuruma karidesinde (*M. japonicus*) kanola ve soya ununun protein kaynağı olarak değerlendirilebilmesi üzerine bir çalışma için dört izokalorik (19 kJ/g) yem üretmişler ve bu yemlerde 4:6 oranında kanola ve soya unu karışımını %0 (BU40), %70 (BU12), %85 (BU6) ve 100% (BU0) oranında kullanmışlardır. Tüm bitkisel protein kaynakları kullanılan rasyonlarda (BU12, BU6 ve BU0) %1 lizin, %0.5 metiyonin ve %0.04 fitaz kullanılmıştır. Ortalama ağırlıkları 1.74 g olan 15 adet karides her tanka (toplamda 12 tank, üç tekerrür) stoklanarak, deneme 60 gün sürdürülmüştür. Deneme sonu karides ağırlıkları ve spesifik büyüme oranları (SBO) arasında farklılık görülmemiş, ancak YÇO BU0 grubunda yüksek çıkmıştır ($P<0.05$). Bu çalışma ile araştırmacılar Japon karidesi için yemde BU'nun kanola + soya karışımı ve bazı yem katkı maddeleriyle birlikte kullanıldıklarında %6'ya kadar azaltılabileceğini ve bu yem formülasyonunun karideste büyüme, yemden yararlanma, vücut kompozisyonları ve sağlıklarında herhangi bir olumsuzluk yaratmayacağını göstermişlerdir.

Sun vd. (2016) fermente edilmiş pamuk tohumu ununun (PTU) BU yerine ikame edilebilme potansiyelinin araştırıldığı 28 günlük bir çalışmalarında, dört izonitrojenik ve izoenerjetik yem üretmiş ve bu yemlerde BU seviyesini %25, %50, %75 ve %100 oranında ikame ederek, bu yemlerle beslenen karideslerde (*L. vannamei*) büyüme, vücut kompozisyonu ve hemolenf indikatörlerine bakmışlardır. Araştırmacılar, çalışma neticesinde elde ettikleri bulgulardan, karideslerde büyüme ve yemden yararlanma açısından herhangi bir olumsuzluk olmadan BU'nun PTU ile %50 oranında ikame edilebileceği sonucuna varmışlardır.

Cruz-Suarez vd. (2007), BU (%65 ham protein) yerine %35, 50, 65 ve %80 oranında tavuk atıkları unu (TU, %66 ham protein) kullanarak, bu yemleri Pasifik beyaz karidesinde büyüme ve yem tüketim performansları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Denemede iki ticari yem (%30 ve %35 protein içeren) kontrol grupları olarak kullanılmıştır. Denemede 0.45 g ağırlığında karidesler ile deneme 4 hafta sürdürülmüştür. Çalışmada büyüme, yem tüketimi, YÇO, toplam biyomas, yaşama oranı, protein, kuru madde ve enerji sindirilebilirlik etkinlikleri de araştırılmıştır. Bulgular test edilen hiçbir özellik açısından grupların istatistiksel farklar göstermediğini ve TU'nun *L. vannamei*'nin yemlerinde BU yerine %80 oranında ikame edilebileceğini göstermiştir. Tan vd. (2003) ve Zhu ve Yu (2002) *L. vannamei* için %41 protein ve %7.5 lipit içeren yemlerde %40 ve %22 oranında hamsi unu kullanılmış ve bu karidesin yemlerinde BU'nun %80 oranında tavuk unu ile değiştirilebileceğini bildirmişlerdir. Cheng vd. (2002) iki farklı TU'nun *L. vannamei* için BU yerine kullanılma oranlarını araştırmışlar ve %35 protein ve %24.5 BU içerikli yemlerde BU'nun %33.3 ve %66.7 oranlarında değiştirilmesi halinde, karideslerin daha hızlı büyüdüklerini (%100 BU içerikli yeme göre) ve sonuçta BU'nun %66.7 oranında TU ile değişiminin karideslerin büyümelerini olumsuz etkilemediği için önerilebileceğini bildirmişlerdir. Cruz-Suarez vd. (2007), TU'nun %90 ve üzerinde sindirilebilirlik oranına sahip olması, BU'nun EAA profiline benzer olması, yüksek miktarlarda fosfolipit ve kolesterol içermesi ve ayrıca düşük miktarda ham kül içermesi nedeniyle *L. vannamei* için mükemmel bir alternatif protein kaynağı olduğunu, temininin BU'ya göre daha sürdürülebilir ve ekonomik bir hayvansal protein kaynağı olduğunu bildirmiştir. Davis ve Arnold (2000) ve Samochoa vd. (2004) soya/tavuk atıkları

unu ve yumurta katkılı hammaddeler ile BU'nun %30 oranında değiştirilebileceğini (32% protein ve 8% lipid içeren bir yem formülasyonunda) belirtmişlerdir. Menasveta ve Yu (2002) siyah Kaplan karidesinin (*P. monodon*) beslenmesinde BU'nun 60% oranında TU ile değiştirilmesi durumunda, karideslerin daha hızlı büyüdüklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada kontrol yeminde %40 oranında BU olduğu ve bu oranın TU ile %20, %40 ve %60 oranlarında değiştirildiği belirtilmiştir. Phuong ve Yu (2003) ve Yang vd. (2004) TU kullanımının tatlısı karidesinde (*Macrobrachium nipponense*) immün parametreleri etkilemediğini belirtmişlerdir.

Genel olarak yapılan çalışmalar TU'nun BU yerine kullanıldığı durumlarda karideslerin performanslarında herhangi bir kayıp görülmeden yem maliyetlerinde ciddi tasarruflar yapılabileceğini göstermiştir. Cruz-Suarez vd. (2007) de yaptıkları araştırmada *L. vannamei*'nin beslenmesinde performansta düşme yaşanmadan %100 oranında BU'nun TU ile değiştirilebileceğini, Davis ve Arnold (2000) ve Samocha vd. (2004) ise beslemede %80 ile %100 değişimde bile lezzet açısından bir sorunla karşılaşmadığını, kontrol yemleriyle aynı yaşama oranı ve büyüme performansı elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Tan vd. (2003), Zhu ve Yu (2002) ile Cheng vd. (2002) tarafından da benzer çalışmalarda BU'da %66-80 değişim oranının karidesler için başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Bir başka çalışmada uzun süreli stresör koşullarında immün parametrelerin adaptasyon geçirip geçirmediklerine yönelik bir araştırma için, hem uzun hem kısa süreli stres uygulamaları gerçekleştirilmiş ve ayrıca HUFA içerikli yemlerin bu koşullarda etkilerine de bakılmıştır (Mercier vd., 2009). Bu amaçla, özet olarak *L. vannamei* juvenilleri düşük ve yüksek HUFA içerikli yemlerle 38 gün boyunca beslenmiş ve elleme stresine maruz bırakılmışlardır. Bu çalışmanın ilk denemesinde, deneme boyunca stres hergün uygulanmış ve her defasında fizyolojik ve immünolojik değişkenler ölçülmüş, ikinci denemede ise, stres sadece bir kez uygulanarak 1 ve 24 saat sonra bu parametrelere bakılmıştır. Deneme süresince stres altında tutulan karideslerde, kontrol grubuna göre (strese maruz bırakılmayan) daha düşük yaşama oranı, büyüme ve yem tüketimi belirlenmiştir. Uzun süreli stres plazma glukoz miktarını yükseltmiş, yüksek HUFA içeren yemle beslenenlerde laktat seviyesi daha düşük çıkmıştır. 1 saat süreyle stres altında tutulan karideslerde laktat ve glukoz seviyeleri yükselmiş, ancak bu seviyeler 24 saat stres altında tutulan bireylerde normal düzeylere inmiştir. Kısa süreli stress uygulamasının ardından (1 saat) kontrol grubunda THS'de önemli bir artış gerçekleşmiştir. Laktat ve glukoz seviyelerinde de stresten 1 saat sonra yükselmeler görülmüş ancak 24 saat içerisinde seviyeler normale düşmüştür. Deneme süresince sürekli olarak uygulanan stres biyolojik performans parametrelerini etkilemiş, ancak tek stres uygulama olayı sadece fizyolojik ve immün yanıtlar üzerinde etkili olmuştur. HUFA'ca zengin yem ile beslemenin karideslerde strese tolerans açısından yarar sağladığı ve immünolojik yanıtlarda olumlu tepkilere neden olduğu anlaşılmıştır. Uzun süreli stres koşullarında trigliseridler, kolesterol, total lipit ve ozmotik basınç parametrelerinde önemli değişiklikler gerçekleşmemiştir.

Cheng vd. (2002) yaptıkları bir çalışmada %35.5 ham protein içeren bir karides (*L. vannamei*) yeminde %24.5 oranında bulunan BU'yu iki farklı TU ile %33.3, %66.7 ve 100% oranlarında değiştirmiş-

tir. TU'ların yağları alınmış ve rasyona ilaveten balık yağı eklenmiştir. Toplamda 13 farklı yem (biri kontrol yemi olmak üzere) 0.17 g ağırlıkta karideslere 8 hafta süreyle verilmiş; büyüme ve yem tüketim performansları incelenmiştir. Deneme sonu ortalama karides ağırlıkları 1.09 ile 2.21 g, yaşama oranları ise %62.5 ile 84.7 arasında değişim göstermiştir. Deneme sonu ağırlık ortalamaları arasında farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$). Ancak, %33.3 ile %66.7 TU ikame edilen gruplarda büyüme %100 TU ikame edilmiş gruplardakinden daha yüksek çıkmıştır. Bulgular, bu karides türünde büyümenin olumsuz olarak etkilenmeden BU'nun %66.7 oranında TU ile değiştirilebileceğini, yağı alınmış TU kullanımında balık yağı ilavesinin karideslerin vücut kompozisyonlarını etkilemediğini göstermiştir. BU ile formüle edilen kontrol yemi ve ayrıca soya içeren yemlerde kuru madde açısından sindirilebilirlik oranlarının %72.20 (kontrol yemi) ile %76.20 arasında değiştiği bildirilmiştir (Zhou, 2014). Koshio vd. (1993) protein kaynaklarının Japon kuruma karidesinde (*P. japonicus*) büyüme, sindirim etkinliği ve amonyak atılımı üzerine etkilerini araştırmışlar ve bu yemlerde kuru madde sindirilebilirliğini %73 ile %96 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Markey vd. (2010) yaptıkları bir araştırmada, TUA ile birlikte soya unu, mısır glüten unu ve düşük oranda kalamar unu kombinasyonlarıyla yemler üretmiş ve bunları havuz ve tanklarda *L. vannemi* üzerinde test etmişlerdir. Havuzda yürütülen çalışmada, juvenil karidesler 34 adet/m² stoklama yoğunluğunda 0.1 hektar boyutlarında havuzlara, tanklarda yürütülen denemede ise karidesler 30 adet/m² yoğunlukta stoklanmışlardır. Deneme sonunda havuzlarda elde edilen ürün miktarı 6093 ile 6943 kg/ha, ortalama ağırlıklar 22-24 g, yaşama oranları %78.9-82.2 ve YÇÖ 0.94–1.09 olarak belirlenmiştir. Tanklarda sürdürülen 79 günlük yetiştiricilikte ortalama ağırlıklar 19.9-20.5 g, yaşama oranları %94.2-96.7, ve YÇÖ 1.10–1.18 olarak hesaplanmıştır. Gruplar arasında hiçbir ölçülen değişkenler arasında ne havuz, ne de tanklarda yürütülen denemelerde herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Soya ile kıyaslandığında YFU daha düşük oranda lizin, ancak daha yüksek oranda arginin içerir ve ayrıca protein kalitesi de daha düşüktür (Batal vd., 2005). Ancak, yüksek protein içeriği nedeniyle (%40.1-50.9), YFU temin edilebildiği bölgelerde akvakültür yemlerine hammadde olarak eklenmektedir. Yer fıstığının global üretimi hızla artış göstermiş ve son yıllarda 35 milyon tonların üzerine yükselmiştir. 2016'da Çin tek başına 16.69 milyon ton üreterek toplam üretimin %37'sini elde etmiştir. Sadece Çin'de 2002 yılında 3.5 million ton YFU küspesi elde edilmiştir (Revoredo ve Fletcher 2002). YFU'nun yem hammaddesi olarak kullanımı tavuk rasyonlarında (Costa vd., 2001) ve diğer karasal hayvanlarda çalışılmıştır (Adeola, 2009). Benzer çalışmalar Pasifik beyaz karidesinde de yapılmıştır (Lim 1997; Liu vd., 2008). Ancak bu hammaddenin yem formülasyonlarına eklenme miktarı ile ilişkili olarak karideste meydana gelecek fizyolojik değişiklikler daha henüz detaylı olarak çalışılmamıştır.

Liu vd. (2012) Pasifik beyaz karidesin beslenmesinde izolipidik ve isonitrojenik olmak üzere farklı oranlarda yerfıstığını unu (YFU) (%0, 7, 14, 21, 28 ve %35) içeren altı yem formüle etmiş ve bu yemlerle altı hafta süren bir besleme çalışması yürütmüşlerdir. Bu yemlerde YFU oranı artırılırken tam tersine BU oranları da %35, 30, 25, 20, 15 ve %10 olarak azaltılmıştır. Kontrol yemi olarak ticari bir yem tercih edilmiştir. Çalışmada, kontrol yemi ile kıyaslandığında, içeriğinde %28 ve üzerinde YFU içeren yemler kari-

deslerde daha düşük oranda canlı ağırlık artışına neden olmuştur. Diğer yandan, %14 YFU içeren yemle beslenen grupta, kontrol yeme kıyasla, yemden daha düşük oranda faydalanmış ve protein etkinlik oranı da bu grupta daha düşük çıkmıştır. %35 YFU ile beslenenlerde yaşama oranı, %21 ve üzerinde PM ile beslenenlerde ise yem tüketimi ve proteaz aktivitesi kontrol yemi ile beslenenlere göre düşmüştür. Yemde %28 ve üzerinde YFU tüm vücut nem oranını arttırmış, ancak ham protein ve ham kül oranını düşürmüştür. YFU içeren yemlerde besin sindirilebilirliği kontrol yemine göre düşmüştür. Plazma peroksidaz (POD), asit fosfataz (AP) ve alkalın fosfataz (ALP) seviyeleri yemde %21 ve üzerinde YFU eklenen yem gruplarında düşmüş, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ise %28 ve üzerinde YFU katkısı yapılan gruplarda düşme göstermiştir. Tüm veriler dikkate alındığında, Pasifik beyaz karidesinin rasyonlarında %14'e kadar YFU eklenebileceği belirlenmiştir. Bu çalışmada, lizozim haricinde, özellikle %21 YFU ilave edilen yem ile beslenen karideslerde, SOD, POD, AP ve ALP artan YFU seviyesiyle birlikte azalma göstermiştir. Karidesler, özellikle de yüksek oranda YFU eklenmiş yemlerle beslendiklerinde, fizyolojik olarak stres altında ve zayıf besinsel yapıda görünmüşlerdir. Neticede, bu yemlerle beslenen karideslerde de azalan büyüme oranları gözlenmiştir. Genel araştırma sonuçları %0 ile %35 arasında YFU eklenmiş yemlerle beslenen karideslerde sindirilebilirlik oranının YFU oranının artışı ile azaldığını ve bu rakamın %68.1'den %64.2'ye kadar düştüğünü göstermiştir (P<0.001). Plazma SOD, POD, AP ve ALP aktiviteleri canlı ağırlık artışı ve PER ile birlikte düşüş göstermiştir. SOD dışında, diğer plazma parametreleri %21 ile %35 arasında YFU ilavesinde kontrol yeme göre düşmüş, lizozim aktivitesinde ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Davis ve Arnold (2000) Ekstrüde edilmiş soya/TU atıklarından oluşan bir un (ESTU, %72.2 protein içeren) ile kurutulmuş TU'dan (KTU, %53.1 proteinli) oluşan iki farklı karasal hayvansal protein kaynağı ile %32 ham protein ve %8 lipid içeren yemler üretmiş ve bunların BU'yu ikame edebilme potansiyelini Pasifik beyaz karidesinde test etmişlerdir. Her yem izonitrojenik ve izolipidik olarak formüle edilerek, ortalama 0.37 g ağırlıkta karidesler üzerinde 6 hafta süreyle denenmişlerdir. Bu protein kaynaklarının BU'yu ikame etme oranı %0 ile %80 arasında değişmiştir. ESTU ile kontrol grubuna benzer deneme sonu ortalama ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem çevrim etkinliği ve hatta daha yüksek protein çevrim etkinliği (PÇE) elde edilmiştir. Benzer şekilde, KTU ile %40, %60 ve %80 BU ikame oranında canlı ağırlık artışı ve YÇE'de de yükselme belirlenmiştir. Genel olarak, bu çalışmada ESTU veya KTU kullanımı ile yaşama oranı, YÇE, ve protein çevrim etkinliği (PÇE) değerleri ya daha da yükselmiş veya kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Bundan dolayı, bu ürünlerin kullanımı ile *L. vannamei*'nin yemlerinde normalde rasyonlara eklenen %30 BU'nun %6'ya kadar düşürülebileceği (%80 ikame oranı ile) belirlenmiştir.

Ekonomik ve ekolojik kaygılar nedeniyle denizel protein kaynaklarının daha ucuz bitkisel kaynaklarla değiştirilmesi stratejileri giderek artan oranda ilgi görmekte ve soya unu bu kapsamda en çok araştırılan hammaddelerin başında gelmektedir. Amaya vd. (2007) balık unu yerine bitkisel kaynakların kullanım potansiyellerini havuzlarda yetiştirilen karideslerde (*L. vannamei*) test etmek amacıyla, ortalama 0.03 g ağırlığında karidesleri 16 adet 0.1 ha havuzarlara stoklamış ve 18 hafta süreli bir deneme yürütmüşlerdir. Deneme için dört ticari ekstrüde yem %35 protein ve %8 lipid oranlarında olacak şekilde formüle edilmiş

ve bu yemlerde BU %9, 6, 3 ve %0 oranında azaltılmış ve bunun tam tersine soya unu ise %32.5, %34.9, %37.2 ve %39.6 oranında ve mısır glüten unu ise %0.0, %1.7, %3.2 ve %4.8 oranlarında yemlere ilave edilmişlerdir. Deneme sonunda, tüm deneme yemleriyle büyütülen karideslerde elde edilen ürün miktarı açısından herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Deneme sonu ortalama ürün miktarı, ortalama ağırlık, YÇO ve yaşama oranları sırasıyla 5363–6548 kg/ha, 18.4–20.7 g, 1.38–1.12 ve %84.0–%94.0 olarak kaydedilmiştir. Yemde bitkisel protein kaynaklarının artışı ile birlikte yemlerin maliyetlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, genel olarak, *L. vannamei*'nin beslenmesinde kullanılacak olan yemlerde BU'nun alternatif bitkisel protein kaynaklarıyla (soya unu ve mısır glüten unu) %100 oranında değiştirilebileceği ve bu şekilde formüle edilen yemler ile herhangi bir performans kaybı yaşanmadan daha ekonomik üretim yapılabileceği anlaşılmıştır.

Tacon vd. (2010), iyi kalitede TU'nun yemlere %20 ve %25 (yem 3 ve 4) oranlarında eklenmesi ve ilave olarak metiyonin takviyesi altında soya unununun, bu yemlerde oranının %16'dan (kontrol yeminde) %20 ile %25'e çıkartılması, formülasyonda %8 BU ve %2 kalamar unu mevcudiyetinde bile yem maliyetlerinde %5.7 ile 7.9 civarında bir ekonomiklik sağladığını göstermişlerdir.

Yue vd. (2012) 8 haftalık bir besleme çalışmasında, Pasifik beyaz karidesinin yemlerinde soya ve yarfıstığı unu ile BU'nun değiştirilmesi amaçlanmış ve bunun için beş farklı yem formüle edilerek kontrol yeminde bulunan %30 BU (BU30) seviyesi %20 (BU20), %15 (BU15), %10 (BU10) ve %5 (BU5) seviyelerine çekilmiştir. BU seviyesi azaltılan yemlere, BU30 yeminin içeriğinde bulunan amino asitlerden lizin ve metiyonin de eklenmiştir. Deneme için ortalama ağırlıkları 0.48 g olan karidesler her tanka 30 adet olarak (üç tekerrürlü) stoklanmıştır. Deneme sonunda elde edilen bulgular BU15, BU10 ve BU5 gruplarının zayıf bir büyüme ve yem tüketim performansı gösterdiklerini kanıtlamıştır. Gruplar arasında yem tüketimi, yaşama oranı ve vücut kompozisyonları açısından herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Plazma toplam kolesterol, kuru madde, protein ve enerji sindirilebilirlikleri soya ve YFY artışı ile düşme göstermiştir. Bu çalışma *L. vannamei*'nin beslenmesinde soya ve YFU karışımının kullanılması durumunda BU'nun %20-30 civarında azaltılabileceğini (değiştirilebileceğini) ortaya koymuştur. Hazırlanan yemlerde kuru madde sindirilebilirliği %57.5 ile %67.2 arasında, protein sindirilebilirliği %78.8 ile %88.1 arasında ve enerji sindirilebilirliği ise %76.1 ile %86.1 arasında değişmiştir. Yemlerin sindirilebilirlik oranları genel olarak soya ve yarfıstığı ilavesinin artışı ile önemli ölçüde düşme göstermiştir.

Fındık küspesinin karidesler için besleme değeri ile ilgili Literatürde herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak, balıklar üzerinde yapılan araştırmalar fındık küspesinin değerli bir protein kaynağı olduğuna işaret etmektedir. Ömeğin, Emre vd. (2008a,b) levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) yemlerinde fındık küspesinin BU yerine sırasıyla %30 ve 40 düzeylerinde kullanılabileceğini rapor etmiştir. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerinde BU'nun fındık küspesi ile ikame edildiği çalışmalarda, fındık küspesinin lizin ve metiyonin takviyeleri ile %50 düzeyine kadar büyüme ve yemden yararlanmada herhangi bir olumsuzluk gözlenmeksizin kullanılabileceği kaydedilmiştir (Sevgili vd., 2009; Doğan ve Bircan, 2015). Ancak kalkan ve sazan yemlerinde bu düzeylerin çok daha altında kullanılması

gerektiği yönünde bildirişler mevcut olup, daha yüksek düzeyler için amino asit ve fosfor takviyeleri gerektiğinin altı çizilmiştir (Ergün vd., 2008; Sevgili vd., 2011).

2.5.2. Hidrostatilite Testleri

Argüello-Guavera vd. (2013) altı farklı bağlayıcı maddenin [(agar, sodyum alginat, cassava nişastası, jelatin, buğday glütenu ve kelp (yosun) unu)] iki farklı oranlarda (%3 ve %5) *L. vannamei* anaç pellet yemlerinin fiziksel özellikleri üzerine olan etkileri suda 15, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 dakika süreyle incelenmiştir. Testler sonucunda su stabilitesi (hidrostatilite), su emilimi ve protein kayıpları açısından en iyi sonuçların %5 sodyum alginat ile buğday glütenu kullanımında elde edildiği ortaya çıkartılmıştır. Diğer bir denemede, bu iki bağlayıcı madde yem tüketimi ve sindirilebilirlik açısından karşılaştırılmış ve her iki bağlayıcının da karışımının (1 : 1) buğday glütenu ile kıyaslandığı durumlarda (%5 oranında), yem tüketim oranı (%2.39–3.33/biyomas), protein sindirilebilirliği ve kuru madde sindirilebilirliği açısından herhangi bir fark belirlenmemiştir. Buna göre, araştırmacılar *L. vannamei* anaç pellet yemleri için %5 buğday glütenu uygun bir bağlayıcı madde olarak önermişlerdir.

Volpe vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada, doğal polisakkaritlerden pektin, alginat ve kitosanı kerevitlerin (*Cherax albidus*) yemlerinde hidrostatiliteyi arttırmak amacıyla bağlayıcı maddeler olarak test etmişlerdir. Alginat içeren yemin suda daha çabuk çözündüğü ve dolayısıyla daha az stabil olduğu anlaşılmıştır. Bulgular pektin ve kitosanın yüksek hidrostatilite sağladıklarını, ayrıca bu bağlayıcılarla üretilen yemlerle beslenen kerevitlerde canlı ağırlık artışının ve bağırsaklardaki amilaz aktivitesinin alginat içeren yemle beslenenlerden daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Ahamad Ali vd. (2010) polimetilolkarbomid (PMC), guar gum ve buğday glütenu yemlerde bağlayıcı madde olarak kullandıkları bir çalışmada, farklı sıcaklıkların (70, 80 ve 90°C) peletleme ve bunların hidrostatilite üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada PMC %0.5, guar gum %2 ve buğday glütenu ise %3 oranında yem formülasyonlarına eklenmişlerdir. Suda en hızlı su çekme özelliği buğday glütenu (%20.9-26) ile üretilen yemde görülmüş, bu grubu guar gum (%16.2-17.2) ve son olarak da PMC (%11.4-12.26) grubu izlemiştir. Buğday glütenu yem suda en yüksek türbiditeye neden olmuş, bunu guar gum ve PMC izlemiştir. Peletleme sıcaklıklarının yükselmesi peletlerin hidrostatilitelevlerini yükseltmiştir. Bu yükselme PMC'de %79.5'tan %82'ye, buğday glütenu yemde %80.5'ten %82.5'e ve guar gumlu yemde %77.9'dan %80.5'e doğru gerçekleşmiştir. Bu çalışma sonucunda PMC benzeri sentetik bağlayıcıların karides yemlerinde kullanımlarının daha uygun olacağı, zira bu bağlayıcıların yeme düşük seviyede eklenebildikleri (%0.5), buna rağmen peletlerin hidrostatilitelevlerini çok iyi seviyede sağlayabildikleri ve fiyatlarının da uygun olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada hidrostatilite ve türbidite ölçümleri pelet yemlerin suda 2 saat bekletilmesinden sonra gerçekleştirilmiştir.

Obaldo vd. (2002) yaptıkları bir araştırmada, karides beslemede kullanılacak olan yemleri üç farklı yöntemle hidrostatilite testlerine maruz bırakmış (statik, yatay çalkalayıcı ve dikey çalkalayıcı düzeneklerle) ve ayrıca bu testlerde iki farklı tuzluluk (0 ve %34) ve üç farklı sıcaklık (15, 25 ve 35°C) kombinasyonları

yonlarının peletlerin hidrostabilite özellikleri üzerine etkilerini çalışmışlardır. Bulgular statik metot kullanıldığında kuru madde seviyesinin en yüksek düzeyde ölçüldüğünü, bu metodu yatay ve son olarak da dikey metodun izlediğini belirlemişlerdir. Statik yöntemde, 6 saat suda bekletildikten sonra ölçülen kuru madde oranının %34 ve 25°C sıcaklıkta %88.9, ticari yemde ise %91.7 olduğunu kaydetmişlerdir. Dikey çalkalayıcıda, yüksek sıcaklık ve düşük tuzluluğun kuru madde seviyesini düşürdüğünü (suda çözünmeyi arttırdığını), 6 saat suda bekleyen peletlerde kalan kuru madde oranının %72.8, ticari yemde ise bu rakamın %88 olduğunu belirlemişlerdir. Dikey çalkalamada suda 6 saat bekletilen yemlerde kuru madde seviyesinin %0 tuzluluk ve 35°C sıcaklıkta sadece %48.1, ticari yemde ise %83.5 olduğu görülmüştür.

Projemizin ilk denemesinde temel amacımız akademik kaygılardan ziyade, yerli bazı bitkisel protein kaynakları (yerfıstığı ve fındık küspesi) kullanarak düşük maliyetli ve suda stabilitesi yüksek ticari yem formülasyonlarının geliştirilmesi suretiyle, olası yeni bir sektörün (karides yetiştiriciliği) geliştirilmesi halinde bu alandaki eksikliklerimize çözüm üretmektir. Yeşil kaplan karidesi juvenillerinde yaptığımız bir çalışmada (Ölçülü ve Kumlu, 2010) yapay yemlerde optimal protein oranının %38 olduğu anlaşıldığından, bu projede de yem formülasyonlarında bu protein oranı tercih edilmiştir.

2.6. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik Kullanımı Önemli midir?

Su ürünlerinde entansif üretim tekniklerinin yaygınlaşması ve su ürünleri ticaretinin giderek globalleşmesiyle akvakültür sektöründe büyük gelişmeler ve ilerlemeler yaşanmış ve bununla birlikte yem sanayinde ticari yemler içerisinde büyümeyi uyarıcı bazı maddeler, antibiyotikler, ve pekçok yem katkı maddelerinin kullanımı da yaygınlaşmıştır (Wang vd., 2008). Entansif üretim yapan modern akvakültür tesislerinde çevre koşullarının giderek daha da zorlandığı ve zaman zaman büyük ekonomik kayıplar da yaşandığı bilinmektedir. Çiftliklerde görülen bakteriyel enfeksiyonların önlenmesinde veya tedavi edilmesinde yaygın olarak kullanılan kimyasallar toplum sağlığını tehdit etmekte ve ayrıca kullanılan kimyasallara/antibiyotiklere dayanıklı mikroorganizmaların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Miranda ve Zemelman, 2001). Bunları önlemek ve çevre dostu yetiştiricilik uygulamalarıyla üretim yapabilmek amacıyla, akvakültür tesislerinin daha sağlıklı mikrobiyolojik ortamlarda üretim yapabilmek imkanı sağlayabilecek alternatiflerin sunulması, hem üretilen ürünlerin daha sağlıklı olabilmesine imkan verecek hem de karlılığı arttıracaktır. Bu hedef doğrultusunda, son zamanlarda hastalıklarla mücadelede kullanılabilecek ve aynı zamanda su ürünlerinin büyüme ve immün sistemlerini güçlendirebilecek probi-yotik, fitojenik ve prebiyotik gibi bazı yem katkı maddeleri üzerine araştırmalar daha da yoğunlaştırılmıştır (Irianto ve Austin, 2002a). Bu yem katkı maddeleri içerisinde, akvakültürde mortaliteyi azaltma (Ringø ve Gate-soupe, 1998; Verschuere vd., 2000a), ve büyüme/yem tüketim parametrelerini iyileştirme özellikleri sayesinde probiyotik ürünlerin diğerlerinden daha hızlı yaygınlaşmakta olduğu dikkat çekmektedir.

Probiyotikler doğal canlı mikrobiyal yem katkı maddeleri olup, balık ve karideslerin bağırsaklarında mikrobiyal dengeyi sağlar ve dolayısıyla büyüme, yem değerlendirme, yaşama oranı ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkilerde bulunurlar. Yetiştiricilikte türün bağışıklık sistemi üzerinde doğrudan olumlu

etkilerde bulunur, hastalıklara direnci artırır, stresi azaltır ve bağırsak morfolojisi üzerinde olumlu etkilerde bulunurlar. Bunlara ilaveten, su canlılarının iştahını, büyüme ve yem değerlendirme performanslarını artırır, karkas ve et kalitesini yükseltir ve anatomik bozuklukları azaltır (Wang vd., 2008). Sucul ortamlarda üretilen balık ve karidesler aslında içinde yaşadıkları suda bolca bulunan bakterileri besin alımları esnasında ve osmoregulasyon ile sürekli olarak vücutlarına alırlar (Verschuere vd., 2000b). Üretilen su ürünleri canlıları için herhangi bir yan etkisi olmayan probiyotikler, ayrıca su kalite kriterlerini de dengeleyerek olumlu etkilerde bulunurlar (biyoremediasyon).

Farklı bakteri karışımlarından oluşan probiyotikler akvakültürde canlı yem aracılığıyla, banyo tarzında, kültür suyunda eritilerek veya ticari yapay yemlere karıştırılmak suretiyle verilebilir. Yemlere karıştırıp oral yolla su canlılarına uygulanmasının bakterilerin bağırsaklarda koloni oluşturabilmeleri ve yerleşmelerinde ve bağışıklık sistemini daha hızlı uyararak hastalıklardan korunmalarında daha etkili olduğu bildirilmektedir (Taoka vd. 2006). Ancak yine de, bazı probiyotiklerin doğrudan suda eritilip kullanıldıklarında da hastalıklar üzerinde ve ayrıca da çevresel parametrelerin daha uygun koşullarda sürdürülebilmesinde etkili olabilecekleri bildirilmektedir. Bu çeşit probiyotikler suya belli oranda eklendiğinde zararlı patojen bakterileri azaltırlar, organik maddenin parçalanması ve mineralizasyonunu artırarak ayrıca istenmeyen atıkları da elemine ederler. Böylece yetiştiricilik esnasında havuz tabanında biriken ve daha sonraları anaerobik ortamda balçık haline dönüşen organik atıklar ortadan kaldırılmış olur. Suda kullanılan probiyotiklerin organik maddelerin parçalanmasında, azot, fosfor, toplam amonyak, nitrit ve hidrojen sülfür gibi bazı toksik atıkların yok edilmesinde yararlı oldukları bildirilmiştir (Boyd ve Massaut, 1999; Zhou vd., 2010). Supamattaya vd. (2005), probiyotiklerin karides (*P. vannamei*) bağırsak bakteriyel ekolojisini olumlu etkilediğini ve diğer bakterilerle rekabet ederek bağırsaklardaki *Vibrio* türlerini azalttığını bildirmişlerdir. İçinde birçok bakteri karışımının olduğu bir probiyotik ürününün *Vibrio* ile enfekte edilmiş karideslerde %30 civarında yaşama oranını arttırdığı, belirgin bir şekilde daha iyi büyüme ve yem değerlendirme sağladığı görülmüştür (Krummenauer vd., 2014).

Birçok çalışma probiyotik bakterilerin su canlılarının hastalık savunma mekanizmaları üzerinde araştırmalar yürüterek bunlarda immünolojik ve hematolojik uyarımlar üzerinde durmuştur (Arijo vd., 2008; Brunt vd., 2008; Merrifield vd., 2010; Merrifield vd., 2011). Bazı araştırmalarda, balık unu yerine alternatif bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı durumlarda probiyotiklerin anti-besinsel faktörlerin bağırsaklar üzerindeki olumsuzluklarını giderebildiklerini de göstermiştir (Sáenz de Rodríguez vd., 2009).

Tek bir probiyotiğin arzu edilen sonuçları vermesi mümkün olmadığı için, pek çok araştırmada birden fazla probiyotiğin veya bazen probiyotik/prebiyotik karışımlarının peş peşe verildiği durumlar üzerinde durmuşlardır (Patterson ve Burkholder, 2003). Timmerman vd. (2004), pek çok varyete ve probiyotik türünün kullanılması durumunda sinerjistik bakteriyel etki sayesinde daha etkili sonuçlar alınabildiğini bildirmiştir. Günümüzde, tek tür veya çok sayıda bakteri türünden oluşturulan çok sayıda ticari probiyotik ürünlerin piyasadan temin edilebilmesi mümkündür. Çoklu türlerden oluşan ürünlerin hedef türde bağı-

şıklık sistemini daha hızlı uyarabildiği (Cabral ve Costa, 1999; Irianto ve Austin, 2002b; Salinas vd., 2006) ve bağırsaklarda daha kolay koloni oluşturabildikleri bildirilmiştir (Salinas vd., 2008).

Probiyotiklerin uygulanmaları esnasında ilgili dokularda yerleşmeleri ve etki mekanizmalarında faaliyetlerini etkileyen faktörler içerisinde su kalitesi, su sertliği, çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, ozmotik basınç ve mekanik sürtünmenin etkili olduğu bildirilmiştir (Das vd., 2008). Yüksek stok yoğunluğundan kaynaklı stres probiyotiklerin performansını etkilemiş (Mehrim, 2009), salinite (Taoka vd., 2006) veya sıcaklık (Asli vd., 2007) kaynaklı stresin azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir. Probiyotiklerin bağışıklık sistemi ile ilişkisini anlayabilmek için bazı enzimleri araştırmak (lizozim ve peroksidaz aktivitesi) mümkündür. Lizozim enzimi doğal (innate) bağışıklık sistemindeki önemli bir bakterisidal enzim olup, su canlılarının ekfeksiyonlarla mücadelesinde çok önemli bir savunma ajanıdır (Lindsay, 1986). Bazı çalışmalar (Balcazar vd., 2006; Kim ve Austin, 2006; Panigrahi vd., 2004) probiyotiklerin balıklarda lizozim aktivitesini etkilediklerini göstermişlerdir.

Son zamanlarda yüksek stoklama yoğunluklarında üretim yapmakta olan karides çiftlikleri bakteriyel ve viral hastalıklar nedeniyle büyük yaralar almıştır. Yüksek stoklama koşulları patojenlerin hızla gelişerek yayılmalarına neden olmaktadır. Ayrıca, yetiştiricilik koşullarının zayıf olması strese neden olmakta ve bu da karideslerin büyüme ve sağlık durumları üzerine olumsuzluklar yaratmaktadır. Antibiyotiklerin yanlış ve aşırı kullanımı ortamda bazı bakterilerin direnç geliştirmelerine neden olmakta ve insan sağlığı riske edilmektedir. Probiyotikler hem karideslerin bağırsak hem de su ortamının mikrobiyal florasının iyileştirilmesinde, organik atıkların degradasyonunda, toksik maddelerin/gazların (amonyak, nitrit, nitrat, hidrojen sulfur vd.) ve organik kokuların yok edilmesinde güvenle kullanımı yaygınlaşmaktadır. Biomin firmasının ürünlerinden olan AquaStar-Pondzyme özellikle su kalitesinin iyileştirilmesinde, AquaStar-Growout ise büyümenin uyarılmasında, bağırsak mikroflorasının ve bağışıklık yanıtlarının iyileştirilmesi kullanılmaktadır.

Profilaktik dozda probiyotik kullanımının rekabet sayesinde patojen bakterileri kontrol altında tutarak yetiştiricilikleri yapılan karideslerin (*P. vannamei*) sağlıklarını ve büyüme performanslarını olumlu etkiledikleri bildirilmektedir. Çoklu bakteri (*Enterococcus faecium*) varyetesi karışımından oluşan bir probiyotik ürünü (AquaStar®, BIOMIN GmbH, Avusturya) ile günde 5-kez olmak üzere 6-haftalık bir periyotla beslenen karideslerde (5 g/kg yem) hepatopankreas ve bağırsaklarda bulunan *Vibrio* spp. miktarının azaltılabildiği gösterilmiştir (Supamattaya vd., 2005). Non-specific (doğal) immün sistemin probiyotikler aracılığıyla uyarılabileceği ve *Bacillus* sp. kullanımının siyah kaplan karidesinin (*Penaeus monodon*) hem hücresel hem de humoral immün savunma sistemlerinin uyarılmaları sayesinde bu karideslerin hastalıklardan korunabileceği bildirilmiştir (Rengpipat vd. 2000)

Zokaeifar vd. (2014) çalışmalarında iki *Bacillus subtilis* varyetesini iki farklı yoğunluklarda (10^5 ve 10^8 CFU oranlarında) eşit oranlarda kullanmış ve 8 ay süreyle karidesleri (*L. vannamei*) yetiştirdikleri suda amonyak, nitrit ve nitrat seviyelerinde önemli azalmalar tespit etmişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla, probiyotik kullanılan her iki grupta da deneme sonu karides ağırlıkları, canlı ağırlık kazancı, spesifik

büyüme oranı (SBO), yem çevrim oranı (YÇO) ve sindirim enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Yüksek probiyotik seviyesinin kullanıldığı grupta yaşama oranı da kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Deneme sonunda yaptıkları bakteri (*Vibrio harveyi*) dayanıklılık testinde kontrol grubunda toplam mortalitenin %80, probiyotik gruplarında ise %36.7-50 olduğu ortaya çıkmıştır. Böylece, bu çalışmada, *B. subtilis* varyetelerinin kullanımında su kalite kriterlerinin iyileştirilebileceği, karides büyüme ve yem tüketim performanslarının yükseltilebileceği, sindirim enzim aktivitelerinin, bağışıklık yanıtları ve hastalık dirençlerinin yükseltilebileceği anlaşılmıştır.

Castex vd. (2008) bir laktik asit bakterisini [*Pediococcus acidilactici* (strain MA 18/5M, CNCM)], probiyotik olarak karides (*Litopenaeus stylirostris*) yetiştiriciliğinde kullanmış ve bu uygulamanın karideslerde yaşama oranlarını %7-15 oranında ve biyoması da %8-12 oranında arttırdığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada, karideslerin büyüme performansları arasında bir farklılık belirlenmemiş, ancak probiyotik uygulanan gruplarda daha düşük YÇO değerleri elde edilmiştir.

De Souza vd. (2012) pembe karidesinde (*Farfantepenaeus brasiliensis*), 30 gün süren ön-büyütme döneminde, suya uygulanan probiyotik kullanımının avantajlarını test etmişler ve bunun için dört farklı muamele planlamışlardır. Bunlar; (1) *Bacillus* spp. karışımı (Sanolife Pro-W®), (2) *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* spp. karışımı (Biomim Start-grow®), (3) *Bacillus cereus* var. *toyoi* ve (4) kontrol (probiyotiksiz) uygulamalarıdır. Yetiştiricilik tanklarında *Vibrio* seviyeleri düzenli olarak kontrol edilmiş ve immünolojik analizler için karideslerden hemolenf çekilerek hematosit sayımı ve toplam protein seviyelerine bakılmıştır. Bulgular, deneme sonu karides ortalama ağırlıklarının ve SBO'ların probiyotik uygulanan gruplarda daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, probiyotik uygulanan gruplarda daha yüksek oranlarda toplam protein ve hematosit sayımı belirlemişlerdir. Bakteriyolojik analizler probiyotik uygulanan tanklarda *Vibrio* türlerinin, kontrol grubuna kıyasla, daha düşük seviyede bulduklarını göstermiştir.

Hossain vd. (2013) 138 gün süren bir denemede probiyotik kullanımının siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) büyüme ve yaşama oranı üzerine etkilerini incelemişler ve probiyotik uygulanan havuzda deneme sonu ortalama karides ağırlığının 37.67 g, kontrol grubunda ise 27.33 g olduğunu bulmuşlardır ($P < 0.01$). Yaşama oranları açısından da probiyotik uygulamasının %90.67 ile kontrol grubundan çok daha yüksek (%71.00) bir hayatta kalma oranı sağladığını belirlemişlerdir. Hesaplanan günlük ortalama ağırlık artışı probiyotikli grupta 0.27 g, kontrol grubunda ise 0.19 g olarak bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar probiyotik uygulamasının su ve havuz taban toprak kalite parametrelerinin yükseltilmesinde ve sürdürülebilmesinde etkili olduğunu, ayrıca karideslerin sağlıklı bir şekilde ve daha yüksek performans ile büyütülebilmelerinde yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Krummenauer vd. (2014) Pasifik beyaz karidesinin (*L. vannamei*) *Vibrio parahaemolyticus* ile enfekte edilmiş biyofloc sistemlerde yetiştiriciliğinde, iki farklı ticari bakteriyel probiyotik kullanmış, bu probiyotiklerden birisini (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Thiobacillus* spp., ve *Paracoccus* spp.) suya, diğerini (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., ve *Lactobacillus* spp.) ise yeme eklemişlerdir. Deneme sonunda

probiyotik uygulanan grupta büyüme ve yaşama oranının, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ($P<0.05$), YÇO değerinin ise daha düşük çıktığı ($P<0.05$) belirlenmiştir.

Nispeten beslemede yeni kullanılmaya başlanan fitojenik yem katkı maddeleri bitkisel orjinli maddeler olup, su canlılarının performanslarını arttırma özelliğine sahiptirler. Bu bitkisel aktif maddeler (ömeğin fenolik ve flavanoidler) antimikrobiyal özellikte olup, bağırsak patojenik bakterilerin seviyesini azaltıcı özelliklere sahip, sindirim enzimlerini uyarıcı, antiinflamatuar ve antioksidan özelliklere sahiptirler (Encarnaçao, 2014). Yem çevrim etkinliğini yükseltme özellikleri sayesinde özellikle pahalı hammaddelerin kullanıldığı (balık unu gibi) durumlarda veya daha düşük kalitede hammaddelerin yem formülasyonlarında daha yüksek oranlarda kullanılmasına imkan verebilirler. Ticari bir fitojenik ürünün kullanıldığı (Digestarom® P.E.P. MGE) bir çalışmada, karidesler (0.33 g) 5 isoproteik yem (%40 ham protein) ile [%25 balık unu (BU, kontrol), %22 ve %19 BU, %22 BU ve %19 BU+Digestarom® P.E.P. MGE] 8 hafta süreyle beslenmişlerdir. Bulgular %25 BU içeren grubun en iyi performans gösterdiğini, BU'nun yemde azaltılması ile karideslerde büyüme performansının düştüğünü, fitojenik madde içeren düşük proteinli yemlerde ise canlı ağırlık kazancının, büyüme oranının, protein etkinliğinin ve yem çevrim etkinliklerinin yükseldiğini göstermiştir.

Peterson ve Bosworth (2014) yine üstte belirtilen ticari fitojenik ürünün (Digestarom® P.E.P. MGE) kanal kedibalığının büyüme performansı, et oranı, fileto kompozisyonu ve yaşama oranı üzerine etkilerini incelemişler ve deneme sonunda balık ağırlıklarının, yem tüketim değerlerinin, et oranı ve yaşama oranlarının gruplar arasında değişmediğini belirlemişlerdir. Analiz sonuçları fitojenik madde içeren yemle beslenen balıkların filetolarının daha düşük oranda yağ, ancak tam tersine daha yüksek seviyede protein içerdiğini ($P<0.01$) göstermiştir. Böylece, bu çalışma kanal kedi balıklarında fitojenik maddenin önemli bir ticari özellik olan (yüksek protein ve düşük lipit) fileto kalitesinin yükseltilmesi amacıyla kullanılabilirliğini ortaya koymuştur.

Standen (2016) Fitojenik yem katkı maddelerinin özellikle BU yerine ikame edilme durumlarında palatabilite (lezzet), yem etkinliği ve büyümenin uyarılmasında kullanılabilirliğini önemiştir. Bu çalışmada, 5 farklı yem %40 protein ve %8.5 lipit içerecek şekilde formüle edilmiş ve ilk yemde BU %25 (BU25), ikinci ve üçüncü yemlerde BU %22 (BU22), dördüncü ve beşinci yemlerde ise BU%19 (BU19) oranında formülasyonda kullanılmıştır. Üçüncü ve beşinci yemlerde formülasyonlara ayrıca bir fitojenik ürün olan Digestarom® P.E.P. MGE 200g/ton oranında eklenerek kullanılmıştır. 8 hafta süren deneme sonunda yaşama oranları %96 ve üzerinde gerçekleşmiş, en iyi büyüme, protein etkinlik oranı (PER), YÇO ve SBO BU25 grubunda elde edilmiştir. Ancak, fitojenik madde eklenen gruplarda tüm parametreler iyileşme göstermiştir. BU19+fitojenik madde grubunda deneme sonu ağırlığı, PER ve YÇO %10 yükselmiş ve SBO ise %3 iyileşme göstermiştir. En yüksek kas protein içeriği ve en düşük laktat seviyeleri de BU19+fitojenik madde grubunda elde edilmiştir.

Olmos vd. (2012) bir araştırmalarında *L. vannamei* için alternatif ekonomik protein, karbonhidrat ve lipit kaynaklarıyla ve bunlara ilaveten probiyotik takviyesiyle üretilen yemler kullanarak ürün ve karlılığın

arttırılması ve ayrıca su kirliliğinin azaltılmasını hedeflemişlerdir. Bu araştırmada; Grup 1'de (Bazal Yem + *Bacillus subtilis*), Grup 2'de (Bazal Yem+*Bacillus megaterium*), Grup 3'te (Bazal Yem), Grup 4'te (BU içeren ticari yem pozitif kontrol olarak) kullanılmıştır. Denemede yaşama oranı, büyüme, YÇO ve stres tolerans testleri araştırılmıştır. En iyi performans Grup 1'de belirlenmiştir; ek olarak, stres tolerans testleri ve hemolenf metabolitleri de bu grubun en yüksek performanslı grup olduğunu göstermiştir. Probiyotik destekli olmayan Grup 3'te en düşük büyüme ve YÇO değerleri elde edilmiştir. Ticari kontrol yemi ile beslenen grup stres toleransı en düşük olarak kaydedilmiş, bu grupta amonyak yüksek ve oksijen değerleri ise düşük çıkmıştır. Bu araştırmacılar, özellikle yüksek oranlarda bitkisel materyal içeren yem formülasyonlarında *B. subtilis* bakterisinin *L. vannamei* beslemede tercih edilmesini önermişlerdir.

Bu kapsamda, geliştirmek istediğimiz prototip resirküle üretim modelimiz kapsamında, Dünya'nın en büyük probiyotik üreticilerinden ve projemizin partner firması olan Biomin (Avusturya)'in ürettiği bazı probiyotik (AquaStar-Growout® ve AquaStar-PondZyme®) ve bir fitojenik ürünün (Digesterom PEP MGE®) değişik kombinasyonlarda hem yem katkı maddesi hem de su kalitesini iyileştirici özelliklerinden dolayı sistemimize olası katkıları bu proje kapsamında test edilmek istenmiştir.

2.7. Ülkemizde Neden Entansif Resirküle Sistem Tercih Edilmelidir?

Geleneksel olarak büyük toprak havuzlarda yapılan karides yetiştiriciliği için deniz kenarında büyük arazilere ihtiyaç duyulmaktadır. Oysa ülkemizin Akdeniz ve Ege kıyıları özellikle çok hızlı gelişen turizm sektörü ve doğu Akdeniz'deki doğal hayatı koruma alanları nedeniyle karides yetiştiriciliği için geniş araziler bulmak neredeyse imkansız hale gelmiştir. Temelde kıyısız bölgeler için diğer sektörlerle (örneğin turizm) yaşanan sıkıntılar ve buna ilaveten ağırlığını her geçen yıl hissettiğimiz küresel ısınmayla birlikte önemi daha da artacak olan su kaynaklarının kullanımı ve yönetimi, yetiştiricilik modellerimizi çok daha az su kullanımına olanak sağlayan resirküle sistemlere doğru kaymaya zorlamaktadır. Diğer taraftan, geleneksel üretim metotlarının çevresel kirliliğe neden oldukları da dikkate alındığında, daha az su tüketerek akışkan havuz sistemlerine göre 100 kat daha az deşarj suyu vermeleri (Blancheton, 2000), ayrıca yetiştiricilik su kalite kriterleri üzerinde de tam kontrol şansı yaratmaları resirküle sistemlerin avantajları arasındadır.

Yapılan hesaplamalarda geleneksel olarak toprak havuzlarda yapılan entansif karides yetiştiriciliğinde 1 kg karides için yaklaşık olarak 20 ton deniz suyu kullanılması ve eğer artırım işlemi yapılmaz ise bu miktar deşarj edilen kirliliğin doğaya bırakılması gerekmektedir (Losordo ve Simmons, 1994). Oysa bazı entansif karides yetiştiricilik sistemlerinde günlük %1-3'ten daha az su değişkenliği gerekmekte, hatta bazen sıfır su değişkenliği (biofloc) ile üretim yapılabilmektedir. Ancak bu sistemlerde yem kalitesinin yüksek olması ve yemlemenin doğru tekniklerle yapılması, yeterli havalandırma ve su sirkülasyonuna ilaveten doğal produktivite ve besin olarak nitrojen döngüsünün dikkatli bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Doğru işletilen entansif sistemlerde 1 m² havuz alanından tek üründe 4 kg'ın (Cohen vd., 2005;

Krummenauer vd., 2011) üzerinde hatta bazen 10-11 kg'a kadar (Reid ve Arnold, 1992; Davis ve Arnold, 1998) ürün (*L. vannamei*) alabilmek mümkün olmaktadır.

2.8. Süper-Entansif Stoklama ve Uygun Olmayan Koşullar Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?

Sıcaklık veya diğer çevresel stres kaynaklarının herhangi birinde ani bir artış spesifik bazı proteinlerin sentezlenmesine neden olur ki bunlara ısı şok proteinleri (HSP) denmektedir. HSP'lerin iyi bir stres-indikatörü olarak kullanılabileceği bilinmektedir (Sanders, 1993). Stoklama yoğunluğu doğrudan sucul canlıların yaşam konforunu ve üreticinin birim alandan elde edeceği ürün miktarını etkileyen önemli parametrelerdendir. İdeal stok yoğunluğu sucul canlılarda büyümenin sürdürülebildiği ve aynı zamanda su kalite kriterlerini olumsuz etkilemeyen yoğunluk olarak tanımlanır. Aşırı stoklamada büyüme çoğu zaman düşer ve ayrıca su canlılarının davranışları ve bağışıklık sistemleri de bundan olumsuz etkilenir. Yapılan çalışmalar, balıklarda artan stok yoğunluğunun metabolik ve antioksidan enzimlerin miktarını azalttığını ve aksine stres ile ilintili proteinlerden HSP70'i yükselttiğini göstermiştir (Aksakal vd., 2011). Bu araştırmacılar gökkuşuğu balığı ile yaptıkları bir çalışmada, 15, 20, 25 ve 30 kg/m³ stok yoğunluklarını test etmiş ve en yüksek stok yoğunluklarında HSP70'in ekspresyon seviyesinin yükseldiğini ve dolayısıyla kas dokuda ölçülen bu değerlerin balıkta ciddi bir stres yaşandığını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Entansif stok koşulları gibi uzun süreli stres (kronik) durumlarında fizyolojik denge kurulamaz (en azından uzunca bir süre için) ve hastalık etmenlerine olan direnç azalır; üreme ve büyüme de bundan olumsuz etkilenir (Van Weerd ve Komen, 1998). Yüksek stoklama koşullarında su kalitesinde gerçekleşen düşüşlerin de su canlılarında büyümeyi olumsuz etkilediği, yem alımını ve yemden yararlanmayı düşürdüğü bilinmektedir. Kronik stresin giderilmesi balığın sağlık durumu ve büyüme performansı açısından akvakültürde büyük önem taşımaktadır.

Kırmızı kan hücreleri ve hematokrit düzeyleri streste yüksek enerji ihtiyacında oksijen taşıma kapasitesinin artmasından dolayı artabilmektedir (Montero vd., 1999). Kan glikoz düzeyleri başlıca kan katekolamin düzeylerinin artışı sonucu olarak stres boyunca artar. Plazma glikoz düzeyi, stres etkisinden kurtulmak için gerekli zaman, stres yanıtının süresi ve şiddeti konusunda faydalı tamamlayıcı bilgi sağlayabilir. Dil balığı (*Solea senegalensis*) juvenillerinde yapılan bir çalışmada yüksek stoklama yoğunluklarında HSP70 ve HSP90 gen görünümüne (ekspresyon) bakılmış, denemede balıkların yeterli bir büyüme gösterdiği, ancak bu koşullarda ölçülen plazma kortizol seviyesinin stoklama ile ilgili stresten kaynaklanabileceği ve HSP90 seviyelerinin stoklama yoğunluğundan etkilenmediğini, tersine karaciğer ve böbrek HSP70 seviyelerinin ise azaldığını bildirmişlerdir (Salas-Leiton vd., 2010).

Stoklama yoğunluğunun krustaselerde fizyolojik tepkilerle ilişkisine dair literatür özetleri aşağıda verilmiştir;

Alsen (2005), tatlısu kerevitlerinde (*Astacus leptodactylus*) serotonin (5-HT) etkisinin stres üzerine etkilerini çalışmış ve bu hormonun hemolenf dolaşımındaki glukoz seviyesinin yükselmesine, ancak hematosit hücrelerinde önemli bir artışa sebep olmadığına dair bulgular bildirmiştir.

Mugnier vd. (2008), mavi karideslerde (*L. stylirostris*) amonyak ve hipoksinin (oksijen yetmezliği) kombine etkisinin kabuk değiştirme dönemleri ile ilişkili olarak hayatta kalma, fizyolojik ve immünolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Hemolenf analizi için sadece intermolt ve premolt aşamalarındaki karideslerden omekleme yapmışlar ve osmoregülasyon kapasitesi (OC), magnezyum iyonu (Mg^{2+}), kalsiyum iyonu (Ca^{2+}), toplam protein, oksihemosiyanin, laktat, glukoz ve THS (toplam hematosit sayımı) seviyelerini belirlemişlerdir. Hipoksi ve hipoksi amonyak kombinasyonunda karideslerde plazma laktat seviyesinin arttığını ve THS'nin azaldığını; amonyak ve amonyak + hipoksi muamelelerinde toplam protein konsantrasyonunun azaldığını gözlemişlerdir. Amonyak ve hipoksi kombinasyonunun, amonyak ve hipoksinin tek başına yapılan muamelelerine göre (oksihemosiyanin hariç) daha güçlü bir fizyolojik tepki verdiği sonucuna varmışlardır.

Mercier vd. (2009), çalışmalarında Pasifik beyaz karideslerini (*P. vannamei*) 38 gün süreyle duşuk veya yüksek seviyede, HUFA'ca (yüksek doymamış yağ asitleri) zengin bir diyetle beslemişler ve tutma/elleme (handling) stresine maruz bırakmışlardır. Araştırmacılar birinci denemede 30 gün boyunca karideslere günlük stres uygulamışlar ve ardından fizyolojik ve immünolojik değişkenleri ölçmüşler, ikinci denemede ise bir kez stres uygulamışlar ve stres uygulamasından 1 ve 24 saat sonra omekleme yapmışlardır. 30 gün boyunca strese maruz kalan karideslerin hayatta kalma oranının, nihai ağırlığın ve yem tüketiminin, kontrol grubuna göre (stres uygulanmayan) önemli olde duştuğunu kaydetmişlerdir. Hemolenfteki glikoz konsantrasyonunun uzun süreli strese maruz kalan karideslerde kontrol grubundan daha yüksek olduğunu; laktat seviyesinin ise yüksek HUFA diyetiyle beslenen karideslerde belirgin olarak daha duşuk olduğunu belirlemişlerdir. Hemolenfteki laktat ve glikoz seviyesinin stresten 1 saat sonra arttığını, 24 saat sonra ise normal seviyelere donduğunu tespit etmişlerdir. Genel olarak, karideslerde 30 gün boyunca tekrarlanan tutma stres uygulamasının biyolojik performans üzerine olumsuz etkiye sahip olduğunu, bir kez stres uygulanan ve 1 yada 24 saat sonra yapılan olmuşlerde ise fizyolojik ve bağışıklık yanıtlarının daha belirgin goruğuğunu gözlemişlerdir. Sonuçta, bu çalışmada, HUFA'ca zengin diyetle beslemenin elle stres uygulamasına verilen bağışıklık sistemi açısından yararlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Joseph ve Philip (2007), siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) akut tuzluluk stresinin immünolojik ve fizyolojik tepkisinin beyaz benek sendromu virusu (WSSV) enfeksiyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında; %15 tuzlulukta muhafaza ettikleri karidesleri 7 saatte %0 ve %35 akut tuzluluk değişikliklerine maruz bırakmışlar, ardından oral yoldan WSSV vermişlerdir. Bağışıklık değişkenleri olarak; denemenin 2. ve 5. günlerinde, toplam hematosit sayısı (THS), fenoloksidaz aktivitesi (PO), nitroblue tetrazolyum tuzu indirgenmesi (NBT), alkalın fosfataz aktivitesi (ALP), asit fosfataz aktivitesi (ACP) ve metabolik değişkenler olarak da toplam protein, toplam karbonhidrat, toplam serbest amino asit (TFAA), toplam lipit, glukoz ve kolesterol seviyelerini ölçmüşlerdir. Karideslerde akut tuzluluk değişiminin %35 tuzlulukta, TFAA dışındaki, tüm diğer metabolik değişkenlerin artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. %35 tuzluluk stresine maruz bıraktıkları karideslerde, ALP ve PO haricinde, bağışıklık değişkenlerinin önemli olde azaldığını ($P<0.05$) ve bu azalışın %0 tuzlulukta daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, %15

tuzlulukta metabolik ve bağışıklık parametrelerinin genel olarak değişmediğini ve tuzluluk stresine maruz kalanlara kıyasla enfeksiyondan sonra yaşama oranının daha yüksek olduğunu kaydetmişlerdir. Tuzluluk değişimine maruz bıraktıkları karideslerde stresin %0 tuzlulukta %35 tuzluluğa göre daha yüksek olduğunu, ayrıca bağışıklık yanıtı ve yaşama oranlarının da %35 tuzlulukta daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, karides hemolenfinde belirlenen plazma THS ($P<0.001$), ALP ($P<0.01$) ve PO'nun ($P<0.05$) sağlık göstergeleri olarak önerilebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, sonuç olarak karidesin maruz kaldığı akut tuzluluk stresinin hemolenfte metabolik ve bağışıklık parametrelerini etkilediği, özellikle düşük tuzluluk stres koşullarında WSSV'ye hassasiyeti artırdığı sonucuna da varmışlardır.

Suryavanshi vd. (2009), çalışmalarında benekli karidesi (*Metapenaeus monoceros*) 23 gün süreyle iki farklı dozda (40 ve 60 ng/L) endosulfana maruz bırakmış ve ardından solungaç (SL), hepatopankreas (HP) ve kaslarında (KAS) (metabolik olarak aktif dokularında) meydana gelen biyokimyasal değişimleri incelemişlerdir. Endosulfanın ölümcül düzeyin altındaki dozlarında karideslerde toplam protein (TP), toplam karbonhidrat (TK), glikojen (GL), toplam serbest şeker (TSS) ve toplam lipit (TL) seviyelerinin önemli ölçüde değişiklik gösterdiğini gözlemişlerdir ($P<0.05$). Deneme sonunda farklı dokulardaki TP, TK, GL, TL ve TSS konsantrasyonlarındaki azalmanın, sırasıyla KAS>SL>HP, HP>SL>KAS, KAS>HP>SL, HP>KAS>SL ve KAS>SL>HP şeklinde olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonuçlarını ölümcül olmayan endosulfan dozlarının temel dokuların kompozisyonunu, özellikle de kas dokularındaki TP seviyelerini önemli ölçüde değiştirdiğini ve böylece ekonomik açıdan önemli olan bu karidesin besleyici değerini düşürdüğünü ortaya koymuşlardır.

Kiruthika (2013) siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) tuzluluk stresinin neden olduğu biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikleri incelemiş; düşük (%3), yüksek (%55) ve kontrol grubu olarak orta seviyede (%28) tuzluluklarda tutulan karideslerde THS, toplam protein konsantrasyonu (PC), fenoloksidaz aktivitesi (PO), solunum ve ozmolaliteyi ölçmüştür. Yüksek tuzlulukta bulunan karideslerde THS, kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli ölçüde düşük çıkmasına rağmen, kontrol ve düşük tuzluluk stresine maruz bırakılanlar arasında herhangi bir zaman aralığında önemli bir fark gözlememiştir. Bu araştırmacı, karideslerin osmolalite düzeylerinde, düşük tuzluluk stres-grubunda 6 saatte belirgin bir azalma, yüksek tuzluluk stres-grubunda ise 48'inci saatte maksimum artış tespit etmiştir.

Qing vd. (2005), tuzluluk ve pH'nın, Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) bağışıklık tepkisi üzerine etkisini 12-15 gün boyunca incelemişler ve çalışmada %5-30 arasında olan tuzluluk ve yaklaşık 7.0-9.5 pH değerlerinin hematosit sayımı, PO aktivitesi, bakteriyolojik aktivite ve antibakteriyel aktiviteyi etkilediği sonucuna varmışlardır. PO aktivitesi 12. saatte zirve yaparken, bakteriyolojik aktivite ve antibakteriyel aktivitenin ise düşük olduğunu kaydetmişlerdir. Tuzluluk testinin 6. günden 15. gününe kadar, her tuzluluğa ait hematosit sayısının sabit, ancak kontrol grubundan önemli ölçüde düşük olduğunu; aynı dönemde PO aktivitesinin, bakteriyolojik ve antibakteriyel aktivitenin belirgin değişiklikler gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Karidesler pH değişkenliklerine maruz bırakıldıktan sonra hematosit sayısının ve anti-

bakteriyel aktivitenin yavaş yavaş azaldığını, PO aktivitesinin 12. saatte zirveye ulaştığını, ancak bakteriyolojik aktivitenin düştüğünü kaydetmişlerdir

Klobucar vd. (2012), kirlı tatlı su ortamlarında kerevitlerin (*A. leptodactylus*) genotoksitesini incelemişler ve biyolojik belirteç olarak fizyolojik (toplam protein konsantrasyonu) ve immünolojik (hemosit sayımı) hemolenf parametrelerini ölçmüşlerdir. Kirlı ortamlardaki kerevitlerin toplam hematosit sayısı ve toplam protein içeriğinde artış gözlemlenmişler ve böylece kirliliğe maruz kalmanın neden olduğu stresin de doğrulandığını ortaya koymuşlardır.

Song vd. (2003), Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*), karides immün tepkilerini ve yaşama oranını değerlendirmek için Taura sendromu virüsünü (TSV) enjekte etmişler ve bu muameleye karideslerin verdiği bazı fizyolojik tepkileri araştırmışlardır. TSV ile enfekte olan karideslerde, THS, hiyalinosit ve granülosit hücre sayıları, total plazma proteini ve haemosiyanin oranının kontrol grubuna göre sırasıyla, %21, %24, %17, %56 ve %67'ye kadar düştüğünü kaydetmişlerdir. TSV ile enfekte olan karideslerde plazma PO aktivitesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir.

Zhenyu vd. (2004), farklı stres kaynaklarının (sıcak veya soğuk şoku ile *Vibrio anguillarum* ile WSSV uygulaması) Çin karidesinde (*Fenneropenaeus chinensis*) ilk kez farklı dokularda ısı-şok protein (HSP70) ekspresyonunu farklı dokularda etkilediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, sıcaklık şoku ve WSSV stres uygulamaları ile HSP70'in hepatopankreas ve solungaçlarda belirgin olarak indüklendiğini, ancak kas, gözsapı ve hemolenfte ise gözlemlenmediğini kaydetmişlerdir. Soğuk şok ve WSSV muamelesinin, inceledikleri tüm dokularda HSP70 ekspresyonu üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı sonucuna varmışlardır. HSP70 indüksiyonunun karideslerde, ortam sıcaklığının 10°C akut olarak arttırıldığı durumlarda ve uygulamadan 2 saat sonra en yüksek değere çıktığını belirtmişlerdir.

Guo vd. (2010), günlük sıcaklık dalgalanmasının (25°C sabit sıcaklık, 25±1°C, 25±2°C, 25±3°C ve 25±4°C) Pasifik beyaz karidesinin (*L. vannamei*) büyüme ve fizyolojik durumu ile ilgili etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, 25±4°C rejiminde büyümenin, 25°C'lik sabit sıcaklıktaki karideslere göre, önemli ölçüde daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bu grupta hemolenf glikoz içeriğinin en düşük, hepatopankreas PK (pyruvate kinase) aktivitesinin ise en yüksek olduğunu, dolayısıyla bu gruptaki karideslerin stres altında olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmada, günlük sıcaklık dalgalanmasının HSP70 üzerinde önemli bir artış yaratmadığını, bunun nedeninin ±4°C'lik dalgalanma baskısının HSP70 gen ekspresyonları üzerinde önemli bir değişiklik için yeterli bir stres yaratmamış olabileceğine bağlamışlardır.

Zhou vd. (2010), çalışmalarında Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) bakteri yüklenmesine tepki olarak HSP60 ve HSP70'in gen ekspresyonlarını incelemişler ve bu çalışmada LvHSP60 mRNA'nın hem yapısal hem de indüklenebilir olduğunu, hemositlerde, kas, mide, kalp, hepatopankreas ve solungaç dokusu dahil olmak üzere incelenen hemen hemen tüm dokularda (bağırsak hariç) yüksek oranda belirlenebildiğini ifade etmişlerdir. LvHSP60'ın solungaçlarda, hepatopankreaslarda ve hemositlerde bakteri yüklenmesinden sonra belirgin olarak yukarıya doğru yükseldiğini, hematosit ve hepatopankreasta LvHSP70'in transkripsiyonunun da indüklendiğini kaydetmişlerdir.

Chen vd. (2015b), *Gracilaria tenuistipitata* ekstraktı (GTE) içeren deniz suyunda (%35) amonyak stresine maruz bıraktıkları beyaz karideslerde (*L. vannamei*) HSP70'in transkript seviyesinin stres sonrası 24 saat regüle edilebildiğini kaydetmişlerdir. Araştırmacılar GTE içeren deniz suyuna maruz bıraktıkları karideslerin, yukarı regüle gen ekspresyonu ve erken bağışıklık parametrelerinin iyileşmesi durumu neticesinde, amonyak stresine karşı hücrel ve humoral bağışıklığı düzenleyerek homeostazı korumak için bir yetenek sergilediği sonucuna varmışlardır.

Mercier vd. (2006), tekrarlanan strese maruz bıraktıkları Pasif beyaz karidesinde (*L. vannamei*) metabolik yanıtları (glikoz, laktat, toplam protein, kolesterol, trigliserit, toplam lipid, hemosiyanin ve karotenoid) ve bağışıklık yanıtlarını (THS, süperoksit anyon üretimi ve süperoksit dismutaz aktivitesi) kontrol grubu (stressiz) karideslerle karşılaştırmışlardır. Beton havuzlarda strese maruz bıraktıkları karideslerin hemolenflerinde toplam protein, trigliserit ve toplam lipid konsantrasyonlarının önemli ölçüde düştüğünü ve kas içerisindeki karbonhidrat konsantrasyonlarının da önemli ölçüde daha düşük seviyede bulunduğunu belirtmişlerdir. Plastik tanklarda stres altındaki karideslerin hemolenflerinde daha yüksek konsantrasyonlarda glikoz ve toplam lipid olduğunu, ancak hepatopankreastaki karbonhidrat seviyelerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Denemede ortaya çıkan stresli ve stressiz karidesler arasında bağışıklık yanıtlarında anlamlı bir fark bulamamışlar ve tekrarlanan stresin hemolenfteki toplam protein seviyesinin düşük olması haricinde bağışıklık tepkisi kapasitesini baskılamadığı sonucuna varmışlardır.

Yıldız ve Benli (2004), sublethal (ölümcül düzeyin altında) nitrit konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları kerevitlerde (*A. leptodactylus*) hemolenf nitrit, THS ve glikoz seviyelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar nitrite maruz bıraktıkları kerevitlerde hemolenf nitrit seviyesinin doğrudan arttığını, sonrasında nitrit içermeyen suya aktarıldıklarında ise hemolenfteki nitritin azaldığını kaydetmişlerdir. Nitrite ek olarak, klorüre maruz bıraktıkları kerevitlerde, hemolenfte nitrit birikiminin sadece nitrite maruz bıraktıkları karideslerle kıyaslandığında nispeten daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. THS'lerin, nitrit mumelesine tepki olarak azaldığını ve genel olarak nitrit içermeyen suya maruz bıraktıklarında arttığını kaydetmişlerdir. Klorür ve nitrit uygulamaları sonrasında kerevitlerde düzleme sonucunda THS'lerin ve nitrit uygulamasını takiben hemolenf glikoz seviyelerinin yükseldiğini belirlemişlerdir.

Loc vd. (2013), karideslerde (*L. vannamei*) enfeksiyona karşı koruyan mekanizmaları daha iyi anlamak için post larvalarda ölümcül olmayan bir ısı şokunun ardından HSP70 ve bağışıklık ile ilişkili protein profenoloksidaz (proPO), peroksinektin, penaeidin, crustin ve hemosiyanini kodlayan mRNA'ları incelemişlerdir. Çalışmada 30 dakika süreli ani ısı şokunun kontrol grubuna kıyasla HSP70 mRNA'sını arttırdığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar ısı şokundan sonra HSP70 üretiminin, geliştirilmiş HSP70 mRNA ile korelasyona girdiğini ortaya koymuşlardır. Ölümcül olmayan ısı şoku sonrasında proPO ve hemosiyanin mRNA düzeylerinin arttığı, peroksinektin ve crustin mRNA düzeylerinin değişmediği sonucuna varmışlardır. Penaeidin mRNA'nın tüm ısı şoklarında da azaldığını kaydetmişlerdir.

Tu vd. (2008), çalışmalarında siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) hepatopankreas ve solungaçlarında enrofloksasinin (antibiyotik) oksidatif stres üzerindeki etkilerini araştırmış ve denemelerini

entansif (yoğun stoklama) ve ekstansif (düşük stoklama) kültür koşullarında gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar enrofloxasin ilacının karidesin oksidatif stres durumunda çok küçük değişikliklere neden olduğunu, bununla birlikte kültür sisteminin önemli bir etkide bulunduğunu belirtmişlerdir. Hepatopankreas lipid peroksidasyonunun (LPO) bazal düzeyinin entansif sistemde, ekstansif kültür sistemine göre daha yoğun olduğunu, glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesinin ise entansif sistemde daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca entansif kültür sisteminden ömelenen karideslerde yüksek solungaç katalaz (CAT) aktivitesi gözlemlenmiştir.

Mugnier vd. (2006), mavi karidesleri (*Litopenaeus stylirostris*) 48 saat boyunca gölet sedimentine maruz bırakmışlar ve fizyolojik tepkileri kabuk değiştirme safhalarıyla ilişkili olarak incelemişlerdir. Araştırmacılar hemolenfte hipo-osmoregülasyon kapasitesini (hipo-OC), magnezyum iyonlarını (Mg iyonları), glikozu ve toplam proteini incelemişlerdir. Gölette merkeze yakın muhafaza ettikleri karideslerin kabuk değiştirme evrelerinde kısa süreli stres yaşadıklarını ve bu arada Mg iyonu konsantrasyonunda %370 ila %500, glikoz konsantrasyonunda %200 ila %266 oranında artış, hipo-OC'de azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ang-lu vd. (2015), *Exopalaemon carinicauda*'daki ısı şok proteini (HSP) familyalarının (HSP70 ve HSP90) mRNA ekspresyonunu, akut sıcaklık stresini takiben araştırmışlar ve karideslerin 19, 23 ve 27°C sıcaklık stresine maruz bırakıldıklarında HSP70 mRNA ekspresyon seviyelerini 2 saat içinde arttırdıklarını ancak daha sonra denemenin sonuna (48 saat) kadar azalttıklarını, HSP90 mRNA ekspresyon seviyelerinin ise 2 saatte azaldığını ve denemenin sonuna doğru ise yükseldiğini belirlemişlerdir. Karidesin HSP70 ve HSP90 mRNA ekspresyonu arasındaki bu farklılığın ısı stresine gösterilen farklı rollerle ilişkili olabileceğini ve sonuçta bu her iki HSP genlerinin de karideslerin sıcaklığa dayanıklılıklarında çok önemli roller oynayabileceklerini ifade etmişlerdir.

Hall ve Ham (1998), çalışmalarında siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) farklı stres türlerinin hemolenf glikozuna etkisini 4 hafta süreyle 9, 23, 36 ve 50 karides/m² stok yoğunluğundaki tanklarda araştırmışlardır. Denemede ortalama kan glikoz konsantrasyonlarının 1.1 ile 1.3 mmol/L arasında değiştiğini ve bu değerlerin başlangıçtaki glikoz seviyelerinden önemli ölçüde farklı olmadığını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar, karidesleri 10 dakika su dışında beklettikten sonra veya çözünmüş oksijenin 6.5 mg/L'den 2.1 mg/L'ye düşürdüklerinde ise hemolenf glikoz seviyelerinin önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir (P<0.05). Karbondioksit ile suyun pH'sının 8.5'tan 5.9'a düşürülmesi, çözünmüş oksijenin 6.6 mg/L'den 5.9 mg/L'ye azaltılması ile glikoz düzeylerinde 1.1'den 2.3 mmol/L'ye kadar hızlı ve belirgin artışlar elde etmişlerdir. Buna karşılık, sülfürik asit ile su pH'sının 8.3'den 5.9'a düşürülmesiyle glikoz seviyelerinde önemli bir değişiklik meydana gelmediği sonucuna varmışlardır.

Fouzi vd. (2012), çalışmalarında 10 gün boyunca farklı toplam amonyak seviyelerine (TAN) (8.1, 3.8 ve 1.1 mg/L) ve beyaz spot sendromu virüsüne (WSSV) maruz bıraktıkları karideslerde (*P. monodon*) stres düzeyini alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), toplam protein (TP), glikoz ve elektrolit (Na⁺, Cl⁻, K⁺) ölçümleriyle belirlemeye çalışmışlardır. Denemenin 10. gününde 8.1 mg/L TAN'a

maruz bıraktıkları karideslerde hemolenf ALT, AST ve TP'nin önemli ölçüde yüksek olduğunu; 3.8 mg/L TAN'a maruz bıraktıkları karideslerde TP'nin önemli ölçüde düşük olduğunu saptamışlardır. WSSV enfekte ettikleri ve 10 gün boyunca amonyağa maruz bıraktıkları karideslerde stresin daha da arttığını tespit etmişlerdir. Bu grupta hemolenf TP seviyesinin 1.1, 3.8 ve 8.1 mg/L TAN muamelelerindeki artış ile birlikte önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Li ve Chen (2008), Pasifik beyaz karideslerini (*L. vannamei*) bağışıklık yanıtını ve *Vibrio alginolyticus*'a duyarlılığını düşük ve yüksek pH stresi altında belirlemek amacıyla pH 8.2'de muhafaza ettikleri karidesleri pH 6.5, 8.2 (kontrol) ve 10.1'e transfer ettikten sonra 6, 12, 24, 72 ve 120 saat süreyle bağışıklık parametrelerini, fagositik aktiviteyi ve karideslerin bakteriye karşı temizlenme etkinliğini (clearance efficiency; CE) incelemişlerdir. Denemede pH 6.5 ve 10.1'e transfer ettikleri karideslerin fenoloksidaz aktivitesi (PO), süperoksit dismutaz aktivitesinin (SOD), fagositik aktivite ve CE'nin 6-72 saatte önemli ölçüde azaldığını; 12-72 saat boyunca ise THS'nin azaldığını tespit etmişlerdir. pH 10.1'e aktardıkları karideslerin granüler hücre sayıları ve THS'nin 6 saat sonra, SOD aktivitesinin 72 saat sonra önemli ölçüde azaldığını kaydetmişlerdir. 120 saat sonra pH 6.5 ve 10.1'e transfer ettikleri karideslerin bağışıklık parametrelerinin orijinal değerlerine geri döndüğünü gözlemlenmiştir. Bununla birlikte 6.5 pH'ya aktardıkları karideslerde daha düşük fagositik aktivite ve CE gözlemlenmişler, dahası pH 10.1'e transfer sonucunda da daha düşük CE tespit etmişlerdir. Araştırmacılar düşük ve yüksek pH stresinin *L. vannamei*'de *V. alginolyticus*'a karşı direnç ve bağışıklık tepkisini incelenen parametreler açısından azalttığı sonucuna varmışlardır.

Hsu ve Chen (2007), Beyaz karideste (*P. vannamei*) sülfid stresi altında *V. alginolyticus*'a karşı duyarlılığını ve bağışıklık yanıtını araştırmak için karidesleri bakteri enjeksiyonundan sonra farklı konsantrasyonlarda sülfid içeren [0 (kontrol), 48, 111, 492 ve 1026 µg/L] su içine yerleştirmişlerdir. 48-144 saat sonra, bakteri enjekte edilen karideslerden 490 µg/L sülfite maruz bırakılanların ölüm oranının, kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir denemelerinde 6, 12, 24 ve 48 saat süreyle 0, 49, 105, 488 ve 967 µg/L sülfür koşullarında *P. vannamei*'nin bağışıklık parametreleri, fagositik aktivite ve bakteri temizlenme etkinliğini (CE) incelemişlerdir. Karideslerin 24 saat süreyle 490 µg/L sülfid konsantrasyonlarında hiyalin hücre sayısı, THS, PO, fagositik aktivite ve CE'de azalma gözlemlenmişler, buna karşın SOD aktivitesinde belirgin bir artış belirlemişlerdir. Çalışmada sonuç olarak sülfür konsantrasyonunun >490 µg/L olmasının, *P. vannamei*'nin *V. alginolyticus* enfeksiyonuna karşı duyarlılığını arttırdığını ve bağışıklık kabiliyetini azalttığını tespit etmişlerdir.

Pan vd. (2003), astaksantin ilave edilmiş diyet ile besledikleri siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) juvenillerinin amonyak stresine karşı direncini araştırmışlardır. Karideslerin antioksidan kapasite parametrelerini hemolenfosit total antioksidan (TAS) ve süperoksit dismutaz (SOD) olarak, kimyasal stres direncini hayatta kalma oranı, AST ve ALT ile değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar 8 hafta boyunca astaksantin ile besledikleri karidesleri 0.02, 0.2, 2.0 ve 20 mg/L amonyak değerlerine 72 saat süresince maruz bırakmışlardır. Astaksantin ile beslenen karideslerin hayatta kalma oranının, 20 mg/L dozu dışında, her amonyak seviyesi için kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Astaksantin ile

beslenenlerde 0.02 mg/L'den daha yüksek amonyak seviyelerinde daha yüksek TAS ve tüm amonyak seviyelerinde de daha düşük SOD seviyeleri belirlemişlerdir. Muamele grubunda AST'nin amonyak stresinin tüm seviyelerinde kontrol karideslerine göre düşük olduğunu ALT'nin ise düşük veya eşit olduğunu bildirmişlerdir.

Chien vd. (2003), astaksantin ilave edilmiş diyet ile besledikleri siyah kaplan karidesi (*P. monodon*) juvenillerinin fiziksel strese karşı direncini araştırmışlar; antioksidan kapasite parametrelerini TAS ve SOD ile, termal ve ozmotik stres direncini stres sonrası yaşama oranı (recovery rate), AST ve ALT ile değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar 8 hafta boyunca 0 ve 80 mg/kg ile desteklenmiş diyetle besledikleri karides juvenillerini 5 dakika boyunca ani sıcaklık (27°C'den 0°C'ye) ve tuzluluk (%32'den %0'a) değişikliklerine maruz bırakmışlardır. Astaksantin katkılı yemlerle beslenen karideslerde (%56) kontrol grubuna (%48) kıyasla daha yüksek yaşama oranı ve daha yüksek termal ve ozmotik stres direnci tespit etmişlerdir. Ayrıca, diyetle astaksantin varlığı ile TAS'ın düzeldiğini ve SOD'un azaldığını tespit etmişlerdir. Kontrol grubundaki karideslerde hemolenf AST değerinin, test gruplarındakinden önemli derecede daha yüksek olduğunu, karides hepatopankreas fonksiyonlarının diyetle astaksantin ile iyileşmiş olabileceğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte karidesteki hemolenf AST ve ALT içeriğinin sırasıyla termal ve ozmotik stresleri takiben karides sağlığının iyileşmesini yansıtmadığı sonucuna varmışlardır.

Saeed vd. (2015), çalışmalarında *L. vannamei*'nin tuzluluk stresinin kan parametreleri üzerine etkisini araştırmışlar; çalışmada %30 tuzluluğa kıyasla, %15 ve %45 tuzluluğun kan plazmasında hematosit hücrelerinde ve toplam protein değerlerinde belirgin bir düşüş oluşturduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Araştırmacılar tuzluluğun artış veya azalmasından kaynaklanan stresin bağışıklık sistemindeki anormalliklerle ilişkili olabileceği sonucuna varmışlardır.

Li vd. (2010), %35 tuzlulukta yetiştirdikleri karideslerde (*L. vannamei*) *V. alginolyticus* enjeksiyonu ve düşük tuzluluk stresi kombinasyonunun doğal bağışıklığa etkisini araştırmışlardır. Çalışmada karidesleri %25, %20 ve %15 tuzlulukta sulara transfer etmişler ve 1, 6, 12, 24, 72 ve 120 saat sonra hiyalin hücre sayımı (HC), granüler hücre sayımı (GC, yarı-granüler hücre de dahil olmak üzere), toplam hematosit sayımı (THS), PO ve SOD açısından incelemişlerdir. Düşük tuzluluk seviyelerine transfer ettikleri karideslerde THS, PO aktivitesi, RB ve SOD aktivitelerinin sırasıyla 6, 6, 6 ve 1 saatte önemli ölçüde azalmaya başladığını ve en düşük seviyeye 12 saatte ulaştığını belirlemişlerdir. Kontrol grubuna kıyasla %15 tuzluluğa transfer ettikleri ve enjeksiyon yapmadıkları karideslerde HC, GC, THS, PO aktivitesi, RB ve SOD aktivitelerinin sırasıyla %41, %49, %68, %39 ve %62 oranında azaldığını, enjeksiyon yaptıkları karideslerde bu değerlerin sırasıyla %79, %78, %79, %82, %54 ve %72 oranında azaldığını tespit etmişlerdir. Bakteri enjeksiyonu ve düşük tuzluluk transferi kombine streslerine maruz bıraktıkları karideslerde doğal immünitenin zayıfladığı sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar karides yetiştiriciliğinde, düşük tuzluluk stresiyle beraber bir patojen tarafından enfekte olduklarında karidesin doğal bağışıklık parametrelerinin daha da kötüleşmesini önlemek adına karideslerin yetiştiriciliğinde sabit yüksek tuzlulukların tercih edilmesi gerektiğinin önermişlerdir.

Wang ve Chen (2005), beyaz karideslerin (*L. vannamei*) bağışıklık yanıtını ve farklı tuzluluk düzeylerinde *V. alginolyticus*'a duyarlılığını incelemişler; %25 tuzlulukta deniz suyunda bulunan karideslere *V. alginolyticus* (1×10^4 cfu/karides) enjekte etmişler ve sonra %5, 15, 25 (kontrol) ve 35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar %25 tuzlulukta tuttukları karidesleri %5, 15, 25 (kontrol) ve %35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar %25 tuzlulukta tuttukları karidesleri %5, 15, 25 (kontrol) ve %35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar %25 tuzlulukta tuttukları karidesleri %5, 15, 25 (kontrol) ve %35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar %25 tuzlulukta tuttukları karidesleri %5, 15, 25 (kontrol) ve %35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Araştırmacılar %25 tuzlulukta tuttukları karidesleri %5, 15, 25 (kontrol) ve %35 tuzlulukta tutulan karideslere göre önemli derecede yüksek olduğunu, en yüksek ölüm oranının ise %5 tuzlulukta görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Chiu vd. (2007), *Lactobacillus plantarum* tarafından indüklenen beyaz karideste (*L. vannamei*) bağışık yanıtını ve gen ekspresyonunu araştırmışlar; çalışmada karidesleri *L. plantarum* içeren diyetlerle 48 ve 168 saat boyunca beslemişler [0 (kontrol), 10^7 ve 10^{10} cfu/kg diyet] ve ardından karideslerde THS, PO, SOD, fagositik aktivite ve bunlara ek olarak profenoloksidaz (proPO), lipopolisakarit ve β -1,3-glukan bağlayıcı protein (LGBP), serin proteini (SP) ve peroksinektin (PE) mRNA transkripsiyonunu ve *V. alginolyticus*'a duyarlılığı incelemişlerdir. Araştırmacılar karideslerde PO aktivitesi, SOD aktivitesi, CE değerleri ve diğer bazı parametreleri incelemişlerdir. Çalışmada proPO ve PE mRNA transkripsiyonu ve *V. alginolyticus* ile mücadele sonrası hayatta kalma oranının önemli ölçüde arttığını, ancak 168 saat boyunca 10^{10} cfu/kg diyetle besledikleri karideslerin THS sayısının önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, farklı muameleler arasında karideslerin fagositik aktivitesi, LGBP veya SP mRNA ekspresyonunda önemli farklılıklar gözlemlenmemişlerdir. Araştırmacılar 10^{10} cfu/kg içeren diyetin *L. vannamei*'lerin bağışıklık kabiliyetini ve *V. alginolyticus* enfeksiyonuna direncini arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Chen vd. (2014) bir çalışmada, *Petalonia binghamiae* özütünü *in vitro* ve *in vivo* yöntemle beyaz karideslerin (*L. vannamei*) bağışıklık tepkisini ve *V. alginolyticus*'a karşı direncini incelemişler ve bu amaçla 1 mg/mL ekstrakt ile inkübe ettikleri karides hematositlerinde, PO ve solunum patlamasında (RB) artış tespit etmişlerdir. Karideslerde THS, PO ve solunum patlamasının 48, 96 ve 144 saat sonra, SOD aktivitesinin ise 48 saat sonra 6 ve 10 μ g/g ekstrakt dozunda önemli ölçüde yükseldiğini kaydetmişlerdir. 6 ve 10 μ g/g ekstrakt alan karideslerin fagositik aktivitesi ve CE değerleri 24, 48, 96 ve 144 saat sonra salin ve kontrol gruplarına göre önemli ölçüde yüksek çıkmıştır.

Cheng vd. (2006), farklı dozlarda noradrenalin (10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} mol/karides) enjekte ettikleri beyaz karideste (*L. vannamei*) bağışık modülasyonunu incelemişlerdir. THS'nin 2 saat sonra sırasıyla %15, %21 ve %32 oranında, fagositik aktivitenin de 2 saat sonra her dozda önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir.

Karideslerde THS'nin 4 saat, fagositik aktivitenin ise 16 saat sonra normal değerlere geri döndüğünü tespit etmişlerdir.

Cheng vd. (2005a), dopaminin beyaz karideste (*L. vannamei*) bağışıklı sistemi üzerine etkisini araştırmış; bu amaçla, karideslere farklı dozlarda (10^{-8} , 10^{-7} ve 10^{-6} mol/karides) dopamin enjekte etmişlerdir. 10^{-7} ve 10^{-6} mol/karides doz gruplarında 4 saat sonra THS %25 ve %39 oranında azalmış, fagositik aktivite de 2 saat sonra önemli ölçüde azalmıştır. Araştırmacılar karideslerde THS'nin 16 saat, fagositik aktivitenin ise 4 saat sonra normal değerlere geri döndüğünü tespit etmişlerdir.

Chen vd. (2015a), farklı tuzluluklara (%0.25, 5, 10, 15, 25 ve %35) maruz bıraktıkları juvenil beyaz karideste (*L. vannamei*) büyüme ve immün parametrelerini incelemişlerdir. Karideslerin hayatta kalma oranlarının sırasıyla %20, %40, %77, %83, %90 ve %90 olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek tuzluluklara maruz bıraktıkları karideslerin (%0.25 ve %35) ağırlık ve uzunluklarının düşük tuzluluğa göre önemli ölçüde yüksek, spesifik büyüme oranlarının (SBO) düşük tuzluluktakilere (%0.25, %0.5, %10 ve %15) kıyasla %25 tuzlulukta önemli ölçüde yüksek olduğunu bulmuşlardır. Karideslerde %15, %25 ve %35 tuzlulukta yetiştirilenler, %0.25, %0.5 ve %10'da yetiştirilenler ile karşılaştırıldığında, daha fazla şeffaf ve granül hücreye, önemli ölçüde yüksek THS seviyesine, PO, SDO ve lizozim aktivitelere sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Yao vd. (2008), Çin karidesinde (*F. chinensis*) laminarin ve *V. Anguillarum* enjeksiyonunun kan hücrelerindeki lizozom ve lizozim aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Uygulamadan sonra hematositlerin lizozim aktivitesinin aynı anda orta seviyede bir artış gösterdiğini, laminarin enjeksiyonundan 3 saat sonra ise yarı granüler hücre sayımlarının en yüksek düzeye ulaştığını ve THS'nin arttığını tespit etmişlerdir. Hiyalin hücrelerinin yüzdesinin *V. anguillarum* enjeksiyonundan sonra net olarak artış gösterdiğini de kaydetmişlerdir ($p<0.05$). Araştırmacılar lizozom membran stabilitesi ve lizozim aktivitesini kullanarak karideslerde immün durumunun değerlendirilebileceğini önemşlerdir.

Wang ve Chen (2006), %25 tuzluluk ve 26°C sıcaklıkta tuttıkları siyah kaplan karidesine (*P. monodon*) *Photobacterium damsela* enjekte etmişler ve karidesleri 22, 26 °C'den (kontrol), 30 ve 34°C su sıcaklıklarına naklederek sıcaklık stresi altındaki karideslerin immün yanıtlarını incelemişlerdir. Bakteri enjeksiyonu yaptıkları karideslerin 24-96 saat süresince ölüm oranının 22-34°C sıcaklıklarda, 26-30°C sıcaklıklarda bulunan karideslere kıyasla, önemli ölçüde yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Karideslerde THS (total hematosit sayısı), PO (fenoloksidaz aktivitesi), SOD, fagositik aktivite ve CE'nin 24-96 saat sonra 22 ve 34°C su sıcaklıklarında önemli ölçüde düşük olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar *P. monodon*'u 26°C'den 22 ve 34°C su sıcaklıklarına transfer ettiklerinde karideslerin *P. damsela* enfeksiyonuna karşı direncinin azaldığı sonucuna varmışlardır.

Son zamanlarda Pasifik beyaz karidesinde (*P. vannamei*) termal stres, pH dayanıklılık testi, ağır metal testi (Qian vd., 2012) ve bakteriyel dayanıklılık testi (Zhou vd., 2010) neticesinde, bu çevresel stres faktörlerinin akut etkilerinin veya uzun açlık periyodu ve ardından yeniden beslemenin (Lin vd., 2012) farklı HSP gen ekspresyonlarına (LVHSP60, LVHSP70, LVHSC70, ve LVHSP90 veya HSP60 ve HSP70)

etkileri çalışılmıştır. Ancak, karideslerde stoklama yoğunluğunun stres oluşturduğuna (akut veya kronik) ve bunun farklı dokularda (et, solungaç ve hepatopankreas) HSP'lerin sentezlenmesine yol açtığına dair bugüne kadar herhangi hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, yine karideslerin bağışıklık sistemlerinin yüksek stok yoğunluklarında nasıl etkilendiğine dair formalin testi, salinite testi ve bakteriyel dayanıklılık testi çalışmaları da henüz araştırılmamış konulardır. Üstte belirtilen eksikliklerin giderilmesi amacıyla projemizin 2. ve 4. Denemelerinde, stok yoğunluğu artışı ve stres ile ilgili proteinlerin (HSP) gen ekspresyonları arasındaki ilişki, ve ayrıca dayanıklılık testleri ile geliştirmeyi hedeflediğimiz prototip üretim modelimizde kullanabileceğimiz maksimum sürdürülebilir stok yoğunluğu belirlenmeye çalışılacaktır. Bu çalışmalardan stok yoğunluğu, dayanıklılık testleri ve HSP ilişkisi ile her iki karides türünün de stoklama yoğunluğuna verdikleri tepkinin araştırılması ve karşılaştırılabilecek olması bu projenin en özgün yönlerindedir.

2.9. Bir Stressor Olarak Süper-Entansif Stoklama Koşullarında Karides Yetiştiriciliğinde Ekonomik ve Sürdürülebilir Olabilir mi?

Karides yetiştiriciliğindeki başarı temelde birim alandan elde edilecek üretimin artırılmasına yönelik teknolojik gelişmeler ve havuz su kalitesinin sürdürülebilirliğine bağlıdır. Bina-içi veya sera-içi super-entansif üretim sistemleri özellikle ılıman iklim kuşağında (ülkemiz gibi) yüksek stok yoğunluklarında ve mevsimlere bağlı kalmadan yıl boyu üretim yapabilmeye şansı verebilmektedir. Bu çeşit sistemlerde çoğu zaman hastalık bulaşma riski çok düşük olup, özellikle yararlı bakterilerin (probiyotikler) kullanımı ve atıkların kontrol altında tutulmasıyla önemli başarılar elde edilebilmektedir (Schock vd., 2013). Akdeniz'in Çukurova Bölgesi'nde düşük tuzlulukta ve 21-24°C sıcaklıkta çıkan yer altı suları karides yetiştiriciliği için (özellikle de sera altında bulunan toprak veya beton havuzlarda) mükemmel fırsatlar sunmaktadır. Akışkan veya resirküle sistemlerde, bölgede denizde yetiştiricilik yapılan tesislerde sezonal olarak görülen paraziter, bakteriyel ve viral hastalıkların da resirküle üretim sistemlerinde görülme riski daha düşük olacaktır.

Bilindiği üzere, bir ürünün piyasada kabul görmesi, sürdürülebilirliği ve yüksek fiyatlarla pazarlanabilmesi için yıl boyu ve istenen kalitede arzı çok önemlidir. İşte önerdiğimiz bu projenin çıktılarında birisi de; resirküle sistemlerde yapılacak olan üretim sayesinde piyasaya yeni bir ürün olarak karidesin yılın her döneminde aynı kalite ve boyutta ve taze (dondurulmamış) olarak verilebilmesine olanak tanıyan bir üretim modeli geliştirilecek ve bu da karides yetiştiriciliğinin ülkemizde daha çok ilgi çekmesine neden olacaktır. Geleneksel üretim yöntemlerine göre resirküle sistemlerin gerek ilk yatırım gerekse işletim maliyetleri daha yüksek olduğu için birim alandan olabildiğince yüksek ürün alınabilmesi ve yenilenebilir enerji kaynaklarının (solar veya rüzgar) sisteme entegrasyonu büyük avantajlar sağlayabilir. Entansif stok yoğunluklarında üretim esnasında sorunlar yaratan yüksek amonyak ve nitrit seviyeleri sadece su kalitesini düşürmekle kalmazlar aynı zamanda karideslerde iştahı azaltarak büyüme üzerine olumsuz etkilerde bulunabilir ve kitlesel ölümlere neden olabilirler. Ticari probiyotiklerin profilaktik dozlarda düzenli olarak sucul ortamda kullanılmaları, bu nitrojenli atıkların ve hatta fosfor atıklarının da kontrol altında güvenli

seviyelerde tutulmasını sağlar. Son yıllarda özellikle resirküle sistemlerde çok yoğun stoklama koşullarında beyaz karides üretiminin yaygınlaşması özellikle havuz sularında probiyotik kullanımı sayesinde mümkün olabilmektedir. Gerçekten de, Mart 2015'te Çin'in Qingdao Eyaleti'ne yaptığımız bir teknik gezide, jeotermal bir su kaynağı kullanarak üretim yapan bir firmada, düzenli probiyotik kullanımı sayesinde karides (*P. vannamei*) stoklama oranının 600 adet/m²'ye kadar çıkarıldığına (ki bu m² havuz taban alanından tek hasatta 12 kg, ve yılda üç hasatta 36 kg ürün anlamına gelmektedir) bizzat şahit olunmuştur. Probiyotiklerin üretim havuzlarında biyolojik kontrol ajanları olarak kullanımı ile doğal patojenlerin baskılanması ve su kalitesinin yükseltilmesi ile ilgili olumlu sonuçlar alınmakla birlikte, halen bu alanda bilinenler sınırlı olup, kullanılan ticari ürünlerde uygulanması gereken standart protokoller ve yöntemlerde bazı araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu proje resirküle sistemlerde probiyotik kullanımındaki bazı eksiklikleri gidermek ve yeşil kaplan karidesinin üretiminde ilk kez bu ürünleri denemek ve sistemimize uygun protokoller geliştirmek amacıyla da tasarlanmıştır.

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda yeşil kaplan karidesinin yüksek stoklama yoğunluklarında iyi bir büyüme performansı göstermediği belirlenmiştir (Kumlu vd., 2010c; Gaber vd., 2012). Bunun sebebinin ne olduğu net belirlenmiş değildir; aslında bu karides türüne özgü bir yem formülasyonu henüz geliştirilmemiş ve yetiştiriciliklerinde de probiyotikler hiç denenmemiştir. Ülkemizde yeşil kaplan karidesinde ilk stoklama ve büyüme çalışmaları tarafımızca başlatılmıştır (Şereflişan vd., 1998; Kumlu vd., 2003; Kumlu vd., 2010c). Bu çalışmalarımızda bu karides türünün m²'de 30 adet yoğunluğa kadar başarıyla yetiştirilebileceği, daha düşük stoklama yoğunluklarında 140 günde karideslerin 20 gram civarına kadar büyütülebileceği gösterilmiştir. Türkmen (2007a) de benzer şekilde bu karidesi 15 adet/m² yoğunlukta havuzlarda 0.02 g ağırlıktan 5 ayda 16.46 gram ağırlığa ulaştırmıştır. Türkiye'de yeşil kaplan ile yürütülen tüm çalışmalarda da beslemede (karides yemi ülkede bulunamadığından) çipura için formülize edilmiş yemler kullanılmak zorunda kalınmış ve bu da ister istemez türün optimum performansını gölgelemiştir. Kuveyt'te yürütülen bir araştırmada 0.8-1 m çapında (500-L) tanklarda bu karides türü 24, 50, 74 ve 100 adet yoğunluklarda yetiştirilmiş ve umut vaadeder bir şekilde 100 adet/m³ (m²'de 50 adet) yoğunlukta bile bu karidesin iyi büyüdüğü ancak yem değerlendirme oranının bu yoğunlukta 3.17'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir (Al-Ameeri ve Cruz, 2006). Bu araştırmacıların çalışmasında *P. japonicus* için geliştirilmiş kaliteli bir yem kullanıldığı ve bu yüksek performansın bundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bundan dolayı, bu projenin 1. Denemesinde yeşil kaplan karidesi için ekonomik, su stabilitesi yüksek ve aynı zamanda kaliteli bir yem formülasyonu geliştirilmesi ve devamında da 3. Denemede farklı probiyotikleri de devreye sokarak yüksek stoklama yoğunluklarında bile daha üst seviyede performans alınması hedeflenmiştir.

Karideslerde stoklama yoğunluğunun büyüme ve yem tüketimi üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar aşağıda özetlenmiştir;

Pasifik beyaz karidesinde (*P. vannamei*) yapılan bir çalışmada, üç farklı stok yoğunluğunun (25, 38, 65 adet/L) yetiştirme süresince (65 gün) büyüme ve hayatta kalma oranı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Karideslerde 25 ve 38 adet/L post-larva (PL) stok yoğunluklarının hayatta kalma ve büyümeye hiçbir etkisi olmadığı ($P>0.05$), 65 adet/L stok yoğunluğunun ise yemden daha etkin yararlanma oranı sayesinde önemli ölçüde yüksek bir biyomas (1.3 kg/m^3) ve daha yüksek hayatta kalma oranı (%61) sağlayabildiği belirlenmiştir (Rouse ve Davis, 2004).

Ravuru vd. (2014), karideslerin (*L. vannamei*) büyüme ve diğer üretim parametreleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla, her havuza 500 adet/m^2 post-larva stoklamışlar ve pelet yem ile yaklaşık 4 ay süreyle (120-126 gün) beslemişlerdir. Üretimin her bir havuz için sırasıyla 8337, 8932 ve 9450 kg olduğunu belirlemişler; YÇO'yu 1.78, 1.81 ve 1.82 olarak, hayatta kalma oranını ise %86, %88 ve %90 olarak hesaplamışlardır. Nihai ortalama ağırlığını çalışma sonunda, sırasıyla, 27.7, 29.0 ve 30.0 g olarak bulmuşlardır.

Gunalan vd. (2010), çalışmalarında farklı stok yoğunluklarının MBV *Monodon baculovirus* ile enfekte olan *Penaeus monodon* postlarvaları üzerindeki etkisini 3 farklı stoklama yoğunluklarında (6, 10 ve 15 PL/ m^2 ; D1, D2 ve D3) değerlendirmek için üç buçuk aylık bir çalışma yapmışlardır. En düşük stoklama grubu olan D1'de önemli ölçüde yüksek üretim ve hayatta kalma oranı belirlemişlerdir.

Herrera vd. (2006), çalışmalarında Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) stok yoğunluğunun (50, 60 ve 70 karides/ m^2) toprak havuzlarda büyüme üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonbahar-kış aylarında stoklama yoğunluğunun büyüme üzerinde önemli ölçüde farklı etkiler göstermediğini, nihai ortalama ağırlıkların sırasıyla 12.77 g, 12.72 g ve 12.40 g, ve toplam veriminin ise 3.609 kg, 5.093 kg ve 5.681 kg/ha olduğunu kaydetmişlerdir. Buna karşılık, ilkbahar-yaz ayları boyunca ortalama büyüme ve nihai verim arasında istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılıklar olduğunu, sırasıyla nihai ortalama ağırlıkların 18.63 g, 13.46 g ve 11.86 g ve verimin 7.243 kg, 7.307 kg ve 8.011 kg/ha olduğunu gözlemlemişlerdir. Kış aylarında düşük su sıcaklıklarının üretimi olumsuz etkilediğini, ilkbahar-yaz aylarının yüksek sıcaklıklarında ($\geq 23^\circ\text{C}$) daha yüksek performans elde edilebildiğini bildirmişlerdir.

Sookying vd. (2011), çalışmalarında açık havuz ve tank koşullarında kültüre alınan ve yüksek miktarda soya fasulyesi unu içeren diyet ile beslenen Pasifik beyaz karideslerinde (*L. vannamei*) stok yoğunluğunun büyüme performansı ve ekonomik fizibilite üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Juvenil karidesleri (0.015 g başlangıç ağırlığı) 0.1 ha havuzlara 17, 26, 35 ve 45 adet/ m^2 stok yoğunluklarında stoklamışlardır. Ayrıca yavru *L. vannamei*'leri de (2.8 g başlangıç ağırlığı) 24.800 L tanklara 15, 25, 35, 45, 55 ve 65 adet/ m^2 olarak stoklayıp 10 hafta süreyle büyütmüşlerdir. Havuz çalışmasının sonucunda (14 hafta) stok yoğunluğu ve büyüme arasında negatif bir korelasyon eğilimi olduğunu belirlemişlerdir. Karideslerin muameleler arasındaki ortalama ağırlığının 20.70-25.25 g arasında, hayatta kalma oranının %58.0 ile %65.1 arasında, YÇO değerinin ise 1.17 ile 1.54 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Bu farklılıkların, muameleler arasında önemli olmadığını ($P>0.05$), bununla birlikte yüksek stok yoğunluğunun önemli ölçüde daha fazla verim sağladığını belirlemişlerdir. Nihai üretimin 2660 ile 6149 kg/ha arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Açık hava koşullarında tank sisteminde de büyümenin stok yoğunluğuyla ters orantılı olduğunu ve ortalama nihai ağırlığın 13.42 ile 16.13 g arasında değiştiğini

gözlemlenmişlerdir. Nihai biyomasın 286.15 ile 637.20 g/tank arasında, hayatta kalma oranının %93.4 ile %100.0 arasında değiştiğini, bununla birlikte stoklama yoğunluğunun hayatta kalma oranı üzerinde herhangi bir etki yaratmadığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, bu çalışmada stok yoğunluğu ile YÇO arasında 1.15 ile 1.54 arasında değişen negatif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Shakir vd. (2014), siyah kaplan karideslerinde (*P. monodon*) stoklama yoğunluğunun (6 ve 12 PL/m³) hayatta kalma oranı ve büyüme performansı üzerine etkisini dört aylık süre boyunca araştırmışlardır. Düşük stoklamada (LD) karideslerin hayatta kalma oranlarının yüksek (%68.4), yüksek yoğunlukta (HD) düşük (%51.7) olduğunu ortaya koymuşlardır. Deneme sonu ortalama vücut ağırlığını LD grupta 27.8 g, HD grupta ise 24.6 g olarak ölçmüşlerdir. Buna ek olarak LD grupta ortalama YÇO değerinin 1.8, HD'de ise 2.3 olduğunu kaydetmişlerdir.

Yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*) için toprak havuzlarda yapılan bir çalışmada stok yoğunluğu ve su değişim oranının büyüme performansı üzerine etkisi belirlenmiştir. Çalışmada stok yoğunluklarının 5, 15 ve 25 PL/m³ ve su değişim oranının %10 ve %20 olduğu kaydedilmiştir. Su değişimi ile deneme sonu ortalama ağırlık (g), ağırlık artışı (g/PL), yüzde ağırlık artışı, SBO (%/gün), yem çevrim oranı (YÇO), su değişimi, yağ kazancı ve enerji kullanımı arasında önemli ölçüde fark olduğu tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$). Çalışmada yeşil kaplan karidesinin ideal stoklama yoğunluğunun 15 PL/m² ve su değişim oranının %20 olabileceği sonucuna varılmıştır (Gaber vd., 2012).

Kumlu vd. (2010c), yarı-tropik iklim şartlarında, kışlattıkları veya mevsim öncesinde ürettikleri yeşil kaplan karideslerinin (*P. semisulcatus*) yarı-entansif ve entansif sistemlerdeki havuz/tank kültür koşullarında büyüme performansını çalışmışlardır. A havuzunda, mevsim-öncesinde üretilen post-larvaların (PL) 0.06 g günlük büyüme oranıyla (GBO), 140 günde, 0.2 g'dan 22.6 g'a kadar doğrusal bir şekilde büyüdüğünü kaydetmişlerdir. B havuzunda, kışlatılmış yavruların ilk 30 gün içerisinde 0.41 g GBO ile (14.42 g'lık canlı ağırlık kazancı; CAK) ve 30 ile 140. günler arasında ise 0.13 g GBO ile (14.32 g CAK) 3.8 g'dan 30.5 g'a kadar ulaştığını belirlemişlerdir. 30 adet/m² PL stok yoğunluğunda karidesler (0.2 g) 140 gün içerisinde, 13.7 g'a (GBO 0.10 g) ve 40-50 adet/m² PL yoğunluğunda ise 6.44-7.37 g'a (GBO 0.05 g) ulaştığını kaydetmişlerdir. Elde edilen ürün miktarını yarı-entansif havuzlarda 880-1.150 kg/ha, entansif havuzlarda ise 1.597-2.673 kg/ha olarak hesaplamışlardır. Beton havuzlarda büyüttükleri karideslerin daha da düşük bir performans gösterdiğini ve bu havuzlardan sadece 879 ile 793 kg/ha ürün alınabildiğini tespit etmişlerdir.

Balakrishnan vd. (2011), çalışmalarında kültürü yapılan karidesin (*L. vannamei*), toprak havuzlarında (0.8-0.9 ha), farklı stok yoğunluklarında (50, 56.25, 51.25 ve 61.11 adet/m²) büyümesini 110 gün süreyle incelemişlerdir. Deneme sonunda ortalama ağırlıkların sırasıyla 21.2, 18.9, 19.6 ve 17.5 g olduğunu; hayatta kalma oranlarının %82, 92, 81, ve 80 olduğunu ve YÇO'ların 1.4, 1.34, 1.38 ve 1.35 olduğunu tespit etmişlerdir. Ortalama hasat edilen ürün miktarının sırasıyla 8750, 9813, 8138 ve 8591 kg/ha olduğunu kaydetmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada *L. vannamei*'lerde büyümenin doğrudan stok yoğunluğuyla ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Suriya vd. (2016), *L. vannamei*'nin stok yoğunluğunun hayatta kalma ve büyüme performansı üzerine etkisini dört farklı karides çiftliğinde araştırmışlar ve stok yoğunluklarını 100 adet/m² ve 12 adet/m² olarak belirlemişlerdir. Karideslerin hayatta kalma oranını, sırasıyla %80 ila %90, YÇOK değerleri 1.39 ile 1.4, ortalama vücut ağırlığı 20 ila 34 g ve toplam üretim ise 5861 ile 9500 kg olarak kaydetmişlerdir.

Lin vd. (2015), çalışmalarında farklı stok yoğunluklarında (2, 10, 20, 30 ve 40 karides/L) yetiştirilen beyaz karideslerde (ortalama 12.2 g) (*L. vannamei*) *V. alginolyticus* enfeksiyonu ve WSSV direnci ile ilişkili olarak immün parametreler araştırmışlardır. Hematosit sayımı, PO, solunum patlaması, SOD, lizozim aktivitesi ve hemolenf proteini dahil tüm immün parametrelerin stok yoğunluğu ve zamanla negatif olarak ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar 12 saat enfeksiyon sonrasında 10 adet/L stok yoğunluğunda yetiştirilen karideslerin PO aktivitesi, SOD aktivitesi ve lizozim aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu immün parametrelerin proteinle ilişkili transkript seviyelerinin 12 saat sonra 20, 30 ve 40 adet/L stok yoğunluklarında azaldığını kaydetmişlerdir. Karideslerde *V. alginolyticus*'a karşı fagositik aktivite ve CE değerlerinin 12 saat sonra 30 ve 40 adet/L stok yoğunluğunda önemli ölçüde düşük olduğu sonucuna varmışlardır. Ölüm oranının 20 ve 40 adet/L stok yoğunluğunda 2 adet/L stok yoğunluğundan sırasıyla 12-144 ve 12-48 saat boyunca önemli ölçüde yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar yüksek yoğunluklarda yetiştirdikleri karideslerin (>10 karides/L) bağışıklıkla ilişkili proteinlerin ekspresyon seviyelerinin azalması ile birlikte bağışıklık parametrelerinin ve patojenlere karşı direncin azalmasının, bağışıklık sistemindeki bozulmaları belirttiğini ifade etmişlerdir.

Li ve Wang (2006), Çin karidesinde (*F. chinensis*) çözülmüş oksijen seviyesi ve stok yoğunluğunun (50, 200 ve 600 adet/m³; ortalama 1.78 g) büyüme ve spesifik olmayan (doğal) bağışıklık parametreleri üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, karideslerin büyüme, hayatta kalma oranı, kabuk değiştirme, yem alımı ve yem çevrim etkinliğinin (YÇE) çözülmüş oksijen konsantrasyonu (DO) muameleleri arasında önemli ölçüde farklı olmadığını belirlemişlerdir (P>0.05). Karideslerde stok yoğunluğunun artmasıyla birlikte büyüme, hayatta kalma oranı, YÇE ve PO enzim aktivitesinin azaldığını, bunun aksine yem tüketimi ve POD enzim aktivitesinin arttığını ifade etmişlerdir. Karideslerde DO konsantrasyonu ve stoklama yoğunluğunun ağırlık artışı, kabuk değiştirme, O₂ tüketimi, yem alımı, Ua ve hemolizin aktivitelerinde interaktif bir etkiye sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar bu sonuçlar neticesinde DO seviyesinin spesifik olmayan bağışıklık faktörleri (SOD, POD, Ua, Ul ve hemolizin) üzerinde etkili olduğunu, bununla birlikte stok yoğunluğunun ise daha çok yem alımı veya enzim (PO, POD ve hemolizin) aktiviteleri yoluyla karidesin büyüme performansını etkilediğini ve her iki faktörün (stok yoğunluğu ve DO) interaktif etkilerinin karides yetiştiriciliğinde önemli roller oynadığını ortaya koymuştur.

2.10. Karides Yetiştiriciliğinde Bir Resirküle Sistem Ekonomik Bir Şekilde Kurulup İşletilebilir mi?

Gelişmiş batı ülkelerinin aksine Çin gibi gelişmekte olan ülkelerde resirküle sistemler çok daha basit ve ucuz malzeme ve ekipmanlar kullanılarak tasarlanabilmektedir. Son yıllarda yaşanan teknolojik gelişmeler ve alternatif enerji kaynaklarının kullanımının kısmen ucuzlayarak yaygınlaşmaya başlaması

akvakültür sektörü için de ekonomik çözümler üretilmesine imkan vermektedir. Bu kapsamda, bitkisel üretimde de çok yaygınlaşan sera sistemlerinin, basit tanklar ve ucuz tank kaplama materyallerinin (HDPE vb. jeomembran) ve endüstriyel atık sıcak su/solar/rüzgar/jeotermal enerji kaynaklarının kullanılması büyük avantajlar sunabilir. İngiltere’de bir ticari firma endüstriyel atık-su kaynağı (ısınmış) ile resirküle sistemlerde 1000 ton karides (*P. vannamei*) üretebildiğini (m²den yılda 25-30 kg ürün) bildirmektedir. 2014 yılında Çin’in Qingdao eyaletinde ziyaret ettiğimiz bir firma 1200 m² kapalı alandan (basit bir sera sisteminde) 800 m derinlikten çekilen bir jeotermal kuyudan çıkarttıkları sıcak suyu kullanarak havuzların her m²sinden her üründe 12 kg (3 üründe yılda 36 kg) ve her biri 100 m²den ibaret 10 adet beton havuzdan yılda toplamda 36 ton gibi mükemmel bir üretim (*P. vannamei*) rakamı elde etmektedir. Yenilenebilir enerji imkanları bolca bulunan ülkemizde, Çin’lilerin yaptığına benzer düşük-teknolojili ve düşük-maliyet ile kurulan benzer sistemlerin rahatlıkla su ürünleri sektörümüze kazandırılabilmesi ve bu sistemlerde karides gibi çok değerli yeni ürünlerin üretilmesi mümkündür. Bu çerçevede, projemizin 4. Denemesinde basit bir sera ve çok katlı tank sisteminden ibaret (altı katlı) basit bir resirküle sistem kurulacak ve bu sistemdeki suyu çevirecek olan 1 adet su pompası, 1 adet blower ve 1 adet ısı pompasını çalıştıracak güçte bir solar enerji santrali entegre edilerek yepyeni, ekonomik ve sürdürülebilirlik şansı yüksek olan bir prototip üretim modeli test edilecektir. Bu düşük maliyetli resirküle sistemde hassas filtrasyon ile UV ve/veya ozon jeneratörü ile sterilizasyon üniteleri özellikle sisteme dahil edilmemiş olup, karides yetiştiriciliğinde bu kadar hassasiyet gerekmemektedir. Bu proje kapsamında kullanılması planlanan solar enerji santrali şimdilik aküsüz (maliyetin düşük tutulması amacıyla) ve sadece gündüz işletilebilecek şekilde tasarlanmıştır. Prototip olacak bu üretim modelimizde arzu edilen sonuçların alınması durumunda, solar enerjinin karides üretim sistemimize %100 enerji tasarrufu sağlayabilecek şekilde entegrasyonu rahatlıkla mümkündür. Bu ya; 1) yeterli sayıda akü kullanarak enerjinin depolanması, veya 2) ihtiyaç duyulan elektrik enerjisinin iki katının üretilmesi ve bu enerjinin fazlasının devlete satılması şeklinde gerçekleştirilebilecektir.

Bu denemede tasarlanan üretim modeli her iki karides türü için de özgün olup, yeşil kaplan karidesine ilaveten Pasifik beyaz karidesinde de bu üretim modelinin test edilmesi proje çıktılarımızın uluslararası arenada daha fazla dikkat çekmesine vesile olacaktır.

Genel olarak özetlendiğinde, önerdiğimiz bu projede;

- Ülkemizde karides yetiştiriciliğinin geliştirilebilmesi ve sürdürülebilir bir sektör haline dönüştürülebilmesi için düşük maliyetli ve hidrostabilitesi yüksek yapay yem formülasyonlarının geliştirilmesi,
- Ekonomik ve basit bir resirküle sistemin tasarlanması,
- Süper-entansif stoklama yoğunluklarında güvenli bir üretim için probiyotik ve benzeri ürünlerin devreye sokulması ve,
- Yenilenebilir enerji kaynaklarından solar enerjinin üretim modelimize entegrasyonu ana hedeflerimizdir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu projedeki denemelerde doğal sularımızda bulunan türlerden 1) Yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*) ve tüm Dünyada resirküle sistemlerde başarıyla kullanılabilen tek karides türü olan 2) Pasifik beyaz karidesi (*Penaeus vannamei*) kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılmak üzere gerekli olan Pasifik beyaz karidesi (*P. vannamei*) post larvaları (PL8-10) Tayland'dan ithal edilerek Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'ne ait olan Deniz Ürünleri Ar-Ge Tesisine getirilmiş ve burada denemelerde kullanılabilecek kadar 2 adet 1x10x1 m beton tanklarda %20 tuzlulukta ve 28-30°C sıcaklıkta adaptasyon amacıyla bekletilmiştir. Yeşil kaplan karidesi anaçları ise İskenderun Körfezi'nde avlanan balıkçılarından satın alınmış ve kuluçkahane tesislerimizde olgunlaştırılarak yumurtlatılmış ve larva yetiştiriciliğini takiben denemelerde kullanılacak boyutlara kadar yetiştirilmiştir.

Tüm deneme çalışmaları Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'ne ait olan ve kampus alanında kurulu olan Deniz Ürünleri Ar-Ge Tesisinde yürütülmüştür.

3.2. Metot

Bu projede aşağıda gösterildiği üzere dört deneme halinde yürütülmüştür. Her bir denemenin dizaynı, kurulumu, alınan ölçüm ve analizler ayrı ayrı verilmiştir. Planlanan ve yürütülen denemelerde;

I. Denemede: *P. semisulcatus* için alternatif yerli protein hammadde kaynakları kullanılarak ekonomik ve su stabilitesi yüksek karides yem formülasyonlarının geliştirilmesi,

II. Denemede: Hem *P. vannamei* hem de *P. semisulcatus* için ön-büyütme (nursery) aşamasında yüksek stoklama yoğunluklarının karideslerde büyüme ve yem tüketim performansları ve stres üzerine etkilerinin dayanıklılık testleri (formalin ve tuzluluk testleri) ile ve ayrıca ısı şok proteinleri (HSP70 ve HSP90) analizleri aracılığıyla incelenmesi,

III. Denemede: *P. vannamei* için resirküle yetiştiricilik sisteminde karideslerde büyümeyi ve yemden yararlanma oranını yükseltici etkileri olan ve ayrıca su kalitesini iyileştirici özelliklere sahip probiyotik ve fitojenik maddelerin kullanımı, bunların gruplarda immün direnç üzerine etkileri (tuzluluk testi, bakteri dayanıklılık testi, bağırsak ve suda toplam ve *Vibrio* bakteri sayımları) ve son olarak da,

IV. Denemede: Karides üretiminde yıl boyu ekonomik bir üretim yapabilme olanağı veren çok-katlı tank sistemi ve güneş enerjisinden üretilen elektrik desteğiyle süperentansif üretim yapılabilecek bir üretim modeli geliştirilmesi ve farklı stok yoğunluklarında yetiştirilen karideslerde büyüme ve yem tüketim performansları, ısı şok proteinleri (HSP70 ve HSP90) ve bazı biyokimyasal ve immün parametrelerin analizleri (serum protein, laktat, trigliserit, lizozim, fagositik aktivite vb.) araştırılmıştır.



Şekil 3.1. Proje bütçesinden inşa edilen 200 m² boyutunda sera, 10 KW elektrik üretebilen solar sistem ve sera içerisinde bulunan RAS sistemlerinin sera dışından görüntüleri.

Bu proje çalışmaları kapsamındaki denemeler için öncelikle taban alanı 200 m² olan bir sera (çökeltme ve rezervuar tankları dahil) tesis edilmiş (ŞEKİL 1) ve ardından da bu sera içerisine 1. Denemede kullanılmak üzere 21 adet 500-L kapasiteli yuvarlak fiberglas tanklardan oluşan, diğeri ise 4. Denemede kullanılmak üzere her biri 5-m³ kapasiteli 12 adet dikdörtgen (50 cm derinlikte) fiberglas tanklardan oluşan iki ayrı RAS sistemi kurulmuştur. 3. Denemenin yürütülebilmesi için üstte belirtilen 21 adet RAS sistemi ikiye bölünerek iki farklı sistem oluşturulmuştur. 2. Deneme çalışmaları ise plastik kops kutularında yürütülmüştür. Bu raporda her deneme için kullanılan metodoloji ayrı ayrı ele alınmıştır.

3.3. I. DENEME: Yeşil Kaplan Karidesi (*Penaeus semisulcatus*) İçin Ekonomik ve Su Stabilitesi Yüksek Yemler Geliştirilmesi

Bu deneme ülkemizde (hatta global ölçekte) yerli bir karides türümüz olan yeşil kaplan karidesine (*P. semisulcatus*) yönelik ekonomik bir yem formülasyonu geliştirmek amacıyla tasarlanan ilk çalışmadır.

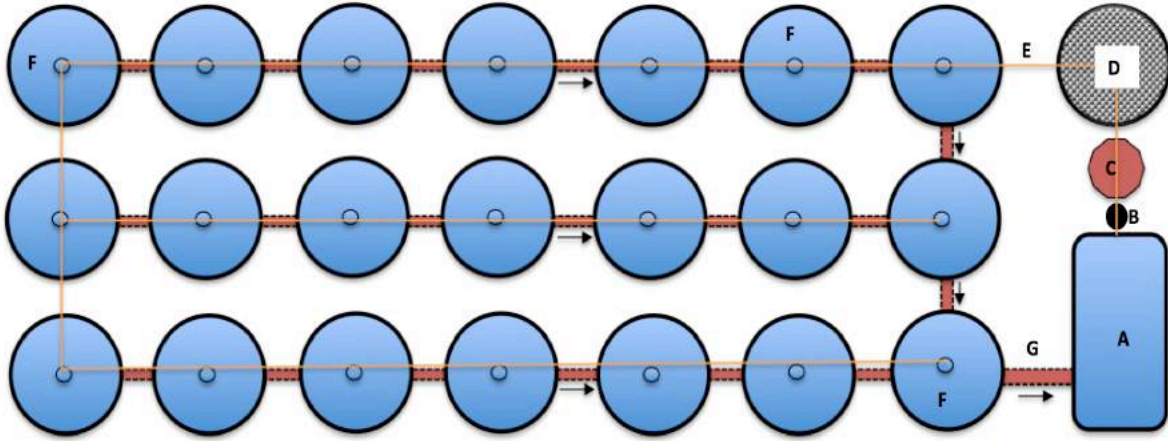
3.3.1. Deneme Materyali

Denemede kullanılan *Penaeus semisulcatus* yavruları 2015 yılı Şubat ayı içerisinde, İskenderun Körfezi'nden avlanan dişi ve erkek karides anaçlarından elde edilmiştir. İşletmeye alınan anaçlar olgunlaştırılıp yumurtlatıldıktan sonra elde edilen yavruların larval dönem bakımları yapılarak 1.5 ay süreyle tamamı sera ile kaplı olan ve 1x10x1 m boyutlarında 6 adet beton havuzda (500-600 adet/m²) ön-büyütmeye alınmıştır. Yavrular bu aşamada değişik boyutta (500-800, 800-1200 µm) yapay granül yemlerle (protein %50-60 ve %10-15 lipit) günde altı-sekiz kez (08:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00, 18:00,

20:00 ve 22:00) yemlenmiştir. Yavrular ortalama $5.67 \pm 0.10g$ ağırlığa ulaşıncaya kadar beslendikten sonra deneme başlatılmıştır.

3.3.2. Deneme Ünitesinin Kurulumu ve Tasarımı

Araştırmada kullanılan deneme ünitesi, Çukurova Üniversitesi kampüs arazisinde bulunan Su Ürünleri Fakültesine ait Deniz Ürünleri Ar-Ge Tesis'i'nde, taban alanı $200 m^2$ olan bir sera içerisinde (çökeltme ve rezervuar tankları dahil) kapalı devre sistem olarak dizayn edilmiştir (Şekil 3.1). Yedi farklı yem rasyonunun 3 tekerrürlü olarak test edildiği deneme ünitesinde Şekil 1.2'de gösterildiği gibi 500 L'lik 21 adet fiberglass tank kullanılmıştır. Deneme için inşa edilmiş olan sera ünitesi ve kapalı devre sistem dizaynı Şekil 3.1 ve 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. İlk denemede kullanılacak olan deneme ünitesi planı. A: Rezervuar/Çökeltme Tankı, B: Pompa, C: Kum Filtresi, D: Biyofiltre, E: Temiz Su Dönüş Hattı, F: Karides Tankları, G: Drenaj Su Hattı

Tanklar sera birimine her sırada 7 tank olacak şekilde 3 sıra halinde yerleştirilmiştir. Her tank için su girişi 32 mm'lik PVC borulara bağlanan musluklarla sağlanmıştır. Tanklardan çıkan drenaj boruları için 75 mm'lik plastik atık su boruları kullanılmış ve tüm drenajlar birleştirilerek tek bir hat üzerinden 800L'lik rezervuar tanka drene olacak şekilde konumlandırılmıştır. Sistemin su giriş ve çıkış bağlantıları ile eş zamanlı olarak filtrasyon ekipmanları da hazırlanarak sisteme eklenmiştir. Sistemde kullanılacak filtrasyon ekipmanlarından, kum filtresi (450-L) için 0.5-1.2 mm ile 1-3 mm partikül boyutundaki kuartz kum yıkanarak filtre kabına yerleştirilmiş ve kaba filtrasyon için hazırlanmıştır. Biyolojik filtre (950-L) için bakteri üremesini destekleyecek miktarda bioball yıkanarak filtre kabına yerleştirilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir. Sistemin oksijenlendirilmesinde hava motoru (blower) kullanılmıştır ve her sıraya çekilen ana havalandırma hattı üzerinden tank başına bir adet olacak şekilde 4 mm'lik şeffaf hortumlara ağırlık ve hava taşları takılarak bağlantısı yapılmıştır. Sera içerisinde kurulan ünite doğal fotoperiyottan yararlanılmış ve tankların üzerine örtülen gölgeleme filesi ile tanklara gelen ışık şiddeti %95 oranında azaltılmıştır.



Şekil 3.3. Denemenin yürütüldüğü kapalı devre sistemin sera içerisinde genel görünümü.

Karideslerin kabuk değişimleri sırasında saklanabilecekleri alanlar oluşturmak için her bir tankta, substrat olarak 2 adet tuğla ve 30x40 cm ölçülerinde kesilmiş yapay çimler yerleştirilmiştir. Sistem kurulumu tamamlandığında rezervuar tank, %42'lik deniz suyu ve 85m derinlikten çekilen yer altı kuyu suyu ile karıştırılarak oluşturulmuş %30'luk deniz suyu ile doldurulmuş ve tüm tanklar istenilen hacme (320 L) gelene kadar sisteme deniz suyu girişi sağlanmıştır. Deneme tanklarına giriş yapan suyun debisi 2 L/dk olarak ayarlanmıştır. Sisteme giren ve drenaj hattıyla rezervuar tankta biriken atık su, 1 HP gücünde bir santrifüj pompa ile emdirilerek sırasıyla önce kum filtresinden, ardında da biyofiltreden geçirilerek tekrar tanklara geri basılmış ve sistemdeki suyun resirkülasyonu sağlanmıştır. Sistem, mekanik ve donanımsal olarak çalışma performansının gözlemlenmesi ve eksikliklerinin giderilmesi için karidesler stoklanmadan önce iki gün boyunca çalıştırılmıştır. İşlevsellik testi tamamlandıktan sonra deneme karidesleri tanklara tesadüfi olarak stoklanarak çalışma başlatılmıştır.

3.3.3. Deneme Yemlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan deneme yemleri balık ununa (BU) ikame olabilecek alternatif bitkisel protein kaynaklarından **soya**, **mısır glütenu**, **yerfıstığı** ve **findık küspesi** ile hayvansal kaynaklardan ise **tavuk unu** (TU) ile hazırlanmıştır. Deneme yemlerinde, bitkisel kaynaklardan dördünün de eşit oranda bulunduğu bir karışım (MİKS-1), sadece soya ve mısır glütenu eşit oranda olduğu karışım (MİKS-2) ile tek başına TU olmak üzere üç alternatifin BU'nun bir kısmı veya tamamı yerine ikame olanağı test edilmiştir (Çizelge 1.1). Bu amaçla 7 farklı deneme yemi, sadece BU, %10BU+TU, %10BU+MİKS-1, %10BU+MİKS-2, MİKS-1, MİKS-2 ve TU+MİKS-2 olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.1).



Şekil 3.4. Deneme yemlerinin preslendiği pelet makinası (üstte), hammaddelerin öğütüldüğü makina (solda) ve peletlerin pişirildiği düzenek (sağda).

Kullanılan hammaddeler, temel besin maddeleri (kuru madde, ham kül, ham yağ ve ham protein) bakımından analiz edildikten sonra rasyonlar WinFeed 2.8 programı kullanılarak NRC (2011) tarafından karidesler için önerilen besin madde gereksinimleri düzeyleri dikkate alınarak %38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji içerecek şekilde formüle edilmiştir.



Şekil 3.5. Deneme yemlerinin hazırlanmasında kullanılan alet-ekipmanlar ve kaplar.

Yem yapımı öncesinde, öncelikle hammaddelerin tamamı bir öğütücü aracılığıyla 100-150 mikrona kadar öğütülmüş ve bu çizelgedeki oranlara göre her deneme grubu için bir mikser ile 10-15 dk süreyle karıştırıldıktan sonra %35-45 nem oranlarında Şekil 3.3'te görülen pres pelet makinasından geçirilmiş (1.9 mm çapında ve 3-4 mm uzunlukta) ve ardından da 110°C'de 0.5 bar basınç altında 30 dk süreyle pişirilip gölgede 3-4 saat kurutulmuştur. Bu süreçte %10 civarlarına kadar nemi düşürülen yemler 1 kg'lık plastik kavanozlara doldurulup markalandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır (Şekil 3.5). Sindirilebilirliğin belirlenmesi amacıyla deneme yemlerinin içerisine dış indikatör olarak %1

oranında kromik oksit (Cr₂O₃) eklenmiştir. Deneme yemlerinin formülasyonu ve besin madde bileşenleri analizleri Çizelge 3.1 ve 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneme 1'de kullanılacak protein kaynaklarının kullanım oranları ve besin madde düzeyleri (% kuru madde üzerinden).

ALTERNATİF PROTEİN KAYNAKLARI	MİKS-1 (%)	MİKS-2 (%)	TU+MİKS-2 (%)
Soya küspesi	25	50	25
Mısır glüten unu	25	50	25
Fındık küspesi	25	-	-
Yerfıstığı küspesi	25	-	-
Tavuk unu	-	-	50

Besin madde düzeyleri (% kuru madde)			
Kuru madde	90.56	90.62	90.43
Protein	45.08	53.42	54.73
Lipit	9.31	8.18	12.25
Kül	7.20	6.56	6.99
Toplam enerji (MJ/kg)	20.97	21.37	21.3

3.3.4. Deneme Yönetimi

Deneme materyali olan yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*) yavruları deneme başlatılmadan önce deneme ortamına alışmaları amacıyla 2 hafta süreyle (alıştırma periyodu) 26°C'de %20 tuzlulukta tutulmuş ve yapay granül yemlerle (protein %50-60 ve %10-15 lipit) beslenmişlerdir. Sera içerisinde kurulan ünite doğal fotoperiyoda maruz kalmış, ancak ışık şiddeti tankların üzerinin örtülmesiyle %95 oranında azaltılmıştır. Deneme tanklarının üzerine örtülen gölgeleme filesi aynı zamanda karideslerin tank dışına zıplamalarını da engellemiştir. Deneme ünitesinde su döngüsü 24 saat içerisinde %400-500 civarına ayarlanmış ve bu döngü deneme boyunca sürdürülmüştür.



Şekil 3.6. İlk denemede kanibalizmi azaltmak amacıyla karideslerin (*Penaeus semisulcatus*) saklanabilmelerine yardımcı olacak substratların tank içerisindeki görünümü.



Şekil 3.7. Deneme yürütülürken bir tankın üzerindeki örtü kaldırıldıktan sonra çekilen bir görüntü. Bu fotoğrafta RAS'tan gelen su girişi, havalandırma, saklanma substratları ve karidesler görünmektedir.

Alıştırma periyodunun ardından karidesler deneme ünitesinde bulunan 500 L ve 1 m² taban alanına sahip tanklara her yem grubu için üç tekerrürlü olacak şekilde tesadüfi olarak her bir tankta 20 adet olacak şekilde stoklanmıştır. Tank koşullarında karideslerin ellenmeye karşı olan aşırı hassasiyeti ve özellikle kas spazmı gibi ciddi ölümlere sebep olan davranışları gözlemlendiğinden çalışmada büyüme parametreleri için ara ölçümler yapılamamıştır. Bu sebeple bireysel ağırlık ölçümlerinin sadece deneme sonunda ve tanklarda canlı kalan tüm bireylerde gerçekleştirilmiştir. Deneme başı stoklama işleminde stoku temsil edecek 100 adet karides tartılmış ortalama ağırlık olan 5.67±0.1g üzerinden başlatılmıştır.

Çizelge 3.2. Deneme yemlerinin formülasyonu ve besin madde düzeyleri (% kuru madde üzerinden)

DENEME GRUPLARI							
Hammadeler	BU	10BU+TU	10BU+MIKS1	10BU+MIKS2	MIKS1	MIKS2	TU+MIKS2
Balık unu	48.00	10.00	10.00	10.00	-	-	-
Soya küspesi	-	-	16.20	27.50	20.10	34.50	16.20
Mısır gluteni	-	-	16.20	27.50	20.10	34.50	16.20
Fındık küspesi	-	-	16.20	-	20.10	-	-
Yerfıstığı küspesi	-	-	16.20	-	20.10	-	-
Tavuk unu	-	52.50	-	-	-	-	34.50
Buğday unu	42.50	24.30	12.00	21.6	5.4	16.2	18.60
Balık yağı	2.40	2.70	2.50	2.5	2.4	2.4	2.50
Soya lesitini	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Mineral	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Stay-C	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Bağlayıcı	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
CaCO ₃	-	2.10	2.10	2.50	2.30	2.90	2.80
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	-	1.10	1.20	1.00	2.00	1.80	1.80
Metiyonin	-	0.10	-	-	-	-	-
Lisin	-	0.10	0.30	0.30	0.40	0.60	0.30
Kromik oksit	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Besin madde düzeyleri (% kuru madde)							
Kuru madde	88.93	91.86	92.16	91.24	89.73	91.62	92.60
Protein	40.09	41.53	39.01	41.23	36.83	41.41	42.99
Lipit	7.88	14.92	8.60	7.70	7.72	6.80	12.93
Kül	6.80	8.70	9.30	8.40	9.30	9.00	9.30
Toplam enerji (MJ/kg)	20.39	21.73	20.05	20.15	19.72	19.86	21.28

Karidesler günde 4 kez (09.00, 13.00, 17.00 ve 21.00 saatlerinde) tank biomasının %1-2'si üzerinden beslenmişlerdir. Belirlenen oranın %60'ı saat 09.00, 13.00, 17.00 saatlerinde verilirken geri kalan %40'ı 21.00 saatinde verilmiştir. Deneme boyunca karideslerin yem alım aktiviteleri günlük olarak gözlemlenmiştir. Tüketilmeyen yemler bir günlük yemleme periyodunun bittiği sabah sifonlama yoluyla toplanarak ve kurutularak günlük net yem tüketim miktarları tespit edilebilmiştir. Alınan örnekler etüvde

105°C'de 4-5 saat süreyle (sabit ağırlığa kadar) kurutulmuş ve ardından desikatörde oda sıcaklığına getirildikten sonra 0.01 g hassas terazide tartılmıştır. Elde edilen bu yem tüketimi verileri deneme süresince günlük verilecek yem miktarının ayarlanmasında da (arttırıp azaltılması) kullanılmıştır. Aynı zamanda tüketilmeyen yemlerin tank ortamından uzaklaştırılması ile su kalitesi de yüksek tutulmaya çalışılmıştır. Sifonlama işlemi, sabah yemlemesinden önce (08.00) tüketilmeyen yemleri toplamak, sabah ve öğlen yemlemesinden sonra (15.00) dışkı toplamak amacıyla günde iki defa yapılmıştır (Şekil 3.8). Sifonlama esnasında grupların kabuk değişimlerini belirlemek amacıyla atık olarak tankta bulunan karapakslar toplanmış ve sayılarak kaydedilmiştir. Dışkı toplama işlemine deneme başladıktan 1 hafta sonra başlanmıştır. Dışkılar her gün sabah (09.00) ve öğle (13.00) beslemesini kapsayan periyotta gözlemlendiği için öğle beslemesinden 2 saat sonra eleklerle sifonlanmıştır. Dışkılarının formlarının bozulmamasına ve parçalanmamasına dikkat edilerek eleklerle sifonlanan dışkılar tatlı su dolu kova içerisine oturtularak pasteur pipetiyle toplanmıştır. Dışkı örnekleri daha sonra her grup için hazırlanan falcon tüplerine aktarılıp sindirilebilirlik analizine kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.8. Sifonlama yoluyla tanklardan dışkı toplama işlemi.

Deneme sonunda tanklarda kalan tüm karidesler bireysel olarak 0.01 g hassasiyete sahip bir terazi ile tartılmış, yağ asitleri analizi ve temel besin bileşenleri için her tanktan 5'er adet birey örnekleymiş ve bunların sindirim sistemleri disekte edildikten sonra hepatopankreas ve orta bağırsak (midgut), ardından da et doku örnekleri alınmıştır (Şekil 3.9). Et dokuda temel besin bileşenleri ve yağ asitleri kompozisyonu, midgut ve hepatopankreas da ise histolojik kesitler alınarak yemlerin sindirim sistemi ve karaciğer dokularına olası etkileri incelenmiştir. Karides gruplarında bağırsak mikro-biotasının nasıl etkilendiğini belirlemek amacıyla da her deneme grubundan ayrıca üçer adet karides örnekleymiştir.



Şekil 3.9. Deneme sonunda karideslerde alınan doku örneklemeleri.

3.3.5. Su Kalitesi Parametreleri

Deneme süresince su sıcaklığı günlük olarak sabah ve akşam (09:00 ve 21:00) olmak üzere günde iki defa civalı termometre yardımıyla ölçülmüştür. Araştırma süresince sistemin tuzluluğu ‰30'da tutulmuştur. Belirtilen bu tuzluluk oranı deniz suyu (‰39) ile kuyu suyunun (tatlı su) karıştırılması suretiyle elde edilmiştir. Tanklardaki oksijen, tuzluluk, pH, nitrit, nitrat ve amonyak değerleri ise sırası ile oksijenmetre (YSI Pro20, Çin), refraktometre (ATAGO Automatic and Water Resistant, Japonya), pH-metre (HANNA, Romanya), JBL test kitleri ile haftalık olarak ölçülmüştür.

3.3.6. Büyüme Performansı Ölçümleri

Deneme başı ağırlıkları 100 karides bireyinin bulunduğu popülasyondan yapılan bireysel ağırlık ölçümü ortalaması alınarak hesaplanmıştır.. Deneme sonu ağırlıklar ise tüm deneme tanklarındaki karideslerin bireysel ağırlıkları alınarak hesaplanmıştır. Deneme başı ağırlık (Wb) ve deneme sonu ağırlık

(W_s) verileri bireysel olarak 0.01 g hassas terazide tartılarak kayıt altına alınmıştır. Denemede, karideslerin büyüme performansı ve yem değerlendirmesi aşağıdaki formüllerle belirlenmiştir;

- Spesifik büyüme oranı (%/gün) = $[(\ln W_s - \ln W_b)/\text{gün}] \times 100$
- Yemden yararlanma oranı = Tüketilen yem (g) / canlı ağırlık artışı (g)

3.3.7. Besin Maddeleri İçeriği Analizi

Denemede sonunda karideslerin temel besin madde bileşenleri, yağ asidi ve amino asit kompozisyonlarının belirlenmesi için yapılacak analizlerde her tanktan rastgele 5'er adet karides (5 karides x 3 tekerrür = 15 adet örnek/deneme grubu) örneklenmiştir. Her bir tanktan alınan karides örnekleri grup isimlerine göre etiketlenmiş ağzı kapaklı plastik kaplara alınarak öncelikle -20 °C'de dondurulmuş sonrasında soğuk zincir ile Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Laboratuvarına getirilerek -80 °C'de analiz zamanına kadar muhafaza edilmiştir. Karides et doku örneklerinin bir kısmı kuru madde ve kül analizi için ayrılmıştır. Diğer besin bileşenlerinden protein, lipit ve yağ asitlerinin analizleri için örnekler liyofilizatörde -50°C'de 0.05 bar basınçta 24 saat süreyle (sabit bir ağırlığa kadar) kurutulmuş daha sonra etiketli paketlerde analiz zamanına kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3.7.1. Kuru Madde ve Kül

Kuru madde ve kül analizleri homojenize edilen kas örneklerinde, dışkıda ve deneme yemlerinde her bir grup için 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Etüvde kurutulup desikatörde oda sıcaklığında soğutulan ve 0.1 mg'a duyarlı hassas terazide darası alınan porselen kaplara her kaptaki yaklaşık 1 g örnek olacak şekilde tartılmıştır. Alınan örnekler etüvde 105°C'de 4–5 saat süreyle (sabit ağırlığa kadar) kurutulmuştur. Kurutulan örnekler desikatörde oda sıcaklığına getirildikten sonra 0.1 mg hassas terazide tartılmıştır. Ham kül tayini için aynı örnekler yakma fırınına yerleştirilerek 550°C'de 5–7 saat süreyle yakılmış ve desikatörde oda sıcaklığına kadar bekletilip tartılmıştır. Her iki analiz sonucunda örneklere ait kuru madde (KM) (%) ve ham kül (HK) (%) oranları aşağıdaki formülle hesaplanmıştır;

$$\text{Kuru Madde veya Ham Kül} = \frac{[\text{Dara (g)} + \text{Kuru madde (g) veya Ham kül}] - \text{Dara}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100$$

3.3.7.2. Protein ve Amino Asit Analizi

Ham protein analizi AOAC (1990) göre yapılmıştır. Protein analizi için her bir grup için 3'er tekerrür olacak şekilde alınan örneklerden 0.5 g'lık miktar 0.0001 g hassas terazide tartılarak Kjeldahl tüplerine yerleştirilmiştir. Ayrıca 2 adet tüp kör olarak hazırlanmıştır. Tüplerin içerisine 1'er adet katalizör tablet (1.5 g K₂SO₄+7.5 mg/s Selenyum karışımı) ve 6 mL sülfürik asit (H₂SO₄) ve 1 mL hidrojen peroksit (H₂O₂)

eklenerek yakma ünitesinde (Tecator TM Digestor, Höganäs, İsveç) 420 °C'de yaklaşık 2 saat süreyle (tüpler içindeki örnekler yeşil-sarı bir renk alıncaya kadar) yakılmıştır. Örnekler daha sonra oda sıcaklığına kadar çeker ocak altında soğutulmuştur. Destilasyon işlemi için, bir gün önceden hazırlanmış %40'luk NaOH ve %4'lük borik asit kullanılmıştır. Örnekler destilasyon cihazında (FOSS, Kjeltec™ 2200 Auto Distillation Unit, Höganäs, İsveç) alkali NaOH ve borik asit solüsyonlarıyla destile edilmiştir. Destilat yakalama kısmına ise 3-4 damla indikatör (metil kırmızısı) bulunan 250 mL'lik erlen yerleştirilmiştir. Destilasyon sırasında cam erlenlerde yaklaşık 150 mL sıvı birikinceye kadar işleme devam edilmiştir. Örnekler daha sonra 0.1 N HCl ile titre edilerek ham protein oranı (HP) aşağıdaki formüle yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ HP} = \frac{(\text{Örnek için harcanan } 0,1\text{N HCl}) - (\text{Kör için harcanan HCl})}{\text{Örnek Miktarı(g)}} \times 6,25 \times 0,1 \times 14 \times 100$$

Üstteki formülde 0.1= 0.1 N HCl'i, 14= nitrojen atomunun ağırlığını, 6.25 ise protein için kullanılan katsayıyı belirtmektedir.

Deneme sonu karideslerden alınan kas doku örneklerinin ve deneme yemlerinin amino asit analizleri TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Enstitüsü, Analitik Gıda Laboratuvarında UFLC (Ultra fast liquid Chromatography) cihazı ile UV dedektör kullanılarak yapılmıştır. Yöntem Dimova (2003) ve Gheshlaghi ve ark. (2008) referansı ile 'Aminoasit Kompozisyonunun Tayini Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi (UFLC) Yöntemi' olarak modifiye edilmiş olup TÜBİTAK MAM AR-GE laboratuvarlarında işletme içi bir metot olarak belirtilmektedir.

3.3.7.3. *Lipit ve Yağ Asitleri Analizi*

Kas doku, yem ve dışkı örneklerinde ham yağ ve yağ asitleri analizi için önceden liyofilize edilmiş örnekler her bir tekenür için 3'er paralel (her bir grup için 9 örnek) olacak şekilde 0.0001 g'a duyarlı hassas terazide 1-1.5 g ağırlığında tartılmıştır. Ağırlığı kaydedilen numuneler 50 mL'lik tüplere aktarılmış ve üzerine 2:1 oranında 100 mL kloroform+metanol karışımı eklenerek buz küvetinin içinde yaklaşık 3 dakika süreyle 10.6 hızda toraks (IKA, T18 Basic ULTRA-TURRAX®, Almanya) kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra örnekler filtre kâğıdından (Schleicher & Schuell, 5951/2 185 mm) geçirilerek erlenlere aktarılmıştır. Süzülen örneklerin üzerine (filtre kâğıdını kaldırmadan) 20 mL %0.4'lük CaCl₂ solüsyonu ilave edilmiştir. Filtre kâğıdında solüsyon kalmayınca kadar beklenmiş erlen içerisinde faz oluşumu gözlenmiştir. Örnekler daha sonra bir gece karanlıkta bekletilmiştir. Ertesi gün erlen içerisinde oluşan üst faz (metanol+su fazı) alınmayacak şekilde alt faz (kloroform+lipit) armudi tüp aracılığı ile 105°C'de 1 saat etüvde kurutulmuş ve darası alınmış olan balonlara süzdürülmüştür. Balonun alt fazında kalan kloroform+lipit kısmındaki kloroform, su haznesi 50°C ye ayarlanmış bir rotary evaporatör (Rotavapor R-210, BUCHI®, Flawil, İsviçre) aracılığıyla uçurulmuştur. Evaporatörde uçurma işleminin

ardından etüve alınan balonlar 50°C'de 45 dk tutularak içerisindeki kloroformun tamamen uçması sağlanmıştır. Etüvden çıkartılan örnekler desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup 0.0001 g hassas terazide tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir (Folch ve ark. 1957). Lipit oranının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır;

$$\% \text{ Lipit} = \frac{[(\text{Balon Darası(g)} + \text{Lipit(g)}) - \text{Balon Darası (g)}] * 100}{\text{Örnek Miktarı(g)}}$$

Lipitlerin metil esterleri (FAME) Metcalfe ve Shmitz (1961)'in metodlarında uyguladıkları bazı değişikliklerle beraber Czesny ve Dabrowski (1998)'ye göre yapılmıştır. Lipit miktarı tespit edilen balon jodelere 2 mL heptan koyulup iyice çalkalandıktan sonra tüplere aktarılmış, üzerine 2 M'lik metanolik KOH'dan 4 mL eklenerek 4 °C'de 4000 devirde 10 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra faz oluşumu için 1 gün buzdolabında bekletilip üstte oluşan fazdan otomatik pipetle 1 mL alınarak kahverengi şişelere aktarılmıştır. Hesaplanan heptan miktarı alınarak üzerine eklenmiş ve vorteksle karıştırılmıştır. Elde edilen karışım GC okumaları için GC tüplerine aktarılmıştır.

$$\text{Heptan miktarı} = [(\text{Balon jodedeki yağ miktarı}) \times 1000] / 50$$

Yağ asidi profilleri gaz kromatografisi (Agilent7820A-GC) ile belirlenmiştir. Analizlerde kapiler kolon (100 m x 0.25 mm x 0.2 µm film kalınlığı), taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dk akış hızında helyum gazı ve dedektör olarak da FID dedektörü kullanılmıştır. Örnekler GC'ye oto örnekleme ile 1-µL olarak enjekte edilmiştir. Örneklerin GC analizindeki fırın sıcaklık programı; 120°C'de 1 dk bekleme, 10°C/dk'lik artışla 230°C'ye çıkış ve bu sıcaklıkta 10 dk bekleme şeklinde gerçekleştirilmiştir. Analiz süresince dedektör sıcaklığı 280°C, enjeksiyon portunun sıcaklığı ise 250°C olacak şekilde ayarlanmıştır. Örneklerden elde edilen pikler, Sigma Chemical Company'den temin edilen standart piklerle karşılaştırılarak tanımlanmış ve yağ asitleri tanımlanan piklerin konsantrasyonları % olarak hesaplanmıştır.

3.3.8. Sindirilebilirlik Analizi

Sindirilebilirlik analizinde Kimura ve Miller (1957) metodu esas alınmıştır. Bu metoda göre, 0.0005 ile 0.004 g arasında 16 farklı ağırlıklardaki kromik oksit (Cr₂O₃) örneği 0.0001 g'lık hassas terazide tartılmıştır. Bu örnekler filtre kâğıdına sarılarak 250 mL Kjeldahl tüplerinin içerisine konulmuştur. Ek olarak, 2 adet boş (örnek veya filtre kâğıdı olmayan) ve 2 adette kontrol (sadece filtre kâğıdı olan) örnekler oluşturulmuştur. Kromik oksitli yem için 0.3 g dışkı için ise 0.0030-0.0050 g arasında liyofilize edilmiş örnek alınmıştır. Bu örneklerin üzerine 3 mL konsantre nitrik asit (HNO₃, Sigma, CAS 7697-37-2) eklenerek örneklerin tamamen ıslanması için tüpler çalkalanmıştır. Daha sonra Kjeldahl tüpleri ilk olarak 150 °C'de 30 dakika sonra daha sonra 170 °C'de 1 saat süreyle yakılmıştır. Bu aşamada aşırı buharlaşmanın

engellemesi amacıyla tüplerin ağızlarına 50 mL balon jodeler yerleştirilmiştir. 2 saat sonra yakma ünitesinden çıkarılan tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Tüpler iyice soğuduktan sonra üzerine 1.5 mL %70'lik perklorik asit (HClO₄, Sigma, CAS 7601-90-3) ilave edilerek 220°C'de 15 dakika yakılmıştır. Bu sürede tüplerin ağızı açık bırakılmıştır. Tüpler tekrar soğumaya bırakılarak sıvı miktarı 1 mL'den az olanlara 0.5 mL %70'lik perklorik asit ilave edilerek 220°C'de tüplerin ağızı kapalı şekilde yakılmaya devam edilmiştir. Bu aşamada örneklerin renk dönüşümünün oluşumu kontrol edilmiş ve turuncu renk oluşumu gerçekleşince tüpler soğumaya bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra örnekler 50 mL balon jodelere aktarılmıştır. Aktarılan örnekler 50 mL'den az ise örneklere distile su eklenerek 50 mL'ye tamamlanmıştır. Örnekler daha sonra 346.5 nm dalga boyunda spektrofotometre-de okunmuştur. Sindirilebilirlik oranı aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir. Bu denklem Maynard ve Loosli (1969)'a göre "İ" dış markalayıcı (kromik oksit) ve "B" besleyici element (kuru madde, protein, lipit ve yağ asitleri) olarak alınmıştır.

$$\text{Kuru madde sindirilebilirliği (\%)} = 100 \times \left[1 - \left(\frac{\% I_{\text{yem}}}{\% I_{\text{yem}}} \right) \right]$$

3.3.9. Yemlerin Su Stabilitesinin Arttırılması (Bağlayıcı Maddeler)

1. Denemenin bu bölümünde daha önceki çalışmamızda belirlediğimiz en ekonomik ve kaliteli yemin suda en az 3-4 saat kadar stabil kalabilmesini sağlayabilecek bağlayıcı madde seçimi yapılmaya çalışılmıştır. Suda stabilitesi yüksek yem üretimi için, mevcut bağlayıcı maddelerin pelet stabilitesi kuru madde üzerinden ve protein kaybı bakımından karşılaştırılmıştır. Bu amaçla toplam da 9 adet farklı yem üretilmiş ve bu yemlerde 9 adet farklı bağlayıcı madde kullanılmıştır. Bunlar; buğday gluteni, sodyum alginat, karboksi metilselüloz, guar gum, kitozan, sodyum bentonit, kalsiyum bentonit, karragenan ve sodyum hekzametafosfat olup, bu bağlayıcılar Çizelge 3.3'de listelenen yem formülasyonuna %3 düzeyinde ayrı ayrı eklenerek üretilmiştir.

Yem yapımı öncesinde, öncelikle hammaddelerin tamamı bir öğütücü aracılığıyla 100-150 mikrona kadar öğütülmüş ve bu çizelgedeki oranlara göre her deneme grubu için tartılıp bir mikser ile 5-10 dk süreyle karıştırıldıktan sonra %35-45 nem oranlarında Şekil 3.10'da görülen pres pellet makinasından geçirilmiş (1 mm çapında ve 3-4 mm uzunlukta) ve ardından da 110°C'de 0.5 bar basınç altında 30 dk süreyle pişirilip gölgede 3-4 saat kurutulmuştur (Şekil 3.11-3.12). Bu süreçte %10 civarlarına kadar nemi düşürülen yemler 0.5 kg'lık plastik kavanozlara doldurulup markalandıktan sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır.

Peletlerin su stabilitesinin belirlenmesi için, deniz suyu (%35) dolu 250 mL'lik her bir erlene 1 g örnek alınmış (her bir yem için 3 tekrür), beherler 28°C'lik su banyosunda 1, 3, 5 ve 7 saat boyunca tutulmuştur (Şekil 3.13). Her bir zaman periyodunun ardından, beherdeki su Whatman no: 3 (5 µ) filtre

kağıtları ile süzölmüş ve örnekle 105°C'de sabit ağırlığa kadar bir etüvde kurutulduktan ve desikatörde bekletildikten sonra tartılmıştır. Tüm testler tamamlandıığında kuru madde açısından su stabilitesi başlangıç ve seçilen test süreleri sonrasında kalan kütle farkından çıkartılmıştır (Zhou 2014). Bu süreçte yemlerdeki protein kaybı da deneme yemlerindeki protein oranının deneme sonrasında kalan kuru maddede tespit edilen protein seviyesinden çıkartılması suretiyle elde edilmiştir. Hesaplama kuru madde (veya protein) kayıplarının % olarak ifade edilebilmesi için kullanılan formöl aşağıda verilmiştir.

$$KM = 100 \times \frac{KMtö - KMts}{KMtö} \times 100$$

KM: Kuru Madde, KMtö: MK'nin test öncesindeki Ağırlığı, KMts: KM'nin test sonrasında ağırlığı

Çizelge 3.3. Pelet su stabilite testinde kullanılan yem formölasyonu.

HAMMADDE	Bağlayıcı İçeren Deneme Yemleri (%)
Balık Unu	30
Soya Küspesi Unu	12.5
Mısır Glöten Unu	13.0
Buğday Unu	36
Balık Yağı	2.4
Soya Lesitini	2.0
Vitamin Premiksi	0.8
Mineral Premiksi	0.2
Vitamin C	0.1
Bağlayıcı Madde	3.0
HESAPLANAN BESİN İÇERİĞİ (%)	
Kuru Madde	90.53
Ham Protein	38.14
Lipit	9.13
Ham Kül	6.05
Ham Selöloz	1.53
Toplam Enerji (MJ/kg)	19.54



Şekil 3.10. Yemlerimizin peletlenmesi işleminden bir görüntü.



Şekil 3.11. Su stabilite testi için üretildikten sonra kurutmaya alınan bir yem grubu (kalsiyum ve sodyum bentonit).



Şekil 3.12. Su tabilite testlerinde kullanılan diğer bazı yemlerin pişirildikten sonra kurutulması.



Şekil 3.13. Su stabilite testinde kullanılan düzenekler ve test edilen yem örnekleri.

3.3.10. İstatistiksel analiz

Yemlerin karideslerde büyüme, yem tüketim performansları, temel besin bileşenleri, yağ asitleri ve aminoasit seviyeleri üzerine etkileri tek-yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile test edilecek (varyansların homojenlik testi sonrasında), farklılık gösterenler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Stabilitate tesitinde kurumadde ve protein kayıpları hesaplandıktan sonra farklı sürelerde kaydedilen tüm verilerin ortalama değerleri üzerinden yine tek-yönlü varyans analizi ve ardından Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. İstatistik analizler SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. II. DENEME: Stoklama Yoğunluğunun Yavru Karideslerde Büyüme Performansı ve Stres Parametreleri Üzerine Etkileri

Projenin 2. Denemesinde (Şekil 3.13'te görülen deneme ünitesinde) her birinin taban alanı 0.2 m² (0.31x0.65x0.56 m) olan plastik dikdörtgen tanklarda (kops kutuları), yüksek stoklama yoğunluklarının (200, 400 ve 800 adet/m²) karideslerde yaşama oranı, büyüme ve yem tüketimi üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bu çalışmada yüksek stok yoğunluğuna olan toleransı nedeniyle ilk aşamada Pasifik beyaz karidesi tercih edilmiştir. Ancak özellikle ısı şok proteinlerinin (HSP70 ve HSP90) gen görünümünün kıyaslanabilmesi amacıyla, ikinci aşamada yeşil kaplan karidesi yavrularında da bir deneme yürütülmüştür.

3.2.2.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi

Pasifik beyaz karidesi ile başlatılan denemede her stoklama grubu için 4 tank (tekerrür) kullanılmış ve çalışma 3 hafta adaptasyon periyodu ve ardından 4 hafta deneme olmak üzere toplamda 7 hafta sürmüştür. Adaptasyon periyodunda karides yavruları 3 hafta süreyle 1 adet 10 m² (1x10x1 m) beton tank içerisinde 200 adet/m² stok yoğunluğunda bekletilmiş ve deneme tanklarına aktarım yapılmadan önce bu stok tankından 9 adet karides keşçelenerek derhal RNA Later solüsyonu içine alınmıştır (0. gün örneği). Denemede 0, 1, 4, 7 ve 30. günlerde HSP70 ve HSP90 analizleri için her gruptan, her örneklemede 9 adet karides alınmış (her tanktan 2-3 adet) ve bunlar doğrudan 1.5 mL plastik ependorf tüplere aktararak üzerlerine RNA Later solüsyonu eklenmiş ve derhal önce -20°C'ye, 1 gün sonra ise -80°C'de bir derin dondurucuya yerleştirilmiştir. Denemenin ilk haftasında yapılan örnekleme-lerde karidesler tüm vücut halinde her bir 1.5 mL'lik mikrotest (ependorf) tüpe 3 adet karides olacak şekilde (toplam 3 tüp x 3 karides) yerleştirilmiştir. Son örneklemede ise, karidesler irileştikleri için, her bireyin kas, hepatopankreas ve solungaç dokuları disekte edildikten sonra, her bireyin organları bir tüp içerisine birlikte stoklanmıştır.

Çalışma esnasında günlük su değişimi statik yöntemle günde en düşük stoklama yoğunluğunda (200 adet/m²) %20-30, orta seviye yoğunluktaki grupta (400 adet/m²) %40-60 ve en yüksek stoklama grubunda ise (800 adet/m²) %80-100 oranında yapılmıştır. Su sıcaklığı 30±0.5°C ve tuzluluk ise

%20.02±0.82 olarak ayarlanmıştır. Deneme süresince beslemede kullanılan yem miktarları düzenli olarak kaydedilmiş ve haftalık olarak su kalite parametreleri (oksijen, pH, toplam amonyak, nitrit) ölçümü yapılmıştır. Deneme süresince test kitleleriyle yapılan haftalık ölçümler neticesinde toplam amonyağın 1 ppm ve nitrit seviyesinin ise 0.5 ppm'den daha yüksek seviyelere çıkmadığı, oksijen seviyesinin >5 ppm ve pH'nın ise 8-8.2 arasında kaldığı anlaşılmıştır.

Karidesler deneme süresince %48 protein ve %10 lipit içeren 0.8-1.2 mm yem ile günde 4 kez (09.00, 13.00, 17.00 ve 23.00 saatlerinde) tank biomasının %7-8'i üzerinden, ancak ağırlıklı olarak bir sonraki yemleme zamanında tank tabanında tüketilmeyen yemlerin miktarına bakılarak yemlenmişlerdir. Günlük olarak verilmesi hesaplanan yem miktarının %60'ı eşit oranlarda olmak üzere saat 09.00, 13.00 ve 17.00'de verilirken, geri kalan %40'ı ise saat 23.00'de verilmiştir. Gece yemlemesi hariç, beslemeden 2 saat sonra tankların tabanında kalan yemlerin miktarına göre (sifonla dışarı alınan) bir sonraki yemleme oranı ayarlanmaya çalışılarak, karideslerin yemlerden maksimum faydalanmasına çalışılmıştır. Net yem tüketim değerleri önce I. Denemede anlatıldığı şekilde verilen yem miktarı ile etüvde kurutulan yem miktarlarının farkından hesaplanmıştır.



Şekil 3.14. Farklı stoklama yoğunluklarında stoklanan Pasifik beyaz karidesinde (*Penaeus vannamei*) büyüme, yem tüketimi, stres testleri ile stres parametrelerinden ısı şok proteinlerinin gen görünümünün analizlerinin yapılabilmesi için yürütülen denemenin kurulum aşaması.

Bu çalışmada son örnekleme denemenin 30. gününde yapıldıktan sonra kalan tüm karideslerde bireysel olarak ağırlık ölçümleri yapılmış ve deneme süresince kaydedilen yem tüketim değerleri sayesinde gruplar arasında büyüme yem tüketim performans kıyaslamaları yapılmıştır. Ayrıca, deneme sonunda kalan karideslerde formalin ve tuzluluk dayanıklılık testleri de yapılarak stok yoğunluğunun karideslerde direnç üzerine etkileri ek verilerle desteklenmeye çalışılmıştır. Bakteri dayanıklılık testi (*Vibrio parahaemolyticus*), bu aşamada bakteriyi yurtdışından getirecek olan araştırmacının zaman uyumsuzluğu nedeniyle bu deneme sonunda gerçekleştirilememiştir. Zira, denememiz Mayıs 2017 sonunda tamamlanmış, ancak yurtdışından proje çalışmalarımıza bizzat destek verecek olan Tayland'lı araştırmacı Doç. Dr. Prapansak SRİSAPOME'nin üniversitemize geliş tarihi 22 Haziran 2017'yi bulmuştur. Bu araştırmacının gelirken birlikte getireceği bu bakterinin Ar-Ge tesisimize ulaştırılabilmesi ve bizim laboratuvar olanaklarımızla kültürün istenen yoğunluğa çıkartılabilmesi, ancak 3. Denememize denk getirilebildiğinden, bakteri dayanıklılık testi ancak bu aşamada 3. Denemede devreye alınabilmiştir.

Pasifik beyaz karidesine ilaveten yeşil kaplan karidesinde (*P. semisulcatus*) de bu çalışma aynen üstte belirtilen şekilde tekrarlanmış ve çalışmanın 0, 1, 3 ve 7. günlerinde yine her tanktan üçer adet karides HSP analizleri için örneklenmiştir. Denemenin 2. haftasından itibaren gruplar içerisinde çok yüksek kanibalistik davranışlar nedeniyle gerçekleşen mortalite nedeniyle denemenin 30. güne kadar devam ettirilmesinin bir anlamı kalmamış ve bu noktada en azından her iki türde de HSP gen görünüm analiz sonuçlarının kıyaslanabilmesi yoluna gidilmiştir.



Şekil 3.15. Karides yavruarında yüksek stoklama çalışmasının (2. Deneme) yürütüldüğü ünite.

3.2.2.2. Dayanıklılık (Stres) Testleri

3.2.2.2.1. *Formalin Testi*

Bu test için uygun formalin dozunu belirlemek amacıyla ‰20 tuzlulukta deniz suyuna (28°C sıcaklık) 200 ppm formalin olacak şekilde ‰34.5'lik formaldehit (Merck) eklenmiş, ve ardından solüsyon içerisinde 20 adet karides yerleştirilerek karideslerde mortalite 6 saat boyunca (0.5, 1, 3 ve 6 saat) gözlenmiştir. Bu testte herhangi bir ölüm görülmediği için, aynı işlem önce 400 ppm, ardından da 800 ppm formalin seviyesinde tekrarlanmıştır. En sonunda dozaj 1600 ppm seviyesine çıkartıldığında 0.5 saatte yüksek ölüm oranı (%70) ile karşılaştığı için, testin 1200 ppm seviyesinde yapılmasına karar verilmiştir.

Buna göre, stoklama denemesi sonunda her stoklama yoğunluğu için 3 adet 24x34x15 cm (10 L hacim) boyutlarında dikdörtgen plastik kaplar kullanılmış (3 stoklama yoğunluğu için toplamda 9 adet) ve bunların içine 8 L olarak doldurulan deniz suyuna (‰20 tuzluluk, 28°C sıcaklık) 1200 ppm formalin eklenmiştir. Sürekli olarak havalandırılan tankların her birisine 10'ar adet karides tesadüfi olarak stoklanmış ve uygulamanın ardından 0.5, 1, 3 ve 6'ncı saatlerde mortalite kaydedilmiştir.

3.2.2.2.2. *Tuzluluk Testi*

Formalin testi tamamlandığında, yine aynı düzenek içerisinde üstte belirtilen teknikle tuzluluk stres testi yapılmıştır. Bunda da her stoklama yoğunluğu için 3 adet 24x34x15 cm (10 L hacim) boyutlarında plastik dikdörtgen kaplar kullanılmıştır (3 stoklama yoğunluğu için toplamda 9 kap). Bir tankta (1 tonluk) 28°C sıcaklığa gelinceye kadar ısıtılan tatlı su (kuyu suyu) 8 L olacak şekilde her kaba doldurulmuş ve havalandırma devreye sokulmuştur. Bu işlemlerin ardından, ‰20 tuzlulukta deniz suyunda bulunan karidesler kepçe ile alınarak doğrudan her kap içerisinde 10'ar adet karides olacak şekilde tesadüfi olarak stoklanmıştır. Uygulamanın ardından 0.5, 1, 3 ve 6'ncı saatlerde mortalite kaydedilmiştir.

3.2.2.3. **Büyüme ve Yem Tüketimi**

Deneme sonunda her tanktan tesadüfi olarak 30-40 adet karides örneklenmiş ve bireysel olarak 0.01 g hassasiyette bir terazi ile bireysel ağırlıklar tartılmıştır. Formalin ve tuzluluk testleri sonucunda ölen ve hayatta kalan karideslerin tamamı da bireysel olarak tartılmış ve bunlar da büyüme hesaplamalarında kullanılmıştır.

3.2.3. III. DENEME: Probiyotik ve Fitojenik Maddelerin Karideslerde Büyüme, ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri

3.2.3.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi

Projenin III. Denemesinde; Büyüme ve yem değerlendirme oranını arttırmak, bağışıklık sistemini güçlendirmek ve resirküle sistemde dönen su kalite parametrelerini iyileştirmek ve dengelemek amacıyla proje partner firmamız olan Biomin Holding GmbH (Avusturya) firmasının (Türkiye temsilcisi BİOKEY, İstanbul) geliştirdiği iki probiyotik (AquaStar-Growout ve AquaStar-PondZyme) ve bir fitojenik ürün (Digestarom P.E.P. MGE) farklı dozlarda hem yem hem de suya uygulanmış ve bunların karideslerde (*P. vannamei*) yem tüketimi ve büyüme performanslarına etkilerine bakılması amaçlanmıştır. Deneme sonunda, ayrıca, gruplara tuzluluk, formalin ve bakteri (*Vibrio parahaemolyticus*) dayanıklılık testleri de yapılmıştır.

Denemede kullanılan karideslerin boyutları ortalama 0.73 ± 0.14 g olarak ölçülmüştür. BİOKEY (İstanbul) firması tarafından sağlanan ürünler ve bunların özellikleri aşağıda verilmiştir;

- **AquaStar-Growout** (*Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Pediococcus* sp., bakterilerini içermektedir)
- **AquaStar-PondZyme** (aerobic ve anaerobic koşullarda çalışabilen *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Pediococcus* sp., *Thiobacillus* sp., *Paracoccus* sp. bakterileri ile proteaz, sellulaz ve amilaz enzimlerini içermektedir)
- **Digestarom PEP MGE** (farklı bitkisel ekstraktlar içeren, karides ve balıklarda sindirim enzimlerini uyararak yemden yararlanmayı arttıran bir üründür)

Bu deneme aynı anda ve birbirinden bağımsız olarak çalışan iki adet resirküle sistemde (RAS) yürütülmüştür (Şekil 3.16). Deneme grupları aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur;

RAS 1: Sadece Yemde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı

- Grup 1: Kontrol Yemi (probiyotik ve/veya fitojenik madde içermeyen)
- Grup 2: Yemde Probiyotik (5 g/kg AquaStar-Growout)
- Grup 3: Yemde Fitojenik Madde (0.7 g/kg yemde Digestarom PEP MGE)

RAS 2: Probiyotikli Suda Yemde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı

- Grup 4: Kontrol Yemi + haftalık olarak suya 0.1 g/m^3 probiyotik eklemesi (AquaStar-PondZyme)
- Grup 5: Yemde Probiyotik (5 g/kg AquaStar-Growout) + haftalık olarak 0.1 g/m^3 AquaStar-PondZyme eklemesi
- Grup 6: Yemde Fitojenik Madde (0.7 g /kg yemde Digestarom PEP MGE) + haftalık olarak 0.1 g/m^3 AquaStar-PondZyme eklemesi

Deneme materyali olan Pasifik beyaz karidesi (*P. vannamei*) yavruları deneme başlatılmadan önce Tayland'tan PL7-8 döneminde (11 Mart 2017) getirilmiş ve deneme kurulana kadar bu yavrular yaklaşık 1.5 ay süreyle $26-27^\circ\text{C}$ 'de %20 tuzlulukta tutulmuş (2 adet 10 m^2 tankta) ve kontrol yemi ile

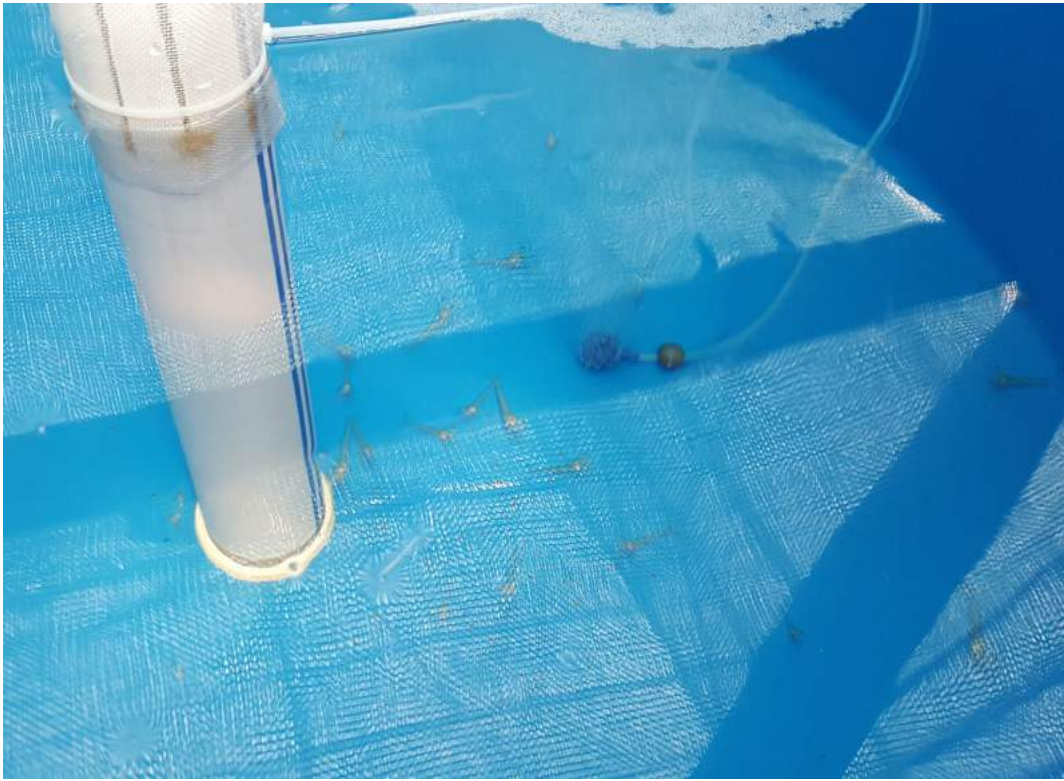
beslenmişlerdir. Alıştırma periyodunun ardından deneme ünitesine her yem grubu için üç tekerrürlü olacak şekilde ve her tanka (500-L hacimli, 1 m² taban alanına sahip) 50 adet olacak şekilde tesadüfi olarak stoklanmışlardır (Şekil 3.17). Stoklama işlemi öncesinde stoku temsil edecek şekilde popülasyondan 50 adet karides bireysel olarak tartılmıştır.



Şekil 3.16. Sera içerisinde, proje önerimizde planladığımız gibi, aynı anda kurulan 2. Deneme ile 3. Denemenin yürütüldüğü RAS ünitelerimizin genel görünümü.

Bu deneme için çalışmanın ilk ayında kullanılmak üzere 1 mm çapında (1.0 x 3-4 mm) ve ikinci ayında kullanılmak üzere 1.5 mm çapında (1.5 x 5-6 mm) 2 farklı boyutta pelet yem üretilmiştir (Şekil 3.18). Yeme uygulama öncesinde, BIOMİN (Avusturya) firmasının önerdiği teknikle, probiyotik (AquaStar Grow-out) 1/20 oranında saf su içerisinde çözdürülmüş ve 1 kg yeme 100 mL oranında püskürtülerek homojen bir karışım sağlanmıştır. Probiyotik uygulamasından 24 saat sonra da yemin üzerine kaplayıcı (top-coating) olarak melas (şeker kamışı) %1 oranında saf su ile çözdürülerek homojen bir şekilde 100 mL olarak püskürtülmüştür (Şekil 3.18 ve Şekil 3.19). Böylece, probiyotiğin yemde daha uzun süre çözünmeden su içerisinde dayanabilmesi sağlanmaya çalışılmıştır. Test edilecek olan fitojenik madde olan PEP MGE ise, ısıya dayanıklı olmasından dolayı, doğrudan 0.7 g/kg oranında yem formülasyonuna eklenmiştir. Suda probiyotik uygulamasında, AquaStar-Pondzyme ürünü doğrudan 0.1 g/m³ oranında suda çözdürülerek RAS sistemindeki su içerisine eklenmiş ve bu miktardaki uygulama haftalık olarak düzenli bir şekilde devam ettirilmiştir. Tüm deneme yemleri çalışma süresince (yemleme periyotları haricinde) sürekli olarak +4°C'de bir buzdolabında tutulmuştur.

Karidesler bu yemlerle günde 4 kez (09.00, 13.00, 17.00 ve 21.00 saatlerinde) tank biomasının %2-3'ü üzerinden beslenmişler, ancak ağırlıklı olarak bir sonraki yemeleme zamanında tank tabanında tüketilmeyen yemlerin miktarına bakılarak yemeleme oranı ayarlanmıştır. Günlük olarak verilmesi hesaplanan yem miktarının %60'ı eşit oranlarda olmak üzere saat 09.00, 13.00 ve 17.00'de verilirken, geri kalan %40'ı ise saat 21.00'de verilmiştir. Deneme boyunca karideslerin yem alım aktiviteleri sürekli olarak gözlenmiş ve özellikle gündüz saatlerinde yem atığının kalmamasına özen gösterilmiştir. Elde edilen yem tüketim verileri deneme süresince günlük verilecek yem miktarının ayarlanmasında (arttırıp azaltılması) kullanılmıştır. Net yem tüketiminin belirlenmesinde ve hesaplanmasında Deneme 1 ve 2'de anlatılan teknik kullanılmıştır.



Şekil 3.17. Denemenin 2. haftasında tanklardan birinin içinde bulunan karides (*Penaeus vannamei*) yavruları.

Karideslerin ellenmeye karşı olan aşırı hassasiyeti nedeniyle denemede karides ara ölçümlerinin yapılmamasına karar verilmiştir. Gerek bu denemenin başlangıç tartımlarında gözlediğimiz kasılma kayıpları, gerekse uzun yıllardır elde ettiğimiz tecrübelerden, tank koşullarında karideslerin minimum düzeyde ellenmesi gerektiği, aksi takdirde kas spazmı nedeniyle ciddi ölümlerle karşılaşılacağı bilinmektedir. Bu sebeple bireysel ağırlık ölçümlerinin sadece deneme sonunda ve canlı kalan tüm bireylerde gerçekleştirilmesi planlanmıştır. Deneme süresince, çözülmüş oksijen ve sıcaklık günlük olarak, pH, salinite amonyak, nitrit ve nitrat ise haftalık olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.18. Probiyotik solüsyonunun püskürtme tabancasıyla yem üzerine püskürtülmeye hazırlanması.

RAS sisteminin çözünmüş oksijen seviyesi 1 adet çift fanlı 1 HP'lik hava motorundan gelen havanın her tanka yerleştirilen 1 adet hava taşı aracılığıyla suya verilmesi suretiyle doymun seviyede tutulmuştur (> 5.5 mg/L). Sera içerisinde kurulan ünite doğal fotoperiyoda maruz kalmış, ancak ışık şiddeti tankların üzerinin örtülmesiyle %95 oranında azaltılmıştır. Deneme tanklarının üzerine örtülen gölgeleme filesi aynı zamanda karideslerin tank dışına atlamalarını da engellemiştir.

RAS sistemlerimizde dönen su normal deniz suyu (%39 tuzlulukta) ile 85 m derinlikten çekilen yer altı kuyu suyunun karıştırılmasıyla elde edilen %20 tuzlulukta sürdürülmüştür. Deneme ünitesinde su döngüsü 24 saat içerisinde %400 civarına ayarlanmış ve bu döngü deneme boyunca devam ettirilmiştir. Deniz suyu ile doldurulan sistemin mekanik ve donanımsal olarak çalışma performansının gözlenmesi ve eksikliklerinin giderilmesinin ardından (2 gün sonra) RAS sistemine karidesler stoklanmıştır.

Deneme sonunda tanklarda kalan karideslerde öncelikle tuzluluk ve formalin testleri ve *Vibrio* dayanıklılık testleri yürütülmüş olup kalan karidesler bireysel olarak 0.01 g hassasiyete sahip bir terazi ile tartılmıştır.



Şekil 3.19. Probiyotik püskürtülmeden önce düz bir zemin üzerine serilen ve kromik oksit içeren deneme yemlerimiz.

3.2.3.2. Bakteri (*Vibrio parahaemolyticus*) Dayanıklılık Testi

Saf kültür halinde Kasetsart Üniversitesi'nden getirilen *Vibrio parahaemolyticus* (EMS strain) %1.5 NaCl içeren tryptic soya agarına (TSA) ekilerek 30°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Ekim yapılan petri kutularında gelişen bir koloni alınarak %1.5 NaCl içeren tryptik soya suyuna (TSB) konarak bir sallayıcıda (shaker) 30°C sıcaklıkta 24 saat süreyle karıştırılmıştır. Ertesi gün, bakteriyel süspansiyon bir santrifüjde 2.500 rpm'de 15 dakika süreyle yoğunlaştırılmış, supematant solüsyon uzaklaştırıldıktan sonra %1.5 NaCl ile yıkanan bakteriyel kit ile ard arda iki kez yine 2.500 rpm'de 15 dakika sürelerle yoğunlaştırılmıştır. Bakteriyel yoğunluk 1×10^8 CFU (coloni forming unit)/mL olacak şekilde 540 nm'de 0.15 absorbans değerinde oluşturulmuş ve bu stok solüsyonu bakteri dayanıklılık testinde kullanılmıştır.

Bu denemede her stoklama grubu için 2 adet tank (toplam 12 tank, 31x65x56) kullanılmış ve her tanka 100-L deniz suyu doldurulduktan sonra (%20 tuzlulukta) tüm tanklara havalandırma sistemi bağlanmıştır. Her stok grubundan alınan ve bireysel olarak tartılan toplam 10 adet karides her tanka stoklanmış ve karideslerin (ortalama 4.54 ± 0.80 g) 9 gün süreyle yeni ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Adaptasyon periyodundan sonra karidesler tek tek 5×10^7 CFU yoğunluğunda 0.05 mL bakteri enjeksiyonu yapılmış (Şekil 3.20) ve sonrasında da her tanka 10'ar adet olacak şekilde stoklanmışlardır. Bu işlemden sonra karideslerde mortalite ilk günde 12 saate bir olmak üzere, daha sonraki günlerde ise günlük olarak 7 gün boyunca takip edilmiştir. Karidesler gerek adaptasyon periyodu gerekse enjeksiyon sonrasındaki süreçte %38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji içeren 1 mm boyutta yem ile (kendi tesisimizde ürettiğimiz) günde 4 kez (09.00, 13.00, 17.00 ve 23.00 saatlerinde) olacak şekilde tank biyomasının %7-8'i üzerinden yemlenmişlerdir. Her beslemeden 2 saat sonra tankların tabanı sifonlanmış ve bir

sonraki yemleme tabanında kalan yem miktarına göre (sifonla dışarı alınan) ayarlanmıştır. Tanklarda hergün %50 civarında su değişkenliği yapılarak su sıcaklığı $30\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ve tuzluluk ise $\text{‰}20\pm 0.8$ olarak sürdürülmüştür. Deneme süresince su kalite parametreleri (oksijen, pH, toplam amonyak, nitrit) ölçümü günlük olarak yapılmıştır.



Şekil 3.20. Deneme gruplarından alınan karideslerde bakteri enjeksiyonu işleminin yapılması.

3.2.3.3. **Vibrio ve Toplam Bakteri Sayımı**

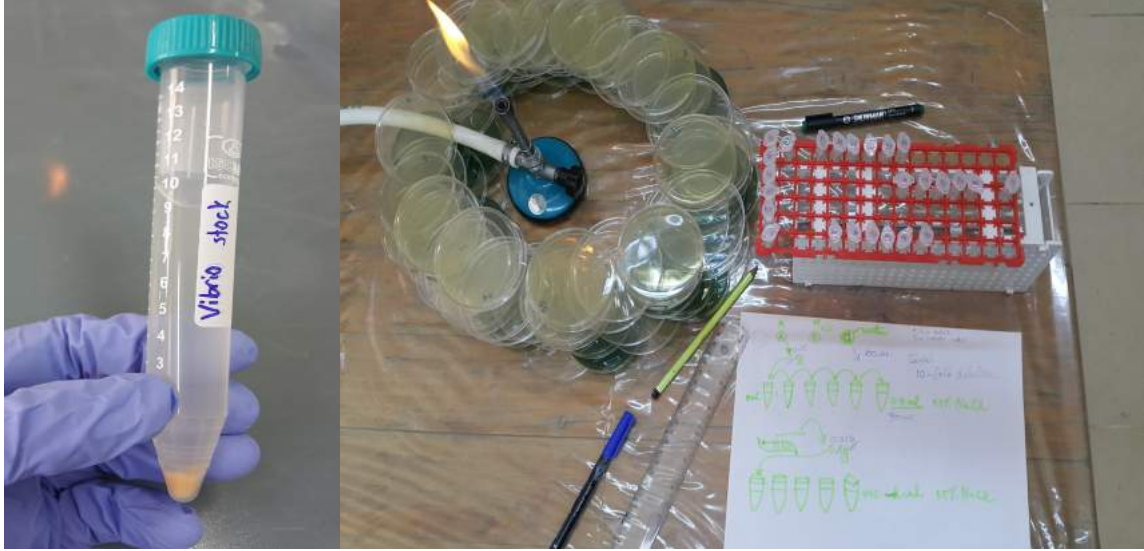
3.2.3.3.1. **TCBS Agarın (*Vibrio* için) Hazırlanışı**

Dehidre besiyeri, ısıya dayanıklı bir erlende 88.0 g/L olacak şekilde ultra saf suyla karıştırılmış ve agar eriyinceye kadar hotplate üzerinde (BUCHI R-210) ağzı alüminyum folyo ile sarılarak kaynatılmıştır. Agar kaynamaya başladıktan sonra, üzerinde 2 cm'ye yakın köpük oluşumu gözlemlendiğinde ısıtma durdurulmuş ve soğumaya bırakılmıştır. Hazırlandığında berrak ve yeşilimsi mavi renkte alan TCBS agarı (Thiosulfate Citrate Bile Sucrose) *Vibrio* bakterisi için spesifik bir agar olduğundan otoklavlanmasına gerek duyulmamıştır. Soğumaya bırakılan besi yerinin sıcaklığı $45-50^{\circ}\text{C}$ 'ye düştüğünde, bunzen alevi yanında steril petri kutularına ince (yaklaşık 12.5 mL) bir tabaka halinde dökülmüştür. Agar petri kutularında yaklaşık 15-20 dk sonra katılaştıktan sonra, hazırlanan petripler ters çevrilerek paketlenmiş ve kullanım zamanına kadar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.3.2. **TSA Agarın (*Tryptic Soy agar*) Hazırlanışı**

Dehidre besiyeri, ısıya dayanıklı bir erlende 40 g/L TSA agar ve 15 g/L NaCl (%1.5 NaCl) olacak şekilde ultra saf suyla hazırlanmıştır. Agar eriyince ve berrak sarımsı kahve rengine ulaşıncaya kadar hotplate üzerinde ağzı alüminyum folyo ile sarılarak kaynatılmış ve sonrasında otoklavda 121°C 'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. TSA genel besi yeri olduğundan petrilere döküm işlemi microflow kabin altında yapılmıştır. Döküm işlemi yapılacak petripler ve otoklavlanarak soğumaya bırakılan besi yeri kabine

yerleştirilerek 15 dk UV altında bekletilmiş ve ardından besi yerinin sıcaklığının 45-50°C'ye düşmesinden sonra steril petri kutularına ince (yaklaşık 12.5 mL) bir tabaka halinde dökülmüştür. Agar petri kutularında yaklaşık 15-20 dk sonra katılaşmış ve hazırlanan petri ler ters çevrilerek paketlenmiş ve kullanım zamanına kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

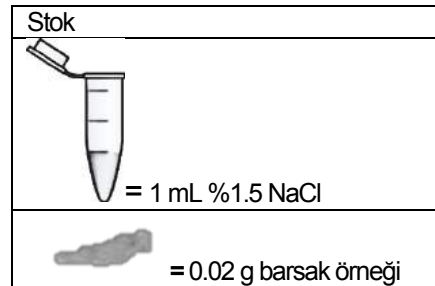


Şekil 3.21. Bakteri dayanıklılık testinde kullanılan *Vibrio*'nun yoğunlaştırılmış hali ve petri kutularına bakteri ekim hazırlıklarının yapışını gösteren görüntüler.

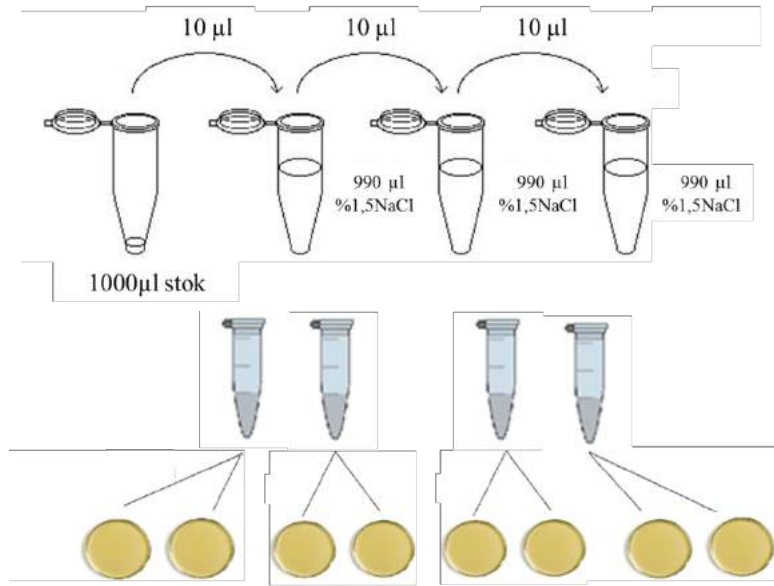
3.2.3.4. Bakteri Koloni Sayımı

3.2.3.4.1. Karides Bağırsak Örneklerinde Bakteri Kolonisi Sayımı

Bağırsak örneklerinde hem *Vibrio* hem de total bakteri sayımı yapmak için her bir karidesten alınan bağırsak örneği için bir stok solüsyonu hazırlanmış ve sayılabilir bakteri kolonilerini elde etmek için seyreltme işlemi bu stok solüsyonu üzerinden yapılmıştır. Öncelikle seyreltme basamaklarının sayısı ve tespiti için bir ön çalışma yürütülmüştür. Alınan bir barsak örneği için her defasında 10 kat olacak şekilde seyreltme yapılmış ve genel olarak sayılabilir koloni miktarı için 4 seyreltme yeterli bulunmuştur.



Seyreltmenin yapılacağı stok solüsyonu içerisinde 1 mL %1.5 NaCl bulunan ependorf tüpüne 0.02 g barsak örneği eklenmiş ve barsakta bulunan bakterilerin solüsyon içine nüfus etmesi için bir kaç dakika vortexle karıştırılmıştır. Stok solüsyonu hazırlama aşaması 1. seyreltme olarak kabul edilmiştir. İkinci seyreltme için, hazırlanan bu stok solüsyonundan pipet yardımıyla 10 µL alınarak içerisinde 990 µL %1.5'luk NaCl bulunan yeni bir ependorf tüpüne aktarım yapılmıştır. Aktarım yapılan ependorf tüpünün ağzı kapatılarak çalkalanmış daha sonra ağzı açılarak yeniden 10 µL çekilip 3. seyreltme için yine üstte belirtilen oranda %1.5'luk NaCl içeren üçüncü ependorf tüpüne aktarılmıştır. Bu işlem basamakları aynı şekilde 3. ve 4. seyreltme aşamaları için de uygulanmış ve her seyreltme işleminde pipet ucu değiştirilmiştir.

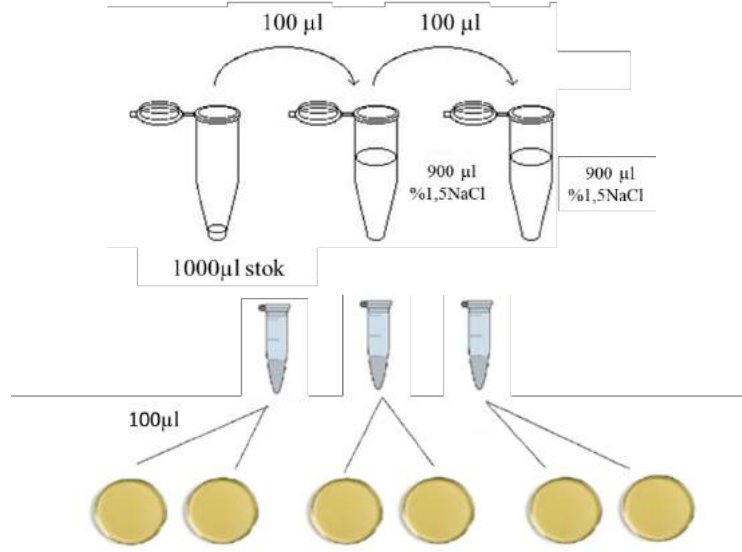


Seyreltme işlemleri tamamlanan bağırsak örnekleri önceden hazırlanan TSA ve TCBS agarlara her bir petriye 100 µL olacak şekilde orta kısma dökülerek cam yayma çubukları ile dağıtılmıştır. Ekim işlemi yapılan petriyer ters çevrilerek 30°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında sayılabilir kolonilerin olduğu seyreltmeler seçilerek aşağıdaki formüle göre toplam bakteri ve vibrio sayısı hesaplanmıştır.

3.2.3.4.2. Tank Su Örneklerinde Bakteri Kolonisi Sayımı

Su örneklerinde hem *Vibrio* hem de total bakteri sayımı yapmak için her bir tanktan su örneği alınarak ilk seyreltme solüsyonu hazırlanmıştır. Alınan su örnekleri için hazırlanan stok solüsyonundan 100 kat seyreltme yapılmış ve seyreltme basamaklarının sayısı yapılacak ön çalışma ile belirlenmiştir. Ön çalışmada yaklaşık 6 seyreltme basamağındaki sayılabilir koloni sayısı tespit edilerek çalışmanın hangi seyreltme basamağında sonlandırılacağı tespit edilmiştir. Bu proseste genel olarak sayılabilir koloni miktarı su örnekleri için 3 olarak bulunmuştur. Hazırlanan stok solüsyonundan pipet yardımıyla 100 µL alınarak ilk seyreltme için içerisinde 900 µL %1.5 NaCl bulunan ilk seyreltme tüpüne aktarım yapılmıştır. Aktarım

yapılan ependorf tüpünün ağzı kapatılarak çalkalanmış daha sonra bundan 100 µL çekilip 3. seyreltme için diğer ependorf tüpe aktarılmıştır.



Seyreltme işlemleri tamamlanan bağırsak örnekleri önceden hazırlanan TSA ve TCBS agarlara her bir petriye 100 µL olacak şekilde orta kısma dökülerek yayma çubukları ile dağıtılmıştır. Ekim işlemi yapılan petri ters çevrilerek 30°C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemden sonra, sayılabilir kolonilerin olduğu seyreltmeler seçilerek aşağıdaki formüle göre toplam bakteri ve *Vibrio* sayısı hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam bakteri ya da } Vibrio \text{ sayısı} = A \times 10 \times 100^n \text{ (CFU/mL)}$$

A: Seçilen petrideki bakteri koloni sayısı,
n: Seyreltme sayısı (kaçıncı seyreltmede koloni sayımı yapıldıysa),
10: seyreltme katsayısı

Stok solüsyonu 10^1 olarak sayılmıştır.

Üstteki formülde bağırsak örnekleri için katsayı olarak 100^n , su örneklerinde ise 10^n kullanılmıştır.

3.2.4. IV. DENEME: Katlı Tank Sisteminde Sürdürülebilir ve Ekonomik Bir Üretim Modeli Geliştirilmesi

Bu projenin son çalışması olan IV. Denemede, resirküle sistemde farklı stoklama yoğunluklarının (40, 80 ve 160 adet/m²) karideslerde (hem *P. vannamei* hem de *P. semisulcatus*'ta) stres oluşturup oluşturmadığını belirlemek için; büyüme, yem tüketimi, bazı hemolenf (plazma glukoz, kolesterol, plazma laktat, protein, trigliserit) ve immünolojik parametreler [alkalin fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT)] ile ısı şok proteinlerindeki değişim 4 ay süreyle araştırılmıştır. Bu amaçla tesisimizde 0.6 g ağırlığa kadar 1x10x1 m boyutlarında 2 adet tank içerisinde büyütülmüş olan 30.000 adet *P. semisulcatus* katlı sistemde mevcut olan 2x6x0.5 m boyutlarında bir tanka (40 cm su

derinliğinde) stoklanmış ve 3 hafta süreyle bir adaptasyon dönemine tabi tutulmuştur. Bu süreçte yapılan gözlemlerimizde, sadece 3 haftalık bu kısa periyot içerisinde bile, çok yüksek kanibalizm neticesinde karideslerin %70-80'nini kaybettiğimiz anlaşılmıştır. Zaten daha önce de 2. Denemede de benzer bir netice aldığımız için, bu karides türünün sığ ve dar polyester tanklar için uygun bir tür olmadığı ve herhangi bir tekrar neticesinde bile sağlıklı bir sonuç alamayacağımızı gözününde tutarak, büyüme çalışmasının sadece *P. vannamei* ile devam ettirilmesine karar verilmiştir.

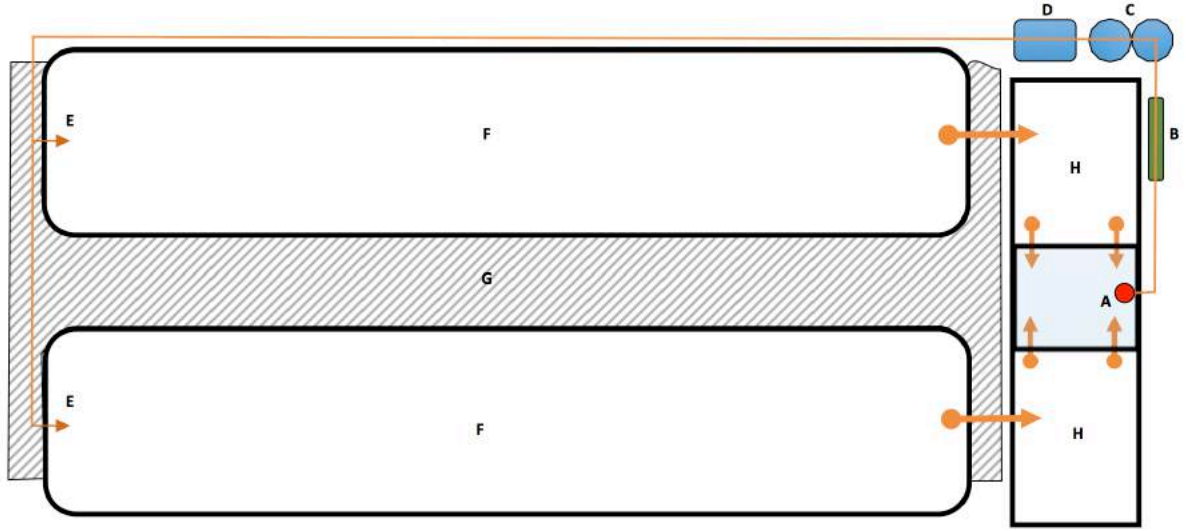
3.2.4.1. Deneme Dizaynı ve Yönetimi

Denemede kullanılacak olan karidesler (*P. vannamei*) bekleme tanklarından (2 adet 1x10x1 m beton tanklarda %20 tuzlulukta ve 28-30°C sıcaklıkta) deneme tanklarına alınmıştır. Deneme 6 kattan oluşan bir resirküle sistemde (RAS) 6 adet 2x6x0.5 m (en x boy x yükseklik) boyutunda fiberglas tanklarda üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) ve 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür (Şekil 3.22-3.24). Bu RAS sistemi 1 adet çökeltme tankı (beton), 1 adet otomatik filtre, 1 adet ısı-pompası, 1 adet biyofiltre ve 1 adet su pompasından oluşturulmuştur (Şekil 3.22). Sistemde su pompası (1 HP) ve hava motoru (blower, 1 HP) günün ışıklı zamanlarında tamamıyla solar enerji santralinden elde edilen elektrik ile beslenmiş gece saatlerinde ise şebeke elektriği kullanılmıştır.

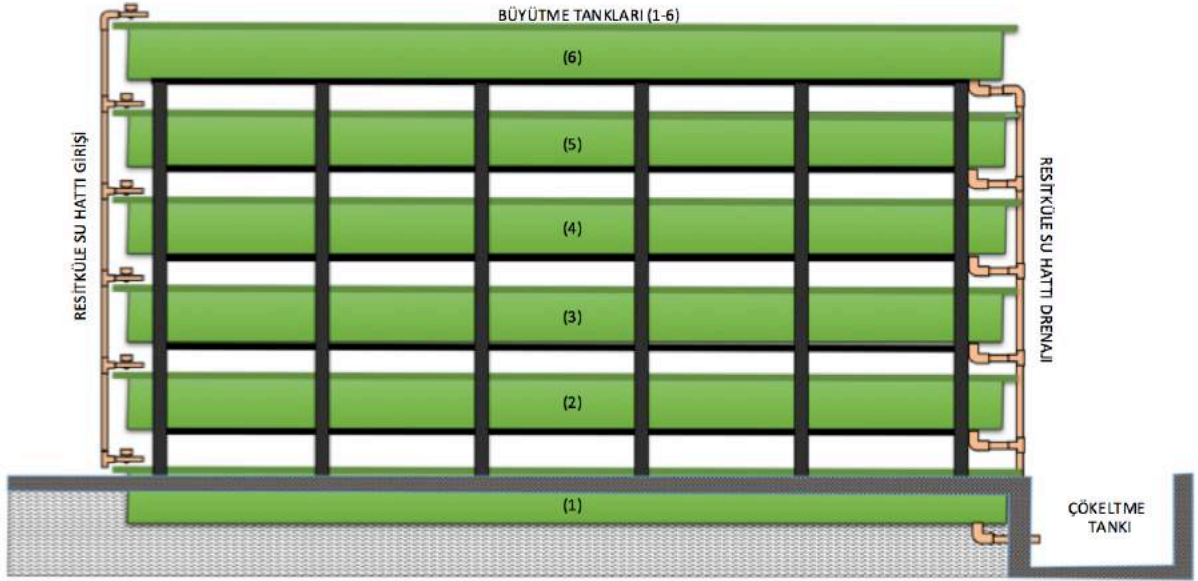
Deneme 17 Mayıs 2017 tarihinde başlatılmış ve çalışmada ortalama ağırlıkları 1.06 g olan karidesler kullanılmıştır. Deneme süresince besleme günde 4 kez (09:00, 13:00, 18:00 ve 23:00) olacak şekilde yürütülmüştür. Besleme Kumlu (2001)'de belirtildiği şekilde biyomasa göre ve elle yapılmıştır. Her tanka verilen yem düzenli olarak kaydedilerek denemenin sonunda yem değerlendirme oranları hesaplanmıştır. Deneme süresince beslemede kullanılan yemler 1.0, 1.5 ve 2.0 mm çapında üç farklı boyutta kendi tesisimizde üretilmiştir. Bu yemler pres peletleme yapıldıktan sonra 30 dk süreyle 110°C sıcaklıkta bir basınçlı kapta pişirilmiştir. Bu sayede su stabiliteyi yükseltile yemler uzun süre (en az 7 saat) dağılmadan suda bütünlüğünü koruyabilmiştir. Böylece, RAS sisteminde besin kaybı olmadan peletlerin uzun bir süreçte tüketilebilmeleri mümkün olabilmiş ve su kalitesi yüksek tutulabilmiştir. Denemenin 2. ve 4. ayları sonunda her tanktan 6-8'er adet karides örnekleterek bunlardan hemolenf alınmış, ısı şok proteinleri analizleri (HSP70 ve HSP90) için ise 0, 60 ve 120. günlerin sonunda abdominal et örnekleme yapılmıştır.

3.2.4.2. Su Kalitesi

Denemelerde kullanılan deniz suyu Yumurtalık Deniz Ürünleri Araştırma İstasyonu'ndan bir tankerle Adana'da bulunan kampus alanındaki Deniz Ürünleri Ar-Ge tesisine getirilmiş ve yer altı kuyu suyu (85 m derinlikte) ile karıştırılarak tuzluluk %20 civarına düşürülmüştür. Denemelerde pH, toplam amonyak, nitrit, nitrat, tuzluluk, alkalinite ve çözünmüş oksijen düzenli olarak (haftalık) ölçülmüştür. Bu amaçla tesislerimizde bulunan 1 adet pH-metre (Hanna), 1 adet refraktometre ve 1 adet oksijenmetre (YSI Model) kullanılmıştır. Diğer su parametrelerinin ölçülmesinde ise test kitleri tercih edilmiştir.



Şekil 3.22. Projenin 4. Denemesinin yürütülmesinde kullanılacak olan ve iki katlı tank sisteminden oluşan deneme ünitesi. A: Rezervuar, ve Dalgıç Pompa, B: Otomatik Filtre, C: Biyofiltreler, D: Isı-pompası, E: Geri Dönüş Hattı Su Girişi, F: Katlı Sistemlerde Bulunan Karides Yetiştiricilik Tankları, H: Çökeltme Tankları, G: Katlı Sistemler Arası Yürüme Platformu



Şekil 3.23. Katlı tank sistemlerinin yan profilden görünümü.



Şekil 3.24. IV. Denemede kurulan ve RAS olarak kullanılan katlı tank sistemi.



Şekil 3.25. Katlı sistemde kullanılan tankların su ile doldurulması ve denemeye hazır hale getirilmesi.

3.2.4.3. Performans Ölçümü

Deneme sonunda her tanktan en az 100 adet karides tesadüfi olarak örneklenmiş ve bunlardan bireysel ağırlık ölçümü yapılmıştır. Deneme gruplarının büyüme ve yemden yararlanma performansları aşağıdaki formüllerle belirlenmiştir;

Spesifik büyüme oranı (% / gün) = $[(\ln W_s - \ln W_b) / \text{gün}] \times 100$ (Company ve ark., 1999),

Yemden yararlanma oranı = $\text{Tüketilen yem (g)} / \text{canlı ağırlık artışı (g)}$ (Santinha ve ark., 1999),

Günlük yem tüketimi (GYT) (g / kg OW / gün) = $\text{ortalama yem tüketimi} / \text{OW} / \text{gün}$

Burada, W_b deneme başı ağırlık, W_s deneme sonu, OW ise ortalama ağırlıktır.

3.2.4.4. Hemolenf Alımı ve Hematosit Sayımı

Denemenin başlangıcında karidesler çok küçük olduklarından kan örneği alınamamış ve ilk örnekleme ancak denemenin 2. ayının sonunda ikinci örnekleme ise deneme sonunda (4. ayın sonu) yapılmıştır. Bu amaçla her tanktan 6-8 adet karides alınmış ve her bireyin ilk abdominal segmentinin ventralinde bulunan pleopodların kaidesinden içeriye doğru 1 mL'lik bir mikro-enjektör (ilk örneklemede 400 µL, ikinci örneklemede 500 µL antikoagülant ile tamponlanmış) batırılarak hemolenf çekilmiştir. Her karidesten 300-500 µL kadar hemolenf alınabilmektedir. Antikoagülant olarak 30 mM trisodium citrate, 0.34 M sodium chloride, 10 mM EDTA ve 0.115 M glucose (Osmolaliteyi 780 mOsm/kg'a çıkarmak için) içeren ve pH'sı 7.55'e ayarlanmış bir solüsyon kullanılmıştır.



Şekil 3.26. Deneme sonunda araştırma ekibimizin doku örnekleme.

Hemolenf alımından hemen önce kullanılacak olan mikro-enjektörler 400-500 μ L antikoagülant ile tamponlandıktan sonra ventral sinüsten hemolenf çekilmiştir. 25-30 μ L kan/antikoagülant karışımı hemasitometre üzerine damlatılmış ve total hematosit (Leica DMIL, LeicaMicrosystems, Wetzlar, Germany) sayımı hemasitometrede (improved Neubauer) yapılmıştır. Her örnek için hematosit sayımı bir mikroskopta 40'luk büyütmede iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Biyokimyasal analizler, fagositik aktivite ve lizozim aktivitesi için mikrotest tüp içerisinde kalan kan/antikoagülant karışımı 25°C'de 20 dk süreyle 300 rpm'de santrifüj edilerek serum ayrıştırılmış, otomatik mikropipet ile ayıklanan pelet ve serum analizlerde kullanılmıştır. Biyokimyasal analizler için elde edilen serum örnekleri etiketlenmiş 1 mL'lik ependorf tüpler içerisinde analizler yapıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4.5. Analizler

3.2.4.5.1. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için elde edilen serum örnekleri daha öncede belirtildiği gibi etiketlenmiş 1 mL'lik ependorf tüpler içerisinde analizler yapıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir. Biyokimyasal analizlerden trigliserit, kolesterol, glikoz, protein, laktat, alkalın fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST) ile alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri ölçümü Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda bulunan Beckman Coulter Unicel DxC 800 cihazında kemilüminesans (kimyasal ışıldama) ile tam otomatik oto-analizatörde belirlenmiştir.

3.2.4.5.2. Fagositik Aktivite

Bu analiz için denemenin sadece 60. gününde, her stoklama grubundan 8 adet olmak üzere toplamda 24 karides örneklenmiştir. Bu karideslerden alınan hemolenf ve antikoagülant karışımı 20 dakika süreyle 300 rpm ile 25°C'de santrifüjlendikten sonra serum örneği ayrılmış ve kalan peletin üzerine 200 µL PBS (fosfat tampon çözeltisi, pH 7.4) solüsyonu eklenmiştir. Ardından 15 µL örnek hemasiyometreye koyularak hematosit sayımı yapılmış ve sayımda aşağıdaki formül kullanılarak 1 mL örnekteki hücre miktarı belirlenmiştir.

$$1 \text{ mL örnekte} = 0.2 \text{ mm bölmelerinde sayılan ortalama hücre sayısı} \times 0.25 \times 10^6 \text{ hücre}$$

Hematosit yoğunluğu $10^6/200 \mu\text{L}$ olacak şekilde PBS solüsyonu kullanılarak seyreltme yapılmış ve lateks mikroboncuk (floresan sarı-yeşil renkte, Sigma Aldrich, USA) tanelerinin final yoğunluğu $10^7/200 \mu\text{L}$ olacak şekilde hazırlanmıştır. Boş petri kutularına hemolenf miktarlarına göre 1 ya da 2 adet lamel yerleştirilmiş ve lamellerin üzerine hemolenften 200 µL koyularak 2 saat boyunca yüzeye tutunması için beklenmiştir. Ardından PBS solüsyonu ile 3 kez yıkılarak yüzeye tutunamayan ölü hücreler uzaklaştırılmıştır. Daha sonra lateks solüsyonu fagosit hücrelerinin üzerine damlatılmış ve 1.5 saat enkapsüle etmesi için beklenilmiştir. Fazla lateks taneleri ve tutunamamış hücrelerin uzaklaştırılması amacıyla PBS solüsyonu ile 3 kez yıkama yapılmıştır. Diff-Quick Staining boya seti ile 10 sn süreyle fikse edilmesinin ardından, ilk boyama ve ikinci boyama yapılmış ve distile su ile yıkama yapılarak kurumaya bırakılmıştır. Mikroskop altında sayım yapılmış Fagositik İndeks (PI) ve Fagostik aktivite (PA) değerleri aşağıdaki formüllerden yararlanılarak hesaplanmıştır (Puangkaew vd., 2004; Koenigskecht ve Landreth, 2004).

$$PA = \text{Fagositik aktivite gösteren hücre sayısı} / \text{Toplam sayılan hücre sayısı}$$

$$PI = \text{Her hücredeki ortalama lateks tane sayısı} / \text{Fagositik aktivite gösteren hücre sayısı}$$

3.2.4.5.3. Lizozim Aktivitesi

Üstte belirtilen her karidesin kan serum örneği (25 µL) 96-gözlü mikrolakaya (her karides için üç tekerrür) yerleştirilmiştir. Kasetsart Üniversitesi'nden getirtilen *Micrococcus lysodeikticus* 0.2 mg/mL (Sigma-Aldriche, USA) (Na₂PO₄ buffer pH 6.2) yoğunlukta hazırlanmış, 200 µL/mikrolaka [175 µL (buffer + bakteri) + 25 µL (serum); kontrol: 175 µL (buffer + bakteri) + 25 µL (buffer)] olacak şekilde 96-gözlü plaka içine aktarılmıştır. Her örneğin kantitatif absorbens değerleri 450 nm'de 6.5 dk boyunca mikrolaka okuyucuda okutulmuştur. İlk okuma 30 saniye, ikinci okuma ise 5 dakika sonra yapılmıştır. Lizozim aktivitesi analizi için ELİSA (Medispec ESR 200, Germantown, Md., USA) cihazı kullanılmıştır. Ölçümler sonunda 0.001'lik absorbens değerindeki azalma 1 ünite lizozime eşdeğer olarak hesaplanmıştır.

Her karides kan örneği için lizozim aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Ünite/mLenzim} = [(\Delta A_{450}/6.5 \text{ dk Test} - \Delta A_{450}/6.5 \text{ dk Blank}) (df)]$$

burada: 'df' kanın seyreltme faktörüdür.



Şekil 3.27. Elisa okumaları için hazırlık aşamalarından görüntüler.

3.2.4.5.4. Isı Şok Proteinleri (HSP) Analizi

Denemede 0, 60 ve 120. günlerde HSP70 ve HSP90 analizleri için her gruptan 6 adet karides örnekleme ve bunlar doğrudan RNA Later solüsyonuna koyularak -20°C'de muhafaza edilmiştir. Denemenin ilk haftasında yapılan örnekleme karidesler tüm vücut halinde doğrudan 1.5 mL'lik mikrotest (ependorf) tüplerine yerleştirilmiş (her tanktan 3 adet 1 test tüpüne yerleştirilerek), son örneklemede ise, karidesler irileştikleri için, her bireyin kas, hepatopankreas ve solungaç dokuları disekte edildikten sonra tüplere yerleştirilmiştir. Bu örneklemede her bireyin organları bir tüp içerisinde birlikte korunmuştur. Kuru buz içerisinde Tayland'ın Kasetsart Üniversitesi'ne ulaştırılan örnekler aşağıda açıklanan tekniklerle toplam RNA ve cDNA sentezi ve ardından da Real Time PCR Analizleri ile HSP70 ve HSP90 genlerinin görünüm analizleri bu üniversitenin Su Ürünleri Fakültesi'nin laboratuvarlarında yürütülmüştür.

a) Toplam RNA ve cDNA Sentezi

Toplam RNA ekstraksiyonunda, et doku örnekleri FastPrep®homojenizatör ile 40 sn süreyle homojenize edilmiş (MP Biomedicals, USA) ardından kloroform kullanarak faz ayrımı yapılmıştır. Toplam RNA'lar propanol ile çöktürülmüş ve %75'lik etilalkol ile yıkanmıştır. Ardından, RNA peletleri kurutulmuş ve NanoDropSpektrofotometre (NanoDrop 2000, ThermoScientific, USA) ile RNA seviyesi belirlenerek final yoğunluğunun 1 µg seviyesine ayarlanması sağlanmıştır. Üretici firmanın önerdiği protokol ile Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kitleri (Fermentas, USA) kullanılmış mRNA'ların cDNA'lara (firststrand) dönüşümü gerçekleştirilmiştir.

b) Real time-PCR Analizleri

Üstte belirtilen 1 µg cDNA kullanılarak Quantitative real-time PCR (Brilliant®II SYBR®Green QPCR Master MixStratagene, USA) analizi yapılmış ve bunun için *P. vannamei*'nin 40 subfamily B member 9, HSP40 subfamily C member 3, HSP70, HSP90α, HSP90β spesifik primerleri kullanılmıştır. Ölçülen her gen Pasifik beyaz karidesinin beta-actin geninin spesifik primerleri kullanılarak beta-actin ekspresyon seviyeleri ile lateral olarak normalize edilmiştir. Real-time PCR'da 10 dk süreyle 95°C'de bir döngü, ardından 30 sn süreyle 95°C'de, 30 sn süreyle 55°C'de ve 1 dk süreyle 72°C'de 40'ar döngü ve son olarak 1 dk süreyle 95°C'de, 30 sn süreyle 55°C'de ve 30 sn süreyle 95°C'de 1'er döngü tercih edilmiştir. Elde edilen sınır değerleri (CT) kaydedilerek, *P. vannamei*'nin test edilen her organındaki 5 hücresel stres ile ilgili genlerin ekspresyon seviyelerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. İlgili genlerin nispi ekspresyon oranları 2-ΔΔCT metodu ile hesaplanmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001). Her reaksiyonun beta-actin mRNA, Her reaksiyonun HSP70, HSP90 ve beta-aktin mRNA'ları arasındaki eşik çevrim değeri farkı (ΔCT), mRNA seviyesini normalleştirmek için kullanılmıştır. Farklı zaman dilimlerinde, karidesin test edilen tüm dokuları için HSP70 ve HSP90 mRNA'ların nispi kopya sayısı, ilk gündeki (0. Gün) gen ekspresyon düzeyi kalibratör olarak kullanılmak suretiyle hesaplanmıştır.

3.2.4.5.5. İstatistik Analizler

Büyüme, yem tüketimi, toplam hematosit sayımı, glikoz seviyeleri, fagositik aktivite (PA ve PI), lizozim aktivitesi tek yönlü veya iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven aralığında kıyaslanmıştır ($P<0.05$). Farklı zaman dilimlerindeki HSP genlerinin nispi ekspresyon oranlarının analizinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. İstatistik analizler SPPS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. I. DENEME: Yeşil Kaplan Karidesi (*Penaeus semisulcatus*) İçin Ekonomik ve Su Stabilitesi Yüksek Yemler Geliştirilmesi

4.1.1. Su Kalite Parametreleri

Deneme boyunca düzenli olarak sabah ve akşam yapılan ölçümler neticesinde RAS sisteminde su sıcaklığının 8 hafta içinde $27.72 \pm 1.87^\circ\text{C}$ 'de, haftalık ölçümleri yapılan pH değerlerinin ise 8.33 ± 0.41 'de tutulduğu hesaplanmıştır. Tuzluluk %30 olarak sürdürülmüş ve su değişkenliği buharlaşma ve sifonla gerçekleşen su kayıplarını telafi etmek amacıyla haftada %2 olarak gerçekleştirilmiştir. Azotlu atıklardan toplam amonyak < 0.05 mg/L, nitrit 0 ile 0.5 mg/L arasında ve nitrat ise 0.25 ile 100 mg/L arasında değişmiştir. Çözünmüş oksijen RAS sisteminde hiçbir zaman 8 mg/L'nin altına inmemiştir. Buna göre deneme süresince ölçülen su parametreleri yeşil kaplan karides için optimal olarak kabul edilen değerler arasında seyretmiş ve deneme sonuçlarını herhangi bir şekilde olumsuz olarak etkilememiştir.

4.1.2. Deneme yemleri

Deneme yemleri izoproteik ve izoenerjitik olacak şekilde formüle edilmiştir ve yapılan istatistik analizler neticesinde temel besinsel kompozisyonları açısından genel olarak benzerlik söz konusudur. Alternatif protein kaynaklarının protein içerikleri %32.66 (yer fıstığı küspesi) ile %71.18 (balık unu) arasında değişmiştir (Çizelge 4.1). Diğer kaynaklardan tavuk unununun protein içeriği (%56.03), mısır glutenin (%63.23) ve fındık küspesinin ise %40.81 olarak belirlenmiştir. Bu hammaddeler kullanarak üretilen yemlerin protein içeriği, yapılan analizler ve hesaplamalar sonucunda, ortalama 40.44 ± 2.02 , lipit içeriği 9.51 ± 3.12 , kuru madde içeriği 91.31 ± 0.90 , ham kül içeriği 8.69 ± 0.90 ve toplam enerji ise 20.45 ± 0.46 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.1). Kullanılan hammaddeler içerisinde ham kül açısından en yüksek değer %13.26 ile balık ununda, en düşük değer ise %4.87 ile mısır gluteninde bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Deneme yemlerinde kullanılan hammaddelerin temel besin bileşenleri (%)

Temel Besin Bileşenleri	Balık Unu	Fındık küspesi	Mısır gluteni	Yer fıstığı küspesi	Soya küspesi	Tavuk unu
Kuru Madde (%)	91.22	90.17	89.33	90.84	91.90	90.25
Protein (%)	71.18	40.81	63.23	32.66	43.62	56.03
Lipit (%)	10.59	6.45	3.75	14.44	12.61	22.08
Kül (%)	13.26	9.49	4.87	6.18	8.25	7.41
Toplam enerji (MJ/kg)	21.91	19.66	21.31	21.48	21.43	24.49

Çizelge 4.2. Deneme yemlerinin yağ asidi kompozisyonu (% , yağ asidi).

DENEME YEMLERİ							
Yağ asidi	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2	TU+MİKS2
14:0	3.90±0.03 ^a	1.94±0.01 ^d	2.01±0.01 ^c	2.27±0.00 ^b	1.56±0.00 ^g	1.76±0.01 ^e	1.62±0.01 ^f
14:1	0.2±0.00 ^b	0.10±0.00 ^b	0.11±0.00 ^b	0.12±0.00 ^b	0.08±0.00 ^b	0.66±0.49 ^a	0.34±0.44 ^{ab}
15:0	0.06±0.03 ^a	0.04±0.00 ^{ab}	0.05±0.00 ^{ab}	0.03±0.02 ^b	0.04±0.00 ^{ab}	0.04±0.01 ^{ab}	0.04±0.00 ^b
15:1	0.13±0.00 ^a	0.06±0.00 ^{bc}	0.07±0.00 ^b	0.07±0.00 ^b	0.05±0.00 ^d	0.06±0.00 ^c	0.05±0.00 ^d
16:0	19.50±0.15 ^a	17.06±0.06 ^b	14.54±0.05 ^e	16.03±0.04 ^c	13.54±0.05 ^f	15.04±0.03 ^d	16.00±0.11 ^c
16:1n-7	3.49±0.03 ^a	2.89±0.01 ^b	1.84±0.01 ^e	2.05±0.01 ^d	1.44±0.01 ^g	1.61±0.01 ^f	2.25±0.15 ^c
17:0	0.60±0.02 ^a	0.32±0.04 ^{ab}	0.31±0.00 ^{cb}	0.35±0.01 ^b	0.25±0.00 ^e	0.28±0.01 ^d	0.29±0.01 ^d
16:2n-4	0.41±0.00 ^a	0.34±0.00 ^b	0.21±0.0 ^e	0.22±0.00 ^d	0.16±0.01 ^f	0.17±0.00 ^f	0.26±0.00 ^c
17:1n-7	0.23±0.00 ^a	0.12±0.00 ^{bc}	0.12±0.00 ^{bc}	0.08±0.07 ^{bc}	0.07±0.06 ^c	0.11±0.01 ^{bc}	0.15±0.03 ^b
18:0	4.61±0.07 ^c	5.16±0.04 ^a	3.93±0.01 ^e	4.10±0.00 ^d	3.77±0.01 ^f	3.97±0.02 ^e	4.75±0.02 ^b
18:1n-9	15.88±0.10 ^f	23.29±0.01 ^c	28.24±0.12 ^b	18.65±0.05 ^f	31.37±0.04 ^a	19.65±0.04 ^e	22.57±0.16 ^d
18:1n-7	2.31±0.03 ^a	2.06±0.02 ^b	1.89±0.02 ^{cd}	1.93±0.03 ^c	1.79±0.01 ^f	1.85±0.01 ^{de}	1.83±0.05 ^{ef}
18:2n-6	15.74±0.08 ^g	29.45±0.10 ^e	27.4±0.11 ^f	33.44±0.14 ^c	30.65±0.07 ^d	38.41±0.05 ^a	34.85±0.28 ^b
18:3n-6	0.89±0.01 ^a	0.61±0.01 ^e	0.79±0.01 ^b	0.62±0.00 ^d	0.76±0.00 ^c	0.55±0.00 ^f	0.54±0.01 ^f
18:3n-3	0.54±0.38	0.47±0.05	0.64±0.05	0.38±0.27	0.62±0.05	0.51±0.00	0.4±0.00
20:1n-11	1.90±0.09 ^e	2.95±0.11 ^c	2.62±0.26 ^d	3.64±0.10 ^b	2.64±0.07 ^d	4.2±0.01 ^a	3.44±0.02 ^b
20:1n-9	0.94±0.01 ^a	0.63±0.01 ^e	0.67±0.00 ^c	0.75±0.01 ^b	0.58±0.00 ^g	0.65±0.00 ^d	0.6±0.00 ^f
20:2n-6	0.21±0.00 ^{ab}	0.25±0.00 ^a	0.12±0.00 ^d	0.17±0.06 ^c	0.09±0.00 ^d	0.11±0.00 ^d	0.19±0.01 ^{bc}
20:3n-6	0.38±0.00 ^e	0.33±0.01 ^f	0.83±0.00 ^b	0.37±0.00 ^d	0.94±0.01 ^a	0.38±0.00 ^{cd}	0.34±0.00 ^e
20:4n-6	0.43±0.01 ^a	0.21±0.00 ^f	0.29±0.01 ^d	0.33±0.00 ^b	0.27±0.00 ^e	0.31±0.00 ^c	0.21±0.00 ^f
20:3n-3	1.90±0.27 ^a	1.05±0.01 ^b	0.89±0.22 ^b	0.64±0.52 ^b	0.6±0.04 ^b	0.7±0.00 ^b	0.86±0.03 ^b
20:5n-3	6.15±0.01 ^a	2.60±0.03 ^d	3.02±0.01 ^c	3.37±0.00 ^b	2.23±0.06 ^f	2.46±0.01 ^e	2.11±0.03 ^g
22:1n-9	0.35±0.30	0.16±0.01	0.15±0.13	0.25±0.00	0.15±0.00	0.17±0.00	0.10±0.04
22:5n-3	0.77±0.06 ^a	0.75±0.32 ^a	0.64±0.28 ^{ab}	0.43±0.07 ^{bc}	0.29±0.04 ^c	0.28±0.02 ^c	0.28±0.01 ^c
22:6n-3	15.14±0.06 ^a	5.75±0.10 ^d	6.79±0.03 ^c	7.64±0.01 ^b	4.65±0.03 ^f	5.21±0.01 ^e	4.41±0.04 ^g
24:0	0.77±0.18 ^a	0.25±0.02 ^b	0.27±0.00 ^b	0.30±0.00 ^b	0.21±0.00 ^b	0.21±0.00 ^b	0.17±0.04 ^b
∑ SFA	29.45±0.27 ^a	25.48±0.08 ^b	21.10±0.06 ^d	23.07±0.02 ^c	19.38±0.06 ^e	21.31±0.06 ^d	23.46±0.91 ^c
∑ MUFA	25.47±0.09 ^g	32.35±0.15 ^c	35.70±0.11 ^b	27.53±0.03 ^f	38.18±0.16 ^a	28.97±0.50 ^e	30.73±1.70 ^d
∑ PUFA	42.15±0.74 ^d	41.45±0.13 ^{de}	41.41±0.29 ^{de}	47.37±0.79 ^b	41.10±0.14 ^e	48.90±0.04 ^a	44.19±0.30 ^c
∑ n-3	24.49±0.67 ^a	10.61±0.22 ^c	11.98±0.41 ^b	12.47±0.81 ^b	8.38±0.07 ^{de}	9.15±0.01 ^d	8.07±0.09 ^e
∑ n-6	17.66±0.08 ^g	30.84±0.09 ^e	29.43±0.13 ^f	34.93±0.08 ^c	32.71±0.07 ^d	39.75±0.06 ^a	36.12±0.28 ^b
n-3/n-6	1.39±0.03 ^a	0.34±0.01 ^c	0.41±0.02 ^b	0.36±0.02 ^{bc}	0.26±0.00 ^d	0.23±0.00 ^d	0.22±0.00 ^d

Her değer bir ortalama (n = 3) ± standart sapmadan oluşmaktadır. Satırlarda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiksel farklılıkları göstermektedir (P < 0.05).

Deneme yemlerinde yağ kaynağı olarak benzer oranlarda balık yağı kullanılmış olmasına rağmen, yemlerin yağ asidi kompozisyonunun balık ununa ikame olarak kullanılan protein kaynaklarından etkilendiği görülmüştür. Balık unu ve balık yağı kullanılan kontrol grubu (BU) yemlerinde doymuş yağ asitleri (SFA) %29.45 oranında belirlenmişken, BU'nun %10 seviyesine indirildiği veya hiç kullanılmadığı yem gruplarında SFA değerleri %24.48 ve altında bulunmuştur ($P<0.05$, Çizelge 4.2). Bunun tam tersine, MUFA'lar açısından ise BU yeminde bu yağ asitleri en düşük oranda görülmüşken (%25.47), bu oran diğer yemlerde %27.53 (10BU+MİKS2) ile %38.18 (MİKS1) arasında değişmiştir ($P<0.05$). PUFA'lar açısından irdelendiğinde, en zengin yem grubunun MİKS2 (%48.90) ve ardından da BU+10BU+MİKS2 (%47.37) olduğu diğerlerinin bu yağ asidi grubu açısından %41.41 ile %44.19 arasında değiştiği belirlenmiştir. MİKS2 kullanılan yemlerde PUFA farkının özellikle bitkisel kaynaklardan (soya küspesi ve mısır gluteni) geldiği ve bu bitkisel kaynakların özellikle linoleik asit (18:2n-6) açısından fark yarattığı anlaşılmıştır.

Yemlerde belirlenen n-3 yağ asitleri grubu açısından BU yemi %24.49'luk bir oranla tüm diğer yem grupları arasında (ki bunlar %8.07 ile %12.47 arasında değişmiştir) açık ara farkla yüksek çıkmıştır ($P<0.05$; Çizelge 4.2). n-3 yağ asitlerindeki bu yüksek seviye özellikle DHA (%15.44) ve daha düşük oranda da olsa EPA'dan (%6.15) kaynaklanmıştır. BU yeminde bu yağ asitlerinin seviyelerinin diğer yem gruplarından 2-3 kat daha yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Genel olarak n3/n6 oranı BU yeminde 1.39 olarak hesaplanmışken, bu oran diğer yem gruplarında 0.22 ile 0.41 arasında değişim göstermiştir ($P<0.05$).

Deneme yemlerinin amino asit içerikleri, yem içerisinde kullanılan hayvansal ve bitkisel protein kaynaklarına göre değişiklikler göstermiştir (Çizelge 4.3). Beklendiği gibi, protein kaynağı olarak balık unu kullanılan kontrol yeminde esansiyel amino asitlerden metiyonin (%0.90), arginin (%2.0), valin (%2.16) ve lizin (%6.05) miktarları, bitkisel protein kaynağı içeren diğer deneme yemlerine kıyasla, daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Bunlar içerisinde bilhassa lizin, diğer tüm yem gruplarından 1.52-3 kat daha yüksek seviyede bulunduğu kaydedilmiştir ($P<0.05$). BU yeminde Bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı MİKS1 ve MİKS2 gruplarının amino asit içeriği, %10 BU ilaveli formları ile karşılaştırıldığında, özellikle arginin, metiyonin, valin ve histidin gibi önemli esansiyel amino asit miktarlarında artış olduğu, buna göre 10BU+MİKS1 ve 10BU+MİKS2 gruplarının esansiyel amino asit değerlerinin yalnızca MİKS içeren yemlere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).

Esansiyel olmayan amino asitlerden alanin (%3.19) ve özellikle de prolin (%7.39) yüksek oranda tavuk unu kullanılan TU+MİKS2'de belirgin bir şekilde yüksek çıkmıştır (Çizelge 4.3; $P<0.05$). Aspartik asit ise BU yeminde %2.53 ile diğer gruplardan (%0.79-1.467) daha yüksek miktarda belirlenmiştir ($P<0.05$).

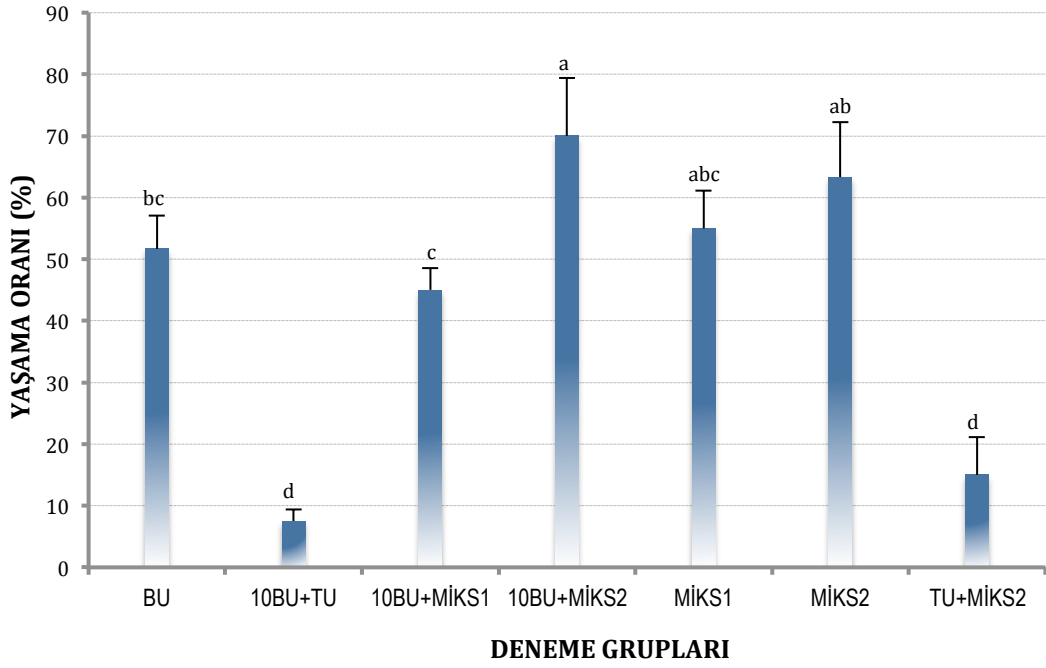
Çizelge 4.3. Deneme yemlerinin esansiyel ve esansiyel olmayan gruplar bazında amino asit kompozisyonları (%/protein).

DENEME GRUPLARI							
	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS 1	MİKS 2	TU+MİKS 2
Esansiyel Amino Asitler (%)							
Arginin	2.00±0.00 ^a	1.86±0.00 ^b	1.54±0.00 ^c	1.00±0.00 ^g	1.21±0.07 ^d	1.09±0.00 ^e	1.05±0.01 ^f
Histidin	0.99±0.02 ^b	1.03±0.01 ^a	0.79±0.03 ^c	0.99±0.01 ^b	0.62±0.07 ^d	0.78±0.02 ^c	0.81±0.00 ^c
Izolösin	1.82±0.00 ^c	2.06±0.01 ^b	1.66±0.01 ^d	1.84±0.01 ^c	1.56±0.07 ^e	1.66±0.01 ^d	2.45±0.00 ^a
Lösin	3.37±0.00 ^f	3.53±0.00 ^e	4.23±0.02 ^d	5.11±0.02 ^a	4.44±0.37 ^c	5.09±0.04 ^{ab}	5.04±0.01 ^b
Lisin	6.05±0.03 ^a	2.81±0.02 ^d	3.12±0.03 ^c	3.97±0.02 ^b	2.81±0.22 ^d	2.68±0.20 ^d	2.02±0.00 ^e
Metiyonin	0.90±0.00 ^a	0.81±0.00 ^c	0.63±0.00 ^e	0.85±0.00 ^b	0.48±0.09 ^f	0.64±0.00 ^d	0.81±0.00 ^c
Fenilalanin	1.92±0.01 ^g	2.19±0.00 ^f	2.24±0.02 ^e	2.68±0.00 ^b	2.45±0.00 ^d	2.47±0.01 ^c	3.16±0.00 ^a
Threonin	1.35±0.00 ^e	2.00±0.00 ^a	1.31±0.01 ^f	1.43±0.01 ^d	1.13±0.32 ^g	1.66±0.01 ^c	1.97±0.00 ^b
Valin	2.16±0.01 ^c	3.01±0.01 ^b	2.03±0.02 ^d	2.07±0.01 ^d	1.75±0.07 ^f	1.82±0.01 ^e	3.34±0.00 ^a
Esansiyel Olmayan Amino Asitler (%)							
Alanin	2.37±0.00 ^f	2.94±0.01 ^b	2.51±0.01 ^e	2.68±0.01 ^c	2.24±0.20 ^g	2.55±0.01 ^d	3.19±0.01 ^a
Aspartik asit	2.53±0.01 ^a	1.45±0.00 ^b	1.47±0.02 ^b	1.21±0.01 ^c	1.01±0.08 ^e	1.12±0.01 ^d	0.79±0.01 ^f
Glutamik asit	6.72±0.03 ^c	5.14±0.02 ^e	6.97±0.04 ^b	6.78±0.04 ^c	6.10±0.75 ^d	7.25±0.06 ^a	3.32±0.01 ^f
Glisin	2.28±0.01 ^c	4.07±0.01 ^a	2.17±0.00 ^d	2.01±0.01 ^e	1.87±0.03 ^g	1.92±0.00 ^f	3.29±0.01 ^b
Prolin	2.37±0.00 ^g	4.81±0.01 ^b	3.39±0.01 ^f	4.08±0.00 ^d	3.48±0.63 ^e	4.54±0.01 ^c	7.39±0.03 ^a
Serin	1.33±0.01 ^g	2.55±0.01 ^a	1.68±0.00 ^e	1.85±0.01 ^c	1.50±0.28 ^f	1.97±0.00 ^b	1.71±0.01 ^d
Tyrozin	1.40±0.03 ^e	1.67±0.00 ^c	1.54±0.00 ^d	1.86±0.01 ^a	1.56±0.16 ^d	1.83±0.01 ^b	1.87±0.00 ^a

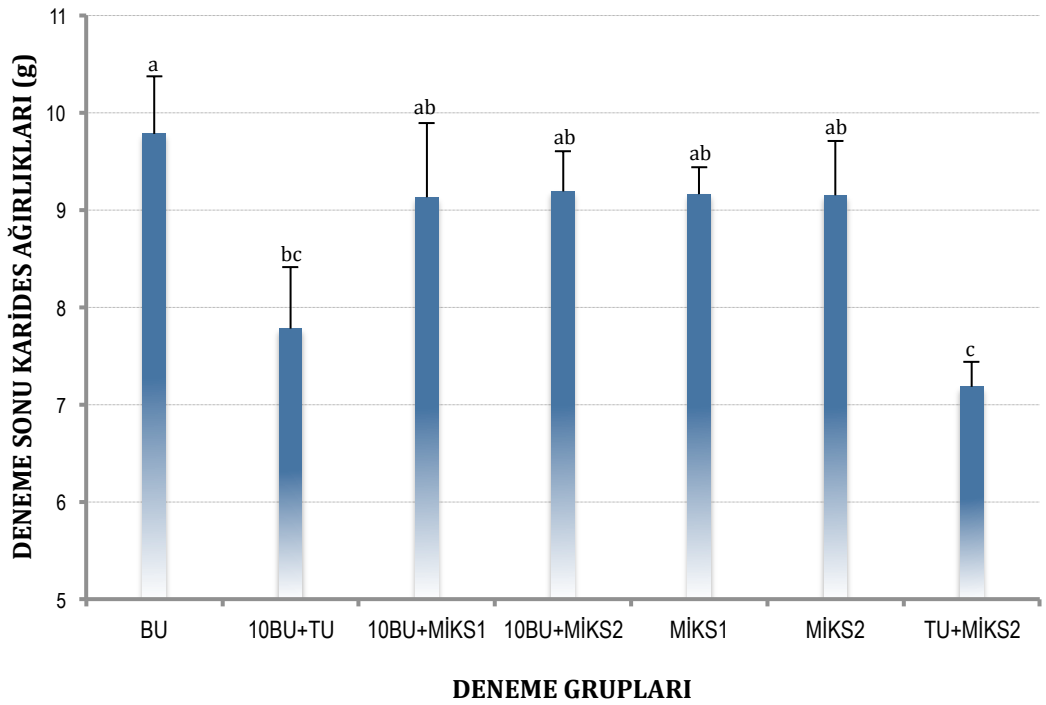
Her değer bir ortalama ± standart sapmadan oluşmaktadır. Satırlarda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden farklıdır (P <0.05).

4.1.3. Büyüme Performans Ölçümleri

Yaşama oranı, kontrol grubuna kıyasla (%51.67), bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı tüm gruplarda %45 ile %70 arasında değişmiş, TU içerikli yem gruplarından 10BU+TU grubunda %7.5, TU MİKS2 grubunda ise %15.00'e kadar düşmüştür (Şekil 4.1, Çizelge 4.4). Test ettiğimiz bitkisel protein kaynaklarının hayatta kalma oranını olumlu etkilediği, alternatif hayvansal protein kaynağı olarak değerlendirilen tavuk ununun (TU) ise yüksek oranlarda kullanıldığında yaşama oranında ciddi seviyede olumsuzluklara neden olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Benzer bulgular final ağırlıklarına da yansımış ve TU'nun olduğu tüm gruplarda da büyümenin olumsuz etkilendiği görülmüştür (Şekil 4.2). BU grubu ile birlikte tüm bitkisel protein kaynaklarıyla beslenen gruplarda ortalama ağırlıklar 9.13-9.78 g aralığında seyretmiş, ancak deneme sonunda TU ile beslenen her iki grupta da ise bu değerler 7.50-7.78 g olarak gerçekleşmiştir (P<0.05, Çizelge 4.4).



Şekil 4.1. Toplamda 8 hafta süren deneme sonunda karideslerde (*Penaeus semisulcatus*) belirlenen yaşama oranı değerleri (ortalama ± standart sapma, n = 3).



Şekil 4.2. Toplamda 8 hafta süren deneme sonunda karideslerde (*Penaeus semisulcatus*) belirlenen yaşama oranı değerleri (ortalama ± standart sapma, n = 3).

Yapılan hesaplamalar neticesinde gruplarda SBO'nun 0.46 ile 0.91 g/gün arasında değiştiği ($P < 0.05$), BU'nun girdiği tüm yem gruplarında (%10 ve %48 BU) ve, ilginç bir şekilde, hayvansal protein

kaynaklarının bulunmadığı MİKS1 ve MİKS2 gruplarında SBO benzer çıkmıştır ($P>0.05$). Gruplarda YÇO değerleri 1.63 ile 2.03 arasında değişmiş olmasına rağmen gruplar arasında istatistiki bir farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.4. Deneme sonunda yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*) bireylerinde hesaplanan büyüme ve yem tüketim parametreleri.

DENEME GRUPLARI							
	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2	TU+MİKS2
Başlangıç ağırlık (g)	5.67±0.10	5.67±0.10	5.67±0.10	5.67±0.10	5.67±0.10	5.67±0.10	5.67±0.10
Final ağırlık (g)	9.78±0.59 ^a	7.78±0.63 ^{bc}	9.13±0.76 ^{ab}	9.19±0.41 ^{ab}	9.16±0.28 ^{ab}	9.15±0.56 ^{ab}	7.18±0.26 ^c
Ağırlık kazancı (g)	4.11±0.59 ^a	1.85±0.63 ^b	3.46±0.76 ^a	3.52±0.41 ^a	3.49±0.28 ^a	3.48±0.56 ^a	1.80±0.26 ^b
SBO (%/day)	0.91±0.10 ^a	0.46±0.13 ^b	0.79±0.14 ^a	0.80±0.07 ^a	0.80±0.05 ^a	0.80±0.10 ^a	0.46±0.07 ^b
YÇO	1.63±0.29	1.77±0.42	1.81±0.19	2.03±0.19	1.89±0.21	1.98±0.32	2.01±0.44
Kabuk değişimi (adet)	9.67±3.34	7.33±2.86	5.67±3.19	5.33±2.16	4.67±2.27	4.33±1.47	6.67±2.16
Yaşama oranı (%)	51.67±5.40 ^{bc}	7.50±1.88 ^d	45.00±3.54 ^c	70.00±9.35 ^a	55.00±6.12 ^{abc}	63.33±8.90 ^{ab}	15.00±6.12 ^d

*SBO: Spesifik Büyüme Oranı, YÇO: Yem Çevrim Oranı, BU: Balık Unu, TU: Tavuk Unu, MİKS 1: Soya Küspesi ve Mısır Gluteni karışımı, MİKS 2: Soya Küspesi, Mısır Gluteni, Fındık Küspesi, Yer Fıstığı Küspesi karışımı. Her değer bir ortalama ($n=3$) ± standart sapmadır. Her satırda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır ($P<0.05$).

Bu denemenin en önemli çıktısı; hiçbir hayvansal protein kaynağı kullanmadan, sadece bitkisel protein kaynaklarıyla da karideslerin, BU içeren Kontrol yeminden daha iyi bir yaşama oranı ve benzer büyüme oranlarıyla büyütülebileceklerinin ortaya çıkartılmasıdır. Gerçekten de, sadece MİKS1 veya MİKS2 ile karideslerin başarı ile büyütülebilecekleri, ancak %10 BU ilavesinin bu yemleri besinsel olarak daha da uygun hale getirebileceği anlaşılmıştır.

4.1.4. Su Kalite Parametreleri

8 hafta süren deneme süresince deneme tanklarında ölçülen çözülmüş oksijen değerleri 8.11 ile 8.55 arasında değişmiş ve daima yüksek çıkmıştır. Tuzluluk ‰28-30, toplam amonyak <0.05 mg/L, nitrit <0.5 mg/L, nitrat <100 mg/L ve pH ise 7.9 ile 8.31 arasında değişmiştir. Buna göre deneme esnasında karideslerin maruz kaldıkları su kalite parametrelerinin türe göre uygun aralıklarda seyrettiği ve dolayısıyla karides gruplarının büyüme ve yem tüketim performans değerlerini olumsuz etkilemediği anlaşılmıştır.



Şekil 4.3. Deneme esnasında deneme tanklarının içerisinde bulunan substrat ve hareket eden karideslerin görüntüleri.

4.1.5. Besin Madde İçeriği

Deneme sonunda karideslerden alınan kas örnekleri ve deneme sonuna kadar karideslerden toplanan dışkı örneklerinin besin madde bileşenleri, yağ asitleri ve amino asit analizleri sonuçları alt bölümlerde ayrı ayrı verilmiştir.

4.1.6. Kuru Madde ve Ham Kül İçerikleri

Çalışma sonunda deneme gruplarından alınan kas doku örneklerindeki en yüksek kuru madde oranı %24.5 ve %24.6 ile BU ve MİKS1 gruplarında bulunmuştur ($P<0.05$). 10BU+TU, 10BU+MİKS1 ve MİKS2 gruplarında kuru madde miktarları sırasıyla %23.7, %24 ve %23.8 olarak bulunmuştur ($P<0.05$).

Kas doku örneklerinde analiz edilen en yüksek kül miktarı %1.84 ile TU+MİKS 2 grubunda, en düşük miktar ise MİKS2 (%1.51) deneme yemleri ile beslenen grupta belirlenmiştir.

4.1.7. Protein ve Amino Asit İçeriği

Deneme sonunda karideslerin et doku protein içerikleri değerlendirildiğinde; tespit edilen en yüksek protein miktarı MİKS1 (%22.30) grubunda saptanmıştır ($P<0.05$). BU (%21.18) ve MİKS2 (%21.28) gruplarında bireylerinin et doku protein oranları benzer bulunurken ($P>0.05$), en düşük protein miktarı %20.66 ile TU+MİKS2 grubunda tespit edilmiştir ($P<0.05$). Et dokuda lipit içerikleri açısından gruplar arasında en yüksek değerler (%1.16-1.27) BU, 10BU+TU ve 10BU+MİKS1 gruplarında, en düşük değer (%0.89) ise TU+MİKS2 grubunda görülmüştür ($P<0.05$). Kuru madde açısından en yüksek değerler BU (%24.53) ve MİKS1 (%24.60) gruplarında, en düşük değer ise %22.52 ile TU+MİKS2 grubunda elde edilmiştir (Çizelge 4.5). Ham kül açısından ise, durum tam tersine olmak üzere, en yüksek değer TU+MİKS2 grubunda (%1.84) elde edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.5. Deneme sonunda ömelenen karideslerin et dokusunda belirlenen temel besin bileşenleri (%).

DENEME GRUPLARI							
Kas doku	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2	TU+MİKS2
Protein (%)	21.18±0.42 ^c	21.60±0.12 ^b	21.40±0.08 ^{bc}	20.86±0.24 ^d	22.30±0.14 ^a	21.28±0.14 ^c	20.66±0.04 ^d
Lipit (%)	1.23±0.13 ^a	1.27±0.13 ^a	1.16±0.21 ^a	1.05±0.22 ^{ab}	1.17±0.08 ^{ab}	1.11±0.06 ^{ab}	0.89±0.02 ^b
Kuru madde (%)	24.53±0.09 ^a	23.71±0.29 ^b	24.01±0.26 ^b	23.18±0.32 ^c	24.60±0.18 ^a	23.80±0.16 ^b	22.52±0.11 ^d
Kül (%)	1.57±0.03 ^{ab}	1.72±0.03 ^{ab}	1.72±0.07 ^{ab}	1.83±0.07 ^{ab}	1.81±0.11 ^{ab}	1.51±0.19 ^b	1.84±0.17 ^a

Her değer bir ortalama ($n=3$) ± standart sapmadır. Her satırda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır ($P<0.05$).

Gruplarda et dokuda yapılan amino asit analizlerinde elde edilen bulgular Çizelge 4.6'da özetlenmiştir. TU içeren gruplarda deneme sonunda elde edilen birey sayıları (yaşam oranı düşük olduğu için) çok az olduğundan, bu gruplarda elde edilen et oranı analizlerin yapılabilmesine yetmemiş, dolayısıyla bu gruplar değerlendirme dışında tutulmuşlardır. Esansiyel amino asitler açısından bakıldığında, gruplarda arginin seviyeleri %5.94 ile %7.36 aralığında değişmiş ve gruplarda en yüksek değer 10BU+MİKS grubunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Histidin seviyeleri %1.06 ile %2.18 aralığında değişim göstermiş ve en yüksek değer MİKS2 grubunda ölçülmüştür ($P<0.05$). En yüksek (%15.67) ve en düşük (%12.15) lizin değerleri, sırasıyla 10BU+MİKS1 ve 10BU+MİKS2 gruplarında elde edilmiştir. Metiyonin değerleri en düşük %1.21 (10BU+MİKS1) ile en yüksek %2.05 (MİKS1) arasında değişmiştir. Fenilalanin açısından en yüksek değer %3.41 ile 10BU+MİKS1 grubunda, en düşük değer ise %2.90 ile MİKS2 grubunda ölçülmüştür. Treonin seviyeleri %2.26 (10BU+MİKS1) ile %3.07 (MİKS2) aralığında, valin ise %3.20 ile %3.40 değişim göstermiştir ($P<0.05$; Çizelge 4.6). Farklı grupların ek dokularında belirlenen

esansiyel olmayan amino asitlerin seviyeleri istatistik farklılıklar göstermiş ve bu farklılıklar Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Deneme sonunda karideslerin et dokularında belirlenen amino asit kompozisyonu (%/protein). İçinde tavuk unu (TU) kullanılan yem gruplarında yaşama oranı düşük çıktığından yeterli miktarda et doku temin edilemediği için bu gruplarda analizler yapılamamış ve dolayısıyla bu gruplar (10BU+TU ve TU+MİKS2) çizelgeye dahil edilmemiştir.

	DENEME GRUPLARI				
	BU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2
Esansiyel Amino Asitler (%)					
Arginin	6.18±0.01 ^b	7.36±0.04 ^a	5.94±0.02 ^c	7.36±0.73 ^a	6.19±0.05 ^b
Histidin	1.62±0.01 ^c	1.06±0.02 ^e	1.65±0.01 ^b	2.18±0.35 ^a	1.56±0.01 ^d
Izolösin	3.03±0.03 ^c	3.48±0.01 ^a	3.05±0.01 ^c	3.08±0.10 ^c	3.16±0.08 ^b
Lösin	5.52±0.02 ^c	6.19±0.01 ^a	5.51±0.00 ^c	5.59±0.05 ^b	5.43±0.08 ^d
Lisin	14.33±0.04 ^c	15.67±0.13 ^a	12.15±0.04 ^e	14.94±1.22 ^b	12.71±0.13 ^d
Metiyonin	1.88±0.01 ^b	1.21±0.00 ^d	1.87±0.00 ^b	2.05±0.13 ^a	1.82±0.01 ^c
Fenilalanin	3.20±0.02 ^b	3.41±0.01 ^a	3.03±0.05 ^c	3.21±0.16 ^b	2.90±0.02 ^d
Treonin	2.50±0.02 ^d	2.26±0.00 ^e	2.56±0.01 ^c	2.73±0.19 ^b	3.07±0.00 ^a
Valin	3.40±0.03 ^a	3.36±0.01 ^a	3.39±0.01 ^a	3.39±0.09 ^a	3.20±0.03 ^b
Esansiyel Olmayan Amino Asitler (%)					
Alanin	4.20±0.02 ^b	4.11±0.00 ^c	4.59±0.00 ^a	4.19±0.03 ^b	4.10±0.04 ^c
Aspartik asit	7.74±0.07 ^a	6.92±0.01 ^c	7.82±0.00 ^a	7.33±0.16 ^b	6.98±0.05 ^c
Glutamik asit	12.16±0.08 ^b	11.92±0.05 ^d	12.53±0.01 ^a	12.05±0.15 ^c	12.21±0.05 ^b
Glisin	9.93±0.03 ^e	10.86±0.05 ^c	11.82±0.03 ^a	10.45±0.53 ^d	11.33±0.04 ^b
Prolin	5.16±0.01 ^c	5.18±0.00 ^c	5.57±0.03 ^b	4.48±0.78 ^d	5.81±0.02 ^a
Serin	2.85±0.01 ^d	2.36±0.01 ^e	3.00±0.01 ^c	3.26±0.10 ^a	3.07±0.02 ^b
Tirozin	2.48±0.01 ^b	2.43±0.01 ^c	2.32±0.01 ^d	2.56±0.15 ^a	2.28±0.02 ^e

Her değer bir ortalama (n=3) ± standart sapmadır. Her satırda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P<0.05).

Denemede kullanılan yemlerin ve bu yemlerle beslenen karideslerin deneme sonu esansiyel amino asit oranları Çizelge 4.7'de ve esansiyel amino asit profilleri ise Şekil 4.4'te verilmiştir. Çizelge 4.7 ve esansiyel amino asit profillerine detaylı olarak bakıldığında, kontrol grubunun çok az bir miktar arginin açısından düşük kaldığı, ancak diğerlerinin ideal çizgiye yakın olduğu görülecektir. Alternatif protein kaynaklarının kullanıldığı diğer yemlerde ise, lisin ve arginin yetersizliği dikkat çekmektedir. MİKS1 ve MİKS2 yemlerinin her ikisine de %10 BU ilavesi bu durumu çok az düzeyde iyileştirebilmiştir.

Çizelge 4.7. Denemede kullanılan yemler ve bunlarla beslenen karideslerin deneme sonu esansiyel amino asit oranları (A/E)¹. İçinde tavuk unu (TU) kullanılan yem gruplarında yaşama oranı düşük çıktığından yeterince et örneği temin edilememiş ve dolayısıyla da bu gruplarda (10BU+TU ve TU+MİKS2) analizler yapılamamıştır.

DENEME GRUPLARI										
Esansiyel Amino Asitler	BU		10BU+MİKS1		10BU+MİKS2		MİKS1		MİKS2	
	Yem	Karides	Yem	Karides	Yem	Karides	Yem	Karides	Yem	Karides
Arginin	9.73	14.83	8.79	16.73	5.03	15.17	7.36	16.53	6.08	15.47
Histidin	4.79	3.89	4.51	2.41	4.96	4.21	3.80	4.90	4.35	3.89
Izolösin	16.39	13.24	24.12	14.06	25.61	14.08	26.96	12.56	28.45	13.55
Lösin	8.84	7.28	9.46	7.92	9.21	7.78	9.45	6.92	9.31	7.89
Lisin	29.47	34.40	17.77	35.61	19.93	31.02	17.07	33.55	14.95	31.75
Metiyonin	4.37	4.52	3.56	2.76	4.27	4.78	2.94	4.61	3.59	4.53
Fenilalanin	9.33	7.69	12.76	7.75	13.47	7.75	14.91	7.20	13.81	7.23
Treonin	6.57	6.00	7.46	5.12	7.15	6.55	6.86	6.13	9.27	7.68
Valin	10.50	8.16	11.59	7.64	10.37	8.66	10.66	7.61	10.19	8.00

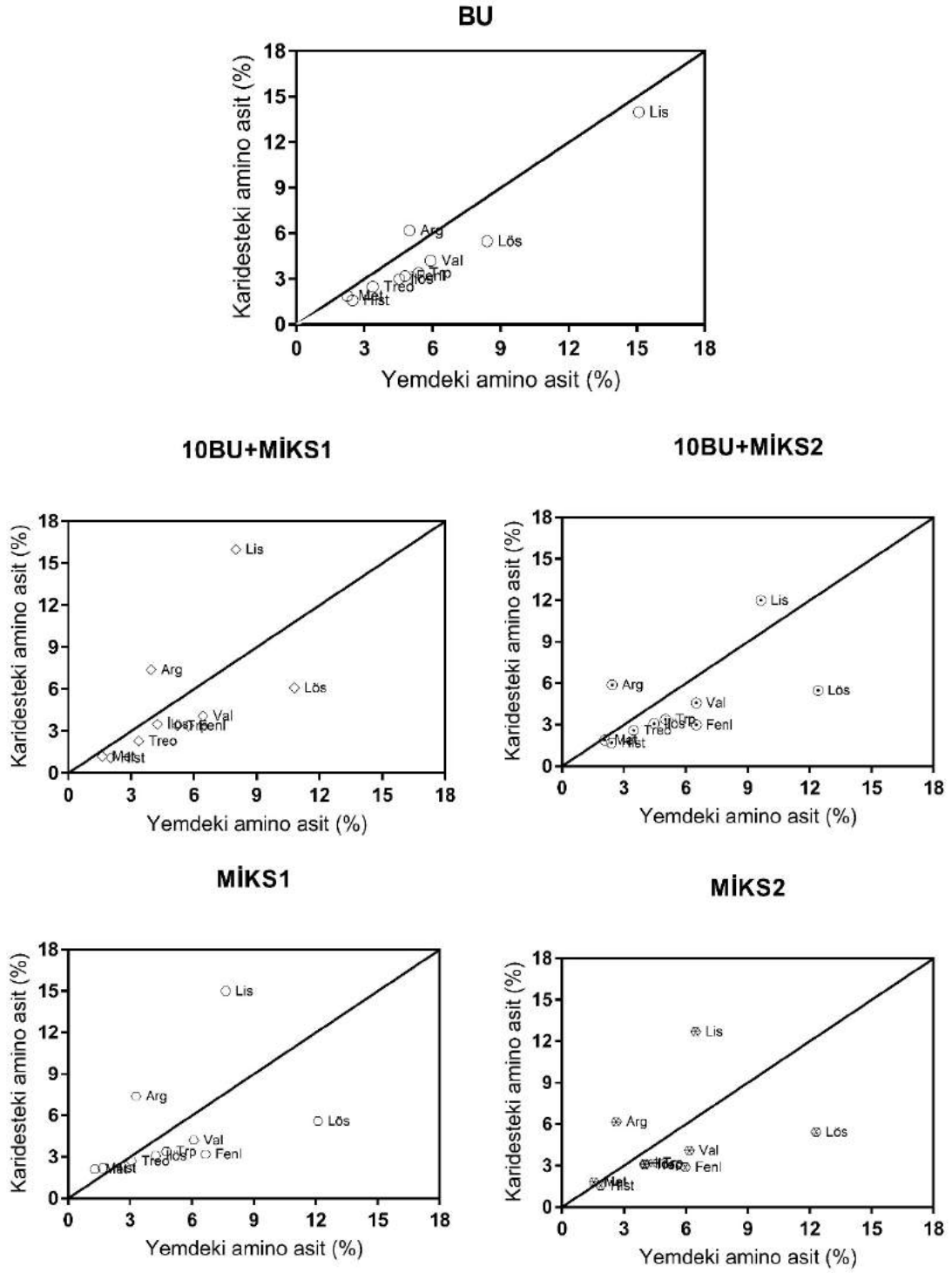
¹A/E (Esansiyel amino asit oranı)= (Esansiyel amino asit miktarı / Esansiyel amino asitlerin toplamı) × 100 (Penaflorida 1989)

Penaflorida (1989)'nın yöntemine göre esansiyel amino asit indeksi (EAAİ) kullanılarak, bir protein kaynağının faydalı olup olmayacağı tahmin edilebilir. Bu yöntemle göre hesaplanan EAAİ 0.90 veya daha üzerinde ise protein kaynağının iyi kalitede olduğu, 0.80 olduğunda faydalı olacağı ve 0.70'in altında ise yetersiz olduğu varsayılmaktadır. EAAİ değerleri hesaplandığında (Çizelge 4.8), en yüksek değer %118.8 ile 10BU+MİKS1 grubunda, en düşük ise %100.7 ile MİKS1 yeminde olduğu görülmüştür. E/A oranları ile amino asit profilleri değerlendirmesinde görülen arginin ve lisin eksikliklerine karşın, deneme yemlerinin EAAİ değerlerinin çok iyi olduğu söylenebilir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Deneme yemleri ile beslenen karideslerin et dokularında hesaplanan esansiyel amino asit indeksleri (EAAİ)*.

DENEME GRUPLARI					
	BU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2
EAAİ (%)	106.3	118.8	101.0	100.7	102.0

$$EAAİ \text{ (Esansiyel amino asit indeksi)} = \sqrt[9]{\text{Arginin} \frac{(Yem^A)}{(Karides^A)} + \text{Histidin} \frac{(Yem^A)}{(Karides^A)} + \dots} \text{ (Penaflorida, 1989)}$$



Şekil 4.4. Deneme yemleri ile beslenen karideslerin amino asit profilleri. 45'lik çizgi ideal çizgiyi göstermektedir. Arg; arginin, Hist; histidin, İlös; izolösin, Løs; lösin, Lis; lisin, Met; metiyonin, Feni; fenilalanin, Treo; treonin, Trp; triptofan, Val; valin

4.1.8. Lipit ve Yağ Asitleri

Çizelge 4.9. Deneme yemleriyle 8 hafta boyunca beslenen *P. semisulcatus* bireylerinin kas doku yağ asidi kompozisyonları (%).

Yağ Asidi (%)	DENEME GRUPLARI						
	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS 1	MİKS 2	TU+MİKS 2
14:0	0.27±0.01 ^a	0.20±0.01 ^b	0.14±0.01 ^{bc}	0.18±0.08 ^{bc}	0.13±0.01 ^c	0.13±0.02 ^c	0.13±0.00 ^c
16:0	17.65±0.32 ^a	14.87±0.17 ^c	15.05±0.19 ^c	16.52±0.24 ^b	14.26±0.66 ^d	16.15±0.33 ^b	15.31±0.22 ^c
16:1n-7	0.62±0.01 ^a	0.46±0.01 ^b	0.27±0.01 ^{de}	0.30±0.04 ^d	0.25±0.01 ^e	0.25±0.02 ^e	0.34±0.01 ^c
17:0	1.24±0.03 ^a	0.73±0.01 ^e	0.98±0.00 ^c	1.04±0.02 ^b	0.90±0.05 ^d	0.96±0.00 ^c	0.68±0.01 ^f
16:2n-4	0.07±0.01 ^{ab}	0.09±0.00 ^a	0.10±0.06 ^a	0.05±0.00 ^b	0.11±0.01 ^a	0.10±0.00 ^a	0.07±0.01 ^{ab}
17:1n-7	0.19±0.00	-	0.11±0.01	0.13±0.01	0.33±0.57	0.07±0.06	-
18:0	10.74±0.21 ^c	11.78±0.05 ^b	11.83±0.14 ^b	11.89±0.19 ^b	11.78±0.73 ^b	12.46±0.18 ^a	11.46±0.13 ^b
18:1n-9	16.31±0.33 ^c	18.18±0.08 ^b	19.30±0.15 ^a	15.63±0.57 ^c	20.05±1.24 ^a	14.63±0.31 ^d	16.47±0.12 ^c
18:1n-7	1.73±0.06 ^a	1.16±0.01 ^d	1.33±0.02 ^c	1.42±0.01 ^b	1.31±0.06 ^c	1.38±0.04 ^{bc}	1.11±0.03 ^d
18:2n-6	13.31±0.13 ^e	18.10±0.26 ^c	16.53±0.11 ^d	19.86±0.31 ^b	18.31±0.41 ^c	22.31±0.18 ^a	18.36±0.38 ^c
18:3n-6	0.23±0.00 ^a	0.16±0.01 ^c	0.21±0.01 ^a	0.19±0.01 ^a	0.22±0.02 ^a	0.20±0.01 ^b	0.16±0.01 ^c
18:3n-3	0.56±0.03 ^a	0.27±0.04 ^d	0.45±0.00 ^b	0.38±0.01 ^c	0.53±0.11 ^{ab}	0.38±0.03 ^c	0.28±0.03 ^d
20:1n-11	0.50±0.01 ^d	0.62±0.02 ^{bc}	0.49±0.01 ^d	0.65±0.01 ^b	0.60±0.02 ^c	0.84±0.03 ^a	0.60±0.02 ^a
20:2n-6	0.82±0.01 ^e	0.93±0.01 ^d	1.17±0.01 ^c	1.35±0.02 ^b	1.16±0.06 ^c	1.65±0.01 ^a	1.19±0.01 ^c
20:3n-6	0.24±0.00 ^b	0.35±0.01 ^a	0.24±0.00 ^b	0.24±0.03 ^b	0.23±0.01 ^b	0.23±0.01 ^b	0.33±0.01 ^a
20:4n-6	0.09±0.00	0.03±0.06	0.06±0.11	0.07±0.08	0.04±0.03	0.02±0.03	0.03±0.06
20:3n-3	3.56±0.04 ^b	5.77±0.07 ^a	3.18±0.03 ^{bc}	3.23±0.03 ^{bc}	2.08±1.72 ^c	2.97±0.04 ^{bc}	5.55±0.11 ^a
20:5n-3	10.54±0.16 ^a	9.92±0.17 ^{bc}	10.17±0.09 ^b	10.65±0.24 ^a	10.13±0.25 ^{bc}	9.85±0.06 ^c	10.10±0.12 ^{bc}
22:1n-9	0.41±0.05	0.57±0.04	0.53±0.01	0.54±0.07	0.44±0.15	0.45±0.11	0.49±0.10
22:5n-3	0.17±0.01 ^c	0.22±0.03 ^{ab}	0.20±0.01 ^{bc}	0.24±0.04 ^{ab}	0.16±0.02 ^a	0.22±0.02 ^b	0.26±0.02 ^a
22:6n-3	19.31±0.97 ^a	14.61±0.60 ^{bc}	16.54±0.43 ^b	14.20±1.9 ^{bc}	13.78±1.12 ^c	15.40±2.60 ^{bc}	15.73±1.00 ^{bc}
24:0	0.30±0.01 ^a	0.25±0.01 ^{bc}	0.27±0.02 ^b	0.26±0.01 ^{bc}	0.24±0.02 ^c	0.24±0.01 ^c	0.24±0.01 ^c
24:1n-9	0.16±0.02 ^c	0.37±0.22 ^a	0.18±0.02 ^c	0.25±0.01 ^{ab}	0.16±0.02 ^c	0.20±0.02 ^c	0.26±0.01 ^{ab}
∑ SFA	30.21±0.56 ^a	27.84±0.22 ^b	28.27±0.04 ^b	29.89±0.40 ^a	27.31±1.45 ^b	29.95±0.18 ^a	27.81±0.36 ^b
∑ MUFA	19.92±0.42 ^c	21.35±0.32 ^b	22.22±0.21 ^b	18.92±0.69 ^d	23.15±0.87 ^a	17.82±0.52 ^e	19.27±0.21 ^{cd}
∑ PUFA	48.82±0.73 ^{cd}	50.36±0.44 ^{bc}	48.76±0.36 ^{cd}	50.41±1.18 ^{bc}	46.64±1.67 ^d	53.22±2.68 ^a	51.99±0.62 ^b
∑ n-3	34.13±0.82 ^a	30.79±0.74 ^{bc}	30.54±0.33 ^{bc}	28.70±1.19 ^{cd}	26.68±1.54 ^d	28.81±2.55 ^{cd}	31.93±0.83 ^{ab}
∑ n-6	14.69±0.14 ^e	19.57±0.30 ^c	18.22±0.10 ^d	21.71±0.33 ^b	19.96±0.48 ^c	24.40±0.17 ^a	20.07±0.37 ^c
n-3/n-6	2.32±0.07 ^a	1.57±0.06 ^b	1.68±0.02 ^b	1.32±0.06 ^c	1.34±0.08 ^c	1.18±0.10 ^d	1.59±0.07 ^b

*Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n=3) şeklinde verilmiştir. Gruplar arasındaki istatistiksel fark P<0.05 önem düzeyinde karşılaştırılmıştır. Satırlardaki farklı harfler istatistiksel farklılıkları göstermektedir (p<0.05).

Farklı yemlerle beslenen karides et dokusunda SFA'lar açısından en zengin grupların BU ve 10BU+MİKS2 ve MİKS2 gruplarında kaydedilmiştir (Çizelge 4.9, P<0.05). Farklı yemlerle beslenen kari-

des et dokusunda SFA'lar açısından en zengin grupların BU ve 10BU+MİKS2 ve MİKS2 gruplarında kaydedilmiştir (Çizelge 4.9, $P<0.05$). MUFA'lar açısından en zengin grup MİKS1 ve en fakir grup olarak da MİKS2 grubu dikkat çekmiştir ($P<0.05$).

MİKS2 ve TU+MİKS2 yemleriyle beslenen karidesler, diğer gruplara (BU grubu da dahil) kıyasla, daha yüksek oranda PUFA içermişlerdir ($P<0.05$). Öte yandan, n-3 PUFA'larca en zengin grubun BU grubu olduğu ve bunu izleyen grubunda TU+MİKS2 olduğu belirlenmiştir. n-3 yağ asitlerince en düşük değerler bitkisel protein kaynaklarının karışımları ile oluşturulan yemlerle beslenen karideslerce gösterilmiştir. Bitkisel protein kaynakları içeren yemlerle beslenen karideslerde n-6 yağ asitleri genel olarak daha yüksek çıkmıştır ($P<0.05$). Deneme grupları içerisinde en yüksek n-3/n-6 oranı BU grubunda (2.32) hesaplanmış olup, bu grubu daha düşük oranda BU ve ayrıca TU içeren gruplar izlemiştir (1.57-1.68) en düşük oranları ise bitkisel protein karışımlarıyla formüle edilen yem grupları göstermiştir (1.18-1.32, Çizelge 4.9).

4.1.9. Sindirilebilirlik

Deneme süresince 7 farklı yem çeşidi ile 8 hafta süreyle beslenen karideslerde yapılan sindirilebilirlik analizleri neticesinde, kuru madde sindirilebilirlik oranı açısından gruplar arasında önemli farklılıklar belirlenmiş olup ($P<0.05$), özellikle bitkisel protein kaynaklarının olduğu gruplardan MİKS2, MİKS1, TU+MİKS2 %76 civarında bir oranla ilk sırayı almış, %10 oranında BU girilen yemlerde bu değerler %70-74 arasında seyretmiş ve en düşük oran ise %61.4 ile BU grubunda kaydedilmiştir. En düşük protein sindirilebilirlik oranının %50 civarında BU grubunda gerçekleştiği, en yüksek sindirilebilirlik oranının ise %82.01 ile MİKS1 grubunda hesaplandığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Diğer gruplarda bu oranlar %66.41 ile %73.88 aralığında değişmiştir.

Çizelge 4.10. Sekiz hafta boyunca deneme yemleri ile beslenen karideslerde kuru madde, protein, lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirliği (%).

DENEME GRUPLARI							
	BU	10BU+TU	10BU+MİKS1	10BU+MİKS2	MİKS1	MİKS2	TU+MİKS2
Kuru Madde	61.42±4.53 ^b	73.53±6.07 ^a	69.96±1.55 ^a	72.11±3.34 ^a	75.51±2.45 ^a	75.80±0.85 ^a	75.70±2.51 ^a
Protein	49.67±0.58 ^e	66.41±0.25 ^d	73.89±0.35 ^b	66.80±0.20 ^d	82.01±0.19 ^a	73.47±0.17 ^b	72.84±0.42 ^c
Lipit	65.54±2.01 ^e	90.86±0.00 ^a	87.56±0.42 ^b	76.42±3.56 ^d	90.11±0.10 ^{ab}	83.25±0.29 ^c	89.58±1.61 ^{ab}
Organik Madde	60.85±0.05 ^f	73.50±0.12 ^c	68.21±0.03 ^e	71.01±0.05 ^d	74.09±0.15 ^b	74.48±0.01 ^a	74.50±0.05 ^a
Enerji	59.83±0.11 ^d	75.28±0.11 ^b	70.78±0.10 ^c	70.91±0.30 ^c	76.45±0.14 ^a	75.01±0.04 ^b	76.33±0.28 ^a

Her değer bir ortalama (n=3) ± standart sapmadır. Her satırda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır ($P<0.05$).

Lipit sindirilebilirlik oranları gruplar arasında önemli farklılıklar göstermiş ($P<0.05$) ve bu açıdan en yüksek sindirim oranları (%90 civarı) 10BU+TU, MİKS1 ve TU+MİKS2 gruplarında, en düşük oran ise %65.54 ile BU grubunda belirlenmiştir. Muamelelerin organik madde sindirilebilirlikleri de önemli farklılıklar göstermiş ($P<0.05$) ve MİKS2 ve TU+MİKS2 %74.5 ile en iyi gruplar olmuştur. Diğer gruplar bunlardan önemli derecede daha düşük organik madde sindirimi gerçekleştirdiler de, BU hariç, hepsi %70'in üzerinde seyretmiştir. En iyi enerji sindirimi yaklaşık %76 ile MİKS1 ve TU+MİKS2 ile beslenen karideslerde gerçekleşmiş, bunları önemli derecede farklılıklarla 10BU+TU ve MİKS2 izlemiştir. %10 BU içeren MİKS1 ve MİKS2 ile beslenen karidesler yaklaşık %70 enerji sindirilebilirliği sergilemişlerdir. BU ile beslenen karideslerde gözlenen düşük sindirim değerleri enerji içinde geçerli olmuştur (Çizelge 4.10; $P<0.05$).

4.1.10. Su Stabilite Testleri

4.1.10.1. Kuru Madde Kaybı

Toplamda 9 farklı bağlayıcı madde ile formüle edilen yemlerde stabilite testleri kuru madde ve protein kayıpları açısından değerlendirilmiştir. Yüzde kuru madde açısından ilk saatteki en büyük kayıplar (%2.05-2.73) özellikle kalsiyum bentonit, sodyum bentonit, guar gum ve karboksil metilselüloz ile formüle edilen yemlerde gerçekleşmiştir ($P<0.05$, Çizelge 4.11, Şekil 4.4).

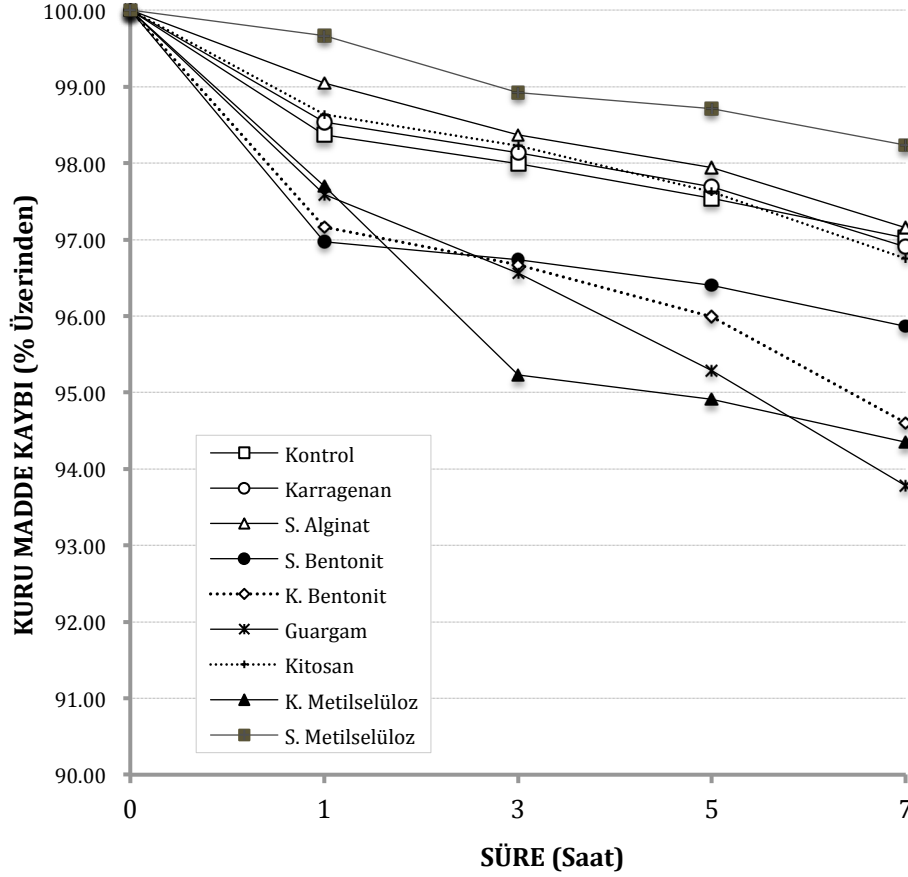
Çizelge 4.11. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formüle edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen kuru madde ve protein kayıpları.

KURU MADDE KAYBI (%)									
SÜRE (Saat)	Kontrol (B. Glütenu)	Karragenan	S. Alginat	S. Bentonit	K. Bentonit	Guargam	Kitosan	K. Metilselüloz	S. Metilselüloz
1	1.50±0.00 ^{abc}	1.32±0.14 ^{abcd}	0.85±0.98 ^{cd}	2.73±0.40 ^a	2.55±0.20 ^{ab}	2.12±0.98 ^{abc}	1.20±0.72 ^{bcd}	2.05±1.59 ^{abc}	0.30±0.25 ^e
3	1.84±0.19 ^c	1.32±0.14 ^{cd}	1.46±0.43 ^{cd}	2.94±0.87 ^b	2.99±0.25 ^b	3.02±0.62 ^b	1.57±0.07 ^{cd}	4.25±0.16 ^a	0.96±0.23 ^e
5	2.26±0.82 ^{bc}	2.08±0.78 ^{bc}	1.84±0.69 ^d	3.25±0.44 ^{ab}	3.60±0.09 ^a	4.13±1.21 ^a	2.11±0.60 ^{bc}	4.53±0.77 ^a	1.15±0.05 ^d
7	2.74±0.19 ^{cd}	2.78±0.35 ^{cd}	2.54±1.49 ^{cd}	3.73±0.48 ^{bc}	4.84±1.03 ^{ab}	5.45±0.17 ^a	2.88±0.45 ^c	5.03±0.65 ^a	1.57±0.07 ^d

PROTEİN KAYBI (%)									
SÜRE (Saat)	Kontrol (B. Glütenu)	Karragenan	S. Alginat	S. Bentonit	K. Bentonit	Guargam	Kitosan	K. Metilselüloz	S. Metilselüloz
1	1.45±0.39 ^{bc}	1.33±0.01 ^{bcd}	1.13±0.85 ^{cde}	1.28±0.07 ^{bcd}	2.35±0.03 ^a	1.90±0.27 ^{ab}	1.58±0.10 ^{bc}	0.79±0.13 ^{de}	0.53±0.60 ^e
3	1.45±0.19 ^e	1.84±0.01 ^{cd}	1.66±0.12 ^{de}	2.06±0.06 ^{bc}	2.46±0.11 ^a	2.11±0.03 ^b	2.29±0.20 ^{ab}	1.78±0.26 ^d	0.70±0.09 ^f
5	1.59±0.42 ^e	1.86±0.02 ^{de}	2.09±0.13 ^{cd}	2.28±0.13 ^{bc}	2.58±0.11 ^{ab}	2.74±0.19 ^a	2.34±0.01 ^{bc}	1.81±0.01 ^{de}	0.79±0.11 ^f
7	1.71±0.19 ^d	2.38±0.28 ^c	2.80±0.12 ^b	2.38±0.18 ^c	3.26±0.11 ^a	3.18±0.04 ^a	2.38±0.10 ^c	2.10±0.03 ^c	1.32±0.16 ^e

Her değer bir ortalama ± standart sapmadan oluşmaktadır. Ortalama hesaplanırken ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen kayıplar dikkate alınmıştır.

İlk saatteki en düşük kayıp %99.70 kuru madde oranını koruyan (%0.30 kayıp) sodyum metilselüloz ile üretilen yem olmuştur ($P<0.05$). Kuru madde kaybı açısından bu grubu %0.85 kayıp ile sodyum alginat, %1.20 ile kitosan, %1.32 ile karragenan ve %1.50 ile kontrol yemi (buğday glütenu) izlemiştir (Çizelge, 4.11).



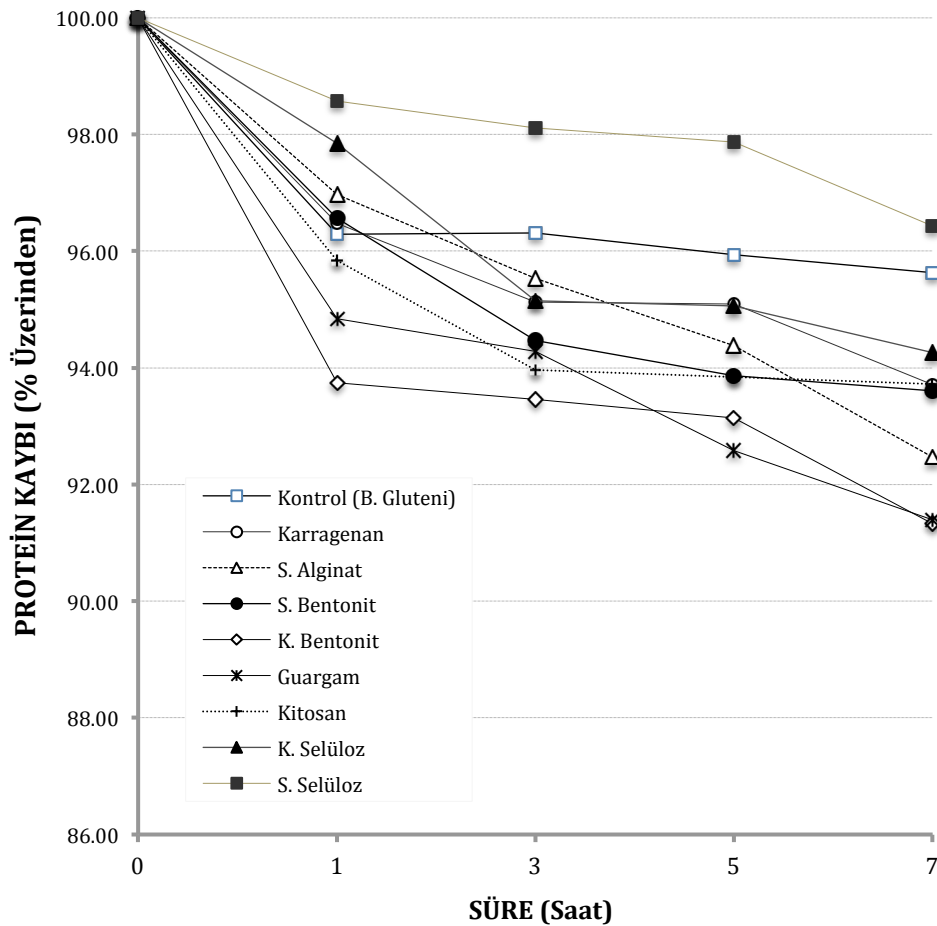
Şekil 4.5. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen % kuru madde kayıpları. Her sembol bir ortalamayı ifade etmektedir ($n = 3$).

Tüm yem gruplarındaki kuru madde kayıpları 3. saatte de devam etmiş ancak bu süreçte özellikle karboksil metilselüloz ile üretilen yem daha fazla kuru madde kaybına (%4.25) uğramıştır (Şekil 4.5). Bu süreçte de en düşük kuru madde kaybı %0.96 ile sodyum metilselüloz içeren yemde görülmüş, bu yem grubunu %1.32 ile karragenan, 1.46 kayıp ile sodyum alginat, %1.57 ile kitosan göstermiştir. Bu grupları %2.11 ile guar gum ve %2.29 ile kitosan izlemiştir (Çizelge 4.11). Bu saatte en yüksek kayıp %4.25 ile kalsiyum metilselüloz içeren yemde görülmüş, bunu %3.02 ile guar gum, %2.99 ile kalsiyum bentonit ve %2.94 ile sodyum bentonit izlemiştir. Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük kuru madde oranı (%1.15) gösterirken, en yüksek kayıp (%4.53) karboksil metilselüloz içeren yemde elde edilmiştir ($P<0.05$). Düşük kuru madde kayıpları gösteren diğer grup-

lar %1.84 ile sodyum alginat, %2.08 ile karragenan ve %2.11 kitosan olarak sıralanmıştır. Denemenin 7. saatinde de yine en düşük kuru madde kaybı %1.57 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %2.54 ile sodyum alginat, %2.74 ile kontrol (buğday gluteni), %2.78 ile karragenan ve %2.88 ile kitosan izlemiştir. Toplam 7 saatlik stabilite testleri süresince en yüksek kayıplar guargam (%5.45), kalsiyum bentonit (%3.26) ve sodyum bentonit (%3.73) içeren yemlerde kaydedilmiştir (P<0.05; Çizelge 4.11; Şekil 4.5).

4.1.10.2. Protein Kaybı

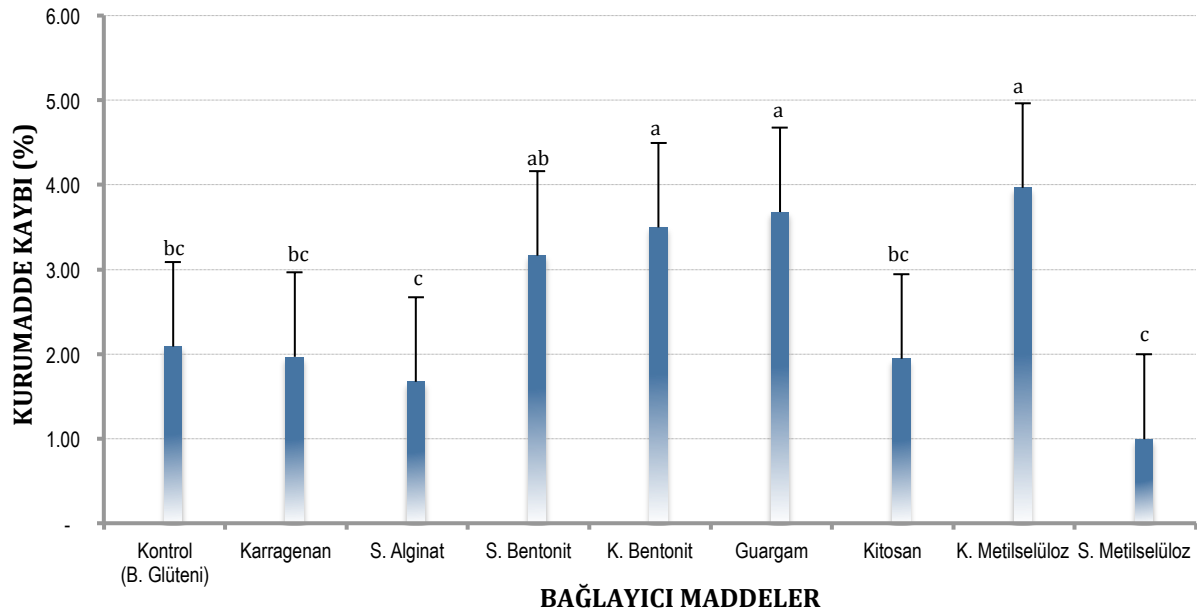
Yüzde protein açısından ilk saatteki en büyük kayıplar özellikle kalsiyum bentonit (%2.35) ve guar gum (%1.90) ile formülize edilen yemlerde gerçekleşmiştir (P<0.05, Çizelge 4.11, Şekil 4.6). İlk saatteki en düşük kayıplar %0.53 kayıp ile sodyum metilselüloz ile %0.79 ve %1.13 kayıplarla kalsiyum metilselüloz ve sodyum alginat ile üretilen yemlerde gerçekleşmiştir (P<0.05).



Şekil 4.6. Her biri ayrı ayrı olmak üzere, farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde su stabilite testlerinde ilk 7 saat içerisinde gerçekleşen % protein kayıpları. Her sembol bir ortalamayı ifade etmektedir (n = 3).

Denemenin 3. saatinde en düşük protein kaybı %0.70 ile sodyum metilselüloz içeren yemde görülmüş, bu yem grubunu %1.45 kayıp ile kontrol grubu (buğday glütene), %1.66 kayıp ile sodyum alginat, %1.84 ile karragenan, %2.06 ile sodyum bentonit, %2.11 ile guar gum ve %2.29 ile kitosan izlemiştir (Çizelge 4.11). Bu saatte en yüksek kayıp %2.46 ile kalsiyum bentonit çerikli yemde görülmüştür. Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük protein kaybına neden olurken (%0.79), en yüksek kayıp (%2.74) ile guar gum içerikli yemde elde edilmiştir. Denemenin 7. saatinde de genel gidişat değişmemiş ve yine en düşük protein kaybı %1.32 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %1.71 ile kontrol (buğday glütene) grubu, %2.10 ile karboks metilselüloz, %2.38 ile karragenan, %2.38 ile sodyum bentonit ve %2.38 ile kitosan izlemiştir. Toplam 7 saatlik stabilite testleri süresince en yüksek kayıplar kalsiyum bentonit (%3.26) ve guar gumlu (%3.18) yemlerde kaydedilmiştir ($P<0.05$; Çizelge 4.11, Şekil 4.6).

Denemede ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen kuru madde kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşük kayıpların sırasıyla sodyum metil selüloz > sodyum alginat > karragenan > kitosan ve kontrol (buğday glütene) olduğu, en yüksek kayıpların ise karboks metilselüloz > guar gum > kalsiyum bentonit > sodyum bentonit olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).

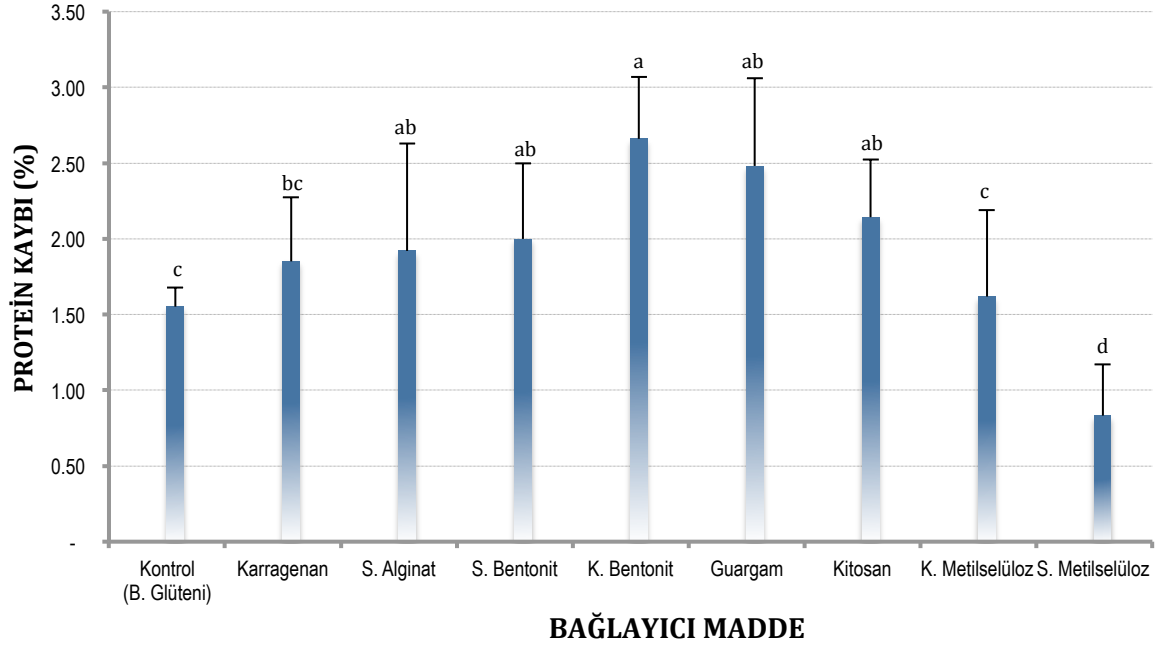


Şekil 4.7. Dokuz farklı bağlayıcı madde ile üretilen ve su stabilite testlerinde kullanılan yemlerin 7 saat süren testleri neticesinde belirlenen ortalama kuru madde kayıpları (%). Her sütun bir ortalama (1, 3, 5 ve 7. saat kayıpları x 3 tekrür) ± standart sapmadan oluşmaktadır. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır ($P<0.05$).

Su stabilite testlerinde ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen protein kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşük kayıpların sırasıyla sodyum metilselüloz > kontrol (buğday glütene) > karboks

metilselüloz > karragenan > sodyum alginat > sodyum bentonit > kitosan > guar gum > kalsiyum bentonit olduğu görülmektedir (Şekil 4.8).

Bu sıralamalara göre, su stabilite testlerinde ilk 7 saatte en düşük kuru madde ve protein kaybına neden olan ilk 5 bağlayıcı maddeden herhangi birisinin seçilebileceği, bu seçimde düşük maliyet tercihinin de rol alacağı düşünülmektedir.



Şekil 4.8. Dokuz farklı bağlayıcı madde ile üretilen ve su stabilite testlerinde kullanılan yemlerin 7 saat süren testleri neticesinde belirlenen ortalama % protein kayıpları (%). Her sütun bir ortalama (1, 3, 5 ve 7. Saat kayıpları x 3 tekerür) ± standart sapmadan oluşmaktadır. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P<0.05).

4.1.11. Yem Maliyetleri

En ekonomik yem formülasyonunun ortaya çıkartılabilmesi için ulusal firmalardan temin edilen tüm hammaddelerin toptan alış fiyatları ve KDV oranları (kg ve ton üzerinden ABD Doları olarak; USD) Çizelge 4.12'de özetlenmiştir. Her yemin birim kg maliyetinin hesaplanmasında işçilik ve enerji maliyetleri dikkate alınmamıştır.

Çizelge 4.12. Denemede kullanılan yem formülasyonlarındaki tüm hammaddelerin ton/USD ve kg/USD (ABD doları) olarak fiyatları.

HAMMADDE	FİYAT (Ton/USD)	FİYAT (kg/USD)	TEMİN YERİ	KDV %
Balık Unu	1600	1.60	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	-
Balık Yağı	1450	1.45	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	18
Soya Unu (SBM)	400	0.55	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	8
Mısır Glütene	460	0.58	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	18
Fındık Küspesi	610	0.31	Toprak Mahsülleri Ofisi	8
Yerfıstığı Küspesi	260	0.20	Yalçınay Fıstıklık, OSMANİYE	0
Tavuk Unu	430	0.58	EĞEHAN Yem, ADANA	0
Buğday Unu	430	0.27	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	1
Soya Lesitini	535	2.00	hammadeler.com	18
Vitamin karşımı	-	12.00	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	-
Mineral Karşımı	-	11.00	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	-
Stay-C	-	10.72	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	-
Monokalsiyumfosfat (MCP)	450	5.50	hammadeler.com	18
Metiyonin	-	3.00	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	18
Lisin	-	1.70	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	18
Buğday Glutene	1850	1.00	SİBAL Su Ürünleri, SİNOP	8
CaCO ₃	550	3.50	Medikallab.com	18

* 15.05.2018 Tarihinde TL bazlı alınan hammadde fiyatları 15.05.2018 tarihli dolar kuru (1 USD = 4.35 TL) üzerinden hesaplanmıştır.

Üstteki fiyatlar KDV dahil fiyatlardır.

Denemede %48 oranında kullanılan kullanılan **KONTROL (BU)** yeminin kg maliyeti 1.14 kg/USD olarak hesaplanmış olup, bu yemdeki BU'nun toplam maliyet içerisindeki payı %67.54 olarak belirlenmiştir. Formülasyondaki en yüksek ikinci ve üçüncü maliyet kalemleri olarak buğday unu ve vitamin premiksi dikkat çekmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Denemede kullanılan kontrol yeminin (balık unu) içeriğinde bulunan hammaddelerin formülasyonlardaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	KONTROL YEMİ (BU)			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	48.00	480.00	1.60	0.77
Soya küspesi	-	-	0.55	-
Mısır gluteni	-	-	0.58	-
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	0.20	-
Fındık küspesi	-	-	0.31	-
Tavuk Unu	-	-	0.58	-
Buğday unu	42.50	425.00	0.27	0.11
Balık Yağı	2.40	24.00	1.45	0.03
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Gluteni	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO ₃	-	-	3.50	-
Monocalcium Phosphate	-	-	5.50	-
Metiyonin	-	-	3.30	-
Lisin	-	-	1.07	-
Kromik oksit	1.00	10.00	-	0
Alt Toplam				1.13
		Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde		0.001
TOPLAM	100.00	1000.00	-	1.14

10 BU+TU yeminde balık unu miktarı %48'den %10'na indirildiğinde kullanılan BU'nun yem içerisindeki kg maliyeti 1.14 kg/USD'den 0.16 kg/USD'ye inmiş, bunun karşılığında tavuk ununun (TU) maliyeti 0.30 kg/USD'ye çıkmıştır (Çizelge 4.14). Bu yemdeki hayvansal (denizel ve karasal) protein hammadde kaynaklarının toplam maliyet içerisindeki payı %49.46'ya inmiştir. Bu yem formülasyonunun kg/USD olarak maliyeti 0.93 kg/USD olarak hesaplanmış ve bunun kontrol yemine göre %18.42 daha ekonomik olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.14. Denemede kullanılan 10BU+TU (balık unu ve tavuk unu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	10BU+TU YEMİ			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	10.00	100.00	1.60	0.16
Soya küspesi	-	-	0.55	0.00
Mısır gluteni	-	-	0.58	0.00
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	0.20	0.00
Fındık küspesi	-	-	0.31	0.00
Tavuk Unu	52.50	525.00	0.58	0.30
Buğday unu	24.30	243.00	0.27	0.07
Balık Yağı	2.70	27.00	1.45	0.04
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Gluteni	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO ₃	2.10	21.00	3.50	0.07
Monocalcium Phosphate	1.10	11.00	5.50	0.06
Metiyonin	0.10	1.00	3.30	0.00
Lisin	0.10	1.00	1.70	0.00
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0.92
		Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde		0.009
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.93

Balık unu (BU) yerine dört farklı bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı **10 BU+MİKS1** yeminde balık unu miktarı %48'den %10'na indirilmiş ve bunun yerine her biri %16.20 oranında soya küspesi, mısır glütini, yer fıstığı küspesi ve fındık küspesi kullanılan yemin kg maliyeti 0.86 kg/USD'ye düşürülebilmektedir (Çizelge 4.15). Bu yemdeki hayvansal (denizel) protein hammadde kaynağının toplam maliyet içerisindeki payı %79.22 azalmıştır. Sonuçta, bu yem formülasyonunun hesaplanan kg/USD olarak maliyeti 0.86 kg/USD olduğundan, bunun kontrol yemine göre %24.56 daha ekonomik olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.15. Denemede kullanılan 10BU+MİKS1 (%10 balık unu + soya küspesi, mısır glütini, yer fıstığı ve fındık küspeleri) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	10BU + MİKS1			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyat (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	10.00	100.00	1.60	0.16
Soya küspesi	16.20	162.00	0.55	0.09
Mısır glütini	16.20	162.00	0.58	0.09
Yer Fıstığı Küspesi	16.20	162.00	0.20	0.03
Fındık küspesi	16.20	162.00	0.31	0.05
Tavuk Unu	0.00	0.00	0.58	0.00
Buğday unu	12.00	120.00	0.27	0.03
Balık Yağı	2.50	25.00	1.45	0.04
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Gluteni	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO3	2.10	21.00	3.50	0.07
Monocalcium Phosphate	1.20	12.00	5.50	0.07
Metiyonin	0.00	0.00	3.30	0.00
Lisin	0.30	3.00	1.70	0.01
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0.85
		Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde		0.009
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.86

Balık unu (BU) yerine iki farklı bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı **10 BU+MİKS2** yeminde balık unu miktarı %48'den %10'na indirilmiş ve bunun yerine her biri %27.5 oranında soya küspesi ve mısır glütenu ikame olarak kullanılmıştır (Çizelge 4.16). Bu yemdeki hayvansal (denizel) protein hammadde kaynağının oranı %10'na indirildiği için, BU'nun toplam maliyet içerisindeki payı %79.22 azalmıştır. İki farklı bitkisel protein kaynağı ilavesi ek olarak 0.31 kg/USD maliyet eklediğinde, 1 kg yemin maliyeti sonuçta 0.93 USD'ye düşürülmüştür. Buna göre bu yemin kontrol (BU) yemine kıyasla %18.42 daha ekonomik olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.16. Denemede kullanılan 10BU+MİKS2 (%10 balık unu + soya küspesi ve mısır glütenu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	10BU+MİKS2 YEMİ			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	10.00	100.00	1.60	0.16
Soya küspesi	27.50	275.00	0.55	0.15
Mısır glütenu	27.50	275.00	0.58	0.16
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	-	-
Fındık küspesi	-	-	-	-
Tavuk Unu	-	-	-	-
Buğday unu	21.60	216.00	0.27	0.06
Balık Yağı	2.50	25.00	1.45	0.04
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Glütenu	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO3	2.50	25.00	3.50	0.09
Monocalcium Phosphate	1.00	10.00	5.50	0.06
Metiyonin	-	-	-	-
Lisin	0.30	3.00	1.70	0.01
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0,92
		Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde		0.009
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.93

Balık unu (BU) yerine dört farklı bitkisel protein kaynaklarının kullanıldığı MİKS1 yeminde balık unu miktarı %0'a indirilmiş ve bunun yerine her biri %20.10 oranında soya küspesi, mısır glütenu, yer fıstığı küspesi ve fındık küspesi kullanılmıştır (Çizelge 4.17). Böylece bu yemdeki hayvansal (denizel ve/veya karasal) protein hammadde kaynakları tamamen ortadan kaldırılmış ve formülasyonun tamamı bitkisel kaynaklarla yapılmıştır. Sonuçta, bu yem formülasyonunun hesaplanan maliyeti 0.80 kg/USD'ye indirilmiş, ve kontrol yemine göre %29.82 oranında daha ekonomik olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.17. Denemede kullanılan MİKS1 (soya küspesi, mısır glütenu, yer fıstığı ve fındık küspeleri) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	MİKS1 YEMİ			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	-	-	-	-
Soya küspesi	20.10	201.00	0.55	0.11
Mısır glütenu	20.10	201.00	0.58	0.12
Yer Fıstığı Küspesi	20.10	201.00	0.20	0.04
Fındık küspesi	20.10	201.00	0.31	0.06
Tavuk Unu	-	-	-	-
Buğday unu	5.40	54.00	0.27	0.01
Balık Yağı	2.40	24.00	1.45	0.03
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Glutenu	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO ₃	2.30	23.00	3.50	0.08
Monocalcium Phosphate	2.00	20.00	5.50	0.11
Metiyonin	-	-	-	-
Lisin	0.40	4.00	1.70	0.01
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0.79
		Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde		0.008
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.80

Balık unu (BU) yerine iki farklı bitkisel protein kaynaklarının (soya küspesi ve mısır glütenu) kullanıldığı MİKS2 yemnde balık unu miktarı %0'a indirilmiş ve bunun yerine her biri %34.50 oranında soya küspesi ve mısır glütenu kullanılmıştır (Çizelge 4.18). Böylece bu yemdeki hayvansal (denizel ve/veya karasal) protein hammadde kaynakları tamamen ortadan kaldırılmış ve formülasyonun tamamı bitkisel kaynaklarla yapılmıştır. Yapılan hesaplama neticesinde bu yem formülasyonunun hesaplanan maliyeti 0.90 kg/USD'ye indirilmiş, ve kontrol yemine göre %21.05 oranında daha ekonomik olduğu anlaşılmıştır.

Çizelge 4.18. Denemede kullanılan MİKS2 (soya küspesi ve mısır glütenu) yemnde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	MİKS2 YEMİ			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	-	-	-	-
Soya küspesi	34.50	345.00	0.55	0.19
Mısır glütenu	34.50	345.00	0.58	0.20
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	-	-
Fındık küspesi	-	-	-	-
Tavuk Unu	-	-	-	-
Buğday unu	16.20	162.00	0.27	0.04
Balık Yağı	2.40	24.00	1.45	0.03
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin Premiksi	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral Premiksi	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Glütenu	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO ₃	2.90	29.00	3.50	0.10
Monocalcium Phosphate	1.80	18.00	5.50	0.10
Metiyonin	-	-	-	-
Lisin	0.60	6.00	1.70	0.01
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0.89
			Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde	0.009
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.90

Balık unu (BU) yerine, karasal protein kaynağı olan TU ve iki farklı bitkisel protein kaynaklarının (soya küspesi ve mısır glütenu) kullanıldığı TU+MİKS2 yeminde balık unu miktarı %0'a indirilmiş ve bunun yerine her biri %34.50 oranında TU, %16.20 oranında soya küspesi ve %16.20 mısır glütenu kullanılmıştır (Çizelge 4.19). Yapılan hesaplama neticesinde bu yem formülasyonunun hesaplanan maliyeti 0.89 kg/USD'ye indirilmiş (Şekil 4.9), ve kontrol yemine göre %21.93 oranında daha ekonomik olduğu anlaşılmıştır (Şekil 4.10).

Çizelge 4.19. Denemede kullanılan TU+MİKS2 (soya küspesi ve mısır glütenu) yeminde bulunan hammaddelerin formülasyondaki miktarları (oran ve kg olarak) ve tüm hammaddelerin yem içerisindeki USD (ABD doları) olarak oransal fiyatları.

HAMMADELER	TU+MİKS2 YEMİ			
	Yemdeki Oranı (%)	Yemdeki Oran (g/kg)	Birim Fiyatı (USD)	Yemdeki Maliyeti (Kg/USD)
Balık Unu	-	-	-	-
Soya küspesi	16.20	162.00	0.55	0.09
Mısır glütenu	16.20	162.00	0.58	0.09
Tavuk Unu	34.50	345.00	0.58	0.20
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	-	-
Fındık küspesi	-	-	-	-
Buğday unu	18.60	186.00	0.27	0.05
Balık Yağı	2.50	25.00	1.45	0.04
Soya Lesitini	2.00	20.00	2.00	0.04
Vitamin	0.80	8.00	12.00	0.10
Mineral preMİKS	0.20	2.00	11.00	0.02
Vitamin C	0.10	1.00	10.72	0.01
Buğday Glütenu	3.00	30.00	1.45	0.04
CaCO3	2.80	28.00	3.50	0.10
Monocalcium Phosphate	1.80	18.00	5.50	0.10
Metiyonin	-	-	-	-
Lisin	0.30	3.00	1.70	0.01
Kromik oksit	1.00	10.00	-	-
Alt Toplam				0.88
			Kromik oksit yerine %1 maliyet eklendiğinde	0.009
TOPLAM	100.00	1000.00	-	0.89

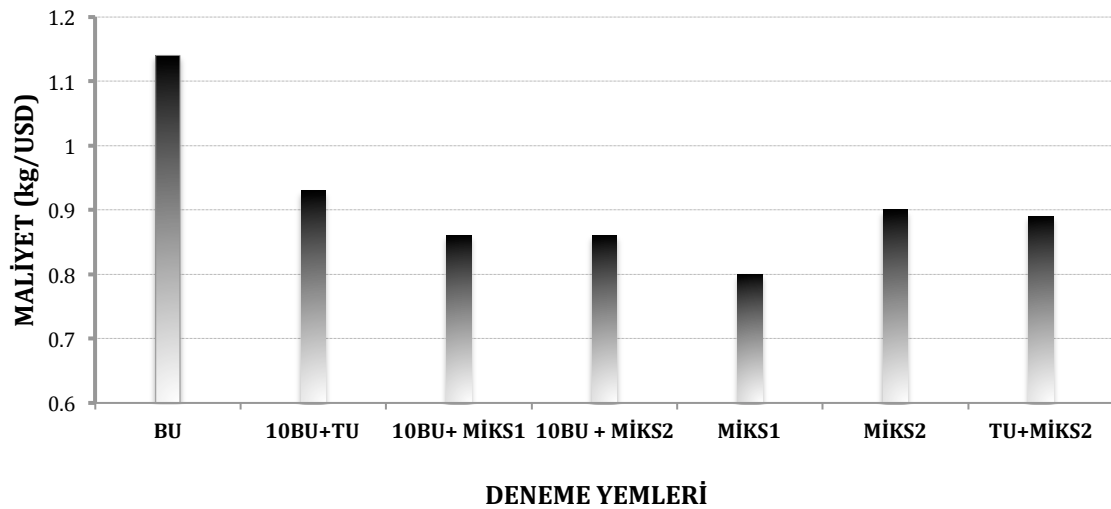
Çizelge 4.20'de tüm deneme yemlerinin yem formülasyonları içerisinde yer alan hammaddelerin tek tek maliyet detayları özetlenmiştir. Buna göre, yem maliyetleri Kontrol (BU) > 10BU+TU > MİKS2 > TU+MİKS2 > 10BU+MİKS1 > 10BU+MİKS2 > MİKS1 olarak sıralanmıştır (Çizelge 4.20, Şekil 4.9). Kontrol (BU)'ya göre maliyet farkı açısından yemler MİKS1 > 10BU+MİKS1 > TU+MİKS2 > MİKS2 > 10BU+MİKS2 = 10BU+TU olarak sıralanmıştır (Şekil 4.10, 4.11, Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Tüm deneme yemlerinin formülasyonunda kullanılan hammaddelerin ABD doları (USD) üzerinden tek tek maliyet kalemleri, her bir yemin kg maliyeti, kontrol yemine göre hesaplanan maliyet farkı (kg/USD ve % olarak), canlı ağırlık artışı için yem maliyeti (CAA_M) ve bunun kontrole grubuna göre kıyaslaması (%).

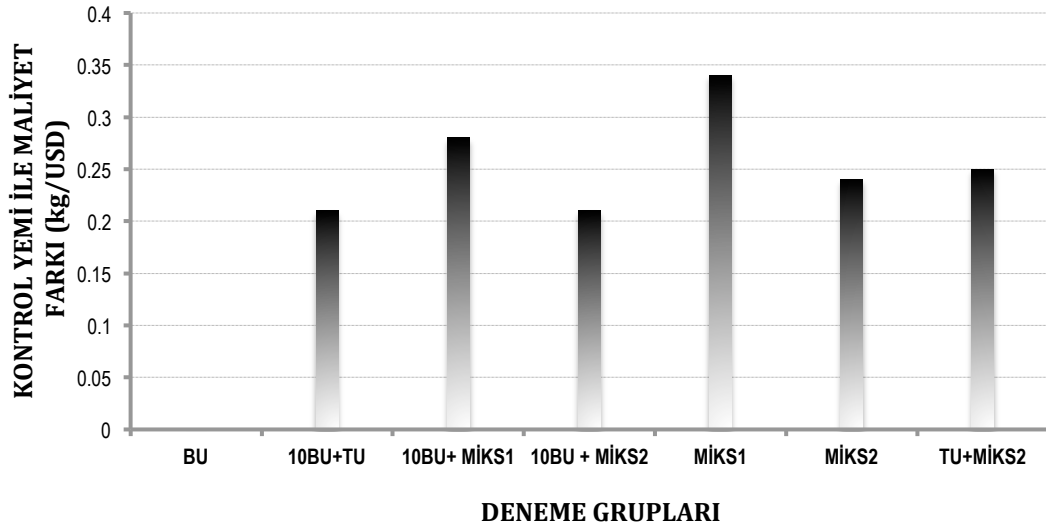
HAMMADDELER	YEM GRUPLARI						
	BU	10BU+TU	10BU+ MİKS1	10BU + MİKS2	MİKS1	MİKS2	TU+MİKS2
Balık Unu	0.77	0.16	0.16	0.16	-	-	-
Soya küspesi	-	-	0.09	0.09	0.11	0.19	0.09
Mısır gluteni	-	-	0.09	0.09	0.12	0.20	0.09
Yer Fıstığı Küspesi	-	-	0.03	0.03	0.04	-	-
Fındık küspesi	-	-	0.05	0.05	0.06	-	-
Tavuk Unu	-	0.30	-	0.00	-	-	0.20
Buğday unu	0.12	0.07	0.03	0.03	0.01	0.04	0.05
Balık Yağı	0.03	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.04
Soya Lesitini	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Vitamin Premiksi	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Mineral Premiksi	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Vitamin C	0.01	0.01	0.011	0.01	0.01	0.01	0.01
Buğday Gluteni	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
CaCO3	-	0.07	0.07	0.07	0.08	0.10	0.10
Monocalcium Phosphate	-	0.06	0.07	0.07	0.11	0.10	0.10
Metiyonin	-	0.00	-	0.00	-	-	-
Lisin	-	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Maliyet (kg/USD)*	1.14	0.93	0.86	0.86	0.80	0.90	0.89
Kontrol Yemi ile Maliyeti Farkı (kg/USD)	0	0.21	0.28	0.21	0.34	0.24	0.25
Kontrol Yeminden Maliyet Farkı (%)	0	18.42	24.56	18.42	29.82	21.05	21.93
CAA_M (\$/kg CAA)**	1.86	1.65	1.56	1.75	1.51	1.78	1.79
CAA_M tasarruf (Kontrolün %'si)	100.0	88.6	83.8	94.0	81.4	95.9	96.3

* Maliyet hesaplamasında enerji ve işçilik maliyetleri dikkate alınmamıştır.

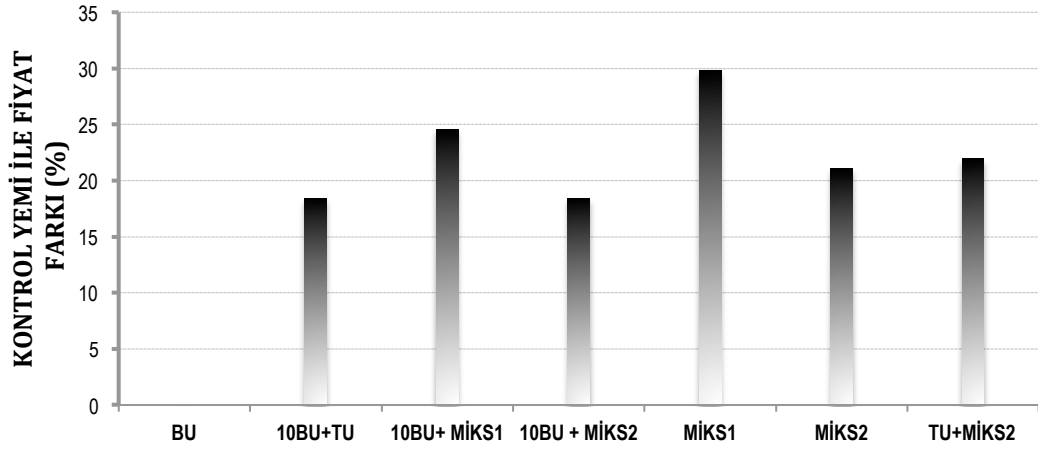
** CAA_M (Canlı ağırlık artışı için yem maliyeti) ($$/kg CAA = Maliyet (kg/USD) \times Yem \text{ Çevirim Oranı}$)



Şekil. 4.9. Denemede kullanılan yemlerin kg/USD olarak maliyetleri.



Şekil 4.10. Denemede kullanılan yemlerde yapılan maliyet hesaplamalarında kontrol yemi ile diğer deneme yemleri arasında çıkan yem maliyet farkı (kg/USD olarak).

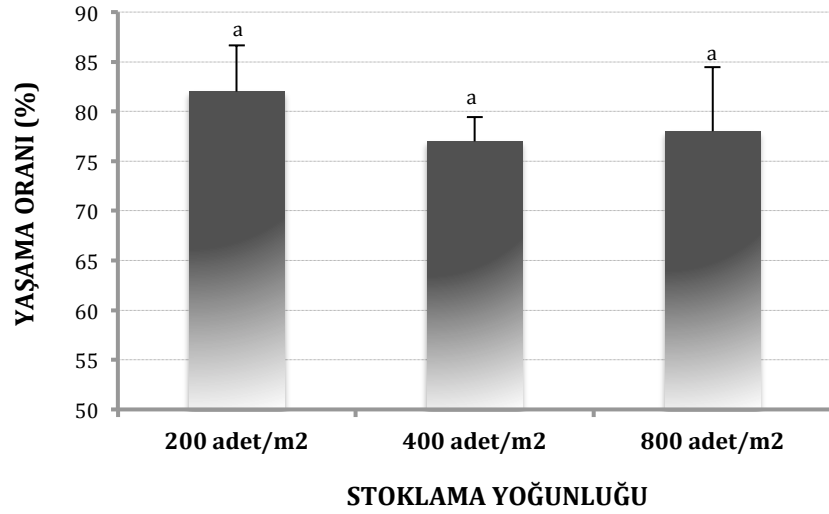


Şekil 4.11. Denemede kullanılan yemlerde yapılan maliyet hesaplamalarında kontrol yemi ile diğer deneme yemleri arasında çıkan yem maliyet farkı (kg/USD olarak).

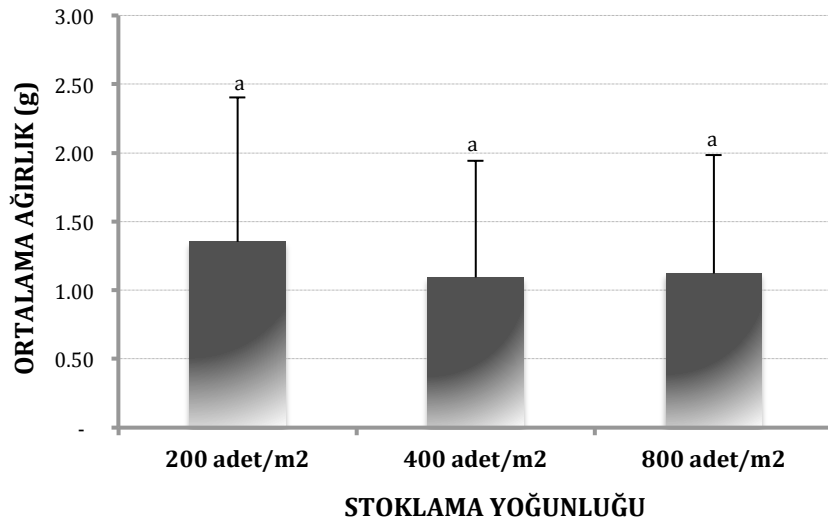
4.2. II. DENEME: Farklı Stoklama Yoğunluklarının *Penaeus vannamei*'de Büyüme Performansı ve Stres Parametreleri Üzerine Etkileri

4.2.1. Büyüme Performansı

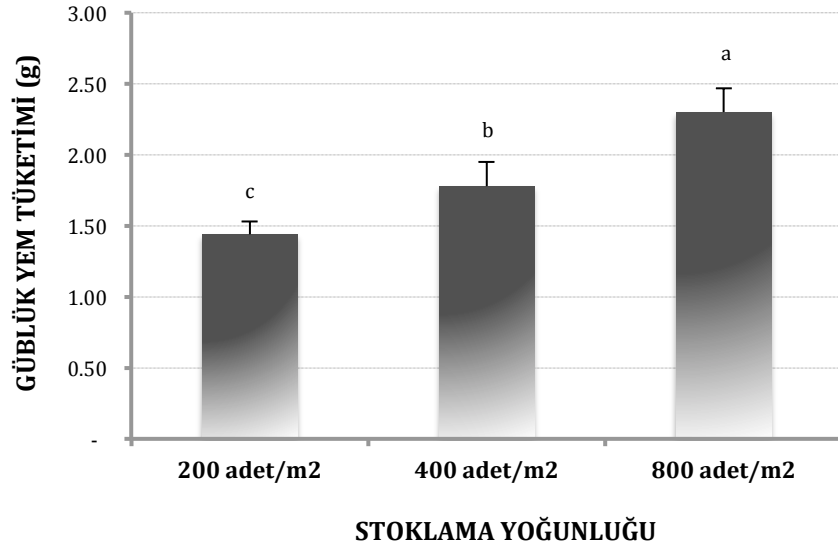
Üç farklı stok yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*P. vannamei*) elde edilen deneme sonu yaşama oranları %77, %78 ve %82 olarak gerçekleşmiştir ($P > 0.05$, Şekil 4.12). Deneme sonu karides ortalama ağırlık değerleri de 1.35, 1.09 ve 1.12 g olarak elde edilmiştir (Şekil 4.13, Çizelge 4.21).



Şekil 4.12. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonuna kadar elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır (n = 3 tank).



Şekil 4.13. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonuna kadar elde edilen ortalama ağırlık değerleri. Her değer bir ortalama (%) \pm standart sapmadır (n = 3 tank).



Şekil 4.14. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonuna kadar tüketilen grup ortalama günlük yem tüketim değerleri. Her değer bir ortalama (%) ± standart sapmadır (n = 3 tank).

Deneme süresince tutulan yem kayıtlarından günlük yem tüketim değerlerinin stoklama yoğunluğunun artışı ile birlikte arttığını ve gruplardaki ortalama günlük yem tüketim değerlerinin 200 adet/m² stok yoğunluğunda 1.44 g, 400 adet/m²'de 1.78 g ve en yüksek stoklama grubu olan 800 adet/m²'de ise 2.30 olarak gerçekleştiği hesaplanmıştır (Şekil 4.14, Çizelge 4.21). Gruplar arasında istatistiki olarak farklılıklar bulunmuştur (P<0.05).

Çizelge 4.21. Üç farklı stoklama yoğunluğunda dört hafta süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonu performans değerleri.

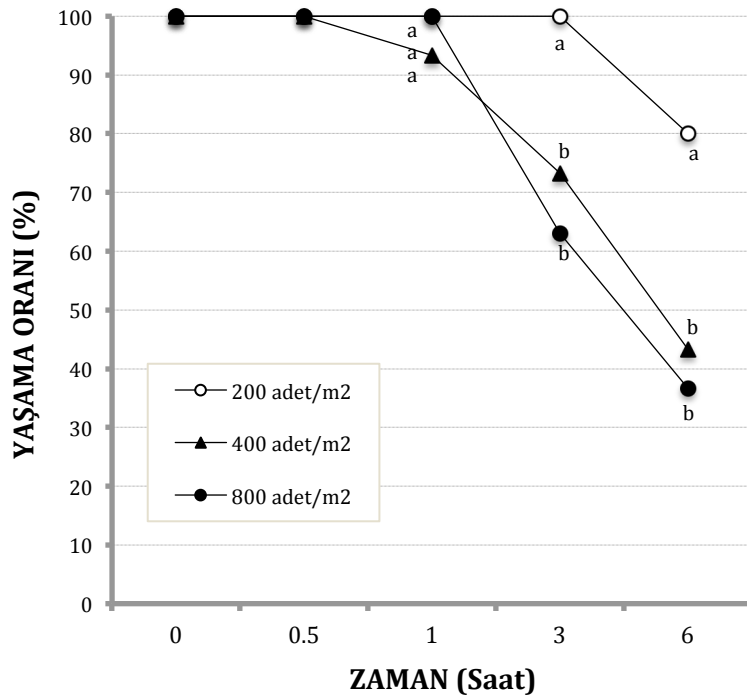
DENEME GRUPLARI			
PERFORMANS PARAMETRELERİ	200 adet/m ²	400 adet/m ²	800 adet/m ²
Karides Başlangıç Ağırlığı (g)	0.21±0.05	0.21±0.05	0.21±0.05
Yaşama Oranı (%)	82.00±4.67 ^a	77.00±2.46 ^a	78.00±6.44 ^a
Deneme Sonu Ortalama Ağırlık (g)	1.35±1.05 ^a	1.09±0.85 ^a	1.12±0.86 ^a
Günlük Yem Tüketimi (g)	1.44±0.09 ^c	1.78±0.17 ^b	2.30±0.17 ^a

Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Her satırda yer alan ortalamalardan farklı harflerle işaretlenenler birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır (P < 0.05).

4.2.2. Stres Testleri

4.2.2.1. Tuzluluk Testi

Tuzluluk testinde ilk ½ saatte herhangi bir ölüm gerçekleşmemiş, ancak 1. saatten itibaren ilk ölümler görülmeye başlanmıştır. Testin 3. saatinde 400 ve 800 adet/m² stok yoğunluklarından alınmış olan gruplarda hayatta kalma oranları %63.00 ile %73.33 seviyelerine kadar düşmüş olup (Çizelge 4.22, Şekil 4.14), 200 adet/m² yoğunluklarından teste alınan karideslerde bu periyotta hiç ölüm kaydedilmemiştir. Testin sonlandırıldığı 6. saatte yüksek yoğunluklarda hayatta kalma oranları hızla azalmaya devam ederek %36.67-%43.33'e kadar düşmüş ve bu arada düşük stok yoğunlukta tutulan karideslerde yaşama oranı %80 gibi yüksek kalmıştır (Şekil 4.15, P<0.05).

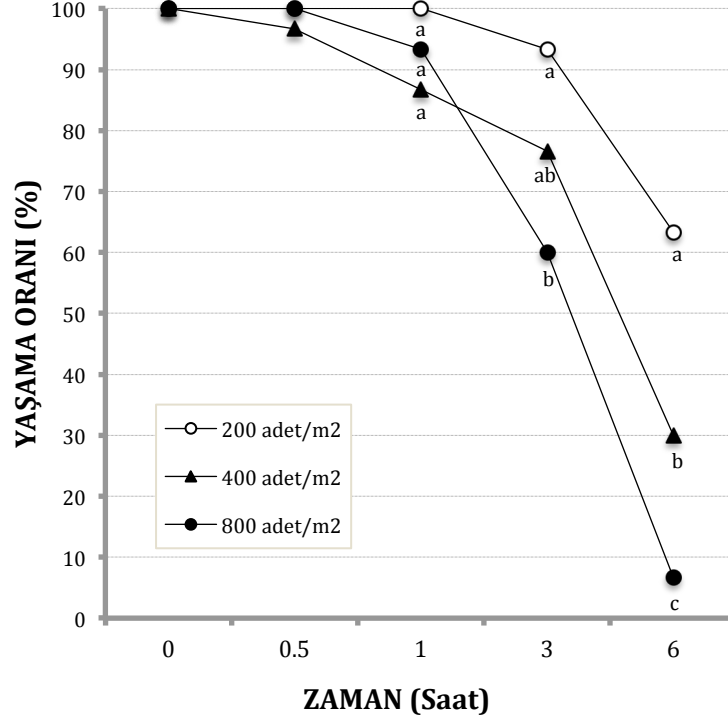


Şekil 4.15. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen tuzluluk stres testi esnasında elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) ± standart sapmadır.

4.2.2.2. Formalin Testi

Bu testte ilk ölümler düşük olsa da ilk ½ saatte görülmeye başlanmıştır, ancak gruplar arasında ilk farklılaşma testin 3. saatinde görülmüştür. Bu periyotta yüksek yoğunluklarda yetiştirilmiş olan karideslerde (400 ile 800 adet/m²) yaşama oranları %63.00-73.33'e kadar düşmüş, en düşük stoklama yoğunluğunda yetiştirilenlerde ise yaşama oranı 100% olarak kalmıştır (Şekil 4.16, Çizelge 4.22, P<0.05). Formalin testinin 6. saatinde 800 adet/m² grubunda yaşama oranı %6.67'ye kadar düşmüş, 400 adet/m² stok

grubunda %30 olarak gerçekleşmiş ve 200 adet/m² grubunda ise %63.33'te kalmıştır (P<0.05, Çizelge 4.22).



Şekil 4.16. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen formalin stres testi esnasında elde edilen yaşama oranları. Her değer bir ortalama (%) ± standart sapmadır.

Çizelge 4.22. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonrasında 6 saat süreyle gerçekleştirilen tuzluluk ve formalin stres testlerinin neticesinde elde edilen yaşama oranları.

TUZLULUK STRES TESTİ			
SÜRE (Saat)	Yaşama Oranları (%)		
	200 adet/m ²	400 adet/m ²	800 adet/m ²
0.0	100.00	100.00	100.00
0.5	100.00	100.00	100.00
1.0	100.00 ^a	93.33±5.77 ^a	100.00 ^a
3.0	100.00 ^a	73.33±5.77 ^b	63.00±11.27 ^b
6.0	80.00±10 ^a	43.33±5.77 ^b	36.67±11.55 ^b
FORMALİN STRES TESTİ			
SÜRE (Saat)	Yaşama Oranları (%)		
	200 adet/m ²	400 adet/m ²	800 adet/m ²
0.0	100.00	100.00	100.00
0.5	100.00 ^a	96.67±5.77 ^a	100.00 ^a
1.0	100.00 ^a	86.67±11.55 ^a	93.33±5.77 ^a
3.0	93.33±11.55 ^a	76.67±5.77 ^{ab}	60.00±10.00 ^b
6.0	63.33±10.00 ^a	30.00±10.00 ^b	6.67±2.89 ^c

Her değer bir ortalama (%) ± standart sapmadır. Denemede her ortalamanın elde edilebilmesinde 3 adet plastik kap ve toplamda 30 adet karides kullanılmıştır.

4.2.3. Isı Şok Proteinleri

Üç farklı stok yoğunluklarında yetiştirilen karideslerde denemenin 0, 1, 3, 7 ve 30. günlerinde alınan doku örneklerinde yapılan HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon analiz sonuçları Çizelge 4.23 ve 4.24'te özetlenmiştir. Denemenin ilk 7 gününde karidesler küçük boyutta oldukları için örneklemler tüm vücut üzerinden alınmış, ancak 30. Günde irileşen karideslerin 3 farklı dokusu disekte edilerek örneklendirilmiştir. Deneme başlatılmadan önce stok tanktan alınan örnek 0. gün örnekleme olarak değerlendirilmiş olup, bu örneklerde HSP70 değeri 1.13 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.23). 1. günde alınan örneklerde yüksek stoklama yoğunluklarındaki karideslerde HSP70 ekspresyon değerleri daha yüksek çıkmasına karşın herhangi bir istatistiksel fark elde edilememiştir ($P>0.05$). Denemenin 3. ve 7. günlerinde alınan örneklerde HSP70 değerlerinde herhangi bir farklılık ortaya çıkmamıştır ($P>0.05$). Denemenin son günü olan 30. günde alınan ve 3 farklı dokuya ayrılan örneklerde ayrı ayrı yapılan HSP70 ekspresyon analizlerinde de stok yoğunluğuyla ilişkili olan belirgin herhangi bir eğilim (trend) elde edilememiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Denemenin farklı dönemlerinde örneklenen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 0, 1, 3, 7 ve 30. günlerdeki HSP70 gen ekspresyon seviyeleri.

Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	HSP70 GEN EKSPRESYON SEVİYELERİ						
	0. GÜN	1. GÜN	3. GÜN	7. GÜN	30. GÜN		
					HP	SOL	KAS
200 adet		1.44±1.54 ^a	1.66±0.91 ^a	2.18±1.46 ^a	1.44±0.17 ^a	0.95±0.14 ^a	1.22±0.47 ^a
400 adet	1.13±0.62	1.96±0.21 ^a	1.51±0.61 ^a	2.26±0.49 ^a	0.84±0.34 ^b	1.02±0.65 ^a	2.13±1.14 ^a
800 adet		1.88±0.54 ^a	2.15±0.37 ^a	1.53±0.27 ^a	1.15±0.38 ^a	1.06±0.44 ^a	1.10±0.39 ^a

Her değer bir ortalama (n = 6) standart sapmayı ifade etmektedir. HP: Hepatopankreas, SOL: Solungaç, KAS: Kas dokusu.

HSP90 gen ekspresyon analizlerinde 0. gün örnekleme belirlenen 1.51'lik gen ekspresyon oranı, 1. günde stoklama yoğunluğundaki artışa paralel olarak artış göstermiş ve bu artış özellikle 800 adet/m² stok yoğunluğunda, düşük stok yoğunluğuna (200 adet/m²) kıyasla, 9-10 kat yükseliş göstermiştir ($P<0.05$, Çizelge 4.24). Orta stok seviyesi olan 400 adet/m² grubunda da, 200 adet/m² grubuna kıyasla, HSP90 ekspresyon seviyesi yaklaşık 2.5 kat yükselmiş, ancak istatistiksel bir farklılık belirlenememiştir ($P>0.05$). Gruplar arasındaki bu anlamlı farklılık 3. günde daha az belirgin hale gelmiş, ve 7. günde artan stoklama yoğunluğuna paralel bir artış görülmüş olsa da gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$, Çizelge 4.24). 30. günde alınan 3 farklı doku örneklerinin hiçbirinde de stoklama yoğunluğuyla ilintili bir eğilim belirlenememiştir.

Çizelge 4.24. Denemenin farklı dönemlerinde örneklenen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 0, 1, 3, 7 ve 30. günlerdeki HSP90 gen ekspresyon seviyeleri.

Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	HSP90 GEN EKSPRESYON SEVİYELERİ						
	0. GÜN	1. GÜN	3. GÜN	7. GÜN	30. GÜN		
					HP	SOL	KAS
200 adet		1.17±1.30 ^b	3.60±0.90 ^a	1.93±0.82 ^a	3.65±2.20 ^a	1.54±0.34 ^a	1.78±0.73 ^a
400 adet	1.51±1.52	2.90±0.93 ^b	0.64±0.64 ^b	3.54±2.55 ^a	0.78±0.57 ^b	0.51±0.17 ^b	0.83±0.21 ^a
800 adet		11.38±7.99 ^a	4.03±2.69 ^a	3.93±2.08 ^a	1.26±0.36 ^b	0.84±0.71 ^b	1.68±1.05 ^a

Her değer bir ortalama (n = 6) standart sapmayı ifade etmektedir. HP: Hepatopankreas, SOL: Solungaç, KAS: Kas dokusu. Her sütunda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır (P<0.05).

4.3. III. DENEME: Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımının *Penaeus vannamei*'nin Büyüme Performansı ve Yem Tüketimi Üzerine Etkileri

4.3.1. Su Kalite Parametreleri

Deneme boyunca düzenli olarak sabah ve akşam yapılan sıcaklık ölçümleri neticesinde RAS sistemlerinde su sıcaklığı ortalama $26.15 \pm 1.66^\circ\text{C}$ 'de seyretmiştir. Haftalık ölçümleri yapılan pH ve O_2 değerleri ise sırasıyla 8.33 ± 0.26 ve 9.15 ± 0.26 mg/L olarak belirlenmiştir. Tuzluluk ‰20 olarak sürdürülmüş ve su değişkenliği buharlaşma ve sifonla gerçekleşen su kayıplarını telafi etmek amacıyla haftada %2 olarak gerçekleştirilmiştir. Her iki RAS sisteminde de toplam amonyak değerleri < 0.05 olarak sürdürülmüş, ancak probiyotiksiz su kullanılan sistemde ölçülen nitrit ve nitrat değerleri (sırasıyla 0.30 ile 5 mg/L), suda probiyotik uygulanan sisteme nazaran (0.06 ± 0.02 mg/L nitrit 1 mg/L nitrat) daha yüksek çıkmıştır ($P < 0.01$).

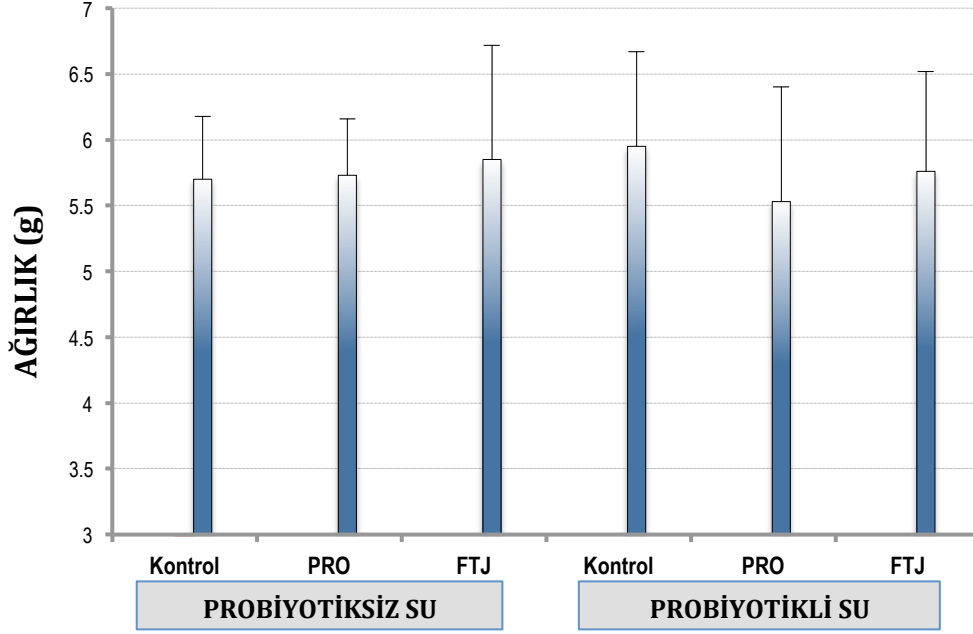
4.3.2. Büyüme ve Yem Tüketim Performansı

Deneme boyunca (2 ay) ortalama 0.73 g ağırlığında olan karidesler deneme sonunda gruplar bazında ortalama 5.70 ile 5.95 g aralığında canlı ağırlığa ulaşmışlardır ($P > 0.05$, Çizelge 4.25, Şekil 4.17). Bu esnada deneme sonu yaşama oranları da %63.33 ile %72.67 arasında değişmiştir ($P > 0.05$, Şekil 4.18). Gruplar için hesaplanan SBO değerleri (%/gün olarak) 3.36 ile 3.49 arasında, YÇO değerleri ise 1.50 ile 1.61 arasında değişim göstermiştir ($P > 0.05$, Çizelge 4.25).

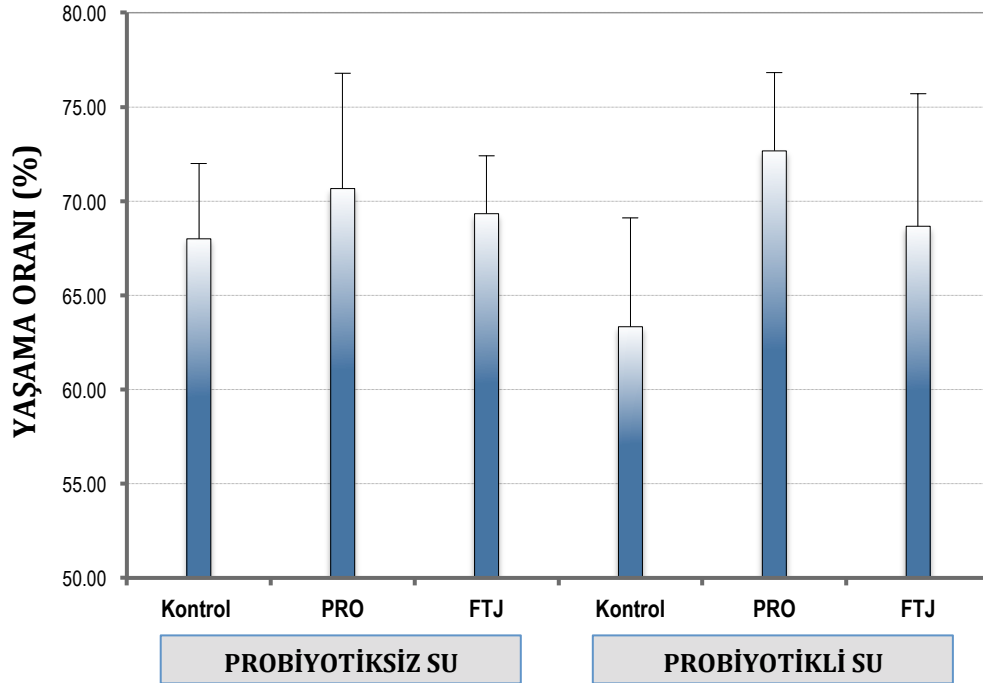
Çizelge 4.25. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) elde edilen deneme sonu performans verileri.

PARAMETRELER	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem
Deneme Sonu Ortalama Ağırlık (g)	5.70 ± 0.57	5.73 ± 0.41	5.85 ± 0.87	5.95 ± 0.72	5.53 ± 0.87	5.76 ± 0.76
Deneme Sonu Yaşama Oranı (g)	68.00 ± 4.00	70.67 ± 6.11	69.33 ± 3.06	63.33 ± 5.77	72.67 ± 4.16	68.67 ± 7.02
SBO (%/gün)	3.42 ± 0.14	3.43 ± 0.13	3.46 ± 0.24	3.49 ± 0.20	3.36 ± 0.27	3.43 ± 0.21
YÇO	1.60 ± 0.01	1.50 ± 0.02	1.55 ± 0.24	1.61 ± 0.14	1.55 ± 0.33	1.50 ± 0.11

Her değer bir ortalama \pm standart sapmadan oluşmakta olup, ortalamalar 3 tank ortalamasından elde edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($P > 0.05$).



Şekil 4.17. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) elde edilen deneme sonu karides ortalama ağırlık verileri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadan oluşmakta olup, ortalamalar 3 tankın verilerinden elde edilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir istatistik farklılık görülmemiştir.



Şekil 4.18. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) elde edilen deneme sonu karides yaşama oranı (%) verileri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadan oluşmakta olup, ortalamalar 3 tankın verilerinden elde edilmiştir. Gruplar arasında herhangi bir istatistik farklılık görülmemiştir.

Deneme sonunda her gruptan alınan karideslerin et dokusunda yapılan temel besin bileşenleri sonuçları gruplar arasında istatistik farklılıklar olduğunu (ham kül hariç) göstermiştir ($P<0.01$). Kuru madde (KM) açısından probiyotiksiz suda fitojenik madde ile beslenen grup ile probiyotikli suda kontrol yemi ile beslenen gruplarda KM en yüksek çıkmıştır ($P<0.01$). Grupların ham lipit içerikleri %1.08 ile %1.45 arasında değişmiş ve en yüksek lipit oranı (%1.75) probiyotikli su + fitojenik madde ile beslenen grupta belirlenmiştir ($P<0.01$, Çizelge 4.26). Grupların et doku ham protein değerleri %17.14 ile %18.46 arasında değişim göstermiş olup, en yüksek değer probiyotikli suda kontrol yemi ile beslenen grupta elde edilmiştir ($P<0.01$).

Çizelge 4.26. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) deneme sonu alınan et örneklerinde yapılan temel besin bileşenleri analiz sonuçları.

Temel Besin Bileşenleri	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol	PRO	FTJ	Kontrol	PRO	FTJ
Kuru Madde	21.80±0.20 ^b	21.77±0.06 ^b	22.40±0.20 ^a	22.60±0.10 ^a	21.57±0.57 ^b	21.80±0.40 ^b
Ham Kül	1.16±0.20	1.45±0.01	1.21±0.02	1.38±0.26	1.25±0.27	1.08±0.06
Ham Lipit	1.46±0.03 ^{bc}	1.24±0.04 ^d	1.51±0.12 ^b	1.38±0.03 ^c	1.50±0.03 ^{bc}	1.75±0.08 ^a
Ham Protein	17.46±0.01 ^c	17.66±0.07 ^c	18.08±0.15 ^b	18.46±0.16 ^a	17.14±0.08 ^d	17.63±0.11 ^c

Her değer bir ortalama ± standart sapmadan ($n = 3$) oluşmaktadır. Her satırda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasında istatistik farklılık görülmüştür ($P<0.05$).

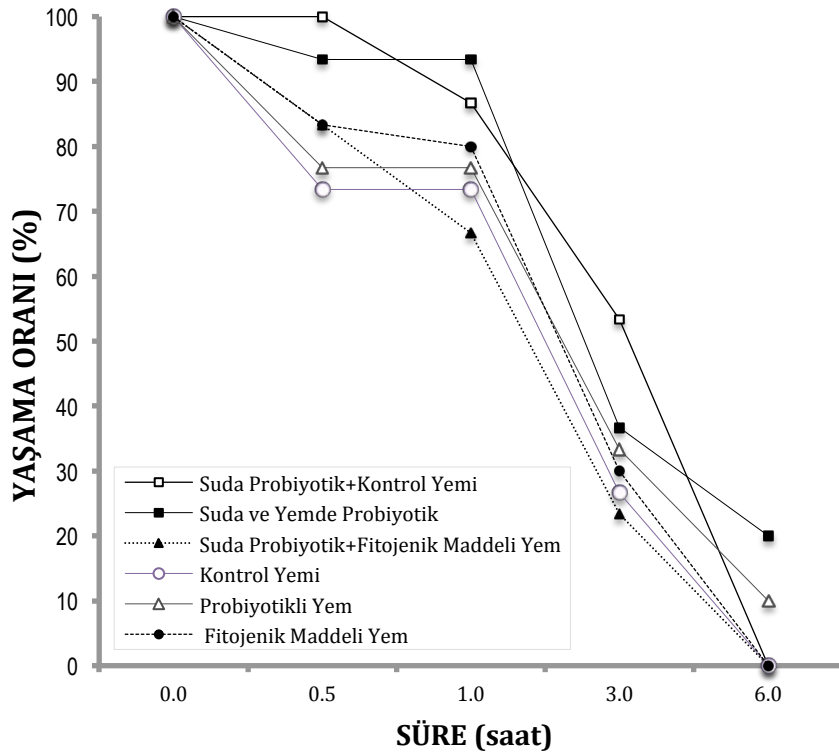
4.3.3. Tuzluluk Stres Testi

Büyütme denemesi sonunda tuzluluk stres testine tabi tutulan karides gruplarında ilk ölümler 0.5'nci saatte gerçekleşmiş ve bu periyotta probiyotikli suda yetiştirilmiş olan karideslerde tuzluluk testinde genel olarak daha yüksek direnç göstermişlerdir (Çizelge, 4.27, $P<0.01$). İlk yarım saatte hem suda probiyotik uygulaması hem de gruplar arasında istatistik farklılıklar ortaya çıkmıştır ($P<0.01$). Testin 1. saatinde suda probiyotik uygulamasının yaşama oranı üzerinde olumlu etkisi bulunamamış ($P>0.05$), ancak deneme grupları arasında farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.01$). Testin 3. ve 6. saatlerinde yaşama oranları hızla azalarak, test sonunda sadece probiyotikli yem ile beslenen 2 grupta hayatta kalan karidesler olmuştur (Şekil, 4.19). Probiyotiksiz suda yetiştirilen ve probiyotikli yem ile beslenen karideslerde 6. saat sonunda hayatta kalan karideslerin oranı %10 iken, bu oran probiyotikli suda ve probiyotik içeren yem ile beslenen grupta %20 olarak gerçekleşmiştir. Ancak, neticede bu gruplar arasında da istatistik herhangi bir farklılık belirlenememiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27. Deneme sonunda hayatta kalan karideslerin dirençlerini ölçmek için 6 saat süreyle uygulanan tuzluluk stres testi sonuçlarında elde edilen yaşama oranları (%).

TZLULUK STRES TESTİ (% YAŞAMA ORANLARI)						
SÜRE (Saat)	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem
0.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
0.5	73.33±5.77 ^b	76.67±5.77 ^b	83.33±15.28 ^{ab}	100.00 ^a	93.33±5.77 ^{ab}	83.33±5.77 ^{ab}
1.0	73.33±5.77 ^{abc}	76.67±5.77 ^{abc}	80.00±10.00 ^{abc}	86.67±5.77 ^{ab}	93.33±5.77 ^a	66.67±5.77 ^{bc}
3.0	26.67±5.77 ^b	33.33±15.28 ^b	30.00±10.00 ^b	53.33±5.77 ^a	36.67±5.77 ^b	23.33±5.77 ^b
6	0.00	10.00±5.77	0.00	0.00	20.00±5.77	0.00

Her değer bir ortalama ± standart sapmadır (n = 10 adet). Her test süresi için ayrı ayrı olmak üzere iki-yönlü ve tek-yönlü yürütülen istatistik analizler neticesinde farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P < 0.05).



Şekil 4.19. Deneme sonunda hayatta kalan karideslerin dirençlerini ölçmek için 6 saat süreyle uygulanan tuzluluk stres testi sonuçlarında elde edilen yaşama oranları (%). Her değer bir ortalama ± standart sapmadır (n = 10 adet).

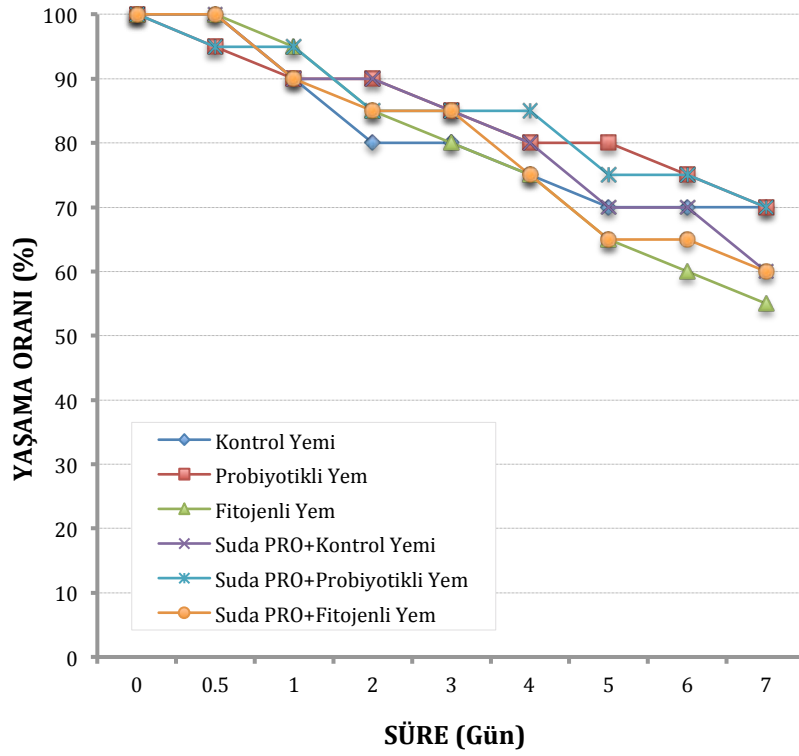
4.3.4. Bakteri Dayanıklılık Testi

Karideslerde büyüme performans denemesi neticesinde hayatta kalan karideslerde bakteri dayanıklılık testi yapılmış ve elde edilen bulgular Çizelge 4.28'de özetlenmiştir. Buna göre, bakteri enjeksiyonunu takiben ilk ½ saatte ölümler görülmeye başlanmış ve tedrici olarak gruptaki karideslerde yaşama oranı 1 hafta içerisinde %55 ile %70 oranlarına kadar düşmüştür (Şekil 4.20). Yapılan istatistik analizler gruplar arasında herhangi bir farklılığın olmadığını ortaya koymuştur ($P>0.05$). Dolayısıyla, uygulanan test koşullarında suda probiyotik uygulaması ve/veya yemlerde probiyotik veya fitojenik madde kullanımının olumlu herhangi bir etkisi gözlemlenememiştir.

Çizelge 4.28. Probiyotikli ve probiyotiksiz su içerisinde farklı yemlerle beslenen karideslerin iki ay süren deneme sonunda alındıkları 7 günlük bakteri dayanıklılık testi neticesinde elde edilen yaşama oranı (%) verileri.

Süre (gün)	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem	Kontrol Yemi	Probiyotikli Yem	Fitojenli Yem
0	100	100	100	100	100	100
0.5	100	95.00±7.07	100	100	95.00±7.07	100
1	90.00±7.07	90.00±7.07	95.00±7.07	90.00±0.00	95.00±7.07	90.00±0.00
2	80.00±14.14	90.00±0.00	85.00±7.07	90.00±0.00	85.00±7.07	85.00±7.07
3	80.00±14.14	85.00±7.07	80.00±0.00	85.00±7.07	85.00±7.07	85.00±7.07
4	75.00±14.14	80.00±7.07	75.00±14.14	80.00±0.00	85.00±7.07	75.00±7.07
5	70.00±21.21	80.00±14.07	65.00±7.07	70.00±14.14	75.00±7.07	65.00±7.07
6	70.00±14.14	75.00±7.07	60.00±0.00	70.00±7.07	75.00±14.14	65.00±14.14
7	70.00±14.14	70.00±14.07	55.00±7.07	60.00±14.14	70.00±14.14	60.00±14.14

Her değer bir ortalama ± standart sapmadır (n = 2 tank ve her tank için 10 adet karidesten oluşmaktadır). Her satırdaki veriler için yapılan istatistik hesaplamalar (iki-yönlü ANOVA) gruplar arasında herhangi bir farklılığın olmadığını göstermiştir ($P > 0.05$).



Şekil 4.20. Farklı yem çeşitleri ve probiyotik uygulamasıyla 60 gün süreyle yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*), deneme sonunda yapılan bakteri dayanıklılık testi neticesinde elde edilen yaşama oranı sonuçları (%).

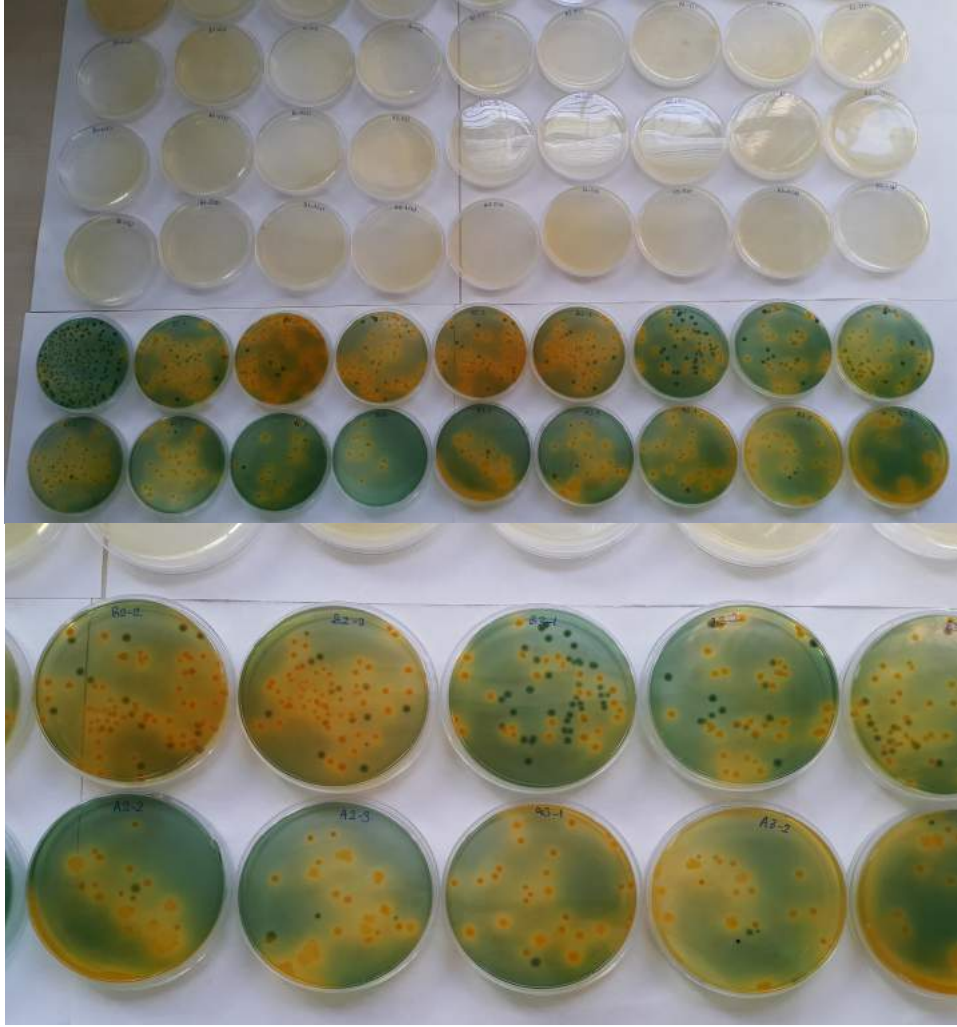
4.3.5. Bakteri Kolonilerinin Kıyaslanması

4.3.5.1. Bağırsakta Bakteri Kolonileri

Deneme sonrasında disekte edilen karideslerin bağırsaklarıyla aşılandıktan sonra katı besi ortamında geliştirilen bakteri kolonileri (Şekil 4.21) kıyaslandığında; çift-yönlü varyans analiz sonuçları probiyotiksiz suda ve probiyotikli suda 60 gün süre yetiştirilen karideslerin bağırsak koloni sayılarında bazı farklılıklar görülmesine rağmen bu uygulamanın genel olarak belirgin bir fark yaratmadığını göstermemiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.29).

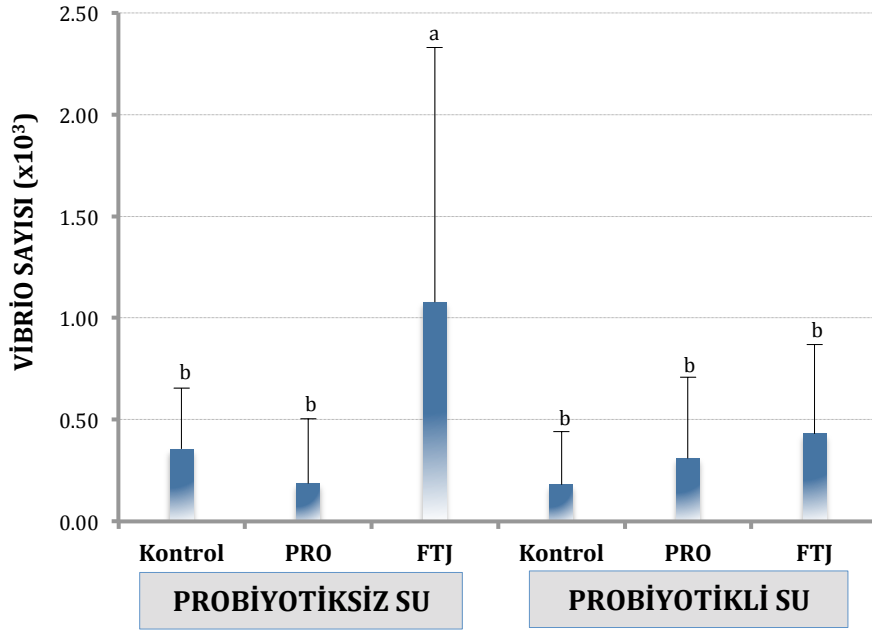
Çizelge 4.29. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan bakteri (*Vibrio*) kolonilerinin sayısı (CFU/mL).

Bağırsakta Koloni Sayısı	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol	PRO	FTJ	Kontrol	PRO	FTJ
Vibrio Sayısı ($\times 10^3$)	0.36 \pm 0.30 ^b	0.19 \pm 0.32 ^b	1.08 \pm 1.25 ^a	0.18 \pm 0.26 ^b	0.31 \pm 0.40 ^b	0.43 \pm 0.44 ^b
Toplam Bakteri Sayısı ($\times 10^6$)	10.16 \pm 20.06	1.51 \pm 3.18	13.16 \pm 22.66	13.72 \pm 30.05	0.6 \pm 0.72	0.93 \pm 1.61

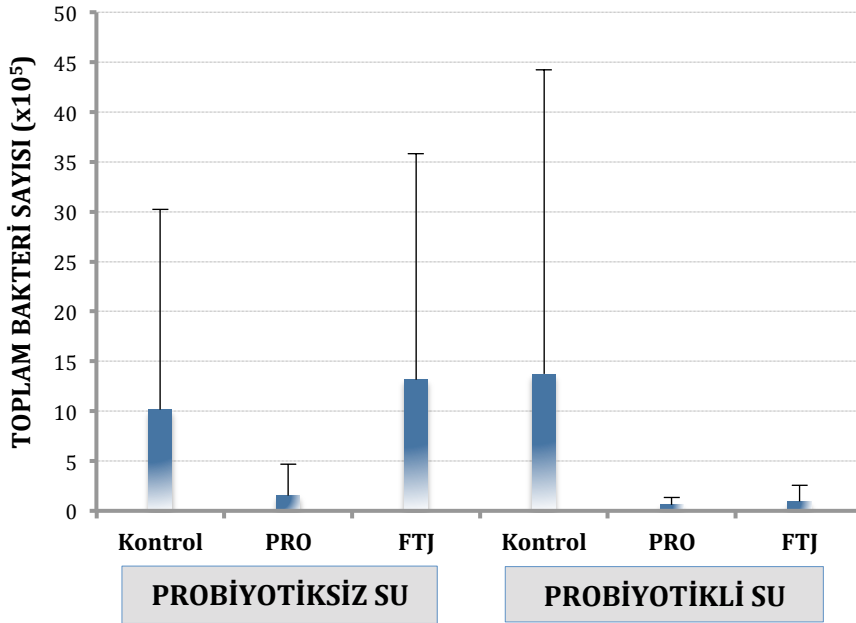


Şekil 4.21. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan toplam bakteri (kırmızı) ve *Vibrio* (yeşil renkli) kolonilerinin petri kutularındaki görünümü.

Deneme grupları arasında ise; özellikle probiyotiksiz suda yetiştirilen ve fitojenik madde ile beslenen karideslerin bağırsaklarında daha yüksek oranda *Vibrio* bulunduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$, Çizelge 4.28; Şekil 4.22). Toplam bakteri sayımında ne suda probiyotik kullanımı ne de yemlerde probiyotik/fitojenik madde kullanımının bakteri sayısını etkilemediği anlaşılmıştır (Çizelge 4.18; Şekil 4.23).



Şekil 4.22. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan bakteri (*Vibrio*) kolonilerinin sayısı (CFU/mL).



Şekil 4.23. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin bağırsaklarından alınan ve katı besi yerinde çoğaltılan toplam bakteri kolonilerinin sayısı (CFU/mL).

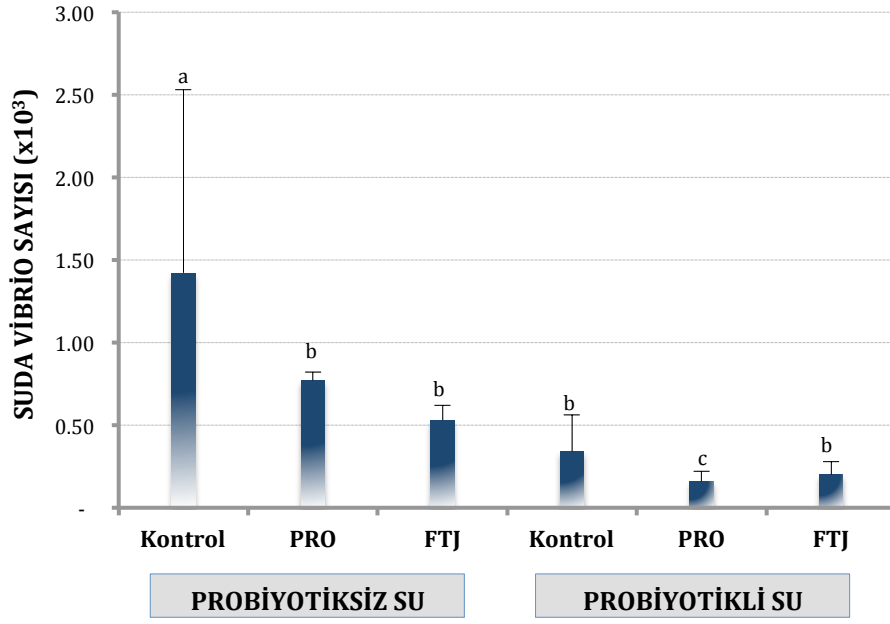
4.3.5.2. Suda Bakteri Kolonileri

Birbirlerinden farklı çalışan iki farklı RAS sisteminde dönen probiyotikli ve probiyotiksiz sudan alınan (her deneme grubunun tanklarından ayrı ayrı) ve katı besi ortamlarında çoğaltılan bakteri kolonileri kıyaslandığında; probiyotiksiz suda *Vibrio* sayısının daha yüksek olduğu, toplam bakteri açısından ise durumun tersi olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Probiyotiksiz suda kontrol yemi ile 60 gün süreyle beslenen karideslerin arasında özellikle kontrol grubunun tanklarında yüksek oranda *Vibrio* bulunmuş (1.42×10^3 CFU/mL), aynı RAS sisteminde bulunan probiyotikli yem veya fitojenik madde içeren yem ile beslenen karideslerin olduğu tanklarda ise bu rakam, sırasıyla, 0.77×10^3 CFU/mL ve 0.53×10^3 CFU/mL olarak daha düşük çıkmıştır ($P<0.05$, Çizelge 4.30, Şekil 4.24). Probiyotikli suda bulunan gruplarda, kontrol grubu tanklarında *Vibrio* sayısı, probiyotiksiz suda bulunan kontrol grubuna kıyasla, 4.18 kat azalmıştır ($P<0.05$). Benzer şekilde probiyotikli suda ve probiyotikli yemle beslenen karideslerin tanklarında da *Vibrio* sayısı, probiyotiksiz suda bulunan ve probiyotikli yemle beslenen gruba göre, 4.81 kat, yine probiyotikli suda ve fitojenik yemle beslenen grupta da, probiyotiksiz ve fitojenik madde ile beslenen gruba kıyasla, 2.65 oranında bir azalma tespit edilmiştir ($P<0.05$, Çizelge 4.30, Şekil 4.24).

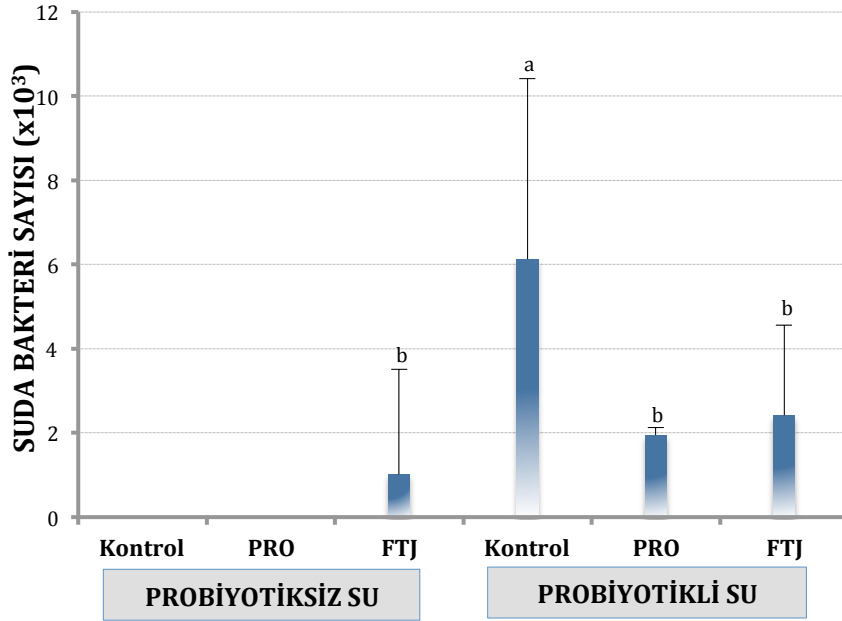
Çizelge 4.30. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından örneklenen deniz suyundan alına örneklerde katı besi ortamında çoğaltılan bakteri (*Vibrio*) kolonilerinin sayısı (CFU/mL).

Suda Koloni Sayısı	PROBİYOTİKSİZ SU			PROBİYOTİKLİ SU		
	Kontrol	PRO	FTJ	Kontrol	PRO	FTJ
Vibrio Sayısı ($\times 10^3$)	1.42±1.11 ^a	0.77±0.05 ^{bc}	0.53±0.09 ^{bc}	0.34±0.22 ^{bc}	0.16±0.06 ^c	0.20±0.08 ^{bc}
Toplam Bakteri Sayısı ($\times 10^3$)	0	0	1.02±2.49	6.13±4.29 ^a	1.95±0.18 ^b	2.42±2.14 ^b

Toplam bakteri sayımı açısından; probiyotiksiz suda yetiştirilen tanklardan alınan su örneklerinde bakteri gelişimi ya hiç olmamış veya çok düşük düzeyde gerçekleşmiştir (Çizelge 4.29, Şekil 4.25). Probiyotikli suda yetiştirilen karideslerin tanklarından alınan su örneklerinde ise toplam bakteri sayısı 1.95 ile 6.13×10^3 CFU/mL arasında değişmiş olup, en yüksek bakteri sayımı kontrol grubu tanklarında, en düşük ise probiyotik kullanılan tanklarda belirlenmiştir ($P<0.05$; Şekil 4.25).



Şekil 4.24. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından ömelenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan *Vibrio* bakterilerinin toplam koloni sayısı (CFU/mL).



Şekil 4.25. Denemede probiyotikli ve probiyotiksiz su içeren RAS sistemlerinde farklı yemlerle yetiştirilen karideslerin tanklarından ömelenen deniz suyundan katı besi ortamında çoğaltılan bakteri toplam kolonilerinin sayısı (CFU/mL).

4.4. IV. DENEME: Katlı Tank Sisteminde Farklı Stok Yoğunluklarında Yetiştirilen Karideslerde Büyüme, Yem Tüketimi ve Stres Parametrelerinin Belirlenmesi

4.4.1. Su Kalite Parametreleri

Katlı sistemde 4 ay süren deneme süresince taze su girdisi ortalama günde 500 L ve ayda yaklaşık 15 ton olarak hesaplanmıştır. Böylece 4 ay yetiştiricilik süresince RAS sistemine toplamda sadece 60 ton taze su (tatlısu ve deniz suyu olarak) girmiştir. Buna göre, sistemde dönen su 30 ton olduğuna göre, su sızıntıları, sifonlama ve buharlaşma kayıpları için haftalık su değişimi %12.50, günlük su değişim ise yaklaşık %1.79 olarak sürdürülmüştür. Tanklar haftada bir kez sifonlanmış ve 24 saat boyunca 1.5 HP gücünde bir blowerdan basılan hava ile havalandırma yapılarak çözünmüş oksijen seviyesi sürekli olarak 7 mg/L'nin üzerinde sürdürülmüştür. Deneme süresince pH 7.9 ile 8.25, sıcaklık 26 ile 30°C, toplam amonyak 0 ile 1 mg/L, nitrit 0-5 mg/L, nitrat 0 ile 120 ve tuzluluk ise ‰18 ile ‰20 aralığında arasında tutulmuştur (Çizelge 4.31).

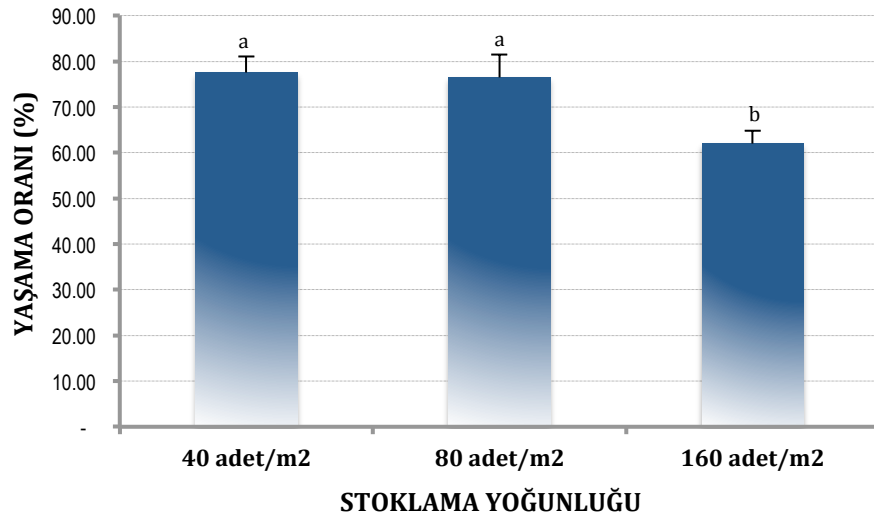
Çizelge 4.31. Katlı sistemde 4 ay süren deneme boyunca ölçülen ortalama aylık su parametre değerleri.

Aylar	Sıcaklık (°C)	Toplam Amonyak (mg/L)	Nitrit (mg/L)	Nitrat (mg/L)	Tuzluluk (‰)
Haziran	26-28	0-1	1-5	10 ile 120	20
Temmuz	28-30	0-0.5	0-2	0-50-100	18
Ağustos	30	0-0.5	0-2	0-50-100	18
Eylül	30	0-1	0-5	0-100	18

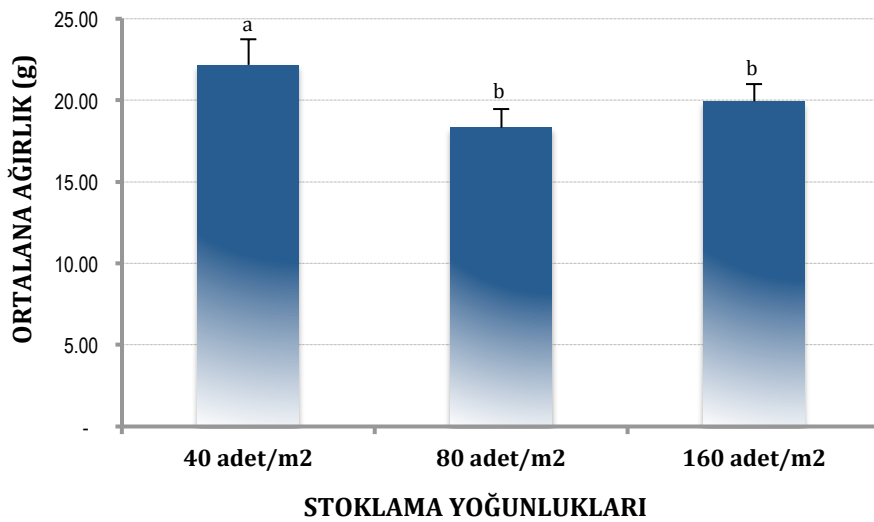
4.4.2. Stoklama ve Yemleme

Denemede karidesler tanklara üç farklı stoklama yoğunluğunda stoklanmadan önce stok tankından tesadüfi olarak alınan 50 adet karides bireysel olarak tartılmış ve ortalama ağırlık 1.06 ± 0.12 olarak ölçülmüştür. Deneme başlatıldıktan sonra ilk yemleme biyomasın %15 oranıyla başlatılmış ve yapılan gözlemler neticesinde ilk haftada oran %12'ye düşürülmüştür. Her yemlemeden 2 saat sonra tankın tabanında yapılan gözlemlerle kalan yem miktarına göre bir sonraki yemlemede verilecek yem miktarı artırılmış veya azaltılmıştır. Tanklar sığ olduğundan çoğunlukla tank tabanında kalan yemler rahatlıkla gözlemlenebilmiş ancak deneme sonuna doğru tank tabanında kepçe ile kalan yem miktarı belirlenmeye çalışılmıştır. Beslemede yemleme oranı 4. haftadan itibaren %7-8'e, 8 ile 12. haftalar arasında %6'ya, 12-16. haftalar arasında ise %3-4'e kadar düşürülmüştür.

Deneme sonunda her tankta kalan karidesler tek tek sayılmış ve neticede grupların yaşama oranları 40 adet/m² grubunda %77.50, 80 adet/m² grubunda %76.50 ve en yüksek stoklama grubu olan 160 adet/m² grubunda ise %62.00 olarak belirlenmiştir (P<0.05, Şekil 4.26, Çizelge 4.30). Bu gruplarda deneme sonu ortalama karides ağırlıkları 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama yoğunluklarında sırasıyla 22.15, 18.31 ve 19.93 olarak ölçülmüştür (P<0.05, Şekil 4.27). Gruplarda SBO değerleri 40, 80 ve 160 adet/m² gruplarında sırasıyla %2.55/gün, %2.39/gün ve %2.43/gün olarak hesaplanmıştır (P<0.05, Çizelge 4.30). Hasat esnasında tankların tabanında kalan karideslerin görüntüleri Şekil 4.28 ve 4.29'da gösterilmiştir.



Şekil 4.26. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda elde edilen yaşama oranı (%). Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır (P < 0.05).



Şekil 4.27. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda ortalama ağırlıkları (g/karides). Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistiki olarak farklıdır (P < 0.05).

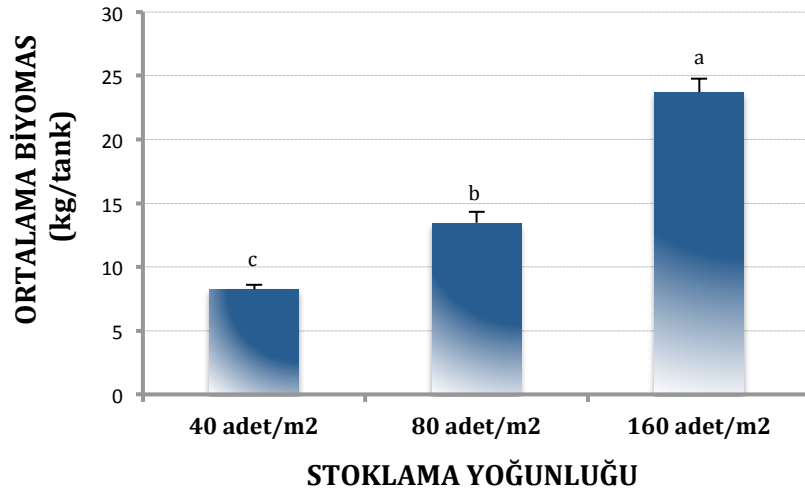


Şekil 4.28. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda tank su seviyeleri düşürülürken çekilen görüntüleri.

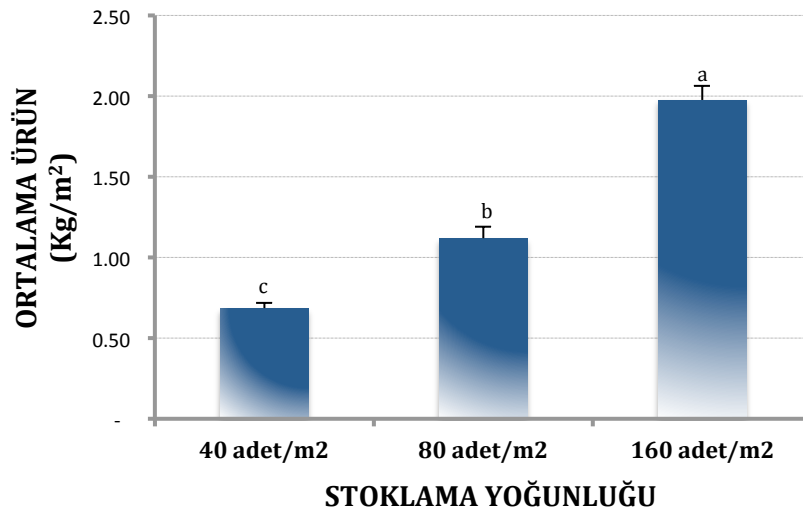


Şekil 4.29. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda hasat edilirken çekilen görüntüleri.

Tanklarda 4 ay süreyle yetiştirilen karideslerde elde edilen ürün miktarı gruplar bazında ortalama 40 adet/m²'de 8.24 kg/tank, 80 adet/m²'de 13.45 kg/tank ve 160 adet/m²'de 23.72 kg/tank olarak gerçekleşmiştir (P<0.05, Şekil 4.30). Birim tank alanından elde edilen ürün miktarları ise 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama yoğunlukları için 0.69, 1.12 ve 1.98 kg/m² olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.31).

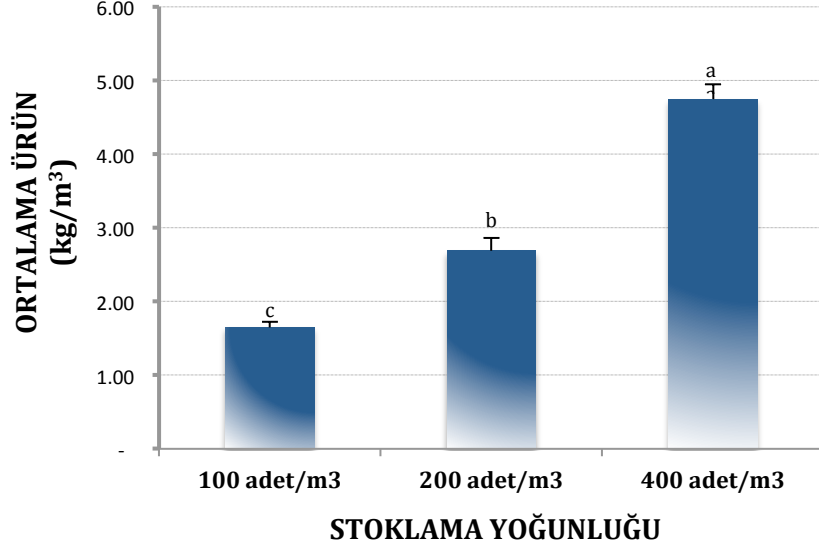


Şekil 4.30. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda tanktan elde edilen ortalama ürün miktarı (kg/tank). Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P < 0.05).



Şekil 4.31 Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda tankların her m²'sinden elde edilen ortalama ürün miktarı (kg/m²). Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P < 0.05).

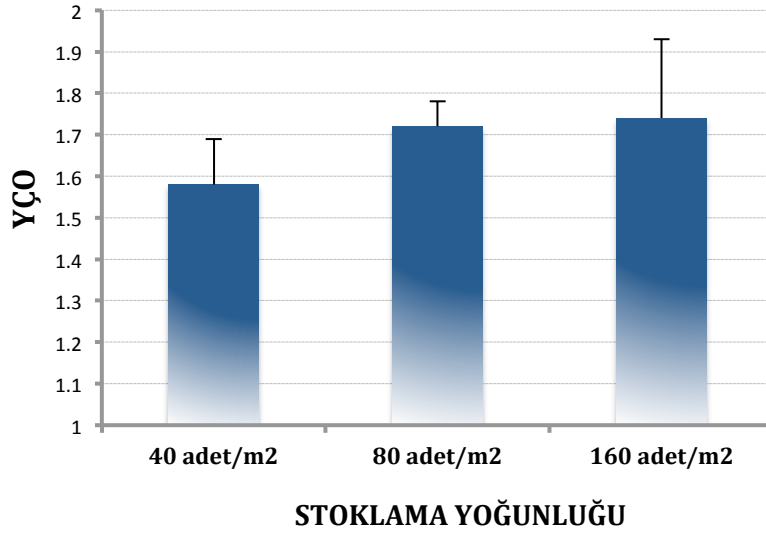
Üretim siğ sularda yapıldığından, her 1 m³ su hacmine düşen üretim miktarları hesaplandığında ise; 40, 80 ve 160 adet/m² stok yoğunluklarında elde edilen ürün miktarları 1.65, 2.69 ve 4.74 kg/m³ olarak hesaplanmıştır (P<0.05, Şekil 4.32). Üretim sonunda hasat edilen karideslerin görsel olarak boyutları Şekil 4.33'de verilmiştir.



Şekil 4.32. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerden (*Penaeus vannamei*) deneme sonunda her m³ su hacminde üretilen ortalama ürün miktarı (kg/m³). Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar birbirlerinden istatistik olarak farklıdır (P < 0.05).



Şekil 4.33. Hasat esnasında kepçede ve ele alınan karideslerin görüntüleri.



Şekil 4.34 Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonu YÇO değerleri. Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Tek-yönlü ANOVA sonuçları gruplar arasında fark olmadığını göstermiştir ($P < 0.05$).

Deneme süresince günlük olarak tutulan kayıtlardan hesaplanan yem çevrim oranları (YÇO) bu değerlerin 1.58 ile 1.74 arasında değiştiğini göstermiş, ancak gruplar arasında bu parametre açısından istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır ($P < 0.05$, Şekil 4.34, Çizelge 4.32). Deneme sonunda hasat edilen karideslerin kepçedeki görüntüsü Şekil 4.35'te görülmektedir.

Çizelge 4.32. Katlı sistemde üç farklı stoklama yoğunluğunda dört ay süreyle yetiştirilen karideslerin (*Penaeus vannamei*) deneme sonu performans değerleri.

DENEME GRUPLARI			
	40 adet/m ²	80 adet/m ²	160 adet/m ²
Karides Başlangıç Ağırlığı (g)	1.06±0.12	1.06±0.12	1.06±0.12
Deneme Sonu Ortalama Ağırlık (g)	22.12±1.58 ^a	18.31±1.13 ^b	19.93±1.06 ^b
Büyüme Oranı (g/hafta)	1.32	1.08	1.18
Yaşama Oranı (%)	77.50±3.54 ^a	76.50±4.95 ^a	62.00±2.83 ^b
SBO (%/gün)	2.55±0.03 ^a	2.39±0.03 ^b	2.43±0.02 ^{ab}
Biyomas (kg/tank)	8.24±0.38 ^c	13.45±0.87 ^b	23.72±1.03 ^a
Ürün (kg/m ²)	0.69±0.03 ^c	1.12±0.07 ^b	1.98±0.09 ^a
Ürün (kg/m ³)	1.65±0.08 ^c	2.69±0.17 ^b	4.74±0.21 ^a
YÇO	1.56±0.11 ^a	1.72±0.06 ^a	1.74±0.19 ^a

Her değer bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Her satırda yer alan ortalamalardan farklı harflerle işaretlenenler birbirlerinden istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.05$).



Şekil 4.35. Katlı sistemde yetiştirilen karideslerin hasat edildikten hemen sonra çekilen görüntüsü.

4.4.3. Biyokimyasal Parametreler

Denemenin 2. ve 4. aylarında her gruptan alınan hemolenf örneklerinde gerçekleştirilen bazı biyokimyasal parametrelerin bulguları Çizelge 4.33'de özetlenmiştir. Serum toplam protein değerlerine bakıldığında grup içerisinde en yüksek değer 40 adet/m² stok grubunda, en düşük değer ise 160 adet/m² grubunda belirlenmiştir olmakla birlikte gruplar arasında istatistik farklılıklar tespit edilememiştir ($P>0.05$). Bu parametre 4. ayda yürütülen analizlerde farklılıklar göstermiş ve bu dönemde en yüksek total protein seviyesi ise en yüksek stoklama grubunda görülürken en düşük değer 80 adet/m² grubunda belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 4.36 ve 4.37).

Denemenin 2. ayında gruplar arasında serum trigliserit değerleri 40 adet/m² grubunda en yüksek, 80 adet/m² grubunda ise en düşük çıkmıştır ($P<0.05$). Diğer yandan, 4. ay analizlerinde en yüksek trigliserit değeri 160 adet/m² grubunda, en düşük değer ise 80 adet/m² grubunda belirlenmiştir ($P<0.05$, Şekil 4.36 ve 4.37).

Laktat seviyeleri açısından gruplar kıyaslandığında; denemenin 2. ayında gruplar arasında bir farklılık belirlenmemiş, ancak 4. ayda en yüksek laktat seviyesi 80 adet/m² grubunda gözlenmiş, ($P<0.05$) diğer iki grubun laktat seviyeleri ise benzer çıkmıştır ($P>0.05$, Çizelge 4.33, Şekil 4.36 ve 4.37).

Denemenin 2. ayında alınan örneklerde yapılan analizlerde ALP değerleri açısından gruplar arasında istatistik farklılıklar bulunmuş ($P<0.05$), en yüksek ALP 40 adet/m² grubunda, en düşük değer ise

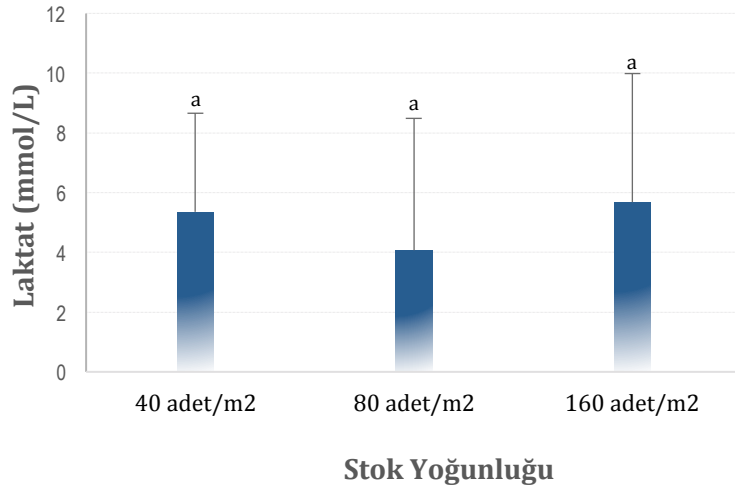
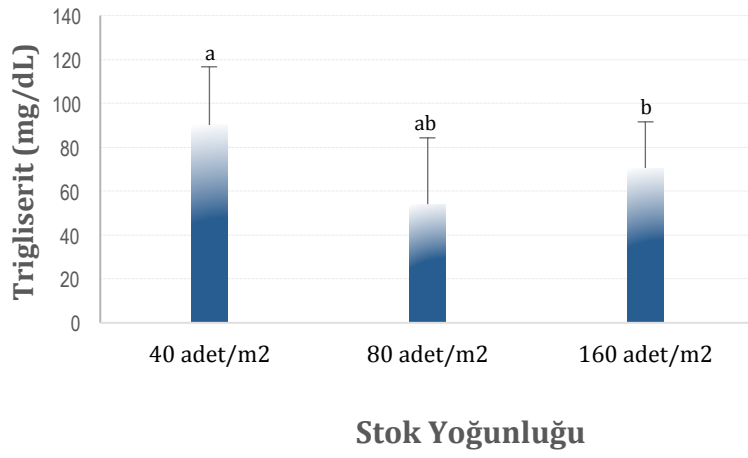
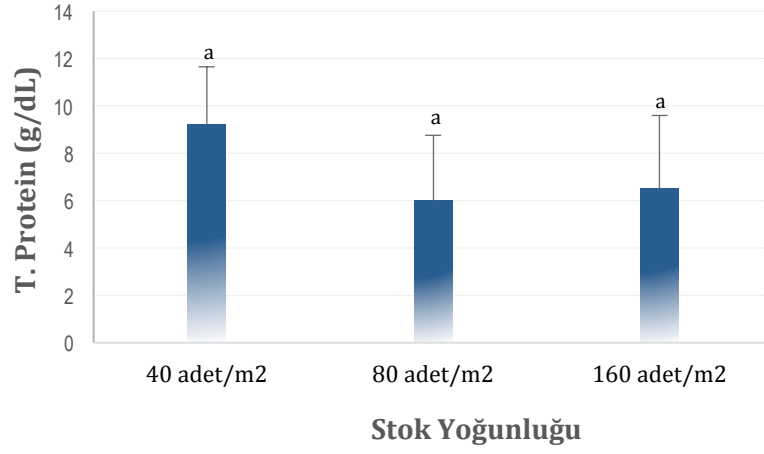
80 adet/m² grubunda belirlenmiştir (Şekil 4.38). Denemenin 4. ayında ise, gruplar arasında bu değer açısından istatistiki bir farklılık bulunmamıştır (P>0.05, Şekil 4.39).

Gruplar arasında ASP değerleri gerek 2. ay örneklerinde gerekse 4. ay örneklerinde benzer bulunmuştur (P>0.05, Şekil 4.38 ve 4.39). Denemenin 2. ay örneklemeğinde gruplar arasında en yüksek ALT değeri 40 adet/m² grubunda, en düşük ALT değeri ise 80 adet/m² grubunda ölçülmüştür (P<0.05, Şekil 4.38 ve 4.39). Buna karşın 4. ay örneklemeğinde, gruplar arasında ALT açısından herhangi bir istatistiksel fark çıkmamıştır (P>0.05, Çizelge 4.33).

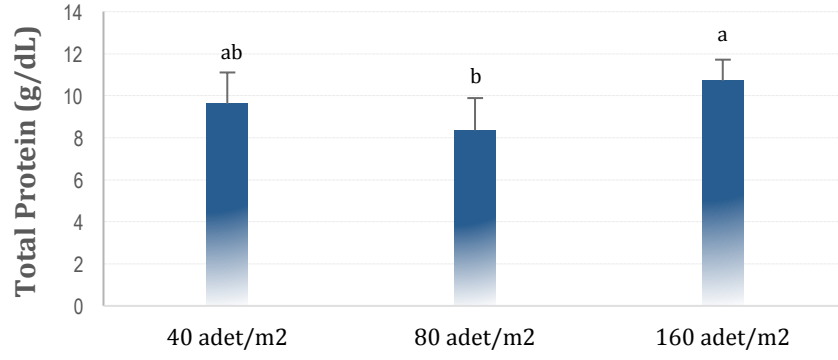
Çizelge 4.33. Üç farklı stok yoğunluğunda katlı tank sisteminde yetiştirilen karideslerde 2. ve 4. aylarda örneklenen karideslerde (*Penaeus vannamei*) bazı biyokimyasal parametrelerinin seviyeleri.

BİYOKİMYASAL PARAMETRELER						
Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	2. Ay Örnekleme					
	T. Protein (g/dL)	Trigliserit (mg/dL)	Laktat (mmol/L)	ALP (U/L)	ASP (U/L)	ALT (U/L)
40 adet	9.24±2.41 ^a	90.18±26.47 ^a	5.35±3.30 ^a	495.38±153.21 ^a	156.52±61.02 ^a	122.52±25.41 ^a
80 adet	6.00±2.75 ^a	54.11±30.35 ^b	4.07±4.42 ^a	220.79±185.05 ^b	108.89±59.25 ^a	78.43±30.77 ^b
160 adet	6.50±3.09 ^a	70.56±20.98 ^{ab}	5.68±4.30 ^a	309.17±191.52 ^{ab}	109.60±60.21 ^a	93.42±45.40 ^{ab}
4. Ay Örnekleme						
	T. Protein (g/dL)	Trigliserit (mg/dL)	Laktat (mmol/L)	ALP (U/L)	ASP (U/L)	ALT (U/L)
40 adet	9.61±1.49 ^{ab}	87.08±12.34 ^{ab}	5.79±2.74 ^b	176.48±58.67 ^a	91.43±10.78 ^a	81.01±11.67 ^a
80 adet	8.34±1.53 ^b	69.89±19.64 ^b	10.68±4.53 ^a	177.53±62.18 ^a	149.00±58.68 ^a	102.58±24.78 ^a
160 adet	10.70±1.00 ^a	93.19±13.47 ^a	4.89±1.44 ^b	202.84±85.54 ^a	136.38±64.18 ^a	96.53±22.64 ^a

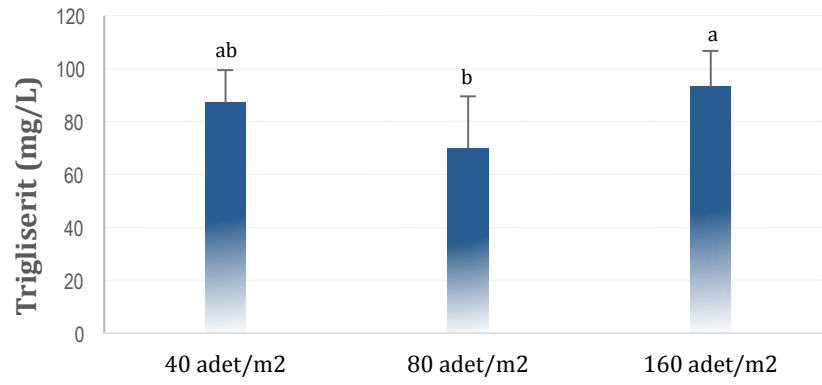
Her değer bir ortalama (n = 6) ± standart sapmayı ifade etmektedir. HP: Hepatopankreas, SOL: Solungaç, KAS: Kas dokusu. ALP: Alkalın fosfataz, ASP: Aspartat Aminotransferaz, ALT: Alanin Aminotransferaz. Her örnekleme periyodunda, sütunlarda farklı harflerle işaretlenen ortalamalar arasında istatistiki farklılık vardır (P<0.05).



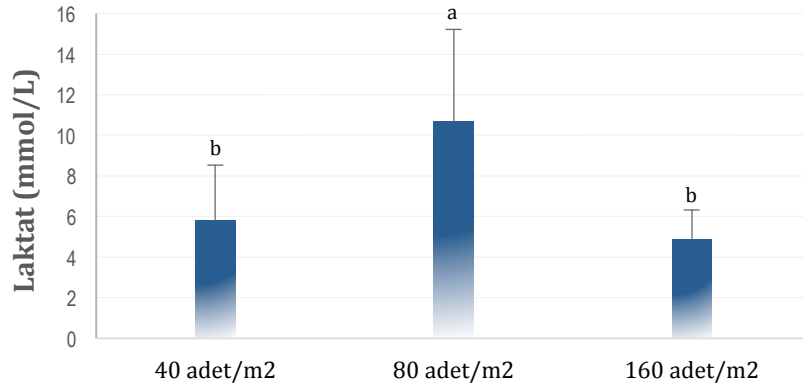
Şekil 4.36. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 2. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen protein (g/dL), trigliserit (mg/dL) ve laktat (mmol/L) seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır (n = 6 karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır (P < 0.05).



Stok Yoğunluğu

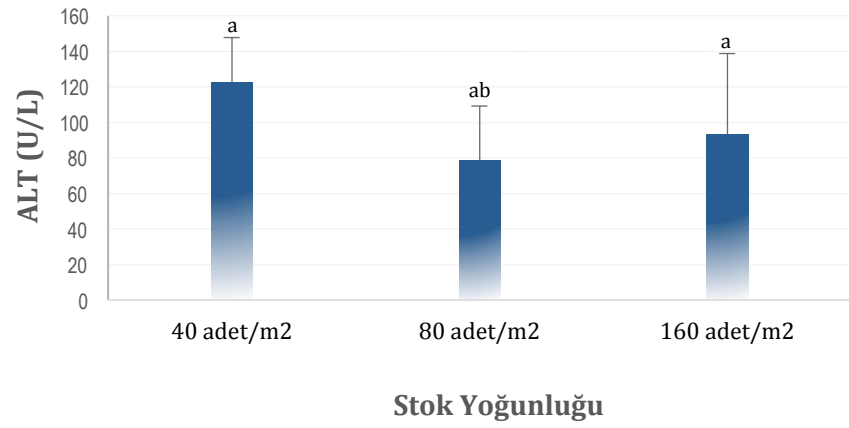
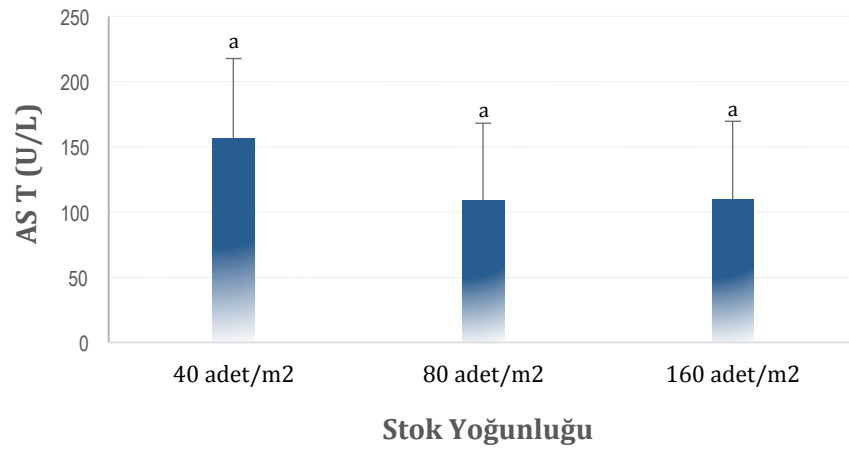
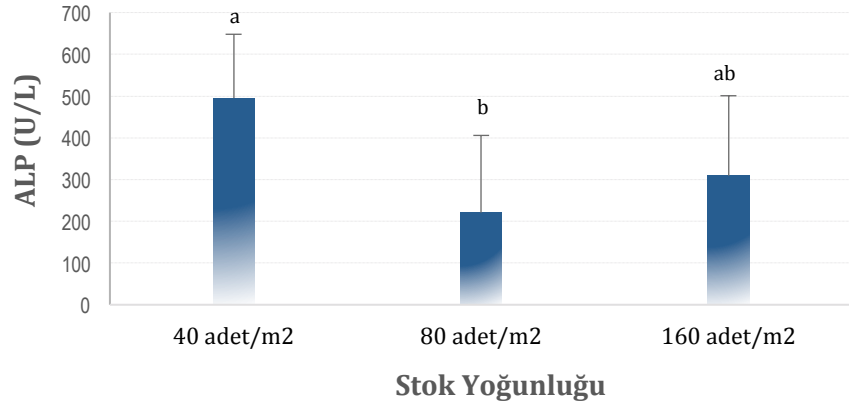


Stok Yoğunluğu

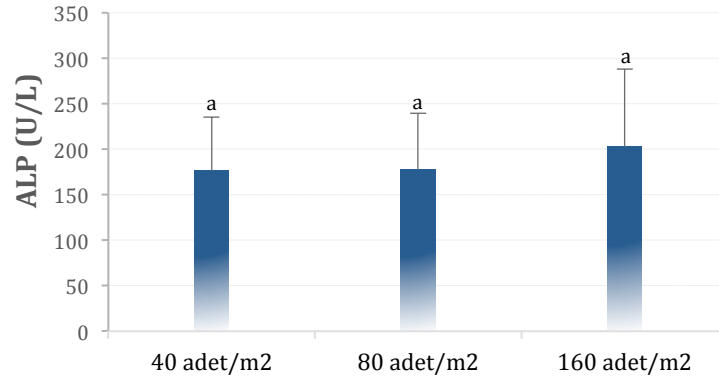


Stok Yoğunluğu

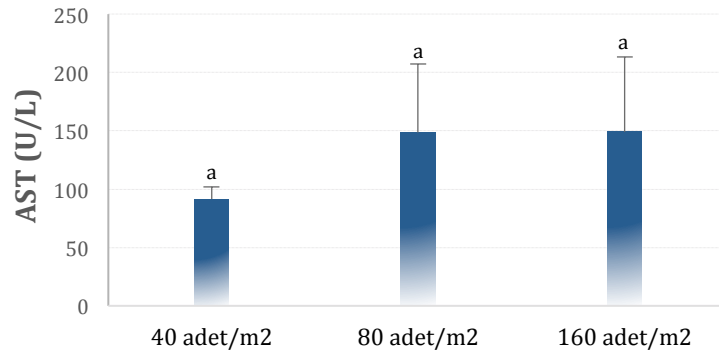
Şekil 4.37. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 4. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen protein (g/dL), trigliserit (mg/dL) ve laktat (mmol/L) seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır (n = 6 karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır (P < 0.05).



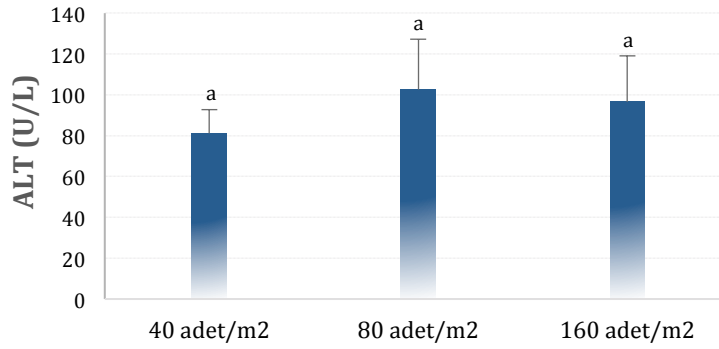
Şekil 4.38. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 2. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen ALP: Alkalin fosfataz, AST (Aspartat Aminotransferaz) ve ALT: Alanin Aminotransferaz seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır (n = 6 karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır (P < 0.05).



Stok Yoğunluğu



Stok Yoğunluğu

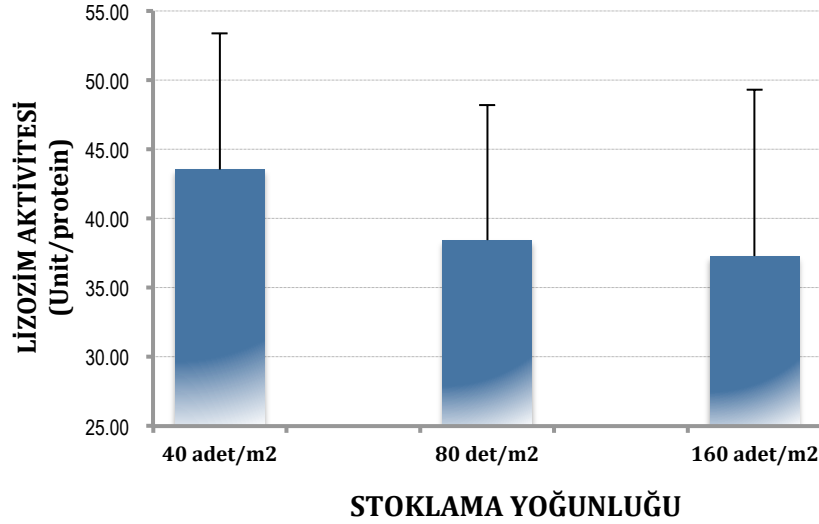


Stok Yoğunluğu

Şekil 4.39. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 4. ayda alınan hemolenf örneklerinde belirlenen ALP: Alkalın fosfataz, AST (Aspartat Aminotransferaz) ve ALT: Alanin Aminotransferaz seviyeleri. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır (n = 6 karides/grup). Farklı harflerle işaretlenen gruplar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır (P < 0.05).

4.4.4. Bazı İmmünolojik Parametreler

Büyütme denemesinin 2. ayında üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerden tesadüfen alınan örneklerde çekilen hemolenfte yapılan bazı immünolojik analizlerin sonuçları Çizelge 4.34'de özetlenmiştir. Lizozim aktivitesi açısından gruplarda düşük stoklama yoğunluğundan yüksek stoklama yoğunluğuna doğru azalan bir gidişat belirlenmiş olmasına rağmen, istatistik analizler herhangi bir farklılık göstermemiştir ($P>0.05$, Şekil 4.40).



Şekil 4.40. Üç farklı stok yoğunluğunda katlı RAS sisteminde büyütülen karideslerde 2. ayda alınan örneklerde belirlenen plazma lizozim aktivitesi. Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 8$ karides) ($P>0.05$).

Hematosit sayımında en düşük stok yoğunluğundaki karidesler (40 adet/m²) en yüksek toplam hematosit sayısı göstermiş ancak yine de gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Üç farklı stok yoğunluğunda büyütülen karideslerde (*Penaeus vannamei*) 2. ayda ömекlenen karideslerin hemolenferlerinde belirlenen lizozim aktivitesi (Unit/Protein), toplam hematosit sayısı ($\times 10^6$ hücre/mL), fagositik aktivite (%) ve fagositik indeks verileri.

BAZI İMMÜNOLOJİK PARAMETRELER					
Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	Karides Ağırlık (g)	Lizozim Aktivitesi (Unit/Protein)	Hematosit Sayısı ($\times 10^6$ hücre/mL)	Fagositik Aktivite (%)	Fagositik İndeks
40 adet	7.97 \pm 1.23	43.55 \pm 9.83	4.40 \pm 3.11	25.20 \pm 1.64	0.14 \pm 0.01 ^a
80 adet	7.03 \pm 0.55	38.45 \pm 9.75	1.85 \pm 1.25	25.00 \pm 1.67	0.14 \pm 0.01 ^a
160 adet	8.22 \pm 1.34	37.29 \pm 10.48	2.96 \pm 1.96	24.40 \pm 1.34	0.09 \pm 0.00 ^b

Her değer bir ortalama \pm standart sapmadır ($n = 6$ karides/grup). Her sütunda farklı harflerle işaretlenen gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$).

Fagositik aktivite gruplar arasında farklılık göstermemiş ($P>0.05$), ancak fagositik indeks açısından 40 ve 80 adet/m² grupları 160 adet/m² grubuna kıyasla istatistik olarak daha yüksek fagositik indeks göstermiştir ($P<0.05$, Çizelge 4.34). Bu da düşük stoklama koşullarında fagositik aktivite gösteren hücrelerin daha fazla sayıda lateks boncuk tükettiğini göstermiştir.

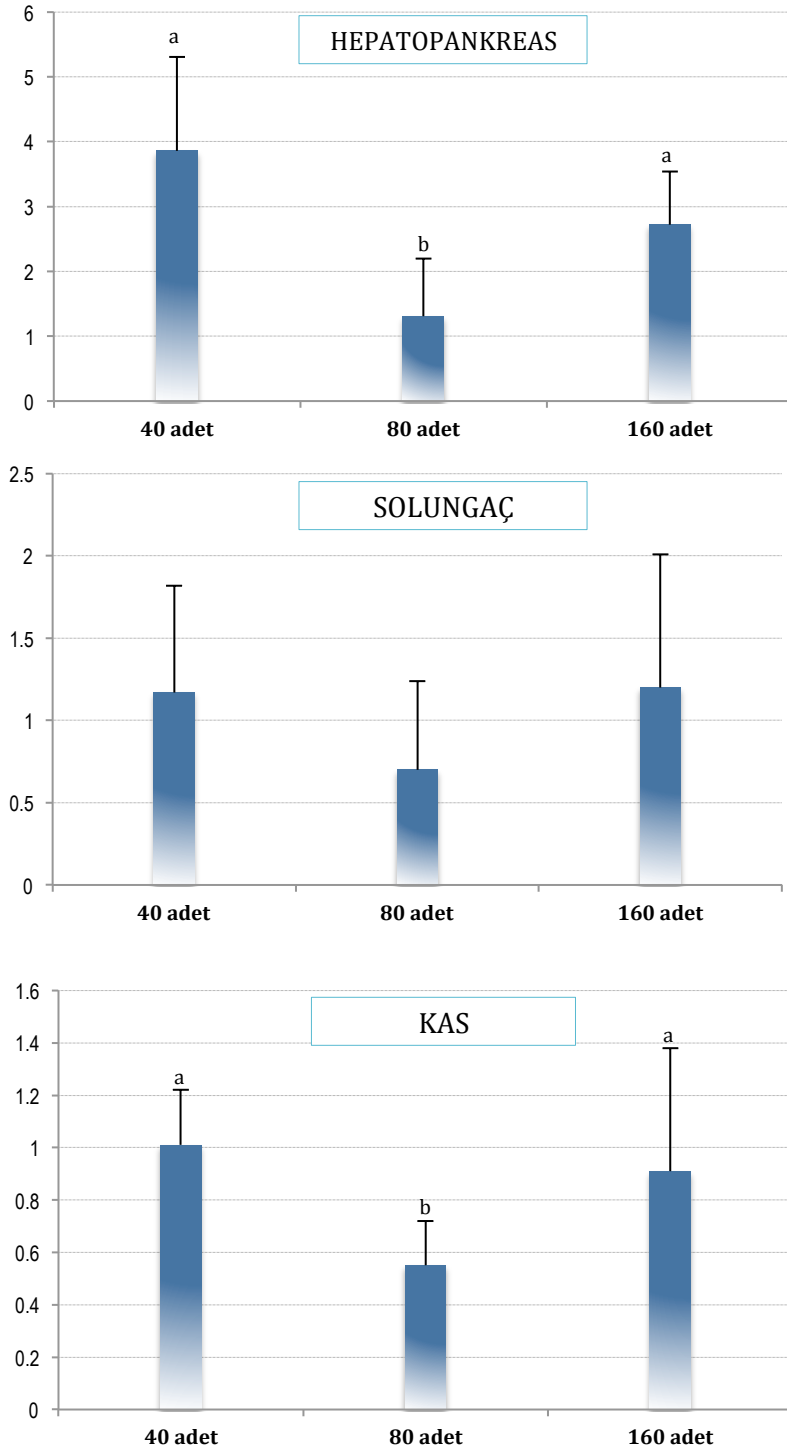
4.4.5. Isı Şok Proteinlerinin Gen Ekspresyon Analizleri

Denemenin 2. ve 4. aylarında örneklenen karideslerde gerçekleştirilen HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon analiz sonuçları Çizelge 4.35'te özetlenmiştir. Bu dönemlerde karidesler irileştikleri için rahat hemolenf alınabilmiş ancak HSP analizleri toplam vücut yerine üç farklı dokuda gerçekleştirilmiştir. Denemenin 2. ayında dokularda yürütülen analizlerde hepatopankreasta en yüksek HSP70 seviyesi 40 ve 80 adet/m² stok gruplarında, en düşük seviye ise 80 adet/m² grubunda belirlenmiştir (Şekil 4.41). Denemenin sonunda (4. ay örneklemeinde) ise HSP70 seviyeleri en düşük stoklama yoğunluğundan en yüksek stoklama yoğunluğuna doğru azalma göstermesine rağmen herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($P>0.05$, Çizelge 4.35, Şekil 4.42). Solungaç dokuda yapılan analizlerde; gerek 2. ay gerekse 4. ay sonuçlarda HSP70 gen ekspresyon analiz sonuçlarında herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Kas dokuda ise 2. ayda belirlenen HSP70 seviyesi 80 adet/m² grubunda en düşük, 40 ve 160 adet/m² gruplarında ise benzer bulunmuştur ($P<0.05$, Çizelge 4.35). Kas dokuda 4. ayda yürütülen analizlerde ise en yüksek HSP70 ekspresyon seviyesi 160 adet/m² grubunda görülmüşken ($P<0.05$), 40 ve 80 adet/m² stok gruplarında seviye benzer bulunmuştur (Şekil 4.42).

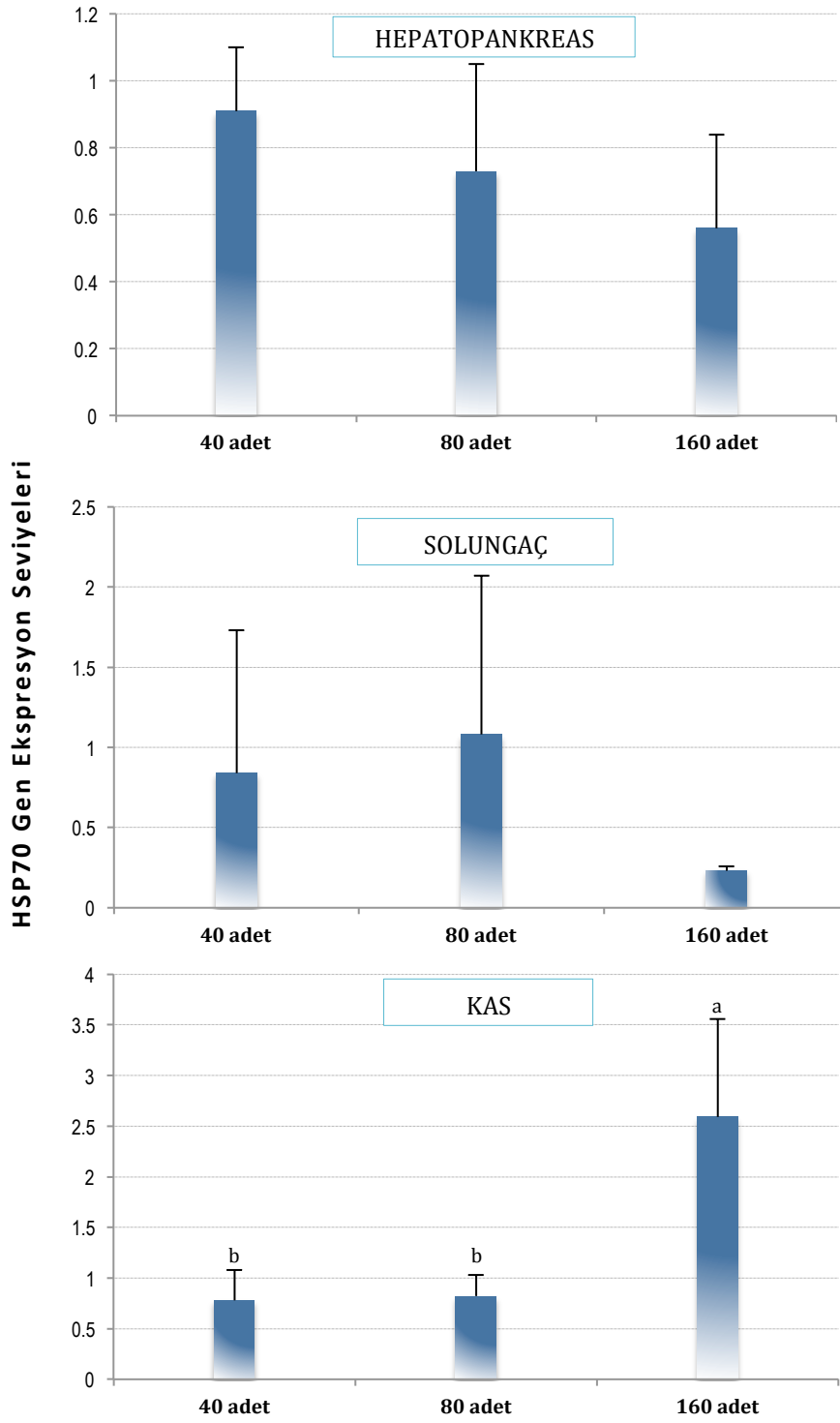
Çizelge 4.35. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 2. ve 4. aylarında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP70 gen ekspresyon seviyeleri.

Karides Organları	Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	HSP70 GEN EKSPRESYON SEVİYELERİ	
		2. AY	4. AY
Hepatopankreasta	40 adet	3.86±1.45 ^a	0.91±0.19 ^a
	80 adet	1.31±0.89 ^b	0.73±0.32 ^a
	160 adet	2.72±0.82 ^a	0.56±0.28 ^a
Solungaçta	40 adet	1.17±0.65 ^a	0.84±0.89 ^a
	80 adet	0.70±0.54 ^a	1.08±0.99 ^a
	160 adet	1.20±0.81 ^a	0.23±0.03 ^a
Kasta	40 adet	1.01±0.21 ^a	0.78±0.30 ^b
	80 adet	0.55±0.17 ^b	0.82±0.21 ^b
	160 adet	0.91±0.47 ^a	2.59±0.97 ^a

Her değer bir ortalama (n = 6) standart sapmayı ifade etmektedir. Her organ için 2. veya 4. aylar için ayrı ayrı olmak üzere, farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır ($P<0.05$).



Şekil 4.41. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 2. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP70 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır.



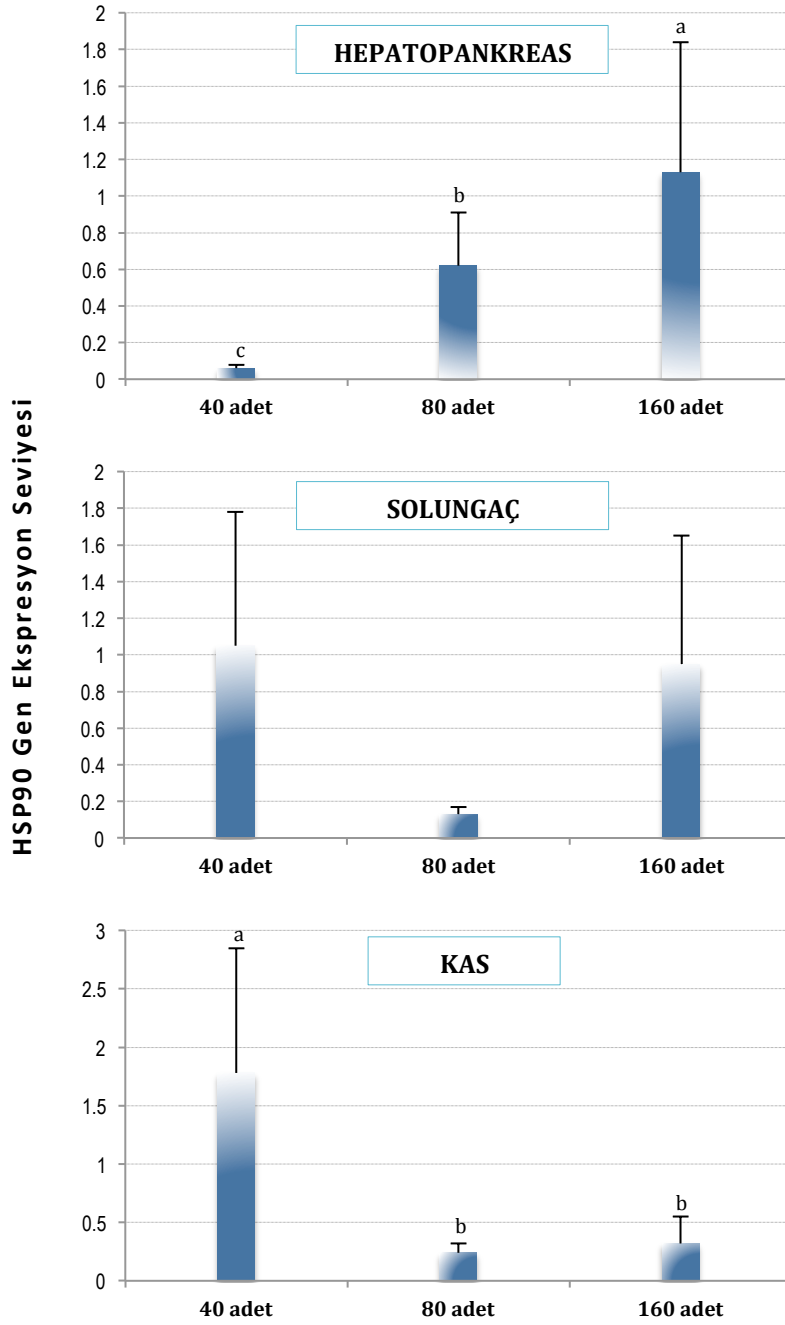
Şekil 4.42. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 4. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP70 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır.

Denemenin 2. ve 4. aylarında üç farklı dokuda olmak üzere alınan örneklerde yürütülen HSP90 gen ekspresyon analizlerinde elde edilen bulgular Çizelge 4.36'da özetlenmiştir. Hepatopankreas dokusunda yapılan analizlerde; 2. ayda en yüksek HSP90 ekspresyon seviyesi 160 adet/m² stoklama grubunda görülmüşken (P<0.05), 40 ve 80 adet/m² gruplarında HSP90 seviyesi çok daha düşük oranlarda kalmıştır (Çizelge 4.36, Şekil 4.43). Denemenin sonunda alınan (4. ay) alınan örneklerde ise herhangi bir farklılık belirlenememiştir (P>0.05). Solungaç dokuda yapılan analizlerde; 40 ve 160 adet/m² stok grupları benzer (P>0.05) ve fakat 80 adet/m² grubuna göre daha yüksek HSP90 seviyeleri göstermiştir (P<0.05, Şekil 4.44). Deneme sonunda alınan örneklerde ise HSP90 seviyesi 40 ve 80 adet/m² gruplarında benzer ve fakat 160 adet/m² grubundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.36, Şekil 4.44, P<0.05). Kas dokuda 2. ayda yapılan analizlerde en yüksek HSP90 seviyesi 40 adet/m² grubunda bulunmuşken, bu seviye 80 ve 160 adet/m² gruplarında çok daha düşük seviyelerde kalmıştır (P<0.05). Denemenin 4. ayında ise tam tersine en düşük HSP90 ekspresyon seviyesi 40 adet/m² grubunda, en yüksek ise 160 adet/m² grubunda görülmüştür (P<0.05). Bu noktada 80 ve 160 adet/m² stok gruplarının HSP90 gen ekspresyon seviyeleri istatistiksel olarak benzer bulunmuştur (P>0.05).

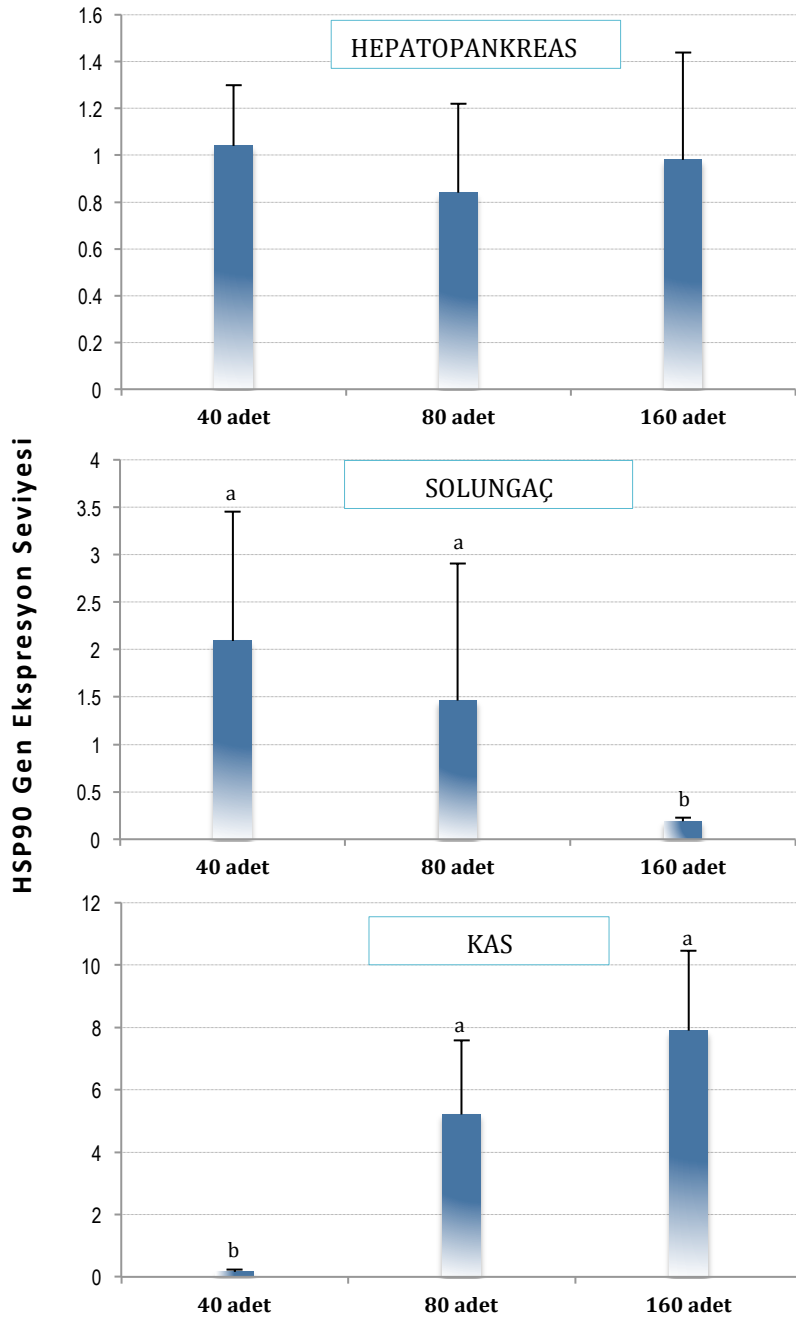
Çizelge 4.36. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 2. ve 4. aylarında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri.

Karides Organları	Stoklama Yoğunluğu (adet/m ²)	HSP90 GEN EKSPRESYON SEVİYELERİ	
		2. AY	4. AY
Hepatopankreasta	40 adet	0.06±0.02 ^b	1.04±0.26 ^a
	80 adet	0.62±0.29 ^b	0.84±0.38 ^a
	160 adet	1.13±0.71 ^a	0.98±0.46 ^a
Solungaçta	40 adet	1.05±0.73 ^a	2.09±1.36 ^a
	80 adet	0.13±0.04 ^b	1.46±1.45 ^a
	160 adet	0.95±0.70 ^a	0.19±0.04 ^b
Kasta	40 adet	1.78±1.07 ^a	0.16±0.07 ^b
	80 adet	0.24±0.08 ^b	5.21±2.38 ^a
	160 adet	0.32±0.13 ^b	7.90±2.57 ^a

Her değer bir ortalama (n = 6) standart sapmayı ifade etmektedir. Her organ için 2. veya 4. aylar için ayrı ayrı olmak üzere, farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistiki olarak birbirlerinden farklıdır (P<0.05).



Şekil 4.43. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 2. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır.



Şekil 4.44. Katlı sistemde üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*Penaeus vannamei*) denemenin 4. ayında örneklenen bireylerin farklı dokularında belirlenen HSP90 gen ekspresyon seviyeleri. Her sütun bir ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir (n = 3). Farklı harflerle işaretlenen ortalamalar istatistik olarak birbirlerinden farklıdır.

4.4.6. Solar Elektrik Kullanımı Ekonomisi

Büyütme denemesinde RAS sisteminde 4 ay süresince kullanılan su pompası (0.75 kw/saat) ve hava motoru (blower, 1.1 kw/saat) toplamda günde 44.40 kw elektrik tüketmişlerdir. Deneme yaz döneminde yürütüldüğü için ısı pompasının kullanılmasına gerek duyulmamış olup, solar elektrik kullanımının ekonomisi sadece su pompası ve blower dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir. Solar sistemimizin Haziran ile Eylül 2018 döneminde ürettiği günlük elektrik miktarı ortalama 47.98 kw, RAS sisteminin tükettiği elektrik miktarı ise 44.40 kw olarak hesaplanmış olup, bu durumda mahsuplaşma yoluna gidildiğinde denemede kullandığımız sistemin ürettiği elektriğin gerekli elektriğin tamamından fazlasını ürettiği anlaşılmıştır (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.37. Katlı sistemde 4 ay süreyle yürütülen denemede solar enerji sisteminin ürettiği ve RAS ile havalandırma sistemlerinin günlük enerji üretim/tüketim değerleri (kw).

AYLAR	GÜNLÜK ÜRETİM (kw)	GÜNLÜK TÜKETİM (kw)	FARK (kw)
Haziran	46.2	44.40	+1.8
Temmuz	47.3	44.40	+2.9
Ağustos	48.9	44.40	+4.5
Eylül	49.5	44.40	+5.1
Ortalama	47.98±1.50	44.40±0.00	+3.58±1.50

Toplam tüketim ve üretim hesaplaması yapıldığında da solar sistemimizin Haziran ile Eylül 2018 döneminde ürettiği toplam elektrik miktarının 5850 kw olduğu, RAS sisteminin tükettiği elektrik miktarının ise 5328 kw olduğu, dolayısıyla mahsuplaşma yoluna gidildiğinde denemede kullandığımız sistemin ürettiği elektriğin gerekli elektriğin tamamından fazlasını (522 kw daha fazla) ürettiği anlaşılmıştır (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.38. Katlı sistemde 4 ay süreyle yürütülen denemede solar enerji sisteminin ürettiği ve RAS ile havalandırma sistemlerinin toplam enerji üretim/tüketim değerleri (kw).

AYLAR	TOPLAM ÜRETİM (kw/4 ay)	TOPLAM TÜKETİM (kw/4 ay)	FARK (kw)
Haziran	1380	1332	+48
Temmuz	1470	1332	+138
Ağustos	1520	1332	+188
Eylül	1480	1332	+148
Ortalama	5850 kw	5328	522 kw

5. TARTIŞMA

Bu proje ülkemizde başarılı bir karides yetiştiricilik sektörü geliştirilebilmesi amacıyla karides beslemede kullanılacak ekonomik ve su stabilitesi (hidrostabilite) yüksek yem formülasyonları oluşturmak, probiyotik ve fitojenlerden yemde/suda yararlanmak suretiyle daha etkin ve yüksek büyüme performansları elde etmek ve birim alandan daha fazla ürün alabilmek amacıyla, katlı sistemlerden oluşan sürdürülebilir bir entansif prototip RAS sistemi geliştirmektir. Stres kaynağı olarak (stresör) stoklama yoğunluğunun büyüme, yem tüketimi ve bazı fizyolojik ve immünolojik hemolenf parametreleriyle birlikte ısı şok proteinlerinin gen ekspresyonları üzerine etkileri de projede çalışılması hedeflenmiş olan alt amaçlardandır. Daha spesifik olarak detaylandırıldığında, bu proje ayrıca; tür çeşitliliğini arttırmaya, yeni bir ürünün pazara süreklilik arz edecek şekilde sunulabilmesini sağlamaya, yerli hammaddeler ile maliyeti düşük, hidrostabilitesi yüksek ve türe özgü yem üretilebilmesine, birim alandan maksimum ürün elde edilebilmesine, kronik stres yaratmadan gerek ön-büyütme gerekse büyütme aşamalarında tanklara stoklanabilecek maksimum karides stoklama yoğunluklarının belirlenebilmesine, resirküle sistem sayesinde çok düşük su kullanımı ve deşarjı ile daha çevreci bir üretim sistemi geliştirilmesine, fotovoltaik solar panellerden üretilen elektriğin sera/katlı tank sistemine entegre edilmesi ile daha ekonomik ve sürdürülebilir bir prototip üretim modeli geliştirmeye ve genel olarak da su ürünleri yetiştiriciliğinde yeni bir sektör oluşturmaya yönelik çalışmalardan oluşmaktadır.

5.1. Ülkemizde Karides Yetiştiricilik Sektörü Hangi Teknikle ve Hangi Karides Türü İle Daha Hızlı ve Başarılı Bir Şekilde Geliştirilebilir?

Bilindiği gibi ülkemizde yetiştiricilik yapan yüzlerce işletmenin ürettiği ürünler sadece alabalık, çipura ve levrek ile sınırlı kalmıştır. Bu ürünlerin pazarlanmasındaki kıyasıya rekabet koşulları işletmelerin karlılık oranlarını sürekli aşağılara çekerek pek çok firmanın ayakta kalmasına imkân bırakmamıştır. Oysa bu ürünlerin dışında, ülkemizde üretimi yapılarak ulusal veya Avrupa piyasasına sunulabilecek pek çok farklı su ürünü mevcuttur ve bunlar içerisinde karides en üst sıralarda yer alabilecek alternatiflerin başında yer almaktadır. Ancak, tropik kökenli olmaları itibarıyla bu canlıların kış ayları süresince soğuklarda üretimlerine devam edilebilmesi veya kışlatılabilmeleri için sera altında ekonomik ısıtma sistemleri (solar enerji, rüzgar enerjisi vb.), yeraltı ılık su veya jeotermal enerji kaynakları kullanılarak en ekonomik şekilde üretilmelerini büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle ülkemizde ticari ölçekte üretimlerine girilmeden önce karideslerin bu tip sistemlerde yüksek stoklama yoğunluklarında ve resirküle sistemler kullanılarak büyütülmeleri, bu esnada beslenmelerinde kullanılacak olan yapay pelet yemlerin yüksek stabilitede ve düşük maliyetli yerli hammaddelerle üretilmiş olması büyük avantajlar sunacaktır. Su ürünleri sektörü için yeni türlerde başarı; iyi bir bilgi ve tecrübe birikimi, düşük maliyetli ve sürdürülebilir bir üretim modeli ve iyi bir pazar ve pazarlama stratejisi ile mümkün olabilir. Ülkemizde yeni türlerin ekonomik, çevre-dostu ve

sürdürülebilir bir üretim stratejisi ile yıl boyunca üretilmeleri için bir üretim modeli geliştirilmesi büyük önem arz eder.

Ülkemizin Akdeniz kıyıları; yarı-tropik iklim koşulları, uzun kıyasal bölgeleri, temiz suları ve Avrupa piyasasına yakınlığı ile karides yetiştiriciliğine uygun koşullara sahip bir coğrafya üzerinde yer almaktadır. Tropik ülkelerde mevsim sınırlaması olmadığı için, üç aşamada (kuluçkahane, ön-büyütme ve büyütme) gerçekleştirilen karides yetiştiriciliği yılın herhangi bir döneminde yapılabilmektedir (Kumlu vd., 2010c). Oysa ülkemizin Akdeniz kıyılarında sezon sınırlaması vardır ve büyütme aşamasının ekonomik olabilmesi için karides yavrularının Mayıs ayında havuzlara stoklanmaları ve Ekim ayı sonunda da hasat edilmeleri (5-6 aylık bir büyütme periyodundan sonra) gerekmektedir. Bu esnada 10-15 mg ağırlıkta (Post-larva 10-15) havuzlara stoklanan karidesler ortalama 20-25 g ağırlığa ulaştırılmalıdır. Sezon sınırlamasının temel sebebi karideslerin biyolojik gereksinimleriyle ilgilidir; karidesler en hızlı büyümeyi 28-30°C su sıcaklığında gösterirler, ancak su sıcaklığı 20°C'nin altına indiğinde büyümeleri yavaşlar ve kış aylarında su sıcaklığının 11-12°C'nin altına inmesi halinde ise ölüm riski ile karşı karşıya kalırlar. Sezon sınırlaması ve yılda ancak tek ürün elde edilebilmesine yönelik bir yaklaşım ülkemiz gibi yarı-tropik ülkelerde karides çiftliklerinin kurulmasına yönelik yatırım yapmanın cazibesini azaltmakta ve piyasaya yılboyu ürün sunulabilmesine engel olmaktadır. Oysa bir üreticinin piyasa koşullarında rekabetçi olabilmesi hem ekonomik bir üretim yapabilmesi hem de piyasaya düzenli olarak ürün sürebilmesine bağlıdır. Bu sorunların önemli bir kısmı resirküle (RAS: kapalı devre) sistemlerle ortadan kaldırılabilmekte, büyüme yıl boyunca sürekli hale getirilebilmekte ve ayrıca çevre kirliliği önemli oranda azaltılabilmektedir.

Sularımızda bulunan ekonomik karides türleri içerisinde yetiştiriciliğe en uygun olduğu kabul edilen ve bugüne kadar üzerinde en fazla çalışma yürüttüğümüz türlerin başında yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) gelmektedir. Özellikle İskenderun Körfezi'nde çok yaygın olarak avlanan bu karides türümüz, diğer pek çoğu gibi (Örnek; *P. japonicus*, *Penaeus aztecus*, *Metapenaeus monoceros* vb.) aslında egzotik (Indo-pasifik) bir türdür. Halen, gerek Kızıldeniz gerekse Atlas Okyanusu'ndan ve bazen de gemilerin balast sularıyla denizlerimize yabancı türlerin girişi devam etmektedir. Bugüne kadar yaptığımız tüm bilimsel araştırmalarda ve bazı ticari girişimlerde ve son zamanlarda TAGEM destekli projemizde yürüttüğümüz çalışmalarımızda sularımızdan yakalanan türlerde yaptığımız yetiştiricilik çalışmalarında; büyümenin yavaş olduğu ve yem çevrim oranının (YÇO) yüksek çıktığı (>3) görülmektedir. Yeşil kaplan karidesinde bugüne kadar pazarlama boyutlarına kadar test edilen en yüksek stoklama oranı genellikle 30-50 adet/m²'yi geçmemektedir (Al-Ameeri ve Cruz, 2006; Kumlu vd., 2003; Türkmen vd., 2007a,b; Kumlu vd., 2010c). Bu özelliklere sahip karides türleriyle yılda tek ürün elde edilmesi üzerine kurulu bir üretim modeliyle ülkemizde bir karides yetiştiricilik sektörünün geliştirilmesi pek olası gözükmemektedir.

Karides yetiştiriciliği Dünya'da ağırlıklı olarak tropik ülkelerde (Tayland, Vietnam, Endonezya, Hindistan vb.) ve açık sistemler olarak tanımlanan akışkanlığı olan (flow-through) büyük toprak havuzlarda ve daha çok yarı-entansif veya entansif stoklama koşullarında yürütülmektedir. Ancak, daha ılıman (ABD, Çin, Japonya, İspanya, İtalya ve Yunanistan) ve hatta soğuk ülkelerde (Almanya, Hollanda, Belçika vb.)

üretim çok daha küçük sera/kapalı binalar (indoor) içerisinde resirküle (RAS: kapalı-devre) sistemlerde yapılmaktadır. Bu tip yetiştiricilik sistemlerinde başarıyla kullanılabilen en yaygın karides türü Pasifik beyaz karidesi olarak bilinen *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*'dir. Son 15-20 seneden beri sürekli olarak ıslah edildiği için yüksek stoklama yoğunluklarında bile hızlı büyüebilmesi, pazarlama boyutlarına 3.5 ay gibi çok kısa bir sürede ulaşabilmesi, kanibalistik davranışlarının son derece düşük olması, hastalıklara dirençli (SPR/SPF) varyetelerinin mevcudiyeti ve düşük proteinli yemleri iyi değerlendirebilmesi gibi özellikleri bu karides türünün doğal yaşam alanlarından tüm Dünya'ya (ABD'den Brezilya'ya, Çin'den Endonezya'ya, Hindistan'dan Tayland'a kadar 60'tan fazla ülke) yayılmasına neden olmuştur. Şu anda karides yetiştiricilik sektörünün %76'sından fazlası ıslah edilmiş olan Pasifik beyaz karidesine endekslenmiştir (FAO, 2016).

Sularımızda da bulunan türlerde ıslah çalışmalarının yapılmasına büyük bir gereksinim vardır. Ancak, ıslah araştırmaları uzun süreli, yüksek maliyetli çalışmalar olup iyi bir organizasyon ve altyapı gerektirir. Ayrıca, tüm imkanlara ve çabalara rağmen çoğu zaman başarılı bir sonuç garanti değildir. Örneğin, Uzakdoğunun meşhur dev siyah kaplan karidesinde (*Penaeus monodon*) bile ABD, Avustralya ve Tayland'ta yürütülen pek çok ıslah çalışması, mükemmel imkanlar, yüksek bütçe ve son derece uzman araştırmacılara rağmen halen arzulanan başarıyla sonuçlanamamıştır (Withyachumnamkul vd., 1998; Norman-López vd., 2015). Avrupa ülkelerinde (Almanya, Hollanda, İspanya vb.) olduğu gibi bu karides türünün ülkemizde de özellikle kapalı (resirküle) sistemlerde üretiminin teşvik edilmesi, ancak bunun için ıslah edilmiş SPF/SPR (spesifik patogen-free/specific pathogen resistant) ve tek kullanımlık hibrit yavruların tercih edilmesi hem yeni bir ürün ve sektör geliştirilmesini sağlayacak hem de çevresel kaygılar minimize edilecektir. Dolayısıyla, yayılımcı özelliği olmayan, özellikle resirküle sistemlerde yoğun üretilen, ıslah edilmiş ve hastalık taşımayan/dirençli (SPF/SPR) anaçlardan elde edilecek yavrularla, tüm Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de başarılı sonuçlar alınabileceği ve bunun da ülkemizde yürüttüğümüz çeşitli çalışmalarla da kanıtlanmaya başlandığı ortadadır (Kumlu vd., 2011; Aktaş vd., 2014).

1990'lı yılların başından beri ülkemiz koşullarında yürüttüğümüz Ar-Ge çalışmalarından, karides üretiminin Akdeniz veya Ege Bölgelerimizde iki şekilde yapılabileceği gösterilmiştir. Bunlardan ilki açık ve büyük toprak/jeomebran kaplı havuzlarda akışkan sistemler (Kumlu ve Lök, 2007; Kumlu vd., 2010c; Türkmen vd., 2007a,b), diğeri ise küçük, sera altına yerleştirilmiş beton/jeomebran/polyester tanklarda ve RAS ile daha kontrollü koşullarda yapılan üretim sistemidir. Bunlardan açık ve akışkan sistemlerde üretim özellikle yerli karides türlerimizden yeşil kaplan karidesi (*P. semisulcatus*) ve Japon karidesi (*Marsupenaeus japonicus*) için daha uygundur. Bugüne kadar bu yerli türlerin tanklarda (sert zemin) yoğun stoklama koşullarında pazarlama boyutlarına kadar başarılı bir ticari üretimleri yapılamamış (Kumlu vd., 2010c) ve bu projemizde de bu sonuç tekrarlanmıştır. Kanibalistik özelliği daima sorun yaratmış olan *P. semisulcatus*'ta bu projede özellikle sığ (40-45 cm derinlik) ve tabanı sert (polyester) tanklarda üretim başarısız olmuş, sadece besleme çalışmasında (I. Deneme) yoğun bir şekilde tanklara yerleştirilmiş olan sığınak ve substratlarla yaşama oranları kabul edilebilir değerlerde tutulabilmiştir (<%70). *P. semisulcatus*'un tanklarda üretiminde sadece kanibalizm sorunu ile karşılaşılmamakta, büyüme ve yem tüketim performansları

da bu kültür koşullarından olumsuz etkilenmektedir. Dolayısıyla, çok uzun yıllardır bu tür ile yürüttüğümüz çalışmalardan, Türkmen vd. (2007a,b)'nin bildirdiği ve bu projemizin bulgularından da yola çıkılarak, *P. semisulcatus*'un ülkemizde üretiminde yüksek stoklama koşullarında büyük toprak tabanlı havuzların kullanılması ve yılda (Nisan ile Ekim sonu arasında olmak üzere) toplamda 5-6 ay içerisinde tek ürün alınmasına yönelik bir üretim stratejisi dışında başka yaklaşım tercihi bulunmamaktadır. Zira bu süreçte karidesler ancak 20-25 g pazarlanabilme ağırlıklarına ulaştırılabilmektedir. 2013-2016 yılları arasında yürüttüğümüz bir TAGEM projesinde *P. semisulcatus* 30 m² beton tanklarda 40, 80 ve 120 adet/m² stok yoğunluklarında 6 ay boyunca büyütülmüş ve deneme sonunda gruplar, sırasıyla ancak %28, %25 ve %22.30 yaşama oranlarıyla ve ortalama 18.50, 12.80 ve 11.47 g ağırlıklara ulaştırılabilmişlerdir. Bu deneme süresince hesaplanan YÇÖ ise 2.97 ile 3.58 arasında değişmiştir (Kumlu vd., 2016). Oysa aynı yetiştiricilik ünitesinde daha yüksek stoklama koşullarında (100, 150 ve 200 adet/m²) ve üstelik de ıslah edilmemiş bir *P. vannamei* varyetesinden elde edilen yavrularla yaptığımız bir çalışmada ise aynı sürede (6 ay) örneğin 100 adet/m²'de karidesler ortalama 19 gram ağırlığa %70.40 yaşama oranı ve 1.94 YÇÖ ile ulaştırılabilmektedir (Kumlu vd. basılmamış veri). Oysa TÜBİTAK destekli bu projemizde ıslah edilmiş bir varyetenin yavrularını kullandığımızda, *P. vannamei* sadece 4 ayda 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama koşullarında (üstelik sadece 40-45 cm su derinliğindeki tanklarda) ortalama, sırasıyla, 22.12, 18.31 ve 19.93 g ağırlıklara ulaştırılabilmektedir. Bu denemede YÇÖ 1.56 ile 1.74 arasında, yaşama oranları da %62 ile %77.5 arasında değişmiştir.

Egzotik bir tür olan ve ıslah edilmek suretiyle hızlı büyüyen ve yoğun üretimde çok başarılı sonuçlar alınabilen *P. vannamei* kullanıldığı durumlarda; üretimin küçük tank veya havuzlarda, seralar altında, denizden uzak bölgelerde ve RAS teknikleriyle yapılabilmesi mümkündür. Bu tür üretim stratejisinin başarılı olabileceği bu projemizde kanıtlanmış olup, 40-45 cm derinlikte polyester tanklarda bile 1 m² alandan rahatlıkla 2 kg ürün (%70 civarında yaşama omalarıyla) alınabileceği kanıtlanmış olup, aslında daha derin havuzların kullanılması durumunda bu rakamın 4-6 kg/m² kg seviyesine kadar çıkartılabilmesi mümkün olabilecektir.

5.2. Yeşil Kaplan Karidesinin Yemlerinde Bitkisel Kaynaklar ve Tavuk Unu Kullanarak Balık Unu Azaltılabilir mi?

Su ürünleri yetiştiriciliğinde en yüksek işletim maliyeti gideri olan yemde daha ekonomik ve besin açısından dengeli yem üretimine yönelik çalışmalar akvakültür sektörünün en büyük hedeflerinden birisi olmaya devam etmektedir. Bunun başarılabilmesi için geleneksel hammaddelerin dışında başka alternatiflere yönelmek ve bunları yem formülasyonlarda kullanarak üretimi yapılacak türler üzerinde test etmek gerekmektedir. Daha ekonomik yem hammaddelerine yönelindiğinde daha düşük besin içeriği, zayıf sindirilebilirlik oranı, yüksek aminoasit dengesizliği ve karbonhidrat içeriği ile daha yüksek selülozik yapı gibi sorunlarla karşılaşılması büyük olasılıklardandır. Bu durumda, ilgili türlerin yetiştiriciliğinde yem değerlendirme ve büyüme performanslarında düşüşler ile karşılaşılabilir. Bunun önlenmesi için yem

formülasyonlarında ekonomik hammaddelerin besin açısından zengin diğer hammaddelerle ve çoğu zamanda bazı yem katkı maddeleriyle harmanlanıp, yetiştiriciliği hedeflenen türün sağlık ve büyüme performanslarından ödün vermeden besin ihtiyacını dengeli olarak karşılayabilecek formülasyonlar üzerinde çalışılması gerekmektedir.

Yüksek yem maliyetleri araştırmacılar ve üreticileri daha ucuz ve etkin yem kaynaklarının kullanılmasına yönelik araştırma ve incelemelere yöneltmiştir. Su ürünleri yemlerinde tek başına en yüksek girdi maliyetini oluşturan denizel protein kaynakları (balık unu ve balık yağı) yerine daha ucuz ve sürdürülebilir olan bitkisel ve bazı karasal hayvanlardan elde edilen protein kaynaklarına yönelim vardır. Karides yetiştiriciliğinde toplam üretim maliyetinin %40-60'ını oluşturan yem maliyetinde besinsel kaliteden önemli ödümler vermeden, daha ekonomik hammaddeler ile düşük maliyetli yemler üretilebilmesi ticari ölçekte büyük bir anlam ifade etmektedir. Ülkemizde karidesler henüz yetiştiriciliğe aday yeni/alternatif türler kapsamında olduğu için, bu canlıların yetiştiriciliğinde kullanılmak üzere ulusal bazda ticari yem tedariki söz konusu değildir. Alternatif türler için ülkemizde yürütülmeye çalışılan Ar-Ge çalışmaları esnasında bile zaman zaman istenen özellikte deneme yemleri temin etmek zor olmaktadır.

5.2.1. Karideslerin Besin Gereksinimleri

Pasifik beyaz karidesinin yurtdışında üretilen yemleri (büyütme için) %35-38 aralığında protein ve %6-9 arasında lipit içermektedir. Son zamanlarda bu yemlerde BU miktarının ciddi oranlarda azaltılması ve bazı bitkisel/hayvansal protein kaynaklarıyla %100 ikame edilebilmesi birim yem fiyatlarının belirgin bir şekilde düşmesine neden olmuştur (Samocha vd., 2004; Olmos vd., 2011). Bugüne kadar yeşil kaplan karidesinin beslenmesinde türe özgü bir yem formülasyon geliştirilmemiş ve bu türün besinsel ihtiyaçlarının belirlenmesine de yönelik son derece sınırlı sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir (Ölçülü ve Kumlu, 2010). Bu proje kapsamında geliştirdiğimiz düşük maliyetli yem formülasyonunda pahalı olan balık unu (BU) yerine yerli hammaddelerden soya unu (SU) ve mısır glutenine (MGU) ilaveten diğer bitkisel protein kaynaklarından olan fındık (FU) ve yerfıstığı küspeleri unu (YFU) ve ayrıca karasal hayvansal protein kaynaklarından da tavuk atıkları unu (TU) kombinasyonlar halinde kullanılmıştır.

Ölçülü ve Kumlu (2010) yaptıkları bir çalışmada, ülkemiz için önemli bir ticari karides türü olan yeşil kaplan karidesinde (*P. semisulcatus*) optimal protein gereksinimini araştırmışlar ve bunun için izokalorik beş farklı protein düzeyinde (%25-%45) yem üreterek, bunları 1-2 g'lık juvenillerde test etmişlerdir. Deneme neticesinde bu tür için optimum protein gereksiniminin, 28°C sıcaklık ve %40 tuzlulukta, %38.3 olduğunu saptamışlardır. Gopakumar (2002) da aynı tür de yemde optimal protein oranını %35-40 olarak bildirmiş ve bu çalışmada yemlerin sindirilebilirlik oranlarını %83.6-85.2 olarak bildirmiştir. Bu veriler ışığında, projemizde kullanacağımız yedi farklı yem formülasyonunda %38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji tercih edilmiştir.

Karidesler vücutlarının ihtiyacı olan esansiyel aminoasitleri (EAA) kullandıktan sonra geri kalanları enerji amacıyla metabolize ederler. Karideslerde ihtiyaç duyulan amino asitler (AA'lar) bir yaklaşıma göre toplam vücut ya da et içerisindeki AA miktarlarına bakılarak belirlenir (Conklin, 2017). Teorik olarak, bir

yemden gelen AA'ların seviyesi karidesin vücudundaki seviyeye ne kadar yakın olursa, yemdeki protein o kadar etkin bir şekilde karides tarafından kullanılabilir. Yüksek kalitede protein yapısına sahip ve AA kompozisyonları karidesin vücudundaki kompozisyona yakın besinlerle beslenen karideslerin yüksek bir büyüme oranıyla büyümeleri beklenir. Ancak bunun gerçekleşebilmesi için proteinin sindirilebilirliğinin de yüksek ve ayrıca enerji içeriğinin de uygun olması gereklidir. Çoğu zaman karides yemlerinde kullanılan yüksek kalitede protein kaynaklarının sindirilebilirlik oranlarının >%90 olması beklenir. Eğer yemdeki enerji çok yüksek ise o zaman yem tüketimi düşer ve büyüme yavaşlar, eğer enerji düşükse, bu sefer de, bazı proteinler enerji amaçlı kullanıldığı için, bu durumda doku sentezlemesinde sıkıntılar yaşanabilir (Conklin, 2017).

Denememizde kullanılan yemlerin esansiyel amino asit konsantrasyonlarının yeşil kaplan karideslerin gereksinimlerini karşılayıp karşılayamadıkları anlamak için farklı yaklaşımlar kullanılmıştır. Bunlardan biri A/E oranı olup, buradan yemin ve karidesin deneme sonu bireysel esansiyel amino asit konsantrasyonlarının toplam esansiyel amino asit miktarına oranlanması yapılmıştır. Aranan kriter her yemin ve karidesin A/E oranlarının birbirlerine yakın olmasıdır. Bir diğer yaklaşım, yemlerin ve karideslerin protein üzerinden esansiyel amino asit içeriklerinin ilişkisini gösteren dağılımda, 45°'lik hat (çizgi) üzerinden bir değerlendirme yapılmasıdır. Amino asit düzeyleri bu çizgiye ne kadar yakın ise yemin amino asit profilinin o kadar iyi olduğu farzedilir (Mente vd. 2002). Kullanılan bu iki metotta da kontrol grubu haricindeki deneme yemlerinin özellikle arginin bakımından sınırlayıcı oldukları görülmüştür. MİKS1 yeminde bir dereceye kadar metiyonin eksikliği de söz konusu olmakla birlikte, %10 balık unu ilavesi ile bu eksikliğin giderilebildiği 10BU+MİKS1 yeminden anlaşılmaktadır. Anılan iki metoda göre yemleri veya protein kaynaklarının esansiyel amino asit düzeylerini daha bütüncül bir bakışla değerlendiren, esansiyel AA indeksi (EAAİ), ideal bir amino asit kaynağına göre hesaplayarak çıkarılan bir değer üretir (Penaflorida 1989). Ancak bu indeks verilerinin mutlaka besleme çalışması ve sindirilebilirlik testi ile desteklenmesi gerektiğini bildirmiştir (Penaflorida 1989). Bu araştırmada, kullanılan yemlerin EAAİ'leri %100'ün üzerinde olmuştur. Alternatif protein kaynaklarına dayalı deneme yemlerinin arginin ve lizin eskliklerine karşın, EAAİ değerleri çok iyi kategoride yer almaktadır. Esansiyel amino asitlerin yeterliliklerinin kontrolünde kullanılan yaklaşımların ortaya koyduğu bu tutarsızlık, bunların hiç birinin mükemmel olmadığını göstermektedir. Ancak, bu projede EAAİ verileri ile deneme sonunda elde edilen büyüme ve yemden yararlanma performansına ait bulguların uyum içinde olduğunun altı çizilmelidir.

Balık unu yerine bitkisel protein kaynaklarının kullanıldıkları durumlarda bazı EAA'ların yem formülasyonlarına eklenmeleri gerektiği ve bunlardan özellikle arjinin, metiyonin ve lizin önemli oldukları bilinmektedir. Chen vd. (1992) mikroenkapsüle edilmiş arjinin kullanarak *P. monodon* için gerekli arjinin miktarının %5.5 (protein seviyesinin) olduğunu belirlemişlerdir. Fox vd. (1995), *L. vannamei* için %45 oranında protein içeren yem kullanıldığında, lizin ihtiyacının %4.7 olduğunu bildirmiştir. Millamena vd. (1996) siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) protein yüzdesi olarak metiyonin ihtiyacının %2.4, metiyonin+sistin gereksiniminin %3.5, treoninin %3.5 ve valinin %3.4 olduğunu bildirmişlerdir. Millamena vd. (1999) gerekli

histidin seviyesini, %2.0, izolösin seviyesini %2.5, lösin seviyesini %4.3, ve fenilalanin + triptofan seviyesini ise %4.0 olarak önermiştir. Bu veriler dikkate alındığında, deneme yemlerimizde belirlenen EAA seviyelerinin farklı karides türlerinin ihtiyaçları için bildirilen değerlere yakın olduğu görülmektedir.

Alternatif bitkisel protein kaynakları büyük miktarlarda üretilebilirler, üretimleri daha süreklilik arz eder, çoğu zaman daha ekonomiktirler ve aşırı miktarlarda kullanımları herhangi bir tehdit oluşturmaz. Bitkisel protein kaynaklarından soya unu en bol bulunabilen ve en yaygın kullanılan alternatif protein kaynaklarından (Hertrampf ve Piedad-Pascual 2000; Amaya vd., 2007a,b). Soya ununun rahatlıkla herhangi bir olumsuzluk yaratmadan %58 oranında *L. vannamei*'nin büyütme yemlerinde kullanılabilirdiği gösterilmiştir (Markey vd., 2010). Diğer bitkisel protein kaynaklarından pamuk tohumu unu, yerfıstığı unu, kanola unu, fermentasyon atık ürünleri ve diğer bazı bakliyatların da değerlendirilebildikleri bilinmektedir (Li vd., 2000). Bu bitkisel kaynakların rasyonlarda kullanılma limitleri EAA dengesizlikleri, anti-besinsel faktörler veya toksinler ya da düşük palatabilite (lezzet) nedeniyle sınırlı olabilmektedir. Bu sınırlamalar uygun karışımlar kullanılarak besin dengesizlikleri (dışardan ek yem katkı maddeleri eklenmek suretiyle) giderilebilmekte, bazı işlemlerle (ısı uygulamaları gibi), anti-besinsel faktörler inaktif edilebilmekte, oranları azaltılabilmekte veya tamamıyla giderilebilmekte ve bazen de rasyonlara sınırlı miktarlarda ilave edilmektedirler (Li vd., 2000). Soya proteini konsantresi kullandıklarında, Paripatananont vd. (2001) *P. monodon* için BU'nun karides büyümesini olumsuz etkilemeden %50 oranında değiştirilebileceğini göstermişlerdir. Forster vd. (2002) ise *L. vannamei* için BU'nun %75 oranında soya protein konsantresi ile değiştirilebileceğini bulmuşlardır. Tanklarda ve bina içerisinde (indoor) yapılan çalışmalarda BU'ya yapılan ikame çalışmalarında arjinin, metiyonin ve fenilalanin gibi AA'ların kullanılmasına gerek duyulmuştur. Sadece lizin kullanılarak soya protein konsantresi ile BU'nun %50'ye kadar başarıyla değiştirilebileceği belirlenmiştir. Doğal verimliliğin etkili olduğu açık havuzlarda soya protein konsantresi kullanıldığı durumlarda %100 BU ikamesinde bile ilave AA'ların yemlere eklenmesine gerek duyulmamış, bu ihtiyaç doğal besinlerden sağlanabilmiş. Ancak bizim çalışmamızda, özellikle bitkisel protein karışımlarının kullanıldığı yem formülasyonlarına girilen lizin ve metiyonin seviyesinin (%0.1 oranlarında) yeterli olmadığı anlaşılmıştır. Bunun da ötesinde yaptığımız analizler BU grubunda bile arjiinin seviyesinin olması gereken seviyenin çok azda olsa bir miktar altında kaldığını, dolayısıyla böyle durumlarda arjininin de formülasyona eklenmesinin faydalı olabileceğini göstermiştir. Deneme yemlerimizde, BU yerine TU ve diğer bitkisel hammaddelerin ikame olarak kullanıldığı formülasyonlarda programın (WinFeed 2.8) önerdiği oranlarda metiyonin (%0.1) ve lizin (%0.3-0.6) eklenmiştir. Bu yemlerle iki ay sürdürülen besleme çalışmasının neticesinde alternatif protein kaynaklarıyla formüle edilen yemlerle kontrol (BU) grubu arasında final ortalama ağırlık, YÇO ve SBO değerlerinin değişmediği ($P>0.05$), yaşama oranları açısından ise 10BU+MIKS2'nin en yüksek orana sahip olduğu (%70.00) ve bu grubu MIKS2 (%63.33) ve MIKS1'in (%55.00) izlediği görülmüştür. TU içeren yemlerle beslenen gruplarda bu performans değerleri en düşük çıkmıştır. Karides et ham protein içeriklerine bakıldığında, MIKS1 grubunun istatistiki olarak diğer tüm deneme gruplarından daha yüksek oranda protein (%22.30) içerdiği ($P<0.05$), lipit açısından formülas-

Yona BU giren tüm grupların diğerlerinden daha yüksek değerlere sahip olduğu (%1.16-1.23) görülmüştür.

Yürütülen sindirilebilirlik analizlerinde yemlerin kuru madde, protein, lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirlik oranlarının sırasıyla %61.42 ile %75.80, %49.67 ile %82.01, %65.54 ile 90.86, %65.85 ile %74.50 ve %59.83 ile %76.45 arasında değiştiği belirlenmiştir. Buna göre, genel olarak, özellikle BU grubunda kuru madde, protein, lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirlik oranlarının beklenen seviyelerin oldukça altında kaldığı görülmüştür. Bu beklenmeyen duruma benzer bulgular başka araştırmalarda da bildirilmiştir; Örneğin, Zhou (2014) farklı hammaddelerin sindirilebilirlikleri üzerine yaptıkları bir araştırmada, yüksek düzeyde sindirilmesini beklediği referans rasyonunda düşük değerler elde etmiştir. Molina-Poveda ve Morales (1994) *L. vanamei*'de karides kafa + balık unu yerine, buğday gluteni + arpa fermentasyon ürünleri kombinasyonunu ikame etmişler ve deneme sonunda bitkisel karışımın rasyondaki düzeyinin artışıyla birlikte büyümede gerileme, bunun tersine %100 ikame oranında ise kuru madde ve protein sindirilebilirliğinde yükselme kaydetmişlerdir. Hem projemizde, hem de Zhou (2014) tarafından kullanılan referans rasyonlarında yüksek düzeyde buğday unu (sırasıyla %42.50 ve %49.96) kullanımının, balık unu ile birlikte pelet ve dışkı stabilitesini arttırdığı görülmektedir. Gerçekten de, BU yerine bitkisel protein kaynakların kullanıldığı durumlarda, da gökkuşağı alabalıklarının dışkı karakteristikleri hızlı bir şekilde değişerek kısa zaman içerisinde partiküllere dağılmıştır (Brinker ve Friedrich 2012; Davidson vd. 2013). Dışkı stabilitesinin düşmesi besin maddelerinin suda çözünerek sindirilebilirlik rakamlarının suni bir şekilde yükselmesine neden olabilmektedir (Hajen vd. 1993). Denememizde dışkı fiziksel karakteristikleri somut veriler olarak kaydedilmemiş olmakla birlikte, yüksek düzeyde alternatif protein kaynaklarını içeren rasyonlarla beslenen karideslerin dışkı stabiliteilerinin kontrol grubu kadar yüksek olmadığı fiili olarak gözlenmiş ve bunun da bir miktar besin maddesi kaybına neden olarak sindirilebilirlik rakamlarının yükselmesine neden olmuş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, özellikle BU grubunun protein ve lipit sindirilebilirlik oranlarının beklenen seviyelerin oldukça altında kalması BU'nun kalitesinde de bazı sorunların olabileceğini düşündürmüştür. Ancak kuru madde açısından %90 ve üzerinde hesaplanan sindirilebilirlik oranları oldukça makul veriler olup, örneğin Zhou (2014)'nın BU ile formüle ettiği kontrol yemi ve ayrıca soya içeren yemlerde belirlediği kuru madde sindirilebilirlik oranları olan %72.20 ile %76.20 değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Karidesler lipitlerden ziyade lipitlerin içeriğini oluşturan yağ asitleri, kolesterol ve fosfolipitlere ihtiyaç duyarlar. Bu canlılar, 20 ile 22 karbon zincirine sahip olanları da dahil olmak üzere, doymuş yağ asitlerini basit prekürsörlerden (asetat gibi) sentezleyebilmektedirler (Conklin, 2017). Karidesler enzimatik olarak bu doymuş yağ asitlerini MUFA'lara çevirebilirken, PUFA'lara çevirebilme yeteneğine sahip değildirler. Halbuki, PUFA'lar hücre membranlarının yapılarında ve bazı hormonların prekürsörleri olarak çok önemli işlevlere sahiptirler. Bitkilerde yaygın olarak bulunan ancak hayvanlar tarafından sentezlenemeyen (esansiyel) iki temel PUFA olarak linoleik (18:2n-6) ve linolenik (18:3n-3) asitler sayılabilir. Karbon zincirinin elongasyonu (yeni karbon atomlarının eklenmesi) ve desaturasyonu (yeni çift bağ oluşturulması) ile pek

çok hayvan türü bu esansiyel yağ asitlerinden (EFA) yeni PUFA'lar sentezleyebilirler. Ancak, deniz karideslerinin PUFA'lardan HUFA'lar sentezleme yetenekleri çok sınırlıdır (Kanazawa vd., 1979a). Kanazawa vd. (1979b) Japon kuruma karideslerinin bu yağ asitlerini kendi bünyelerinde sentezleyemediklerini, büyüme ve sağlıkları için yemleriyle dışardan almak zorunda olduklarını kanıtlamışlardır. Bugüne kadar yürütülen bilimsel çalışmalar neticesinde n-3 yağ asitlerinin deniz karidesleri için önem sırası $18:2n-6 < 18:3n-3 < 20:5n-3 < 22:6n-3$ olarak bildirilmiştir. EPA ile DHA arasında düşük oranda biyoçevrim olduğu bilinmekle birlikte, karideslerde bu yağ asitlerine olan ihtiyacın aynı zamanda linolenik asit ile de ilgili olduğu bilinmektedir (Teshima vd., 1992).

Balık unu sadece protein kaynağı olarak EAA açısından zengin olmayıp, aynı zamanda esansiyel yağ asitleri (EYA) açısından (özellikle de HUFA'lar) da zengindirler. Lipitlerin içeriğinde olan C18 PUFA'lardan linoleik (18:2n-6) ve linolenik (18:3n-3) ve aynı zamanda n-3 ve n-6 HUFA'lar (EPA, eicosapentaenoik acid; DHA ve dokozahegzaenoik asit ve ARA, araşidonik asit) karides ve krustaselerin yemlerinde gerekli olan besinlerdir (Kanazawa vd., 1979b). Bu EYA'ların krustaselerin yemlerinde 4-10 g/kg civarında olması gerektiği bildirilmektedir (Lim ve Akiyama, 1995). Bundan dolayı, yemlerde BU'nun bitkisel unlarla değiştirilmesi durumunda üretilecek yemlerin YA kompozisyonları da değişeceğinden, HUFA'ların balık yağı veya HUFA içeriği yüksek başka katkı maddeleriyle dengelenmesi gereklidir. Bu noktadan hareketle, denemede kullandığımız yem formüllerinde %2.4 ile %2.7 aralığında balık yağı eklemesi yapılarak karideslerin ihtiyaç duyacakları HUFA'ların yemde yeteri düzeyde olmasına çalışılmıştır.

Karideslerde yemlerde n-6 ve n-3 yağ asitleri arasında bir dengeye de ihtiyaç olduğu (Xu vd., 1993), optimal EPA ve DHA gereksiniminin Japon kuruma ve Çin karideslerinde yemin %1'i civarında olması gerektiği bildirilmiştir (Kanazawa vd., 1979b). Karides türleri içinde Pasifik beyaz karidesinin HUFA ihtiyaçlarını karşılayabilme açısından en esnek özelliğe sahip olduğu ve bu türün bu amaçla hem n-3 hem de n-6 grubu yağ asitlerini değerlendirebildikleri bildirilmiştir (Conklin, 2017). Deneme yemlerimizde yağ kaynağı olarak benzer oranlarda balık yağı kullanılmış olmasına rağmen, yemlerin yağ asidi kompozisyonunun BU'ya ikame olarak kullanılan protein kaynaklarından etkilendiği görülmüştür. PUFA'lar açısından irdelendiğinde, en zengin yem grubunun MİKS2 (%48.90) ve ardından da 10BU+MİKS2 (%47.37) olduğu diğerlerinin bu yağ asidi grubu açısından %41.41 ile %44.19 arasında değiştiği belirlenmiştir. MİKS2'deki PUFA farkının özellikle bitkisel kaynaklardan (soya küspesi ve mısır gluteni) geldiği ve bu bitkisel kaynakların özellikle linoleik asit (18:2n-6) açısından fark yarattığı anlaşılmıştır.

Yemlerde belirlenen n-3 yağ asitleri grubu açısından BU yemi %24.49'luk bir oranla tüm diğer yem grupları arasında (ki bunlar %8.07 ile %12.47 arasında değişmiştir) açık ara farkla yüksek çıkmıştır ($P<0.05$). n-3 yağ asitlerindeki bu yüksek seviye özellikle DHA (%15.44) ve daha düşük oranda da olsa EPA'dan (%6.15) kaynaklanmıştır. BU yem grubunda, bu yağ asitlerinin seviyelerinin diğer yem gruplarından 2-3 kat daha yüksek olduğu dikkat çekmiştir. Genel olarak n3/n6 oranı BU yeminde 1.39 olarak hesaplanmışken, bu oran diğer yem gruplarında 0.22 ile 0.41 arasında değişim göstermiştir ($P<0.05$). Yemde bulunan farklı n-3 PUFA'ların karideslerin et dokusuna yansımaları incelendiğinde; n-3 yağ

asitlerince en yüksek değerin BU grubunda, en düşük değerin ise bitkisel protein kaynaklarının karışımları ile oluşturulan yemlerle beslenen karideslerde belirlendiği görülmüştür. Bitkisel protein kaynakları içeren yemlerle beslenen karideslerde n-6 yağ asitleri genel olarak daha yüksek çıkmıştır ($P<0.05$). Deneme grupları içerisinde, et dokuda en yüksek n3/n6 oranı BU grubunda (2.32) hesaplanmış olup, bu grubu daha düşük oranda BU ve ayrıca TU içeren gruplar izlemiş (1.57-1.68) en düşük oranları ise bitkisel protein karışımlarıyla formülize edilen yem grupları göstermiştir (1.18-1.34). Kas EPA değerleri gruplar arasında %9.92 ile %10.54 arasında ($P<0.05$) ve DHA değerleri ise %13.78 ile %19.31 arasında ($P<0.05$) farklılıklar göstermiş olmakla birlikte, genel olarak HUFA'ların kas dokuda yüksek seviyelerde buldukları ve karideslerin performanslarına önemli etkilerde bulunmadıkları kanaatine varılmıştır.

5.2.2. Karides Yemlerinde BU Miktarı ve Kalitesi

Yürütülen bir çok besleme çalışmasında BU kalitesinin, hammaddenin çeşidi, temin edildiği yer, işleme teknikleri, depolanma süresi ve kargo süresi gibi değişkenler tarafından etkilenebildiği ve bunların da yetiştiricilik başarısında etkili olabileceğini göstermiştir. Tantikitti vd. (2016) yürüttükleri bir araştırmada, kullanılan hammadde ve işleme teknikleri ile BU kalitesinin etkilendiğini, bunun karides üretiminde büyük önem arz ettiğini bildirmişlerdir. Yemlerde BU ana protein kaynağıdır, ki bu kaynak yemdeki esansiyel AA dengesi, esansiyel yağ asitleri, fosfolipitler, cezbedicilik ve tad ile ayrıca sindirilebilirlik parametrelerini etkiler. Genel olarak BU'nun protein içeriklerinin %50 ile %65 ve yağ içeriklerinin %4 ile %20, kül içeriklerinin %11 ile >%23 arasında değişim gösterdiği bilinmektedir. Denememizde kullandığımız BU'nun da ham protein, ham lipit, kuru madde ve ham kül içeriklerinin sırasıyla %64.93, %9.66, %91.22 ve %12.10 olduğu ve temel besin bileşenleri açısından iyi kalitede bir hammadde olduğu gözükmiştir. Bir yemin formülasyonunda en yüksek kalitede BU kullanılması dahi karides üretiminde iyi bir büyüme ve ürün garantisi sağlayamaz. Bu doğrudan BU üretiminde kullanılan balık türü, avcılık metodu, kullanılan hammaddenin çeşidi (tüm vücut, yan atık ürünler veya hedef dışı türler), hammaddenin tazeliği ve işleme metotları ile de ilgili olup, tüm bunlar BU'nun AA kompozisyonunu, esansiyel AA/esansiyel olmayan AA oranını ve proteinlerin sindirilebilirliklerini etkileyebilecek faktörlerdir. Koshio vd. (1993) bir çalışmalarında protein kaynaklarının Japon kuruma karidesinde (*P. japonicus*) büyüme, sindirim etkinliği ve amonyak atılımı üzerine etkilerini araştırmışlar ve bu yemlerde kuru madde sindirilebilirliğini %73 ile %96 aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

Bir çalışmada Pike vd. (1990) yüksek kalitede BU kullanımının salmonlarda büyümede ortalama %15 ve YÇE'de ise %10 artışlara neden olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, farklı kaynaklardan temin edilen BU'larda protein sindirilebilirliğinin değişebildiği ve örneğin Atlantik salmonlarda bu oranının %86 ile %98 arasında varyasyon gösterdiği belirlenmiştir (Anderson vd., 1997). *P. chinensis* ile yürütülen bir araştırmada, Kangsen (1986) Peru orijinli BU'da sindirilebilirliği %88, diğer yandan Çin menşeli BU'nun ise %71 olduğunu bulmuşlardır. Smith vd. (1985) protein sindirilebilirliğinin yüksekliği ile *L. vannamei*'de büyüme arasında doğrusal bir ilişki olduğunu belirtmiştir. Mengqing ve Aksnes (2001) Çin karidesinde (*P. chinensis*)

sis) ve Tantikitti vd. (2016) Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) yüksek kalitede BU kullanımının YÇO'da, ağırlık kazancında ve protein sindirilebilirliğinde avantajlar sunduğunu bildirmişlerdir. Sindirilebilirlik oranının yüksek olması demek, yetiştiricilik esnasında daha yüksek oranda AA mevcudiyetinde karidesin daha fazla miktarda kas üreterek daha hızlı büyümesi demektir. Bazı durumlarda, 1. kalite olmasına rağmen BU'nun sindirilebilirlik oranının düşük olması, karideslerin daha düşük performans göstermesine neden olabilmektedir. Bazı araştırmacılar, BU'nun tazeliğinin de karideslerde büyüme üzerine etkili olduğunu bildirmektedir (Ricque-Marie vd., 1998). Bu araştırmacılar, özellikle küçük boyutlu karideslerde (0.9 g, *L. vannamei*) taze BU ile üretilmiş yem ile beslenen grupta, daha uzun süre bekletilmiş veya bayatlamış BU kullanılan yemlerle beslenen gruplara kıyasla, yem tüketiminin daha yüksek çıktığını ve büyümenin de %25 oranında arttığını bildirmişlerdir. Bunun sebebinin yem tüketimi, sindirilebilirlik ve esansiyel AA/esansiyel olmayan AA oranlarının düşüklüğünden kaynaklandığı belirtilmiştir. Gerçekten de, uzun süreli kargolama sürecinde hammaddelerde lipit oksidasyonunu engellemek amacıyla yemlere eklenen antioksidanların karideslerde yem tüketimini etkileyebileceği bildirmişlerdir. Bir çalışmada Laohabanchon vd. (2009), 1.5 ay depolanmış ve bu arada antioksidan kullanılmamış BU ile üretilen ve diğer yandan uzun süreli depolama esnasında ethoxyquin uygulanmış BU ile üretilen yemlerle beslenen siyah kaplan karideslerini kıyaslamışlar (*P. monodon*) ve ikinci grubun daha az yem tükettikleri, düşük büyüme gösterdikleri ve hepatopankreaslarında daha fazla oranda anormal hücreler gördüklerini bildirmişlerdir. Terrazas-Fierro vd. (2010b), dört farklı ticari BU'da sindirilebilirlik oranlarını karşılaştırmış ve sardalya (% 66 ham protein) içeren BU'nun %84, diğerlerinin ise %71 (sardalya, %70 ham protein), %70 (ton balığı %60 ham protein) ve %63 (sardalya %70 ham protein) olduğunu belirlemişlerdir. Yüksek sindirilebilirlik oranına sahip olan BU'larda dengeli AA oranı karideslerde daha yüksek yem tüketimine neden olmuş ve ayrıca tripsin gen ekspresyonu sayesinde daha yüksek büyüme performansı elde edilmiştir (Tantikitti vd., 2016). Denemenizde de kullandığımız BU içerikli yemin karidesler tarafından kuru madde, protein, lipit ve enerji bakımından düşük oranlarda sindirilmesi, bu yemin besleme değerinin düşük olduğu anlamına gelmemelidir. Zira BU ile beslenen karidesler rakamsal olarak en iyi büyüme ve yem çevirim oranı göstermişlerdir. Sindirilebilirlik verileri ile büyüme performansı arasında her zaman güçlü ve doğrusal bir ilişkinin olmayabileceği, farklı karides ve balık türleri üzerinde de gözlenmiştir (Molina-Poveda ve Morales, 2004; Niesar vd., 2004; Sevgili vd., 2009).

5.2.3. Alternatif Protein Kaynaklarının BU Yerine Kullanılması

Ticari karides yemlerinde geleneksel olarak BU'nun seviyesi %25 ile %50 aralığında olduğundan formülasyondaki en pahalı hammadde kaynağını oluşturur (Dersjant-Li 2002). Bu hammadde, esansiyel besinlerden özellikle AA'ların, EYA'ların, enerji, kolesterol, vitamin, mineral, atraktan ve bilinmeyen bazı büyüme faktörlerinin ana kaynağıdır (Samocha vd., 2004). Akvakültür yemlerinde alternatif hayvansal protein kaynakları olarak et ve kemik unu, kan unu, tavuk atıkları unu, tüy unu (hidrolize edilmiş veya enzim ile muamele edilmiş) ve bazı özel protein karışımları kullanılmaktadır. Bu yem kaynaklarının ortak özellikleri

yüksek miktarlarda ve ucuza temin edilebilmeleridir, ancak bu hammaddeler çoğu zaman içerik ve kalite standartları açısından güvenilir değildir. Ayrıca, tek hammadde olarak değerlendirildiklerinde bazı besinler açısından dengesiz oldukları (özellikle EAA) görülür ve mikrobiyal açıdan da sıkıntılı olabileceklerinden, yem formülasyonlarında kullanılmadan önce, her parti ürünün dikkatlice analiz edilmeleri gereklidir.

Yakın bir zamana kadar, yemlerde %12 oranında BU ilavesi kritik eşik olarak kabul edilir ve bu oranın altına indirildiğinde karideslerde yem alımının düşmesi nedeniyle, büyümenin de azalacağı öngörülürdü. Bu öngörünün test edilmesi amacıyla, Suarez vd. (2009) *L. vannamei* için içeriğinde %0, %6, %10 ve %15 BU içeren dört izonitrojenik ve izoenerjetik yem formülasyonu yapmış ve bu yemleri referans yemi ile (ticari yem) yaşama oranı, canlı ağırlık kazancı, yem tüketim değerleri açısından kıyaslamışlardır. Deneme sonunda yaşama oranları %84 ile %86.5 arasında değişmiş ve BU içermeyen yem ile beslenen karideslerde ortalama karides ağırlıkları ve SBO, diğer gruplardan, daha düşük çıkmıştır ($P<0.05$). En düşük YÇO referans yeminde elde edilmiş olmakla birlikte, canlı ağırlık kazancı açısından %6, %10 ve %15 BU eklenmiş yemler ile referans yemi arasında (0.98 g/hafta) herhangi bir farklılık bulunmamıştır ($P<0.05$). Dolayısıyla, bu çalışma ile uzun süreli büyüme koşullarında, temiz suda *P. vannamei*'nin beslenmesinde, BU yerine soya ve kanola unlarının başarı ile kullanılabilecekleri ve yemlerde BU'nun %6-10'na kadar indirilebileceği anlaşılmıştır. Deneme sonuçlarımız yemlerde BU %0-10'na kadar indirildiğinde, tavuk unu (TU) içeren yem grupları haricinde, BU grubu ile kıyaslanabilecek performanslar elde edilebileceğini göstermiştir. Hatta, %10 BU ve bitkisel karışımların kullanıldığı, örneğin 10BU+ MİKS2 grubunda yaşama oranı açısından (%70), diğer gruplara kıyasla (%45-63.33), belirgin bir avantaj bile elde edilebilmiştir ($P<0.05$). Çalışmamızda TU ile formüle edilen yemlerde hem yem tüketme isteksizliği hem de performans düşüklükleri deneme süresince gözlemlenmiş ve neticede deneme sonu yaşama oranları %7.5-15'e kadar inmiş ve hayatta kalanlarda da büyümede ciddi düşmeler görülmüştür. Bulgular ve gözlemlerden yerli bir firmadan temin ettiğimiz ve analizlerimizde %56.03 ham protein, %22.08 lipit ve %7.41 ham kül içeren TU'da bir şekilde kalite düşüklüğü ve besin dengesizliği olabileceği düşünülmüştür. Denemede kullanılan yemlerde gerçekleştirdiğimiz EAA ve EYA analiz sonuçları TU içeren yemlerin (10BU+TU ve TU+MİKS2) içeriklerinin diğerlerinden belirgin olarak farklı olmadıklarını göstermiştir. Formülasyonda kullandığımız TU'nun, yeşil kaplan karidesleri tarafından isteksiz olarak tüketilmelerinin tersine, aynı dönemde kırmızı kışkaçlı kerevitlerde (*C. quadricarinatus*) de yürüttüğümüz bir çalışmada (Eroldoğan vd., 2018), bu krustaseler tarafından sorunsuz bir şekilde tüketildiği ve hatta TU içeren yemle beslenen grupların iyi performans gösterdikleri belirlenmiştir.

Temin ettiğimiz hammaddenin tavuk tüyü, kafası ve bacaklarından üretildiği; bunların 5-6 bar basınçta (ortalama 158-165°C) pişirildikten sonra, preslenerek yağ oranlarının düşürüldüğü ve ardından da kurutularak öğütüldüğü firma yetkililerince belirtilmiştir. Tavuk atıklarından elde edilen TU'nun krustaselerin yemlerinde çok başarılı sonuçlar verdiğini bildiren birçok araştırma mevcut olup, son zamanlarda piyasada daha kaliteli ve standart özelliklerde hammaddeler görülmeye başlanmıştır. Cheng vd. (2002) *P. vannamei*'nin yemlerinde kullanılan BU'nun %66.7'sinin, Chi vd. (2009) %70'inin, Cruz-Suarez vd. (2007)

ise %80'ninin TU ile değiştirilebileceğini ve bunun karideslerin (*L. vannamei*) büyüme performansında önemli bir sorun yaratmadığını bildirmişlerdir. Tan vd. (2003) ve Zhu ve Yu (2002) *L. vannamei* için %41 protein ve %7.5 lipit içeren yemlerde %40 ve %22 oranında hamsi unu kullanmış ve bu karidesin yemlerinde BU'nun %80 oranında TU ile değiştirilebileceğini bildirmişlerdir. Cheng vd. (2002) yaptıkları bir çalışmada %35.5 ham protein içeren bir karides (*L. vannamei*) yeminde %24.5 oranında bulunan BU'yu iki farklı TU ile %33.3, %66.7 ve 100% oranlarında değiştirmiş ve neticede %33.3 ile %66.7 TU ikame edilen gruplarda karideslerin büyüme ve vücut kompozisyonlarının kontrol grubundan farklı olmadığını göstermişlerdir. Patnaik vd. (2006) soya ile birlikte ekstrüde edilmiş TU kullanarak Pasifik beyaz karidesinin EAA ihtiyaçlarının karşılanabileceğini, algerden elde edilen yağ ile de balık yağının tamamen ikame edilebileceğini kanıtlamışlardır. Suarez vd. (2009), TU'nun %90 ve üzerinde sindirilebilirlik oranına sahip olması, BU'nun EAA profiline benzer olması, yüksek miktarlarda fosfolipit ve kolesterol içermesi ve ayrıca düşük miktarda ham kül içermesi nedeniyle *L. vannamei* için mükemmel bir alternatif protein kaynağı olduğunu, temininin BU'ya göre daha sürdürülebilir ve ekonomik bir hayvansal protein kaynağı olduğunu bildirmiştir. Davis ve Arnold (2000) ve Samocha vd. (2004) soya/tavuk atıkları unu ve yumurta katkılı hammaddeler ile BU'nun %30 oranında değiştirilebileceğini (32% protein ve 8% lipit içeren bir yem formülasyonunda) belirtmişlerdir. Menasveta ve Yu (2002) siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) beslenmesinde BU'nun 60% oranında TU ile değiştirilmesi durumunda, karideslerin daha da hızlı büyüdüklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada kontrol yeminde %40 oranında BU olduğu ve bu oranın TU ile %20, %40 ve %60 oranlarında değiştirildiği belirtilmiştir. Phuong ve Yu (2003) ve Yang vd. (2004) TU kullanımının tatlısu karidesinde (*M. nipponense*) immün parametreleri etkilemediğini belirtmişlerdir. Üstte farklı karides türleri için belirtilen literatür bildirilerinden ve bizim kırmızı kiskaçlı kerevitlerde (*C. quadricarinatus*) elde ettiğimiz bulgulardan (Eroldoğan vd., 2018) ve yeşil kaplan karidesi ile yaptığımız gözlemlerden, yüksek kalitede TU kullanılması durumunda mevcut bulgulardan daha iyi sonuçlar alınabileceğini ve aslında çok ekonomik olan (BU'dan 3.72 kat daha ucuz) bu hammaddenin formülasyona eklenmesi ile ciddi bir ekonomi sağlanabileceğini öngörmekteyiz. Ancak, öncelikli olarak ülkemizde yerli firmaların piyasaya daha güvenilir ve yüksek standartlarda ürün sunmaları gerekmektedir.

Ekonomik ve ekolojik kaygılar nedeniyle denizel protein kaynaklarının daha ucuz bitkisel kaynaklarla değiştirilmesi stratejisi giderek artan oranda ilgi görmekte ve soya unu bu kapsamda en çok araştırılan hammaddelerin başında gelmektedir. Amaya vd. (2007a) balık unu yerine bitkisel kaynakların kullanım potansiyellerini havuzlarda yetiştirilen karideslerde (*L. vannamei*) 18 hafta süreli bir denemede test etmiş; deneme yemlerinde BU'yu %9, 6, 3 ve %0 seviyelerine indirmiş ve bunların yerine tam tersine soya ununu %32.5, %34.9, %37.2 ve %39.6 oranında ve mısır glüten ununu da %0.0, %1.7, %3.2 ve %4.8 oranlarında yemlere ilave etmişlerdir. Deneme sonunda, elde ettikleri ortalama ürün miktarı, ortalama ağırlık, YÇO ve yaşama oranlarını sırasıyla 5363–6548 kg/ha, 18.4–20.7 g, 1.38–1.12 ve %84.0–%94.0 olarak bildirmişlerdir. Bu araştırcılar yemde bitkisel protein kaynaklarının artışı ile birlikte yemlerin maliyetlerinde belirgin azalmalar olduğunu da belirlemişlerdir. Genel olarak, bu araştırcılar, *L. vannamei*'nin

beslenmesinde kullanılacak olan yemlerde BU'nun alternatif bitkisel protein kaynaklarıyla (soya unu ve mısır glüten unu) %100 oranında değiştirilebileceğini ve bu şekilde formüle edilen yemler ile herhangi bir performans kaybı yaşanmadan daha ekonomik üretim yapılabileceğini bildirmişlerdir. Suarez vd. (2009) %70 soya ve %30 kanola ile *L. vannamei* yemlerinde BU miktarını %30'dan %6'ya kadar düşürdüklerini (kuru ağırlık üzerinden), bununla da yaklaşık BU kullanımınının %80 oranında azaltılabileceğini ve bunun ciddi bir ekonomi sağlayabileceğini bildirmişlerdir. Patnaik vd. (2006) bitkisel protein kaynakları ve denizel olmayan yağ kaynakları kullanarak karides yemlerinde BU'nun tamamen kaldırılabilceğini belirtmişlerdir. Bulbul vd. (2016) Japon karidesi (*M. japonicus*) için yemde BU'nun kanola + soya karışımı ve bazı yem katkı maddeleriyle birlikte kullanıldıklarında %6'ya kadar azaltılabileceğini ve bu yem formülasyonunun karideste büyüme, yemden yararlanma, vücut kompozisyonları ve sağlıklarında herhangi bir olumsuzluk yaratmayacağını göstermişlerdir. Sun vd. (2016) fermente edilmiş pamuk tohumu ununun (PTU) BU yerine ikame edilebilme potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, karideslerde büyüme ve yemden yararlanma açısından herhangi bir olumsuzluk olmadan BU'nun PTU ile %50 oranında ikame edilebileceği sonucuna varmışlardır. Markey vd. (2010) yaptıkları bir çalışmada, TU ile birlikte soya unu, mısır glüten unu ve düşük oranda kalamar unu kombinasyonlarıyla yemler üretmiş ve bunları havuz ve tanklarda *L. vannemi* üzerinde test etmişlerdir. Deneme neticesinde, ne havuz, ne de tanklarda yürütülen denemelerde, gruplar arasında ölçülen değişkenler arasında bir farklılık görülmemiştir. Projemizde ürettiğimiz yemlerde alternatif bitkisel kaynaklardan birisi olarak soya unun sadece mısır glüten unu ile birlikte MİKS2 karışımında (%27.5-34.5 oranlarında) ve diğer karışım olan MİKS1'de diğer üç bitkisel un ile (mısır glütenu, fıstık küspesi ve fındık küspesi) birlikte (%16.20-20.10 oranlarında) kullanılmış ve tüm karışım oranlarında da başarılı sonuçlar alınmıştır.

Soya ile kıyaslandığında yer fıstığı unu (YFU) daha düşük oranda lizin, ancak daha yüksek oranda arjinin içerir ve ayrıca protein kalitesi de daha düşüktür (Batal vd., 2005). Ancak, yüksek protein içeriği nedeniyle (%40.1-50.9), temin edilebildiği bölgelerde YFU akvakültür yemlerine hammadde olarak eklenmektedir. Yer fıstığının global üretimi hızla artış göstermiş ve son yıllarda 35 milyon tonların üzerine yükselmiştir. 2016'da Çin tek başına 16.69 milyon ton üreterek toplam üretimin %37'sini elde etmiştir. Sadece Çin'de 2002 yılında 3.5 milyon ton YFU küspesi elde edilmiştir (Revoredo ve Fletcher 2002). YFU'nun yem hammaddesi olarak kullanımı tavuk rasyonlarında (Costa vd., 2001) ve diğer karasal hayvanlarda çalışılmıştır (Adeola 2009). Benzer çalışmalar Pasifik beyaz karidesinde de yapılmıştır (Lim 1997; Liu vd., 2008). Ancak bu hammaddenin yem formülasyonlarına eklenme miktarı ile ilişkili olarak karideste meydana gelecek fizyolojik değişiklikler henüz detaylı olarak araştırılmamıştır. Ülkemizde de 2016 yılında yaklaşık 42.244 ha ekim alanında 164.186 ton kabuklu yerfıstığı üretimi yapılmış olup, bu üretim rakamının artmaya devam edeceği öngörülmektedir. Ülkemiz fındık üretiminde 2016 yılı itibarıyla 537.400 ton ile ilk sırada olup bizi 103.800 ton ile İtalya ve 38.000 ton ile Gürcistan takip etmektedir (TMO, 2017). Ülkemizde yağı çıkartıldıktan sonra küspe olarak satın alınabilen ve kurutulup un halinde yemlere eklenebilen fındık unu (FU) broiler üretiminde ve bazı balıkların yemlerinde alternatif protein kaynağı olarak değerlendiril-

miştir. Bugüne kadar FU'nun hammadde olarak test edildiği balıklar arasında alabalık (Sevgili vd., 2009; Doğan ve Erdem, 2010), adi sazan (Büyükçapar ve Kamalak, 2007), Karadeniz Kalkan Balığı (Ergün vd., 2008), Avrupa deniz levreği (Emre vd., 2008a) ve mersin balığı (Karabulut vd., 2017) bulunmaktadır. Üstte belirtilen balıkların yemlerinde FU'nun rasyonlarda %15 ile %50 arasında kullanılabileceği belirtilmiştir. Bilindiği kadarıyla, bu proje çalışmamızda FU'nun karides yem formülasyonlarında BU yerine (diğer alternatif bitkisel protein kaynaklarıyla birlikte) kullanıldığına dair ilk bilimsel çalışmadır.

Liu vd. (2012) Pasifik beyaz karidesinin yemlerinde YFU'yu %0, 7, 14, 21, 28 ve %35 oranlarında içeren altı yem formüle etmiş ve YFU oranı artırılırken tam tersine BU oranlarını da %35, 30, 25, 20, 15 ve %10 olarak azaltmışlardır. Çalışmada, kontrol yem ile kıyaslandığında, içeriğinde %28 ve üzerinde YFU içeren yemler karideslerde daha düşük oranda canlı ağırlık artışına neden olmuştur. Diğer yandan, %14 YFU içeren yemle beslenen grup, kontrol yemi ile beslenen gruba kıyasla, yemden daha düşük oranda faydalanmış ve protein etkinlik oranı da bu grupta daha düşük çıkmıştır. YFU içeren yemlerde besin sindirilebilirliği kontrol yemi ile beslenenlere göre düşmüştür. Tüm veriler dikkate alındığında, Pasifik beyaz karidesinin rasyonlarında %14'e kadar YFU eklenebileceği belirlenmiştir. Genel araştırma sonuçları %0 ile %35 arasında YFU eklenmiş yemlerle beslenen karideslerde sindirilebilirlik oranının YFU oranının artışı ile azaldığını ve bu rakamın %68.1'den %64.2'ye kadar düştüğünü göstermiştir. Denememizde toplam 4 adet bitkisel protein kaynakları içinde hem YFU hem de FU, bireysel olarak, %16.2 (10BU+ MİKS1) ile %20.10 (MİKS1) olarak yem formülasyonlarında kullanıldığında deneme yemlerinin EAA kompozisyonları zenginleşmiş, arginin ve lisinin sınırlayıcılık dereceleri tam olarak olmasa da düşmüş ve yüksek sindirilebilirlik (kuru maddede %94.74-95.73, proteinde %73.88-82.01) değerleri göstermişlerdir. Bu yemlerle beslenen karideslerde de final ağırlık ve SBO iyileşmiş, ancak yaşama oranları MİKS2 gruplarından daha düşük çıkmıştır.

Yue vd. (2012) 8 haftalık bir besleme çalışmasında, Pasifik beyaz karidesinin yemlerinde soya ve yerfıstığı unu ile BU'yu %30'dan (BU30) %20 (BU20), %15 (BU15), %10 (BU10) ve %5 (BU5) seviyelerine çekmişler, BU seviyesi azaltılan yemlere lizin ve metiyonin ekmişlerdir. Deneme sonunda BU15, BU10 ve BU5 gruplarında zayıf bir büyüme ve yem tüketim performansı belirlenmiş, ancak yem tüketimi, yaşama oranı ve vücut kompozisyonları açısından herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Bu çalışma *L. vannamei*'nin beslenmesinde soya ve YFU karışımının kullanılması durumunda BU'nun %20-30 civarında azaltılabileceğini (değiştirilebileceğini) ortaya koymuştur. Hazırlanan yemlerde kuru madde sindirilebilirliği %57.5 ile %67.2 arasında, protein sindirilebilirliği %78.8 ile %88.1 arasında ve enerji sindirilebilirliği ise %76.1 ile %86.1 arasında değişmiştir. Yemlerin sindirilebilirlik oranları genel olarak soya ve yerfıstığı ilavesinin artışı ile önemli ölçüde düşme göstermiştir. Yeşil kaplan karidesi ile yürüttüğümüz çalışmada ise MİKS1 ile formüle edilmiş yemlerle beslenen gruplarda protein, lipit ve kuru madde sindirilebilirlik oranları %73.88-82.01, %87.56-90.11 ve %94.74-95.73 gibi yüksek değerler elde edilmiştir.

FU kullanımı ile de dört bitkisel protein kaynağının kullanıldığı durumda 10BU+MİKS1 ve MİKS1 karışımlarında formülasyonda %16.20 ve %20.10 FU kullanımı kontrol grubundan (BU) daha iyi sonuçlar

vermiştir. Denemede soya unu + mısır glüten unu karışımı (MİKS2) kullanılan yemlerle (10BU+MİKS2 ve MİKS2) beslenen karideslerde en çok dikkat çeken şey yüksek yaşama oranı sağlamış olmalarıdır. Özellikle 10BU+MİKS2 yem grubunda yaşama oranı (%70) diğer gruplardan daha yüksek çıkmış ve diğer parametreler açısından da bu grup iyi bir performans göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma ucuz ve yerli hammaddeler (hayvansal protein kaynağı olarak TU ve bitkisel protein kaynakları olarak SU+MGU+YFU ve FU) kullanarak yeşil kaplan karidesi için rahatlıkla BU'nun formülasyonlarda %10 hatta %0 seviyesine kadar azaltılabileceğini ortaya koymuştur. Ancak yine de %0 BU ile bile iyi sonuç alınabilmesine rağmen, yemin cezbediciliği sağlaması ve bazı mikro-besinlerin temin edilebilmesi açısından %10 BU'nun formülasyonda yer alması önerilmektedir.

5.2.4. Yemde Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları Kullanımı Yem Maliyetinde Ekonomi Sağlar mı?

Balık ve krustaselerin beslenmelerinde dengeli besin içeriği, yüksek protein ve dengeli aminoasit (AA) içeriği, sindirilebilirliği, mükemmel esansiyel yağ asitleri içeriği, enerji düzeyi, lezzet ve aroma içeriği sayesinde BU en çok tercih edilen hayvansal protein kaynağıdır. Karideslerin özellikle tanklarda temiz su kültüründe üretilmeleri durumunda daha fazla BU'ya ihtiyaç duydukları bilinmektedir. Literatürde, karides yemlerinde BU'nun daha ekonomik hayvansal veya bitkisel protein kaynaklarıyla değiştirilebileceği ve bu oranın %80 hatta %100'e kadar başarıyla yapılabileceği bildirilmiştir (Colvin ve Brand 1977; Lim ve Dominy, 1990; Cheng vd., 2002; Zhu ve Yu, 2002; Tan vd., 2003; Samocha vd. 2004; Alvarez vd., 2007; Cruz-Suarez vd., 2007; Conklin, 2017). Davis ve Sookying (2009) ucuz ve yüksek kalitede bitkisel (örneğin solventlerle ekstrakte edilen soya, mısır glüten unu, fermentasyon atıkları, ve bezelye unu vb.) veya bazı karasal hayvansal protein kaynaklarının da (örneğin tavuk atıkları unu) karides yem formülasyonlarında başarı ile kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Bu hammaddelerin ekonomik avantajları ülkeden ülkeye ve bölgeden bölgeye değişim göstermektedir. Ancak, her neresi olursa olsun, 1 tonu 1500-2000 USD arasında satılan BU'nun yem formülasyonlarındaki oranında yapılabilecek herhangi bir tasarrufun her şekilde yem maliyetlerinde düşmelere neden olacağı bilinmektedir.

Tacon vd. (2010), iyi kalitede TU'nun yemlere %20 ve %25 oranlarında eklenmesi ve ilave olarak metiyonin takviyesi ile soya unununun %16'dan (kontrol yeminde) %20 ve %25'e çıkartılmasının mümkün olduğunu, formülasyonda %8 BU ve %2 kalamar unu mevcudiyetinde bile üstte belirtilen TU takviyesi ile yem maliyetlerinde %5.7 ile 7.9 civarında bir ekonomiklik sağlanabildiğini göstermişlerdir. Denememizde kullandığımız yem formülasyonlarda gerçekleştirdiğimiz maliyet analizlerinden; %48 oranında BU kullanılan yemin maliyetinin 1.14 USD/kg olduğu, bu rakamın 10BU+TU yeminde (BU %10'na indirildiğinde ve %52.50 TU ilavesinde) 0.93 USD/kg'ye düştüğü hesaplanmıştır. Eğer BU yerine ikame edilen TU yüksek kaliteli bir hammadde olsaydı, büyük olasılıkla karidesler bu yem ile daha yüksek performans gösterebilirlerdi. Kaliteli TU'nun maliyeti biraz daha yüksek bile olsa, bu çalışmada oluşturulan yem formülasyonlarında en az %15-18 aralığında bir tasarruf sözkonusu olabilecekti. 10BU+MİKS1 yeminde (%10 BU ve

%64.8 bitkisel protein kaynakları) ise yapılan hesaplama maliyetin 0.86 USD/kg olduğunu ve bunun BU yemine göre %24.56 daha ucuz olduğu dikkat çekmiştir. 10BU+MİKS2 yeminde (%10 BU ve %55 bitkisel protein kaynakları) maliyet 0.93 USD/kg çıkmış ve burada %18.42'lik bir tasarruf söz konusu olmuştur. %0 BU ve dört bitkisel protein kaynağının kullanıldığı (%80.40) MİKS1 yeminde maliyetin 0.80 USD/kg olduğu ve bu yemin de BU (kontrol) yemine göre %29.82'lik bir tasarruf potansiyeli yarattığı hesaplanmıştır. %100 bitkisel materyallerden formüle edilen diğer bir yem olan MİKS2 (%69) yeminin toplam maliyeti 0.90 USD/kg olarak hesaplanmış ve bu yemde elde edilen tasarrufun %21.05 olduğu belirlenmiştir. Deneme yemlerinden sonuncusu olan TU+MİKS2 yeminin (%34.5 TU ve %32.40 bitkisel protein kaynakları) maliyeti ise 0.89 USD/kg olarak hesaplanmış ve bu yemin BU yemine göre %21.93 daha ucuz olduğu hesaplanmıştır. Yeşil kaplan karidesi için formüle edilen yemlerde BU yerine TU ve bitkisel protein kaynaklarının kullanılması durumunda elde edilen ve %18.42 ile %29.82 aralığında hesaplanan tasarruf değerleri çok ciddi cazip rakamlardır ve yüzlerce hatta binlerce ton yem üreten/tüketen ticari işletmelerin karlılığında çok büyük fark yaratacaktır.

5.2.5. Yemlerin Hidrostabilesinde Hangi Bağlayıcı Madde Daha Avantajlıdır?

Karides yemlerinde hidrostabilesite ekstrüzyonlama veya peletleme işlemleri esnasında yem içerisinde bulunan bitkisel hammaddelerden kaynaklı nişastamsı malzemelerin jelatinizasyonu sayesinde elde edilir. Ancak, eğer peletlerin stabilizasyonu yeterince yüksek değilse, o zaman yem formülasyonuna belli oranlarda bağlayıcı maddeler eklenerek genellikle ilk birinci saatte yemlerin suda %10'nun atında kayıp vermesi sağlanmaya çalışılır (Cuzon vd., 1994). Denemenizde toplamda dokuz farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde hidrostabilesite testleri kuru madde ve protein kayıpları açısından değerlendirilmiş olup, yapılan hesaplamalarda, yüzde kuru madde açısından ilk saatteki en büyük kayıplar %2.05 ile %2.73 arasında olmak üzere kalsiyum bentonit, sodyum bentonit, guar gum ve karboksi metilselüloz ile formülize edilen yemlerde gerçekleşmiştir. 1. saatteki en düşük kuru madde kaybı %0.30 ile sodyum metilselüloz ile üretilen yem olmuştur ve bunu %0.85 kayıp ile sodyum alginat, %1.20 ile kitosan, %1.32 ile karragenan ve %1.50 ile kontrol yemi (buğday glütini) izlemiştir. Tüm yem gruplarındaki kuru madde kayıpları 3. saatte de devam etmiş ancak bu süreçte özellikle karboksi metilselüloz ile üretilen yem daha fazla kuru madde kaybına (%4.25) uğramıştır. Bu süreçte de en düşük kuru madde kaybı %0.96 ile sodyum metil-selüloz içeren yemde görülmüş, bu yem grubunu %1.32 ile karragenan, 1.46 kayıp ile sodyum alginat, %1.57 ile kitosan izlemiştir. Bu saatte en yüksek kayıp %4.25 ile kalsiyum metilselüloz içerikli yemde görülmüş, bunu %3.02 ile guar gum, %2.99 ile kalsiyum bentonit ve %2.94 ile sodyum bentonit izlemiştir. Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük kuru madde oranı kaybı (%1.15) gösterirken, en yüksek kayıp (%4.53) karboksi metilselüloz içerikli yemde elde edilmiştir. Düşük kuru madde kaybı gösteren diğer gruplar %1.84 ile sodyum alginat, %2.08 ile karragenan ve %2.11 kitosan olarak sıralanmıştır. Denemenin 7. saatinde de yine en düşük kuru madde kaybı %1.57 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %2.54 ile sodyum

alginat, %2.74 ile kontrol (buğday glütenu), %2.78 ile karragenan ve %2.88 ile kitosan izlemiştir. Toplam 7 saatlik hidrostabilite testleri süresince en yüksek kuru madde kayıpları guar gam (%5.45), kalsiyum bentonit (%3.26) ve sodyum bentonit (%3.73) içeren yemlerde kaydedilmiştir. Denemede ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen kuru madde kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşükten en yükseğe doğru kayıpların sırasıyla sodyum metil selüloz > sodyum alginat > karragenan > kitosan > kontrol (buğday glütenu) > karboksi metilselüloz > guar gum > kalsiyum bentonit ve >sodyum bentonit olduğu görülmektedir.

Yüzde protein açısından ilk saatteki en büyük kayıplar özellikle kalsiyum bentonit (%2.35) ve guar gum (%1.90) ile formüle edilen yemlerde, en düşük kayıplar ise %0.53 ile sodyum metilselüloz ile %0.79 ve %1.13 kayıplarla kalsiyum metilselüloz ve sodyum alginat ile üretilen yemlerde gerçekleşmiştir. Denemenin 3. saatinde en düşük protein kaybı %0.70 ile sodyum metilselüloz içeren yemde devam etmiş, bu yem grubunu %1.45 kayıp ile kontrol grubu (buğday glütenu), %1.66 kayıp ile sodyum alginat, %1.84 ile karragenan, %2.06 ile sodyum bentonit, %2.11 ile guar gum ve %2.29 ile kitosan izlemiştir. Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük protein kaybına neden olurken (%0.79), en yüksek kayıp (%2.74) ile guar gum içerikli yemde elde edilmiştir. Denemenin 7. saatinde de yine en düşük protein kaybı %1.32 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %1.71 ile kontrol (buğday glütenu) grubu, %2.10 ile karboksi metilselüloz, %2.38 ile karragenan, %2.38 ile sodyum bentonit ve %2.38 ile kitosan izlemiştir. Toplam 7 saatlik stabilite testleri süresince en yüksek protein kayıpları kalsiyum bentonit (%3.26) ve guar gumlu (%3.18) yemlerde kaydedilmiştir. Su stabilite testlerinde ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen protein kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşükten en yükseğe doğru kayıpların sırasıyla sodyum metilselüloz > kontrol (buğday glütenu) > karboksi metilselüloz > karragenan > sodyum alginat > sodyum bentonit > kitosan > guar gum ve > kalsiyum bentonit olduğu görülmüştür.

Üstte belirtilen bulgular aslında tüm deneme yemlerinde de ilk 7 saat süresince hidrostabilite testlerinde belirlenen en yüksek kuru madde kaybının %5.45, protein kaybının ise %3.26 olduğunu göstermiştir, ki bu rakamlar literatürde bildirilen kayıplardan çok daha düşüktür. Cuzon vd. (1994) karides yemlerinin suda 1 saat bekletildiğinde %10'na kadar kuru madde kaybına uğramalarının normal olduğunu belirtmiş, Argüello-Guavera vd. (2013) de kullandıkları bağlayıcılarla ürettikleri karides yemlerinde hidrostabilite testleri neticesinde 1 saatlik kuru madde kayıplarının yaklaşık %10 olduğunu bildirmişlerdir. Üstteki araştırmacıların bildirdiği rakamlar dikkate alındığında, bizim kullandığımız yem üretim tekniği, test ettiğimiz tüm bağlayıcılar ve yem formülasyonlarındaki kullanım oranları (%3) ile ürettiğimiz yemlerde 1. saat sonunda elde ettiğimiz %0.30 ile %2.73 arasındaki kuru madde kayıplarının oldukça başarılı olduğu görülmektedir. Argüello-Guavera vd. (2013) suda 3 saat bekletilen pellet yemlerde kuru madde kayıplarının %12-14 olduğunu, Kumar ve Bandyopadhyay (1999 LY) bu kaybın kendi yemlerinde %70'i bulduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda 3. saatte elde ettiğimiz kuru madde kayıpları %1.15 ile %4.13 arasında değişmiş olup, çok düşük seviyelerde kalmıştır.

Bağlayıcı madde olarak yosun türevi olan alginatların tatlısu karidesinin (*M. rosenbergii*) larva yemlerinde su stabilitesi açısından çok başarılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir (AQUACOP 1976). Ayrıca, buğday unu, sodyum alginat ve buğday glüteninin karides yemlerinin hidrostabilitesinde başarılı sonuçlar verdiği başka araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Akiyama vd., 1992; Cuzon vd., 1994; Penafiora ve Golez 1996; Terrazas-Fierro vd., 2010a). Argüello-Guavera vd. (2013) %5 buğday glütini + %5 sodyum alginat ile (toplam %10 bağlayıcı madde ilavesinde) protein kayıplarını başarılı bir şekilde minimize edebildiklerini (%14 kayıp) bildirmelerine karşın, çalışmamızda sadece %3 buğday glütini veya %3 sodyum alginat kullanımında bile protein kaybı 7. saat süren testte bile %1.71 ile %2.80 arasında kalmıştır.

Sodyum alginat pahalı ve yemde yüksek miktarlarda kullanıldığında sindirilebilirlik hususunda sıkıntılar veren bir bağlayıcı maddedir (Argüello-Guavera vd., 2013). Ahtapodların beslenmesinde yeme %1 oranında sodyum alginat eklendiğinde Rosas vd. (2008) yem tüketimi ve sindirilebilirlikte yaşanan sıkıntılar nedeniyle juvenil ahtapodlarda büyüme ve yaşama oranlarının düştüğünü bildirmişlerdir. Volpe vd. (2012) yaptıkları bir çalışmada, doğal polisakaritlerden pektin, alginat ve kitosanı kerevitlerin (*Cherax albidus*) yemlerinde hidrostabiliteyi arttırmak amacıyla bağlayıcı maddeler olarak test etmişlerdir. Alginat içeren yemin suda daha çabuk çözündüğü ve dolayısıyla daha az stabil olduğu anlaşılmıştır. Bulgular pektin ve kitosanın yüksek hidrostabilite sağladıklarını, ayrıca bu bağlayıcılarla üretilen yemlerle beslenen kerevitlerde canlı ağırlık artışının ve bağırsaklardaki amilaz aktivitesinin alginat içeren yemle beslenenlerden daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Ahamad Ali vd. (2010) polimetilolkarbomid (PMC), guar gum ve buğday glütenini yemlerde bağlayıcı madde olarak kullandıkları bir çalışmada, farklı sıcaklıkların (70, 80 ve 90°C) peletleme ve bunların hidrostabiliteyi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada PMC %0.5, guar gum %2 ve buğday glütini ise %3 oranında yem formülasyonlarına eklenmişlerdir. Buğday glütenli yem suda en yüksek türbiditeye neden olmuş, bunu guar gum ve PMC izlemiştir. Peletleme sıcaklıklarının yükselmesi peletlerin hidrostabiliteyi yükseltmiştir. Bu yükselme PMC'de %79.5'tan %82'ye, buğday glütenli yemde %80.5'ten %82.5'e ve guar gumlu yemde %77.9'dan %80.5'e doğru gerçekleşmiştir. Bu çalışma sonucunda, PMC benzeri sentetik bağlayıcıların karides yemlerinde kullanılmalarının daha uygun olacağı, zira bu bağlayıcıların yeme düşük seviyede eklenebildikleri (%0.5), buna rağmen peletlerin hidrostabiliteyi çok iyi seviyede sağlayabildikleri ve fiyatlarının da uygun olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada hidrostabilite ve türbidite ölçümleri pelet yemlerin suda 2 saat bekletilmesinden sonra gerçekleştirilmiştir. Obaldo vd. (2002) yaptıkları bir araştırmada, karides beslemede kullanılacak olan yemleri üç farklı yöntemle hidrostabilite testlerine maruz bırakmış (statik, yatay çalkalayıcı ve dikey çalkalayıcı düzeneklerle), statik yöntemde 6 saat suda bekletildikten sonra ölçülen kuru madde oranının %34 ve 25°C sıcaklıkta %88.9, ticari yemde ise %91.7 olduğunu kaydetmişlerdir. Dikey çalkalayıcıda, yüksek sıcaklık ve düşük tuzluluğun suda çözünmeyi arttırdığını, 6 saat suda bekleyen peletlerde kalan kuru madde oranının %72.8, ticari yemde ise bu rakamın %88 olduğunu belirlemişlerdir. Dikey çalkalamada suda 6 saat bekletilen yemlerde, kuru

madde seviyesinin %0 tuzluluk ve 35°C sıcaklıkta sadece %48.1, ticari yemde ise %83.5 olduğunu belirlemiştir. Bundan dolayı, üstteki literature bildirişleri ve elde ettiğimiz veriler ışığında, yerli olarak üretilen, kolay sindirilebilen ve hem protein olarak değerlendirilebilen hem de iyi bir bağlayıcı madde olarak kullanılabilen, ayrıca ek olarak da fiyatları diğer bağlayıcı maddelere göre daha uygun olan buğday glutenininin %3 oranında karides yem formülasyonlarına eklenmesinin, bizim uyguladığımız yem yapım tekniği için daha uygun olduğunu önermekteyiz (Terrazas-Fierro vd., 2010a; Brinker ve Reiter 2011). Sonuç olarak, bulgularımız 100-150 µ partikül boyutlarına kadar öğütülmüş hammaddelerle %38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji içeren yem formülasyonuna %3 oranında buğday gluteni eklendiğinde ve karışım pres pelet makinasından geçirilip (1 mm çapında ve 3-4 mm uzunlukta) ardından da 110°C'de, 0.5 bar basınç altında, 30 dk süreyle pişirilip gölgede 3-4 saat kurutulduğunda hidrostabilite açısından çok başarılı sonuçlar alınabileceğini ortaya koymuştur. Deneme bulgularımızın da gösterdiği üzere, buğday gluteninden de hidrostabilite açısından daha iyi sonuç veren diğer bazı bağlayıcı maddelerin de kullanılabilmesi mümkün olmakla birlikte, bu bağlayıcılarla üretilen yemlerin sindirilebilirlikleri ve maliyet artışlarının da dikkate alınması gerekir.

5.3. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı Önemli midir?

Su ürünlerinde entansif üretim tekniklerinin yaygınlaşması ve su ürünleri ticaretinin giderek globalleşmesiyle akvakültür sektöründe büyük gelişmeler ve ilerlemeler yaşanmış ve bununla birlikte yem sanayinde ticari yemler içerisinde büyümeyi uyarıcı bazı maddeler, antibiyotikler ve pek çok yem katkı maddelerinin eklenmesi yaygınlaşmıştır (Wang vd., 2008). Entansif üretim yapan modern akvakültür tesislerinde çevre koşullarının giderek daha da zorlandığı ve zaman zaman büyük ekonomik kayıplar yaşandığı da bilinmektedir. Çiftliklerde görülen bakteriyel enfeksiyonların önlenmesinde veya tedavi edilmesinde yaygın olarak kullanılan kimyasallar toplum sağlığını tehdit etmekte ve ayrıca kullanılan antibiyotiklere dayanıklı mikroorganizmaların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Miranda ve Zemelman, 2001). Bunları önlemek ve çevre dostu yetiştiricilik uygulamalarıyla üretim yapabilmek amacıyla, akvakültür tesislerinin daha sağlıklı mikrobiyolojik ortamlarda üretim yapabilmelerini sağlayabilecek alternatiflerin sunulması, hem üretilen ürünlerin daha sağlıklı olmasını sağlayacak, hem de karlılığı arttıracaktır. Bu hedef doğrultusunda, son zamanlarda hastalıklarla mücadelede kullanılabilecek ve aynı zamanda su ürünlerinin büyüme ve immün sistemlerini güçlendirebilecek probiyotik, fitojenik ve prebiyotik gibi bazı yem katkı maddeleri üzerine araştırmalar daha da yoğunlaştırılmıştır (Irianto ve Austin, 2002a). Bu yem katkı maddeleri içerisinde, akvakültürde mortaliteyi azaltma (Ringø ve Gate-soupe, 1998; Versc-huere vd., 2000a,b) ve büyüme/yem tüketim parametrelerini iyileştirme özellikleri sayesinde probiyotik ürünlerin daha hızlı yaygınlaşmakta olduğu dikkat çekmektedir. Probiyotikler doğal canlı mikrobiyal yem katkı maddeleri olup, balık ve karideslerin bağırsaklarında mikrobiyal dengeyi sağlar ve dolayısıyla büyüme, yem değerlendirme, yaşama oranı, bağışıklık sistemi ve hastalıklara direncini artırır, stresi azaltır, bağırsak morfolojisi üzerinde olumlu etkilerde bulunur, ayrıca, karkas ve et kalitesini yükseltirler (Wang vd., 2008).

Sucul ortamlarda üretilen balık ve karidesler aslında içinde yaşadıkları suda bolca bulunan bakterileri besin alımları esnasında ve osmoregulasyon ile sürekli olarak vücutlarına alırlar (Verschuere vd., 2000a). Farklı bakteri karışımlarından oluşan probiyotikler akvakültürde canlı yem aracılığıyla, banyo tarzında, kültür suyunda eritilerek veya ticari yapay yemlere karıştırılmak suretiyle verilebilir. Yemlere karıştırıp oral yolla su canlılarına uygulanmasının bakterilerin bağısıklarda koloni oluşturabilmeleri ve yerleşmelerinde ve bağısıklı sistemini daha hızlı uyararak hastalıklardan korunmalarında etkili olduğu bildirilmektedir (Taoka vd. 2006). Ancak yine de, bazı probiyotiklerin doğrudan suda eritilip kullanıldıklarında da hastalıklar üzerinde ve ayrıca da çevresel parametrelerin daha uygun koşullarda sürdürülebilmesinde etkili olabilecekleri bildirilmektedir. Bu çeşit probiyotikler suya belli oranda eklendiğinde zararlı patojen bakterileri azaltırlar, organik maddenin parçalanması ve mineralizasyonunu artırarak ayrıca istenmeyen atıkları da elemine ederler. Böylece yetiştiricilik esnasında havuz tabanında biriken ve daha sonraları anaerobik ortamda balçık haline dönüşen organik atıklar ortadan kaldırılmış olur. Suda kullanılan probiyotiklerin organik maddelerin parçalanmasında, azot, fosfor, toplam amonyak, nitrit ve hidrojen sülfür gibi bazı toksik atıkların yok edilmesinde yararlı oldukları bildirilmiştir (Boyd ve Massaut, 1999; Zhou vd., 2010).

Krummenauer vd. (2014) Pasifik beyaz karidesinin (*L. vannamei*) *Vibrio parahaemolyticus* ile enfekte edilmiş biyofloc sistemlerde yetiştiriciliğinde, iki farklı ticari bakteriyel probiyotik kullanmış, bu probiyotiklerden birisini (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Thiobacillus* spp., ve *Paracoccus* spp.) suya, diğerini (*Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., ve *Lactobacillus* spp.) ise yeme eklemiştir. Deneme sonunda probiyotik uygulanan grupta büyüme ve yaşama oranının, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ($P<0.05$), YÇO değerinin ise daha düşük çıktığını ($P<0.05$) belirlemiştir. Bu sebeplerden dolayı yürüttüğümüz bu proje çalışmaları kapsamında biz de hem oral olarak yemle karideslerin alacakları şekilde, Biomin (Avusturya) firmasının ürünlerinden olan probiyotiklerden birisini (AquaStar-Growout) yeme ekleyerek büyüme ve yem tüketim performanslarının iyileştirilmesi, diğerini (AquaStar-PondZyme) ise su kalitesini düzenlemek amacıyla periyodik olarak suya eklemek suretiyle RAS sisteminde dönen suyun kalitesini yükseltmek amacıyla kullanmayı tercih ettik.

İçinde birçok bakteri karışımının olduğu bir probiyotik ürününün *Vibrio* ile enfekte edilmiş karideslerde %30 civarında yaşama oranını arttırdığı, belirgin bir şekilde daha iyi büyüme ve yem değerlendirme sağladığı görülmüştür (Krummenauer vd., 2014). Profilaktik dozda probiyotik kullanımının rekabet sayesinde patojen bakterileri kontrol altında tutarak yetiştiricilikleri yapılan karideslerin (*P. vannamei*) sağlığını ve büyüme performanslarını olumlu etkiledikleri bildirilmektedir. Yürüttüğümüz proje kapsamında suda eriterek haftalık olarak 0.1 g/m^3 dozunda kullandığımız AquaStar-PondZyme ve 5 g/kg olarak yeme ekleyerek kullandığımız diğer bir probiyotik olan AquaStar-Growout, ilaveten sadece yem formülasyonuna 0.7 kg/kg oranında eklediğimiz PEP MGE adlı bir fitojenik ürünün 2 ay süren denemede kullanımında, Pasifik beyaz karideslerinin büyüme, yaşama oranı ve YÇO değerlerinde, kontrol gruplarına kıyasla, herhangi bir istatistiksel farklılık görülmemiştir. Deneme sonunda karidesler gruplarında final ortalama ağırlıklar 5.70 ile 5.95 g , yaşama oranları %63.33 ile %72.67, SBO değerleri (%/gün olarak) 3.36 ile 3.49 ve YÇO

değerleri ise 1.50 ile 1.61 arasında değişim göstermiştir ($P>0.05$). Elde ettiğimiz bulgulara benzer şekilde Castex vd. (2008) de, bir laktik asit bakterisini [*Pediococcus acidilactici* (strain MA 18/5M, CNCM)], probiyotik olarak karides (*L. stylirostris*) yetiştiriciliğinde kullanmış ve bu uygulamanın karideslerde deneme sonu ağırlıklarını ve YÇÖ değerlerini değiştirmedeğini ($P>0.05$), ancak bizdeki bulgulardan farklı olarak yaşama oranlarını %7-15 oranında ve biyoması da %8-12 oranında artırdığını belirlemişlerdir. De Souza vd. (2012) pembe karidesinde (*Farfantepenaeus brasiliensis*), 30 gün süren ön-büyütme döneminde, sıfır su değişkenliği koşullarında suya uygulanan probiyotik kullanımının avantajlarını test etmişler ve deneme sonunda karides ortalama ağırlıklarının ve SBO'ların probiyotik uygulanan gruplarda daha yüksek olduğunu bulmuşlar. Zokaeifar vd. (2013) araştırmalarında, *B. subtilis* varyetelerinin kullanımında su kalite kriterlerinin iyileştirilebileceği, karides (*L. vannamei*) büyüme ve yem tüketim performanslarının yükseltilebileceği, sindirim enzim aktivitelerinin, bağışıklık yanıtları ve hastalık dirençlerinin artırılacağı anlaşılmıştır. Hossain vd. (2013) 138 gün süren bir denemede probiyotik kullanımının siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) büyüme ve yaşama oranı üzerine etkilerini incelemişler ve neticede probiyotik uygulamasının su ve havuz taban toprak kalite parameterlerinin yükseltilmesinde ve sürdürülebilmesinde etkili olduğunu, ayrıca karideslerin sağlıklı bir şekilde ve daha yüksek performans ile büyütülebilmelerine katkı getirdiklerini belirlemişlerdir. Bulgulardaki farklılıkların pek çok farklı sebeplerden kaynaklanmış olma ihtimali vardır, ki bunların başında kullanılan probiyotik bakterilerin türleri, varyeteleri, aktiflik durumları, yoğunlukları ve uygulandıkları karides türleri ve uygulama teknikleri vb. sayılabilir (Ninave ve Selvini, 2009).

Günümüzde, tek tür veya çok sayıda bakteri türünden oluşturulan çok sayıda ticari probiyotik ürünlerin piyasadan temin edilebilmesi mümkündür. Çoklu türlerden oluşan ürünlerin hedef türde bağışıklık sistemini daha hızlı uyarabildiği (Cabral ve Costa, 1999; Irianto ve Austin, 2002b; Salinas vd., 2006) ve bağırsaklarda daha kolay koloni oluşturabildikleri bildirilmiştir (Salinas vd., 2008). Denememizin sonunda karides bağırsaklarından ve grupların buldukları tankların sularından alınan örneklerde bakteri ekimi ile beraber gelişen bakteri kolonilerinin sayımı neticesinde; yemde ve/veya suda probiotik kullanımının bağırsaklarda yeterince etkili olmadığı ($P>0.05$), ancak sudan alınan örneklerde ise tam tersine, özellikle *Vibrio* miktarında ciddi oranlarda düşmelere neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). De Souza vd. (2012) pembe karidesinde (*Farfantepenaeus brasiliensis*), 30 gün süren ön-büyütme döneminde, sıfır su değişkenliği koşullarında, suya uygulanan probiyotik kullanımının avantajlarını test etmişler ve probiyotik uygulanan tanklarda *Vibrio* türlerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük oranlarda bulduklarını belirlemişlerdir. Çoklu bakteri (*Enterococcus faecium*) varyetesi karışımından oluşan bir probiyotik ürün (AquaStar®, BIOMIN GmbH, Avusturya) ile günde 5 kez olmak üzere 6 hafta süre ile beslenen karideslerde (5 g/kg yem) hepatopankreas ve bağırsaklarda bulunan *Vibrio* spp. miktarının azaltılabildiği gösterilmiştir (Supamattaya vd., 2005). Non-specific (doğal) immün sistemin probiyotikler aracılığıyla uyarılabileceği ve *Bacillus* sp. kullanımının siyah kaplan karidesinin (*P. monodon*) hem hücresel hem de humoral immün savunma sistemlerinin uyarılmaları sayesinde hastalıklardan korunabileceği bildirilmiştir (Rengpipat vd., 2000). Supamattaya vd. (2005), probiyotiklerin karides (*P. vannamei*) bağırsak bakteriyel ekolo-

jisini olumlu etkilediğini ve diğer bakterilerle rekabet ederek bağırsaklardaki *Vibrio* türlerini azalttığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla bulgularımızdan ve üstte literatürde belirtilen sebeplerden dolayı, özellikle RAS sistemlerinde yüksek stoklama koşullarında yüksek seviyelerde birikimi beklenen organik atıklar, toplam amonyak, nitrit, nitrat, hidrojen sülfür ve bazı fosforlu atıklarının seviyelerinin kontrol altında tutulabilmesi ve su kalitesinin yüksek seviyelerde devamlılığı adına en azından suda probiyotik kullanımının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Probiyotik ve fitojenik maddeler kullandığımız deneme sonunda karideslerde bağışıklı sisteminin etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla yaptığımız tuzluluk stres testi neticesinde probiyotik kullanılan gruplarda 6. saatte yaşama oranları %10 ile %20 arasında değişmiş iken, kontrol gruplarında tüm karidesler test sonunda ölmüşlerdir. Ancak bakteri dayanıklılık testinde *V. parahaemolyticus* enjekte edilen karideslerde elde edilen bulgular net olarak probiyotik kullanımının pozitif etkilerini göstermemiştir. Zokaeifar vd. (2014) iki farklı probiyotik seviyesinde yürüttükleri deneme sonunda yaptıkları bakteri (*V. harveyi*) dayanıklılık testinde kontrol grubunda toplam mortalitenin %80, probiyotik gruplarında ise %36.7-50 olduğunu belirlemişlerdir. Denemenizin sonunda probiyotik ve/veya fitojenik madde uygulanan (su ve/veya yem katkı maddelerinin karideslerin tuzluluk direnci üzerine etkileri incelendiğinde, gruplar arasında herhangi bir farklılığın görülmediği anlaşılmıştır. Bulgularımızın tersine, Kolanchinathan vd. (2017) ise siyah kaplan karidesinde iki farklı probiyotik türünün oral olarak uygulanmasıyla probiyotik bakterilerinin karideslerin bağırsaklarına daha yüksek oranda tutunabildiklerini, deneme sonunda bu grupların *V. alginolyticus* enjeksiyonu ile oluşturulan enfeksiyonlara daha yüksek direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bu sonuç, oral yolla verdiğimiz probiyotiğin karides bağırsak mikroflorasına tam anlamıyla yerleşemediğini, dolayısıyla beklenen olumlu etkilerin bu nedenle alınamadığını göstermiştir.

Probiyotikler hem karideslerin bağırsak hem de su ortamının mikrobiyal florasının iyileştirilmesinde, organik atıkların degradasyonunda, toksik maddelerin/gazların (amonyak, nitrit, nitrat, hidrojen sülfür vd.) ve organik kokuların yok edilmesinde güvenle kullanılmaktadır. Bulgularımıza benzer şekilde, Zokaeifar vd. (2014) çalışmalarında iki *Bacillus subtilis* varyetesini iki farklı yoğunluklarda (10^5 ve 10^8 CFU oranlarında) eşit oranlarda kullanmış ve 8 ay süreyle karidesleri (*L. vannamei*) yetiştirdikleri suda amonyak, nitrit ve nitrat seviyelerinde önemli azalmalar tespit etmişlerdir. Üstteki araştırmacılar, kontrol grubuna kıyasla, probiyotik kullanılan her iki grupta da deneme sonu karides ağırlıkları, canlı ağırlık kazancı, spesifik büyüme oranı (SBO), yem çevrim oranı (YÇO) ve sindirim enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Yüksek probiyotik seviyesinin kullanıldığı grupta yaşama oranı da kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda iki farklı RAS sisteminde yürüttüğümüz denemelerde probiyotikli suda ölçülen amonyak, nitrit ve nitrat değerleri istatistiki olarak probiyotik kullanılmayan sudakine göre daha düşük çıkmıştır ($P<0.05$). Bu bulgularımız da, kullandığımız probiyotiklerin karidesin biyolojik performans parametreleri üzerinden ziyade, su kalite kriterleri üzerinde iyileştirici etkilerde bulunduğunu ortaya koymuştur.

Nispeten beslemede yeni kullanılmaya başlanan fitojenik yem katkı maddeleri bitkisel orjinli maddeler olup, su canlılarının performanlarını arttırma özelliğine sahiptirler. Bu bitkisel aktif maddeler (örneğin fenolik ve flavanoidler) antimikrobiyal özellikte olup, bağırsak patojenik bakterilerin seviyesini azaltıcı özelliklere sahip, sindirim enzimlerini uyarıcı, antiinflamatuar ve antioksidan özelliklere sahiptirler (Encarnaço, 2014). Yem çevrim etkinliğini yükseltme özellikleri sayesinde özellikle pahalı hammaddelerin kullanıldığı (balık unu gibi) durumlarda veya daha düşük kalitede hammaddelerin yem formülasyonlarında daha yüksek oranlarda kullanılabilmesine imkan verebilirler. Ticari bir fitojenik ürünün kullanıldığı (Digestarom® P.E.P. MGE) bir çalışmada, karidesler (0.33 g) beş izoproteik yem (%40 ham protein) ile [%25 balık unu (BU, kontrol), %22 ve %19 BU, %22 BU ve %19 BU+Digestarom® P.E.P. MGE] 8 hafta süreyle beslenmişlerdir. Bulgular %25 BU içeren grubun en iyi performans gösterdiğini, BU'nun yemde azaltılması ile karideslerde büyüme performansının düştüğünü, fitojenik madde içeren düşük proteinli yemlerde ise canlı ağırlık kazancının, büyüme oranının, protein etkinliğinin ve yem çevrim etkinliklerinin yükseldiğini göstermiştir. Peterson ve Bosworth (2014) yine üstte belirtilen ticari fitojenik ürünün (Digestarom® P.E.P. MGE) kanal kedibalığının büyüme performansı, et oranı, fileto kompozisyonu ve yaşama oranı üzerine etkilerini incelemişler ve deneme sonunda balık ağırlıklarının, yem tüketim değerlerinin, et oranı ve yaşama oranlarının gruplar arasında değişmediğini belirlemişlerdir. Analiz sonuçları fitojenik madde içeren yemle beslenen balıkların filetolarının daha düşük oranda yağ, ancak tam tersine daha yüksek seviyede protein içerdiğini ($P<0.01$) göstermiştir. Böylece, bu çalışma kanal kedi balıklarında fitojenik maddenin önemli bir ticari özellik olan (yüksek protein ve düşük lipit) fileto kalitesinin yükseltilmesi amacıyla kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Standen (2016) de fitojenik yem katkı maddelerinin özellikle BU yerine ikame edilme durumlarında palatabilite (lezzet), yem etkinliği ve büyümenin uyarılmasında kullanılabileceğini önermiştir. BU'nun seviyesinin %25'ten %19'a kadar azaltıldığı yemlerde bir fitojenik ürün olan Digestarom® PEP MGE 200g/ton kullanılan gruplarda deneme sonu ağırlığı ve YÇÖ %10 yükselmiş ve SBO ise %3 iyileşme göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise fitojenik madde kullanılan grupların RAS yetiştiricilik sistemlerinde, gerek probiyotikli gerekse probiyotiksiz sulara, karides büyüme ve yem tüketim performanslarında belirgin bir avantaj sağlamadıkları ve bağırsakta *Vibrio* ve toplam bakteri koloni sayısını da etkilemedikleri, ancak sadece probiyotik uygulanan suda *Vibrio* sayısını istatistik anlamda azalttığını göstermiştir ($P<0.05$).

Sonuç olarak, geliştirmek istediğimiz prototip resirküle üretim modelimiz kapsamında, Dünya'nın en büyük probiyotik üreticilerinden ve projemizin partner firması olan Biomin (Avusturya)'in ürettiği bazı probiyotik (AquaStar-Growout® ve AquaStar-PondZyme®) ve bir fitojenik ürünün (Digestarom PEP MGE®) değişik kombinasyonlarda hem yem katkı maddesi hem de su kalitesini iyileştirici özelliklerini test ettiğimizde özellikle probiyotiklerin hem suda hem yemde kullanımının hastalık riski taşıyan bakterilerin baskılanması amacıyla kullanılabilceği önerilmektedir.

5.4. Süper-Entansif Stoklama Yoğunlukları Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?

Sıcaklık veya diğer çevresel stres kaynaklarının herhangi birinde ani bir artış spesifik bazı proteinlerin sentezlenmesine neden olur ki bunlara ısı şok proteinleri (HSP) denmektedir. HSP'lerin iyi bir stres-indikatörü olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Sanders, 1993). Stoklama yoğunluğu doğrudan sucul canlıların yaşam konforunu ve üreticinin birim alandan elde edeceği ürün miktarını etkileyen önemli parametrelere dendir. İdeal stok yoğunluğu sucul canlılarda büyümenin sürdürülebildiği ve aynı zamanda su kalite kriterlerini olumsuz etkilemeyen yoğunluk olarak bilinir. Aşırı stoklamada büyüme çoğu zaman düşer ve ayrıca su canlılarının davranışları ve bağışıklık sistemleri de bundan olumsuz etkilenebilir. Yapılan çalışmalar, balıklarda artan stok yoğunluğunun metabolik ve antioksidan enzimlerin miktarını azalttığını ve aksine stres ile ilintili proteinlerden HSP70'i yükselttiğini göstermiştir (Aksakal vd., 2011). Bu araştırmacılar gökkuşuğu balığı ile yaptıkları bir çalışmada, 15, 20, 25 ve 30 kg/m³ stok yoğunluklarını test etmiş ve en yüksek stok yoğunluklarında HSP70'in ekspresyon seviyesinin yükseldiğini ve dolayısıyla kas dokuda ölçülen bu değerlerin balıkta ciddi bir stres yaşandığını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Entansif stok koşulları gibi uzun süreli stres (kronik) durumlarında fizyolojik denge kurulamaz (en azından uzunca bir süre için) ve hastalık etmenlerine olan direnç azalır; üreme ve büyüme de bundan olumsuz etkilenir (Van Weerd ve Komen, 1998). Yüksek stoklama koşullarında su kalitesinde gerçekleşen düşüşlerin de su canlılarında büyümeyi olumsuz etkilediği, yem alımını ve yemden yararlanmayı düşürdüğü bilinmektedir. Kronik stresin giderilmesi balığın sağlık durumu ve büyüme performansı açısından akvakültürde büyük önem taşımaktadır. Karidesler büyütme esnasında kısa (saat veya gün) veya uzun süreli (bir veya birkaç hafta) çevresel, biyolojik veya elle muameleden kaynaklı olarak strese maruz kalabilirler. Stres karideslerin hastalıklara karşı hassasiyetlerini artırır ve bağışıklık savunma kapasitelerini düşürür (Le Moullac ve Haffner 2000). Bazı immünolojik değişkenlerden toplam hematosit sayımı (THS) ve plazma protein seviyesi immün durumun belirlenmesinde kullanılmıştır (Rodríguez ve Le Moullac 2000). Bazı fizyolojik değişkenlerden de glukoz (Racotta ve Palacios 1998), laktat (Racotta ve Palacios 1998) ve osmoregülasyon kapasitesi de (Charmantier ve Soyez 1994) stres indikatörleri olarak değerlendirilmiştir. Diğer bazı fizyolojik parametreler içerisinde; toplam protein, toplam lipid, trigliseridler, ve kolesterol de karideslerde besinsel durum ve sağlık durumunun analiz edilmesinde dikkate alınmıştır (Sánchez vd., 2001). Projemizin II. ve IV. denemelerinde yürüttüğümüz çalışmalarda artan stok yoğunluklarının her iki karides türünde de (*P. semisulcatus* ve *P. vannamei*) büyüme ve yem tüketim performans parametreleri, tuzluluk/formalin stres testleri, HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyeleri, bazı biyokimyasal parametreler (serum protein, trigliserit, laktat, ALP, AST ve ALT değerleri) ile bazı immünolojik parametreler (lizozim, hematosit sayısı, fagositik aktivite ve fagositik indeks) üzerine etkileri araştırılmıştır. Genel olarak *P. semisulcatus* ile tank koşullarında yürütülen çalışmalarda gerek ön-büyütme gerekse büyütme amaçlı yetiştiriciliklerde yüksek oranlarda görülen kanibalizm sorunu ve elde edilen düşük yaşama oranları nedeniyle, bu karides türünde deneme girişimleri başarısız olmuş ve alınan bazı örneklerde HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon analizleri de, türe özgü spesifik primerler olmadığı için, partner araştırmamız tarafından

Tayland'taki laboratuvarlarda yapılamamıştır. Zaten ülkemizde yapılan araştırmalarda yeşil kaplan karidesinin (*P. semisulcatus*) sert tank zeminlerinde (beton veya fiberglas) ve özellikle de yüksek stoklama yoğunluklarında iyi bir büyüme performansı göstermediği bir çok araştırmada da belirlenmiştir (Kumlu vd., 2003; Türkmen vd., 2007a,b; Kumlu vd., 2010c; 2016). 2013-2016 yılları arasında yürüttüğümüz bir TAGEM projesinde *P. semisulcatus* 30 m² beton tanklarda 40, 80 ve 120 adet/m² stok yoğunluklarında 6 ay boyunca büyütülmüş ve deneme sonunda gruplar, sırasıyla ancak %28, %25 ve %22.30 yaşama oranlarıyla ve ortalama 18.50, 12.80 ve 11.47 g ağırlıklara ulaştırılabilmişlerdir. Bu deneme süresince hesaplanan YÇO ise 2.97 ile 3.58 arasında değişmiştir (Kumlu vd., 2016). TÜBİTAK projemiz kapsamında da özellikle 40-45 cm derinlikteki sığ sularda ve fiberglas zeminde (altı katlı sistemimizde) karideslerde o kadar yoğun bir kanibalizm ile karşılaşmıştır ki, denemenin devam ettirilmesinin bir anlamı kalmamıştır. Dolayısıyla, *P. semisulcatus*'un ülkemizde yetiştirilmesi durumunda portlarvaların ön-büyütme aşamasında mutlaka substratların bolca bulunduğu bir ortamda yetiştirilmeleri (0.2-0.5 grama kadar) veya olabildiği kadar erken dönemde (PL15-20 gibi) toprak havuzlara stoklanması suretiyle kanibalizmi azaltma yoluna gitmek gereklidir. Ticari ölçekte de bu türün üretimi yapılacaksa, mutlaka yumuşak tabanlı ve derin toprak havuzlarda üretim yoluna gidilmesi önerilmektedir.

Son zamanlarda Pasifik beyaz karidesinde (*P. vannamei*) termal stres, pH dayanıklılık testi, ağır metal testi (Qian vd., 2012) ve bakteri dayanıklılık testi (Zhou vd., 2010) neticesinde, bu çevresel stres faktörlerinin akut etkilerinin veya uzun açlık periyodu ve ardından yeniden beslemenin (Lin vd., 2012) farklı HSP gen ekspresyonlarına (LVHSP60, LVHSP70, LVHSC70, ve LVHSP90 veya HSP60 ve HSP70) etkileri çalışılmıştır. Ancak, karideslerde stoklama yoğunluğunun stres oluşturduğuna (akut veya kronik) ve bunun farklı dokularda (et, solungaç ve hepatopankreas) HSP'lerin sentezlenmesine yol açtığına dair bugüne kadar herhangi hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, yine karideslerin bağışıklık sistemlerinin yüksek stok yoğunluklarında nasıl etkilendiğine dair formalin testi, salinite testi ve bakteriyel dayanıklılık testi çalışmaları da henüz yapılmamıştır. Üstte belirtilen eksikliklerin giderilmesi amacıyla projemizin II. ve IV. Denemelerinde, stok yoğunluğu artışı ile stres indikatörü olan ısı şok proteinlerin (HSP) gen ekspresyonları arasındaki ilişki, ve ayrıca dayanıklılık testleri ile geliştirmeyi hedeflediğimiz prototip üretim modelimizde kullanabileceğimiz maksimum sürdürülebilir stok yoğunluğu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu araştırmalarımızda stok yoğunluğu, dayanıklılık testleri, HSP ve ayrıca bazı biyokimyasal ve immünolojik parametreler arasındaki ilişki ilk kez bu projemizde ayrıntılı olarak ele alınmış ve incelenmiştir.

5.4.1. Ön-büyütmede (II. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki

5.4.1.1. Biyolojik performans

Ön-büyütme aşamasında üç farklı stoklama yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) yetiştirilen *P. vannamei* yavrularında deneme sonu yaşama oranları, sırasıyla, %77, %78 ve %82 olarak ve ortalama ağırlıklar ise 1.35, 1.09 ve 1.12 g olarak elde edilmiş ($P>0.05$), günlük ortalama yem tüketim değerleri (grup başına) stok yoğunluğunun artışı ile birlikte yükselme göstermiştir ($P<0.05$). Deneme

sonunuda uygulanan tuzluluk ve formalin stres tesleri stoklama yoğunluğunun artışı ile 6 saat süren stres testlerindeki yaşama oranlarının düştüğünü, diğer bir ifadeyle, yüksek stoklama koşullarında yetiştirilen karideslerde çevresel koşullara hassasiyetin arttığını ortaya koymuştur ($P<0.05$).

5.4.1.2. Isı Şok Proteinleri

HSP70 ekspresyon analizleri için, deneme başlatılmadan önce stok tanktan alınan 0. gün örneklemeğinde HSP70 değeri 1.13 olarak belirlenmiş, 1 gün sonra tüm stoklama gruplarında (200, 400 ve 800 adet/m²) bu değer, sırasıyla, 1.44, 1.96 ve 1.88 seviyelerine yükselmiştir. Ancak, %30.56 ile %36.11 seviyesinde artışlara rağmen yinede ilk gün HSP70 verileri üzerinde yapılan istatistik hesaplamalar gruplar arasında bir fark olmadığını göstermiştir ($P>0.05$). Denemenin 3, 7 ve en son 30. günlerinde alınan örneklerde ise stoklama yoğunluğunun artışı ile birlikte HSP70 verilerinde anlamlı bir eğilim belirlenememiştir.

HSP90 gen ekspresyon analizlerinde 0. gün örneklemeğinde belirlenen 1.51'lik gen ekspresyon seviyesi, 1. günde stoklama yoğunluğundaki artışa paralel olarak artış göstermiş ve bu artış özellikle 800 adet/m² stok yoğunluğunda, düşük stok yoğunluğuna (200 adet/m²) kıyasla, 9-10 kat olarak gerçekleşmiştir ($P<0.05$). İlk günde, orta stoklama yoğunluğu olan 400 adet/m² grubunda da, 200 adet/m² grubuna kıyasla, HSP90 seviyesi yaklaşık 2.5 kat yükselmiş, ancak istatistik bir farklılık belirlenememiştir ($P>0.05$). Gruplar arasındaki bu anlamlı farklılık 3. günde daha az belirgin hale gelmiş, ve 7. günde artan stoklama yoğunluğuna paralel bir artış görülmüş olsa da, gruplar arasında istatistik bir farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$). 30. günde alınan 3 farklı doku örneklerinin hiçbirinde de stoklama yoğunluğuyla ilintili bir eğilim belirlenememiştir. Bu veriler hem HSP70 hem de HSP90 gen ekspresyon analiz sonuçlarının stoklama yoğunluklarıyla ilintili olarak artış gösterdiklerini, ancak özellikle HSP90'nın daha da fazla etkilendiğini ortaya koymuştur. Stoklamanın HSP gen ekspresyon seviyeleri üzerine etkileri kısa süreli olmuş ve genellikle 1-2 günden sonra seviyeler normal düzeye iniş göstermiştir. Guo vd. (2010), günlük sıcaklık dalgalanmasının (25°C sabit sıcaklık, 25±1°C, 25±2°C, 25±3°C ve 25±4°C) Pasifik beyaz karidesinin (*L. vannamei*) büyüme ve fizyolojik durumu ile ilgili etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, 25±4°C rejiminde büyümenin, 25°C'lik sabit sıcaklıktaki karideslere göre, önemli ölçüde daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmada, günlük sıcaklık dalgalanmasının HSP70 üzerinde önemli bir artış yaratmadığını, bunun nedeninin ±4°C'lik dalgalanma baskısının HSP70 gen ekspresyonlarında önemli bir değişiklik için yeterli seviyede stres yaratmamış olabilmesine bağlamışlardır. Zhenyu vd. (2004), farklı stres kaynaklarının (sıcak veya soğuk şoku ile *Vibrio anguillarum* ile WSSV uygulaması) Çin karidesinde (*F. chinensis*) ilk kez farklı dokularda HSP70 ekspresyonunu etkilediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, sıcaklık şoku ve WSSV stres uygulamaları ile HSP70'in hepatopankreas ve solungaçlarda belirgin olarak indüklendiğini, ancak kas, gözsapı ve hemolenfte ise gözlemlenmediğini kaydetmişlerdir. Soğuk şok ve WSSV muamelesinin, inceledikleri tüm dokularda HSP70 seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı sonucuna

varmışlardır. HSP70 indüksiyonunun karideslerde, ortam sıcaklığının akut olarak 10°C arttırıldığı durumlarda ve sadece uygulamadan 2 saat sonra en yüksek değere çıktığını belirtmişlerdir.

Zhou vd. (2010), çalışmalarında Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*) bakteri yüklenmesine tepki olarak HSP60 ve HSP70'in gen ekspresyonlarını incelemişler ve bu çalışmada LvHSP60 mRNA'nın hem yapısal hem de indüklenebilir olduğunu, hematositlerde, kas, mide, kalp, hepatopankreas ve solungaç dokusu dahil olmak üzere, incelenen hemen hemen tüm dokularda (bağırsak hariç) yüksek oranda belirlenebildiğini ifade etmişlerdir. Solungaçta, hepatopankreasta ve hematositlerde bakteri yüklenmesinden sonra LvHSP60'ın belirgin olarak yukarıya doğru yükseldiğini, hematosit ve hepatopankreasta LvHSP70'in transkripsiyonunun da indüklendiğini kaydetmişlerdir. Ang-lu vd. (2015), *Exopalaemon carinicauda*'daki ısı şok proteini (HSP) familyalarının (HSP70 ve HSP90) mRNA ekspresyonunu, akut sıcaklık stresini takiben araştırmışlar ve karideslerin 19, 23 ve 27°C sıcaklık stresine maruz bırakıldıklarında HSP70 mRNA ekspresyon seviyelerini 2 saat içinde arttırdıklarını, ancak daha sonra denemenin sonuna (48 saat) kadar azalttıklarını, HSP90 mRNA ekspresyon seviyelerinin ise 2 saatte azaldığını ve denemenin sonuna doğru ise yükseldiğini belirlemişlerdir. Karidesin HSP70 ve HSP90 mRNA ekspresyonu arasındaki bu farklılığın ısı stresine gösterilen farklı rollerle ilişkili olabileceğini ve sonuçta bu her iki HSP genlerinin de karideslerin sıcaklığa dayanıklılıklarında çok önemli roller oynayabileceklerini ifade etmişlerdir. Bir çalışmada, Loc vd. (2013), karidesleri (*L. vannamei*) enfeksiyona karşı koruyan mekanizmaları daha iyi anlamak için post larvalarda ölümcül olmayan bir ısı şokunun ardından 30 dakika süreli ani ısı şokunun kontrol grubuna kıyasla HSP70 mRNA'sını arttırdığını belirlemişlerdir. Chen vd. (2015b), *Gracilaria tenuistipitata* ekstraktı (GTE) içeren deniz suyunda (%35) amonyak stresine maruz bıraktıkları beyaz karideslerde (*L. vannamei*) HSP70'in transkript seviyesinin stres sonrası 24 saat içinde regüle edilebildiğini kaydetmişlerdir. Üstte belirtilen literatür bildirişlerinden ve II. deneme bulgularımızdan yola çıkarak, özellikle ön-büyütme döneminde 800 adet/m² (1-1.5 g boyutlarında) gibi test ettiğimiz en yüksek stoklama yoğunluğunun karideslerde HSP70 ve özellikle de HSP90 gen ekspresyon seviyelerini uyararak yükselttiği, ancak bu uyarımın 1-2 gün içerisinde azalarak seviyelerin tekrar normale dönerek regüle edilebildiği belirlenmiştir. Kronik yüksek stoklamanın da hiçbir organda (hepatopankreas, solungaç ve kas) HSP70 veya HSP90 genlerinin ekspresyon seviyelerinde belirgin bir fark yaratmadığı ve karideslerin maruz kaldıkları stresöre zamanla adapte olabildikleri anlaşılmıştır.

5.4.2. Büyütmeye (IV. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki

Bu denemede ortalama 1.06 g ile başlayan ve üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) 4 ay süreyle büyütülen karideslerde büyüme ve yem tüketim performans parametreleri araştırılmış ve ayrıca denemenin 2. ve 4. aylarında alınan doku örneklerinde (hepatopankreas, solungaç ve kas) HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyeleri ve ilaveten de alınan hemolenf örneklerinde bazı plazma biyokimyasal ve immünolojik parametreler incelenmiştir.

5.4.2.1. Biyolojik performans

Uzun süreli stres koşullarında deneme sonu yaşama oranı, ağırlık kazancı, yem tüketimi ve kabuk değişimi gibi bazı biyolojik performans verileri takip edilir. Pickering (1993) düşük ortalama canlı ağırlık verileri veya büyüme oranında görülen azalmanın uzun süreli stresin belirlenmesinde iyi bir indikatör olduğunu bildirmiştir. Büyütme denememiz sonunda grupların yaşama oranlarının 40 adet/m² grubunda %77.50, 80 adet/m² grubunda %76.50 ve en yüksek stoklama grubu olan 160 adet/m² grubunda ise %62.00 olduğu belirlenmiştir. Deneme sonu ortalama karides ağırlıklarının da yine artan stoklama yoğunluklarının artışı ile birlikte (40, 80 ve 160 adet/m²) azaldığı ve 22.15, 18.31 ve 19.93 g olarak bulunduğu (P<0.05), SBO değerlerinin de gruplarda sırasıyla %2.55/gün, %2.39/gün ve %2.43/gün olarak hesaplandığı görülmüştür (P<0.05). Büyüme performans verilerimiz 40 adet/m² stoklama yoğunluğunun üzerinde test ettiğimiz stoklama koşullarında 40-45 cm derinlikteki tanklarda karideslerde stres nedeniyle tüm performans değerlerinde bir azalma gerçekleştiğine dikkat çekmiştir.

5.4.2.2. Biyokimyasal ve İmmün Parametreler

Dış stresörler tarafından fizyolojik sistemlerin normal sınırların dışına çıkmaya zorlanmaları halinde hayvanlarda stres oluşur. Stres indikatörleri hayvanların kısa süreli durumları veya uzun süreli sağlık durumlarının değerlendirilmesi hakkında fikir verirler. Bundan dolayı da, yetiştiricilik esnasında sağlık durumlarının doğru yöntemlerle belirlenmesi, havuzlardaki karides popülasyonlarının sağlıklı bir şekilde yönetilmesine katkı getirir. Sağlık ve immün parametrelerin düzenli olarak değerlendirilmesi sadece popülasyonların mevcut sağlık durumlarıyla ilgili bilgi vermez, aynı zamanda stres durumlarında profilaktik önlemlerle canlıların hastalanmadan durumu atlatabilmelerine de yardımcı olabilir. Pek çok çalışma stres koşullarında karideslerin hematolojik parametrelerinde değişiklikler gerçekleştiğini bildirmiştir (Le Moullac ve Haffner, 2000; Sanchez vd., 2001; Pascual vd., 2003). Bazı araştırmalar hemolenf içeriğindeki toplam protein, glikoz, trigliserit, kolesterol ve laktatın karideslerde fizyolojik durum indikatörlerinden olduklarını bildirmiştir (Sanchez vd., 2001).

Bir su canlısında optimal koşullarda (yani stresin olmadığı durumlarda) plazma total protein ve trigliserit değerlerinin yüksek çıkması ve tam tersine stres koşullarında bu değerlerin düşmesi beklenir. Toplam serum protein içeriğinin balıklarda sağlık durumu ile ilgili bir indikatör olarak kullanılabileceği Binuramesh ve Michael (2011) tarafından bildirilmiştir. Yüksek stoklama yoğunluğunda bulunan sazanlarda da toplam serum proteininin düştüğü Yin vd. (1995) tarafından bildirilmiştir. Bu araştırmacılar plazma toplam protein seviyelerinde azalmaların balıklarda enfeksiyon riskini arttırdığını ifade etmişlerdir. Gerçekten de denemenin 2. ayında gruplar bazında plazma toplam protein değerlerine bakıldığında, grup içerisinde en yüksek toplam protein değerinin 40 adet/m² stok grubunda olduğu görülmüş ve bunu 80 adet/m² grubu ve ardından da 160 adet/m² grubu takip etmiştir. Buna rağmen yapılan değerlendirme sonucunda, bu dönemde yine de gruplar arasında istatistiki herhangi bir farklılık tespit edilememiştir (P>0.05). Bu parametre 4. ayda yürütülen analizlerde ise istatistiksel farklılıklar göstermiş olmakla birlikte, bu

farklılığın stoklama yoğunluğuyla ilişkili olmadığı görülmüştür ($P<0.05$). Denemenin 2. ayında plazma trigliserit değerleri açısından da üsttekine benzer şekilde; gruplar arasında en yüksek değer 40 adet/m² grubunda ölçülmüş, bu grubu 80 adet/m² ve ardından da 160 adet/m² grubu izlemiştir ($P<0.05$). Diğer yandan, 4. ay analizlerinde en yüksek trigliserit değeri 160 adet/m² grubunda, en düşük değer ise 80 adet/m² grubunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Özellikle 2. ay plazma total protein ve trigliserit değerleri bu dönemde yüksek stoklama yoğunluklarının bu parametreleri etkilediğini, ancak 4. ayda bu etkinin ortadan kalktığını göstermiştir. Çalışmamızdakine benzer şekilde, Mercier vd. (2006) de Pasifik beyaz karideslerinin (*L. vannamei*) 4 hafta süreyle tekrarlanan stres koşullarına maruz bırakıldıklarında plazma protein, toplam lipid ve trigliserit değerlerinde düşmeler belirlemişlerdir. Toplam protein ve toplam lipid, yaşama oranı ve immün değişkenlerle pozitif korelasyon gösterirler. Karideslerde immün bileşiklerin büyük bir kısmı proteinlerden oluştuğu için, immün parametrelerinde düşmeler dolayısıyla yaşama oranında düşmeler, patojenik enfeksiyon durumlarında da toplam proteinlerin plazmada azalması beklenen bir durumdur (Joseph ve Philip, 2007).

Stres esnasında hızla enerji kaynağı olarak kullanılabilen karbonhidratlar ve lipitler yaşama oranının yükselmesinde etkili olan immün kapasitenin devamlılığında önemli rol oynarlar. Mercier vd. (2009) uzun süreli stres koşullarında trigliseritler, kolesterol, total lipid ve ozmotik basınç parametrelerinde önemli değişiklikler gerçekleşmediğini bildirmişlerdir. Bizim de çalışmamızda 4. ayda ölçülen total protein ve trigliserit değerleri arasında anlamlı farklılıkların çıkmamasının nedeni uzun süreli stres koşullarında karideslerin bu uzun süreçte koşullara adapte olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Mercier vd., 2006 ve 2009). Kronik strese maruz bırakılan karideslerde stresin atlatılmasına yönelik gerekli olan enerjinin karşılanmasında plazmada bulunan proteinlerin kullanıldığı bildirilmektedir (Mercier vd. 2009). Fouzi vd. (2012), WSSV enfekte ettikleri ve 10 gün boyunca amonyağa maruz bıraktıkları karideslerde stresin daha da arttığını ve bu grupta hemolenf total protein seviyesinin amonyaktaki seviyenin artışı ile birlikte önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Plazmada bulunan proteinlerin enerji amaçlı kullanılması da, aslında stres altındaki karideslerde büyümenin neden yavaşladığını ve düşük performans gösterildiğini de açıklar. Üstteki araştırmacılar, çalışmalarında total lipitler ve özellikle de trigliseritlerin stres durumlarında metabolik enerji amaçlı kullanılmadıklarını bildirmiş olsa da, çalışmamızda 2. aydaki trigliserit verileri plazmada belirgin bir şekilde azalma gösterdiği için, bu besin kaynağının da mutemelen stresin giderilmesi amacıyla o dönemlerde tüketildiğini göstermektedir. Zira çalışmamızda uyguladığımız 2 aylık stres periyodu Mercier vd. (2009)'nin uyguladığı periyottan 1 ay daha uzun sürdüğü için proteinlere ilave olarak karidesler lipitleri de tüketmeye gerek duymuş olabilirler. Mercier vd. (2009) plazma proteinlerinin uzun süreli stres koşullarında immün sistem tarafından da kullanıldığını ve plazmadaki azalmaya bunun da etki etmiş olabileceğini bildirmektedir. Ancak 4. ayda alınan plazma örneklerinde, artık karideslerin total protein ve trigliserit verilerinde stoklama yoğunluğu ile ilintili bir ilişki göstermemiş olması, artık karideslerin kronik stres ortamına adapte olduklarını gösteriyor olabilir.

Akut stres biyo-indikatörlerinden olan laktatın önemli bir parametre olduğu bildirilmekte olup (Wells vd., 1999), Atlantik salmonu ile yürüttükleri denemenin ilk ve 29. günlerinde, Basrur vd. (2010) yüksek stok grubunda stresten kaynaklı plazma laktat seviyelerinin de yüksek çıktığını bildirmişlerdir. Laktat seviyeleri açısından gruplar kıyaslandığında; denemenin 2. ayında gruplar arasında bir farklılık belirlenmemiş, ancak 4. ayda en yüksek laktat seviyesi 80 adet/m² grubunda gözlenmiş, ($P < 0.05$) diğer iki grubun laktat seviyeleri ise benzer çıkmıştır ($P > 0.05$). Bulgularımız laktat değerlerinin bir stres kaynağı olarak stoklama yoğunluğu ile anlamlı bir ilişki içerisinde olmadığını, bunun da uzun süreli stres koşullarında bu parametrenin normal seviyesine dönmesiyle ilgili olduğunu düşündürmüştür. Zira, Mercier vd. (2009) kısa süreli stres altında bile (1 saat) laktat konsantrasyonlarında görülen yükselişin düşük olduğunu ve 24 saat içerisinde seviyenin kontrol grubunun bile altına indiğini bulmuşlardır. Zaten Mugnier ve Justou (2004) da bir parametre olarak laktatın glükoza göre daha az hassas bir stres indikatörü olduğunu bildirmişlerdir.

Krustaselerde, aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) çalışmaları balıklardakilere göre daha yeni olup, bu alanda yapılan ilk yayınlar pestisit (Galindo-Reyes vd., 2000), ağır metal birikimi (Zhao vd., 1995) ve termal/ozmotik stres (Chien vd., 2003) ile ilgili konulardır. AST ve ALT enzimleri spesifik aminoasitlerin birinden diğerine amin gruplarının transfer edilmelerini sağlarlar ve çoğunlukla omurgalılarda iyi çalışan bir karaciğerin indikatörüdürler. Van Waarde vd. (1982) stres koşullarında ALT'nin amino asitlerin sentezi ve deaminasyonunda yaşamsal bir görevlerinin olduğunu ve bu kritik dönemlerde canlıların ihtiyaç duydukları enerjinin karşılanmasını sağladıklarını bildirmektedir. Samanta vd. (2014), 30 gün süren bir pestisit uygulaması sonrasında bazı balıklarda ALT, AST aktivitesinin belirgin bir şekilde arttığını ve bunun doku veya organ hasarlarından kaynaklanmış olabileceğini ve metabolitlerin membranlardan geçişinde önemli bir role sahip olduğunu; bu enzimin seviyesinin stres koşullarında önemli ölçüde yükseldiğini bildirmişlerdir. Tüm bu enzimlerin artışının yüksek metabolik aktivitelerin göstergesi olduğunu ve bu aktivitelerle herbisit stresinden kaynaklı enerji ihtiyacının karşılanmasına çalışıldığını belirtmişlerdir. Serum protein ve ALP seviyelerindeki değişimin akvatik canlıların immün durumları ile ilgili fizyolojik yanıtlar olduğu ve balıkların sağlık durumları ile ilgili önemli bilgiler verebileceği bildirilmiştir (Tahmasebi-Kohyani vd., 2012). Diğer hayvanlarda olduğu gibi, krustaselerde de hem ALT hem de AST amino asit ve diğer ara metabolitlerin çevrimlerinde anahtar rol oynarlar (Chaplin vd., 1967). Joseph ve Philip (2007) de siyah kaplan karidesinde (*P. monodon*) akut tuzluluk stresinin immünolojik ve fizyolojik tepkilerini araştırdıkları çalışmalarında toplam hematosit sayısı (THS), fenoloksidaz aktivitesi (PO), alkalın fosfataz aktivitesi (ALP), asit fosfataz aktivitesi (ACP) ve metabolik değişkenler olarak da toplam protein, toplam karbonhidrat, toplam lipit, glukoz ve kolesterol seviyelerinin hepsinin de artış gösterdiğini ve plazmada THS ve ALP'nin sağlık göstergeleri olarak önerilebileceğini belirtmişlerdir. Yine aynı şekilde, Fouzi vd. (2012), çalışmalarında 10 gün boyunca farklı toplam amonyak seviyelerine ve beyaz spot sendromu virüsüne (WSSV) maruz bıraktıkları karideslerde (*P. monodon*) hemolenf ALT, AST ve TP'nin önemli ölçüde yükseldiğini saptamışlardır. 30 gün süreyle üç farklı stoklama (120, 180 ve 270 balık/m³) yoğunluğunda yetiştirilen tatlısu levreğinde (*Scortom barcoo*) serumda toplam protein haricinde, trigliserit,

lizozim ve alkalın fosfataz (ALP) aktivitelerinin stoklama yoğunluđu ile birlikte artış gösterdiđi belirlenmiřtir. Liu vd. (2015) Atlantik salmonunda dűřűk (7.57-15.71 kg/m³), orta (15.12-31.11 kg/m³) ve yűksek (30.18–61.34 kg/m³) stoklama yoğunluklarında kronik stres parametrelerini 10 hafta sűre ile arařtırmıřlar ve test edilen tűm serum parametrelerinde ilk haftalarda űnemi deđiřiklikler belirlemiřlerdir. ALP bir çeřit lizozomal enzim olarak balıklarda oluřan yaraların iyileřtirilmesinde koruyucu olarak rol oynar (Iger ve Abraham 1990) ve parazitik enfeksiyonlarda seviyelerinde artıřlar olur (Ross vd., 2000). Caipang vd. (2009) atlantik kod balıđında ALP'nin kısa sűreli ařır stoklama kořullarında belirgin bir řekilde yűkseldiđini bildirmiřtir. Liu vd. (2015) Atlantik salmonunda ALP aktivitesinin yetiřtiriciliđin ilk iki haftasında tűm stoklama gruplarında azaldıđını, ancak 4. haftadan sonra ise, tűm yűksek stoklama gruplarında seviyenin yűkseldiđini gűműřlerdir. Ancak, denememizin 2. ve 4. aylarında alınan űrneklerde yapılan analizlerde ALP, AST ve ALT deđerlerinin stoklama oranının artıřı ile anlamlı bir iliřki gűstermediđi veya gruplar arasında istatistiki farklar bulunmadıđı gűrűlműřtűr. Elde ettiđimiz bu verilere gűre, *P. vannamei*'de kronik stres faktűrű olarak test edilen stoklama yoğunluklarının bu enzimler űzerinde űnemi etkiler yaratmadıđı sonucuna varılmıřtır.

Hemolenf içeriđindeki bazı deđerřkenlerden űrneđin pıhtılařma zamanı, THS (toplam hematosit sayısı), fagositik aktivite, antibakteriyel aktivite, vd. potansiyel stres indikatűrleri olarak bildirilmiřtir (Wang ve Chen, 2005; Cheng vd., 2007). THS ve ALP gibi deđerřkenler yařama oranı ve dolayısıyla stresli ortamlarda sađlık durumunun belirlenmesinde diđerlerine gűre daha iyi tahminler yapılabilmesine yardımcı olurlar. ALP ve ACP aktiviteleri hűcre dıřı saldırılarda űnemi bir savunma mekanizması rolű űstlenirler (Cheng ve Rodirick, 1975) ve ayrıca hematositlerin fagositik aktiviteleri ile de iliřkilidirler. Bir alıřmada Mercier vd. (2006) Pasifik beyaz karideslerini (*L. vannamei*) 4 hafta sűreyle tekrar tekrar stres kořullarına maruz bırakmıř ve bu kořullarda denemenin sonunda THS ve superoksit anyon seviyelerinde stres kořullarında herhangi bir deđerřiklik belirlememiřlerdir. Alsen (2005), tatlısu kerevitlerinde (*Astacus leptodactylus*) serotoninin (5-HT) stres űzerine etkilerini çalıřmıř ve bu hormonun hemolenf dolařımındaki hematosit hűcrelerinde űnemi bir artıřa sebep olmadıđına dair bulgular bildirmiřtir. Mugnier vd. (2008), mavi karideslerde (*L. stylirostris*) amonyak ve hipoksinin (oksijen yetmezliđi) kombine etkisinin plazma laktat seviyesini arttırdıđını ve THS'yi azalttıđını gűzlemlemiřlerdir. Klobucar vd. (2012), kirlı su ortamında kerevitlerin (*A. leptodactylus*) THS miktarında artıř gűzlemlemiřler ve bűylece kirliliđe maruz kalmanın neden olduđu stresin de dođrulandıđını ortaya koymuřlardır. Song vd. (2003), Pasifik beyaz karidesinde (*L. vannamei*), karides imműn tepkilerini ve yařama oranını deđerlendirmek için Taura sendromu virűsűnű (TSV) enjekte etmiřler ve bu muameleye karideslerin verdiđi bazı fizyolojik tepkileri arařtırmıřlardır. TSV ile enfekte olan karideslerde, THS, hiyalinosit ve granűlosit hűcre sayıları, total plazma proteini ve haemosiyanin oranının kontrol grubuna gűre sırasıyla, %21, %24, %17, %56 ve %67'ye kadar dűřtűđűnű kaydetmiřlerdir. Yıldız ve Benli (2004), subletal (űlűmcűl dűzeyin altında) nitrit konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları kerevitlerde (*A. leptodactylus*) hemolenf THS'lerin, nitrit mumelesine tepki olarak azaldıđını ve genel olarak nitrit içermeyen suya maruz bıraktıklarında ise arttıđını kaydetmiřlerdir. Li ve Chen (2008), Pasifik beyaz karideslerinde (*L. vannamei*) dűřűk ve yűksek pH stresi altında 12-72 saat boyunca

THS'nin, Hsu ve Chen (2007) ise sülfid stresi altında THS, PO ve fagositik aktivitede azalma gözlemlenmiştir. Saeed vd. (2015), çalışmalarında *L. vannamei*'nin tuzluluk stresinin kan parametreleri üzerine etkisini araştırmışlar; çalışmada %30 tuzluluğa kıyasla, %15 ve %45 tuzluluğun kan plazmasında hematosit hücrelerinde ve toplam protein değerlerinde belirgin bir düşüşe neden olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Li vd. (2010), %35 tuzlulukta yetiştirdikleri karideslerde (*L. vannamei*) *V. alginolyticus* enjeksiyonu ve düşük tuzluluk stresi kombinasyonunun doğal bağışıklığa etkisini araştırdıkları çalışmalarında, %25, %20 ve %15 tuzlulukta sulara transfer edilen karideslerde 1, 6, 12, 24, 72 ve 120 saat sonra THS miktarının 6-12 saatte en düşük seviyeye indiğini belirlemişlerdir. Diğer yandan, Mercier vd. (2009) kısa süreli bir stres uygulamasının ardından (1 saat) kontrol grubuna göre THS'de önce önemli bir artış ve ardından ise önemli bir azalış gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Üstteki literatür bildirişleriyle uyumlu bir şekilde, denememizde üç farklı stoklama yoğunluğunda 2 ay süreyle yetiştirilen karideslerde (*P. vannamei*) THS değerlerinde artan stoklama oranıyla ters orantılı olarak azalma görülmüş (40 adet/m²'de 4.40×10^6 , 80 adet/m²'de 1.85×10^6 ve 160 adet/m²'de 2.96×10^6 hücre/mL), ancak herhangi bir istatistik farklılık bulunamamıştır. Denememizde elde ettiğimiz verilerimizden yola çıkarak karideslerin hemolenf THS değerlerinin iki ay gibi uzun bir süreç içerisinde dengelenmiş olması itibarıyla kronik bir stres parametresi olarak değerlendirilemeyeceği anlaşılmıştır.

Li ve Chen (2008), Pasifik beyaz karideslerinde (*L. vannamei*) düşük ve yüksek pH stresi altında THS ve fagositik aktiviteyi incelemişler ve denemede fagositik aktivitenin 6-72 saatte, THS'nin ise 12-72 saat boyunca azaldığını tespit etmişlerdir. pH 10.1'e aktardıkları karideslerde granüler hücre sayıları ve THS'nin 6 saat sonra, SOD aktivitesinin ise 72 saat sonra önemli ölçüde azaldığını kaydetmişlerdir. Bu araştırmacılar 120 saat sonra pH 6.5 ve 10.1'e transfer ettikleri karideslerin bağışıklık parametrelerinin orijinal değerlerine geri döndüğünü gözlemlenmiştir. Bununla birlikte 6.5 pH'ya aktardıkları karideslerde daha düşük fagositik aktivitesi gözlemlenmiştir. Hsu ve Chen (2007), Beyaz karideste (*P. vannamei*) sülfid stresi altında, benzer şekilde Wang ve Chen (2005) ani tuzluluk değişimlerinde fagositik aktivitenin önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir. Cheng vd. (2006), farklı dozlarda noradrenalin enjekte ettikleri *L. vannamei*'de THS'nin 2 saat sonra %15-32 oranında, fagositik aktivitenin de 2 saat sonra her dozda önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar karideslerde THS'nin 4 saat, fagositik aktivitenin ise 16 saat sonra normal değerlere geri döndüğünü tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Cheng vd. (2005b), dopaminin beyaz karideste (*L. vannamei*) bağışıklı sistemi üzerine etkisini araştırmış; enjeksiyondan 4 saat sonra THS'nin %25 ve %39 oranında, fagositik aktivitenin de 2 saat sonra önemli ölçüde azalma eğilimi gösterdiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar karideslerde THS'nin 16 saat, fagositik aktivitenin ise 4 saat sonra normal değerlere geri döndüğünü tespit etmişlerdir. Denememizde 2 ay gibi uzun süren bir potansiyel stres kaynağı (stoklama yoğunluğu) baskısı altında yetiştirilen Pasifik beyaz karideslerinde yapılan fagositik aktivite analizlerinde gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmemiş, ancak fagositik indeks değerlerinde 160 adet/m² stoklama yoğunluğunda istatistik olarak düşük bir değer elde edilmiştir ($P<0.05$). Test ettiğimiz en yüksek stoklama oranını olan 160 adet/m² grubunda karideslerin belirgin bir

şekilde zayıf fagositik indeks göstermesi, bu grubun stres altında olması itibarıyla hassasiyetini ortaya koymuştur.

Stoklama yoğunluğu, periyodik elleme ve örnekleme, taşıma, su kalitesi ve bazı besinsel uygulamalar gibi stres kaynakları lizozim aktivitesini etkiler (Saurabh ve Sahoo, 2008). Chen vd. (2015a), farklı tuzluluklara (%2.5, 5, 10, 15, 25 ve %35) maruz bıraktıkları juvenil beyaz karideste (*L. vannamei*) büyüme ve immün parametrelerini incelemişler; karideslerde %15, %25 ve %35 tuzlulukta yetiştirilenler de, %2.5, %5 ve %10'da yetiştirilenler ile karşılaştırıldığında, daha fazla şeffaf ve granül hücreye, önemli ölçüde yüksek THS seviyesine ve lizozim aktivitelerine sahip olduklarını belirlemişlerdir. Yao vd. (2008), Çin karidesinde (*F. chinensis*) laminarin ve *V. anguillarum* enjeksiyonunun kan hücrelerindeki lizozim aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar ve uygulamadan sonra hematositlerin lizozim aktivitesinin aynı anda orta seviyede bir artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar lizozom membran stabilitesi ve lizozim aktivitesini kullanarak karideslerde immün durumunun değerlendirilebileceğini önermişlerdir. Proje kapsamında farklı stoklama koşullarının yürüttüğümüz denemede ikinci ayda aldığımız hemolenf örneklerinde lizozim aktiviteleri yine büyük olasılıkla uzun süren deneme protokolünden kaynaklı olarak farklılık göstermemiştir. Sadhu vd. (2014) Asya levreğini (*Lates calcarifer*) 6 ay boyunca iki farklı stoklama (5 ve 15 balık/m³) yoğunluğunda kafeslerde yetiştirmiş ve stoklama yoğunluğundan kaynaklı kronik stresin neden olabileceği kan parametrelerini incelemişlerdir. Yüksek stoklama grubunda kortisol ve glikoz seviyeleri artmış ve lizozim aktivitesi azalmıştır. Ayrıca toplam lökosit sayısı, toplam serum proteininde azalma, ancak tersine ALP ve asit fosfataz (ACP) seviyelerinde yüksek stoklama ile birlikte bir artış görülmüştür. Stoklama stresinden kaynaklı üstte belirtilen tüm bu fizyolojik ve immün parametreler deneme sonuna kadar bu şekilde devam etmiştir. Yin vd. (1995) de yüksek stoklama yoğunluğunda tutulan sazanlarda lizozim aktivitelerinde benzer düşüşler gözlemlenmiştir. Murray and Fletcher (1976), yüksek stok grubunda lizozim aktivitesindeki önemli düşüşün, bu enzimi içeren kandaki lökositlerin sayısının azalmasıyla ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Balıklarda plazma lizozimin parazitik ve bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede kullanıldığı bilinmektedir (Yin vd., 1995). Yüksek stok gruplarında stresten kaynaklı asit ve alkalın fosfataz aktivitelerindeki yükselmelerin lizozomal değişikliklerle ilgili olabileceği bildirilmiştir (Sadhu vd., 2014). Potansiyel stres indikatörleri olarak değerlendirilebilecek olan bu enzimler balıklarda patojenlere karşı savunmada veya vücut yüzeyindeki yaralanmaların iyileştirilmesinde kullanılırlar (Ross vd., 2000).

5.4.2.3. Isı Şok Proteinleri

Isı şok protein genlerindeki değişimin yararlı bir biyo-indikatör olarak akvatik hayvanlarda stresin belirlenmesi ve optimum çevresel koşulların izlenmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Iwama vd., 2004). Yüksek stok yoğunluklarında 30 gün yetiştirilen alabalıklarda HSP70 gen ekspresyonlarının yükseldiği, benzer şekilde aşırı stoklama stresinin Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve Atlantik kod balığında da (*Gadus morhua*) HSP70'i indüklediği bilinmektedir (Gornati vd., 2004; Caipang vd., 2008). Jia vd. (2016),

kalkan balığını (*Scopthalmus maximus*) düşük (DS), orta (OS) ve yüksek (YS) olmak üzere üç farklı stoklama seviyesinde 120 gün boyunca yetiştirmiş ve çalışmada lizozim ve ALP'nin YS grubunda diğerlerinden daha düşük seviyelere indiğini, lizozim ile ilgili (LZM) genlerin de düştüğünü, ancak bunların tersine HSP70 mRNA seviyesinin ise YS grubunda yükseldiğini belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, genel bulgular ışığında, bir stresör olarak aşırı stoklamanın kalkan balıklarında immün sistemi baskıladığı sonucuna varmışlardır. Jia vd. (2016) farklı nitrit konsantrasyonlarına akut olarak (48-96 saat) maruz bırakılan kalkan balıklarında lizozim aktivitesinin düştüğünü, ALP'nin, HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyelerinin yükseldiğini belirlemişlerdir. Iwama vd. (2004) HSP70 gen ekspresyon parametresinin hassas bir biyoindikatör olduğunu ve farklı stresörlere farklı seviyelerde yanıt verdiğini bildirmişlerdir. Dil balıklarında (*S. senegalensis*) uzun süreli yüksek stok yoğunluklarında karaciğer ve böbreklerde HSP70 gen ekspresyonlarında düşmeler (down-regulation) görülebilmektedir (Salas-Leiton vd., 2010). Değişik araştırmalarda elde edilen farklı HSP70 gen ekspresyon tepkilerinin türsel, stresör çeşidi veya süresi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gomati vd. (2004) üç ay süreyle üç farklı stok yoğunluğunda (<10, 80 and 100 kg/m³) yetiştirilen levreklerin (*D. labrax*) karaciğer ve beyinlerinde HSP genlerini çalışmışlar ve 100 kg/m³ biyomasta aşırı seviyede HSP70 seviyesi belirlenmiş, ancak HSP90 ölçülememiştir. Bunun yerine beyin dokusunda ise 80 kg/m³'te bile HSP90 gen ekspresyonunda yükselme ortaya çıkmıştır. Üstte görüldüğü üzere, farklı stok yoğunluklarının balıklarda moleküler seviyede etkileri üzerine birçok araştırma yürütülmüş olmasına rağmen, bu tip araştırmalar karideslerde yeterince ilgi görmemiştir. Liu vd. (2016) kalkanlarda farklı stoklama koşullarında fizyolojik ve immün yanıtları araştırmış; ortalama 185.4 g balıkları 120 gün RAS sisteminde üç [düşük (~9.3-26.1 kg/m²), orta (~13.6-38.2 kg/m²) ve yüksek (~19.1-52.3 kg/m²)] stoklama yoğunluğunda yetiştirerek bunlardan 0, 40, 80 ve 120. günlerde örnekleme yapmışlardır. Büyüme, biyokimyasal parametreler ve gen ekspresyonları her üç grupta da son güne (day 120) kadar değişim göstermemiştir. Deneme sonunda, yüksek stoklama grubu, diğerlerine kıyasla, daha düşük SBO ve ortalama ağırlık göstermiştir. 120. günde, gen ekspresyonlarından örneğin HSP70'in belirgin bir şekilde azaldığı ve lizozim mRNA düzeyinin düştüğü belirlenmiştir. Genel olarak bu araştırmacıların bulguları, kalkanlarda yüksek stoklama yoğunluklarının metabolik ve antioksidan enzim aktivitelerini bloklayarak, fizyolojik stres ve immün sistemi baskıladıklarını göstermiştir. Bizim çalışmamızda, HSP70 analizleri için, denemenin 2. ayında (60. gün) ve 4. ayında (120. gün ve deneme sonu) alınan doku örneklerinde yapılan gen görünüm analizleri göstermiştir ki; denemenin 2. ayında analiz yapılan hiçbir dokuda (hepatopankreas, solungaç veya kasta) HSP70 seviyeleri, stoklama yoğunluğunun artışı ile birlikte anlamlı bir değişim göstermemiştir. Denemenin 4. ay örneklemesinde de bu durum değişmemiş ve kas dokuda yapılan analizler haricinde diğer dokularda HSP70 gen ekspresyon seviyeleri benzer bulunmuştur (P>0.05). Ancak, bu periyotta (4. ay) kas örneklerinde HSP70 seviyesi 40 adet/m² stok grubunda 0.78 iken, bu değer 80 adet/m² grubunda 0.82, ancak 160 adet/m² grubunda ise yaklaşık 3 katlık bir artış ile 2.59 seviyesine çıkmıştır (P<0.05). Denemenin 4. ayında ve en yüksek stok grubunda görülen bu yükseliş HSP70 geninin muhtemelen artan karides biyoması (2 kg/m² veya 4.74 kg/m³) tarafından stres yaratmaya başladığı için indüklendiğini

göstermiştir. Bu biyomas artışı en düşük stoklama grubundan (40 adet/m²) 2.87 kat ve orta stok (80 adet/m²) grubundan ise 1.77 kat daha yüksek olarak hesaplanmıştır. Özellikle tanklardaki suyun sadece 40-45 cm derinliğinde olması, hayvanlar üzerinde daha yüksek oranda stres oluşmasına neden olmuş olabilir. Yarahmadi vd. (2016) gökkuşağı alabalığında 10, 40 ve 80 kg/m³ stoklama oranlarında 30 gün boyunca stres ve immün sistemle ilgili kan parametreleri ve HSP gen ekspresyonlarını araştırmış ve HSP70 seviyelerinin stoklama ile ilişkili olduğunu ve stoklama oranının artışıyla birlikte (40 ve 80 kg/m³) yükseldiğini, LyzII gen ekspresyonu ve serum laktat seviyesinin düştüğünü, serum toplam protein ve ALP seviyelerinin ise değişmediğini belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar kısa süreli akut stresin balıklarda (alabalık) immün sistem üzerinde olumlu etkiler verebileceğini, ancak aşırı stoklamadan kaynaklı kronik stresin immün sistemi baskıladığını ve bunun da balıkları patojenlere daha hassas hale getirebileceğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla, denememizin 4. ayında, karideslerin büyümesi (ortalama 20 g >) ile artan biyomasın artık stres yaratmaya başladığı ve bu dönemden itibaren de bu stresin karideslerde patojenlere yönelik hassasiyeti arttırılabileceği yorumlanabilir.

Akvakültürde stoklama oranı uzun süreli stress nedeniyle ilgili türün fizyolojisi ve davranışları üzerine etkili olarak yaşama oranı ve büyüme ile ilgili performans parametrelerini etkiler. Aşırı stoklama durumunda büyüme, yem tüketimi, YÇÖ, sindirilebilirlik oranı ve balık refah göstergelerinde sorunlarla karşılaşılır (Ellis vd., 2002). Sıcaklık dalgalanması ve şokunun (Guo vd., 2010; Loc vd., 2013), veya sıcak-soğuk şoku ile *V. anguillarum* WSSV uygulamasının (Zhenyu vd., 2004), bakteri yüklemesinin (Zhou vd., 2010) ve amonyak stresinin (Chen vd., 2015c) HSP70 ve/veya HSP90 gen ekspresyonlarına etkileri karideslerde araştırılmış, ancak bilindiği kadarıyla stoklama ile ilişkili olarak karideslerde HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyeleri ilk kez bu proje kapsamında ele alınmıştır. Dil balığında (*S. senegalensis*) aşırı stoklama stresinin ısı şok proteinlerinden HSP70 ve HSP90 stres genleri ve doğal immün sistem ile ilgili genlerden g-tipi lizozim genlerini etkileyebileceği bildirilmiştir (Costas vd., 2013). Diğer ilgili birçok moleküller gibi, HSP70 genleri balıklarda stoklama yoğunluğunun etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Kim vd., 2013; Ni vd. 2014). Hücresel strese yanıt olarak HSP70 en çok çalışılan ısı şok proteinleridir, ki bunlar denatüre edilmiş veya değiştirilmiş proteinlerin ve polipeptidlerin parçalanması veya tamir edilmesinde aracı olurlar (Ni vd., 2014).

Balıklarda yüksek stoklama koşullarına tepki olarak HSP70 seviyesinin yükseldiğini gösteren bir çok araştırma mevcuttur (Kim vd. 2013; Aksakal vd. 2011; Şahin vd., 2014). Jia vd. (2016), yüksek stoklama oranının kalkan balığının derisinde HSP70 mRNA seviyesinin yükselmesine neden olduğunu göstermiştir. Çevresel stresörlerden (yüksek stoklama gibi) kaynaklı hücresel hasarlardan korunabilmek için HSP70 seviyesinde gerçekleşen artışın önemli bir rolü olabileceği bildirilmiştir (Kregel, 2002). Denemenin yine 2. ayında yapılan HSP90 gen ekspresyon analizlerinde sadece hepatopankreasta anlamlı bir değişim gerçekleşmiş ve bu dokuda stoklama yoğunluğunun artışına paralel olacak şekilde istatistiksel olarak belirgin bir artış belirlenmiştir (P<0.05). Bu noktada, 40 adet/m² stok grubunda HSP90 seviyesi 0.06 olarak hesaplanmış iken, bu değer 80 adet/m² grubunda 0.62 ve ardından 160 adet/m² grubunda ise 1.13

olarak gerçekleşmiştir. Buna göre en yüksek stok yoğunluğunda karideslerin hepatopankreas dokusunda indüklenen HSP90 artışı, diğer gruplara kıyasla, 1.82 ile 18.83 kat daha yüksek çıkmıştır. 4. ay analizlerinde ise hepatopankreastaki HSP90 indüklenmesinin ortadan kalktığı, bunun yerine, sadece kasta stoklama yoğunluğu ile HSP90 gen ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu fark edilmiştir. Deneme süresince karides biyomasının en üst noktaya çıktığı bu dönemde kasta 40 adet/m² grubunda HSP90 seviyesi 0.16 olarak ölçülmüş iken, bu seviye 80 adet/m² grubunda 5.21'e (32.56 kat) ve 160 adet/m² grubunda ise 7.90 seviyesine çıkmıştır (49.38 kat, P<0.05).

Gerek HSP70 gerekse HSP90 analiz sonuçlarından, denememiz koşullarında, Pasifik beyaz karidesinin 4. ayında ulaşılan biyomas seviyesinde (2 kg/m² veya 4.74 kg/m³) karideslerin 160 adet/m² (deneme başlangıç stoklama seviyesi) stok grubunda stres yaşamaya başladıkları ve bu stoklama oranının ötesinde yetiştiricilik yapılması halinde, karideslerin bağışıklık sistemlerinde artan hassasiyet nedeniyle hastalıklarla karşılaşma riskinin yükseleceği öngörülmüştür. Karides yetiştiriciliğinde büyütmenin genellikle 3.5-4 ay gibi oldukça kısa periyotlarda tamamlanması, yüksek stoklama koşullarında hastalık riskini azaltmakta ve böylece daha yüksek ürün elde edilebilmesine imkan vermektedir.

5.5. Ülkemizde Ekonomik Bir Entansif RAS Karides Üretim Sistemi Başarıyla Kurulup İşletilebilir mi?

Karides yetiştiriciliğindeki başarı temelde birim alandan elde edilecek üretimin artırılmasına yönelik teknolojik gelişmeler ve havuz su kalitesinin sürdürülebilirliğine bağlıdır. Bina-içi veya sera-içi super-entansif üretim sistemleri özellikle ılıman iklim kuşağında (ülkemiz gibi) yüksek stok yoğunluklarında ve mevsimlere bağlı kalmadan yılboyu üretim yapabilmeye şansı verebilmektedir. Bu çeşit sistemlerde çoğu zaman hastalık bulaşma riski çok düşük olup, özellikle yararlı bakterilerin (probiyotikler) kullanımı ve atıkların kontrol altında tutulmasıyla önemli başarılar elde edilebilmektedir (Schock vd., 2013). Akdeniz'in Çukurova Bölgesi'nde düşük tuzlulukta ve 21-24°C sıcaklıkta çıkan yer altı suları karides yetiştiriciliği için (özellikle de sera altında bulunan toprak veya beton havuzlarda) mükemmel fırsatlar sunmaktadır. Akışkan veya resirküle sistemlerde, bölgede denizde yetiştiricilik yapılan tesislerde sezonal olarak görülen paraziter, bakteriyel ve viral hastalıkların da resirküle üretim sistemlerinde görülme riski daha düşük olacaktır.

Projemizin 2. Denemesinde ön-büyütmeye üç farklı stok yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*P. vannamei*) elde edilen deneme sonu yaşama oranları (%77, %78 ve %82) stoklama yoğunluğundan etkilenmemiş, ancak deneme sonu karides ortalama ağırlık değerleri stoklama oranının artışı ile birlikte azalma göstermiştir (1.35, 1.09 ve 1.12 g). Benzer şekilde, Esparza-Leal vd. (2015) de bina-içi tanklarda temiz suda ve biyofloc sisteminde dört farklı stok yoğunluğunda (1500, 3000, 6000 ve 9000 karides/m³) Pasifik beyaz karideslerini kıyaslamış ve 42 günlük deneme sonunda temiz suda ortalama ağırlıkların 0.64, 0.41, 0.31 ve 0.17 olarak azaldığını, yaşama oranlarının ise (%85.0 ile %98.4 arasında) istatistik farklılık göstermediğini belirlemişlerdir. Proje kapsamında yaptığımız

çalışma ve Esparza-Leal vd. (2015)'nin bulguları, Pasifik beyaz karideslerinin ön-büyütme aşamasında 1 m³ suda yüksek stoklama koşullarında bile yüksek yaşama oranlarıyla yetiştirilebileceklerini göstermiştir.

Bilindiği üzere, bir ürünün piyasada kabul görmesi, sürdürülebilirliği ve yüksek fiyatlarla pazarlanabilmesi için yıl boyu ve istenen kalitede arzı çok önemlidir. İşte önerdiğimiz bu projenin çıktılarında birisi de; resirküle sistemlerde yapılacak olan üretim sayesinde piyasaya yeni bir ürün olarak karidesin yılın her döneminde aynı kalite ve boyutta ve taze (dondurulmamış) olarak verilebilmesine olanak tanıyan bir üretim modeli geliştirilmesi ve bu model ile karides yetiştiriciliğinin ülkemizde yatırımcıların daha çok ilgi çekmesinin sağlanmasıdır.

Entansif stoklama yoğunluklarında yapılan üretim esnasında sorunlar yaratan yüksek amonyak ve nitrit seviyeleri, sadece su kalitesini düşürmekle kalmazlar, aynı zamanda karideslerde iştahı azaltarak büyüme üzerine olumsuz etkilerde bulunabilir ve hatta kitlesel ölümlere neden olabilirler. Ticari probiyotiklerin profilaktik dozlarda düzenli olarak sucul ortamda kullanılmaları, bu nitrojenli atıkların ve hatta fosfor atıklarının da kontrol altında güvenli seviyelerde tutulmasını sağlar. Son yıllarda özellikle RAS'larda çok yoğun stoklama koşullarında beyaz karides üretiminin yaygınlaşması özellikle havuz sularında probiyotik kullanımı sayesinde mümkün olabilmektedir. Gerçekten de, Mart 2015'te Çin'in Qingdao Eyaleti'ne yaptığımız bir teknik gezide, jeotermal bir su kaynağı kullanarak üretim yapan bir firmada, düzenli probiyotik kullanımı sayesinde karides (*P. vannamei*) stoklama oranının 600 adet/m²'ye kadar çıkarılabildiğine (ki bu m² havuz taban alanından tek hasatta 12 kg, ve yılda üç hasatta 36 kg ürün anlamına gelmektedir) bizzat şahit olunmuştur. Probiyotiklerin üretim havuzlarında biyolojik kontrol ajanları olarak kullanımı ile doğal patojenlerin baskılanması ve su kalitesinin yükseltilmesi ile ilgili olumlu sonuçlar alınmakla birlikte, halen bu alanda bilinenler sınırlı olup, kullanılan ticari ürünlerde uygulanması gereken standart protokoller ve yöntemlerde bazı araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Yürüttüğümüz 3. denemede probiyotik kullanımı ile su kalite kriterlerinden azotlu atıkların ve patojen etmenlerden *Vibrio* bakteri gelişiminin azaltılabileceği/baskılanabileceği kanıtlanmış olup, bu çerçevede üretim sürecinde hastalıkların ortaya çıkmasının önlemlenebileceği ortaya konmuştur.

Bugüne kadar yapılan araştırmalarda yeşil kaplan karidesinin yüksek stoklama yoğunluklarında özellikle de sert zeminlere sahip tank veya havuzlarda düşük yaşama oranları ve zayıf büyüme performansı gösterdikleri belirlenmiş (Kumlu vd., 2010c; Gaber vd., 2012) ve bunun türsel bir özellik olduğu düşünülmüştür. Ülkemizde yeşil kaplan karidesinde ilk stoklama ve büyütme çalışmaları tarafımızca başlatılmıştır (Şerefişan vd., 1998; Kumlu vd., 2003; Kumlu vd., 2010c). Bu çalışmalarımızda bu karides türünün m²'de 30 adet stoklama yoğunluğuna kadar başarıyla yetiştirilebileceği, daha düşük stoklama yoğunluklarında 140 günde karideslerin 20 gram civarına kadar büyütülebileceği gösterilmiştir. Türkmen (2007a) de benzer şekilde bu karidesi 15 adet/m² yoğunlukta havuzlarda 0.03 g ağırlıktan 5 ayda 18.72 gram ağırlığa kadar ulaştırmıştır.

Türkiye'de yeşil kaplan karidesi ile yürütülen tüm çalışmalarda da beslemede (karides yemi ülkede bulunamadığından) çipura için formülize edilmiş yemler kullanılmak zorunda kalınmış ve bu da ister

istememez türün optimum performansını gölgelemiştir. Kuveyt'te yürütülen bir araştırmada 0.8-1 m çapında (500-L) tanklarda bu karides türü 24, 50, 74 ve 100 adet yoğunluklarda yetiştirilmiş ve umut vaadederek bir şekilde 100 adet/m³ (m²'de 50 adet) yoğunlukta bile bu karidesin iyi büyüdüğü ancak yem değerlendirme oranının bu yoğunlukta 3.17'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir (Al-Ameeri ve Cruz, 2006). Bu araştırmacıların çalışmasında *P. japonicus* için geliştirilmiş kaliteli bir yem kullanıldığı ve bu yüksek performansın bundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Aslında yürüttüğümüz bu projedeki 1. Denemede bu karides türüne özgü bir yem formülasyonu geliştirilmiş olmakla birlikte, bu yemin kullanılması da çalışmalarımızda kanibalizmi azaltmamıza veya büyüme performanslarının yükselmesine herhangi bir katkı getirmemiştir. Tam tersine, özellikle 40-45 cm sığ tanklarda karidesler arasında daha önce hiç karşılaşmadığımız seviyelerde kanibalizm sorunu ile karşılaşmış ve 1. denemede tank tabanlarına (1 m²) yerleştirilmiş olan ek substratlar ve saklanma objeleri ile yaşama oranları nispeten yükseltilebilirken, büyüme oranlarında herhangi bir iyileşme elde edilememiştir. Bu çalışmada en iyi SBO oranı bile günde %0.91'i geçmemiş, olup bu değer daha önceki çalışmalarımızda elde ettiğimiz ve Türkmen vd. (2007a,b)'nin de bildirdiği değerlerden daha düşük olarak gerçekleşmiştir. Literatür bildirişleri ve mevcut bulgularımız ışığında yeşil kaplan karidesinin büyüme performansındaki düşüklüğün yem kalitesinden kaynaklanmadığı anlaşılmıştır. Dolayısıyla, bugüne kadar gerçekleştirilen araştırmalardan, bu karides türünün doğal stoklardan (denizlerimizden) elde edilen anaçlarından üretilen yavrularla yüksek stoklama koşullarında ticari firmaları cezbedebilecek performans sonuçları alınamayacağı (özellikle de sert zeminli substralarda), ancak ıslah çalışmalarıyla olası elde edilebilecek genetik ilerlemelerle bu karides türünün yetiştiricilik potansiyelinin artırılabilmesinin mümkün olabileceği öngörülmektedir.

Pasifik beyaz karidesinde farklı yetiştiricilik sistemlerinde farklı stoklama yoğunluklarının büyüme ve yem tüketim performansları araştırılmış ve değişik sonuçlar alınmıştır. Herrera vd. (2006), çalışmalarında Pasifik beyaz karidesini (*L. vannamei*) üç farklı stok yoğunluklarında (50, 60 ve 70 karides/m²), toprak havuzlarda, ortalama 18.63 g, 13.46 g ve 11.86 g ulaştırabildiklerini ve verimin sırasıyla 7.243 kg, 7.307 kg ve 8.011 kg/ha olarak gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Sookying vd. (2011), açık havuz ve tank koşullarında *L. vannamei*'de stok yoğunluğunun büyüme performansı ve ekonomik fizibilite üzerine etkisini değerlendirmiş; 0.1 hektarlık havuzlara 0.015 g ağırlıkta stokladıkları karidesleri 17, 26, 35 ve 45 adet/m² yoğunluklarda, 10 hafta süreyle ve ayrıca 24.8 ton kapasiteli tanklara stokladıkları daha iri (2.8 g) yavruları 15, 25, 35, 45, 55 ve 65 adet/m² stok koşullarında 10 hafta süreyle büyütmüşlerdir. Havuz çalışmasının sonunda (14 hafta) stok yoğunluğu ile büyüme arasında negatif bir korelasyon görmüşler ve karideslerin 20.70-25.25 grama %58.0 ile %65.1 arasında hayatta kalma oranı ve 1.17 ile 1.54 arasında YÇO ile ulaştıklarını bildirmişlerdir. Açık hava koşullarında, tank sisteminde de büyümenin stok yoğunluğuyla ters orantılı olarak gerçekleştiğini ve ortalama nihai ağırlıkların 13.42-16.13 g, yaşama oranlarının %93.4-100.0 ve YÇO'ların 1.15-1.54 arasında değiştiğini ve stoklama yoğunluğu ile negatif bir korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Balakrishnan vd. (2013), çalışmalarında *L. vannamei*'nin, toprak havuzlarda (0.8-0.9 ha), farklı stok yoğunluklarında (50, 56.25, 51.25 ve 61.11 adet/m²) büyümesini 110 gün süreyle incelemişler;

deneme sonunda ortalama final ağırlıklarının sırasıyla 21.2, 18.9, 19.6 ve 17.5 g; hayatta kalma oranlarının %82, 92, 81, ve 80 ve YÇO'ların 1.4, 1.34, 1.38 ve 1.35 olduğunu tespit etmişlerdir. Suriya vd. (2016), *L. vannamei*'nin stok yoğunluğunun (100 adet/m² ve 12 adet/m²) hayatta kalma ve büyüme performansı üzerine etkisini araştırmışlar ve deneme sonu hayatta kalma oranlarını, sırasıyla %80 ile %90, YÇO değerlerini 1.39 ile 1.4, ortalama vücut ağırlıklarını ise 20 ila 34 g ve toplam üretimi ise 9500 ile 5861 kg olarak bildirmişlerdir. Bir çalışmada Balakrishnan vd. (2011) 0.8-0.9 hektarlık havuzlara Pasifik beyaz karideslerini 50, 56, 51 ve 61 adet/m² stoklamış ve 118-122 gün süren yetiştiricilik sonunda hasat ağırlıklarını 21.2, 18.9, 19.6, ve 17.5; yaşama oranlarını %82, 92, 81 ve %80 %; YÇO'ları 1.4, 1.34, 1.38, ve 1.35 olarak bulmuşlardır.

Projemizde kullandığımız diğer bir tür olan *P. vannamei* ile yürüttüğümüz 4. denemede ise kullandığımız altı katlı RAS üretim modelimiz genel olarak başarılı bir sonuç vermiş ve bu karidesin 40-45 cm su derinliğinde rahatlıkla pazarlama boyutu olan 20 g ve üzerine, 4 ay içerisinde, yüksek stoklama oranlarında (80-160 adet/m²) ulaştırılabileceğini kanıtlamıştır. Bu üretim modelinde elde ettiğimiz yaşama (%62-77.5) ve SBO oranları (%2.39-2.55/gün), ortalama ürün miktarı (0.69-1.98 kg/m²) ve YÇO değerleri (1.56-1.74) gayet başarılı sayılabilecek rakamlardır. Büyütme esnasında *P. vannamei*'nin beslemesinde kullandığımız yem formülasyonu, *P. semisulcatus* için tasarladığımız ve test ettiğimiz yem formülasyonlarından esinlenerek hazırlanmış (%38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji) ve bu yemde balık unu %30, soya unu %12.5 ve mısır glüten unu %13 seviyelerinde kullanılarak (Bkz. Çizelge 3.3) yem maliyeti 0.96 USD seviyesine kadar düşürülmüştür. Bu yem ile beslenen karideslerin 4 aylık büyütme periyodunun sonunda, beklendiği üzere, sığ su koşullarında bile, ortalama 20 g ve üzerinde ortalama ağırlıklara ulaşabilmesi, formüle edilen yemin gerek besin içeriğinin gerekse su stabilitesinin gayet başarılı olduğunu kanıtlamıştır.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, Ray vd. (2017) temiz su ve biyofloc üretim sistemlerinde Pasifik beyaz karideslerini kıyaslamak amacıyla her 1 m² suya 250 adet ortalama 0.48 g ağırlıkta karides stoklamış ve 55 gün süren deneme sonunda final ağırlıkları, biyomas, haftalık büyüme oranı ve yaşama oranlarını biyofloc ve temiz su kültürlerinde sırasıyla 11.1 ve 11.6 g, 1.7 ve 2 kg/m³, 1.4 ile 1.5 g/hafta, %69 ile %78 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca, Suantika vd. (2018) RAS sisteminde karidesleri (*L. vannamei*) üç farklı yoğunlukta (500, 750 ve 1,000 PL/m³) stoklamışlar ve 84 gün süren deneme sonunda ortalama ağırlıkları 14.87, 13.09 ve 11.32 g, yaşama oranlarını %70, %53.67, %44, günlük SBO'ları %7.12, %6.95, %6.79, ve YÇO'ları ise 1.32, 1.45, ve 2.05 olarak bulmuşlardır. Çalışmada grupların stok oranlarındaki artış ile birlikte biyomasın sırasıyla 5.20 kg/m³, 5.24 kg/m³ ve 4.99 olarak hesaplandığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, RAS için optimal stoklama yoğunluğunu 500 PL/m³ olarak bildirmişlerdir. Krummenauer vd (2016) Pasifik beyaz karideslerini biyofloc sisteminde, 0.40, 0.80 ve 1.20 m su derinliklerinde (%30 tuzlulukta), 9 adet 35.5 ton kapasiteli tanklarda (sera içinde), 400 adet/m² stoklama yoğunluklarında 120 gün boyunca büyütmüşler ve deneme sonunda (17. hafta) ortalama ağırlıkların ve yaşama oranlarının değişmediğini bulmuşlardır (P>0.05). Ancak final biyomaslar gruplar arasında 2.88 (1.2 m), 4.83 (0.80 m) ve 8.45 kg/m³ (0.40 m) olarak farklılık göstermiştir (P<0.05). Bu araştırmacılar biyofloc sisteminde 0.4 m su

derinliğinin biyomas açsınından daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda sığ tanklarda, temiz suda, 40-45 cm su derinliğinde test ettiğimiz üç farklı stoklama oranında (40, 80 ve 160 adet/m²) Pasifik beyaz karidesinin ekonomik bir üretim için 160 adet/m² stoklama oranında bile rahatlıkla yetiştirilebileceğini önermekteyiz. Ancak bu ve bunun üzerinde stoklama oranlarında yetiştiricilik yaparken üretimin tamamıyla sera altında gerçekleştirilmesi ve bu esnada çevreden sisteme girebilecek patojenlere karşı önlemlerin titiz ve sıkı bir şekilde ele alınması tavsiye edilmektedir. Çünkü, projemizde de belirlediğimiz üzere, aşırı stoklama oranı karidesler üzerinde belli seviyede bir kronik stres yaratır ve bu da canlılarda hassasiyet oluşturarak hastalıklara olan direnci düşerebilir.

Gelişmiş batı ülkelerinin aksine Çin gibi gelişmekte olan ülkelerde resirküle sistemler çok daha basit ve ucuz malzeme ve ekipmanlar kullanılarak tasarlanabilmektedir. Son yıllarda yaşanan teknolojik gelişmeler ve alternatif enerji kaynaklarının kullanımının kısmen ucuzlayarak yaygınlaşmaya başlaması akvakültür sektörü için de ekonomik çözümler üretilmesine imkan vermektedir. Bu kapsamda, bitkisel üretimde de çok yaygınlaşan sera sistemlerinin, basit tanklar ve ucuz tank kaplama materyallerinin (HDPE vb. jeomembran) ve endüstriyel atık sıcak su/solar/rüzgar/jeotermal enerji kaynaklarının kullanılması büyük avantajlar sunabilir. İngiltere’de bir ticari firma endüstriyel atık-su kaynağı (ısınmış) ile resirküle sistemlerde 1000 ton karides (*P. vannamei*) üretebildiğini (m²den yılda 25-30 kg ürün) bildirmektedir. 2014 yılında Çin’in Qingdao eyaletinde ziyaret ettiğimiz bir firma 1200 m² kapalı alandan (basit bir sera sisteminde) 800 m derinlikten çekilen bir jeotermal kuyudan çıkarttıkları sıcak suyu kullanarak havuzların her m²sinden her üründe 12 kg (3 üründe yılda 36 kg) ve her biri 100 m²den ibaret 10 adet beton havuzdan yılda toplamda 36 ton gibi mükemmel bir üretim (*P. vannamei*) rakamı elde edebilmektedir. Yenilenebilir enerji imkanları bolca bulunan ülkemizde, Çin’lilerin yaptığına benzer düşük teknoloji ve düşük maliyet ile kurulan benzer sistemlerin rahatlıkla su ürünleri sektörümüze kazandırılabilmesi ve bu sistemlerde karides gibi çok değerli yeni ürünlerin üretilmesi mümkündür. Bu çerçevede, projemizin 4. Denemesinde basit bir sera ve çok katlı tank sisteminden ibaret (altı katlı) basit bir resirküle sistem kurulmuş ve bu sistemdeki suyu çevirecek olan 1 adet su pompası, 1 adet blower ve 1 adet ısı pompasını çalıştıracak güçte bir solar enerji santrali entegre edilerek (10.5 KW) yepyeni, ekonomik ve sürdürülebilirlik şansı yüksek olan bir prototip üretim modeli başarıyla test edilmiştir. Bu düşük maliyetli resirküle sisteme hassas filtrasyon ile UV ve/veya ozon jeneratörü ile sterilizasyon üniteleri özellikle dahil edilmemiş olup, karides yetiştiriciliğinde oldukça kısa süren büyütme periyodunda (3.5-4 ay) bu kadar hassasiyetin gerekmediği düşünülmektedir. Bu proje kapsamında kullanılan solar enerji santrali aküsüz (maliyetin düşük tutulması amacıyla) ve sadece gündüz işletilebilecek şekilde tasarlanmış ve bu prototip üretim modelimizde büyüme sürecinin tamında su pompası ve hava motoru için gereken enerjinin tamamı %100 olarak solar enerji sisteminden sağlanmıştır. Böylece, üretimde devlet desteğiyle yaptırılacak olan bir solar panel sistemi sayesinde prototip sistemimize benzer bir sistemler ülkemizde özellikle ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde hiç ısıtmaya gerek duyulmadan %100 elektrik tasarrufu ile üretim yapılabilir. Kış aylarında, suyun ısıtılması gereken dönemde, ise solar panel sistemi kuşkusuz ki daha az etkin kullanılacaktır.

Geleneksel olarak büyük toprak havuzlarda yapılan karides yetiştiriciliği için deniz kenarında büyük arazilere ihtiyaç duyulmaktadır. Oysa ülkemizin Akdeniz ve Ege kıyıları özellikle çok hızlı gelişen turizm sektörü ve doğu Akdeniz'deki doğal hayatı koruma alanları nedeniyle karides yetiştiriciliği için geniş araziler bulmak neredeyse imkansız hale gelmiştir. Temelde kıyısız bölgeler için diğer sektörlerle (örneğin turizm) yaşanan sıkıntılar ve buna ilaveten ağırlığını her geçen yıl hissettiğimiz küresel ısınmayla birlikte önemi daha da artacak olan su kaynaklarının kullanımı ve yönetimi, yetiştiricilik modellerimizi çok daha az su kullanımına olanak sağlayan resirküle sistemlere doğru kaymaya zorlamaktadır. Diğer taraftan, geleneksel üretim metotlarının çevresel kirliliğe neden oldukları da dikkate alındığında, daha az su tüketerek akışkan havuz sistemlerine göre 100 kat daha az deşarj suyu vermeleri (Blancheton, 2000), ayrıca yetiştiricilik su kalite kriterleri üzerinde de tam kontrol şansı yaratmaları resirküle sistemlerin avantajları arasındadır. Yapılan hesaplamalarda geleneksel olarak toprak havuzlarda yapılan entansif karides yetiştiriciliğinde 1 kg karides için yaklaşık olarak 20 ton deniz suyu kullanılması ve eğer artım işlemi yapılmaz ise bu miktar deşarj edilen kirliliği doğaya bırakılması gerekmektedir (Losordo ve Simmons, 1994). Oysa bazı entansif karides yetiştiricilik sistemlerinde günlük %1-3'ten daha az su değişkenliği gerekmekte, hatta bazen sıfır su değişkenliği (biofloc) ile üretim yapılabilmektedir. Ancak bu sistemlerde yem kalitesinin yüksek olması ve yemlemenin doğru tekniklerle yapılması, yeterli havalandırma ve su sirkülasyonuna ilaveten doğal produktivite ve besin olarak nitrojen döngüsünün dikkatli bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Doğru işletilen entansif sistemlerde 1 m² havuz alanından tek üründe 4 kg'ın (Cohen vd., 2005; Krummenauer vd., 2011) üzerinde hatta bazen 10-11 kg'a kadar (Reid ve Arnold, 1992; Davis ve Arnold, 1998) ürün (*L. vannamei*) alabilmek mümkün olmaktadır. Prototip büyüme sistemimizde su değişkenliği günlük %0.43 olarak sürdürülmüş ve bu suyun büyük bir kısmı tatlısu kullanılarak giderilmiştir. Böylece, 4 ay süren büyüme denemesinde, ‰18-20 tuzlulukta sürdürülen çalışmada, deniz suyu sadece tuzluluk ve su mineral dengesini sağlamak amacıyla kullanılmış ve su değişkenliği ağırlıklı olarak kuyu suyu ile yapılmıştır. Böyle bir RAS modeli, bir ticari tesisin deniz kenarına kurulma zorunluluğunu azaltabilecek ve çevre kirliliği açısından da minimal atık su stratejisi ile daha çevre-dostu üretim yapılabilmesine olanak sağlayabilecektir.

Bu projede test ettiğimiz altı katlı tanklarda 1 m² havuz alanından (üstü üste 6 katlı olarak) elde edilen ürün miktarları 40, 80, ve 160 adet/m² stok gruplarında, sırasıyla, 4.14, 6.72 ve 11.88 kg olarak hesaplanmıştır. Teorik olarak bu rakamlarla, her hasat için, 1 hektar havuz alanından 41.400, 67.200 ve 118.800 ton gibi çok yüksek tonajlar elde edilebileceği hesaplanabilir, ki bunlar ticari anlamda çok cazip rakamlardır. Literatürde bu tip üretim modelinde yapılmış bilimsel çalışma sayısı son derece sınırlı olup, ABD'de ticari boyutta 7 katlı sığ tank sistemlerinde de (<0.35-0.40 cm) üretim yapıldığı bilinmektedir. Ancak bu ticari firmaların karlılık ve başarı durumları hakkında yeterli bilgi elde edilememektedir. Projemizde test ettiğimiz üretim modelinin bir benzerinde Lingelfelter (2013) 0.8 x 5 x 0.35 m boyutlarında her biri dört katlı tank sistemlerinde (4 m² tank taban alanı) *L. vannamei* üretmiştir. Bu araştırmacı optimal stoklama oranının 3 kg/m² olduğunu, en üst tanktan başlamak üzere stoklanan karideslerde (0.3-0.4 g) bu biyomas

elde edildiğinde (4 haftada 2.5-3 g) bir alttaki tanka karideslerin aktarıldığını (3. tank) ve bu tanktada 4 hafta içerisinde bu biyomas yakalandığında (9-10 g) karideslerin 2. kattaki tanka aktarıldığını, 2. tankta da 4 hafta büyütülen karideslerin sonuçta 17-18 g ağırlığa kadar ulaştırılabildiğini bildirmiştir. Son aşamada, 2. tanktan 1. tanka aktarılan karidesler bu tankta yetiştiriciliğin son 4 haftası içinde (toplamda 16 hafta) artık 25-25 g ağırlığa kadar ulaştırılabilmıştır. Bu üretim modelinde her boşaltılan 4. tanka yeniden 0.3-0.4 g ağırlıkta karides stoklandığında, sürekli olarak sistemde satış boyutuna getirilmiş karideslerin olması ve böylece piyasaya daima taze ürün sunulması sağlanmaya çalışılmaktadır.

Katlı sığ tanklarda üretim yapmanın avantajları yanında bazı dezavantajları da vardır, ki bunlar; ilk yatırım maliyetinin yüksekliği, yerden yüksek konumda üst üste dikey olarak yerleştirilen tank düzeneğine su basacak pompaların, tek katlı RAS tank sistemlerine göre daha yüksek oranda elektrik enerjisi tüketmek durumunda olması, yemleme zorluğu ve sifonlama işçiliğinin yüksekliği ve atık kontrolünün zorluğu olarak sayılabilir. Özellikle geniş arazi temin edilemeyen, denizden uzak, soğuk bölgelerde sera veya bina içi ısıtma maliyetlerini düşürmek ve yıl boyu üretim yapabilmek amacıyla katlı sistemlerde RAS modeliyle üretim yapılması uygun görünmektedir. Ancak, daha büyük tankların ve bu tankların oturtulacakları karkas sistemlerinin ekonomik olacak şekilde farklı materyaller ile tasarlanması ve ekonomik çözümler ile ilk yatırım maliyetlerinin düşürülmesi büyük önem arz etmektedir. Arazi ve ısıtma maliyeti yüksek olmayan bölgelerde ilk yatırım maliyetinin ve işçilik giderlerinin düşürülmesi açısından katlı sistem yerine, havuzların derinliğinin artırılması yoluna da gidilebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

6.1. Ülkemizde Karides Yetiştiricilik Sektörü Hangi Teknikle ve Hangi Karides Türü İle Daha Hızlı ve Başarılı Bir Şekilde Geliştirilebilir?

- * Bugüne kadar yerli karides türlerimiz ile tanklarda (sert zemin) yoğun stoklama koşullarında pazarlama boyutlarına kadar başarılı bir ticari üretimleri yapılamamış olup, bu projemizde de bu sonuç tekrarlanmıştır.
- * Kanibalistik özelliği daima sorun yaratmış olan yeşil kaplan karidesinde (*P. semisulcatus*) bu projede de özellikle sığ (40-45 cm derinlik) ve tabanı sert (polyester) tanklarda üretim başarısız olmuş, sadece besleme çalışmasında (I. Deneme) yoğun bir şekilde tanklara yerleştirilmiş olan sığınak ve substratlarla yaşama oranları kabul edilebilir değerlerde tutulabilmiştir (<%70).
- * *P. semisulcatus*'un tanklarda üretiminde sadece kanibalizm sorunu görülmemiş, büyüme ve yem tüketim performansları da bu kültür koşullarından olumsuz etkilenmiştir.
- * Dolayısıyla, çok uzun yıllardır bu tür ile yürüttüğümüz çalışmalardan, literatür bildirişleri ve bu projemizin bulgularından yola çıkarak; *P. semisulcatus*'un ülkemizde üretiminde yüksek stoklama koşullarında büyük yumuşak toprak tabanlı havuzların kullanılması ve yılda tek ürün alınmasına yönelik bir üretim stratejisi ile (Nisan ile Ekim sonu arasında olmak üzere) üretim yapılmasının daha uygun olacağı önerilmektedir.
- * İslah edilmiş Pasifik beyaz karidesi (*P. vannamei*) RAS sisteminde sadece 4 ayda 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama koşullarında (üstelik sadece 40-45 cm su derinliğindeki tanklarda) ortalama, sırasıyla, 22.12, 18.31 ve 19.93 g ağırlıklara %62 ile %77.5 arasında yaşama oranlarıyla ulaştırılabildikleri. Bu denemede YÇO 1.56 ile 1.74 arasında değişmiştir.
- * *P. vannamei* kullanıldığı durumlarda; üretimin küçük tank veya havuzlarda, seralar altında, denizden uzak bölgelerde ve RAS teknikleriyle yapılabilmesi mümkündür. Bu tür üretim stratejisinin başarılı olabileceği bu projemizde kanıtlanmış olup, 40-45 cm derinlikte polyester tanklarda bile 1 m² alandan rahatlıkla 2 kg ürün (%70

civarında yaşama omalarıyla) alınabileceği kanıtlanmış olup, aslında daha derin havuzların kullanılması durumunda bu rakamın 4-6 kg/m² kg seviyesine kadar çıkartılabilmesi mümkün olabilecektir.

6.2. Yeşil Kaplan Karidesi Yemlerinde Bitkisel Kaynaklar ve Tavuk Unu Kullanarak Balık Unu Ne Oranda Azaltılabilir?

- * Bu proje kapsamında geliştirdiğimiz düşük maliyetli yem formülasyonunda pahalı olan balık unu (BU) yerine yerli hammaddelerden soya unu (SU) ve mısır glütene (MGU) ilaveten diğer bitkisel protein kaynaklarından olan fındık (FU) ve yerfıstığı küspeleri unu (YFU) ve ayrıca karasal hayvansal protein kaynaklarından da tavuk atıkları unu (TU) kombinasyonlar halinde kullanılmıştır.
- * Bu yemlerle iki ay sürdürülen besleme çalışmasının neticesinde alternatif protein kaynaklarıyla formüle edilen yemlerle kontrol (BU) grubu arasında final ortalama ağırlık, YÇO ve SBO değerlerinin değişmediği (P>0.05), yaşama oranları açısından ise 10BU+MİKS2'nin en yüksek orana sahip olduğu (%70.00) ve bu grubu MİKS2 (%63.33) ve MİKS1'in (%55.00) izlediği görülmüştür.
- * Karides et ham protein içeriklerine bakıldığında, MİKS1 grubunun istatistiki olarak diğer tüm deneme gruplarından daha yüksek oranda protein (%22.30) içerdiği (P<0.05), lipit açısından formülasyona BU giren tüm grupların diğerlerinden daha yüksek değerlere sahip olduğu (%1.16-1.23) görülmüştür.
- * PUFA'lar açısından irdelendiğinde, en zengin yem grubunun MİKS2 (%48.90) ve ardından da 10BU+MİKS2 (%47.37) olduğu diğerlerinin bu yağ asidi grubu açısından %41.41 ile %44.19 arasında değiştiği belirlenmiştir.
- * MİKS2'deki PUFA farkının özellikle bitkisel kaynaklardan (soya küspesi ve mısır glütene) geldiği ve bu bitkisel kaynakların özellikle linoleik asit (18:2n-6) açısından fark yarattığı anlaşılmıştır.
- * Yemlerde belirlenen n-3 yağ asitleri grubu açısından BU yemi %24.49'luk bir oranla tüm diğer yem grupları arasında (ki bunlar %8.07 ile %12.47 arasında değişmiştir) açık ara farkla yüksek çıkmıştır (P<0.05).
- * n-3 yağ asitlerindeki bu yüksek seviye özellikle DHA (%15.44) ve daha düşük oranda da olsa EPA'dan (%6.15) kaynaklanmıştır. BU yem grubunda, bu yağ asitlerinin seviyelerinin diğer yem gruplarından 2-3 kat daha yüksek olduğu dikkat çekmiştir.
- * Genel olarak n3/n6 oranı BU yeminde 1.39 olarak hesaplanmışken, bu oran diğer yem gruplarında 0.22 ile 0.41 arasında değişim göstermiştir (P<0.05).
- * Yemde bulunan farklı n-3 PUFA'ların karideslerin et dokusuna yansımaları incelendiğinde; n-3 yağ asitlerince en yüksek değer BU grubunda, en düşük değerlerin ise bitkisel protein kaynaklarının karışımları ile oluşturulan yemlerle beslenen karideslerde belirlendiği görülmüştür.
- * Bitkisel protein kaynakları içeren yemlerle beslenen karideslerde n-6 yağ asitleri genel olarak daha yüksek çıkmıştır (P<0.05).
- * Deneme grupları içerisinde, et dokuda en yüksek n3/n6 oranı BU grubunda (2.32) hesaplanmış olup, bu grubu daha düşük oranda BU ve ayrıca TU içeren gruplar izlemiş (1.57-1.68) en düşük oranları ise bitkisel protein karışımlarıyla formülize edilen yem grupları göstermiştir (1.18-1.34).
- * Kas EPA değerleri gruplar arasında %9.92 ile %10.54 arasında (P<0.05) ve DHA değerleri ise %13.78 ile %19.31 arasında (P<0.05) farklılıklar göstermiş olmakla birlikte, genel olarak HUFA'ların kas dokuda yüksek seviyelerde buldukları ve karideslerin performanslarına önemli etkilerde bulunmadıkları kanaatine varılmıştır.

6.2.1. Alternatif Protein Kaynaklarının BU Yerine Kullanılması

- * Deneme sonuçlarımız yemlerde BU'yu %0-10'na kadar indirdiğimizde, tavuk unu (TU) içeren yem gruplarımız haricinde, BU grubu ile kıyaslanabilecek performanslar elde edilebileceğini göstermiştir. Hatta, %10 BU ve bitkisel karışımların kullanıldığı, örneğin 10BU+ MİKS2 grubunda yaşama oranı açısından (%70), diğer gruplara kıyasla (%45-63.33), belirgin bir avantaj bile elde edilebilmiştir (P<0.05).
- * Çalışmamızda TU ile formüle edilen yemlerde hem yem tüketme isteksizliği hem de performans düşüklükleri deneme süresince gözlemlenmiş ve neticede deneme sonu yaşama oranları %7.5-15'e kadar inmiş ve hayatta kalanlarda da büyümede ciddi düşmeler görülmüştür.

- * Bulgularımız ve gözlemlerden yerli bir firmadan temin ettiğimiz ve analizlerimizde %50.57 ham protein, %6.70 lipit ve %6.69 ham kül içeren TU'da, bir şekilde kalite düşüklüğü ve besin dengesizliği olabileceği düşünülmüştür.
- * Denemede kullanılan yemlerde gerçekleştirdiğimiz esansiyel amino asit (EAA) ve esansiyel yağ asitleri (EYA) analiz sonuçları TU içeren yemlerin (10BU+TU ve TU+MİKS2) içeriklerinin diğerlerinden belirgin olarak farklı olmadıklarını göstermiştir.
- * Formülasyonda kullandığımız TU'nun, yeşil kaplan karidesleri tarafından isteksiz olarak tüketilmelerinin tersine, aynı dönemde kırmızı kiskaçlı kerevitlerde (*C. quadricarinatus*) de yürüttüğümüz bir çalışmada, bu krustaseler tarafından sorunsuz bir şekilde tüketildiği ve hatta TU içeren yemle beslenen grupların iyi performans gösterdikleri belirlenmiştir.
- * Literatür bildirilerinden ve bizim kırmızı kiskaçlı kerevitlerde elde ettiğimiz bulgulardan ve ayrıca yeşil kaplan karidesi ile yaptığımız gözlemlerden, yüksek kalitede TU kullanılması durumunda mevcut bulgulardan daha iyi sonuçlar alınabileceği ve aslında çok ekonomik olan (BU'dan 3.72 kat daha ucuz) bu hammaddenin formülasyona eklenmesi ile ciddi bir ekonomi sağlanabileceğini öngörmekteyiz.
- * Ancak, öncelikli olarak ülkemizde yerli firmaların piyasaya daha güvenilir ve yüksek standartlarda ürün sunmaları gerekmektedir.
- * Projemizde kullandığımız alternatif bitkisel kaynaklardan soya unu + mısır glüten unu karışımı (MİKS2: %27.5-34.5 oranlarında) ve diğer bir karışım olan MİKS1'deki hammaddeler [(soya unu (SU) + mısır glütenu (MGU) + yer fıstığı küspesi (YFU) + fındık küspesi (FU))] (%16.20-20.10 oranlarında) başarılı sonuçlar vermiştir.
- * Bilindiği kadarıyla, bu proje çalışmamızda fındık küspesi ununun karides yem formülasyonlarında BU yerine (diğer alternatif bitkisel protein kaynaklarıyla birlikte) kullanıldığına dair ilk bilimsel çalışmadır.
- * Yürütülen sindirilebilirlik analizlerinde yemlerin kuru madde, protein, lipit, organik madde ve enerji sindirilebilirlik oranları sırasıyla %61.42 ile %75.80, %49.67 ile %82.01, %65.54 ile 90.86, %65.85 ile %74.50 ve %59.83 ile %76.45 arasında değişmiştir. Buna göre, genel olarak, özellikle BU grubunda gerek protein gerekse lipit sindirilebilirlik oranlarının beklenen seviyelerin oldukça altında kaldığı ve BU'nun kalitesinde bazı sorunlar olabileceği ya da alternatif protein kaynaklarının kullanıldığı yemlerde dışkı stabilizasyonunun düşmesi nedeniyle bu yemlerin sindirilebilirliklerinin suni olarak artmış olabileceği düşünülmüştür.
- * Denememizde toplam 4 adet bitkisel protein kaynakları ile karışım içerisinde bireysel olarak %16.2 (10BU+MİKS1) ile %20.10 (MİKS1) oranlarında kullanılan hem yer fıstığı küspesi hem de fındık küspesi, deneme yemlerinin EAA kompozisyonları zenginleşmiş ve yüksek sindirilebilirlik (kuru maddede %94.74-95.73, proteinde %73.88-82.01) sağlamışlardır. Bu yemlerle beslenen karideslerde de final ağırlık ve SBO iyileşmiş, ancak yaşama oranları MİKS2 gruplarından daha düşük çıkmıştır.
- * Yeşil kaplan karidesi ile yürüttüğümüz çalışmada MİKS1 (soya unu + mısır glüten unu) ile formüle edilmiş yemlerle beslenen gruplarda protein, lipit ve kuru madde sindirilebilirlik oranları %73.88-82.01, %87.56-90.11 ve %94.74-95.73 gibi yüksek çıkmıştır.
- * Denemede soya unu + mısır glüten unu karışımı (MİKS2) kullanılan yemlerle (10BU+MİKS2 ve MİKS2) beslenen karideslerde en çok dikkat çeken şey yüksek yaşama oranı sağlamış olmalarıdır. Özellikle 10BU+MİKS2 yem grubunda yaşama oranı (%70) diğer gruplardan daha yüksek çıkmış ve diğer parametreler açısından da bu grup iyi bir performans göstermiştir.
- * Sonuç olarak, bu çalışma ucuz ve yerli hammaddeler (hayvansal protein kaynağı olarak TU ve bitkisel protein kaynakları olarak SU+MGU+YFU ve FU) kullanarak yeşil kaplan karidesi için rahatlıkla BU'nun formülasyonlarda %10 hatta %0 seviyesine kadar azaltılabileceğini ortaya koymuştur.
- * Ancak %0 BU ile bile iyi sonuç alınabilmesine rağmen, yemin daha fazla cezbedicilik sağlaması ve bazı mikro-besinlerin temin edilebilmesi açısından %10 BU'nun formülasyonlarda yer alması önerilmektedir.
- * Denememizde de kullandığımız BU içerikli yemin karidesler tarafından kuru madde, protein, lipit ve enerji bakımından düşük oranlarda sindirilmesi, bu yemin besleme değerinin düşük olduğu anlamına gelmemelidir. Zira BU ile beslenen karidesler rakamsal olarak en iyi büyüme ve yem çevirim oranı göstermişlerdir. Yüksek sindirilebilirlik iyi kalitede yem için aranan bir husus olmakla birlikte, yüksek büyüme performansı için tek başına yeterli bir ölçü değildir.

6.2.2. Yemde Alternatif Bitkisel ve Hayvansal (Tavuk Atıkları Unu) Protein Kaynakları Kullanımı Yem Maliyetinde Ekonomi Sağlar mı?

- * Denememizde kullandığımız yem formülasyonlarda gerçekleştirdiğimiz maliyet analizlerinden; %48 oranında BU kullanılan yemin maliyetinin 1.14 USD/kg olduğu, bu rakamın 10BU+TU yeminde (BU %10'na indirildiğinde ve %52.50 TU ilavesinde) 0.93 USD/kg'ye düştüğü hesaplanmıştır.
- * BU yerine ikame edilen TU'nun yüksek kaliteli bir hammadde olmaması nedeniyle, karideslerde biyolojik performans parametreleri iyi çıkmamış ancak yine de kaliteli bir hammaddenin kullanılması durumunda oluşturulacak yem formülasyonlarında olası tasarrufun en az %15-18 seviyesinde olabileceği tahmin edilmiştir.
- * 10BU+MİKS1 yeminde (%10 BU ve %64.8 bitkisel protein kaynakları) ise yapılan hesaplama maliyetin 0.86 USD/kg olduğunu ve bunun BU yemine göre %24.56 daha ucuz olduğu dikkat çekmiştir.
- * 10BU+MİKS2 yeminde (%10 BU ve %55 bitkisel protein kaynakları) maliyet 0.93 USD/kg çıkmış ve burada %18.42'lik bir tasarruf söz konusu olmuştur.
- * %0 BU ve dört bitkisel protein kaynağının kullanıldığı (%80.40) MİKS1 yeminde maliyetin 0.80 USD/kg olduğu ve bu yemin de BU (kontrol) yemine göre %29.82'lik bir tasarruf potansiyeli yarattığı hesaplanmıştır.
- * %100 bitkisel materyaller ile formüle edilen diğer bir yem olan MİKS2 (%69) yeminin toplam maliyeti 0.90 USD/kg olarak hesaplanmış ve bu yemde elde edilen tasarrufun %21.05 olduğu belirlenmiştir.
- * Deneme yemlerinden sonucusu olan TU+MİKS2 yeminin (%34.5 TU ve %32.40 bitkisel protein kaynakları) maliyeti ise 0.89 USD/kg olarak hesaplanmış ve bu yemin BU yemine göre %21.93 daha ucuz olduğu hesaplanmıştır.
- * Yeşil kaplan karidesi için formüle edilen yemlerde BU yerine TU ve bitkisel protein kaynaklarının kullanılması durumunda elde edilen ve %18.42 ile %29.82 aralığında hesaplanan tasarruf değerleri çok ciddi cazip rakamlardır ve yüzlerce hatta binlerce ton yem üreten/tüketen ticari işletmelerin karlılığında çok büyük fark yaratacaktır.

6.2.3. Yemlerin Hidrostabilesinde Hangi Bağlayıcı Madde Daha Avantajlıdır?

- * Denememizde toplamda dokuz farklı bağlayıcı madde ile formülize edilen yemlerde hidrostabilité testleri kuru madde ve protein kayıpları açısından değerlendirilmiş olup, yapılan hesaplamalarda, yüzde kuru madde açısından ilk saatteki en büyük kayıplar %2.05 ile %2.73 arasında olmak üzere kalsiyum bentonit, sodyum bentonit, guar gum ve karboks metilselüloz ile formülize edilen yemlerde gerçekleşmiştir.
- * 1. saatteki en düşük kuru madde kaybı %0.30 ile sodyum metilselüloz ile üretilen yemde gerçekleşmiştir ve bunu %0.85 kayıp ile sodyum alginat, %1.20 ile kitosan, %1.32 ile karragenan ve %1.50 ile kontrol yemi (buğday glütteni) izlemiştir.
- * Tüm yem gruplarındaki kuru madde kayıpları 3. saatte de devam etmiş ancak bu süreçte özellikle karboks metilselüloz ile üretilen yem daha fazla kuru madde kaybına (%4.25) uğramıştır. Bu süreçte de en düşük kuru madde kaybı %0.96 ile sodyum metilselüloz içeren yemde görülmüş, bu yem grubunu %1.32 ile karragenan, 1.46 kayıp ile sodyum alginat, %1.57 ile kitosan izlemiştir. Bu saatte en yüksek kayıp %4.25 ile kalsiyum metilselüloz içeren yemde görülmüş, bunu %3.02 ile guar gum, %2.99 ile kalsiyum bentonit ve %2.94 ile sodyum bentonit izlemiştir.
- * Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük kuru madde oranı kaybı (%1.15) gösterirken, en yüksek kayıp (%4.53) karboks metilselüloz içeren yemde elde edilmiştir. Düşük kuru madde kaybı gösteren diğer gruplar %1.84 ile sodyum alginat, %2.08 ile karragenan ve %2.11 kitosan olarak sıralanmıştır.
- * Denemenin 7. saatinde de yine en düşük kuru madde kaybı %1.57 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %2.54 ile sodyum alginat, %2.74 ile kontrol (buğday glütteni), %2.78 ile karragenan ve %2.88 ile kitosan izlemiştir.
- * Toplam 7 saatlik hidrostabilité testleri süresince en yüksek kuru madde kayıpları guar gum (%5.45), kalsiyum bentonit (%3.26) ve sodyum bentonit (%3.73) içeren yemlerde kaydedilmiştir.
- * Denemede ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen kuru madde kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşükten en yükseğe doğru kayıpların sırasıyla sodyum metil selüloz > sodyum alginat > karragenan > kitosan >

kontrol (buğday glütenu) > karboksi metilselüloz > guar gum > kalsiyum bentonit ve > sodyum bentonit olduğu görülmektedir.

- * Yüzde protein açısından ilk saatteki en büyük kayıplar özellikle kalsiyum bentonit (%2.35) ve guar gum (%1.90) ile formülize edilen yemlerde, en düşük kayıplar ise %0.53 ile sodyum metilselüloz ile %0.79 ve %1.13 kayıplarla kalsiyum metilselüloz ve sodyum alginat ile üretilen yemlerde gerçekleşmiştir.
- * Denemenin 3. saatinde en düşük protein kaybı %0.70 ile sodyum metilselüloz içeren yemde devam etmiş, bu yem grubunu %1.45 kayıp ile kontrol grubu (buğday glütenu), %1.66 kayıp ile sodyum alginat, %1.84 ile karragenan, %2.06 ile sodyum bentonit, %2.11 ile guar gum ve %2.29 ile kitosan izlemiştir.
- * Denemenin 5. saatinde de gidişat değişmemiş, bu periyotta da sodyum metilselüloz en düşük protein kaybına neden olurken (%0.79), en yüksek kayıp (%2.74) ile guar gum içerikli yemde elde edilmiştir.
- * Denemenin 7. saatinde de yine en düşük protein kaybı %1.32 ile sodyum metilselüloz içeren yemde belirlenmiş, bu grubu %1.71 ile kontrol (buğday glütenu) grubu, %2.10 ile karboksi metilselüloz, %2.38 ile karragenan, %2.38 ile sodyum bentonit ve %2.38 ile kitosan izlemiştir.
- * Toplam 7 saatlik stabilite testleri süresince en yüksek protein kayıpları kalsiyum bentonit (%3.26) ve guar gumlu (%3.18) yemlerde kaydedilmiştir. Su stabilite testlerinde ortalama olarak ilk 7 saatte gerçekleşen protein kayıpları açısından değerlendirildiğinde; en düşük kayıpların sırasıyla sodyum metilselüloz > kontrol (buğday glütenu) > karboksi metilselüloz > karragenan > sodyum alginat > sodyum bentonit > kitosan > guar gum ve > kalsiyum bentonit olduğu görülmektedir.
- * Sonuç olarak, bulgularımız 100-150 µ partikül boyutlarına kadar öğütülmüş hammaddelerle %38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji içeren yem formülasyonuna %3 oranında buğday glütenu eklendiğinde ve karışım pres pelet makinasından geçirilip (1 mm çapında ve 3-4 mm uzunlukta) ardından da 110°C'de, 0.5 bar basınç altında, 30 dk süreyle pişirilip gölgede 3-4 saat kurutulduğunda hidrostabilite açısından çok başarılı sonuçlar alınabileceğini ortaya koymuştur.
- * Deneme bulgularımızın da gösterdiği üzere, buğday glütenundan de hidrostabilite açısından daha iyi sonuç veren diğer bazı bağlayıcı maddelerin de kullanılabilmesi mümkün olmakla birlikte, bu bağlayıcılarla üretilen yemlerin sindirilebilirlikleri ve maliyet artışlarının da dikkate alınması gerekir.

6.3. Karides Yetiştiriciliğinde Probiyotik ve Fitojenik Madde Kullanımı Önemli midir?

- * Yürüttüğümüz proje kapsamında suda eriterek haftalık olarak 0.1 g/m³ dozunda kullandığımız AquaStar-PondZyme ve 5 g/kg olarak yeme ekleyerek kullandığımız diğer bir probiyotik olan AquaStar-Growout, ilaveten sadece yem formülasyonuna 0.7 kg/kg oranında eklediğimiz PEP MGE adlı bir fitojenik ürünün 2 ay süren denemede kullanımında, Pasifik beyaz karideslerinin büyüme, yaşama oranı ve YÇO değerlerinde, kontrol gruplarına kıyasla, herhangi bir istatistikî farklılık görülmemiştir.
- * Deneme sonunda karidesler gruplarında final ortalama ağırlıklar 5.70 ile 5.95 g, yaşama oranları %63.33 ile %72.67, SBO değerleri (%gün olarak) 3.36 ile 3.49 ve YÇO değerleri ise 1.50 ile 1.61 arasında değişim göstermiştir (P>0.05).
- * Probiyotik ve fitojenik maddeler kullandığımız deneme sonunda karidelerde bağımsız sisteminin etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla yaptığımız tuzluluk stres testi neticesinde probiyotik kullanılan gruplarda 6. saatte yaşama oranları %10 ile %20 arasında değişmiş iken, kontrol gruplarında tüm karidesler test sonunda ölmüşlerdir.
- * Bakteri dayanıklılık testinde *V. parahaemolyticus* enjekte edilen karideslerde elde edilen bulgular net olarak probiyotik kullanımının pozitif etkilerini göstermemiştir.
- * Bulgularımız oral yolla verdiğimiz probiyotiğin karides bağırsak mikroflorasına tam anlamıyla yerleşemediğini, dolayısıyla beklenen olumlu etkilerin bu nedenle alınamadığını göstermiştir.
- * Çalışmamızda iki farklı RAS sisteminde yürüttüğümüz denemelerde probiyotikli suda ölçülen amonyak, nitrit ve nitrat değerleri istatistikî olarak probiyotik kullanılmayan sudakine göre daha düşük çıkmıştır (P<0.05). Bu bulgularımız da, kullandığımız probiyotiklerin karidesin biyolojik performans parametreleri üzerinden ziyade, su kalite kriterleri üzerinde iyileştirici etkilerde bulunduğunu ortaya koymuştur.
- * Bizim çalışmamızda ise fitojenik madde kullanılan grupların RAS yetiştiricilik sistemlerinde, gerek probiyotikli gerekse probiyotiksiz sularda, karides büyüme ve yem tüketim performanslarında belirgin bir avantaj

sağlamadıkları ve bağırsakta *Vibrio* ve toplam bakteri koloni sayısını da etkilemedikleri, ancak sadece probiyotik uygulanan suda *Vibrio* sayısını istatistik anlamda azalttığını göstermiştir ($P<0.05$).

- * Sonuç olarak, geliştirmek istediğimiz prototip resirküle üretim modelimiz kapsamında, Dünya'nın en büyük probiyotik üreticilerinden ve projemizin partner firması olan Biomin (Avusturya)'in ürettiği bazı probiyotik (AquaStar-Growout® ve AquaStar-PondZyme®) ve bir fitojenik ürünün (Digesterom PEP MGE®) değişik kombinasyonlarda hem yem katkı maddesi hem de su kalitesini iyileştirici özelliklerini test ettiğimizde özellikle probiyotiklerin hem suda hem yemde kullanımının hastalık riski taşıyan bakterilerin baskılanması amacıyla kullanılabileceği önerilmektedir.

6.4. Süper-Entansif Stoklama Yoğunlukları Karideslerde Ne Ölçüde Stres Yaratır?

- * Genel olarak *P. semisulcatus* ile tank koşullarında yürütülen çalışmalarda gerek ön-büyütme gerekse büyütme amaçlı yetiştiriciliklerde yüksek oranlarda görülen kanibalizm sorunu ve elde edilen düşük yaşama oranları nedeniyle, bu karides türünde deneme girişimleri başarısız olmuş ve alınan bazı örneklerde HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon analizleri de, türe özgü spesifik primerler olmadığı için, partner araştırmamız tarafından Tayland'taki laboratuvarlarda yapılamamıştır.
- * TÜBİTAK projemiz kapsamında da özellikle 40-45 cm derinlikteki sığ sularda ve fiberglas zeminde (altı katlı sistemimizde) karideslerde o kadar yoğun bir kanibalizm ile karşılaşmıştır ki, denemenin devam ettirilmesinin bir anlamı kalmamıştır.
- * Dolayısıyla, *P. semisulcatus*'un ülkemizde yetiştirilmesi durumunda portlarvaların ön-büyütme aşamasında mutlaka substratların bolca bulunduğu bir ortamda yetiştirilmeleri (0.2-0.5 grama kadar) veya olabildiği kadar erken dönemde (PL15-20 gibi) toprak havuzlara stoklanması suretiyle kanibalizmi azaltma yoluna gitmek gereklidir.
- * Ticari ölçekte de bu türün üretimi yapılacaksa, mutlaka yumuşak tabanlı ve derin toprak havuzlarda üretim yoluna gidilmesi önerilmektedir.
- * Karideslerde stoklama yoğunluğunun stres oluşturduğuna (akut veya kronik) ve bunun farklı dokularda (et, solungaç ve hepatopankreas) HSP'lerin sentezlenmesine yol açtığına dair bugüne kadar herhangi hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır.
- * Ayrıca, yine karideslerin bağışıklık sistemlerinin yüksek stok yoğunluklarında nasıl etkilendiğine dair formalin testi, salinite testi, bakteriyel dayanıklılık testi ile bazı biyokimyasal ve immünolojik parametreler arasındaki ilişki ilk kez bu projemizde ayrıntılı olarak ele alınmış ve incelenmiştir.

6.4.1. Ön-büyütmeye (II. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki

- * Ön-büyütme aşamasında üç farklı stoklama yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) yetiştirilen *P. vannamei* yavrularında deneme sonu yaşama oranları, sırasıyla, %77, %78 ve %82 olarak ve ortalama ağırlıklar ise 1.35, 1.09 ve 1.12 g olarak elde edilmiştir ($P>0.05$).
- * Deneme sonunuda uygulanan tuzluluk ve formalin stres tesleri stoklama yoğunluğunun artışı ile 6 saat süren stres testlerindeki yaşama oranlarının düştüğünü, diğer bir ifadeyle, yüksek stoklama koşullarında yetiştirilen karideslerde çevresel koşullara hassasiyetin arttığını ortaya koymuştur ($P<0.05$).
- * HSP70 analizlerinde 0. gün örnekleme HSP70 değeri 1.13 olarak belirlenmiş, 1 gün sonra tüm stoklama gruplarında (200, 400 ve 800 adet/m²) bu değer, sırasıyla, 1.44, 1.96 ve 1.88 seviyelerine yükselmiştir. Ancak, %30.56 ile %36.11 seviyesinde artışlara rağmen yinede ilk gün HSP70 verileri üzerinde yapılan istatistik hesaplamalar gruplar arasında bir fark olmadığını göstermiştir ($P>0.05$).
- * Denemenin 3. günü ve sonrasında 7. ve en son 30. günlerde alınan örneklerde ise stoklama yoğunluğunun artışı ile birlikte HSP70 verilerinde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.
- * HSP90 gen ekspresyon analizlerinde 0. gün örnekleme belirlenen 1.51'lik gen ekspresyon seviyesi, 1. günde stoklama yoğunluğundaki artışa paralel olarak artış göstermiş ve bu artış özellikle 800 adet/m² stok yoğunluğunda, düşük stok yoğunluğuna (200 adet/m²) kıyasla, 9-10 kat daha yüksek olarak gerçekleşmiştir ($P<0.05$).

- * İlk günde, orta stoklama yoğunluğu olan 400 adet/m² grubunda da, 200 adet/m² grubuna kıyasla, HSP90 seviyesi yaklaşık 2.5 kat yükselmiş, ancak istatistik bir farklılık belirlenememiştir (P>0.05).
- * Gruplar arasındaki bu anlamlı farklılık 3. günde daha az belirgin hale gelmiş, ve 7. günde artan stoklama yoğunluğuna paralel bir artış görülmüş olsa da, gruplar arasında istatistik bir farklılık bulunamamıştır (P>0.05). 30. günde alınan 3 farklı doku örneklerinin hiçbirinde de stoklama yoğunluğuyla ilintili bir eğilim belirlenememiştir.
- * Bulgularımız hem HSP70 hem de HSP90 gen ekspresyon analiz sonuçlarının stoklama yoğunluklarıyla ilintili olarak artış gösterdiklerini, ancak özellikle HSP90'nın daha da fazla etkilendiğini ortaya koymuştur.
- * Literatür bildirişlerinden ve bulgularımızdan yola çıkarak, özellikle ön-büyütme döneminde 800 adet/m² (1-1.5 g boyutlarında) gibi test ettiğimiz en yüksek stoklama yoğunluğunun karideslerde HSP70 ve özellikle de HSP90 gen ekspresyon seviyelerini uyararak yükselttiği, ancak bu uyarımın 1-2 gün içerisinde azalarak seviyelerin tekrar normale dönerek regüle edilebildiği belirlenmiştir.
- * Kronik yüksek stoklamanın da hiçbir organda (hepatopankreas, solungaç ve kas) HSP70 veya HSP90 genlerinin ekspresyon seviyelerinde belirgin bir fark yaratmadığı ve karideslerin maruz kaldıkları stresöre zamanla adapte olabildikleri anlaşılmıştır.

6.4.2. Büyütmede (IV. Deneme) Stoklama Yoğunluğu ve Stres Parametreleri Arasındaki İlişki

- * Bu denemede ortalama 1.06 g ile başlayan ve üç farklı stok yoğunluğunda (40, 80 ve 160 adet/m²) 4 ay süreyle büyütülen karideslerde büyüme ve yem tüketim performans parametreleri araştırılmış ve ayrıca denemenin 2. ve 4. aylarında alınan doku örneklerinde (hepatopankreas, solungaç ve kas) HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyeleri ve ilaveten de alınan hemolenf örneklerinde bazı plazma biyokimyasal ve immünolojik parametreler incelenmiştir.
- * Büyütme denemesi sonunda; 40, 80 ve 160 adet/m² stok gruplarında yaşama oranları sırasıyla %77.50, %76.50 ve %62.00 olarak gerçekleşmiştir. Deneme sonu ortalama karides ağırlıkları da yine sırasıyla 22.15, 18.31 ve 19.93 g (P<0.05) ve SBO değerleri %2.55/gün, %2.39/gün ve %2.43/gün olarak bulunmuştur (P<0.05).
- * Denemenin 2. ayında gruplar bazında en yüksek serum toplam protein değeri 40 adet/m² stok grubunda belirlenmiş, bunu 80 adet/m² grubu ve ardından da 160 adet/m² grubu takip etmiştir (P>0.05). Bu parametre 4. ayda yürütülen analizlerde istatistiksel farklılıklar göstermiş olmakla birlikte, bu farklılığın stoklama yoğunluğuyla ilişkili olmadığı görülmüştür (P<0.05).
- * Stoklama grupları arasında 2. ayda belirlenen en yüksek serum trigliserit değeri 40 adet/m² grubunda belirlenmiş, grubu 80 adet/m² ve ardından da 160 adet/m² grubu izlemiştir (P<0.05). Diğer yandan, 4. ay analizlerinde en yüksek trigliserit değeri 160 adet/m² grubunda, en düşük değer ise 80 adet/m² grubunda belirlenmiştir (P<0.05).
- * 2. ay serum total protein ve trigliserit değerleri bu dönemde yüksek stoklama yoğunluklarının bu parametreleri etkilediğini, ancak 4. ayda bu etkinin ortadan kalktığını göstermiştir.
- * Çalışmamızda stoklama yoğunluğunun artışının tersine, 2. ayda protein ve trigliserit değerlerinin plazmada belirgin bir şekilde azalış göstermesi, bu besin kaynağının muhtemelen stresin giderilmesi amacıyla o dönemlerde tüketildiğini ortaya koymaktadır.
- * 4. ayda ölçülen total protein ve trigliserit değerleri arasında anlamlı farklılıkların çıkmamasının nedeninin uzun süreli stres koşullarına (kronik stres) karideslerin adaptasyonu olduğu düşünülmektedir
- * Bulgularımız laktat değerlerinin bir stres kaynağı olarak stoklama yoğunluğu ile anlamlı bir ilişki içerisinde olmadığını, bunun da uzun süreli stres koşullarında bu parametrenin normal seviyesine dönmesiyle ilgili olduğunu düşündürmüştür.
- * Denememizin 2. ve 4. aylarda alınan örneklerde yapılan analizler ALP, AST ve ALT değerlerinin stoklama oranının artışı ile anlamlı bir ilişki göstermediğini veya gruplar arasında istatistik farklar bulunmadığı göstermiştir. Elde ettiğimiz bu verilere göre, *P. vannamei*'de kronik stres faktörü olarak test edilen stoklama yoğunluklarının bu enzimler üzerinde önemli etkiler yaratmadığı sonucuna varılmıştır.
- * Denemenizde elde ettiğimiz verilerden, karideslerin hemolenf THS değerlerinin iki ay gibi uzun bir süreç içerisinde dengelenmiş olması itibarıyla kronik bir stres parametresi olarak değerlendirilmeyeceği anlaşılmıştır.
- * Denememizin 2 ay gibi uzun süren bir potansiyel stres kaynağı (stoklama yoğunluğu) baskısı altında yetiştirilen Pasifik beyaz karideslerinde yapılan fağositik aktivite analizlerinde gruplar arasında herhangi bir farklılık görülme-

miş, ancak fagositik indeks değerlerinde 160 adet/m² stoklama yoğunluğunda istatistik olarak düşük bir değer elde edilmiştir (P<0.05). Test ettiğimiz en yüksek stoklama oranında (160 adet/m²) karideslerin belirgin bir şekilde zayıf fagositik indeks göstermesi, bu grubun stres altında olması itibarıyla hassasiyetini ortaya koymuştur.

- * Proje kapsamında farklı stoklama koşulların yürüttüğümüz denemede 2. ayda aldığımız hemolenf örneklerinde lizozim aktiviteleri yine büyük olasılıkla uzun süren deneme protokolünden kaynaklı olması itibarıyla farklılık göstermemiştir.
- * Bilindiği kadarıyla, karideslerde stoklama yoğunluğu ile ilişkili olarak karideslerde HSP70 ve HSP90 gen ekspresyon seviyeleri ilk kez bu proje kapsamında ele alınmıştır.
- * Çalışmamızda, HSP70 analizleri için, denemenin 2. ayında ve 4. ayında alınan doku örneklerinde yapılan gen ekspresyon analizleri göstermiştir ki; denemenin 2. ayında hiçbir dokuda (hepatopankreas, solungaç veya kasta) HSP70 seviyeleri, stoklama yoğunluğunun artışı ile birlikte anlamlı bir değişim göstermemiştir. Denemenin 4. ay örneklemeğinde de bu durum değişmemiş, kas dokuda yapılan analizler haricinde, diğer dokularda HSP70 seviyeleri benzer bulunmuştur (P>0.05).
- * Ancak, 4. ay kas örneklerinde HSP70 seviyesi 40 adet/m² stok grubunda 0.78 iken, bu değer 80 adet/m² grubunda 0.82, ancak 160 adet/m² grubunda ise yaklaşık 3 katlık bir artış ile 2.59 seviyesine çıkmıştır (P<0.05). En yüksek stok grubunda görülen bu yükseliş HSP70 geninin muhtemelen artan karides biyoması (2 kg/m² veya 4.74 kg/m³) tarafından stres yaratmaya başladığı için indüklendiğini göstermiştir. Bu biyomas artışı en düşük stoklama grubundan (40 adet/m²) 2.87 kat ve orta stok (80 adet/m²) grubundan ise 1.77 kat daha yüksek olarak hesaplanmıştır. Özellikle tanklardaki suyun sadece 40-45 cm derinliğinde olması, hayvanlar üzerinde daha yüksek oranda stres oluşmasına neden olmuş olabilir.
- * Denememizin 4. ayında, karideslerin büyümesi (ortalama 20 g >) ile artan biyomasın artık stres yaratmaya başladığı ve bu dönemden itibaren de bu stresin karideslerde patojenlere yönelik hassasiyeti arttırabileceği düşünülmüştür.
- * Denemenin 2. ayında yapılan HSP90 analizlerinde sadece hepatopankreasta anlamlı bir değişim gerçekleşmiş ve bu dokuda stoklama yoğunluğunun artışına paralel olacak şekilde istatistiksel olarak belirgin bir artış belirlenmiştir (P<0.05). Bu noktada, 40 adet/m² stok grubunda HSP90 seviyesi 0.06 olarak hesaplanmış iken, bu değer 80 adet/m² grubunda 0.62 ve ardından 160 adet/m² grubunda ise 1.13 olarak gerçekleşmiştir. Buna göre en yüksek stok yoğunluğunda karideslerin hepatopankreas dokusunda indüklenen HSP90 artışı, diğer gruplara kıyasla, 1.82 ile 18.83 kat daha yüksek çıkmıştır.
- * 4. ay analizlerinde hepatopankreastaki HSP90 indüklenmesinin ortadan kalktığı, bunun yerine, sadece kasta stoklama yoğunluğu ile HSP90 gen ekspresyon seviyeleri arasında anlamlı bir ilişkinin bulunduğu fark edilmiştir. Deneme süresince karides biyomasının en üst noktaya çıktığı bu dönemde kasta 40 adet/m² grubunda HSP90 seviyesi 0.16 olarak ölçülmüş iken, bu seviye 80 adet/m² grubunda 5.21'e (32.56 kat) ve 160 adet/m² grubunda ise 7.90 seviyesine çıkmıştır (49.38 kat, P<0.05).
- * Gerek HSP70 gerekse HSP90 analiz sonuçlarından, denememiz koşullarında, Pasifik beyaz karidesinin 4. ayında ulaşılan biyomas seviyesinde (2 kg/m² veya 4.74 kg/m³) 160 adet/m² stok grubunda karideslerin stres yaşamaya başladıkları ve bununun ötesinde yetiştiricilik yapılması halinde karideslerin bağışıklık sistemlerinde artan hassasiyet nedeniyle hastalıklarla karşılaşma riskinin yükseleceği öngörülmüştür.
- * Karides yetiştiriciliğinde büyütmenin genellikle 3.5-4 ay gibi kısa periyotlarda tamamlanabilmesi, yüksek stoklama koşullarında hastalık riskini azaltmakta ve böylece daha yüksek ürün elde edilebilmesine imkan vermektedir.

6.5. Ülkemizde Ekonomik Bir Entansif RAS Karides Üretim Sistemi Başarıyla Kurulup İşletilebilir mi?

- * Projemizin 2. Denemesinde ön-büyütmede üç farklı stok yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) yetiştirilen karideslerde (*P. vannamei*) elde edilen deneme sonu yaşama oranları (%77, %78 ve %82) stoklama yoğunluğundan etkilenmemiş, ancak deneme sonu karides ortalama ağırlık değerleri stoklama oranının artışı ile birlikte azalma göstermiştir (1.35, 1.09 ve 1.12 g).
- * Proje kapsamında yaptığımız çalışma ve bildirişleri, Pasifik beyaz karideslerinin ön-büyütme aşamasında 1 m³ suda yüksek stoklama koşullarında (9-10 bin adet/m³) bile yüksek yaşama oranlarıyla yetiştirilebileceklerini göstermiştir.
- * Bu projenin çıktılarında birisi de; RAS ile yapılacak olan üretim sayesinde piyasaya yeni bir ürün olarak karidesin yılın her döneminde aynı kalite ve boyutta ve taze (dondurulmamış) olarak verilebilmesine olanak

tanıyan bir üretim modelinin uygulanabilmesinin mümkün olduğunu ve bunun ülkemizde yatırımcılar nezdinde ilgi göreceğini düşünmekteyiz.

- * Projemizin 3. denemesinde probiyotik kullanımı ile su kalite kriterlerinden azotlu atıkların ve patojen etmenlerden *Vibrio* bakteri gelişiminin azaltılabileceği/baskılanabileceği kanıtlanmış olup, bu çerçevede üretim sürecinde hastalıkların ortaya çıkmasının önlebileceği ortaya konmuştur.
- * Yeşil kaplan karidesinin yüksek stoklama yoğunluklarında özellikle de sert zeminlere sahip tank veya havuzlarda düşük yaşama oranları ve zayıf büyüme performansı gösterdikleri belirlenmiş ve bunun türsel bir özellik olduğu düşünülmüştür.
- * Projemizdeki 1. Denemede bu karides türüne (*P. semisulcatus*) özgü bir yem formülasyonu geliştirilmiş olmakla birlikte, bu yemin kullanılması da çalışmalarımızda kanibalizmi azaltmamıza veya büyüme performanslarının yükselmesine herhangi bir katkı getirmemiştir. Tam tersine, özellikle 40-45 cm sığ tanklarda karidesler arasında daha önce hiç karşılaşmadığımız seviyelerde kanibalizm sorunu ile karşılaşmış ve 1. Denemede tank tabanlarına (1 m²) yerleştirilmiş olan ek substratlar ve saklanma objeleri ile yaşama oranları nispeten yükseltilebilirken, büyüme oranlarında herhangi bir iyileşme elde edilememiştir.
- * Yeşil kaplan karidesinin doğal ortamdan (denizden) elde edilen anaçlarından üretilen yavrularla yüksek stoklama koşullarında ticari firmaları cezbedebilecek performans sonuçları alınmayacağı (özellikle de sert zeminli substralarda), ancak ıslah çalışmalarıyla elde edilebilecek olası genetik ilerlemelerle, bu karides türünün yetiştiricilik potansiyelinin artırılabilmesinin mümkün olabileceği öngörülmektedir.
- * *P. vannamei* ile yürüttüğümüz 4. Denemede ise kullandığımız altı katlı RAS üretim modelimiz genel olarak başarılı bir sonuç vermiş ve bu karidesin 40-45 cm su derinliğinde rahatlıkla pazarlama boyutu olan 20 g ve üzerine, 4 ay içerisinde, yüksek stoklama oranlarında (80-160 adet/m²) ulaştırılabileceğini kanıtlamıştır.
- * Bu üretim modelinde *P. vannamei*'de elde ettiğimiz yaşama (%62-77.5) ve SBO oranları (%2.39-2.55/gün), ortalama ürün miktarı (0.69-1.98 kg/m²) ve YÇO değerleri (1.56-1.74) gayet başarılı rakamlardır.
- * Büyütme esnasında *P. vannamei*'nin beslemesinde kullandığımız yem formülasyonu, *P. semisulcatus* için tasarladığımız ve test ettiğimiz yem formülasyonlarından esinlenerek hazırlanmış (%38 protein ve 20 MJ/kg toplam enerji) ve bu yemde balık unu %30, soya unu %12.5 ve mısır glüten unu %13 seviyelerinde kullanılarak yem maliyeti 0.96 USD seviyesine kadar düşürülmüştür. Bu yem ile beslenen karideslerin 4 aylık büyüme periyodunun sonunda, beklendiği üzere, sığ su koşullarında bile, ortalama 20 g ve üzerinde ortalama ağırlıklara ulaştırılabilmesi, formüle edilen yemin gerek besin içeriğinin gerekse hidrostabilitesinin gayet başarılı olduğunu kanıtlamıştır.
- * Çalışmamızda sığ tanklarda, temiz suda, 40-45 cm su derinliğinde test ettiğimiz üç farklı stoklama oranında (40, 80 ve 160 adet/m²) Pasifik beyaz karidesinin 160 adet/m² stoklama oranında bile rahatlıkla yetiştirilebileceğini önemekteyiz. Ancak bu ve bunun üzerinde stoklama oranlarında yetiştiricilik yaparken üretimin tamamıyla sera altında gerçekleştirilmesi ve bu esnada çevreden sisteme girebilecek patojenlere karşı önlemlerin titiz ve sıkı bir şekilde ele alınması tavsiye edilmektedir. Çünkü, projemizde de belirlediğimiz üzere, aşırı stoklama oranı karidesler üzerinde belli seviyede bir kronik stres yaratır ve bu da canlılarda hassasiyet oluşturarak hastalıklara olan direnci düşürebilir.
- * Yenilenebilir enerji imkanları bolca bulunan ülkemizde, düşük teknoloji ve düşük maliyet ile kurulan sistemlerin rahatlıkla su ürünleri sektörümüze kazandırılabilmesi ve bu sistemlerde karides gibi çok değerli yeni ürünlerin üretilmesi mümkündür.
- * Projemizin 4. Denemesinde basit bir sera ve çok katlı tank sisteminden ibaret (altı katlı) basit bir resirküle sistem kurulmuş ve bu sistemde suyu çevirecek olan 1 adet su pompası, 1 adet blower ve 1 adet ısı pompasını çalıştırabilecek güçte bir solar enerji santrali entegre edilerek (10.5 KW) yepyeni, ekonomik ve sürdürülebilirlik şansı yüksek olan bir prototip üretim modeli başarıyla test edilmiştir.
- * Bu düşük maliyetli resirküle sisteme hassas filtrasyon ile UV ve/veya ozon jeneratörü ile sterilizasyon üniteleri özellikle dahil edilmemiş olup, karides yetiştiriciliğinde oldukça kısa süren büyüme periyodunda (3.5-4 ay) bu kadar hassasiyetin gerekmediği düşünülmektedir.
- * Bu proje kapsamında kullanılan solar enerji santrali aküsüz (maliyetin düşük tutulması amacıyla) ve sadece gündüz işletilebilecek şekilde tasarlanmış ve bu prototip üretim modelimizde büyüme sürecinin tamamında su pompası ve hava motoru için gereken enerjinin tamamı %100 olarak solar enerji sisteminden sağlanmıştır. Böylece, üretimde devlet desteğiyle yapılacağı olan bir solar panel sistemi sayesinde prototip sistemimize benzer bir sistemler ülkemizde özellikle ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde hiç ısıtmaya gerek duyulmadan

%100 elektrik tasarrufu ile üretim yapılabilir. Kış aylarında, suyun ısıtılması gereken dönemde, ise solar panel sistemi kuşkusuz ki daha az etkin kullanılacaktır.

- * 4 ay süren büyütme denemesinde, %18-20 tuzlulukta sürdürülen çalışmada, deniz suyu sadece tuzluluk ve su mineral dengesini sağlamak amacıyla kullanılmış ve su değişkenliği ağırlıklı olarak kuyu suyu ile yapılmıştır. Böyle bir RAS modeli, bir ticari tesisin deniz kenarına kurulma zorunluluğunu azaltabilecek ve çevre kirliliği açısından da minimal atık su stratejisi ile daha çevre-dostu üretim yapılabilmesine olanak sağlayabilecektir.
- * Bu projede test ettiğimiz altı katlı tanklarda 1 m² havuz alanından (üstü üste 6 katlı olarak) elde edilen ürün miktarları 40, 80 ve 160 adet/m² stok gruplarında, sırasıyla, 4.14, 6.72 ve 11.88 kg olarak hesaplanmıştır. Teorik olarak bu rakamlarla, her hasat için, 1 hektar havuz alanından 41.400, 67.200 ve 118.800 ton gibi çok yüksek tonajlar elde edilebileceği hesaplanabilir, ki bunlar ticari anlamda çok cezbedici rakamlardır.
- * Katlı sığ tanklarda üretim yapmanın avantajları yanında bazı dezavantajları da vardır, ki bunlar; ilk yatırım maliyetinin yüksekliği, yerden yüksek konumda üst üste dikey olarak yerleştirilen tank düzeneğine su basacak pompaların, tek katlı RAS tank sistemlerine göre, daha yüksek oranda elektrik enerjisi tüketmek durumunda olması, yemleme zorluğu ve sifonlama işçiliğinin yüksekliği ve atık kontrolünün zorluğu olarak sayılabilir.
- * Özellikle geniş arazi temin edilemeyen, denizden uzak, soğuk bölgelerde sera veya bina içi ısıtma maliyetlerini düşürmek ve yıl boyu üretim yapabilmek amacıyla katlı sistemlerde RAS modeliyle üretim yapılması uygun görünmektedir. Ancak, daha büyük tankların ve bu tankların oturtulacakları karkas sistemlerinin ekonomik olacak şekilde farklı materyaller ile tasarlanması ve ekonomik çözümler ile ilk yatırım maliyetlerinin düşürülmesi büyük önem arz etmektedir.
- * Arazi ve ısıtma maliyeti yüksek olmayan bölgelerde ilk yatırım maliyetinin ve işçilik giderlerinin düşürülmesi açısından katlı sistem yerine, havuzların derinliğinin artırılması yoluna da gidilebilir.

KAYNAKLAR

- Adeola O. 2009. "Bioavailability of threonine and tryptophan in peanut meal for starter pigs using slope-ratio assay", *Animal*, 3, 677-684.
- Aguirre-Guzman G., Vazquez-Juarez R., Ascencio, R. 2001. "Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species", *Journal of Invertebrate Pathology*, 78, 215–219.
- Ahamad Ali, S., Gopal, C., Ramana, J.V., Sampoomam, B., Vasu, A.C., Vaitheeswaran, T., Selvakumar, P. 2010. "Note: Evaluation of selected binders in a ring-die pellet mill for processing shrimp feed pellets", *Indian J. Fish.*, 57(1), 103-106.
- Akiyama, D.M., Dominy, W.G., Lawrence, A.L. 1992. Sayfa 535-568. Penaeid shrimp nutrition. Editör: Fast, A.W., Lester, L.J.. *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands.
- Aksakal, E., Ekinci, D., Beydemir, Ş., Alım, Z., Buğrahan, C. 2011. "Increasing stocking density causes inhibition of metabolic-antioxidant enzymes and elevates mRNA levels of heat shock protein 70 in rainbow trout", *Livestock Science*, 141(1), 69-75.
- Aktaş, M., Kumlu, M. 1998. "Gonadal maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* (Penaeidae: Decapoda)", *Turkish Journal of Biology*, 23, 61-66.
- Aktaş, M., Kumlu, M., Eroldoğan, O.T. 2003. "Off-season maturation and spawning of *Penaeus semisulcatus* by photoperiod, and/or temperature and eyestalk ablation in subtropical conditions", *Aquaculture*, 228(1-4), 361-370.
- Aktas, M., Eroldogan, O.T., Kumlu, M. 2004. "Combined effects of temperature and salinity on egg hatching rate and incubation time of *Penaeus semisulcatus* (decapoda: penaeidae)", *The Israeli journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 56(2), 124-128.
- Aktaş, M., Cığır, O., Genç, E., Genç, M.A., Çavdar, N. 2014. "Effects of mannan oligosaccharide and serotonin on molting, growth, body composition and hepatopancreas histology of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931)", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 205-211.
- Al-Ameeri, A.A., Cruz, E.M. (2006). "Production and yield of *Penaeus semisulcatus* (de Haan) cultured at different densities", *Aquaculture Research*, 37, 1499-1506.
- Alsen, A., 2005. "Investigation of Serotonin (5-HT) activities and localisation in freshwater crayfish *Astacus leptodactylus*", *Biology Education Centre, Uppsala University and Department of Biology, Degree Project in Biology*, 1-26.
- Alvarez, J.S., Hernandez-Llamas, A., Galindo, J., Fraga, L., Garcia, T., Villarreal H. 2007. "Substitution of fishmeal with soybean meal in practical diets for juvenile white shrimp *Litopenaeus schmitti* (Pe'rez- Farfante & Kensley 1997)", *Aquaculture Research*, 38, 689-695.
- Amaya, E., Davis, D.A., Rouse, D.B. 2007a. "Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared under pond conditions", *Aquaculture*, 262(2), 393-401.
- Amaya, E., D.A. Davis and D.B. Rouse. 2007b. "Alternative diets for the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)", *Aquaculture*, 262, 419-425.

- Anderson, J.S., Higgs, D.A., Beames, R.M. and Rowshandeli, M. 1997. "Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in sea water", *Aquaculture Nutrition*, 3, 25-38.
- Ang-lu, S., Ke-ji, J., Dao-ji, L., 2015. "Effects of heat stress on the mRNA expression of Hsp70 and Hsp90 in white shrimp, *Exopalaemon carinicauda*", *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 44(10), 1504-1511.
- AOAC 1990. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, MA.
- AQUACOP. 1976. "Incorporation de protéines végétales dans un aliment composé pour crevettes *Macrobrachium rosenbergii*", *Aquaculture*, 8, 71–80.
- Arena A., Maugeri T.L., Pavone B., Iannello D., Gugliandolo C., Bisignano G. 2006. "Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis*", *International Immunopharmacology*, 6, 8–13.
- Argüello-Guevara, W., Molina-Poveda, C. 2013. "Effect of binder type and concentration on prepared feed stability, feed ingestion and digestibility of *Litopenaeus vannamei* broodstock diets", *Aquaculture Nutrition*, 19, 515-522.
- Arijo, S., Brunt, J., Chabrilón, M., Díaz-Rosales, P., and Austin, B. 2008. "Subcellular components of *Vibrio harveyi* and probiotics induce immune responses in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *V. harveyi*", *J. Fish. Dis.*, 31, 579-590.
- Asli, M. M., Hosseini, S. A., Lotfollahian, H., and Shariatmadari, F. 2007. "Effect of probiotics, yeast, vitamin e and vitamin c supplements on performance and immune response of laying hen during high environmental temperature", *Int. J. Poult. Sci.*, 6, 895-900.
- Avella, M. A., Gioacchini, G., Decamp, O., Makridis P., Bracciatelli, C., Camevali, O. 2010. "Application of multi-species of *Bacillus* in sea bream larviculture", *Aquaculture*, 305, 12–19.
- Balakrishnan, G., Peyail, S., Ramachandran, K., Theivasigamani, A., Savji, K.A., Chokkaiah, M., Nataraj, P., 2011. "growth of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in different stocking density", *Advances in Applied Science Research*, 2(3), 107-113.
- Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J.L. 2006. "The role of pro-biotics in aquaculture", *Veterinary Microbiology*, 114, 173–186.
- Basharat, S., Santos, G. 2013. "Phytogenic feed additives improve performance, antioxidants in rainbow trout". *Global Aquaculture Advocate*, January/February, pp. 38-40.
- Basrur, T., Longland, R., Wilkinson, R., 2010. "Effects of repeated crowding on the stress response and growth performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*)", *Fish Physiol. Biochem.*, 36, 445-450.
- Batal A., Dale N., Cafe M. 2005. "Nutrient composition of peanut mea", *Journal of Applied Poultry Research*, 14, 254-257.
- Bayhan, Y.K., Ünlüer, T., Akaya, M. 2005. "Some biological aspects of *Parapenaeus longirostris* (Lucas, 1846) inhabiting the Sea of Marmara", *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 29, 853–856.
- Binuramesh, R., Michael, D. 2011. "Diel variations in selected serum immune parameters in *Oreochromis mossambicus*". *Fish Shellfish Immunol.*, 30, 824–829
- Blancheton, J.P. 2000. "Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species". *Aquacultural Engineering*, 22(1-2), 17-31.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. "A rapid method of total lipid extraction and purification", *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 37, 911-917.

- Boyd C.E., Massaaut, L. 1999. "Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture", *Aquacultural Engineering*, 20, 113–132.
- Brinker, A., Reiter, R. 2011. "Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed, Part I: effects on feed utilization and fish quality", *Aquaculture*, 310, 350–360.
- Brinker, A., Friedrich, C. 2012. "Fish meal replacement by plant protein substitution and guar gum addition in trout feed. Part II: effects on faeces stability and rheology", *Biorheology*, 49, 27–48.
- Brunt, J., Hansen, R., Jamieson, D. J., and Austin, B. 2008. "Proteomic analysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) serum after administration of probiotics in diets", *Vet. Immunol. Immunop.*, 121, 199-205.
- Bulbul, M., Kader, Md.A. Asaduzzaman, Md., Ambak, Md.A., Chowdhury, A.J.K., Hossain, Md.S., Ishikawa, M., Koshio, S., 2016. "Can canola meal and soybean meal be used as major dietary protein sources for kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicas*?", *Aquaculture*, 452(1), 194-199.
- Büyükçapar, H.M., Kamalak, A. 2007. "Partial Replacement of Fish and Soybean Meal Protein in Mirror Carp (*Cyprinus carpio*) Diets By Protein in Hazelnut Meal", *South African Journal of Animal Science*, 37, 35-44.
- Cabral, H., and Costa, M. J. 1999. "Differential use of nursery areas within the Tagus estuary by sympatric soles, *Solea solea* and *Solea senegalensis*", *Environ. Biol. Fish*, 56, 389-397.
- Caipang CMA, Berg I, Brinchmann MF, Kiron V. 2009. "Short-term crowding stress in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. modulates the humoral immune response", *Aquaculture*, 295,110–115.
- Caipang, C. M. A., Brinchmann, M. F., Berg, I., Iversen, M., Eliassen, R., and Kiron, V. 2008. "Changes in selected stress and immune-related genes in Atlantic cod, *Gadus morhua*, following overcrowding", *Aquac. Res.*, 39, 1533-1540.
- Castex, M., Chima, L., Pham, D., Lemaire, P., Wabete, N., Nicolas, J-L., Schmidely, P., Mariojouis, C. 2008. "Probiotic *P. acidilactici* application in shrimp *Litopenaeus stylirostris* culture subject to vibriosis in New Caledonia", *Aquaculture*, 275(1-4), 182-193.
- Chaplin, A.E., Hugginst, A.K., Aunday, K.A. 1967. "The distribution of L-a-aminotransferases in *Carcinus maenas*", *Comp. Biochem. Physiol.*, 20, 195–198.
- Chamantier G., Soyez C. 1994. "Effect of molt stage and hypoxia on osmoregulatory capacity in the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*", *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 178, 233-246.
- Chen, H.-Y., Leu, Y.-T., Roelants, I. 1992. "Quantification of arginine requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon*, using microencapsulated arginine", *Marine Biology*, 114, 229-233.
- Chen, Y.Y., Chen, J.C., Lin, Y.C., Yeh, S.T., Chao, K.P., Lee, C.S. 2014. "White shrimp *Litopenaeus vannamei* that have received *Petalonia binghamiae* extract activate immunity, increase immune response and resistance against *Vibrio alginolyticus*", *J. Aquac. Res. Development*, 5(6), 2-7.
- Chen, Y.Y., Blanc, M., Lin, Y.C., Huang, C.L., Chen, J.C. 2015a. "Growth and immune parameters in white shrimp *Litopenaeus vannamei* reared at different salinities", *J. Fish. Soc. Taiwan*, 42(1), 63-71.
- Chen, Y.Y., Chen, J.C., Lin, Y.C., Yeh, S.T., Huang, C.L., 2015b. "White shrimp *Litopenaeus vannamei* that have received *Gracilaria tenuistipitata* extract show early recovery of immune parameters after ammonia stressing", *Mar. Drugs*, 13, 3606-3624.
- Chen, Y.Y., Chen, J.C., Tseng, K.C., Lin, Y.C., Huang, C.L. 2015c. "Activation of immunity, immune response, antioxidant ability, and resistance against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei* decrease under long-term culture at low pH", *Fish & Shellfish Immunology*, 46,192-199.

- Cheng, S.Y., Hsu, S.W., Chen, J.C. 2007. "Effect of sulphide on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*", *Fish & Shellfish Immunol.*, 22, 16–26.
- Cheng, T.C., Rodirick, G.E., 1975. "Lysosome and other enzymes in the haemolymph of *Crassostrea virgifica* and *Mercenaria mercenaria*", *Comp. Biochem. Physiol.*, 52B, 443–447.
- Cheng, W., Chieu, H.T., Tsai, C.H., Chen, J.C. 2005a. "Effects of dopamine on the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*", *Fish & Shellfish Immunology*, 19, 375-385.
- Cheng, W., Liu, C.H., Kuo, C.M., Chen, J.C. 2005b. "Dietary administration of sodium alginate enhances the immune ability of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*", *Fish & Shellfish Immunology*, 18, 1-12.
- Cheng, W., Chieu, H.T., Ho, M.C., Chen, J. 2006. "Noradrenaline modulates the immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei*", *Fish & Shellfish Immunology*, 21, 11-19.
- Cheng, Z.J., Behnke, K.C., Dominy, W.G. 2002. "Effects of poultry by-product meal as a substitute for fish meal in diets on growth and body composition of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Journal of Applied Aquaculture*, 12(1), 71-83.
- Chi, S., Tan, B., Mai, K., Zheng, S. 2009. "Growth and feed efficiency of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* fed formulated diets containing different levels of poultry by-product meal". *Journal of Ocean University of China*, 8(4), 399-403.
- Chien, Y.H., Pan, C.H., Hunter, B., 2003. "The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin", *Aquaculture*, 216, 177-191.
- Chiu, C.H., Guu, Y.K., Liu, C.H., Pan, T.M., Cheng, W. 2007. "Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*", *Fish & Shellfish Immunology*, 23, 364-377.
- Cohen, J.M., Samocha, T.M., Fox, J.M., Gandy, R.L., Lawrence, A.L. 2005. "Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *Litopenaeus vannamei* using limited discharge and biosecure management tools", *Aquacultural Engineering*, 32, 425–442 (2005).
- Colvin, L.V., Brand, C.W. 1977. "The protein requirement of penaeid shrimp at various life-cycle stages in controlled environment systems", *Proceedings of the World Mariculture Society*, 8, 821-840.
- Company, R., Caldach-Giner, J.A., Kaushik, S.J., and Perezsanchez, J. 1999. "Growth performance and adiposity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*): risks and benefits of high energy diets", *Aquaculture*, 171, 279-292.
- Conklin, D.E. 2017. "Use of Soybean Meal in the Diets of Marine Shrimp", *Soybean Meal Info Center Fact Sheet*, pp.1-11.
- Costa E.F., Miller B.R., Pesti G.M., Bakalli R.I., Ewing H.P. 2001. "Studies on feeding peanut meal as a protein source for broiler chickens", *Poultry Science*, 80, 306-313.
- Costas, B., Aragao, C., Dia, J., Afonso, A., Conceição, L.E. 2013. "Interactive effects of a high-quality protein diet and high stocking density on the stress response and some innate immune parameters of Senegalese sole *Solea senegalensis*", *Fish. Physiol. Biochem.*, 39, 1141-1151.
- Cross M.L. 2002. "Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens", *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34, 245–253.

- Cruz-Suarez, L.E., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., Scholz, U., Ricque-Marie, D. 2007. "Replacement of fish-meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets", *Aquaculture*, 272(1-4), 466-476.
- Cutting S.M. 2011. "*Bacillus* Probiotics", *Food Microbiology*, 28, 214–220.
- Cuzon, G., Guillaume, J., Cahu, C. 1994. "Composition, preparation and utilization of feeds for Crustacea", *Aquaculture*, 124, 253–267.
- Czesny, S., Dabrowski, K. 1998. "The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*)", *Aquat. Living Resour.*, 11, 371–378
- D'Abramo, L.R. 1997. Triacylglycerols and fatty acids. Editor: L.R. D'Abramo, D.E. Conklin, D.M. Akiyama, Crustacean Nutrition World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Das, S., Ward, L. R., and Burke, C. 2008. "Prospects of using marine actinobacteria as probiotics in aquaculture", *Appl. Microbiol. Biot.*, 81, 419-429.
- Davidson, J., Good, C., Barrows, F.T., Welsh, C., Kenney, P.B., Summerfelt, S.T. 2013. "Comparing the effects of feeding a grain-or a fish meal-based diet on water quality, waste production, and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* performance within low exchange water recirculating aquaculture systems", *Aquacultural engineering*, 52, 45-57.
- Davis, D.A., Arnold, C.R. 1998. "The design, management and production of a recirculating raceway system for the production of marine shrimp", *Aquacultural Engineering*, 17, 193–211.
- Davis, D.A., Arnold, C.R. 2000. "Replacement of fish meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Aquaculture*, 185, 291–298.
- Davis, D.A., Sookying, D., 2009. Sayfa 108-114. Strategies for reducing and/or replacing fish meal in production diets for the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Editor: C.L. Browdy ve D.E. Jorj, The Rising Tide, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Farming, World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.
- de Souza, D.M., Suita, S.M., Leite, F.P.L., Romano, L.A., Wasielesky, W., Ballester, E.L.C. 2012. "The use of probiotics during the nursery rearing of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) in a zero exchange system", *Aquaculture Research*, 43, 1828-1837.
- Decamp, O., D. Moriarty, J. W., Lavens, P. 2008. "Probiotics for shrimp larviculture: Review of field data from Asia and Latin America", *Aquaculture Research*, 39, 334–338.
- Defoirdt, T., N. Boon, P. Sorgeloos, W. Verstraete, P. Bossier. 2007. "Alternatives to antibiotics to control bacterial infections - *Luminescent vibriosis* in aquaculture as an example", *Trends in Biotechnology*, 25, 472–479.
- Dersjant-Li, Y. 2002. Sayfa 541-558. The use of soy protein in aquafeeds. Editor: L.E. Cruz-Suárez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Gaxiola-Cortez and S. Nuno, *Avances en Nutrición Acuícola Volumen VI. Memorias del VI Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León México.
- Dimova, N. 2003. "RP-HPLC analysis of amino acids with UV-detection", *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare Des Sciences*, 53(12), 75-78.
- Doğan, G., Erdem, M. 2010. "Effects of hazelnut meal levels on growth performance, feed utilization and digestibility in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10, 181-186.

- Doğan, G., Bircan, R. 2015. "The Effects of Diets containing Hazelnut Meal Supplemented with Synthetic Lysine and Methionine on Development of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*", Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15(1), 119-126.
- Ellis, T., North, B., Scott, A.P., Bromage, N.R., Porter, M., Gadd, D. 2002. "The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout", J. Fish Biol., 61, 493–531.
- Emre, Y., Sevgili, H., Şanlı, M. 2008a. "A preliminary study on the utilization of hazelnut meal as a substitute for fish meal in diets of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)", Aquaculture Research, 39, 324-328.
- Emre, Y., Sevgili, H., Şanlı, M. 2008b. "Partial replacement of fishmeal with hazelnut meal in diets for juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*)", The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, 60, 198-204.
- Encamação, P. 2014. "Phylogenics: A nutrient-sparing tool for efficient aquafeeds", Science & Salutions, pp. 1-4.
- Ergün S., Yigit M., Türker A., Hamantepe, B. 2008. "Incorporation of soybean meal and hazelnut meal in diets for Black Sea turbot (*Scophthalmus maeoticus*)", The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh, 60, 27-36.
- Erickson K.L., Hubbard N.E. 2000. "Probiotic immuno-modulation in health and disease", Journal of Nutrition, 130, 403–409.
- Eroldoğan O.T., Elsabagh M., Kumlu M., Kinay E., Yılmaz H.A., Sanipek M., et al., 2018. "Poultry meal in red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*) diets in comparison to fish meal and vegetable protein mix", 18th of the International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Las Palmas de Grand Canaria, Spain, 3-7 June 2018, 1(1), pp.15.
- Esiobu N., Armenta L., Ike J. 2002. "Antibiotic resistance in soil and water environments", International Journal of Environmental Health Research, 12, 133-144.
- Esparza-Leal, H.M., Cardozo, A.P., Wasielesky Jr, W. 2015. "Indoor nursery tanks at high stocking density in clear-water versus biofloc system", Aquacultural Engineering, 68, 28-34.
- FAO. 2016. "The state of World fisheries and aquaculture", Food and Agriculture Organisation of the United Nations, 200 pp.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. 1957. "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues", J. Biol. Chem., 226, 497–509
- Forster, I., Dominy, W., Tacon, A.G.J. 2002. Editör: L.E. Cruz-Suarez, D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.G. Gaxiola-Cortes, and N. Simoes, The use of concentrates and other soy products in shrimp feeds. Advances en Nutricion Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola, Cancun, Quintana Roo, Mexico.
- Fouzi, M.N.M., Shariff, M., Yusoff, F. 2012. "Stress quantification in *Penaeus monodon* exposed to different levels of ammonia and subsequent infection to WSSV", Research Journal of Veterinary Sciences, 5(1), 13-24.
- Fox, J.M., Lawrence, A.L., Li-Chan, E. 1995. "Dietary requirement for lysine by juvenile *Penaeus vannamei* using intact and free amino acid sources", Aquaculture, 131, 279-290.
- Gaber, M.M., Omar, E.A., Abdel-Rahim, M., Nour, A.M., Zaki, M.A. 2012. "Effects of stocking density and water exchange rates on growth performance of tiger shrimp, *Penaeus semisulcatus* cultured in earthen ponds", J. Aquacult. Res. Dev., 3, 152. doi: 10.4172/2155-9546.1000152
- Galindo-Reyes, J.G., Venezia, L.D., Lazcano-Alvarez, G., Rivas-Mendoza, H. 2000. "Enzymatic and osmoregulative alternations in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to pesticides", Chemosphere, 40, 233 – 237.

- Garza de Yta, A., Davis, D.A., Rouse, D.B., Ghanawi, J., Saoud, I.P. 2012. "Evaluation of practical diets containing various terrestrial protein sources on survival and growth parameters of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*", *Aquacult. Res.*, 43, 84–90.
- Gatlin, D. M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, A., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E. 2007. "Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review", *Aquaculture Research*, 38, 551–579.
- Gheshlaghi, Z.N., Riazi, G.H., Ahmadian, S., Ghafari, M., Mahinpour, R. 2008. "Toxicity and interaction of titanium dioxide nanoparticles with microtubule protein", *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 40(9), 777-782.
- Giannenas, I., Triantafyllou, El., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, S., Steiner, T., Karagouni, E. 2012. "Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Aquaculture* 350–353, 26–32.
- Gonzalez-Felix, M.L., Gatlin, D.M., Lawrence, A.L., Perez-Velazquez, M. 2002. "Effect of various dietary lipid levels on quantitative essential fatty acid requirements of juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*", *Journal of the World Aquaculture Society*, 33, 330-340.
- Gopakumar, S.D. 2002. "Studies on optimum dietary protein requirement for *Penaeus semisulcatus* de Hann", *J. Mar. Biol. Ass. India*, 44 (1-2), 220-225.
- Gomati, R., Papis, E., Rimoldi, S., Terova, G., Saroglia, M., and Bernardini, G. 2004. "Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.)", *Gene*, 341, 111–118.
- Gunalan, B., Soundarapandian, P., Dinakaran, G.K. 2010. "Effect of Different Stocking Densities on the MBV Infected Seeds of Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius)", *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 5-8.
- Guo, B., Wang, F., Dong, S., Dong, Y., Tian, X. 2010. "The effects of cyclical temperature changes on growth and physiological status of *Litopenaeus vannamei*", *Aquacult. Int.*, 18, 921-932.
- Hajen, W. E., Beames, R. M., Higgs, D. A., Dosanjh, B. S., 1993. "Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique", *Aquaculture*, 112(4), 321-332.
- Hall, M.R., Ham, E.H.V., 1998. "The effects of different types of stress on blood glucose in the giant tiger prawn *Penaeus monodon*", *Journal of The World Aquaculture Society*, 29(3), 290-299.
- Herrera, A.M., Corona, C.G., Cabello, M.L., Lopez, H.S. 2006. "Effects of stocking densities on growth of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in earthen ponds", *The Israeli Journal of Aquaculture*, 58(3), 205-213.
- Hertrampf, J.W. and F. Piedad-Pascual. 2000. "Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds", Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 573 pp.
- Hose J.E., Martin G.G., Gerard A.S. 1990. "A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function", *Biological Bulletin*, 178, 33–45.
- Hossain, M.I., Kamal, M.M., Mannan, M.A., Bhuyain, M.A.B., Hossain, M.I. 2013. "Effects of probiotics on growth and survival of shrimp (*Penaeus monodon*) in coastal pond at Khulna, Bangladesh", *J. Sci. Res.* 5(2), 363-370.
- Hsu, S.W., Chen, J.C., 2007. "The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under sulfide stress", *Aquaculture*, 271(1-4), 61-69.

- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K., Nakayama, T. 1996. "An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids", *Lipids*, 31, 535–539.
- Iger Y, Abraham M. 1990. "The process of skin healing in experimentally wounded carp", *J. Fish Biol.* 36, 421–437.
- Irianto, A., Austin, B., 2002a. "Probiotics in aquaculture", *Journal of Fish Diseases*, 25, 633–642.
- Irianto, A., Austin, B., 2002b. "Use of probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)", *Journal of Fish Diseases*, 25, 333–342.
- Iwama, G.K., Afonso, L.O., Todgham, A., Ackerman, P., Nakano, K. 2004. "Are HSPs suitable for indicating stressed states in fish?", *J. Exp. Biol.*, 207, 15-19.
- Jayasree, L., P. Janakiram, and R. Madhavi. 2006. "Characterization of *Vibrio* spp. associated with diseased shrimp from culture ponds of Andhra Pradesh (India)", *Journal of the World Aquaculture Society*, 37, 523–532.
- Jia, R., Liu, B.L., Han, C., Huang, B., Lei, J.L. 2016. "The physiological performance and immune response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) to nitrite exposure", *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, 181-182, 40-46.
- Joseph, A., Philip, R . 2007. "Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection", *Aquaculture*, 212, 87-97.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Endo, M. 1979a. "Requirements of prawn, *Penaeus japonicus* for essential fatty acids", *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University*, 28, 27-23.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Ono, K. 1979b. "Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 63B, 295-298.
- Kangsen, M. 1986. "Digestibility of protein and amino acids (AA) in feeds on *Penaeus orientalis*", *Journal of Shandong College of Oceanology*, 16, 45-53.
- Karabulut, H.A., Kurtoğlu İ.Z., Altaş, S. 2017. "Hazel nut meal as a protein source in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* brandt, 1833) diets", *Fresenius Environmental Bulletin*, 2, 1554-1559.
- Kesarcodi-Watson, A., H. Kaspar, M. J. Lategan, and L. Gibson. 2008. "Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes", *Aquaculture*, 274,1–14.
- Kir, M., Kumlu, M., Eroldoğan, O.T. 2004. "Effects of temperature on acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* juveniles", *Aquaculture*, 241(1-4), 479-489.
- Kir, M., Kumlu, M. 2006. "Acute toxicity of ammonia to *Penaeus semisulcatus* post-larvae in relation to salinity", *J. World Aquacult. Soc.*, 37(2), 231-235.
- Kir, M., Kumlu, M. 2008a. "Critical thermal minima of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae) acclimated to four temperature levels", *J. World Aquacult. Soc.*, 38(4), 535-540.
- Kir, M., Kumlu, M. 2008b. "Effect of temperature and salinity on low thermal tolerance of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda:Penaeidae)", *Aquaculture Research*, 39(10), 1101-1106.
- Kim, D.-H., Austin, B. 2006. "Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics", *Fish Shellfish Immunol.*, 21, 513-524.
- Kim, J.H., Dahms, H.U., Han, K.N. 2013. "Biomonitoring of the river pufferfish, *Takifugu obscurus* in aquaculture at different rearing densities using stress-related genes", *Aquac. Res.*, 44, 1835-1846.
- Kimura, F.T., Miller, V.L. 1957. "Chromic oxide measurement, improved determination of chromic oxide in cow feed and feces, *J. Agric. Food Chem.*, 5 (3), 216-216.

- Kiriş, I.G.A., Eroldogan, O.T., Kir, M., Kumlu, M. 2004. "Influence of neuropeptide Y (NPY) on food intake and growth of penaeid shrimps *Marsupenaeus japonicus* and *Penaeus semisulcatus* (Decapoda:Penaeidae)", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 139(2), 239-244.
- Kiruthika, J., 2013. "Effect of salinity stress on the biochemical and nutrition parameters of tiger shrimp *Penaeus monodon*", *Fishery Technology*, 50(4), 294-300.
- Klobucar, G.I.V., Malev, O., Srut, M., Stambuk, A., Lorenzon, S., Cvetkovic, Z., Ferrero, E.A., Maguire, I. 2012. "Genotoxicity monitoring of freshwater environments using caged crayfish (*Astacus leptodactylus*)", *Chemosphere*, 87, 62-67.
- Koenigsknecht, J., Landreth, G., 2004. "Microglial phagocytosis of fibrillar β -amyloid through a β 1 integrin-dependent mechanism", *J. Neurosci.*, 24(44), 9838-9846.
- Kolanchinathan, P., Kumari, P.R., Gnanam, T.S., John, G., Balasundaram, A. 2017. "Performance Evaluation of Two Probiotic Species, on the Growth, Body Composition and Immune Expression in *Penaeus monodon*", *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 12(4), 157-167.
- Koshio, S., Teshima, S., Kanazawa, A., Watase, T. 1993. "The effect of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenile kuruma prawns, *Penaeus japonicus*", *Aquaculture*, 113(1-2), 101-114.
- Kregel, K.C. 2002. "Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance", *J. Appl. Physiol.*, 92, 2177-2186.
- Krummenauer, D., Peixoto, S., Cavalli, R.O., Poersch, L.H., Wasielesky, 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, 726-733.
- Krummenauer, D., Poersch, L., Romano, L.A., Lara, G.R., Encarnação, P., Wasielesky Jr. W. 2014. "The Effect of Probiotics in a *Litopenaeus vannamei* Biofloc Culture System Infected with *Vibrio parahaemolyticus*", *Journal of Applied Aquaculture*, 26(4), 370-379.
- Krummenauer, D., Poersch, L.H., Fôes, G., Lara, G., Wasielesky Jr., W. 2016. "Survival and growth of *Litopenaeus vannamei* reared in Bft System under different water depths", *Aquaculture*, 465, 94-99.
- Kumar, R.R., Bandyopadhyay, S. 1999. "A comparative study of shrimp feed pellets processed through cooking extruder and meat mincer", *Aquacult. Eng.*, 19, 71-79.
- Kumlu, M., Başusta, N., Avşar, D., Eroldoğan, O.T. 1999a. "Some biological aspects of penaeid shrimps in Yumurtalık Bight of North-eastern Mediterranean", *Turkish Journal of Zoology*, 23, 53-59.
- Kumlu, M., Eroldoğan, O.T., Aktaş, M. 1999b. "The effects of salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae)", *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 51(3), 114-121.
- Kumlu, M., Eroldoğan, O.T. 2000. "Effects of temperature and substrate on growth and survival of *Penaeus semisulcatus* postlarvae", *Turkish Journal of Zoology*, 24, 337-341.
- Kumlu, M., Eroldoğan, O.T., Aktaş, M. 2000. "Effects of temperature and salinity on larval growth, survival and development of *Penaeus semisulcatus*", *Aquaculture*, 188(1/2), 167-173.
- Kumlu, M. 2001. "Karides, İstakoz ve Midye Yetiştiriciliği", Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No. 6. 305 sayfa.

- Kumlu, M., Eroldoğan, O.T., Aktas, M., Sağlamtimur, B. 2001a. "Larval growth, survival and development of *Metapenaeus monoceros* (Decapoda: Penaeidae) cultured in different salinities", *Aquaculture Research*, 32, 81-86.
- Kumlu, M., Eroldogan, O.T., Sağlamtimur, B. 2001b. "The effects of salinity and added substrates on growth and survival of *Metapenaeus monoceros* (Decapoda: Penaeidae) postlarvae", *Aquaculture*, 196, 177-188.
- Kumlu, M., Aktaş, M., Eroldoğan, O.T. 2003. "Pond culture of *Penaeus semisulcatus* in sub-tropical conditions of Türkiye", *EU, Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(3/4), 367-372.
- Kumlu, M., Kir, M. 2005. "Food consumption, moulting and survival of *Penaeus semisulcatus* during over-wintering", *Aquaculture Research*, 36, 137-143.
- Kumlu, M., LÖK, A. 2007. Sayfa 71-80. Crustacean and mollusc production. Editör: Candan, A., Karataş, S., Küçüktaş, H., Okumuş, İ., *Marine Aquaculture in Turkey*, Turkish Marine Research Foundation, İstanbul, Turkey, No: 27, pp. 71-80.
- Kumlu, M., Türkmen, S., Kumlu, M. 2010a. "Thermal tolerance of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae) acclimated to four temperatures", *Journal of Thermal Biology*, 35, 305-308.
- Kumlu, M., Kumlu, M., Türkmen, S. 2010b. "Combined effects of temperature and salinity on critical thermal minima of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Penaeidae)", *Journal of Thermal Biology*, 35, 302-304
- Kumlu, M., Kir, M., Yılmaz, Ö., Göçer, M., Eroldoğan, O.T. 2010c. "Growth of over-wintered and pre-seasonally produced post-larvae of *Penaeus semisulcatus* in the subtropics", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10, 269- 276.
- Kumlu, M., Türkmen, S., Kumlu, M., Eroldoğan, O.T. 2011. "Off-season maturation and spawning of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* in sub-tropical conditions", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11, 15-23.
- Kumlu, M., Beksarı, A., Yılmaz, H.A., Kınay, E. 2016. "Growth and food consumption of the green tiger shrimp *Penaeus semisulcatus* under high stocking densities in a recirculation system", Presented in 5th International Conference on Agriculture, Environment and Biological Sciences, 28-29 April, 2016, Pattaya, Thailand.
- Laohabanchong, R., Tantikitti, C., Suppamattaya, K., Benjakul, S. and Boonyaratpalin, M. 2009. "Lipid oxidation in fishmeal stored under different conditions on growth, feed efficiency and hepatopancreatic cells of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)", *Aquaculture*, 286, 283-289.
- Le Moullac G., Haffner P. 2000. "Environmental factors affecting immune responses in Crustacea", *Aquaculture*, 191, 121-131.
- Li, C.C., Chen, J.C., 2008. "The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under low and high pH stress", *Fish & Shellfish Immunology*, 25, 701-709.
- Li, C.C., Yeh, S.T., Chen, J.C. 2010. "Innate immunity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* weakened by the combination of a *Vibrio alginolyticus* injection and low-salinity stress", *Fish & Shellfish Immunology*, 28, 121-127.
- Li, M.H., Robinson, E.H., Hardy, R.W. 2000. Sayfa 688-695. Protein sources for feed. Editör: R.R. Stickney, *Encyclopedia of Aquaculture*, Encyclopedia of Aquaculture, John Wiley and Sons, Inc., New York, New York USA.
- Li, Y., Li, J., Wang, Q. 2006. "The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*", *Aquaculture*, 256, 608-616.

- Lim, C., Dominy, W. 1990. "Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp (*Penaeus vannamei*)", *Aquaculture*, 87, 53-64.
- Lim, C., Akiyama, D.M. 1995. Sayfa 60-73, Nutrient requirement of penaeid shrimp, Editör: Lim, C., Sessa, D.J., Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture, Chap. 6. AOACS Press, Champaign, IL.
- Lim C. 1997. "Replacement of marine animal protein with peanut meal in diets for juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*", *Journal of Applied Aquaculture*, 7, 67-78.
- Lin, Y-C., Chen, J-C., Man, S.N.C., Momi, W.Z.W., Suhaili, A.S.N.A., Cheng, S-Y., Hsua, C-H. 2012. "Modulation of innate immunity and gene expressions in white shrimp *Litopenaeus vannamei* following long-term starvation and re-feeding", *Results Immunol.*, 2,148–156.
- Lin, Y.C., Chen, J.C., Chen, Y.Y., Yeh, S.T., Chen, L.L., Huang, C.L., Hsieh, J.F., Li, C.C. 2015. "Crowding of white shrimp *Litopenaeus vananmei* depresses their immunity to and resistance against *Vibrio alginolyticus* and white spot syndrome virus", *Fish & Shellfish Immunology*, 45, 104-111.
- Lindsay, G.J.H. 1986. "The significance of chitinolytic enzymes and lysozyme in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) defence", *Aquaculture*, 51, 169-173.
- Lingelfelter, B.A. 2013. "Standard operating procedure manual for the shallow water super-intensive stacked raceway system for shrimp production at the Texas AgriLife Mariculture Research Laboratory, Port Aransas, Texas", Texas A&M University-Corpus Christi College of Science and Technology Corpus Christi, Texas.
- Liu, B., Liu, Y., Wang, Y. 2015. "The effect of stocking density on growth and seven physiological parameters with assessment of their potential as stress response indicators for the Atlantic salmon (*Salmo salar*)", *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(3), 177-192.
- Liu, B., Jia, R., Han, C., Huang, B., Lei, J.L. 2016. "Effects of stocking density on antioxidant status, metabolism and immune response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)", *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 190, 1-8.
- Liu, L.H., Huang, F., Hou, Y.Q., Liu, J., Zheng, S.X., Zhou, Q.C. 2008. "Effects of replacement of fish meal with peanut meal in practical diets on growth and amino acid profile of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (in Chinese with English abstract)", *Journal of Dalian Fisheries University*, 23, 370-375.
- Liu, X-H, Ye, J-D., Wang, K., Kong, J-H., Yang, W., Zhou, L. 2012. "Partial replacement of fish meal with peanut meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*". *Aquaculture Research*, 43, 745–755.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D. 2001. "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method", *Methods*, 25(4), 402-408.
- Loc, N.H., Macrae, T.H., Musa, N., Abdullah, M.D.D.B., Wahid, M.E.A., Sung, Y.Y. 2013. "Non-lethal heat shock increased Hsp70 and Immune protein transcripts but not vibrio tolerance in the white-leg shrimp", *Plos One*, 8(9), 1-7.
- Losordo, T.M., Simmons, M.B. 1994. Sayfa 1-7. An introduction to water reuse systems. Editör: M.B. Timmons ve T.M. Losordo, *Aquaculture water reuse system: Engineering, design and management. Developments in Aquaculture and Fisheries Sciences 27*. Elsevier Scientific Publishing and Company, Amsterdam, The Netherlands.
- Markey, J.C., Amaya, E.A., Davis, D.A. 2010. "Replacement of poultry by-product meal in production diets for the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(6), 893–902.
- Maynard, L.A., Loosli, J.K. 1969. animal Nutrition, 6th edition, McGraw-Hill Book, Co. Inc., New Yprk, pp. 613.

- Mehrim, A. I. 2009. "Effect of dietary supplementation of Biogen® (Commercial probiotic) on mono-sex Nile tilapia *Oreochromis niloticus* under different stocking densities", J. Fisheries Aquat. Sci 4, 261-273.
- Menasveta, P., Yu, Y. 2002. "Replacement of fish meal with meat and bone meal or poultry byproduct on growth performance of black tiger shrimp, *P. monodon*". Research report No 22. Asia Regional Office of the National Renderers Association Inc., Causeway Bay, Hong Kong. 3 pp.
- Mengqing, L. and Aksnes, A. 2001. "Influence of fish meal quality on growth, feed conversion rate and protein digestibility in shrimp (*Penaeus chinensis*) and red seabream (*Pagrosomus major*)", Marine Fisheries Research, 22, 75-79.
- Mente, E., Coutteau, P., Houlihan, D., Davidson, I., Sorgeloos, P. 2002. "Protein turnover, amino acid profile and amino acid flux in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*: effects of dietary protein source", Journal of Experimental Biology, 205(20), 3107-3122.
- Mercier L., Palacios E., Campa-Córdova Á.I., Tovar-Ramírez D., Hernández-Herrera R., Racotta, I.S. 2006. "Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress", Aquaculture, 258, 633-640.
- Mercier, L., Racotta, I.S., Yepiz-Plascencia, G., Muhlia-Almazán, A., Civera, R., Quiñones-Areola, M.F., Wille, M., Sorgeloos, P., Palacios, E., 2009. "Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress", Aquaculture Research, 40(16), 1849-1863.
- Merrifield, D.L., Bradley, G., Baker, R.T. M., Davies, S.J. 2010. "Probiotic applications for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) II. Effects on growth performance, feed utilization, intestinal microbiota and related health criteria postantibiotic treatment", Aquacult. Nutr., 16, 496-503.
- Merrifield, D.L., Bradley, G., Harper, G.M., Baker, R.T. M., Munn, C.B., Davies, S.J. 2011. "Assessment of the effects of vegetative and lyophilized *Pediococcus acidilactici* on growth, feed utilization, intestinal colonization and health parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)", Aquacult. Nutr., 17, 73-79.
- Metcalf, L., Schmitz, A. 1961. "The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis", Anal. Chem., 33, 363-364
- Millamena, O.M., Bautista-Teruel, M.N., Kanazawa, A. 1996. "Methionine requirement of juvenile tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius", Aquaculture, 143, 403-410.
- Millamena, O.M., Teruel, M.B., Kanazawa, A., Teshima, S. 1999. "Quantitative dietary requirements of post-larval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine, and tryptophan", Aquaculture, 179(1-4), 169-179.
- Miranda, C. D., and Zemelman, R. 2001. "Antibiotic resistant bacteria in fish from the Concepcion Bay, Chile", Mar. Pollut. Bull., 42, 1096-1102.
- Molina-Poveda C., Morales, M.E., 2004. "Use of a mixture of barley-based fermented grains and wheat gluten as an alternative protein source in practical diets for *Litopenaeus vannamei* (Boone)", Aquaculture Research, 35, 1158-1165.
- Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M., 1999. "High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata* juveniles", Fish Physiology and Biochemistry, 20, 53-60.

- Mugnier C., Justou C. 2004. "Combined effect of external ammonia and molt stage on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* physiological response", Journal of Experimental Biology & Marine Ecology, 309, 35-46.
- Mugnier, C., Lemonnier, H., Legrand, A. 2006. "Physiological response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to short-term confinement on a pond bottom", Aquaculture, 253(1-4), 703-711.
- Mugnier, C., Zipper, E., Goarant, C., Lemonnier, H. 2008. "Combined effect of exposure to ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage", Aquaculture, 274(2-4), 398-407.
- Murray, C.K., Fletcher, T.C. 1976. "The immunohistochemical localisation of lysozyme in plaice (*Pleuronectes platessa* L.) tissues", J. Fish Biol., 9, 329-334.
- Muzinic, L.A., Thompson, K.R., Morris, A., Webster, C.D., Rouse, D.B. Manomaitis, L. 2004. "Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewer's grains with yeast in practical diets for Australian redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*", Aquaculture, 230, 359-376.
- Nayak S.K. 2010. "Probiotics and immunity: a fish perspective", Fish & Shellfish Immunology, 29, 2-14.
- Ni, M., Wen, H., Li, J., Chi, M., Ren, Y., Song, Z. et al., 2014. "Two HSPs gene from juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*): cloning, characterization and expression pattern to crowding and hypoxia stress", Fish. Physiol. Biochem., 40, 1801-1816.
- Niesar M., Arlinghaus R., Rennert B., Mehner, T., 2004. "Coupling insights from a carp (*Cyprinus carpio* L.) angler survey with feeding experiments to evaluate composition, quality, and phosphorus input of groundbaits in coarse fishing", Fisheries Management and Ecology, 11, 225-235.
- Ninawe, A.S., Selvin, J, 2009. "Probiotics in shrimp aquaculture: Avenues and challenges", Crit. Rev. Microbiol., 35, 43-66.
- Norman-López, A., Sellars, M.J., Pasco, S., Coman, G.J., Murphy, B., Moore, N., Preston, N. 2015. "Productivity benefits of selectively breeding black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Australia", Aquaculture Research, DOI: 10.1111/are.12782.
- NRC, 2011. "Nutrient requirements of fish", Washington DC, USA: National Academy Press.
- Obaldo, L.G., Divakaran, S., Tacon, A. 2002. "Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water", Aquaculture Research, 33, 369- 377.
- Ölçülü A., Kumlu M. 2010. "Yeşil kaplan karidesi (*Penaeus semisulcatus*) juvenilleri için yapay yemde optimal protein düzeyinin belirlenmesi", Çukurova Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 4,188-197,
- Olmos, J., Ochoa, L., Paniagua-Michel, J., Contreras, R. 2011. "Functional feed assessment on *Litopenaeus vannamei* using 100% fish meal replacement by soybean meal, high levels of complex carbohydrates and Bacillus probiotic strains", Mar. Drugs., 9(6), 1119-1132.
- Pan, C.H., Chien, Y.H., Hunter, B., 2003. "The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin", Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 297, 107-118.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H. 2004. "Immune response in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136", Veterinary Immunology and Immunopathology, 102, 379-388.
- Paripatananont, T., Boonyaratpalin, M., Pengseng, P., Chotipuntu, P. 2001. "Substitution of soy protein concentrate for fish meal in diets of tiger shrimp *Penaeus monodon*", Aquaculture Research, 32, 369-374.

- Pascual, C., Sanchez, A., Sanchez, A., Vargas-Albores, F., LeMoullac, G., Rosas, C. 2003. "Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature", *Aquaculture*, 218, 637–650.
- Patnaik, S., Samocha, T.M., Davis, D.A., Bullis, R.A., Browdy, C.L. 2006. "The use of HUFA-rich algal meals in diets for *Litopenaeus vannamei*", *Aquaculture Nutrition*, 12, 395–401.
- Patterson, J. A., Burkholder, K. M. 2003. "Application of prebiotics and probiotics in poultry production", *Poultry Sci.*, 82, 627-631.
- Peñaflorida, V. D. 1989. "An evaluation of indigenous protein sources as potential component in the diet formulation for tiger prawn, *Penaeus monodon*, using essential amino acid index (EAAI)", *Aquaculture*, 83(3-4), 319-330.
- Peñaflorida, V., Golez, N. 1996. "Use of seaweed meals from *Kappaphycus alvarezii* and *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*", *Aquaculture*, 143, 393-401.
- Peterson, B.C., Bosworth, B.G., Li, M.H., Beltran Jr.R., Santos, G.A. 2014. "Assessment of a phytogetic feed Additive (Digestarom P.E.P. MGE) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish", *Journal of The World Aquaculture Society*, 45(2), 206-212.
- Phuong, N.T., Yu, Y. 2003. "Replacement of fish meal with mbm and pbm on growth performance of juvenile black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)", National Renderers Association, Research Report Vietnam-2.
- Picchiatti S., Mazzini M., Taddei A.R., Renna R., Fausto A.M., Mulero V., Carnevali O., Cresci A., Abelli L. 2007. "Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: immunohistochemical and ultrastructural studies", *Fish and Shellfish Immunology*, 22, 57–67.
- Pickering, A.D. 1993. "Growth and stress in fish production", *Aquaculture*, 111(1-4), 51-63.
- Pike I.H., Andorsdottir G., Mundheim H. 1990. "The Role of Fish Meal in Diets for Salmonids", pp. 39. IAFMM Technology Bulletin, Hertfordshire, UK.
- Puangkaew, J., Kiron, V., Somamoto, T., Okamoto, N., Satoh, S., Takeuchi, T., Watanabe, T. 2004. "Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids", *Fish Shellfish Immunol.*, 16(1), 25-39.
- Qian, Z., Liu, X., Wang, L., Wang, X., Li, Y., Xiang, J., Wang, P. 2012. "Gene expression profiles of four heat shock proteins in response to different acute stresses in shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 156(3–4), 211–220.
- Qing, P.L., XU, J.L., Jing, M.J. 2005. "Effects of salinity and ph on immune parameters of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*", *Journal of Shellfish Research*, 24(4), 1223-1227.
- Racotta I.S., Palacios E. 1998. "Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*", *Journal of the World Aquaculture Society*, 29, 351-356.
- Ravuru, D.B., Mude, J.N. 2014. "Effect of density on growth and production of *Litopenaeus vannamei* of brackish water culture system in summer season with artificial diet in Prakasam District, India", *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 5(1), 10-13.
- Ray, A.JDrury, T.H., Cecil, A. 2017. "Comparing clear-water RAS and biofloc systems: Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) production, water quality, and biofloc nutritional contributions estimated using stable isotopes", *Aquaculture Engineering*, 77, 9-14.
- Reid, B., Arnold, C.R. 1992. "The Intensive Culture of the Penaeid Shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a Recirculating Raceway System", *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(2), 146–153.

- Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P. 1998. "Effects of probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth", *Aquaculture*, 167, 301–313.
- Rengpipat, S., Rukpratanpom, S., Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P. 2000. "Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus SII*)", *Aquaculture*, 191, 271-288.
- Revoredo C.L., Fletcher S.M. 2002. "World peanut market: an overview of the past 30 years", Number 437, University of Georgia, Research Bulletin, Athens, GA, USA.
- Ricque-Marie, D., La-Parra, M.A., Cruz-Suarez, L.E., Cuzon, G., Cousin, M., Aquacop and Pike, I. H. 1998. "Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp", *Aquaculture*, 165, 95-109.
- Ringø, E., Gatesoupe, F.-J., 1998. "Lactic acid bacteria in fish: a review", *Aquaculture*, 160, 177–203.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Vecino, J.L.G., Wadsworth, S., Song, S.K. 2012. "Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review", *Marine Science Research and Development*, 2(1), 1–22.
- Rodríguez, J., Le Moullac, G. 2000. "State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp", *Aquaculture*, 191, 109-119.
- Ross, N.W., Firth, K.J., Wang, A., Burka, J.F., Johnson, S.C. 2000. "Changes in hydrolytic enzyme activities of native Atlantic salmon *Salmo salar* skin mucus due to infection with the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* and cortisol implantation", *Dis Aquat. Organ.*, 41, 43–51.
- Rosas, C., Tut, J., Baeza, J., Sanchez, A., Sosa, V., Pascual, C., Arena, L., Domingues, P., Cuzon, G. 2008. "Effect of type of binder on growth, digestibility, and energetic balance of *Octopus maya*", *Aquaculture*, 275, 291–297.
- Rouse, D.B., Davis, D.A., 2004. "Stocking density, nursery duration influence shrimp growth, survival during growout", *Seedstock Production*, 79-80.
- Sadhu, N., Sharma, S.R., Joseph, S., Dube, P., Philipose, K.K. 2014. "Chronic stress due to high stocking density in open sea cage farming induces variation in biochemical and immunological functions in Asian seabass (*Lates calcarifer*, Bloch)", *Fish Physiol. Biochem.*, 40(4), 1105-1113.
- Saeed, K., Sima, A.S., Babak, G., 2015. "The survey effect of salinity stress on blood parameters of young *Litopenaeus vannamei*", *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(5), 358-363.
- Sáenz de Rodrigáñez, M.A., Díaz-Rosales, P., Chabrilón, M., Smidt, H., Arijó, S., León-Rubio, J.M., Alarcón, F.J., Balebona, M.C., Moriñigo, M.A., Cara, J.B., Moyano, F.J. 2009. "Effect of dietary administration of probiotics on growth and intestine functionality of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858)", *Aquacult. Nutr.*, 15, 177-185.
- Sahin, K., Orhan, C., Yazlak H., Tuzcu, M., Sahin, N., 2014. "Lycopene improves activation of antioxidant system and Nrf2/HO-1 pathway of muscle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with different stocking densities", *Aquaculture*, 430, 133-138.
- Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martín-Antonio, B., Crespo, D., Planas, J.V., Infante, C., vd., 2010. "Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): potential effects on the immune response", *Fish Shellfish Immunol.*, 28, 296-302.
- Salinas, I., Díaz-Rosales, P., Cuesta, A., Meseguer, J., Chabrilón, M., Moriñigo, M. Á., Esteban, M.Á. 2006. "Effect of heat-inactivated fish and non-fish derived probiotics on the innate immune parameters of a teleost fish (*Sparus aurata* L.)", *Vet. Immunol. Immunop.*, 111, 279-286.

- Salinas, I., Abelli, L., Bertoni, F., Picchiatti, S., Roque, A., Furones, D., Cuesta, A., Meseguer, J., Esteban, M.A. 2008. "Monospecies and multispecies probiotic formulations produce different systemic and local immunostimulatory effects in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.)", *Fish Shellfish Immunol.*, 25, 114-123.
- Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, A.K., Ghosh, A.R. 2014. "Evaluation of Metabolic Enzymes in Response to Excel Mera 71, a Glyphosate-Based Herbicide, and Recovery Pattern in Freshwater Teleostean Fishes", *BioMed Research International*, Volume 2014, Article ID 425159, 6 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/425159>
- Samocha, T.M., Davis, D.A., Saoud, P., De Bault, K. 2004. "Substitution of fish meal by co-extruded soybean poultry by-product meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Aquaculture*, 23, 197-203.
- Sánchez A., Pascual C., Sánchez A., Vargas-Albores F., Le Moullac, G., Rosas, C. 2001. "Hemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of acclimation", *Aquaculture*, 198, 13-28.
- Sanders, B.M. 1993. "Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective", *Crit. Rev. Toxicol.* 23, 49-75.
- Santinha, P.J.M., Medale, F., Corazze, G. ve Gomes, E.F.S. 1999. "Effects of the dietary protein : lipid ratio on growth and nutrient utilization in Gilthead seabream *Sparus aurata* L", *Aquaculture Nutrition*, 5, 147-156.
- Saurabh, S., Sahoo, P. 2008. "Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system", *Aquac. Res.*, 39, 223-239.
- Schock, T.B., Duke, J., Goodson, A., Weldon, D., Brunson, J., Leffler, J.W., Bearden, D.W. 2013. "Evaluation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) health during a superintensive aquaculture growout using NMR-based metabolomics", *PLoS One* 8(3): e59521. doi:10.1371/journal.pone.0059521
- Şerefişan, H., Kumlu, M., Tekelioğlu, N., Şerefişan, M. 1998. Sayfa 611-616. The effects of different stocking densities on the growth of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). Editör: B. Papathanassiou, Proceedings of the 4th Balkan Conference on Operational Research, V olume II, Hellenic Operational Research Society (Helors), Macedonia–Thrace Branch.
- Sevgili, H., Emre, Y., Kanyılmaz, M., Uysal, R. 2009. "Effects of replacement of fish meal with hazelnut meal on growth performance, body composition and nutrient digestibility coefficients in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*", *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 61(2),103-113.
- Sevgili, H., Emre, Y., Dal, İ. 2011. "Growth, nutrient utilization and digestibility of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed graded levels of hazelnut meal in place of fish meal". *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 63, IIC:63.2011.557.
- Shakir, C., Lipton, A.P., Manilal, A., Sugathan, S., Selvin, J. 2014. "Effect of stocking density on the survival rate and growth performance in *Penaeus monodon*", *Journal of Basic & Applied Sciences*, 10, 231-238.
- Silvi S., Nardi M., Sulpizio R., Orpianesi C., Caggiano M., Carnevali O., Cresci A. 2008. "Effects of addition of *Lactobacillus delbrueckii* on gut microbiota composition and contribution to the well-being of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)", *Microbial ecology in health and disease*, 20, 53–59.
- Smith, L.L., Lee, P.G., Lawrence, A.L., Strawn, K. 1985. "Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source", *Aquaculture*, 46, 85-96.
- Song, Y.L., Yu, C.I., Lien, T.W., Huang, C.C., Lin, M.N. 2003. "Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with Taura syndrome virus", *Fish & Shellfish Immunology*, 14, 317-331.

- Sookying, D., Silva, F.S.D, Davis, D.A, Hanson, T.R. 2011. "Effects of stocking density on the performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* cultured under pond and outdoor tank conditions using a high soybean meal diet", *Aquaculture*, 319, 232-239.
- Soyel, H.İ., Kumlu, M. 2003. "The effects of salinity during the nursery culture of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda, Penaeidae)", *Turkish Journal of Zoology*, 27, 221-225.
- Standen, B. 2016. "Plant-based feed additives can help replace costly fish meal in shrimp feed while achieving desired cost and performance goals", BIOMIN, www.biomin.net/en/home/.
- Suantika, G., Situmorang, M.L., Nurfathurahmi, A., Taufik, I., Aditiawati, P., Yusuf, N., Aulia, R. 2018. "Application of indoor recirculation aquaculture system for white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) growout super-intensive culture at low salinity condition", *J. Aquac. Res. Development*, 9(4), 1-6.
- Suarez, J.A., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, J, Faillace, A., Cuzon, G. 2009. "Archimer substitution of fish-meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)", *Aquaculture*, 289(1-2), 118-123.
- Sun, H., Tang, J., Yao, X-H., Wu, Y-F., Wang, X., Liu, Y. 2016. "Effects of replacement of fish meal with fermented cottonseed meal on growth performance, body composition and haemolymph indexes of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931", *Aquaculture Research*, 47, 2623–2632.
- Supamattaya, K., Viriyapongsutee, B., Ruangsri, J., En-Camacao, P., Schatzmayr, G. 2005. "Effect of probiotic *Enterococcus faecium* and phycophytic substances on growth performance and health condition of white shrimp (*Penaeus vannamei*)", *Aquaculture*, 248, 207-216
- Supamattaya K., Bundit O., Boonyarapatlin M., Schatzmayr G. 2006. "Effects of Mycotoxins T-2 and Zearalenone on growth performance immuno-physiological parameters and histological changes in Black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)", XII International Symposium of Fish Nutrition & Feeding. May 28 – June 1. Biarritz, France. Abstract.
- Suriya, M., Shanmugasundaram, S., Mayavu, P. 2016. "Stocking density, survival rate and growth performance of *Litopenaeus vannamei* (Boon, 1931) in different cultured shrimp farms", *Int. J. Curr. Res. Biol. Med.*, 1(5), 26-32.
- Suryavanshi, U., Sreepada, R.A., Ansari, Z.A., Nigam, S., Badesab, S 2009. "A study on biochemical changes in the penaeid shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) following exposure to sublethal doses of organochlorine pesticide (endosulfan)", *Chemosphere*, 77(11), 1540-1550.
- Swain, S. M., Singh, C., Arul, V. 2008. "Inhibitory activity of probiotics *Streptococcus phocae* P180 and *Enterococcus faecium* MC13 against vibriosis in shrimp *Penaeus monodon*", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 697–703.
- Tacon, A.G.J., Cahyono, E.W., Sugema, U., Zaudjat, C., Nates, S. 2010. "Shrimp diets; replacing fish meal with animal proteins", www.rendermagazine.com, pp.10-13.
- Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokoo, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H. 2012. "Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response", *Fish Physiol. Biochem.*, 38, 431-440.
- Tan, B.P., Zheng, S.X., Yu, H.R., Yu, Y., 2003. "Growth and feed efficiency of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed practical diets containing different levels of poultry by-products meal", Research report No 24. Asia Regional Office of the National Renderers Association Inc., Causeway Bay, Hong Kong, 8 pp.

- Tantikitti, C., Chookird, D., Phongdara, A. 2016. "Effects of fishmeal quality on growth performance, protein digestibility and trypsin gene expression in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)", Songklanakarin J. Sci. Technol. 38 (1), 73-82.
- Taoka, Y., Maeda, H., Jo, J.-Y., Kim, S.-M., Park, S.-I., Yoshikawa, T., Sakata, T. 2006. "Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*", Fisheries Science 72, 755–766.
- Terrazas-Fierro, M., Civera-Cerecedo, R., Ibarra-Martinez, L., Goytortua-Bores, E. 2010a. "Coeficientes de utilizacion digestiva aparente de materia seca, proteina y aminoacidos esenciales de ingredientes terrestres para el camaron del Pacifico *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae)", Rev. Biol. Trop., 58, 1561-1576.
- Terrazas-Fierro, M., Civera-Cerecedo, R., Lilia Ibarra-Martínez, L., Goytortua-Bores, E., Herrera-Andrade, M., Reyes-Becerra, A. 2010b. "Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*", Aquaculture, 308, 166-173.
- Teshima, S.I., Kanazawa, A., Hitotsumatsu, K.-i., Kim, K.S., Oshida, K., Koshio, S. 1992. "Tissue uptake and bioconversion of icosapentaenoic acid and phosphatidylcholine in prawns, *Penaeus* and *Macrobrachium*", Comparative Biochemistry and Physiology, 102B, 885-890.
- Thompson, K.R., Muzinic, L.A., Engler, L.S. ve Webster, C.D. 2005. "Evaluation of practical diets containing different protein levels, with or without fish meal, for juvenile on Australian redclaw crayfish (*Cherax quadricarinatus*)", Aquaculture, 244, 241–249.
- Timmerman, H.M., Koning, C.J.M., Mulder, L., Rombouts, F.M., Beynen, A.C. 2004. "Monostrain, multistrain and multispecies probiotics - a comparison of functionality and efficacy", International Journal of Food Microbiology, 96, 219-233.
- TMO, 2017. <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/findiksektorraporu2016.pdf>
- Tu, H.T., Silvestre, F., Bernard, A., Douny, C., Phuong, N.T., Tao, C.T., Rogister, G.M., Kestemont, P. 2008. "Oxidative stress response of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) to enrofloxacin and to culture system", Aquaculture, 285, 244-248.
- Türkmen, G. 2003. "Larval development of the grooved shrimp (*Penaeus kerathurus* Forskal, 1775) under laboratory conditions", Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3, 97-103.
- Türkmen G. 2005. "The larval development of *Penaeus semisulcatus* (de Hann, 1850) (Decapoda: Penaeidae)". E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 22(1-2).
- Türkmen, G., Yilmazyerli, H. 2006. "Some biological aspects of *Melicertus kerathurus* (Forskål, 1775) (Decapoda, Penaeidae) inhabiting İzmir Bay (Aegean Sea), Turkey", Crustaceana, 79(5), 583-591.
- Türkmen, G. 2007a. "Experimental commercial growout of *Penaeus semisulcatus* (Decapoda: Penaeidae)", The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah, 59(1), 52-57.
- Türkmen, G. 2007b. "Pond culture of *Penaeus semisulcatus* and *Marsupenaeus japonicus* (Decapoda, Penaeidae) on the west coast of Turkey", Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 7, 7-11.
- Van de Braak C.B., Botterblom M.H.A., Taverne N., Van Muiswinkel W.B., Rombout J.H.W.M., van der Knaap W.P.W. 2002. "The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp", Fish and Shellfish Immunology, 13, 293–309.
- Van Waarde, A.M., Henegouwen, B., De W-V.B. 1982. "Nitrogen metabolism in goldfish, *Carassius auratus* (L.). Pathway of aerobic and anaerobic glutamate oxidation in goldfish liver and muscle mitochondria", Comp. Biochem. Physiol. B: Comparative Biochemistry, 72(1), 133–136.

- Van Weerd, J.H., Komen, J. 1998. "The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 120(1), 107-112.
- Verschuere, L., H. Heang, G. Criel, P. Sorgeloos, and W. Verstraete. 2000a. "Selected bacterial strains protect *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2", *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1139–1146.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000b. "Probiotic bacteria as biological agents in aquaculture", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 655-671.
- Volpe, M.G, Varricchio, E., Coccia, E., Santagata, G., Di Stasio, M., Malinconico, M., Paolucci, M. 2012. "Manufacturing pellets with different binders: Effect on water stability and feeding response in juvenile *Cherax albidus*", *Aquaculture*, 324-325, 104–110.
- Wang, F.I., Chen, J.C., 2006. "The immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* under temperature stress", *Aquaculture*, 258, 34-41.
- Wang Y.B., Li J.R., Lin J. 2008. "Probiotics in aquaculture: challenges and outlook", *Aquaculture*, 281, 1-4.
- Wang, L.U., Chen, J.C. 2005. "The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels", *Fish & Shellfish Immunology*, 18, 269-278.
- Wells, R.M., Pankhurst, N.W. 1999. "Evaluation of simple instruments for the measurement of blood glucose and lactate, and plasma protein as stress indicators in fish", *J. World Aquac. Soc.*, 30, 276-284.
- Widanami, D., Sukenda, Y., Ekasari, J. 2010. "Nursery culture performance of *Litopenaeus vannamei* with probiotics addition and different C/N ratio under laboratory condition", *HAYATI Journal of Biosciences*, 17, 115–119.
- Withyachumnankul, B., Boonsaeng, V., Flegel, T.W., Panyim, S., Wongteerasupaya, C. 1998. Domestication and selective breeding of *Penaeus monodon* in Thailand. Editor: Flegel T.W., *Advances in shrimp biotechnology*. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- Xu, X., Ji, W., Castell, J.D., O'Dor, R. 1993. "The nutritional value of dietary n-3 and n-6 fatty acids for the Chinese prawn (*Penaeus chinensis*)", *Aquaculture*, 118, 277-285.
- Yang, Y., Xie, S.Q., Lei, W., Zhu, X.M., Yang, Y.X. 2004. "Effect of replacement of fish meal by meat and bone meal and poultry by-product meal in diets on the growth and immune response of *Macrobrachium nipponense*", *Fish and Shellfish Immunology*, 17, 105–114.
- Yao, C.L., Wu, C.G., Xiang, J.H., Li, F., Wang, Z.Y., Han, X. 2008. "The lysosome and lysozyme response in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* to *Vibrio anguillarum* and laminarin stimulation", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 363, 124-129.
- Yarahmadi, P., Miandare, H.K., Fayaz, S., Caipang, C.M.A. 2016. "Increased stocking density causes changes in expression of selected stress- and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Fish and Shellfish Immunology*, 48, 43-53.
- Yin, Z., Lam, T.J., Sin, Y.M. 1995. "The effects of crowding stress on the non-specific immune response in fancy carp (*Cyprinus carpio* L.)", *Fish Shellfish Immunol*, 5, 519–529.
- Yildiz, H.Y, Benli, A.C. 2004. "Nitrite toxicity to crayfish, *Astacus leptodactylus*, the effects of sublethal nitrite exposure on hemolymph nitrite, total hemocyte counts, and hemolymph glucose", *Ecotoxicol Environ Saf.*, 59(3), 370-5.
- Yue, Y-R., Liu, Y-J., Tian, L-X., Gan, L., Yang, H-J., Liang, G-Y. 2012. "Effects of replacing fish meal with soybean meal and peanut meal on growth, feed utilization and haemolymph indexes for juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone", *Aquaculture Research*, 43, 1687-1696.

- Zhao, W., Wei, H., Jia, J., Lu, D. 1995. "Effects of cadmium on transaminase activities and structures of tissues in freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)", J. Fish. China, 19, 21–27.
- Zheng, Z. L., Justin, Y.W., Tan, H.Y., Liu, X.H., Zhou, X.X., Wang, K.Y. 2009. "Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*)", Aquaculture, 292, 214-218.
- Zhenyu, G., Chuanzhen, J., Jianhai, X. 2004. "Heat-shock protein 70 expression in shrimp *Fenneropenaeus chinensis* during thermal and immune-challenged stress", Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 22(4), 386-391.
- Zhou, J., Wang, W.N., He, W-Y., Zheng, Y., Wang, L., Xin, Y., Liu, Y., Wang, A-L. 2010. "Expression of HSP60 and HSP70 in white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in response to bacterial challenge", Journal of Invertebrate Pathology, 103(3), 170-178.
- Zhu, W.H., Yu, Y. 2002. "Effect of partial replacement of dietary fish meal with meat and bone meal or poultry byproduct meal on growth performance of white shrimp, *L. vannamei*", Research Report No 19, Asia Regional Office of the National Renderers Association Inc., Causeway Bay, Hong Kong. 5 pp.
- Zhou, Y. 2014. "Optimization of plant based diets for pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)". PhD Thesis. Auburn, Alabama, 120 pp.
- Ziaei-Nejad, S., Rezaeib, M.H., Takamic, G.A., Lovettd, D.L., Mirvaghefia, A., Shakourie, M. 2006. "The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*", Aquaculture, 252, 516–524.
- Zokaifar, H., Babaei, N., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Balcazar, J.L. 2014. "Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", Fish Shellfish Immunol., 36(1), 68-74.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. METİN KUMLU
Proje No:	215O006
Proje Başlığı:	Türkiye İçin Ekonomik Ve Sürdürülebilir Bir Karides Üretim Modeli Geliştirilmesi
Proje Türü:	1003 - Öncelikli Alanlar (2. Aşama)
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	İRFAN ÇOBAN, HATİCE ASUMAN YILMAZ, MAHİR KANYILMAZ, HÜSEYİN SEVGİLİ, ORHAN TUFAN EROLDOĞAN, PRAPANSAK SRİSAPOOME (Yurt Dışı)
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ÇUKUROVA Ü. SU ÜRÜNLERİ F. SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/11/2015 - 20/07/2018
Onaylanan Bütçe:	764552.0
Harcanan Bütçe:	583347.53
Öz:	<p>Bu proje ekonomik ve sürdürülebilir bir karides üretim modeli geliştirebilmek amacıyla kapalı devre sistemlerde (RAS) dört deneme yürütülmüştür; 1. Denemede; <i>Penaeus semisulcatus</i> için balık ununa (BU) alternatif hammaddeler [(tavuk unu, soya unu (SU), mısır glütini (MGU), yer fıstığı ve fındık küspesi] kullanarak yemler üretilmiştir. İki ay süren denemede SU+MGU karışımı (MİKS2), özellikle %10 BU+MİKS2 karideslerde yüksek yaşama oranı ve büyüme sağlamıştır. Bulgularımız <i>P. semisulcatus</i> için BU'nun formülasyonlardan çıkartılabileceğini, ancak cezbedicilik ve besinsel denge açısından, yeme %10 seviyesinde eklenmesinin daha uygun olabileceğini göstermiştir. Alternatif hammaddeler yem maliyetini %18.42-29.82 azaltmıştır. Hidrostabilite testlerinde, kuru madde/protein kayıpları ve ekonomiklik açısından en başarılı bağlayıcılardan birisi olarak buğday glütini öne çıkmıştır. 2. Denemede; üç stoklama yoğunluğunda (200, 400 ve 800 adet/m²) <i>P. vannamei</i> yavruları, sırasıyla, %77, %78 ve %82 yaşama oranları ile 1.35, 1.09 ve 1.12 grama ulaştırılmıştır. Tuzluluk ve formalin stres testleri yüksek stoklamanın karideslerde hassasiyete neden olduğunu göstermiştir. HSP70 ve HSP90 seviyeleri stoklama yoğunluklarıyla artmış, ancak 1-2 gün içerisinde regüle edilerek normal düzeye indirilmiştir. Kronik yüksek stoklama stresörüne karidesler zamanla adaptasyon göstermişlerdir. 3. Denemede; probiyotik/fitojenik madde kullanımı ile karideslerin (<i>P. vannamei</i>) biyolojik performansından ziyade, sudaki azotlu atıkların ve <i>Vibrio</i> bakterisi gelişiminin baskılanabileceği ortaya çıkartılmıştır. 4. Denemede; altı katlı tanklarda 40, 80 ve 160 adet/m² stoklama gruplarında, 4 ay sürdürülen deneme sonunda, karideslerde yaşama oranları %62 ile %77.50 ve ağırlıkları 18.31 ile 22.15 g arasında değişmiştir. Altı katlı tanklarda 1 m²'den (6 kat olarak) 4.14-11.88 kg ürün alınabilmiştir. HSP bulguları, <i>P. vannamei</i>'nin 2 kg/m² veya 4.74 kg/m³ biyomas seviyesinde kronik stres yaşadığını göstermiştir. Karides yetiştiriciliğinde büyütmenin 3.5-4 ay gibi kısa sürmesi, yüksek stoklama koşullarında hastalık riskini azaltmakta ve daha fazla ürün üretilebilmesine imkan vermektedir. Sonuç olarak, bu proje; <i>P. vannamei</i> ile, düşük maliyetli bir RAS yatırımı, ekonomik ve hidrostabilitesi yüksek yemlerle ve solar enerji desteği ile ülkemizde başarılı, sürdürülebilir ve çevreci bir üretim yapılabileceğini kanıtlamıştır.</p>
Anahtar Kelimeler:	Resirkülasyon Sistemi, Karides, Yetiştiricilik, Stoklama Yoğunluğu, Katlı Tank, Probiyotik, Büyütme
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır